

쇠고기의 저장 중 R-index에 의한 부패취 발생시점과 *Pseudomonas*의 증식과의 비교 분석

변고은 · 박한조 · 안수림 · 홍광원 · 민상기¹ · 정구용² · 원기훈³ · 이승주*

동국대학교 식품공학과, ¹건국대학교 축산식품생물공학전공,
²상지대학교 동물생명자원학전공, ³동국대학교 화공생물공학과

Detection of Spoilage Odors in Beef Using R-index and *Pseudomonas* Growth during Storage

Ko Eun Byeon, Han Jo Park, Soo Rim An, Kwang Won Hong, ¹Sang Gi Min,
²Ku Young Chung, ³Kee Hoon Won, and Seung Ju Lee*

Department of Food Science and Technology, Dongguk University

¹Department of Food Science from Animal Resources, Konkuk University

²Department of Animal Resources Science, Sangji University

³Department of Chemical and Biochemical Engineering, Dongguk University

Abstract

Detection of spoilage odors from beef during storage was investigated using sensory evaluation with R-index, and microbial assay for *Pseudomonas*. Beef samples were tested to measure the flavor changes, which were converted to R-index, and the *Pseudomonas* levels during storage. There was a steep rise in R-index until 36 hr after storage at 25°C, and then a gentle rise from 48 hr, whereas, there was a steady rise in R-index in the whole range of storage at 5°C. Detection time of spoilage odors according to R-index was statistically analyzed at $\alpha=5\%$ to be at 30.92±3.47 hr and 169.80±11.27 hr for 25 and 5°C storage, respectively, and analyzed at $\alpha=1\%$ to be 34.80±4.01 and 176.41±9.89 hr for 25 and 5°C storage, respectively. At the detection times of spoilage odors, the *Pseudomonas* levels were found to be almost the same, but less than 6-7 log CFU/g generally known as a standard level at occurrence of spoilage odors in beef. This indicated that some other factors than the *Pseudomonas* reactions could be associated with generation of spoilage odors.

Key words: beef, spoilage odors, R-index, sensory evaluation, *Pseudomonas*

서 론

소득의 증대와 함께 소비자의 고품질 식재료에 대한 수요와 관심이 날로 증가하고 있다. 이에 따라 안전하며 고품질의 식재료를 소비자에게 공급하기 위하여 안전한 농축산물의 생산, 신선도 유지를 위한 유통체계의 개선, 품질 및 안전성 평가기술 개발을 위한 노력이 보다 더 요구되고 있다(Kim et al., 2004). 많은 농축산물의 주요 품질인자인 속도 및 신선도의 변화는 휘발성 화학물질로 이루어진 냄새의 변화로 나타나므로 이를 측정하여 품질 및 안전성을 간접적으로 평가할 수 있다(Park, 2004). 기존의 부패취 발

생 분석은 전자코(electronic nose)를 이용한 기기적 분석과 대부분 일반적인 관능검사로 이루어 졌다. 기기적 분석의 경우 고가의 장비와 숙련된 연구원을 필요로 하며, 식육의 유통 현장에서의 측정이 어렵다. 또한 일반 관능검사는 패널의 개인차가 반영되지 않아 주관적 평가 결과를 초래할 수 있다.

쇠고기의 부패취 발생은 저장환경의 오염, 미생물의 발육, 지방의 산패, 내인성 효소에 의한 분해에 의해 비롯되어진다(Wilkes et al., 2000). 특히 호기적 조건에서 식육의 부패취는 주로 미생물에 의한 단백질과 암모니아 분해에 기인하며, 부패취는 유황분해 물질이 주된 것으로 hydrogen sulfide, methyl mercaptan, dimethyl sulfide 등에 의해 발현된다(Park, 2004). Koutsoumanis et al.(2006)에 의하면 호기 조건에서 부패한 식육의 총균수, *Pseudomonas*, Enterobacteriaceae, *Brochothrix thermosphacta*, lactic acid bacteria 등을 측정하여 분석한 결과 다른 세균의 증식은

Corresponding author: Seung Ju Lee, Department of Food Science and Technology, Dongguk University, 26 Pil-dong 3-ga, Jung-gu, Seoul 100-715, Korea

Tel: +82-2-2260-3372; Fax: +82-2-2260-3372

E-mail: Lseungju@dongguk.edu

Received February 11, 2009; revised February 25, 2009; accepted April 14, 2009

미비한데 반하여 *Pseudomonas* 증식과 총균수 증가는 미량의 수적인 차이는 있으나 증가 양상이 거의 일치한다고 보고하였다. 따라서 *Pseudomonas*는 호기적 조건에서 쇠고기 저장 시 발생하는 미생물 중 가장 큰 품질변화 요인임을 알 수 있다.

쇠고기의 부패취 발생은 실제 소비자의 식욕 구매의사 결정에 직접적인 영향을 미치기 때문에 식육의 다른 어떤 식육의 품질 결정 항목보다 중요하다. Nattress & Jeremiah(2000)은 쇠고기의 저장 조건에 따른 부패취 발생을 관능검사를 통하여 연구를 하였다. 하지만 일반적 관능검사인 경우 패널의 개인적 차이, 건강상태, 피로 등이 고려되지 않고, 발생하는 부패취의 변화가 미세할 경우 관능적 검지에 큰 어려움을 준다(Park & Lee, 2008).

Robinson et al.(2005)에서 보고되어진 바 있는 패널의 신뢰도 반영과 시료의 반복 수 측면에서 정확도가 매우 높은 R-index의 적용이 필요하다. R-index는 관능검사 시 패널에게 초기의 시료를 제시하여 시료의 상태를 얼마나 정확히 판단하는지를 반영함으로써 패널의 정확도를 평가할 수 있다. R-index 적용 사례로는 isoflavone의 역치 분석(Robinson et al., 2004), 이눌린 우유 음료의 관능적 차이 분석(Villegas et al., 2007), 구아바(guava) 음료의 가열 부패취 발생시간 검지(Argaiz et al., 2005) 등이 있으며, 모두 정확도가 향상된 관능검사를 실시하는데 성공적으로 사용되었다. 이에 따라 쇠고기의 저장 중의 부패취 발생검지도 R-index 기법 적용은 신뢰성 높은 결과를 얻을 수 있다고 사료된다.

본 연구에서는 쇠고기의 저장 중 발생하는 부패취를 특수 관능기법인 R-index를 적용하여 발생검지 분석을 하고, 인체에 위해를 끼치는 *Pseudomonas*의 증식과 비교 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에서는 경제적이며 비교적 지방함량이 풍부하여 소비자들이 선호하는 채끝을 재료로 사용하였다. 실험에 사용한 쇠고기의 이력 사항은 다음과 같았다. 강원도 횡성군에 있는 축사에서 2년간 사육된 한우를 도살장에서 도축하고 위생적으로 소포장한 뒤 -2~5°C로 냉장보관된 1등급육을 사용하였다. 습득한 시료를 후드믹서(MCH6001SI, DongYang Magic Co., Seoul, Korea)로 잘게 마쇄하여 각각 10g씩 정량하고, 50 mL 팔관튜브에 넣어 준비하였다. 각 시료들은 냉장온도인 5°C와 상온인 25°C에 보관하였다.

Pseudomonas 측정

AOAC(1998)에 기재되어 있는 방법을 응용하여 실험하였다. 각각의 시료 5g을 멸균된 희석액 bufferfield's

phosphate buffer(IDF phosphate buffer 0.0425 g/L of KH_2PO_4 adjusted to pH 7.2)를 20 mL에 넣어 1분간 균일하게 마쇄한 뒤 다시 buffer 25 mL를 첨가하였다. 0.9% NaCl을 사용하여 검액을 알맞은 희석배수로 만들었다. 멸균해 놓은 배지에 20 mL CFC supplement를 첨가한 후 균렸다. 적정량의 검액을 배지에 도말하고, 30°C에서 48시간 배양한 뒤 균락수를 계수하였다. 미생물 실험은 3회 반복 실험을 하고, 미생물의 수는 시료 g당 colony forming unit(CFU)로 나타내었다.

패널 선정

동국대학교 식품공학과 대학원생 16명(남성 8명, 여성 8명)을 패널로 선정하였다. 패널들에게 쇠고기 본연의 냄새와 부패취를 익숙하게 하기 위하여 signal reference와 noise reference로 3점검사를 통하여 사전 훈련을 하였다(Larmond, 1982). Signal reference는 37°C에서 3일간 보관되어 부패취가 발생한 부패육이고, noise reference는 최저 냉장 온도인 -2°C에서 보관된 신선육을 의미한다(Robinson et al., 2004).

R-index 관능검사

각 시료는 지름 15 cm의 접시에 10g씩 준비하여, 무작위 세자리 숫자로 표기하였다. 각 패널들은 쇠고기의 부패취를 5초간 맡고, 3분간 신선한 공기를 들이마셔 전 시료의 영향을 최소화하였다. 평가된 결과는 준비된 평가표에 기재하였다.

평가표에는 시료의 확신도에 따라 signal sure(S): “실험 시료가 signal과 동일하며 확신한다.”, signal unsure(S?): “실험시료가 signal과 동일하지만 확신하지는 못한다.”, noise unsure(N?): “실험시료가 noise와 동일하지만 확신하지는 못한다.”, noise sure(N): “실험시료가 noise와 동일하며 확신한다.” 4가지의 단계로 평가하였다. 실험 중 패널들이 noise reference를 정확히 인지하기 위하여 원하면 수시로 제공하였으며, 실험은 시료별 총 5회 반복하였다(Robinson et al., 2004; Park & Lee, 2008).

R-index 산출

관능검사를 통하여 측정된 R-index는 O'mahony(1992)에 의하여 보고된 식(1)에 의하여 수치로 환산하였다. Bi & O'mahony(1995)에 의해 보고된 통계표를 이용하여 부패취 발생의 검지를 구분해 주는 R-index의 경계점을 산출하였다. 그 유의적 수준은 양측검점(2 tails)의 $\alpha=0.05$ 또는 0.01을 적용하였다. 통계표의 critical value는 R-index가 검지되지 않은 값인 50%로부터 얼마나 많이 벗어나는 지를 나타내는 값이기 때문에 부패취 발생 경계점의 R-index은 통계표를 읽은 값에 50%를 더한 값으로 평가하였다(Bi & O'mahony, 1995; Park & Lee, 2008).

	Signal sure(S)	Signal unsure(S?)	Noise unsure(N?)	Noise sure(N)	
Signal	a	b	c	d	Total =a+b+c+d
Noise	e	f	g	h	Total=e+f+g+h

$$R = \frac{a(f + g + h) + b(g + h) + c(h) + \frac{1}{2}(ae + bf + cg + dh)}{(a + b + c + d)(e + f + g + h)} \quad (1)$$

부패취 발생 검지시간(threshold) 산출

부패취 발생 검지시간은 개인별 산출된 검사값을 평균하여 사용하였다(Robinson et al., 2004). 실험은 5회 반복하였으므로 n=5를 통계표에 대입하여 경계점을 구하였다. 경계점을 넘는 R-index를 해당 온도 저장 시 부패취 발생시간으로 정하였다. 개인별 구해진 부패취 발생시간을 구하여, 15명의 평균값을 구하였다.

통계분석

R-index의 평균, 표준편차 및 회기 분석은 MS Office의 Excel을 이용하였으며, R-index의 다중비교(multiple comparison)는 SPSS 통계 프로그램을 사용하였다.

결과 및 고찰

저장 온도에 따른 Pseudomonas의 증식

저장 중 쇠고기의 Pseudomonas 증식의 변화를 측정한다

Table 1. Growth of Pseudomonas spp. in 25°C and 5°C during storage (log CFU/g)

Time (hr)	Pseudomonas spp.	
	5°C	25°C
0	2.72	2.18
12	NM	4.26±2.05
18	NM	5.21±2.19
24	2.97±1.06	5.86±2.46
36	NM	5.94±1.06
48	3.44±2.04	6.92±4.26
60	NM	7.14±1.56
72	3.88	8.23±3.23
84	NM	9.04±1.33
96	5.43±2.83	
120	6.07	
144	6.8±1.77	
168	7.7±1.48	

Table 2. Means of R-index for the Storage times 25°C and 5°C

Temperature (°C)	Time	Time (hr) vs. R-index (%)						
		12	18	24	36	48	60	168
25	R-index	54.33±3.16	67.30±4.82 ^{a1)}	78.23±2.62 ^b	90.67±2.18 ^c	94.66±1.89 ^d	98.28±1.50 ^e	
5	R-index	50.60±2.19	58.09±3.28	71.20±2.28 ^a	76.67±4.14 ^b	82.90±1.41	93.32±1.67 ^{c,d}	97.62±2.00 ^e

¹⁾ Means±SE with different superscripts in the same rows are significantly different (p<0.05, n=15).

결과는 Table 1과 같다. 두 시료 모두 저장 기간이 증가하고 온도가 높을수록 균수가 빠르게 증가하는 양상을 보였다. 일반적으로 식육은 미생물의 수가 6-7 log CFU/g에 도달하면 부패가 되고, 9 log CFU/g일 때 성장이 멈춘다고 보고하였다(Shin et al., 2006). 25°C에서는 저장 60시간일 때, 5°C에서는 저장 156시간일 때 7 log CFU/g을 넘어 부패가 됨을 나타내었다. 또한 25°C 경우에는 저장 84시간 일때 9 log CFU/g에 도달하여 기존의 연구 결과와 유사함을 보였다.

쇠고기 부패취에 관한 패널의 R-index

패널 16명을 signal reference와 noise reference를 일주일 동안 매일 30분 동안 10회씩 맡게 하여 친숙하게 하는 사전 훈련을 하고, 삼점검사를 실시하였다. 삼점검사의 시료는 A(signal reference), B(noise reference)에 대하여 세 개의 시료를 제시하였으며, 두 시료는 같고 한 시료는 다르게 하여 6가지 배치로 5회 반복하였다(Kim & Koo, 2003). 그 결과 15명은 정답률 60% 이상을 통과하였으나, 1명은 정답률 60%를 통과하지 못하였다. 통과하지 못한 식별능력이 부족한 1명은 다시 일주일간의 사전 훈련을 반복하여 삼점검사를 실시한 결과 87%로 통과하였다. 사전 검사에 통과된 16명중 15명은 관능검사를 실시하였고, 1명은 예비 패널로 하였다.

시료별 R-index는 O'mahony(1992)에 의해 보고된 공식에 의해서 수치로 환산하여 평가하였고, 저장 시간에 따른 R-index의 평균값과 분산분석의 결과는 Table 2와 같다. 저장 온도별 R-index를 보면 25°C일 때 월등히 높은 수치를 나타내었다. 예를 들어 저장 36시간이 되었을 때 25°C에서는 R-index가 90을 넘어 부패취를 발생했음을 나타내었고, 5°C에서는 R-index가 50 정도를 기록하여 아직은 noise reference에 가까움을 알아 낼 수 있었다. 이는 높은 온도에서 부패취 발생이 더 빨리 일어남을 보여준다. 그리고 저장 온도에 대하여 시간이 지날수록 R-index 증가는 signal reference로 근접하였음을 의미함을 알 수 있다(Argaiz et al., 2005). 또한 25°C의 경우 48시간 이후에 유의적인 차이를 보이지 않아 부패취를 더 이상 관능적으로 받아들일

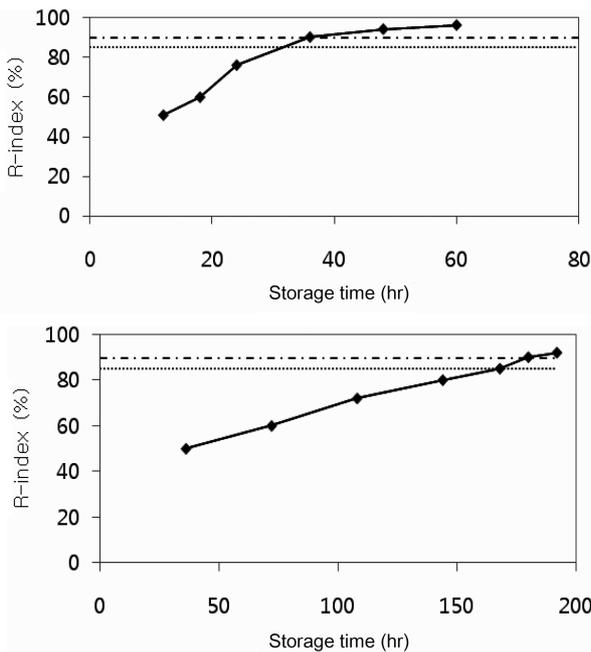


Fig 1. One panelist's R-index measure for storage times at 25°C (top), 5°C (bottom) and R-index values of threshold at $\alpha=0.05$ (.....) and 0.01 (— · —).

수 없는 시점까지 도달함을 나타내었다.

R-index에 의한 부패취 발생 검지 시간

부패취 발생 검지 시간 측정은 부패취 발생의 검지를 구분해 주는 R-index의 경계점은 Bi & O'mahony(1995)에 의해 보고된 통계표를 사용하였다. 부패취 발생의 그 유의적 수준은 양측검점(2 tails)의 $\alpha=0.05$ 에서 35%, 양측검점(2 tails)의 $\alpha=0.01$ 에서 39.49%였으며, 각각 50%(chance value)를 더하여 85%와 89.49%를 부패취 발생 경계점의 R-index로 삼았다. 패널 개인의 온도별 부패취 발생 시간을 구한 R-index는 Fig. 1과 같고, 이를 전체평균하여 통계 처리한 결과는 Table 3과 같다. 시간별 R-index 평균값과 같이 모든 온도에서 저장시간이 증가함에 따라 그 값은 증가하였다.

25°C에서의 시간에 따른 R-index의 기울기는 12-36시간 일 때 급격하게 증가하다가 약 36시간 이후부터 완만해지는 경향을 보였다. 약 30.92시간에서 $\alpha=0.05$ 유의수준의 경계점을 넘었고, 약 34.80시간에서 $\alpha=0.01$ 유의수준의 경계점을 넘었다. 부패취 발생의 경계시간을 넘은 이후에 R-

Table 3. Means of spoilage odor development time at R-index values of threshold at $\alpha=0.05$ and 0.01

Significance level	Spoilage odor development time (hr)	
	25°C	5°C
$\alpha=0.05$	30.92±3.47 ^{a1)}	169.80±11.27 ^b
$\alpha=0.01$	34.80±4.01 ^a	176.41.08±9.89 ^b

¹⁾Means±SE with different superscripts in the same rows are significantly different ($p<0.05$, $n=15$).

index는 매우 서서히 증가하였다. 5°C에서의 시간에 따른 R-index는 기울기는 대체적으로 완만히 증가하는 경향을 보였다. 약 169.80시간에서 $\alpha=0.05$ 유의수준의 경계점을 넘었고, 약 176.41시간 $\alpha=0.01$ 유의수준의 경계점을 넘었다. 두 가지의 저장 온도 모두 부패취 발생의 경계점을 넘은 이후에 R-index는 매우 서서히 증가하였다.

저장 온도별 $\alpha=0.05$ 와 $\alpha=0.01$ 유의수준의 경계점을 넘기 시간을 비교해보면, 25°C에서는 3.88시간의 차이를 보였고, 5°C에서는 약 7.61시간의 차이를 나타내었다. 이는 5°C일 때 R-index의 기울기가 완만하였기 때문이다.

본 연구에서는 부패취 인식의 개인 간 차이를 고려하여 완전 부패하였다고 판단되는 37°C에서 3일간 보관된 쇠고기를 사용하였다. 부패취 발생 검지 시점은 signal reference 선정에 의하여 유동성을 보일 수 있다. 즉, 보다 짧은 시간이나 낮은 온도에서 보관된 시료를 signal reference로 택한다면 부패취 검지시간은 더 앞당겨 질 수 있다.

쇠고기 부패취 발생과 Pseudomonas의 증식의 비교

Table 1의 미생물 측정값을 회귀분석하여 저장 온도별 $\alpha=0.05$ 와 $\alpha=0.01$ 유의수준의 부패취 발생 경계 시간을 대입하여 보았다. 저장 온도 25°C에서 유의적 수준이 $\alpha=0.05$ 일 때 약 30.92시간이 부패취 발생 경계시점이므로 그때의 Pseudomonas의 수치는 약 5 log CFU/g이고, 유의적 수준이 $\alpha=0.01$ 일 때 약 34.80시간 부패취 발생 경계시점이므로 그때의 Pseudomonas의 수치는 역시 약 5 log CFU/g을 나타내었다. 저장 온도 5°C에서 유의적 수준이 $\alpha=0.05$ 일 때 약 168.80시간 부패취 발생 경계시점이므로 그때의 Pseudomonas의 수치는 약 7 log CFU/g이고, 유의적 수준이 $\alpha=0.01$ 일 때 약 176.41시간이 부패취 발생 경계시점이므로 그때의 Pseudomonas의 수치는 7 log CFU/g을 넘는 것으로 예상되어 부패가 되었음을 알 수 있었다. 따라서 저장온도에 따른 부패취 발생과 Pseudomonas의 수치는 약간의 차이를 보였다. 또한 일반적으로 부패가 발생되었다고 나타내는 미생물의 수는 6-7 log CFU/g인데 반하여 25°C의 경우 부패취 발생의 시점은 그보다 이전이었고, 5°C의 경우 부패발생의 유사 시점에서 부패취를 감지할 수 있었다. 이는 Pseudomonas가 저온균이므로 온도 별 활성이 다를 수 있으며, 쇠고기의 부패취 발생에 원인이 될 수는 있지만 그 밖에 Enterobacteriaceae, Brochothrix thermosphacta, lactic acid bacteria 등의 다른 미생물의 증식, 유통환경의 오염, 지방의 산패, 내인성 효소 등의 원인도 기인함을 나타낸다.

단, signal reference 선정에 의하여 부패취 검지시간은 유동성을 보이므로 추후에 합리적인 signal reference 선택 방법을 적용하여 보다 미세한 변화에도 부패취를 검지할 수 있는 연구가 이루어져야 한다.

요 약

쇠고기의 저장 중 발생하는 부패취를 특수 관능기법인 R-index를 적용하여 부패취 검지분석을 하고, *Pseudomonas*의 증식과 비교분석 하였다. 패널에게 사전훈련을 통하여 signal reference(37°C, 48시간 동안 저장한 쇠고기)과 noise reference(-2°C, 저장 시간이 없는 신선한 쇠고기)를 구별이 가능하도록 하였다. Stimuli samples(저장 온도 및 시간 별 쇠고기)와 noise reference를 같이 제공하여 부패취 발생 여부의 확신도에 따라 4가지 구간(signal sure(S), signal unsure(S?), noise unsure(N?), noise sure(N))으로 평가하게 하도록 하였다. 상온인 25°C 저장과 냉장 온도인 5°C의 두 가지 시료 모두 저장 시간이 증가함에 따라 R-index가 증가하였다. 25°C의 경우 저장 36시간까지 급격한 변화를 보이다가 36시간 이후 완만한 변화를 보였으며, 5°C는 전구간 매우 완만하게 점차적으로 변화하였다. 패널 개인별 R-index가 유의수준 $\alpha=0.05$ 및 $\alpha=0.01$ 에서의 경계점을 넘는 시점인 부패취 발생 검지시간을 구하였다. 부패취 발생 검지시간은 $\alpha=0.05$ 의 경우 25°C에서 30.92±3.47시간, 5°C에서 169.80±11.27시간, $\alpha=0.01$ 의 경우는 25°C에서 34.80±4.01시간, 5°C에서 176.41±9.89시간으로 산출되었다. 부패취가 발생되었다고 검지된 저장 시간의 *Pseudomonas*의 수는 저장 온도별 차이가 있었고, 부패하였다고 판단되는 6-7 log CFU/g에 근접한 수치였다. 이는 미생물이 쇠고기의 부패취 발생의 기여도는 있지만, 그 밖에 유통환경의 오염, 지방의 산패, 내인성 효소 등의 요인도 부패취 발생에 기여한다는 것을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부에서 주관하는 농림기술개발연구과제의 일부로 이루어진 바, 이에 감사 드립니다.

참고문헌

AOAC International. 1998. Bacteriological Analytical Manual, Food and Drug Administration 8th ed. USA.

Argaiz A, Perez-Vega O, Lopez-Malo A. 2005. Sensory detection of cooked flavor development during pasteurization of a guava beverage using R-index. *J. Food Sci.* 70: S149 - S152.

Bi J, O'Mahony M. 1995. Table for testing the significance of the R-index. *J. Sens. Stud.* 10: 341-347.

Bi J, O'Mahony M. 2007. Updated and extended table for testing the significance of the R-index. *J. Sens. Stud.* 22: 713 - 720.

Kim G, Lee KJ, Choi KH, Son JR, Kang YC, Chang YC. 2004. Odor analysis for beef freshness estimation with electronic nose. *J. Biosystems Eng.* 29: 317-322

Koutsoumanis K, Stamatiou A, Skandamis P, Nychas G-J. E. 2006. Development of a microbial model for the combined effect of temperature and pH on spoilage of ground meat and validation of the model under dynamic temperature conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 124-134.

Kim WJ, Koo GH. 2003. Sensory Evaluation of Food. Hyoil Publishing Co., Korea, pp. 40-45.

Larmond E. 1982. Laboratory Methods for Sensory Evaluation of Food. Canada Dept of Agriculture. Publication 1637. Ottawa, Canada.

Nattress FM, Jeremiah LE. 2000. Bacterial mediated off-flavours in retail-ready beef after storage in controlled atmospheres. *Food Res. Int.* 33: 743-748.

O'Mahony M. 1992. Understanding discrimination tests: a user-friendly treatment of response bias, rating and ranking R-index tests and their relationship to signal detection theory. *J. Sens. Stud.* 7: 1-47.

Park HJ, Lee SJ. 2008. Sensory detection of off-flavor development during pasteurization of *Aloe vera* gel using R-index. *Food Eng. Prog.* 12: 235-240.

Park KB. 2004. Meat Science. Sunjin Publishing Company, Seoul, Korea, p. 211.

Robinson KM, Klein BP, Lee SY. 2004. Utilizing the R-index measure for threshold testing in model soy isoflavone solutions. *J. Food Sci.* 69: S1-S4.

Robinson KM, Klein BP, Lee SY. 2005. Utilizing the R-index measure for threshold testing in model caffeine solutions. *Food Qual. Prefer.* 16: 283-289.

Shin HY, Ku KJ, Park SK, Song KB. 2006. Use of freshness indicator for determination of freshness and quality change of beef and pork during storage. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 325-330.

Villegas B, Carbonell I, Costell E. 2007. Inulin milk beverages: Sensory difference in thickness and creaminess using R-index analysis of the ranking data. *J. Sens. Stud.* 22: 377-393.

Wilkes JG, Conte ED, Kim YK, Holcomb M, Sutherland JB, Miller DW. 2000. Review sample preparation for the analysis of flavors and off-flavors in foods. *J. Chromatogr. A* 880: 3-33.