

*Lactobacillus bulgaricus*를 이용한 메밀싹 첨가 요구르트의 발효특성

강하니 · 김철재*
숙명여자대학교 식품영양학과

Lactobacillus bulgaricus Fermentation Characteristics of Yogurt with added Buckwheat Sprout

Hani Kang, Chul-Jai Kim*

Department of Food & Nutrition, Sookmyung Women's University

Abstract

The principal objective of this study was to investigate the influence of buckwheat sprouts on the acid production and growth of lactic acid bacteria in to which 5 and 10%(w/v) buckwheat sprouts was added, followed by fermentation with *Lactobacillus bulgaricus*. In yogurt to which 5 and 10% buckwheat sprouts was added, pH was lower and titratable acidity was higher than those of the control. It was also noted significant changes in the number of viable cell counts with differing amounts of added buckwheat sprouts until 12 hours. When the yogurt samples were stored for 12 days at 4°C, the pH and titratable acidity of the yogurt to which 5 and 10% buckwheat sprouts was added were maintained at lower and higher than control levels, respectively. The highest number of viable cell counts was found in the yogurt to which 5% buckwheat sprouts was added. Rutin content was reduced via lactic acid fermentation, but quercetin content increased significantly in the yogurt with added buckwheat sprouts. It may be that the glycosidic bonds connected to rutin were hydrolyzed during fermentation by lactic acid bacteria. The total phenol compound content of the yogurt samples also increased after fermentation. The antioxidative activity of yogurt to which 10% buckwheat sprouts was added was shown to have a 60.95% free radical scavenging effect, which was the highest among all yogurt samples evaluated.

Key Words: yoghurt, buckwheat sprouts, *Lactobacillus bulgaricus*, rutin

1. 서 론

오늘날 인류의 최대 관심은 건강이며 그 개념은 육체적이나 정신적으로 모든 기능을 활발하게 발휘할 수 있는 적극적인 상태를 말하는 것으로 건강을 증진시키는 것은 더욱 중요한 의미를 갖는다. 현대 과학이 발달하기 오래 전부터 인류는 유산균을 이용하여 발효유제품을 중심으로 각종 발효식품, 장류, 김치, 발효소세지, 의약품 및 가축의 사료 첨가제 등에 이르기 까지 광범위하게 활용하였으며(Huh 2005) 유익한 공생체의 하나로 인류의 식생활에 크게 기여하였다(Rose 1981).

발효유(Fermented milk)는 일반적으로 우유, 산양유, 마유 등과 같은 포유동물유의 젖을 원료로 하여 유산균이나 효모 또는 이 두가지 미생물을 스타터로 하여 발효시킨 제품을 말하며, 여기에 향료, 과즙 등을 첨가하여 음용하기에 적합하게 만든 것을 의미한다(Lee 등 1999). 발효유의 역사로 볼 때 가장 중요한 유산균은 1857년 프랑스의 유명한 미생물학자 파스퇴르(Louis Pasteur 1807~1893)에 의해서

최초 발견된 미생물로서 발견 당시에는 포도주를 신맛(Sour)이 나게 만드는 백해무익한 균으로 알려졌다. 그 후 여러 연구를 통해 인체에 유익한 균으로 밝혀졌으며(Shahani & Chandan 1979) 지금까지 300~400여 종류가 보고되었고 그 중 20여 종류가 주로 발효유 제조 및 발효산업에 이용되고 있다. 유산균은 β -galactosidase 생성에 의해 유당을 분해하고, 장내 유해균 억제(Yang 등 1999), 장내 정상 균총의 유지(Lee 등 2003), 혈중 콜레스테롤 저하(Lee 1997), 면역 증진(Baek 등 1991), 항암(Ahn 등 2006) 등의 건강 증진 효과를 갖는 것으로 보고되고 있다.

메밀(*Fagopyrum esculentum* Moench)은 여뀌과(Polygonaceae)의 일년생 초본으로 원산지는 중국의 운남성 지역으로 추정되며 비교적 습하고 서늘한 조건에서 잘 자라고 병충해에도 강한 특성이 있어 여러 나라에서 재배되고 있다(Lee 등 1994). 메밀은 특히 flavonoid계의 flavonol에 속하는 rutin(Quercetin 3-rutinoside)의 함량이 높아 최근 기능성 식품으로서 관심이 높아지고 있다. Rutin의 건강 기능성으로는 모세혈관을 강화시켜, 고혈압(Lee 등

*Corresponding author: Chul-Jai Kim, Department of Food & Nutrition, Sookmyung Women's University, 52 Hyochangwon-gil, Yongsan-gu, Seoul 140-742, Korea Tel: 82-2-710-9468 Fax: 82-2-701-9466 E-mail: cjkim@sookmyung.ac.kr

2000), 뇌출혈과 같은 심혈관계 질환을 예방하고(Hertog 등 1995; Keli 등 1996), 당뇨병, 잇몸출혈, 구취제거 등에 탁월한 효과가 있는 것으로 밝혀져 있으며 항염증성의 약리 효과, 폐출혈 및 망막출혈도 예방하는 것으로 보고되고 있다(Lee 등 1994; Lee 등 1995). 메밀은 발아시 특히 rutin의 함량이 크게 증가하는데 Kim 등(2005)의 연구에 의하면 메밀싹의 rutin 함량은 메밀종실에 비해 약 18배, Lee 등(2008)의 연구에서는 약 25배, Kwon 등(1994)의 연구에서는 약 50배까지 증가하는 것으로 나타나 rutin의 공급원으로써 메밀싹이 주목받기 시작하였다.

따라서 본 연구에서는 생리활성 및 기능성이 우수한 rutin이 다량 함유된 메밀싹을 이용하여 새로운 기능성 요구르트를 개발하고자 메밀싹 첨가에 따른 산 생성과 유산균의 생육에 미치는 영향을 조사하였다.

II. 연구 방법

1. 실험재료

본 연구에서 사용한 메밀종실은 내몽고산 단메밀(Common buckwheat)이었으며, 메밀싹은 (주)참한싹에서 재배(온도: $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, 암실)한 발아 7일차의 것으로 동결건조하여 분말로 만든 후 polyethylene 포장하여 4°C 에 보관하면서 시료로 사용하였다.

2. 사용 균주

본 연구에서 사용한 균주는 *Lactobacillus bulgaricus* (KCTC 3188)를 사용하였다. 균주는 Lactobacilli MRS broth(Difco Laboratories, Subsidiary of Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)에 접종(2%, v/v)하고 37°C 에서 18시간 가량 2회 계대 배양하여 사용하였다.

3. 메밀싹 첨가 요구르트의 제조

탈지유를 멸균(110°C , 15 min)한 후 메밀싹을 0, 5, 10% (w/v)로 첨가하여 균질화하고 starter를 2%(v/v) 접종하여 37°C 에서 배양하면서 시간 별로 pH, 적정 산도, 유산균수를 측정하였다.

4. pH 및 적정 산도

메밀싹을 첨가한 요구르트의 pH는 시료 5 g에 증류수 45 mL를 가한 후 균질화하고 10 mL를 취해 pH meter(PH Φ 34, Beckman Instruments Inc., Fullerton, California, USA)를 이용하여 3회 반복 측정하였다. 적정 산도는 시료 10 g에 증류수 10 mL를 취하여 pH meter 전극을 담고 0.1 N NaOH로 pH가 8.3이 될 때까지 적정하여 젖산으로 환산하였다.

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

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

5. 유산균수 측정

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

6. Rutin과 quercetin 분석

메밀싹 첨가 요구르트의 Rutin과 quercetin 함량은 Ohara 등(1989)의 방법을 응용하여 50 mL의 volumetric flask에 시료 500 mg에 메탄올 50 mL를 넣고 50°C 에서 90분간 초음파 추출 후 $0.45\ \mu\text{m}$ membrane filter로 여과하여 HPLC로 분석하였다. 표준물질로 rutin과 quercetin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하였고 분석조건은 <Table 1>과 같다.

7. 총 phenol 함량 분석

메밀싹 첨가 요구르트의 총 phenol 함량은 Swain 등(1959)을 응용한 Folin-Denis법으로 일정하게 희석한 시료를 $0.45\ \mu\text{m}$ membrane filter로 여과하고 125 μL 에 증류수 0.5 mL와 Folin-Ciocalteu 시약 125 μL 를 첨가하여 혼합한 다음 6분간 반응시켰다. 7% Na₂CO₃ 1.25 mL와 증류수 1 mL를 첨가하여 진탕하고 실온에서 1시간 30분간 방치한 후 분광광도계를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 5~500 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 조제하여 표준검량선 작성에 사용하였다.

8. 항산화 활성 측정

메밀싹 첨가 요구르트의 항산화 활성은 DPPH법(Shin 등 2008)을 응용하여 시료 0.3 g에 methanol 10 mL를 넣은 후 5분간 교반하고 상등액을 얻었다. Methanol을 첨가하여 50 mg/mL 농도로 제조하여 시료 용액으로 사용하였다. 시료 용액 50 μL 에 1.5×10^{-4} mM DPPH(1,1-diphenyl-2-

picrylhydrazyl) 용액 150 μL을 첨가하여 30분간 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하고 래디컬 소거능(%)을 계산하였다.

9. 통계처리

본 실험 결과 얻어진 자료에 대한 통계처리는 SAS package를 사용하였다. 메밀싹 첨가 요구르트의 rutin과 quercetin, 그리고 총 phenol 함량에 대한 각 실험구의 발효 전과 후의 비교는 paired t-test로 분석하였고, 모든 각 실험구 간의 유의성 검증을 위하여 ANOVA로 분석하였으며 사후검증으로 Duncan's multiple range test에 의해 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 메밀싹 첨가 요구르트의 발효 중 pH 및 적정 산도 변화

메밀싹을 농도별(0, 5, 10%, w/v)로 10%(w/v) 탈지유에 첨가하고 starter를 접종하여 37°C에서 24시간 배양하면서 pH와 적정 산도의 변화를 측정한 결과는 <Table 2>와 같다. pH는 메밀싹 첨가량이 증가할수록 감소하였고 메밀싹 5%와 10% 첨가구 사이에 유의적 차이가 나타났다. 적정 산도도 배양시간이 경과함에 따라 높아졌으며 메밀싹 첨가량이 증가할수록 높은 값을 나타내었다. 대조구(pH 6.37)를 제외하고 배양 12시간에서 pH는 4.06(5% 첨가), 3.98(10% 첨가)로 Lee 등(1972)이 보고한 요구르트의 바람직한 pH 범위인 3.7~4.2와 일치하였고 적정 산도는 0.972(5% 첨

가), 1.089(10% 첨가)로 Rasic & Kurmann(1978)이 보고한 0.85~1.20% 범위에 적합하였다.

2. 메밀싹 첨가 요구르트의 발효 중 유산균수 변화

배양 시간에 따른 요구르트의 유산균수 변화를 측정한 결과는 <Table 3>과 같다. 배양시간이 경과함에 따라 유산균수는 증가하였다. 배양 12시간동안 메밀싹 첨가구가 대조구보다 유산균수가 많았고 메밀싹 5% 첨가구(4.2×10⁷~5.0×10⁸ CFU/mL)보다 메밀싹 10% 첨가구(5.0×10⁷~5.7×10⁸ CFU/mL)의 유산균수가 유의적으로 많았다. 그러나 배양 15시간과 24시간에서는 대조구에서 각각 4.1×10⁹~4.4×10⁹ CFU/mL로 첨가구보다 많은 유산균수를 나타내었고 메밀싹 5% 첨가구(9.0×10⁸~2.3×10⁹ CFU/mL)와 메밀싹 10% 첨가구(6.0×10⁸~1.2×10⁹ CFU/mL) 사이에 유의적 차이가 나타났다.

3. 메밀싹 첨가 요구르트의 저장 중 pH 및 적정 산도 변화

메밀싹을 농도별(0, 5, 10%, w/v)로 첨가하고 *L. bulgaricus*를 접종하여 37°C에서 12시간 배양한 후 4°C에서 12일간 저장하며 pH 및 적정 산도를 측정한 결과는 <Table 4>에 나타내었다. 저장기간 동안 pH와 적정 산도의 변화는 비교적 일정하게 유지되었다. 대조구의 pH는 6.27~6.55로 완만하게 증가하였고 저장 0일과 3일에는 메밀싹 5% 첨가구가 메밀싹 10% 첨가구보다 높은 pH를 나타내다가 저장 6일과 9일에는 메밀싹 5% 첨가구의 pH가 각각 4.05와 4.03, 메밀싹 10% 첨가구의 pH가 각각 4.04, 4.02

<Table 2> Changes in acid production by *Lactobacillus bulgaricus* in yoghurt added with buckwheat sprouts

BS ¹⁾ (%)	Incubation time (hours)							
	0	3	6	9	12	15	24	
pH	0	6.37±0.01 ^{A2)a3)}	6.24±0.01 ^{Ba}	6.24±0.01 ^{Ca}	6.22±0.01 ^{Da}	6.41±0.02 ^{DEa}	6.52±0.05 ^{DEa}	6.27±0.03 ^{Ea}
	5	6.23±0.01 ^{Ab}	6.19±0.01 ^{Bb}	6.16±0.00 ^{Cb}	5.70±0.00 ^{Db}	4.06±0.02 ^{Eb}	4.00±0.01 ^{Fb}	3.86±0.01 ^{Gb}
	10	6.16±0.01 ^{Ac}	6.11±0.01 ^{Bc}	5.74±0.01 ^{Cc}	4.62±0.01 ^{Dc}	3.98±0.02 ^{Ec}	3.80±0.01 ^{Fc}	3.74±0.00 ^{Gc}
TA ⁴⁾ (%)	0	0.138±0.01 ^{Cc}	0.135±0.01 ^{Cc}	0.147±0.01 ^{BCc}	0.153±0.01 ^{BCc}	0.135±0.04 ^{Cb}	0.189±0.01 ^{Ac}	0.177±0.02 ^{ABc}
	5	0.285±0.01 ^{Db}	0.342±0.01 ^{Db}	0.540±0.02 ^{Cb}	0.639±0.04 ^{Cb}	0.972±0.16 ^{Ba}	1.356±0.05 ^{Ab}	1.362±0.06 ^{Ab}
	10	0.453±0.06 ^{Ea}	0.522±0.12 ^{Ea}	0.639±0.05 ^{Da}	0.993±0.03 ^{Da}	1.089±0.01 ^{Ca}	1.635±0.02 ^{Ba}	2.076±0.04 ^{Aa}

¹⁾BS denotes buckwheat sprouts.

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

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

⁴⁾TA denotes titratable acidity.

<Table 3> Changes in viable cell counts (log CFU/mL) of *Lactobacillus bulgaricus* in yoghurt added with buckwheat sprouts

BS ¹⁾ (%)	Incubation time (hours)							
	0	3	6	9	12	15	24	
0	7.08±0.24 ^{C2)c3)}	7.36±0.99 ^{Bc}	7.11±0.16 ^{Cc}	7.02±0.69 ^{Cc}	7.30±0.05 ^{Bc}	9.61±0.06 ^{Aa}	9.64±0.99 ^{Aa}	
5	7.62±0.57 ^{Eb}	7.87±0.09 ^{Db}	7.72±0.33 ^{Db}	8.04±0.07 ^{Cb}	8.70±0.21 ^{Bb}	8.95±0.19 ^{Bb}	9.36±0.67 ^{Ab}	
10	7.70±0.33 ^{Ea}	7.91±0.28 ^{Da}	8.11±1.15 ^{Da}	8.34±0.29 ^{Ca}	8.76±1.10 ^{Ba}	8.78±0.58 ^{Bc}	9.08±0.54 ^{Ac}	

¹⁾BS denotes buckwheat sprouts.

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

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

<Table 4> Changes in acid production by *Lactobacillus bulgaricus* in yoghurt added with buckwheat sprouts during storage at 4°C

BS ¹⁾ (%)	Storage time (days)					
	0	3	6	9	12	
pH	0	6.27±0.01 ^{D2)a3)}	6.57±0.01 ^{Aa}	6.48±0.01 ^{Ca}	6.55±0.01 ^{Ba}	6.55±0.00 ^{Ba}
	5	4.04±0.01 ^{BACb}	4.06±0.01 ^{Ab}	4.05±0.00 ^{Ab}	4.03±0.02 ^{Cb}	4.03±0.00 ^{BCc}
	10	3.98±0.01 ^{Dc}	4.00±0.01 ^{Cc}	4.04±0.01 ^{Ab}	4.02±0.01 ^{Bb}	4.05±0.00 ^{Ab}
TA ⁴⁾ (%)	0	0.114±0.03 ^{Cb}	0.138±0.02 ^{BCc}	0.201±0.03 ^{Ac}	0.165±0.04 ^{BACb}	0.177±0.02 ^{BAb}
	5	0.930±0.03 ^{Aa}	1.011±0.01 ^{Aa}	0.939±0.05 ^{Aa}	0.993±0.06 ^{Aa}	0.999±0.09 ^{Aa}
	10	1.125±0.03 ^{Aa}	0.873±0.04 ^{Bb}	0.864±0.01 ^{Bb}	0.966±0.02 ^{BAa}	0.954±0.01 ^{BAa}

¹⁾BS denotes buckwheat sprouts.

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

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

⁴⁾TA denotes titratable acidity.

로 차이를 나타내지 않았고 저장 12일에는 오히려 메밀싹 10% 첨가구가 메밀싹 5% 첨가구보다 높은 pH를 나타내었다. 대조구의 적정 산도는 서서히 증가하였지만 메밀싹 첨가구에서는 거의 변화가 없었다. 메밀싹 5%와 10% 첨가구 사이에 적정 산도의 차이가 없다가 저장 3일과 6일에 메밀싹 5% 첨가구가 각각 1.011과 0.939로 메밀싹 10% 첨가구의 0.873과 0.864보다 더 높은 적정 산도를 나타내었으며 저장 9일과 12일에 다시 메밀싹 첨가구 사이의 적정 산도 차이는 없었다.

4. 메밀싹 첨가 요구르트의 저장 중 유산균수 변화

저장기간에 따른 요구르트의 유산균수 변화를 측정할 결과는 <Table 5>에 나타내었다. 저장 기간 동안 대조구의 유산균수는 1.0×10⁷과 2.0×10⁷ CFU/mL으로 비교적 일정하였으며 대조구보다 메밀싹 첨가구의 유산균수가 더 많은 수로 유지되었다. 저장 중 유산균수는 메밀싹 10% 첨가구보다 메밀

싹 5% 첨가구에서 유의적으로 가장 많은 수를 나타내었다.

5. 메밀싹 첨가 요구르트의 발효 전과 후의 rutin과 quercetin 함량

Rutin은 quercetin에 rutinose가 결합된 flavonoid의 하나이며 quercetin 역시 flavonoid의 일종으로 과일이나 채소 등에 주로 존재하고 항산화, 항염증 효과, 항암효과를 나타내는 것으로 보고되어 있다(Havsteen 1983). 메밀싹 첨가 요구르트의 rutin과 quercetin 함량은 발효 전과 후로 나누어 비교하였고 그 결과는 <Table 6>에 나타내었다. 시료로 사용한 메밀싹의 rutin 함량은 1,417.09 mg/100 g이고 quercetin 함량은 55.18 mg/100 g이었으며 발효 전과 후를 비교하였을 때 rutin은 감소하였지만 quercetin은 증가하였다. 메밀싹 5% 첨가구의 rutin은 발효 전 73.63 mg/100 g에서 발효 후 40.28 mg/100 g으로, quercetin은 발효 전 3.40 mg/100 g에서 발효 후 6.72 mg/100 g으로 유의

<Table 5> Changes in viable cell counts (log CFU/mL) of *Lactobacillus bulgaricus* in yoghurt added with buckwheat sprouts during storage at 4°C

BS ¹⁾ (%)	Storage time (days)					
	0	3	6	9	12	
0	7.02±0.34 ^{B2)c3)}	7.30±0.09 ^{Ab}	7.03±1.12 ^{Bc}	7.32±0.24 ^{Ac}	7.01±0.38 ^{Bc}	
5	8.89±0.19 ^{Aa}	8.08±0.44 ^{Ca}	8.11±2.17 ^{Ca}	8.73±0.26 ^{Ba}	8.72±1.03 ^{Ba}	
10	8.36±0.27 ^{Ab}	7.01±0.59 ^{Dc}	7.48±0.32 ^{Bb}	8.49±1.10 ^{Ab}	7.70±0.54 ^{Cb}	

¹⁾BS denotes buckwheat sprouts.

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

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

<Table 6> Changes of rutin and quercetin contents in yoghurt added with buckwheat sprouts between before and after fermentation (mg/100 g)

BS ¹⁾ (%)	Rutin			Quercetin		
	Before	After	t-value (P-value)	Before	After	t-value (P-value)
5	73.63±1.23	40.28±0.19	32.75 ^{*2)} (0.0194)	3.40±0.01	6.72±0.02	-333.00 ^{**} (0.0019)
10	133.80±1.56	79.58±0.14	45.00 [*] (0.0141)	5.70±0.06	11.87±0.01	-154.50 ^{**} (0.0041)

¹⁾BS denotes buckwheat sprouts.

²⁾*p≤0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001.

적 차이(각각, $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$)가 분석되었다. 메밀싹 10% 첨가구의 rutin은 133.80 mg/100 g에서 79.58 mg/100 g으로, quercetin은 5.70 mg/100 g에서 11.87 mg/100 g으로 유의적 차이(각각, $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$)가 분석되었다. 즉 발효과정을 거치면서 rutin은 감소하고 quercetin은 증가하였는데 이것은 rutin에서 quercetin이 분리되는 과정에 유산균이 작용하여 구조에 변화를 가져오기 때문인 것으로 앞으로 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

6. 메밀싹 첨가 요구르트의 발효 전과 후의 총 phenol 함량
 메밀싹 첨가 요구르트의 총 phenol 함량은 발효 전과 후로 나누어 비교하였고 그 결과는 <Table 7>에 나타내었다. 총 phenol 함량은 발효과정을 거치면서 증가하였다. 대조구의 발효 전 총 phenol 함량은 15.68 mg/100 g에서 발효 후 20.75 mg/100 g으로 유의적 차이($p \leq 0.01$)가 나타났고 메밀싹 5% 첨가구는 119.91 mg/100 g에서 178.41 mg/100 g으로, 메밀싹 10% 첨가구는 147.64 mg/100 g에서 318.39 mg/100 g으로 유의적 차이(각각, $p \leq 0.001$, $p \leq 0.001$)가 분석되었다.

7. 메밀싹 첨가 요구르트의 항산화 활성
 생체 내의 유해 활성 산소, 유리기 등은 불포화지방산을 공격하여 과산화물(peroxide)을 만들고 alcohol류, aldehyde류, ketone류 등의 최종산물은 피로와 노화를 촉진시킨다. DPPH법은 tocopherol, ascorbate, flavonoid 등의 항산화 물질에 의해 DPPH가 환원됨으로서 짙은 자색이 탈색되는 정도에 따라 항산화 효과를 측정하는 방법이다. 메밀싹 첨가 요구르트의 항산화 활성을 측정한 결과는 <Table 8>

<Table 7> Changes of total phenol contents in yoghurt added with buckwheat sprouts between before and after fermentation (mg/100 g)

BS ¹⁾ (%)	Total phenol		
	Before	After	t-value (P-value)
0	15.68±0.28	20.75±0.00	-32.40** ²⁾ (0.0010)
5	119.91±0.28	178.41±0.28	-1000.00*** (<0.0001)
10	147.64±0.27	318.39±0.28	-1089.2*** (<0.0001)

¹⁾BS denotes buckwheat sprouts.
²⁾* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

<Table 8> DPPH radical scavenging activity of yoghurt added with buckwheat sprouts

Bacterium	Buckwheat sprouts (%)	Free radical scavenging effect (%)
<i>L. bulgaricus</i>	0	25.71±0.00 ^{b1)}
	5	23.81±1.65 ^b
	10	60.95±1.65 ^a

¹⁾Values in different superscript in a column are significantly different ($p \leq 0.05$).

에 나타내었다. 메밀싹 5% 첨가구의 항산화 활성은 23.81%로 대조구 25.71%와 유의적 차이가 없었으며 메밀싹 10% 첨가구의 항산화 활성은 60.95%이었다. 이와 같은 결과는 유산균 배양 세포 추출액의 항산화 활성과 메밀싹에 함유된 페놀화합물에 의하여 나타난 항산화 활성으로 풀이된다.

IV. 요약 및 결론

메밀싹을 농도별(0, 5, 10%, w/v) 첨가로 요구르트를 제조하여 배양과 저장기간 동안 pH, 적정 산도, 유산균수의 변화를 측정하였고 rutin, quercetin, 총 phenol 함량을 분석하였다. 배양기간 동안 메밀싹 첨가량이 증가할수록 pH는 감소하고 적정 산도는 높아졌으며 메밀싹 5%와 10% 첨가구 사이에 유의적 차이가 나타났다. 유산균수는 배양 12시간동안 메밀싹 첨가구가 대조구보다 유산균수가 많았으나 그 이후에는 대조구에서 많은 유산균수를 나타내었다. 대조구를 제외하고 배양 12시간에서 요구르트의 바람직한 pH, 적정 산도, 유산균수 범위를 나타내었다. 저장기간 동안 pH, 적정 산도, 유산균수의 변화는 대조구와 메밀싹 첨가구 사이에 유의적 차이를 보이며 비교적 일정하게 유지되었다. Rutin과 quercetin, 총 phenol 함량을 발효 전과 후로 나누어 비교한 결과 발효과정을 거치면서 rutin은 감소하였지만 quercetin은 증가하였고 총 phenol 함량도 증가하였으며 각 실험구에서 유의적 차이가 분석되었다. 메밀싹 첨가 요구르트의 항산화 활성 결과는 메밀싹 5% 첨가구와 대조구 사이의 차이가 없었으며 메밀싹 10% 첨가구의 항산화 활성은 60.95%이었다.

■ 참고문헌

Ahn, YT, Lim KS, Huh CS. 2006. Current state of functional yoghurt in Korea. Journal of Korean Dairy Technology and Science Association, 46(4):677-686

Back YJ, Bae HS, Kim HY. 1991. *In vivo* antitumor effects of lactic acid bacteria on Sarcoma 180 and mouse Lewis Lung Carcinoma. Cancer Research and Treatment, 23(2):188-197

Havsteen B. 1983. Flavonoids a class of natural products of high pharmacological potency. Biochemical Pharmacology, 32(7):1141-1148

Hertog MGL, Kromhout D, Arcanis C, Blackburn H, Buzina E, Fidanza F, Giampaoli S, Jansen A, Menotti A, Nedeljkovic S, Pekkarinen M, Simic BS, Toshima H, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB. 1995. Flavonoid intake and longterm risk of coronary heart disease and cancer in the countries study. Archives of Internal Medicine, 155(4):381-386

Huh CS. 2005. Development of Korean dairy industry-fermented milk products. Journal of Korean Dairy Technology and Science Association, 23(2):149-153

- Keli SO, Hertog, MGK, Freskens EJM, Kromhout D. 1996. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke. The Zutphen study. *Archives of Internal Medicine*, 156(6):637-642
- Kim YS, Kim JG, Lee YS, Kang IJ. 2005. Comparison of the chemical components of buckwheat seed and sprout. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 34(1):81-86
- Kwon TB. 1994. Changes in rutin and fatty acids of buckwheat during germination. *The Korean Journal of Food and Nutrition*, 7(2):124-127
- Lee EH, Kim CJ. 2008. Nutritional changes of buckwheat during germination. *Journal of the Korean Society of Food Culture*, 23(1):121-129
- Lee JL, Huh CS, Baek YJ. 1999. Utilization of fermented milk and its health promotion. *Journal of Korean Dairy Technology and Science Association*, 17(1):58-71
- Lee JS, Han PJ, Suh KB. 1972. Studies on production of modified yoghurt (soy cream) from soybean milk (I). *Korean Journal of Food Science and Technology*, 4(3):194-199
- Lee JS, Lee MH, Chang YK, Ju JS, Son HS. 1995. Effects of buckwheat diet on serum glucose and lipid metabolism in NIDDM. *The Korean Journal of Nutrition*, 28(9):809-816
- Lee JS, Park SJ, Sung KS, Han CK, Lee MH, Jung CW, Kwon TB. 2000. Effects of germinated buckwheat on blood pressure, plasma glucose and lipid levels of spontaneously hypertensive rats. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 32(1):206-211
- Lee JS, Son HS, Maeng YS, Chang YK, Ju JS. 1994. Effects of buckwheat on organ weight, glucose and lipid metabolism in Streptozotocin-induced diabetic rats. *The Korean Journal of Nutrition*, 27(8):819-927
- Lee MH, Son HS, Choi OK, Oh SK, Kwon TB. 1994. Changes in physico-chemical properties and mineral contents during buckwheat germination. *The Korean Journal of Food and Nutrition*, 7(4):267-273
- Lee YW. 1997. Effect of fermented milk on the blood cholesterol level of Korean. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 12(1):83-96
- Ly SY, Shin JR, Lim SH. 2003. Effect of drinking fermented milk on the improvement of defecation in constipated female students. *Journal of Korean Living Science Association*, 12(2):265-274
- Ohara T, Ohinata H, Muramatsu N, Matsushashi T. 1989. Determination of rutin in buckwheat foods by high performance liquid chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 36(2):114-117
- Rasic JL, Kurmann JA. 1978. *Yoghurt*. Technical Dairy Publishing House, Copenhagen, Denmark, T. p 103
- Rose AH. 1981. The microbiological production of food and drink. *Scientific American*, 245(3):127-138
- Shahani KM, Chandan RC. 1979. Nutritional and healthful aspects of cultured and culture containing dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 62(10):1685-1694
- Shin YM, Son CW, Sim HJ, Kim MH. 2008. Quality characteristics and antioxidant activity of Spirulina added yoghurt. *The Journal of Korean Society of Food and Cookery Science*, 24(1):68-75
- Swain T, Hillis WE, Oritega M. 1959. Phenolic constituents of *Ptunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10(1):83-88
- Yang SJ, Yoon JW, Seo KS, Koo HC, Kim SH, Bae HS, Baek YJ, Park YH. 1999. Prophylactic effects of *Bifidobacterium longum* HY8001 against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* DT104 enteric infection and evaluation of vero cytotoxin neutralizing effects. *The Korean Society for Microbiology and Biotechnology*, 27(5):419-426

(2008년 12월 8일 신규논문접수, 2009년 1월 30일 수정논문접수, 2월 6일 채택)