*Bacillus subtilis*와 *Lactobacillus plantarum*에 의한 토마토 첨가 두유 요구르트의 항산화 활성

양밍 · 광정순 · 장세리 · 짜아위엔 · ^{*}박인식

동아대학교 식품영양학과

Antioxidant Activity of Soybean Yogurt added Tomato Extract by *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum*

Ming Yang, Jung Soon Kwak, Seri Jang, Yuan Jia and ^{*}Inshik Park

Dept. of Food Science and Nutrition, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

Abstract

This study was performed to investigate the effect of types of microorganisms on the antioxidant activity of soybean yogurt by a single or mixed culture of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum* isolated from *chunggukjang* and kimchi. The fermented soybean milk by *Bacillus subtilis* exhibited the highest values of total polyphenol, DPPH radical scavenging activity, reducing power and nitrite scavenging activity compared to those of *Lactobacillus plantarum* or mixed culture of *Bacillus subtilis*/*Lactobacillus plantarum*. As the amount of tomato extract was added to the soybean milk, various antioxidant parameters, such as total polyphenol, DPPH radical scavenging activity, reducing power and nitrite scavenging activity, were linearly increased.

Key words: soybean yogurt, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*, mixed culture, tomato

서 론

대두는 동양에서 간장, 된장, 고추장, 청국장 등의 발효식품의 형태로 널리 이용되어 왔으며, 대두에는 isoflavone, lecithin, 섬유소 등과 같은 물질이 풍부하고, 식물성 고단백 식품으로 영양학적으로 아주 우수한 소재이다. 또한 대두는 곡식이지만 육류에 가까운 성분을 가지고 있기 때문에, 발에서 나는 육류라고 부르고 있다. Saponin, phytic acid, isoflavones, hemagglutinins 등의 다양한 생리활성물질을 포함하고 있어 암을 비롯한 성인병 예방 및 치료에 대한 가능성이 보고되고 있다(Yoo & Yeo 2008).

이렇게 풍부한 영양학적인 가치를 지닌 콩도 특성상 몇 가지 해결해야 할 과제들도 있는데, 특히 콩 비린내를 내는 lipoxigenase는 기호성을 저하시키고, 인체의 대사 중에 위와 장에서 가스를 생성하는 flatulence와 trypsin inhibitor, phytic acid 등의 영양장애 요인이 있다(Jung HJ 2008). 이용을 하는

데 제한을 받고 있기 때문에, 가공법의 개선과 함께 소화율을 높이고, 콩 비린내와 가스 생성물질을 제거하기 위한 방법의 일환으로 발효에 관한 연구가 진행되어 오고 있다(Lim 등 1984).

요구르트는 우유를 젖산균으로 발효시켜 산미와 향미를 강화시킨 것으로 우유성분 외에 젖산균으로 유효성분(lactate, peptone, peptide, 미량활성물질)의 생성, 젖산균이 함유되어 있어서 영양학적으로 우유보다 우수하다(Jung & Ju 1997). 특히 요구르트의 건강 증진 효과로는 유당 소화 불량 개선, 장내 균총 정상화 및 정장 작용, 설사와 변비의 개선, 장내 유해세균의 생육 억제 작용, 혈중 콜레스테롤 저하 작용, 면역 증진 작용, 항암 작용 등을 나타내는 것으로 알려져 있다(Robinson 등 1984; Savaiano 등 1984; So MH 1985; Hood & Zottola 1988).

토마토는 미국 타임지 선정 ‘몸에 좋은 10가지 식품’ 중 하나로 라이코펜(lycopene)이 세포의 산화를 막아 노화를 억제하고, 심혈관 질환과 각종 암의 예방 효과가 있다고 보고되었으며

^{*} Corresponding author: Inshik Park, Dept. of Food Science and Nutrition, Dong-A University, Busan 604-714, Korea. Tel: +82-51-200-7322, Fax: +82-51-200-7535, E-mail: ispark@dau.ac.kr

(Yu 등 2009), 비타민 A가 딸기에 비하여 8배 이상 함유되어 있고, 비타민 C는 채소작물 가운데 가장 많은 양이 함유되어 있다 (Lee 등 2008).

따라서 본 연구에서는 영양학적으로 손색이 없는 단백질 자원의 대두를 주원료로 청국장 발효 균주인 고초균과 김치에서 유래한 유산균을 이용하여 혼합 발효를 통한 기능성 대두발효 식품을 개발하고자 하였다. 이에 따라 제조된 요구르트의 기능성을 비교하기 위하여 항산화력을 측정을 실시하였다. 또한 혼합 발효 두유의 기능성을 더욱 증진시키기 위해 토마토 추출물을 첨가하여 그 효능을 알아보았다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 콩은 2011년도에 부산 시내 대형마트에서 구입한 수입산 백태로 4℃에서 냉장 보관하면서 사용하였고, 고초균 분리용 청국장 시료, 유산균 분리용 김치 시료인 배추김치와 토마토는 2012년도에 부산 시내 대형마트에서 국내산으로 구입하여 냉장 보관하고 사용하였다.

2. 두유 요구르트 제조

발효 대두유의 제조는 선별한 건조대두 60 g을 물에 12시간 이상 침지시킨 후 물을 제거한 다음, 대두와 물의 중량 비율 1:10으로 하여 두유로 제조하였다. 제조한 두유에 1%(w/v) 포도당을 첨가하여 121℃에서 15분간 autoclave하고 냉각하여 실험에 사용하였다. 시판 청국장으로부터 강력한 protease를 생성하는 균을 선별하고, *Bacillus subtilis*임을 확인하여 *Bacillus subtilis* YMB-12로 명명하고, 본 실험에 이용하였다(Yang 등 2013). 선별 동정된 *Bacillus subtilis*를 Nutrient broth로 사용하여 37℃에서 2회 계대 배양한 것을 스타터로 사용하였다. 그리고 시판 김치로부터 강한 산생성균을 분리하고, *Lactobacillus plantarum*으로 동정하였다. 그리고 이 균은 *Lactobacillus plantarum* YML-4로 명명하였다(Yang 등 2013). 선별 동정된 *Lactobacillus plantarum*을 MRS broth로 사용하여 고초균과 같은 방법으로 실시하였다. 멸균된 두유에서 약 10^8 cfu/ml로 배양된 스타터를 2%(v/v)가 되게 접종하고, 37℃에서 24시간 배양하였다. 혼합 배양 시에는 선별된 고초균과 유산균을 1:1로 혼합하여 단독 배양과 같은 조건에서 발효하였다.

3. 토마토 추출물의 제조

토마토는 분쇄기를 이용하여 분쇄하였으며, 분쇄된 시료 100 g에 시료 무게 2배의 70% ethanol을 가한 후, 60℃에서 3시간 교반 추출하였다. 추출된 용액은 원심분리(15,000 rpm, 10 min)한 후 상등액을 수집하였다. 그리고 상등액을 진공회전 농축기에서 용매를 완전히 증발시킨 후 -20℃에 보관하였다.

4. 토마토 첨가 두유 요구르트의 제조

발효 대두유의 제조는 선별한 건조대두 60 g을 물에 12시간 이상 침지시킨 후 물을 제거한 다음 대두와 물의 중량 비율 1:10으로 하여 두유로 제조한다. 예비실험을 통해 토마토 추출물을 1% 이상 첨가할 경우, 살균 처리시 발효기질이 응고되어 요구르트 제조에 적합하지 않았다. 따라서 제조한 두유가 토마토 추출물을 0.25%, 0.5%, 1%(w/v)로 첨가한 다음 유산균의 생육을 위해 1% glucose를 첨가하여 105℃에서 15분간 autoclave하고 냉각하여 실험에 사용하였다. 멸균된 두유에서 고초균과 유산균의 스타터를 1:1로 혼합하여 2%(v/v)가 되게 접종하고, 37℃에서 24시간 배양하였다.

5. 두유 요구르트 항산화 실험

1) 시료 제조

발효 두유의 항산화 효과에 관한 실험을 위하여 시료를 제조하였다. 24시간 발효된 두유를 원심분리(15,000 rpm, 10 min)하여 상등액을 취하고, 항산화 실험에 시료로 사용하였다.

2) 환원력 측정

Reducing power는 Oyaizu M(1986)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 100 μ l에 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 250 μ l, 1% potassium ferricyanide 250 μ l를 각각 혼합하여 50℃에서 30분 동안 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid 250 μ l를 가하였다. 위 반응액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액 500 μ l에 증류수 500 μ l, 0.1% ferricchloride 100 μ l를 가하여 혼합한 반응액의 흡광도 값을 700 nm에서 측정하였다. 시료의 환원력은 두유 요구르트 1 ml에 해당하는 환원력을 BHT의 용량(mg)으로 표시하였다. 표준곡선은 BHT의 최종 농도가 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 mg/ml이 되도록 하여 위와 같은 방법으로 700 nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

3) 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin & Denis(1912)법을 응용하여 실험하였다. 시료는 증류수로 10배 희석한 희석액 400 μ l에 2배로 희석한 Folin 시약 400 μ l를 첨가하고 잘 혼합한 후 3분간 방치하여 400 μ l의 10% Na_2CO_3 를 서서히 가하였다. 이 혼합액을 1시간 동안 방치한 후 UV/visible spectrophotometer를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 정량하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. 표준곡선은 gallic acid의 최종농도가 0, 10, 20, 30, 40, 50 μ g/ml가 되도록 하여 위와 같은 방법으로 700 nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

4) DPPH 라디칼 소거능 실험

조제한 DPPH 용액 0.8 mL에 에탄올 적당량(3~4 mL)을 가하고 10초 동안 강하게 진탕하여 분광광도계의 흡광도 값이 0.95~0.99가 되도록 에탄올의 양을 조정한다. 다음에 시료 용액 0.2 mL를 취하여 앞에서 조절한 적정량의 에탄올과 DPPH 용액 0.8 mL를 가하여 10초 동안 강하게 진탕한 후 10분 동안 방치하고 520 nm에서 흡광도를 측정한다. 대조구로서 시료 용액대신에 같은 양의 에탄올을 가하여 진탕하고 방치한 후 곧 흡광도를 측정한다(Blois MS 1958).

DPPH radical scavenging activity(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{Sample absorbance}}{\text{Control absorbance}}\right) \times 100$$

5) 아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능은 Kato 등(1987)의 방법에 따라 일정 농도의 추출물 시료 1 mL에 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL를 가하고, 이 용액에 0.1 N HCl을 가하여 pH 1.2로 조정하였다. 여기에 증류수를 가하여 부피를 10 mL로 정용한 후 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음, 반응액을 1 mL씩 취하여 2% acetic acid 5 mL, Griess 시약(A:B=1:1, A: 1% sulfanilic acid in 30% acetic acid, B: 1% naphthylamine in 30% acetic acid)을 0.4 mL를 가하여 잘 혼합한 후, 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산량을 산출하였다. 대조구는 Griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 첨가한 후, 동일한 방법으로 측정하여 시료용액의 첨가구와 시료 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

$$\text{NSA}(\%) = \left(1 - \frac{A-B}{C}\right) \times 100$$

A: NaNO₂ 용액에 시료와 Griess를 첨가한 흡광도

B: NaNO₂ 용액에 Griess를 첨가한 흡광도

C: NaNO₂ 용액에 시료와 증류수를 첨가한 흡광도

6. 통계분석

본 실험에서 얻은 결과는 SPSS 통계프로그램을 이용하여 처리하였다. 각 측정치의 평균과 표준편차를 구하고, 그룹간 비교를 위하여 one-way analysis of variance(ANOVA)와 Duncan's multiple-range test를 실시하였으며, 통계적 유의수준은 $p < 0.05$ 로 설정하였다. 두유 요구르트의 항산화 활성과 total polyphenol 함량과의 상관관계를 분석하여 Pearson 상관계수로 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 두유 요구르트 항산화 활성 분석

1) 총 폴리페놀 함량 측정

식물성 식품 속에 함유되어 있는 많은 생리활성 물질 중 페놀은 가장 많이 함유되어 있으며, 또한 높은 항산화 활성을 가지는 것으로 알려져 있다(Jeong 등 2007).

두유 요구르트의 총 폴리페놀 함량을 gallic acid equivalent로 환산하여 Fig. 1과 같다. *Bacillus subtilis* 발효 두유의 총 폴리페놀 함량은 3,580.91 µg/mL로 가장 높게 나타났고, 혼합 배양 발효 두유(2,976.82 µg/mL), *Lactobacillus plantarum* 발효 두유(2779.09 µg/mL) 순으로 나타났다. 또한 Chung 등(2010)은 복합 유산균 분말을 이용하여 제조한 요구르트에 함유 총 폴리페놀 함량은 385.4 mg%로 나타내었다고 보고하였다. 이는 제조시 사용한 균종과 발효 기질 등에 대한 다르기 때문인 것으로 생각된다.

2) DPPH 라디칼 소거 활성 측정

전자공여능은 항산화 측정에 대표적으로 쓰이는 방법이다. DPPH는 항산화 활성을 측정하기 위한 기질로 사용되고, phenol, flavonoid와 같은 페놀성 물질에 대한 항산화 작용의 지표라고 알려져 있으며, 유리 라디칼에 전자를 공여하여 식품 중의 지방 산화를 억제하고, 인체 내 노화를 억제시키는 작용으로 많이 이용되어 인체의 질병과 노화를 방지하는데 중요한 역할을 한다(Lee 등 1997).

두유 요구르트의 DPPH 라디칼 소거 활성은 Fig. 2와 같다. *Bacillus subtilis* 발효 두유의 DPPH 소거 효과는 67.14%로 혼합 배양 발효 두유(43.10%), *Lactobacillus plantarum* 발효 두유(36.35%)에 비해 유의적으로 높았다. 이와 같은 결과는 페놀계 합성 항산화제로 널리 사용되고 있는 butylated hydroxytoluene(BHT)와 비교해 보았을 때 두유 요구르트가 훨씬 높은

Fig. 1. Total polyphenol contents of soybean yogurt. ^{a-c} Mean in the bars are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple-range test. These values are means $\pm$ S.D. of triplicate determinations. Symbols: LP, *Lactobacillus plantarum* fermented soybean milk; BS, *Bacillus subtilis* fermented soybean milk; LPBS, *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* fermented soybean milk.

Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of soybean yogurt.

^{a-d} Mean in the bars are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple-range test. These values are means $\pm$ S.D. of triplicate determinations. Symbols: BHT at the concentration of 100 $\mu\text{g/ml}$ was used as the positive control. LP, *Lactobacillus plantarum* fermented soybean milk; BS, *Bacillus subtilis* fermented soybean milk; LPBS, *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* fermented soybean milk.

활성을 나타내었다. 이는 *Bacillus subtilis* 발효 두유가 다른 시료에 비해 다소 높은 페놀물질이 함유하고 있기 때문인 것으로 생각된다. Kang 등(1996)은 전자공여능이 phenolic 물질에 대한 항산화 작용의 지표라 하였으며, 이러한 물질은 환원력이 클수록 전자공여능이 더 높다고 하였다.

3) 환원력 측정

환원력은 항산화 작용의 여러 기작 중에서 활성 산소종 및 유리기에 전자를 공여하는 능력을 말하며, 700 nm에서 ferric-ferricyanide(Fe^{3+}) 혼합물이 수소를 공여하여 유리라디칼을 안정화시켜서 ferrous(Fe^{2+})로 전환하는 환원력을 흡광도 값으로

Fig. 3. Reducing power of soybean yogurt. ^{a-c} Mean in the bars are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple-range test. These values are means $\pm$ S.D. of triplicate determinations. Symbols: LP, *Lactobacillus plantarum* fermented soybean milk; BS, *Bacillus subtilis* fermented soybean milk; LPBS, *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* fermented soybean milk.

나타낸 것이다(Sa 등 2010). 환원력은 항산화 활성과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Shiddhuraju 등 2002). 그러므로 환원력은 항산화 활성에 대한 중요한 인자로 작용한다(Meir 등 1995).

두유 요구르트의 환원력은 Fig. 3과 같다. BHT equivalent 값으로 나타내었을 때 *Bacillus subtilis* 발효 두유의 환원력은 6.54 mg/ml로 가장 높게 나타났고, 혼합 배양 발효 두유(3.47 mg/ml), *Lactobacillus plantarum* 발효 두유(2.14 mg/ml) 순으로 나타났다.

4) 아질산염 소거능 측정

질산염 및 아질산염은 식품 내에 아민류와 공존할 경우, 대부분이 발암성 NA를 생성하며, 이 반응은 식품에서 뿐만 아니라 인체나 동물의 위 내에서도 용이하게 일어날 수 있기 때문에 아질산염 소거작용의 측정은 발암 전 단계의 억제작용을 측정할 수 있는 척도가 될 수 있다(Oh CK 1997; Lee 등 2000).

두유 요구르트의 아질산염 소거능을 조사한 결과는 Fig. 4와 같다. *Bacillus subtilis* 발효 두유의 아질산염 소거 효과는 83.63%로 혼합 배양 발효 두유(68.83%), *Lactobacillus plantarum* 발효 두유(62.32%)에 비해 유의적으로 높았다. 이와 같은 결과는 페놀계 합성 항산화제로 널리 사용되고 있는 butylated hydroxyl toluene(BHT)와 비교해 보았을 때 *Bacillus subtilis* 발효 두유의 아질산염 소거 효과가 훨씬 높은 활성을 나타내었다.

5) 상관관계

Table 1은 두유 요구르트의 항산화 활성과 총 페놀 함량 간의 상관계수를 나타낸 것이다. NSA와 DPPH RSA, reducing

Fig. 4. Nitrite scavenging ability of soybean yogurt. ^{a-d}

Mean in the bars are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple-range test. These values are means $\pm$ S.D. of triplicate determinations. Symbols: BHT at the concentration of 100 $\mu\text{g/ml}$ was used as the positive control. LP, *Lactobacillus plantarum* fermented soybean milk; BS, *Bacillus subtilis* fermented soybean milk; LPBS, *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* fermented soybean milk.

Table 1. Correlation coefficient between antioxidant activities and antioxidant constituents of soybean yoghurt

Factor	Total phenol	DPPH radical	Reducing power	Nitrite scavenging
Total phenol	1.000			
DPPH radical	0.921**	1.000		
Reducing power	0.953**	0.995***	1.000	
Nitrite scavenging	0.949**	0.987***	0.989***	1.000

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

power의 상관관계는 각각 $r=0.987$, $r=0.989$ 로 높은 상관관계를 나타내었다. DPPH RSA와 reducing power 역시 $r=0.995$ 로 고도의 상관관계를 보여주었다. NSA와 DPPH RSA, reducing power에 의한 항산화 활성과 총 페놀의 상관관계는 모두가 0.900 이상으로 높은 상관관계를 보였다. 또한 Holasova 등(2002)은 phenol 함량이 높을수록 항산화력이 증가한다고 보고하였으며, Gheldof 등(2002)은 이들 함량과 항산화력 간에 상관관계를 가진다고 보고하였다. 본 연구에서 얻은 결과도 선행연구와의 일치함을 보였다.

이상의 실험결과로부터 *Bacillus subtilis* 단독 배양 발효 두유가 *Lactobacillus plantarum* 단독 배양 발효 두유, 이 두 균을 혼합 배양한 발효 두유에 비하여 항산화 활성이 가장 높은 것으로 나타났다. 이는 총 폴리페놀 함량 증가 및 두유 요구르트 발효 중 *Bacillus subtilis*의 효소에 의한 펩타이드 함량 증가도 항산화 활성의 증가에 기여한 것으로 사료된다.

2. 토마토 추출물 항산화 활성 분석

토마토 에탄올 추출물의 항산화 활성은 Table 2에 나타내었다. 토마토 에탄올에 의한 추출 수율은 4.61%로 총 폴리페놀 함량을 gallic acid equivalent로 환산하여 34.79 mg/g이었다. 이는 Park 등(2011)의 연구에서 측정된 감귤을 과육의 총 폴리페놀 함량은 8.31 mg/g보다 훨씬 높았다. IC₅₀은 검체 농도에 따른 DPPH radical 소거능 변화 곡선으로부터 산화를 50% 억제시키는데 요구되는 천연추출물의 농도(mg/ml)로, 토마토

Table 2. Yields, polyphenolics, DPPH radical scavenging activity (RSA), reducing power (RP), and nitrite scavenging ability (NSA) of the tomato extracts

Yields (%)	Polyphenolics (mg GAE/g) ¹⁾	DPPH RSA IC ₅₀ (mg/ml) ²⁾	RP IC ₅₀ (mg/ml) ³⁾	NSA IC ₅₀ (mg/ml) ⁴⁾
4.61	34.79±0.67	8.36±0.34	3.72±0.06	13.38±0.59

All values are means±S.D. of triplicate determinations.

¹⁾ Polyphenolic compounds were expressed as gallic acid equivalents.

²⁾ IC₅₀ (mg/ml): Concentration for scavenging 50% of radical.

³⁾ IC₅₀ (mg/ml): Concentration for scavenging 0.500 value in absorbance.

⁴⁾ IC₅₀ (mg/ml): Concentration for scavenging 50% of nitrite.

의 IC₅₀은 8.36 mg/ml로 나타났다. 양성대조구인 BHT는 0.30 mg/g으로 나타났지만, 보여준 토마토 에탄올 추출물은 산화방지제인 BHT와는 달리 순수한 화합물의 아닌 조 추출물이기 때문에 낮은 것으로 생각된다. 그리고 추출물의 환원력을 반응 용액의 흡광도 수치가 0.500이 되는 농도(IC₅₀)는 3.72 mg/ml이었고, 양성대조구인 BHT는 0.21 mg/ml로 측정되었다. 또한 추출물의 아질산 소거능을 IC₅₀은 13.38 mg/ml로 나타났다. 이러한 결과는 항산화제로서 개발 가능성이 있으며, 이와 밀접하게 관련되어 있는 질환의 발병을 예방 또는 치료할 수 있는 생리 활성 물질로서 작용할 가능성이 높다고 사료된다.

3. 토마토 첨가 두유 요구르트 항산화 활성 분석

토마토 에탄올 추출물을 첨가하여 제조한 두유 요구르트의 항산화능은 Table 3에 나타내었다. DPPH radical 소거능은 토마토 추출물의 첨가량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다. 토마토 무첨가 두유 요구르트의 DPPH radical 소거능은 28.39%인데 비해 0.25% 토마토를 첨가 두유 요구르트는 33.46%, 0.5% 토마토 요구르트는 49.38% 그리고 1% 토마토 요구르트는 DPPH radical을 57.12% 소거하였다. 총 폴리페놀 함량, 환원력 및 Nitrite 소거능도 토마토 추출물의 첨가량이 증가할수록 유의적으로 증가하였다. 유자 추출물을 첨가하여 제조한 요구르트의 항산화능을 보고한 Lee 등(2008)은 유자

Table 3. Antioxidant activities of soybean yogurt added with the tomato extracts

Antioxidant activity	Soybean yogurt added with the tomato extracts			
	0%	0.25%	0.5%	1.0%
Total phenol (μg/ml)	2,824.09±1.93 ^d	2,873.18±2.96 ^c	3,024.55±15.42 ^b	3,111.82±18.43 ^a
DPPH radical (%)	28.39±1.00 ^d	33.46±0.86 ^c	49.38±0.74 ^b	57.12±0.76 ^a
Reducing power (mg/ml)	2.88±0.66 ^d	4.98±0.22 ^c	8.64±0.66 ^b	11.91±0.55 ^a
Nitrite scavenging (%)	52.69±2.42 ^d	59.79±1.40 ^c	68.91±0.60 ^b	74.94±0.66 ^a

These values are means±S.D. of triplicate determinations.

^{a-d} Means with different superscript in the same row are significantly different ($p < 0.05$) by the Duncan's multiple range test.

추출물 1% 첨가 요구르트에서 92%의 DPPH radical 소거능을 나타낸다고 보고하였다. 또한 Na & Joo(2012)은 토마토분말 첨가 소시지의 항산화능은 토마토 분말 속에 함유된 polyphenol 화합물에 의하여 항산화능을 나타낸 것이라고 보고하였다. 본 연구에서도 토마토 추출물 첨가 요구르트가 토마토 무첨가 요구르트보다 높은 항산화능을 보이는 것은 토마토 추출물에 함유된 높은 함량의 phenol이 이러한 효능을 나타낸 것이라고 생각한다.

요 약

본 연구에서는 단백질이 풍부한 원료 콩에 청국장에서 분리한 *Bacillus subtilis*와 김치에서 분리한 *Lactobacillus plantarum*을 이용한 혼합 발효를 통해 대두 발효 제품의 개발을 목표로 한 연구결과와 다음과 같은 분석 결과를 얻었다.

Bacillus subtilis 단독 배양 발효 두유, *Lactobacillus plantarum* 단독 배양 발효 두유, 또한 두 균을 혼합 배양한 발효 두유의 항산화 활성을 상호 비교하였다. 그 결과, *Bacillus subtilis* 단독 배양 발효 두유의 총 폴리페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, 환원력, 아질산염 소거능이 각각 3580.91 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 67.14%, 6.54 mg/mL , 83.63%로 가장 높았다.

혼합 발효 두유의 기능성을 증진시키기 위하여 토마토 추출물을 첨가하여 발효 두유를 제조하였고, 토마토 에탄올 추출물을 0, 0.25, 0.5, 그리고 1.0% 첨가한 토마토 요구르트의 항산화력은 토마토 첨가량 농도 의존적으로 항산화력이 유의적으로 증가하였다. 특히 DPPH 라디칼 소거능은 토마토 무첨가구는 28.39%인데 비해, 토마토 요구르트는 33.46~57.12%까지 증가하였다.

감사의 글

이 논문은 동아대학교 교내연구비 지원에 의하여 연구되었음.

Reference

Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 4617:1198
 Chung HJ, Chu YR, Park HN, Jeon IS, Kang YS. 2010. Influence of the addition of MACA (*Lepidium meyenii*) hot water extract on the quality and antioxidant activity of yogurt. *Korean J Food Culture* 25:334-341
 Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phospho-molybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12:239-249

Gheldof N, Engeseth NJ. 2002. Antioxidants capacity of honeys from various flora sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *J Agric Food Chem* 50: 3050-3055
 Hood SK, Zottola EA. 1988. Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells. *J Food Sci* 55:506-511
 Holasova M, Fiedlerova V, Smrcinova H, Orsak M, Lachman J, Vavreinova S. 2002. Buckwheat the source of antioxidant activity in functional foods. *Food Res International* 35: 207-211
 Jeong WP, Young JL, Sun Y. 2007. Total flavonoids and phenolics in fermented soy products and their effects on antioxidant activities determined by different assays. *Korean J Food Culture* 22:353-358
 Jung HJ. 2008. Development and physiological effects of soy yogurt fermented *Lactobacillus* isolated from plants. Master's Thesis, Yonsei Uni. Seoul. Korea
 Jung GT, Ju IO. 1997. Studies on the preparation of yogurt from milk added purple sweet potato powder. *Korean J Food Nutr* 10:458-461
 Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidines. *Agric Biol Chem* 51:1333-1338
 Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28:232-239
 Lee JS, Cho MS, Hong JS. 2008. Quality characteristics of *Sulgidduk* containing added tomato powder. *Korean J Food Cookery Sci* 24:375-381
 Lee KD, Chang HK, Kim HK. 1997. Antioxidative and nitrite scavenging activities of edible mushroom. *Korean J Food Sci Technol* 29:432-436
 Lee SJ, Chung MJ, Shin JH, Syng NJ. 2000. Effect of natural plant components on the nitrite-scavenging. *J Food Hyg Safety* 15:88-94
 Lee YJ, Kim SI, Han YS. 2008. Antioxidant activity and quality characteristics of yogurt added Yuza extract. *Korean J Food Nutr* 21:135-142
 Lim SJ, Kho YT, Yoo JC. 1984. Manufacture of yogurt from soy protein concentrate. *Food Sci Biotechnol* 16:143-148
 Meir S, Kanner J, Akiri B, Hadas SP. 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative

- defense systems of various senescing leaves. *J Agric Food Chem* 43:1813-1815
- Na YR, Joo NM. 2012. Processing optimization and antioxidant activity of sausage prepared with tomato powder. *Korean J Food Cookery Sci* 28:195-206
- Oh CK. 1997. Antimutagenic and mutagenic activity of kimchi and depletion of nitrite by lactic acid bacteria. Ph. D. Dissertation, Cheju Uni. Korea
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J Nutr* 44:307-315
- Park GH, Lee SH, Kim HY, Jeong HS, Kim EY, Yun YW, Nam SY, Lee BJ. 2011. Comparison in antioxidant effects of four citrus fruits. *J Food Hyg Safety* 26:355-360
- Robinson IM, Whipp SC, Bucklin JA, Allison MT. 1984. Characterization of predominant bacteria from the colons of normal and dysenteric pigs. *Appl Environ Microbiol* 33:79-85
- Sa YJ, Kim JS, Kim MO, Jeong HJ, Yu CY, Park DS, Kim MJ. 2010. Comparative study of electron donating ability, reducing power, antimicrobial activity and inhibition of α -glucosidase by sorghum bicolor extracts. *Korean J Food Sci Technol* 42:598-604
- Savaiano DA, Abou A, Anouar AL, Smith DZ, Levitt MD. 1984. Lactose malabsorption from yogurt, pasteurized yogurt, sweet acidophilus milk, and cultured milk in lactose-deficient individuals. *Am J Clin Nutr* 40:1219-1225
- Shiddhuraju P, Mohan PS, Becker K. 2002. Studies on the antioxidant activity of Indian laburnum (*Cassia fistula* L.): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruitpulp. *Food Chem* 79:61-67
- So MH. 1985. Identification and tolerance test to digestive fluids of lactobacilli isolated from Korean liquid yogurt. *Korean J Food Sci Technol* 17:192-196
- Yang M, Kwak JS, Jang S, Jia W, Park I. 2013. Fermentation characteristics of soybean yogurt by mixed culture of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum*. *Korean J Food Nutrition*. Submitted for publication
- Yoo JH, Yeo IH. 2008. Soybean Food Processing. Hyoilbooks. pp 10-15
- Yu YM, Youn YN, Hua QJ, Cha GH, Lee YH. 2009. Biological hazard analysis of paprikas, strawberries and tomatoes in the markets. *J Food Hyg Safety* 24:174-181

접 수 : 2013년 5월 2일
 최종수정 : 2013년 5월 29일
 채 택 : 2013년 6월 4일