

스피루리나가 유산균의 증식에 미치는 영향

손찬욱·신유미·심현정·김미연·김미리[†]
충남대학교 식품영양학과

Effect of Spirulina on Growth of Lactic Acid Bacteria

Chan-Wok Son, Yu-Mi Shin, Hyun Jung Sim, Mi Yeon Kim, Mee Ree Kim[†]
Department of Food and Nutrition, Chungnam National University

Abstract

This experiment was carried out to investigate the effects of spirulina powder on the growth properties of lactic acid bacteria in reconstituted skim milk. The spirulina powder supplemented to *S. thermophilus* and *L. acidophilus* slightly stimulated lactic acid production. In addition, the growth and acid production of *L. bulgaricus* were enhanced by the addition of spirulina powder. When the spirulina powder was added to reconstituted skim milk at the level of 1%, the mixed cultures of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* showed higher numbers of viable cells and higher acid production than the other cultures. The effects of the addition amounts of spirulina powder (1%, 2% and 3%) to the reconstituted skim milk on the growth properties of the mixed cultures of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* were evaluated. The pH of the skim milk with added spirulina powder was lower than that of the control, but the amount of spirulina did not have a significant affect. The titratable acidity increased with the incubation time until 12 hr. The number of viable cells in the skim milk with added spirulina increased according to the amount of spirulina. Thus, the spirulina was effective for the increasing lactic acid bacteria in yoghurt.

Key words : spirulina powder, lactic acid bacteria, acid production, viable cell

1. 서 론

요구르트는 탈지유 또는 원유를 젖산균으로 발효시켜 만든 발효 유제품으로 우유의 성분 이외에 젖산균의 작용에 의해 생산된 젖산, peptone, peptide 및 기타 미량 활성물질과 젖산균체가 포함되어 있어 영양학적으로 우수한 식품이다(Sung YM 등 2005, Jeong EJ와 Bang BH 2003). 요구르트의 식품영양학적 기능으로는 유성분의 효과, 젖산균의 작용에 의해 생성된 유효물질의 효과, 젖산균의 장내증식에 의한 효과가 있으며, 장내증식의 효과로는 혈중 콜레스테롤의 감소, 장내

유해세균의 생육억제, 유당 소화흡수의 촉진 및 대장암 발생률의 저하 등에 관한 연구가 보고되었다(Bang BH와 Park HH 2000, So MH 1985, Robinson LM 등 1984, Savaiano 등 1984). 따라서 요구르트는 이러한 영양적 요인과 독특한 풍미로 인하여 전 세계적으로 각광받고 있으며(Lee IS와 Paek KY 2003), 특히 유고형 분 함량과 유산균수가 많은 커드상의 호상요구르트가 선호되어 그 수요가 꾸준히 증가하고 있다(Chung IK 등 2006, Shin YS 등 1994).

한편, 스피루리나(Spirulina)는 원핵세포생물인 사이노박테리아(cyanobacteria)로 분류되는 청녹색의 나선형 세균으로, 이미 오래전부터 아프리카와 멕시코 지방에서는 식품으로 이용되어 왔으며 최근 그 안정성을 WHO, FAO, UNIDO, UNICEF의 국제기구들로부터 인정받아 세계 100여 국가에서 건강보조식품 및 피부 관리제품, 기타 여러 형태로 이용되고 있다. 스피루리나

Corresponding author : Mee Ree Kim, Department of Food and Nutrition, Chungnam National University, Daejeon, 305-764, Korea
Tel : 82-42-821-6837
Fax : 82-42-821-8887
E-mail : mrkim@cnu.ac.kr

의 성분은 필수아미노산이 포함된 질이 우수한 대량의 단백질과 탄수화물, 지방, 무기질, 비타민, 섬유질 및 색소로 이루어져있다(Cho H 등 2005). 지방에는 리놀렌산(linoleic acid), 감마리놀렌산(γ -linolenic acid) 및 리놀레익산(linoleic acid)등 불포화지방이 상당량 함유되어 있으며, 무기질 및 비타민이 풍부하다. 또한, 스피루리나는 남조류에만 함유된 청색색소인 피코시아닌(phycoyanin)을 비롯한 클로로필, 카로티노이드(carotinoid) 등 항산화성분이 풍부하다(Kim WY와 Park JY 2003). 스피루리나는 다양한 효능을 나타내는 것으로 보고되었는데, 특히, 항산화 및 노화 억제를 비롯하여 발암 프로모션 및 전이 억제 효과와 면역증진 작용 등이다. 또한, 대장관내의 유산균 기능을 강화시키고, 유산균수를 증가시킨다(성낙웅 2002). de Caire GZ 등(2000)은 스피루리나 플라텐시스를 우유에 첨가 하였을 때 *L. lactis*의 성장이 27% 촉진되었으며, 다른 종에서도 성장이 촉진되었다고 보고하였다.

따라서 본 연구에서는 생리적 활성 및 기능성이 우수한 스피루리나를 요구르트에 첨가함으로써 건강 증진 효과가 향상된 기능성 요구르트의 제조 가능성을 검토하고자 한다. 따라서 스피루리나에 적합한 유산균주 및 배양 방법과 스피루리나의 적정 첨가 범위를 정하기 위하여 스피루리나 첨가가 *S. thermophilus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* 등을 단독 및 혼합 배양하는 동안 유산균의 증식 및 산 생성에 미치는 영향을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 스피루리나는 (주)이에스바이오텍에서 공급받은 스피루리나 원말을 500 mL 실험용 bottle에 담아 Autoclave(Hanbaek Scientific Co., HB-506-6, Korea)를 이용하여 고온고압(120°C, 20 min, 1.5 kgf/m²)에서 멸균하여 사용하였다.

2. 사용균주 및 배지

본 실험에 사용한 균주는 유산구균에 속하는 *S. thermophilus*(KCTC, Korean Collection for Type Cultures 5092)와 유산간균에 속하는 *L. acidophilus*(KCTC 3164), *L. bulgaricus*(KCTC 3635)를 한국생명공학연구원 생물자원센터로부터 분양받아 사용하였다. 유산균주는 121°C

에서 15분간 고압멸균된 MRS broth(Difco 0881, USA) 배지에서 37°C에서 18시간 가량 2회 계대 배양한 후 121°C에서 15분간 고압멸균된 10%(w/v) skim milk(Difco, USA) 배지에 접종하여 사용하였다. MRS broth 배지의 조성은 Table 1과 같다.

3. 제조 방법

유산균주의 종류에 따른 요구르트의 발효 특성을 평가하기 위하여 멸균된 10%(w/v) skim milk 배지에 스피루리나 무첨가군(Control)과 예비실험에서 가장 선호도가 높았던 스피루리나 첨가군(SP 1%)으로 농도를 달리한 후 계대 배양한 유산균주를 단독균주 또는 혼합균주로 접종하였다. 단독균주인 경우에는 각각 2%(v/v)씩 접종하였고, 혼합균주인 경우에는 Jung DW 등(2005)이 *S. thermophilus*와 *L. acidophilus*를 혼합한 균주에 녹차가루를 0.5%, 1% 첨가하였을 때 유산균 증식효과와 산생성이 증가하였다는 보고와 *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus*를 혼합하였을 때 요구르트의 산생성이 가장 높았다는 Ahn BY 등(2004)의 연구를 토대로 *S. thermophilus*와 *L. acidophilus*, *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus* 각 균주를 1:1의 비율로 2%(v/v) 접종하여 37°C에서 15시간 배양하였다. 배양시간은 Bae HC 등(2004)이 *L. casei*, *L. acidophilus*의 단독균주와 *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus*의 혼합균주를 15시간 배양했을 때 12시간에서 최대 균수를 보이고 배양 15시간에는 유산균 수가 감소했다는 연구를 토대로 설정하였다.

또한 스피루리나 첨가량에 따른 요구르트의 발효 특성을 평가하기 위하여 스피루리나를 0%, 1%, 3%, 5%,

Table 1. Composition of MRS broth

Ingredients	Content
Peptone	10 g
Beef extract	10 g
Yeast extract	5 g
K ₂ HPO ₄	2 g
Ammonium citric acid	2 g
Glucose	20 g
Tween 80	1 g
Sodium acetic acid	5 g
Salt solution	5 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	11.5 g
MnSO ₄ ·2H ₂ O	52.4 g
D.W.	100 ml
Distilled water	1,000 ml
pH 6.2~6.6	

10%로 첨가한 예비실험에서 5%이상 스피루리나를 첨가했을 때 선호도가 현저히 떨어지는 것을 고려하여 본 연구에서는 스피루리나를 0%, 1%, 2%, 3% 농도로 멸균된 10%(w/v) skim milk 배지에 첨가한 후 계대 배양한 유산균주 *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus*를 1:1의 비율로 2%(v/v) 접종하여 37°C에서 15시간 배양하면서 시간별 (0, 3, 6, 9, 12, 15시간)로 pH, 적정산도 및 유산균수를 측정하였다.

4. pH 및 총산도

시료 5 g에 증류수 45 mL과 함께 섞이도록 Bag Mixer (Bag mixer 400, window door/porte fenetre)로 균질화 (speed 7, 1 min)한 후, 상층액을 10 mL 취해서 실험에 사용하였다. pH는 pH meter(Orion 420A, Orion Research Inc., USA)를 이용하여 3회 반복 측정하였고, 산도는 AOAC method(1990)에 따라 시료 용액 10 mL에 pH meter 전극을 담그고 0.1 N NaOH로 pH가 8.3이 될 때까지 적정하여 중화시키는데 소요된 NaOH량(mL)을 lactic acid 함량(%)으로 환산하여 총산함량을 표시하였다.

5. 유산균수 측정

요구르트 1 g을 멸균수 9 mL에 넣고 균질화(Bagmixer 400, Timer 1min, Speed 7)한 후 멸균생리식염수(0.85% NaCl)로 희석하여 각각의 배지에 분주하여 표준평판배양법에 따라 측정하였다. 유산균 측정을 위한 배지는 Man Rogosa Sharp(MRS) broth(Difco, Sparks, MD 21152, USA)와 agar powder(Daejung Chemicals & Metals Co., Korea)를 혼합하여 만든 배지를 사용하였고, 35~37°C 배

양기에서 48시간 배양한 후 나타난 colony를 계수하였다.

6. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였으며 실험 결과는 SPSS 12.0(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago IL, USA) software package 프로그램을 이용하여 분산 분석(ANOVA)을 실시하여 유의성이 있는 경우에 Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)으로 시료간의 유의차를 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 유산균주 종류에 따른 요구르트의 발효 특성

1) pH 및 산도

스피루리나 원말을 skim milk 배지에 첨가하여 배양하면서 배양시간에 따른 pH 변화는 Fig. 1에, 적정산도의 변화는 Fig. 2에 나타내었다. 단독균주의 경우, *S. thermophilus*는 배양 6시간에 대조구는 pH 6.50, 스피루리나 첨가구는 pH 5.77로 첨가구의 pH가 낮게 나타났고, 적정산도는 대조구 0.29%, 첨가구 0.62%로 대조구에 비해 첨가구가 유의적으로 높은 결과를 보였다. *L. bulgaricus*는 배양 9시간부터 스피루리나 첨가구와 대조구의 pH가 각각 5.95, 5.43이고, 적정산도는 0.32%, 0.95%로 *S. thermophilus*와 비슷한 경향을 보여 스피루리나가 유산균 발효 과정에서 산 생성을 촉진하는 것을 알 수 있었다. *L. acidophilus*는 배양 12시간 이후에 스피루리나 첨가에 의한 증식 효과가 나타나서 스피루리나 첨가구에서 유의적으로 pH가 감소하고 산도가 증가하

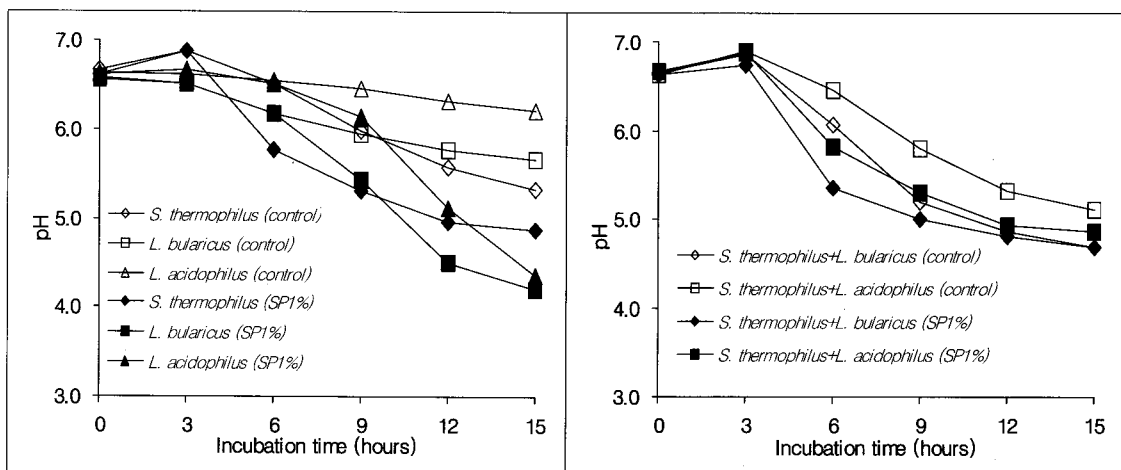


Fig. 1. Effect of spirulina on pH of single and mixed culture in reconstituted skim milk.

는 경향을 보였다. 혼합균주의 경우, *S. thermophilus* + *L. bulgaricus*는 첨가구의 pH는 배양 6시간에 대조구의 pH 6.07보다 매우 낮은 5.35를 보였고, 적정산도는 대조구 (0.44%)보다 높은 0.77%로 유의적 차이를 보여 혼합 균주 중에서 젖산의 생성 속도가 가장 빠른 것으로 나타났다. *S. thermophilus* + *L. acidophilus*는 배양 6시간 후 대조구와 첨가구의 pH가 각각 6.46, 5.81로 첨가구의 pH가 낮게 나타났고, 산도는 각각 0.31%, 0.54%로 나타났으나 *S. thermophilus* + *L. bulgaricus*복합균주보다는 젖산의 생성 속도가 빠르게 진행되지 않았다. 이것은 가루 녹차를 첨가시 유산균 단독균주보다 혼합균주로 배양하였을 경우 유산균주의 산 생성력이 향상되었다고 보고한 결과(Jung DW 등 2005)와 단독균주와 혼합균주 모두 유산균의 증식으로 인한 pH 저하와 적정산도 상승이 뚜렷하여 산 생성에 긍정적인 영향을 주었다고 보고한 결과(Go JK 등 2004)와 유사하였다. 또한 요구르트의 발효에 있어 혼합배양은 단독배양보다 균주간의 상호보완적

인 상승작용이 있어서 유산균의 성장 및 젖산의 생성 등을 증진시켜 배양시간을 단축시킬 뿐만 아니라 유용한 대사산물의 생성에도 유리하게 작용하기 때문에 요구르트의 품질 향상 효과가 있다고 하였다(이수원 등 2005). 본 실험 결과에서는 유산균을 단독 배양할 때보다 혼합 배양하는 경우에 젖산의 생성이 빠르게 진행되었는데, 특히, *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus*를 혼합 배양하는 경우에 두 젖산균간의 공생효과로 인하여 산 생성이 촉진되는 것으로 나타났다.

2) 유산균수

스피루리나가 *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* 등의 유산균수의 증식에 미치는 영향을 조사한 결과를 Table 2, Fig. 3, Fig. 4에 나타내었다. 단독균주의 경우, *S. thermophilus*는 배양 6시간 후 대조구 (1.5×10^7 CFU/mL)에 비하여 스피루리나 첨가구(2.2×10^7 CFU/mL)에서는 다소 빠른 유산균 성장을 보였으나 배

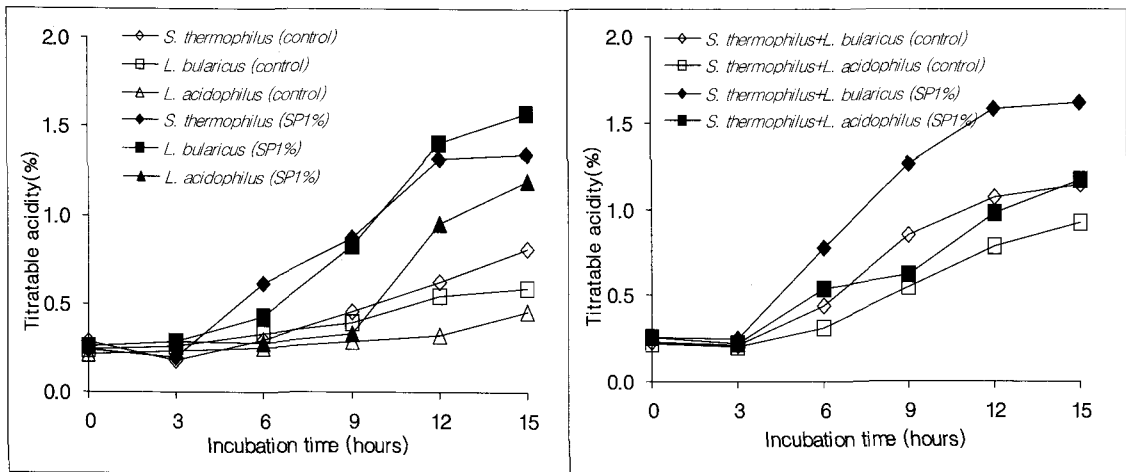


Fig. 2. Effect of spirulina on titratable acidity(%) of single and mixed culture in reconstituted skim milk.

Table 2. Changes in viable cell count (CFU/mL) of lactic acid bacteria in reconstituted skim milk with spirulina

Bacterium		Incubation time (hours)					
		0	3	6	9	12	15
<i>S. thermophilus</i>	Control	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
<i>L. bulgaricus</i>	Control	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	2.5×10^9
<i>L. acidophilus</i>	Control	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
<i>S. thermophilus</i> & <i>L. bulgaricus</i>	Control	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	1.7×10^9	2.3×10^9
<i>S. thermophilus</i> & <i>L. acidophilus</i>	Control	7.0×10^5	2.3×10^6	2.3×10^7	6.4×10^8	5.9×10^8	6.3×10^8
	SP 1%	8.0×10^5	2.0×10^6	5.5×10^7	5.4×10^8	1.0×10^9	1.2×10^9

양 9시간부터는 첨가구가 대조구와 유사한 성장 속도를 나타내었다. *L. bulgaricus*는 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 나타내었고, 배양 15시간까지도 대조구(8.9×10^8 CFU/mL)에 비해 첨가구(3.4×10^9 CFU/mL)의 균수가 높게 나타났다. *L. acidophilus*는 *S. thermophilus*와 유사한 증식 속도를 보였으며 배양 3시간까지는 대조구($1.2 \times 10^6 \sim 1.6 \times 10^5$ CFU/mL)와 첨가구($1.6 \times 10^6 \sim 2.0 \times 10^5$ CFU/mL) 모두 균수의 변화가 거의 나타나지 않았으나 배양 6시간부터 첨가구(4.2×10^7 CFU/mL)가 대조구(2.1×10^7 CFU/mL)에 비해 높게 나타났으나 최종 배양까지 대조구와 첨가구간의 뚜렷한 차이는 보이지 않았다. 혼합 균주의 경우, *S. thermophilus* + *L. bulgaricus*는 배양 3시간까지는 대조구($1.0 \times 10^6 \sim 4.0 \times 10^6$ CFU/mL)와 첨가구($1.0 \times 10^6 \sim 2.5 \times 10^6$ CFU/mL)의 균수 차이가 나타나지 않았으나 배양 6시간에 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 나타내었으며, 배양 15시간 유산균수가 대조구 9.0×10^8 CFU/mL, 첨가구 2.3×10^9 CFU/mL로 유산균주 중에서 가장 높은 균수를 보였다. 또한 *S. thermophilus* +

*L. acidophilus*는 배양 3시간까지 대조구와 스피루리나 첨가구의 차이가 나타나지 않았으며 배양 6시간부터 최종 배양까지 대조구($2.3 \times 10^7 \sim 6.3 \times 10^8$ CFU/mL)에 비해 첨가구($5.5 \times 10^7 \sim 1.2 \times 10^9$ CFU/mL)의 생균수가 비교적 높은 경향을 보여 증식 속도가 빠른 것으로 나타났다. 이것은 가루녹차의 첨가 농도를 달리하였을 때 혼합균주로 배양할 경우가 단독균주로 배양하였을 때보다 가루녹차에 의한 유산균의 증식이 촉진되었다는 연구(Jung DW 등 2005), 비파 착즙액을 요구르트에 첨가함으로써 유산균 배양시 대조구에 비하여 균의 증식이 촉진되었고 단독균주보다는 혼합균주로 첨가하는 것이 유산균 증식 속도를 빠르게 진행시킨다는 연구(Go JK 등 2004)와 유사한 결과를 보였다. Kim KH와 Ko YT (1993)은 우유와 쌀, 보리, 밀, 옥수수를 이용한 요구르트를 제조하여 3종류의 젖산균을 접종한 결과 *L. acidophilus*의 산 생성이 가장 우수하고 *L. casei*와 *L. bulgaricus*의 산 생성은 저조하였으며 이러한 경향은 대조구와 탈지분유 첨가구, 곡류 첨가구에서 모두 일치하였으며 각각의 유산균 사이에 유의차가 있었다고 보고하였다. 이상의 결과를 보면 스피루리나의 첨가에 의해 유산균 단독 또는 혼합 균주의 증식이 촉진되었으며, *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus* 혼합균주의 유산균 증식 효과가 가장 좋은 것을 알 수 있었다.

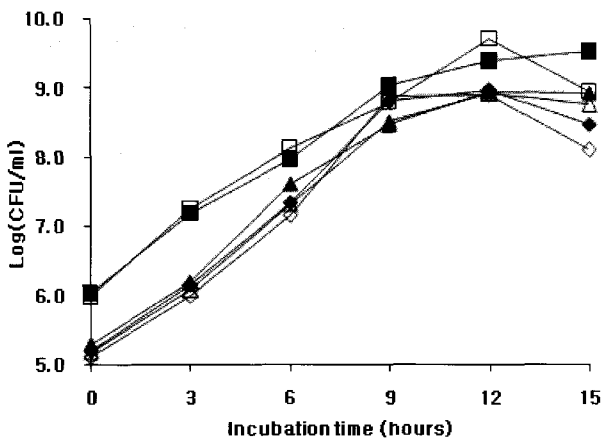


Fig. 3. Effect of spirulina on changes in viable cell count (Log CFU/mL) of lactic acid bacteria of single culture in reconstituted skim milk.

◇ : *S. thermophilus* (Control) ◆ : *S. thermophilus* (SP 1%)
 □ : *L. bulgaricus* (Control) ■ : *L. bulgaricus* (SP 1%)
 △ : *L. acidophilus* (Control) ▲ : *L. acidophilus* (SP 1%)

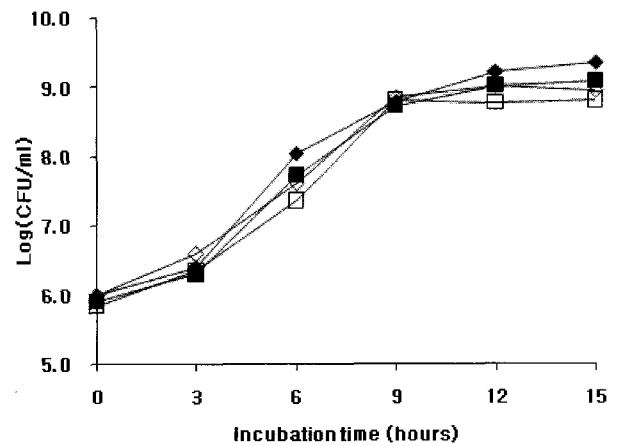


Fig. 4. Effect of spirulina on changes in viable cell count (Log CFU/mL) of lactic acid bacteria of mixed culture in reconstituted skim milk.

◇ : *S. thermophilus* + *L. bulgaricus* (Control)
 ◆ : *S. thermophilus* + *L. bulgaricus* (SP 1%)
 □ : *S. thermophilus* + *L. acidophilus* (Control)
 ■ : *S. thermophilus* + *L. acidophilus* (SP 1%)

2. 스피루리나 첨가량에 따른 요구르트의 발효 특성

1) pH 및 산도

스피루리나 원말을 각각 1%, 2%, 3% 첨가하여 *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus* 혼합균주를 접종하여 37°C에서 15시간 배양하면서 측정된 pH와 적정산도의 변화는 Fig. 5와 Fig. 6에 나타내었다. 배양 0시간에는 대조구와 스피루리나 1%, 2%, 3% 첨가구의 pH가 각각 6.31, 6.34, 6.44, 6.49로 대조구와 스피루리나 1%에서는 유의적 차이를 보이지 않았으나, 스피루리나 첨가구간에는 유의적으로 증가하는 것으로 나타났으며, 이는 스피루리나가 알칼리성 식품이기 때문에 배양 0시간에는 스피루리나 첨가 농도가 높아질수록 pH가 높게 나타난 것으로 사료된다. 배양 3시간까지는 pH가 서서히 감소하였다가 그 이후에는 급격히 떨어져 배양 6시간에는 pH가 대조구는 4.94 스피루리나 1%, 2%, 3% 첨가구는 각각 4.83, 4.90, 4.98로 스피루리나 첨가구간에는 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. 배양 6시간 이후에는 pH가 다시 서서히 감소하였으며, 대조구에 비해 스피루리나 첨가구의 pH가 더 큰 폭으로 감소하였다. 이는 스피루리나의 성분이 유산균의 성장을 촉진시키고(성낙웅 등 2002) pH변화가 유산균의 산생성을 잘 반영하여 스피루리나를 첨가함으로써 pH가 더 큰 폭으로 감소하는 것으로 사료된다. 또한 적정산도는 배양 6시간까지는 대조구와 스피루리나 첨가구 사이에 큰 차이를 보이지 않아 배양 6시간에는 모든 시료에서

유의적 차이를 보이지 않았다. 배양 9시간에 대조구와 0.65% 스피루리나 1%, 2%, 3% 첨가구의 적정산도가 각각 0.68, 0.74, 0.88%로 대조구와 첨가구 간에는 유의적 차이를 보이지 않았으나, 첨가구간에서는 첨가량이 증가할수록 산도가 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. 배양 15시간에도 스피루리나 1%, 2%, 3% 첨가구의 적정 산도가 0.95, 1.16, 1.18%로 첨가 농도가 높아질수록 적정산도가 유의적으로 증가하여 산 생성이 촉진되는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 오디추출물 1%, 5%, 10%(Suh HJ 등 2006), 가루녹차 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%(Jung DW 등 2005), 매실착즙액 1%, 3%(Lee EH 등 2002)의 첨가가 pH의 저하와 산생성에 영향을 주어 적정 산도를 높게 나타내었다는 보고와 일치하였다.

2) 유산균수

스피루리나 원말의 첨가 농도(0%, 1%, 2%, 3%)에 의한 *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus* 혼합균주의 유산균 증식에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 3과 Table 4 및 Fig. 7에 나타내었다. 배양 3시간에는 대조구(2.4×10^6 CFU/mL)보다 스피루리나 첨가구(3.2×10^6 , 3.5×10^6 , 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 보였

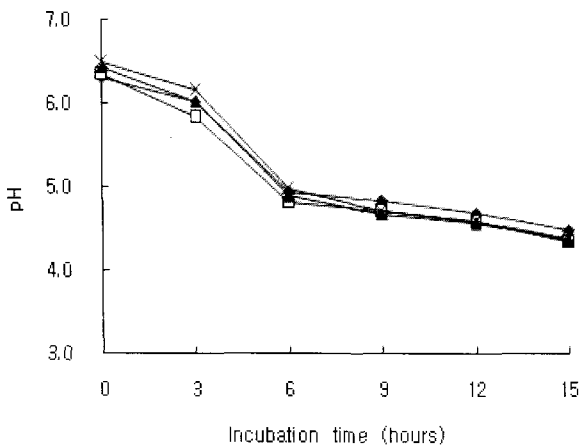


Fig. 5. Changes in pH of the yoghurt in reconstituted skim milk with spirulina.

(◆ : Control, □ : SP 1%, ▲ : SP 2%, × : SP 3%)

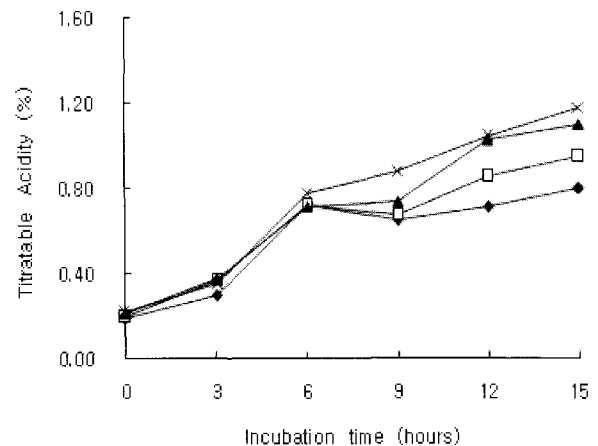


Fig. 6. Changes in titratable acidity (%) of the yoghurt in reconstituted skim milk with spirulina.

(◆ : Control, □ : SP 1%, ▲ : SP 2%, × : SP 3%)

으며, 3% 첨가구는 배양 15시간 후 1.3×10^9 CFU/mL로 최대 균수를 나타내면서 스피루리나의 첨가량이 증가할수록 유산균수가 높은 것으로 나타났다. 유산균수의 증식률을 대조구(0%)를 기준하여 백분율(%)로 환산하여 살펴보아도 배양 3시간에 대조구가 212%이나 스피루리나 첨가구가 각각 316, 355, 406%로 스피루리나의 첨가량이 증가할수록 유산균 증식이 높아졌다. 배양 12시간에는 스피루리나 1%와 2% 첨가구에서 증식률이 각각 83,017%, 194,705%로 최대 증식률을 나타냈으며, 3% 첨가구는 배양 15시간 후 168,731%로 최대 증식률을 보였다. 이러한 결과를 보면 스피루리나는 *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus* 혼합균주의 배양 초기에 유산균의 생육에 영향을 미쳐 생육을 촉진시켜 산 생성과 생균수를 증가시키는 것을 알 수 있었다. 이것은 유산균이 제한된 생합성 능력을 지니고 있어 아미노산, 비타민, purine,

pyrimicine 등의 복합 영양소를 필요로 하는데, 스피루리나 원말에는 양질의 단백질과 다양한 아미노산, 비타민 및 무기질이 함유되어 있어 스피루리나 첨가에 의해 유산균의 초기 생육이 촉진되었던 것으로 사료된다. 이처럼 스피루리나의 첨가량이 증가할수록 유산균수가 증가하는 결과는 MRS 배지 및 송화배지에 스피루리나 여액을 각각 첨가한 것이 6종(*L. bacillus*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. bulgaricus*, *Lactococcus lactis*, *S. salivarius*, *S. thermophilus*)의 유산균 모두의 성장을 의의있게 촉진 시켰다는 결과와 스피루리나의 균체 및 cell-free 배양여액을 화학적으로 분석하여 본 결과, 스피루리나가 질소를 소비하였고 exopolysaccharide 및 기타 성분을 분비하여 이들이 성장 촉진에 관여한 것으로 보였다는 연구와 동일한 경향을 나타냈다(성낙웅 등 2002).

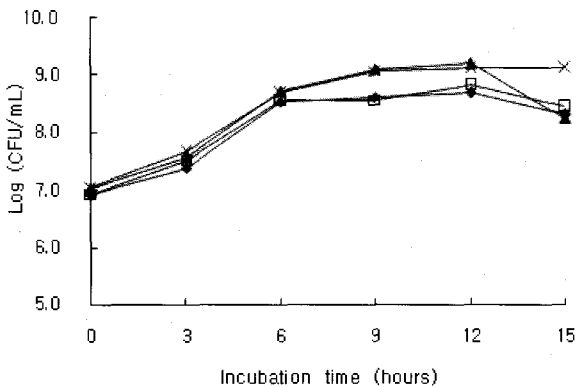


Fig. 7. Changes in viable cell counts (Log CFU/mL) of the yoghurt in reconstituted skim milk with spirulina. (◆ : Control, □ : SP 1%, ▲ : SP 2%, × : SP 3%)

IV. 요약 및 결론

1. 유산균주 종류에 따른 요구르트의 발효 특성

스피루리나에 적합한 유산균주의 종류 및 배양방법을 결정하기 위하여 멸균된 10%(w/v) skim milk 배지에 스피루리나를 1% 농도로 첨가한 후 계대 배양한 유산균주를 단독균주(*S. thermophilus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*) 또는 혼합균주(*S. thermophilus* + *L. acidophilus*, *S. thermophilus* + *L. bulgaricus*)로 접종하여 37°C에서 24시간 배양하면서 시간별(0, 3, 6, 9, 12, 15시간)로 pH, 적정산도 및 유산균수를 측정 한 결과는 다음과 같다. 단독균주의 경우, *S. thermophilus*와 *L. acidophilus*는 스피루리

Table 3. Changes in viable cell counts (CFU/mL) of the yoghurt in reconstituted skim milk with spirulina

	Incubation time (hours)					
	0	3	6	9	12	15
Control	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

Table 4. Changes of increasing rate in viable cell counts of lactic acid bacteria based on control (%)

	Incubation time (hours)					
	0	3	6	9	12	15
Control	0	212	4,445	53,147	60,939	25,874
SP 1%	0	316	8,082	46,653	83,017	34,965
SP 2%	43	355	14,186	155,744	194,705	21,978
SP 3%	56	406	11,588	155,744	51,848	168,731

나 첨가에 의해 증식 효과가 미비하게 나타났으나 *L. bulgaricus*는 배양 9시간부터 스피루리나 첨가구에서 대조구에 비해 높은 생균수를 보이고 급격하게 적정산도가 증가하여 생육 촉진 효과가 있는 것으로 나타났다. 혼합균주의 경우, *S. thermophilus* + *L. bulgaricus*는 스피루리나 0% 첨가시 배양 12시간 후 1.0×10^9 CFU/mL, 1% 첨가시 배양 15시간 후 2.3×10^9 CFU/mL, 또한 *S. thermophilus* + *L. acidophilus*는 스피루리나 0%, 1% 첨가시 배양 15시간 후 6.3×10^8 CFU/mL, 1.2×10^9 CFU/mL로 최대 균수를 나타내었으며, pH 저하와 적정산도 상승이 뚜렷하게 나타났다. 따라서 스피루리나 첨가 기능성 요구르트 개발에 있어 단독균주보다 혼합균주가 유산균 증식에 효과적이며 특히 *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus*를 혼합한 균주가 효과적인 것으로 보여진다.

2. 스피루리나 첨가량에 따른 요구르트의 발효 특성

스피루리나 원말을 각각 1%, 2%, 3% 첨가하여 *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus* 혼합균주를 접종하여 37°C에서 15시간 배양하면서 pH, 적정산도 및 유산균수를 측정 한 결과는 다음과 같다. pH는 대조구에 비해 스피루리나 첨가구가 낮게 나타났으며 스피루리나 첨가 농도에 따른 유의적인 차이는 보였고, 적정산도는 배양 시간이 경과함에 따라 스피루리나 첨가 농도가 높아질수록 높아졌다. 또한 대조구에 비해 스피루리나 첨가구가 균수 증식을 빠르게 나타내었으나 12시간 배양 후에는 유산균주의 증식이 활발히 일어나지 않았으므로 발효 시간은 12시간 전후가 적당한 것으로 사료된다. 이는 스피루리나를 Zarrouk 배지에 배양하여 수확한 후 여과하여 이 여액을 MRS배지와 송화배지에 각각 가하였을 때 유산균의 성장을 촉진시켰다는 보고(Jose L 등 1998)에서처럼 스피루리나의 첨가량이 증가할수록 유산균 증식에 효과적이라는 것을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 BK21 사업의 일환으로 교육인적자원부와 (주)이에스바이오텍의 지원에 의해 수행된 것이므로 이에 감사를 표합니다.

참고문헌

- 성낙응, 한병훈, 김병각, 이상인, 김영민, 김화영, 사이끼 이꾸오, 로버트 헨릭스. 2002. WHO·FAO·UNIDO·UNICEF가 인정한 완전식품 스피루리나. 한가람 문화사. 서울. pp 236-241
- 이수원, 김거유, 남명수, 배인휴, 오세종, 하월규. 2005. 최신유가공학. 유한문화사. 서울. p 198
- Ahn BY, Kim DH, Choi DS. 2004. The effects of freeze-dried potato flour addition on the fermentation characteristics of yogurt. Korean J Food & Nutr 17(4): 374-381
- AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Association of official analytical chemists. Inc. Virginia pp 918
- Bae HC, Cho IS, Nam MS. 2004. Fermentation properties and functionality of yogurt added with Lycium chinense miller. J Anim Sci & Technol 46(4): 687-700
- Bang BH, Park HH. 2000. Preparation of yogurt added with green tea and mugwort tea and quality characteristics. J Korean Soc Food Sci & Nutr 29(5): 854-859
- Cho H, Yang YH, Lee KJ, Cho YS, Chun HK, Song KB, Kim MR. 2005. Quality characteristics of low fat salad dressing with spirulina during storage. Korean J Food Preserv 12(4): 329-335
- Chung IK, Kim HS, Kang KT, Choi JD, Heu MS, Kim JS. 2006. Preparation and characterization of enzymatic oyster hydrolysates-added yogurt. J Korean Soc Food Sci Nutr 35(7): 926-934
- de Cair GZ, Parada JL, Zaccaro MC, de Cano MMS. 2000. Effect of Spirulina platensis biomass on the growth of lactic acid bacteria in milk. World J Microbiol & Biotechnol 16(6): 563-565
- Go JK, Nam ES, Park SI. 2004. Effect of loquat(eriobotrya japonica lindley) extract on acid production and growth of lactic culture. Korean J Food Sci Ani Resour 24(4): 416-423
- Jeong EJ, Bang BH. 2003. The effect on the quality of yogurt added water extracted from sea tangle. Korean J Food & Nutr 16(1): 66-71
- Parada JL, de Caire GZ, Zaccaro MC, de Cano MMS. 1998. Lactic acid bacteria growth promoters from Spirulina platensis. Intl J Food Microbiol 45(3): 225-228
- Jung DW, Nam ES, Park SI. 2005. Effect of green tea powder on growth of lactic culture. Korean J Food & Nutr 18(4): 325-333
- Kim KH, Ko YT. 1993. Study on preparation of yogurt from milk and cereals. Korean J Food Sci Technol 25(2): 130-135
- Kim WY, Park JY. 2003. The effect of spirulina on lipid metabolism, antioxidant capacity and immune function in Korean elderlies. J East Asian Soc Dietary Life 36(3): 287-297
- Lee EH, Nam ES, Park SI. 2002. Characteristics of curd yogurt

- from milk added with maesil(*Prunus mume*) Korean J Food Sci Technol 34(3): 419-424
- Lee IS, Paek KY. 2003. Preparation and quality characteristics of yogurt added with cultured ginseng. Korean J Food Sci Technol 35(2): 235-241
- Robinson LM, Whipp SC, Bucklin JA, Allison MT. 1984. Characterization of predominant bacteria from the colons of normal and dysenteric pigs. Appl Environ Microbiol 48(5): 964-969
- Savaiano DA, Abou A, Anouar A, Smith DZ, Levitt MD. 1984. Lactose malabsorption from yogurt, pasteurized yogurt, sweet acidophilus milk, and cultured milk in lactase- deficient individuals. Am J Clin Nutr 40(6): 1219-1223
- Shin YS, Sung HJ, Kim DH, Lee KS. 1994. Preparation of yogurt added with potato and its characteristics. Korean J Food Sci Technol 26(3): 266-271
- So MH. 1985. Identification and tolerance-test to digestive fluids of Lactobacilli isolated from korean liquid yogurts. Korean J Food Sci Technol 17(3): 192-196
- Suh HJ, Kim YS, Kim JM, Lee H. 2006. Effect of mulberry extract on the growth of yogurt starter cultures. Korean J Food Sci Ani Resour 26(1): 144-147
- Sung YM, Cho JR, Oh NS, Kim DC, In MJ. 2005. Preparation and quality characteristics of curd yogurt added with chlorella. J Korean Soc Appl Biol Chem 48(1): 60-64
-
- (2007년 12월 14일 접수, 2007년 12월 24일 채택)