

# Lactobacillus acidophilus를

## 이용한 발효유제품

경북대학교 낙농학과 김 동 신

인류의 발효유제품의 이용은 각지역의 토착민의 전통과 문화의 배경에 따라 서로 상이하여 그 근원되는 제품의 미생물을 추적하는 것은 매우 어렵다.

Rosell (1932)의 고문서 인용에 의하면 유산균의 발효유조리방법은 천사에 의해 유태인의 조상 "아브라함"에게 가르쳐졌다고 하였다. 그리고 이 식품을 상식함으로서 종족의 번창과 자신의 장수를 누렸다는 것이다. 또한 고대부터 신비성을 갖고 있는 Kefier 같은 발효유는 천사의 음료라고 불리워졌다. 이러한 역사적 기록을 고찰해 볼 때 과학의 손이 미치기 전 다시 말해서 발효유제품속에 있는 미생물의 同定이 있기전 벌써부터 발효유제품은 매우 고귀한 것으로 利用된 것이다. 신비성을 지닌 이들 식품은 20세기를 전후하여 그속에 있는 미생물의 동정에 의하여 그 특성의 베일을 벗겨지기 시작하였다.

Elie Metchnikoff (1845~1916)는 유명한 러시아의 세균학자이며 면역학자로서 또한 노벨 수상자이기도 하다.

그는 신체의 강건함과 장수는 창자속에 Lactobacilli의 번창에 있다고 역설하였다.

Lactobacilli는 비병원성이며 건강을 증진시키는 미생물로서 사람이나 동물의 창자속에 언제나 발견된다. 그러나 이 학자가 발견한 균은 *L.bulgaricus*로서 腸 내에서 서식하지 못한다.

이 바람직한 미생물은 *L.acidophilus*로서 자연히 어머니로부터 아기에게 출산할 때 또는 수유기 때 전해진다.

*L.acidophilus*는 동물의 창자내에서 E.

*coli*를 현저하게 감소시켰으며, 시험관내에서 *Salmonellas*, *Shigellas*, *staphylococi*, 그리고 *Pseudomonas*와 腸內병원균의 성장을 현저하게 억제한다. 이러한 항생작용은 유산생산에 기인하지만 다른 한편 항생물질과 같은 다른 미생물의 생장억제물질이 생산되기 때문이다.

특히 항생물질을 경구적으로 투여하는 일이 빈번히 있는 현대인들은 창자의 정상미생물총의 균형이 파괴되기 쉽다. 그러나 개체에 따라서 단순히 몇번의 *Lactobacillus acidophilus*를 섭취하므로써 장내정상미생물의 평형을 이룰 수 없으며 상당한 양으로 계속 복용하는 것이 권장된다.

Sweet Acidophilus Milk는 Speck에 의해 1975년 4월에 미국에서 처음으로 개발되어 판매되었다. 이 제품의 선풍적인 인기와 더불어 30개주에서 51개의 가공공장이 설치되어 생산되고 있다. 일본에서도 미국의 생산판매가 있었던 동년에 기술제휴를 하였다. 본문은 Sweet Acidophilus Milk의 한국내 생산을 위하여 *L.acidophilus*의 성장특성, 치료효과 그리고 개발생산 및 시장성을 진단하고자 한다.

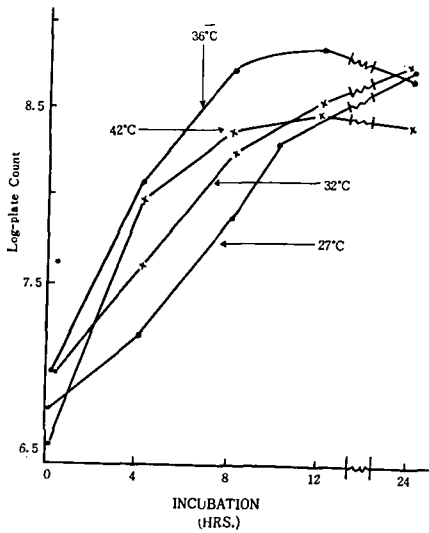
### 성장특성

*L.acidophilus*는 그람양성의 긴 간균이며 Spore를 형성하지 않으며 비내열성균이다.

(1) 균주에 따른 성장을 : Mikolajcik와 Hamdan(1975)의 연구에 의하면 조제무지우유(11% T.S)에 36°C온도에서 가장 짧은 생식기간(generation time), 49분을 나타내어 가장 빠른 성장율을 보여주었다.(Table 1)

Table I. Growth patterns of selected strains of *L. acidophilus* in reconstituted skim milk (11% T, S) incubated at 36°C and plated on Difco Tomato Juice agar for 48 hours.

Incubation Time (hr)	Strain Number					
	ATCC 11506	ATCC 4356	NGDO 1	NCDO 2	NCDO 3	BC
	Doubling time in minutes					
4	90.90	58.18	60.60	86.58	49.14	103.89
8	95.06	79.48	69.59	99.68	72.72	106.17
12	132.23	111.88	97.83	109.63	104.89	138.96
24	256.68	220.38	207.79	233.34	208.78	252.23



INCUBATION (HRS)  
Figure 1. Growth curve for *L. acidophilus* NCDO3 in Skim milk incubated for different temperature (°C)

반대로 BC 균주는 103.9 분을 나타내어 가장 느린 성장율을 보였다. 배양시간이 진행됨에 따라 세대시간의 변화가 길어져서 24 시간 배양 때 NCDO 3는 208.78 분 그리고 BC 균주는 252.23 분으로 생식기간이 길어졌다. NCDO 3 균주에 배양온도변화를 주어 그 성장율을 고찰해보면 (Fig 1) 36°C와 42°C에서 한 전형적인 성장커버를 나타내고 있다. 즉 이 다른 두 온도에서 NCDO<sup>3</sup>는 배양후 8시간이 되면 성장정체기 (Stationary Phase)에 달하여 약 2시간 동안 지속하다가 12시간이 지나면 사멸기 (Decline phase)가 시작한다. 그러나 동일균주인

NCDO 3를 32°C와 27°C에 배양하면 그 성장율이 대단히 느리며 배양후 24시간이 달하여도 stationary phase 나 decline phase에 도달하지 않고 계속 성장율의 증가를 보이고 있다.

그러나 32°C와 27°C의 온도에서 24시간 배양된 세포수는 36°C 혹은 42°C 배양온도에서 대수성장기 (exponential growth phase)에 나타난 세포수보다 더 많이 나타나고 있다.

이들 결과는 *Acidophilus* Yoghurt 공정에 중요한 의미를 갖게하는 것이다. 즉 Sub-optimal growth temperature는 미생물의 exponential phase를 매우 길게하며 따라서 유산생성율을 느리게 한다. 그러나 최종적으로 나타나는 미생물의 총수에는 변함이 없는 것이다.

(2) 저장생명 : 배양유제품은 소비자에게 도달할 때까지 미생물이 생존해 있어야 하므로 저장기간중 미생물의 生菌數는 품질에 큰 영향을 미치는 것이다.

저장생존을 결정하기 위해 두가지 관점에서 시도하였다. 첫째는 36°C에서 배양할 때 처음부터 시작한 배양기간 즉 4시간, 8시간 그리고 12시간과 둘째는 냉각후 5°C에 저장하면서 시간의 경과에 따라 나타나는 생균수의 변화인 것이다. 그 결과 배양기간의 장단에 관계없이 냉각후 5°C에서 저장하는 동안 生菌數에 큰變動이 없다는 것이다. 다시 말하면 같은 온도에서 배양기간의 장단에 따라 생균수의 많고 적음은 있지만 냉각후 5°C에서 보존하는 동안 사멸균의 비율은 배양기간의 장단(4, 8, 그리고 12시간)에 관계없이 큰 영향이 없는 것이다.

그러나 저장기간이 14 일째되면서부터 생존력이 서서히 감소되었다. 이러한 현상을 발견하는 것은 매우 중요하다. 왜냐하면 *Acidophilus* 菌은 skim milk 내에서 공장은도하에 두면 적어도 14 일간 보존하여도 그 생균수에는 큰 변화를 가져오지 아니하므로 *Acidophilus* Yoghurt의 생산에 한 지침이 되는 것이다.(Fig 2)

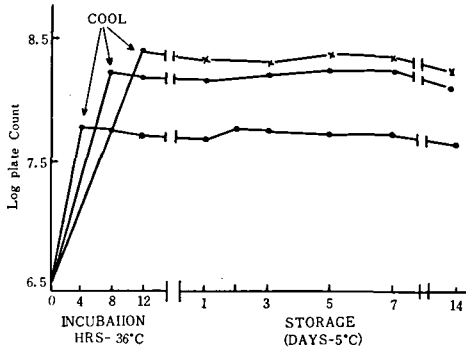


Figure 2. Effect of preliminary incubation at 36°C, cooling, and Subsequent storage at 5°C on the viability of *L. acidophilus* NCD03 in skim milk.

### 치료적 특성

(1) 소화불량 : 발효유의 치료적 가치는 일찌기 Metchnikoff (1908)가 그의 장수설의 발표에서부터 활기를 띄웠다. 그러나 Balkan사람들이 먹고 있는 발효유의 근본 유산균은 *Lactobacillus bulgaricus*였다. 그와 동시에 Moro (1900) 등이 발표한 바에 의하면 哺乳中인 乳兒의 腸内に 살고 있는 우세한 미생물은 현재 부르고 있는 *Lactobacillus acidophilus* 이었다.

이와 가장 유사한 유산균들은 *B. bifidus* 와 *L. bulgaricus* 이다. *Bifidobacterium bifidus*는 모유를 먹는 아기의 창자속에서 역시 우수하게 자라는 미생물이다.

그것은 시험관내에서 성장하는 것이 매우 까다로우며 yoghurt 의 보조균으로 사용되기도 한다. 모유가 아니고 우유를 이용하는 哺乳兒의 창자속에는 *L. acidophilus* 가 우세하며 이 미생물이야말로 창자내 세균성질환치료에 가장 잘 응용되고 있는 것이다. *L. acidophilus* 는 입

으로부터 시작되는 소화관을 통하여 잘 살아남는 미생물로 알려져 있으며 특히 대장에서 이식되는 점이 이 균의 가장 중요한 특성이라고 볼 수 있다 (Kline 등, 1963). 반면에 Yoghurt의 필수 유산균인 *L. bulgaricus* 는 높은 유산생산의 능력은 있으나 소화관에서 일반적으로 사멸되는 것이다. *L. acidophilus* 가 소화관중에서 가장 適應力이 강한 서식균주로서 주로 하부창자에서 常存하는 菌株로 알려졌다. 이는 정상미생물의 평형을 유지하는 능력을 갖고 있으며 이 菌의 정확한 작용방법은 잘 알려져 있지 않다. 그러나 이와와 같은 요건들이 그 가능성을 뒷받침해 줄 수 있다.

(a) 적당한 산의 자극을 유발시켜 창자의 연동운동을 자극하며 정상적 대사를 위한 좋은 환경을 조성시킨다.

(b) 이 菌이 생산한 유산은 창자내의 잡균을 억압하는 효능을 갖고 있다.

(c) 많은 enteric organism 을 억제하는 어떤 항생물질을 생산한다. 하부창자에 서식하므로 이물질에 강한 인간이 본래 가지고 있는 正常腸内菌총이 쉽게 증식하게 할 것이며, 따라서 영양분 탈취를 위한 경쟁에서 *L. acidophilus* 의 힘은 다른 잡균을 능히 물리칠 수 있다고 보는 것이다. 腸内미생물균총의 불균형은 설사, 변비, 고창, 장염, 그리고 소양증 등과 같은 증상을 가져오게 된다. 그러나 인간창자내에서의 *L. acidophilus* 의 서식은 개인의 체질에 크게 좌우한다. 어떤 사람은 쉽게 그리고 잘 창자내에서 번식하여 數個月 또는 數年間 유지하지만, 다른 사람은 어렵고 일시적인 生存에 불과한 경우도 있다. 그러므로 그것은 세균성소화불량에 만능의 효과를 기대할 수 없고 장내세균총을 포함하고 있는 창자의 70~80%의 효과를 가져오는 것이라고 일반적으로 보도되어 있다. 그러나 어떤 부작용이 없는 확실한 안정성이 있으며 복용하므로써 해로운 것은 일체 없다.

(2) 항생물질의 생산 : *L. acidophilus* 는 Homofermentative bacteria로서 유산외 다른 유기산과 carbonyl 성분등을 생산한다. 유산을 비롯하여 acetic acid, formic acid, diace-

tyl,acetoin 그리고  $H_2O_2$ , 등이 모두 항생 작용을 하고 있다고 보고되어 있다. 그러나 *L. acidophilus* 는 특히 Acidolin 또는 Acidophilin 이라고 부르는 자연 항생물질을 생산하며 시험관에 실험의 결과에 따르면 Salmonella, Shigella, Staphylococcus, Klebsiella, Proteus, Bacillus, Pseudomonas, Escherichia 등의 다른 잡균들을 억제하는 작용이 있음을 밝혀졌다. *L. acidophilus* 가 생산한 항생물질을 유산으로부터 분리시키기 위하여 Sephadex G-25 gel 여과를 거쳐서 silicagel의 thin-layer chromatography (TLC)를 이용하여 분리한다. 이때  $R_f$  치가 0.52 것이 항생 작용을 나타내 보였다. Acidolin은 유산,  $H_2O_2$ , 혹은 저분자 peptide가 아님을 밝혔다. (Hamdan 등, 1974)

(3) Cholesterol : 혈중에 고농도 Cholesterol 함유에 의하여 동맥혈관경직과 심장병의

원인이 된다. 혈중의 Cholesterol 저하는 노인의 심장병을 예방하는 것이 될 것이다. Mann 과 Spoerry (1974)의 보고에 의하면 아프리카의 Massai 족속은 비교적 저농도 혈중 Cholesterol 을 보이고 있으며 이것은 발효유의 많은 양을 소비하고 있기 때문이라고 하였다. Mann (1977)의 연구에 의하면 yoghurt 내에 acetate 를 합성하는 것을 방해하는 인자가 함유되어 있어서 Cholesterol 의 혈중농도를 저하시킨다.

발효유속에 있는 유력한 물질은 Cholesterol 을 합성하는 데 작용하는 CoA reductase 를 억압하는 Hydroxyme-thylglutamate 인 것이다. 최근에 Sinha (1980) 등의 연구에 의하면 *L. acidophilus* 의 생균이 포함되어 있는 비발효유를 쥐의 보조사료로 이용한 결과 혈중 Cholesterol 수준을 현저하게 저하시켰다고 한다. (Table II)

TABLE II. Effect of Feeding Milk, Nonfermented Acidophilus Milk and Cholesterol on Serum Cholesterol Concentration of Sprague-Dewley Rats.

Treatments	10days	Concentration of Serum Cholesterol mg/100ml	
		20days	30days
1. Milk <sup>b</sup>	(7) <sup>a</sup> 146.8	145.7	141.8 <sup>c</sup>
2. Milk+0.05%Cholesterol	(7) 167.2	160.7	161.8 <sup>c</sup>
3. Nonfermented acidophilus milk+0.05%Cholesterol	(7) 151.2	146.5	141.7
4. Nonfermented acidophilus milk	(7) 132.9	118.3	102.5 <sup>c</sup>

a Number in ( ) indicates the number of rats in each treatment

b Milk containing 1%fat

c Significant ( $P < 0.05$ )

TABLE III. Effect of Feeding Nonfermented Acidophilus Milk upon proliferation of Ehrlich Ascites Tumor Cells in Swiss Mice

Replicate			inhibition %	DNA Content ( $\mu g/ml$ suspension)		inhibition %
	Control	Experimental		Control	Experimental	
1	32.0	23.0	28.0	390.0	278.5	28.5
2	37.5	24.5	34.5	380.5	248.5	34.5
3	37.0	29.6	20.0	333.5	262.5	21.0

(4) 항암물질의 생산 : 상당히 오래전부터 의사나 또는 비전문인들도 발암은 어떤 섭취하는 음식과 밀접한 관계가 있다고 생각하여 왔다. (Moffman 등, 1937)

Reddy (1973)와 Farmer 등(1975)이 쥐의 복강에 있는 Ehrlich ascites tumor cells의 중심에 관해 yoghurt의 영향을 연구한 결과 전암세포수의 28~35%를 감소시켰다.

*L. acidophilus*의 생균을 함유하고 있는 비발효유를 먹인 쥐의 acites tumor의 감소율도 현저하였다.(Table III)

### 애시도필러스 유제품

Metchnikoff의 장수설이 발표된 이후 *Lactobacillus acidophilus*를 용이하게 섭취할 수 있도록 각종제품들이 개발된 것은 당연하였다. *L. acidophilus*는 다른 유산균에 비하여 처음 성장기에 느리고 15~20시간내에 높은 산도를 나타낸다. 그러나 그 산맛은 대단히 강하여 제품에嗜好性を 부여하기에는 적당하지 않다. *acidophilus* 유제품의 이러한 풍미를 감소시키기 위하여 더 많은 유당첨가 또는 다른 종류의 향미를 첨가시도해 보았으나 좋은 결과는 얻지 못하였다. 혹은 이 제품속에 더 낮은 *L. acidophilus* 수를 포함하도록 하여 강한 신맛을 감소시키는 노력도 있었다. 반면에 *Lactobacilli*의 많은 양을 포함시켜 제조한 藥品形態의 製品이 藥局에서도 판매되고 있다. 또 어떤 시도는 yoghurt 제조에 사용되는 균주 (*Str. thermophilus*와 *L. bulgaricus*는 창자에서 살아남지 않음)에 *L. acidophilus*를 첨가하여 yoghurt와 함께 飲用하려는 시도도 있었으나 yoghurt의 두 필수균주가 *L. acidophilus*보다 더 우세하게 자라기 때문에 소기의 목적을 달성할 수 없었다. Bioghurt는 독일에서 개발된 菌株는 *Lactobacillus acidophilus*와 *Streptococcus lactis*이다. *Lactobacillus acidophilus*는 다른 유산균과 함께 잘 자라지 않기 때문에 발효제품의 공정이 포장하기 전에 *L. acidophilus* 칼처를 첨가시켜 마지막 생산되는

제품으로 하여금 살아있는 *L. acidophilus*를 함유케 한다. Aco-Yoghurt는 Switzerland에서 개발된 제품으로서 포장되기 직전에 *L. acidophilus*를 첨가하여 200 ml당  $4-6 \times 10^7$ 의 *L. acidophilus*를 포함하도록 하였다. Biogard는 *L. acidophilus*와 *Bifidobacterium bifidus*를 함유하고 있는 발효유제품이다.

서독에서는 대부분의 제품들이 첨가된 과즙을 함유하고 있다. 덴마크에는 A-38 제품이 개발되어 있는데 이것은 90%의 Yoghurt 함량과 10%의 *Lactobacillus acidophilus*의 비율로 되어 있다. 최근에 미국에서는 Acidophilus Yoghurt를 개발하였는데 높은 산도와 강한 산미를 극복하기 위하여 초코렛, 커피, 딸기, 혹은 레몬등이 함께 첨가된다. Acidophilus Yoghurt는 3구름으로 구분할 수 있는데 (a) 과즙의 첨가 또는 순수한 yoghurt (b) 건강 Yoghurt로서 우유, 식물성 기름, 토마도쥬스, 이스트抽出物, 그리고 과즙등의 첨가로 만들어진 Yoghurt와 (c) 낮은 산도의 Yoghurt로서 숙성기간이 없이 rennet를 이용한 커드속에 *L. acidophilus*를 함유케 하는것 등이다.

### 스윗트애시도필러스밀크

*L. acidophilus*가 유산균중에서 사람에게 가장 좋은 치료효과를 나타내면서 유제품으로서 각광을 받지 못하고 그 생산이 저조한 것은 그것의 성장특성이 초기에 느려서 다른 균주들이 우세하게 자라며 또한 단일균주로 발효시켰을때 그 신맛이 너무 강하여 사람들의 구미에 불쾌감을 주기 때문이다. 이러한 맛의 불쾌감을 없애려는 노력은 곧 제조공정의 복잡성과 영리적 이윤추구에 만족을 가져오지 못한다. 이러한 문제점들을 근본적으로 해결하기 위하여 비발효애시도필러스밀크(nonfermented acidophilus milk)가 개발되었다. 서독에서도 언급한것처럼 1975년에 개발되어 30개 주에서 51개의 유업회사에서 제품을 생산하고 있다. Speck는 약 3,000만 인구에 달하는 미국사람이 우유를 마심으로서 까스와 설사를 일으키고 있다고 보고한바 있다. 이들은 창자속에 Lactase라는 효소

가 결핍되어 있어서 우유속에 있는 유당을 분해하여 소화흡수하지 못한 결과이다.

Theodore Bayless 는 존합킨스의과대학의 위장전문 의사인데 발티모에 사는 흑인 70%, 동양인의 95%, 유태인의 60~70%, 아메리카에 사는 멕시코인의 60% 그리고 아메리카인디안의 80%가 "Lactose-intolerant"로서 창자내 Lactase 부족으로 우유를 정상적으로 마실수 없는 체질이라고 발표하였다. 이러한 체질을 가진 사람에게 Sweet acidophilus milk의 복용은 도움을 주는 것으로 나타났다. 이 제품은 저지방살균유와 *Lactobacillus acidophilus*의 농축칼처로 만들어진다. 그 농축칼처는 서지(Surge)탱크에 있는 살균유에 넣어지고 잘 혼합하여져서 시유와 같은 방법으로 포장되어 4°C 이하에 저장된다. 이 제품은 Sweet acidophilus milk로 불리워지며 일반적으로 배양된 acidophilus milk와는 대조를 이룬다.

Sweet acidophilus milk는 그 맛이 시유와 같으며 그 빛깔도 같은 것이다. 살아있는 *Lactobacillus acidophilus*는 창자의 담즙에 내성을 가지며 1ml당 수백만개가 포함되도록 만든다. 이 우유를 소비한 다음 대변검사를 해본 결과 확실히 lactobacilli가 증가해 보였다.

그리고 계속해서 적당한 양을 먹으면 위장병의 정장에 상당한 효과를 보였다. 즉 고유의 장내세균들 사이에 바람직한 평형을 유지하며 창자내에서 생존하면서 대사를 일으킬 수 있는 *L. acidophilus*의 섭취는 필요한 것이라고 점차 인식되고 있다. 저자는 이와같은 장점을 지니고 있는 Sweet Acidophilus milk의 제품개발을 희망하고 있으며 이것이 함축하고 있는 특효를 충분히 거둘수 있는 우수한 품질의 제품을 소비자에게 공급해야 할 것이다. 왜냐하면 그것이 시유처럼 보이고 시유처럼 동일한 맛이 나기 때문에 소비자들은 그 효능만을 기대하기 때문이다.

## 제조공정

Sweet Acidophilus milk는 시유와 같은 살균유에 농축 또는 동결건조칼처를 첨가하여 잘 혼합하여 만들기 때문에 살균유는 시유 처리와 같은 방법이며 농축칼처는 칼처특별제조회사 등에서 구입하면 된다. Microlife Technics 회사에서 생산하고 있는 냉동농축칼처(FARGO)로부터 Sweet Acidophilus의 공정은 다음과 같다.

1. FARGO 606을 -29°C에서 그 이하 온도에 보관할 것.

2. 100ppm의 Chlorine으로 처리된 38°C의 따뜻한 물에서 완전히 녹인다.

3. 살균전지우유 혹은 脱脂乳를 5°C로 냉각시킨다.

4. FARGO 606을 500gallons 당 170g의 비율로 직접 우유에 첨가한다.(이것은 우유의 quart 당 살아있는 *L. acidophilus*의 20억이상을 함유한다. 혹은 1ml당 500만이상 함유토록 한다).

5. 30분간 서서히 저어서 포장기에 넣는다.

Sinha (1979)등의 보고에 의하면 10일 동안의 저장기간후 80%의 Cell의 생존율을 보였으며 쥐에 실험한 결과 Coliforms를 억압하고 대변에 lactobacilli의 숫적증가를 보였다. 체중도 증가하여 대조구의 쥐는 1일당 6.3g에 비해 실험구의 쥐는 1일당 8.6g의 증가율을 보였다. 혈중 Cholesterol도 대조구보다 실험구에서 낮은 수치를 보였다.

## 참 고 문 헌

1. Farmer, R. E., K. M. Shahani and G. V. Reddy, 1975. Inhibitory effect of yoghurt components, *J. Dairy Sci.*, 58:787.
2. Hamdan, I. Y. and E. M. Mikolajcik, 1974. *Journal of Antibiotic* vol. 27. p.631~636.
3. Hoffman, F. 1937. *Cancer and Diet*, Baltimore, The Williams and Wilkins Co p. 757.
4. Kline, P. R. and D. B. Sabin, 1963. Therapeutic use of acidophilus. *General Practice*, 26:13.
5. Mann, G. V. 1977. A factor in yoghurt which lowers Cholesteremia in man, *Atherosclerosis*, 26:335.
6. Mann, J. C. and E. M. Sperry, 1974. *Amer J. Nutrit.*, 27:464.
7. Metchnikoff, E. 1908. *Prologation of life*, Putnam's Sons.
8. Mikolajcik, E. M. 1975. *Lactobacillus acidophilus* Cultured Dairy products *J.* 26: 341~345.
9. Reddy, G. V., K. M. Shahani and M. R. Banerjee, 1973. Inhibitory effect of yoghurt on Ehrlich ascites tumor cell proliferation, *J. Natl Cancer Inst.* 50:815~817.
10. Rosell, J. M. 1932. Yoghurt and Kefir in their relation to health and therapeutics, *Can. Med. Assoc J.*, 26:341~345.
11. Sinha, D. K. 1979. Development of unfermented acidophilus milk and its properties. Ph. D. thesis Univ. Nebraska.