

우리나라 乳酸菌 製品의 Yeast, Mold 汚染에 關한 調查研究

洪 鍾 海

서울大學校 保健大學院

A Study on Yeast and Mold Contamination of Fermented Milk Products in Korea

Chong Hae Hong

School of Public Health, Seoul National University

Abstract

This Study was carried out to investigate yeast and mold contamination in fermented milk products produced by 9 different domestic manufacturers from October 20, to December 5, 1980.

The results obtained in the study were as follows;

1) pH values of the products were ranged from pH 3.14 to pH 4.20 and average of sour milk drinks was $\text{pH } 3.66 \pm 0.19$ and fermented milks $\text{pH } 3.74 \pm 0.11$. Therefore the difference of pH average among sour milk drinks and fermented milks was statistically significant. ($p < 0.01$)

2) In case of yeast contamination, yeast was found on all the four products at the same date. From this result, it seemed that yeast contamination occurred during the manufacturing progress.

3) Degree of contamination by the indicator organisms was E. coli positive, 3.7%: over 1,000 yeasts/ml, 14.8%; over 10 molds/ml, 0.9%.

4) In the range of over 1,000 yeasts/ml, degree of contamination by yeast was 8.4% in fermented milk and 16.7% in sour milk drink.

5) Yeasts in product C increased to the spoilage number within 5 days and in H increased within 10 days at 5°C.

At 15°C, yeast increased to the spoilage number within 15 days in product A.D.

6) It seems that the yeast number of initial contamination should be important than the increase rate as criteria on the fermented Milk products.

緒 論

우리나라에 乳酸菌 製品이 紹介된 1971年 以後 約

10年間 消費量의 增加趨勢는 1972년부터 1977년까지
毎年 前年度 對比 100% 以上の 높은 伸張率을 보여
1979年 現在 總 114,381,967kg으로 年間 國民 1人當
3.1kg을 消費하고 있는 것으로 나타나고 있다¹⁾²⁾.

이러한 趨勢에 따른 生産量의 增加는 中小業體들의 亂立을 招來하여 現在 乳酸菌 醱酵乳 業體 10個所, 乳酸菌 飲料業體 16個所가 製品生産에 參與하고 있어 이에 따른 施設投資와 工程上의 問題가 食品衛生學的인 問題點을 內包하고 있는 것이다.

乳酸菌 製品는 酪農製品 中에서도 가장 安全性있는 食品의 하나로 낮은 pH와 lactic acid bacteria(國內에서는 주로 *Lactobacillus bulgaricus*, *L. casei*, *L. helveticus*를 使用³⁾)에 의해 다른 微生物의 成長이 抑制된다⁴⁾. 그러나 現在 市販되고 있는 우리나라 乳酸菌 製品는 대부분이 飲料類로서 乳酸菌 醱酵乳와 乳酸菌 飲料의 2가지로 區分될 수 있으며 果汁 또는 糖汁이 含有되어 糖分이 15% 以上⁵⁾으로 낮은 pH에서도 生存이 可能한 Yeast와 Mold의 成長에 理想的인 培地가 될 수 있다⁴⁾⁵⁾¹⁵⁾.

Yeast와 Mold는 E. coli와 함께 汚染의 指標가 되는 微生物로 特有의 Gas形成과 香味生成에 依한 製品의 變質을 招來하여 食品의 安定性에 問題를 일으킬 수 있다⁴⁾⁵⁾. 또한 現行 食品衛生法上에는 衛生의 尺度로 E. coli에 關한 基準을 두고 있지만 이는 時間의 經過에 따라 짧은 時間內에 死滅됨이 이미 國內外研究報告⁶⁾⁷⁾를 통해 잘 알려져 있는 事實이므로 實質的으로 製造工程上에서 汚染되고 있는 Yeast와 Mold의 基準이 必要하다고 생각되는 바 本實驗을 通하여 그 汚染度에 關한 研究結果를 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

1) 實驗用 檢體

本實驗에 使用한 檢體는 1980年 10月 20日부터 12月 5日까지 市販되고 있는 乳酸菌 製品中 任意 選定한 9個 會社 製品를 對象으로 15日 間隔으로 3回 檢體를 採取하였다. 檢體는 每回 各 會社別 當日 生産된 製品 4瓶씩 總 108瓶을 直接 小賣商과 販賣員으로부터 購入하고 携帶用 試料 保管函에 넣어 實驗室에 運搬하여 1時間內에 實驗에 使用하였다.

2) 培地

培地는 우리나라 公定試驗法⁸⁾과 A.P.H.A의 Standard Method⁹⁾를 使用했으며 各各의 成分은 다음과 같다.

Brilliant Green Bile 2% (E. coli 測定用)	
Oxgall	20g
Peptone	10g
Lactose	10g

Brilliant Green	13.3mg
Potato Dextrose Agar (Yeast와 Mold 測定用)	
Potato, infusion	200g
Dextrose	20g
Agar	15g

2. 實驗 方法

1) 水素이온 濃度(pH)

Corning Model 12 Research pH Meter를 使用하였다.

2) 大腸菌群(Coliform Group)

E. coli는 A.P.H.A의 方法⁹⁾에 依해 檢體 10⁰~10⁻³ 培 稀釋液 1ml씩을 段階別 5個의 Durham tube를 넣은 Brilliant Green Bile Agar에 取한 後 32°C에서 48±3時間 培養하여 gas生成 有無를 判定하였다.

3) Yeast와 Mold

Harrigan¹⁰⁾의 Microbiological Examination Method와 A.P.H.A의 Standard Method⁹⁾에 依하여 Potato Dextrose Agar에 Tartaric acid를 添加하여 pH를 3.5±0.1로 固定하고 Standard Plate Count Method와 同一한 方法으로 段階別 稀釋을 하여 25°C에서 5日間 培養後 colony count를 하였다.

한편 經時變化는 처음 購入된 檢體 36瓶中 各 會社別 汚染이 나타난 平均 Yeast數에 해당되는 檢體 總 9瓶을 5°C, 15°C에서 15日間 保存하여 5日 間隔으로 colony數를 測定하였다.

實驗成績 및 考察

1. 製品別 水素 이온 濃度(pH)

各 製造會社別 製品의 水素이온濃度는 表 1과 같이 乳酸菌 飲料의 pH範圍는 3.24~4.20으로 乳酸菌 醱酵乳의 pH範圍 3.54~3.94보다 큰 幅을 보이고 있으며, 乳酸菌 醱酵乳의 pH는 姜等이 報告³⁾한 pH範圍인 3.23~3.78에 비해 약간 높은 傾向을 나타내었다. 平均 pH에 있어서 乳酸菌 飲料의 pH 3.66±0.19와 醱酵乳의 pH 3.74±0.11는 有意한 差를 나타내어 乳酸菌 醱酵乳 보다 乳酸菌 飲料의 pH가 높은 傾向을 보이고 있었다(p<0.01). 그러나 外國의 報告된 製品의 pH와 比較해 보면¹²⁾¹³⁾ 우리나라 乳酸菌 製品의 pH가 낮은 것을 알 수 있었다.

2. 大腸菌 汚染度

表 2에서와 같이 總 108瓶中 4瓶에서 E. coli 陽性으로 判定되어 3.7%의 汚染率을 보이고 있어 現行 우리나라 食品衛生法上에 規定된 基準인 E. coli陰性에도 불구하고 아직도 적은 量이나마 不良品이 生産되고

받고 있지 않음을 알 수 있다. 특히 毎回 採取된 各 會社 製品別 4個의 檢體에 있어서 Yeast의 汚染이 있을 경우는 4個의 檢體 모두 汚染을 보였고 汚染이 없을 경우에도 모두 汚染을 보이고 있지 않음은 注目할 만한 結果로 Yeast의 汚染이 製品 流通上에서 發生되기 보다는 製造工程上에서 汚染되고 있음을 間接적으로 보여 주고 있다. 따라서 工程施設과 作業環境을 衛生的으로 管理함으로써 Yeast汚染을 豫防할 수 있음이 E社의 例로서 可能하다고 判斷된다.

Mold의 汚染은 Yeast汚染與否와 關係없이 나타나고 있으나 Yeast에 비해 極히 적은 汚染을 보이고 있다.

Davis의 衛生學的인 分類에 依하면¹³⁾ 乳酸菌 製品의 Yeast, Mold 汚染으로부터의 安全圈은 各各 100 yeasts/ml이하, 2 molds/ml이하이며 不安全圈은 1,000 yeasts/ml이상, 10 molds/ml이상으로 規定하고 있어 이에 依한 우리나라 製品의 汚染度는 表 4와 같다.

Yeast汚染의 경우 1,000 yeasts/ml이상에 該當되는 極히 汚染이 많은 것이 全體 平均 14.8%이고 乳酸菌 醱酵乳의 경우 8.4%, 乳酸菌 飲料의 경우 16.7%의 汚染을 보여 乳酸菌 飲料의 汚染度가 높게 나타났으며 安全圈인 100 yeasts/ml이하에 해당되는 것은 乳酸菌 醱酵乳 70.8%, 乳酸菌 飲料 71.4%로 비슷한 比率을 보였으며 全體 平均 71.3%는 Davis가 報告한¹⁴⁾ Canada의 65.1%보다 약간 높게 나타났다.

Mold汚染은 2 molds/ml이하가 95.4%로 대체로 安全한 狀態였으며 1.8%만이 不安全圈에 해당되어 Davis가 報告한 Canada의 17.8%의 不安全圈 汚染度보다 Mold의 汚染이 훨씬 적게 나타나고 있다. 따라서 生産 業體에서는 Mold 汚染보다 Yeast汚染에 注意해야 될 것으로 생각된다.

2) Yeast와 Mold의 經時變化

表 5와 같이 9個社 製品中 4個社에서 Yeast의 増殖

을 보이고 있고 Mold의 경우는 増殖이 뚜렷하게 나타나지 않고 있어 Mold汚染은 큰 問題가 없을 것으로 생각된다. 乳酸菌 製品內의 Yeast는 乳酸菌의 成長이 停止된 後부터 成長을 始作하여 그 數가 2.0×10^4 /ml에 達하면 gas發生 및 特有的 香味를 發하게 되는데⁵⁾¹⁵⁾ 오래 경과된 製品에서 gas發生에 依해 cap이 부풀어 오른 것을 볼 수 있으나 特有的 香味는 添加된 香料로 因하여 判別하기가 어렵다. Yeast의 増殖을 보인 4個社 製品을 圖式해 보면 그림 1과 같이 5°C 保存의 A·D製品은 15日 經過後에도 腐敗를 始作하는 菌數($\log 2 \times 10^4$ /ml=4.3)에 未達되었으며 C는 約 7日後에 H는

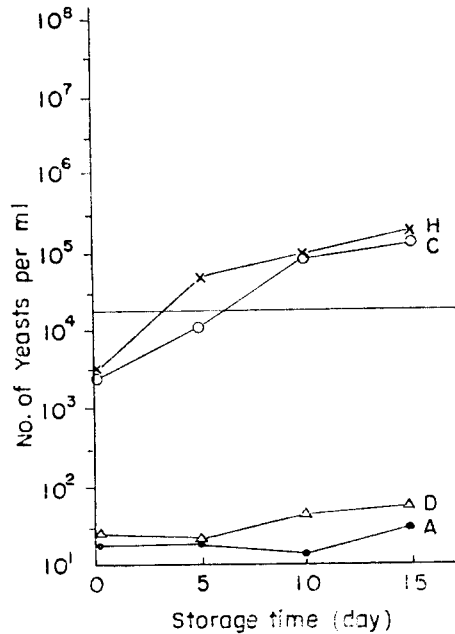


Fig. 1. Viability of Yeast at 5°C by Storage Time.

Table 4. Degree of Yeast and Mold contamination by Plate Count Range in Fermented Milk Products. (Unit : %)

No. colony/ml	Fermented Milk					Sour Milk Drink					Total	
	A	B	sub-total	C	D	E	F	G	H	I		sub-total
Yeast												
<10	8.3	83.3	45.8	0	66.7	100.0	83.3	66.7	33.3	100.0	64.3	60.2
10~100	33.3	16.7	25.0	0	33.3	0	16.7	0	0	0	7.1	11.1
100~1,000	41.7	0	20.8	33.3	0	0	0	25.0	25.0	0	11.9	13.9
>1,000	16.7	0	8.4	66.7	0	0	0	8.3	41.7	0	16.7	14.8
Mold												
<2	100.0	83.4	91.6	100.0	100.0	100.0	91.7	100.0	100.0	83.4	96.4	95.4
2~10	0	8.3	4.2	0	0	0	8.3	0	0	8.3	2.4	2.8
>10	0	8.3	4.2	0	0	0	0	0	0	8.3	1.2	1.8

Table 5. Growth of Yeast and Mold in Fermented Milk Products by Storage Time and Temperature

(Unit: No. colony/ml)

Products		A				B				C			
Storage time(Day)		0	5	10	15	0	5	10	15	0	5	10	15
5°C	Yeast	20	20	11	27	0	0	0	0	3,200	10,000	90,000	145,000
		(1.30)	(1.30)	(1.04)	(1.43)					(3.51)	(4.00)	(4.95)	(5.16)
	Mold	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
15°C	Yeast	20	70	350	30,000	0	0	0	0	3,200	90,000	1,100,000	1,000,000
		(1.30)	(1.85)	(2.54)	(4.48)					(3.51)	(4.95)	(6.04)	(6.00)
	Mold	0	0	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0

Products		D				E				F			
Storage time(Day)		0	5	10	15	0	5	10	15	0	5	10	15
5°C	Yeast	30	21	63	67	0	0	0	0	0	0	0	0
		(1.48)	(1.32)	(1.80)	(1.83)								
	Mold	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15°C	Yeast	30	2,000	8,500	100,000	0	0	0	0	0	0	0	0
		(1.48)	(3.30)	(3.93)	(5.00)								
	Mold	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Products		G				H				I			
Storage time(Day)		0	5	10	15	0	5	10	15	0	5	10	15
5°C	Yeast	0	0	0	0	4,000	62,000	90,000	24,000	0	0	0	0
						(3.60)	(4.79)	(4.95)	(5.39)				
	Mold	0	0	1	1	0	0	0	0	2	0	1	0
15°C	Yeast	0	0	0	0	4,000	10,800	3,500,000	24,000,000	0	0	0	0
						(3.60)	(4.03)	(6.54)	(7.38)				
	Mold	0	0	7	0	0	0	0	0	2	0	10	0

() : logarism

5日 以內에 腐敗菌數에 到達하였다.

따라서 H社製品을 除外하고는 飲用有効期日인 5日 以內에 飲用할 경우 冷藏庫속에서 잘 保存된다면 腐敗를 防止할 수 있다고 解析된다. 그림 2의 15°C 保存의 경우 4個製品 모두 15日 以後 腐敗菌數을 넘고 있으며 表 6과 같이 15日間의 日 平均 増殖率 역시 15°C에서의 増殖率이 5°C보다 높게 나타나고 있다. 그러나 理想的인 培地內의 日 平均 増殖率인 夏節期의 $r=11.6/day$, 冬節期의 $r=2.9/day$ 에 비해⁵⁾ 훨씬 낮은 増殖率을 보인것은 制限된 용기內의 營養分減少와 添加된 保存料에 起因된다고 解析된다. Yeast汚染의 不安全圈인

Table 6. Increase Rate of Yeast in Fermented Milk Products by Storage Time and Temperature (Unit: per day)

Products	5 days		15 days	
	5°C	15°C	5°C	15°C
A	0	0.251	0.020	0.488
C	0.228	0.667	0.254	0.383
D	-0.071	0.840	0.054	0.541
H	0.088	0.199	0.274	0.580

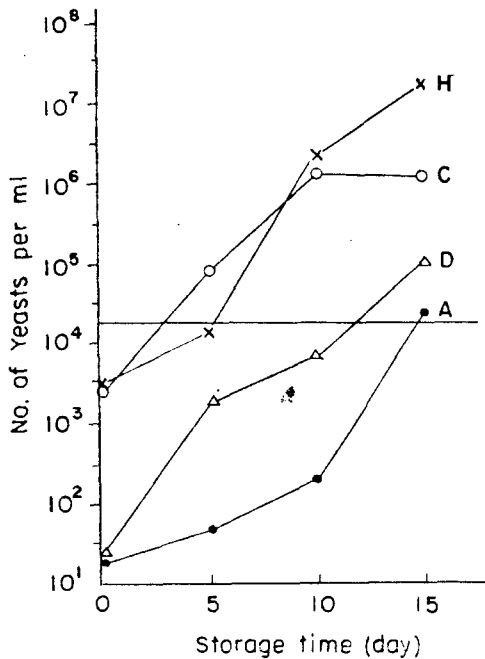


Fig. 2. Viability of Yeast at 15°C by Storage Time.

1,000 yeasts/ml 이상의 경우 증률률이 日平均 $r=0.6$ 정도가 되면 5日 以內에 腐敗菌數에 到達하게 되므로 C,D製品은 15°C 保存時 5日 以內에 腐敗菌數에 이르게 될을 알 수 있다.

따라서 앞으로 乳酸菌 製品의 多樣化에 따른 衛生學의 基準으로는 腐敗菌數에 到達하는 時間으로 볼 때 Yeast 증률률보다는 最初汚染菌數가 食品衛生學的으로 더 큰 問題가 되는 것으로 判斷된다.

結 論

著者는 1980年 10月 20日부터 12月 5日까지 市販되고 있는 9個 會社의 乳酸菌 製品을 採取하여 Yeast와 Mold汚染에 關한 衛生學的 分析을 하였던 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1) 全製品의 pH範圍는 3.24~4.20이었고 乳酸菌 飲料의 平均 pH는 3.66 ± 0.19 , 乳酸菌 醱酵乳의 平均 pH는 3.74 ± 0.11 로서 두 製品間의 pH에 有意한 差가 있었다 ($p < 0.01$).

2) Yeast의 汚染時 每回 採取된 各會社 製品別 4個의 檢體 모두 汚染이 나타났고 汚染이 없는 경우도 檢體 모두 汚染이 나타나지 않아 汚染의 原因은 工程上에 起因된다고 생각된다.

3) 汚染指標 細菌에 依한 汚染度는 E. coli陽性 3.7%, 1,000 yeasts/ml 이상 14.8%, 10 molds/ml 이상 0.9%였다.

4) Yeast汚染의 경우 不安全圈인 1,000 yeasts/ml 이상이 乳酸菌 醱酵乳 8.4%, 乳酸菌 飲料 16.7%로서 乳酸菌 飲料의 汚染度가 더 높았다.

5) Yeast汚染은 5°C 保存時 C社는 5日 以內에 H社는 10日 以內에 腐敗菌數에 到達했고, 15°C 保存時는 A,D社도 모두 15日 以內에 腐敗菌數에 到達했다.

6) 乳酸菌 製品에 關한 衛生學的 基準으로는 Yeast 증률率보다 最初汚染菌數가 食品衛生學的으로 더 큰 問題點으로 생각된다.

參 考 文 獻

- 1) 酪農關係資料: 農水産部. 1973~1980.
- 2) 尹永皓: 醱酵乳의 消費現況과 微生物 特性. 야쿠르트 1(7): 12~14, 1980.
- 3) 姜永宰, 尹永皓, 金顯旭: 國產醱酵乳 飲料의 微生物學的 및 理化學的 性質에 關한 研究. 韓國畜産學會誌. 21(6): 543~551, 1979.
- 4) Davis, J.G., T.R. Ashton, and Maries McCaskill: Enumeration and Viability of *L. Bulgarius* and *Str. thermophilus* in Yogurts. Dairy Ind. 36: 569~573, 1971.
- 5) Davis, J.G.: Laboratory Control of Yogurt, Dairy Ind. 35: 139~144, 1970.
- 6) 李容旭: 乳酸菌 飲料에서 分離한 *Lactobacillus casei*의 大腸菌에 對한 作用觀察, 大韓保健協會誌, 3(1): 53~59, 1977.
- 7) Geol, M.C., D.C. Kulshrestha, E.H. Marth, D. W. Francis, J.G. Bradshaw, and R.B. Read, JR: Fate of Coliforms in Yogurt, buttermilk, Sour Cream, and Cottage Cheese during refrigerated Storage. J. Milk Food Technol. 34: 54~58, 1971.
- 8) A.P.H.A.: Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 14th ed. American Public Health Association, 1978.
- 9) 朴奉相: 食品衛生法 解說 3th. ed. 藥事研究社. 1972.
- 10) BBL Manual of Products and Laboratory Procedures, 5th ed: BBL Division of Becton, Dickinson and Company. 67~68, 1973.
- 11) Harrigan, W.F. and M.E. McCane: Laboratory

- Methods in Food and Dairy Microbiology, Academic Press. London, 1976.
- 12) Richmond, M.L., R.C. Chandan, and C.M. Stine: Yogurt A Compositional Survey in the Greater Lansing Area. J. of Food Protection. 42 : 424~426, 1979.
 - 13) Duitschaever, C.L., D.R. Arnott, and D.H. Bullock: Quality evaluation of Yogurt Produced Commercially in Ontario. J. of Milk Food Technol. 35 : 173~175, 1972.
 - 14) Arnott, D.R., C.L. Duitschaever, and D.H. Bullock: Microbiological evaluation of Yogurt produced Commercially in Ontario, J. Milk Food Technol. 37 : 11~13, 1974.
 - 15) Walker Homer W.; Spoilage of Food by Yeasts. J. Milk Food Technol. 31 : 57~61, 1977.
 - 16) 發酵乳의 品質管理 : 保健新報, 第1487~1489, 1980.
-