

# 乳酸菌飲料에서 分離한 *Lactobacillus casei*의 貯藏溫度別 菌數 및 pH의 經時的 變化 觀察

\*서울대학교保健大學院 · \*\*建國대학교畜產大學

李 容 旭 · 李 元 暢

## An Observation on the Viability and pH of *Lactobacillus casei* isolated from Yakult.

Young Wook Lee,\* · Won Chang Lee\*\*

\*School of Public Health, Seoul National University

\*\*College of Animal Husbandry, Kon-Kuk University

### Abstract

The authors studied the viability and pH of *Lactobacillus casei* which was isolated from the Yakult in terms of its storage temperature time(days).

The following results have been obtained:

(1) The viability test to *Lactobacillus casei* under storage in 4°C temperature condition in 35 days, has shown that the original population of  $4.0 \times 10^8$  organisms was decreased to  $0.1 \times 10^8$ , under storage in 10°C temperature the organisms to  $0.08 \times 10^8$ , in room temperature the organisms to  $0.009 \times 10^8$ , and in 35°C temperature the organisms to  $0.0009 \times 10^8$ .

The correlation coefficient of storage period (days) and number of bacterial viability were significant as  $r = -0.956$  ( $p < 0.01$ ) in 4°C,  $r = -0.999$  ( $p < 0.01$ ) in 10°C,  $r = -0.975$  ( $p < 0.01$ ) in room temperature and  $r = -0.923$  ( $p < 0.01$ ) in 35°C.

(2) The pH test to *Lactobacillus casei* under storage in 4°C temperature condition for 35 days has shown that the original pH of 3.54 were acidified to 3.35, under storage in 10°C temperature the pH were acidified to 3.20, in room temperature the pH were acidified to 3.15, and in 35°C temperature the pH were acidified to 3.0. The correlation coefficient of variation of pH between storage period (days) and temperature were significant as  $r = -0.972$  ( $p < 0.01$ ) in 4°C,  $r = -0.922$  ( $p < 0.01$ ) in 10°C,  $r = -0.963$  ( $p < 0.01$ ) in room temperature and  $r = -0.953$  in 35°C.

### 緒 論

乳酸菌은 1857年 Louis Pasteur에 依하여 變質된 牛乳中에서 發見되었지만 이미 人類의 食生活에 있어서 乳酸菌醱酵食品과는 오랫동안 密接한 關係를 맺어왔으며 現代科學化에 따른 食生活改善에 이와 같은 乳酸菌醱酵食品은 重要的 位置를 차지해 왔다.<sup>(1)</sup>

即, 우리나라의 경우 主副食인 김치나<sup>(2)</sup>, 西歐民들의 Cucumber pickle, Sauerkraut는 乳酸菌醱酵의 野菜이고, Cheese, Yoghurt 또는 Yakult는 牛乳의 乳酸菌

醱酵食品이다.<sup>(3)</sup>

이와 같이 乳酸菌이 注目을 끈 것은 1907年 Pasteur 研究所의 Mechinokov<sup>(4)</sup>가 報告한 「一種의 乳酸菌의 整腸作用에 依한 長壽說」以後로 1940年代以來 全歐美地域에서는 선풍적인 人氣로 乳酸菌醱酵乳가 流行되어 왔다.

특히 이러한 醱酵乳는 人體의 腸疾患인 痢疾, 腸結核, 腸炎 및 肝疾患등에 對한 醫學的인 治療와 豫防法으로 利用되어 왔으며,<sup>(1,4)</sup> 文獻<sup>(5)</sup>에 依하면, 現代美容劑와 같이 古代 「페르샤」 女人들은 乳酸菌醱酵乳를 皮膚美容劑로서 使用하였다는 報告가 있다.

이와 같은 乳酸菌의 醱酵乳가 우리나라에 正式으로 導入된 것은 1973年度부터이며, 이미 상당한 國民이 그들의 保健을 爲하여 飲用하고 있는 바, 著者들은 乳酸菌醱酵乳의 經時的 變化를 觀察하고자 貯藏溫度 菌數와 pH의 變遷을 實驗試圖하였던 바 몇가지 興味있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

### 實驗材料 및 方法

#### (1) 使用菌株

市販되고 있는 乳酸菌醱酵乳(Yakult)에서 分離한 *Lactobacillus casei*를 使用하였다.

#### (2) 培地

乳酸菌의 同定과 增殖培地로는 Bromocresol Purple plus Nutrient Agar로서 그 組成은 Yeast extract 2.5 gm, Bacto-Peptone 5.0gm, Glucose 1.0gm, Agar 15.0 gm, Bromocresol Purple 0.06gm, Distilled water 1,000 c.c.로 그의 pH는 6.8~7.0이었다.

#### (3) 實驗方法

##### (A) 貯藏溫度別 經時變化 觀察

培地の 貯藏溫度는 4°C, 10°C, Room Temperature (16~27°C) 및 35°C로 4分하였으며, 檢査는 5日간격으로 35日間 觀察하였고, 實驗回數는 各 3回 plate 4장을 平均하여, Colony count하되 그 方法은 American Public Health Association의 Standard Methods<sup>(6)</sup>에 記載된 Agar Colony Count Method에 依據하였다.

##### (B) pH의 檢査方法

pH의 檢査는 5日간격으로 Backman pH meter와 Corning pH meter를 使用하여 測定하였다.

### 結果 및 考察

#### (1) 貯藏溫度別 細菌數의 經時的 變化

*Lactobacillus casei*의 貯藏溫度別 細菌數의 經時的 變化를 觀察한 바는 Table 1에서 보는 바와 같이 4°C의 貯藏에서는  $4 \times 10^8$ 이었던 細菌이 35日後에는  $0.1 \times 10^8$ 으로 減少되었고, 10°C 貯藏에서는  $0.08 \times 10^8$ 로, 室溫에서는  $0.009 \times 10^8$ , 그리고 35°C에서는  $0.0009 \times 10^8$ 으로서 貯

Table 1. The Viability of *Lactobacillus casei* according to its Storage Temperature and Time ( $\times 10^8$ )

Days	Temp.			
	4°C	10°C	Room temp.	35°C
Origin	4.0	4.0	4.0	4.0
5	3.7	3.5	2.5	2.2
10	3.1	3.2	2.3	1.5
15	2.9	2.9	2.0	1.1
20	2.8	2.8	1.5	0.6
25	2.0	2.0	0.8	0.05
30	0.5	0.8	0.06	0.009
35	0.1	0.08	0.009	0.0009

藏溫度別로 貯藏期間에 따른 細菌數의 減少에는 統計的으로 有意한 差異가 있었으며, ( $F_{21}^3=3.53 > F_{21}^3(5\%)=3.07$ ,  $\therefore p < 0.05$ ),  $35^\circ\text{C} > \text{Room Temp.} > 10^\circ\text{C} > 4^\circ\text{C}$ 의 順으로 菌數의 減少가 컸다.

한편 經時別 貯藏溫度間에 따라 細菌數의 減少에도 統計學的으로 有意한 差異가 있었다. ( $F_{21}^3=3.79 > F_{21}^3(1\%)=3.65$ ,  $\therefore p < 0.01$ ).

이와 같은 結果를 金<sup>(7)</sup>등이 報告한 바 있는 「乳酸菌製劑의 時間的 變化에 對한 研究」에서 貯藏溫度가 室溫보다 높은 경우 菌數의 減少가 甚하였다는 報告와 本實驗의 結果와는 一見一致되는 것이었다.

또한 溫度別 貯藏期間과 細菌數間의 相關關係를 檢討한 바는 Table 2에서 보는 바와 같이 4°C의 貯藏溫度下에서 貯藏期間과 細菌數間에는  $r = -0.956 (p < 0.01)$ 의 相關係數가 있었고, 10°C에서는  $r = -0.999 (p < 0.01)$ , 室溫에서는  $r = -0.975 (p < 0.01)$  그리고 35°C에서는  $r = -0.923 (p < 0.01)$ 으로서 各各 高度의 統計的 有意性이 있었으며, 이를 利用하여 各溫度別 經時에 따른 細菌數 減少豫測에 對한 回歸方程式을 얻을 수 있었다.

#### (2) 貯藏溫度別 pH의 經時的 變化

*L. casei*의 貯藏溫度別 水素이온濃度(pH)의 經時的 變化를 觀察한 바는 Table 3에서 보는 바와 같이 4°C의 貯藏溫度에서는 pH가 3.54 이었으며 35日後에는 pH가 3.35로 酸性化되었고, 10°C 貯藏에서는 3.20으로, 室溫

Table 2. Correlation Coefficient of the Viability of *L. casei* between Storage Time (days) and Temperature. (unit:  $\times 10^8$ )

Y	X	Storage Time (days)	
		Correlation Coefficient	Regression Equation
Number of Bacterial Viability	4°C	$r = -0.956 (p < 0.01)$	$Y = 4.336 - 0.111x$
	10°C	$r = -0.999 (p < 0.01)$	$Y = 4.27 - 0.1063x$
	R.T.	$r = -0.975 (p < 0.01)$	$Y = 3.5267 - 0.1075x$
	35°C	$r = -0.923 (p < 0.01)$	$Y = 3.012 - 0.105x$

**Table 3.** The Variation of pH according to Storage Temperature and Time.

Days	Temp.	4°C	10°C	Room temp.	35°C
	Origin		3.54	3.54	3.54
5		3.50	3.50	3.46	3.47
10		3.48	3.44	3.40	3.27
15		3.48	3.42	3.38	3.18
20		3.46	3.42	3.35	3.13
25		3.40	3.35	3.32	3.10
30		3.40	3.30	3.29	3.08
35		3.35	3.20	3.15	3.00

에서는 3.15로 그리고 35°C에서는 3.0으로 각各 酸性化되었는데 貯藏溫度間에 酸性化가 되는데는 統計的으로 有意性있는 差異이었으며 ( $F_{21}^3=23.64 > F_{21}^3(1\%)=4.87$  ∴  $p < 0.01$ ) 前項의 경우에서와 같이 35°C > Room Temp. > 10°C > 4°C의 順으로 pH의 變化가 컸다.

그리고 經時別 貯藏溫度間에 따라 pH의 酸性化에도 統計的으로 有意한 差異가 있었다. ( $F_{21}^7=17.74 > F_{21}^7(1\%)=3.65$ , ∴  $p < 0.01$ )

이와 같은 結果는 貯藏溫度가 pH에 直接 關係하고 있다는 學說<sup>(1,2,3)</sup>과 一致하고 있다고 본다.

한편 溫度別 貯藏期間과 pH間과의 相關關係를 檢討한 바는 Table 4에서 보는 바와 같이 4°C의 貯藏溫度下에서 貯藏期間과 pH間에는  $r = -0.972 (p < 0.01)$ 의 相關係數가 있었고, 10°C에서는  $r = -0.922 (p < 0.01)$ , 室溫에서는  $r = -0.963 (p < 0.01)$ , 그리고 35°C에서는  $r = -0.953 (p < 0.01)$ 으로서 각各 高度의 統計學的 有意性이 있었으며, 이를 利用하여 各溫度別 經時에 따른 pH의 變化豫測에 對한 回歸方程式을 얻을 수 있었다.

**Table 4.** Coerrelation Co-efficient of the Variation of pH between Storage Time(days) and Temperature

Y	X	Storage Time (days)	
		Correlation Coefficient	Regression Equation
pH	4°C	$r = -0.972 (p < 0.01)$	$Y = 2.477 - 0.015x$
	10°C	$r = -0.922 (p < 0.01)$	$Y = 3.552 - 0.0087x$
	R.T.	$r = -0.963 (p < 0.01)$	$Y = 3.520 - 0.0092x$
	35°C	$r = -0.953 (p < 0.01)$	$Y = 3.482 - 0.015x$

### 結 論

市販 乳酸菌醱酵乳인「Yakult」에서 分離한 *Lactobacillus casei*의 貯藏溫度別 菌數와 pH의 經時的 變化를 觀察한 바 다음과 같은 結論을 摘要할 수 있었다.

(1) 貯藏溫度別 細菌數의 經時的 變化를 觀察한 바, 貯

藏初  $4 \times 10^8$ 이었던 細菌數가 35日後에 4°C에서는  $0.1 \times 10^8$ 으로 減少되었고, 10°C에서는  $0.08 \times 10^8$ 으로, 室溫에서는  $0.009 \times 10^8$ , 그리고 35°C에서는  $0.0009 \times 10^8$ 로 各各 減少하였고, 貯藏溫度別 期間에 따른 細菌數의 減少와 經時別 貯藏溫度間에 細菌數의 差異에는 各各 統計學的 有意性이 있었다. ( $p < 0.01$ ).

그리고 溫度別 貯藏期間과 細菌數間의 相關關係는 4°C의 경우  $r = -0.956 (p < 0.01)$ 의 相關係數가 있었고, 10°C에서는  $r = -0.999 (p < 0.001)$ , 室溫에서는  $r = -0.975 (p < 0.01)$  그리고 35°C에서는  $r = -0.923 (p < 0.01)$ 이었다.

(2) 貯藏溫度別 pH의 經時的 變化를 觀察한 바는 貯藏初 pH가 3.54이었던 것이 35日後에 4°C에서는 3.35로 酸化되고, 10°C에서는 3.20, 室溫에서는 3.15, 그리고 35°C에서는 3.0으로 各各 酸化되었는데 貯藏溫度別 差間에 따른 pH의 變化和 經時別 貯藏溫度間에 pH의 期異에는 各各 統計學的으로 有意한 差가 있었다.

그리고 溫度別 貯藏期間과 pH와의 相關關係는 4°C의 경우  $r = -0.972 (p < 0.01)$ 의 相關係數가 있었고, 10°C에서는  $r = -0.922 (p < 0.01)$ , 室溫에서는  $r = -0.963 (p < 0.01)$  그리고 35°C에서는  $r = -0.953 (p < 0.01)$ 이었다.

(欄筆에 즈음하여 本研究에 協助하여 주신 韓國 YAKULT 乳業會社 社長 尹快炳博士님께 感謝드립니다.)

### References

- (1) Lee, B.K., Kim, J.D., Choi, T.K. and Lew, J.: A study on the Survival of Lactobacilli and Shigella in mouse cocum. The New Medical J., 68:57, 1975.
- (2) Kim, H.S. and Chun, J.K.: Studies on the dynamic changes of bacteria during the "Kimchi" fermentation, J. Nuclear Sciences Korea, 6:112, 1966.
- (3) Perry, K.D. and Sharpe, M.E.: Lactobacilli in raw milk and in cheddar cheese, F. Dairy Res., 27:267, 1960.
- (4) 秋葉朝一郎: 乳酸菌飲料의 科學, 야쿠르트本社, 1972.
- (5) Foster, E.M., Nelson, F.E., Speck, M.L., Doetsch, R.N. and Olson, J.C.: Microbiology of fermented milks, Dairy Microbiology, 318-334, Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N.J., 1964.
- (6) APHA: Standard Method (for the examination of Dairy Products), 1960.
- (7) Kim, C.H. et al: Studies on the viability of Lactobacillus products for pharmaceutical use, The New Medical J. 15:1335, 1972.