

## 요구르트와 유산균에서의 Lactase Activity

이 광 희

대구전문대학 식품영양학과

### Lactase activity in yoghurt and lactic acid bacteria

Kwang-Hee Lee

Dept. of Food Science and Nutrition, Daegu Junior College, Kyungbuk 702-260, Korea

#### Abstract

Individual starter culture were inoculated into liquid medium and incubated at 40°C for 16 hours. Whole cell were obtained and evaluated for  $\beta$ -galactosidase activity using ortho-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside (ONPG) as substrate. *S. thermophilus* had more  $\beta$ -galactosidase activity than other Lactobacilli did. To study the effect of storage temperature on enzyme activity of yoghurt, some samples of cultured yoghurt were stored under refrigeration (4°C), and the others under room temperature (23°C). At 4°C, yoghurt had  $\beta$ -galactosidase activity and many viable bacteria in 1 month. After 20 days, yoghurt had maximum  $\beta$ -galactosidase activity. At 23°C, yoghurt had  $\beta$ -galactosidase activity by 5 days. As this experiment shown  $\beta$ -galactosidase activity was ascribed to viable bacteria, especially *S. thermophilus*. Commercial yoghurt had lower  $\beta$ -galactosidase activity. There were considerable variations with regard to the lactose hydrolyzing capabilities of commercial yoghurt samples.

**Key words** ;  $\beta$ -galactosidase activity, yoghurt, yoghurt culture.

#### 서 론

유럽인들에게는 우유에서 lactose를 분해하는 것은 문제가 되지 않으나 유럽인을 제외한 거의 많은 사람들은 "lactose intolerance"의 증상을 나타내며 이들은 lactose를 분해하는데 꼭 필요한 효소인  $\beta$ -galactosidase를 합성할 수 있는 능력을 잃어버리게 되었기 때문이다<sup>1-4</sup>.

그러므로 많은 학자들은 우유보다는 발효유제품들이 더 잘 소화될수 있다는 것을 증명하였고 다음 Fig. 1은 lactose가 어떤 과정을 통해 분해되어 지는가를 보여주고 있다<sup>5-7</sup>.

Fig. 1에서 보는 첫번째 방법은 Tagatose-6-P pathway라 하고 두번째 방법을 Leloir pathway라 하며

작용하는 효소들은 P- $\beta$ -galactosidase와  $\beta$ -galactosidase라 하는데 몇몇 세균들은 이 두개의 효소들을 가지고 있어 두 방법으로 분해될수 있는 반면 어떤 세균들은 한 효소만을 지니고 있다.

본 실험자는 여러 실험과 자료들을 통해 yoghurt의 culture인 *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus*가 단지  $\beta$ -galactosidase만을 가지고 있다는 것을 확인하고 그 활성도를 측정하고자 하였다.

#### 재료 및 방법

##### 사용균주

균주로는 연구소(Institute für Mikrobiologie Bunde-

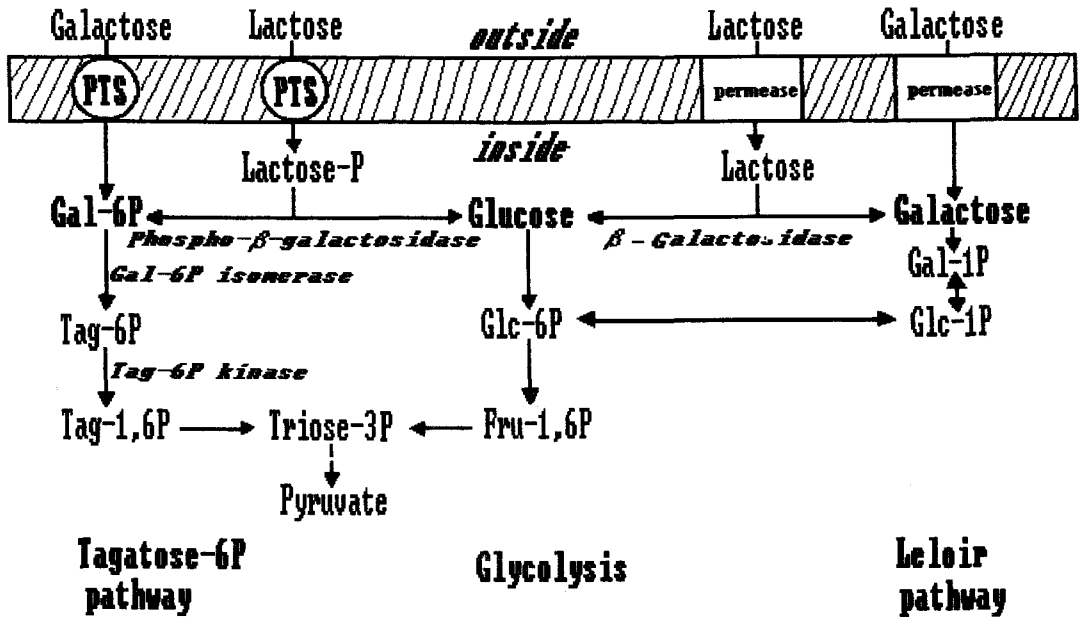


Fig 1. Scheme of lactose and galactose uptake and dissimilation in some lactic acid bacteria.

sanstalt für Milchwissenschaft)에서 제공한 4종의 *S. thermophilus* G 10, 55, 50, 47과 *L. bulgaricus* 3039, *L. lactis* 3045, *L. acidophilus* 3051, *L. helveticus* 3034를 사용했다. 이들 균주들을 각각 MRS broth와 M17 broth<sup>8-10)</sup>에 접종하였으며 40°C에서 16시간 동안 부란시킨 후에 그들의 cell을 얻었다.

**Yoghurt의 제조**

실험에 사용한 yoghurt는 우유에 3%의 starter culture를 접종하여 4시간 동안 42°C에서 발효시킨 후 pH가 4.6 정도일때 사용했다.

**Lactase activity 측정**

유산균에서 얻은 cell의 activity<sup>11-14)</sup>를 측정할 때는 buffer로 0.2 N natrium-calcium-phosphate를 pH 7.25<sup>15, 16)</sup>로 사용했고 substrate로 0.01M ortho-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside를 사용했으며 종료시 약으로는 1M sodium-carbonate를 사용했다. Yoghurt에서 얻은 균주의 activity 측정시는 yoghurt 자체의 지방과 단백입자를 제거키 위해 chloroform과 iso-amylalcohol을 26:1로 섞은 용액을 넣어 원심분리 후 사용했다. 종료후 spectrometer를 사용하여 420nm에서 흡광도를 측정했다.

**결과 및 고찰**

*S. thermophilus*<sup>13, 14)</sup>와 *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*를 각각 liquid medium에 접종하여 얻은 cell로 β-galactosidase activity를 측정했다(Fig. 2, 3).

1975년 Kilara 등<sup>3)</sup>의 논문에 따르면 yoghurt culture중에 *S. thermophilus*가 *L. bulgaricus*보다 5~10배의 β-galactosidase activity를 보여주고 있다. 본 실험에서도 *Lactobacillus*속의 균주들이 현저히 낮은 활성도를 보이고 있다. 제조한 yoghurt를 저장온도에 따른 차이를 보기 위해 냉장상태(4°C)와 실온에 한달동안 저장하여 β-galactosidase activity, pH와 생균수를 측정하였다(Fig. 4, 5).

4°C에서 냉장보관한 yoghurt는 실험의 말기에까지도 대체적으로 높은 β-galactosidase activity와 생균수를 보여주고 있다. 또한 20일 후쯤에 β-galactosidase activity와 생균수가 각각 최대치를 나타냈으며 그후로는 떨어지는 경향을 나타냈다. 이런 결과들로 미루어 β-galactosidase activity는 생균수, 특히 *S. thermophilus*의 생균수에 따라 강하게 영향을 받고 있음을 알 수 있었다. 실온에 저장했던 yoghurt에 있어서는

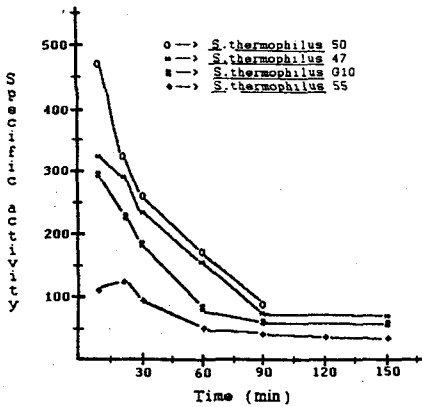


Fig. 2.  $\beta$ -Galactosidase activity of *S. thermophilus* growth in broth.

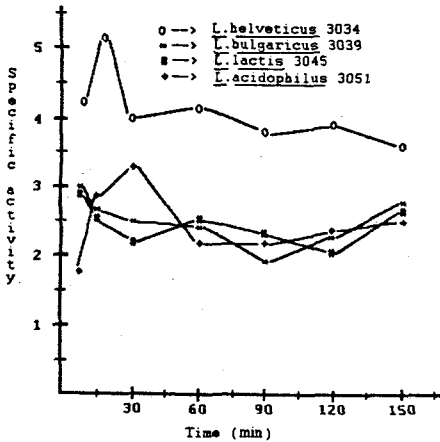


Fig. 3.  $\beta$ -Galactosidase activity of *Lactobacillus* growth in broth.

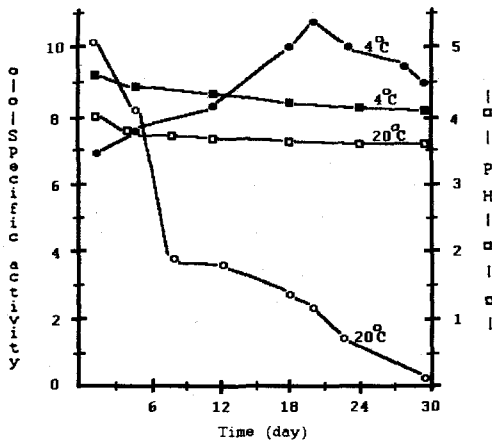


Fig. 4. pH and  $\beta$ -galactosidase activity in yoghurt stored at 4°C and 20°C.

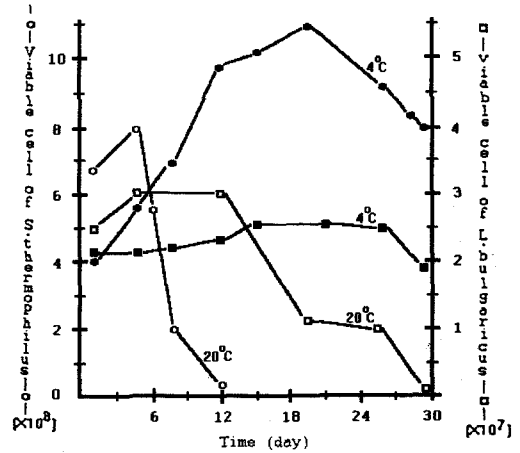


Fig. 5. Survival of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* in yoghurt.

생균수와  $\beta$ -galactosidase activity는 5일 정도까지 측정 가능했으며 실험말기에는 activity를 측정할 수가 없었다. *S. thermophilus*의 생균수는 12일이 경과한 후로는 거의 활성이 소실되었고 반면 *L. bulgaricus*의 생균수는 계속 저하되기는 하나 실험말기까지도 효소 활성을 나타내었다. 이런 사실로 미루어  $\beta$ -galactosidase activity는 *S. thermophilus*와 많은 상관이 있음을 알 수 있었다.

$\beta$ -Galactosidase의 최적 pH범위에 관한 시도들이 많이 있었다<sup>15,16</sup>. 1961년 Wasserman 등은 yeast-lactase는 pH 6.3~6.4에서 가장 높은 활성도를 보인다고 보고했고, 1959년 Wallenfels 등은 *E. coli*의 lactase 최적 pH범위를 5.7~5.9라고 보고했다. 본 실험에서는 최적 pH를 5~6으로 결정했는데 그 이유는 실험재료상 buffer의 pH가 7.25이고 yoghurt의 pH가 4.6정도이므로 더 높은 pH 범위의 설정이 불가능했기 때문이었다.

시중에 판매되는 6개 종류의 yoghurt를 구입하여 activity를 측정한 결과 냉장보관을 선조건으로 하여 실험실에서 제조한 yoghurt의  $\beta$ -galactosidase activity의 최고수준인 20일을 전후하여 반정도의 수준이었다(Table 1). 이는 상품으로 yoghurt 제조시에 많은 요인들이 작용할 것으로 여겨진다.

요 약

본 실험은 yoghurt와 yoghurt culture에서의  $\beta$

**Table 1. pH, specific activity and viable starter culture in commercial yoghurt**

Sample	A	B	C	D	E	F
pH	4.14	4.10	4.58	4.55	4.30	4.21
Specific activity	3.25	3.18	3.30	3.40	5.80	4.00
Survival of <i>S. thermophilus</i> (counts/ml)	$2.38 \times 10^9$	$2.68 \times 10^9$	$5.20 \times 10^8$	$2.20 \times 10^8$	$6.60 \times 10^8$	$5.20 \times 10^8$
Survival of <i>L. bulgaricus</i> (counts/ml)	$3.0 \times 10^6$	$4.0 \times 10^6$	$3.3 \times 10^7$	$2.1 \times 10^7$	$5.1 \times 10^7$	$1.0 \times 10^8$

galactosidase의 활성도를 측정하였다. Liquid medium에서 자란 yoghurt culture의  $\beta$ -galactosidase의 활성도는 *S. thermophilus*가 *Lactobacillus*에 비해 5~10배 높은 것으로 나타났으며 제조 yoghurt를 저장온도에 따른 차이를 실험한 결과 냉장보관(4°C)시 한달 정도까지는 효소활성도와 생균수를 보전함을 볼 수 있었으나 실온저장시는 5일 정도 밖에 효소활성도와 생균수를 유지하지 못했다. 실험을 통해  $\beta$ -galactosidase activity는 생균수와 비례함을, 특히 *S. thermophilus*의 생균수와 비례함을 알수 있었다. 시판 yoghurt와의 비교실험에서는 활성도와 생균수에 있어서 반정도의 수준도 못 미침을 알수 있었는데 이는 다음호에 계속 될 여러 요인들에 기인함을 짐작케 한다.

문 헌

- Hourigan, J. A. and Mittal, S. B. : Milk intolerance due to lactose and the role of lactose hydrolysed milk products in combating the consequences. *Indian J. Dairy Sci.*, **37**, 4(1984)
- Stanley E. G. and Kim, H. S. : Effect of viable starter culture bacteria in yoghurt on lactose utilization in humans. *J. Dairy Sci.*, **67**, 1(1984)
- Kilara, A. and Shahani, K. M. : Lactose activity of cultured and acidified dairy product. *J. Dairy Sci.*, **59**, 2031(1982)
- Pomeranz, Y. : Possibilities in the food industries. *Food Technology*, **96**, 690(1964)
- Donald, L. B. and Anderson, R. L. : Lactose and D-galactose metabolism in group N *Streptococci*. *J. Bacteriology*, **117**, 318 (1974)
- Tinson, W., Hillier, A. J. and Jago, G. R. : Metabolism of *Streptococcus thermophilus*. *The Australian J. Dairy Technology*, p. 8(1982)

- Kandler, O. : Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, **49**, 209 (1983)
- Mckay, L., Miller, A., Sandine, W. E. and Elliker, P. R. : Mechanisms of lactose utilization by lactic acid *Streptococci*. *J. Bacteriology*, **102**, 804 (1970)
- Greenberg N. A., Wilder, T. and Mahoney, R. R. : Study on the thermostability of lactase in milk and sweet whey. *J. Dairy Research*, **52**, 439 (1985)
- Citti, J. E., Sandine, W. E. and Elliker, P. R. :  $\beta$ -Galactosidase of *Streptococcus lactis*. *J. Bacteriology*, **89**, 937(1965)
- Tinson, W., Ratcliff, M. F., Hillier, A. J. and Jago, G. R. : Metabolism of *Streptococcus thermophilus*. *The Australian J. Dairy Technology*, p. 17(1982)
- Tinson, W., Broome, M. C., Hillier, A. J. and Jago, G. R. : Metabolism of *Streptococcus thermophilus*. *The Australian J. Dairy Technology*, p. 14(1982)
- Pomeranz Y. : Occurrence and properties. *Food Technology*, p. 88(1964)
- Lin, W. J., Savaiano, D. A. and Harlander, S. K. : A method for determining  $\beta$ -galactosidase activity of yoghurt cultures in skim milk. *J. Dairy Sci.*, **70**, 99(1987)
- Denes, G. : Enzyme repression as the control mechanism in the synthesis of induced  $\beta$ -galactosidase. *Nature*, Dec., 3 (1960)
- Muller, J. H. : *Experiments in molecular genetics*. Cold Spring Harbor Laboratory, p. 351(1972)
- Hamann, W. T. and Marth, E. H. : Survival of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in commercial and experimental yoghurt. *J. Food Protection*, **47**, 781(1984)

(1991년 10월 21일 접수)