pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 33, No. 6, pp. 474~482 (2018)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2018.33.6.474

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

프로바이오틱스와 유산균 제품의 균수 함량과 보존방법에 따른 변화 연구

김영수* · 황선일 · 김상태 · 한나은 · 김혜영 · 김현수 · 박광희 · 윤미혜
경기도보건환경연구원 식품의약품연구부 미생물팀

Investigation of the Lactic Acid Bacteria Content of Probiotic and Lactic Acid Bacteria Products: a Study on Changes in the Preservation Method of Probiotic Products

Young-Su Kim*, Sun-Il Hwang, Sang-Tae Kim, Na-Eun Han, Hye-Young Kim, Hyun-Soo Kim, Kwang-Hee Park, and Mi-Hye Yoon
Microbiology Team, Food and Drug Research Department, Gyeonggi-do Institute of Health and Environment, Suwon, Korea
(Received August 28, 2018/Revised September 10, 2018/Accepted November 25, 2018)

ABSTRACT - The aim of this study was to determine and analyze probiotic contents, pH, and acidity of 120 samples of health functional and processed foods containing lactic acid bacteria distributed in 2017. The changes due to the preservation methods were also determined and analyzed in five probiotic products. Two samples of the 85 health functional food products had lactic acid bacteria at lower levels than the marked amount required to meet Korean food standards, whereas the 35 processed products were all suitable for distribution. The averages for probiotic contents, pH, and acidity were 1.2×10^{10} CFU/g, 5.35, and 1.29%, respectively. The average count of lactic acid bacteria in the 17 samples with marked amount among the 35 processed foods was 5.8×10^{8} CFU/g. The effects of preservation temperature (–20°C, 4°C, 20°C, and 40°C) and storage period (1, 3, and 6 months) on probiotic content, pH, and acidity were determined for 5 probiotic products. After 1 to 6 months, the average reduction in probiotic content was by 59%; the lowest reduction occurred at 4°C and the highest reduction occurred at 40°C. In addition, 3 of the 5 products showed a rapid decrease in probiotic content by more than 70% at 40°C after a storage period of 1 to 3 months. Therefore, from this study results, it is recommended that products containing lactic acid bacteria should be refrigerated and consumed shortly after purchase.

Key words: Probiotics, Lactic acid bacteria, Acidity, pH

WHO와 FAO는 프로바이오틱스를 “충분한 양을 섭취하였을 때 건강에 도움이 되는 살아 있는 균”으로 정의[1-2] 하고 있으며 인체에 유익한 생리작용을 위해서는 두 가지 조건으로 ‘살아 있는 상태’이어야 하고, ‘충분한 양’이 있어야 한다고 규정하고 있다. ‘충분한 양’이란 프로바이오틱스의 기능성분의 수를 생균으로 100,000,000 CFU/g 이상을 함유해야 한다. 또한, 프로바이오틱스 원재료로 사용할 수 있는 유산균종을 19종으로 제조하도록 건강기능식품공전에 규정하고 있다[3].

*Correspondence to: Young-Su Kim, Microbiology Team, Food and Drug Research Department, Gyeonggi-Do Institute of Health and Environment, 95 Pa-jangcheon-ro, Jangan-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16205, Korea
Tel: 82-31-250-2542, Fax: 82-31-250-2605
E-mail: ys37k@gg.go.kr

2016년 식품의약품통계연보에 의하면 2015년 건강기능식품 제조품목수는 비타민 및 무기질 5,169건, 홍삼 2,554건에 이어 프로바이오틱스 1,908건으로 3위를 차지하고 있으며, 제조건수대비 성장률은 홍삼 11.9%, 비타민 및 무기질 13.1%, 프로바이오틱스 23.6%로 1위를 차지하여 프로바이오틱스 시장이 급성장하고 있다[4]. 또한, 최근 과자류, 쵸콜릿류, 캔디류, 껌, 음료류 등 가공식품 뿐만 아니라 의약품, 화장품까지 프로바이오틱스가 첨가되어 개발되고 있는 추세이다[5-6]. 프로바이오틱스의 기능성에 대한 수많은 과학적 근거에도 불구하고 시장에서 유통되는 제품들이 실제로 이러한 기능성을 가지고 있는지에 대한 의문은 여러 학자들에 의해 제기되어 왔다[7-9].

대부분의 유산균은 편성혐기성 세균으로서 산소에 노출될 경우 급격히 사멸한다. 유산균은 섭취 후 위산에 의해 90% 이상이 사멸되고, 위산에 생존한 유산균은 다시 담즙

산에 의해 사멸되는 것으로 알려져 있다. 즉 유산균이 최종 목적지인 장에 도착할 확률은 5% 정도에 불과하다[10-11]. 그러므로 섭취된 유산균의 높은 장 도달율과 유통과정에서 유통기한 내에 일정 생균수가 유지되는 것은 프로바이오틱스 제품의 기능성을 보장하는 매우 중요한 요소이다[12].

한편, 유산균 제조 공정은 크게 유산균 발효, 균체 회수, 동결건조의 과정으로 이루어지는데, 발효 후 공정에서 산소노출을 최소화하는 것이 제품의 품질을 유지하는 최선의 방법이다. 이와 더불어 수분, 온도 조건 등은 제품의 저장과 유통 안정성에 큰 영향을 미친다. 따라서 고품질의 유산균 제품이 되기 위해서는 유산균 섭취 시 내산성 및 내담즙성이 강화되어야 하며, 높은 가공안정성 및 유통안정성을 위한 보호 장치가 요구된다.

유럽에서는 유산균의 장도달율을 높이기 위해 유산균을 캡슐로 싸거나 코팅하는 기술을 사용하고 있고, 국내에서도 여러 가지 다양한 재질의 이용으로 유산균을 코팅함으로써 빛, 산소, 수분을 효과적으로 차단시키고 유통기간 내 사멸율을 최소화하고 있다. 그러나 유산균제제(단일유산균 혹은 복합유산균제제)의 형태 및 최적 생균수에 대한 근거는 매우 빈약하다.

유산균에 대한 생체시험에 관한 많은 논문들은 있지만 유통되어 판매되고 있는 제품의 품질에 대한 연구는 상대적으로 미미한 실정이며, 2016년 본 경기도보건환경연구원에서 실시한 유통 건강기능식품 중 프로바이오틱스 제품 124건의 검사결과 3건이 부적합으로 판정되어 유통 제품에 대한 안전성 확립이 필요할 것으로 보여진다. 따라서 본 연구에서는 경기도내 유통 중인 유산균 함유 제품 중 건강기능식품과 초콜릿류, 음료류, 과자류 등 가공식품의 유산균수를 조사하고, 보존온도에 따른 균수 변화를 조사하여 올바른 보존방법을 제시하고자 한다.

Material and Methods

재료

본 실험에 사용된 제품은 2017년 국내 유통 건강기능식품 중 프로바이오틱스 제품 85건(Table 1)과 유산균 함유 가공식품 35건(Table 2)을 사용하였다.

보존방법에 따른 변화 연구를 위한 시료는 프로바이오

Table 1. Status of the materials of 85 probiotic products in health functional foods

(Unit: Number)

Specimen type	Number of specimen	Preservation method		Country of manufacture		Packaging status	
		Room temp.	Cold storage	Domestic	Incoming	Individual packaging	Not individual packaging
Total	85	79	6	65	20	73	12
Pouch	48	44	4	46	2	48	0
Capsule	26	24	2	12	14	20	6
Tablet	11	11	0	7	4	5	6

Table 2. Product status of processed foods containing lactic acid bacteria

(Unit: Number)

Specimen type		Number of specimen	Preservation method		Country of manufacture	Packaging status	
			Room temp.	Cold storage	Domestic	Individual packaging	Not individual packaging
Total		35	32	3	35	10	25
Processed food (marked amount)	Sum	17	16	1	17	8	9
	Confectionery	3	3		3	1	2
	Candy	3	3		3	1	2
	Ice cream	1		1	1		1
	Chocolate	7	7		7	5	2
	Beverage	2	2		2		2
	Other processed foods	1	1		1	1	
Processed food (unmarked amount)	Sum	18	16	2	18	2	16
	Confectionery	11	11		11	2	9
	Candy	4	4		4		4
	Beverage	3	1	2	3		3

Table 3. Sample status for analysis of changes according to the preservation method in five probiotic products

(Unit: Number)

Sample	Product	Country of manufacture	Specimen type	Expiration date	Species number of Lactic acid bacteria	Preservation method	Packaging status
1	A	domestic	pouch	2018.11.13	4	Room temperature	Individual packaging
2	B	domestic	pouch	2018.05.09	7	Room temperature	Individual packaging
3	C	domestic	pouch	2018.11.23	7	Room temperature	Individual packaging
4	D	incoming	capsule	2019.05.15	15	Room temperature	Individual packaging
5	E	incoming	capsule	2019.10.31	10	Room temperature	Capsule in canister

틱스 제품 5건(Table 3)을 구매하여 사용하였다.

시약 및 배지

시료 희석에 사용된 멸균 생리식염수는 상용 9 mL Saline (BFD009, BNF Korea, Gyeonggi, Korea)과 Saline Tablets (BR0053G, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) 사용하여 제조하였다.

유산균수 측정을 위한 BL (Blood Liver) agar는 BL 한천배지(MB-B1380, MB Cell, Los Angeles, USA) 60.23 g에 증류수 1,000 mL에 녹이고 pH 7.2로 조정한 후 121°C에서 15분간 멸균하여, 50°C로 냉각시킨 후 말의 탈 섬유소 혈액(Horse Blood Defibrinated, MB-H18, MB Cell, Los Angeles, USA)을 5% 되도록 첨가하여 사용하였다.

유산간균 및 구균수 측정을 위한 Bromo cresol purple (BCP) 첨가 평판측정용 배지(63003, Eiken Chemical Co., Tokyo, Japan)는 24.6 g에 증류수 1,000 mL을 녹여 pH 6.8 ± 0.2으로 조정한 후 121°C에서 15분간 멸균하여 사용하였고, TOS-MUP 배지(MB-TO892, MB Cell, Los Angeles, USA)는 62.5 g에 증류수를 990 mL에 녹이고 pH 6.3 ± 0.2로 조정한 후 115°C에서 15분간 멸균하여 50°C 정도로 식힌 다음 MUP (mupirocin) supplement (MB-M3006, MB Cell, Los Angeles, USA) 2 vials를 위의 배지에 첨가하여 사용하였다.

실험장비

혐기성 배양을 위해 AnaeroGen Jar (BD-Gas Pak™ EZ Anaerobe container system, USA, Oxoid Gas-Pak, UK)와 AnaeroGen (BD BBL, USA, Oxoid, UK)과 함께 Dry Anaerobic Indicator strips (BD BBL™, USA)을 사용하였으며, 의심 집락에 대해서는 VITEC2 Compact (Biomerieux, Hazelwood, MO, USA)와 MALDI-TOF MS (Bruker Matrix HCCA, USA)를 사용하여 확인하였다. 분석저울(Practum513, Satorius, Regensburg, Germany)과 자동배지분주 시스템(Mediajet 360, IBS, Zurich, Switzerland)를 사용하여 배지를 제조하였으며, 저장온도 유지를 위한 장비로 냉장냉동고(CA-D17DZ, LG, Korea)와 Incubator (JP/MIR-154, Sanyo, Japan)를 사용하였다.

표준균주

유산균 대조균주로서 *Lactobacillus acidophilus* (ATCC-4356L), *Lactobacillus casei* (ATCC393L), *Lactobacillus plantarum* (ATCC8014L), *Lactobacillus fermentum* (ATCC-9338), *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC7469), *Enterococcus faecalis* (ATCC51575), *Enterococcus faecium* (ATCC700-221), *Bifidobacterium bifidum* (ATCC11863), *Bifidobacterum animalis subsp lactis* (ATCC25527), *Bifidobaterium breve* (ATCC 15700, Microbiologics, USA)를 사용하였다.

유산균수 측정

유산균수 측정은 유통 건강기능식품의 프로바이오틱스 제품과 가공식품에 대하여 시험을 실시하였다.

식품의 기준 및 규격[13]과 건강기능식품의 기준 및 규격(2017, 제4. 3-58, 3-59)의 유산균수, 유산간·구균 및 비피더스균 시험법[14]에 따라 시료 10~25 g (mL)를 무균적으로 취하여 9배의 희석액(100~250 g (mL))과 혼합하여 균질화기기(Stomacher®400 Circulator, Seward, England)를 이용하여 균질화한 후 일정량을 취하여 시험용액으로 사용하였다. 이 시험용액 1 mL에 희석액으로 멸균생리식염수 9 mL를 혼합하여 10배 희석법으로 희석하였다. 각 희석액을 멸균된 유산균 배지 BL 한천배지 또는 BCP첨가 평판측정용 배지 및 TOS-MUP 배지에 2매씩 접종하여, 37°C incubator (IN 450, Memmert, Germany)에서 48~72시간 호기 또는 혐기 배양 후에 형성된 colony수를 계측하고, 여기에 희석배수를 곱하여 시료 mL당 CFU (colony forming unit)로 표시하였다. 지방분이 많은 시료의 경우는 polysorbate 80 (MD21152, Becton Dickinson and Company Sparks, USA)과 같은 세균에 독성이 없는 계면활성제를 첨가하여 실험하였다. 유산균수 측정은 모두 3번 반복 측정하여 나타내었다.

pH 및 산도 측정

pH 및 산도 측정은 건강기능식품의 프로바이오틱스 제

Table 4. The count of probiotic, pH, and acidity analysis results of probiotic products' distribution in health functional foods (for 85 products)

Item	The count of indicated probiotics (CFU/g)	The count of analyzed probiotics (CFU/g)	pH	Acidity (%)	Species number of Lactic acid bacteria (ea)	Ratio of analyzed to indicated count of probiotics
Average	3.4×10^9	1.2×10^{10}	5.35	1.29	9	12 : 1
Minimum value	1.0×10^8	1.9×10^7	2.73	0.01	1	0
Maximum value	1.2×10^{10}	1.0×10^{11}	9.01	5.58	19	170 : 1

품에 대하여 시험을 실시하였다. pH는 pH meter (S220, Mettler-Toledo, Greifensee, Switzerland)를 이용하여 측정 전에 pH 4.01, pH 7.00와 pH 10.01 (Thermo Fisher Scientific, USA)의 표준 완충용액으로 기기를 보정한 후, 시료 5 g에 증류수 45 mL를 가하여 Vortex mixer (Genie2, USA)를 사용하여 균질화 시킨 후 측정하였다.

산도는 건강기능식품공전 시험법 2-4-2과 AOAC법에 준하여 시료 5 g에 끓여서 식힌 증류수 50 mL를 가하여 페놀프탈레인 시액 0.5 mL를 가한 후 이를 0.1 N NaOH Solution (Wako, Japan)으로 pH 8.3이 될 때까지 적정하였다. pH, 산도는 모두 3번 반복 측정한 평균값으로 나타내었다.

$$\text{Acidity*}(\%) = S \times \frac{f \times 0.009}{\text{Sample (g)}} \times 100$$

S: 0.1 N 수산화나트륨용액의 소비량(mL)
f: 0.1 N 수산화나트륨용액의 역가
*As lactic acid

보존방법에 따른 변화 분석

프로바이오틱스 5개의 제품을 온도별(−20°C, 4°C, 20°C와 40°C)로 각각 보관하면서, 구매 후 1, 3, 6개월 경과 후의 프로바이오틱스수, pH와 산도를 측정하였다.

균주동정

유산균수 측정에 사용된 희석액 0.1 mL을 BL배지에 접종하고 멸균초자봉으로 도말하였다. 시료가 접종된 BCP 첨가 평판측정용배지의 경우, 37°C에서 72시간 호기 또는 혐기 배양하였고, BL 한천배지와 TOS-MUP 배지의 경우, 37°C에서 48~72시간 혐기 배양하였다. 의심되는 집락의 경우 다시 TSA 한천배지에 순수배양한 뒤, 그람염색을 실시하고 VITEC2와 MALDI-TOF MS를 이용하여 균을 동정하였다. VITEC2는 그람양성균의 경우 GP Card, *Lactobacillus*속의 경우 CBC Card, *Bifidobacterium*속의 경우 ANC Card를 사용하여 확인 동정하였다.

통계분석

모든 실험은 3회 반복 측정하였으며, 본 연구에서 얻어진 실험결과에 대한 통계처리는 SPSS 17.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software를 이용하여 분산분석을 실시하였다. 각 실험군 간의 유의성을 검증하기 위하여 ANOVA 분석을 하였으며, 사후검증으로 Duncan's multiple range test에 의해 5% 유의수준에서 검증하였다.

Results and Discussion

프로바이오틱스 함량 결과

유통 프로바이오틱스 제품 85건에 대한 프로바이오틱스 함량, pH와 산도 측정결과는 Table 4와 같다.

유통 프로바이오틱스 제품의 프로바이오틱스 수는 평균 1.2×10^{10} CFU/g 〔제품의 함량표시량은 평균 3.4×10^9 CFU/g (1.0×10^8 CFU/g~1.2×10^{10} CFU/g)〕으로 나타났다. 그 중 2건이 부적합(수입제품 1건, 국내제품 1건)이었고, 그 외 제품은 표시량에 대하여 최고 170배로 모두 기준 이상으로 나타났다.

유통 건강기능식품 중 프로바이오틱스 제품에 표시된 함량은 평균 3.4×10^9 CFU/g이고, 제품의 프로바이오틱스 함량은 평균 1.2×10^{10} CFU/g이므로 유통기간 동안 표시

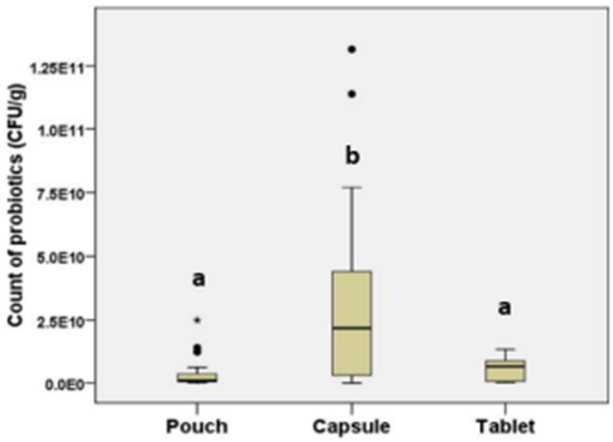

Fig. 1. Distribution of the probiotic contents of the pouch, capsule, and tablet in probiotic products. a,b: Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at $p < 0.05$ by Duncan's multiple comparison test.

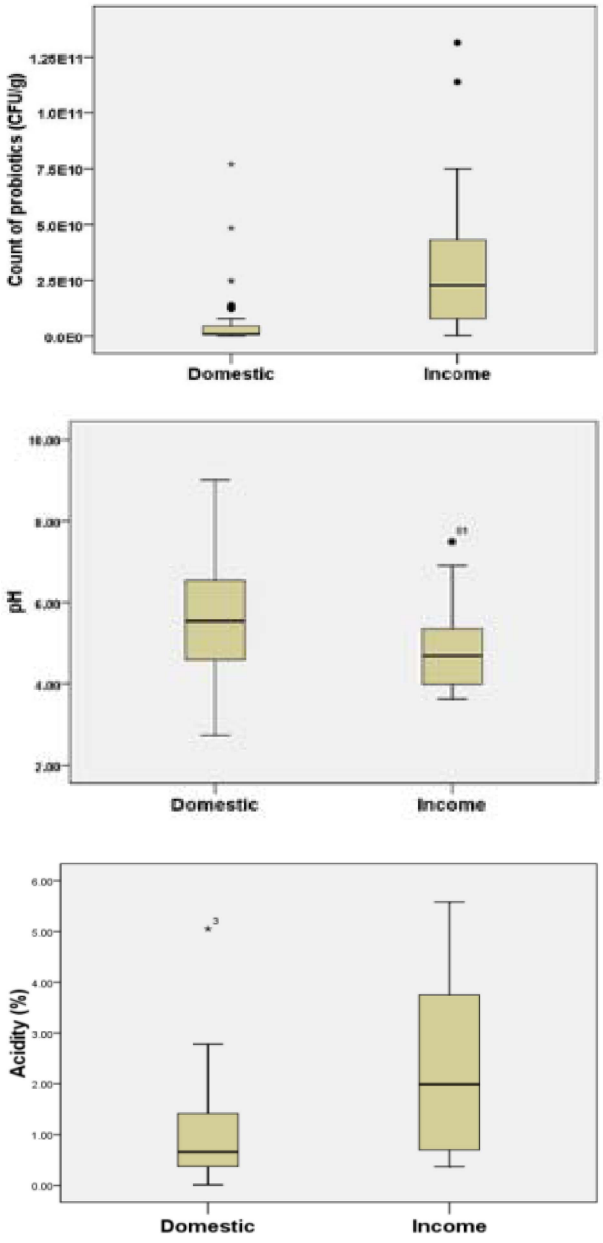

Fig. 2. Distribution of the probiotic contents per gram, pH, and acidity of 85 domestic and incoming probiotic products.

량 이상을 유지하기 위해서는 그 감소량이 평균 프로바이오틱스 함량과 평균 표시량의 차이인 8.6×10^9 CFU/g(72%) 이내로 되어야 한다고 판단된다.

유통 건강기능식품 중 프로바이오틱스 제품의 유형별(포, 캡슐, 정제) 프로바이오틱스 함량 분포는 Fig. 1에 나타내었다.

프로바이오틱스 제품의 포, 캡슐, 정제의 프로바이오틱스수는 포제품에서 평균 3.3×10^9 CFU/g(중간값 1.0×10^9 CFU/g, 6.7×10^7 CFU/g~2.5×10^{10} CFU/g)이 함유되었고, 캡슐제품은 평균 3.0×10^{10} CFU/g(중간값 2.2×10^{10} CFU/g, 1.8×10^7 CFU/g~1.0×10^{11} CFU/g), 정제품은 평균 5.1×10^9 CFU/g(중간값 4.6×10^9 CFU/g, 1.3×10^8 CFU/g~1.4×10^{10} CFU/g)로 함유되어, 캡슐제품이 프로바이오틱스 함량이 높아 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$).

유통 프로바이오틱스 제품 중 국내제품과 수입제품의 g당 프로바이오틱스 함량, pH와 산도 측정 결과는 Fig. 2에 나타내었다.

국내 제품의 프로바이오틱스수 평균 표시량은 1.5×10^9 CFU/g(중간값 2.0×10^8 CFU/g)이고, 수입제품의 평균 표시량은 9.5×10^9 CFU/g(중간값 1.0×10^{10} CFU/g)으로 수입제품의 표시량이 국내 제품의 표시량에 비해 높았다. 또한, 프로바이오틱스수 평균은 수입제품 3.3×10^{10} CFU/g(중간값 2.3×10^{10} CFU/g), 국내제품 5.3×10^9 CFU/g(중간값 1.1×10^9 CFU/g)으로 수입제품이 국내제품에 비해 g당 프로바이오틱스 함량이 높게 나타났다.

반면, 유통되는 프로바이오틱스 제품의 표시량에 대한 프로바이오틱스 함량은 평균적으로 국내 제품이 10배, 수입 제품이 2배로 국내 제품이 수입제품에 비해 표시함량 대비 프로바이오틱스 함량은 높아 국내・수입제품의 t-검정 결과 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$).

유산균이 함유된 가공식품 35건 중 유산균 함량이 표기되어 있는 가공식품 17건의 유산균수 평균은 3.2×10^8 CFU/g로 모두 표시량 이상으로 나타났다. 캔디류에서 1.3×10^9 CFU/g, 기타가공식품에서 2.2×10^8 CFU/g, 과자류에서 2.0×10^8 CFU/g, 빙과류에서 7.7×10^7 CFU/g, 초콜릿류에서 7.4×10^7 CFU/g, 음료류에서 3.5×10^7 CFU/g 순으로 나타났다.

유산균함량 표기가 없는 유산균 함유(열처리 유산균이나 요구르트 함유) 가공식품 18건의 유산균수 평균은 2.0×10^6 CFU/g으로 나타났다. 요구르트 함유 제품은 평균 9.0×10^5 CFU/g이었으며, 열처리유산균 함유 제품과 살균처리된 제품은 모두 유산균이 검출되지 않았다.

함유 균종 비교

시료분석에 사용된 85건의 프로바이오틱스 제품의 유산균종별 함유 빈도와 유산균의 균종별 검체 빈도(함유된 유산균종수별 제품수) 는 Fig. 3와 Fig. 4와 같다.

프로바이오틱스 제품에 사용된 유산균종의 조사결과, *Lactobacillus acidophilus* (81.2%), *Bifidobacterium animalis subsp lactis* (77.6%), *Lactobacillus rhamnosus* (75.3%), *Bifidobacterium bifidum* (72.9%), *Lactobacillus plantarum* (68.2%), *Bifidobacterium longum* (65.9%) 순으로 사용하고 있었다.

한편, 프로바이오틱스 제품의 유산균종별 검체 빈도는 7종이 21건(24.7%), 19종이 10건(11.8%), 6종이 10건(11.8%)이었으며, 평균 유산균 함유 균종수는 9종이었다.

유통 가공식품의 유산균의 종별 함유 빈도와 유산균의

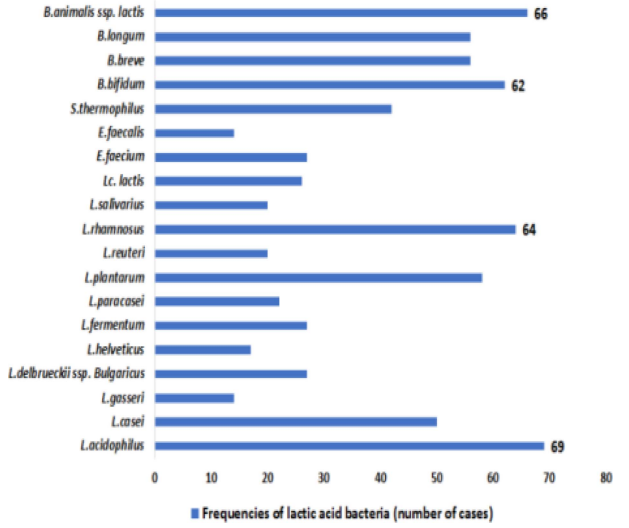

Fig. 3. Frequency of species containing lactic acid bacteria used in the manufacture of 85 probiotic products.

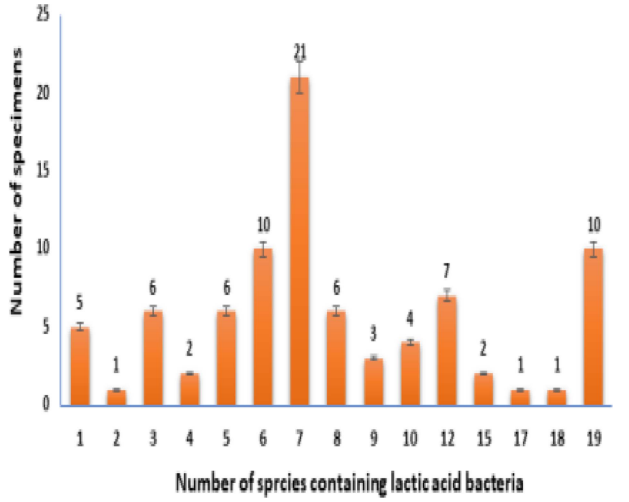

Fig. 4. Frequency of specimens of lactic acid bacteria species used in the manufacture of health functional foods.

균종별 검체 빈도는 Fig. 5와 Fig. 6과 같다. 가공식품은 빙과류와 음료류를 제외하고 모두 실온으로 유통되고 있었으며, 가공식품 제조에 사용되는 유산균종은 *Lactobacillus plantarum* (64.7%), *S. thermophilus* (64.7%) 2종을 가장 많이 사용하고 있었다.

유산균은 종에 따라서 최적 서식지가 다르다. 그러므로 최적 서식지가 다른 복합유산균제제를 섭취하는 것이 최대의 건강편익을 얻는 올바른 유산균 섭취방법이라고 보고된 바 있다[15-16].

pH 및 산도 결과

유산균(Lactic acid bacteria)은 당류(Glucose)를 에너지원

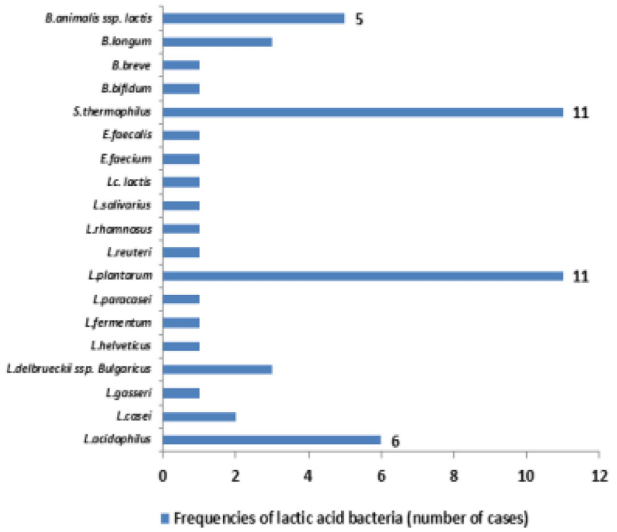

Fig. 5. Frequency of species containing lactic acid bacteria in the distribution of processed foods.

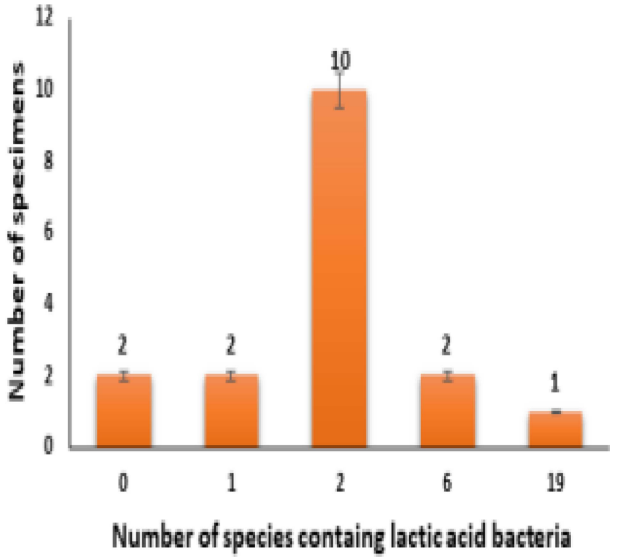

Fig. 6. Frequency of specimens of lactic acid bacteria species in the distribution of processed foods.

으로 사용하여 젖산을 생성하는 사람에게 유익한 장내세균의 총칭하는 것[17]으로 장에 도달한 유산균은 젖산을 생성하여 장내 환경을 산성으로 만든다. 즉, 산도는 증가하게 되고 pH는 감소하는 산성 환경이 되어 이러한 환경에 견디지 못하는 유해균들은 그 수가 감소하게 되고 산성에서 생육이 잘 되는 유익균들은 더욱 증식하게 된다[18]. 그러므로 유산균이 감소되어 젖산을 생성하지 못하게 되면 pH는 증가하게 되고, 산도는 감소하게 될 것이므로 유통되는 제품의 유산균수와 함께 본 연구에서 산도와 pH를 조사하게 되었다.

유통 건강기능식품 중 프로바이오틱스 제품 85건의 pH

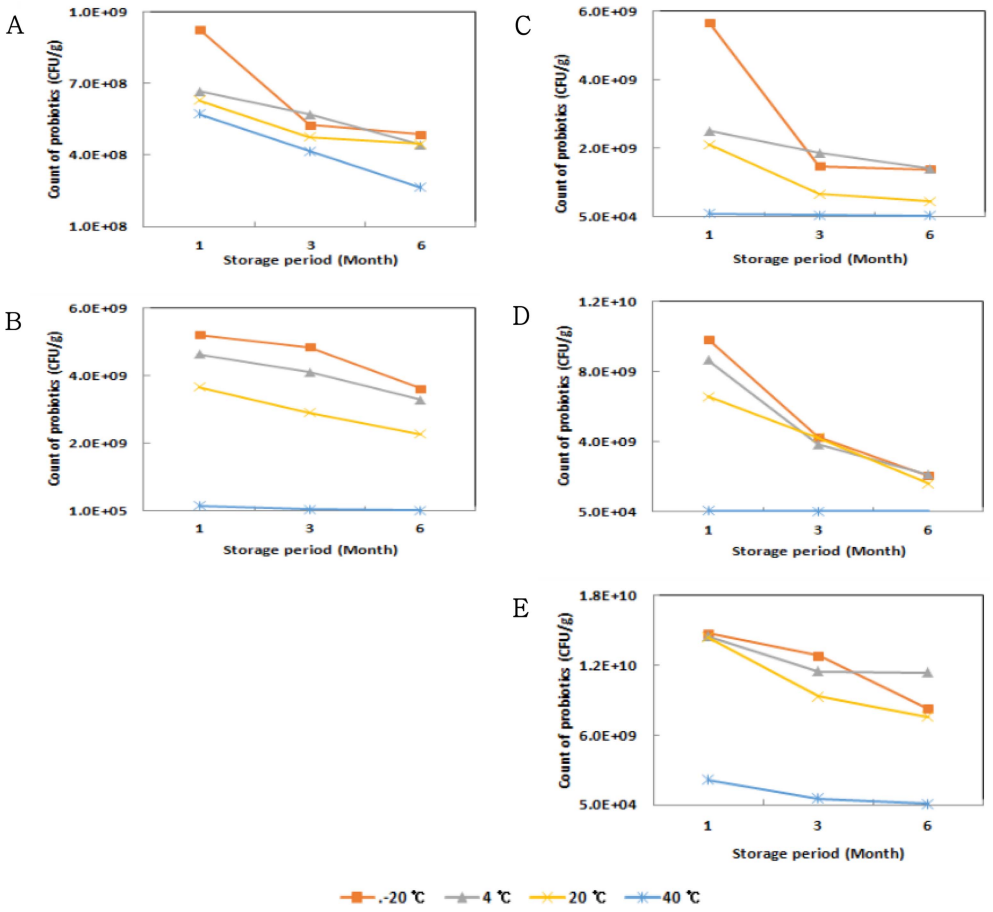

Fig. 7. Changes in the average probiotic content of five probiotic products according to storage temperature (–20°C, 4°C, 20°C, and 40°C) and storage period (1, 3, and 6 months).

와 산도 시험결과는 Table 4에서 보는 바와 같이 평균 pH 5.35, 평균 산도 1.29% 이었다. 미국 펜실베니아주에서 판매되는 요구르트의 pH 범위를 pH 3.80~4.35라고 보고[19] 하였고, 캐나다 온타리오주에서 판매되는 요구르트의 pH 범위를 pH 3.27~4.53으로 보고[20]한 것 보다 다소 높았고, 정상적인 발효유제품의 적정산도가 0.7~1.20%라는 보고와 유사하였다[21-22].

국내제품의 평균 pH는 5.48 (2.73~9.01)이고, 수입제품의 평균 pH는 4.94 (2.73~9.01)로 국내제품이 수입제품 보다 높았으며, 평균 산도는 국내제품 1.00% (0.01~5.05%)이고 수입제품 2.23% (0.37~5.58%)으로 다소 수입제품이 높았다.

전체 제품 평균 pH는 5.35 (2.73~9.01) 수준을 보였으며, 그 중 포제품은 5.16 (2.73~7.31), 캡슐제품은 5.73 (3.92~9.01), 정제품은 5.28 (3.78~7.93) 수준을 나타내었다. 전체 제품 평균 산도는 1.29% (0.01~5.58%)를 나타냈으며, 그 중 포제품은 0.85% (0.02~5.05%). 캡슐제품은 1.82% (0.01~5.58%), 정제품은 1.94% (0.07~3.54%) 수준을 나타내었다.

보존방법에 따른 변화 결과

프로바이오틱스 5개 제품(포 3건, 캡슐 2건)의 보존온도(–20°C, 4°C, 20°C, 40°C)와 보존기간(1개월, 3개월, 6개월) 경과에 따른 유산균수 변화 결과는 Fig. 7에 나타내었다. 유산균수와 산도는 보존기간이 지남에 따라 낮아지고, pH는 보존기간이 지남에 따라 높아지는 경향을 관찰하였다. 또한, pH는 유산균수가 감소할수록 증가하였으며, 산도는 유산균수가 감소할수록 감소하였다.

보존기간 1개월에서 6개월 후 유산균수 감소율(Fig. 8)은 평균 59%이었고, 온도변화에 따른 감소율은 4°C에서 41%, 20°C에서 54%, –20°C에서 55%, 40°C에서 84%로 나타났다. 따라서 가장 낮은 감소율은 4°C에서 나타났고, 40°C에서 가장 높은 감소율을 보여, 보관온도 집단간 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 이러한 결과는 4°C는 초콜릿에 함유된 프로바이오틱스 생존 능력을 유지하는데 적합하다는 보고[23]와 온도가 높을수록 유산균의 생균수는 감소하였다는 보고[12]와 유사하였다. 또한, 5개 제품 중 3제품에서 보존기간 1개월에서 3개월 경과 후 40°C에서 70%이상 급격한 균수 감소를 관찰할 수 있었다.

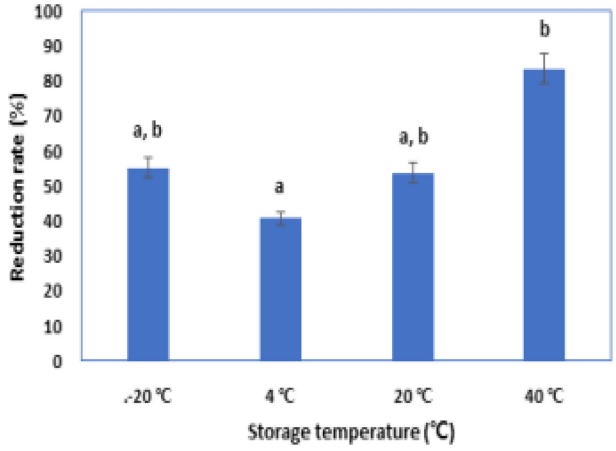

Fig. 8. Reduction of the average probiotic content in five probiotic products according to storage temperature (−20°C, 4°C, 20°C, and 40°C) and storage period (1, 3, and 6 months). a,b: Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at $p < 0.05$ by Duncan's multiple comparison test.

온도는 저장기간 중 유산균 생존율에 영향을 미치는 가장 중요한 요소 중 하나이다. 특히, 건조 공정을 거칠 경우, 저장기간 중의 안정성은 더욱 감소하게 되고, 저장 온도가 낮아질수록 유산균의 생존율은 높아지게 된다[24-25] 라는 보고와 유사하였다.

국문요약

본 연구는 2017년 국내에서 유통되는 유산균을 함유한 건강기능식품과 가공식품 120건에 대하여 프로바이오틱스 함량, pH와 산도를 분석하였다. 또한, 건강기능식품 중 프로바이오틱스 5개 제품에 대한 보존방법에 따른 변화를 조사하였다. 프로바이오틱스 제품 85건 중 2건이 표시량 이하였고, 가공식품 35건은 모두 적합이었다. 프로바이오틱스 제품의 프로바이오틱스수, pH, 산도 평균은 각각 1.2×10^{10} CFU/g (표시량: 3.4×10^{9} CFU/g), 5.35, 1.29%이었으며, 가공식품 중 유산균 함유량 표시 식품 17건의 유산균수 평균은 5.8×10^{8} CFU/g이었다. 프로바이오틱스 5제품의 보존온도(−20°C, 4°C, 20°C, 40°C)와 보존기간(1, 3, 6개월) 경과에 따른 프로바이오틱스 함량 변화를 관찰한 결과, 보존기간 1개월에서 6개월 후 프로바이오틱스수 감소율은 평균 59%이었고, 4°C에서 가장 낮은 감소율과 40°C에서 가장 높은 감소율을 나타내었다. 또한, 5개 제품 중 3제품에서 보존기간 1개월에서 3개월 경과 후 40°C에서 70%이상 급격한 균수 감소를 관찰할 수 있었다. 따라서 프로바이오틱스 제품의 보존온도와 보관기간에 따른 변화를 고려할 때 프로바이오틱스 제품은 냉장보관을 권장하며 구입 후 되도록 단기간에 섭취하는 것이 바람직한 것으로 판단된다.

References

1. Ganguly, N.K., Bhattacharya, S.K., Sesikeran, B., Nair, G.B., Ramakrishna, B.S., Sachdev, H.P.S., Batish, V.K., Kanagasabapathy, A.S., Vasantha, M., Kathuria, S.C., Katoch, V.M., Satyanarayana, K., Toteja, G.S., Rahi, M., Rao, S., Bhan, M.K., Kapur, R., Hemalatha, R.: ICMR-DBT Guidelines for the evaluation of probiotics in food.. *Indian J Med Res.*, **134**, 22-25 (2011).
2. Yoon S.S., Park Y.S., Choi H.J.: Genetics and research revolutions in the lactic acid bacteria: focused on probiotics and immunomodulation. *Curr. Top. LAB Probiotics.*, **1**, 9-19 (2013).
3. Ministry of Food and Drug Safety: Health functional foods Codex Index. Korea, pp. 110 (2017).
4. Ministry of Food and Drug Safety: Food and Drug Statistical Yearbook. Korea, pp. 188-206 (2016).
5. Dekivit, S., Tobin, M.C., Forsyth, C.B., Keshavarzian, A., Landay, A.L.: Regulation of intestinal immune responses through TLR activation: Implications for pro- and prebiotics. *Front Immunol.*, **18**, 60-66 (2014).
6. Rolfe, R.D.: The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr.*, **130**, 396-402 (2000).
7. Sara, F., Marta, M., Lucia, R., Franco, D., Sandra, T.: Bacterial composition of commercial probiotic products as evaluated by PCR-DGGE analysis. *Int. J. Food Micr obiol.*, **82**, 59-70 (2003).
8. Hamilton-Miller, J., Shah, S., Winkler J.: Public health issues arising from microbiological containing probiotic microorganisms. *Public Health Nutr.*, **2**, 223-229 (1999).
9. Temmerman, R., Scheirlinck, I., Huys, G., Swings, J.: Culture independent analysis of probiotic products by denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 220-226 (2003).
10. Raimundo, G.A., Maria, J., Pozuelo, F., Santiago, A., Maria, I.M., Daniel, B., Fernando, B., Rosa, C.: Molecular analysis of yogurt containing *Lactobacillus del-brueckii subsp. bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in human intestinal microbiota. *Am. J. Clin. Nutr.*, **87**, 91-96 (2008).
11. Chang B.Y., Han J.H., Cha B.S., Ann S.H., Kim S.Y.: Optimization of culture condition for enhancing the probiotics functions. *J. Food Hyg. Saf.*, **30**, 295-301 (2015).
12. Gardiner, G.E., O'Sulivan, E., Kelly J.: Comparative survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during heat treatment and spray drying. *Appl. Environ. Microb.*, **66**, 2605-2612 (2000).
13. Ministry of Food and Drug Safety: Korean Food Codex Index, Korea, pp. 208-209 (2017).
14. Ministry of Food and Drug Safety: Health Functional Food Testing Method. Korea, pp. 399-407 (2017).
15. Colum, D., Lisa, M., Sarah, F., Liam, O., Sile, O., Maria, F., Darrin, M., Gerardine, T., Gerald, F., Charles, D., Barry, K., Eamonn, M., Gerald, C., Fergus, S.: Probiotics: from myth to reality. demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials. Anton. *Leeuw.*, **76**, 279-292 (1999).

16. Rolfe, R.D.: The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr*., **130**, 396S-402S (2000).
17. Park S.J., Kim D.H., Park N.S., Kim S.S.: Preparation and quality characteristics of the fermentation product of ginseng by lactic acid bacteria (FGL). *J. Ginseng. Res.,* **30**, 88-94 (2006).
18. Ouwehand, A.C., Salminen, S.E.: Probiotics: an overview of beneficial effects. Antonie van Leewenhoek : *IJMCM.,* **82**, 279-289 (2002).
19. Kroger, M., Weaver, J.C.: Confusion about yogurt compositional and otherwise. *J Milk food Technol.,* **36**, 388-394 (1973).
20. Duitschaever, C.L., Arnott, D.R., Bullock, D.H.: Quality evaluation of yogurt produced commercially in ontario. *J Milk Food Technol.,* **35**, 173-175 (1972).
21. Davis, J.G.: Laboratory control of yogurt. *Dairy Ind.,* **35**, 139-144 (1970).
22. Ahn S.I., Chung I.A., Chung W.S., Jhoo J.W., Kim G.Y., Jeon J.T.: Changes in lactic acid bacteria and physicochemical properties of yogurt made with high pressure processing treated milk. *J Korean Soc Food Sci Nutr.,* **45**, 889-893 (2016).
23. Varongsiri, K.S., Pittaya, C., Paweena, R.: Survival of immobilized probiotics in chocolate during storage and with an in vitro gastrointestinal model. *Food Bioscience* **16**, 37-43 (2016).
24. Lim Y.S., Hong S., Shin Y.K., Kang S.H.: Changes in the viability of lactic acid bacteria during storage of freeze-dried yogurt snacks. *J. Milk Sci. Biotechnol.,* **33**, 203-207 (2015).
25. Carvalho, A.S., Silva, J., Ho, P., Teixeira, P., Malcata, F.X., Gibbs, P.: Effects of various sugars added to growth and drying media upon thermotolerance and survival throughout storage of freeze dried *Lactobacilli delbrueckii ssp. Bulgaricus*. *Biotechnol. Progr.,* **20**, 248-254 (2004).