

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl.⁷
A23C 9/12

(45) 공고일자 2005년04월14일
(11) 등록번호 10-0482309
(24) 등록일자 2005년03월31일

(21) 출원번호 10-2002-0062436
(22) 출원일자 2002년10월14일

(65) 공개번호 10-2004-0033373
(43) 공개일자 2004년04월28일

(73) 특허권자 학교법인 계명기독교학원
 대구광역시 중구 동산동 575-3

 이인선
 대구광역시 달서구 도원동 1443번지 강산타운 409동 1002호

(72) 발명자 이항우
 대구광역시 서구 내당1동 214-10

 김현정
 대구광역시북구산격3동1367-1호

 박정현
 경상남도진주시상봉서동상봉한주아파트1동1605호

 이승욱
 대구광역시달성군다사읍죽곡리강창하이츠202동1405호

 황보미향
 대구광역시 동구 검사동 907-7

 이지원
 대구광역시달서구본동610-5

 유미희
 대구광역시달서구용산동평화타운301동701호

 배준태
 대구광역시수성구수성1가우방오성아파트105동1802호

 이인선
 대구광역시달서구도원동1443강산타운409동1002호

(74) 대리인 이덕록

심사관 : 구분경

(54) 삼백초를 함유한 요구르트의 제조방법

요약

본 발명은 삼백초 추출물을 함유하는 요구르트의 제조방법에 관한 것으로서 건조상태의 삼백초잎 1중량부에 10중량부의 물과 혼합하여 환류추출하고 상기 추출액을 여과하여 농축한 후 동결건조하여 분말화시킨 삼백초추출물 0.2 내지 1.0 중량%를 우유고형분의 함량이 13 내지 13.8 중량% 함유된 우유배지에 첨가하여 제조하는 요구르트의 제조방법에 관한 것이다.

색인어

삼백초 추출물, 요구르트, 삼백초잎, 환류추출, 동결건조, 분말화

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 삼백초 추출물을 함유하는 요구르트의 제조방법에 관한 것이다. 더욱 상세하게는 본 발명은 건조상태의 삼백초잎 1중량부에 10중량부의 물과 혼합하여 환류추출하고 상기 추출액을 여과하여 농축한 후 동결건조하여 분말화시킨 삼백초추출물 0.2 내지 1.0 중량%를 우유고형분의 함량이 13 내지 13.8 중량% 함유된 우유배지에 첨가하여 제조하는 요구르트의 제조방법에 관한 것이다.

요구르트는 전유 또는 탈지유를 젖산균으로 발효시켜 산미와 향미를 강화시킨 것으로 주원료인 우유의 영양 성분 이외에 젖산균의 작용으로 생성된 젖산, 펩톤, 펩티드 등과 유산균이 함유되어 있어서 영양학적으로 우유보다 우수한 식품이다. 요구르트의 식품영양학적 효과로는 발효유의 원료인 유성분의 효과, 젖산균의 작용에 의해 생성된 유효물질의 효과, 그리고 젖산균의 장내증식에 의한 정상작용 등이 있으며[참조; Hood, S.K. and Zottola, E.A.: Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells. *J. Food Sci.*, **55**, 506-511 (1988)], 특히 젖산균의 장내증식의 효과로는 혈중 콜레스테롤의 감소, 장내 유해세균의 생육억제, 유당 소화흡수의 촉진 및 대장암 발생율의 저하 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다[참조; So, M.H.: Identification and tolerance-test to digestive fluids of *Lactobacilli* isolated from Korean liquid yogurts. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **17**, 192-196 (1985) 및 Savaiano, D.A., Abou, A., Anouar, A., Smith, D.Z. and Levitt, M.D.: Lactose mal- absorption from yogurt, pasteurized yogurt, sweet acidophilus milla, and cultured milk in lactose-deficient individuals. *Am J. Clin. Nutr.*, **40**, 1219-1225 (1984)].

젖산균은 인간이 이용할 수 있는 가장 유익한 미생물로서 우리나라의 전통 식품인 김치, 젓갈류, 각종 절임 식품에 있어서도 중요한 역할을 하고 있다. 특히 요구르트는 젖산균 발효에 의한 건강 식품으로서 관심을 갖게 되었고 세계적으로 그 수요가 크게 증가하고 있으며, 국내에서도 수년 전부터 우유고형분 함량과 유산균수가 많은 호상 요구르트의 수요가 계속 증가하고 있는 실정이다. 호상 요구르트는 겔상의 부드러운 조직과 유청 분리를 막기 위하여 우유고형분 함량을 14-18%로 권장하고 있으며, 국내 유가공 업체에서는 주로 3-4% 정도의 탈지분유를 첨가하여 우유고형분 함량을 높이고 있다. 한편, 우유에 발효 기질의 일부로 우유고형분 이외의 성분 즉, 고구마와 호박[참조; Lee, K.S., Kim, D.H. and Shin, Y.S.: Studies on the preparation of yogurt from milk and sweet potato or pumpkin. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **25**, 666-671 (1993)], 쌀[참조; Hong, O.S. and Ko, Y.T.: Study on preparation of yogurt from milk and rice. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **23**, 587-592 (1991)], 현미와 두유[참조; Jeoun, K.S., Kim, Y.J. and Park, S.I.: Preparation and characteristics of yogurt from milk added with soy milk and brown rice. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, 47-55 (1995)], 감자[참조; Shin, Y.S., Sung, H.J., Kim, D.H. and Lee, K.S.: Preparation of yogurt added with potato and its characteristics. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**, 266-277 (1994)], 과즙[참조; Ko, Y.T. and Kang, J.H.: The preparation of fermented milk from milk and fruit juices. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 1241-1247 (1997)], 난백분말[참조; Ko, Y.T.: The Effects of Egg White Powder Addition on Acid Production by Lactic Acid Bacteria and Quality of Curd Yogurt. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, 458-463 (1995)] 및 썩[참조; Kim, J.I. and Park, S.I.: The effect of mugwort extract on the characteristics of curd yogurt. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **14**, 352-357 (1999)] 등을 첨가한 새로운 발효유제품의 개발에 관한 많은 연구들이 이루어지고 있다.

삼백초(*Saururus Chinensis* (Lour.) Bail)는 삼백초과에 속하며 천성초(天性草) 또는 즈채라 불리는 다년생 초본이다. 삼백초의 전초는 각기(脚氣), 황달(黃疸), 임탁(淋濁), 대하(貸下), 옹종(癰腫), 수종(水腫), 적취(積聚) 등을 치료하고[참조; 曹圭亭: 三白草 健康法. 서진각, 自然藥植資源開發 시리즈, **3** (1990) 및 鄭必根: 生藥草. 鴻新文化社, **173** (1990)], 또한 급 만성 요도염, 전립선염, 방광염, 임질, 이질을 치료하는 효과가 있으며 과중한 노동으로 인한 피로, 타박상으로 인한 후유증과 근육통, 골격 및 골수의 염증에 의한 통증을 치료하는 효과가 있다고 알려져 있다[참조; 曹圭亭: 三白草 健康法. 서진각, 自然藥植資源開發 시리즈, **3** (1990) 및 傳統醫學研究所編 本草藥材圖鑑, 成輔社發行, **209** (1994)]. 삼백초에 관한 연구로는 지방산 및 아미노산의 성분연구[참조; 정덕상: *Saururus Chinensis*의 지방산 및 아미노산의 성분 연구. *Cheju Univ. Jour. (Natural Sci.)*, **35**, 111 (1992)], 황색포도상구균 및 장티푸스균의 성장을 억제한다는 보고가 있으며[참조; 黃泰康: 常用中藥成分與藥理手冊. 中國醫藥科技出版社, 北京, **177** (1994)], 복강 대식세포로부터 nitric oxide 유리기전에 관한 연구[참조; 전길환, 신민교, 송호준: 三白草 腹腔 大食細胞로부터 Nitric Oxide(NO) 遊離機轉에 대한 研究. 대한한의학회지, **19-23** (1998)], 항돌연변이원성에 관한 연구[참조; 이상호, 박철우, 박경아, 이영준, 김무남, 하영래: 삼백초 Hexane 분획물의 Hetero- cyclic amine 돌연변이성 조정효과. 한국환경성돌연변이발암원학회지, **18**, 26 (1998)]와 항암 및 항산화 효과[참조; Lee, I.S.: Effect of water extract from *Saururus Chinensis* (Lour.) Bail water extracts on the cancer cells and antioxidative activity in cytotoxicity. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.*, **8**, 231-216 (2001)] 등이 있다. 이처럼 삼백초는 이뇨, 항균, 해독 등의 다양한 건강 증진효과가 있는 것으로 보고되고 있다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명은 삼백초의 다양한 기능적 가치를 부여한 신기능성 요구르트 개발을 위하여 삼백초 열수추출물을 각 농도별로 첨가하여 요구르트를 제조하고, 삼백초 첨가가 젖산균의 생육과 요구르트의 관능성 및 저장성에 미치는 영향을 조사하였다.

발명의 구성 및 작용

본 발명은 삼백초추출물을 함유하는 요구르트의 제조방법에 관한 것이다. 본 발명은 우유고형분의 함량이 13 내지 13.8 중량% 함유된 우유배지에 삼백초추출물 0.2 내지 1.0 중량%를 첨가하여 삼백초추출물 함유 요구르트를 제조하는 방법에 관한 것이다. 본 발명에서 삼백초추출물은 건조상태의 삼백초잎 1중량부에 10중량부의 물과 혼합하여 환류추출하고 상기 추출액을 여과하여 농축한 후 동결건조하여 분말화시킨 것이다.

본 발명은 건조상태의 삼백초잎 1중량부에 10중량부의 물과 혼합하여 환류추출하고 상기 추출액을 여과하여 농축한 후 동결건조하여 분말화시킨 삼백초추출물 0.2 내지 1.0 중량%를 우유고형분의 함량이 13 내지 13.8 중량% 함유된 우유배지에 첨가하여 제조하는 요구르트의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명은 고형분의 함량이 13 내지 13.8 중량%인 우유배지에 삼백초추출물 0.2 내지 1.0 중량%를 첨가하여 총고형분 함량을 14 중량%로 조절하고 균질화 시킨 후 가압 멸균하여 멸균된 기질을 방냉한 후 락토바실러스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*)와 스트렙토코커스 더모필러스(*Streptococcus thermophilus*)를 1:1(v/v)로 혼합하여 접종하고(4%, V/V) 요구르트를 발효시키는 것이다.

본 발명에서 발효유의 기질로는 서울우유협동조합 생산품인 전지 및 탈지 분유를 사용하였고, 삼백초는 충북 영동 삼백초 재배단지에서 2000년도에 수확하여 건조한 잎을 구입하여 사용하였다.

본 발명의 요구르트 제조에 있어서 삼백초추출물은 건조상태의 삼백초잎을 10배의 물과 혼합(W/V)하여 95℃에서 4시간씩 3회 환류 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman No. 1, England)를 사용하여 2회 여과하고 로터리 회전기(rotary evaporator) (Yamato RE47, Japan)로 농축한 후 동결건조를 통해 분말화하여 사용하였다.

본 발명의 요구르트 제조에 있어서 사용균주는 락토바실러스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*)와 스트렙토코커스 더모필러스(*Streptococcus thermophilus*)를 1:1(v/v)로 혼합한 것을 Latobacilli MRS broth(Difco, USA)에 2%로 접종(V/V)하고 37℃에서 24시간 동안 3회 계대 배양하여 요구르트 제조시 스타터(starter)로 사용하였다.

실시예 1 : 요구르트의 제조

발효기질로서 전지분유, 탈지분유 및 삼백초추출물을 하기 표1과 같은 비율로 첨가하여 총 고형분 함량을 14 중량%로 조절하고 Homogenizer(Nihonseiki Kaisha Ltd., Japan)로 2분간 균질화 시킨 후 110℃에서 20분간 가압 멸균하여 멸균된 기질을 37℃로 방냉한 후 락토바실러스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*)와 스트렙토코커스 더모필러스(*Streptococcus thermophilus*)를 1:1(v/v)로 혼합하여 접종하고(4%, V/V) 37℃에서 요구르트를 발효시켰다.

표 1. 젖산발효용 요구르트 베이스 조성성분비율

(Unit : 중량%)

그룹	Whole milk	Skim Milk	SCe ¹⁾
대조구	10.0	4.0	-
0.2	10.0	3.8	0.2
0.4	10.0	3.6	0.4
0.6	10.0	3.4	0.6
0.8	10.0	3.2	0.8
1.0	10.0	3.0	1.0

¹⁾ Water extract of *Saururus chinensis* (Lour.) Bail

실험예 1 : 삼백초 첨가에 따른 발효중 pH 및 적정산도의 변화

요구르트의 발효 중 경시적인 젖산균의 산 생성을 조사하기 위해 각 시간별로 시료 1 ml를 취하여 10배 희석한 후 0.1N NaOH로 pH 8.35까지 적정하고 젖산으로 환산하였으며, pH는 pH meter(691 pH meter, Metrohm, Swiss)를 이용하여 측정하였다.

삼백초 열수추출물을 각각의 우유 배지에 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 중량%(W/V)의 농도로 첨가하고 *Lac. bulgaricus*와 *Str. thermophilus*를 1:1(v/v)로 혼합한 것을 접종하여 37℃에서 24시간 동안 배양하면서 6시간 단위로 pH와 적정 산도의 변화를 측정하였다. pH는 발효 12시간 동안 모든 구간에서 급격히 감소하였으나 그 이후는 서서히 감소하였다. 삼백초 첨가량에 비례하여 더 낮은 pH를 보였으며, 삼백초 1.0 중량% 첨가군이 발효 24시간 후 3.60의 가장 낮은 pH를 보였다(표3 참조). 문헌[참조; Korger, M. and Weaver, J.C.: Confusion about yogurt compositional and otherwise. *J. Milk. Food Technol.*, **36**, 388-394 (1973) 및 Chameber, J. V.: Culture and processing techniques important to the

manufacture of good quality yogurt. *Cult. Dairy. Prod. J.*, **14**, 28-34 (1979)]에는 요구르트의 바람직한 pH의 범위를 pH 3.27~4.53라고 하였는데, 본 발명의 결과와 대체적으로 잘 일치하는 경향을 나타냈다. 삼백초 첨가에 따른 적정산도의 증가경향은 pH의 변화와 유사하게 24시간 동안은 꾸준히 증가하였으며, 삼백초 첨가량에 비례하여 높은 산도 값을 보였다. 발효 24시간 후 대조군과 삼백초 1.0 중량% 첨가군의 적정산도는 각각 1.04와 1.38이었다(표4 참조). 보통 마일드(Mild) 요구르트와 산 요구르트의 적정산도 범위를 각각 0.6~0.9 중량%와 1.0~1.3 중량%로 나타내는데 본 발명에서는 대조군을 비롯한 삼백초 0.6 중량% 첨가군까지는 산요구르트의 범위에 속하였으나 나머지 실험군들은 산 요구르트보다 더 높은 산도 값을 보였다.

표 3. 37°C에서 젖산발효 중 요구르트 pH에서 균주[*Saururus chinensis* (Lour.) Bail] 추출물의 효과

그룹	Incubation time (hr)				
	0	6	12	18	24
C	6.01	5.25	4.48	4.10	3.97
0.2	6.05	5.15	4.32	3.89	3.77
0.4	6.01	5.11	4.26	3.82	3.72
0.6	6.00	5.04	4.19	3.80	3.67
0.8	5.98	5.02	4.17	3.77	3.67
1.0	5.97	5.02	4.12	3.69	3.6

표 4. 37°C에서 젖산발효 중 요구르트의 적정산도(5)에서 균주[*Saururus chinensis* (Lour.) Bail] 추출물의 효과

그룹	Incubation time (hr)				
	0	6	12	18	24
C	0.23	0.41	0.76	0.86	1.04
0.2	0.23	0.44	0.86	0.86	1.2
0.4	0.23	0.45	0.89	1.06	1.27
0.6	0.23	0.49	0.96	0.99	1.25
0.8	0.25	0.47	0.79	1.13	1.42
1.0	0.25	0.50	0.85	1.17	1.38

실험예 2 : 삼백초 첨가에 따른 발효중 변화생균수의 측정

각 시간별로 시료를 무균적으로 취한 후 10배 희석법으로 희석하고 배지[*Latobacilli* MRS broth(DIFCO Co, USA) agar 배지]에 도말한 후 37°C에서 72시간 배양하여 나타난 클로니 수를 측정 비교하였다.

발효시간에 따른 요구르트의 생균수 변화를 측정한 결과는 표5와 같이 모든 실험군에서 생균수가 24시간 동안 계속해서 증가함을 볼 수 있다. 접종 후 18시간까지는 모든 군의 생균수가 미미하게 증가하였지만, 그 이후부터는 급격한 증가하여 24시간 발효후 모든 군에서 5.6×10^8 CFU/ml 이상의 생균수를 보였다. 발효 12시간까지의 생균수는 대조군, 첨가군 모두 크게 차이가 나지 않았으나 24시간동안 발효 후에는 0.6 중량% 이상의 삼백초 첨가군들에서 대조군과 큰 차이를 보였다. 이런 결과들은 고구마[참조; Lee, K.S., Kim, D.H. and Shin, Y.S : Studies on the preparation of yogurt from milk and sweet potato or pumpkin. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **25**, 666-671 (1993)]와 쌀첨가[참조; Hong, O.S. and Ko, Y.T. : Study on preparation of yogurt from milk and rice. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **23**, 587-592 (1991)] 등이 젖산균 생육을 촉진한다는 공지논문들의 결과와 같은 경향으로 삼백초가 발효 중 유산균의 생육을 저해하지 않고 촉진시키는 것을 알 수 있다. 요구르트의 성분 규격에 의하면 신선한 액상 및 호상 요구르트의 젖산균 수를 각각 10^7 , 10^8 CFU/ml 이상으로 규정하고 있는데 본 실험의 결과 그 이상의 생균수를 보였으며, 대조군 뿐만 아니라 삼백초를 첨가한 모든 시료가 성분 규격에 적합하였다.

표 5. 37°C에서 젖산발효 중 요구르트의 생균수에서 균주[*Saururus chinensis* (Lour.) Bail] 추출물의 효과

(Unit : 10^7 CFU/ml)

그룹	Incubation time (hr)				
	0	6	12	18	24
C	1	11	14	21	56
0.2	1	15	19	25	60
0.4	1	17	25	33	72
0.6	1	20	21	30	88
0.8	1	19	21	34	86
1.0	1	20	23	38	97

실험에 3 : 삼백초 첨가에 따른 발효중 점도의 변화

발효중의 요구르트를 시간별로 취한 후 4℃에서 24시간 보관한 후 9~10℃ 조건하에서 점도계(Brookfield viscometer) (MODEL LVT DV-1, Brookfield Engineering Lab. Inc., U.S.A)의 3번 스피들(spindle)을 이용하여 12 rpm에서 1분 후의 점도를 측정하였다.

요구르트는 점도에 의해서 기호도가 크게 영향을 받고 있어 발효과정 중 각 시간별로 점도의 변화를 측정하였으며, 그 결과를 표6에 나타나 있다. 발효 6시간까지는 점도의 증가폭이 아주 미미하였고 실험군들 간의 차이가 미미하였으나, 그 이후 12시간까지 점도는 급격히 증가하였다. 삼백초 첨가군들이 대조군에 비해 높은 점도를 보였으며 삼백초 첨가량에 비례하여 점도 값도 증가하였다. 점도는 발효 12시간 이 후에도 조금씩 증가하여 24시간 후 대조군과 1.0 중량% 삼백초 첨가군의 점도가 각각 1650과 1930 centipoise (g/100 cm · s)를 나타냈으며, 이는 산 생성량과 같은 경향을 보였다. 문헌[참조; Rasic, J.L. and Kurmann, J.A. : Yogurt, Technical Dairy Publishing, House, Copen- hagen (1978)]은 요구르트의 점도에 미치는 요인을 요구르트 혼합액의 총고형분과 단백질 함량 및 사용균주의 단백질 분해력 등을 제시하고 있는데 본 발명에서는 삼백초에 존재하는 여러가지 무기질과 비타민 등의 생육 필수인자들의 첨가가 젖산균의 생육을 촉진하여 산생성량을 증가시키고 이로 인한 pH 저하 등의 여러 복합적인 환경변화로 대조군에 비해 높은 점도값을 보인다. 또한, 이 결과는 문헌[참조; Kim, J.W. and Lee, J.Y.: Preparation and characteristics of yoghurt from milk added with Box Thorn(*Licium Chinensis Miller*). *Korean J. Dairy Sci.*, **19**, 189-200 (1997) 및 Shin, Y.S., Lee, J.S., Lee, K.S. and Lee, C.H.: Preparation of yogurt added with aloe vera and its quality characteristics. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **24**, 254-260]에서 첨가가 요구르트의 점도를 상승 시켰다는 보고와도 같은 경향이다.

표 6. 37℃에서 젖산발효 중 요구르트의 점도에서 균주[*Saururus chinensis* (Lour.) Bail] 추출물의 효과

(Unit : cps)

그룹	Incubation time (hr)				
	0	6	12	18	24
C	130	180	1310	1570	1650
0.2	130	190	1310	1730	1800
0.4	140	180	1420	1790	1860
0.6	140	190	1530	1790	1900
0.8	140	190	1550	1820	1910
1.0	140	190	1580	1880	1930

실험에 4 : 유기산 분석

시료를 적당량 취하여 탈이온수(deionized water)로 5배 희석한 후 1분간 흔들어 주고 4℃, 12,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상등액을 Sep-Pak C18 cartridge(Watrs Co.)에 통과시킨 후 0.45 μm 막여과지(membrane filter)로 여과하여 HPLC 분석용 시료로 사용하였다. 표준 유기산으로는 옥살산, 주석산, 젖산, 아세트산과 구연산을 사용하였으며, HPLC 분석조건은 하기 표2와 같다.

유제품에서 유기산은 그 속에 존재하는 유지방의 가수분해, 소의 생화학적 대사 과정 및 미생물 즉 유산균의 대사 산물로부터 생성되며, 요구르트에 있어서도 이들 유기산은 향기와 영양적 측면 이외에도 젖산균 생육활성의 지표로서 아주 중요하다. 따라서, 본 발명에서는 삼백초 열수추출물이 요구르트에 존재하는 유기산 함량에 미치는 영향을 조사하기 위해 몇가지 유기산을 HPLC로 분석하였으며, 그 결과는 표7과 같다. 옥살산과 타르타르산의 함량은 모든 실험군에서 크게 차이가 없었으며 발효 후에는 모두 미미한 감소를 보였다. 젖산은 삼백초에 본래 존재하는 젖산의 영향을 받아 발효 전에 1.0 중량% 삼백초 첨가군이 대조군에 비해 약 500 μg/g 정도 높은 젖산함량을 보였으나, 발효 후에는 표4의 정적정산도의 경향과 유사하게 삼백초 첨가량이 증가할수록 그 함량이 크게 증가하여 전반적으로 기호도가 가장 우수했던 0.4 % 삼백초 첨가 요구르트의 젖산 함량이 16150 μg/g으로 대조군에 비해 4700 μg/g의 높은 함량을 보였다. Plain 요구르트의 젖산 함량이 8760 μg/g이라고 한 문헌[참조; Fernandez-Garcia, E., and McGregor, J. U.: Determination of organic acids during the fermentation and cold storage of yogurt. *J. Dairy Sci.*, **77**, 2934-2939 (1994)]의 보고보다는 다소 높은 함량이었지만, 14550 μg/g이었다는 문헌[참조; 26. Marsili, R. T., Ostapenko, H., Simmons, R. E., and Green, D. E. : High performance liquid chromatographic determination of organic acids in dairy products. *J. Food. Sci.* **46**, 52-57 (1981)]의 연구와는 비슷한 경향을 보였다. 발효 전에 전구간에 걸쳐 미량 존재하던 아세트산은 발효 후에 대부분의 실험군에서 검출되지 않거나 감소한 것으로 나타났다. 구연산의 함량은 전구간에 걸쳐 크게 차이를 보이지 않았으며 발효 후 대체로 미미한 감소를 보였다.

표 2. HPLC 분석 작업조건

Instrument: Waters 2690 system (U.S.A)
Column: μBondapak C18 (300 mm × 3.9 mm)
Detector: Waters 2487 UV detector (210 nm)
Mobile phase: 10 mM KH ₂ PO ₄ (pH 2.32 with H ₃ PO ₄)
Flow rate: 0.6 μl/min

Injection vol.: 10 μ l
Column temp.: 20 $^{\circ}$ C
Sample temp.: 20 $^{\circ}$ C

표 7. 37 $^{\circ}$ C에서 24시간동안 젖산발효 전후 균주[*Saururus chinensis* (Lour.) Bail] 추출물을 첨가한 요구르트의 유기산 조성

(Unit : μ g/g)

Groups	Oxalic acid	Tartaric acid	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid
	Before After	Before After	Before After	Before After	Before After
C	300 250	850 650	1600 11450	800 ND	2150 2400
0.2	400 250	900 700	1650 13850	800 ND	2200 2250
0.4	400 300	900 750	1800 16150	850 ND	2350 1800
0.6	450 350	900 700	1900 14400	950 600	2250 1800
0.8	500 400	900 750	2000 14300	950 700	2300 1800
1.0	650 450	950 750	2100 17550	1100 ND	2400 2100

실험에 5 : 삼백초 첨가 요구르트의 관능검사

발효가 완료된 요구르트에 10 중량%(W/V) 설탕을 첨가하고 호모나이저(Homogenizer) (Nihonseiki Kaisha Ltd., Japan) 로 2분간 균질화한 다음 4 $^{\circ}$ C의 냉장고에서 24시간 동안 보관한 후 계명대학교 식품가공학 전공 학생 20명을 검사원으로 하여 색(color), 향미(flavor), 맛(taste), 조직감(mouthfeel), 뒷맛(aftertaste) 및 전체적인 기호도(overall acceptability)에 대하여 각 항목별로 최저 1점, 최고 5점의 5단계 평가하였으며, 실험결과는 SAS 프로그램을 이용하여 분산 분석한 후 유의차가 있는 항목에 대해서는 테스트(Duncan's multiple range test)로 시료간의 유의차를 검정하였다.

삼백초를 첨가하여 발효시킨 요구르트의 색, 향기, 맛, 조직감, 후미 및 전체적인 기호도를 관능검사한 결과는 표8과 같았다. 색에서는 0.6 중량% 이상의 삼백초를 첨가한 요구르트 시료들이 유의적으로 낮은 점수를 얻었으며 이는 삼백초 추출물이 가지는 어두운 색에 의한 것으로 시판되고 있는 요구르트 색에 익숙한 검사원들의 생소함에서 온 것이다. 향은 삼백초 첨가군이 대조군에 비해 조금 낮은 값을 보였지만 유의적인 차이는 없었다. 맛에 있어서는 0.4 중량% 삼백초 첨가 요구르트가 가장 높은 점수를 받았으며(p < 0.05), 1.0 중량% 삼백초 첨가 요구르트가 가장 낮은 기호도를 보였다. 이는 삼백초 특유의 향과 맛에 대해 익숙해져 있지 않은 점과 표4의 적정산도 결과와 같이 과도한 산 생성으로 인해 오히려 기호도를 낮춘 것이다. 조직감과 후미는 0.8 중량% 이상의 삼백초 첨가 요구르트가 유의적으로 낮은 기호도를 보였다. 전체적인 기호도에서는 0.4 중량% 삼백초 첨가 요구르트가 유의적으로 가장 높은 기호도를 보였으며 0.8 중량% 이상의 첨가 요구르트에 있어서는 조직감과 후미와 같은 경향으로 상대적으로 낮은 기호도를 보였다(p < 0.05). 이상의 관능 평가를 종합해 볼 때 삼백초 요구르트의 제조에 있어서 맛과 전체적인 기호도에서 가장 우수할 뿐 아니라 다른 항목들에서도 그 기호도가 비교적 양호한 0.4 중량%의 삼백초 첨가가 가장 적합할 것으로 사료되며, 검사원들의 연령이 대부분 20대 초반인 것을 감안할 때 한약재와 비슷한 향을 가지는 삼백초 요구르트가 중·장년 층에게서는 더 높은 기호도를 보인다.

표 8. 37 $^{\circ}$ C에서 24시간동안 젖산발효 전 균주[*Saururus chinensis* (Lour.) Bail] 추출물을 첨가한 요구르트의 관능검사

Groups	Color	Flavor	Taste	Mouthfeel	Aftertaste	Overall acceptability
C	3.65 \pm 0.97 ^{aa}	3.00 \pm 0.91	3.24 \pm 0.92 ^{ab}	3.41 \pm 0.69 ^{aa}	3.23 \pm 1.11 ^{aa}	3.24 \pm 1.0 ^{ab}
0.2	3.53 \pm 0.92 ^{aa}	2.76 \pm 0.81	3.06 \pm 1.03 ^{abc}	3.12 \pm 0.90 ^{ab}	3.06 \pm 1.06 ^{ab}	3.12 \pm 0.9 ^{ab}
0.4	3.35 \pm 0.84 ^{ab}	2.88 \pm 0.90	3.35 \pm 1.03 ^{aa}	3.06 \pm 0.87 ^{ab}	3.12 \pm 1.08 ^{ab}	3.35 \pm 0.9 ^{aa}
0.6	2.88 \pm 0.83 ^{bc}	2.71 \pm 0.67	2.82 \pm 0.86 ^{abc}	3.00 \pm 0.84 ^{ab}	2.65 \pm 0.76 ^{ab}	2.94 \pm 0.54 ^{abc}
0.8	2.65 \pm 0.90 ^{cd}	2.59 \pm 0.84	2.65 \pm 0.76 ^{bc}	2.53 \pm 0.70 ^{bb}	2.41 \pm 0.77 ^b	2.35 \pm 0.6 ^c
1.0	2.18 \pm 0.62 ^d	2.65 \pm 0.76	2.41 \pm 0.69 ^c	2.71 \pm 0.67 ^{bb}	2.47 \pm 0.92 ^b	2.65 \pm 0.7 ^{bc}

Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at p < 0.05 by Duncan's multiple comparison test.

실험에 6 : 요구르트의 저장성 조사

발효가 완료된 각각의 시료를 4 $^{\circ}$ C의 냉장고에서 보관하며 3일 간격으로 15일 동안 생균수, 적정산도 및 pH 변화를 측정 비교하였다. 이상의 모든 측정치는 3번 반복 실시하여 그 평균값으로 하였다.

요구르트는 발효가 완료되면 상당기간 저온 유통되므로 저장 기간 중 품질의 변화를 확인하기 위하여 발효 24시간 후 4 $^{\circ}$ C에서 냉장보관 하면서 pH, 적정산도 및 생균수를 조사하였다(표9 참조). 저장기간 동안 모든 구간에서 pH의 미미한 감소가 보였으며, 적정산도 또한 같은 경향으로 시간이 경과하면서 약간의 증가를 나타냈다. 이는 고구마[참조; Lee, K.S., Kim, D.H. and Shin, Y.S: Studies on the preparation of yogurt from milk and sweet potato or pumpkin. *Korean J.*

Food Sci. Technol., **25**, 666-671 (1993)]와 Aloe[참조; Shin, Y.S., Lee, J.S., Lee, K.S. and Lee, C.H.: Preparation of yogurt added with aloe vera and its quality characteristics. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **24**, 254-260 (1995)] 등의 연구 결과들과 유사한 경향이거나 다소 양호하였다. 생균수도 시간에 따라 약간 증가하였으며, 이는 저장기간 중 젖산균의 성장과 대사활동이 어느 정도 이루어지고 있음을 보여주며 이로 인해 미미하게 pH의 저하와 산도의 증가를 보인 것으로 보인다.

표 9. 4℃ 4℃에서 저장중 균주 [*Saururus chinensis* (Lour.) Bail] 추출물을 첨가한 요구르트의 성능변화

	Groups	Period of storage (days)					
		0	3	6	9	12	15
pH	C	4.01	3.99	3.94	3.91	3.87	3.85
	0.5	3.70	3.68	3.63	3.63	3.60	3.56
	1.0	3.62	3.61	3.58	3.54	3.53	3.51
Titratable acidity (%)	C	1.04	1.09	1.12	1.14	1.14	1.16
	0.5	1.27	1.29	1.32	1.33	1.35	1.35
	1.0	1.39	1.40	1.41	1.43	1.45	1.46
Viable cell counts (10 ⁷ cfu/mL)	C	54	58	61	63	64	66
	0.5	82	83	84	85	85	86
	1.0	97	98	98	99	100	101

발명의 효과

본 발명은 요구르트 제조시 고형분 함량을 증가시키기 위한 목적으로 첨가하고 있는 탈지분유의 일부를 삼백초 열수추출물로 대체하여 삼백초가 젖산균의 생육과 산 생성에 미치는 영향 및 요구르트의 품질특성을 조사하였다. 삼백초의 첨가량에 비례하여 젖산균의 산 생성은 현저히 증가하였으며 생균수 또한 같은 경향이였다. 발효 24시간 후 대조군과 삼백초 1.0% 첨가군의 적정산도는 각각 1.04와 1.38이었으며, 생균수는 모든 구간에서 $5.5 \times 10^8 \sim 1.0 \times 10^9$ CFU/ml를 보였다. pH 또한 삼백초 1.0 중량% 첨가군이 발효 24시간 후 3.60의 가장 낮은 pH를 보였으며, 대조군은 3.97의 pH를 나타냈다. 요구르트의 점도는 6~12시간 구간에서 모든 구간이 급격히 증가하였으며, 그 이후에도 약간의 증가를 보였다. 또한, 삼백초 첨가량에 비례하여 높은 점도를 보여 발효 24시간 후 대조군과 1.0 중량% 삼백초 첨가군의 점도가 각각 1650과 1930 centipoise (g/100 cm · s)를 나타냈다. 관능평가 결과 0.6 중량% 이상의 삼백초 첨가군들은 삼백초가 가지는 익숙치 못한 향과 색으로 인해 모든 항목에서 대체로 낮은 평가를 받았으나 0.4 중량% 삼백초 첨가 요구르트는 맛과 전체적인 기호도에서 유의적으로 가장 높은 평가를 받았으며 다른 항목에 있어서도 비교적 우수한 평가를 받아 관능적으로 가장 적당한 첨가량을 나타냈다. 삼백초 첨가로 요구르트의 젖산 함량이 현저히 증가되었으며 그 밖에 구연산, 주석산, 초산 및 옥살산은 모든 구간에서 발효 후 약간 낮은 함량을 보였다. 발효가 완료된 요구르트의 저장성은 4℃에서 15일간 산 생성과 pH 및 생균수에 변화가 미미한 것으로 나타나 저장성이 비교적 우수한 것으로 나타났다. 이상과 같이 삼백초는 젖산균의 생육 및 산 생성을 촉진시키며, 요구르트의 관능적인 면에서도 좋은 결과가 보였다. 따라서 여러 가지 유용한 생리효과를 가진 삼백초는 새로운 기능성을 가지는 요구르트의 개발에 있어 좋은 천연물 소재로서의 가능성을 가지며 신제품 개발에 기여 할 수 있는 산업상 이용가능성이 높은 매우 유용한 발명이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

우유배지에 삼백초추출물을 첨가하여 제조하는 것을 특징으로 하는 삼백초추출물 함유 요구르트의 제조방법.

청구항 2.

제 1항에 있어서, 우유고형분의 함량이 13 내지 13.8 중량% 함유된 우유배지에 삼백초추출물 0.2 내지 1.0 중량%를 첨가하여 제조하는 것을 특징으로 하는 삼백초추출물 함유 요구르트의 제조방법.

청구항 3.

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 삼백초추출물은 건조상태의 삼백초인 1중량부에 10중량부의 물과 혼합하여 환류추출하고 상기 추출액을 여과하여 농축한 후 동결건조하여 분말화시킨 것을 특징으로 하는 삼백초추출물 함유 요구르트의 제조방법.

청구항 4.

제1항 또는 제2항에 있어서, 우유배지에 삼백초추출물을 첨가하여 추가로 균질화 시킨 후 가압멸균하여 멸균된 기질을 방냉한 후 락토바실러스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*) 와 스트렙토코커스 더모필러스(*Streptococcus thermophilus*)를 1:1(v/v)로 혼합하여 접종하고(4 %, V/V) 요구르트를 발효시키는 것을 특징으로 하는 삼백초추출물 함유 요구르트의 제조방법.