

김치에서 분리한 유산균 *Lactobacillus plantarum*의 이화학적 특성 및 β -galactosidase 활성

이영환* · 감미선

전남대학교 농과대학 농화학과

초록 : 김치에서 분리한 유산균 중에서 *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*(ATCC33694) 그리고 *Bacillus subtilis*(ATCC 6633) 등 5종의 미생물에 대한 항균성이 우수한 3주(No. 49, No. 61, No. 75)를 최종 선발하여 동정한 결과 *Lactobacillus plantarum*으로 동정 되었다. 이들 3 균주를 starter로 사용하여 요구르트 등 여러 발효식품에 응용할 수 있는지 검토하기 위하여, 이들 균주로 요구르트를 제조한 후 요구르트의 β -galactosidase 활성도를 균주 첨가 후 24시간 부터 72시간 동안 경시적으로 조사하였다. 그 결과 48시간 후에 효소활성은 최고에 도달하였으며 그 후 시간이 경과함에 따라 감소하였다. 또한 2시간 동안 경시적으로 요구르트 고유의 pH값보다 낮은 산성조건에서 β -galactosidase 활성도와 생존율을 측정할 결과 pH 3.5에서 2시간 후에는 3균주 모두 50% 정도 활성이 감소하였으나 pH 2.5와 pH 1.5에서 β -galactosidase 활성은 거의 없었다. 유산균의 생존율은 pH 3.5에서 2시간 후 거의 변화가 없었고, pH 2.5에서는 각각 0.12~0.75% 그리고 pH 1.5에서는 생존율이 거의 없었다. 한편, 제조 요구르트의 이화학적 성질을 조사한 결과 요구르트 고유의 pH 값은 4.08 부터 4.30사이이었으며, 적정산도는 1.05~1.25% 점도는 1,818~2,124 cps, 생균수는 $7.3 \times 10^8 \sim 3.0 \times 10^9$ cfu/ml였다. 유산균이 살아있는 상태로 장내에 도달할 수 있는지의 여부를 간접적으로 나타내는 완충능을 측정하기 위하여 1.0 N HCl로 요구르트 100 ml를 고유의 pH값에서 2단위 낮은 pH값까지 적정한 결과 소모된 HCl량은 11.98~13.02 ml/이었고 1.0 N NaOH로 4단위 높은 pH값까지 적정하는데 소모된 NaOH량은 10.82~12.86 ml/로 시판 요구르트 보다 높은 완충능을 보여 주었다(1995년 12월 22일 접수, 1996년 1월 17일 수리).

서 론

김치는 채소와 향신료를 원료로 하여 미생물과 효소의 작용에 의한 전통발효식품으로 우리의 식생활에 아주 중요한 위치를 차지하고 있다. 김치의 숙성에 관여하는 미생물에는 여러가지가 있으나 대부분의 호기성 세균들은 절입과정에서 제거되고 유산균들이 주종을 이루어 생육하게 되면서 발효가 진행되어 유산을 비롯한 각종 유기산과 방향을 내는 여러 저분자 물질들이 생성된다. 한편, 많은 종류의 유산균이 다른 미생물의 생육을 저해하는 성질은 오래전부터 알려져 왔으며 이러한 성질을 이용하여 식품의 변패균 또는 병원균의 생육을 억제시키려는 연구가 근래에 활발히 진행되고 있다.¹⁾ 유산균이 *Pseudomonas*(P.), *Staphylococcus*(S.), *Salmonella* 등의 생육을 억제시켰다²⁾는 보고가 있으며 이러한 생육저해작용은 젖산 및 기타 유기산, H₂O₂ 및 nisin과 같은 bacteriocin(항생물질)의 생성이 그 원인으로 알려져 있다.¹⁾

또한 유산균이 분비하는 β -galactosidase (β -D-galactoside galactohydrolase, EC.3.2.1.23)는 lactose를 glucose와 galactose로 분해 생산하는 효소³⁾로서 장내에 이 효소가 부족할 경우 우유를 먹었을때 유당불내증(lactose intolerance)을 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있다.⁴⁾

한편, 우리나라에서는 많은 유산발효식품을 애용하고

있지만 전통 발효식품인 김치의 유산균에 대한 연구는 최근에 매우 활발하다. 본 연구에서는 *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Klebsiella*(K.) *pneumoniae* 등의 병원균에 대해 항균작용을 갖는 유산균을 김치로 부터 분리하여 동정하고, 향후 이들 유산균을 이용하여 요구르트 등 여러 발효식품에 응용할 수 있는지의 여부를 조사하기 위해 김치에서 분리동정한 균주를 이용하여 요구르트를 제조하였다. 그리고 제조한 요구르트의 이화학적 특성, 산성조건하에서 β -galactosidase 활성도 및 균주의 생존율 등을 조사하였다.

재료 및 방법

항균성 유산균의 분리

11종의 김치로 부터 0.2 ml의 즙액을 각각 채취하여 MRS⁵⁾broth(*Lactobacillus* MRS broth; Difco, pH 5.4) 10 ml에 접종하고 30°C에서 5시간 동안 진탕배양하여 활성화 시킨 후 멸균증류수로 희석하여 MRS agar 배지에 도말 접종하고, 37°C에서 24시간 배양한 후 생성된 집락을 1차로 분리하였다. 이들 균주를 CaCO₃가 0.6%(W/V) 첨가 된 MRS agar 배지에 재 접종하여 37°C에서 24시간 배양하고 집락 주위에 투명대 (직경 1 cm 이상)를 크게 형성한 균주만을 유산생성균주로 2차 분리하였다.

찾는말 : *Lactobacillus plantarum*, lactic acid bacteria, β -galactosidase, yogurt

*연락처자

이렇게 분리한 균주를 *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli* 그리고 *B. subtilis*를 접종한 MRS agar 배지위에 바로 접종하여 37°C에서 24시간 이상 배양한 후 유산균의 집락 주위에 형성되는 투명대의 폭을 측정하여 항균성이 우수한 균주(Fig. 1)를 최종 선발하였다. 한편, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* 균주는 전남대학교 의과대학 미생물학 교실에서 보관중인 균주를, 그리고 *E. coli*(ATCC33694), *B. subtilis*(ATCC6633)는 본 실험실에서 보관하고 있는 것을 사용하였다.

균주의 분류, 동정 및 보존

선발된 균주를 Bergey's manual of systematic bacteriology,⁶⁾ The prokaryotes,⁷⁾ microbiological method⁸⁾ 등에 기술된 방법에 따라 형태학적, 생물학적 및 생화학적 성질 등을 검사하여 분류, 동정하였다. 한편, 분류 동정된 유산균과 *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* 균주는 MRS agar 배지에 접종 배양한 후 4°C에 보관하며 사용하거나, 필요에 따라 MRS broth(pH 6.5)에 배양하여 glycerol의 최종농도가 20%(W/V)되도록 첨가하여 -70°C에 냉동 보관하며 사용하였다.

요구르트 제조와 이화학적 특성 및 생균수 측정

요구르트는 시판우유를 살균, 냉각한 후 최종농도가 3%(W/V)가 되도록 탈지분유를 첨가하여 멸균한 배지에 MRS broth에서 배양된 유산균 배양액을 5%(V/V)의 농도로 접종한 후 37°C의 항온기에서 최소 24시간 이상 배양하여 제조하였다. 제조 요구르트의 pH는 pH meter (Orion model 420A)를 이용하여 측정하였다. 산도는 요구르트 10 g에 멸균수 40 ml를 가하여 잘 혼든 후 0.1 N NaOH로 pH 8.1까지 적정하여 유산으로 계산하였으며,⁹⁾ 점도는 비이커에 요구르트를 200 ml씩 담아 8°C의 cold room에서 Brookfield viscometer (Model LVT)의 3번 spindle, 12 rpm으로 4분에서 8분까지 1분 간격으로 측정하여 평균치로 나타내었다.¹⁰⁾ 요구르트 내에서의 생균수는 MRS agar 배지에 37°C에서 72시간 배양한 후 희석평판법으로 콜로니를 계수하였으며¹³⁾ 완충능은 1.0 N HCl로 요구르트 100 ml를 고유의 pH값에서 2단위 낮은 pH값까지, 1.0 N NaOH로 는 4단위 높은 pH값까지 적정하여 소모된 양으로 표시하였다.¹²⁾

β -galactosidase 활성 측정

요구르트 2 g에 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.0) 2 ml를 가한 후 얼음수조에서 2분간 초음파 처리(No. 4523/350, Ultrasonics Ltd)한 것을 조효소액으로 사용하였으며, 기질은 o-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside (ONPG)를 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.0)에 5 mM되게 용해시켜 5 ml씩 4°C에 보관하면서 사용하였다. 먼저, 준비된 기질 5 ml를 37°C 수조에서 예온시키고, 여기에 조효소액 1 ml를 첨가하여 37°C의 수조에서 15분간 반응시킨 후 얼음수조에서 급냉시키면서 1.0 M Na₂CO₃ 2.5 ml를 가하여 반응을 정지시킨 다음 유리된

o-nitrophenol을 420 nm에서 정량하였다. 이때 blank는 기질액만을 37°C 수조에서 15분간 배양한 후 여기에 반응정지액, 조효소액을 차례로 첨가하여 실시하였다. 한편, 효소활성도 단위(unit)는 1g의 시료에서 1분간 ONPG로부터 1 μ mol의 o-nitrophenol을 유리하는 것을 1 unit로 하였으며,^{13,14)} o-nitrophenol의 유리량은 표준곡선으로 부터 산출하였다.

결과 및 고찰

항균성 유산균의 선발 및 분류 동정

김치에서 분리한 유산균 중 *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli* 그리고 *B. subtilis*에 대하여 생육 저해능을 보여주는 85주를 선발하여 집락주위의 투명대 폭을 측정한 후, 본 실험실에서 보관하고 있는 항균성이

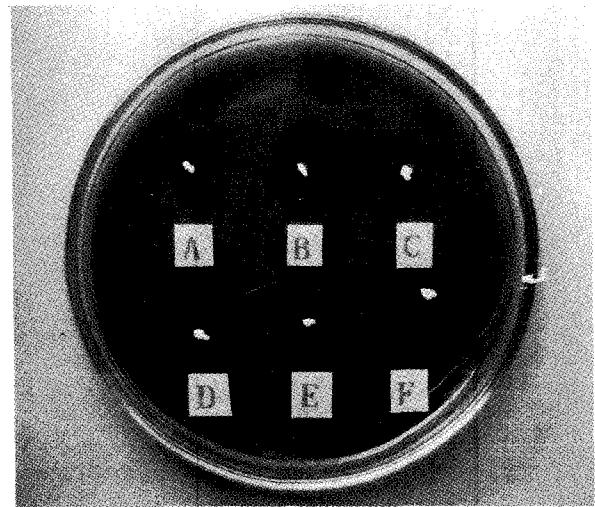


Fig. 1. Observation of inhibitory zone formed by *L. plantarum* isolated from kimchi against *S. aureus*. It was cultured on MRS (containing 0.6% CaCO₃) plate for 48 hrs at 37°C. A, *L. casei* (control); B, *L. casei* (control); C, *L. plantarum* No. 49; D, *L. plantarum* No. 61; E, *L. pentosus* (control); F, *L. plantarum* No. 75.

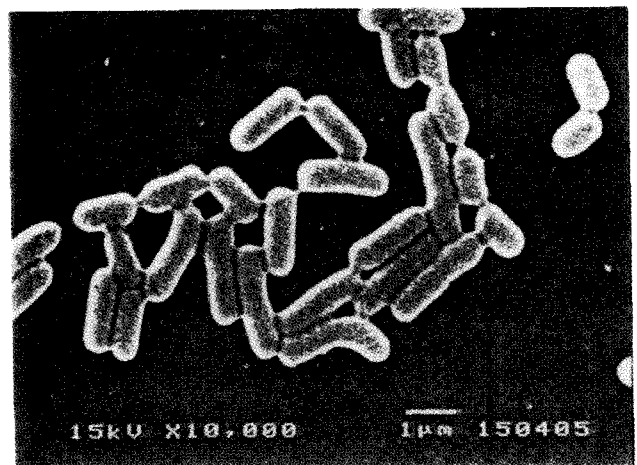


Fig. 2. Scanning electron micrographs showing cell morphology of *L. plantarum* (No. 61) isolated from kimchi.

Table 1. Physiological and biological characteristics of lactic acid bacteria isolated from *kimchi*

Factor examined	Strain No. of Lactic acid bacteria		
	49	61	75
Shape	rod	rod	rod
Size (μm) (width \times length)	0.5-0.6 \times 0.6-2.0	0.6-0.7 \times 1.1-2.7	0.6-0.9 \times 1.0-2.3
Gram-stain	+	+	+
Spore formation	-	-	-
Motility	-	-	-
Anaerobic growth	+	+	+
Hydrolysis of			
arginine	-	-	-
esculin	+	+	+
casein	-	-	-
starch	-	-	-
gelatin	-	-	-
Test of			
catalase	-	-	-
V.P	-	-	-
Lipase	-	-	-
Urease	-	-	-
Oxidase	-	-	-
Indole production	-	-	-
H ₂ S production	-	-	-
Litmus milk reaction			
acidification	+	+	+
reduction	+	+	+
coagulation	+	+	+
Citrate utilization	-	-	-
Growth in 4% NaCl	+	+	+
Growth at 15°C	+	+	+
Growth at 45°C	+	+	-

Symbols: +, 90% or more of strains are positive; -, 90% or more of strains are negative.

우수한 *L. casei* 및 *L. pentosus*와 비교하여 항균성이 우수한 3주(No. 49, No. 61, No. 75)를 최종 선발하였다(Fig. 1). 3 균주를 scanning electron microscope(JEOL; Model JSM-5400)로 형태를 관찰한 결과 모두 간균이었으며 그 크기는 0.5~0.9 \times 0.6~2.7 μm 이었다(Fig. 2). 생리 생화학적 성질 및 당 발효 실험 결과 이들은 모두 비포자성이며 운동성이 없는 Gram 양성균이며, arginine, casein, gelatin hydrolysis 그리고 catalase 반응에서는 음성을 보였고, indole, H₂S를 생성하지 않는 등 대표적인 특성이 Bergey's manual⁶⁾의 분류기준과 거의 일치하였으며, 그 결과 3 균주 모두 *L. plantarum*으로 동정하였다(Table 1, 2).

제조 요구르트의 이화학적 특성과 완충능

김치에서 최종 선발한 유산균 No. 49, 61, 75의 요구르트 제조능을 검토하기 위하여 우유와 탈지분유를 이용하여 요구르트를 제조한 후 이화학적 특성 및 생균수를 조사 하였다. 3 균주를 이용하여 제조한 요구르

Table 2. Pattern of fermented carbohydrates of lactic acid bacteria isolated from *kimchi*

Carbohydrates	Strain No. of Lactic acid bacteria		
	49	61	75
Amygdalin	+	+	+
Arabinose	+	+	+
Cellobiose	+	+	+
Esculin	+	+	+
Fructose	+	+	+
Galactose	+	+	+
Gluconate	+	+	+
Glucose	+	+	+
Lactose	+	+	+
Maltose	+	+	+
Mannitol	+	+	+
Mannose	+	+	+
Melezitose	+	+	+
Melibiose	+	+	+
Raffinose	+	+	+
Rhamnose	+	+	-
Ribose	+	+	+
Salicin	+	+	+
Sorbitol	+	+	+
Sucrose	+	+	+
Trehalose	+	+	+
Xylose	-	+	-

Symbols: +, 90% or more of strains are positive; -, 90% or more of strains are negative.

트의 pH는 4.08 부터 4.30 사이였으며 No. 49가 pH 4.08로서 산 생성능이 가장 우수한 것으로 나타났다. 적정산도는 1.05~1.25%(W/V)이었고, 점도는 1,818~2,124 cps인데 No. 75가 2,124 cps로 가장 높았으며 국내 시판 농후 발효유(256~3,164 cps)¹⁵⁾와 비교할때 비교적 높은 수치였다. 또한 제조 요구르트 내의 생균수는 7.3 \times 10⁸~3.0 \times 10⁹ cfu/ml를 나타내었다(Table 3). 따라서 요구르트의 적정산도는 1.0~1.1%일때 가장 좋은 품질을 나타낸다는 보고¹⁶⁾와 점도 및 생균수 측정 결과를 시판 농후 발효유와 비교해 본 결과는 김치에서 분리 선발한 유산균의 요구르트 제조 가능성을 시사해 주었다. 한편, 완충능을 측정한 결과 1.0 N HCl로 제조 요구르트 100 ml를 고유 pH값에서 2단위 낮은 pH값까지 적정하여 소모된 HCl량을 보면 pH가 가장 높은 No. 75가 11.98 ml로 가장 낮았다. 또한 1.0 N NaOH로 고유 pH값에서 4단위 높은 pH값까지 적정하여 소모된 양은 pH가 가장 낮은 No. 49가 12.86 ml로 가장 높았으며, No. 75가 10.82 ml로 가장 낮은 값을 보였다(Table 4). 이렇게 높은 완충능은 유산균이 위를 통과하여 장내에 도달할 수 있는 확률을 높이고 이에 따라 유산균이 가지고 있는 여러 효소 특히, β -galactosidase 활성의 잔존에도 긍정적인 영향력을 미쳐 요구르트가 본래 가지고 있는 특성인 정장작용의 효과^{17,18)}를 증대시킬 것으로 기대된다.

Table 3. Physico-chemical characteristics of yogurt

Strain No. used for yogurt	Original pH	Titrateable acidity as lactic acid (%)	Viscosity (cps)	Viable cells (cfu/ml)
No. 49	4.08	1.25	1,984	3.0×10^9
No. 61	4.20	1.07	1,818	1.3×10^9
No. 75	4.30	1.05	2,124	7.3×10^8

Mean values of triplications.

Table 4. Buffer capacity of yogurt

Strain No. used for yogurt	Original pH	Vol (ml) of 1.0 N HCl to 2 unit below original pH	Vol (ml) of 1.0 N NaOH to 4 unit above original pH
No. 49	4.08	12.92	12.86
No. 61	4.20	13.02	11.04
No. 75	4.30	11.98	10.82

Mean values of triplications

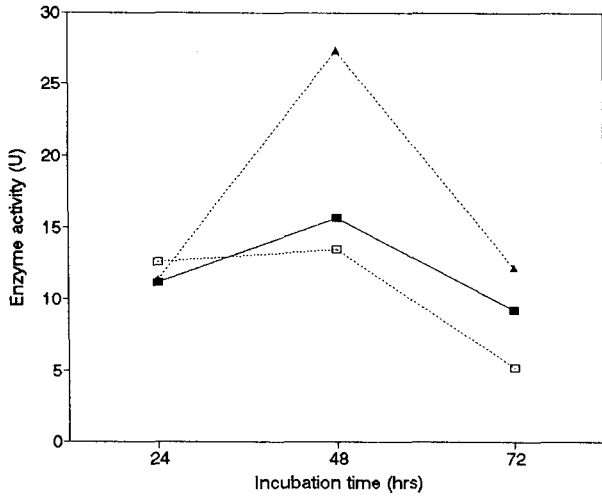


Fig. 3. Activity of β -galactosidase in yogurts during incubation(24 hrs~72 hrs). (□-□, No. 49; ■-■, No. 61; ▲-▲, No. 75).

제조 요구르트내 유산균의 β -galactosidase 활성

김치에서 분리한 유산균 No. 49, 61, 75 균주를 각각 접종한 우유 배지를 72시간 동안 37°C에서 배양하면서 경시적으로 β -galactosidase의 효소역가를 측정 한 결과 배양 시간이 경과함에 따라 효소활성이 차츰 높아지다가 48시간에 이르러 최적 활성도를 보였으며 그 이후의 시간에는 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 3).

또한 산성조건에서 유산균의 β -galactosidase 활성도를 측정하기 위하여 균주 No. 49, No. 61, No. 75로 제조한 요구르트에 1.0 N HCl을 가하여 pH를 pH 3.5, 2.5, 1.5로 각각 조정 한 후 2시간 동안 37°C의 항온기에서 배양하면서 30분 간격으로 β -galactosidase의 활성도를 측정하였다. pH 3.5에서는 배양 30분 후 No. 61의 활성은 거의 감소하지 않고 유지 되었으나 No. 49, No. 75는 50% 전후로 활성이 감소하였으며, 3균주 모두 2시간 후에도

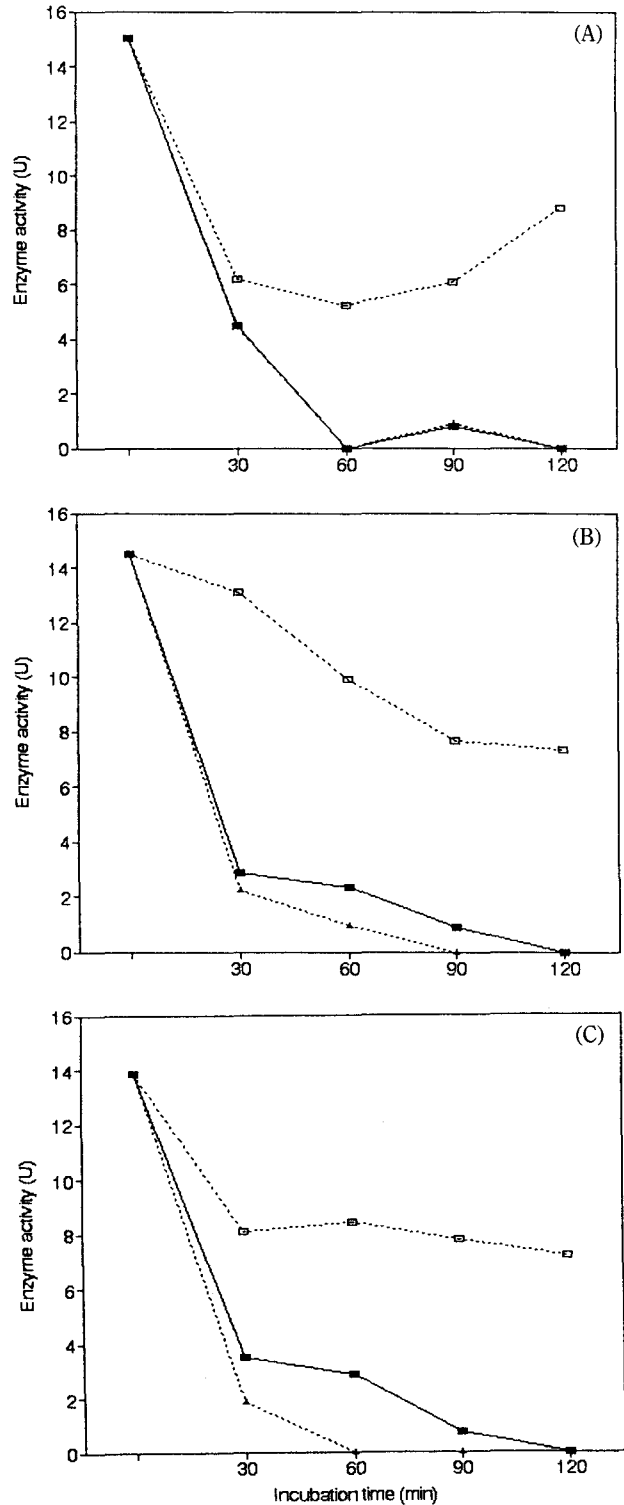


Fig. 4. Activity of β -galactosidase during incubation of yogurts at various pH (□-□, pH 3.5; ■-■, pH 2.5; ▲-▲, pH 1.5) conditions. A, *L. plantarum* No. 49; B, No. 61; C, No. 75.

처음 활성의 50% 정도가 남아 있었다. pH 2.5에서는 배양 30분 후 효소활성은 현저히 감소하여 2시간 후에는 활성이 거의 존재하지 않았다. 따라서 pH 2.5로 조정 한 시판 요구르트를 2시간 동안 배양한 후 유산균의 β -galactosidase의 활성도를 측정하였을때 9.4~30.2%가 남았

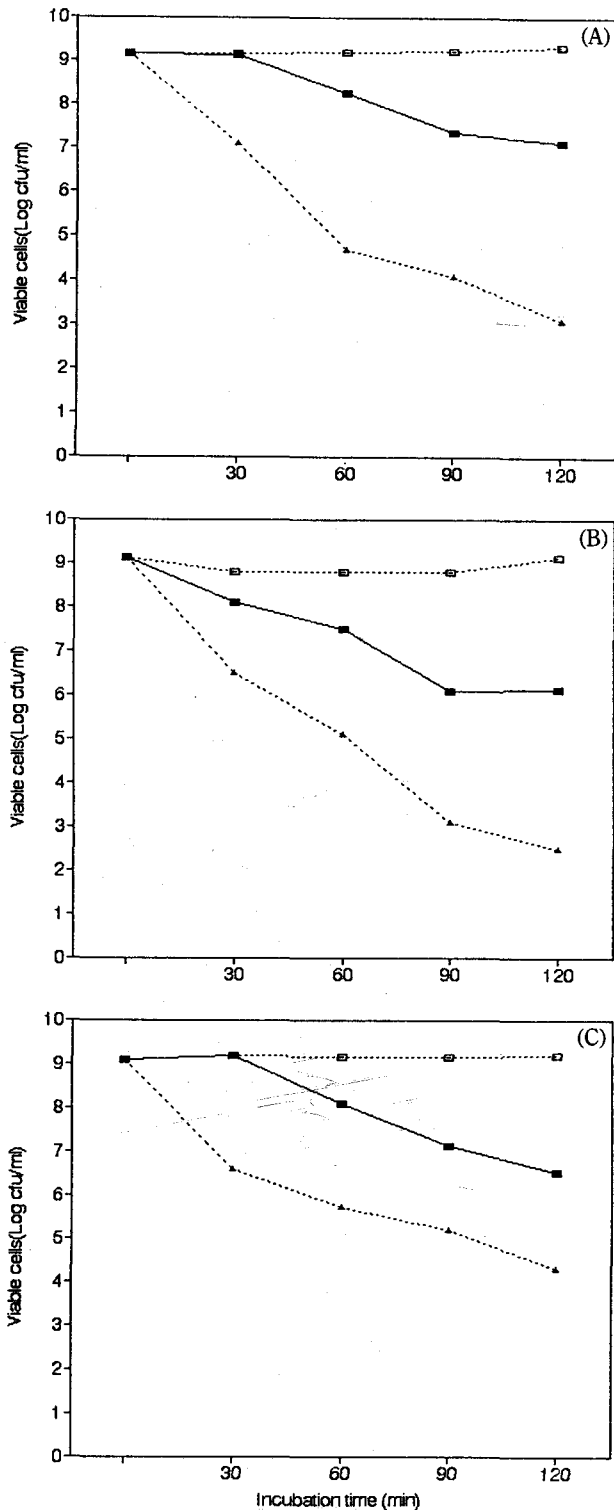


Fig. 5. Number of viable cells during incubation of yogurts at various pH (\square - \square , pH 3.5; \blacksquare - \blacksquare , pH 2.5; \blacktriangle - \blacktriangle , pH 1.5) conditions. A, *L. plantarum* No. 49; B, No. 61; C, No. 75.

다는 신¹⁵⁾등의 보고에 비해 매우 낮은 편이었다. 한편, pH 1.5에서 효소활성은 배양 30분 동안 급격히 감소하여 No. 49는 처음 활성도의 29.25%만이 존재하고 그 밖의 균주 No. 61, 75는 15%전후의 활성을 나타냈으며 2시간

후에는 모든 균주의 활성은 거의 없었으므로 효소 활성도는 유산균의 생존율과 비교하면 매우 낮은 결과로 미루어 산성조건에서 유산균의 사멸에도 불구하고 β -galactosidase의 활성이 어느 정도 유지되는 이유가 유산균의 세포벽이나 세포막의 보호작용 때문일 것이라는 보고¹⁵⁾와는 일치하지 않았다(Fig. 4).

제조 요구르트내 유산균의 생존율

3균주로 제조한 요구르트와 pH가 3.5, 2.5, 1.5로 각각 조정된 제조 요구르트를 2시간 동안 37°C의 항온기에 배양하면서 경시적으로 측정된 유산균의 생존율은 Fig. 5와 같다. pH 3.5에서는 3 균주 모두가 2시간 동안 유산균의 사멸없이 일정한 수준을 유지하였으나, pH 2.5에서는 배양시간이 경과함에 따라 서서히 감소하는 경향을 보였다. No. 49, 75는 배양초기 30분까지는 유산균의 사멸이 거의 나타나지 않았으며 그 이후에 급격히 감소하여 각각 0.75%와 0.51%의 생존율을 나타내었다. No. 61은 배양 2시간만에 생균수는 1.1×10^9 cfu/ml에서 1.3×10^6 cfu/ml로 감소하여 0.12%의 생존율을 나타내었다. 이는 신¹⁵⁾등의 pH 2.5로 조정된 시판 요구르트를 37°C에서 2시간 동안 배양한 후 생존율을 측정된 결과 0.36%가 가장 높은 생존율을 나타냈다는 보고와 비교해 볼 때 본 실험의 균주는 좋은 생존율을 나타내었다. pH 1.5에서 생균수는 배양 2시간 동안 급격히 감소하는 경향을 보였으며, 배양 2시간 후 세 균주 모두 생존율은 거의 없었다. 이는 신¹⁵⁾등의 pH 1.5로 조정된 시판 요구르트의 생존율의 결과와도 유사하였으며, pH 1.5에서 *Streptococcus thermophilus*를 2시간 동안 배양한 결과 생존율이 거의 없었다는 보고¹³⁾와 비슷하였다.

참 고 문 헌

1. 한국 식품과학회편 (1994) 김치의 과학. p 43-245. 한국 식품과학회
2. 박연희, 권정주, 조도현, 김수일 (1983) 김치에서 분리한 젖산균의 미생물 생육 저해. 한국농화학회지 **26**(1), 35-40.
3. Greenberg, N. A. and R. R. Mahoney (1981) Rapid purification of β -galactosidase (*Aspergillus niger*) from a commercial preparation. *J. Food Sci.* **46**, 684.
4. Savaiano, D. A. and M. D. Levitt (1985) Milk intolerance and microbe-containing dairy foods. *J. Dairy Sci.* **70**, 397.
5. Deman, J. C., M. Rogosa and M. E. Shape (1960) A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* **23**, 130.
6. Williams and Wilkins (1986) Bergey's manual of systematic bacteriology volume 2. Waverly press, Baltimore, U. S. A.
7. Starr, M. P., H. G. Truper and H. G. Schlegel (1984) A Hand book and identification of bacteria. The prokaryotes. Springer-Verag Berlin Heidelberg, New York.
8. Collins, C. H. and P. M. Lyne (1984) Microbiological methods. 5th ed., Butterworths.
9. Collins, J. L., C. B. Ebah, J. R. Mount, B. J. Demott and F. A. Draughon (1991) Production and evaluation of milk-sweet potato mixtures fermented with yogurt bacteria. *J.*

- Food Sci.* **56**, 685-688.
10. 김경희, 고영태 (1993) 우유와 곡류를 이용한 요구르트의 제조. *한국식품과학회지* **25**, 130-135.
 11. 신용서, 이갑상, 김동한 (1993) 고구마와 호박을 첨가한 요구르트의 제조에 관한 연구. *한국식품과학회지* **25**, 666-671.
 12. Martini, M. C., G. L. Bollweg, M. D. Levitt and D. A. Saviano (1987) Lactose digestion by yogurt β -galactosidase: influence of pH and microbial cell integrity. *Am. J. Clin. Nutr.* **45**, 432-436.
 13. Shan, N. and P. Jelen (1990) Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions. *J. Food Sci.* **55**, 506-509.
 14. Ramana Rao, M. V. and S. M. Dutta (1981) Purification and properties of beta-galactosidase from *Streptococcus thermophilus*. *J. Food Sci.* **46**, 1419-1423.
 15. 신용서, 성현주, 김동한, 이갑상 (1994) 산성조건하에서 시판요구르트의 유산균 생존율과 β -galactosidase의 활성도. *한국농화학회지* **37**, 3, 143-147.
 16. 고준수, 양부근, 안종건 (1991) 반고체형 Set yogurt 제조에 관한 연구. *한국낙농학회지* **4**, 129-132.
 17. Seneca, H. A. (1955) A new approach to the etiology and management of constipation. *Am. J. Dig. Dis.* **22**, 272-273.
 18. DeDios, Pozo-Olano, J., J. H. Warran, R. G. Gomez and M. G. Cavazos (1978) Effect of a lactobacilli preparation on traveler's diarrhea. *Gastroenterol.* **74**, 829-839.

Physico-chemical characteristics and β -galactosidase activity of *Lactobacillus plantarum* from kimchi

Young-Hwan Rhee* and Mi-Seon Kang (*Department of Agricultural Chemistry College of Agriculture, Chonnam National University Kwangju 500-757 Korea*)

Abstract : Three strains of inhibitory lactic acid bacteria (No. 49, No. 61, No. 75) against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*(ATCC33694), and *Bacillus subtilis*(ATCC6633) were isolated from kimchi, and then, identified to be *Lactobacillus plantarum* after examinations of their biological and physiological characteristics. To investigate a possible application of these three lactobacilli in milk fermentation industry, we made yogurts and then evaluated their β -galactosidase activities at various incubation time(from 24 hrs to 72 hrs). The result of experiment was that β -galactosidase activities were reached maximum at 48 hrs and that reduced gradually with the lapse of time. And the β -galactosidase activity of lactobacilli and their viable cell counts at 37°C for 2 hrs under various pH conditions were investigated. β -galactosidase activities of 3 strains were reduced 50% at pH 3.5, but there were no remaining activities at pH 2.5, and pH 1.5, respectively. The frequency of the survival cell of lactobacilli in yogurt were 0.12~0.75% at pH 2.5, 6.3×10^{-5} ~ 2.7×10^{-3} % at pH 1.5, respectively, but there was no significant difference at pH 3.5. The values of original pH, titratable acidity as lactic acid, viscosity, and viable cells of yogurts were 4.08~4.30, 1.05~1.25%, 1,818~2,124 cps and 7.3×10^8 ~ 3.0×10^9 cfu/ml, respectively. To estimate buffer capacity of yogurt, the volume of 1.0 N HCl to 2 unit below original pH of yogurt(100 ml) was 11.98~13.02 ml and the volume of 1.0N NaOH to 4 unit above original pH of yogurt(100 ml) was 10.82~12.86 ml.

*Corresponding author