

간장 발효에 관여하는 효모에 관한 연구 (제8보)

Saccharomyces rouxii T-9의 영양 요구성 (3)
Vitamin 및 Amino acid의 영향에 대하여

*이택수·이석건

*샘표식품공업주식회사 연구실·충남대학교 농과대학

(1972. 3. 20. 수리)

Studies on the Yeasts for the Brewing of Soy sauce(Part 8)

Nutritional requirements of *Saccharomyces rouxii* T-9 (3)
Influence of addition of vitamins and amino acids

*Taik Soo Lee, Suk Kun Lee

*Lab. of Saimpyo Food Industrial Company, College of Agriculture, Chung Nam University
(Received Mar. 20, 1972)

SUMMARY

These experiment were conducted to study the effects of various vitamins and amino acids upon the growth of *Saccharomyces rouxii* T9 and the results obtained were as follows.

(1) As a growth factor, inositol, riboflavin, niacin and para amino benzoic acid were not required.

(2) Though biotin, thiamin and Ca-pantothenate were adaptably required, vitamins required in absolute were not existed.

(3) The growth rate of *Saccharomyces rouxii* T9 in the deficient group of biotin, thiamin, pyridoxine, riboflavin and Ca-pantothenate were more decreased on the media containing 26% of NaCl than containing none of NaCl in the earlystage of cultivation, while the growth rate showed the opposition tendency in the latter term of cultivation.

(4) As an amino acid, methionine, tryptophan, serine, threonine, cystine, glycine, leucine and valine showed systematically the effects of addition in the compound media containing $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ as a nitrogen sources.

(5) The growth rate of *Saccharomyces rouxii* T9 in the addition group of histidine, lycine, arginine, aspartic acid, proline and tyrosine were somewhat decreased on the media containing higher concentration of NaCl comparison with none NaCl media in the early stage of cultivation, showing the similar or increasing tendency in the latter term of cultivation.

서 론

전보⁽¹⁾에서 저자들은 고농도식염내성 효모인 *Saccharomyces rouxii* T9의 생육에 있어서 질소 원 및 무기염류의 영향과 당류의 영향에 대하여 보고한바 있다. 이어서 본보에서는 vitamin 및 amino acid의 영향에 대하여 검토하였으므로 그 결과를 보고 하고자한다.

실험 방법

(1) 공시효모 : *Saccharomyces rouxii* T9

(2) 공시배지 : vitamin의 경우는 glucose 5%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, CaCl_2 0.01%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2%, potassium citrate 0.5%, citric acid 0.1%의 기본배지에 식염을 0, 20, 26% 첨가한 다음 공시 vitamin 들을 전부첨가한 vitamin함유배지와 1개의 vitamin을 결핍한 배지를 사용했으며 amino acid의 경우는 glucose 5%, KH_2PO_4 2%, KCl 1.7%, CaCl_2 0.05%, MgSO_4 0.05%, FeCl_3 0.01%, MnSO_4 0.01%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.03%의 기본배지에 식염을 0, 20, 26% 첨가한 다음 공시 amino acid 중 개개의 amino acid를 각각 첨가하여 사용 하였다.

(3) 공시 Vitamin: 배지 1l당 biotin 2 μg , inositol 2,000 μg , thiamin 400 μg , pyridoxine 40 μg , riboflavin 200 μg , Ca-pantothenate 400 μg , niacin 400 μg , p-aminobenzoic acid 200 μg 를 첨가하였다.

(4) 공시 Amino acid: 배지 1l당 alanine, lysine,

leucine, methionine, phenylalanine, proline, threonine, valine 등은 200mg, histidine, tryptophan, tyrosine, cystine, serine, glycine, leucine 등은 100 mg, aspartic acid은 400mg 첨가하여 실험하였다.

(5) 배양 : 상기의 각배지를 동일한 내경의 시험관에 6ml씩 분주하여 가압살균하고 맥아즙한천 사면상에서 30°C로 일주일간 전배양한 효모를 살균생리 식염수 5ml에 1백금이 취한다음 5분간 격렬히 진탕한액 1적을 각배지에 접종하여 30°C에서 4~16일간 정치배양 하였다.

(6) 발육도 측정 : 전보⁽¹⁾의 방법에 준하였다.

(7) Vitamin 요구성 : vitamin 함유배지에 있어서 발육도와 vitamin결핍배지에서의 발육도를 측정하여 다음과 같이 생육율 (R)을 구하였다.

생육율(R) =

$$\frac{\text{vitamin 결핍배지에 있어서의 O.D.}}{\text{vitamin 함유배지에 있어서의 O.D.}} \times 100$$

생육율 70이상은 생육인자로서 vitamin 비요구성, 10~50은 적응적으로 요구, 5이하는 절대적요구로 판정하였다.

결과 및 고찰

1. Vitamin의 영향

각종 vitamin을 전부첨가한 vitamin 함유배지와 이들 vitamin중 1개의 vitamin을 결핍한 vitamin 결핍배지에 공시균을 접종하고 30°C에서 16일간 배양하면서 생육도를 경시적으로 측정하여 O.D. 값으로 표시한 결과는 Table 1과 같다.

Table I. Influence of addition of various vitamins on the growth of *Saccharomyces rouxii* T9

Vitamins	Cultivation time (days)		4	6	8	10	12	14	16
	NaCl (%)								
complete	0		0.15	0.20	0.28	0.32	0.40	0.45	0.48
medium	20		0.12	0.18	0.25	0.29	0.33	0.38	0.42
(control)	26		0.10	0.15	0.20	0.24	0.27	0.29	0.31
biotin	0		0.09(60.0)	0.12	0.14	0.18	0.20	0.27	0.29(60.4)
	20		0.07(58.3)	0.09	0.11	0.15	0.19	0.23	0.26(61.9)
deficit	26		0.05(50.0)	0.07	0.09	0.10	0.14	0.16	0.19(61.2)
	0		0.13(80.6)	0.20	0.25	0.30	0.32	0.35	0.38(79.2)
inositol	02		0.10(83.3)	0.14	0.18	0.22	0.27	0.30	0.32(76.1)
	26		0.09(60.0)	0.09	0.10	0.12	0.13	0.15	0.17(54.8)
thiamin	0		0.09(60.0)	0.17	0.26	0.30	0.35	0.37	0.40(83.3)
	20		0.05(41.6)	0.09	0.14	0.20	0.27	0.33	0.38(90.4)
deficit	26		0.04(40.0)	0.07	0.11	0.19	0.25	0.28	0.30(96.7)

pyridoxine	0	0.12(80.0)	0.20	0.28	0.30	0.35	0.38	0.41(85.4)
	20	0.10(83.3)	0.18	0.23	0.27	0.30	0.33	0.37(88.0)
deficit	26	0.08(80.0)	0.15	0.20	0.23	0.27	0.29	0.31(10.0)
riboflavin	0	0.11(73.3)	0.17	0.21	0.25	0.30	0.32	0.35(72.9)
	20	0.09(75.0)	0.13	0.20	0.23	0.25	0.28	0.30(71.4)
deficit	26	0.07(70.0)	0.09	0.13	0.17	0.20	0.25	0.27(87.0)
Ca-pantothenate	0	0.09(60.0)	0.10	0.15	0.18	0.20	0.26	0.28(58.3)
	20	0.07(58.3)	0.09	0.12	0.14	0.19	0.20	0.25(59.5)
deficit	26	0.05(50.0)	0.07	0.10	0.11	0.15	0.18	0.21(67.7)
niacin	0	0.15(100.0)	0.20	0.27	0.30	0.38	0.40	0.43(89.5)
	20	0.12(100.0)	0.15	0.21	0.26	0.31	0.36	0.40(95.2)
deficit	26	0.07(70.0)	0.10	0.12	0.15	0.18	0.26	0.25(80.6)
P-aminobenzoic acid	0	0.14(93.3)	0.20	0.24	0.27	0.31	0.35	0.37(77.0)
	20	0.12(100.0)	0.18	0.21	0.26	0.30	0.31	0.32(76.2)
deficit	26	0.07(70.0)	0.09	0.15	0.19	0.21	0.27	0.30(96.7)

() ·· Growth rate(%)

식염 0, 20, 26% 함유한 합성배지에 biotin, inositol 등 8종의 vitamin을 첨가한 vitamin 함유배지와 이들 vitamin 중 1개의 vitamin을 결핍한 vitamin 결핍배지에 있어서 *Saccharomyces rouxii* T9의 생육에 미치는 영향에 대하여 실험한 결과 inositol, pyridoxine, riboflavin, niacin, para-aminobenzoic acid 등은 생육인자로서 이들 vitamin을 요구하지 않았으며 biotin, thiamin, Ca-pantothenate 등은 적용적으로 요구하였다. 이들 vitamin 중 절대적으로 요구되는 vitamin은 없었으며 배지의 식염 농도에 따라 vitamin 요구성이 다소 다른 경향을 보였다. 즉 biotin, thiamin, pyridoxine, Ca-pantothenate 등의 결핍배지에서는 배양초기에 식염 26% 배지의 경우 무염배지에 비하여 생육율이 다소 저하되었으나, 배양 16일 후에는 반대로 무염배지에 비하여 식염 26% 배지에서 생육율이 높아지는 경향을 볼 수 있었다. English⁽³⁾는 *Saccharomyces rouxii*에 속하는 내염성효모는 biotin만을 요구한다고 보고하였고 佐藤等⁽⁴⁾은 *Zygosaccharomyces major*의 식염내성에는 inositol과 cholin을 요구한다 하였고 大西⁽⁵⁾는 *Pichia miso*와 같은 산

막효모의 생육에 있어서는 vitamin을 전적으로 요구하지 않았으나, 기타의 효모는 모두 vitamin 결핍배지에서 생육되지 않았고 biotin은 전균주에 필수적이며 pyridoxine, niacin, p-amino benzoic acid, riboflavin은 어떤 효모에서도 필요하지 않았다고 보고하였다. 또한 大西는 inositol과 thiamin은 식염무첨가배지에서는 요구되지 않았으나 식염 18%배지에서는 다소 촉진적 작용이 있다고 하였으며 Ca-pantothenate는 *Pichia*속을 제외한 기타의 장유효모에 있어서는 무염배지보다도 식염배지에서 요구되었다고 보고 한바있다. 이상의 실험결과와 비교할때 저자들의 실험에 있어서는 *Saccharomyces rouxii* T9의 생육에 biotin, inositol 등의 vitamin을 생육인자로서 절대적으로 요구하지 않는 점이 이들의 보고와 상이한 점이었다.

2. Amino acid의 영향

유안을 질소원으로서 0.03% 첨가한 합성배지에 각종 amino acid 중의 1종을 첨가한다는 *Saccharomyces rouxii* T9의 생육에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table 2와 같다.

Table 2. Influence of addition of various amino acids to media on the growth of *Saccharomyces rouxii* T9

Amino acids	Cultivation time(days)		NaCl(%)						
	0	20	4	6	8	10	12	14	16
*Control	0	0.09	0.11	0.14	0.19	0.22	0.24	0.23	
	20	0.07	0.10	0.13	0.17	0.20	0.21	0.28	
	26	0.05	0.08	0.11	0.14	0.16	0.17	0.19	

histidine	0	0.08	0.10	0.12	0.23	0.27	0.33	0.39
	20	0.07	0.09	0.14	0.20	0.24	0.28	0.33
	26	0.07	0.08	0.12	0.17	0.20	0.23	0.27
lysine	0	0.08	0.10	0.11	0.17	0.22	0.27	0.29
	20	0.07	0.09	0.10	0.15	0.18	0.20	0.24
	26	0.06	0.07	0.09	0.12	0.14	0.17	0.21
leucine	0	0.09	0.19	0.14	0.20	0.24	0.27	0.30
	20	0.08	0.09	0.12	0.17	0.20	0.23	0.25
	26	0.05	0.07	0.09	0.12	0.15	0.19	0.22
arginine	0	0.07	0.09	0.13	0.17	0.24	0.26	0.29
	20	0.05	0.07	0.10	0.14	0.21	0.22	0.25
	26	0.04	0.05	0.09	0.10	0.11	0.13	0.15
alanine	0	0.09	0.10	0.14	0.19	0.26	0.30	0.33
	20	0.08	0.10	0.12	0.15	0.21	0.24	0.30
	26	0.07	0.09	0.10	0.13	0.17	0.20	0.25
aspartic acid	0	0.08	0.10	0.14	0.19	0.23	0.27	0.29
	20	0.07	0.09	0.11	0.15	0.17	0.22	0.27
	26	0.06	0.08	0.10	0.12	0.13	0.14	0.17
cystine	0	0.09	0.12	0.17	0.28	0.35	0.39	0.41
	20	0.08	0.10	0.14	0.22	0.29	0.34	0.36
	26	0.07	0.09	0.11	0.17	0.20	0.28	0.32
methionine	0	0.12	0.19	0.24	0.36	0.40	0.44	0.48
	20	0.09	0.15	0.20	0.25	0.34	0.42	0.46
	26	0.07	0.09	0.12	0.20	0.26	0.35	0.41
proline	0	0.07	0.09	0.12	0.18	0.23	0.27	0.30
	20	0.06	0.07	0.10	0.14	0.19	0.22	0.25
	26	0.05	0.07	0.09	0.12	0.14	0.18	0.21
tyrosine	0	0.07	0.09	0.12	0.18	0.24	0.27	0.28
	20	0.05	0.06	0.10	0.13	0.18	0.22	0.24
	26	0.05	0.06	0.09	0.11	0.14	0.15	0.18
tryptophan	0	0.12	0.18	0.24	0.29	0.35	0.40	0.46
	20	0.09	0.15	0.21	0.24	0.30	0.34	0.39
	26	0.07	0.10	0.14	0.18	0.22	0.24	0.25
valine	0	0.09	0.14	0.17	0.22	0.25	0.29	0.30
	20	0.07	0.11	0.15	0.20	0.21	0.23	0.24
	26	0.04	0.06	0.09	0.10	0.10	0.11	0.12
serine	0	0.12	0.15	0.21	0.27	0.29	0.31	0.33
	20	0.14	0.18	0.24	0.31	0.33	0.35	0.36
	26	0.10	0.12	0.15	0.19	0.22	0.25	0.27
glycine	0	0.10	0.14	0.19	0.25	0.29	0.33	0.32
	20	0.08	0.10	0.13	0.15	0.19	0.25	0.27
	26	0.08	0.09	0.14	0.15	0.18	0.19	0.20
threonine	0	0.09	0.15	0.21	0.27	0.34	0.40	0.43
	20	0.09	0.13	0.19	0.22	0.28	0.35	0.40
	26	0.07	0.12	0.15	0.20	0.26	0.28	0.30

* Control: non-addition medium of amino acids.

생육에 양호한 영향을 미치는 amino acid로서는 대략 methionine, tryptophan, serine, threonine, cystine, glycine, leucine, alanine, valine 등의 순으로 무침가구에 비하여 생육도가 다소 높았으며 histidine, lysine, arginine, aspartic acid, proline, tyrosine 등은 배양초기에는 무침가구에 비하여 생육을 저해 하였으나 배양 16일경에는 무침가구와 거의 비슷하거나 다소 상승되는 경향을 보였다. 高橋⁽⁶⁾은 조제 amino액으로부터 분리한 *Mycotorula* No.1은 배양 96시간후 질소원으로서는 histidine을 요구하였으나 기타 amino acid에서는 전적으로 번식되지 않았으며 청주효모, 알콜효모, 맥주효모는 질소원으로서는 amino acid만을 부여했을때는 번식되지 않았다고 보고 하였다. 또한 佐藤等⁽⁴⁾은 간장효모인 *Zygosaccharomyces major* st. *kikkoman* 은 식염농도 10%인 glycine배지에서 isoleucine, asparagin, methionine만을 요구하였다고 보고하였고 大西⁽⁶⁾은 장유효모인 *Zygosaccharomyces major*, *Zygosaccharomyces soya* 등은 alanine, aspartic acid 등의 단일 질소원에서도 생육이 양호하다고 보고하였다. 韓等⁽⁷⁾은 한국산곡자로 부터 분리한 5종의 효모는 amino acid 중 histidine과 cystine을 첨가한 배지에서는 효모의 증식이 나타나지 않았으나 methionine, tyrosine, phenylalanine 등 기타의 아미노산류에서는 생육이 양호하다고 보고한바 있다. 이상의 실험결과와 저자들의 실험결과를 비교할때 *Saccharomyces rouxii* T9의 생육에 있어서는 다소 상이한 결과를 보였으며, 특히 methionine, tryptophan, threonin 등의 효과가 뚜렷한점과 cystine 및 methionine 등은 식염 26%에서 생육이 더욱 양호한점이 특징이었다.

요 약

Saccharomyces rouxii T9의 생육에 있어서 vitamin 및 amino acid의 영향에 대하여 실험한 결

과는 다음과 같다.

- (1) inositol, pyridoxine, riboflavin, niacin, para amino benzoic acid 등은 생육인자로서 요구되지 않았다.
- (2) biotin, thiamin, Ca-pantothenate 등은 적응적으로 요구되었으며 이들 vitamin 중 절대적으로 요구되는 것은 없었다.
- (3) biotin, thiamin, pyridoxine, riboflavin, Ca-phanthothenate 등의 결핍배지에서는 배양초기에는 식염 26%배지에서 무염배지에 비하여 생육율이 다소 낮았으나 배양 16일 후에는 반대로 무염배지에 비하여 생육율이 높았다.
- (4) 유안을 질소원으로 하는 합성배지에 첨가효과가 인정되는 amino acid로서는 대략 methionine, tryptophan, serine, threonine, cystine, glycine, leucine, alanine, valine 등의 순이었다.
- (5) histidine, lysine, arginine, aspartic acid, proline, tyrosine 등은 배양초기에는 무침가구에 비하여 생육도가 다소 저하되었으나 배양 16일경에는 무침가구와 거의 비슷하거나 다소 상승되는 경향을 보였다.

參 考 文 獻

- (1) 李澤守, 李錫健: 韓國農化誌, 14, 99(1971)
- (2) 李澤守, 李錫健, 朱永河: 韓國農化誌, 14, 117(1971)
- (3) M.P. English: J. Gen. Microbiol., 10, 328(1954)
- (4) 佐藤正弘, 山田一彌, 植村定治郎: 日農化誌, 30, 492(1956)
- (5) 大西博: 日野田醬油研究報告第二輯, (1961)
- (6) 高橋雅弘: 日農化誌, 28, 395, (1954)
- (7) 韓容錫, 李彰容: 國立工業研究所報告, 12, 153(1962)