



오디 추출물 첨가가 요구르트 스타터 생육에 미치는 영향

서형주* · 김영순 · 김진만¹ · 이호²

고려대학교 식품영양학과 · ¹건국대학교 축산식품생물공학과 · ²경기대학교 식품생물공학과

Effect of Mulberry Extract on the Growth of Yogurt Starter Cultures

Hyung Joo Suh*, Young Soon Kim, Jin Man Kim¹, and Ho Lee²

Department of Food and Nutrition, Korea University

¹Department of Food Science and Biotechnology of Animal Resources, Konkuk University

²Department of Food and Biotechnology, Kyonggi University

Abstract

This experiment was carried out to investigate the effect of mulberry fruit extract on the acid production and growth of lactic acid bacteria. The extract of mulberry fruit was showed a high level of yield with 60% ethanol extraction. Lactic acid bacteria was used in a starter culture of *Lactobacillus casei* YIT9018 and 2782, and *Lactobacillus acidophilus* NCFM. After 24 hr culture in MRS broth added with 1.0, 5.0 and 10% of the extract, 1.0% addition of the extract was showed pH 4.04~4.19, titratable acidity 1.25~1.42%, and 1.2~7.8×10⁹ cfu/mL of viable cell counts. The additions above 1.0% extract (5.0% and 10.0% addition) showed slightly lower effect than 1.0% addition. However, the addition of the extract showed a high effect on the growth of lactic acid bacteria comparing with the control. In yoghurt preparation with the extract, 1% addition of the extract showed a high effect on the growth of lactic acid bacteria. Therefore, it was suggested to manufacture of the yoghurt with the addition of 1% mulberry fruit extract and the inoculation of culture of *Lactobacillus acidophilus* for on the stimulation of growth of the lactic culture.

Key words : mulberry fruit extract, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, yoghurt

서 론

발효유 제조에 관여하는 유산균은 통성 그람 양성균으로 다양한 영양 요구성을 가지며, 균종에 따라 여러 가지 비타민과 무기질, 핵산류 및 질소원으로서 아미노산이나 펩타이드성분을 요구한다. 또한 에너지원이나 젖산 생성을 위해 탄수화물을 필요로 하고 있다. 따라서 유산균들의 발효능은 첨가되는 영양성분에 따라 좌우되는데 이에 관한 연구들로는 채소 추출, 특히 양배추, 고추 및 시금치 첨가에 의한 유산균의 생육인자에 대한 연구 및 토마토 즙 첨가에 의한 생육 증가가 보고되고 있다. 또한 클로렐라 세포질에 의한 *L.*

*acidophilus*의 생육 증진 효과, 구기자 추출물에 의한 *L. casei*의 생육 증진 효과 역시 보고되고 있다(Koo and Chung, 1994; Yun, 1980). 반면 유산균의 생육은 파, 마늘, 고추, 생강의 첨가에 의해 상대적으로 저해되고 있다(Park et al., 1980; Yoo et al., 1978). 따라서 요구르트와 같은 발효식품 제조에서 중요한 유산균들의 생육과 제품의 품질에 영향을 미치는 새로운 기능성 소재들의 개발은 매우 의미가 있으리라 생각된다.

뽕나무 열매인 오디는 색소를 다양 함유한 과실로 포도나 사과와는 달리 과피뿐만 아니라 과육에도 색소를 함유하고 있다. 뽕나무 잎은 그동안 누에의 사료로 이용되어 왔지만, 최근에 잡업의 침체로 뽕나무 잎의 소비가 줄어듬에 따라 뽕나무 재배를 포기하는 농가가 증가하는 추세이다. 따라서 뽕나무의 경제성을 제고하기 위한 다양한 방법이 마련되고 있는데 가운데 오디의 식용 및 새로운 용도로의 이용방안이 적극적으로 강구되고 있다.

* Corresponding author : Hyung Joo Suh, Department of Food and Nutrition, Korea University, Seoul 136-703, Korea. Tel: 82-2-940-2853, Fax: 82-2-941-7825, E-mail: suh1960@unitel.co.kr

소과류에 대한 안토시아닌 성분 분석은 그동안 많이 연구되어 왔지만 오디의 안토시아닌 성질에 대해 보고된 것은 제한적이다. 일반적으로 소과류는 안토시아닌이 주된 색소이며 작물의 종류 및 품종에 따라 색소의 조성이나 함량이 다른 것으로 알려져 있다(Timberlake, 1981).

오디는 주로 안토시아닌 계통의 색소를 가지고 있으며, 그 성분은 cyanidin-3-glucoside와 cyanidin-3-rutinoside가 대부분인 것으로 알려져 있다(Ishikura, 1975). 안토시아닌은 플라보노이드류의 일종으로 소염제, 항알리지제, 면역 증강제, 항바이러스 제 등의 생리활성이 있는 것으로 밝혀졌다(Havsteen, 1983).

본 연구에서는 날로 감소 추세에 있는 뽕나무의 이용성 향상을 위해 오디의 식품 소재화를 꾀하고자, 발효 유제품 제조시 오디 추출물 첨가가 유산균 생육에 미치는 효과를 측정하여 오디의 식품 소재화에 대한 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

재료 및 균주

본 실험에서 사용한 오디는 농업과학기술원 임사곤충부에서 기증받아 -20°C 보관하면서 사용하였다. *Lactobacillus casei* YIT9018과 2782, *Lactobacillus acidophilus* NCFM은 한국 야구르트에서 분양 받아 실험에 사용하였다.

오디 추출물 제조

오디 100 g에 60% 에탄올 1,000 mL를 가하여 마쇄한 후 2시간, 5°C 암소에서 방치하여 색소를 추출하였다. 추출이 끝난 후 Whatman No. 1 여과지를 사용한 Büchner funnel을 사용하여 흡인 여과하였다. 이때 얻어진 색소액을 최종 부피가 100 mL가 될 때까지 갑압농축하여 실험에 사용하였다.

오디 추출물의 유산균 생육에 미치는 영향

24시간 MRS 배지에서 배양한 유산균을 오디 추출물이 1, 5, 10% 함유된 MRS broth에 각각 접종하여 37°C 에서 24시간 배양 후 pH, 산도, 생균수를 측정하였다. pH 측정은 pH meter를 사용하였으며, 총산도는 배양액 10 mL를 취하여 중류수 10 mL로 희석한 후 0.1% phenolphthalein 용액 2~3방울을 가하고 0.1 N NaOH 용액으로 적정하였으며, 적정에 소모된 0.1 N NaOH로부터 젖산 함량 (%)을 계산하였다. 생균수는 배양액을 살균된 0.9% 생리식염수로 10^6 까지 희석한 액을 MRS 한천배지에 접종한 후 37°C 에서 3일간 배양시킨 후 생균수를 측정하였다.

오디 추출물이 발효유 제조에 미치는 영향

오디 추출물을 1% 우유에 첨가한 다음 250 mL 삼각플라

스크에 150 mL를 넣고 85°C 에서 30분간 가열 처리하고 냉각한 후, MRS 배지에서 배양한 유산균 starter를 0.5% 접종하여 37°C 항온기에서 24시간 배양하여 pH, 산도, 생균수를 측정하였다.

결과 및 고찰

오디 추출물의 제조

일반적으로 식물세포로부터 유용성분의 추출을 위해 메탄올과 에탄올을 사용하며, 추출효과를 높이기 위해 염산이나 유기산을 병용하는 경우도 있다(Fuleki and Francis, 1968; Jackman et al., 1987). Kim 등(1996)은 자색 고구마로부터 유용성분의 추출을 위해 0.1% 구연산을 함유한 ethanol 용액을 사용하였으나 본 실험에서는 산의 병용시 잔존하여 유산균의 생육에 저해 효과를 보일 수 있으므로 추출물을 제조하기 위해 에탄올의 함량을 달리하여 추출한 결과(Fig. 1), 에탄올 함량이 60%일 때 가장 높은 흡광도인 8.2를 보였으며, 50%와 70%에서의 농도에서는 4.98과 6.56의 흡광도 값을 보임에 따라 60% 농도의 에탄올에서 가장 높은 추출 효과를 보임을 알 수 있었다. 또한 플라보노이드인 안토시아닌의 추출량은 Fig. 1에서 알 수 있듯이 60% 에탄올에서 90.1 mg/mL의 플라보노이드 함량을 보였으며, 50%와 70% 농도에서는 74.3 mg/mL와 79.3 mg/mL의 함량을 보였다. 따라서 60% 에탄올을 사용하여 오디를 추출하였다.

오디 추출물의 유산균의 생육에 미치는 영향

*L. casei*와 *L. acidophilus*의 생육에 대한 오디 추출물의 효과를 관찰하기 위해 오디 추출물을 1%, 5%, 10% 첨가시킨 후 MRS 배지에 유산균을 접종하여 24시간 배양후에 pH, 총산도 및 생균수를 측정하였다(Table 1, 2, 3).

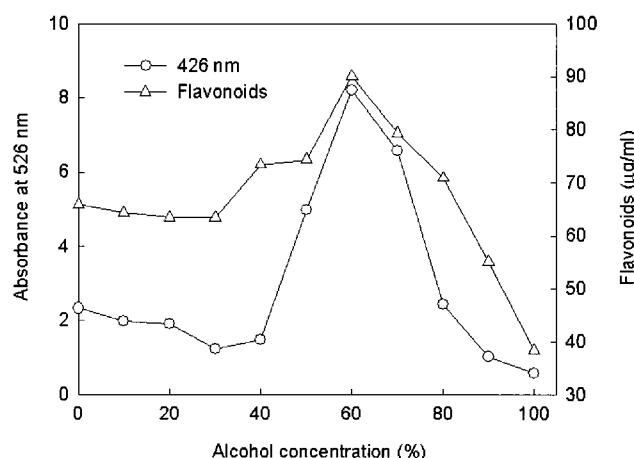


Fig. 1. Absorbance and flavonoids content according to various concentration of alcohol.

Table 1. Final pH of the lactic acid fermented broth with the addition of mulberry fruit extract

| | <i>L. casei</i> 9018 | <i>L. casei</i> 2782 | <i>L. acidophilus</i> NCFM |
|---------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Control | 4.37 | 4.17 | 4.10 |
| 1% | 4.19 | 4.11 | 4.04 |
| 5% | 4.21 | 4.12 | 4.04 |
| 10% | 4.25 | 4.14 | 4.04 |

Table 2. Acidity of the lactic acid fermented broth with the addition of mulberry fruit extract

| | <i>L. casei</i> 9018 | <i>L. casei</i> 2782 | <i>L. acidophilus</i> NCFM |
|---------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Control | 0.99% | 0.99% | 1.27% |
| 1% | 1.25% | 1.32% | 1.42% |
| 5% | 1.17% | 1.25% | 1.38% |
| 10% | 1.03% | 1.22% | 1.27% |

Table 3. Viable cell number of the lactic acid fermented broth with the addition of mulberry fruit extract ($\times 10^9$ CFU/mL)

| | <i>L. casei</i> 9018 | <i>L. casei</i> 2782 | <i>L. acidophilus</i> NCFM |
|---------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Control | 2.3 | 10.2 | 42.0 |
| 1% | 12.5 | 28.0 | 78.0 |
| 5% | 9.7 | 20.6 | 54.3 |
| 10% | 1.8 | 12.2 | 48.0 |

오디 추출물을 첨가하지 않은 군의 pH는 *L. casei* 9018과 2782 군주의 경우 4.37과 4.17의 pH를 보인 반면 오디 추출물의 첨가량이 1%일 때 가장 낮은 pH 4.19와 4.11를 보였으며, *L. acidophilus* NCFM 군주 또한 오디 추출물 무첨가시 pH 4.10에서 오디 추출물 첨가시 pH 4.04로 낮아졌다. 생균수는 오디 추출물 무첨가시 $2.3 \times 10^9 \sim 4.2 \times 10^{10}$ CFU/mL의 생균수를 보인 반면 오디 추출물 첨가시 $1.8 \times 10^9 \sim 7.8 \times 10^{10}$ CFU/mL의 생균수를 보임에 따라 다소 높은 생균수를 보였으나 유의적 차이는 없었으며, pH의 변화와 같이 1% 첨가시 가장 높은 생균수를 보였다. 총산도 역시 오디 추출물 첨가시 총산도가 증가하는 경향을 보였으며, pH나 생균수 측정 시처럼 오디 추출물 1% 첨가시 가장 높은 산도를 보였다. 이 상의 결과에 의하면 오디 추출물 첨가에 따라 유산균의 생육이 증대되는 효과를 보였으나, 5%와 10%로 첨가량이 증가

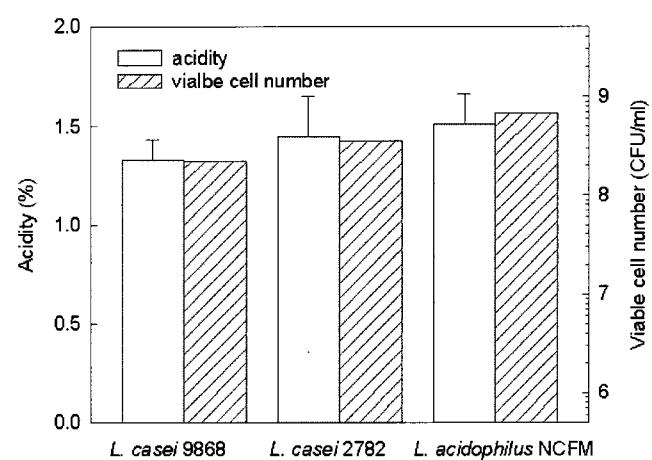
될 때 유산균의 생육이 1% 첨가시에 비해 다소 멀어지는 경향을 보였다. 그러나 5%와 10% 첨가에도 무첨가시 보다 유산균의 생육을 증진시키는 것으로 사료된다. 이러한 결과를 보면 오디 추출물의 첨가는 유산균의 증식을 촉진하여 pH의 저하와 산생성에 영향을 준 것으로 나타났다. 유산균은 영양소의 제한된 생합성 능력을 지니고 있으므로 아미노산, 비타민, purine이나 pyrimidine 등의 복합 영양소를 필요로 한다(Madigan et al., 2003). 따라서 오디 추출물에 함유된 칼륨과 칼슘과 같은 무기질, glutamic acid와 aspartic acid 등의 아미노산, 비타민 중의 ascorbic acid 등과 같은 물질들(Lee et al., 2005)에 의하여 유산균 증식이 다소 촉진된 것으로 생각된다.

오디 추출물이 발효유 제조에 미치는 영향

*L. casei*와 *L. acidophilus*을 이용한 발효유제품 제조시 오디 추출물을 각각 1% 첨가할 때 발효 유제품에 미치는 영향을 측정한 결과(Fig. 2), 오디 추출물을 첨가한 발효 유제품의 산도 및 생균수가 첨가하지 않은 발효 유제품에 비해 높은 경향을 보였다. 오디 추출물 1% 첨가시 산도를 측정한 결과 *L. acidophilus*을 이용한 발효유제품의 산도가 가장 낮은 것으로 나타났으며, 생균수 역시 68.8×10^9 CFU/mL로 가장 많은 생균수를 보였다. 그러나 오디 추출물 투여한 유산균 발효유에서의 생균수는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Bae 등(2004)도 구기자를 첨가한 요구르트에서의 유산균수에서의 유의적 차이를 관찰하지 못하였으며, 영지 추출물(Koo and Chung, 1994)을 첨가한 경우에도 유산균의 성장이 증가되었음을 보고하였다. 이와 같은 결과는 오디 추출물이 유산균의 산생성을 촉진시켜 오디 첨가 요구르트 섭취시 장내 균총의 개선 효과를 기대해 볼 수 있을 것이다.

이상의 결과에 의하면 균에 따라 다소 차이가 있으나 오디 추출물 첨가시 산도나 생균수가 증가되는 것으로 보아 오디

**Fig. 2. Acidity and viable cell number of lactic acid fermented milk with the addition of mulberry extract.**

추출물은 유산균 생육에 바람직한 영향을 미치는 것으로 사료되며, *L. casei*와 *L. acidophilus* 중 *L. acidophilus*의 생육에 좀 더 큰 영향을 미치는 것으로 사료된다.

요 약

발효 유제품 제조에 오디 추출물을 첨가할 때 유산균 생육에 미치는 오디 추출물의 효과를 측정하여 오디의 이용성을 넓히고자 한다. 오디 추출물은 에탄올 함량이 60%일 때 가장 높은 추출 수율을 보였다. *L. casei*와 *L. acidophilus*의 생육에 대한 영향을 측정하기 위해 오디 추출물을 1%, 5%, 10% 첨가시킨 후 MRS 배지에 유산균을 접종하여 24시간 배양후 pH, 총산도 및 생균수를 측정한 결과, 첨가량이 1% 일 때 가장 낮은 pH 4.19와 4.11를 보였으며, 생균수 측정시 오디 추출물 무첨가시 $2.3 \times 10^9 \sim 4.2 \times 10^{10}$ CFU/mL의 생균수를 보인 반면 오디 추출물 첨가시 $1.8 \times 10^9 \sim 7.8 \times 10^{10}$ CFU/mL의 생균수를 보임에 따라 다소 높은 생균수를 보였다. 또한 총산도 역시 오디 추출물 첨가시 증가하는 경향을 보였다. *L. casei*와 *L. acidophilus*을 이용한 발효 유제품 제조시 오디 추출물을 각각 1% 첨가시 발효 유제품에 미치는 영향을 측정한 결과, 오디 추출물을 첨가한 발효 유제품의 산도 및 생균수가 첨가하지 않은 발효 유제품에 비해 높은 경향을 보였다. 오디 추출물 1% 첨가시 산도를 측정한 결과 *L. acidophilus*을 이용한 발효 유제품의 산도가 가장 낮은 것으로 나타났으며, 생균수 역시 6.9×10^{10} CFU/mL로 가장 많은 생균수를 보였다.

참고문헌

- Bae, H. C., Cho, I. S., and Nam, M. S. (2004) Fermentation properties and functionality of yogurt added with *Lycium chinense* Miller. *J. Anim. Sci. Technol.* **46**, 687-700.
- Fuleki, T. and Francis, F. J. (1968) Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. *J. Food Sci.* **33**, 72-77.
- Havesteen, B. (1983) Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.* **32**, 1141-1145.
- Ishikura, N. A. (1975) Survey of anthocyanins in fruits of some Angiosperms. *Int. Bot. Mag.* **88**, 41-45.
- Jackman, R. L., Yada, R. Y., and Tung, M. A. (1987) A review: separation and chemical properties of anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis. *J. Food Biochem.* **11**, 279-308.
- Kim, H. S. and Ahn, S. Y. (1978) Studies on the formation of anthocyanin metal complex. *J. Kor. Agricul. Chem. Soc.* **21**, 22-30.
- Kim, S. J., Rhim, J. W., Lee, L. S., and Lee, J. S. (1996) Extraction and characteristics of purple sweet potato pigment. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 345-351.
- Koo, H. H. and Chung, S. H. (1994) Effects of *Panax ginseng* and *Ganoderma lucidum* extract on the growth of lactic acid bacteria. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **7**, 45-50.
- Lee, J. H., Woo, K. J., Choi, W. S., Kim, A. J., and Kim, M. W. (2005) Quality characteristics of starch *Oddi Dasik* added with mulberry fruit juice. *Korean J. Food Cookery Sci.* **21**, 629-636.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., and Parker, J. (2003) Brock biology of microorganisms. 10th ed, Prentice Hall, NY, pp. 504-506.
- Park, S. O., Yun, O. H., and Kim, H. O. (1980) Studies on the effects of several spices on the growth of *Lactobacillus casei* YIT9018. *Korean J. Anim. Sci.* **22**, 301-309.
- Timberlake, C. F. (1981) Anthocyanins in fruits and vegetables. In "Recent Advances in The Biochemistry of Fruits and Vegetables" Friend, J. and Rhodes, M.J.C. (eds.). Academic Press. London. pp. 221-247.
- Yoo, J. Y., Min, B. Y., Suh, K. B. and Hah, D. M. (1978) Effects of spices on the growth of lactic acid bacteria. *Korean J. Food Sci. Technol.* **10**, 124-135.
- Yun, D. H. (1980) Effect of chlorella cellular powder on the growth of lactic acid bacteria. M.S. Thesis, Korea Univ., Seoul, Korea.

(2006. 3. 9. 접수 ; 2006. 3. 14. 채택)