

Lactobacillus bulgaricus 와 *Streptococcus thermophilus* 의 단독 또는 혼합배양한 메밀싹 첨가 요구르트의 발효 특성

강하니 · 김철재*

숙명여자대학교 생활과학대학 식품영양학전공

Effect of Single or Mixed Culture of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* on Fermentation Characteristics of Buckwheat Sprout-added Yoghurt

Hani Kang, Chul-Jai Kim*

Department of Food & Nutrition, Sookmyung Women's University

Abstract

This study was conducted to evaluate the influence of *Lactobacillus bulgaricus* and/or *Streptococcus thermophilus* on the fermentation of yoghurt containing 5% (w/v) buckwheat sprouts. The results revealed that after 12 hours of fermentation the appropriate pH, titratable acidity and number of viable cells were attained. At that time, the rutin content of the buckwheat sprout-added yoghurt prepared by the mixed culture method was not changed, but the quercetin content increased greatly. Conversely, the rutin content of yoghurt that only contained *Streptococcus thermophilus* was decreased while the quercetin content was increased. The total phenol contents as well as the DPPH radical scavenging activities of both the mixed culture and *Streptococcus thermophilus* yoghurt did not differ significantly. Taken together, the results revealed that the use of a mixed culture of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* during the preparation of buckwheat sprout-added yoghurt was desirable due to the decrease in pH and increase in titratable acidity and viable cells that occurred after 12 hr of fermentation. Moreover, phytochemicals in buckwheat sprouts such as rutin, quercetin and phenol compounds were comparatively increased during fermentation and influenced the antioxidant activity in buckwheat sprout-added yoghurt.

Key Words: yoghurt, buckwheat sprouts, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, rutin, quercetin

1. 서론

유산균은 1857년 프랑스의 유명한 미생물학자 파스퇴르(Louis Pasteur)에 의해서 최초 발견된 미생물로서 발견 당시에는 포도주를 신맛(Sour)이 나게 만드는 백해무익한 균으로 알려졌으나 연구를 통해 인체에 유익한 균으로 발전하게 되었으며(Shahani & Chandan 1979) 지금까지 300~400여 종류가 밝혀졌고 그 중 20여 종류가 주로 발효유 제조 및 발효산업에 이용되고 있다. 유산균을 크게 나누어 분류하면 간균(桿菌) 모양을 한 *Lactobacillus* 속, 구균인 *Lactococcus* 속, *Streptococcus* 속, *Leuconostoc* 속, *Pediococcus* 속 그리고 모양을 먹는 유아의 장내에 주로 많이 존재하며, 부정형이고 Hetero 발효형태로서, 혐기성 박테리아인 *Bifidobacterium* 속으로 대별할 수 있다. Probiotics란 '장내 미생물의 균형을 개선시킴으로서 동물에 유익한 효과를 제공할 수 있는 살아있는 미생물 제제'로 정의할 수 있다(Fuller 1989). 이러한 정의는 그 후 '토착

균총을 개선시킴으로서 인간과 동물에 유익한 하나 또는 다수의 미생물 배양체' 그 의미가 약간 확대되었다(Havenaar 등 1992). 이 미생물 집단은 일반적으로 숙주에 정착하여 유해세균을 억제하거나 배제하거나 산을 생성하거나 병원체의 성장에 항균적 작용을 하는 과산화수소나 박테리옌을 생산하는 능력을 내포하고 있으며, 그 효과로 위장질환의 예방과 면역 증강 및 항돌연변이, 항암 활성 등이 보고되고 있다(Tannock 등 1988; Fuller & Gibson 1997; Kimura 등 1997). 이들 probiotic 세균의 대표적인 미생물로서 유산균은 발효 유제품 및 유산균 정장제 및 생균제 등으로서 널리 사용되고 있고 probiotic 유산균으로 *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecalis*, *Pediococcus acidilactici*,

*Corresponding author: Chul-Jai Kim, Department of Food & Nutrition, Sookmyung Women's University, 52, Hyochangwon-gil, Youngsan-gu, Seoul 140-742, Korea Tel: 82-2-710-9468 Fax: 82-2-710-9479 E-mail: cjkim@sookmyung.ac.kr

Streptococcus thermophilus 등이 있다(Hood & Zottola 1988). 유산균은 β -galactosidase 생성에 의해 유당 대사를 개선하고, 장내 유해균 억제(Yang 등 1999), 장내 정상균총의 유지(Ly 등 2003), 혈중 콜레스테롤 저하(Lee 1997), 면역 증진(Baek 등 1991), 항암(Ahn 등 2006) 등의 건강 증진 효과를 갖는 것으로 보고되고 있다.

메밀(*Fagopyrum esculentum* Moench)은 분류학상 곡류와 구별되지만 일반적으로 잡곡인 여뀌과(Polygonaceae)의 일년생 초본이다. 메밀은 특히 rutin의 함량이 높아 최근 기능성식품으로서 관심이 높아지고 있는데, rutin(Quercetin 3-rutinoside)은 담황색이고 flavonoid계의 flavonol에 속하며 그 외에 quercetin(Quercetin 3-rhamnoside)과 hyperin(Quercetin 3-galactoside)이 있다. 메밀 종실은 발아가 진행됨에 따라 생리적 활성이 증가하고 많은 성분에 변화가 일어나게 되는데 메밀은 발아시 특히 rutin의 함량이 크게 증가한다는 보고가 있다(Kim 등 2005; Lee 등 2008).

따라서 본 연구에서는 유산균 균주를 달리하여, 메밀싹을 첨가한 요구르트 발효시 산 생성과 유산균의 생육에 미치는 영향을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

실험에서 사용한 메밀싹은 내몽고산 단메밀종실을 (주)참한싹에서 암실 재배(온도; 23°C)한 발아 7일차 메밀싹을 이용하였으며, 동결건조하여 분쇄기(MF10B, IKA-Werke GMBH & CO, KG, Staufen, Germany)를 이용하여 분말(1 mesh)로 만든 후 polyethylene 백에 포장하여 4에 보관하면서 시료로 사용하였다.

사용한 우유는 서울우유제품으로 15,000 rpm에서 10분 동안 원심분리(Mega1 7R, Hanil Science Industrial, Seoul, Korea)하며 우유지방을 분리한 탈지유를 멸균하여 사용하였다.

2. 사용 균주

요구르트용 균주는 *Streptococcus thermophilus* KCTC 2185 균주(이하 *S. thermophilus*)와 *Lactobacillus bulgaricus* KCTC 3188 균주(이하 *L. bulgaricus*)를 단독 또는 혼합균주로 사용하였다. 균주는 Lactobacilli MRS broth(Difco Laboratories, Subsidiary of Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 배지에서 37°C, 18시간 2회 계대 배양하여 종균으로 사용하였다.

3. 메밀싹 첨가 요구르트의 제조

원유(서울우유)를 15,000 rpm에서 10분 동안 원심분리(Mega 17R, Hanil Science Industrial, Seoul, Korea)하

여 상등액을 분리한 탈지유를 autoclave(SH-26A, Balman Tech., Seoul, Korea)이용하여 110°C에서 15분간 멸균하였다. 메밀싹을 5%(w/v)로 첨가하여 균질화하고 단독배양인 경우 *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus*를 각각 2%(v/v) (7.08×10^6 CFU/mL, 4.17×10^7 CFU/mL)씩 접종하고 혼합배양인 경우 위 유산균주를 각각 1:1의 비율로 2%(v/v) (3.31×10^7 CFU/mL) 접종하여 37°C에서 24시간동안 배양하였다.

4. pH 및 적정 산도

메밀싹 첨가 요구르트의 pH측정은 시료 5 g에 증류수 45 mL를 가한 후 균질화하고 10 mL를 취해 pH meter(PHF 34, Beckman Instruments Inc., Fullerton, California, USA)를 이용하여 3회 반복 측정하였다. 적정 산도는 시료 10 g에 증류수 10 mL를 취하여 0.1 N NaOH로 pH가 8.3이 될 때까지 적정하여 젯산으로 환산하였다.

5. 생균수 측정

생균수 측정은 시료 1 g에 0.1% peptone water 9 mL를 넣고 균질화 한 후 10진법으로 희석하였다. MRS agar (Difco Laboratories, Subsidiary of Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 배지에 시료를 분주하고 37°C에서 48시간 배양한 다음 형성된 colony 수를 계수하여 시료 당 colony forming unit(log CFU/mL)로 나타내었다.

6. Rutin과 quercetin 분석

Rutin과 quercetin 함량은 Ohara 등(1989)의 방법을 응용하여 50 mL의 volumetric flask에 메밀싹 첨가 요구르트 500 mg, methanol 50 mL를 넣고 50°C에서 90분간 초음파 추출 후 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 HPLC로 분석하였다. 표준물질로 rutin과 quercetin(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하였고 분석 조건은 <Table 1>과 같다.

7. 총 phenol 함량 분석

총 phenol 함량은 Swain 등(1959)을 응용한 Folin-Denis법으로 메밀싹 첨가 요구르트를 일정하게 희석하여

<Table 1> Conditions for HPLC analysis of rutin and quercetin

Item	Condition
Instrument	Agilent 1100 series
Detector	UV 365 nm
Column	Novapak C ₁₈
Mobile phase	2.5% acetic acid : (Methanol : Acetonitrile (1:2)) =75 : 25
Flow rate	1 mL/min
Injection	10 μ L
Temperature	25

0.45 μm membrane filter로 여과하고 125 μL에 증류수 0.5 mL와 Folin-Ciocalteu 시약 125 μL를 첨가하여 혼합한 다음 6분간 반응시켰다. 7% Na₂CO₃ 1.25 mL와 증류수 1 mL를 첨가하여 진탕하고 실온에서 1시간 30분간 방치한 후 분광광도계를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 5~500 μg/mL의 농도로 조제하여 표준검량선 작성에 사용하였다.

8. DPPH radical scavenging활성 측정

메밀싹 첨가 요구르트의 항산화 활성은 DPPH법(Shin 등 2008)을 응용하여 메밀싹 첨가 요구르트 0.3 g에 methanol 10 mL를 넣은 후 5분간 교반하고 상등액을 얻었다. 이 상등액에 methanol을 첨가하여 50 mg/mL 농도로 제조하여 시료 용액으로 사용하였다. 시료 용액 50 μL에 1.5×10⁻⁴ mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액 150 μL을 첨가하여 30분간 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하고 래디칼 소거능(%)을 계산하였다.

9. 통계처리

메밀싹 첨가 요구르트의 실험 결과는 SAS package (version 9.1)를 이용하여 데이터 값을 평균(Mean)과 표준편차(SD)로 표시하였다. 메밀싹 첨가 요구르트의 rutin과 quercetin, 그리고 총 phenol 함량에 대한 각 실험구의 발효 전과 후의 비교는 paired t-test로 분석하였고, 모든 각 실험구 간의 유의성 검증을 위하여 ANOVA로 분석하였으며 사후검증으로 Duncan's multiple range test에 의해 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 요구르트 발효 중 pH 및 적정 산도 변화

메밀싹첨가량의 선정은 0.1%부터 10%까지 나누어 pH와

적정산도를 측정한 결과(Kang 2008), 메밀싹 첨가량이 증가할수록 단시간에 pH를 낮추고 산생성의 촉진으로 적정산도가 높아져 메밀싹 첨가 요구르트 제조에 적합한 것으로 판단되었다. 메밀싹첨가량이 증가할수록 산생성이 촉진됨은 배양인삼(Lee와 Peak 2003), 알로에(Shin 등 1995), 오디추출물(Suh 등 2006)을 첨가하여 제조한 요구르트의 연구결과와 일치하였다. 요구르트에 메밀싹 생리활성물질인 rutin과 quercetin의 다량 함유목적과 경제적으로 이점이 있고, 메밀싹 함량대비 요구르트의 발효특성을 비교적 잘 나타낼 수 있는 5%를 선택하였다.

농도가 10%인 탈지유에 메밀싹 5%(w/v)를 첨가하고 유산균(*L. bulgaricus*, *S. thermophilus*)을 단독 또는 혼합으로 접종하여 37°C에서 24시간 배양하면서 pH의 변화를 측정한 결과는 <Table 2>와 같다. 단독과 혼합 균주를 접종한 경우 모두 시간이 경과함에 따라 pH는 낮아지고 적정산도는 높아졌다.

*S. thermophilus*와 *L. bulgaricus*를 혼합 배양시킨 경우 이들의 공생작용(Galesloot 등 1968; Vergian 등 1968)에 의해 단독배양의 경우보다 산 생성이 증가된다(Lee 등 1988)는 보고와 달리, Shin 등(1995)의 Aloe vera가 첨가된 요구르트 연구에서 *S. thermophilus* 또는 *L. bulgaricus*의 단일균주 또는 혼합균주 사이에 큰 차이가 없었다고 하였는데 이는 본 연구의 결과와 같았으며, 이는 메밀싹 첨가 요구르트 제조시 유산균주의 차이나 단독 또는 혼합의 배양 방법에 있어 pH와 적정 산도에 큰 차이를 나타내지 않는다는 것을 알 수 있었다.

Lee 등(1972)은 한국인의 기호에 맞는 요구르트의 pH는 3.7~4.2라고 보고하였고, Rasic 등(1978)은 적정산도는 0.85~1.20%를 나타낸다고 하여, 본 연구에서는 메밀싹 첨가 요구르트의 단일 또는 혼합균주를 접종한 경우 pH는 발효 12시간 이후부터, 그리고 적정산도는 발효 12시간에서 적절한 pH와 적정산도를 나타내었다.

<Table 2> Changes of pH and titratable acidity in buckwheat sprout-added yoghurt by single and mixed culture of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus*

Starter	Fermentation time (hr)							
	0	3	6	9	12	15	24	
pH	<i>S.</i> ¹⁾	6.17±0.01 ^{A2)B3)}	6.15±0.01 ^{Ba}	6.15±0.01 ^{Ba}	5.68±0.01 ^{Ca}	4.10±0.00 ^{Db}	4.08±0.02 ^{Ea}	3.83±0.01 ^{Fa}
	<i>L.</i> ⁴⁾	6.23±0.01 ^{Aa}	6.19±0.01 ^{Ba}	6.16±0.00 ^{Ca}	5.70±0.00 ^{Da}	4.06±0.02 ^{Eb}	4.00±0.01 ^{Fa}	3.86±0.01 ^{Ga}
	<i>S./L.</i> ⁵⁾	6.26±0.01 ^{Aa}	6.19±0.01 ^{Ba}	6.15±0.00 ^{Ca}	5.17±0.01 ^{Db}	4.21±0.00 ^{Ea}	4.05±0.01 ^{Fa}	3.88±0.02 ^{Ga}
TA ⁶⁾ (%)	<i>S.</i>	0.28±0.01 ^{Da}	0.34±0.01 ^{Da}	0.50±0.03 ^{Cb}	0.59±0.03 ^{Cc}	1.02±0.18 ^{Ba}	1.39±0.05 ^{Aa}	1.49±0.05 ^{Aa}
	<i>L.</i>	0.29±0.01 ^{Da}	0.34±0.01 ^{Da}	0.54±0.02 ^{Ca}	0.64±0.04 ^{Ca}	0.97±0.16 ^{Bb}	1.36±0.05 ^{Ab}	1.36±0.06 ^{Ab}
	<i>S./L.</i>	0.28±0.03 ^{Fb}	0.30±0.03 ^{Fb}	0.48±0.01 ^{Ec}	0.62±0.09 ^{Db}	0.79±0.02 ^{Cc}	1.27±0.04 ^{Bc}	1.37±0.05 ^{Ab}

¹⁾*S.* denotes *Streptococcus thermophilus*.

²⁾Values in different superscript capital letters in the same row are significantly different (p<0.05).

³⁾Values in different superscript small letters in the same column are significantly different (p<0.05).

⁴⁾*L.* denotes *Lactobacillus bulgaricus*.

⁵⁾*S./L.* denotes *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*.

⁶⁾TA denotes titratable acidity.

2. 요구르트 발효 중 생균수 변화

유산균에 따른 배양 시간별 생균수 변화를 측정한 결과는 <Table 3>과 같다. 배양시간이 경과함에 따라 생균수는 증가하였다. 배양시간 6시간까지는 *S. thermophilus*의 경우가 7.0×10^6 CFU/mL, 2.9×10^7 CFU/mL, 1.6×10^7 CFU/mL으로 *L. bulgaricus*와 혼합균주의 경우보다 생균수가 적었고, 배양 9시간에서 12시간에서는 혼합균주의 경우가 2.6×10^8 CFU/mL, 6.0×10^8 CFU/mL으로 생균수가 많았으며, 배양 15시간에서 24시간에서는 *L. bulgaricus*의 경우가 9.0×10^8 CFU/mL, 2.3×10^9 CFU/mL으로 *S. thermophilus*와 혼합균주의 경우보다 생균수가 적게 나타나 유의적 차이가 있었다. 그리고 단일 또는 혼합균주 모두 배양 9시간 이후에는 유산균수가 식품공전에 제시되어 있는 유산균수 기준인 1.0×10^8 CFU/mL 이상을 만족하였다. 따라서 단일 또는 혼합균주를 접종한 메밀싹 첨가 요구르트는 pH, 적정산도, 유산균수를 고려하여 발효 완료시간을 12시간으로 정하였다.

3. 요구르트의 발효 전과 후의 rutin과 quercetin 함량 변화

Rutin과 quercetin은 flavonoid의 일종인 생리활성 물질이다. 단일 또는 혼합균주를 접종한 메밀싹 첨가 요구르트의 rutin과 quercetin 함량은 발효 전과 후로 나누어 비교한 결과는 <Table 4>에 나타내었다.

단일 또는 혼합균주를 접종한 메밀싹 첨가 요구르트를 발효 전과 12시간 발효한 분석결과, rutin 함량은 유산균에

의한 발효과정을 거치면서 그 함량이 감소하였지만 접종한 유산균에 따라 함량 차이가 있었다. *S. thermophilus*의 경우 발효 전 70.18 mg/100 g에서 발효 후 41.65 mg/100 g으로($p < 0.001$), *L. bulgaricus*의 경우 발효 전 73.63 mg/100 g에서 발효 후 40.28 mg/100 g으로($p < 0.05$) 유의적 차이가 분석되었다. 그러나 혼합균주의 경우 발효 전 73.26 mg/100 g에서 발효 후 75.23 mg/100 g으로 유의적 차이가 없었다. Quercetin 함량은 발효과정이 이루어지면서 증가하였다. *S. thermophilus*의 경우 발효 전 3.31 mg/100 g에서 발효 후 6.57 mg/100 g으로($p < 0.01$), *L. bulgaricus*의 경우 발효 전 3.40 mg/100 g에서 발효 후 6.72 mg/100 g으로($p < 0.01$), 혼합균주의 경우 발효 전 3.28 mg/100 g에서 발효 후 11.07 mg/100 g으로($p < 0.001$) 유의적 차이가 분석되었다. 단독균주의 경우 발효를 거치면서 rutin은 감소하고 quercetin은 증가하였는데 이는 rutin에서 quercetin이 분리되는 유산균이 작용하였음을 보여주며, 이와 달리 혼합균주의 경우 rutin의 함량변화가 없었으나 quercetin의 함량은 크게 증가하였는데 이는 rutin에서 quercetin이 분리되는 과정에 있어 혼합균주의 작용에 대한 추가적 연구가 필요하다고 사료된다.

4. 요구르트의 발효 전과 후의 총 phenol 함량변화

단일 또는 혼합균주를 접종한 메밀싹 첨가 요구르트를 발효 전과 12시간 발효한 총 phenol 함량 결과는 <Table 5>에 나타내었다.

<Table 3> Changes in viable cell counts (log CFU/mL) of single and mixed culture of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* in yoghurt added with buckwheat sprouts

Starter	Fermentation time (hr)						
	0	3	6	9	12	15	24
<i>S.</i> ¹⁾	6.85±1.91 ^{G2)B3)}	7.46±0.19 ^{Ec}	7.20±1.35 ^{Fc}	8.28±1.15 ^{Db}	8.77±0.33 ^{Ca}	9.89±1.23 ^{Ba}	9.93±1.16 ^{Ab}
<i>L.</i> ⁴⁾	7.62±0.57 ^{Ga}	7.87±0.09 ^{Ea}	7.72±0.33 ^{Fa}	8.04±0.07 ^{Dc}	8.70±0.21 ^{Cb}	8.95±0.19 ^{Bc}	9.36±0.67 ^{Ac}
<i>S./L.</i> ⁵⁾	7.52±2.14 ^{Fa}	7.73±0.24 ^{Eb}	7.50±1.27 ^{Fb}	8.41±0.18 ^{Da}	8.78±0.36 ^{Ca}	9.04±0.67 ^{Bb}	10.23±0.09 ^{Aa}

¹⁾*S.* denotes *Streptococcus thermophilus*.

²⁾Values in different superscript capital letters in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

³⁾Values in different superscript small letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

⁴⁾*L.* denotes *Lactobacillus bulgaricus*.

⁵⁾*S./L.* denotes *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*.

<Table 4> Changes of rutin and quercetin contents in buckwheat sprout-added yoghurt before and after fermentation (mg/100 g)

Starter	Rutin		Quercetin	
	Before	After ¹⁾	Before	After
<i>S.</i> ²⁾	70.18±0.01 ^{b3)}	41.65±0.04 ^{b***4)}	3.31±0.04 ^b	6.57±0.06 ^{b**}
<i>L.</i> ⁵⁾	73.63±1.23 ^a	40.28±0.19 ^{c*}	3.40±0.01 ^a	6.72±0.02 ^{b**}
<i>S./L.</i> ⁶⁾	73.26±5.01 ^a	75.23±0.55 ^a	3.28±0.06 ^c	11.07±0.08 ^{a***}

¹⁾12-hour after fermentation.

²⁾*S.* denotes *Streptococcus thermophilus*.

³⁾Values in different superscript small letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

⁴⁾Values in the same row are significantly different (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

⁵⁾*L.* denotes *Lactobacillus bulgaricus*.

⁶⁾*S./L.* denotes *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*.

<Table 5> Influence of fermentation on total phenol contents in buckwheat sprout-added yoghurt

Starter	Total phenol (mg/100 g)	
	Before	After ¹⁾
<i>S.</i> ²⁾	105.59±0.00 ^{c3)}	187.09±0.28 ^{a****4)}
<i>L.</i> ⁵⁾	119.91±0.28 ^b	178.41±0.28 ^{b****}
<i>S./L.</i> ⁶⁾	134.69±0.00 ^a	186.65±0.00 ^{a****}

¹⁾12-hour after fermentation.
²⁾*S.* denotes *Streptococcus thermophilus*.
³⁾Values in different superscript small letters in the same column are significantly different (p<0.05).
⁴⁾Values in the same row are significantly different (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)
⁵⁾*L.* denotes *Lactobacillus bulgaricus*.
⁶⁾*S./L.* denotes *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*.

단일 또는 혼합균주의 경우 모두 발효과정을 거치면서 총 phenol 함량이 유의적으로 증가하였다. 발효 후, 총 phenol 함량이 *S. thermophilus*와 혼합균주의 경우 각각 186.65 mg/100 g과 186.65 mg/100 g이었고 *L. bulgaricus*의 경우 178.41 mg/100 g으로 유의적인 차이가 있었다.

혼합균주의 경우 발효 후 rutin과 quercetin 함량도 많았는데 총 phenol 함량도 많았다. 그에 반해 *S. thermophilus*의 경우 총 phenol 함량이 혼합균주와 비슷한데 이는 rutin과 quercetin의 함량은 낮은 것으로 보아 다른 페놀화합물인 것으로 추정되며 페놀화합물에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 판단된다. 따라서 메밀싹 첨가 요구르트는 rutin, quercetin 및 페놀화합물을 함유하여 생리활성과 같은 기능성식품으로써 이용 가치가 있다.

5. 요구르트의 항산화 활성변화

단일 또는 혼합균주를 접종한 메밀싹 첨가 요구르트를 발효 전과 12시간 발효하여 항산화 활성을 측정한 결과는 <Table 6>에 나타내었다. *S. thermophilus*의 경우 래디컬 소거능은 40.95%, 의 경우 래디컬 소거능은 23.81%, 혼합균주의 경우 래디컬 소거능은 37.14%로 *S. thermophilus*와 혼합균주는 *L. bulgaricus*와 유의적인 차이가 있었다. 이는 발아한 메밀이 천연 항산화제인 vitamin C보다 약하지만 합성 항산화제인 BHT보다는 월등히 뛰어난 래디컬 소거능이 확인되었다(Hwang 등 2006)고 보고한 연구가 메밀싹의 항산화 활성에 대해 뒷받침 해주고 있다. 그리고 *S. thermophilus* 및 *L. bulgaricus*의 유산균 배양 세포 추출액에서도 항산화 활성이 있다(Lin 등 1999)고 하였으며, 또한 단감분말 첨가 발효유의 항산화 활성 연구(Cho 등 2003)에서 단감분말속 잔여 polyphenol 화합물에 의하여 항산화 활성을 나타낸 것으로 추정하는데, 메밀싹 첨가 요구르트 역시 항산화 활성은 유산균주와 메밀싹 속에 함유하고 있는 rutin, quercetin, 페놀화합물의 작용인 것으로 추정할 수 있다.

<Table 6> DPPH radical scavenging activity of buckwheat sprout-added yoghurt by single or mixed culture of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus*

Starter	Free radical scavenging activity(%) ¹⁾
<i>S. thermophilus</i>	40.95±3.30 ^{a2)}
<i>L. bulgaricus</i>	23.81±1.65 ^b
<i>S. thermophilus/L. bulgaricus</i>	37.14±0.00 ^a

¹⁾Free radical scavenging activity is measured at 12-hour after fermentation.
²⁾Values in different superscripts in a column are significantly different (p<0.05).

IV. 요약 및 결론

유산균주(*L. bulgaricus*, *S. thermophilus*)를 단독 또는 혼합 접종한 메밀싹 5%(w/v) 첨가 요구르트를 제조하여 배양기간 동안 pH, 적정 산도, 유산균수의 변화를 측정하였고 rutin, quercetin, 총 phenol 함량을 분석하였다. 배양시간이 경과함에 따라 단독과 혼합배양에서 모두 pH는 낮아지고 적정 산도는 높아졌으며 유산균수는 증가하였다. 혼합 배양시킨 경우 공생작용에 의해 단독배양의 경우보다 산생성이 증가된다는 보고와 본 실험의 결과에 차이가 있었는데, 이것으로 메밀싹 첨가 요구르트 제조시 유산균주의 차이나 단독 또는 혼합의 배양방법에 있어 pH와 적정 산도에 큰 차이를 나타내지 않는다는 것을 알 수 있었다. 그리고 pH, 적정 산도, 유산균수에 따라 발효시간을 12시간으로 정했다. 혼합균주를 접종하여 12시간 발효한 메밀싹 요구르트의 발효 전과 후를 비교한 결과, rutin의 함량은 변화가 없었으나 quercetin은 크게 증가하였고, 반면 *S. thermophilus*를 단독균주를 접종하여 12시간 발효한 메밀싹 요구르트의 발효 전과 후를 비교한 결과, rutin의 함량은 감소하였고 quercetin의 함량은 증가하였지만 총 phenol 함량이 유사한 것으로 보아 다른 종류의 페놀화합물이 생성되었으며, 이는 rutin에서 quercetin이 분리되는 과정에서 혼합균주의 작용이 더 큰 것으로 사료된다. 또한 혼합균주와 *S. thermophilus* 단독균주를 접종하여 12시간 발효한 메밀싹 요구르트의 경우 DPPH radical scavenging 활성은 각각 37.14%와 40.95%로 나타났으나 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 메밀싹은 유산균 발효 과정에서 pH는 낮추고 적정 산도는 높이며 유산균수는 증가시켰고, 메밀싹의 기능성 성분인 rutin, quercetin, 페놀화합물이 많으며 항산화 활성 작용이 있는 혼합균주의 접종이 더 바람직하다고 판단된다.

■ 참고문헌

Ahn, YT, Lim KS, Huh CS. 2006. Current state of functional yoghurt in Korea. Korean J. Dairy Technol. and Sci., 46(4):677-686

- Baek YJ, Bae HS, Kim HY. 1991. *In vivo* antitumor effects of lactic acid bacteria on Sarcoma 180 and mouse Lewis Lung Carcinoma. *Cancer Research and Treatment*, 23(2):188-197
- Cho YS, Kwon OC, Ok M, Shin SR. 2003. Preparation of yogurt supplemented with sweet persimmon powder and quality characteristics. *Korean J. Food Preservation*, 10(2):175-181
- Fuller R. 1989. Probiotics of man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, 66:365-378
- Fuller R, Gibson GR. 1997. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. *Scand. J. Gastroenterol.*, 222:28-31
- Galeslout, TE, Hassing, F, Vergian, HA. 1968. Symbiosis in yoghurt (I). Stimulation of *L. bulgaricus* by factor produced by *S. thermophilus*. *Neth. Milk and Dairy J.*, 22:50
- Havenaar R, Brink BT, Huis in't Veld JHJ. 1992. Selection of strains for probiotics use. *Probiotics*. R. Fuller, ed. Chapman & Hall, London, pp 209-224
- Hood SK, Zottola EA. 1988. Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells. *J. Food Sci.*, 53:1541-1561
- Hwang EJ, Lee SY, Kwon SJ, Park MH, Boo HO. 2006. Antioxidative, antimicrobial and cytotoxic activities of *Fagopyrum esculentum* Moench extract in germinated seeds. *Korean J. Medical Crop. Sci.*, 14(1):1-7
- Kang HN, 2008. Preparation of Yoghurt with Addition of Buckwheat Sprout and its Fermentation Characteristics. Masters degree thesis. Sookmyung Women's University
- Kim YS, Kim JG, Lee YS, Kang IJ. 2005. Comparison of the chemical components of buckwheat seed and sprout. *Korean J. Soc. Food Sci. Nutri.*, 34(1):81-86
- Kimura K, McCartney AL, McConell MA, Tannock GW. 1997. Analysis of fecal populations of bifidobacteria and lactobacilli and investigation of the immunological response of their human hosts to the predominant strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:3394-3398
- Lee EH, Kim CJ. 2008. Nutritional changes of buckwheat during germination. *Korean J. Food Culture*, 23(1):121-129
- Lee LS, Paek KY. 2003. Preparation and quality characteristics of yoghurt added with cultured ginseng. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 35:235-241
- Lee JS, Han PJ, Suh KB. 1972. Studies on production of modified yoghurt (soy cream) from soybean milk (I). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 4(3):194-199
- Lee, SH, Koo, YJ, Shin DH. 1988. Pysicochemical and bacteriological properties of yoghurt made by single or mixed cultures of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 20(2):140-147
- Lee YW. 1997. Effect of fermented milk on the blood cholesterol level of Korean. *J. Fd Hyg. Safety*, 12(1):83-96
- Lin MY, Yen CL. 1999. Reactive oxygen species and lipid peroxidation product-scavenging ability of yoghurt organisms. *J. Dairy Sci.*, 82:1629-1634
- Ly SY, Shin JR, Lim SH. 2003. Effect of drinking fermented milk on the improvement of defecation in constipated female students. *Korean J. Living Sci. Association*, 12(2):265-274
- Ohara T, Ohinata H, Muramatsu N, Matsuhashi T. 1989. Determination of rutin in buckwheat foods by high performance liquid chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 36:114-117
- Rasic JL, Kurmann JA. 1978. Yoghurt. Technical Dairy Publishing House. Copenhagen, 103
- Shahani KM, Chandan RC. 1979. Nutritional and healthful aspects of cultured and culture containing dairy foods. *J. Dairy Sci.*, 62:1685-1694
- Shin YM, Son CW, Sim HJ, Kim MH. 2008. Quality characteristics and antioxidant activity of Spirulina added yoghurt. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.*, 24(1):68-75
- Shin YS, Lee KS, Lee JS, Lee CH. 1995. Preparation of yogurt added with Aloe vera and its quality characteristics. *Korean J. Soc. Food Sci. Nutri.*, 24(2):254-260
- Suh HJ, Kim YS, Kim JM, Lee H. 2006. Effect of mulberry extract on the growth of yoghurt starter cultures. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 26:144-147
- Swain T, Hillis WE, Oritega M. 1959. Phenolic constituents of *Ptunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agri.*, 10:83-88
- Tannock GW, Crichton C, Welling GW, Koopman JP, Midtvedt T. 1988. Reconstitution of the gastrointestinal microflora of lactobacillus-free mice. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:2971-2975
- Vergian, HA., Galeslout, TE, Davelaar, H. 1968. Symbiosis in yoghurt (II). Isolation and identification of a growth factor for *L. bulgaricus* produced by *S. thermophilus*. *Neth. Milk and Dairy J.*, 22:115
- Yang SJ, Yoon JW, Seo KS, Koo HC, Kim SH, Bae HS, Baek YJ, Park YH. 1999. Prophylactic effects of *Bifidobacterium longum* HY8001 against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* DT104 enteric infection and evaluation of vero cytotoxin neutralizing effects. *Korean Soc. Microbiol. Biotechnol.*, 27(5):419-426