

갓김치로부터 분리한 Probiotic 유산균과 Prebiotic Fructooligosaccharide로 제조한 요구르트의 Synbiotic 가능성

임성미*

동명대학교 식품영양학과

Received : April 16, 2012 / Revised : June 11, 2012 / Accepted : June 21, 2012

Synbiotic Potential of Yoghurt Manufactured with Probiotic Lactic Acid Bacteria Isolated from Mustard Leaf Kimchi and Prebiotic Fructooligosaccharide. Lim, Sung-Mee*. Department of Food Nutrition & Science, Tongmyong University, Busan 608-735, Korea – In the present work, the influence of prebiotic fructooligosaccharide (FOS) on adhesion to Caco-2 cells, viability, acid and bile tolerance, antibacterial, antioxidant, enzymatic, and metabolic activities of the probiotic starters *Lactobacillus acidophilus* GK20 and *Lactobacillus paracasei* GK74, has been explored. Experiments were conducted with fermented yoghurt over a period of 7 days at 4°C. When compared to control fermentations without prebiotic, the addition of FOS was seen to significantly ($p < 0.05$) increase the viable cell counts of the probiotics, overall viscosity, and concurrently reduce the pH of the fermented yoghurts. Both *Escherichia coli* ATCC 11229 and *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 were inhibited by the probiotics' antibacterial activities, while the synbiotic yoghurt containing mixed probiotics and FOS was noted to highly improve antagonistic action. When fermented with mixed starters, the addition of FOS (1.0%) resulted in the highest proteolytic (1.06 ± 0.06 unit) and β -galactosidase activities (20.14 ± 0.31 unit). However, FOS did not affect acid and bile tolerance, adhesion to Caco-2 cells or the antioxidant activity of the probiotics, although both *L. acidophilus* GK20 and *L. paracasei* GK74 had functionality as probiotic strains. Hence, a significant synbiotic effect was observed in fermented yoghurt after 7 days of storage at 4°C, and as a result, such synbiotic yoghurt can be said to possess synergistic actions which improve the gastrointestinal environment and promote of health.

Keywords: Fructooligosaccharide, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei*, synbiotic, yoghurt

서 론

유산균은 유산이나 초산과 같은 유기산이나 알코올, 균체의 다당류 및 여러 효소들을 생산함으로써 발효되는 동안 부패 미생물의 증식을 억제하고 발효식품의 조직감 향상과 바람직한 풍미를 부여한다[20]. 게다가 체내 정상 장내 균총의 유지와 단백질과 비타민을 합성하여 공급하고, 암세포의 증식을 억제하며, 혈중 콜레스테롤 수치를 감소시킬 뿐만 아니라 면역기능을 강화하는 등 숙주의 건강을 이롭게 하는 probiotics 균주로 주목받고 있으며 건강기능식품이나 의약품 개발에 이용되고 있다[1]. *Lactobacillus acidophilus*와 *Bifidobacterium bifidum* 등의 probiotics는 박테리옌, 과산화수소 및 유기산 등의 항균성 물질을 생산하고 영양분 탈취와 상피세포 부착에 대한 경쟁적 길항작용 및 장관 내 산화환원전위 변화 등에 의해 유해세균에 대한 항균작용을 나타내는 것으로 알려져 있다[17]. 또한 lactose 가수분해 효소

인 β -D-galactosidase를 생산하므로 전 세계인구의 50% 이상에 이르는 유당불내증 환자들에게 주로 나타나는 복부 팽만감, 과도한 가스발생이나 설사 등을 완화시키는 효과가 있다[31].

한편, prebiotics는 장내 유해 균총의 증식을 억제하고 유용 미생물의 증식을 촉진시켜 장내 환경을 개선시키는데 장관 내 미생물들의 탄소원으로 사용되는 복합 당류로서 oligosaccharides, lactulose, lactosucrose, palatinose, raffinose, stachyose 및 inulin 등이 있다[25]. Inulin이 분해되면 short chain fatty acids (SCFAs) 생성되어 장내 pH가 감소됨으로써 칼슘의 용해성과 흡수를 증가시킬 뿐만 아니라 총 cholesterol과 LDL-cholesterol 수치를 감소시키는 것으로 보고되고 있고, fructooligosaccharides (FOS)는 간에서 중성지방의 합성을 감소시켜 혈중 triacylglycerol과 phospholipid 농도를 유의적으로 감소시킨다[11, 24].

Probiotics와 prebiotics의 혼합 형태인 synbiotics로 이용될 때 prebiotics가 probiotics의 증식을 촉진하는 것으로 알려져 있다. 식이 내에 bifidobacteria ($>10^9$ CFU/g)와 5% (w/w) oligofructose를 혼합 후 14일간 Wistar rats에 경구적으로 투

*Corresponding author

Tel: +82-51-629-1714, Fax: +82-51-629-1309

E-mail: limsm020@tu.ac.kr

여하여 분변을 관찰한 결과, 뚜렷한 bifidogenic effect가 나타나 *in vivo* 상에서도 유용 균총 증식에 synbiotic의 효과가 입증되었다[4].

Crittenden 등[10]에 따르면 *Bifidobacterium lactis*는 prebiotic 저항성 전분에 의해 증식속도가 증가하였고, 위장과 소장을 안전하게 통과하여 생존 가능하며, 대장 내에서도 butyric acid 생성량을 증가시켜 요구르트 제조용으로 적합하다고 보고한 바 있다. Synbiotics는 발효유, 치즈, 건강 음료, 소스, 쿠키, 빵, 이유식, 아이스크림 및 건강기능식품 등 다양한 형태로 제조되고 있으며, synbiotics 시장은 계속해서 성장하는 추세이다[23].

본 연구에서는 갓김치로부터 분리되어 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 및 superoxide radical 소거능, 환원력 및 금속이온 킬레이팅 활성을 가지는 것으로 보고된[21] *L. acidophilus* GK20 및 *Lactobacillus paracasei* GK74를 단독 혹은 혼합하여 발효 스타터로 사용하고 FOS를 농도별로 첨가하여 요구르트를 제조하였다. 냉장(4°C) 온도에서 7일간 저장하는 동안 요구르트의 pH, 총산도, 점도 및 생균수 등의 이화학적 특성과 위산이나 담즙산에 대한 probiotic의 저항성, Caco-2 cell에 대한 부착능, *Escherichia coli*와 *Salmonella enteritidis*에 대한 항균활성, proteolytic 효소와 β -galactosidase 및 항산화 활성을 측정하여 synbiotic로서의 가능성을 확인해 보고자 한다.

재료 및 방법

사용균주 분리 및 배양

약 3개월간 숙성시킨 갓김치를 균질화하여 취한 시료용액을 1% CaCO₃가 첨가된 Lactobacilli MRS agar (Difco Co., Sparks, MD, USA) 배지에 접종한 뒤 37°C에서 24-48시간 배양한 후 투명한 환을 생성하는 전형적인 유산균 중에서 전보[21]에 보고된 바와 같이 항산화 활성을 가진 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74 균주의 배양액을 20% glycerol과 혼합하여 -80°C 하에서 보관하였고, 실험 직전에 MRS agar 사면배지에서 3회 계대 배양한 후 사용하였다.

요구르트 제조

실험 균주를 MRS broth (Difco Co.)에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 얻어진 배양액을 발효 스타터로 준비하였다. 시판우유에 탈지분유 3%(w/v)와 FOS를 농도별(0, 0.5 혹은 1.0%)로 첨가하여 121°C에서 15분간 가압 멸균한 다음 단독 배양인 경우 *L. acidophilus* GK20 혹은 *L. paracasei* GK74의 배양액을 5%(v/v), 그리고 혼합 배양인 경우는 각각의 배양액 5%(v/v)를 혼합하여 접종하였다. 그런 다음 잡균의 번식을 최소화하고 사용된 유산균의 증식도와 산 생성량이 높은 온도인 42°C에서 18시간 정지 배양하여 probiotic (FOS 무첨가) 및 synbiotic (FOS 첨가) 요구르트를 제조하였다.

이화학적 특성 조사

제조한 요구르트를 냉장(4°C) 온도에서 7일간 저장하는 동안 pH, 총산도 및 점도의 변화를 조사하였다. 시료 10 g에 증류수 10 mL를 가하여 2분간 균질화(KMC-133V, Vision Scientific, Taejeon, Korea)한 후 pH meter (pH 210, HANNA instruments, Sarreola de Rubano, Italy)를 이용하여 pH를 측정하였다. 총산도는 시료 10 g를 증류수(250 mL)와 혼합한 후 여과지(Whatman, No. 2)로 여과한 시료에 0.1% phenolphthalein 용액을 몇 방울 떨어뜨린 다음 0.1 N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하여 다음 식에 따라 총산도를 측정하였다.

$$\text{총산도 (\%)} = \frac{0.009 \times \text{NaOH 소비량 (mL)} \times \text{NaOH 역가} \times \text{희석배수}}{\text{시료 무게 (g)}} \times 100$$

요구르트의 점도는 실온에서 Brookfield LVF Viscometer (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Stoughton, MA, USA)의 spindle (No. 3)를 사용하여 50 rpm으로 회전시켜 1분에서 5분까지 1분 간격으로 측정하였다.

생균수 측정

발효된 요구르트를 4°C에서 7일간 저장하는 동안 유산균 수를 표준천평판배양법으로 측정하기 위해 probiotic 및 synbiotic 요구르트 25 g을 0.85% NaCl 225 mL와 혼합 균질화하여 10배씩 단계적으로 희석한 후 MRS agar (Difco Co.)를 사용하여 37°C에서 48시간 배양한 다음 형성된 집락을 colony forming unit (CFU/mL)로 환산하여 계수하였다.

위산과 담즙산에 대한 저항성

요구르트 발효 스타터의 위산에 대한 저항성을 확인하기 위해 6 N HCl을 사용하여 pH 2.5로 조정하고 1,000 unit의 pepsin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 첨가한 MRS broth에 발효 직후와 7일간 저장한 요구르트를 1%(w/v) 접종한 후 37°C에서 2시간 동안 배양하였다. 위산 내에서 배양한 후 곧 바로 bovine bile (Sigma-Aldrich) 1%와 pancreatin (Sigma-Aldrich) 0.1%가 첨가된 MRS broth 내에서 37°C, 6시간 배양한 다음 배양액은 0.85% NaCl 용액으로 십진 희석하여 MRS agar 상에서 생성된 집락을 계수한 다음 위산 및 담즙산을 처리하지 않은 대조구에 대한 처리 후 잔존하는 균수를 측정하여 생존율을 조사하였다.

Caco-2 cell에 대한 부착능

요구르트의 발효 스타터의 장관 상피세포에 대한 부착능을 확인하기 위해 Korean Cell Line Bank (KCLB)로부터 분양받은 Caco-2 cell은 10%(v/v) fetal bovine serum (FSB, Gibco, Rockville, MD, USA), 2 mM glutamine, 1

mM sodium pyruvate, 100 units penicillin 및 50 µg streptomycin이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM, Gibco)를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 하에서 배양하였다. 6 well plate 내에서 배양된 Caco-2 monolayer에 probiotic과 synbiotic 요구르트 2 g을 접종한 후 5% CO₂ 하에서 37°C, 2시간 동안 배양하였다. 그런 다음 각 well 내에 있는 cell은 phosphate buffer solution (PBS, pH 7.2)으로 2회 세척한 후 overnight 동안 2% formalin으로 고정시키고 2% eosin Y로 염색하고 나서 1% acetic acid로 2회 세척하고 난 다음 570 nm에서 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) reader (Spectrocount, Packard Instruments, Meriden, CT, USA)로 흡광도를 측정하였다. 이때 Caco-2 cell에 부착된 유산균은 요구르트를 처리하지 않은 대조구와 비교하여 부착율을 조사하였다.

항균활성 측정

E. coli ATCC 11229와 *S. enteritidis* ATCC 13076 각각을 brain heart infusion (BHI) broth (Difco Co.)에 접종한 후 37°C에서 24시간 배양한 후 얻어진 배양액을 원심분리 (7,000×g, 4°C, 20분)하여 세포만을 회수한 다음 PBS로 2회 세척하고 현탁시켰다. Probiotic 및 synbiotic 요구르트에 *E. coli* ATCC 11229와 *S. enteritidis* ATCC 13076의 균수를 2.0×10⁵ CFU/mL로 조정하여 접종한 다음 37°C에서 12시간 배양시킨 후 4°C에 저장하는 동안 균수 변화를 조사하였다. 시료를 0.85% NaCl 용액으로 십진 희석한 다음 *E. coli* ATCC 11229는 MacConkey agar (Difco Co.), *S. enteritidis* ATCC 13076는 SS agar (Difco Co.) 상에서 표준한천평판 배양법으로 접종한 균수에 대한 요구르트 내에서의 잔존하는 균수를 구하여 사멸율을 측정하였다. 항균활성의 원인이 과산화수소나 박테리옌 생성에 의한 것인지를 확인하기 위해 발효된 probiotic와 synbiotic 요구르트에 6 N NaOH를 사용하여 pH 7.0으로 조정한 것과 여기에 10 mM potassium phosphate (pH 7.0)에 용해시킨 catalase (1 mg/mL, Sigma-Aldrich)를 처리하여 37°C에서 1시간 반응시킨 요구르트에 *E. coli*와 *S. enteritidis* 접종하여 37°C에서 12시간 배양시켜 균수 변화를 조사하였다.

항산화 활성 측정

발효직후와 7일간 저장한 요구르트 시료를 95% 메탄올에 1:1(v/v)로 혼합한 후 원심분리 (7,000×g, 20분, 4°C)하여 얻은 상등액을 여과한 시료 0.5 mL를 4.0×10⁻⁴ M DPPH 용액 1.0 mL와 혼합한 후 vortex mixer로 약 10초간 진탕한 다음 상온에서 30분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도 (UV-1601, SHIMAZU, Koyto, Japan)를 측정하고 계산식 [1-(시료 첨가구의 흡광도/시료 무첨가구의 흡광도)×100]에 대입하여 DPPH radical 소거능을 산출하였다. 한편, 시료 (1 mL)를 1% potassium ferric cyanide (1 mL) 및 0.2 M sodium phosphate

buffer (pH 7.0) (1 mL)와 혼합하여 50°C에서 20분간 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid (1 mL)를 첨가해서 원심분리 (3,000×g, 5분, 4°C)하여 얻은 상등액 (1 mL)에 0.1% ferric chloride (0.1 mL)을 가한 후 700 nm에서 흡광도를 측정함으로써 환원력을 조사하였다.

효소활성 측정

요구르트의 proteolytic activity는 *o*-phthalaldehyde (OPA) method [8]를 일부 변형하여 측정하였다. 요구르트 (2.5 mL)와 0.75%(w/v) trichloroacetic acid (5 mL)를 혼합한 후 상온 (약 20°C)에서 10분간 반응시킨 다음 Whatman number 4A filter paper로 여과하였다. 여과액 (150 µL)에 3 mL OPA reagent (Merck, Darmstadt, Germany)를 첨가한 후 상온 (약 20°C)에서 2분간 반응시킨 다음 340 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 용액으로부터 유리된 아미노산 및 펩타이드 양을 조사하였다.

한편, 제조된 요구르트의 β-galactosidase 효소 활성은 [32] 등의 방법에 따라 측정하였다. 요구르트 2 g에 0.1 M potassium phosphate buffer (PPB, pH 7.0) 2 mL를 가한 후 2분간 초음파 (Qsonica, Newtown, CT, USA) 처리하여 조효소액을 준비하였다. 0.1 M PPB (pH 7.0)에 *o*-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside (ONPG, Sigma-Aldrich)를 5 mM 농도로 맞춰 기질을 제조하였다. 기질 5 mL와 조효소액 1 mL를 혼합하여 37°C에서 15분간 방치한 후 급냉시켜 반응을 정지시키고 1.0 M Na₂CO₃ 용액 (2.5 mL)을 가한 다음 흡광도 (O.D. 420 nm)를 측정하여 유리된 *o*-nitrophenol을 정량하였다. 효소의 활성도는 1 g의 시료에서 1분간 ONPG로부터 1 M의 *o*-nitrophenol을 유리하는 것을 1 unit로 하였고 표준곡선을 이용하여 활성을 측정하였다.

통계처리

발효 균주의 종류와 FOS 농도에 따른 요구르트의 이화학적 특성, 장관액에 대한 저항성, 항균활성 및 효소활성 등을 각각 3회 실시하여 얻어진 측정값은 평균±표준편차로 나타내었고 SPSS (version 12.0) 프로그램으로 통계처리 하였다. 유의적인 차이(p<0.05)는 일원배치 분산분석법 (one-way ANOVA)의 Turkey 다중범위검정 (Turkey's multiple range test)으로 결정하였다.

결과 및 고찰

FOS 농도에 따른 요구르트의 이화학적 특성

L. acidophilus GK20과 *L. paracasei* GK74를 각각 단독 혹은 혼합하여 발효 스타터로 사용한 다음 FOS를 농도별로 첨가하여 요구르트를 제조한 직후부터 4°C에서 7일간 저장하는 동안 pH, 총산도, 점도 및 생균수를 측정된 결과는 Table 1과 같다. *L. acidophilus* GK20 단독으로 제조한 요

요구르트의 생균수는 6.80 ± 0.14 CFU/g이며 *L. paracasei* GK74 단독인 경우는 7.14 ± 0.35 CFU/g이었고, 생균수는 FOS 첨가량에 따라 다소 증가하는 경향을 보였다. 게다가 균주를 혼합한 경우의 생균수는 7.37 ± 0.11 CFU/g으로 나타나 단독일 때보다 균수는 증가되었고, 특히 FOS 함량이 0.5% 이상일 때 무첨가구에 비해 유의하게 높은 균수를 나타내었다. *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74의 단독 및 혼합 형태 모두 제조직후부터 4°C에서 7일간 저장하는 동안 생균수는 일정하게 유지되었다.

한편, FOS를 첨가하지 않고 *L. acidophilus* GK20으로 제조한 직후의 요구르트 pH는 4.11 ± 0.10 로 나타났는데 이는 FOS를 0.5 및 1.0% 첨가한 요구르트의 pH와는 유의적인 차이가 없었으며, 또한 *L. paracasei* GK74로 제조한 요구르트와도 비슷한 수준으로 나타났다. 하지만 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74를 혼합한 후 FOS를 0.5 및 1.0% 첨가하여 제조된 요구르트의 pH는 3.80 ± 0.11 및 3.67 ± 0.08 로 각각 나타나 다른 실험구에 비해 유의적으로 낮은 pH를 보였으며 ($p < 0.05$), 저장하는 동안 대부분 실험구들의 pH는 제조 직후와의 것과 유의적인 차이가 없었다.

L. acidophilus GK20과 *L. paracasei* GK74 각각 단독으로 제조한 요구르트의 총산도는 0.71-0.73% 정도의 수준으로 나타났으나, 혼합한 경우는 단독인 경우보다 유의하게 더 높은 산도 ($0.90 \pm 0.05\%$)를 보여주었고 ($p < 0.05$), FOS 1.0% 하에서 혼합 배양한 실험구의 총산도는 약 $1.09 \pm 0.03\%$ 로 가장 높았다.

L. acidophilus GK20 단독으로 제조한 요구르트의 점도 (1055.05 ± 0.98 cps) 보다는 *L. paracasei* GK74로 제조한 경우가 유의하게 더 높았으며 (1062.21 ± 1.24 cps), FOS를 첨가함에 따라 점도가 증가하는 경향을 나타내었다. 또한 혼합 배양하여 제조한 요구르트는 *L. acidophilus* GK20 단독일 때 보다 점도 (1062.13 ± 2.15 cps)가 유의하게 높았으며, FOS 0%와 0.5% 첨가구의 점도는 별 차이가 없었으나, 1.0% 첨가 시에는 유의하게 증가되었고 ($p < 0.05$), 저장하는 동안에도 비슷한 수준을 유지하였다. 이와 같은 결과에서 미뤄볼 때, 단독 배양보다 혼합 배양인 경우 스타터의 접종량이 많아 발효된 요구르트 내의 생균수가 증가된 것으로 여겨지며 이들의 생균수는 발효되는 동안 FOS에 의해 촉진되었고, 생균수가 증가될수록 생성된 유기산의 양이 증가되어 pH는 낮아진 반면 산도와 점도는 증가한 것으로 확인되었다.

전보[22]의 결과에서도 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74는 MRS broth 내에서 FOS가 첨가되었을 때 배양액의 pH와 총산도가 대조구에 비해 유의하게 감소 및 증가한다고 보고한 바 있으며, skim milk를 이용하여 요구르트를 제조한 직후의 pH는 MRS broth 내에서 24시간 배양했을 때 보다 더 높았고, 총산도는 유의하게 더 낮았다. 요구르트는 우유 단백질을 폴리펩타이드, 펩타이드 및 아미노산 등으로 가수분해시키는 등 물리화학적 변화 등 복합적인 과정에 의해

제조되는데 요구르트 내의 유산균 증식은 카제인으로부터 펩수아미노산을 유리시킬 수 있는 단백질 분해능력에 좌우된다[9]. 이미 보고된 여러 연구결과에서 볼 때, 발효 및 저장하는 동안 probiotics의 증식과 생존은 산 생성과 상관관계가 있으며 균수가 증가할수록 pH는 낮아지고 총산도는 증가하였고 생성된 산은 우유 내 유당의 분해에 기인하는 것으로 알려져 있다[28].

Donkor 등[13]에 따르면, 탈지유에 inulin을 첨가하여 *L. acidophilus* L10과 *Lactobacillus casei* L26으로 발효시킨 요구르트를 제조하는 동안 유산균수를 조사한 결과, prebiotic inulin은 probiotic 유산균의 성장에 유의한 영향을 미쳐 대조구에 비해 약 1 log cycle 이상의 균수가 증가되었고, 첨가된 inulin은 대조구에 비해 유산 및 아세트산과 같은 주요 대사산물의 생산량을 유의적으로 증가시켰고, 고농도의 유기산 하에서도 세포의 손상없이 저장하는 동안 일정한 활성을 유지하였다고 보고한 바 있어 본 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 또한 *L. casei* L26에 의한 요구르트의 초기점도는 *L. acidophilus* L10보다 더 높았으며 inulin의 첨가에 의해 요구르트의 점도는 대조구 보다 유의하게 증가되었다. 이와 강[19]의 보고에 의하면, 요구르트의 제조시 chitooligosaccharide (COS) 0.3%를 첨가한 경우에는 *Lactobacillus bulgaricus* Lb-12와 *Streptococcus thermophilus* St-36의 성장에 영향을 미치지 않았지만, 0.5%를 첨가했을 때에는 뚜렷한 억제효과가 나타났는데 이는 세균이 성장하는 동안 생산하는 산에 의해 유산균의 증식이 억제된 것으로 추정된다. 또한 COS 0.3%를 첨가한 요구르트는 발효 24시간째 pH는 약 4.0이고 산도는 약 1.00을 나타내어 본 실험의 FOS 0.5% 첨가구와 pH는 비슷한 수준이었으나, 산도는 이보다 높게 나타났으며 COS 첨가에 의해 점도도 뚜렷하게 증가되어 본 결과와 유사한 경향을 나타내었다. *S. thermophilus*를 *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* 혹은 *B. lactis*와 혼합 배양할 때 첨가된 lactose, oligofructose, polydextrose 및 maltodextrin과 같은 prebiotics는 probiotics의 최대 산생성 속도를 크게 증가시켰다고 하여[26], probiotics 균종에 따라 prebiotics 이용효율이 다르므로 균의 성장율이나 유산 등의 대사산물 생산량에 다소 차이가 있다.

요구르트의 생균수는 접종 균량, 총 고형물량 및 우유 내에 있는 영양분의 이용능에 따라 차이가 나며, 저장기간 동안 균수 변화는 사용균주의 종류, 배양조건, 발효산물 내에 존재하는 길항물질, 저장온도와 시간, 초기균수, 과산화수소와 산소의 함량 및 생성된 유기산 함량에 좌우된다고 알려져 있다[18]. 한편, 요구르트의 점도는 총 고형분, 단백질과 염의 함량, 균주의 단백질 분해능 및 균질화 정도에 영향을 받을뿐만 아니라 특히 유산균의 산 생산에 의해 우유 단백질이 응고되어 점도가 생성되며, exopolysaccharide의 생산과 수화가 진행됨에 따라 점도는 점점 증가되는 것으로 알려져 있다[3, 5]. 또한 fructose를 첨가한 요구르트에서도 높

Table 1. Effect of FOS on starter viability, pH, total acidity, and viscosity of yoghurt fermented by single and mixed cultures of *L. acidophilus* GK20 and *L. paracasei* GK74 as starter after 0 and 7 days of storage at 4°C.

Strain	Concentration of FOS (%)	Storage period (days)							
		0	1	2	3	4	5	6	7
<i>L. acidophilus</i> GK20	0	6.80 ± 0.14 ^{aA}	6.84 ± 0.25 ^{aA}	6.81 ± 0.17 ^{aA}	7.19 ± 0.19 ^{aA}	7.10 ± 0.17 ^{aA}	7.06 ± 0.19 ^{aA}	6.75 ± 0.20 ^{aA}	7.16 ± 0.31 ^{aA}
	0.5	6.92 ± 0.17 ^{abA}	6.99 ± 0.30 ^{abA}	7.05 ± 0.28 ^{abA}	7.09 ± 0.20 ^{aA}	7.40 ± 0.40 ^{abA}	7.35 ± 0.30 ^{abA}	7.28 ± 0.14 ^{abA}	7.33 ± 0.40 ^{aA}
	1.0	7.03 ± 0.08 ^{abA}	7.37 ± 0.17 ^{bcA}	7.22 ± 0.30 ^{abA}	7.30 ± 0.32 ^{aA}	7.51 ± 0.29 ^{abA}	7.26 ± 0.25 ^{abA}	7.36 ± 0.27 ^{abA}	7.60 ± 0.25 ^{abA}
Viable cell counts (Log CFU/g)	0	7.14 ± 0.35 ^{abA}	7.22 ± 0.18 ^{abA}	7.03 ± 0.14 ^{abA}	7.20 ± 0.22 ^{abA}	7.34 ± 0.38 ^{abA}	7.40 ± 0.22 ^{abA}	7.25 ± 0.31 ^{abA}	7.28 ± 0.22 ^{abA}
	0.5	7.33 ± 0.09 ^{ba}	7.36 ± 0.15 ^{bcA}	7.29 ± 0.08 ^{abA}	7.30 ± 0.24 ^{ba}	7.57 ± 0.24 ^{abA}	7.55 ± 0.18 ^{abA}	7.41 ± 0.24 ^{bcA}	7.55 ± 0.19 ^{ba}
	1.0	7.41 ± 0.21 ^{ba}	7.30 ± 0.09 ^{abA}	7.61 ± 0.25 ^{bcA}	7.51 ± 0.16 ^{abA}	7.82 ± 0.19 ^{abA}	7.79 ± 0.23 ^{bcA}	7.79 ± 0.16 ^{bcA}	7.81 ± 0.07 ^{bcA}
<i>L. acidophilus</i> GK20 + <i>L. paracasei</i> GK74	0	7.37 ± 0.11 ^{ba}	7.60 ± 0.12 ^{cdA}	7.40 ± 0.17 ^{abA}	7.35 ± 0.28 ^{abA}	7.64 ± 0.18 ^{abA}	7.61 ± 0.10 ^{abA}	7.49 ± 0.32 ^{bcA}	7.47 ± 0.16 ^{ba}
	0.5	7.99 ± 0.20 ^{ca}	8.05 ± 0.08 ^{ba}	7.92 ± 0.20 ^{cdA}	7.96 ± 0.14 ^{bcA}	7.97 ± 0.31 ^{cdA}	8.06 ± 0.21 ^{cdA}	7.96 ± 0.15 ^{cdA}	8.09 ± 0.30 ^{ba}
	1.0	8.10 ± 0.15 ^{ca}	8.38 ± 0.16 ^{ca}	8.11 ± 0.31 ^{da}	8.16 ± 0.16 ^{ca}	8.31 ± 0.27 ^{ca}	8.22 ± 0.33 ^{da}	8.27 ± 0.20 ^{da}	8.35 ± 0.27 ^{ca}
<i>L. acidophilus</i> GK20	0	4.11 ± 0.10 ^{aA}	4.19 ± 0.08 ^{aA}	4.27 ± 0.07 ^{aA}	4.06 ± 0.08 ^{aA}	4.17 ± 0.10 ^{aA}	4.10 ± 0.12 ^{abA}	4.20 ± 0.09 ^{aA}	4.12 ± 0.08 ^{aA}
	0.5	4.02 ± 0.05 ^{abA}	4.18 ± 0.06 ^{aA}	4.11 ± 0.12 ^{abA}	4.10 ± 0.08 ^{aA}	4.15 ± 0.05 ^{aA}	4.12 ± 0.09 ^{abA}	4.20 ± 0.13 ^{aA}	4.17 ± 0.09 ^{aA}
	1.0	4.00 ± 0.08 ^{abA}	4.02 ± 0.07 ^{abA}	4.16 ± 0.11 ^{abA}	4.11 ± 0.04 ^{aA}	4.08 ± 0.12 ^{abA}	4.06 ± 0.11 ^{abA}	4.08 ± 0.12 ^{abA}	4.07 ± 0.05 ^{aA}
pH	0	4.05 ± 0.06 ^{abA}	4.15 ± 0.08 ^{aA}	4.06 ± 0.11 ^{abA}	4.09 ± 0.10 ^{aA}	4.09 ± 0.09 ^{abA}	4.04 ± 0.17 ^{abA}	4.07 ± 0.15 ^{abA}	4.18 ± 0.13 ^{aA}
	0.5	4.01 ± 0.07 ^{abA}	4.04 ± 0.05 ^{abA}	4.07 ± 0.09 ^{abA}	4.00 ± 0.07 ^{aA}	4.16 ± 0.06 ^{aA}	4.13 ± 0.10 ^{aA}	4.11 ± 0.08 ^{abA}	4.07 ± 0.10 ^{aA}
	1.0	3.93 ± 0.07 ^{abAB}	3.82 ± 0.10 ^{bcA}	4.01 ± 0.07 ^{abAB}	3.94 ± 0.05 ^{abAB}	4.03 ± 0.08 ^{abAB}	4.06 ± 0.12 ^{abB}	4.02 ± 0.06 ^{abAB}	3.95 ± 0.07 ^{abAB}
<i>L. acidophilus</i> GK20 + <i>L. paracasei</i> GK74	0	3.91 ± 0.14 ^{abcA}	3.88 ± 0.09 ^{bcA}	3.93 ± 0.11 ^{bcA}	3.85 ± 0.15 ^{abcA}	3.90 ± 0.07 ^{bcA}	4.02 ± 0.08 ^{abA}	3.96 ± 0.09 ^{abA}	3.81 ± 0.09 ^{bcA}
	0.5	3.80 ± 0.11 ^{bcA}	3.88 ± 0.13 ^{bcA}	3.92 ± 0.05 ^{bcA}	3.70 ± 0.11 ^{bcA}	3.71 ± 0.08 ^{ca}	3.86 ± 0.09 ^{abA}	3.91 ± 0.07 ^{bcA}	3.77 ± 0.05 ^{bcA}
	1.0	3.67 ± 0.08 ^c	3.74 ± 0.11 ^c	3.71 ± 0.04 ^c	3.62 ± 0.12 ^c	3.79 ± 0.03 ^c	3.80 ± 0.11 ^b	3.77 ± 0.08 ^c	3.60 ± 0.06 ^c
<i>L. acidophilus</i> GK20	0	0.71 ± 0.03 ^{aA}	0.68 ± 0.05 ^{aA}	0.62 ± 0.05 ^{aA}	0.74 ± 0.08 ^{aA}	0.68 ± 0.09 ^{aA}	0.70 ± 0.10 ^{aA}	0.65 ± 0.09 ^{aA}	0.66 ± 0.05 ^{aA}
	0.5	0.79 ± 0.04 ^{abB}	0.70 ± 0.04 ^{abAB}	0.69 ± 0.02 ^{abAB}	0.72 ± 0.03 ^{abAB}	0.70 ± 0.07 ^{abAB}	0.69 ± 0.03 ^{abAB}	0.68 ± 0.05 ^{abAB}	0.64 ± 0.07 ^{aA}
	1.0	0.82 ± 0.03 ^{abA}	0.79 ± 0.06 ^{ba}	0.73 ± 0.03 ^{abA}	0.71 ± 0.04 ^{ba}	0.72 ± 0.05 ^{abA}	0.74 ± 0.05 ^{ba}	0.72 ± 0.06 ^{aA}	0.75 ± 0.04 ^{abA}
Total acidity (%)	0	0.73 ± 0.06 ^{abA}	0.68 ± 0.05 ^{aA}	0.74 ± 0.07 ^{abA}	0.71 ± 0.05 ^{aA}	0.73 ± 0.06 ^{abA}	0.74 ± 0.07 ^{abA}	0.71 ± 0.08 ^{abA}	0.66 ± 0.10 ^{ba}
	0.5	0.80 ± 0.04 ^{abBC}	0.79 ± 0.02 ^{abABC}	0.72 ± 0.04 ^{abABC}	0.84 ± 0.05 ^{abC}	0.66 ± 0.05 ^{aA}	0.69 ± 0.04 ^{abAB}	0.71 ± 0.03 ^{abBC}	0.73 ± 0.08 ^{abABC}
	1.0	0.88 ± 0.05 ^{bcABC}	0.93 ± 0.03 ^{bc}	0.85 ± 0.02 ^{bcABC}	0.90 ± 0.02 ^{bcABC}	0.78 ± 0.06 ^{abAB}	0.74 ± 0.06 ^{aA}	0.79 ± 0.04 ^{abAB}	0.89 ± 0.06 ^{bcABC}
<i>L. acidophilus</i> GK20 + <i>L. paracasei</i> GK74	0	0.90 ± 0.05 ^{bcA}	0.94 ± 0.06 ^{ba}	0.87 ± 0.09 ^{ba}	0.96 ± 0.05 ^{bcA}	0.88 ± 0.07 ^{bcA}	0.78 ± 0.11 ^{abA}	0.84 ± 0.08 ^{abA}	0.98 ± 0.06 ^{caA}
	0.5	0.96 ± 0.06 ^{caB}	0.95 ± 0.03 ^{bab}	0.87 ± 0.06 ^{ba}	1.03 ± 0.03 ^{cab}	1.02 ± 0.03 ^{caB}	0.94 ± 0.07 ^{bab}	0.92 ± 0.07 ^{bcAB}	1.00 ± 0.07 ^{caB}
	1.0	1.09 ± 0.03 ^{cdAB}	1.05 ± 0.04 ^{bab}	1.03 ± 0.07 ^{caB}	1.13 ± 0.04 ^{ab}	0.96 ± 0.04 ^{ca}	0.93 ± 0.03 ^{ba}	1.02 ± 0.09 ^{caB}	1.15 ± 0.05 ^{ab}
<i>L. acidophilus</i> GK20	0	1055.05 ± 0.98 ^{abAB}	1051.68 ± 3.03 ^{ba}	1057.22 ± 2.51 ^{abAB}	1055.16 ± 0.82 ^{abAB}	1056.48 ± 2.03 ^{abAB}	1059.15 ± 2.56 ^{ab}	1057.46 ± 0.67 ^{abAB}	1058.10 ± 2.33 ^{ab}
	0.5	1056.77 ± 1.16 ^{abAB}	1054.79 ± 2.57 ^{ba}	1058.97 ± 1.64 ^{abAB}	1060.34 ± 1.17 ^{abAB}	1061.54 ± 3.07 ^{abAB}	1058.79 ± 1.83 ^{abAB}	1060.56 ± 1.88 ^{abB}	1061.15 ± 1.61 ^{abB}
	1.0	1060.34 ± 1.85 ^{ba}	1058.36 ± 1.66 ^{ba}	1061.54 ± 1.40 ^{abA}	1060.91 ± 1.99 ^{ba}	1062.07 ± 1.48 ^{abA}	1059.76 ± 2.05 ^{ba}	1061.88 ± 2.06 ^{abA}	1062.75 ± 2.37 ^{abA}
Viscosity (cps)	0	1062.21 ± 1.24 ^{cdca}	1060.38 ± 1.31 ^{bcA}	1062.84 ± 0.76 ^{bcA}	1061.87 ± 2.29 ^{ba}	1063.92 ± 1.52 ^{bcA}	1062.81 ± 1.45 ^{ba}	1064.71 ± 2.63 ^{bcdA}	1063.88 ± 1.66 ^{bcA}
	0.5	1063.81 ± 2.08 ^{cdca}	1065.80 ± 2.16 ^{cdA}	1066.31 ± 1.25 ^{bcA}	1063.46 ± 3.10 ^{bcA}	1066.74 ± 2.41 ^{bcA}	1065.36 ± 2.01 ^{bcA}	1066.42 ± 1.96 ^{bcA}	1068.27 ± 1.15 ^{cdA}
	1.0	1066.19 ± 1.50 ^{abAB}	1069.00 ± 0.85 ^{d^{ba}bcAB}	1068.12 ± 0.99 ^{cdca} ab	1065.11 ± 1.47 ^{bcA}	1067.28 ± 1.86 ^{bcA}	1069.12 ± 2.70 ^{bcdAB}	1068.15 ± 2.34 ^{cdca} ab	1070.22 ± 0.94 ^{dbB}
<i>L. acidophilus</i> GK20 + <i>L. paracasei</i> GK74	0	1062.13 ± 2.15 ^{cdca}	1067.03 ± 2.19 ^{ca} ab	1066.79 ± 1.07 ^{bcA} ab	1068.14 ± 2.05 ^{cdAB}	1067.99 ± 2.09 ^{ca} ab	1068.16 ± 3.42 ^{bcdAB}	1066.23 ± 2.71 ^{bcdAB}	1069.45 ± 1.54 ^{ab}
	0.5	1065.99 ± 1.19 ^{cdca}	1069.25 ± 1.75 ^{cdca}	1070.51 ± 3.55 ^{da}	1072.35 ± 2.20 ^{deA}	1069.74 ± 2.27 ^{cdA}	1071.55 ± 2.96 ^{cdA}	1069.71 ± 3.55 ^{deA}	1072.03 ± 2.10 ^{deA}
	1.0	1069.41 ± 2.21 ^{ca}	1072.14 ± 3.11 ^{ca} ab	1073.54 ± 3.06 ^{ca} ab	1075.44 ± 1.06 ^{cb}	1073.57 ± 0.91 ^{cdAB}	1073.87 ± 1.27 ^{ca} ab	1074.11 ± 0.84 ^{ca} ab	1074.80 ± 1.07 ^{ca} ab

Data are means±SEM from triplicate determinations and the significant difference of means was estimated by Turkey's multiple range test. ^{A,B}Data that share a common capital letter in the same row do not differ significantly from one another during the storage times for the same trial (p>0.05), ^{a-c}Data that share a common lowercase letter in the same column do not differ significantly between trials for the same day (p>0.05).

은 점도가 생성되었고 섬유질 첨가에 의한 점도 상승은 올리고당과 우유 단백질 사이의 상호작용에 기인한다고 보고되었다[15].

장관 내에서 유익한 작용을 위해 probiotics의 균수는 최소 6 log cycle 이상이어야 하고[2], 우리나라 식품공전상 요구르트의 총 유산균수는 10^7 - 10^8 CFU/mL으로 규정되어 있는데 본 실험의 probiotic 및 synbiotic 요구르트는 제조 규격에 적합한 것으로 나타났다. 그리고 시판하는 요구르트의 pH는 3.7-4.6, 유산량은 7.0-12.5 mg/g으로 다양하게 보고되고 있는데, 요구르트의 독특한 신맛을 부여하되 지나친 신맛을 피하기 위한 적당한 pH와 산도는 각각 3.27-4.53 및 7.0-9.0 mg/g이라고 알려져 있다[7].

FOS농도에 따른 요구르트 발효 스타터의 장관액에 대한 저항성 및 Caco-2 cell에 대한 부착능

L. acidophilus GK20과 *L. paracasei* GK74의 단독 혹은 혼합 스타터의 장관액에 대한 저항성 및 Caco-2 cell에 대한 부착능에 FOS가 미치는 영향에 관한 결과는 Table 2와 같다. *L. acidophilus* GK20 단독으로 발효시킨 요구르트 스타터의 위산 (pepsin 첨가, pH 2.0) 하에서의 생존율은 $35.56 \pm 3.03\%$ 였으며 FOS를 일정한 농도로 첨가하여도 생존율은 크게 증가하지 않았다. *L. paracasei* GK74의 생존율도 *L. acidophilus* GK20과 거의 비슷한 수준으로 $35.60 \pm 2.96\%$ 였으며, 이 또한 FOS에 그다지 영향을 받지 않았다. *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74와의 혼합인 경우 위산 하에서의 균 생존율은 단독일 때보다 유의하게 높은 $51.82 \pm 5.12\%$ 를 나타내었으나 ($p < 0.05$), 이때에도 FOS 첨가량에 따라 생존율은 큰 영향을 받지 않았으며, 7일간 저장 후 모든 실험구의 위산에 대한 생존율은 발효직후와 차이가 거의 없었다.

위산액에 처리한 직후 곧바로 bovine bile 1%와 pancreatine 0.1% 하에서 6시간 배양한 후 균수 변화를 관찰하였을 때, FOS를 첨가하지 않고 *L. acidophilus* GK20 단독으로 발효시킨 경우 담즙산 하에서의 생존율은 $96.31 \pm 4.77\%$ 이었으며 FOS를 첨가하여도 생존율에는 큰 변화가 없었다. *L. paracasei* GK74 단독인 경우 생존율은 $100.12 \pm 5.71\%$ 으로 *L. acidophilus* GK20과 유의적인 차이가 없었고, FOS를 첨가했을 때 생존율은 무첨가구와 큰 차이가 없었다. 그러나 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74의 혼합에서는 단독일 때보다 담즙산에 대한 생존율이 유의하게 높아 $115.59 \pm 3.50\%$ 로 나타났으나, 이때에도 FOS는 생존율에 큰 영향을 주지 않았다.

한편, Caco-2 cell에 대한 부착능을 확인한 결과, FOS를 첨가하지 않은 상태에서 Caco-2 cell에 대한 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74 각각의 부착능은 $41.62 \pm 4.81\%$ 와 $52.23 \pm 3.73\%$ 로 균주간에 유의적인 차이는 없었다 ($p > 0.05$). 하지만 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74의 혼합에서는 *L. acidophilus* GK20 단독일 때보다 유의하게 높은 부착능 ($64.95 \pm 7.31\%$)을 보였고, FOS에 의해 부착능이 증가하진 않았으며 7일간 저장 후에도 큰 변화는 없었다. 따라서 Caco-2 cell에 대한 부착능은 스타터의 단독 배양보다는 혼합 배양일 때 더 높았는데 이는 혼합 배양한 요구르트 내에는 생균수가 더 많으므로 부착능이 높게 나타난 것으로 사료된다.

Saarela 등[29]에 따르면, lactulose와 lactitol은 위산과 담즙산에 대한 *L. paracasei* E-97949의 저항성에 큰 영향을 주지 않았다고 보고하여 본 결과와 유사하였다. 하지만 Buriti 등 [6]은 냉장 저장한 구아바 무스 내에 존재하는 *L. acidophilus* La-5는 위장액 및 담즙액 하에서 생존율이 낮았으나, inulin을 첨가한 경우 유산균의 생존율이 향상되었다고 하여 본 실

Table 2. Effect of FOS on acid and bile tolerance and adhesion to Caco-2 cell of lactic acid bacteria in yoghurt fermented by single and mixed cultures of *L. acidophilus* GK20 and *L. paracasei* GK74 as starter after 0 and 7 days of storage at 4°C.

Strain	Concentration of FOS (%)	Survival ratio under gastric juice (%)		Survival ratio under bile (%)		Adhesion to Caco-2 cells (%)	
		Storage period (days)					
		0	7	0	7	0	7
<i>L. acidophilus</i> GK20	0	35.56 ± 3.03^a	38.56 ± 1.49^{ab}	96.31 ± 4.77^a	94.24 ± 4.13^a	$41.62 \pm$	40.59 ± 2.51^a
	0.5	34.70 ± 4.15^a	31.71 ± 2.05^a	94.51 ± 1.68^a	98.04 ± 1.57^a	39.29 ± 5.85^a	42.31 ± 3.62^a
	1.0	32.20 ± 3.84^a	35.42 ± 4.71^{ab}	98.55 ± 2.56^a	97.88 ± 2.46^a	43.12 ± 7.12^a	44.75 ± 4.67^{ab}
<i>L. paracasei</i> GK74	0	35.60 ± 2.96^a	33.87 ± 3.88^a	100.12 ± 5.71^a	101.52 ± 4.72^a	52.23 ± 3.73^{abc}	55.60 ± 2.35^{bc}
	0.5	37.14 ± 3.12^a	32.51 ± 1.40^a	99.63 ± 3.66^a	103.45 ± 3.59^a	50.16 ± 6.29^{ab}	51.32 ± 7.05^{ab}
	1.0	40.63 ± 4.03^a	44.61 ± 1.80^b	101.51 ± 4.27^{ab}	100.05 ± 2.74^a	55.67 ± 4.05^{abc}	54.99 ± 3.01^{bc}
<i>L. acidophilus</i> GK20 + <i>L. paracasei</i> GK74	0	51.82 ± 5.12^b	55.61 ± 2.66^c	115.59 ± 3.50^c	117.45 ± 1.94^b	64.95 ± 7.31^{bc}	65.81 ± 4.52^{cd}
	0.5	53.01 ± 2.99^b	54.04 ± 4.97^c	111.71 ± 1.65^{bc}	118.16 ± 3.06^b	66.91 ± 6.80^{bc}	68.41 ± 5.04^d
	1.0	54.62 ± 5.16^b	56.51 ± 3.55^c	114.62 ± 2.77^c	117.03 ± 4.01^b	67.34 ± 5.79^c	69.28 ± 3.00^d

Data are means±SEM from triplicate determinations and the significant difference of means was estimated by Turkey's multiple range test ^{a-d}Data that share a common lowercase letter in the same column do not differ significantly between trials for the same day ($p > 0.05$).

험에 사용된 FOS의 효과와는 다소 차이가 있었다.

장관 상피세포벽에 부착된 probiotics는 mucin 생산을 촉진하거나 병원균의 부착과 장관 투과력을 감소시키며 이들이 생산한 독성물질의 통과를 억제함으로써 장내 병원균에 의한 상피세포의 손상을 막아 숙주의 방어체계 시스템을 강화한다[30]. 한편, 탄소화성 다당류인 prebiotics는 장내 음식물의 통과시간을 단축시키고 내당증을 개선하고, 담즙산과 결합시켜 지질과 콜레스테롤 흡수를 감소시키며, 장 내용물의 수분 보유량 증가 및 pH와 암모니아 생산량 감소 등을 통해 장질환, 심혈관계 및 암 발생을 억제하여 숙주의 건강을 개선시킨다. 치커리, 마늘, 양파, 아티초크 및 아스파라거스 등에 특히 FOS의 함량이 비교적 높는데 이는 장내 유용 미생물인 lactobacilli와 Bifidobacteria의 성장속도를 증가시키고, 발효에 의해 생성된 SCFAs의 함량을 증가시키는 반면 clostridia, fusobacteria 및 bacteroides의 증식을 억제하는 것으로 알려져 있다[35].

요구르트 발효 스타터의 항산화 활성에 대한 FOS의 영향

요구르트 발효 스타터 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74의 단독 혹은 혼합 배양에 의한 항산화 활성에 미치는 FOS의 영향을 살펴본 결과, Table 3과 같이 FOS가 첨가되지 않고 *L. acidophilus* GK20 단독으로 발효시킨 경우 DPPH radical 소거능과 환원력은 각각 $27.15 \pm 3.61\%$ 와 $0.38 \pm 0.03\%$ 이었으나, FOS를 0.5와 1.0% 첨가하여도 무첨가구와는 유의적인 차이가 없었다($p > 0.05$). 또한 *L. paracasei* GK74 단독일 때 DPPH radical 소거능과 환원력은 *L. acidophilus* GK20 단독일 때보다 유의하게 높은 활성을 나타내어 각각 $42.51 \pm 2.57\%$ 와 $0.59 \pm 0.02\%$ 이었으나, FOS 첨가가 이들 활성에 큰 영향을 미치지 않았다. 게다가 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74 혼합 배양시의 DPPH radical 소거능과 환원력이 각각 $49.28 \pm 4.11\%$ 와

$0.68 \pm 0.01\%$ 로 *L. acidophilus* GK20 단독일 때 보다는 유의하게 높았는데($p < 0.05$), 이는 혼합 배양에 의해 생균수가 증가되므로 항산력이 높아진 것으로 사료된다. 또한 FOS의 첨가에 의해 다소 증가된 값을 나타내었으나, 유의할 만한 차이는 없었고 모든 실험구마다 저장하는 동안에도 제조 직후와 비슷한 수준의 활성을 유지하였다.

이와 강[19]은 대조구에 비해 COS를 첨가한 요구르트의 radical 소거능은 약 1.5배 증가하였는데 *L. bulgaricus* Lb-12와 *S. thermophilus* St-36으로 발효시킨 요구르트의 DPPH radical 소거능은 60.04%였으나, COS를 0.3% 첨가한 경우에는 77.93-87.66%로 증가되었다고 하여 본 실험의 결과보다는 항산화력이 높게 보고되었다. 기존 보고된 많은 연구에 의하면 몇몇 probiotic 유산균은 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS) 소거, 금속이온 킬레이트, 산화효소 저해 및 아스코르브산 자동산화 감소와 저해 등의 메커니즘을 통해 항산화 활성을 발휘하는 것으로 알려져 있다[14]. 또한 FOS와 raffinose와 같은 prebiotic는 장관 상피세포막 내에 있는 oxidase에 의해 세포외 ROS 소거 능력이 있는 것으로 보고되고 있으며, cereal arabinoxylans와 arabinoxylan-oligosaccharides의 항산화력은 ferulic acid 함량과 상관관계가 있다고 보고되었다. 게다가 probiotics에 의해 분해된 prebiotics의 산물인 SCFAs은 산화적 스트레스를 중화하는 glutathione S-transferases (GSTs)을 유도하는 것으로 알려져 있다[33].

요구르트 발효 스타터의 항균활성에 대한 FOS의 영향

E. coli ATCC 11229와 *S. enteritidis* ATCC 13076의 증식에 대한 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74 단독 혹은 혼합으로 제조된 요구르트의 항균활성 결과는 Table 4와 같다. *L. acidophilus* GK20 단독으로 발효된 요구르트 제조 직후 *E. coli* ATCC 11229와 *S. enteritidis* ATCC

Table 3. Effect of FOS on DPPH radical scavenging and reducing activities of yoghurt fermented by single and mixed cultures of *L. acidophilus* GK20 and *L. paracasei* GK74 as starter after 0 and 7 days of storage at 4°C.

Strain	Concentration of FOS (%)	DPPH radical scavenging activity (%)		Reducing activity (OD _{700 nm})	
		Storage period (days)			
		0	7	0	7
<i>L. acidophilus</i> GK20	0	27.15 ± 3.61 ^a	25.60 ± 4.22 ^a	0.38 ± 0.03 ^a	0.32 ± 0.05 ^a
	0.5	28.41 ± 5.02 ^a	26.91 ± 4.35 ^a	0.40 ± 0.02 ^a	0.37 ± 0.02 ^a
	1.0	30.51 ± 2.88 ^a	31.41 ± 1.97 ^{ab}	0.43 ± 0.05 ^a	0.41 ± 0.04 ^a
<i>L. paracasei</i> GK74	0	42.51 ± 2.57 ^b	44.82 ± 5.30 ^c	0.59 ± 0.02 ^b	0.66 ± 0.04 ^b
	0.5	45.60 ± 4.78 ^{bc}	42.51 ± 2.80 ^{bc}	0.59 ± 0.03 ^b	0.67 ± 0.02 ^b
	1.0	46.79 ± 3.69 ^{bc}	45.23 ± 3.34 ^c	0.62 ± 0.04 ^{bc}	0.70 ± 0.03 ^b
<i>L. acidophilus</i> GK20 + <i>L. paracasei</i> GK74	0	49.28 ± 4.11 ^{bc}	50.67 ± 6.24 ^c	0.68 ± 0.01 ^{bc}	0.72 ± 0.03 ^b
	0.5	52.63 ± 5.24 ^{bc}	51.68 ± 4.05 ^c	0.70 ± 0.02 ^c	0.74 ± 0.02 ^b
	1.0	54.17 ± 2.67 ^c	53.28 ± 6.17 ^c	0.69 ± 0.05 ^c	0.75 ± 0.03 ^b

Data are means±SEM from triplicate determinations and the significant difference of means was estimated by Turkey's multiple range test
^{a-c}Data that share a common lowercase letter in the same column do not differ significantly between trials for the same day ($p > 0.05$).

13076에 대한 항균활성은 각각 36.96 ± 2.31 과 $29.31 \pm 0.88\%$ 로 나타났고, *L. paracasei* GK74 단독인 경우 *L. acidophilus* GK20 단독에 비해 항균활성이 유의하게 높게 나타났으며 ($p < 0.05$), 이들을 혼합했을 때는 *L. paracasei* GK74 단독일 때보다 더 높은 항균활성을 보여 *E. coli* ATCC 11229는 $53.54 \pm 0.94\%$ 및 *S. enteritidis* ATCC 13076은 $44.74 \pm 0.73\%$ 저해하였다. 특히 혼합 발효 스타터로 제조된 요구르트는 FOS 무첨가구에 비해 첨가량이 증가할수록 항균활성이 유의하게 높아졌는데 ($p < 0.05$), FOS 1.0% 첨가 시 *E. coli*를 $62.17 \pm 1.30\%$, *S. enteritidis*를 $49.80 \pm 0.84\%$ 저해할 수 있었으며, 항균활성은 7일 후에도 일정한 활성을 유지하였다.

전보[22]에 따르면, *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74는 과산화수소뿐만 아니라 MRS broth 상에서 37°C, 24시간 배양했을 때 박테리옌을 생산하는 균주임이 확인되어 *Listeria monocytogenes* KCTC 3569와 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538에 대한 항균활성을 보고한 바 있다. 그러나 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74를 시판우유에 접종 후 42°C에서 18시간 배양하여 제조한 요구르트의 pH를 중성으로 조정하고 다음 catalase를 처리한 시료로부터는 *E. coli*와 *S. enteritidis*의 저해 효과가 전혀 나타나지 않음을 미루볼 때 요구르트 발효 동안에는 스타터들이 박테리옌을 생성하지 않은 것으로 나타났다. MRS broth에서 생산된 경우와는 달리 probiotic와 synbiotic 요구르트는 *L. monocytogenes* KCTC 3569와 *S. aureus* ATCC 6538에 대해서도 항균효과를 나타내지 않았는데 이는 배양온도 및 시간과 배양용 배지의 성분 차이에 의해 박테리옌이 생성되지 않은 것으로 생각된다. 따라서 probiotic 및 synbiotic 요구르트의 항균활성은 유기산과 과산화수소의 작용에 의한 것으로 판단된다.

L. rhamnosus E-97800, *L. paracasei* E-97949 및 *Lacto-*

bacillus salivarius E-981006은 *E. coli*, *S. aureus* 및 *S. enterica* serovar *Typhimurium*의 성장을 약 95% 이상의 저해할 수 있었는데 lactulose에 의해 항균활성 증가는 나타나지 않았다고 보고된 바 있다[29]. Fook와 Gibson[16]에 따르면, *E. coli*와 *Campylobacter jejuni*에 대한 항균효과는 *B. bifidum* Bb12를 oligofructose와 xylooligosaccharide를 혼합했을 때와 *Lactobacillus plantarum* 0407과 oligofructose의 혼합에 의한 synbiotic에 의해 저해효과가 나타났다고 보고하였다.

요구르트 발효 스타터가 생산한 효소활성에 대한 FOS의 영향

요구르트 제조에 이용된 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74를 단독 혹은 혼합하여 사용했을 때 proteolytic 및 β -galactosidase 활성에 대한 FOS의 영향에 관한 결과는 Table 5와 같다. FOS를 첨가하지 않고 *L. acidophilus* GK20 단독으로 발효시킨 요구르트에 의한 proteolytic 활성을 340 nm에서 흡광도를 측정하고 결과 0.74 ± 0.02 으로 나타났는데 이는 *L. paracasei* GK74 단독일 때보다 유의하게 높은 수준이었으나 ($p < 0.05$), FOS 첨가량이 증가함에 따라 proteolytic 활성의 유의한 증가는 나타나지 않았다. 하지만 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74의 혼합에 의한 proteolytic 활성은 FOS를 첨가하지 않았을 때에는 0.89 ± 0.05 이었지만, FOS를 1.0% 첨가하였을 때에는 1.06 ± 0.06 으로 유의하게 증가되었고 ($p < 0.05$), 저장 7일 후의 활성은 모든 실험구에서 발효직후와 큰 변화없이 유지되었다.

한편, *L. acidophilus* GK20 단독으로 발효시킨 요구르트의 제조직후 β -galactosidase 활성은 3.82 ± 0.47 unit으로 나타났으나, FOS의 첨가는 이들 활성에 유의할 만한 영향을 주지 않았다. *L. paracasei* GK74 단독으로 발효시켰을 때는

Table 4. Effect of FOS on antibacterial activity against *E. coli* and *S. enteritidis* of yoghurt fermented by single and mixed cultures of *L. acidophilus* GK20 and *L. paracasei* GK74 as starter after 0 and 7 days of storage at 4°C.

Strain	Concentration of FOS (%)	Inhibition (%)			
		<i>E. coli</i> ATCC 11229		<i>S. enteritidis</i> ATCC 13076	
		Storage period (days)			
		0	7	0	7
<i>L. acidophilus</i> GK20	0	36.96 ± 2.31^a	32.41 ± 3.50^a	29.31 ± 0.88^a	25.19 ± 1.71^a
	0.5	44.10 ± 3.07^{bc}	40.14 ± 2.11^b	33.16 ± 2.20^{ab}	29.04 ± 0.92^{ab}
	1.0	49.03 ± 1.34^{cd}	48.20 ± 0.67^c	36.54 ± 0.93^{bc}	31.27 ± 0.97^{bc}
<i>L. paracasei</i> GK74	0	42.68 ± 0.91^b	41.21 ± 1.13^b	37.51 ± 1.91^c	34.64 ± 1.41^c
	0.5	46.23 ± 1.66^{bc}	42.28 ± 2.41^b	38.73 ± 2.72^c	39.23 ± 0.80^d
	1.0	47.21 ± 2.82^{bc}	41.56 ± 0.92^b	40.11 ± 1.22^c	42.11 ± 2.01^{de}
<i>L. acidophilus</i> GK20 + <i>L. paracasei</i> GK74	0	53.54 ± 0.94^d	45.64 ± 1.90^{bc}	44.74 ± 0.73^d	45.07 ± 0.79^{ef}
	0.5	59.70 ± 1.15^e	56.12 ± 2.62^d	49.68 ± 0.91^e	48.93 ± 0.99^{fg}
	1.0	62.17 ± 1.30^e	58.40 ± 0.92^d	49.80 ± 0.84^e	50.35 ± 1.95^g

Data are means \pm SEM from triplicate determinations and the significant difference of means was estimated by Turkey's multiple range test

^{a-g}Data that share a common lowercase letter in the same column do not differ significantly between trials for the same day ($p > 0.05$).

Table 5. Effect of FOS on proteolytic and β -galactosidase activities of yoghurt fermented by single and mixed cultures of *L. acidophilus* GK20 and *L. paracasei* GK74 as starter after 0 and 7 days of storage at 4°C.

Strain	Concentration of FOS (%)	Proteolytic activity (absorbance ₃₄₀)		β -galactosidase activity (unit)	
		Storage period (days)			
		0	7	0	7
<i>L. acidophilus</i> GK20	0	0.74 ± 0.02 ^{bc}	0.77 ± 0.04 ^{bc}	3.82 ± 0.47 ^a	3.84 ± 0.11 ^a
	0.5	0.81 ± 0.08 ^{cd}	0.87 ± 0.07 ^{cd}	4.50 ± 0.59 ^a	4.17 ± 0.34 ^a
	1.0	0.86 ± 0.05 ^{cd}	0.90 ± 0.04 ^{cd}	4.68 ± 0.75 ^a	4.55 ± 0.20 ^a
<i>L. paracasei</i> GK74	0	0.51 ± 0.03 ^a	0.53 ± 0.04 ^a	10.45 ± 0.28 ^b	8.65 ± 0.17 ^b
	0.5	0.52 ± 0.05 ^a	0.54 ± 0.05 ^a	12.53 ± 0.68 ^c	10.27 ± 0.23 ^c
	1.0	0.65 ± 0.09 ^{ab}	0.63 ± 0.02 ^{ab}	13.91 ± 0.56 ^c	11.36 ± 0.19 ^d
<i>L. acidophilus</i> GK20 + <i>L. paracasei</i> GK74	0	0.89 ± 0.05 ^{cd}	0.82 ± 0.06 ^c	17.54 ± 0.42 ^d	18.63 ± 0.35 ^e
	0.5	0.92 ± 0.02 ^{de}	0.97 ± 0.04 ^d	18.66 ± 0.16 ^d	19.54 ± 0.22 ^e
	1.0	1.06 ± 0.06 ^e	1.01 ± 0.06 ^d	20.14 ± 0.31 ^e	21.96 ± 0.29 ^f

Data are means±SEM from triplicate determinations and the significant difference of means was estimated by Turkey's multiple range test ^{a-f}Data that share a common lowercase letter in the same column do not differ significantly between trials for the same day (p>0.05).

L. acidophilus GK20 단독일 때보다 유의하게 높은 10.45 ± 0.28 unit를 보였으며, FOS 0.5% 이상 첨가했을 때에는 이보다 더 높은 활성을 나타내었다. 또한 *L. acidophilus* GK20 과 *L. paracasei* GK74 혼합 스타터로 발효 시 β -galactosidase 활성은 단독일 때보다 유의하게 높은 활성을 보였고, FOS 무첨가구보다 1.0%을 첨가했을 때 유의하게 높은 활성을 나타내었고(p<0.05), proteolytic 효소와 마찬가지로 β -galactosidase의 활성도 4°C에서 7일간 저장하는 동안 비슷한 수준을 유지하였다. 따라서 단독 배양보다 혼합 배양한 경우와 FOS를 첨가하여 발효하는 동안 생균수가 증가됨으로써 효소활성이 높아지고 4°C에 저장하는 동안에도 스타터의 생균수는 거의 일정하게 유지되므로 효소활성도 크게 변화하지 않았다.

Inulin에 의해서 *L. acidophilus* L10과 *L. casei* L26의 단백질 분해 활성이 증가되었고[13], Rodrigues 등[28]에 의하면 치즈 제조에 이용된 *B. lactis* B94, *L. casei*-01 및 *L. acidophilus* La-5는 균종에 따라 단백질 분해능에 유의한 차이가 있었고, FOS와 inulin을 1:1로 혼합한 synbiotic 요거트는 유의하게 높은 단백질 분해 활성을 나타내었다고 보고하였다. Ong 등[27]은 cheddar cheese의 casein 가수분해능이 다른 균주에 비해 *L. casei*와 *L. paracasei*가 월등히 높았으며, 그 결과 유리아미노산의 함량도 증가되었다고 보고한 바 있다. Donker 등[12]은 일반적인 요거트 제조에 이용되는 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Lb1466과 *S. thermophilus* St1342 균주 보다는 probiotic 균주인 *L. acidophilus* LAFTI L10, *B. lactis* LAFTI B94 및 *L. paracasei* LAFTI L26의 단백질 분해 활성이 유의하게 높았고 분해 효소의 활성은 배양 후 최종 pH에 따라 다르다고 하였다. 또한 probiotics 균주는 proteinase나 peptidase와 같은 단백질 분해 효소에 의해 우유 단백질을 분해시켜 아미노산이나 질소원을 생성시킴으로써 *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*

Lb1446의 성장을 촉진시키고 그 결과 요거트의 pH를 낮추주며 유기산 생성을 향상시켰다고 보고하였다. 또한 Vasiljevic와 Jelen[34]에 따르면, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ATCC 11842는 MRS broth 상에서 성장속도와 생균수가 더 높았으나, β -galactosidase 활성은 skim milk 내에서 더 높게 나타나 효소활성과 균성장 속도와의 상관관계는 비교적 낮았다고 하였으며, β -galactosidase 활성은 5.491 ± 0.116 unit로 본 연구의 *L. paracasei* GK74 보다는 낮았고, *L. acidophilus* GK20 보다는 높은 값을 나타내었다.

이상의 결과를 보면, 갓김치에서 분리된 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74를 이용하여 요거트를 제조했을 때 단독보다는 혼합 배양하고 FOS를 첨가했을 때 생균수와 총산도는 더 높았고 pH는 유의하게 더 낮게 나타났다. 또한 혼합 배양시 위산과 담즙산에 대한 저항성도 비교적 높았으며 장관 상피세포에 부착하여 장관 내에서 증식할 수 있을 것으로 보여 probiotic 균주로서의 기본 조건을 충족시켰다. 게다가 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74 및 FOS의 혼합에 의해 단백질 분해능이 증가되었고, β -galactosidase의 활성이 증가되어 유당불내증의 증상 완화에도 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다. 또한 *E. coli* ATCC 11229와 *S. enteritidis* ATCC 13076에 대한 항균효과도 나타내었고, DPPH radical 소거능 및 환원력에 의한 항산화 활성이 확인되었으므로 probiotic와 prebiotic을 혼합한 synbiotic 형태의 요거트는 장내 환경 개선과 건강 기능 향상에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

갓김치로부터 분리한 probiotic *L. acidophilus* GK20 및 *L. paracasei* GK74를 단독 혹은 혼합 배양하여 제조한 요거트를 저장하는 동안 이화학적 및 미생물학적 특성과 스

타터의 위산이나 담즙산에 대한 저항성, Caco-2 cell에 대한 부착능, 항균, 항산화 및 효소적 활성에 대한 prebiotic FOS(fructooligosaccharide)의 영향을 살펴보았다. FOS를 첨가했을 때 요구르트 내의 스타터 균수, 총산도 및 점도는 유의하게 높아짐과 동시에 pH는 감소되었다($p < 0.05$). 또한 *E. coli* ATCC 11229와 *S. enteritidis* ATCC 13076은 probiotics 스타터가 생산한 항균물질에 의해 저해되었으며, FOS를 첨가한 synbiotic 요구르트의 항균활성은 더욱 증가되었다. 게다가 FOS (1.0%)를 첨가하여 혼합 스타터로 발효시킨 요구르트에서 가장 높은 단백질 분해능 (1.06 ± 0.06 unit) 및 β -galactosidase 활성 (20.14 ± 0.31 unit)을 나타내었다. 하지만 비록 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74 모두 장관액에 대한 저항성, 장관상피세포에 대한 부착능 및 DPPH radical 소거능이나 환원력과 같은 항산화 활성을 나타내었지만, 이들 활성이 FOS에 의해 증가되진 않았다. 결과적으로 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74 혼합 배양에 FOS를 첨가한 synbiotic 요구르트는 장내환경 개선과 건강기능 향상에 유용한 것으로 여겨지며, 생리활성은 4°C에서 7일간 저장 하에서도 일정하게 유지되었음을 확인하였다.

REFERENCES

- Adolfsson, O., S. N. Meydani, and R. M. Russell. 2004. Yoghurt and gut function. *Am. J. Clin. Nutr.* **80**: 245-256.
- Akalin, A. S., S. Fenderya, and N. Akbulut. 2004. Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharides during refrigerated storage. *Int. J. Food Sci.* **39**: 613-621.
- Bang, B. H., J. S. Seo, E. J. Jeong, and K. P. Kim. 2004. Studies on the manufacture of peanut yoghurt. *Kor. J. Food Nutr.* **17**: 53-59.
- Bielecka, M., E. Biedrzycka, and A. Majkowska. 2002. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their *in vivo* effectiveness. *Food Res. Int.* **35**: 125-131.
- Bouzar, F., J. Cerning, and M. Desmazeaud. 1997. Exopolysaccharide production and texture-promoting ability of mixed-strain starter cultures in yoghurt production. *J. Dairy Sci.* **80**: 2310-2317.
- Buriti, F. C. A., I. A. Castro, and S. M. I. Saad. 2010. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. *Int. J. Food Microbiol.* **137**: 121-129.
- Chameber, J. V. 1979. Culture and processing techniques important to the manufacture of good quality yoghurt. *Cult. Dairy Prod. J.* **14**: 28-34.
- Church, F. C., H. E. Swaisgood, D. H. Porter, and G. L. Catignani. 1983. Spectrophotometric assay using *o*-phthalaldehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. *J. Dairy Sci.* **66**: 1219-1227.
- Christensen, J. E., E. G. Dudley, J. A. Pederson, and J. L. Steele. 1999. Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria. *Anton. Leeuw.* **75**: 217-246.
- Crittenden, R. G., L. F. Morris, M. L. Harvey, L. T. Tran, H. L. Mitchell, and M. J. Playne. 2001. Selection of a *Bifidobacterium* strain to complement resistant starch in a synbiotic yoghurt. *J. Appl. Microbiol.* **90**: 268-278.
- Davidson, M. H., K. C. Maki, and C. Synecki. 1998. Evaluation of the influence of dietary inulin on serum lipids in adults with hypercholesterolemia. *Nutr.* **18**: 503-517.
- Donkor, O. N., A. Henriksson, T. Vasiljevic, and N. P. Shah. 2006. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *Int. Dairy J.* **16**: 1181-1189.
- Donkor, O. N., S. L. I. Nilmini, P. Stolic, T. Vasiljevic, and N. P. Shah. 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *Int. Dairy J.* **17**: 657-665.
- Ejtahed, H. S., J. Mohtadi-Nia, A. Homayouni-Rad, M. Niafar, M. Asghari-Jafarabadi, and V. Mofid. 2012. Probiotic yoghurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutr.* **28**: 539-543.
- Fernandez-Garcia, E., J. U. McGregor, and S. Traylor. 1998. The addition of oat fiber and natural alternative sweeteners in the manufacture of plain yoghurt. *J. Dairy Sci.* **81**: 655-663.
- Fooks, L. J. and G. R. Gibson. 2003. Mixed culture fermentation studies on the effects of synbiotics on the human intestinal pathogens *Campylobacter jejuni* and *Escherichia coli*. *Anaerobe* **9**: 231-242.
- Ishibashi, N. and S. Shimamura. 1993. Bifidobacteria: research and development in Japan. *Food Technol.* **47**: 129-134.
- Kristo, E., C. G. Biliaderis, and N. Tzanetakis. 2003. Modelling of rheological, microbiological and acidification properties of a fermented milk product containing a probiotic strain of *Lactobacillus paracasei*. *Int. Dairy J.* **13**: 517-528.
- Lee, S. H. and K. M. Kang. 2010. Effect of chitooligosaccharides on the fermentation characteristics and shelf life of yoghurt. *J. Chitin. Chitosan* **15**: 210-215.
- Leroy, F. and L. D. Vuyst. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci. Tech.* **15**: 67-78.
- Lim, S. M. 2010. Resistance to reactive oxygen species and antioxidant activities of some strains of lactic acid bacteria from the mustard leaf kimchi. *Kor. J. Microbiol.* **46**: 375-382.
- Lim, S. M., K. S. Jeong, N. G. Lee, S. M. Park, and D. H. Ahn. 2011. Synergy effects by combination with lactic acid bacteria and fructooligosaccharides on the cell growth and antimicrobial activity. *Food Sci. Biotechnol.* **20**: 1389-1397.
- Lourens-Hattingh, A. and B. C. Viljoen. 2001. Yogurt as probiotic carrier food. *Int. Dairy J.* **11**: 1-17.
- Manning, T. S. and G. R. Gibson. 2004. Prebiotics. *Best Pract. Res. Cl. Ga.* **18**: 287-298.
- Modler, H. W., R. C. McKellar, and M. Yaguchi. 1990.

- Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Can. Food Sci. Tech. J.* **23**: 29-41.
26. Oliveira, R. P. D. S., A. C. R. Florence, P. Perego, M. N. D. Oliveira, and A. Converti. 2011. Use of lactulose as prebiotic and its influence on the growth, acidification profile and viable counts of different probiotics in fermented skim milk. *Int. J. Food Microbiol.* **145**: 22-27.
 27. Ong, L., A. Henriksson, and N. P. Shah. 2007. Proteolytic pattern and organic acid profiles of probiotic Cheddar cheese as influenced by probiotic strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. casei* or *Bifidobacterium* sp. *Int. Dairy J.* **17**: 67-78.
 28. Rodrigues, D., T. A. P. Rocha-Santos, C. I. Pereira, A. M. Gomes, F. X. Malcata, and A. C. Freitas. 2011. The potential effect of FOS and inulin upon probiotic bacterium performance in curdled milk matrices. *LWT- Food Sci. Tech.* **44**: 100-108.
 29. Saarela, M., K. Hallamaa, T. Mattila-Sandholm, and J. Matto. 2003. The effect of lactose derivatives lactulose, lactitol and lactobionic acid on the functional and technological properties of potentially probiotic *Lactobacillus* strains. *Int. Dairy J.* **13**: 291-302.
 30. Saulnier, D. M. A., J. K. Spinler, G. R. Gibson, and J. Versalovic. 2009. Mechanisms of probiosis and prebiosis: considerations for enhanced functional foods. *Curr. Opin. Biotechnol.* **20**: 135-141.
 31. Savaiano, D. A., D. A. G. Abdelhak AbouElanouar, D. E. Smith, and M. D. Levitt. 1984. Lactose malabsorption from yoghurt, pasteurized yoghurt, sweet acidophilus milk, and cultured milk in lactase-deficient individuals. *Am. J. Clin. Nutr.* **40**: 1219-1223.
 32. Shah, N. P. and P. Jelen. 1990. Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions. *J. Food Sci.* **55**: 506-509.
 33. Van den Ende, W., D. Peshev, and L. De Gara. 2011. Disease prevention by natural antioxidants and prebiotics acting as ROS scavengers in the gastrointestinal tract. *Trends Food Sci. Tech.* **22**: 689-697.
 34. Vasiljevic, T. and P. Jelen. 2001. Production of β -galactosidase for lactose hydrolysis in milk and dairy products using thermophilic lactic acid bacteria. *Innov. Food Sci. Emerg. Tech.* **2**: 75-85.
 35. Ziemer, C. J. and G. R. Gibson. 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. *Int. Dairy J.* **8**: 473-479.