

## 젓갈에서 분리한 *Lactobacillus* spp.로 제조한 요구르트의 이화학적 특성

김종현\* · 이영환 · 나한주 · 이용규<sup>1</sup> · 신승이<sup>2</sup>

전남대학교 농과대학 농화학과, <sup>1</sup>전남대학교 농과대학 낙농학과, <sup>2</sup>동아전문대학 식품가공과

**초록** : 젓갈류로부터 *Lactobacillus casei* 2주와 *L. pentosus* 1주를 분리, 동정한 후 이들 유산균의 요구르트 제조 starter로서의 이용 가능성을 고찰하고자, 이들 균주를 starter로 이용하여 요구르트를 제조한 결과 요구르트 고유의 pH값은 4.03~4.26, 산도는 1.049~1.217%, 점도는 1,772~2,232 cps, 그리고 생균수는  $1.4 \times 10^9 \sim 1.6 \times 10^9$  cfu/ml였다. 요구르트의 완충능은 (요구르트 100 ml 기준) 1.0N HCl의 경우 12.50 ml 부터 14.06 ml 소모 되었고 1.0N NaOH는 9.46 ml 부터 13.06 ml 소모 되었다. 한편, 요구르트 제조시 균주 첨가 후 24시간 부터 72시간 동안 경시적으로  $\beta$ -galactosidase 활성도를 조사한 결과 48시간에 최고의 효소활성을 보였으며 이후에는 감소하였다. 또한 산성조건에서 2시간 동안 경시적으로  $\beta$ -galactosidase 활성도와 유산균 생존율을 측정된 결과 pH 3.5에서 2시간 후에는 20~60% 정도 효소활성이 감소하였으며 pH 2.5와 pH 1.5에서 효소활성은 거의 없었다. 한편, 유산균의 생존율은 pH 3.5에서 2시간 후 거의 변화가 없었으나 pH 2.5와 pH 1.5에서는 각각  $1.9 \times 10^6 \sim 1.8 \times 10^8$ ,  $1.0 \times 10^3 \sim 2.4 \times 10^5$  cfu/ml 수준이었다.(1996년 5월 6일 접수, 1996년 10월 30일 수리)

### 서 론

유산균은 발효식품의 starter로 이용되고 있을 뿐 아니라, 다양한 연구가 진행되어 장내 세균수의 안정화,<sup>1)</sup> 위 장관내 병원균 증식의 억제,<sup>2)</sup> 혈장 콜레스테롤의 저하,<sup>3)</sup> 특이와 비특이 면역 반응의 유도 및 영양소 이용의 향상,<sup>4,5)</sup> 그리고 암 퇴화와 장내 효소 활성 감소로 결장암의 예방 효과가 있는 것으로 알려져 있다.<sup>6)</sup> 특히 유산균이 분비하는  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -D-galactoside galactohydrolase, EC.3.2.1.23)는 lactose를 glucose와 galactose로 분해, 생산하는 효소<sup>8)</sup>로서 우유나 유가공품 특히, whey에서 lactose의 함량을 낮추고, lactose intolerance와 식품에서 lactose로 인한 농축 유제품과 아이스크림에 생기는 砂狀(sandiness), 그리고 낮은 감미도를 해결하는 방안으로 연구되어 왔다.<sup>10-12)</sup> 또한  $\beta$ -galactosidase는 식물 세포벽을 구성하는 pectin질의 측쇄인 galactan이나 arabinogalactan에 작용하여 arabinose와 galactose를 유리하므로써 조직을 연화 시킨다<sup>13)</sup>는 보고가 있다.

한편, 젓갈은 어패류를 원료로 자체내의 자가분해효소와 미생물로 인한 자연적인 발효에 의해 생성되는 유리 아미노산 그리고 핵산 분해 산물의 상승 작용으로 인한 특유의 향미를 내는 유산 발효 가공 식품이다.<sup>14)</sup> 이러한 젓갈류가 부재료로 사용되는 김치의 경우, 발효가 진행됨에 따라 유산균들이 주종을 이루어 생육하게 되면서 발효가 진행되며 맛에 중요한 역할을 하는 lactic acid와 succinic acid를 비롯한 각종 유기산과 방향을 내는 여러 저분자 물질들이 생성된다<sup>15,16)</sup>고 알려져 있으나 젓갈류의 경우는 이러한 연구보

고 거의 없다.

따라서 본 연구에서는 우리의 전통 발효 식품인 젓갈로부터 유산균을 분리하여 동정하고, 향후 이들 유산균을 이용하여 우유를 원료로하는 요구르트 등 여러 발효식품에 응용할 수 있는지 여부를 조사하기 위해 이들 균주를 이용하여 요구르트를 제조하고, 제조한 요구르트의 이화학적 특성 및 여러 산성조건하에서 요구르트 제조균주의  $\beta$ -galactosidase 활성도 및 균주의 생존율 등을 조사 검토하였다.

### 재료 및 방법

#### 유산균의 분리 및 선별

MRS<sup>17)</sup>broth(*Lactobacillus* MRS broth; Difco)에 멸치 및 새우젓류에서 채취한 즙액을 접종하고 30°C에서 5시간 동안 활성화 시킨 후 멸균증류수로 희석하여 MRS agar 배지에 도말 접종하였다. 이것을 37°C에서 24시간 배양한 후 생성된 집락을 분리하여 CaCO<sub>3</sub>가 최종농도 0.6%(W/V)되도록 첨가된 MRS agar 배지에 재 접종하고 24시간 배양한 후 집락 주위에 투명환의 크기가 직경 1 cm 이상 형성된 균주만을 유산생성 균주로 선별하였다.

#### 유산균의 분류, 동정 및 보존

선별된 균주의 형태학적, 생물학적 그리고 생화학적 성질 등은 Bergey's manual of systematic bacteriology,<sup>18)</sup> The prokaryotes,<sup>19)</sup> Microbiological method<sup>20)</sup> 등에 기술된 방법에 따라 조사, 비교하여 분류, 동정하였다. 이들 균주는 MRS broth(pH 6.5)에 배양한 후 glycerol을 최종농도가

찾는말 : *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus pentosus*,  $\beta$ -galactosidase, yogurt

\*연락처

20% (w/v)되도록 첨가하여 -70°C에 냉동 보관하며 필요에 따라 MRS 배지에 접종, 배양한 후 사용하였다.

**요구르트 제조 및 이화학적 특성**

시판우유에 탈지분유 (3%; W/V)를 첨가하여 멸균 (121°C, 15분)한 배지에 선발된 균주 배양액을 각각 5%(V/V)의 농도로 접종한 후 37°C에서 24시간 정지배양하여 요구르트를 제조하였다. 제조된 요구르트의 pH는 pH meter (Orion model 420A)를 이용하였으며, 산도는 Collins<sup>21)</sup>의 방법에 따라 측정하였다. 또한, 제조 요구르트의 점도<sup>22)</sup>는 200 ml의 요구르트를 8°C의 cold room에서 Brookfield viscometer (Model LVT)의 3번 spindle을 12 rpm으로 회전시키며 4분에서 8분까지 1분 간격으로 측정하여 평균치로 나타내었다. 요구르트 내의 생균수<sup>23)</sup>는 희석평판법으로 계수하였으며, 완충능<sup>24)</sup>은 100 ml의 요구르트를 1.0N HCl로 고유의 pH값보다 2단위 낮은 pH값까지, 1.0N NaOH로 4단위 높은 pH값까지 적정하여 소모된 양 (ml)으로 표시하였다.

**β-galactosidase 활성도 및 균주 생존율**

선발 균주를 starter로 이용하여 요구르트를 제조하는 과정 중에서, 그리고 제조된 요구르트의 pH를 각각 3.5, 2.5, 1.5로 조정 한 후 시간 경과에 따른 β-galactosidase 효소 활성도와 균주 생존율을 측정하였다. 이때, 조효소액은 요구르트 2g에 2 ml의 0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.0)를 가한 후 2분간 초음파 처리(No 4523/350 Ultrasonics Ltd)하여 준비 하였다. 기질은 0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.0)에 o-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside (ONPG)를 5 mM되도록 녹여 5 ml씩 나눠 4°C에 보관하며 사용하였다. 효소의 활성은 준비된 기질 5 ml에 조효소액 1 ml를 첨가하여 37°C에서 15분간 반응시키고 ice-bath에서 급냉시킨 후 반응을 정지시키기 위해 2.5 ml의 1.0M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액을 가한 다음 OD 420 nm에서 유리 o-nitrophenol을 정량하여 측정하였다. 이때 blank는 기질만을 37°C에서 15분간 배양한 후 2.5 ml의 1.0M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액과 조효소액을 차례로 첨가하여 사용하였다. 효소활성도 단위(unit)<sup>25,26)</sup>는 1 g의 시료에서 1분간 ONPG로 부터 1 mol의 o-nitrophenol을 유리하는 것을 1 unit로 하였으며, o-nitrophenol의 정량은 표준곡선을 이용하였다. 균주 생존율은 각각의 선발 균주를 접종하여 제조된 요구르트의 생균수와 pH가 3.5, 2.5, 1.5로 각각 조정된 제조 요구르트의 생균수를 MRS 고체 배지를 이용한 희석평판법으로 계수하여 비교하였다. 모든 실험 결과는 3 반복 수행하여 나타내었다.

**결과 및 고찰**

**유산균의 선발, 분류 및 동정**

젓갈류로부터 분리한 유산균 중 유산생성능이 우수한 3 주를 최종 선발하고 이들 균주의 형태를 scanning electron microscope(Model JSM-5400)로 관찰하였다. 3 균주

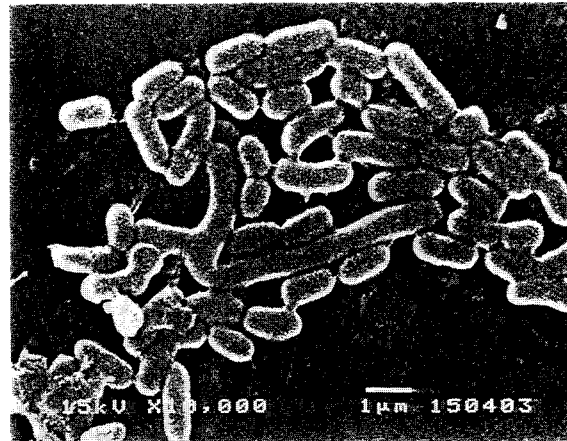


Fig. 1. Scanning electron micrograph showing cell morphology of *L. casei* No.36 isolated from pickles.

모두 간균 이었고 크기는 0.4~0.7×0.9~5.7 μm이었다 (Fig. 1).

또한 이들 균주는 비포자성이며 운동성이 없는 Gram 양성균으로 arginine, casein, gelatin hydrolysis 그리고 catalase 반응에서 음성으로, indole과 H<sub>2</sub>S를 생성하지 않는 등 대표적인 특성이 Bergey's manual<sup>18)</sup>의 분류기준과 거의 일치하였다. *L. casei*로 동정된 *L. casei* No.10은 melibiose와 xylose에서 발효하는 반면 rhamnose에서는 발효하지 못하였고 *L. casei* No.36은 melezitose와 gluconate를 발효하지 못하는 반면 xylose를 발효하는 점에서 Bergey's manual과 차이를 보였다. 이러한 점들은 본 균주들이 현행 분류 체계에서는 *L. casei*에 가장 가깝지만 전혀 다른 종일 수 있음을 시사하였다. 또한 동일 종이라하더라도 나름대로의 생육환경의 특이성 때문에 Bergey's manual의 분류 체계와 약간의 차이가 있을수 있으리라 사료 되었다. 한편 *L. pentosus*로 동정된 *L. pentosus* No.63은 모든 분류기준과 잘 일치하였다(Table 1, 2). 따라서 본 균주들의 분류학상의 위치를 더욱 정확히 밝히기 위해서는 세포벽의 peptidoglycan 조성, DNA의 hybridization, lactic dehydrogenase의 전기영동 pattern, 가용성 총 단백질의 전기영동 pattern 및 지방산 profile 등을 조사할 필요가 있다고 판단된다.

**제조 요구르트의 이화학적 특성**

탈지분유가 3% 첨가된 시판우유를 원료로, 선발된 3 균주를 starter로 사용하여 요구르트를 제조한 후 이화학적 특성 및 생균수를 조사하여 이들 균주들의 요구르트 제조능을 검토하였다. 제조 요구르트의 pH는 4.03~4.26 사이였으며 *L. casei* No.10이 pH 4.03으로 산 생성능이 가장 우수하였고, 산도는 1.049~1.261%(W/V)이었다. 점도는 1.772~2.232 cps로 나타났으며 *L. casei* No.10이 2.232 cps로 가장 높았다. 김치에서 분리한 *L. plantarum*<sup>7)</sup>(1,818~2,124 cps), 그리고 No.75는 2.124 cps였으며 국내 시판 농후 발효유(256~3,164 cps)<sup>26)</sup>와 비교할 때 젓갈류에서 분리한 위의 균주로 제조한 요구르트 역시 비교적 높은 수치를 보였다. 제조 요구르트 내의 생균수는 1.4×10<sup>9</sup>~1.6×10<sup>9</sup> cfu/

Table 1. Physico-chemical characteristics of *Lactobacillus* spp. isolated from pickles

Factor examined	Strain No. of <i>Lactobacillus</i>		
	10	36	63
Shape	rod	rod	rod
Size ( $\mu\text{m}$ ) (width $\times$ length)	0.4~0.6 $\times$ 1.0~2.9	0.6~0.7 $\times$ 0.9~5.7	0.6~0.7 $\times$ 1.0~2.6
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 <sub>2</sub> S production	-	-	-
Litmus milk reaction			
acidification	+	+	+
reduction	+	+	+
coagulation	+	+	+
Citrate utilization	-	-	-
Growth in 4% NaCl	+	+	+
Growth at 15°C	+	+	+
Growth at 45°C	+	+	-

Symbols : +, showing positive growth; -, showing negative growth

Table 2. Acid production from carbohydrate sources by *Lactobacillus* spp. isolated from pickles

Carbohydrates	Strain No. of <i>Lactobacillus</i>		
	10	36	63
Amygdalin	+	+	+
Arabinose	+	+	+
Cellobiose	+	+	+
Esculin	+	+	+
Fructose	+	+	+
Galactose	+	+	+
Gluconate	+	-	+
Glucose	+	+	+
Lactose	+	+	+
Maltose	+	+	+
Mannitol	+	+	+
Mannose	+	+	+
Melezitose	+	-	-
Melibiose	+	-	+
Raffinose	+	-	+
Rhamnose	-	+	-
Ribose	+	+	+
Salicin	+	+	+
Sorbitol	+	+	+
Sucrose	+	+	+
Trehalose	+	+	+
Xylose	+	+	+

Symbols : +, showing positive acid production; -, showing negative acid production

Table 3. Physico-chemical characteristics of yogurt made by using lactic acid bacteria for 24 hrs at 37°C

Strains used for yogurt	Original pH	Titrateable acidity as lactic acid (%)	Viscosity (cps)	Viable cells (cfu/ml)
No10 <sup>a</sup>	4.03	1.049	2,232	1.6 $\times$ 10 <sup>9</sup>
No36 <sup>a</sup>	4.26	1.261	1,994	1.4 $\times$ 10 <sup>9</sup>
No63 <sup>b</sup>	4.16	1.217	1,772	1.5 $\times$ 10 <sup>9</sup>

Mean values of triplications. <sup>a</sup>*Lactobacillus casei* <sup>b</sup>*Lactobacillus pentosus*

Table 4. Buffer capacity<sup>1</sup> of yogurt

Strains used for yogurt	Original pH	Volume of 1.0N HCl to 2 unit below original pH	Volume of 1.0N NaOH to 4 unit above original pH
No10 <sup>a</sup>	4.03	14.06	13.06
No36 <sup>a</sup>	4.26	12.50	11.24
No63 <sup>b</sup>	4.16	13.84	9.46

<sup>1</sup>Volume (ml) of 1.0N HCl or 1.0N NaOH required to alter the pH of 100 ml of yogurt and mean values of triplications. <sup>a</sup>*Lactobacillus casei*, <sup>b</sup>*Lactobacillus pentosus*

ml로 시판 농후 발효유와 유사하였다(Table 3). 따라서 요구르트의 적정산도는 1.0~1.1%일때 가장 좋은 품질을 나타낸다는 보고<sup>27)</sup>와 점도 및 생균수 측정 결과를 시판 농후 발효유와 비교해 본 결과, 본 실험에 사용된 유산균은 요구르트 제조 이용 가능성을 시사해 주었다. 한편, 완충능은 1.0N HCl과 1.0N NaOH 소모량이 각각 14.06 ml, 13.06 ml로 pH가 가장 낮은 *L. casei* No.10이 가장 높게 나타났고, *L. pentosus* No.63이 9.46 ml로 가장 낮은 값을 보였다(Table 4). 시판 농후 발효유의 경우는 요구르트 50 ml를 적정하였을 때 0.1N HCl은 3.71부터 4.08 ml가, 0.1N NaOH는 3.19부터 3.40 ml가 소모된 것으로 보고<sup>28)</sup>된바 있다. 높은 완충능을 갖는 유산균은 위를 통과하여 장에 도달할 수 있는 확률이 높고 이에 따라 유산균이 가지고 있는 여러 효소 특히,  $\beta$ -galactosidase 활성의 잔존에도 긍정적인 영향력을 미치며 요구르트 본래 특성인 정장작용<sup>13,28)</sup>과 장내 균총의 안정화,<sup>1)</sup> 병원균 증식의 억제,<sup>2)</sup> 영양소 이용 향상<sup>5)</sup> 등의 효과를 증대시킬 것으로 기대된다.

### $\beta$ -galactosidase 활성

*L. casei* No.10, No.36과 *L. pentosus* No.63을 starter로 우유배지에 접종한 후 37°C에서 72시간 동안 배양하며 경시적으로  $\beta$ -galactosidase 역가를 측정 한 결과, 시간이 경과함에 따라 효소활성이 차츰 증가하여 48시간에 최고의 활성도를 보였으며 그 이후에는 감소하였다. 특히, *L. pentosus* No.63은 24시간의 활성도와 비교했을때 48시간에서 2배 이상의 현저한 증가 추세를 보였으며(Fig. 2), 이는 이<sup>7)</sup> 등의 *L. plantarum*과 유사하였다. 산성조건 하에서의  $\beta$ -galactosidase 활성도 측정은 3 균주를 starter로 각각 제조한 요구르트에 1.0N HCl을 가하여 pH 3.5, 2.5, 1.5로 조정 한 후 37°C에서 2시간 동안 유지하며 30분 간격으로 효소 활성도를 측정하였다(Fig. 3). pH 3.5에서는 배양 30분 후

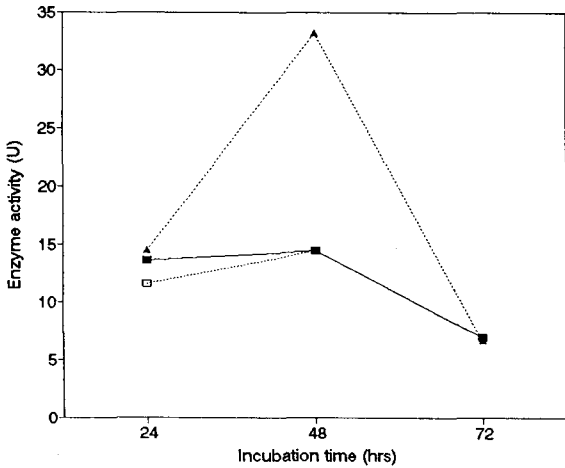


Fig. 2. Activity of  $\beta$ -galactosidase (□—□, *L. casei* No.10; ■—■, *L. casei* No.36; ▲—▲, *L. pentosus* No.63) in yogurt production after inoculation.

*L. casei* No.10은 약 12%, *L. casei* No.36은 65~70%정도 활성이 감소된 반면 *L. pentosus* No.63은 활성을 그대로 유지하였다. 배양 90분 후 3균주 모두 약간의 활성 상승이 관찰되었다. pH 2.5에서는 배양 30분 후 *L. casei* No.10은 약 24%의 활성 감소가 관찰되었으나 그의 균주의 활성은 현저히 감소하여 2시간 후에는 활성이 거의 없었다. pH 2.5에서 2시간 배양 후 유산균의  $\beta$ -galactosidase의 활성도가 9.4%~30.2%정도 였다는 보고<sup>26)</sup>와 비교했을 때 매우 낮은 편이었다. 한편, pH 1.5에서 효소활성은 배양 30분 동안 급격히 감소하여 *L. casei* No.10이 처음 활성도의 47%, *L. casei* No.36과 *L. pentosus* No.63은 15% 전후의 활성을 나타냈으며 2시간 후에는 *L. casei* No.10이 11%정도 활성이 유지되었으나 그 밖의 균주의 활성은 거의 없었으므로 효소 활성도는 유산균의 생존율(Fig. 4)과 비교했을 때 매우 낮았다. 이는 이<sup>7)</sup>의 결과와도 유사하였으며 또한 산성조건으로 인하여 유산균이 사멸 되더라도 유산균의 세포벽이나 세포막의 보호 때문에  $\beta$ -galactosidase의 활성이 어느 정도 유지될 것이라는 보고<sup>26)</sup>와는 일치하지 않았다.

**균주 생존율**

요구르트내의 유산균 생존율을 조사하기 위하여 3 균주를 접종하여 제조한 요구르트와 pH가 3.5, 2.5, 1.5로 각각 조정된 제조 요구르트를 2시간 동안 37°C에서 배양하면서 경시적으로 측정하였다(Fig 4). pH 3.5에서는 3 균주 모두가 2시간 동안 유산균의 사멸없이 일정한 수준을 유지하였으나, pH 2.5에서는 배양시간이 경과함에 따라 서서히 감소하는 경향을 보였다. *L. casei* No.10, No.36은 배양 초기 30분까지는 유산균의 사멸이 거의 나타나지 않았으며 그 이후에 급격히 감소하여 배양 2시간만에 각각 3.0%와 11.9%의 생존율을 나타내었다. *L. pentosus* No.63은 배양 2시간만에 생존수는  $1.1 \times 10^9$  cells/ml에서  $1.9 \times 10^6$  cells/ml로 감소하여  $5.1 \times 10^{-1}$ %의 생존율을 나타내었다. 이는 pH 2.5로 조정된 시판요구르트를 2시간 배양한 후 생존율

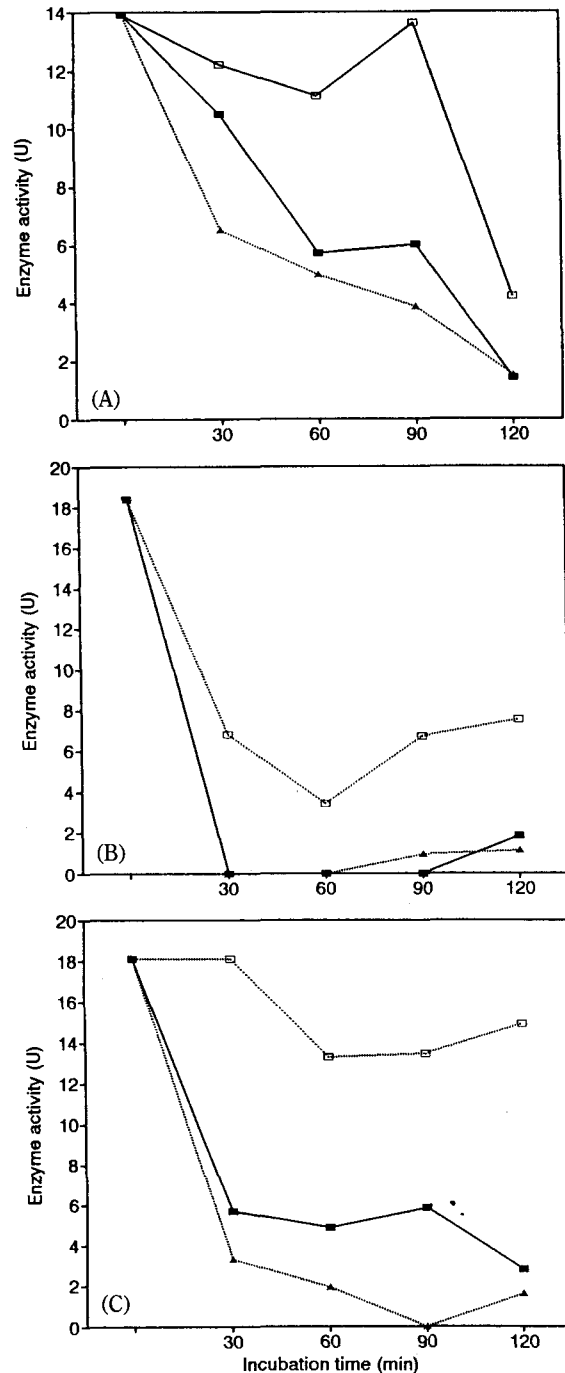


Fig. 3. Activity of  $\beta$ -galactosidase during incubation of yogurts under various pH (□—□, pH 3.5; ■—■, pH 2.5; ▲—▲, pH 1.5) conditions. A, *L. casei* No.10; B, *L. casei* No.36; C, *L. pentosus* No.63.

이  $3.6 \times 10^{-1}$ %이었다는 보고<sup>25)</sup>와 비교해 볼때 본 실험의 균주는 좋은 생존율을 나타내었다. pH 1.5에서 생존수는 배양 2시간 동안 급격히 감소하는 경향을 보였으며, 배양 2시간 후 *L. casei* No.10, *L. pentosus* No.63의 생존율은 각각  $1.5 \times 10^{-2}$ %,  $2.0 \times 10^{-4}$ % 그리고  $9.1 \times 10^{-5}$ %로 나타났다. 이는 이<sup>7)</sup> 신<sup>26)</sup> 등의 결과와도 유사하였으며, pH 1.5에서 *Streptococcus thermophilus*를 2시간 동안 배양한 결과 생존율이  $5.3 \times 10^{-5}$ %이었다는 보고<sup>23)</sup>와 비슷하였다.

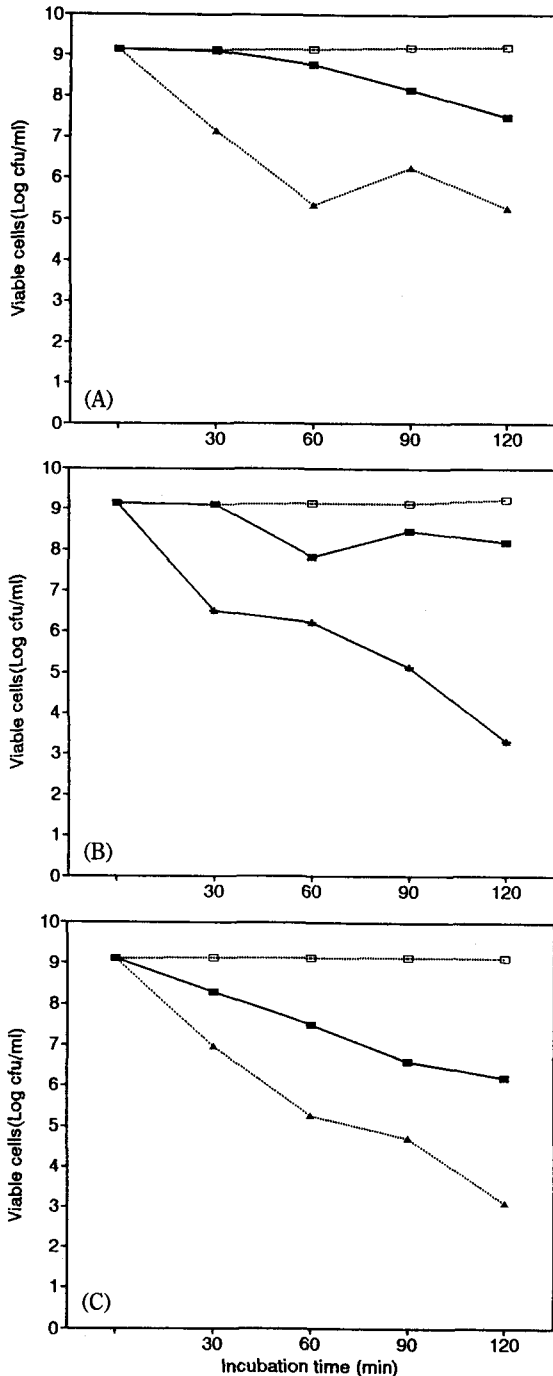


Fig. 4. Number of viable cells during incubation of yogurts under various pH (□—□, pH 3.5; ■—■, pH 2.5; ▲—▲, pH 1.5) conditions. A, *L. casei* No.10, B, *L. casei* No.36, C, *L. pentosus* No.63.

### 참고문헌

- Lidbeck, J. Gustafsson. and C. E. Nord (1987) Impact of *Lactobacillus acidophilus* on the normal intestinal flora after administration of two antibiotic agents. *Infection*. **16**, 329-336.
- Fernandes, C. F., K. M. Shahani and M. A. Amer (1987) Therapeutic role of dietary lactobacilli fermented dairy products. *FEMS*. **46**, 343-356.
- Suzuki, Y. and H. Kaizu (1991) Effect of cultured milk on serum cholesterol concentration in rats which were fed high-cholesterol diets. *Anim. Sci. Technol.* **62**, 565.
- Saucier, L., M. Sulien, F. Cheour, R. Letaarte and J. Goulet Effect of feeding lactic acid bacteria and fermented milk on specific and nonspecific immune responses of mice infected with *Klebsiella pneumoniae* AD-1. unbekannt.
- Fernandes, C. F., R. C. Chandan and K. M. Shahani (1992) Fermented dairy products and health In: The lactic acid bacteria, Volum 1, edited by Wood, B. J. B. London, New York : Elsevier Applied Science. p.297-342.
- Goldin, B. R., S. L. Gorbach (1984) The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. *Am. J. Clin. Nutr.* **39**, 756-761.
- 이영환, 강미선 (1996) 김치에서 분리한 유산균 *Lactobacillus plantarum*의 이화학적 특성 및  $\beta$ -galactosidase 활성. **39**, 54-59.
- Greenberg, N. A. and R. R. Mahoney (1981) Rapid purification of  $\beta$ -galactosidase (*Aspergillus niger*) from a commercial preparation. *J. Food Sci.* **46**, 684.
- Savaiano, D. A. and M. D. Levitt (1985) Milk intolerance and microbe-containing dairy foods. *J. Dairy Sci.* **70**, 397.
- Pazur, J. H., T. M. Tipton, J. Budovich, and J. M. Marsh (1958) Structural characterization of products of enzymatic disproportionation of lactose. *J. Amer. Chem. Soc.* **80**, 119-121.
- Tumerman, L., H. Fram, and K. W. Cornely (1954) The effect of lactose crystallization on protein stability in frozen concentrated milk. *J. Dairy Sci.* **37**, 830.
- Bouvy, FAM. (1975) Application for lactase-treated whey. *Food Prod. Develop.* **9**, 10.
- 구영조, 최신양 (1991) 김치의 과학 기술. 한국식품개발 연구원 기술 신서 제2집, 창조.
- 이서래 (1986) 한국의 발효 식품. 이화여대 출판부. 324-333.
- 한국 식품과학회편. (1994) 김치의 과학. 한국 식품과학 p 43-245
- 이매리, 이혜수 (1990) 동치미의 맛 성분에 관한 연구. 한국 조리과학회지. **6**(1), 1-8.
- Demam, J. C., M. Rogosa, and M. E. Shape (1960) A medium for the cultivation of *lactobacilli*. *J. Appl. Bacteriol.* **23**, 130.
- Murray, R. G. E. and P. H. A. Sneath (1986) Bergey's manual of systematic bacteriology volume 2, Williams and Wilkins, Baltimore, U. S. A.
- 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.
- Collins, C. H. and P. M. Lyne. (1984) Microbiological methods. 5th ed, Bufferworths.
- 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.
- 김경희, 고영태 (1993) 우유와 곡류를 이용한 요구르트의 제

- 조. 한국식품과학회지. **25**, 130-135.
23. Shan, N. and P. Jelen (1990) Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions. *J. Food Sci.* **55**, 506-509.
  24. Martini, M. C., G. L. Bollweg, M. D. Levitt and D. A. Savaiano (1987) Lactose digestion by yogurt  $\beta$ -galactosidase : influence of pH and microbial cell integrity. *Am. J. Clin. Nutr.* **45**, 432-436.
  25. Ramana Rao, M. V. and S. M. Dutta (1981) Purification and properties of beta-galactosidase from *Streptococcus thermophilus*. *J. Food Sci.* **46**, 1419-1423.
  26. 신용서, 이갑상, 김동한 (1994) 산성조건하에서 시판요구르트의 유산균 생존율과  $\beta$ -galactosidase의 활성도. 한국 농화학회지 **37**(3), 143-147.
  27. 고준수, 양부근, 안종건 (1991) 반고체형 Set yogurt 제조에 관한 연구. 한국낙농학회지. **4**, 129-132.
  28. Seneca, H. A. (1955) A new approach to the etiology and management of constipation. *Am. J. Dig. Dis.* **22**, 272-273.

Physico-chemical Characteristics of Yogurt by *Lactobacillus* spp. from Pickles

Jong-Hyun Kim\*, Young-Hwan Rhee, Han-Ju Na, Yong-Kyu Lee<sup>1</sup> and Seung-Yee Shin<sup>2</sup> (Department of Agricultural Chemistry; <sup>1</sup>Department of Dairy Science, College of Agriculture, Chon-Nam National University, Kwang-Ju 500-757, Korea; <sup>2</sup>Department of Food Science & Technology, Dong-A Junior College, Yong-Am 526-870, Korea)

**Abstract** : Three strains of lactic acid bacteria were isolated from fish and shrimp pickles. Two strains were identified as *Lactobacillus casei*, and one strain as *L. pentosus*, respectively. All three strains were used as starters in producing yogurts. The physico-chemical characteristics of yogurts were examined. The original pH, titratable acidity, viscosity and viable cell counts of the yogurts were 4.03~4.26, 1.049~1.217%, 1,772~2,232 cps and  $1.4 \times 10^9 \sim 1.6 \times 10^9$  cfu/ml, respectively. In evaluating buffer capacity, 12.50~14.06 ml 1.0N HCl was consumed to titrate 100 ml of yogurt to pH value 2 units below the original pH value and 9.46~13.06 ml of 1.0N NaOH was consumed to pH value 4 units above the original pH value. The  $\beta$ -galactosidase activity reached maximum at 48 hrs, and reduced gradually during fermentation. After 2 hr incubation of yogurts at 37°C under different pH conditions,  $\beta$ -galactosidase activities of three strains were reduced to 50% at pH 3.5, but there were no remaining activities neither at pH 2.5 nor at pH 1.5. Under the same pH conditions the number of viable cells decreased to  $1.9 \times 10^6 \sim 1.8 \times 10^8$  cfu/ml at pH 2.5 and  $1.0 \times 10^3 \sim 2.4 \times 10^5$  at pH 1.5, respectively. However, no significant difference was found at pH 3.5.

**Key words** : *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus pentosus*,  $\beta$ -galactosidase, yogurt

\*Corresponding author