



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0042670
(43) 공개일자 2009년04월30일

(51) Int. Cl.

A23C 9/123 (2006.01) A23C 9/13 (2006.01)
A23C 9/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0108546

(22) 출원일자 2007년10월26일

심사청구일자 2008년01월29일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 공동 220번지 충남대학교

(72) 발명자

김미리

대전 유성구 신성동 대림아파트 101-201

손찬욱

대전 유성구 노은동 열매마을아파트 1001-1503호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이덕록

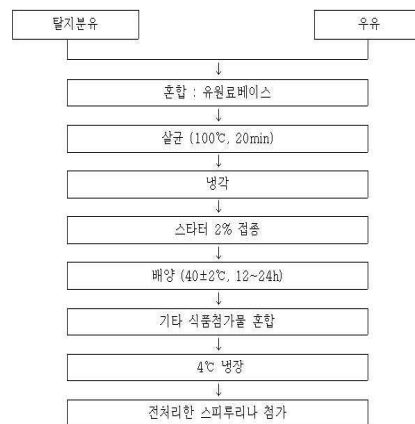
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 항산화활성을 갖는 스피루리나 함유 요구르트 및 그의제조방법

(57) 요약

본 발명은 항산화활성을 갖는 스피루리나 함유 요구르트 및 그의 제조방법에 관한 것으로, 최적의 유산균 종류 및 스피루리나 첨가량을 조사하고, 관능평가에 의하여 배합비를 결정함으로써, 스피루리나를 함유한 기능성 요구르트의 제조방법을 제공한다. 상기 발명은 스피루리나의 질병 예방 및 면역능 증진 효과를 요구르트의 기능성과 접목하여 시너지작용을 제공하는 뛰어난 효과가 있다. 또한 스피루리나 첨가에 따른 생육이 우수한 유산균을 밝히고, 적절한 스피루리나 첨가량을 탐색하여, 시중 판매 제품보다 항산화활성 및 관능적 특성이 우수하여 구매욕구를 증진시킨 기능성 요구르트의 제조방법을 제공하므로 식품산업 분야에 매우 뛰어난 발명이라 할 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

신유미

대전 대덕구 범동 보람아파트 114-203

권오윤

대전 동구 성남동 효촌마을아파트 211-1302

특허청구의 범위

청구항 1

스피루리나를 가열하여 전처리하는 단계;

유원료를 사용한 유원료 베이스를 제조하고 살균하는 단계;

상기 유원료 베이스를 냉각 후 스타터균주를 접종하고 배양하여 요구르트 베이스를 제조하는 단계; 및

상기 요구르트베이스에 기호성 증진을 위한 식품첨가제 및 전처리한 스피루리나를 혼합하는 단계;

로 구성됨을 특징으로 하는 스피루리나 함유 요구르트의 제조방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 스피루리나 전처리 단계는 120 내지 200℃에서 10 내지 30분간 수행하여 스피루리나 자체의 풍미를 개선시키는 것임을 특징으로 하는 스피루리나 함유 요구르트의 제조방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 스타터 균주는 락토바실러스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*), 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*), 락토바실러스 액시도필러스(*Lactobacillus acidophilus*), 스트렙토코커스 써모필러스(*Streptococcus thermophilus*), 카노박테리움 펀디쿰(*Carnobacterium fundicum*), 카노박테리움 알터펀티쿰(*Carnobacterium alterfundicum*), 아토포비움 리마에(*Atopobium rimaie*), 아토포비움 파르블루스(*Atopobium parvulus*), 락토코커스 락티스(*Lactococcus lactis*), 락토코커스 크레모리스(*Lactococcus cremoris*), 페디오코커스 세르비시아에(*Pediococcus cereviciae*), 테트라제노코커스 할로필러스(*Tetragenococcus halopilus*), 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*), 류코노스톡 시트로보룸(*Leuconostoc citrovorum*), 비피도박테리움(*Bifidobacterium*) 중 어느 하나 또는 이들을 혼합한 균주임을 특징으로 하는 스피루리나 함유 요구르트의 제조방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 첨가하는 스피루리나의 함량이 0.01 내지 5 중량 % 임을 특징으로 하는 스피루리나 함유 요구르트의 제조방법.

청구항 5

제 1항 내지 4항 중 어느 하나의 방법에 의하여 제조되는 항산화 활성을 갖는 스피루리나 함유 요구르트 조성물

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

<1> 본 발명은 항산화활성을 갖는 스피루리나 함유 요구르트 및 그의 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 스피루리나를 전처리하고 유원료를 사용한 유원료 베이스를 제조하며, 상기 유원료 베이스를 살균한 후 냉각하여 스타터를 접종하고 배양하여 요구르트 베이스를 제조하고, 상기 요구르트 베이스에 기호성을 높이기 위한 첨가제 및 생리적활성 및 기능성이 뛰어난 스피루리나를 첨가함을 특징으로 하는 제조방법에 관한 것이다. 또한 스피루리나 첨가가 유산균에 미치는 효과 및 스피루리나 첨가량에 따른 스피루리나 함유 요구르트의 이화학적, 미생물학적, 관능적 평가에 의하여 항산화활성 및 관능적 특성이 뛰어난 스피루리나 함유 요구르트 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

<2> 스피루리나(Spirulina)라는 이름은 '나선형의(Spiral) 모양을 하고 있는 생물'이라는 어원에서 유래되었고, 색은 청록색을 띄고 있으며 모양은 가늘고 긴 나선형 사상체의 길이 3 내지 5 mm, 폭 0.04 내지 0.06 mm인 분화

되지 않은 다세포성 독립영양생물이다. 원핵세포 생물인 시아노박테리아(cyanobacteria)의 한 종류로 분류되고 있는 스피루리나는 사해와 같은 바닷물보다 6 내지 7배나 더 짠 염호, pH 9 내지 11의 강알칼리성 호수, 40 내지 50℃의 열수 등 다른 생물들이 살기 어려운 환경에서 살아갈 수 있는 강한 생명력을 지닌 독특한 생명체이다.

- <3> 스피루리나는 에티오피아 원산이며 클로렐라 등과 함께 미래의 단백질원으로 주목되고 있다. 스피루리나의 영양 성분은 60 내지 70%가 양질의 단백질로 되어 있으며, 지질이 6 내지 9%, 탄수화물이 15 내지 20% 포함되어 있으며, 다량의 비타민, 무기질, 섬유질, 식용색소를 함유하고 있다. 스피루리나는 단백질 함량이 높을 뿐만 아니라 질도 우수하여 많은 필수아미노산을 함유하고 있으며, 탄수화물로는 포도당, 람노스(rhamnose), 만노스(mannose), 자일로스(xylose) 등을 함유하고 있으며, 지질성분 중에는 고도불포화 필수지방산인 리놀렌산(linoleic acid), 감마리놀렌산(γ -linolenic acid)이 풍부하고, n-3지방산인 리놀레익산(linoleic acid)도 다량 함유하고 있다. 또한 다량의 비타민과 무기질을 함유하고 있는데 특히 비타민 B12와 항산화제 역할을 하는 β -카로틴, 페놀산, 토코페롤을 다량 함유하고 있다. 색소 성분으로는 녹색의 클로로필, 등황색의 카로티노이드, 청색의 피코시아닌 등을 갖고 있으며, 이 중 피코시아닌(phyococyanin)은 남조류에만 함유된 색소로 광합성을 담당하며 영양소의 공급 및 색소로서 중요한 작용할 뿐만 아니라 항산화증 증진, 항염증 작용, 지방의 소화를 돕는 작용을 한다. 또한 세포벽은 셀룰로오스가 적고 부드러운 점액다당(mucopolysaccharide)으로 구성되어 있고 매우 얇기 때문에 소화 흡수율이 높으며, 프로스타글란딘은 혈소판의 응집을 막아주고, 혈액순환을 향상시키는 역할을 한다.
- <4> 생명유지시스템(CELSS)과 면역기능이 우수하고 방사능 치료에 효과가 있어 NASA(미국항공우주국)와 일본 과학기술청, 국제 항공우주기술연구소가 우주식품으로 개발하고 있다. 또 FDA, WHO, UNICEFF, FAO 등 UN 산하 국제기구들이 안정성을 인정하였다. 러시아에서는 방사능 치료약으로 특허를 받기도 하였다. 최근 건강보조식품으로 이용되고 있다.
- <5> 스피루리나의 효과에 관하여는, 경증의 고지혈증 혹은 고혈압 대상자에게 4.2g의 스피루리나를 8주간 복용시켰을 때 혈청콜레스테롤이 감소하였으며 동맥경화 지수도 낮아져 스피루리나가 콜레스테롤 저하 효과가 나타난다고 알려졌다. 또한 스피루리나를 비만 환자에게 하루 2.8g씩 3회 4주간 복용시킨 결과 체중 감소 효과가 있었다는 조사 결과도 있었다. 또한, 스피루리나 플라텐시스의 균체 및 무세포 배양여액을 화학적으로 분석하여 본 결과, 스피루리나가 질소를 소비하고 엑소다당류 및 기타 성분을 분비하여 유산균 성장 촉진 작용에 관여한다고 밝혀졌다.
- <6> 국내에서도 스피루리나의 기능에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있는데, 스피루리나가 즉각형 알레르기 반응을 억제하는 항알레르기 작용이 있으며, 알레르기 반응을 억제할 수 있는 물질을 함유하고 있음이 밝혀졌다. 또한 동물 실험을 통해 스피루리나 단백질의 우수한 소화율, 콜레스테롤 저하효과, 혈중 지질 농도의 정상화, 항산화능 및 면역능에서 뛰어난 효과를 나타내었다. 이와 같이 최근 스피루리나의 질병 예방 및 면역능 증진에 대한 국내외 연구가 활발히 진행되었다.
- <7> 요구르트(yoghurt)로 통칭되는 발효유는 원유 또는 유가공품을 유산균, 효모로 발효시킨 것으로 정의되고 있으며, 유형은 무지유고형분 함량에 따라 발효유와 농후발효유 등으로 분류하고, 액상발효유는 우유 또는 환원유를 발효시킨 후 당류, 향신료, 안정제 및 물을 첨가하여 희석시켜 제조되며, 농후발효유는 우유 또는 환원유를 사용하여 배양한 다음 과일잼이나 과즙 등을 첨가시켜 제조된다. 또한 유산균을 이용하여 만든 요구르트는 단백질, 칼슘, 비타민 B₂, B₁₂ 등의 함량이 높은 우유의 영양 성분 이외에 유산균의 작용에 의한 젖산, 펩톤, 펩타이드, 미량의 생리활성물질과 유산균체가 포함되어 있어 유산균의 건강 기능성을 동시에 가지고 있는 우수한 식품이다.
- <8> 최근에는 요구르트의 영양적 가치와 소화흡수 촉진에 의한 효과보다는 요구르트에 의해서 공급되는 유산균에 의한 건강증진 효과에 관한 과학적인 연구가 진행되고 있다. 유아의 장내에는 유산균의 일종인 비피도균을 중심으로 하는 장내 미생물이 균총을 이루고 있어서 유해미생물의 정착과 증식을 억제하여 장내 건강을 유지한다. 그 외에도 유산균이 성장하면서 생산하는 젖산에 의한 장 내용물의 pH 저하, 항생물질의 생산과 독소의 중화 효과로 얻게 되는 항균작용, 항암작용, 면역증진 작용 등이 있다고 한다.
- <9> 이러한 요구르트는 우유의 영양과 소화율이 향상된 유제품으로 독특한 풍미와 다양한 생리적인 기능성으로 인해 세계적으로 수요가 꾸준히 증가하고 있으며, 우리나라에서도 발효유 및 유산균에 대한 보급이 점차 확대되어 식이섬유, 올리고당, 비타민, 무기질 등을 강화시켜 기능성 식품 소재를 보강하였을 뿐만 아니라 변비, 위, 간 기

능 개선 등의 건강적인 측면을 강조하는 제품을 개발하여 발효유 시장이 더욱 활기를 띠고 있다.

- <10> 요구르트 제조 시 발효 기질의 일부로 보리, 옥수수, 쌀 등의 곡류, 감자, 고구마, 호박을 첨가한 연구가 이루어졌고, 최근에는 오디 추출물, 가루녹차, 클로렐라, 쌀, 구기자, 비파 착즙액, 매실착즙액 첨가에 따른 요구르트 균주의 증식에 미치는 영향에 관한 연구가 이루어졌다. 또한 울무, 복분자즙, 염장 죽순, 알로에, 클로렐라, 배양인삼, 구기자 추출액, 쌀분말, 쑥, 단감 분말, 매실, 삼백초, 녹차와 쑥차, 자색고구마, 마늘분말 등을 첨가한 요구르트에 관한 연구를 활발히 진행하여 건강 기능성을 지닌 발효유 제품 개발이 이루어지고 있다.
- <11> 기능성 요구르트에 관한 종래 특허기술을 살펴보면 비만방지용 요구르트(대한민국 특허등록 제 10-0127504호), 디에이치에이 첨가 요구르트의 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0191121호), 알로에 첨가 요구르트의 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0191122호), 유산균캡슐제 요구르트 및 그 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0263822호), 자색고구마를 첨가한 요구르트의 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0362965호), 항스트레스성 국화요구르트의 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0379904호), 버섯을 이용한 기능성 요구르트 및 그 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0378154호), 항스트레스성 장미요구르트의 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0379901호), 효소처리한 분리대두단백질을 이용한 대두요구르트 및 그 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0355264호), 콩비지를 이용한 요구르트의 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0462424호), 인삼의 유산균발효물, 그를 함유하는 인삼 요구르트(대한민국 특허등록 제 10-0497895호), 허브 요구르트의 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0641274호), 신선초 요구르트 및 그 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0583837호), 기능성 쌀 및 구기자를 첨가한 기능성 요구르트의 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0560988호), 삼백초를 함유한 요구르트의 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0482309호) 등이 있다.
- <12> 스피루리나를 이용하여 특허 등록된 종래 기술을 살펴보면 화장재료(대한민국 특허등록 제 10-0613554), 소화기능 및 항산화기능이 강화된 생식조성물(대한민국 특허등록 제 10-0541719), 스피루리나를 포함하는 면의 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0538431호), 변성 스피루리나 및 그 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0449209호), 세포막이 용해된 수용성 스피루리나 및 그의 제조방법(대한민국 특허등록 제 10-0493506호), 스피루리나의 성장 최적화 및 최대 수확을 위한 배지조성물(대한민국 특허등록 제 10-0622025), 심층수를 이용한 스피루리나의 배양 방법 및 그 배양방법으로 배양된 스피루리나 추출물(대한민국 특허등록 제 10-0697610), 스피루리나 속 조류의 생산방법(대한민국 특허등록 제 10-0704436) 등이 있으나 대부분 스피루리나의 제조방법에 관한 것으로, 스피루리나를 직접 제품에 적용한 예는 드물고, 특히 요구르트에 적용한 예는 없는 실정이다.
- <13> 스피루리나는 영양성이 풍부하고 기능성이 뛰어나지만 그동안 섭취가 불편하여 소비대상이 한정되어 있었고, 요구르트로 제조시 37±2℃에서 배양하여야 하므로 이때 유산균이 아닌 스피루리나에 포함된 유해균이 생육할 가능성이 있어 쉽게 제품화되기 어려운 문제점이 있었다. 또한 스피루리나 고유의 색과 냄새로 많은 양의 첨가시 관능적인 품질이 저하되는 문제점이 있었다.
- <14> 이에 본 발명자들은 상기 문제점들을 해결하여 보다 많은 사람들이 손쉽게 완전식품을 접할 수 있도록 하고자 스피루리나 요구르트로 제조하는 본 발명에 이르게 되었다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- <15> 따라서, 본 발명의 목적은 생리적 활성 및 기능성이 우수한 스피루리나를 요구르트에 효과적으로 첨가하여, 건강 증진 효과가 향상되고 항산화활성 및 관능특성이 우수한 기능성 요구르트 제조방법을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

- <16> 본 발명의 상기 목적은 청구항 1 에 기재한 방법을 통해 스피루리나 요구르트를 제조하고, 스피루리나 첨가가 유산균에 미치는 영향 및 스피루리나 첨가량에 따른 요구르트의 이화학적, 미생물학적, 관능적 특성을 분석하여 스피루리나 첨가 요구르트가 항산화활성 및 관능특성이 우수함을 확인함으로써 달성하였다.
- <17> 본 발명의 제조방법은 스피루리나를 가열하여 전처리하는 단계, 유원료를 사용한 유원료 베이스를 제조하고 살균하는 단계, 상기 유원료 베이스를 냉각 후 스타터 균주를 접종하고 배양하여 요구르트 베이스를 제조하는 단계, 기호성 증진을 위한 식품 첨가제 및 전처리한 스피루리나를 혼합하여 스피루리나 요구르트를 완성하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- <18> 본 발명에서 ‘유(乳)원료’ 라 함은 우유를 기본으로 하여 가공공정을 거쳐 생산한 우유 유래 제품을 말하는

것으로, 우유, 농축우유, 탈지우유, 강화우유, 환원우유, 가당연유, 무당연유, 탈지분유, 전지분유, 유청류, 생크림, 버터 등을 포함한 그룹으로 정의된다.

- <19> 본 발명에서 ‘유원료 베이스(dairy ingredient base)’ 라 함은 상기 유원료를 혼합하여 발효시키기 전 단계의 단독 또는 혼합물을 말한다.
- <20> 본 발명에서 ‘요구르트 베이스(yogurt base)’ 라 함은 상기 유원료 베이스에 요구르트 스타터 균주를 접종하여 발효시킨 것을 말한다.
- <21> 본 발명에서 ‘요구르트 스타터(starter)’ 라 함은 유원료베이스를 발효시키기 위한 유산균주를 말하는 것으로, 락토바실러스, 스트렙토코커스, 락토코커스, 비피도박테리움 등을 포함하는 그룹으로 통상 1 내지 3종의 균주를 사용한다.
- <22> 본 발명의 제조방법 중 스피루리나 전처리 단계는 120℃ 내지 200℃에서 10-30분간 스피루리나를 멸균하는 방법으로 수행하는 것이 바람직하며, 보다 바람직하게는 120℃에서 20분간 수행할 수 있다. 유원료를 사용하여 유원료 베이스를 제조하는 단계 중 유원료는 통상의 제조방법으로 사용되는 원유 또는 요구르트의 특성에 따라 농축우유, 비타민 등의 강화우유, 환원우유, 가당연유, 무당연유 등을 사용할 수 있다. 또한 발효유, 농후발효유, 크림발효유, 농후크림발효유 또는 발효버터유로 나뉘어지는 요구르트의 종류에 따라서 탈지분유, 전지분유, 유청류, 생크림, 버터 등의 다양한 유원료를 첨가할 수 있다. 바람직하게는 우유 70-80%중량 또는 탈지분유 1-5%를 사용하여 제조할 수 있다.
- <23> 상기 요구르트 베이스의 살균은 호상요구르트의 경우 90 내지 100℃에서 10 내지 20분간 수행하는 것이 바람직하며, 액상(드링크)요구르트의 경우에는 저온단시간살균(LTLT; 62 내지 65℃에서 30분간 살균), 고온단시간살균(HTST; 72 내지 75℃에서 15 내지 16초 살균) 또는 초고온살균(UHT; 135℃에서 1초이상) 중 어느 하나를 선택하여 살균함이 바람직하다.
- <24> 본 발명의 스타터 균주는 통상적인 요구르트에 사용되는 균주 중 어느 하나 또는 그 이상을 선택하여 사용할 수 있다. 그 대표적인 것으로 락토바실러스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*), 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*), 락토바실러스 액시도필러스(*Lactobacillus acidophilus*), 스트렙토코커스 써모필러스(*Streptococcus thermophilus*), 카노박테리움 펀디쿰(*Carnobacterium fundicum*), 카노박테리움 알터펀디쿰(*Carnobacterium alterfundicum*), 아토포비움 리마에(*Atopobium rimaie*), 아토포비움 파르블루스(*Atopobium parvulus*), 락토코커스 락티스(*Lactococcus lactis*), 락토코커스 크레모리스(*Lactococcus cremoris*), 페디오코커스 세레비시아에(*Pediococcus cereviciae*), 테트라제노코커스 할로필러스(*Tetragenococcus halophilus*), 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*), 류코노스톡 시트로보룸(*Leuconostoc citrovorum*), 비피도박테리움(*Bifidobacterium*) 등을 들 수 있다. 바람직하게는 스트렙토코커스 써모필러스, 락토바실러스 액시도필러스, 락토바실러스 불가리쿠스 균주 중 어느 하나 이상을 함유하는 스타터를 사용할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 스트렙토코커스 써모필러스 및 락토바실러스 액시도필러스를 혼합하여 사용할 수 있다.
- <25> 본 발명의 제조방법 중 스피루리나 첨가량은 기능성에 따라 0.01 중량% 내지 5 중량%를 첨가할 수 있으며, 바람직하게는 0.25 중량% 내지 1 중량%를 첨가할 수 있으며, 더 나은 제품을 얻기 위하여 더욱 바람직하게는 0.25%를 첨가할 수 있다.
- <26> 또한 기호성을 높이기 위한 첨가제로 딸기, 사과, 배 등의 과일푸레 또는 시럽류 또는 각종 조미성분 등을 가할 수 있으며, 요구르트의 안정성을 높이기 위한 펙틴, 구아검, 카라기난, 젤라틴, 잔탄검, 로커스트콩검, 메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 전분 등의 통상적으로 사용되는 천연 및 합성 안정제를 부가하여 첨가할 수 있다. 또한 풍미를 증진시키기 위한 향미제 등을 첨가할 수 있고, 감미도를 높이기 위한 설탕, 올리고당, 물엿, 과당 등의 통상적인 당류 또는 시트르산과 같은 산미제를 부가적으로 첨가하여 제조할 수 있다.
- <27> 또한 본 발명은 상기의 방법에 의하여 제조된 항산화활성을 갖는 유산균 함유 스피루리나 요구르트 조성물을 제 공함을 특징으로 한다.
- <28> 본 발명은 상기의 방법으로 제조된 요구르트를 산업적으로 즉각 이용가능하고, 기존 시중 판매 제품들보다 월등히 개선된 세부화된 기능성 스피루리나 요구르트의 제조 방법을 제시함을 특징으로 한다.
- <29> 이는 스피루리나 첨가가 유산균의 증식 및 산 생성에 미치는 영향을 조사하여 스피루리나에 적합한 유산균주 및 배양방법을 결정하고, 이화학적, 미생물학적, 관능적 특성 분석을 통하여 최적의 조건을 제시함으로써 달성하였다.

효 과

<30> 본 발명은 항산화활성을 갖는 스피루리나 함유 요구르트 및 그의 제조방법에 관한 것으로, 종래 스피루리나의 고유 풍미로 인한 제품 적용의 어려움을 스피루리나의 가열처리에 의하여 개선하고, 스피루리나의 질병 예방 및 면역능 증진 효과를 요구르트의 기능성과 접목하여 시너지작용을 제공하는 뛰어난 효과가 있다. 또한 스피루리나 첨가에 따른 생육이 우수한 유산균을 밝히고, 적절한 스피루리나 첨가량을 탐색하여, 시중 판매 제품보다 이화학적, 미생물학적, 관능적 특성이 뛰어난 산업적으로 응용가능한 기능성 요구르트의 제조방법을 제공하므로 식품산업 분야에서 매우 뛰어난 발명이라 할 것이다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<31> 이하 본 발명이 구체적인 방법을 실시예를 들어 상세히 설명하고자 하지만 본 발명의 권리범위는 이들 실시예에만 한정되는 것은 아니다.

<32> 실시예 1 : 원료, 균주의 준비

<33> 본 발명에 사용한 스피루리나는 (주)이에스바이오텍에서 공급받아 사용하였으며, 스피루리나의 영양성분은 표 1에 나타내었다.

<34> 또한 원유 및 각종 첨가제 등은 통상적으로 판매되는 제품을 사용하였다. 또한 본 발명의 요구르트 스타터로는 락토바실러스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*), 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*), 락토바실러스 엑시도필러스(*Lactobacillus acidophilus*), 스트렙토코커스 써모필러스(*Streptococcus thermophilus*), 카노박테리움 펀디쿰(*Carnobacterium fundicum*), 카노박테리움 알터펀티쿰(*Carnobacterium alterfundicum*), 아토포비움 리마에(*Atopobium rimaie*), 아토포비움 파르불루스(*Atopobium parvulus*), 락토코커스 락티스(*Lactococcus lactis*), 락토코커스 크레모리스(*Lactococcus cremoris*), 페디오코커스 세피비시아에(*Pediococcus cereviciae*), 테트라제노코커스 할로필러스(*Tetragenococcus halophilus*), 류코노스톡 메젠테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*), 류코노스톡 시트로보룸(*Leuconostoc citrovorum*), 비피도박테리움(*Bifidobacterium*)을 사용하였으며, 이 중 실험을 통하여 유산균 생육 특성이 우수한 3종인 스트렙토코커스 써모필러스(*Streptococcus thermophilus*), 락토바실러스 엑시도필러스(*Lactobacillus acidophilus*) 및 락토바실러스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*)를 선택하였다. 본 발명에서의 실시예에 나타난 3종 외에 특정 유산균을 사용하여도 당업자라면 용이하게 스피루리나 요구르트를 제조할 수 있다.

<35> 유산균은 한국생명공학연구원 생물자원센터로부터 분양받아 사용하였으며 그 중 상기 대표적 유산균은 표 2에 나타내었다. 유산균주는 121℃에서 15분간 고압멸균된 MRS 브로츠(Difco 0881, USA) 배지에서 37℃에서 18시간 가량 2회 계대 배양한 후 121℃에서 15분간 고압멸균된 10%(w/v) 탈지우유(Difco, USA) 배지에 접종하여 사용하였다. 이하 실시예 3에서의 요구르트의 제조에는 유산균주를 동결건조하여 사용하였다.

표 1

<36> 스피루리나의 영양적 조성

성분		10g당 함유량
	수분	5 %
	단백질	65 %
	지방	5 %
	탄수화물	18 %
	회분	7 %
미네랄	칼슘	100.0 mg
	인	90.0 mg
	철	15.0 mg
	나트륨	60.0 mg
	구리	120.0 mg
	마그네슘	40.0 mg
	망간	0.5 mg
	아연	0.3 mg

	칼륨	120.0 mg
	크롬	28 µg
비타민	아스코빈산	0.5 mg
	β-카로틴	12.8 mg
	바이오틴	0.5 µg
	코발라민	3.2 µg
	엽산	1.0 µg
	피리독신	80.0 µg
	판토텐산	10.0 µg
	나이아신	1.46 mg
	티아민	0.31 mg
	토코페롤	1.0 IU
색소	카로티노이드	37.0 mg
	피코시아닌	1,500.0 mg
	클로로필	115 mg
	γ-리놀렌산	135 mg
	글리코리피드	200 mg
	설포리피드	10 mg

표 2

<37> 요구르트 발효에 사용한 대표적 유산균 3종

균	숫자코드	배양배지
스트렙토코커스 살리바리우스 서브스피시스 써모필러스(<i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>)	KCTC 5092	MRS
락토바실러스 액시도필러스(<i>Lactobacillus acidophilus</i>)	KCTC 3164	MRS
락토바실러스 델부르엑키 서브스피시스 불가리쿠스(<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>)	KCTC 3635	MRS

<38> 실시예 2 : 스타터 유산균 및 스피루리나 첨가량 결정

<39> 최적의 스피루리나 요구르트를 제조하기 위하여 스타터 유산균을 결정하고 스피루리나의 첨가량을 판단하고자 하였다.

<40> 스타터 유산균의 결정

<41> 스타터로 사용할 최적의 유산균주를 결정하기 위하여 하기의 방법으로 실험을 수행하였다. 스피루리나 첨가가 유산균의 생육에 대하여 미치는 효과를 살펴보고자, 멸균된 10%(w/v) 탈지우유 배지에 스피루리나 무첨가균(Control)과 첨가균(SP 1%)으로 농도를 달리한 후 계대 배양한 유산균주를 단독균주 또는 혼합균주로 접종하였다. 단독균주인 경우에는 각각 2%(v/v)씩 접종하였고, 혼합균주인 경우에는 각 균주를 1:1의 비율로 2%(v/v) 접종하여 37℃에서 15시간 배양하면서 시간별(0, 3, 6, 9, 12, 15시간)로 pH, 적정산도 및 유산균수를 측정하였다.

<42> 가) pH 및 적정산도 결과

<43> 스피루리나 원말을 탈지우유 배지에 첨가하여 배양하면서 대조구와 비교 관찰한 결과 대조구(◇) 및 첨가구(■) 각각의 pH 변화는 도 2a 내지 2c 및 3a 내지 3b에, 적정산도의 변화는 도 4a 내지 4c 및 5a 내지 5b에 나타내었다.

<44> 도 2 내지 5에 나타낸 바와 같이, 단독균주의 경우, 스트렙토코커스 써모필러스는 배양 6시간 후에 대조구는 pH 6.50, 스피루리나 첨가구는 pH 5.77로 약간 낮게 나타났고, 적정산도는 대조구 0.29%, 첨가구 0.62%로 높은 결과를 보였으며, 락토바실러스 불가리쿠스는 배양 9시간부터 스피루리나 첨가구와 대조구의 pH가 각각 5.95,

5.43이고, 적정산도는 0.32%, 0.95%로 비슷한 경향을 보여 스피루리나가 유산균 발효 과정에서 산 생성을 촉진하는 것을 알 수 있었다. 락토바실러스 액시도필러스는 배양 12시간 이후에 대조구와 첨가구의 pH와 적정산도가 차이가 나타난 것으로 보아 스피루리나 첨가에 의한 증식 효과가 미비하게 나타난 것으로 보여진다.

<45> 혼합균주의 경우, 스트렙토코커스 써모필러스 + 락토바실러스 불가리쿠스는 배양 6시간 후 대조구의 pH 6.07보다 낮은 5.35를 보였고, 적정산도는 대조구(0.44%)보다 높은 0.77%를 나타내어 단독 및 혼합 균주 중에서 젖산의 생성 속도가 가장 빠른 것으로 나타났다. 스트렙토코커스 써모필러스 + 락토바실러스 액시도필러스는 배양 6시간 후 대조구와 첨가구의 pH가 각각 6.46, 5.81로 첨가구의 pH가 낮게 나타났고, 산도는 각각 0.31%, 0.54%로 나타났으나 스트렙토코커스 써모필러스 + 락토바실러스 불가리쿠스 복합균주 보다는 젖산의 생성 속도가 빠르게 진행되지 않았다.

<46> 본 발명의 실시 결과, 단독배양 할 때보다 혼합배양을 하는 경우에 젖산의 생성이 빠르게 진행되는 것을 알 수 있었고, 특히, 스트렙토코커스 써모필러스와 락토바실러스 액시도필러스를 함께 배양하면 두 젖산균 간에 공생 효과가 있어 산 생성이 촉진된다는 것을 밝혀내었다.

<47> 이는 혼합배양으로 균주간의 상호보완적인 상승작용이 있어서 유산균의 성장 및 젖산의 생성 등을 증진시켜 배양시간이 단축될 뿐만 아니라 유용한 대사산물의 생성에도 유리하게 작용하기 때문에 요구르트의 품질 향상 효과가 나타나는 것으로 보인다.

<48> 나) 유산균수 결과

<49> 스피루리나 첨가에 의한 스트렙토코커스 써모필러스, 락토바실러스 불가리쿠스, 락토바실러스 액시도필러스 등의 유산균 증식에 미치는 영향을 조사한 결과는 표 3 내지 7에 나타내었다.

표 3

<50> 스피루리나가 첨가된 탈지우유 배지에서의 스트렙토코커스 써모필러스의 집락형성단위(CFU/mL)의 변화

	배양시간 (hours)					
	0	3	6	9	12	15
대조구	1.3×10^5	1.0×10^6	1.5×10^7	7.4×10^8	8.1×10^8	8.1×10^8
SP 1%	1.6×10^5	1.5×10^6	2.2×10^7	6.3×10^8	9.1×10^8	3.0×10^8

표 4

<51> 스피루리나가 첨가된 탈지우유 배지에서의 락토바실러스 불가리쿠스의 집락형성단위(CFU/mL)의 변화

	배양시간 (hours)					
	0	3	6	9	12	15
대조구	9.6×10^5	1.8×10^7	1.4×10^8	6.3×10^8	5.3×10^9	8.9×10^8
SP 1%	1.1×10^6	1.5×10^7	9.3×10^7	1.1×10^9	2.5×10^9	3.4×10^9

표 5

<52> 스피루리나가 첨가된 탈지우유 배지에서의 락토바실러스 액시도필러스의 집락형성단위(CFU/mL)의 변화

	배양시간 (hours)					
	0	3	6	9	12	15
대조구	1.6×10^5	1.2×10^6	2.1×10^7	3.3×10^8	8.3×10^8	5.8×10^8
SP 1%	2.0×10^5	1.6×10^6	4.2×10^7	2.9×10^8	8.8×10^8	8.4×10^8

표 6

<53> 스피루리나가 첨가된 탈지우유 배지에서의 스트렙토코커스 써모필러스와 락토바실러스 불가리쿠스의 집락형성

단위(CFU/mL)의 변화

	배양시간 (hours)					
	0	3	6	9	12	15
대조구	1.0×10^6	4.0×10^6	4.1×10^7	7.4×10^8	1.0×10^9	9.0×10^8
SP 1%	1.0×10^6	2.5×10^6	1.1×10^8	6.2×10^8	9.1×10^9	3.0×10^9

표 7

<54> 스피루리나 첨가된 탈지우유 배지에서 스트렙토코커스 써모필러스와 락토바실러스 액시도필러스의 집락형성단위(CFU/mL)의 변화

	배양시간 (hours)					
	0	3	6	9	12	15
대조구	7.0×10^5	2.3×10^6	2.3×10^7	6.4×10^8	5.9×10^9	6.3×10^8
SP 1%	8.0×10^5	2.0×10^6	5.5×10^8	5.4×10^8	1.0×10^9	1.2×10^9

<55> 단독 균주의 경우, 스트렙토코커스 써모필러스는 표 3에서와 같이 배양 6시간 후 대조구(1.5×10^7 CFU/mL)에 비하여 스피루리나 첨가구(2.2×10^7 CFU/mL)에서는 다소 빠른 성장을 보였다.

<56> 락토바실러스 불가리쿠스는 표 4에서와 같이 스피루리나 첨가구는 배양 6시간까지 대조구(1.4×10^8 CFU/mL) 보다 약간 낮은 균수(9.3×10^7 CFU/mL)를 나타내었으나 배양 9시간에는 대조구(6.3×10^8 CFU/mL) 보다 첨가구(1.1×10^9 CFU/mL)가 높은 균수를 나타내고 배양 15시간까지도 대조구(8.9×10^8 CFU/mL)에 비해 첨가구(3.4×10^9 CFU/mL)의 균수가 높게 나타났다.

<57> 표 5에 나타난 락토바실러스 액시도필러스는 스트렙토코커스 써모필러스와 비슷한 균수 증식 속도를 보였으며 배양 3시간까지는 대조구(1.2×10^6 내지 1.6×10^6 CFU/mL)와 첨가구(1.6×10^6 내지 2.0×10^6 CFU/mL) 모두 균수의 변화가 거의 나타나지 않고 배양 6시간부터 대조구(2.1×10^7 CFU/mL)에 비해 첨가구(4.2×10^7 CFU/mL)가 약간 높게 나타났다.

<58> 혼합 균주의 경우, 스트렙토코커스 써모필러스 + 락토바실러스 불가리쿠스는 표 6에서와 같이 배양 6시간까지는 대조구(1.0×10^6 내지 4.0×10^6 CFU/mL)와 첨가구(1.0×10^6 내지 2.5×10^6 CFU/mL)의 균수 차이가 나타나지 않았으나 배양 9시간에 대조구(4.1×10^7 CFU/mL)에 비하여 스피루리나 첨가구(1.1×10^8 CFU/mL)에서 급격하게 균수가 증식되고 유산균주 중에서 가장 빠른 생육 속도를 나타내었고 배양 15시간까지 대조구 9.0×10^8 CFU/mL, 첨가구 2.3×10^9 CFU/mL로 유산균주 중에서 가장 높은 균수를 보였다.

<59> 또한 스트렙토코커스 써모필러스 + 락토바실러스 액시도필러스는 배양 3시간까지 대조구와 스피루리나 첨가구의 차이가 나타나지 않았으며 배양 6시간부터 최종 배양까지 대조구(2.3×10^7 내지 6.3×10^8 CFU/mL)에 비해 첨가구(5.5×10^7 내지 1.2×10^9 CFU/mL)의 생균수가 비교적 높은 경향을 보여 증식 속도가 빠른 것으로 나타났다.

<60> 본 발명의 실시 결과, 스피루리나의 첨가에 의해 유산균 단독 또는 혼합 균주의 증식이 촉진되었으며, 스트렙토코커스 써모필러스와 락토바실러스 불가리쿠스 혼합균주의 유산균 증식 효과가 가장 좋다는 것을 밝혀내었다.

<61> 본 실험을 통하여 스트렙토코커스 써모필러스와 락토바실러스 액시도필러스 혼합균주를 스타터 균주로 결정하였고 이하 실시예에 적용하였다.

<62> 스피루리나 첨가량 결정

<63> 스피루리나 첨가량에 따른 유산균 생육에 미치는 효과를 살펴보기 위하여 스피루리나를 농도별(0%, 1%, 2%, 3%)로 멸균된 10%(w/v) 탈지우유배지에 첨가한 후 계대 배양한 유산균주 스트렙토코커스 써모필러스와 락토바실

러스 불가리쿠스를 1:1의 비율로 2%(v/v) 접종하여 37℃에서 15시간 배양하면서 시간별(0, 3, 6, 9, 12, 15시간)로 pH, 적정산도 및 유산균수를 측정하였다.

<64> 가) pH 및 산도

<65> 스피루리나 원말을 각각 1%, 2%, 3% 첨가하여 스트렙토코커스 써모필러스와 락토바실러스 불가리쿠스 혼합균주를 접종하여 37℃에서 15시간 배양하면서 pH와 적정산도의 변화는 도 6과 도 7에 나타내었다. ◆는 대조구를, □는 SP 1%를, ▲는 SP 2%를, ×는 SP 3%를 나타낸다.

<66> 도 6 및 7에서 나타낸 바와 같이, 배양 0시간에는 대조구와 스피루리나 1%, 2%, 3%의 pH가 각각 6.31, 6.34, 6.44, 6.49로 나타났으며, 배양 초기 대조구의 pH가 더 높은것은 스피루리나가 알칼리성 식품이기 때문에 스피루리나 첨가 농도가 높아질수록 pH가 높게 나타난 것으로 사료된다. 하지만 유산균 성장에 따라, 배양 3시간에는 스피루리나 1% 첨가구의 pH가 가장 많이 낮아졌으나, 배양 9시간부터 15시간까지 대조구 pH가 4.84에서 4.50으로 하락한데 비하여 스피루리나 첨가구의 pH는 4.35 내지 4.72 범위로 대조구보다 낮은 pH를 나타내었다.

<67> 또한 적정산도는 배양 3시간까지는 대조구(0.18%)와 스피루리나 첨가구(0.19 내지 0.22%) 사이에 큰 차이를 보이지 않았으나 배양 9시간에 스피루리나 3% 첨가구의 적정산도가 0.78%로 가장 높게 나타났고 배양 시간이 경과함에 따라 스피루리나 첨가 농도가 높아질수록 적정산도가 높아져 산 생성이 촉진되는 것을 알 수 있었다.

<68> 나) 유산균수

<69> 스피루리나 원말의 첨가 농도(1%, 2%, 3%)에 의한 스트렙토코커스 써모필러스와 락토바실러스 불가리쿠스 혼합균주의 유산균 증식에 미치는 영향을 조사한 결과는 표 8에 나타내었다.

표 8

<70> 스피루리나가 첨가된 탈지우유에서 요구르트의 집락형성단위(CFU/mL)의 변화

	배양시간 (hours)					
	0	3	6	9	12	15
대조구	7.7×10^5	2.4×10^6	3.5×10^7	4.1×10^8	4.7×10^8	2.0×10^8
SP 1%	7.7×10^5	3.2×10^6	6.3×10^7	3.6×10^8	6.4×10^8	2.7×10^8
SP 2%	1.1×10^6	3.5×10^6	1.1×10^8	1.2×10^9	1.5×10^9	1.7×10^8
SP 3%	1.2×10^6	3.9×10^6	9.0×10^7	1.2×10^9	4.0×10^8	1.3×10^9

<71> 배양 3시간에는 대조구(2.4×10^6 CFU/mL)보다 스피루리나 첨가구(3.2×10^6 내지 3.9×10^6 CFU/mL)가 약간 높은 균수를 나타냈으나 첨가구 사이에는 큰 차이가 보이지 않았다. 대조구에 비해 스피루리나 첨가구가 균수 증식을 빠르게 나타내어 스피루리나 1%와 2% 첨가구는 배양 12시간 후 각각 6.4×10^8 CFU/mL, 1.5×10^9 CFU/mL로 최대 균수를 보였으며, 3% 첨가구는 배양 15시간 후 1.3×10^9 CFU/mL로 최대 균수를 나타냈다. 15시간 배양 후에는 균수가 약간씩 감소하는 경향을 나타내는 것으로 보아 배양 시간이 15시간 경과한 후에는 유산균주의 증식이 활발히 이루어지지 않으므로 적정 발효 시간은 12시간 전후가 적당한 것으로 보인다.

<72> 본 발명의 실시 결과, 스피루리나는 스트렙토코커스 써모필러스와 락토바실러스 불가리쿠스 혼합균주의 배양 초기에 유산균의 생육에 영향을 미쳐 생육이 촉진되어 산 생성과 생균수를 증가시키는 것을 알 수 있었다. 이것은 유산균은 제한된 생합성 능력을 지니고 있어 아미노산, 비타민, 퓨린, 피리미신(pyrimidine) 등의 복합 영양소를 필요로 하는데, 스피루리나 원말에는 양질의 단백질과 다양한 아미노산, 비타민 및 무기질이 함유되어 있기 때문에 스피루리나 첨가에 의해 유산균의 초기 생육이 촉진되었던 것으로 보인다.

<73> 본 실험의 결과 스피루리나 첨가량이 높을수록 유산균의 생육이 촉진되는 긍정적 영향을 가진다는 것을 확인하였다. 다만 첨가량이 높아질수록 관능적 특성이 떨어질 우려가 있는바 관능 평가를 통하여 최적의 스피루리나 함량을 결정하기로 하였다.

<74> 실시예 3 : 스피루리나 첨가 요구르트의 제조

<75> 스피루리나 첨가 요구르트를 다음과 같은 단계로 제조하였다. : 스피루리나를 전처리하는 단계, 유원료 베이스

를 제조하는 단계, 상기 유원료 베이스에 스타터 균을 접종하고 배양하여 요구르트 베이스를 제조하는 단계, 상기 요구르트 베이스에 기호성 및 품질 향상을 위한 첨가제 및 전처리한 스피루리나를 혼합하여 스피루리나 요구르트를 완성하는 단계.

<76> 상기 제조방법 중 요구르트 스타터 균주는 실시예 2에서 선택된 스트렙토코커스 써모필러스 및 락토바실러스 불가리쿠스를 혼합하여 사용하였으며, 스피루리나 첨가 요구르트의 품질특성 및 기능성을 평가하기 위하여 스피루리나 첨가량을 0.25, 0.5 및 1%로 조정하여 각각 요구르트를 제조하였다. 제조방법은 도 1에 간략하게 도식하였고 이를 상세히 설명하면 하기와 같다.

<77> 스피루리나 전처리 단계

<78> 요구르트 제조에 앞서 스피루리나 분말을 120℃에서 20분간 멸균하였다. 이 과정을 통하여 요구르트로의 유해균의 도입을 방지하고 스피루리나 고유의 불쾌한 맛과 향을 감소시키며, 또한 유산균이 쉽게 스피루리나 영양성분을 이용할 수 있도록 도와주는 효과를 기대할 수 있다.

<79> 유원료 베이스 제조 단계

<80> 표 9에 나타난 바와 같이, 탈지우유분말 3.24%와 우유 76.76, 76.51, 76.26 및 75.76%를 각각 혼합하여 유원료 베이스를 제조하였다. 당업자라면 요구르트의 특성을 고려하여 원유 및 탈지분유를 대체하거나 부가하여 농축우유, 비타민 등의 강화우유, 환원우유, 가당연유 또는 무당연유 등을 사용하여 제조할 수 있고, 그 외에도 전지분유, 유청류, 생크림, 버터 등의 다양한 유원료를 사용하여 상기 유원료 베이스를 제조할 수 있다.

<81> 상기 유원료 베이스를 100℃에서 20분간 살균처리하였다. 당업자라면 요구르트 베이스의 살균은 호상요구르트의 경우 90 내지 100℃에서 10 내지 20분간 수행할 수 있으며, 액상(드링크)요구르트의 경우에는 저온단시간살균(LTLT; 62 내지 65℃에서 30분간 살균), 고온단시간살균(HTST; 72 내지 75℃에서 15 내지 16초 살균) 또는 초고온살균(UHT; 135℃에서 1초이상) 중 어느 하나를 선택하여 동일한 살균효과를 얻을 수 있다. 스타터 균주 접종을 위하여 상기 유원료 베이스를 38 내지 42℃로 냉각하였다.

<82> 요구르트 베이스의 제조 : 스타터 균주 접종 및 배양

<83> 상기 유원료 베이스에 동결건조된 스타터균주를 각각 1% 씩 접종하고 38 내지 42℃에서 배양하였다. 배양 시간은 실시예 2에 의한 결과에 의해 12시간동안 수행하였다. 12시간 후 제조된 요구르트 베이스의 유산균수를 측정하여 식품공전상의 발효유의 규격에 적합한지 확인하였다.

<84> 기타 식품 첨가제의 혼합

<85> 상기 발효유에 기호성을 높이기 위하여 조미성분으로 키위푸레 18% 및 당류 중 올리고당 2%를 첨가하였다.

<86> 기호에 따라 상기 첨가제를 대체 또는 부가하여 딸기, 사과, 배 등의 과일푸레, 시럽류 또는 설탕, 물엿, 과당 등의 당류나 딸기향, 사과향, 배향 등의 향미제 또는 펙틴, 구아검, 카라기난, 젤라틴, 잔탄검, 로커스트콩검, 메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 전분 등의 통상적으로 사용되는 안정제를 첨가할 수 있다. 또한 pH를 조절하고 기호성을 높이기 위한 시트르산 등의 식품용 산 또는 기타 타우린, 젖산칼슘 등의 기능성 물질을 부가로 첨가할 수 있다. 상기 첨가물들은 사용 첨가물의 종류 또는 공정에 따라 냉장 후에 첨가할 수 있다.

<87> 냉장 및 스피루리나 첨가

<88> 4℃로 온도를 낮춘 후 스피루리나를 0.25, 0.5 및 1%를 첨가하여 요구르트를 완성 하였다. 스피루리나를 첨가하지 않은 대조구를 포함하여, 스피루리나 0.25%, 0.5%, 1% 첨가 요구르트의 최종 배합비는 표 9에 나타내었다.

표 9

<89> 다른 농도의 스피루리나를 첨가한 요구르트의 구성성분(%)

	대조구	SP ¹⁾ 0.25%	SP 0.5%	SP 1%
우유	76.76	76.51	76.26	75.76
탈지우유분말	3.24	3.24	3.24	3.24
스피루리나	0	0.25	0.5	1.0
올리고당	2	2	2	2
키위푸레	18	18	18	18

- <90> * 1) SP는 스피루리나 분말(spirulina powder)을 의미한다.
- <91> 제조된 시료를 12일간 4℃에서 저장하면서 영양성분(일반성분, 무기질), 이화학적 특성(pH, 적정산도, 당도, 점도, 색도), 미생물학적 특성(유산균수, 대장균군) 및 관능적 특성을 분석하였다.
- <92> 실험예 1 : 요구르트의 영양성분 분석
- <93> 시료의 일반성분 분석은 AOAC법에 따라 행하였다. 즉, 수분은 상압 가열 건조법, 조단백질은 켈달(Kjeldahl)법, 조지방은 삭슬렛(Soxhlet) 추출법, 회분은 직접 회화법으로 각각 측정하였고, 탄수화물은 100에서 수분, 조단백질, 조지방, 회분을 뺀 값으로 결정하였다.
- <94> 1) 회분
- <95> 시료 3g을 전기로(550℃)에서 회화시킨 후 잔사가 항량에 도달한 후에 함량을 계산하였다.(AOAC method 923.03, 1990).
- <96> 2) 탄수화물 : 탄수화물은 다음의 식으로부터 계산에 의해 산출하였다.(USDA Agricultural Handbook No. 8, 1975).
- <97> % 탄수화물 = 100% - (% 단백질 + % 지방 + % 회분 + % 수분)
- <98> 3) 조섬유 : 조섬유는 1.25% 황산과 1.25% 수산화나트륨 용액을 차례로 가하여 응축기 장착하에 온화하게 가열하면서 분해되지 않고 남아있는 잔사를 회화시킬 때 소실된 부분으로 측정하였다.(AOAC method 7.066-7.070, 1984).
- <99> 4) 조지방 : 조지방은 에테르를 사용하여 삭슬렛(soxhlet) 추출기를 사용하여 추출하고 수분을 제거한 후 무게를 측정하였다.(AOAC methods 920.39C).
- <100> 5) 수분 : 시료를 상압하에서 건조오븐에 넣어 수분을 날려 보내면서 항량에 도달할 때까지 무게를 측정하여 구하였다.(AOAC method 44-15A, 1987).
- <101> 6) 조단백 : 조단백질 함량은 켈달법으로 분석하였다. 즉, 시료를 황산과 촉매(potassium sulfate/titanium dioxide/cupric sulfate catalyst mixture)를 넣어 유기물을 가열 분해시키고 유기 질소는 황산암모늄으로 전환시켜 알칼리하에서 암모니아로 증류 응축시킨 후 산으로 적정하였다. 단백질량은 얻어진 질소함량에 질소계수(6.25)를 곱하여 얻었다(AOAC method 988.05, 1990).
- <102> 7) 무기질 : 무기질분석은 ICP-AES 장치를 이용하여 수행하였다. 동결건조된 시료를 분쇄하여 체(60mesh)로 쳐서 사용하였다. 시료 0.2g에 질산(EP Grade) 2mL, 황산 1mL을 첨가하였다. 시료용액을 마이크로웨이브 소화 시스템(Microwave Digestion System; MNS1200 MEGA, Milestone)으로 분해하였다.(250w 5min → 500w 5min → 250w 5min). 분해한 시료를 50mL 로 정용하여 사용하였다. 상기 시료를 표 10에 나타낸 조건으로 ICP-AES 장치에 주입하여 분석하였다.

표 10

<103> ICP-AES의 조건

모델	OPTIMA 3300DV (PERKINELME, USA)
장치	유도결합플라즈마-원자방출분광계(ICP-AES; Inductively Coupled Plasma Atomic emission Spectrometer)
가스	아르곤 가스
RF 전력	27.12MHz
네블라이저 가스 유량(Nebulizer gas flow rate)	10 내지 18 L/min
냉각제 가스 유량(Coolant gas flow rate)	15 L/min
축방향 가스 유량(Axially gas flow rate)	0.5 L/min
샘플 흡수(Sample uptake)	1.5 mL/min

교정곡선(Calibration curve)	1, 5, 10 ppm
표준용액(Standard solution)	아나퓨어 멀티 스탠다드(ANAPURE MULTI STANDARD; Anapecs Co. Korea)

<104> 가) 일반성분 분석 결과

<105> 대조구와 스피루리나 0.25% 첨가구의 일반성분 분석 결과는 표 11에 나타내었다.

표 11

<106> 스피루리나 첨가 요구르트의 일반성분

	열량 (kcal)	탄수화물 (g)	수분 (g)	조회분 (g)	조단백질 (g)	조지방 (g)	조섬유 (g)
대조구	104.0 ±0.55	15.99 ±0.06	76.61 ±0.11	0.83±0.01	3.84±0.01	2.74±0.03	0.30±0.09
SP 0.25%	106.6 ±0.41	16.42 ±0.06	76.02 ±0.07	0.81±0.01	3.99±0.01	2.78±0.03	0.42±0.02
F	0.177	0.007	0.452	0.000	0.000	0.032	2.306
P	0.004	0.001	0.002	0.013	0.000	0.182	0.141

<107> 대조구에 비해 스피루리나 첨가구는 열량, 탄수화물, 수분, 조회분, 조단백질량이 유의적으로 높아졌으며 조지방과 조섬유량도 증가하였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이는 스피루리나가 양질의 단백질로 되어있어 많은 필수아미노산을 함유하고 있으며, 포도당, 람노스, 만노스, 자일로스 등의 탄수화물을 포함하며, 고도불포화 지방산인 리놀렌산과 감마리놀렌산이 풍부하기 때문인 것으로 사료된다.

<108> 나) 무기질 분석 결과

<109> 대조구와 스피루리나 0.25% 첨가구의 무기질 분석 결과는 표 12에 나타내었다.

표 12

<110> 스피루리나 첨가 요구르트의 무기질 분석

	나트륨	칼륨	칼슘	인	철	마스네슘
대조구	48.84 ±0.66	180.81 ±3.02	123.52 ±1.70	1.21±0.07	0.03±0.00	8.15±0.42
SP 0.25%	50.70 ±0.54	206.78 ±2.19	166.59 ±38.84	1.56±0.03	0.16±0.00	10.55 ±0.13
F	1.08	2.35	85.39	2.95	0.11	9.10
P	0.001	0.000	0.068	0.000	0.000	0.000
	구리	아연	알루미늄	몰리브덴	셀레늄	망간
대조구	0.12±0.01	0.24±0.02	0.03±0.00	0.02±0.00	0.05±0.01	N.D.
SP 0.25%	0.21±0.00	0.38±0.01	0.05±0.00	0.02±0.00	0.05±0.00	N.D.
F	2.26	4.70	12.93	0.10	0.44	-
P	0.000	0.000	0.000	0.589	0.161	-
	코발트	카드뮴	납	수은	비소	게르마늄
대조구	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
SP 0.25%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
F	-	-	-	-	-	-
P	-	-	-	-	-	-

<111> 대조구에 비해 스피루리나 첨가구는 나트륨, 칼륨, 인, 철, 마스네슘, 구리, 아연, 알루미늄이 유의적으로 높아졌으며 칼슘, 몰리브덴, 셀레늄도 높아졌으나 유의적인 차이는 나타나지 않았고 망간, 게르마늄, 코발트, 카드

몹, 납, 수은, 비소는 함유되지 않은 것으로 나타났다. 이는 스피루리나가 미량 원소를 비롯한 거의 모든 종류의 무기질을 함유하여 비타민과 함께 체내 대사 조절 작용에 중요한 영향을 미치며, 스피루리나에 함유된 청색 색소인 피코시아닌이 철분 및 다른 무기질과 수용성 복합체를 형성하여 철분의 생체 이용률을 높여주고, 칼슘, 아연, 셀레늄 등을 함유하여 여러 가지 체내 대사에서 중요한 역할을 하므로 스피루리나의 첨가가 무기질 함량을 높여 주는 것으로 사료된다.

<112> 실험예 2 : 요구르트의 이화학적 특성 분석

<113> 가) pH

<114> pH는 AOAC method(1990)를 적용하여 시료 5g에 증류수 45mL과 함께 섞이도록 백믹서(Bag mixer 400, window door/porte fenetre)로 균질화(speed 7, 1min)한 후, 상층액을 10mL 취해서 pH미터(Orion 420A, Orion Research Inc., USA)를 이용하여 3회 반복 측정하였다.

<115> 측정 결과 스피루리나 첨가 요구르트의 pH는 표 13에 나타내었다.

표 13

<116> 요구르트의 pH에 대한 스피루리나 농도 효과

	저장기간(일)				
	0	3	6	9	12
대조구	4.65±0.01	4.60±0.00	4.58±0.00	4.36±0.01	4.69±0.02
SP 0.25%	4.28±0.01	4.17±0.01	4.16±0.02	4.00±0.00	4.24±0.01
SP 0.5%	4.05±0.02	4.09±0.00	4.13±0.00	3.93±0.03	4.23±0.01
SP 1%	4.05±0.00	4.02±0.01	4.05±0.00	3.90±0.02	4.15±0.01

<117> 스피루리나 첨가에 따른 pH 변화를 살펴보면 대조구가 4.6, 스피루리나 0.25%, 0.50%, 1% 첨가구가 각각 4.28, 4.05, 4.05로 스피루리나 첨가량이 많을수록 pH가 유의적으로 높아졌다. 또한 저장일에 따른 pH 변화는 대조구와 첨가구 모두 저장 9일째까지 서서히 감소하였으나 저장 12일째는 유의적으로 증가하였으며, 대조구와 첨가구 모두 유사한 경향을 보이는 것으로 보아 저장 12일째는 pH가 아미노화합물의 생성으로 인해 알칼리성으로 변화되는 것으로 사료된다.

<118> 나) 산도

<119> 산도는 AOAC method(1990)를 적용하여 시료 용액 10mL를 취하여 pH미터 전극을 담그고 0.1N 수산화나트륨으로 pH가 8.3이 될 때까지 적정하여 중화시키는데 소요된 수산화나트륨량(mL)을 아세트산 함량(%)으로 환산하여 총산 함량을 표시하였다.

<120> 측정 결과, 스피루리나 첨가 요구르트의 적정산도는 표 14에 나타내었다.

표 14

<121> 요구르트의 적정산도에 대한 스피루리나 농도 효과(%)

	저장기간 (일)				
	0	3	6	9	12
대조구	0.66±0.01	0.70±0.02	0.66±0.01	0.75±0.05	0.64±0.05
SP 0.25%	0.86±0.01	0.95±0.05	0.85±0.00	0.84±0.01	0.93±0.01
SP 0.5%	1.00±0.01	0.96±0.03	0.87±0.03	0.86±0.00	0.95±0.01
SP 1%	1.10±0.02	1.13±0.00	0.90±0.00	1.01±0.09	1.00±0.01

<122> 적정산도는 유의적으로 감소하였다. 스피루리나 첨가량에 따른 산도의 변화는 대조구가 0.66%, 스피루리나 0.25%, 0.5%, 1%가 각각 0.86%, 1.00%, 1.10%로 나타나 스피루리나 첨가 농도가 높아질수록 유의적으로 높아지는 것으로 보아 스피루리나 첨가가 유산균 증식에 효과가 있어 산도가 높게 나타나는 것을 알 수 있었다. 저장일에 따른 산도의 변화를 살펴보면, 저장 12일까지 대조구와 첨가구 모두 비슷한 수준의 적정산도를 유지하는

것으로 보아 저장 12일까지는 요구르트에 함유된 유기산이 제조 당시의 수준을 그대로 유지하는 것으로 보였다.

<123> 요구르트의 산도는 0.8 내지 1.0%가 적당하며, 신 등은 호상 요구르트의 적정 산도가 1.0 내지 1.1%일 때 가장 좋은 품질을 나타낸다고 하였는데, 스피루리나 0.25%, 0.5% 첨가구의 산도 범위가 일치하며 대조구와 스피루리나 1% 첨가구도 유효범위 안팎에 속하는 것을 알 수 있었다.

<124> 다) 당도

<125> 당도는 요구르트 시료 5g에 증류수 5mL을 균질화 한 후 원심분리(3000 rpm, 20min)하여 상층액을 취하여 당도계 (N-1E Brix 0~32%, Atago, Japan)를 사용하여 측정하였다.

<126> 측정결과, 스피루리나 첨가 요구르트의 당도는 표 15에 나타내었다.

표 15

<127> 요구르트의 당 함량에 대한 스피루리나 농도 효과 (brix)

	저장기간 (일)				
	0	3	6	9	12
대조구	18.13±0.23	18.40±0.40	17.33±1.15	17.33±1.15	9.87±0.23
SP 0.25%	18.00±0.00	18.67±1.15	18.13±0.23	18.67±1.15	9.87±0.23
SP 0.5%	18.27±0.23	18.80±1.06	17.60±0.69	18.40±0.40	10.00±0.00
SP 1%	18.40±0.40	18.80±1.39	17.60±0.69	19.33±2.31	9.87±0.23

<128> 스피루리나 첨가량에 따른 당도의 변화는 대조구와 스피루리나 첨가구 모두 18.00 내지 18.40 brix 사이로 나타나 대조구와 첨가구는 사이에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 저장일에 따른 변화를 살펴보면 대조구와 첨가구 모두 저장 9일째까지 당도의 변화가 나타나지 않았으나 저장 12일째에 유의적으로 감소하는 것으로 보아 요구르트를 저장하면서 요구르트에 함유된 당이 분해되어 당도가 감소하는 것으로 사료된다.

<129> 시판 요구르트 제품의 당도를 측정해 본 결과 당도는 14 내지 24 brix 범위로 약 18 brix의 수준인 것으로 나타났으므로 시판 제품과 비교하여 같은 수준의 당도를 나타내는 것을 알 수 있었다.

<130> 라) 점도

<131> 점도는 시료 50mL을 비커에 담아 브룩필드 DV-II +점도계(Brookfield DV-II+ Viscometer; Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Middleboro, MA, USA)의 4번 축을 사용하여 10rpm에서 1분 간격으로 점도를 측정하였다.

<132> 측정결과, 스피루리나 첨가 요구르트의 점도는 도 8에 나타내었다. ◆는 대조구를, □는 SP 0.25%를, ▲는 SP 0.5%를, ×는 SP 1%를 나타낸다. 스피루리나 첨가에 따른 점도의 변화는 스피루리나 첨가 농도가 높아질수록 유산균 생성이 촉진되어 요구르트 제조시간이 단축되므로 점도도 유의적으로 높아지는 것으로 나타났다. 저장일에 따른 점도의 변화를 살펴보면, 저장 6일까지 대조구는 제조 당시의 점도가 유지되었고, 스피루리나 첨가구도 이와 비슷하게 점도가 약간 증가하는 경향을 보이지만 저장 9일부터는 대조구와 첨가구 모두 점도가 서서히 감소하여 저장 12일째에 가장 낮은 것으로 나타났다.

<133> 요구르트 혼합액의 총 고형분 함량, 단백질 가수분해 정도, 사용 균주의 점액 생산 능력과 산 생성력 등이 요구르트의 점도에 영향을 주는 요인으로 생각된다.

<134> 마) 색도

<135> 색도는 시료 10g을 페트리디쉬(50 × 12 mm)에 담아 색차계 (Digital color measuring/difference calculation meter, Model ND-1001 DP, Nippon Denshoku Co. LTD., Japan)를 사용하여 명도(Hunter L value), 적색도(a value), 황색도(b value) 및 색차지수(ΔE value)를 측정하였다. 이 때 표준색은 명도 90.45, 적색도 0.15, 황색도 3.36인 교정판을 표준으로 사용하였다.

<136> 스피루리나 첨가 요구르트의 색도는 도 9a 내지 9c에 나타내었다. ◆는 대조구를, □는 SP 0.25%를, ▲는 SP 0.5%를, ×는 SP 1%를 나타낸다. 스피루리나 첨가량이 증가함에 따라 명도는 유의적으로 증가하였고 녹색도와 황색도는 대조구와 스피루리나 첨가구 사이에는 유의적인 차이가 있으나 첨가구간에는 차이가 나타나지 않았다.

이는 스피루리나는 청록색의 클로로필, 카로티노이드의 등황색, 스피루리나 특유의 색소인 피코시아닌의 청색이 합쳐져서 생기는 것이므로 이러한 색소의 영향인 것으로 생각된다. 또한 저장일이 경과함에 따라 명도는 저장 12일까지 대조구와 스피루리나 첨가구 모두 서서히 증가하여 제조 당일의 명도 차이가 유지되었으나, 녹색도는 저장 9일까지 대조구가 스피루리나 첨가구에 비해 높은 수치를 나타내었으나 저장 12일에 스피루리나 1% 첨가구의 녹색도가 가장 높은 것으로 나타나 저장일이 경과함에 따라 스피루리나 첨가량이 많을수록 녹색도가 높게 유지되었다. 또한 황색도는 저장 6일까지 대조구가 스피루리나 첨가구보다 높게 측정되었으나 저장 9일에 대조구의 황색도가 급격히 감소하는 반면에 스피루리나 첨가량이 많아질수록 황색도의 변화가 적은 것으로 나타났다. 이와 같이 스피루리나 첨가 농도가 높아질수록 저장일에 따른 색상 변화가 적게 나타나 제조 당시의 특유의 색을 유지하는 것을 알 수 있었다.

<137> 실험예 3 : 요구르트의 미생물학적 특성 분석

<138> 유산균수와 대장균균을 측정하였다.

<139> 유산균수는 요구르트 1g을 멸균수 9mL에 넣고 균질화(Bagmixer 400, Timer 1min, Speed 7)한 후 멸균생리식염수(0.85% NaCl)로 희석하여 각각의 배지에 시료를 분주하여 표준평판배양법에 따라 시험하였다. 유산균 측정을 위한 배지는 MRS 브로쓰(Difco, Sparks, MD 21152, USA)와 아가분말(Daejung Chemicals & Metals Co., Korea)을 혼합하여 만든 배지를 사용하였고, 35 내지 37 °C 배양기에서 48시간 배양한 다음 집락수가 30 내지 300개 사이의 평판을 선택하여 산출하였으며, 유산균은 황색의 집락으로 계측하고 미생물수는 시료 1g당 집락형성단위(CFU)로 나타내었다.

<140> 유산균수 측정 결과 스피루리나 첨가 요구르트의 유산균수는 표 16에 나타내었다.

표 16

<141> 저장 중 유산균에 대한 스피루리나 농도효과(CFU/mL)

	저장기간(일)				
	0	3	6	9	12
대조구	5.8×10^8	4.2×10^8	2.2×10^8	3.1×10^8	5.2×10^8
SP 0.25%	6.3×10^8	6.9×10^8	1.5×10^9	5.5×10^8	4.5×10^9
SP 0.5%	1.5×10^9	8.4×10^8	1.5×10^9	3.6×10^9	2.6×10^9
SP 1%	3.4×10^9	1.3×10^9	2.1×10^9	7.4×10^9	4.0×10^9

<142> 스피루리나 첨가량이 많을수록 유산균수도 증가하는 경향을 보여 스피루리나가 유산균의 생육을 증진시키는 것을 확인할 수 있었으며, 저장일에 따른 유산균수의 변화는 대조구와 스피루리나 0.25% 첨가구가 각각 저장 12일에 최대 균수인 5.2×10^8 CFU/mL, 4.5×10^9 CFU/mL를 나타내고, 스피루리나 0.5%와 1% 첨가구는 저장 9일에 각각 3.6×10^9 CFU/mL, 7.4×10^9 CFU/mL로 최대 균수를 나타냈으며, 대조구와 첨가구 모두 초기 유산균수를 저장 12일까지 유지하는 것으로 보아 큰 변화가 없었다.

<143> 이는 스피루리나가 발효 중 유산균의 생육을 활성화시키는 것으로 스피루리나에 함유된 단백질, 무기질, 비타민 등이 젖산균 생육을 촉진 시킨 것으로 생각된다.

<144> 또한 대한민국 식품공전에 의하면 신선한 액상 및 호상 요구르트의 생균수는 각각 10^7 , 10^8 CFU/ml 이상으로 규정하고 있는데, 본 연구의 결과도 대조구와 스피루리나 첨가구 모두 적정치 범위 이상의 생균이 존재하여 성분 규격에 적합한 것을 알 수 있었다.

<145> 이와 같은 결과는 요구르트에 첨가된 스피루리나가 유산균의 산 생성을 촉진시켜 스피루리나 첨가 요구르트 섭취시 장내 균총 개선 효과도 기대해 볼 수 있을 것으로 사료된다.

<146> 대장균균은 EMB 아가(Difco, Sparks, MD, USA) 배지를 사용하였고 요구르트 원액을 분주하여 35 내지 37°C 배양기에서 48시간 배양한 다음 나타난 집락 중 흑녹색의 집락을 계수하였다. 또한 미생물 수는 시료 1g 당 집락형성단위(CFU)로 나타내었다.

<147> 측정결과, 스피루리나 첨가 요구르트의 유산균수는 표 17에 나타내었다.

표 17

<148> 저장 중 대장균에 대한 스피루리나 농도의 효과(CFU/mL)

	저장기간(일)				
	0	3	6	9	12
대조구	비검출	비검출	비검출	비검출	비검출
SP 0.25%	비검출	비검출	비검출	비검출	비검출
SP 0.5%	비검출	비검출	비검출	비검출	비검출
SP 1%	비검출	비검출	비검출	비검출	비검출

<149> 대조구와 스피루리나 첨가구 모두 대장균균은 검출되지 않아 대한민국 식품공전의 대장균균 성분규격에 적합하였으며, 시료 제조시 살균이 적절하고 모든 실험 과정이 무균적으로 수행되었음을 알 수 있었다.

<150> 실험예 4 : 요구르트의 항산화력 측정

<151> 가) DPPH 라디칼 소거능

<152> 시료 0.3 g에 메탄올 10 mL을 넣은 후 5분간 잘 교반한 후 3,000 rpm으로 4℃에서 10분간 원심 분리하여 얻어진 상등액을 증발기로 용매를 휘발하여 추출물만 얻었다. 추출물 50mg 당 1mL 메탄올을 첨가하여 50mg/mL 농도의 추출물 용액을 제조하여 시료 용액으로 사용하였다. 시료용액 50 μ L에 1.5 $\times$ 10⁻⁴mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 용액 150 μ L을 가한 후 30분 후에 분광광도계를 이용하여 517nm에서 흡광도를 측정하였으며 래디컬 소거능(%)을 다음의 식으로 계산한 후 각 농도별 래디컬 소거능에 대한 검량선에서 래디컬 소거능이 50% 가 되는 농도인 IC₅₀을 구하였다.

<153>
$$\text{흡광도}_{\text{DPPH}} - \text{흡광도}_{\text{sample}}$$

<154> 자유라디칼 소거 효과(%) = ----- $\times$ 100

<155>
$$\text{흡광도}_{\text{DPPH}}$$

<156> 측정결과, 스피루리나 첨가에 따른 요구르트의 기능성을 검토하기 위하여 상정액의 항산화 활성을 DPPH법으로 측정한 결과는 도 10에 나타내었다. ◆는 대조구를, □는 SP 0.25%를, ▲는 SP 0.5%를, ×는 SP 1%를 나타낸다.

<157> DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀(DPPH 라디칼을 50% 소거시키는데 필요한 농도)값은 대조구가 130.91mg/mL, 스피루리나 0.25% 첨가구가 111.63mg/mL, 스피루리나 0.5% 첨가구가 93.43mg/mL, 그리고 스피루리나 1% 첨가구가 71.05mg/mL으로 스피루리나 첨가 농도가 높아질수록 DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀ 값이 낮아지는 경향을 나타내어 스피루리나 첨가로 요구르트의 항산화력이 높아지는 것을 확인하였다. 또한 저장일에 따른 변화를 살펴보면, 대조구는 저장일이 경과함에 따라 DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀ 값이 급격히 증가하여 항산화력이 급격히 떨어졌으나 스피루리나 1% 첨가구는 저장 12일에도 DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀이 제조 당시와 비슷한 수준인 105.40mg/mL로 항산화력이 유지되는 것을 알 수 있었다. 상기 결과는 스피루리나에 항산화 작용을 하는 베타카로틴이 다른 채소보다 월등히 함유되어 있고 비타민 E와 항산화효소가 함유되어 있기 때문에 항산화 작용이 뛰어난 것으로 보인다.

<158> 나) 하이드록실 라디칼 소거(Hydroxyl radical scavenging) 활성도

<159> 시료 0.3g에 메탄올 10mL을 넣은 후 5분간 잘 교반한 후 3,000 rpm으로 4℃에서 10분간 원심 분리하여 얻어진 상등액을 증발기로 용매를 휘발하여 추출물만 얻었다. 추출물 50mg 당 1mL 20mM 인산버퍼(pH 7.4)를 첨가하여 50mg/mL 농도의 추출물 용액을 제조하여 시료 용액으로 사용하였다. 시료용액 0.15mL에 buffer 0.35mL, 3mM 디옥시리보오스용액 0.1mL, 0.1mM 아스코빈산 용액 0.1mL, 0.1mM EDTA용액, 0.1 mM 염화철용액, 1 mM 과산화수소 용액 0.1mL을 넣어 잘 교반 한 후 37℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 2% TCA용액과 1% TBA 용액을 잘 섞은 후 100℃에서 20분간 반응한 후 실온으로 냉각한 후 원심 분리하였다. 상등액을 분광광도계를 이용하여 532nm에서 흡광도를 측정하였으며 래디컬 소거능(%)을 다음의 식으로 계산한 후 각 농도별 래디컬 소거능

에 대한 검량선에서 라디칼 소거능이 50%가 되는 농도인 IC₅₀을 구하였다.

<160>

$$\text{흡광도}_{\text{DPPH}} - \text{흡광도}_{\text{sample}}$$

<161>

$$\text{자유라디칼 소거 효과(\%)} = \frac{\text{---}}{\text{---}} \times 100$$

<162>

$$\text{흡광도}_{\text{Hydroxyl radical}}$$

<163>

측정한 결과는 도 11에 나타내었다. 스피루리나 첨가 농도에 따른 Hydroxyl radical 소거능의 IC₅₀값을 살펴보면, 대조구(68.10 mg/mL)에 비해 스피루리나 0.25% 첨가구는 53.68mg/mL, 스피루리나 0.5% 첨가구는 49.51mg/mL, 스피루리나 1% 첨가구는 42.98mg/mL으로 하이드록실 라디칼 소거능의 IC₅₀ 값이 낮아져 스피루리나 첨가가 요구르트의 항산화력을 높이는 것을 알 수 있었다. 또한 저장일에 따른 항산화력 변화는 DPPH 라디칼 소거능의 변화와 유사하게 나타나 스피루리나 첨가 농도가 높아질수록 항산화력 감소폭이 적은 것을 알 수 있었다.

<164>

실험예 5 : 요구르트의 관능적 특성 분석

<165>

스피루리나를 첨가한 요구르트의 관능적 특성을 평가하기 위해 관능평가요원 25명을 관능검사 패널로 선정하여 실험 목적을 설명하고 각 측정치에 대해 교육시킨 뒤 7점 척도법을 사용하여 특성차이검사, 기호도 검사와 소비자 수요도 조사에 관한 관능검사를 수행하였다. 평가항목으로는 스피루리나 냄새와 맛에 대하여 특성차이검사를 실시하였고, 외관, 냄새, 맛, 전체적인 수용도(overall acceptability)에 대한 기호도 검사를 실시하였다. 또한 구입의향을 묻는 소비자 수요도 조사를 실시하였으며, 기존 시판 요구르트 제품 9가지와 요구르트 시료 4가지를 비교하기 위한 순위법 검사를 실시하였다.

<166>

스피루리나 첨가 요구르트의 실험 결과는 Windows SPSS 12.0(Statistical Package for Social Sciences. SPSS Inc., Chicago IL, USA) 소프트웨어 패키지 프로그램 중에서 분산분석(ANOVA)을 실시하였고 유의성이 있는 경우에 단칸의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)으로 시료간의 유의차를 검증하였다. 또한 일반계와 다수계간의 차이는 t-test를 통해 평균값에 대한 유의차를 평가하였다.

<167>

스피루리나 첨가 요구르트의 외관 사진은 도 12에 나타냈으며, 관능검사 결과는 표 18에 나타내었고, 시판제품과 스피루리나 첨가 요구르트의 기호도를 비교하기 위하여 시판제품의 이화학적 특성을 측정하여 기호도가 높은 순서로 표 19에 나타내었다.

표 18

<168>

관능평가 결과 및 저장 중 스피루리나 요구르트의 품질 변화

		강도특성		기호도				소비자 수요
		스피루리나 냄새	스피루리나 맛	외관	냄새	맛	전체기호도	구입의향
0 일	대조구	1.7±1.3	1.7±1.3	5.0±1.3	4.6±1.0	4.9±1.6	4.7±1.3	5.8±1.7
	SP 0.25%	1.9±1.2	2.2±1.4	5.2±1.2	4.9±1.1	5.2±1.3	5.2±1.1	6.0±1.4
	SP 0.5%	2.3±1.3	2.8±1.5	3.8±1.0	4.2±0.6	4.0±1.2	4.0±0.9	4.5±0.7
	SP 1%	3.0±1.2	3.3±1.6	3.1±1.1	4.1±0.6	3.6±1.3	3.7±1.4	4.1±1.4

6 일	대조구	1.0±0.0	1.0±0.0	5.3±1.0	5.0 ±0.8	5.0 ±0.8	5.3±1.0	6.8±0.5
	SP 0.25%	1.5±0.6	1.5±0.6	5.0±1.2	5.3 ±0.5	5.5 ±0.6	5.3±0.5	6.8±0.5
	SP 0.5%	2.3±1.5	2.3±1.5	4.3±1.0	4.8 ±0.5	5.3 ±0.5	4.5±0.6	5.8±0.5
	SP 1%	3.3±1.0	3.8±1.7	2.8±0.5	3.0 ±0.8	3.5 ±1.3	3.0±0.8	4.0±1.2

표 19

<169> 시판제품의 이화학적 특성 평가 및 관능검사(순위법) 결과

순위	제품명	pH	산도 (%)	당함량 (brix)	점도 (cP)
1	꼬모(복숭아)	4.01	0.93	20.0	4600
2	아침에사과	3.70	1.15	20.0	7200
3	SP 0.25%	4.28	0.66	18.0	6533
4	Control	4.65	0.66	18.1	2733
5	오색오감그린	3.80	1.08	22.4	500
6	쾌변(포도)	3.89	0.99	27.0	400
7	SP 0.5%	4.05	1.00	18.3	9067
8	퓨엔(석류)	3.93	0.99	14.0	10400
9	생크림녹차요구르트	3.73	0.99	20.0	6800
10	숲골(복분자)	3.83	0.81	14.0	440
11	불가리스(딸기)	4.10	0.95	20.0	1200
12	쾌변(키위)	3.86	0.95	24.0	420
13	SP 1%	4.05	1.10	18.4	9967

<170> 관능검사 결과 스피루리나 첨가 요구르트는 대조구에 비하여 스피루리나 1% 첨가구만 스피루리나 특유의 냄새와 맛을 관능적으로 감지할 수 있는 것으로 나타나 스피루리나 0.5% 첨가까지는 스피루리나의 이취와 이미를 느낄 수 없으므로 기호도에 영향을 주지 않는 것을 알 수 있었다. 또한 기호도 검사 항목 중 외관은 대조구가 5.0점, 스피루리나 0.25%, 0.5%, 1% 첨가구가 각각 5.2, 3.8, 3.2점으로 스피루리나 0.25% 첨가구에서 가장 좋게 나타났다. 냄새는 스피루리나 0.5%까지는 유의적인 차이가 나타나지 않아 기호도에서 비슷한 점수를 받았으며, 맛과 기호도는 스피루리나 0.25% 첨가구가 5.2점으로 가장 높게 나타나 전체적인 기호도가 가장 높은 것으로 나타났다. 또한 소비자의 수요를 예측할 수 있는 구입의향에 관한 항목에서도 대조구가 5.8점인데 비하여 스피루리나 0.25%, 0.5%, 1% 첨가구가 각각 6.0, 4.5, 4.1점으로 스피루리나 0.25% 첨가구가 가장 높은 구입의향을 나타냈다. 또한 저장 6일에 실시한 관능검사에서도 저장 0일의 결과와 유사한 경향을 보여 저장 6일까지 관능적인 특성의 변화가 나타나지 않는 것으로 보였다.

<171> 시판제품과 비교해 보기 위한 순위법 검사 결과 총 13가지 종류의 요구르트 중 스피루리나 0.25% 첨가 요구르트가 3위, 대조구가 4위, 스피루리나 0.5%가 7위로 비교적 높은 순위를 보였으며, 이는 스피루리나 함유 요구르트가 실제 식품산업에 적용 가능함을 보여주었다.

도면의 간단한 설명

<172> 도 1은 스피루리나를 첨가한 요구르트의 제조단계를 도시한 것이다.

<173> 도 2a 내지 2c는 탈지우유 배지에서의 단일 배양시 pH에 대한 스피루리나의 효과를 도시한 것이다.

<174> 도 3a 내지 3b는 탈지우유 배지에서의 혼합 배양시 pH에 대한 스피루리나의 효과를 도시한 것이다.

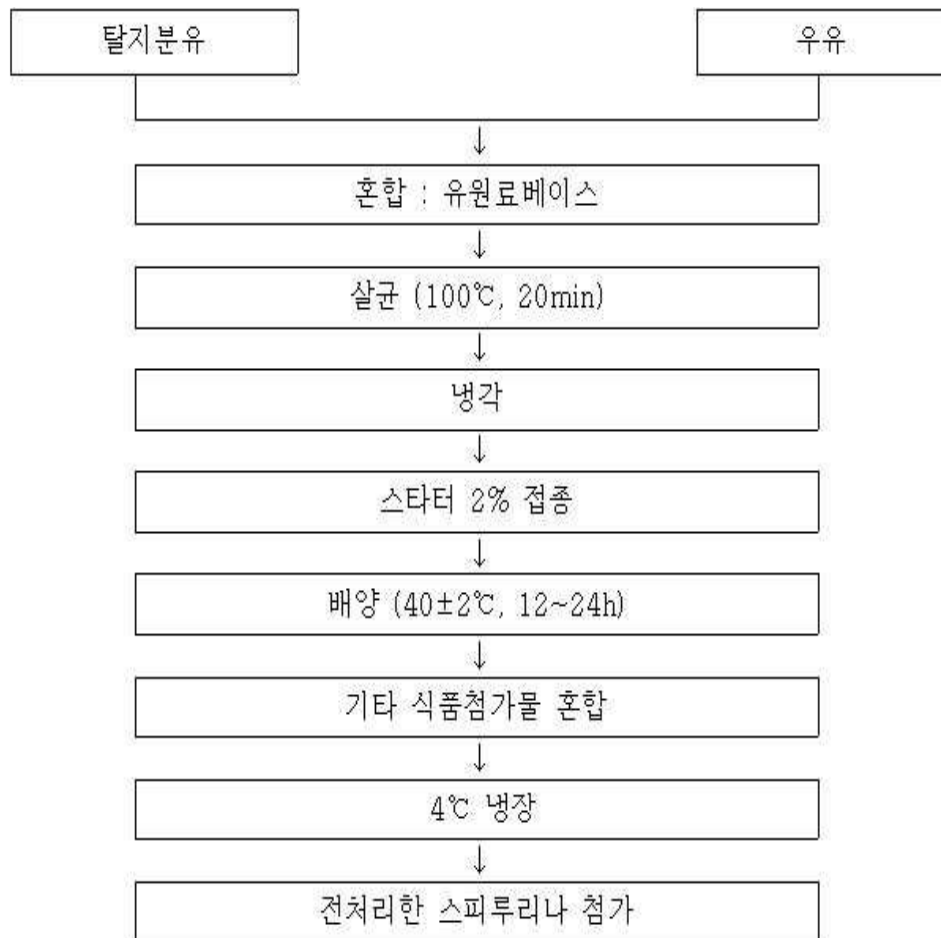
<175> 도 4a 내지 4c는 탈지우유 배지에서의 단일 배양시 적정산도에 대한 스피루리나의 효과를 도시한 것이다.

<176> 도 5a 내지 5b는 탈지우유 배지에서의 혼합 배양시 적정산도에 대한 스피루리나의 효과를 도시한 것이다.

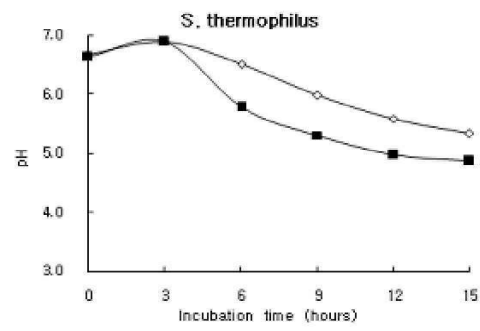
- <177> 도 6은 탈지우유 배지에서의 스피루리나 첨가시 pH 변화를 도시한 것이다.
- <178> 도 7은 탈지우유 배지에서의 스피루리나 첨가시 적정산도 변화를 도시한 것이다.
- <179> 도 8은 스피루리나 첨가 요구르트의 저장 중 점도변화를 도시한 것이다.
- <180> 도 9a 내지 9c는 스피루리나 첨가 요구르트의 저장 중 색 변화를 도시한 것이다.
- <181> 도 10은 스피루리나 첨가 요구르트의 DPPH에 의한 항산화활성을 도시한 것이다.
- <182> 도 11은 스피루리나 첨가 요구르트의 하이드록실 라디칼 소거능을 도시한 것이다.
- <183> 도 12는 다른 농도의 스피루리나를 첨가한 요구르트의 사진을 나타낸 것이다.

도면

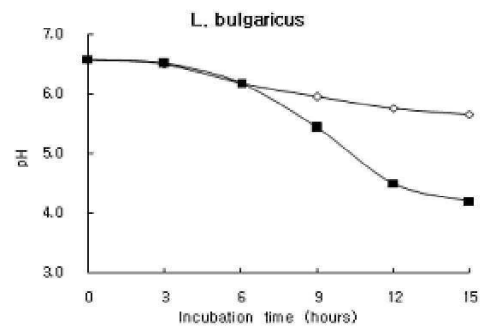
도면1



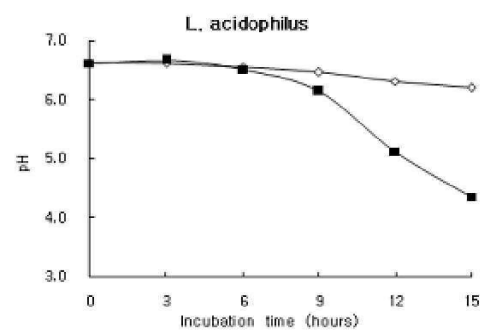
도면2a



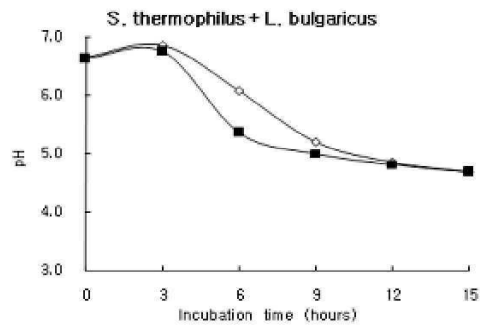
도면2b



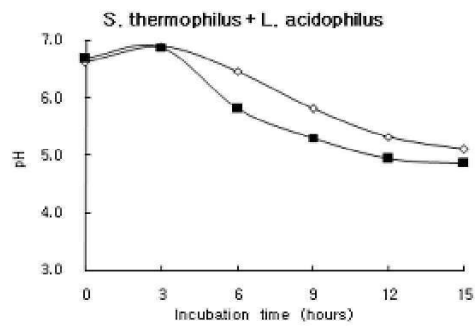
도면2c



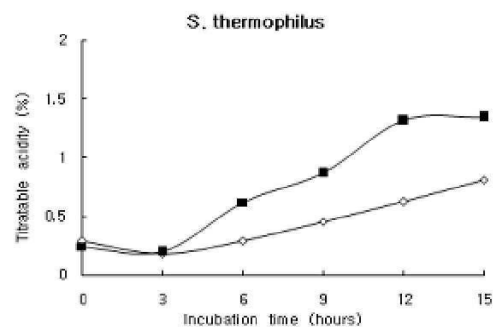
도면3a



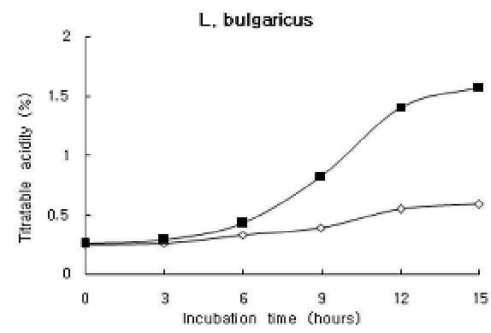
도면3b



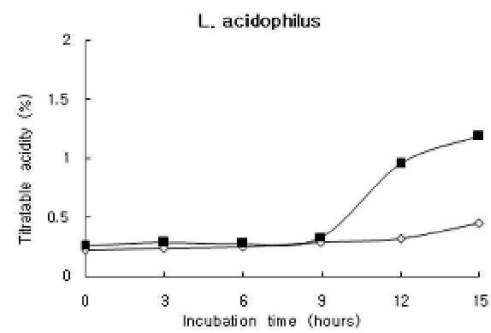
도면4a



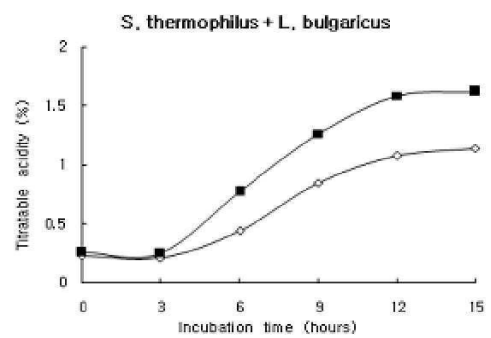
도면4b



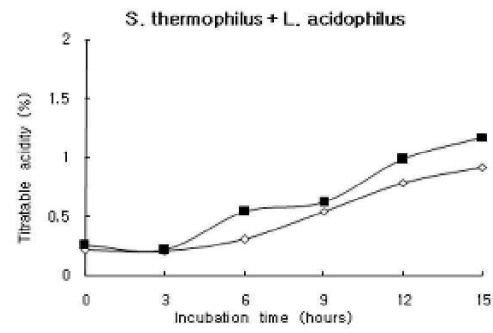
도면4c



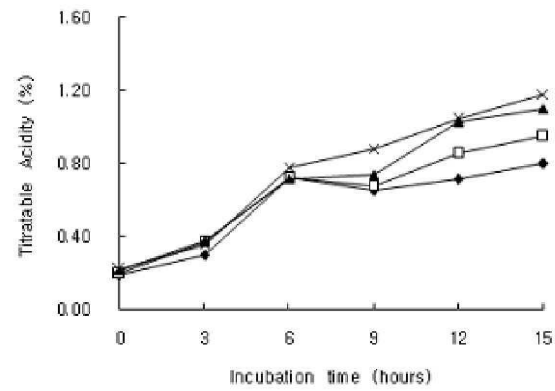
도면5a



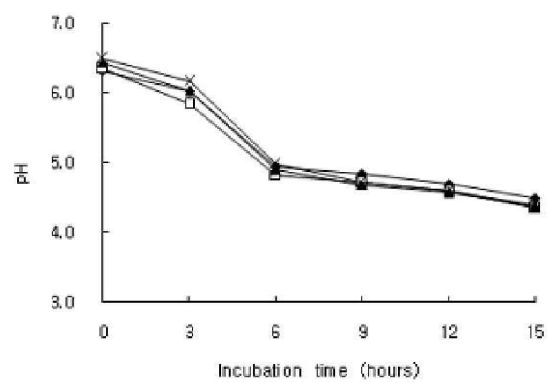
도면5b



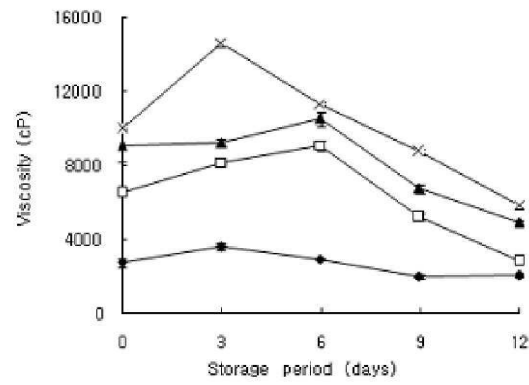
도면6



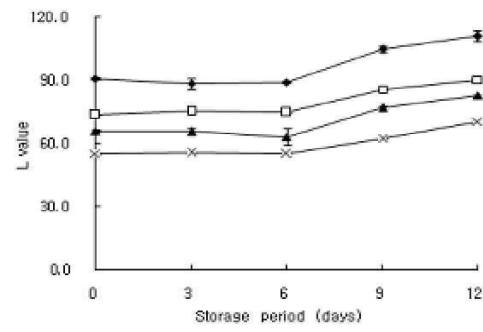
도면7



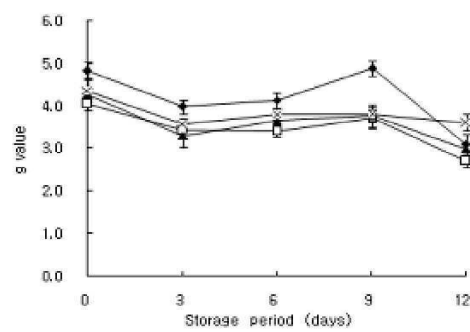
도면8



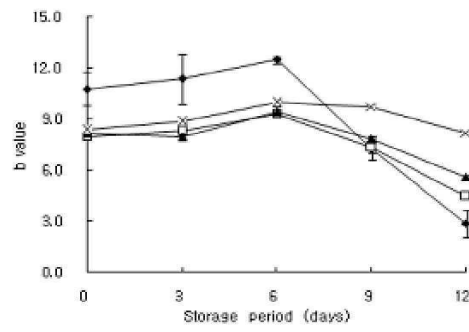
도면9a



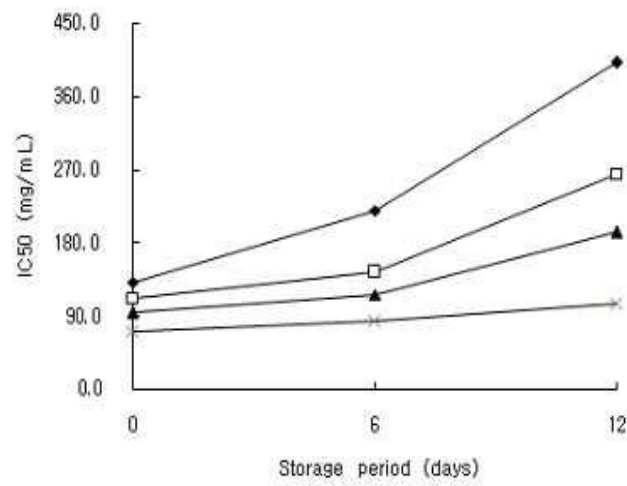
도면9b



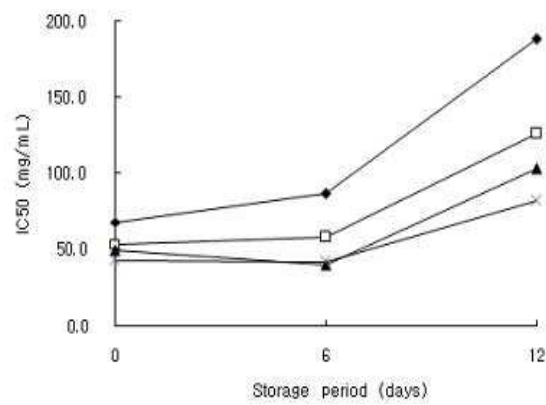
도면9c



도면10



도면11



도면12

