

酵母의 環境耐性에 대하여(第1報)

—菌體의 成分含量과 性狀 및 感受性과의 關係—

(林 億 圭·*鄭 英 昊·*金 俊 鎬)

(味元株式會社·*서울大學校 自然科學大學 植物學科)

A Study on Environmental Tolerances of Yeast(*S. cerevisiae*)

— I. Special Reference to Effects of Constituents of Cell
on the Functional Activity and Sensitivity. —

LIM, Uck Kyu, *Yung Ho CHUNG and *Joon Ho KIM.

(Miwon Co. Ltd., *Dept of Botany, College of Natural Sciences, Seoul National University)

ABSTRACT

Saccharomyces cerevisiae strain M was cultured in a molasses-containing media with repeated transplantations of the yeasts from one culture to another to adapt to molasses. After that only different amounts of phosphorous and nitrogen sources were added to the media. And then some variations during the culture time and the effects of constituents of cell mass on the functional activity and sensitivity of the cell were investigated. The results obtained were summarized as follows:

1. In the same culture condition of yeasts, the carbohydrates and trehaloses contents were more remarkably increased when small amounts of phosphate and nitrogen sources were added, then when large amounts were added, but yield percentage on assimilated sugars was lower.
2. The content of trehalose in yeast cells was reduced remarkably at the early stage in the culture, but this increased remarkably at later stage. When small amounts of nitrogen and phosphate were added to the culture medium, the amount of trehalose in the cells increased greatly.
3. The more protein content was present in the yeast cells, the smaller the carbohydrate and trehalose content, but more amino-N, RNA and moisture content were present in the cells. And in this case fermentability of the cells was stronger, but sugar tolerance was lower.
4. During the preservation period of compressed yeast cells at different temperature, the higher the temperature was, the more rapidly the amount of trehalose in the cells decreased. And in the cell where the amount of trehalose(carbohydrate) was large and the amount of protein was small, the amount of trehalose decreased at a slower rate during the preservation period.

緒 論

酵母의 生體成分은 菌種의 特性, 環境 또는 物理的 條件등에 따라 달라지며 특히 窒素化合物, 炭水化合物, 粗脂肪, 灰分 등은 細胞의 構造 및 機能에 重要한 役割을 한다는 것은 이미 잘 알려져 있다. 酵母가 지니는 糖類로서는 glycogen, mannan, glucan, trehalose 등이 있는데 특히 trehalose는 酵母의 貯藏糖으로써 1925年 Koch and Koch에 의하여 發見된 후 上面酵母의 特殊性分으로 알려져 왔으나 下面酵母에도 存在한다는 것이 밝혀졌다. trehalose는 특히 啤釀母에 많이 含有되어 있으며 그 品質特性和 밀접한 관계가 있음이 알려졌으므로 이 方面의 研究 組果가 많이 報告되고 있다. Brandt (1941)는 啤釀母株인 *S. cerevisiae*의 通氣 培養時에, Trevelyan등(1956)에 의하면 嫌氣의 培養時에 含窒素培地中에서는 trehalose가 減少되나 窒素缺乏培地中에서는 trehalose가 增加된다고 하였으며, Hayashibe 등(1958 a, 1958b)은 酵母의 窒素饑餓培養 試驗 結果 trehalose가 增加하고 이것과 glycogen의 含量은 酵母의 耐久力과 相關이 있으며 醱酵力은 Amino態 窒素의 含量에 의하여 支配된다고 발표하였다. 또 Sato 등(1953)과 Stewart등(1950)은 壓搾酵母의 저장중 到 trehalose含量이 감소되고 온도가 높을수록 少速度가 빠름을 報告하였으며, 最近에 Miyake등(1971)은 trehalose含量이 酵母의 增殖 初期에는 減少하나 後期에는 다시 增加하고 이에 반하여 trehalose의 活性은 增殖 初期에 높아지지만 後期에 낮아지는 現象을 發見하였고, Rambeck등(1972)은 酵母(*S. hansen*)의 糖饑餓培養時 酵母 菌體內의 glycogen pool이 처음에 利用된 후 다음에 trehalose가 利用되며 後者의 減少는 窒素의 有無에 無關하다고 하였다. trehalose의 生合性 經路나, 이것과 glycogen 및 其他 炭水化合物과의 關係에 대해서도 많은 研究가 있으나 아직 그 經路가 明確히

밝혀지지 않는 것이다. (Cook, 1955; Haya-shibe, 1959; Chung, 1959; Sato, 1967).

Tsumura등(1961)에 의하면 培養熟成된 효모를 窒素吸收와 窒素饑餓를 交代로 反復 處理한 結果 amino態 窒素含量이 적어졌고 醱酵力이 낮아졌으며 耐久力이 높아졌다고 한다.

한편 Sato(1957, 1967), Sato등(1958)은 啤釀母의 性狀을 分析 檢討한 結果 그의 炭酸 gas 發生力과 生地膨脹力 사이에는 正의 相關이 있으나 醱酵持續性과 耐糖性, 水分含量과 耐糖性, 水分含量과 耐久力 사이에는 負의 相關이 있음을 確認하여 酵母의 代謝能과 耐糖性과는 本質的으로 다르다고 主張하였고, Sato등(1958)은 啤釀母의 生長過程에서 耐糖性은 通氣量에 比例하고 特別히 通氣量이 많은 培養末期에 耐糖性이 顯著히 增大한다고 하였다.

Markham등(1968)은 菌體內에 phosphate pool이 없는 酵母는 磷酸缺乏 培地中에서 生育이 不可能하며 磷酸饑餓細胞는 大端히 빠른 速度로 培地中の 磷酸을 吸收한다고 報告한 바 있다.

前述한 大部分의 研究는 酵母의 生長過程 중의 一部分만을 實驗하였을 뿐 菌培養으로부터 性能檢定까지의 全過程을 一貫하여 實驗한 報告는 없었다. 本 實驗은 *Saccharomyces cerevisiae* M株를 flask와 jar fermentor에서 培養하면서 環境의 變化에 따르는 몇가지 菌體成分량과 性能의 變化 그리고 韌性등에 대하여 實驗하였다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

(1) 菌株: 本 實驗에서는 筆者등의 研究 실에서 분리한 *Saccharomyces cerevisiae* M株를 使用하였다.

(2) 培地原料: 炭素源(C源)으로서는 Philippine產 糖蜜을 水道水로 2.5배로 희석하여 70°C로 加熱한 후 pilot separator(Kokus-san H-600 16,000rpm)를 利用하여 分離

清淨하고 그 糖含量을 檢定한 후 使用하였다. (Sato *et al.*, 1959; Matsuhara, 1960). 磷酸源(P源)으로서는 diammonium phosphate(Monsanto Co. U.S.A產)를 썼고 窒素源(N源)으로서는 尿素(忠州肥料工場產)를 使用하였다.

2. 實驗方法

(1) 水分測定: Stockhausen & Silbereisen 法(稿谷, 1967)에 準하되 105°C에서 4時間 동안 恒量이 될때까지 乾燥시켰다.

(2) 蛋白質 및 Amino態 窒素定量: 蛋白質은 Kjeldahl法으로 總窒素량을 定量하여 6.25배 함으로써 粗蛋白質을 算出하였고, Amino態 窒素는 Pope-Stevens의 加銅法에 따라 定量하였다. (延大工學部 食品工學科 編, 1975)

(3) 炭水化物 定量: 試料 3g을 Erlenmyer flask에 넣고 증류수 200ml, HCl(sp.gr. 1.125, 25% soln) 20ml를 加하여 水浴中에서 2時間 加熱한 후 濾過하였다. 이것을 NaOH(10% soln)로 中和시킨 후, KMnO₄ 消費量에서 炭水化物량을 算出하였다.

(4) Trehalose 定量: 試料 10g(乾燥試料 3g)에 ethyl alcohol(94%) 25ml를 加하여 30分間 混合攪拌한 후 吸引濾過하고 70% alcohol로 3회 洗滌하였다. 40~50ml의 濾液을 3ml로 吸引濃縮하고 ZnSO₄(10%)液으로 除蛋白하였다. 다음에 BaOH液을 加하여 中和시키고 活性炭을 넣어 水浴上에서 70°C로 加温한 後 冷却하고 吸引濾過하여 증류수로 洗滌하였다. 濾液이 40ml가 되도록 調整하여 이 液을 偏極計로 偏極한(A) 後 다음式에 依하여 算出하였다. (Sato, *et al.*, 1953.)

$$\text{Trehalose} = \frac{A \times 0.1115 \times 21 \times 100}{\text{Sample}(ml)}$$

(5) 磷酸의 定量: 試料 0.02g(乾量基準)을 精秤하여 110ml Kjeldahl flask에 넣고 digestion mixture(sodium molybdate, sulfuric acid, perchloric acid의 混合液) 5ml를 加한 後 分解 冷却하고 증류수 75ml, Fiske Subbarow reagent 1ml를 加한 後 110ml로 하여 Spectrophotometer(HITACH

124)로써 波長 660nm에서 吸光度를 測定하여 다음式에 依하여 算出하였다.

$$P_2O_5(\%) = \frac{A660 \times 2}{\text{Sample weight} \times 10}$$

(6) RNA: Schmidt-Thaunser-Schneider 법에 依하여 spectrophotometer(HITACH-124)를 使用하여 測定하였다.

(7) 六炭糖의 定量: Bertrand法과 Somogyi變法으로 定量하였다.

(8) 菌量의 定量: 培養液을 5ml 分離管에 넣어 遠心分離器(Kokusan H-100 G₄)에서 3,000 rpm으로 10分間 分離沈澱시킨 菌體量을 cell volume으로 表示하고 여기에 含水量을 고려하여 乾菌體 重量으로 換算함으로써 乾菌體 增殖量을 얻었다.

(9) 醱酵力과 耐糖性 測定: 生體試料(含水率 70% 基準) 0.5g과 증류수 蔗糖液을 20ml로 하여 醱酵瓶에 넣고 30°C에서 3時間 동안에 發生된 CO₂量을 測定(Walf's method)하여 이를 醱酵力 또는 活性으로 表示하되 特別히 이 實驗에서는 F₁₀(10% 蔗糖液)을 醱酵力, F₄₀(40% 蔗糖液)을 耐糖性으로 간주하였다(Sato, 1957; Hayashibe, 1958; Sato, 1967).

(10) 耐久力 測定: 新鮮한 壓搾酵母 15g을 內徑 5cm의 샤레에 넣고 30°C의 恒溫器에 保存하면서 24時間 간격으로 觀察하여 軟化되지 않은 狀態로 維持되는 日數를 耐久力으로 表示하였다(Sato, 1957).

(11) 酵母의 培養: 麥芽汁(10%, Difco bacto malt ext.) 寒天斜面培地에 繼代培養되어온 *S. cerevisiae* M株를 다음과 같은 방법으로 배양하였다. 麥芽汁: 糖蜜(Table 1) 比를 糖含量 基準으로 各各 4:1, 3:2, 2:3, 1:4의 比率로 混合調製된 9ml培地(糖含量 10%)에 順次的으로 1ml의 培養液을 接種하여 30°C, pH 4.7에서 24時間 馴養시켰다. 本 實驗에서는 最終 試驗管의 醱酵液을 種菌培養 S-1에 全量 移植 接種하였다. 種菌培養段階(S)의 첫단계는 500ml 振盪 flask(S-1)에서, 둘째단계는 1500ml 振盪 flask에서 振盪培量(振幅 5cm, 振動數

Table 1. Composition of raw molasses(Philippine cane blackstrap molasses)

Total sugar	Total nitrogen	Ash	P ₂ O ₅	CaO	SiO	MgO	KCl	SO ₂	pH
52.33%	0.56%	6.83%	0.04%	0.75%	0.33%	0.33%	2.46%	0.08%	2.46%

120/分)하고 (S-2), 셋째 단계는 이것을 10l 용 jar fermentor(22×40cm, 180 rpm, sus #32 : S-3)에서, 넷째 단계는 50l 용 jar fermentor(90×135cm, 220 rpm, sus #32 : S-4)에서 順次로 培養하였다. 어느 단계에서나 培養液 全量을 다음 단계로 移植接種 하였고 30°±1°C, pH 4.7±0.1로 유지하였고 다른 條件은 Table 2와 Figure 1에 圖示한 바와 같다. S-4의 培養이 完了된 후 全量을 separator(Kokusan, 16,000rpm)로 集菌한 후 이를 冷水道水에 懸濁시켜서 다시 集菌

하는 操作을 2회 反復하였다. 이렇게 하여 얻은 菌體를 냉장고(2°±1°C)에 保存하고 全菌體를 5等分하여 本培養段階(C)用 種醇母로 使用하였다. 本培養(C-1~C-5)은 Table 2에서 보듯이 N源과 P源단을 달리 하여 培養하였다. 通氣는 1~6時間 사이는 1v.v.m, 7~12時間 사이는 1.5v.v.m.로 하였으며 培養槽는 S-4와 同一한 것이었다. 種醇母의 最終培養(S-4)과 本培養 段階(C)는 流加培養을 하였다. 培養이 完了된 醱酵液 全量을 前記한 separator로 集菌, 2회 洗

Table 2. Composition of media for yeast culture

Stage	S-1	S-2	S-3	S-4	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
Volume of media(l)	0.1	0.3	6.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
Sugar(gm)	8	33	830	1200	1200	1200	1200	1200	1200
Urea(gm)	0.5	2.0	37.5	70.0	50.0	55.0	60.0	65.0	70.0
Diammonium phosphate(gm)	0.5	2.0	19.0	37.0	2.0	4.0	8.0	16.0	32.0
Magnesium sulfate(gm)	0.1	0.2	2.5	5.0	—	—	—	—	—
Air volume(v. v. m)	shaking	shaking	1.0	1.5	1—1.5	1—1.5	1—1.5	1—1.5	1—1.5

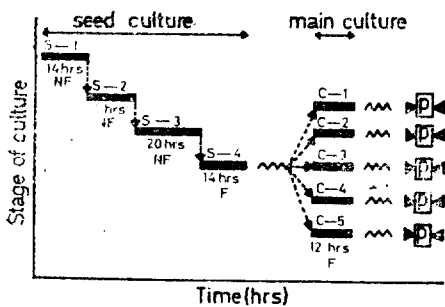


Fig 1. Processes of yeast culture.

- F; Feeding of nutrient.
- NF; Non feeding method
- ; culture Yeast
- ▧; Pressing
- 〰; Separating and washing

滌한 후 集菌體를 約 15%의 乾菌體가 含有 되도록 冷水道水에 懸濁시켜서 pilot用

flame & filter press를 利用하여 5kg/cm² 壓力으로 1時間동안 同一한 條件으로 壓搾하였다. 本 培養은 同一한 實驗을 3회 반복하였다. 以上의 培養方法은 主로 Sato등(1958), Sato(1967)의 方法을 參考하였다.

結 果

1. 醇母의 培養

Table 1에 표시한 成分을 지닌 糖蜜(Blackstrap molasses, Matsuhara, 1960; Keller, 1967)에 Table 2에서 처럼 相違한 量의 P源과 N源을 添加하여 培地를 만든 후 Fig. 1에 표시한 順序에 따라 *S. cerevisiae*를 接種하여 數段階의 馴致培養을 거친 結果를 보면 다음과 같다.

(1) 本培養종의 菌體量과 몇가지 성분
의 變化

本培養을 進行시키는 과정에서 菌體量, 菌體中의 蛋白質과 trehalose 및 醱酵液中的 殘存糖量을 時間 經過에 따라 測定한 結果는 Fig. 2와 같다. 여기에서 P源과 N源을 가장 많이 供給한 C-5가 가장 적게 供給한 C-1보다 菌의 增殖 速度가 빨랐고 培地中의 殘糖率이 낮았다. 菌體中의 蛋白質量은 C-5의 경우 初發酵母 보다는 多少 減少하였으나 C-1의 경우는 그 減少가 甚하였다.

Trehalose는 時間이 경과함에 따라 初發酵母보다 처음에는 減少하였지만 8時間 이 후 점차 增加하여 初發酵母보다 많아졌다. 그 增加速度는 C-1이 훨씬 빨라서 12時間 후에는 C-1이 9.0%(對乾量)인데 反하여 C-5는 3.5%이었다.

培養完了時의 菌體量, 殘糖量, total-N, P₂O₅量, 供給糖에 對한 消費糖率 및 消費糖에 對한 乾菌體收率 등을 算出하여 Table 3과 같은 結果를 얻었다. 本培養의 結果를 보면 N源과 P源을 많이 供給한 C-5 적게 준 C-1보다 醱酵完了液中的 P₂O₅와 total-N이 많았고, 糖消費率과 菌體收率が 顯著히 높았다. 이것으로 보아 C-1은 窒素 飢餓狀態에 있음을 짐작하게 하며 N不足이 菌體中 trehalose의 增加를 가져오는 것과 관계가 있는 것으로 생각된다. Table 3에서 S-1부터 S-4까지 本培養과 對照하기 위하여 表示하였다.

(2) 壓搾酵母의 成分量

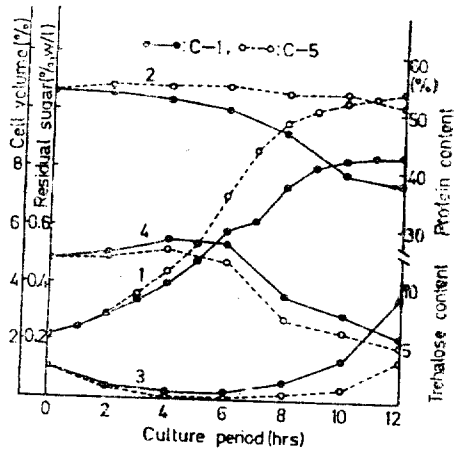


Fig 2. Changes of constituents in yeast cell during culture.

- 1; Increase of fresh yeast cell volume in broth.
- 2; Change of protein content in yeast cell on dry base.
- 3; Change of trehalose content in yeast cell on dry base.
- 4; Change of residual sugar content in broth.

本培養을 한 후 菌體를 集菌 洗滌하여 壓搾한 酵母의 水分, 蛋白質, amino-N, P₂O₅, 炭水化物, trehalose 및 RNA量을 Table 4에 表示하고 특히 水分, 蛋白質, 炭水化物 및 trehalose 含量만을 Fig. 3에서 비교하였다. C-1에서 C-5에 갈수록 菌體中의 水分含量, 蛋白質, amino-N, P₂O₅ 및 RNA含量은 많았고, 炭水化物과 trehalose 量은 적어 졌으며 炭水化物量과 trehalose 量의 增加는 平行을 이루었다.

Table 3. Composition of media after culture

Stage	S-1	S-2	S-3	S-4	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
Residual sugar(%)	4.20	1.20	0.90	0.28	0.26	0.24	0.23	0.20	0.20
Residual nitrogen(%)	—	—	0.34	0.06	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04
Residual P ₂ O ₅ (%)	—	—	0.24	0.15	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02
Alcohol(%)	4.3	3.6	0.2	—	—	—	—	—	—
Assimilated sugar(%)	83.2	89.5	93.5	93.3	93.5	94.0	94.3	94.8	95.0
Yield of yeast(%)	1.5	2.3	37.0	50.0	43.0	47.0	50.0	55.0	57.0
% of dry cell in broth media	0.19	0.26	2.78	2.43	2.10	2.25	2.37	2.57	2.65

Table 4. Constituents of compressed yeast(% of dry base)

Constituents	compressed yeast				
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
Moisture*	66.0	67.0	68.5	69.0	71.0
Protein	37.5	40.0	45.8	49.4	51.8
Amino-N	0.45	0.54	0.63	0.75	0.85
P ₂ O ₅	1.77	1.90	2.20	2.50	3.30
Carbohydrate	37.0	34.5	31.0	29.5	25.0
Trehalose	9.0	7.0	5.5	4.7	3.5
RNA	2.1	2.4	3.8	4.0	4.5

* % of wet base

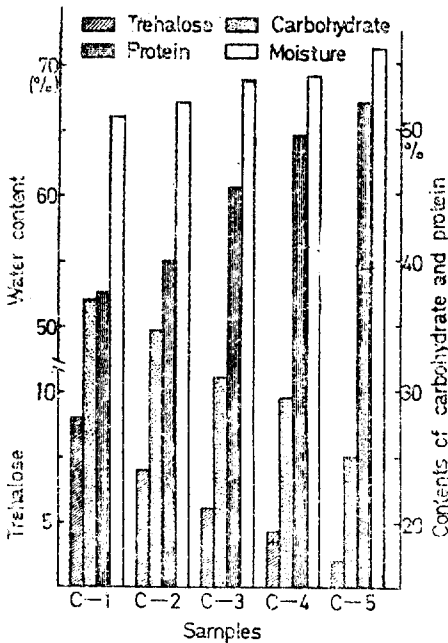


Fig 3. Contents of some constituents in compressed yeast.

(3) 耐糖性と 耐久力

菌體成分이 各各 다른 試料(C-1, C-5)의 醱酵 (F₁₀), 耐糖性(高糖醱酵力, F₄₀) 耐久力を 測定한 結果를 Fig. 4에 표시하였다. 蛋白質과 amino-N의 含量이 많고 炭水化合物과 trehalose量이 적은 경우(C-5)일수록 醱酵力은 높은데 反하여 耐糖性은 낮아졌다. 또한 耐久力은 耐糖性에 比례하였다.

(4) 貯藏酵母의 trehalose含量 變化

C-1 및 C-5에서 培養하여 얻은 壓搾酵母

를 beaker에 다져넣고 密封한 후 5°±1°C, 15°±1°C, 3°C±1°C에 각각 貯藏하면서 5日 間隔으로 trehalose 含量을 測定한 結果는 Fig. 5와 같다. 源度가 높아질수록 trehalose의 減少 速度가 빨랐고 trehalose와 炭水化合物含量이 많고 蛋白質과 amino-N, P₂O₅ 및 水分含量이 적은 C-1이 C-5에 比하여 trehalose의 減少速度가 緩慢하였다 또한 預藏時間이 經過할수록 그 減少速度가 加速化되었다.

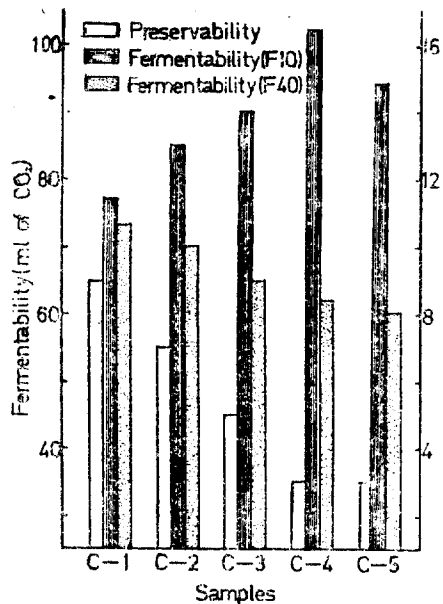


Fig 4. Fermentability and preservability of compressed yeast.

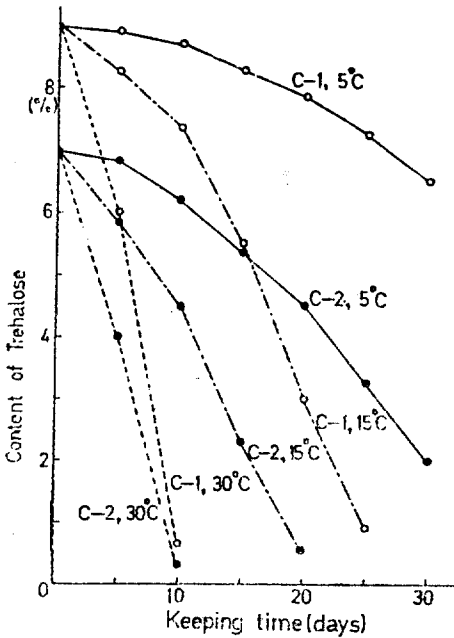


Fig 5. Decreasing trends of Trehalose in compressed yeast during keeping.

考 察

1. 培養中の經時的變化

酵母를 培養하는 사이에 窒素餓餓를 시키고 通氣量을 높이면 菌體中の trehalose 含量이 높아지고(Brandt, 1941; Trevelyan et. al, 1956; Hayashibe et. al, 1958; Tsumura et. al, 1961; Sato, 1967), 培養初期에 trehalose 含量이 急激히 減少하였다가 末期에 增加한다(Sato, 1967; Miyake et al., 1971)는 研究가 이미 이루어졌다. 本 實驗에서는 糖密培地에 P源과 N源을 調節함으로써 trehalose의 增減을 確認할 수가 있었다(Table 4, Fig. 3). 이는 磷酸과 窒素가 酵母의 生育과 그 成分量의 變化에 重要한 要素임을 나타내는 것이라고 믿어진다.

2. 酵母의 成分量 變化

酵母를 培養하여 얻은 壓搾酵母의 菌體成分含量을 살펴보면 蛋白質, amino-N, P_2O_5 , RNA 및 水分含有量 등이 많은 菌體일수록 炭水化合物과 trehalose 含量이 적음을 알 수

있었다(Fig. 3, Table. 4).

Amino-N가 많은 酵母는 trehalose 含量이 적고(Hayashibe, 1958), 菌體中 遊離 amino酸이 많을수록 酵母의 熟成度가 낮으며(Tsumura et al., 1961), 成熟한 酵母가 trehalose 含量이 많다(Brandt, 1941)고 하며 또한 炭水化合物이 많은 경우에 trehalose 含量이 높다(Sato, 1967; Hayashibe et al., 1959)는 新告와 一致하는 結果가 나타났다. 그러나 本培養(C) 5個區(C-1~C-5)가 檢鏡下에서는 모두가 熟成狀態임이 觀察되었음을 생각할 때 蛋白質 含有量이 같다는 前提下에 酵母의 熟成度가 낮은 경우는 그것이 높을 경우보다 amino-N가 많고 水分含量이 많으며 trehalose 含量이 적은 것이라고 보아야 할 것이다. 따라서 熟成 程度를 表示하는데 形態的(外觀的) 熟成과 生理的(細胞內的) 熟成이라는 두 概念을 設定함이 옳을 것이라고 본다. 一般的으로 生物細胞에 있어서 幼細胞는 成熟細胞보다 蛋白質含有量이 많고 水分이 많은 것처럼 酵母도 蛋白質과 水分含量이 많으면 生理적으로 未熟한 狀態에 있고 炭水化合物과 trehalose가 많으면 成熟한 狀態에 있다고 생각된다. 즉 酵母는 外形的 成熟 이외에도 細胞內 構成成分量에 따라 外部環境에 대한 感受性이 달라지는 것이라고 생각된다.

酵母(生菌體)의 水分은 細胞外(體外)水分과 細胞內(體內)水分으로 나눌 수 있고 다시 細胞內水分은 遊離水와 結合水로 나눌 수 있는 바 White(1952)는 壓搾酵母의 全含水量에 대하여 23%가 細胞外水分이고 77%가 細胞內水分이라고 하였고, George(1967)는 壓搾酵母의 水分은 70~75%로써 그중 25%가 細胞外水分이고 45%가 細胞內水分이라고 하였다. 한편 酵母의 水分含量은 培養條件 및 方法에 따라 달라지고(Sato, 1967; White 1952, 1954), 빵酵母의 培養過程에서 好氣狀態를 유지하면 酵母의 水分(細胞內·外水分)과 蛋白質量이 低下하고 이는 炭水化合物의 蓄積과 平行하며 P源을 많이 주면 全水分含量이 增大한다(Sato,

1967)는 연구가 있는데 이것은 炭水化物和 trehalose含量的 增大와 관련되는 現象으로 생각된다. 本 實驗의 結果를 보면 蛋白質, amino-N, 磷酸, RNA含量이 많은 경우 炭水化物和 trehalose含量이 적고 菌體中の 水分량이 많아지는 結果를 보여 주었다(Table 4, Fig. 3).

한편 RNA는 酵母의 對數增殖期에 最高에 達하였다가 停滯期에서 減少되며, 成熟細胞 보다도 幼細胞에 많이 含有되고 蛋白質 生合成과 密接한 關係가 있다(Davidson, 1967; Amino 酸核酸集談會編, 1976)고 하는데 本 實驗에서는 N 및 P源을 많이 준 酵母에서 많은 RNA를 含有하는 것을 보여 주었다(Table 4).

3. 酵母의 成分량과 特性의 變化

酵母의 醱酵力 및 耐糖性과 耐久力 사이의 關係에 있어서 蛋白質含量을 줄이고 炭水化物和 trehalose含量을 늘임으로써 酵母의 耐糖性과 耐久力を 높일 수 있고(Hayashibe et al., 1958; Sato, 1967), amino-N량이 적은 경우 醱酵력이 낮고 耐久력이 높으며(Tsumura, 1961), 水分含量과 耐藏性 또는 이것과 耐久力 사이에는 負의 相關이 있다(Sato, 1957)는 結果가 이미 알려졌다. 本 實驗에서 醱酵력과 耐藏性과의 關係를 보면, 蛋白質, amino-N, 水分含量등이 많고 炭水化物和 trehalose含量이 적으면 醱酵力(F_{10})이 높은 반면 耐糖性(F_{40})이 낮음을 보여 주었다(Table 4, Fig. 3). 여기에서 蛋白質, amino-N 및 水分含量이 가장 많은 C-5가 C-4보다 醱酵力(F_{10})이 떨어졌는데 이것은 前者가 10%의 糖含有培地에서 抵抗力이 弱하였던 것이라고 생각된다. 이 實驗에서 糖密培地中の P와 N源의 添加量을 달리 하였을 뿐 同一한 前歷을 가진 菌體인데도 試料間의 成分含量에 따라 醱酵력과 耐糖性이 다르게 나타났다. 高濃度の 糖液은 滲透壓值가 높고(森, 1976; Walker, 1977) 耐糖性은 耐淡透性과 關係되고 이는 酵母의 環境에 依하여 支配되며 高滲透壓培地에서 높아진다(White, 1954, 1955, 1955)

고 하였다. 이에 對하여 Sato는 耐糖性은 耐滲透性과는 다른 어떤 要素에 依하여 支配될 것(Sato, 1967)이라 하고, 또한 代謝能과 耐糖性과는 本質的으로 다를 것이라고(Sato, 1958)하였으나 本 實驗 結果로 보아 耐糖性은 酵母菌의 環境에 對한 感受性의 差異에서 나타나는 結果라고 생각된다.

한편 酵母의 炭水化物和 trehalose가 증가할 때 菌體의 glucan과 mannan의 含有量도 增加하고(Trevelyan, *et al.*, 1956; Sato, 1967) 酵母細胞壁은 全細胞量의 20%(乾物)를 차지하고 이중에서 각각 34%의 glucan과 mannan으로 構成되었다(Cook, 1955; Sato, 1967)는 것으로 미루어 보아 炭水化物(trehalose)이 많은 酵母細胞는 細胞壁이 튼튼해서 外的環境條件에 抵抗性을 갖게될 것이라는 것도 豫想된다. Trehalose의 減少와 耐久力과의 關係를 Fig. 5에서 보면 C-1이나 C-5가 모두 保存溫度가 높을수록 trehalose의 減少速度가 빨랐는데 이것은 Stewart등(1954)과 Sato(1953)의 結果와 一致한다. 炭水化物和 trehalose가 적고 蛋白質, amino-N 및 水分含量이 많은 菌體(C-5)는 trehalose 減少速度가 빨랐고 耐久力도 弱하였다(Fig. 3 및 4).

이상에서 考察한 바와 같이 菌體중에 炭水化物和 trehalose含量이 적고 蛋白質含量과 amino-N, RNA 및 水分含量이 많은 酵母는 形態的으로는 成熟하였다 할지라도 生理的으로는 未熟한 幼細胞의 狀態에 있다고 본다. 이러한 酵母는 環境條件에 敏感할 뿐 아니라 貯藏중에 自己呼吸 또는 自己醱酵를 일으키기 쉬운 狀態에 있다고 생각된다. 酵母細胞에 溫度刺戟을 줌으로써 自己呼吸이 빨라지고 trehalose의 分解가 일어나며(Brandt, 1941) 酵母의 內部代謝에 있어서 glycogen pool이 利用된 다음에 trehalose가 利用된다(Rambeck *et al.*, 1972)는 바 生理的으로 未熟한 酵母細胞는 外部環境變化에 敏感하고 trehalose 이외의 glycogen과 같은 炭水化物 含量이 적음으로써 trehalose의 減少速度가 빠르게 되고 蛋白質(酵

素(蛋白質)과 水分은 이러한 代謝를 더욱 促進 하게 되는 것으로 생각된다. 하는 結果가 됨으로써 菌體의 耐久力이 弱

摘 要

Saccharomyces cerevisiae M株를 一定한 環境條件下에서 馴養시킨 後 P와 N含量이 다른 糖密培地에서 培養하면서 培養中の 變化와 그 結果로써 얻어진 相異한 菌體 成分含量과 相關한 酵母의 性狀 및 環境條件에 對한 反應을 實驗하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 同一한 條件下에서 燐酸과 窒素源을 少量 供給하면 多量 供給한 경우보다 炭水化合物과 trehalose가 顯著히 增加하였으며 對消費糖에 對하여 菌體收率이 낮았다.
2. 菌體中 trehalose는 培養初期에 顯著히 減少하나 末期에는 急增하여 窒素와 燐素를 少量 供給했을 경우는 始發菌體中の 含有量의 3培 以上으로 增加하였다.
3. 菌體中 蛋白質含有量이 많을수록 炭水化合物과 trehalose 含有量은 적고 amino態 窒素, RNA 및 水分含量이 많았으며, 醱酵力은 強하나 耐糖性이 낮았다.
4. 菌體 保存期間中 溫度가 높을수록 trehalose의 減少速度는 빨랐지만 trehalose(炭水化合物)가 많고 蛋白質이 적은 菌體에서 그 減少速度는 비교적 완만하였다.

REFERENCES

1. Brandt, K.M. 1941. Ueber die Reservokohlenhydrate der Preßhefe. Das Verhalten der Trehalose beim Wachstum und bei der Wärmeschädigung der Hefe. *Biochem. Z.*, **309**, 190—201.
2. Chung, C.W. and W.J. Nickerson 1959. Polysaccharide synthesis in growing yeast. *Yeast 工業會技報*. **17(7)**, 395—406.
3. Cook, A.H. 1955. The chemistry and biology of yeast. pp. 374—399.
4. Davidson, J.N. 1967. The biochemistry of the nucleic acid. ed. John Wiley & Sons. Inc. N.Y.
5. George, I.D. 1967. The yeast. Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. 2nd. ed. Vol. **22**, pp. 508—547.
6. Hayashibe, M. and K. Matsumoto 1958a. Studies on the preservability of baker's yeast. Part 1. On the nitrogen starvation. *J. Agr. Chem. Soci. (Japan)* **32**, 594—598.
7. Hayashibe, M. 1958. Studies on the preservability of baker's yeast. part 2. Relation to the chemical compositions and accumulation of carbohydrate by oxidative assimilation. *J. Agr. Chem. Soci. (Japan)* **32**, 599—603.
8. Hayashibe, M. and K. Aso 1959. On the trehalose. *醸造誌* **17**, 6—15.
9. Keller, G.A. 1967. Molasses. Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. 2nd. ed. Vol. **13**. pp. 613—633.
10. Markham, E. and J.W. Byrne 1968. Uptake, storage, and utilization of phosphate by yeast. (III). The behaviour of phosphate-starvated yeast. *J. Inst. Brew.* **74(4)**, 374—378.
11. Miyake, Y., and T. Ito. 1971. Function of trehalose in baker's yeast. *J. Agr. Chem. Soci. (Japan)* **45(9)**, 393—397.
12. Matsuhara, K., 1960. On the composition of molasses. *Yeast 工業會技報(日)* **20**, 18—26.
13. Rambeck, W. and H. Simon 1972. Decrease of glycogen and trehalose in yeast during starvation and during ethanol formation under the influence of propanol formation under the influence of propanol or ethanol. *Z. Physiol. Chem. Bd.* **353** S, 1107—1110
14. Sato, T. and N. Tsumura 1953. Trehalose and yeast. part 1. The preparation and determination of trehalose in baker's yeast. *J. Agr. Chem. Soci. (Japan)* **27**, 412—

- 416.
15. _____, _____, 1953. Trehalose and yeast. Part 2. Variation of the trehalose contents of baker's yeast during the storage. *J. Agr. Chem. Soci. (Japan)* **27**, 416—419.
 16. _____, 1957. Studies on the activities of the baker's yeast. Part 1 Studies on the commercial baker's yeast. *J. Agr. Chem. Soci. (Japan)* **31**, 469—489.
 17. _____, _____, and H. Matsushita 1958. Studies on the activity of baker's yeast. Part 2. Relationship between the metabolic activity and the dough rising power. *J. Agr. Chem. Soci. (Japan)* **32**, 9—11.
 18. _____, Y. Tanaka and Y. Koyanagi 1958. Studies on the activities of the baker's yeast. Part 3. Changes of the metabolic activity and the dough rising power during the manufacture of the baker's yeast. *J. Agr. Chem. (Japan)* **32**, 11—14.
 19. _____, G. Ito and S. Nakano 1959. Molasses clarifying by super Jector. *Yeast 工業會技報(日)* **17**, 7—13.
 20. _____, 1967. The baker's yeast. *Korinzensho* 19.
 21. Stewart, L. C., N. K. Richtmyer and C. S. Hudson. 1950. The preparation of trehalose from yeast. *J. Am. Chem. Soci.* **72**, 2059—2061.
 22. Trevelyan, W. E. and J. S. Harrison 1956. Studies on the yeast metabolism. 5. The trehalose contents of baker's yeast during anaerobic fermentation *Biochem. J.* **62**, 177—183.
 23. Tsumura, M. and T. Sato. 1961. Effects of nitrogen assimilation on the fermentation activity of baker's yeast. part 1. Change of cell constituents and fermentation activity. *J. Agr. Chem. Soci. (Japan)* **35**, 933—938.
 24. Wilker, H. W. 1977. Spoilage of food by yeasts. *Food Tech.* **31** (2), 57—61.
 25. White, J. 1952. Variation in water content of yeast cells caused by varying temperatures of growth and by other culture conditions. *J. Inst. Brew* **58**, 47—50.
 26. _____, 1954. Yeast technology. p. 282, 394, 420.
 27. _____, and D. J. Munns. 1955. Some aspects of osmosensitivity in yeasts. I. Significance and measurement of osmosensitivity. *J. Inst. Brew*, **61**, 217—223.
 28. _____, _____, 1955. Some aspects of osmosensitivity in yeasts. II. Factors leading to the production of osmosensitivity. *J. Inst. Brew.* **61**, 223—229.
 29. 矯谷義孝 1967. 酵母學. 岩波書店; 255—323
 30. 森一雄, 鍋谷修. 1976. 食品의 乾燥에 依한 保存, 養品科學(日) 春季增刊; 105—109.
 31. 延世學校 食品工學科編. 1975. 食品工學實驗書. 一卷探求堂; 599—609.
 32. Amino 酸核醇集談會編. 1976. 核酸醇酵 講談社刊; 61—68.