

## 산성조건하에서 시판요구르트의 유산균 생존률과 $\beta$ -galactosidase의 활성도

신용서<sup>1\*</sup> · 성현주<sup>1</sup> · 김동한<sup>2</sup> · 이갑삼<sup>1</sup>

<sup>1</sup>원광대학교 농화학과, <sup>2</sup>목포대학교 식품영양학과

**초록** : 국내에서 시판되는 요구르트(plain)의 이화학적 특성 및 산성조건하에서의 유산균의 생존률과  $\beta$ -galactosidase의 활성도를 측정하였다. pH는 3.71~4.08범위, 적정산도는 0.990~1.045%, 점도는 256~3,164 cps 범위였으며, 유산균수는  $10^{8-9}$  cfu/ml로 규정보다 높았다. 완충능은 요구르트(50 ml)의 고유 pH값에서 -2의 pH값까지 적정하는 데 소비된 1.0 M-HCl의 량으로 3.58~4.33 ml였다. 산성조건하에서 유산균의 생존율은 pH 3.5에서는 2시간 동안 거의 변화가 없었으며, pH 2.5, 1.5에서는 각각  $3.5 \times 10^{-2}$ ~ $3.6 \times 10^{-1}\%$ ,  $8.3 \times 10^{-5}$ ~ $4.2 \times 10^{-3}\%$  범위였다.  $\beta$ -galactosidase활성은 120분 후에 pH 3.5에서는 큰 변화가 없었으며, pH 2.5, 1.5에서  $\beta$ -galactosidase의 잔존활성은 각각 9.4~36.2%, 4.2~19.0% 범위로 나타났다. 이상의 결과로 요구르트를 섭취하였을 때 유산균은 위산에 노출되어 극히 그 일부만이 장내에 도달할 수 있을 것이라고 판단되며,  $\beta$ -galactosidase는 유산균의 세포벽이나 세포막 및 요구르트에 포함된 무기고형분의 보호를 받아 그 활성을 어느정도 유지할 수 있으리라 사료된다(1994년 3월 30일 접수, 1994년 5월 12일 수리).

### 서 론

요구르트는 그 기원이 발칸반도와 중동지역으로 우유를 유산균으로 발효시켜 산미와 향미를 강화시킨 발효유의 일종이다. 이러한 요구르트의 식품·영양학적인 효과로는 원료인 우유 성분의 효과, 유산균의 대사산물(젖산, 펩톤, 펩티드, 미량활성물질)의 효과 그리고 살아있는 유산균의 장내 증식에 의한 정장작용의 효과 등이 있다.<sup>1,2)</sup> 특히 유산균의 장내증식의 효과로는 장내 병원균의 생육억제, 혈청 콜레스테롤의 감소, 유당 소화효수의 촉진 그리고 대장암 발생률의 저하 등이 있다.<sup>3-6)</sup> 그러나, 유산균이 살아있는 상태로 장내에 도달하기 위해서는 먼저 염산과 각종 효소가 존재하는 위를 통과해야만 한다. 이러한 위의 pH 범위는 대단히 큰 변화성(pH 1.0~8.0)을 가지며, 특히 음식물을 섭취 하였을 때 위산이 분비되어 크게 떨어진다. 따라서 섭취된 유산균은 위산에 노출되어 그 중 많은 수가 사멸하게 된다.<sup>7)</sup> 유산균이 분비하는  $\beta$ -galactosidase(EC.3.2.1.23)는 세포내에서 유당을 D-glucose와  $\beta$ -D-galactose로 분해하는 endoenzyme으로 장내에 이 효소가 부족하면 우유를 섭

취하였을 때 유당불내증을 일으키며, 이러한 현상은 아프리카인이나 동양인들에게 흔히 나타나고 있다. 따라서 유당소화장애자의 경우에 다른 유제품에 있는 유당보다는 요구르트에서 유당을 섭취하는 것이 더 효과적이다.<sup>1,5)</sup> 또한  $\beta$ -galactosidase는 위를 통과할 때 젖산균의 세포막이나 세포벽의 보호작용에 의해 비교적 산변성이 많이 일어나지 않아 장내에서 어느 정도 활성을 유지할 수 있다.<sup>8)</sup>

한편, 국내에서 시판되고 있는 요구르트의 품질특성에 대한 연구<sup>9,10)</sup>가 일부 진행되어 왔으나 젖산균과  $\beta$ -galactosidase의 내산성에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 시중에 유통되고 있는 농후발효유를 선정하여 이들의 이화학적 특성 및 산성조건하에서의 젖산균의 생존율과  $\beta$ -galactosidase활성도를 비교 검토하였다.

### 재료 및 방법

#### 요구르트

국내시장에서 시판되고 있는 4개사의 농후발효유

Key words : yogurt, lactic acid bacteria,  $\beta$ -galactosidase, acidic condition

\*Corresponding author : Y.-S. Shin

(plain, drinking type)를 제조일자가 같은 것으로 각 대리점에서 직접 구입하였다.

#### 이화학적 특성 및 생균수 측정

pH는 pH meter(Orion SA 720)로 측정하였고, 산도는 요구르트 10 g에 증류수 40 ml를 가한 후 0.1N-NaOH로 pH 8.1까지 적정하여 젖산으로 환산하였다.<sup>11)</sup> 생균수는 BCP배지(Eiken사, Japan)를 이용하여 희석평판법으로 37°C에서 72시간 배양한 후 황색 콜로니를 계수하였다.<sup>2)</sup> 완충능은 요구르트 50 ml를 고유의 pH값에서 -2까지는 1.0 M-HCl, +4까지는 1.0 M-NaOH으로 적정하여 소비된 양으로 하였다.<sup>12)</sup> 점도는 요구르트를 250 ml 비이커에 200 ml씩 담아 8~9°C로 유지 하면서 Brookfield viscometer(Model DV-II)의 3번 spindle로 4분에서 8분까지 1분 간격으로 측정하여 평균치로 하였다.<sup>13)</sup> 이상의 결과에서 시험구간의 유의성 차는 다중검정(Ducan's multiple range test)하였다.

#### 유산균의 생존율 측정

산성 조건하에서 유산균의 생존율을 측정하기 위해 시판 요구르트를 1N-HCl로 pH 3.5, 2.5, 1.5로 조정하여 37°C의 항온기에서 2시간 동안 배양하면서 30분마다 시료를 취하여 희석(0.1 M 인산완충용액, pH 7.0) 평판법으로 생균수를 측정하였다.<sup>8)</sup>

#### $\beta$ -galactosidase활성도 측정

유산균의  $\beta$ -galactosidase활성도를 측정하기 위해 pH 조정액(pH 3.5, 2.5, 1.5) 10 g을 0.1 M 인산완충용액(pH 7.0)으로 10배 희석한 후 세포벽을 파괴하기 위해 ice-bath상에서 10분간 초음파 처리(Danbary model LC 500, 16 KHz)하여 조효소액으로 하였다. 기질은 o-nitrophenyl- $\beta$ -galactopyranoside(ONPG)를 0.1 M 인산완충용액(pH 7.0)에 5 mM되게 용해시켜 사용하였다. 준비된 기질 5 ml에 조효소액 1 ml를 가하고 37°C의 water bath에서 15분간 반응시킨 후 1M-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2.5 ml로 반응을 정지시킨 다음 유리된 o-nitrophenol을 420 nm에서 비색 정량하였다.  $\beta$ -galactosidase활성은 1 g의 시료에서 1분간 ONPG로부터 1  $\mu$ mole의 o-nitrophenol을 유리할 때 1 unit로 하였다.<sup>8,14)</sup>

### 결과 및 고찰

#### 이화학적 특성 및 생균수 비교

국내에서 시판되고 있는 농후요구르트(plain, drinking

type)의 이화학적 특성과 생균수를 검토한 결과는 Table 1과 같다.

즉 4개사의 요구르트의 pH는 3.71~4.08범위로 나타났다. D사제품이 3.71로 특히 낮았다. 이는 이 등<sup>15)</sup>의 한국인이 선호하는 요구르트의 pH는 3.7~4.2이라는 보고와 일치하고 있다. 적정산도는 0.990~1.045%범위로 고 등<sup>16)</sup>의 set요구르트의 적정산도는 1.0~1.1%일 때 가장 좋은 품질을 나타낸다는 보고와 유사하였다. 한편 D사 제품은 pH가 가장 낮았음에도 불구하고 타사(B사 제외)에 비해 적정산도가 낮았는데, 이는 Table 2에 나타난 것과 같이 완충능이 비교적 적기 때문인 것으로 사료된다. 점도는 256~3,164 cps로 A사의 경우 3,164 cps로 타사에 비해 유의적으로 높았는데, 이는 발효기질의 총고형분 함량, 제조시 기계적 충격(pumping, agitation), 안정제 첨가 그리고 사용균주 등의 복합적인 요인들의 차이<sup>1)</sup>라 사료된다. 생균수는  $1.2 \times 10^8 \sim 2.0 \times 10^9$  cfu/ml로 모두 규정유산균수<sup>17)</sup> 보다 높은 수준을 유지하고 있다.

#### 완충능의 비교

Table 1. Physico-chemical properties and viable cell counts of the commercial yogurt<sup>1)</sup>

Commercial yogurt	pH	Titratable acidity(%)	Viscosity (cps)	Viable cell count(cfu/ml) <sup>3)</sup>
A	3.92 <sup>b2)</sup>	1.031 <sup>b</sup>	3,164 <sup>a</sup>	$5.6 \times 10^8$
B	4.08 <sup>a</sup>	0.990 <sup>d</sup>	762 <sup>b</sup>	$1.3 \times 10^9$
C	4.05 <sup>a</sup>	1.045 <sup>a</sup>	256 <sup>d</sup>	$2.0 \times 10^9$
D	3.71 <sup>c</sup>	1.021 <sup>c</sup>	650 <sup>c</sup>	$1.2 \times 10^8$

<sup>1)</sup>Drinking type yogurt, <sup>2)</sup>Mean values of triplications and values with different letters in the same column are significantly different ( $P < 0.05$ ) <sup>3)</sup>Mean values of triplications.

Table 2. Buffering capacity<sup>1)</sup> of the commercial yogurt

Commercial yogurt	Proper pH	Proper pH-2.0	Proper pH+4.0
A	3.92	4.12 ml of HCl	3.25 ml of NaOH
B	4.08	4.33	3.40
C	4.05	4.13	3.35
D	3.71	3.58	3.19

<sup>1)</sup>Volume (ml) of 1.0 M-HCl or 1.0M-NaOH required to alter the pH of 50 ml of yogurt and mean values of triplications.

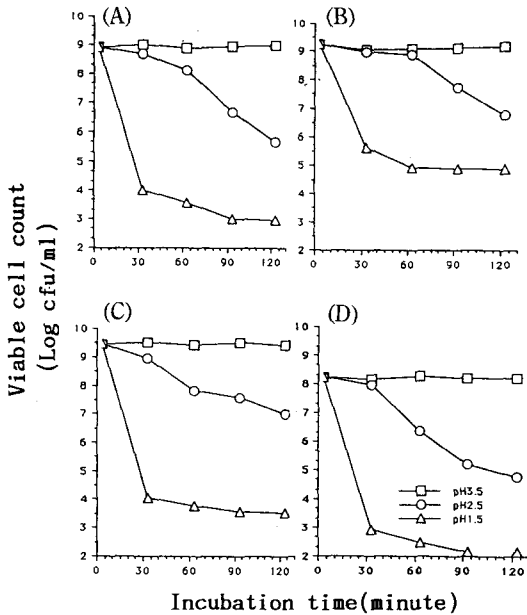


Fig. 1. Survival rate fo lactic acid bacteria during the incubation of commerical yogurts (A, B, C, D) under the acidic conditions.

시판농후 요구르트의 완충능을 측정한 결과는 Table 2와 같다.

시판요구르트를 고유 pH값에서 -2의 pH값까지 1.0 M-HCl로 적정하여 소비된 량을 보면 B사가 가장 높아 4.33 ml이며, D사가 3.58 ml로 가장 낮았다. 이는 각 회사마다 요구르트제조시에 원료의 성분비, 총고형분 함량 그리고 발효조건이 다르기 때문인 것으로 생각된다. 또한 고유 pH값에서 +4의 pH값까지 적정하여 소비된 1.0 M-NaOH의 량은 HCl소비량과 같은 경향을 나타내어 B사가 3.40 ml로 가장 높았으며, D사가 3.19 ml로 가장 낮았다. 한편 요구르트의 완충능은 전유보다 2.7배 높은 것으로 보고<sup>12)</sup> 되었으며, 원료인 우유성분(유단백질, 인산염)의 함량과 유산균의 대사산물에 의해 달라지거나 완충능이 높은 것일수록 보다 많은 유산균이 살아있는 상태로 장내에 도달할 수 있고, 효소활성의 잔존활성도 향상시킬 수 있어 요구르트의 정장작용의 효과를 증대 시킬수 있을 것이다.

**산성조건하에서 유산균의 생존율**

pH 3.5, 2.5, 1.5로 조정된 시판요구르트를 37°C의 항온기에 배양하면서 2시간 동안 경시적으로 측정한 유산균의 생존율은 Fig. 1과 같다.

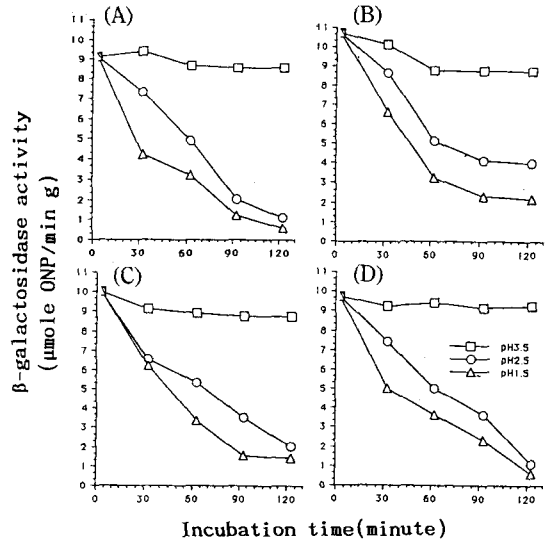


Fig. 2. Changes of  $\beta$ -galactosidase activity in sonicated commerical yogurts (A, B, C, D) under the acidic conditions.

pH 3.5에서는 4개사 제품 모두가 2시간 동안 유산균의 사멸없이 일정한 수준을 유지하였으나, pH 2.5에서는 배양시간이 경과함에 따라 서서히 감소하는 경향을 보였으며, A사의 경우 초기균수 8.75 log cycle에서 배양 2시간만에 5.51 log cycle까지 감소하여 0.057%의 생존율을 나타내었다. B사는 배양초기 60분까지는 유산균의 사멸이 거의 나타나지 않았으며 그 이후에 급격히 감소하여 배양 2시간 만에 초기균수 9.11 log cycle에서 6.60 log cycle를 보여 0.310%의 생존율을 나타내었다. C사의 경우 초기균수 9.30 log cycle에서 6.86 log cycle로 감소하여 0.360%의 생존율을 보여 4개사 중 가장 높게 나타났다. D사는 초기균수 8.08 log cycle에서 4.62 log cycle로 감소하여 0.035%의 생존율을 나타내었다. Hood<sup>7)</sup> 등은 *Lactobacillus acidophilus*를 pH 2.0로 조정된 MRS 배지에서 37°C로 배양하였을 때, 45분 경과 후 모든균은 사멸한다고 보고하여 본 실험의 결과와 상이하였는데, 이는 Giannella<sup>18)</sup>의 위의 산성조건하에서 균의 사멸은 균과 같이 섭취한 식품의 물리적 보호작용에 따라 달라진다는 보고와 비교해볼 때, 기질인 MRS배지와 요구르트의 차이에 기인한 것으로 사료된다. pH 1.5에서 생존율은 배양 30분만에 급격히 감소하였고, 그 이후로는 완만히 감소하는 경향을 보여 배양 2시간 만에 A, B, C, D사의 생존수와 생존율은 각각 2.791 log cycle(생존율:  $1.1 \times 10^{-4}\%$ ), 4.73 log cycle(생존율:  $4.2 \times 10^{-3}\%$ ),

3.36 log cycle(생존율:  $1.2 \times 10^{-4}\%$ ), 2.0 log cycle(생존율:  $8.3 \times 10^{-5}\%$ )로 나타났다. 이는 pH 1.5에서 *Streptococcus thermophilus*를 2시간 동안 배양한 후 생균수가 7.88 log cycle에서 0.60 log cycle(생존율:  $5.3 \times 10^{-5}\%$ )로 감소한다는 보고<sup>9)</sup>와 유사하였고, 위에서의 유산균 생존율은 거의 위액의 pH에 의해 좌우된다<sup>20)</sup>고 볼 때 섭취된 요구르트의 유산균은 위산에 의하여 상당량 사멸될 것으로 판단된다.

#### β-galactosidase활성 비교

시판요구르트의 β-galactosidase활성을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다.

pH 3.5에서 A사와 D사의 β-galactosidase활성은 배양 2시간 동안 큰 변화가 없이 일정한 수준을 유지하였으나 B, C사는 약간 감소하여 2시간 후 각각 81.0%, 86.7%의 잔존활성을 나타내었다. pH 2.5에서는 배양 60분 후 효소활성은 약 50% 전후로 감소하였으며, 2시간 후에 A, B, C, D사의 잔존활성은 각각 10.1, 36.2, 18.4, 9.4%를 나타내어 B사가 가장 높은 잔존활성을 보였다. B사가 유산균 생존율이 높았던 결과로부터 유추해 보면 유산균의 생존율이 높은 것이 β-galactosidase의 잔존활성도 높은 것으로 생각된다. 또한 Shan<sup>9)</sup> 등의 pH 2.5에 유산균의 β-galactosidase활성을 측정하였을 때 60, 120분 후 잔존율이 각각 36.4, 30.3%인 보고는 B사의 경우 유사하였다. pH 1.5에서 효소활성은 배양 30분 동안 급격히 감소하여 약 50%의 잔존활성을 나타내었으며 2시간 후 A, B, C, D사의 잔존활성은 각각 4.5, 19.0, 12.2, 4.2%로 pH 2.5에서와 같이 B사가 가장 높았다. 이를 유산균의 생존율(pH 2.5:  $3.5 \times 10^{-2} \sim 3.6 \times 10^{-1}\%$ , pH 1.5:  $8.3 \times 10^{-5} \sim 4.2 \times 10^{-3}\%$ )과 비교하면 상당히 높은 것으로 산성 조건하에서 많은 수의 유산균이 사멸하여도 β-galactosidase활성은 상당히 유지됨을 알 수 있다. 이는 산성 조건하에서 유산균이 사멸하여도 β-galactosidase는 유산균의 세포막이나 세포벽의 보호작용을 받아 산변성이 비교적 적게 일어난다는 보고<sup>9)</sup>와 일치하고 있다.

#### 참 고 문 헌

- Tamine, A. Y. and Robinson P. K. (1985) In 'Yogurt: Science and Technology', Chap. 4.5, Pergamon press, New York, U. S. A.
- 신용서, 이갑상, 김동한 (1993) 고구마와 호박을 첨가한 요구르트의 제조에 관한 연구, 한국식품과학회지, 25, 666-671
- 이완규 (1993) 건강식품과 장내미생물, 미생물과 산업, 19, 33-37
- Robinson, I. M., Whipp, S. C. Bucklin J. A. and Allison M. J. (1984) Characterization of predominant bacteria from the colons of normal and dysenteric pigs, Appl. Environ. Microbiol., 33, 79-82
- Savaiano, D. A., Abou A. El Anouar, Smith D. E. and Levitt M. D. (1984) Lactose malabsorption from yogurt, pasteurized yogurt, sweet acidophilus milk, and cultured milk in lactose-deficient individuals, Am. J. Clin. Nutr., 40, 1219-1223
- 강국희 (1990) 제암효과, '유산균 식품학', p. 309-315, 성균관대학교 출판부, 서울
- Hood, S. K and Zottola E. A. (1988) Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells, J. Food Sci., 53, 1514-1516
- Shan, N. and Jelen P. (1990) Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions, J. Food Sci., 55, 506-509
- 김연경 (1990) 국산 농후 Yogurt의 품질 및 저장 중의 이화학적 성질 변화에 관한 연구, 성균관대학교 석사학위 논문
- 김문숙, 안은숙, 신동화 (1993) 시판 요구르트의 특성 비교 연구, 한국식품과학회지, 25, 340-344
- Collins, J. L., Ebah, C. B. Mount, J. R. Demott B. J. and Draughon F. A. (1991) Production and evaluation of milk-sweet potato mixtures fermented with yogurt bacteria, J. Food Sci., 56, 685-688
- Martini, M. C., Bollweg, G. L. Levitt, M. D. and Savaiano D. A. (1987) Lactose digestion by yogurt β-galactosidase: influence of pH and microbial cell integrity, Am. J. Clin. Nutr., 45, 432-436
- 김경희, 고영태 (1993) 우유와 곡류를 이용한 요구르트의 제조, 한국식품과학회지, 25, 130-135
- Ramana Rao, M. V. and Dutta S. M. (1981) Purification and properties of beta-galactosidase from *Streptococcus thermophilus*, J. Food Sci., 46, 1419-1423
- 이재성, 한관주, 서기봉 (1972) 두유를 이용한 변형 요구르트의 제조에 관한 연구, 한국식품과학회지, 4, 194-199
- 고준수, 양부근, 안종건 (1991) 반고체형 Set yogurt 제조에 관한 연구, 한국낙농학회지, 4, 129-132 (1982)
- 보사부 식품공전, p. 97, 한국식품공업협회, 서울
- Giannella, R. A., Broitman S. A. and Zamcheck N. (1972) Gastric acid barrier to ingested microorganisms in man: Studies *in vivo* and *in vitro*, Gut, 13, 251-256

19. Kilara, A. and Shahani K. M. (1975) Lactase activity of cultured and acidified dairy products, *J. Dairy Sci.*, 59, 2031-2035
20. Franklin, M. A. and Skoryna S. C. (1971) Studies on natural gastric flora, *C.M.C.J.*, 105, 380-386

---

### Survival Rate of Lactic Acid Bacteria and the Change of $\beta$ -Galactosidase Activity in Commercial Yogurts Under the Acidic Conditions

Yong-Seo Shin<sup>\*</sup>, Hyun-Ju Sung<sup>1</sup>, Dong-Han Kim<sup>2</sup>, and Kap-Sang Lee<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Department of Agricultural Chemistry, Wonkwang University, Iri Chonbuk 570-749, Korea, <sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Mokpo National University, Chonnam Mokpo 530-830, Korea)

**Abstract** : Four samples of commercially manufactured yogurts (plain, drinking type) were purchased and evaluated their physico-chemical properties, buffering capacity. And the survival rate of lactic acid bacteria and their  $\beta$ -galactosidase activity under the acidic conditions (*in vitro*) were investigated. The values of pH, titratable acidity, viscosity and viable cell counts of yogurts were 3.71~4.08, 0.990~1.045%, 256~3164 cps. and  $10^8$ ~ $10^9$  cfu/ml, respectively. The volume of 1.0 M-HCl required to reduce the pH of yogurt (50 ml) to minus 2 value was 3.58~4.33 ml. When commercial yogurts were incubated at 37°C for 120 minutes under the acidic conditions (pH 3.5, 2.5, 1.5), the survival rates of lactic acid bacteria in yogurt were  $3.5 \times 10^{-2}$ ~ $3.6 \times 10^{-1}$ % at pH 2.5,  $8.3 \times 10^{-5}$ ~ $4.2 \times 10^{-3}$ % at pH 1.5, respectively, but there was no significant difference at pH 3.5. The remaining activities of  $\beta$ -galactosidase were 9.4~36.2% at pH 2.5, 4.2~19.0% at pH 1.5, respectively. These results suggested that a significant number of lactic acid bacteria in yogurt might be destroyed in the hostile environment of the stomach, but  $\beta$ -galactosidase activity from yogurt might be somewhat maintained probably due to the protecting effect by its cell wall and membrane.