

Yoghurt와 Koumiss를 급여한 Rat 血液中の γ -globulin과 Cholesterol의 변화에 관한 연구

曹 驥 煥 · 金 東 伸

慶北大學校 農科大學 酪農學科

Studies on Changes of γ -Globulin and Cholesterol of Rat Blood Fed on Yoghurt and Koumiss.

Jo, Gi Hwan · Kim, Dong Shin

Dept. of Dairy Science, Coll. of Agric., Kyungpook Natl. Univ.

Summary

This study was carried out to find out changes of γ -globulin and cholesterol of rat blood fed on yoghurt and Koumiss. Yoghrt and koumiss were manufactured with fortified milk and *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* and *Saccharomyces fragilis* were used.

The twenty rats were devised into 4 groups with 5 replications by completely randomized design.

The experimental groups are the control, milk, yoghurt and koumiss feeding groups.

The results are summarized as follows; The changes of pH after 8hrs incubation with *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* and the mixed strains were 3.7, 4.6 and 3.5 at 42°C, respectively.

Average alcohol percentage of Koumiss was 1.2 (%).

The average viscosity of yoghurt and Koumiss with milk showed 1500 cp and 390 cp, respectively at 11% of milk total solid.

γ -globulin contents in blood of rat fed on yoghurt and Koumiss were higher than those of control and milk. Cholesterol of rat blood in yoghurt and Koumiss group were lower than those of control and milk group.

緒 論

Yoghurt와 Koumiss는 發酵乳製品으로 Yoghurt는

주로 乳酸이 함유되어 있으며 Koumiss는 乳酸, CO₂, alcohol 등이 함유되어 있다. Yoghurt는 營養學的인 면은 물론 治療學的으로도 그 가치가 높이 평가 되어

널리 소비되어지고 있는 반면에 Koumiss는 주로 蘇聯 및 東區國家에서 소비되어지고 있다.⁸⁾ (Kosikowski, 1977)

Yoghurt 製造에 사용되는 菌株는 *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* 등이며, Koumiss 製造에 사용되는 菌株는 위에 記述한 乳酸菌과 *Saccharomyces fragilis*, *Torulopsis holmi* *Torula lactis*, *Acetobacter acetii* 등과 그외의 乳酸菌이 이용된다.

Hargrove 와 Alford⁹⁾ (1977, a) 와 Mc Donough¹²⁾ (1982) 등을 rat 에 대한 Yoghurt 의 給與와 成長率 비교에서 他 乳製品에 비해 醱酵乳가 營養學的으로 우수하다고 보고하였다.

이들 醱酵乳製品은 高蛋白質, calcium, phosphorus, potassium 그리고 riboflavin 등을 함유하고 있으며 醱酵乳製品 製造에 사용되는 乳酸菌은 적당한 乳糖分解酵素인 lactase 를 생성하므로 乳糖消化장애가 있는 사람에게 lactose 를 소화시켜 주며 또한 牛乳내 casein 을 분해시켜 소화를 용이하게 한다.

Sandine 과 England¹³⁾ (1972) 와 Speck¹⁴⁾ (1975) 은 사람의 건강에 있어서 “乳酸菌의 역할” 이라는 보고에서 *Lactobacilli* 의 사용은 腸內疾病治療는 물론 腸內細菌의 均衡維持에도 중요한 역할을 한다고 했다. 또한 yoghurt 나 koumiss 製造에 사용되는 *Lactobacilli* 는 醱酵過程중에 lactocidin, nicin, acidolin, acidophilin, lactobacillin, lactolin 등과 같은 抗生物質을 생성하며 이들은 상당수의 腐敗菌 및 病原性微生物에 對해 抑制效果를 나타낸다.

Koumiss 는 원래 馬乳를 原料로 하여 醱酵시킨 것으로 Kosikowski⁸⁾ (1977) 에 의하면 소련에서는 肺結核患者의 治療에 상당한 효과를 나타낸다고 하였다. 그러나 馬乳로부터 koumiss 를 만드는 것은 原料공급의 제한이 따르므로 이를 해결하기 위해 Lang 과 Lang⁹⁾ (1970) 은 牛乳를 原料로 한 koumiss 를 개발하였다.

Sandine 과 England¹³⁾ (1972) 는 Koumiss 는 *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* 그리고 다른 微生物에 抑制性을 가진다고 보고하였다.

최근 國際酪農協會에서 發表된 소련학자들의 보고에 의하면 koumiss 는 *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus mycoles* 그리고 *E. coli* 에 대한 抑制

效果를 가진다고 했으며 이 效果는 koumiss 를 건조시킨 분말로 했을 때도 유지된다고 했다.¹¹⁾ (Mann, 1983)

Conge²⁾ (1981) 는 腸內細菌의 營養學的 效果란 국제 심포지움에서 mouse 에 yoghurt 를 급여했을 때 mouse 血中 γ -globulin 의 함량이 상당히 증가했다고 보고했는데 이 사실은 yoghurt 를 동물에 급여했을 때 疾病感染에 대한 자연적인 抵抗性이 증가됨을 의미한다고 하였다.

Mann 과 Spoery¹¹⁾ (1974) 는 아프리카 원주민인 Masai 에게 醱酵乳를 21 일간 급여한 後 血中 cholesterol 함량을 조사할 결과 cholesterol 함량이 감소하였다고 했다.

本 研究는 Rat 에 급여할 yoghurt 와 koumiss 의 pH 변화, alcohol 生産, 粘度와 이들 乳製品을 급여한 rat 血中の γ -globulin 과 cholesterol 의 변화를 보기 위하여 실시하였다.

材料 및 方法

菌 株

本 實驗에 사용된 菌株, *Lactobacillus bulgaricus* 와 *Streptococcus thermophilus* 는 서독 Wiesby 에서 구입하여 사용하였으며 *Saccharomyces fragilis* 는 미국 cornell 대학에서 분양받아 사용하였다.

Culture 製造

Koumiss 및 Yoghurt 製造에 사용하기 위한 Lactic Acid Bacteria (LAB) culture 는 skim milk (Difco) 를 全固形分이 11% 되게 증류수에 녹인 다음 12°C 에서 15분간 멸균, 40°C 로 냉각한 후 *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* 를 각각 接種하고 이를 3回 繼代培養하여 사용하였다. Yeast culture 는 *Saccharomyces fragilis* 를 Malt Extract Broth 배지에 培養한 것을, 12°C 에서 멸균처리한 후 20°C 로 냉각시킨 skim milk 에 接種하여 사용하였다.

Yoghurt 製造

脫脂粉乳를 증류수 1,000 ml 에 全固形分이 11% 되게 넣어 잘 녹인 다음 85°C 에서 30분간 熱處理한 후 40°C 로 냉각시켰다. 냉각된 牛乳에 LAB Culture 를 2% 接種하여 잘 섞이게 攪拌한 후 42°C 에서 16시간 배양하여 5°C 에 보관하였다.

Koumiss 製造

脫脂粉乳를 증류수 1,000 ml 에 全固形分이 11% 되

계 잘 녹인 다음 85°C에서 30분간 熱處理한 후 40°C로 냉각시켜 *Lactobacillus bulgaricus*의 Culture 1%와 *Streptococcus thermophilus*의 Culture 1%를 혼합接種하여 42°C에서 Curd가 形成될때까지 培養하였다. Curd가 완전히 형성되면 20°C로 냉각시키고 yeast culture를 4% 接種하여 6시간동안 攪拌하면서 醱酵시켰다. 그리고 10°C로 냉각시켜 62시간 攪拌培養하였다.

培養溫度 차이에 따른 pH測定

培養溫度 28°C, 37°C, 42°C로 各各 달리하여 各 온도마다 *Lactobacillus bulgaricus* 2%, *Streptococcus thermophilus* 2%, 그리고 이 두 菌株를 各各 1%씩 混合接種하여 배양하면서 16시간동안 pH 變化를 調査하였다.

粘度 測定

Rat에 給여서 yoghurt 및 koumiss 攝取에 적합한 粘度를 測定하기 爲 全固形分含量을 各各 5%, 11%가 되게 하고 이를 粘度計(TOKYO KEIKI Model BH)로 測定하였다.

Alcohol 含量測定

A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists)의 dichromate oxidation 方法에 따라 Microkjeldahl 장치로 alcohol 含量을 測定하였다.

實驗動物 飼育 및 配置

本 實驗에 사용된 rat은 Wister系의 수컷으로 體重 200g내외의 20마리를 1984년 5월 1일부터 10주간 사육하였다. 實驗動物의 配置 및 處理는 다음표와 같다.

Table 1. Experimental design

Group	Numbers of rats	Feeding
대 조 구	5	Pellet + Water
M 구	5	Pellet + Milk
Y 구	5	Pellet + Yoghurt
K 구	5	Pellet + Koumiss

飼料給與는 아침, 저녁으로 milk, yoghurt, koumiss를 50cc씩 各各 給與하고, rat用 pellet 飼料를 各구 同量 給與하였다.

Serum 採取

血清採取는 5주동안 매주 心臟針刺法으로 마리當 0.5cc씩 全血을 採取하여 즉시 3000×G에서 遠心分離하여 血清을 0.1~0.2cc씩 採取 보관하였다.

γ - globulin 測定

Helena Laboratories의 TITAN III Zip Zone cellulose acetate plate를 이용한 電氣泳動을 실시하여 Densitometer (Quick Scanner)에 의해 血清內의 γ -globulin 含量(%)를 測定하였다.

Cholesterol 測定

血清採取 후 分析時까지 冷凍처리된 시료 0.5 cc를 Ferric Chloride 方法¹⁾(Baginski와 Zak, 1970)으로 double beam spectrophotometer (Hitachi model 200-20)로 550nm에서 吸光度를 測定하고 cholesterol (sigma)로 標準溶液을 만들어 同一한 方法으로 吸光度를 測定하여 標準曲線에 의해 血清內 cholesterol 含量을 測定하였다.

結果 및 考察

Lactic Acid Bacteria (LAB) culture의 培養溫度에 따른 pH변화는 表1과 같다.

*Lactobacillus bulgaricus*는 培養溫度 28°C, 37°C, 42°C에서 8시간 培養후 pH는 各各 5.1, 4.4, 3.7을 나타내었으며 *streptococcus thermophilus*는 培養溫度 28°C, 37°C, 42°C에서 8시간 培養후 pH가 5.3, 3.7, 4.6으로 各各 나타났다.

이 두 菌株를 混合하여 培養후 28°C에서 pH 5.1,

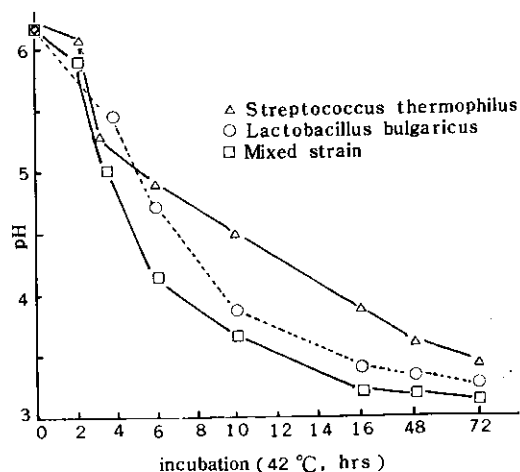


Fig. 1. Acid development by *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* and mixed strains in skim milk
z: mixed strain: *Lactobacillus bulgaricus* + *Streptococcus thermophilus*

Table 1. Changes of pH by *Lac. bulgaricus*, *Str. thermophilus* and mixed strain at different temperature

Strain Temp Hour	<i>Lac. bulgaricus</i>			<i>Str. thermophilus</i>			Mixed strain		
	42 °C	37 °C	28 °C	42 °C	37 °C	28 °C	42 °C	37 °C	28 °C
0	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2
1	6.0	6.2	6.2	6.1	6.2	6.2	6.0	6.1	6.2
2	5.8	6.0	6.1	5.7	5.9	6.1	5.4	5.8	5.1
3	5.5	5.8	6.0	5.4	5.7	6.0	4.7	5.4	5.9
4	5.1	5.6	5.9	5.1	5.3	5.9	4.3	5.0	5.6
5	4.6	5.3	5.7	4.9	5.2	5.8	4.0	4.6	5.4
6	4.4	5.1	5.7	4.8	5.0	5.6	3.9	4.1	5.4
7	4.1	4.8	5.5	4.6	4.8	5.6	3.7	3.9	5.1
8	3.7	4.4	5.1	4.6	4.7	5.3	3.5	3.7	5.1
16	3.4	3.3	4.4	4.0	3.8	4.6	3.3	3.1	4.3

37°C에서 3.9, 42°C에서 3.5로 나타났다. 培養溫度 42°C에서 이 3 가지에 대한 pH 변화는 *Lactobacillus bulgaricus*와 *Streptococcus thermophilus*를 混合培養한 것이 *Lactobacillus bulgaricus*와 *Streptococcus thermophilus*를 각각 달리 배양한 것보다 酸生成이 빠름을 보이고 있다.

Mitchell과 Sandine¹³⁾(1984)의 보고에서 두 菌株를 混合培養했을 때는 培養初期에 *Lactobacillus bulgaricus*가 生成한 아미노산인 Valine을 비롯한 여러 아미노산이 *Streptococcus thermophilus*의 成長을 촉진시키며 그다음 단계로 *Lactobacillus bulgaricus*는 *Streptococcus thermophilus*가 生成한 formic acid에 의해 成長이 촉진되는 相互共生을 하고 있기 때문이라는 結果와 일치한다.

그림 1은 培養溫度 42°C에서 牛乳培地內 *Lactobacillus bulgaricus*와 *Streptococcus thermophilus* 그리고 이 두 菌株를 混合培養한 것의 pH 변화를 나타낸 것이다. 그림에서 보는 바와 같이 3 가지 경우와 똑같이 培養 후 4 시간을 前後하여 酸生成이 급속히 增加함을 나타내고 있다.

表 2는 koumiss의 단계적인 製造過程에서의 pH 변화를 나타낸 것으로서 첫단계 培養은 *Lactobacillus bulgaricus*와 *Streptococcus thermophilus* culture를 接種하였을 때 培養後 4.5 시간에 그리고 pH 5.3으로 변하였고 이때 curd가 形成되기 시작하였다.

두번째 培養은 첫단계배양물을 20°C로 냉각시켜 yeast culture를 4% 接種하여 培養한 것으로 10시간 후의 pH 변화는 4.3이었다.

세번째배양은 醱酵物을 10°C로 냉각시키고 가끔씩 저으면서 62시간 계속 培養시켰다. 이때 pH는 4.0이

Table 2. Acid development of koumiss processing

Incubation	Hour	pH
1st incubation with LAB at 42 °C	0	6.1
	1	6.0
	2	6.0
	3	5.8
	4, 5	5.3
2nd incubation with LAB, yeast at 20 °C	10	4.3
3rd incubation with LAB, yeast at 10 °C	72	4.0

었다.

表 3은 koumiss內의 alcohol 함량을 나타낸 것으로 본 實驗에서 나타난 alcohol 含量 平均値는 약 1.2%이며 이는 Kosikowski¹⁴⁾(1977)가 발표한 koumiss內 alcohol 含量이 0.5~2.5%에 達하는 것과 비슷했다.

그림 3은 25°C 牛乳培地에서 *Saccharomyces fragilis*가 生成한 alcohol 含量이 2.5%로 나타났다.

Table 3. Alcohol percentage of koumiss

Replication	Alcohol (%)
1	1.3
2	1.7
3	0.8
4	1.1
5	1.3
Mean	1.24

그림 4는 koumiss의 低溫培養에서 alcohol 生産을 보기 위하여 培養溫度 14°C에서 koumiss의 alcohol 含量變化 및 pH 변화를 나타낸 것으로서 3일간 培養後의 alcohol 含量은 0.5% 그리고 pH는 3.8이었다.

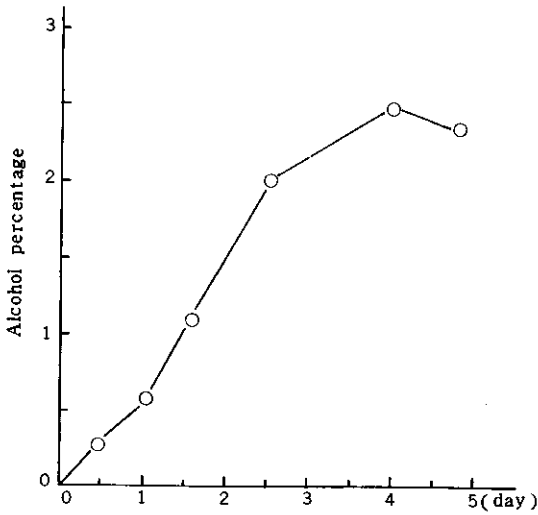


Fig. 3. Alcohol percentage produced by *Saccharomyces fragillis* at 25°C

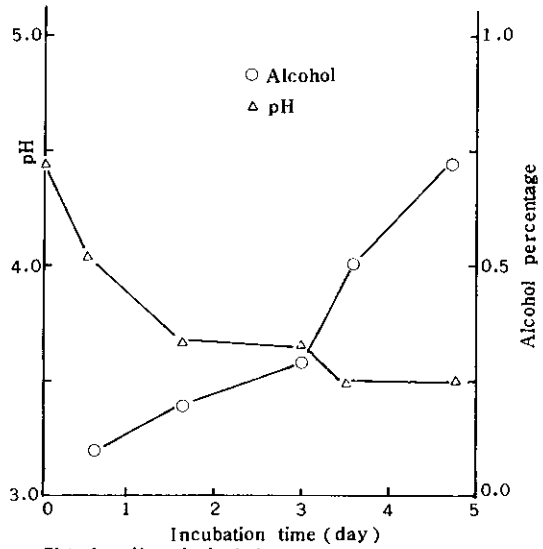


Fig. 4. pH and alcohol percentage of koumiss processing at 14°C

Table 4. Viscosity of yoghurt and koumiss

Total solid (%)	Viscosity (cp)	
	Yoghurt	Koumiss
5	920	230
11	1,500	390

表4는 全固形分 含量比에 따른 yoghurt 및 koumiss의 粘度를 測定한 것으로 全固形分 5%에서 yoghurt, koumiss의 粘度는 各各 920cp, 230cp였으며 11%에서는 各各 1500cp, 390cp였다.

Rat에 給與時 飼料消費率은 全固形分含量 11%가 좋았으며, 5%의 경우에는 粘度가 너무 낮아 流失量이 많았다.

表5는 Rat에 2個月間 milk, yoghurt, 그리고 koumiss를 給與했을때 Rat의 血清內 蛋白質 含量을 100

Table 5. Effect of milk, yoghurt and koumiss on immunoglobulin contents in rats

Week	Treatment ^z (%)			
	Control	Milk	Yoghurt	Koumiss
1	8.9	9.2	9.6	9.4
2	7.9	7.8	9.3	9.7
3	9.2	8.8	9.6	9.8
4	9.2	9.3	10.2	10.1
5	8.7	8.7	10.3	10.8
Mean ^y	8.74 ^a	8.76 ^a	9.78 ^b	9.96 ^b

z: Each value is the mean of five observations

y: Means are significantly different (p < 0.01)

으로 보았을 때 γ -globulin 含量比 變化를 週別로 測定한 것으로 表5에서 보는 바와 같이 對照區의 8.74와 milk를 給與한 試驗區의 8.76間에는 含量比에 差異가 보이지 않았으나 對照區와 yoghurt區의 9.78 및 koumiss 區의 9.96 사이에는 血清 γ -globulin 含量의 差이를 보였다. ($p < 0.01$) 또한 milk를 給與한 區와 yoghurt를 給與한 區, milk를 給與한 區와 koumiss를 給與한 區 사이에도 對照區와 마찬가지로 含量의 差이가 있었으나, ($p < 0.01$) yoghurt를 給與한 區와 koumiss를 給與한 區 사이에는 含量에 큰 差異가 없었다. 이 실험결과에서 對照區와 비교해 볼때 milk를 給與 했을때는 血清內 γ -globulin 含量에 差이가 없었으나, 醱酵乳 製品을 給與 했을때는 γ -globulin의 含量이 增加함을 알수 있다.

Conge²⁾ (1981)에 의하면 mouse에 yoghurt를 給與 하면 血清內 γ -globulin의 含量이 증가하는데 이것은 抗毒素(Anti-Tetanus) 예방접종 (Vaccination) 과 같은 효과를 얻을 수 있다고 한다.

表6은 rat에 milk, yoghurt, koumiss를 2개월간 給與한후 血清을 採取하여 血液 cholesterol 含量을 5회 測定하여 平均値를 구한 것이다. 表6에서 보는 바와 같이 對照區와 milk를 給與한 區 사이에는 cholesterol 含量差가 없었으나 對照區와 yoghurt, koumiss를 給與한 區 사이에는 cholesterol 量이 감소하였음을 보여주고 있다.

Table 6. Effect of milk, yoghurt and koumiss on cholesterol in rat blood

Group	Control	Milk	Yoghurt	Koumiss
Mean ^z	77.6 ± 16.8 ^a mg	75.8 ± 7.4 ^a mg	59.8 ± 8.5 ^b mg	57.1 ± 8.2 ^b mg

z: Each value is the mean of 5 observations and means are significantly different ($p < 0.05$)

Mann 과 Spoery¹¹⁾ (1974)는 酸酵乳內에 AMF (Anticholesteremic Milk Factor)가 있기 때문에 cholesterol의 含量이 감소된다고 하였다.

이는 본 실험의 결과와 일치하였다.

摘 要

이 실험은 yoghurt와 koumiss를 급여한 rat의 血液中 γ -globulin과 cholesterol의 變化를 조사하기 위하여 실시하였다.

Yoghurt와 Koumiss는 *Lactobacillus bulgaricus*와 *Streptococcus thermophilus*와 *Saccharomyces fragi-*

lis strain을 이용하여 還元乳로서 製造하였다. 20마리의 rat를 완전 임의배치법에 의하여 4개의 군으로 나누는 후 각각 5마리씩 배치하였으며 實驗區는 對照區와 milk, yoghurt 그리고 koumiss를 급여한 區로 구분하였다.

實驗結果는 다음과 같다.

Lactobacillus bulgaricus, *Streptococcus thermophilus* 그리고 mixed strain은 42°C에서 8시간 培養하였으며 培養物의 pH는 3.7, 4.6, 3.5로 각각 나타났다.

Koumiss의 平均 alcohol生産은 1.2%로 나타났다.

Yoghurt와 Koumiss의 平均粘度는 總固形分含量 11%의 milk에서 각각 1500 cp와 390 cp를 나타내었다.

Yoghurt와 Koumiss를 급여한 rat의 血液中 γ -globulin 含量은 對照區와 milk를 급여한 區보다 높았다.

Yoghurt와 Koumiss를 급여한 rat의 血液內에서 의 cholesterol含量은 對照區와 milk 區보다 낮은 수준을 보였다.

引 用 文 獻

1. Baginski, E. S. and Zak, B. 1970. "Gradwohls clinical laboratory method and diagnosis". Vol. 1, Ed. Frankel, S., Reitman, S., and Sonnenwirth, A. C. C. V. Mosby Co., St, Louis, Mo.
2. Conge, G. C., Gouache, p., Desormeau-Bedot, J. P., Loissillier, F and Lemonnier, D. 1980. Comparison of live and heated yoghurt-enriched diets on the mouse immune system. *Reproduction, Nutrition, Développement* 20 (4 A): 929 ~ 938 (*Dairy Sci Abstr.* 43: 1618 (1981)).
3. Ellis, R. H. 1957. The effect of antibiotics upon *Lactobacillus bulgaricus* and other bacilli. Ph. D. Thesis. Univ. of Wisconsin.
4. Gilliland, S. E. and Speck, M. L. 1977. Instability of *Lactobacillus bulgaricus* in yoghurt. *J. Dairy Sci.* 60: 1394-1398.
5. Hargrove, R. E. and Alford, J. A. 1977a. Growth rate and feed efficiency of rats feed yoghurt and other fermented milks. *J. Dairy Sci.* 61: 11-19.
6. Hargrove, R. E. and Alford, J. A. 1977 b. Nutritional superiority of yoghurt as compared to other fermented and non-fermented milks. *J. Dairy Sci.* 60 (suppl 1): 34.
7. Jennifer, A. P. L. and N. J. Moon. 1983. Kefir-A "New" fermented milk products. *Cultured Dairy product. J.* 18 (3): 11-12.
8. Kosikowski, F. V. 1977. Cheese and fermented milk foods. 2nd Edition. Edwards Bros., Ann Arbor, Mich. pp. 42-46.
9. Lang, F. and Lang, A. 1970. A study of koumiss manufacture as a potential new outlet for milk. *The milk Industry* 67: 22-25.
10. Mann, E. J. 1983. Kefir and Koumiss. *Dairy Industries International.* 48 (4): 9-10.
11. Mann, G. V. and A. Spoery. 1974. Studies on surfactant and cholesteromia in Massai. *Am. J. clin. Nutrition.* 27: 464-469.

12. Mc Donough, F. E., A. D. Hitchins and N. P. wons. 1982. Effect of yoghurt and freeze dried yoghurt on growth stimulation of rats. J. Food Sci 47 : 1462-1465.
13. Mitchell, L. and W. E. Sandine. 1984. Associative growth and differential enumeration of streptococcus thermophilus and Lactobacillus bulgaricus : A Review. J. food protection. 47 (3) : 245-248.
14. Moon, N. J. and G.W. Reinold. 1974. Associative growth of streptococcus thermophilus and Lactobacillus bulgaricus in skim milk. J. Dairy Sci. 57 : 581.
15. Rao, D. R., C. B. Chawan, and S. K. pulusani 1981. Influence of milk and thermophilus milk on plasma cholesterol levels and hepatic cholesterologenesis in rats. J. Food Sci. 46 : 1339 - 1341.
16. Reed, G. 1981. Use of microbial cultures yeast products. Food Tech. Jan. 89-94.
17. Sandine, W. E. and England, D. C. 1972. Lactic acid bacteria in food and health a review with special reference to enteropathogenic E. coli as well as certain enteric disease and their treatment with antibiotics and lactobacilli. J. Milk food technol. 35 : 699-702.
18. Speck, M. L. 1975. Interactions among lactobacilli and man. J. Dairy Sci. 59 : 338-343.
19. 김동신, 1978. Yoghurt 제조에 있어서 단일균주와 복합균주 culture 의 사용에 따른 pH 변화. 慶北大 農學誌. 25 ; 363-371.
20. 김동신. 1982. Kourmiss 의 폐결핵 환자에 대한 영향. 韓國酪農學會誌 4 (3) : 197 - 201.
21. 김동신. 1983. 유산균의 抗生作用에 관한 연구. 慶北大 農學誌. 1 : 169-177.