

切干고구마를 利用한 RNA 生産에 關한 研究

李鍾任 · 宋在徹 · *趙源大 · 梁漢喆

高麗大學校 農科大學 食品工學科, *木浦實業專門大學 食品工業科
(1980년 2월 10일 수리)

RNA Production from the Hydrolyzate of Sliced and Dried Sweet Potatoes.

Jong Im Lee, Jae Chul Song, Won Dae Cho and Han Chul Yang

Department of Food Technology, College of Agriculture, Korea university

*Department of Food Industry, Mokpo Technological Junior College

(Received February 10, 1980)

Abstract

During an extensive screening tests of yeasts for their RNA formation, it was found that *Cryptococcus laurentii* had especially high RNA content and high dry cell weight, when hydrolyzate of sliced and dried sweet potatoes was used as a carbon source.

Growth conditions of this strain were examined, and the most desirable results were obtained at 48 hours of cultivation on a reciprocal shaker at 30°C with initial pH 6.0.

Under the above conditions, the RNA content and yield of dry cells were investigated using various media compositions. Ammonium sulfate 0.40%, peptone 0.6%, and yeast extract 0.4% were appeared to be favorable as a nitrogen sources. The optimum concentrations of KH_2PO_4 , Mn^{++} , CO^{++} were 0.05%, 0.1%, and 0.001%, respectively. Ca-pantothenate, 400 $\mu g/m^l$, showed relatively favorable effects as a growth factor.

The maximum RNA content obtained in this study was 16.8% of the total dry cell weight.

서 론

RNA는 IMP, GMP의 맛물질자원 또는 식품工業의 핵산系調味料源으로서 중요하다. 1871年以後 酵母를 원료로한 RNA 分解法으로 값싼 炭素源을 이용한 RNA 含量增加와 林産, 農産廢資源을 이용한 酵母生産에 關하여 많은 研究^{1~11)}가 進行되어 왔다. 본 연구에서는 高價의 炭素源에 對한 原料代제의 一環으로서 高價의 工業的利用을 위하여 國內에서 生産되는 切干고구마의 酸糖化液을 위한 糖化條件, 菌株選定, 選定菌株의 培養條件 및 營養要求性 등을 實驗하여 檢討하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험 재료

試料인 切干고구마는 眞露酒造(株)에서 提供받은 것을 使用했으며 一般成分은 Table 1과 같다.

2. 使用菌株 및 基本培地組成

高麗大學校 食品工學科에서 保有한 酵母를 試驗菌株로 使用하였으며 培養基本培地組成은 Table 2와 같다.

Table 1. General Composition of Sliced and Dried Sweet Potatoes.

Moisture	9.12 %
Crude Protein	3.76 %
Crude Fat	0.70 %
Crude Fiber	2.26 %
Nitrogen Free Ex.	81.64 %
Ash	2.52 %

Table 2. Composition of Basal Medium.

Casamino acid	0.5 %
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.4 %
Inorganic salts	
KH ₂ PO ₄	0.05 %
MnSO ₄ 4-6 H ₂ O	2 %
MgSO ₄ 7 H ₂ O	0.04 %
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.01 %
Buffer	
Potassium citrate	0.5 %
Citric acid	0.1 %
*Hydrolyzate	1000 ml
PH	7.0

Concentration of reducing sugar: 4.41 %

3. 실험방법

(1) 切干고구마의 一般成分 分析⁽¹²⁾

水分, 粗灰分, 粗脂肪, 粗纖維는 常法에 따라 定量하였으며 粗蛋白質은 Kjeldal 法으로 定量하였다.

(2) 酸糖化法⁽¹⁰⁾

加水分解劑로 鹽酸을 濃度別로 切干고구마 粉末에 대하여 5倍(v/w) 加하고 autoclave에서 壓力 및 時間別로 加水分解시켰다.

(3) 糖化率 測定⁽¹³⁾

여과, 中和한 糖化液一定量을 取하여 Bertrand

法으로 還元糖을 定量한 다음 Glucose 量으로 환산하여 原料에 對한 重量比를 %로 나타내었다.

(4) 接種

保存菌을 malt extract 寒天斜面培地에 30°C에서 24時間 培養한 것을 種菌으로 사용하였으며 비타민, 金屬이온要求性檢討時는 菌體를 살균수로 현탁희석하여 10⁶/ml의 菌濃度로 接種하였다.

(5) 培養

基本培地 50 ml를 500 ml 진탕배양 플라스크에 분注하여 120°C에서 10分間 加壓殺菌後 接種하고 30°C에서 48時間 진탕배양(120 strokes, 진폭 7cm) 하였다.

(6) 乾燥 菌體量測定

一定量의 培養液을 秤量한 遠心分離管에 넣고 3,000 rpm에서 10分間 遠心分離한 後 無菌수로 2번 洗滌한 後 105°C에서 恒量이 될 때까지 乾燥시킨 後 秤量한 다음 培養液 ml當 重量으로 表示하였다.

(7) RNA 含量 定量

각종 RNA 定量方法中 가장 간편하고 오차가 적은 Sanlin等⁽¹⁴⁾의 定量法에 依해 洗淨菌體(5~20 mg)를 0.5 N perchloric acid 용액 3 ml에 현탁시켜 70°C에서 20分間 처리후 遠心分離하여 상등액을 260 nm에서 吸光度를 測定하여 純品 RNA 標準物 質로서 作成한 標準曲線에서 RNA 含量을 定量하였다.

실험결과 및 고찰

1. 糖化條件

鹽酸濃度, 加水分解時間 및 壓力이 각각 다른 糖化條件下에서 切干고구마粉末을 糖化하여 Table 3과 같은 結果를 얻었으며 鹽酸濃度 0.8%, 壓力 2.0 kg/cm², 30分間 加水分解시켰을 때 糖化率이 69.6%로 가장 높았으며 이보다 높은 酸濃度 및

Table 3. Effect of Hydrochloric Acid Concentration Pressure and Time on the Rate of Hydrolysis of Sliced and Dried Sweet Potatoes.

HCl(%)	Time (min)	1.0			1.5			2.0			2.5		
		10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30
0.3		7.9	10.8	16.8	11.6	16.7	24.2	20.8	25.8	38.9	36.2	39.3	53.6
0.5		15.7	22.3	41.6	30.7	33.8	63.0	4.7	53.8	65.2	58.2	64.0	65.9
0.8		27.6	35.2	64.7	49.8	53.6	65.9	59.8	61.8	69.6	60.8	64.7	60.3
1.0		32.4	46.8	65.1	52.6	60.2	67.2	62.1	66.2	68.7	61.6	63.2	58.4

壓力에서는 生成된 還元糖이 다시 酸化分解되므로 糖化率이 低下되는 것으로 생각된다.

2. 炭素源으로서의 糖化液選定

菌體生育 最適 糖化液을 選定하기 위하여 糖化率이 가장 良好한 壓力條件 즉 2.0 kg/cm²에서 酸濃度 및 加水分解時間을 달리하여 얻은 糖化液 50 ml 에 基本培地를 添加하고 培養試驗한 結果, 0.5 % 鹽酸으로 20分 加水分解한 糖化液을 使用하였을때 RNA 含量이 가장 높았다(Table 4).

Table 4. Effect of HCl Hydrolysis Conditions on the RNA Content of *Cryptococcus laurentii*

Concentration of HCl(%)	Hydrolysis time(min.)		
	10	20	30
0.3			0.85
0.5	1.62	10.8	7.66
0.8	5.75	4.2	3.75
1.0	6.95	3.8	2.62

Hydrolyzed under 2.0 kg/cm² pressure, RNA content (%) (after 48 hrs. incubation at 30°C with reciprocal shaker).

3. RNA 抽出 定量法 및 標準曲線

Sanlin 等¹⁴⁾의 RNA 抽出 定量法의 적용유무를 위해 Dried yeast(朝興化學製品), Wet yeast(천호물산제품)를 각각 Webb 法(PBPH 法)^{11, 15, 16)}, Mejbaum 法(Orcinol 法), Sanlin 法 等¹⁴⁾의 간편법에 의해 RNA 含量을 定量한 結果 Table 5와 같은 結果를 얻어 Ranlin 等의 간편법에 의해 純品 RNA 를 濃度別로 定量하여 Fig. 1과 같은 標準曲線을 얻었다.

Table 5. RNA Content in Yeast by Various Determination Methods.

Method	RNA content of dried yeast (%)	RNA content of wet yeast (%)
Webb's method	4.813	1.096
Mejbaum's method	4.798	1.112
Sanlin's method	4.806	1.110

4. 選定菌株

각종 酵母를 基本培地에 30°C, 24 時間 培養한

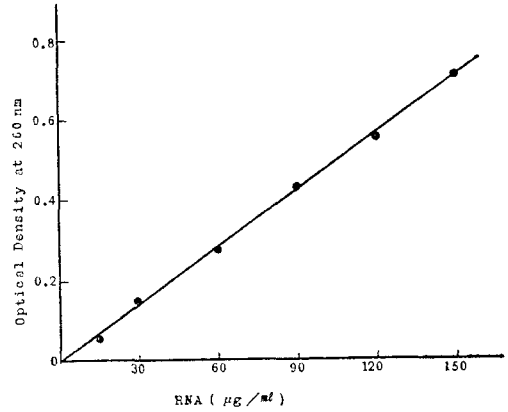


Fig. 1. Standard curve obtained by the Sanlin method is showing the relationship between optical density and amount of RNA. Each point represents the mean of five determinations. Standard pure RNA from yeast was obtained from SIGMA Chem. Co.

결과 Table 6과 같은 結果를 얻었다. 使用한 酵母의 RNA 含量範圍는 1.8~10.1 %였으며 그중 *Cryptococcus laurentii*는 10.1 %로 가장 높았다. 또 *Cr-*

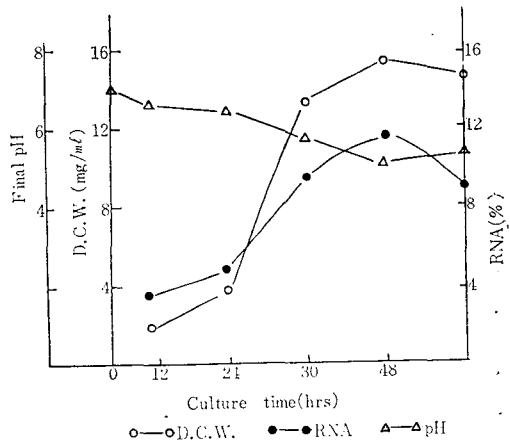


Fig. 2. Time Course of Production of RNA during the Growth of *Cryptococcus laurentii*.

RNA content was determined by Sanlin method and dry cell weight was measured drying at 105°C for 10-12 hours.

The temperature was maintained at 30°C and initial pH was 7.0 on a reciprocal shaker during the cultivation.

Table 6. Screening Test of Various Yeasts.

Strains	Yield of dry cells (mg/ml)	RNA (%)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8.32	4.6
<i>Brenneriyehefe rasse 2</i>	6.33	3.8
<i>Candida guilliermondii</i>	13.32	3.2
<i>Candida lipolytica</i>	7.42	5.6
<i>Candida macedoniensis</i>	8.66	4.9
<i>Candida tenuis</i>	3.0	7.9
<i>Candida utilis</i>	13.6	4.2
<i>Debariomyces hansenii</i>	9.1	6.0
<i>Debariomyces japonicus</i>	8.0	3.82
<i>Endomyces lindneri</i>	8.6	7.2
<i>Cryptococcus laurentii</i>	8.9	10.1
<i>Hansenula anomala</i>	7.0	6.9
<i>Saccharomycodes ludwigii</i>	3.67	4.6
<i>Saccharomycodes occidentalis</i>	8.3	4.0
<i>Sporobolomyces odorus</i>	4.4	7.4
<i>Pichia orientalis</i>	4.3	1.8
<i>Pichia polymorpha</i>	13.3	3.4
<i>Sporobolomyces salmonicolor var. polymyxa</i>	3.0	5.4
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	2.3	5.2
<i>Tolulopsis aeria</i>	5.0	3.6
<i>Tolulopsis candida</i>	2.3	3.4
<i>Tolulopsis famata</i>	10.3	8.4
<i>Tolulopsis globosa</i>	3.3	6.2
<i>Tolulopsis ruba var. alpha</i>	8.3	4.1
<i>Trichosporon behrendii</i>	5.0	3.2
<i>Rhodotorula ruba</i>	7.0	3.8

Each yeast was inoculated in 50 ml of basal medium in 500 ml flask and cultivated at 30°C by reciprocal shaking for 24 hrs.

*Cryptococcus laurentii*의 RNA 함량은 對數期에서急增하였으며 48時間以後에는 減少하는 경향을 보였다. 이는 Chagen⁽¹⁷⁾, Ogata와 Imida 등⁽¹⁸⁾이 RNA 함량은 平均世代 기간의 逆數 即 增殖速度와 正比例하여 對數期 初期에 RNA 함량이 最大增加를 보인다고 보고한 것과 일치하였다. 또 *Cryptococcus laurentii*의 건조균체량도 시간의 경과에 따라 증가하며 48時間 前後에서 最大値를 나타내었다(Fig. 2).

5. 選定菌株의 培養條件 및 添加效果 檢討

(1) 最適 pH 檢討

初期 pH를 각각 달리한 基本培地에 選定菌株를 接種하여 30°C에서 48時間 培養한 결과(Fig.

3) 初期 pH가 6.0일때 가장 양호한 결과를 나타내었다. 初期 pH 4이하와 8이상에서는 菌의 生育이 저하하였으며 pH 5~7에서는 비교적 양호한 결과를 보였다.

(2) 最適培養時間 檢討

初期 pH를 6.0으로한 基本培地에 選定菌株를 接種하고 30°C에서 經時變化에 따른 RNA 함량을 檢討한 결과(Fig. 4) 48時間 培養한 것이 가장 양호하였으며 12時間에서 36時間까지 急增하여 48時間 培養以後에는 점차 減少하는 경향을 나타내었다.

(3) 각종 窒素源의 影響

窒素源을 제외한 基本培地에 各種 窒素源을 일정 濃度別로 添加하여 RNA 함량을 檢討한 結果 無機能 窒素源으로는 $(NH_4)_2PO_4$, $(NH_4)_2SO_4$ 가 最

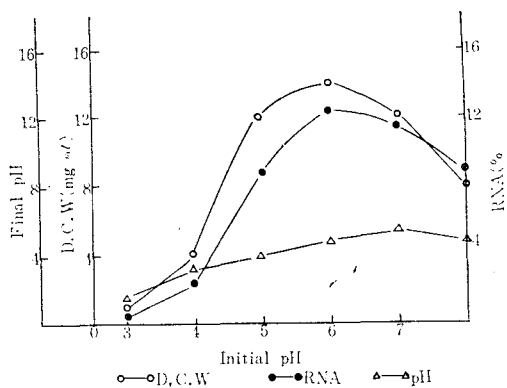


Fig. 3. Effect of Initial pH on the Content of RNA.

The temperature was maintained at 30° C and cultivated on a reciprocal shaker.

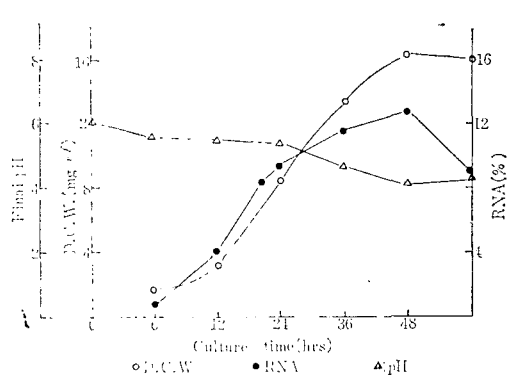


Fig. 4. Effect of Culture Time on the Content of RNA and Dry Cell Weight.

Conditions as for Fig. 2

Table 7. Effect of Nitrogen Sources in the Culture Media.

Nitrogen Sources	D. C. W (mg/ml)	Final pH	RNA %	RNA per culture medium (mg/ml)
(NH ₄) ₂ SO ₄	11.0	5.11	8.75	0.96
NH ₄ NO ₃	5.6	5.34	5.84	0.33
KNO ₃	3.2	5.50	3.68	0.12
NaNO ₃	7.6	5.70	5.45	0.41
NH ₄ Cl	7.3	5.77	3.51	0.26
(NH ₄) ₂ HPO ₄	11.0	5.02	8.36	0.92
Casamino acid	9.6	5.20	7.48	0.72
Peptone	12.3	5.48	8.33	1.02
Malt ex.	14.6	5.69	6.20	0.29
Yeast ex.	15.0	5.52	8.68	1.30
C. S. L	7.2	5.97	6.46	0.47
Asparagine	6.8	5.36	3.49	0.24

1.5% of nitrogen source was added to the basal medium for *Cr. laurentii*.

Cultivation: 30°C, 48 hours, initial pH 6.0, reciprocal shaking.

DCW: Dried cell weight.

Table 8. Effect of Ammonium Sulfate.

Concentration of ammonium sulfate (%)	D. C. W (mg/ml)	Final pH	RNA %	RNA per culture medium (mg/ml)
0	4.7	5.81	4.2	0.19
0.2	5.8	5.62	8.6	0.50
0.4	7.9	5.62	10.1	0.80
0.6	9.6	5.56	9.3	0.89
0.8	7.7	5.42	8.7	0.67
1.0	8.4	5.46	8.4	0.71
2.0	3.7	5.48	5.2	0.20

Table 9. Effects of Nitrogen Sources in the Culture Media.

Combination of nitrogen sources	D. C. W. (mg/ml)	Final pH	RNA %	RNA per culture medium (mg/ml)
(NH ₄) ₂ SO ₄ 0.5% Casaminoacid 1.5%	6.3	5.60	8.9	0.56
(NH ₄) ₂ SO ₄ 0.5% Peptone 0.5%	4.7	5.58	9.7	0.46
(NH ₄) ₂ SO ₄ 0.5% Meat extract 1.5%	5.3	5.66	7.6	0.40
(NH ₄) ₂ SO ₄ 0.5% Yest extract 1.5%	8.7	5.63	10.1	0.88
Petone 0.6% Yeast extract 0.6%	6.0	5.62	13.1	0.79
Peptone 0.6% Meat extract 0.6%	9.6	5.65	11.6	1.11
Meat extract 0.6% Yeast extract 0.6%	5.2	5.68	10.8	0.56
Casamino acid 0.6% Peptone 0.6%	6.5	5.61	8.6	0.56
Casamino acid 0.6% Meat extract 0.6%	5.8	5.61	7.5	0.44
Casamion acid 0.6% Yeast extract 0.6%	7.1	5.65	8.9	0.63

은 結果를 보였으며 (NH₄)₂SO₄가 가장 양호한 결과를 보였으며 有機能 窒素源으로는 peptone, yeast extract가 양호한 결과를 보였다(Table 7). (NH₄)₂SO₄의 最適濃度는 0.4%였으며(Table 8) yeast extract와 peptone을 混合한 것이 가장 양호하였다(Table 9). 또 peptone, yeast extract의 最適濃도를 검토하기 위해 peptone 0.6%로 固定했을 때 yeast extract의 最適濃도는 0.4%, yeast extract 0.4% 固定했을 때 peptone의 最適濃度は 0.6%였다(Table 10, 11).

Table 10. Effect of Yeast Extract Concentration.

Yeast extract (%)	D. C. W. (mg/ml)	Final pH	RNA %	RNA per culture medium (mg/ml)
Basal medium	12.0	6.30	10.2	1.22
0	11.0	5.59	7.3	0.80
0.2	13.3	5.63	5.4	0.72
0.4	14.1	5.44	15.7	2.21
0.6	15.0	5.52	5.3	0.80
0.8	14.0	5.46	5.9	0.83
1.0	14.2	5.52	8.7	1.24

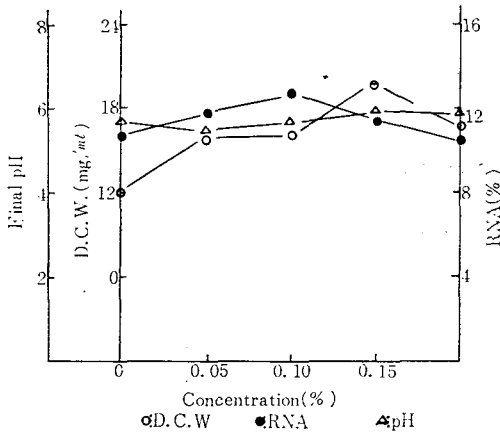


Fig. 5. Effect of Concentration of Mn²⁺.
Conditions as for Fig. 2. except pH 6.0

Table 11. Effect of Peptone Concentration.

Peptone (%)	D. C. W. (mg/ml)	Final pH	RNA %	RNA per Culture Medium (mg/ml)
Basal Medium	8.2	6.28	11.3	0.93
0	7.0	5.41	5.77	0.40
0.3	11.0	5.32	7.17	0.79
0.6	14.4	5.33	12.31	1.77
1.0	13.2	5.37	9.28	1.22
1.5	11.0	5.23	9.92	1.09
2.0	10.1	5.20	9.21	0.98

(4) 磷酸鹽 添加效果

磷酸鹽을 添加하여 RNA 含量을 增加시키기 위하여 KH₂PO₄를 각 濃度別로 添加한 결과 KH₂PO₄

Table 12. Effect of KH_2PO_4 Concentration.

Concentration of KH_2PO_4 (%)	D. C. W. (mg/ml)	Final PH	RNA (%)	RNA per culture medium (mg/ml)
0	10.7	4.1	8.2	0.88
0.05	11.8	4.0	10.0	1.18
0.1	10.9	4.0	9.3	1.01
0.15	10.2	4.2	9.4	0.96
0.2	9.6	4.0	9.0	0.86
0.4	9.4	4.1	9.4	0.70

Table 13. Effect of Metal Ions in the Culture Media.

Metal ions	Yield of D. C. W. (mg/ml)	Final pH	RNA (%)	RNA per culture medium (mg/ml)
None	11.0	5.36	10.5	1.16
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	18.2	5.19	9.37	1.70
ZnSO_4	17.0	5.24	10.2	1.73
MnSO_4	11.7	5.23	15.5	1.81
KCl	14.7	5.34	12.3	1.78
NaCl	12.1	5.30	10.5	1.27
CaCl_2	14.0	5.24	9.5	1.33
CaCO_2	10.2	6.79	10.3	1.05
CuSO_4	2.1	4.94	6.7	0.14
FeSO_4	15.2	5.06	11.0	1.70
CoCl_2	7.0	5.03	13.6	0.95

를 0.05 % 添加時 最大 RNA 含量 增加를 나타내었다 (Table 12).

(5) 각종 金屬이온의 影響

金屬이온을 제거한 基本培地에 각종 金屬鹽을 添加하여 RNA 含量의 增加效果를 檢討한 결과 (Table 13) Mn^{2+} , K^+ , CO^{2+} 를 添加하였을 때 대체로 좋은 결과를 보였으며 특히 Mn^{2+} , CO^{2+} 의 效果가 좋았으며 Cu^{2+} 은 阻害效果를 나타내었다. RNA 含量增加를 나타낸 Mn^{2+} , CO^{2+} 의 濃度別 效果를 검토한 결과 Mn^{2+} 은 0.1 % (Fig. 5), CO^{2+} 은 0.001 % (Fig. 6)일때 가장 좋은 결과를 보였다.

(6) 각종 vitamin 要求性 檢討

糖化液에 窒素源으로 casamino acid 0.5 %, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.4 % 添加하고 각종 vitamin 을 단독 첨가 또는 一種씩 제거한 vitamin 混合液을 對照區로 하여 添加하여 30°C, 48時間 培養하여 檢討한 결과 Ca-pantothenate 를 제외한 비타민 혼합액을 첨가했을때 가장 저조한 결과 (Table 14)를 보였으

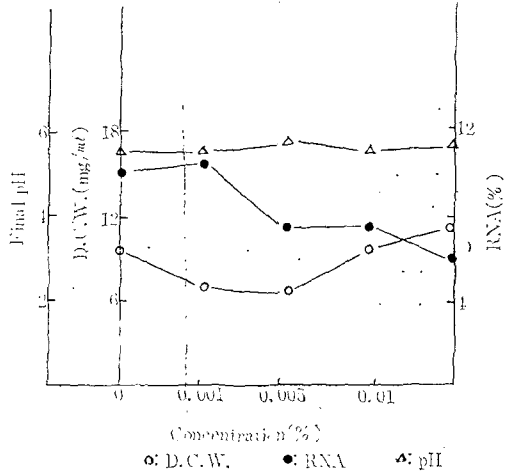


Fig. 6. Effect of Concentration of CO^{2+} . Conditions as for Fig. 2. except pH 6.0

며 반면에 Ca-pantothenate 400 $\mu\text{g/l}$ 를 添加하였을 때 가장 양호한 결과 (Table 15, Fig. 7)를 보였으며 기타 vitamin 은 비슷한 결과를 나타내었다.

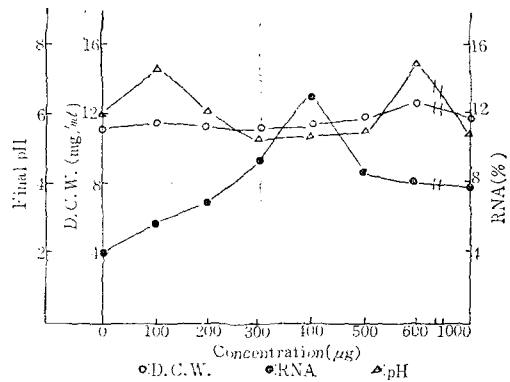


Fig. 7. Effect of Concentration of Ca-pantothenate on the Content of RNA. Conditions as for Fig. 2.

鈴木⁽¹⁹⁾, 小口 등⁽²⁰⁾도 酵母生産에 있어서 Ca-pantothenate 要求性を 강조하였으며 高橋^(21, 22) 등은 窒素源으로서 casein hydrolyzate 를 사용한 경우 Ca-pantothenate 의 顯저한 發育促進效果는 L-histidine 과 같은 특정 amno acid 에 의한 酵母生育저해에 비하여 Ca-pantothenate 가 회복效果를 나타내기 때문이라고 보고한바 있다.

(7) 通氣量 및 菌接種量의 影響

通氣量의 影響을 檢討하기 위해 일정용량의 500

Table 14. Effect of Various Vitamins Added to the Basal Medium Supplemented with Casamino Acid as Nitrogen Source.

Vitamins	Yield of D. C. W. (mg/ml)	Final pH	RNA (%)	RNA per culture medium (mg/ml)
Thiamine	5.2	5.76	6.26	0.32
Riboflavin	5.8	5.86	5.86	0.34
Pyridoxine	6.3	5.82	6.23	0.39
Biotin	11.2	5.79	7.47	0.84
Ca-pantothenate	13.0	6.41	10.65	1.38
Nicotinic acid	13.2	5.77	6.42	0.85
p-Amino benzoic acid	7.0	5.86	5.28	0.37
Folic acid	4.7	5.84	6.76	0.32
Inositol	5.7	5.85	6.25	0.36
All was involved	12.9	5.72	14.47	1.87

Table 15. Effect of Depletion Vitamin from Complete Medium Supplemented with Casamino Acid as Nitrogen Sources.

Vitamins	Added volume ($\mu\text{g/l}$)	Yield of D. C. W. (mg/ml)	Final pH	RNA (%)	RNA per culture medium (mg/ml)
Thiamine	500	10.9	6.31	11.65	1.27
Riboflavin	500	9.8	5.55	14.12	1.38
Pyridoxine	500	9.6	6.04	11.37	1.09
Biotin	5	7.2	6.72	14.30	1.02
Ca-pantothenate	500	8.7	5.41	6.80	0.59
Nicotinic acid	500	8.9	5.45	12.20	1.08
p-Amino benzoic acid	50	14.2	5.26	12.90	1.83
Folic acid	5	11.4	5.65	12.90	1.47
Inositol	25,000	7.8	6.26	11.20	0.87
All		4.8	7.22	6.60	0.32

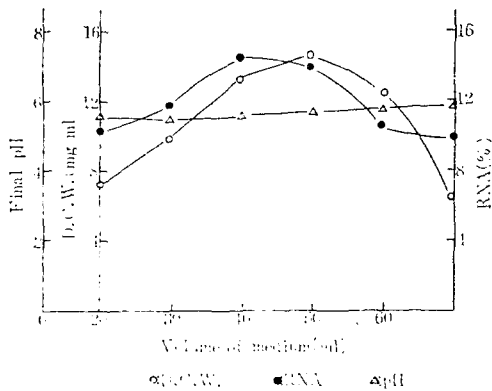


Fig. 8 Effect of Volume of Medium on the Content of RNA.

Conditions as for Fig. 2.

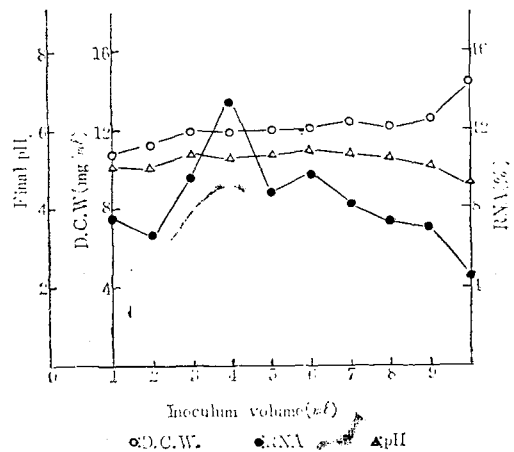


Fig. 9. Effect of Inoculum Volume on the Content of RNA (Amount of Inoculum: 10^6 ml).

Table 16. Comparison of Final Medium with Basal Medium.

Medium	Yield of D. C. W. (mg/ml)	Initial pH	RNA (%)	RNA per culture medium (mg/ml)
Basal	16.3	7.0	12.9	2.10
Final	17.9	6.0	16.8	3.00
Basal medium		Final medium		
Casamino acid	0.5%	(NH ₄) ₂ SO ₄		0.4%
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5%	Yeast ex.		0.4%
KH ₂ PO ₄	0.05%	Peptone		0.6%
MnSO ₄	0.05%	KH ₂ PO ₄		0.05%
MgSO ₄	0.04%	MnSO ₄		0.1%
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.01%	CoCl ₂		0.001%
Potassium citrate	0.5%	Ca-pantothenate		400g
Citric acid	0.1%	Potassium citrate		0.5%
Aeration volume	50ml	Citric acid		0.1%
Hydrolyzated	1000ml	Aeration volume		40ml
Initial pH	7.0	Hydrolyzated		1000ml
		Initial pH		6.0

Each yeast was cultivated at 30°C, 48 hrs on a reciprocal shaker.

ml 진탕배양 플라스크에培地량을 각각 20 ml, 30 ml, 40 ml, 50 ml, 60 ml, 80 ml씩 分注하여 진탕배양한후 RNA 함량을 定量한 결과 40 ml 添加했을 때 가장 양호하였다(Fig. 8).

또한 菌接種量(10⁶/ml)이 RNA 함수에 미치는 影響을 검토한 결과 3~6 ml 일때 좋은 결과를 보였으며 4 ml 일때 최대를 나타내었다(Fig. 9).

(8) 基本培地와 最終培地 檢討

基本培地와 最終培地에서의 RNA 함수를 비교한 결과 30.2 %의 含量증가를 보였다(Table 16). 일반적으로 酵母 RNA 함량은 2~10 %이나 切干고구마 糖化液을 炭素源으로 使用한 最終培地에서의 RNA 함수는 16.8 %였다.

요 약

切干고구마 糖化液을 炭素源으로하여 RNA 를 多量 축적하는 酵母를 選定한 결과 *Cryptococcus laurentii* 가 가장 높은 菌體量 및 RNA 量を 나타내었다. 이 選定 菌株에 對한 培養條件을 檢討한 결과 最適 pH 6.0, 30°C, 48 시간 振기 진탕배양 하였을 때 가장 좋은 결과를 얻었다. 이러한 條件下에서 培地組成을 變化시켜 RNA 含量과 菌體增殖量을 檢討한 결과 (NH₄)₂SO₄ 0.4 %, peptone 0.6 %, yeast extract 0.4 %가 炭素源으로 좋은 結

果를 보였으며 KH₂PO₄의 最適濃度는 0.5 %, Mn⁺⁺은 0.1 %, Co⁺⁺은 0.001 %를 나타내었다. 또 비타민 要求性 檢討에서 Ca-pantothenate를 400 μg/l 添加하였을 때 가장 좋은 效果를 얻었으며 基本培地の 培養條件을 檢討하여 얻은 最終培地를 比較해 본 결과 酵母 菌體當 RNA 含量이 12.9 %~16.8 %로 增加하였다.

참고 문헌

- 1) Dawson, P. R., Greathouse, L. H. and Gordon, W. O.: Yearbook of Agriculture, 199. Washington D. C., U. S. Government Printing office (1950-1961).
- 2) Weaver, E. A., Heisler, E. G., Porges, N., McClennan, M. S., Tready, R. H., Howerton, W. W. and Cordon, T. C.: Eastern Regional Research Lab., AIC-350 (1953).
- 3) Klatt, T. J., Parker, E. D., Pomes, A. F. and Porges, N.: Oil and Soap, 22, 319 (1945).
- 4) Porges, N., Pepinsky, J. B., and Jasewicz, L.: Dairy Science, 34, 615 (1951).
- 5) Sung, N. K. M. C. Kim and Shim. K. H.: Korean J. Appl. Micro. Bioeng., 4, 51 (19

- 76).
- 6) Oh, D.H.R. Yang and Yu. J.H. : Korean J. Appl. Micro. Bioeng., **4**, 71 (1976).
 - 7) Bae. M., A. S. Yoon and Kim. B.H. : Korean J. Appl. Micro. Bioeng., **1**, 13 (1973).
 - 8) Yang, H.C.Y.J. Choi and Kim. J.W. : Korean J. Appl. Micro. Bioeng., **3**, 147 (1975).
 - 9) Yang, H.C., Y.J. Choi and Sung. H.J. : Korean J. Appl. Bioeng., **2**, 95 (1974).
 - 10) Yang, H.C., Y.J. Choi, H.W. Yang and Sung. H.J. : Korean J. Appl. Micro Bioeng., **5**, 7 (1975).
 - 11) Park, K.Y., J.C. Lee, H.Y. Cho and Yang. H.C. : Korean J. Appl. Micro. Bioeng., **5**, 79 (1977).
 - 12) 東京大學 農學部 農藝化學教室編, 實驗農藝化學, 上卷, 112 (1967).
 - 13) Association of official Analytical Chemists 1970, *Methods of Analysis of A. O. A. C.* 11th. Ed., Association of official Agricultural Chemistry Washington. D. C.
 - 14) Miwa, H., S. Yamanaka and K. Takinami: J. Ferment. Technol. **56**, 9 (1978).
 - 15) Webb, J.M. : J. Biol. Chem., **230**, 1023 (1958).
 - 16) Webb, J.M. and Levy, H.B. : New Development in the Chemical Analysis (D. Glick, Ed.), N.Y., Interscience, **6**, 1 (1958).
 - 17) Chayen R., Chayen, S. and Robert, E.R. : Biochem. Biophys. Acta. **15**, 117 (1955).
 - 18) Ogata, K. and Imida A. : Annual Report of Dakeda Institute, Japan, **21**, 31 (1962).
 - 19) Yahiko Suzuki: J. Agr. Chem. Soc. **35**, 7 (1961).
 - 20) Tatsuro Yamaguchi: J. Agr. Chem. Soc. **33**, 7 (1959).
 - 21) Mashiro Takahashi: J. Agr. Chem. Soc. **28**, 5 (1954).
 - 22) Mashiro Takahashi: J. Agr. Chem. Soc. **30**, 3 (1956).