KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 45, No. 3, pp. 267~273 (2013)
http://dx.doi.org/10.9721/KJFST.2013.45.3.267

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

©The Korean Society of Food Science and Technology

메밀을 첨가한 발효유의 향기성분과 발효특성에 관한 연구

이범선 · 박승국*
경희대학교 생명과학대학 식품공학과

Volatile Aromatic Compounds and Fermentation Properties of Fermented Milk with Buckwheat

Beom-Seon Lee and Seung-Kook Park*
Department of Food Science and Biotechnology, Kyung Hee University

Abstract We aimed to improve the flavor quality of plain yogurt, which is known to be sour and less desirable in flavor, varying concentrations of a buckwheat saccharification solution (BSS) were added to milk, followed by fermentation with commercially available mixed strains of lactic acid bacteria. Volatile compounds were analyzed using the gas chromatography-headspace-solid phase microextraction (GC-HS-SPME) method. Fermentation properties, including pH, titratable acidity, viable cells, viscosity, and color value were also measured. Eleven volatile compounds were identified with GC-MS. Of which, diacetyl, butanoic acid, and 2-heptanone proportionally increased as the levels of BSS increased. Undesirable compounds such as acetic acid and 2-butanone, decreased as BSS concentration increased. Fermentation properties were significantly altered with the addition of BSS. Our findings indicate that the flavor quality of plain yogurt can be improved by adding BSS for fermentation, with an additional health benefit from buckwheat.

Keywords: buckwheat, fermented milk, fermentation properties

서 론

발효유(fermented milk)는 일반적으로 원유를 원료로 하고 유산균을 스타터로 하여 발효시킨 유제품을 말하며, 여기에 과즙이나 향료를 첨가하여 음용하기에 적합하도록 만든 것을 의미한다(1). 발효유는 유산균에 의한 유익균의 성장 촉진(2), 장내 유해균 억제(3), 장내 정상 균총의 유지(4), 혈중 콜레스테롤 저하(5), 면역증진(6), 항암(7) 등의 다양한 건강 증진 효과를 갖는 것으로 보고되어 있다.

유산균은 β-galactosidase 생성에 의해 포도당이나 유당과 같은 탄수화물을 분해하여 유산을 만드는 박테리아로서 인간이 이용할 수 있는 가장 유익한 미생물의 한 종류로 크게 *Lactobacillus*속, *Lactococcus*속, *Streptococcus*속, *Leuconostoc*속, *Pediococcus*속으로 구분할 수 있다(8). 유산균은 식품 보존성의 향상, 각종 대사산물에 의한 향미 증진 등을 목적으로 광범위하게 이용되고 있다(9).

발효유에는 다양한 휘발성 향기성분이 존재하며 이는 기호성에 매우 중요한 것으로 여겨지고(10), free fatty acid, aldehyde, alcohol, diacetyl (2,3-butanedione), acetoin, 2,3-pentanedione, aromatic compound, 2-heptanone, hexanoic acid, 2-nonanone 등이 대표적인 화합물들이다(11). 그 중에서도 acetoin (creamy, fatty, buttery), 2-heptanone (creamy, fresh), hexanoic acid (cheesy, rancid, sweat-like), diacetyl (buttery), 2-nonanone (creamy, fresh)은 발효유의 향을 특성화시키는 주요한 성분이고, 특히 diacetyl은 전형적인 버터 향을 내는 성분으로서, 크림이나 발효유 등과 같은 유제품에 일반적으로 존재하는 성분이다(12).

메밀(*Fagopyrum esculentum* Moench)은 식물분류학적으로 대부분의 곡식과 달리 특이하게도 마디풀과의 메밀속에 속하는 일년생 초본으로써 분류학상으로는 곡류와 구별이 되지만 곡류와 유사한 특성을 갖고 있기 때문에 상업적으로는 곡류의 범주에 포함시키고 있다(13). 메밀은 생육기간이 짧은 편에 속하고 서늘한 기후에서 잘 자라고(14), 병충해에 강하기 때문에 많은 양의 화학 비료와 농약 등을 사용할 필요가 없는 무공해 작물로 잘 알려져 있다(15). 메밀에는 모세혈관을 강화시키는 rutin의 함량이 높아 최근 기능성식품으로서 관심이 상당히 높아지고 있고(16), K, Mg, Ca, P, Fe 등과 같은 무기질과 식이섬유의 함량도 풍부하다(17,18)고 보고된 바 있다.

발효유는 특유의 시큼한 향과 신맛이 강하기 때문에 기호도가 떨어지는데, 이를 개선시키기 위해 다양한 소재를 발효유에 첨가하여 연구한 결과가 보고된 바 있다. 항산화 효과가 있는 녹차(19), 항암 및 혈전 예방 효과가 있는 마늘(20), 백년초(21), 삼백초(22) 등을 첨가한 발효유의 기능성과 발효특성에 관한 연구가 보고되었고, 쌀, 보리, 율무, 메밀 등과 같은 곡류를 당화시켜 첨가한 발효유의 발효특성을 연구한 결과도 보고되어 있다(23). 특히 곡류를 당화시키는 경우에는 당화산물인 포도당을 유산균이 발효의 기질로 이용할 수 있기 때문에 아주 유용한 기법이라고 할 수 있다.

*Corresponding author: Seung-Kook Park, Department of Food Science and Biotechnology, Kyung Hee University, Yongin, Gyeonggi 446-701, Korea
Tel: 82-31-201-2655
Fax: 82-31-204-8116
E-mail: skpark@khu.ac.kr
Received June 6, 2012; revised March 12, 2013;
accepted April 3, 2013

메밀을 당화시킨 용액을 이용한 발효유의 발효특성(24), 분말 형태를 이용한 발효유의 발효특성(25)을 분석한 연구가 보고되어 있다. 하지만 메밀 당화 용액의 첨가량에 따른 발효특성을 분석한 연구는 보고된 바가 없고, 휘발성 향기성분의 변화에 대한 연구 또한 보고된 바가 없다.

본 연구에서는 plain yogurt의 향기품질과 기호도를 개선하기 위하여 메밀을 당화시킨 후 발효유에 첨가하여 그 첨가량에 따른 발효유의 휘발성 향기성분과 발효특성을 분석하였다.

재료 및 방법

메밀 및 우유

본 실험에서 사용한 메밀은 (주)봉평메밀팜(Pyeongchang, Korea)에서 2010년에 수확한 것을 구입하여 polyethylene 백에 포장한 후 실온에 보관하면서 사용하였으며, 발효 기질로 사용하기 위한 우유의 제조를 위해 시중 우유(Namyang Daily Product Co., Ltd., Gongju, Korea)와 탈지 분유(Seoul Daily Co., Ansan, Korea)를 구입하여 사용하였다. Um 등(24)의 방법을 이용하여 1 L 비이커 3개에 우유 1,000 g을 각각 담아 60°C 항온수조에서 1시간 동안 가온 후 탈지분유 30 g (3%, w/w)을 각 비이커에 넣어 30분 동안 용해시키고, 멸균(121°C, 15분)하여 발효 기질로 사용하기 위한 우유를 제조하였다.

메밀을 당화시키기 위해 사용한 효소는 *Bacillus* sp.에서 유래한 α-amylase (liquid, ≥300 units/g, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 *Aspergillus niger* (liquid, ≥300 units/mL)에서 유래한 glucoamylase (Sigma-Aldrich)를 냉장 보관하며 사용하였다.

유산균

유산균은 Direct Vet Set 제품인 ABT-5 (Chr. Hansen, Denmark)를 냉동 보관하며 사용하였다. *Lactobacillus acidophilus, Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium* 균이 혼합되어 있는 상태로 동결 건조시킨 상업용 균주이다.

메밀 당화 용액의 제조

본 실험에 사용한 메밀 당화 용액을 제조하기 위하여 Nam 등(23)의 방법을 이용하였다. 1차 증류수 900 g에 메밀 100 g을 넣고 3시간 동안 침지시켰고, 1시간 동안 90°C에서 호화 시킨 후, 냉수로 식혀준 다음 37°C 항온수조에서 1시간 동안 배양시켰다. α-Amylase와 glucoamylase를 각각 600 unit (0.2%, w/w)만큼 첨가하고, 37°C 항온수조에서 진탕 배양과 함께 24시간 동안 배양시켰다. 배양시킨 용액의 고형분을 체(testing sieve, 850 μm, Chung-Gye Co., Gunpo, Korea)를 이용하여 거른 후, 남은 용액을 당도계(PAL-1, ATAGO, Tokyo, Japan)를 이용하여 당도를 10 Brix%로 조정한 다음 멸균(autoclave, 121°C, 15분)하여 발효 기질로 이용하였다.

메밀 당화 용액이 첨가된 발효유의 제조

본 실험의 분석에 사용된 메밀 당화 용액이 첨가된 발효유는 다음과 같은 방법으로 제조하였다. 총 부피 250 mL을 기준으로 우유에 메밀 당화 용액을 각각 0, 10, 20, 30%(v/v)의 농도로 첨가하여 발효 기질로 사용하였다. 유산균을 접종하기 전 37°C 항온수조에서 1시간 동안 진탕 배양하였다. 50 mL를 동결건조 되어있는 ABT-5 1 g에 넣은 후, 37°C 항온수조에서 30분 동안 활성화시킨 ABT-5 희석액을 1.6×10^8 CFU/mL 만큼 접종하였다. 발효는 Kang과 Kim (25)의 방법을 응용하여 parafilm (Parafilm M, Chicago, IL, USA)과 알루미늄 호일로 완벽하게 밀봉을 한 상태로 37°C 배양기에서 24시간 동안 진행되었고, 발효가 완료된 시료들을 곧바로 본 실험의 분석에 이용하였다.

휘발성 향기성분의 추출

휘발성 향기성분의 추출은 SPME 방법을 이용하였다 (26). 37°C 배양기에서 24시간 동안 발효가 진행된다. 각각의 발효유 시료 5 g을 취하여 15 mL SPME용 vial (Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 넣고, 60°C에서 30분간 자석식 교반기(IKA, RCT basic, Staufen, Germany)에서 750 rpm으로 교반을 시키면서 headspace에 노출시킨 SPME fiber (50/30 μm DVB/Carboxen/PDMS, Supelco, Inc.)에 향기 성분이 흡착되도록 하였다. 내부표준물질(Internal Standard)로 geraniol (0.024 ng/mL, Sigma-Aldrich)을 첨가하여 분석하였다.

휘발성 향기성분의 분석 조건

향기성분이 흡착되어진 fiber를 GC-FID (HP 6890, Agilent, Palo Alto, CA, USA)에 주입하여 5분 동안 탈착시켜 분석하였으며, 사용한 column은 HP-5 (30 m×0.32 mm×0.25 μm, Agilent)이었다. 초기 oven 온도는 40°C에서 3분간 유지한 후에 10°C/min의 속도로 승온시켜 최종온도는 230°C에서 5분간 유지하였다. Carrier gas는 2.2 mL/min (He)을 사용하였으며 injector 230°C, detector 250°C로 분석하였다. 분리성분의 동정은 GC-MSD (HP-5975C insert MSD, Agilent)와 HP-5MS column (30 m×0.25 mm×0.25 μm, Agilent)을 사용하였다. 초기 오븐 온도는 40°C에서 4분간 유지한 후에 5°C/min의 속도로 승온시켜 최종온도 230°C에서 5분간 유지하였고 carrier gas는 helium (1.0 mL/min)을 사용하였다. MS의 이온화는 70 eV에서 실행하였고 분석 mode는 splitless로 하였다. 세부적인 기기 분석 조건은 Table 1에 나타내었다. 분리된 성분의 최종 확인은 mass spectrum library (Wiley/NBS)와 C_6-C_{22}의 n-paraffin mixture (Supelco)를 통한 retention indices (RI)의 계산결과를 참고하여 결정하였다. 발효유에서 중요한 휘발성성분의 정량을 위한 검량선을 작성하기 위해 농도별로 만든 각각의 외부적정 농도의 표준물질(diacetyl, 2-heptanone, hexanoic acid (Sigma-Aldrich))을 발효유에 첨가하여 주요 휘발성 향기 성분에 대한 정량을 실시하였다. 모든 시료의 분석은 3회 반복하였다.

pH 및 적정산도 측정

메밀 당화 용액이 첨가된 발효유의 경시적인 pH의 변화와 유산균의 산 생성을 측정하기 위해 Bang과 Park (27)의 방법을 응용하였고, 발효유 5 g에 멸균 증류수 45 mL를 가한 후 잘 용해시킨 용액을 시료로 사용하였다. pH 측정은 pH meter (Orion 710 A+, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정하였으며, 적정산도의 측정을 위해 위 용액에서 10 mL을 따로 취하여 페놀프탈레인 용액 3방울을 넣고 0.1 N NaOH로 pH가 8.3이 될 때까지 적정하였다. 적정할 때 소모된 0.1 N NaOH의 부피(mL)를 이용하여 적정산도를 계산하였다. 모든 시료의 pH와 적정산도는 24시간 발효되는 동안 6시간 주기로 측정하였다.

점도 측정

24시간 동안 발효된 시료의 점도를 측정하기 위해 Bang과 Park (27)의 방법을 사용하였는데, 각각의 시료 200 mL를 250 mL 비커에 담아 점도가 변하는 것을 예방하기 위해 24시간 냉장보관하여 미생물의 활동을 중지시키고, Brookfield viscometer (MODEL RVDVI+, Brookfield Engineering Lab. Inc., Middleboro, MA,

Table 1. Operating conditions of GC-FID and GC-MS for the analysis of volatile aroma compounds

Item	GC-FID	GC-MS
Instrument	HP 6890	HP 5975C
Column	HP-5 (30 m×0.32 mm×0.25 μm)	HP-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 μm)
Oven Temp.	40°C (3 min)→10°C/min→230°C (5 min)	40°C (4 min)→5°C/min→230°C (5 min)
Injector Temp.	230°C	230°C
Detector Temp.	250°C	250°C
Carrier gas (He)	2.2 mL/min	1.0 mL/min
Split ratio	Splitless	Splitless

USA)의 3번 spindle을 사용하여 60 rpm에서 4분에서 8분까지 1분 간격으로 점도를 측정하여 평균값을 data로 활용하였다.

색도 측정

24시간 동안 발효된 시료의 색도 측정은 Kim 등(20)의 방법을 응용하여 색차계(Color Techno System Corp., JC801, Tokyo, Japan)를 이용하였고, 명도를 나타내는 L값, 적색도를 나타내는 a값, 황색도를 나타내는 b값으로 나타내었으며, 5회 반복 측정한 뒤 평균값을 data로 활용하였다. 이 때 표준백판의 L값은 98.20, a값은 0.45, b값은 −0.62였다.

생균수 측정

24시간 동안 발효시킨 시료의 생균수를 측정하기 위해 Bang과 Park (27)의 방법을 응용하였는데 10배 희석법으로 희석한 각각의 시료 0.1 mL를 micropipette을 이용하여 1.5%(v/v)만큼의 agar powder가 첨가되어 있는 멸균된 MRS broth (Difco Co., Detroit, MI, USA)에 도말하고, 37°C에서 24시간 동안 혐기 조건으로 배양하여 나타난 colony수를 측정 및 비교하였다.

통계처리

3회 반복 실험하여 얻은 결과는 SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Package (Version 20, IBM Co., NY, USA)를 사용하여 분산 분석하였으며, 결과는 평균±표준편차로 나타내었다. 각 시료에 대한 유의성 검정은 분산분석을 한 후, 95%의 유의 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

메밀 당화 용액을 첨가한 발효유의 휘발성 향기성분 변화

우유만을 이용하여 제조한 발효유(대조군)와 메밀 당화 용액을 10, 20, 30%(v/v)만큼 첨가한 발효유의 휘발성 향기성분을 GC-FID로 분석한 chromatogram을 Fig. 1에 나타내었고, GC-MS로 동정한 결과는 Table 2에 나타내었다. 발효유에는 상당히 다양한 휘발성 향기성분이 존재하는데 본 실험에서는 총 14종의 화합물이 검출되었으며 그 중 11종의 화합물(acetaldehyde, diacetyl, acetic acid, 2-butanone, butanoic acid, 2-heptanone, hexanoic acid, 2-nonanone, octanoic acid, 2-undecanone, decanoic acid)을 GC-MS를 통해 동정할 수 있었다.

이 중에서 acetoin (creamy, fatty, buttery), 2-heptanone (creamy, fresh), hexanoic acid (cheesy, rancid, sweat-like), diacetyl (buttery, pungent), 그리고 2-nonanone (creamy, fresh) 등은 발효유만의 특유한 향기를 내는 데에 아주 중요한 역할을 하는 주요 휘발성 향기성분으로 보고되어 있고(12), 특히 diacetyl은 발효유, 치즈 등과 같은 유제품에 일반적으로 존재하면서 전형적인 버터 향을 내는 성분으로 알려져 있는 중요한 성분이다(28).

Fig. 1를 통해 메밀 당화 용액을 발효 기질로 첨가해도 새로운 휘발성 향기성분이 생성되지 않는다는 것을 알 수 있었고, 기존에 확인된 성분들의 양에만 변화가 있는 것을 확인할 수 있었다. 또한 Table 2에서 메밀 당화 용액의 첨가량에 따른 휘발성 향기성분의 peak area를 세부적으로 비교해 본 결과, 첨가량이 증가할수록 diacetyl은 27.5에서 49.6으로, butanoic acid는 10.7에서 22.5로 증가하는 경향을 보였고, 2-heptanone의 경우에는 30%만큼 첨가한 시료에서 유의적인 차이를 보이며 44.6까지 증가하였다. 반면에 식초 향과 산패취를 내는 acetic acid는 20%만큼 첨가한 시료에서 유의적인 차이를 보이며 28.5에서 20.8까지 감소하였고, acetone향을 강하게 내는 2-butanone은 7.4에서 5.0까지 감소하였다. 기타 나머지 성분들은 유의적인 차이를 보이지 않았고, 일정한 수준을 유지하였다. 본 실험 결과를 정리하면 기존의 발효유는 신맛과 향이 강하기 때문에 기호도가 떨어지는 경향이 있었으나 메밀 당화 용액이 첨가된 발효유는 향 품질 개선에 좋은 영향을 줄수 있음을 확인하였다. 본 실험의 결과가 나온 원인을 살펴보면 미생물학적 요인과 발효 기질의 조성이 큰 부분을 차지한다고 판단할 수 있다. 발효유와 같은 유제품의 향기 성분에 영향을 주는 요인은 상당히 많은데, 그 중에서도 유산균주의 종류와 활성도 같은 미생물학적 요인과 발효 기질로 사용되는 원료유의 성분 조성이 크게 작용한다고 알려져 있다(10). 본 실험에서는 발효 기질의 일부를 우유 대신 메밀 당화 용액을 사용하였기 때문에 우유 단백질, 유당, 포도당과 같은 발효 기질의 성분 조성에 차이가 생겼고, 이러한 차이가 발효 기질을 이용하여 성장하는 유산균의 생육 정도와 미생물학적 대사에 영향을 끼친 것으로 판단된다(10). 이 부분에 대해서는 단일 균주를 이용한 발효유의 휘발성 향기성분에 대한 분석을 통한 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다.

발효유에서 주요한 휘발성 향기성분이라고 알려져 있는 성분들 중에서 diacetyl, 2-heptanone, hexanoic acid의 농도를 표준물질을 사용하여 정량한 결과를 Table 3에 나타내었다. Diacetyl과 hexanoic acid는 메밀 당화 용액의 첨가량이 증가할수록 유의적인 차이를 보이며 증가하였다. Diacetyl의 odor threshold가 우유에서 0.01 μg/mL 인 점을 고려했을 때(29), 메밀 당화 용액의 첨가량이 증가할수록 후각으로 느낄 수 있는 차이도 커진다고 볼 수 있다. 그러나 2-heptanone과 같은 경우에는 메밀 당화 용액을 20%만큼 첨가한 시료에서부터 유의적인 차이를 보이며 증가하는 결과를 보였고, 0, 10%만큼 첨가한 시료는 0.03 μg/mL로 유의적인 차이를 보이지 않았다.

또한 메밀 당화 용액의 첨가량에 따른 각 휘발성 향기 성분들의 총 GC peak area를 비교한 Fig. 2을 통해 메밀 당화 용액을 30%만큼 첨가한 경우 그 외의 시료들에 비해 전체적으로 발효유의 향기 성분이 증가했다는 것을 알 수 있었다. 최근 건강에

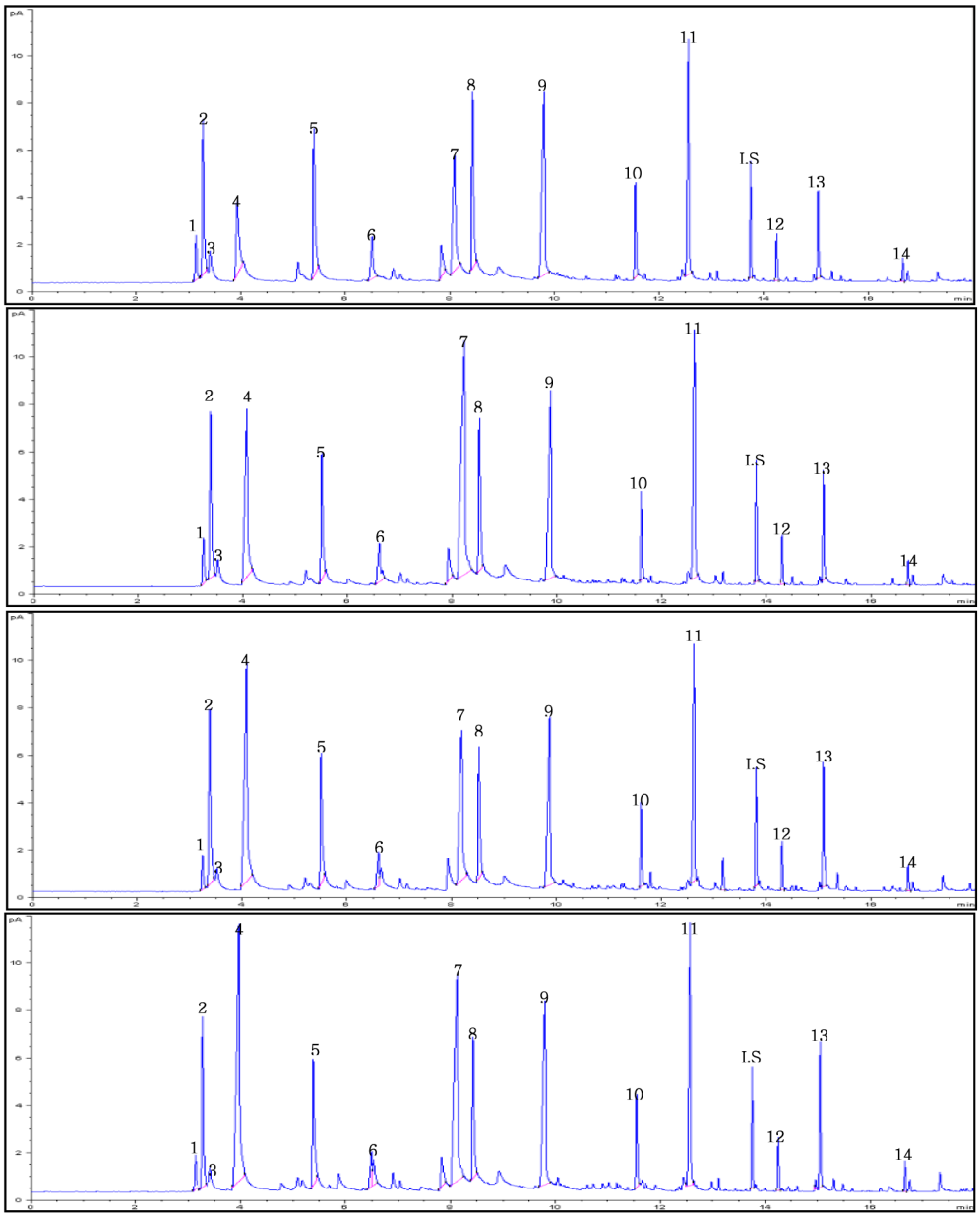

Fig. 1. GC chromatograms by the different levels of the saccharified buckwheat solution by GC-FID. (A), 0% (control); (B), 10%; (C), 20%; (D), 30%. The peak identity is presented in Table 2.

대한 염려가 커짐에 따라 향이 첨가되지 않은 plain yogurt에 대한 관심이 증가되고, 향 품질을 개선시키려는 노력이 계속적으로 이어지고 있는 만큼 무기질이나 식이섬유 등이 풍부한 기능성 이점이 있는 메밀과 같은 곡류의 당화 용액을 첨가한 발효유의 휘발성 향기성분에 대한 다양한 연구가 추가적으로 꾸준히 진행될 필요가 있다고 판단된다.

pH 및 적정산도의 변화

본 실험에서 발효 기질로 사용하기 위하여 제조한 우유에 메밀 당화 용액을 0, 10, 20, 30%(v/v)씩 첨가하여 24시간 동안 발효시키면서 6시간 주기로 pH와 적정산도의 변화를 측정하였다. pH와 적정산도의 구체적인 결과값은 Table 4에 나타내었다.

pH는 발효 6시간 동안 최대 5.05, 최소 4.65의 범위로 모든 구간에서 급격하게 감소하였으나 그 이후는 서서히 감소하였다. 메밀 당화 용액 첨가량이 증가할수록 pH가 더 낮아지는 결과를 보였으며, 30%만큼 첨가한 시료의 경우 발효 24시간 후 3.99의 값을 보이며 시료들 중에서 가장 낮은 pH를 보였다. 메밀 당화 용액의 첨가에 따른 적정산도의 변화양상을 살펴보면 pH의 변화와 역으로 유사하게 발효 6시간 동안은 꾸준하게 증가하였으며, 그 이후에는 서서히 증가하였다. pH의 변화와 마찬가지로 메밀 당화 용액을 30%만큼 첨가한 시료가 발효 24시간 후 1.23%의 가장 높은 적정산도 값을 보였다.

이러한 경향은 마늘 분말(20), 백년초(21), 삼백초(22) 등을 첨가한 발효유의 pH와 적정산도 등의 발효특성을 연구한 실험결과들과 비교하였을 때 일치하는 경향을 보였다. 이는 배양 중 메밀에 존재하는 다양한 무기질과 아미노산, 식이섬유 그리고 비타민 등에 의해 유산균의 생육이 촉진되어 산 생성이 증가되었고, 그에 따라 pH가 낮아지고 적정산도는 증가한 것으로 예상할 수 있

Table 2. Peak areas of the volatile aroma compounds in the fermented milk by different levels of saccharified buckwheat solution

Peak No.	RI[1)]	Compounds	Contents of buckwheat sacchrification solution (%)			
			0	10	20	30
1	-	UnKnown	5.2±0.2[a2)]	5.2±0.3[a]	4.6±0.4[a]	4.8±0.5[a]
2	538	Ethanol	16.9±0.1[a]	17.0±0.2[a]	17.0±0.1[a]	16.8±0.1[a]
3	543	Acetaldehyde	5.0±0.7[a]	4.7±0.5[a]	2.9±0.2[b]	3.0±0.1[b]
4	674	Diacetyl	27.5±4.1[c]	39.7±2.7[b]	45.1±4.9[ab]	49.6±3.1[a]
5	713	Acetic acid	28.5±2.3[a]	27.1±1.9[a]	21.9±0.4[b]	20.8±2.0[b]
6	777	2-Butanone	7.4±0.6[a]	6.1±0.3[b]	5.7±0.1[b]	5.0±0.2[c]
7	868	Butanoic acid	10.7±1.4[c]	13.8±5.3[bc]	24.4±5.2[a]	22.5±5.7[ab]
8	890	2-Heptanone	24.0±4.1[b]	24.4±2.1[b]	28.9±11.2[b]	44.6±5.7[a]
9	975	UnKnown	32.6±1.3[a]	26.4±2.0[b]	28.2±2.7[b]	28.0±1.8[b]
10	1091	Hexanoic acid	7.0±1.0[a]	6.5±0.5[a]	7.1±0.7[a]	11.4±5.7[a]
11	1166	2-Nonanone	22.5±2.0[ab]	20.3±0.3[b]	22.3±1.5[ab]	25.0±3.5[a]
12	1249	Octanoic acid	3.6±0.5[a]	3.2±0.1[a]	3.5±0.2[a]	4.6±1.7[a]
13	1278	2-Undecanone	7.5±1.2[ab]	6.3±0.2[b]	7.9±1.1[ab]	9.0±2.0[a]
14	1350	Decanoic acid	2.9±0.8[a]	2.0±0.2[a]	2.4±0.4[a]	2.9±1.7[a]

[1)]RI: Retention Indices (RI) were calculated using n-paraffin hydrocarbons (C_6-C_{22}) as external references.
[2)]Mean±SD (n=3)
*Means with the different letters in the same row are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

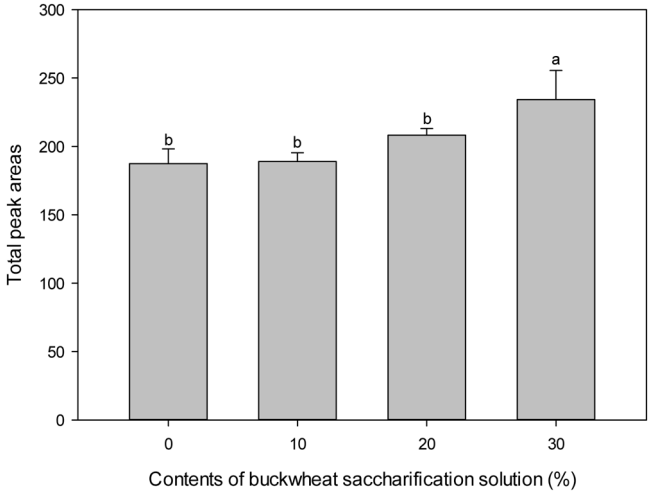

Fig. 2. Total peak areas of the volatile aroma compounds by the different levels of the saccharified buckwheat solution. *Means with the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

다(22). 메밀 당화 용액을 첨가함에 따라 pH와 적정산도 값이 달라지기 때문에 이를 토대로 배양 시간을 달리 설정할 수 있다고 판단된다.

점도의 변화

발효유의 점도는 소비자의 기호도에 큰 영향을 끼치기 때문에 배양 24시간 후 모든 시료의 점도를 측정하였으며, 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 배양 24시간 후 대조군과 10, 20, 30%(v/v) 첨가한 시료들의 점도는 각각 1712, 1172, 772, 544 cps (g/100 cm · s)를 나타내었고, 유의적인 차이는 Fig. 3에 나타낸 바와 같다. 즉 메밀 당화 용액을 첨가한 시료들이 대조군에 비해 낮은 점도를 보였으며 첨가량에 따라 점도 값도 감소하였는데, 특히 20, 30%만큼 첨가한 시료들의 점도는 현저하게 감소하였다. 일반적으로 점성의 원인이 되는 curd는 젖산 발효시 우유 단백질의 등전점 침전, protease에 의한 분해 응고 및 유산균에 의한 polysaccharide의 생성 등에 의해 복합적으로 일어난다고 보고되어 있다(30). 또한 전분 및 섬유소 등에 의해 점도가 상승할 수 있다고 연구되어 있다(31). 본 실험에서는 메밀 당화 용액을 10, 20, 30%만큼 첨가한 시료들의 경우 대조군에 비해 curd의 주성분인 우유 단백질, 즉 casein의 양이 상대적으로 적어지기 때문에 curd가 적게 생성되었고, 점도가 감소되는 결과를 가져왔다고 판단할 수 있다.

색도의 변화

메밀 당화 용액을 첨가한 발효유의 색도를 측정한 결과는 Table 5와 같다. 밝기를 나타내는 L값은 메밀 당화 용액을 첨가하지 않은 대조군과 10%만큼 첨가한 시료에서 각각 83.6, 83.7이었으며

Table 3. Concentration (μg/mL) of the major volatile aroma compounds in the fermented milk by different levels of saccharified buckwheat solution

Peak No.	RI[2)]	Compounds	Contents of BSS[1)] (%)			
			0	10	20	30
4	674	Diacetyl	1.52[d]	2.19[c]	2.49[b]	2.73[a]
8	890	2-Heptanone	0.03[c]	0.03[c]	0.05[b]	0.09[a]
11	1091	Hexanoic acid	17.98[d]	16.93[c]	18.19[b]	27.23[a]

[1)]Buckwheat saccharification solution
[2)]RI: Retention Indices (RI) were calculated using n-paraffin hydrocarbons (C_6-C_{22}) as external references.
*Means with the different letters in the same row are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

Table 4. The pH and titratable acidity of the fermented milk during 24 h fermentation

	Contents of BSS[1] (%)	Fermentation time (h)				
		0	6	12	18	24
pH	0	6.77±0.03[a2)]	5.05±0.17[a]	4.51±0.09[a]	4.31±0.05[a]	4.24±0.05[a]
	10	6.80±0.02[a]	4.96±0.04[ab]	4.41±0.08[a]	4.15±0.03[b]	4.06±0.03[b]
	20	6.80±0.03[a]	4.77±0.08[bc]	4.40±0.13[a]	4.13±0.03[b]	4.02±0.01[bc]
	30	6.80±0.02[a]	4.65±0.13[c]	4.20±0.05[b]	4.10±0.02[b]	3.99±0.02[c]
Titratable acidity (%)	0	0.09±0.01[a]	0.65±0.04[a]	0.85±0.05[a]	1.01±0.01[b]	1.15±0.05[b]
	10	0.09±0.01[a]	0.68±0.07[a]	0.89±0.09[a]	1.02±0.01[b]	1.20±0.04[ab]
	20	0.08±0.01[a]	0.70±0.04[a]	0.89±0.08[a]	1.04±0.02[ab]	1.21±0.04[ab]
	30	0.09±0.01[a]	0.72±0.04[a]	0.91±0.06[a]	1.06±0.02[a]	1.23±0.02[a]

[1)]Buckwheat saccharification solution
[2)]Mean±SD (n=3)
*Means with the different letters in the same column are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

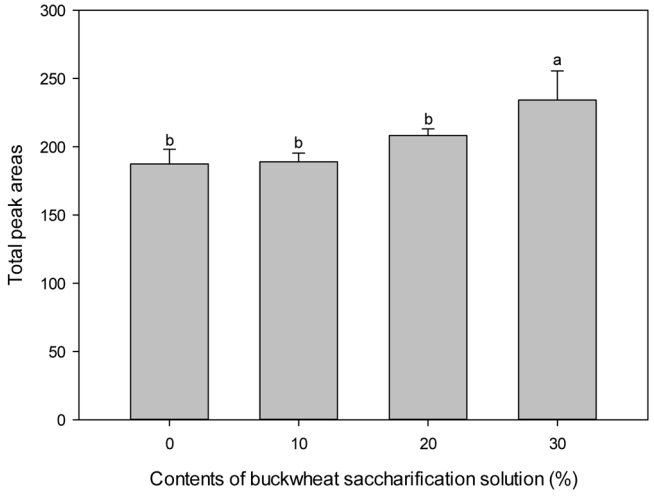

Fig. 3. Viscosity of the total samples after 24 h fermentation. *Means with the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

20, 30% 첨가한 시료에서는 각각 83.1, 82.4였다. 유의적인 차이를 분석한 결과 10, 20%만큼 메밀 당화 용액을 첨가한 시료들은 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았으나 30% 첨가한 시료의 경우에는 대조군과 비교하여 유의적으로 감소하는 것을 알 수 있었다. 적색도를 나타내는 a값은 모든 시료가 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 황색도를 나타내는 b값도 마찬가지로 모든 시료가 유의적인 차이를 보이지 않았다. 즉, 메밀당화용액을 10, 20% 만큼 첨가한 발효유 시료들은 대조군과 비교했을 때 색도의 변화가 없었고, 30%를 첨가한 경우에만 대조군에 비해 색이 진해졌다는 것을 확인 할 수 있었다.

생균수의 변화

메밀 당화 용액의 첨가량에 따른 발효유의 생균수 차이를 배양 24시간 후에 측정하였고 log를 취한 결과값을 Table 6에 나타내었다. 메밀 당화 용액을 첨가하지 않은 대조군의 경우에는 2.8×10^8 CFU/mL의 생균수를 보였으며, 10, 20, 30%만큼 첨가한 시료들은 각각 4.5×10^8, 4.7×10^8, 5.8×10^8 CFU/mL의 생균수를 보였다. 유의적인 차이를 분석한 결과는 Table 6에 나타낸 바와 같다. 메밀 당화 용액의 첨가량이 증가할수록 생균수가 증가하는 경향을 보였는데 이는 삼백초(22), 자색고구마(31) 등의 첨가가

Table 5. Color values of the fermented milk after 24 h fermentation

Contents of BSS[1] (%)	Color values		
	L	a	b
0	83.6±0.3[a2)]	4.1±0.4[a]	11.2±0.3[a]
10	83.7±0.2[a]	3.8±0.2[a]	10.5±0.2[a]
20	83.1±0.2[ab]	3.8±0.2[a]	10.9±0.3[a]
30	82.4±0.4[b]	3.8±0.1[a]	11.2±0.2[a]

[1)]Buckwheat saccharification solution
[2)]Mean±SD (n=3)
*Means with the different letters in the same column are significantly different by Duncan's multiples range test ($p<0.05$).

Table 6. Viable cells count of the fermented milk after 24 h fermentation

Contents of BSS[1] (%)	Viable cell count (Log CFU/mL)
0	8.4±0.2[c2)]
10	8.7±0.2[b]
20	8.7±0.4[b]
30	8.8±0.2[a]

[1)]Buckwheat saccharification solution
[2)]Mean±SD (n=3)
*The different letters are significantly different by Duncan's multiples range test ($p<0.05$).

유산균의 생육을 촉진시킨다는 기존의 연구 결과들과 같은 경향을 보였다. 칼슘, 인, 철분, 나트륨, 칼륨 등의 무기질과 비타민에 의해 유산균의 생육이 촉진될 수 있다는 연구결과가 보고되어 있는데(31), 본 실험에서는 메밀에 존재하는 다량의 단백질, 식이섬유, 무기질 및 비타민과 메밀을 당화시키는 과정에서 생성된 glucose, maltose, maltotriose 등에 의해 유산균의 생육이 촉진되었다고 판단할 수 있다.

요 약

본 연구에서는 메밀을 효소처리를 통해 당화시킨 후, 첨가량을 달리하여 발효유에 첨가하고 휘발성 향기성분과 발효특성을 비교하였다. 휘발성 향기성분은 HS-SPME기법을 이용하여 GC-FID와 GC-MS로 분석하였고, 발효특성은 24시간 발효시키는 동안 6시간 주기로 pH와 적정산도를 측정하였으며, 24시간 발효시킨 후

점도와 색도, 생균수를 측정 및 비교하였다.

Ketone류와 acid류가 주로 동정되었는데 메밀 당화 용액의 첨가량이 증가할수록 발효유와 같은 유제품에서 전형적인 버터 향을 내는 diacetyl과 크림 향과 fresh함을 부여하는 2-heptanone, 산패취를 내는 butanoic acid가 증가하였고, 식초 향을 강하게 내는 acetic acid와 acetone 향을 내는 2-butanone이 감소하였다. 따라서 메밀을 당화시켜 발효유에 첨가함으로써 향기품질이 개선되었다고 판단할 수 있었고, 그 원인으로는 미생물학적 요인이 가장 크며 이에 대한 심도 깊은 연구가 필요하다고 판단된다.

메밀 당화 용액의 첨가량이 증가할수록 pH는 발효 6시간 후까지 급격하게 감소하는 경향을 보이다가 이후에는 완만히 감소하였고, 적정산도는 그와 역으로 유사하게 발효 6시간 후까지 급격하게 증가하는 경향을 보이다가 이후에는 완만하게 증가하였다. Curd의 주성분인 casein이 상대적으로 적어졌기 때문에 점도는 메밀 당화 용액의 첨가량이 증가할수록 현저하게 감소하는 경향을 보였다. 색도는 명암을 나타내는 L값만이 유의적인 차이를 보이며 감소하여 색이 진해졌다는 것을 알 수 있었고, 메밀 당화 용액의 첨가량이 증가함에 따라서 생균수가 증가하는 경향을 보였다. 이는 메밀을 당화하여 얻을 수 있는 포도당과 기존에 다량 존재하는 식이섬유로 인해 유산균의 생육이 촉진된 것으로 판단되었다. 즉 본 실험을 통하여 메밀 당화 용액의 첨가량이 증가함에 따라 발효유의 발효특성의 차이가 있음을 확인하였고 또한 메밀 발효유의 향기품질을 향상시키는데 도움을 줄 수 있음을 확인하였다.

References

1. Sanchez-Segarra PJ, Garcia-Marinez M, Gordillo-Otero MJ, Diaz-Valverde A, Maro-Lopez MA, Moreno-Rojas R. Influence of the addition of fruit on the mineral content of yogurts: nutritional assessment. Food Chem. 70: 85-89 (2000)
2. Hood SK, Zottola EA. Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells. J. Food Sci. 55: 506-511 (1988)
3. Yang SJ, Yoon JW, Seo KS, Koo HC, Kim SH, Bae HS, Baek YJ, Park YH. Prophylactic effects of *Bifidobacterium longum* HY8001 against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* typhimurium DT104 enteric infection and evaluation of vero cytotoxin neutralizing effects. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 27: 419-426 (1999)
4. Lee SY, Shin JR, Lim SH. Effect of drinking fermented milk on the improvement of defecation in constipated female students. Korean J. Human Ecology 12: 265-274 (2003)
5. Lee YW. Effect of fermented milk on the blood cholesterol level of Korean. J. Fd. Hyg. Safety 12: 83-96 (1997)
6. Baek YJ, Bae HS, Kim HY. *In vivo* antitumor effects of lactic acid bacteria on Sarcoma 180 and mouse lewis lung carcinoma. Cancer Res. Treat. 23: 88-197 (1991)
7. Ahn YT, Lim KS, Huh CS. Current state of functional yoghurt in Korea. J. Korean Dairy Technol. Sci. 24: 29-42 (2006)
8. Gibson GR, Fuller R. Aspects of *in vitro* and *in vivo* research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. J. Nutr. 130: 3915-3955 (2000)
9. Shahani KM, Chandan RC. Nutritional and healthful aspects of cultured and culture-containing dairy foods. J. Dairy Sci. 62: 1685-1694 (1979)
10. Routray W, Mishra HN. Scientific and technical aspects of yogurt aroma and taste: A review. Compr. Rev. Food Sci. F. 10: 208-220 (2011)
11. Condurso C, Verzera A, Romeo V, Ziino M, Conte F. Solid-phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry analysis of dairy product volatiles for the determination of shelf-life. Int. Dairy J. 18: 819-825 (2008)
12. Beshkova DM, Simova ED, Frengova GI, Simov ZI, Dimitrov ZhP. Production of volatile aroma compounds by kefir starter cultures. Int. Dairy J. 13: 529-535 (2003)
13. Marshall HG, Pomeranz Y. Buckwheat description, breeding, production and utilization. Advances in cereal and technology. Amer. Assoc. Cereal Chem. 5: 157-210 (1982)
14. Kim JS, Park YJ, Yang MH, Shim JW. Variation of rutin content in seed and plant of buckwheat germplasm (*Fagopyrum esculemtnm* Moench). Kor. J. Breed. Sci. 26: 384-388 (1994)
15. Choi BH, Kim SK, Park KY, Park RY. Agronomic Characteristics and Productivity of Genetic Resources in Buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench). pp. 24-25. In: Korean Society of Crop Science Conference. May 13, Yeungnam University, Gyeongsan, Korea. Korean Society of Crop Science, Gyeongsan, Korea (1995)
16. Lee EH, Kim CJ. Nutritional changes of buckwheat during germination. Korean J. Food Culture 23: 121-129 (2008)
17. Sharma RR, Demirci A, Beuchat LR, Pett WF. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa seeds with ozonated water and heat treatment. J. Food Protect. 65: 447-451 (2002)
18. Shibata S, Imal T, Ghikubu S, Miyyahara T. The composition of buckwheat flour of various varieties and cultivated at various periods. Rept. Natl. Food Res. Inst. 34: 1-7 (1979)
19. Jung DW, Nam ES, Park SI. Effect of green tea powder on growth of lactic culture. Korean J. Food Nutr. 18: 325-333 (2005)
20. Kim GM, Shin JH, Kang MJ, Yang SM, Sung NJ. Preparation and characteristics of yogurt added with garlic powder. J. Agr. Life Sci. 44: 49-56 (2010)
21. Lee JY, Bae HC. Preparation of fermented milk added with powder of *Opuntia ficus-indica* var. saboten and its sensory characteristics. J. East Asian Soc. Dietary Life. 19: 967-974 (2009)
22. Lee IS, Lee SO, Kim HS. Preparation and quality characteristics of yogurt added with *Saururus chinesis* (Lour.) Bail. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31: 411-416 (2002)
23. Nam YJ, Mok CK, Park DJ, Koo KH, Jung KS, Choi TD. Commercialization study of grain yogurt. Korea Food Research Institute, Seongnam, Korea. p.26 (1993)
24. Um SS, Yoo JC, Ko YT. The effects of starch addition on acid production by lactic acid bacteria and quality of curd yogurt. Korean J. Food Sci. Technol. 25: 747-752 (1993)
25. Kang HN, Kim CJ. Effect of single or mixed culture of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* on fermentation characteristics of Buckwheat sprout-added yogurt. Korean J. Food Culture 25: 76-81 (2010)
26. Buchholz KD, Pawliszyn J. Optimization of Solid-Phase Microextraction Conditions for Determination of Phenols. Anal. Chem. 66: 160-167 (1994)
27. Bang BH, Park HH. Preparation of yogurt added with green tea and mugwort tea and quality characteristics. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29: 854-859 (2000)
28. Rasic JL, Kurmann JA. Yoghurt: Scientific grounds, technology,manufacture and preparations. Technical Dairy Publishing House, Copenhagen, Denmark. p. 466 (1978)
29. Antinone MJ, Lawless HT, Ledford RA, Johnston M. Diacetyl as a flavor component in full fat cottage cheese. J. Food Sci. 59: 38-42 (1994)
30. Chun SH, Lee SU, Shin YS, Lee KS, Ru IH. Preparation of yogurt from milk added with purple sweet potato. Korean J. Food Nutr. 13: 71-77 (2000)
31. Kim KH, Ko YT. The preparation of yogurt from milk and cereals. Korean J. Food Sci. Technol. 25: 130-135 (1993)