

Monascus sp.와 Lactobacillus sp.를 이용한 2단 발효마 분말 첨가 요구르트의 생리활성 효과

전춘표¹ · 이중복² · 최충식³ · 권기석^{4*}

¹안동과학대학 의약품질분석과, ²건동대학교 안경광학과, ³(주)한스바이오, ⁴안동대학교 생명자원과학부

Physiological Effect of Yogurt with Powder Two Stage Fermented *Dioscorea batatas* Dence by *Monascus* sp. and *Lactobacillus* sp.

Chun-Pyo Jeon¹, Jung-Bok Lee², Chung-Sig Choi³, and Gi-Seok Kwon^{4*}

¹Department of Medicine Quality Analysis, Andong Science College, Andong 760-709, Republic of Korea

²Department of Optometry, Kundong University, Andong 760-833, Republic of Korea

³Bio Industry Institute, HansBio Co.,Ltd., Andong 760-883, Republic of Korea

⁴School of Bioresource Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Republic of Korea

(Received June 7, 2011 / Accepted June 28, 2011)

This study was to examine the quality characteristics and biological activities of the yogurt containing dual fermentation MFCY (*Monascus*-Fermented Chinese Yam) powder. Six different contents (0, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, and 2.0%, w/v) of MFCY powder were added to raw milk and 5% skim milk followed by fermentation with lactic acid bacteria at 37°C for 12 h, and then the biological activities of the samples were investigated. Biological activities of the prepared yogurt were evaluated for acid production (pH, titratable acidity), number of viable cells, total polyphenol contents, DPPH radical scavenging activity, reducing power, angiotensin converting enzyme inhibitory effects and GABA contents. In this study, the results show that after fermentation in raw milk and 5% skim milk added with MFCY powder. The yogurt can produced pH, titratable acidity, number of viable cells, total polyphenol contents, DPPH radical scavenging activity and reducing power at 4.12-4.25 (pH), 0.94-0.97% (TA), 7.50×10^9 - 1.14×10^{10} CFU/ml, 161.4-329.9 (TP, mg/L), 54-94% (DPPH), and 1.13-1.53 (R.P), respectively. In addition, the showed ACE inhibitory activity and GABA contents was 67.1-87.7% and 304.6-685.4 (mg/L).

Keywords: biological activities, dual-fermented Chinese yam, GABA, yogurt

요구르트(yogurt)는 원유 또는 탈지유를 젖산균, 효모로 발효시켜 만든 유제품으로 산미와 향미가 강화되었으며 우유 성분 이외에 젖산균이 생산하는 lactic acid, peptone 및 peptide 등이 함유되어 있고, 생리활성물질을 비롯한 젖산균의 장내증식으로 인한 정장작용 등으로 건강증진효과가 있어 수요가 꾸준히 증가하고 있으며(15), 젖산균의 주요 특성으로 장내 정상균총의 유지(35), 면역증진(4), 항암 효과(1), 장내 유해균 억제(47) 및 혈중 콜레스테롤 저하(36) 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 최근 들어 기능성 식품에 대한 소비자들의 관심이 높아짐에 따라 기존의 요구르트가 가지는 기능성 외에

천연의 식품소재를 이용하여 생리활성이 강화된 요구르트를 제조하려는 연구가 활발히 진행되고 있는데, 마가 열수추출물(10), 버찌 분말(25), 메밀싹(23), 오디추출물(45), 홍삼추출물(27), 구기자 추출액(2), 마늘 분말(8) 및 흑마늘 농축액(43) 첨가 등의 연구가 있다.

마(*Dioscorea* sp.)는 다년생 덩굴성 초본으로 전세계의 열대 및 아열대지방에서 널리 분포하는 식량 작물로서(41), 한방에서는 자양, 강장, 폐결핵 등에 유효하고 소염, 해독, 진해, 거담, 이뇨, 신경통, 류마티즘에 효과가 있는 것으로 알려져 있으며(22), 우리나라의 전체 생산량 중 약 70% 정도가 경북 북부지역에서 생산되고 있다. 마(*Dioscorea batatas* Dence)의 주요 성분으로는 전분이 생체중의 8-24%, 점질물이 0.6-2.4%를 차지하며, 약용성분으로는 amylose, cholin, saponin 등이

* For correspondence. E-mail: gskwon@andong.ac.kr; Tel: +82-54-820-5909; Fax: +82-54-820-6252

포함되어 있다(24). 한편 마의 주요 약용성분으로 알려진 steroidal saponin은 세포의 DNA 돌연변이를 방지하는 항돌연변이성 작용(32), 항암 및 항염증 작용 등 다양한 생리활성에 관여하는 것으로 알려져 있다(3). 마의 기능성에 관한 연구로 마 점질물이 중금속 제거능과 Angiotensin Converting Enzyme (ACE) 저해효과를 나타낸다는 보고(16)와, 콜레스테롤 저해효과, 지질 분해효소 저해활성 및 항돌연변이 활성 등이 보고되어 있다(28, 29, 30). 그러나 마를 이용한 발효식품과 요구르트 제조에 관한 연구는 Lee 등(31), Kim 등(26), Lee 등(33) 및 Lee 등(34)의 연구 외에는 거의 없는 실정이다. 특히 *Monascus* 속 균주를 활용한 발효마 분말 첨가 요구르트 제조에 대한 연구는 전무하여 특정 발효식품에서 마의 활용적인 측면에서 연구가 시급한 실정이다.

따라서 본 연구는 마 가공식품 연구의 일환으로 진행되었으며, 동시에 새로운 기능이 부여된 발효마 함유 요구르트의 제조공정을 확립하는데 필요한 기초자료를 확보하기 위하여 수행되었다. 또한 뛰어난 약리적인 효과가 있는 홍국균(*Monascus* sp.)과 젖산균을 이용하여 마의 2단 발효를 통해 얻어진 발효마 분말을 첨가한 요구르트 발효과정에서 젖산균의 생육에 미치는 영향과 GABA (γ -aminobutyric acid) 함량 변화 및 항산화활성 등의 생리활성 효과의 변화를 조사하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에 사용한 발효마 분말은 *Monascus* sp. MK2와 *Lactobacillus brevis* HLJ59를 이용한 2단 발효한 마를 60°C에서 향량이 되게 건조한 후 분말화하였으며, 냉암소에 보관하면서 사용하였다. 요구르트 제조에 사용된 우유와 탈지분유는 서울우유(Seoul Milk Co., Ltd., Korea)에서 생산된 제품을 사용하였고, Folin-ciocalteu's phenol reagent, DPPH, tannic acid, GABA (γ -aminobutyric acid), angiotensin converting enzyme (ACE), hippuril-L-histidine-L-leucine (HHL) 등은 Sigma-Aldrich (USA)에서 구입하여 사용하였으며, 그 외의 시약은 특급 및 일급 시약을 사용하였다.

사용 균주

본 실험에 사용한 균주는 한국생명공학연구원에서 분양 받은 표준균주 및 본 연구실에서 신규 분리한 균주들 중에서 *Lactobacillus acidophilus* KCTC3171, *Lactobacillus plantarum* KCTC3107 및 *Lactobacillus brevis* HLJ59 (20)를 사용하였으며, *Lactobacilli* MRS broth (Difco, USA)에 접종하고 37°C에서 24시간 2회 계대배양하여 균주를 활성화시킨 후 starter로 사용하였다.

요구르트의 제조

2단 발효마 분말 첨가 요구르트의 제조를 위한 첨가비율은 예비실험을 통해 0, 0.1, 0.3, 0.5, 1 및 2% (w/v)로 결정하였

으며, Raw Milk (원유)와 5% 탈지분유에 2단 발효마 분말을 농도별로 각각 첨가하여 균질화 한 다음 100°C에서 30분간 살균하였다. 살균된 기질을 실온으로 냉각시킨 후 starter를 2% (*Lactobacillus acidophilus* KCTC3171, *Lactobacillus plantarum* KCTC3107 및 *Lactobacillus brevis* HLJ59, 1:1:1, v/v) 접종하여 37°C에서 12시간 발효시켰다. 발효가 끝난 후에는 저장온도 4°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

pH 및 적정산도(titratable acidity)

2단 발효마 분말 첨가 요구르트의 pH는 pH meter (Orion, model 420A, USA)를 이용하여 3회 반복 측정하였으며, 적정산도는 시료 10 g에 동량의 증류수를 가하여 1% phenolphthalein을 3방울을 가한 후 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 옅은 홍색이 30초간 유지되는 시점에서의 소비량을 측정하여 그 적정값을 lactic acid 함량(%)으로 환산하여 표시하였다.

젖산균수 측정

2단 발효마 분말 첨가 요구르트의 젖산균수 측정은 시료 1 g에 멸균 식염수 9 ml을 넣고 균질화 한 후 10진법으로 희석하여, *Lactobacilli* MRS agar (Difco) 평판배지에 시료를 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 뒤 생성된 집락수를 계수하여 시료 1 ml당 CFU (colony forming unit)로 나타내었다.

총 폴리페놀 함량

2단 발효마 분말 첨가 요구르트의 총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis법(46)을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 원심분리한 상등액의 농도별 시료 50 μ l에 2% Na₂CO₃ 용액 1 ml을 가하고, Folin & Ciocalteu's phenol reagents 50 μ l를 혼합한 다음 실온에서 30분간 반응시킨 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 tannic acid (Sigma Co., USA)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 작성한 검량선으로부터 총 폴리페놀 함량을 계산하였다.

DPPH radical 소거활성

2단 발효마 분말 첨가 요구르트의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거활성은 Blois 등(5)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 원심분리한 상등액의 농도별 시료 200 μ l에 DPPH 용액을 800 μ l를 가하여 혼합한 다음 실온에서 10분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 DPPH radical 소거활성은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 비교하여 나타내었으며, 양성대조군으로 ascorbic acid를 사용하였다.

환원력(reducing power) 측정

2단 발효마 분말 첨가 요구르트의 환원력 측정은 Ferreira 등(12)의 방법을 응용하여 측정하였다. 원심분리한 상등액의 농도별 시료 1 ml에 200 mM 인산 완충용액(pH 6.6) 및 1%의 potassium ferricyanide 1 ml를 차례로 가한 다음 50°C에서 30분간 반응하였다. 여기에 10% TCA 용액 1 ml을 가하

여 반응을 정지 시킨 다음 10,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 얻은 상등액 1 ml에 증류수 및 ferric chloride 용액을 각 1 ml씩 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 환원력을 흡광도 값으로 나타내었다.

ACE 저해활성

2단 발효마 분말 첨가 요구르트의 ACE 저해활성의 측정은 Cushman과 Cheung의 방법(11)을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 원심분리한 상등액의 농도별 시료 100 μ l에 100 mM sodium borate buffer (pH 8.3) 100 μ l를 가한 후, 37°C에서 5분간 전배양시켰다. 여기에 기질로서 hippuril-L-histidine-L-leucine (HLL, Sigma) 용액 50 μ l를 가하여 다시 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 250 μ l를 가하여 반응을 정지시켰다. 여기에 ethyl acetate 1 ml를 가하여 30초간 vortexing 한 다음 3,000 rpm으로 15분간 원심분리 한 후 상등액 800 μ l를 취하였다. 이 상등액을 120°C에서 40분간 완전히 건조시킨 후 동일조건인 100 mM sodium borate buffer (pH 8.3) 1 μ l을 가하여 완전히 용해시켜 228 nm에서 흡광도를 측정하여 ACE 저해활성을 계산하였다.

GABA 함량

2단 발효마 분말 첨가 요구르트의 GABA 함량 측정은 아미노산분석기(Amino acid analyzer, Sykam, Germany)를 이용하여 정량분석하였다. 발효가 완료된 요구르트를 12,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 0.45 μ m membrane (Milipore, Co.)으로 여과한 후 상등액을 분석용 시료로 사용하였다.

결과 및 고찰

2단 발효마 분말 첨가에 따른 pH와 적정산도의 변화

2단 발효마 분말을 농도별(0, 0.1, 0.3, 0.5, 1 및 2%, w/v)로 Raw Milk (원유)와 5% 탈지분유에 첨가하고 혼합 starter를 접종하여 37°C에서 12시간 발효 하였을 때 발효에 따른 pH와 적정산도의 변화를 측정하였다. 2단 발효마 분말 첨가에 따른 요구르트의 pH는 Table 1과 같이 무첨가군의 경우 pH 4.05와 비교시 2단 발효마 분말 첨가 농도에 따라 높아졌으며 (pH 4.12-4.25), 2단 발효마 분말 첨가량에 비례하였다. 2단

발효마 분말 첨가에 따른 요구르트의 적정산도는 Table 1과 같이 무첨가군의 경우 0.92%와 비교시 2단 발효마 분말 첨가 농도에 따라 적정산도 또한 0.94-0.97%로 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Cho 등(8)의 결과에서와 같이 마늘 분말의 첨가 농도가 높아질수록 요구르트의 pH 또한 비례적으로 높아졌다는 결과와 같았고 요구르트의 바람직한 pH 범위는 3.27-4.53 사이라는 Chamber (6)의 보고와 일치하였으며, 적정산도는 Rasic 등(42)이 보고한 0.85-1.20% 범위라는 보고에 적합한 것으로 나타났다.

2단 발효마 분말 첨가에 따른 젖산균수의 변화

2단 발효마 분말 농도별(0, 0.1, 0.3, 0.5, 1 및 2%, w/v) 첨가에 따른 요구르트의 젖산균수의 변화는 Table 1과 같이 2단 발효마 분말의 첨가 농도가 높아질수록 젖산균수 또한 증가하다가 0.5% 첨가시 1.14×10^{10} CFU/ml로 가장 높은 젖산균수를 나타내었으며, 이후 첨가 농도에서는 점차 감소하는 것으로 나타났다. 현행 우리나라의 요구르트 축산물 가공 기준 및 성분 규격에 의하면 농후 발효유의 총 젖산균수는 1.0×10^8 CFU/ml 이상으로 규정하고 있으며, 본 실험의 결과에서도 무첨가군 및 2단 발효마 분말 첨가군 모두에서 젖산균수는 적정 범위 이상이므로 성분규격에 적합함을 알 수 있었다. 이상의 결과를 보면 2단 발효마 분말의 첨가에 따라 젖산균의 생육이 증대되는 효과를 보였으나 1%와 2%로 첨가량이 증가 될 때 젖산균의 생육이 0.5% 첨가시에 비해 다소 낮아지는 결과를 보였다. 그러나 1%와 2% 첨가시에도 무첨가군과 비교시 젖산균의 생육을 증진시킨 것으로 나타났으며, 이것은 2단 발효마 분말에 포함되어 있는 여러 물질들이 젖산균의 증식을 촉진하는 것으로 생각되며 이들 물질에 대한 추가 연구가 필요한 것으로 사료된다.

2단 발효마 분말 첨가에 따른 총 폴리페놀 함량

총 페놀성 화합물은 다양한 구조와 분자량을 가진 이차대사산물로 식물계에 널리 분포되어 있으며 free radical을 제거함으로써 산화를 억제하여 활성산소의 소거 및 산화적 스트레스를 막아 항암, 항균, 노화방지 및 심장질환 예방을 예방하는 등의 생리활성 물질로 알려져 있으며 식품, 의약품, 화장품 등 많은 분야에 활용되고 있다(13, 17).

본 실험에서는 2단 발효마 분말 농도별(0, 0.1, 0.3, 0.5, 1

Table 1. Effect of MFCY* powder concentration on pH, titratable acidity, and number of viable contents of yogurt during lactic acid fermentation at 37°C for 12 h

	Monascus-Fermented Chinese Yam concentration (%)					
	0	0.1	0.3	0.5	1	2
pH	4.05 \pm 0.03 ^b	4.12 \pm 0.01	4.15 \pm 0.01	4.18 \pm 0.01	4.22 \pm 0.01	4.25 \pm 0.01
Titratable acidity	0.92 \pm 0.01	0.94 \pm 0.01	0.95 \pm 0.01	0.96 \pm 0.01	0.96 \pm 0.01	0.97 \pm 0.01
Viable cell counts (CFU/ml)	7.50 \pm 0.20 $\times 10^9$	8.77 \pm 0.31 $\times 10^9$	9.03 \pm 0.15 $\times 10^9$	1.14 \pm 0.07 $\times 10^{10}$	9.43 \pm 0.25 $\times 10^9$	8.07 \pm 0.35 $\times 10^9$

^a Means are three replication.

^b Data are expressed as Mean \pm SE. [MFCY*: MFCY is Monascus-Fermented Chinese yam (*Dioscorea batatas* Dence). First step fermentation was at 30°C for 7 days by *Monascus* sp. MK2 and second step fermentation was 37°C for 2 days by *Lactobacillus brevis* HL159.]

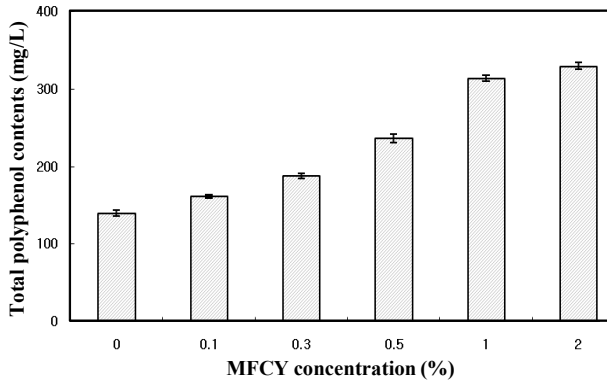


Fig. 1. Effect of MFCY* powder concentration on total polyphenol contents of yogurt during lactic acid fermentation at 37°C for 12 h. [Data are expressed as Mean±SE. MFCY*: MFCY is Monascus-Fermented Chinese yam (*Dioscorea batatas* Dence). First step fermentation was at 30°C for 7 days by *Monascus* sp. MK2 and second step fermentation was 37°C for 2 days by *Lactobacillus brevis* HLJ59.]

및 2%, w/v) 첨가에 따른 요구르트의 총 폴리페놀 함량을 측정 한 결과 Fig. 1에 나타난 바와 같이 무첨가군의 139.9 mg/L와 비교시 2단 발효마 분말의 첨가농도가 증가할수록 161.4-329.9 mg/L로 비례적으로 그 함량 또한 높아지는 것으로 조사되었다. 이는 원재료인 2단 발효마 분말의 경우 에탄올 추출물을 이용한 총 폴리페놀 함량 측정시 높은 활성을 보였던 바(자료 미제시), 2단 발효마 분말의 농도별 첨가에 따른 요구르트의 총 폴리페놀 함량 증가 또한 폴리페놀 화합물의 성분 함량이 증가함에 따른 결과라 생각되며, Chung 등(10)이 보고한 마카 열수추출물 첨가량이 증가 할수록 총 폴리페놀 함량이 증가하였다는 보고와, Kang 등(23)의 메밀싹 첨가량에 따라 총 폴리페놀 함량이 증가하였다는 보고와 일치하였다.

2단 발효마 분말 첨가에 따른 DPPH radical 소거활성

DPPH는 화학적으로 안정화 된 free radical을 가지고 있는 수용성 물질로서 515 nm-525 nm 부근에서 최대흡광도를 가지는 보라색의 화합물로 ascorbic acid, BHA, 토코페롤, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 짙은 보라색이 탈색됨으로서 항산화 물질의 전자공여능을 측정할 때 사용된다(5).

본 실험에서의 2단 발효마 분말 농도별(0, 0.1, 0.3, 0.5, 1 및 2%, w/v) 첨가에 따른 요구르트의 DPPH radical 소거활성을 측정 한 결과는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 무첨가군의 경우 46%이었으나 총 폴리페놀 함량과 마찬가지로 발효홍국마 분말의 첨가농도가 높아질수록 DPPH radical 소거활성이 54-94%로 나타났으며 비례적으로 그 활성 또한 높아지는 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 총 폴리페놀 함량에서와 같이 발효홍국마 분말의 항산화 활성 성분으로 추측되는 phenol 성분 등에 기인한 것으로 생각되며, 버찌 분말(25), 단감 분말(9), 스피루리나(44), 홍삼추출물(27) 및 구기자 추출물(7)을 첨가한 요구르트에서 높은 DPPH radical 소거활성을 나타내

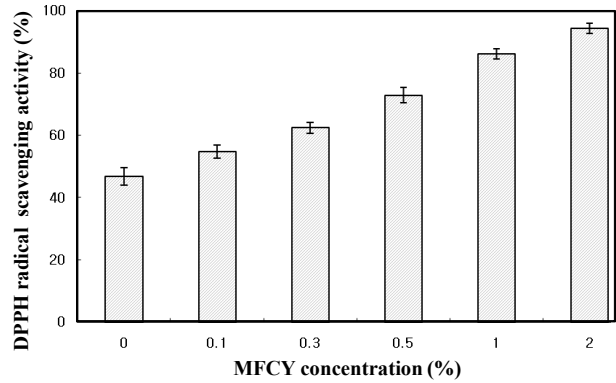


Fig. 2. Effect of MFCY* powder concentration on DPPH radical scavenging activity of yogurt during lactic acid fermentation at 37°C for 12 h. [Data are expressed as Mean±SE. MFCY*: MFCY is Monascus-Fermented Chinese yam (*Dioscorea batatas* Dence). First step fermentation was at 30°C for 7 days by *Monascus* sp. MK2 and second step fermentation was 37°C for 2 days by *Lactobacillus brevis* HLJ59.]

었다고 보고함에 따라 본 연구 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

2단 발효마 분말 첨가에 따른 환원력

환원력은 Fe³⁺ 이온을 Fe²⁺ 이온으로 환원시키는 능력을 측정하는 것으로 환원력이 클수록 강력한 항산화제가 되는데 이러한 환원력의 정도는 항산화활성과 관련이 있는 것으로 알려져 있으며 높은 환원력을 가지는 물질은 흡광도 수치가 높게 나타나게 된다. 2단 발효마 분말 농도별(0, 0.1, 0.3, 0.5, 1 및 2%, w/v) 첨가에 따른 요구르트의 환원력을 측정 한 결과는 Fig. 3에 나타난 바와 같이 무첨가군의 경우 흡광도가 0.89이었으나 2단 발효마 분말의 첨가농도가 높아질수록 흡광도가

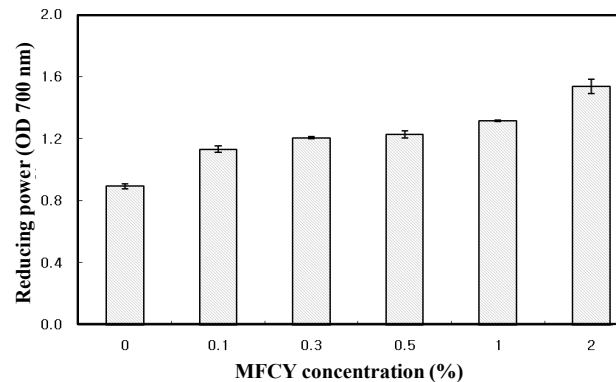


Fig. 3. Effect of MFCY* powder concentration on reducing powder of yogurt during lactic acid fermentation at 37°C for 12 h. [Data are expressed as Mean±SE. MFCY*: MFCY is Monascus-Fermented Chinese yam (*Dioscorea batatas* Dence). First step fermentation was at 30°C for 7 days by *Monascus* sp. MK2 and second step fermentation was 37°C for 2 days by *Lactobacillus brevis* HLJ59.]

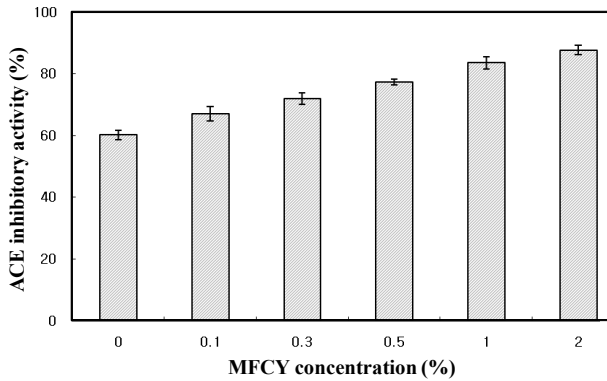


Fig. 4. Effect of MFCY* powder concentration on angiotensin converting enzyme inhibitory activity of yogurt during lactic acid fermentation at 37°C for 12 h. [Data are expressed as Mean±SE. MFCY*: MFCY is Monascus-Fermented Chinese yam (*Dioscorea batatas* Dence). First step fermentation was at 30°C for 7 days by *Monascus* sp. MK2 and second step fermentation was 37°C for 2 days by *Lactobacillus brevis* HLJ59.]

1.13-1.53으로 나타났으며 총 폴리페놀 함량과 DPPH radical 소거활성과 마찬가지로 첨가농도에 비례적으로 그 활성 또한 높아지는 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 Jeong 등(21)의 보고에서 도라지 지상부 용매 분획물을 이용하여 환원력을 측정된 결과 폴리페놀 성분이 가장 많이 포함되어 있는 부탄을 분획물에서 가장 높은 환원력을 보였다는 결과에 비추어 볼 때, 본 실험에서의 2단 발효 마 분말 역시 높은 폴리페놀 화합물들이 높은 환원력을 나타내었다고 사료된다.

2단 발효마 분말 첨가에 따른 Angiotensin converting enzyme (ACE) 저해활성

ACE는 renin-angiotensin-aldosterone system의 중요한 효소물질로서 불활성형의 angiotensin-I으로부터 C-terminal에서 dipeptide인 His-Leu를 분리시켜 가수분해 함으로서 강력한 혈관수축작용을 하는 angiotensin-II를 생성하는데, 혈압을 감소시키는 bradykinin을 불활성화시키는 효소로서 결국 본태성 고혈압의 원인이 되고 있다(38). 따라서 ACE 저해제는 ACE 활성을 저해함으로써 angiotensin-II의 생성저해, aldosterone의 분비 감소, 혈관확장제인 bradykinin의 증가 등의 과정을 통하여 신장혈관을 확장시켜 나트륨의 배설을 촉진시킴으로써 혈압을 낮추어 줄 수 있으며, 이로 인해 심혈관질환 및 뇌혈관질환 등 고혈압과 관련이 깊은 질환을 치료하는데 사용될 수 있다(39).

본 실험에서의 2단 발효마 분말 농도별(0, 0.1, 0.3, 0.5, 1 및 2%, w/v) 첨가에 따른 요구르트의 ACE 저해활성을 측정된 결과는 Fig. 4에 나타난 바와 같이 무첨가군의 경우 ACE 저해활성이 60.2%이었으나 2단 발효마 분말의 첨가농도가 높아질수록 ACE 저해활성이 67.1-87.7%로 나타났으며, 이는 앞선 항산화활성 측정 결과에서처럼 첨가농도에 비례적으로 그 활성 또한 높아지는 것으로 조사되었다. 이처럼 2단 발효

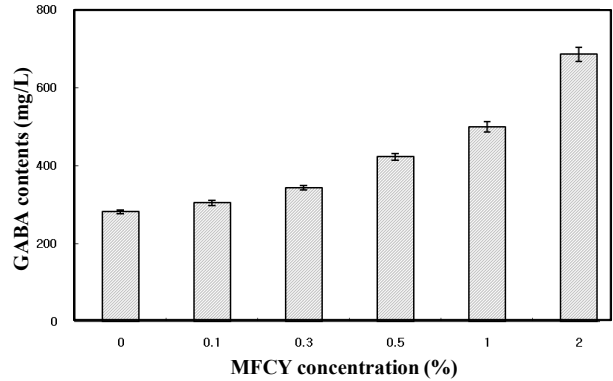


Fig. 5. Effect of MFCY* powder concentration on GABA contents of yogurt during lactic acid fermentation at 37°C for 12 h. [Data are expressed as Mean±SE. MFCY*: MFCY is Monascus-Fermented Chinese yam (*Dioscorea batatas* Dence). First step fermentation was at 30°C for 7 days by *Monascus* sp. MK2 and second step fermentation was 37°C for 2 days by *Lactobacillus brevis* HLJ59.]

마 분말 첨가 요구르트는 고혈압의 예방에 있어서도 기능성이 우수하리라 생각된다.

2단 발효마 분말 첨가에 따른 GABA 함량

γ -Aminobutyric acid (GABA)는 단백질에서 발견되지 않는 비단백질성 아미노산으로 뇌와 척추에 존재하는 신경전달 물질로서 혈류를 개선하며 뇌의 산소공급을 증가시켜 뇌의 대사촉진 및 뇌 기억을 증진시키는 뇌의 영양제로 알려져 있다. GABA는 신경전달 물질 중 아미노산계 신경전달물질의 대표적인 물질로서 동식물계에 널리 분포되어 있는데(14), 식물에서는 녹차(18) 등에 존재하며 홍곡(red yeast rice) 중에도 다량 존재하는 것으로 알려져 있다(19).

본 실험에서의 2단 발효마 분말 농도별(0, 0.1, 0.3, 0.5, 1 및 2%, w/v) 첨가에 따른 요구르트의 GABA 함량을 측정된 결과는 Fig. 5에 나타난 바와 같이 무첨가군의 경우 GABA 함량이 280.9 mg/L이었으나, 2단 발효마 분말의 첨가농도가 높아질수록 GABA 함량이 높아져 304.6-685.4 mg/L으로 나타났으며, 이는 앞선 ACE 저해활성에서의와 마찬가지로 첨가농도에 비례적으로 그 함량 또한 증가하는 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 Park 등(40)이 보고한 *Lactobacillus brevis* OPY-1 균주로 발효한 현미요구르트에서 137 mg/L의 GABA가 생성되었다는 결과보다는 GABA 함량이 높았으며, Lim 등(37)이 보고한 0.1% MSG 함유 환원탈지유(12%)에서 배양한 *L. acidophilus*의 경우 배양 18시간 일 때 GABA 함량이 600 mg/L이었다는 결과와 유사하였다.

따라서 본 연구에서의 2단 발효마 첨가 요구르트는 항고혈압 활성 뿐 만 아니라 GABA 고함유 기능성 요구르트로서 개발 및 상업적인 제조 가능성이 크다고 사료된다. 또한, 요구르트 개발에 있어서 지역특용작물을 이용한 기능성 요구르트 개발이 완료되면, 우리 농산물의 우수성을 알리는데도 큰 비중

을 차지 할 것으로 생각되며, 향후, 유산균음료 시장에 다양한 제품으로의 활용이 가능할 것이다.

적요

본 실험에서는 *Monascus* sp.와 *Lactobacillus* sp.를 이용한 2단 발효마를 기능성식품 소재로 활용 가능성을 알아보기 위하여 2단 발효마 분말을 농도별(0, 0.1, 0.3, 0.5, 1 및 2%, w/v)로 첨가한 요구르트 제조시 pH, 적정산도, 젖산균수, 총 폴리페놀 함량, DPPH radical 소거활성, 환원력(reducing power), ACE 저해활성 및 GABA 함량 등을 측정하여 생리 활성이 우수한 요구르트의 제조조건을 확립하고자 하였다. 그 결과, 2단 발효마 분말 첨가 농도별(0, 0.1, 0.3, 0.5, 1 및 2%, w/v)로 제조한 요구르트의 pH와 적정산도는 4.12-4.25, 0.94-0.97%로 조사되었고, 젖산균수는 2단 발효마 분말 0.5% 첨가 시 1.14×10^{10} CFU/ml의 생균수를 나타냄에 따라 관련 기준에 적합한 나타났으며, 총 폴리페놀 함량, DPPH radical 소거활성 및 환원력은 각각 161.4-329.9 mg/L, 54-94%, 1.13-1.53으로 조사되었다. 또한 ACE (angiotensin converting enzyme) 저해 활성과 GABA (γ -aminobutyric acid) 함량은 67.1-87.7%와 304.6-685.4 mg/L로 조사되었다.

감사의 말

본 연구는 ARPC과제 “마의 부가가치 증대 및 산업화를 위한 가공기술의 개발”(2010-0202)의 지원에 의한 연구결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Ahn, Y.T., K.S. Lim, and C.S. Huh. 2006. Current state of functional yoghurt in Korea. *J. Kor. Dairy Techno. Sci. Asso.* 46, 677-686.
- Bae, H.C., I.S. Cho, and M.S. Nam. 2005. Effect of the biological function of yogurt added with *Lycium chinense* Miller extract. *J. Anim. Sci. Technol.* 47, 1051-1058.
- Baek, S.H., S.H. Kim, K.H. Son, K.C. Chung, and H.W. Chang. 1994. Inactivation of human pleural fluid phospholipase A2 by dioscin. *Arch. Pharm. Res.* 17, 218-222.
- Baek, Y.J., H.S. Bae, and H.Y. Kim. 1991. *In vivo* antitumor effects of lactic acid bacteria on Sarcoma 180 and mouse Lewis Lung Carcinoma. *Cancer Res. Treat.* 23, 188-197.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181, 1199-1200.
- Chamber, J.V. 1979. Culture and processing techniques important to the manufacture of good quality yogurt. *J. Cult. Dairy Prod.* 14, 28-34.
- Cho, I.S., H.C. Bae, and M.S. Nam. 2003. Fermentation properties of yogurt added by *Lycii fructus*, *Lycii Folium* and *Lycii cortex*. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* 23, 250-261.
- Cho, J.R., J.H. Kim, and M.J. In. 2007. Effect of garlic powder on preparation and quality characteristics of yogurt. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* 50, 48-52.
- Cho, Y.S., J.Y. Cha, O.C. Kwon, M. Ok, and S.R. shin. 2003. Preparation of yogurt supplemented with sweet persimmon powder and quality characteristics. *Kor. J. Food Preserv.* 10, 175-181.
- Chung, H.J., Y.R. Chu, H.N. Park, I.S. Jeon, and Y.S. Kang. 2010. Influence of the addition of MACA (*Lepidium meyenii*) hot water extract on the quality and antioxidant activity of yogurt. *Kor. J. Food Culture* 25, 334-341.
- Cushman, D.W. and H.S. Cheung. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20, 1637-1648.
- Ferreira, I.C., F.R. Baptista, P. Vilas-Boas, and L. Barros. 2007. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chem.* 100, 1511-1516.
- Ferreres, F., D. Gomes, P. Valentão, R. Gonçalves, R. Pio, E.A. Chagas, R.M. Seabra, and P.B. Andrade. 2009. Improved loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars: Variation of phenolics and antioxidative potential. *Food Chem.* 114, 1019-1027.
- Flora, J., C. Doreen, H.K. Lim, N. Tom, and L. Stephen. 2004. Production of GABA by cultured hippocampal glial cells. *Neurochem. Int.* 45, 273-283.
- Gilliland, S.E. 1989. Acidophilus milk products, review of potential benefits to consumer. *J. Dairy Sci.* 72, 2483-2489.
- Ha, Y.D., S.P. Lee, and Y.G. Kwak. 1998. Removal of heavy metal and ACE inhibition of yam mucilage. *Kor. J. Soc. Food Sci. Nutr.* 27, 751-755.
- Hertog, M.G.L., P.C.H. Hollman, and M.B. Katan. 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem.* 40, 2379-2383.
- Hsueh, F.W., S.T. Yung, L.L. Mu, and S.O. Andi. 2006. Comparison of bioactive components in GABA tea and green tea produced in Taiwan. *Food Chem.* 96, 648-653.
- Isato, K. and H. Kunio. 2000. Change in γ -aminobutyric acid content during beni-koji making. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64, 617-619.
- Jeon, C.P., Y.H. Kim, J.B. Lee, M.S. Jo, K.S. Shin, C.S. Choi, and G.S. Kwon. 2010. Physiological characteristics and angiotensin converting enzyme inhibitory activity of *Lactobacillus brevis* HLJ59 isolated from salted shrimp. *Kor. J. Microbiol.* 46, 9-14.
- Jeong, C.H., G.N. Choi, J.H. Kim, J.H. Kwak, D.O. Kim, Y.J. Kim, and H.J. Heo. 2010. Antioxidant activities from the aerial parts of *Platycodon grandiflorum*. *Food Chem.* 118, 278-282.
- Jung, D.H. 2007. Encyclopedia of Health and Functional Foods. Shinil Books Publishing Co., Seoul, Korea. Ma, 191-192.
- Kang, H.N. and C.J. Kim. 2009. *Lactobacillus bulgaricus* fermentation characteristics of yogurt with added Buckwheat Sprout. *Kor. J. Food Culture* 24, 90-95.
- Kim, C.M., K.H. Son, S.H. Kim, and H.P. Kim. 1991. Steroidal saponin contents in some domestic plants. *Arch. Pharm.* 14, 305-310.
- Kim, K.H., H.R. Hwang, J.E. Jo, S.Y. Lee, N.Y. Kim, and H.S. Yook. 2009. Quality characteristics of yogurt prepared with flowering cherry (*Prunus serrilata* L. var. *spontanea* Max. wils.) fruit powder during storage. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 38, 1229-1236.
- Kim, S.B., K.Y. Kim, and J.W. Lim. 1998. The physicochemical and microbiological properties of yam-yoghurt. *Kor. J. Dairy Sci.* 20, 177-190.
- Kim, S.I., S.H. Ko, Y.J. Lee, H.Y. Choi, and Y.S. Han. 2008. Antioxidant activity of yogurt supplemented with red ginseng extract. *Kor. J. Food Cookery Sci.* 24, 358-366.
- Kwon, C.S., H.Y. Shon, S.H. Kim, J.H. Kim, G.H. Son, J.S.

- Lee, J.K. Lim, and J.S. Kim. 2003. Anti-obesity effect of *Dioscorea nipponica* Makino with lipase-inhibitory activity in rodents. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67, 1451-1456.
29. Kwon, C.S., I.S. Son, H.Y. Shim, I.S. Kwon, and K.M. Chung. 1999. Effects of yam on lowering cholesterol level and its mechanism. *Kor. J. Food Nutr.* 32, 637-643.
30. Lee, C.L., J.J. Wang, S.L. Kuo, and T.M. Pan. 2006. Monascus fermentation of dioscorea for increasing the production of cholesterol-lowering agent-monacolin K and antiinflammation agent-monascin. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 72, 1254-1262.
31. Lee, E.H. and G.G. Kahng. 1995. The effect of yam powder on the quality of plain yoghurt. *J. Agric. Tech. Res. Inst.* 8, 42-46.
32. Lee, I.S., S.Y. Chung, C.S. Shim, and S.J. Koo. 1995. Inhibitory effect of yam (*Dioscorea batatas* Dence) extracts on the mutagenicity. *Kor. J. Soc. Food Sci.* 11, 351-355.
33. Lee, S.P., Y.D. Ha, and H.I. Kim. 1999. Effect of yam on the growth of lactic acid bacteria. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 28, 805-809.
34. Lee, S.Y., J.J. Ahn, and H.S. Kwak. 2011. Effects of the extract yam powder addition on yogurt properties during storage. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* 31, 66-73.
35. Lee, S.Y., J.R. Shin, and S.H. Lim. 2003. Effect of drinking fermented milk on the improvement of defecation in constipated female students. *J. Kor. Living Sci. Asso.* 12, 265-274.
36. Lee, Y.W. 1997. Effect of fermented milk on the blood cholesterol level of Korean. *J. Food Hyg. Safety* 12, 83-96.
37. Lim, S.D., S.H. Yoo, H.D. Yang, S.K. Kim, and S.Y. Park. 2009. GABA productivity in yoghurt fermented by freeze dried culture preparations of *Lactobacillus acidophilus* RMK567. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* 29, 437-444.
38. Noh, H. and K.B. Song. 2001. Isolation of an angiotensin converting enzyme inhibitor from *Oenanthe javanica*. *Agric. Chem. Biotechnol.* 44, 98-99.
39. Oh, S.J., S.H. Kim, S.K. Kim, Y.J. Baek, and K.H. Cho. 1997. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of the K-casein fragments hydrolysed by chymosin, pepsin, and trypsin. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29, 1316-1318.
40. Park, K.B. and S.H. Oh. 2005. Production and characterization of GABA rice yogurt. *Food Sci. Biotechnol.* 14, 518-522.
41. Purseglove, J.W. 1972. Dioscoreaceae. 'Tropical crops monocotyledons' p. 97. In I. Longman (ed.). London, UK.
42. Rasic, J.L. and J.A. Kurmann. 1978. Yoghurt, p. 103. Technical Dairy Publishing House. Copenhagen, Denmark.
43. Shin, J.H., G.M. Kim, M.J. Kang, S.M. Yang, and N.J. Sung. 2010. Preparation and quality characteristics of yogurt with black garlic extracts. *Kor. J. Food Cookery Sci.* 26, 307-313.
44. Son, C.W., Y.M. Shin, H.J. Shim, M.H. Kim, M.Y. Kim, K.J. Lee, and M.R. Kim. 2008. Changes in the quality characteristics and antioxidant activities of yoghurts containing spirulina during storage. *J. East Asian Soc. Dietary Life* 18, 95-103.
45. Suh, H.J., Y.S. Kim, J.M. Kim, and H. Lee. 2006. Effect of mulberry extract on the growth of yogurt starter cultures. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* 26, 144-147.
46. Swain, T., W.E. Hillis, and M. Oritega. 1959. Phenolic constituents of *Prunus domestica*. 1. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* 10, 83-88.
47. Yang, S.J., J.W. Yoon, K.S. Seo, H.C. Koo, S.H. Kim, H.S. Bae, Y.J. Baek, and Y.H. Park. 1999. Prophylactic effects of *Bifidobacterium longum* HY8001 against *Escherichia coli* O157:H7 and *Sallmonella typhimurium* DT104 enteric infection and evaluation of vero cytotoxin neutralizing effects. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 27, 419-426.