

Mass Production of Yeast diet for aquaculture

이범규, 김종균
부경대학교 생물공학과

서론

양식산업의 성공에 있어 저렴하고 높은 영양가를 가진 사료가 차지하는 비중은 너무나도 중요하다. 유용 어패류의 종묘생산을 위한 초기먹이생물로서 그간 단세포 조류가 주로 사용되어 왔는데(Benemann, 1992), 단세포 조류는 대량배양을 위한 노동력 및 세포수거시 비용이 많이 드는 단점을 가지고 있다. 이러한 단점을 보완하는 algae 대체품으로 yeast가 고려되고 있다. Yeast 단백질 사료로서 *Saccharomyces cerevisiae*, *candida utilis*와 같은 yeast가 관심을 끌고 있는데, 이들을 건조중량 가운데 50%이상의 단백질을 함유하고 있다(Ziino *et al.*, 1998).

상업적으로 경쟁력을 가지는 Yeast 단백질을 생산하기 위한 탄소원으로 glucose나 sucrose는 경제적이지 못하다. 이에 비하여 당밀은 제당공장의 값싼 by-product로서 경제적인 측면에서 매우 유용한 탄소원이며, 물, sucrose(47-50%W/W), 단백질, 비타민, 아연, 철, 망간, 마그네슘, 등과 같은 성분을 포함하고 있고 있는데(Roukas, 1998), sucrose는 yeast에 의해서 쉽게 이용되어지는 탄소원이며, 금속이온들은 yeast의 cofactor로 사용된다. Yeast의 생산단가를 낮추기 위해서는 원료뿐만 아니라 최적배양조건을 규명해야 한다.

따라서 본 연구에서는 당밀을 탄소원으로 이용하여 batch 및 fed-batch에서의 최적 배양 조건을 규명하였다.

재료 및 방법

사용 균주의 배양 및 배지

사용된 균주는 *candida utilis* (ATCC9950)로, YEPD(Moon, 1996) agar slant에서 유지·보관하였고, flask 및 fermentation을 위한 배지로 5g/L의 glucose량을 가지는 molasses에 urea 0.2g/L 및 phosphoric acid 10 μ L/L를 첨가한 배지를 사용하였다. Fed-batch fermentation시 glucose의 양을 10-200g/L 까지 변화하여 배지에 첨가하였고 이때 urea 및 phosphoric acid도 flask 배양시의 조성파 동일한 비율로 첨가하였다. Inoculum 준비를 위한 flask 배양은 5g/L의 glucose를 포함하는 molasses 배지 500ml flask에 working volume을 150ml로 하여 5%의 tube 배양한 균을 접종한후 37 $^{\circ}$ C, 180rpm으로 12시간 배양하였다. fed-batch fermentation은 linear, exponential, 및 sigmoidal pattern으로 배지로 feeding하여 yield 및 productivity를 구하였다.

균체의 건조중량은 원심분리하고, 얻어진 세포에 다시 증류수를 첨가한 후 2회 반복 원심 분리하여 얻은 cell을 100°C dry oven에서 12시간 건조후 균체의 중량을 구하여 측정하였다. 당밀의 당분은 phenol-황산법을 이용하여 glucose농도로 나타내었다.

결과 및 요약

양식을 위한 yeast 단백질 사료생산을 위한 최적 조건을 규명하기 위하여 우선 flask 배양을 통해 얻은 균주의 최적 성장조건은 pH 5, 37°C, 그리고 배양배지의 최적 조성은 glucose:N:P가 100:2:0.1이었다. Table 1에서 보여지는 것처럼 5g/L 이상의 농도에서는 yield가 떨어졌다. 따라서 fed-batch fermentation을 5g/L에서 시작하였다.

Table 1. Effect of initial glucose concentration on yield of *Candida utilis*

Concentration of Initial glucose (g/L)	<i>Candida utilis</i>				
	5	10	20	50	100
DCW _{max} (g/L)	2.7	4.4	7.5	8.2	10.9
S _R (g/L)	0.7	1.2	3.2	6.3	16.3
Y _{X/S} (g/g)	0.63	0.50	0.45	0.19	0.13

Table 2는 fed-batch fermentation의 결과를 보여 준다. 100g/L의 농도에서는 residual substrate의 농도가 10g/L 이상일 때 yield가 떨어지는 pattern을 보였다.

Table 2. fed-batch fermentation of *Candida utilis*

Concentration of Initial glucose (g/L)	<i>Candida utilis</i>			
	10	20	50	100
DCW _{max} (g/L)	4.6	9.0	9.7	32.4
S _R (g/L)	1	1.5	4.1	11
Y _{X/S} (g/g)	0.60	0.55	0.54	0.44

참고문헌

- Benemann, J. R. 1992. Microalgae aquaculture feeds. *J. Appl. Phycol.*, 4, 233-245
- Ziino, M., Lo Curto, R. B., Salvo, F., Signorino, D., Chiofalo, B., Giuffrida, D., 1999. Lipid composition of *Geotrichum candidum* single cell protein grown in continuous submerged culture. *Bioresource Technology* 67, 7-11.
- Roukas, T. 1998. Pretreatment of beet molasses to increase pullulan production. *process Biochemistry* 33(8), 805-810.
- Moon, J.-H., Kim, J. K., 1996. Production of yeast diet for aquaculture in batch fermentation. *한국수산학회지*29(6), 882-887