

두부 폐수를 이용한 효모 배양

鄭基澤·宋亨翼*

慶北大學校 農科大學, *慶北大學校 大學院

(1981년 2월 17일 수리)

Yeast Production from Soybean Curd Waste Water

Ki Taek Chung and Hyoung Ik Song*

College of Agriculture, Kyungpook National University, Daegu 635,

*Graduate School, Kyungpook National University, Daegu 635

(Received February 17, 1981)

Abstract

As a primary study for SCP production from soybean curd waste water, selection of yeast and optimum cultivation condition of selected yeast on soybean curd waste water were investigated.

Eighteen strains of the genus *Candida* and *Saccharomyces* were tested to compare their abilities to grow on soybean curd waste water. *Candida utilis* YUFE 1508 and *Candida guilliermondii* KFCC 35120 grew most successfully. Optimum pH and optimum temperature of the basal medium for growth of the two strains were 6.0~6.5 and 25°C, respectively.

The optimum culture medium of the two yeasts was soybean curd waste water supplemented with molasses 2.5% (as total sugar), ammonium acetate 0.1-0.3% (as nitrogen), KH_2PO_4 0.1-0.2% (as phosphorus), and K_2HPO_4 0.05% (as phosphorus). But yeast growth was not affected by metal salts.

Under the optimum cultivation condition, the maximum cell weights of *Candida utilis* YUFE 1508 and *Candida guilliermondii* KFCC 35120 were 1.313 g and 1.322 g/100ml of culture broth respectively after 48 hr of cultivation. The cell yields of *Candida utilis* YUFE 1508 and *Candida guilliermondii* KFCC 35120 were 68.4% and 74.2%, respectively, based on utilized sugar. On the other hand, crude protein of dry yeast produced by *Candida utilis* YUFE 1508 and *Candida guilliermondii* KFCC 35120 under optimum condition was 54.0% and 56.8%, respectively.

序 論

人口가 급증함에 따라서 不足되는 단백질자원을 보충하여 食糧문제를 해결하기 위한 努力의 일환으로 微生物菌體를 利用하려는 시도는 제 1차 대전중 獨逸에

서 시작되어 *Saccharomyces cerevisiae*가 利用되게 되었으며 제 2차 대전중에는 *Candida utilis*를 利用하여 그 生産량이 年間 15000톤에 이르렀다고 한다^(1,2). 그러나 그 당시는 여러가지 事情으로 實用化되지 못하다가 1968년과 1973년 두차례에 걸쳐 미국 MIT에서 開催된 국제 single cell protein conference를 계기로

이 논문은 1980년도 문교부 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

이때까지 研究되어 온 有用微生物의 증식, 醱酵기술과 영양학적인 研究가 集大成되었으며⁽³⁾ 현재 사료용 효모는 완전 實用化 단계에 들어가 있다.

食品으로서의 SCP의 利用性을 보면 價格문제는 덜어두고서라도 菌體 自體의 有用성 여부, 有害物質 혼입 여부, 구성成分의 安全性 문제, 痛風과 腎臟결석의 원인으로 알려져 있는 높은 RNA含量등이 완전 해결되지 않고 있어 직접 食品으로서의 利用 가능성은 아직 미지수이지만 일부는 이용되고 있으며 앞으로의 利用이 기대된다⁽⁴⁾.

SCP生産을 위한 발효基質의 변천을 보면⁽⁵⁾ 1950年代와 1960年代 초반까지는 단산가스와 태양광선을 利用한 algae의 大量培養에 관심이 集中되었으나 日照시간의 차이에 따른 지역적인 國産성과 加工 및 生産費의 과다 등으로 실용화 되지 못했으며 이어 當밀, 아황산 펄프폐액등을 利用한 효모 배양이 주종을 이루게 되었다. 한편, 1960年代 중반부터는 메탄, 알칸, 케로신, 에탄올, 메탄올 등이 낮은 가격과 풍부한 生産量때문에 SCP生産의 주역으로 등장하게 되었으나 1973년의 석유파동과 더불어 다른 기질로의 전환이 모색되었다. 이때부터 별로 利用되지 않고 있던 whey 및 낙농폐액, 목재당화액, 양조폐액, 통조림공장 폐액 등의 農産폐기물에 초점이 모아지고 있으며 1979년부터 불어닥친 제 2차 석유波動은 原料사정을 더욱 어렵게 만들고 있다.

酵母生産의 기질로서는 여러가지가 있지만 Ratledge⁽⁶⁾는 醱酵基質이 갖추어야 할 條件을 세가지로 要約하고 있다. 年中 쉽게 구할 수 있고 安定하여 오래 貯藏할 수 있으며 발효가 용이해야 하며 價格이 저렴하고 利用 가능한 탄소수가 많아야 한다는 것이다. 실제 이런 條件에 합당한 원료란 存在하지 않으므로 얼마만큼 이 조건에 接近하느냐가 問題인 셈이다.

菌體단백질 生産에는 algae, 곰팡이, 세균, 효모 등이 基質과 培養條件에 따라 利用되고 있지만 실제 널리 利用되고 있는 것은 酵母이다. 효모를 이용한 SCP生産에 관한 研究를 基質 中心으로 살펴보면 메탄올⁽⁷⁻¹¹⁾, 에탄올^(12,13), sec-부탄올^(14,15), 아세테이트⁽¹⁶⁾, n-알칸⁽¹⁷⁻²³⁾, 타피오카 전분폐액⁽²⁴⁾, 옥수수전분폐액⁽²⁵⁾, 아황산펄프폐액⁽²⁶⁾, 釀造폐액⁽²⁷⁾, whey 및 낙농폐액⁽²⁸⁾, 糖 및 澱粉⁽²⁹⁾등을 대상으로 다수의 연구가 있으며 일부는 거의 工業化 되어 大量 生産되고 있다.

한편, 國內에서도 1970年頭부터 본격적인 연구가 시작되어 효모를 대상으로 한 것만 해도 석유탄화수소⁽³⁰⁻³⁷⁾, 메탄올⁽³⁸⁾, 주조폐액⁽³⁹⁻⁴¹⁾, 고구마 전분박⁽⁴²⁾, 톱밥 및 폐 신문지^(43,44), 미강 및 거머리말⁽⁴⁵⁾등을 기질로 한 다수의 연구가 있다.

著者등은 農産폐기물을 利用한 효모生産을 目的으로 全國에 散在해 있는 두부공장에서 放流되고 있는 두부폐수의 利用性을 검토하였다. 두부폐수의 微生物學的 연구에 관해서는 朴等⁽⁴⁶⁾에 의해 産業廢水처리 측면에서 일부 검토되어 있을 뿐 거의 찾아볼 수 없는 실정이며 또한 두부폐수내에는 大豆단백질 총량의 약 9%에 해당하는 단백질을 含有하고 있어⁽⁴⁷⁾ 효모의 生育에 필요한 질소원과 무기성분이 풍부하고 효모의 生育에 가장 적합한 PH域을 가진 點 등으로 미루어 탄소원만 보충한다면 效果的인 효모菌體生産의 基本培地로 利用될 수 있으리라 사료되므로 이에 대한 기초 研究로 두부폐수를 利用하는 有用효모의 檢索과 培養條件을 검토하였다.

材料 및 方法

두부 폐수

시료인 두부폐수는 대구시 비산동 所在 경북연식음협동조합 제 3 공장에서 채취 사용하였으며 여과후의 一般成分은 Table 1과 같다.

Table 1. General composition of soybean curd waste water

Total sugar (as glucose)%	0.18
Crude protein %	0.39
pH	5.8
Specific gravity(15°C)	1.0116

供試菌株 및 基本培地 조성

경북대학교 식품가공학과 발효학연구실에 保存중인 *Candida*屬 17종과 *Saccharomyces*屬 1종을 공시균주로 하여 이 가운데 두부폐수 利用性이 가장 우수한 *Candida utilis* YUFE 1508과 *Candida guilliermondii* KFCC 35120을 전 실험을 통하여 使用하였다. 또한 基本배지는 신선한 두부폐수를 그대로 여과, 살균하여 사용하였다.

菌의 培養

必要에 따라 여러가지로 조정한 두부폐수를 500 ml 진탕플라스크에 100 ml씩 넣고 1 kg/cm², 15분간 殺菌하여 냉각한 다음 맥아즙 한천사면배지에 30°C, 48시간 배양한 保存菌株를 1白金耳씩 접종하여 25°C에서 왕복 진탕배양(120 strokes/min, 진폭 7 cm)했으며, 生育곡선 作成 및 균체수를 측정실험에서는 菌體물 生理食鹽水에 적당히 희석하여 10⁶ cells/ml 정도의 菌濃度가 되도록 하여 1 ml씩 접종하였다.

菌의 生育度 측정

日本 Shimadzu製 spectrophotometer(Model, UV-100-01)를 사용하여 660 nm에서 배양액의 OD를 측정하고 이 값에서 초기 OD를 공제한 값을 생육도로 나타내었다. 한편 생육곡선 작성과菌體수를 측정 실험에서는 배양액을 원심분리기(Model, Beckman J2-21)로 10000 rpm에서 10분간 원심분리하고 균체를生理食鹽수로 2회, 증류수로 1회 세척한 다음 재차 원심분리하여 105°C에서 18시간 건조시켜 건조균체량으로 나타내었다.

成分分析

조단백질은 micro Kjeldahl법⁽⁴⁸⁾과 Biuret법^(49,50)을併用해서 定量하였으며 全糖은 염산으로 加水分解후 Lane-Eynon법⁽⁵¹⁾으로 정량하였다. pH, 비중, 효모수 등은 一般法에 準했다.

試 藥

당밀은 타일란드産을 大邱市 所在 豊國酒精株式會社에서 분양받아 사용하였고 표준단백질은 bovine serum

Table 2. Selection of yeast strain

		Growth (OD at 660 nm)	Final pH
<i>Candida</i> sp.	YUFE 1501	10.5	6.9
<i>C. guilliermondii</i>	YUFE 1502	9.0	7.1
<i>C. krusei</i>	YUFE 1503	1.3	6.4
<i>Candida</i> sp.	YUFE 1504	4.0	6.5
<i>C. pseudotropicalis</i>	YUFE 1505	7.8	7.1
<i>C. utilis</i>	YUFE 1506	9.8	7.2
<i>C. utilis</i>	YUFE 1507	10.1	7.3
<i>C. utilis</i>	YUFE 1508	15.6	7.1
<i>C. utilis</i>	YUFE 1532	9.1	6.9
<i>C. utilis</i>	NCYC 0359	9.5	7.0
<i>C. utilis</i>	0396	4.3	7.0
<i>C. tropicalis</i>	IFO 0589	10.5	7.3
<i>C. tropicalis</i>	KFCC 35117	5.5	7.0
<i>C. pseudotropicalis</i>	KFCC 35118	2.0	6.3
<i>C. guilliermondii</i>	KFCC 35120	14.9	6.4
<i>C. krusei</i>	KFCC 35121	2.3	6.3
<i>C. albicans</i>	KFCC 35123	5.0	5.4
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		4.1	5.4

Soybean curd waste water (pH 5.8) sterilized at 1 kg/cm² for 15 min was fermented by each strain on a reciprocal shaker at 25°C for 24 hr.

albumin(東京化成工業株式會社 製品)을, yeast extract는 미국 BBL 製品을 各各 使用하였으며 기타 일반시약은 1급품을 구입 사용했다.

結果 및 考察

우량효모 선별

Table 1과 같은 조성의 두부폐수를 121°C, 15分 殺菌후 냉각하고 供試菌株 *Candida*屬 17種과 *Saccharomyces*屬 1種 모두 18種을 1白金耳씩 접종하였다. 이를 25°C에서 24시간 진탕배양하여 菌의 생육도와 pH를 측정하여 Table 2에 나타내었다.

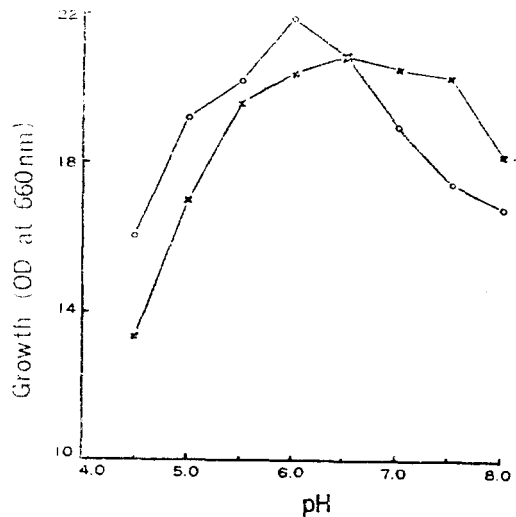


Fig. 1. Effect of initial pH of medium on growth of *C. utilis* YUFE 1508 and *C. guilliermondii* KFCC 35120 (at 25°C for 24 hr)

o-o-o; *C. utilis*, x-x-x; *C. guilliermondii*

그 결과, *Candida utilis* YUFE 1508과 *Candida guilliermondii* KFCC 35120이 다른 菌株보다 월등히 생육이 좋았다. 또한 pH는 菌의 생육과 더불어 대체로 증가하는 경향이였다. 따라서 이 두균주가 두부폐수를 가장 잘 利用하는 것으로 생각되어 以下の 실험에서는 이 두효모를 使用하였다.

菌의 생육에 미치는 초기 pH의 영향

培地の pH를 4.5~8.0범위내의 각 pH로 조절한 다음 *C. utilis*와 *C. guilliermondii*를 各各 培養하여 두 공시효모의 생육에 미치는 초기 pH의 영향을 檢討하였다. 그 結果, *C. utilis*는 pH 6.0에서 생육이 가장 良好하였으며 *C. guilliermondii*는 pH 6.0~7.5의 비교적 넓은 pH域을 가진 것으로 나타났다(Fig. 1).

이와같은 최적 pH는 신선한 두부폐수의 pH 5.8과 거의 一致하므로 pH 조절없이도 菌의 배양이 가능한한

알 수 있다. 따라서 以後의 실험에서는 두 菌株 모두 pH 6.0으로 조절하여 배양하였다.

한편, Thanh等⁽²⁴⁾이 타피오카전분배액을 利用 *Candida utilis*를 배양할 때 pH가 4~6이었고 Shannon等⁽²⁷⁾은 양조폐액을 利用한 *Candida steatolytica*배양에서 pH가 5.3이었다고 報告하고 있으며 Romantschuk等⁽²⁵⁾은 아황산염폐액을 利用한 *Candida utilis* 배양에서 pH 4.5~6.0이 가장 좋았다고 했다. 本實驗의 pH 6.0은 알서의 研究와 비교할때 같은 *Candida*屬이면서도 약간 알칼리性으로 기울어진 값임을 알 수 있다.

培養溫도의 영향

두부폐수에서의 菌의 生育에 가장 적합한 溫度를 조사하기 위하여 각 온도에서 24시간 培養한 結果를 Fig. 2에 나타내었다. 그 結果, 두 菌株 모두가 25°C에서 가장 生育이 양호하였으며 30°C와 35°C에서는 약간의 生育감소가 인정되었다. 또한 20°C와 40°C에서는 급

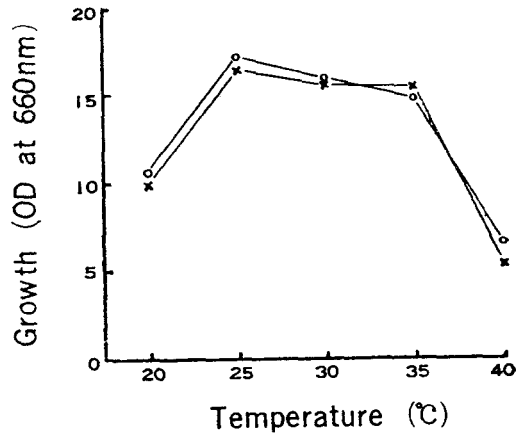


Fig. 2. Effect of temperature on growth of *C. utilis* YUFE 1508 and *C. guilliermondii* KFCC 35120 (pH 6.0 for 24 hr) ○-○ ; *C. utilis*, ×-× ; *C. guilliermondii*

Table 3. Effect of carbon sources on growth of *C. utilis* YUFE 1508 and *C. guilliermondii* KFCC 35120

	<i>C. utilis</i>		<i>C. guilliermondii</i>	
	Growth (OD at 660 nm)	Final pH	Growth (OD at 660 nm)	Final pH
Molasses	40.5	4.8	37.1	4.8
Glucose	28.8	4.4	32.2	4.7
Sucrose	33.1	4.4	35.2	4.7
Lactose	12.2	7.3	10.7	7.1
Glycerol	31.8	6.3	21.1	5.6
Ethanol	26.4	6.6	16.9	4.9
Methanol	12.2	7.0	10.9	6.6
Fumarate-Na	10.4	7.6	9.6	7.4
Acetate-Na	14.5	7.9	12.7	7.5
Citrate-Na	13.1	7.5	10.2	7.3
Tartarate-Na	9.7	7.2	9.1	7.0
None	11.9	7.8	10.8	7.1

Each carbon source was added to soybean curd waste water (pH 5.8) at concentration of 1.0%, but each organic acid was equivalent to 1.0% on a carbon basis. Experimental conditions were in accordance with those of Table 2.

격한 生育의 저하를 가져왔다. 두 菌株의 生育 패턴이 각 溫度에서 거의 一致하므로 最適 生育溫度인 25°C로 以下의 實驗을 실시하였다.

탄소원의 영향

두부폐수의 不足되는 탄소원을 補充하기 위해서는 적절한 탄소원을 선정하여 첨가할 必要가 있다. 먼저 두부폐수에 당류, 알콜류, 유기산류 등 각기 다른 탄소원을 添加하여 25°C, 24시간 培養하여 菌의 生育度

와 pH를 조사하였다(Table 3).

두 菌株의 경우 약간의 차이는 있으나 lactose를 제외하고는 糖類 添加가 대체로 菌의 生育을 뚜렷이 增加시켰으며 글리세롤, 에탄올이 비교적 양호했다. 反面에 유기산류는 아세테이트가 비교적 좋았을 뿐 무침가와 거의 같거나 저해되는 경향을 보였다. 당류중 molasses, glucose 및 sucrose를 비교할 때 molasses 添加가 월등히 生育이 좋았으므로 以下의 실험에서는

탄소원으로 molasses를 사용하였다. 이와같은 결과는 molasses내에 糖 以外の 物質 즉 미생물 生育에 必須의인 비타민, 무기성분 등이 풍부하게 함유되어 있기 때문이라 사료된다⁽⁵²⁾.

한편, 당류 添加로 배양 終了後의 pH가 감소됨을 알 수 있었고 유기산류와 알콜류의 첨가는 대체로 pH가 培養전보다 상승했다.

Molasses 濃度の 영향

탄소원 가운데 가장 生育이 좋았던 molasses를 택하여 두부폐수중의 全糖 含量 變化에 따른 菌生育度를 비교 실험해 본 결과(Fig. 3), 두菌株 모두 두부폐수에 molasses를 전당으로 2.5%되게 첨가했을 때가 가장 양호했으며 그 以上の 濃度에서는 오히려 生育이 억제되었다.

두균주를 비교할 때 *C. guilliermondii*가 *C. utilis*보다 약간 生育이 좋은 경향이였다. 그러므로 탄소원 으로서는 molasses를 첨가하되 두균주 모두 全糖기준

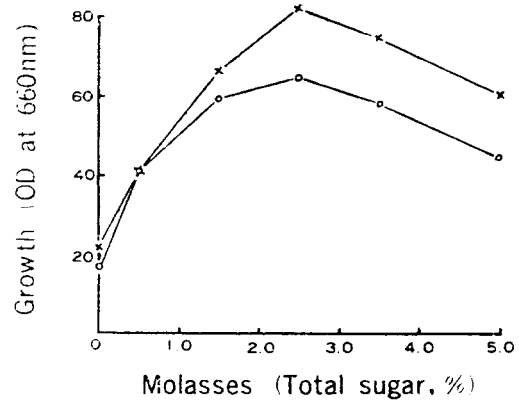


Fig. 3. Effect of molasses concentration on growth of *C. utilis* YUFE 1508 and *C. guilliermondii* KFCC 35120 (at 25°C for 24 hr)
○-○ ; *C. utilis*, ×-× ; *C. guilliermondii*

Table 4. Effect of nitrogen sources on growth of *C. utilis* YUFE 1508 and *C. guilliermondii* KFCC 35120

	<i>C. utilis</i>		<i>C. guilliermondii</i>	
	Growth (OD at 660 nm)	Final pH	Growth (OD at 660 nm)	Final pH
Ammonium acetate	25.2	8.5	25.7	7.9
Ammonium nitrate	14.6	7.5	13.2	7.1
Ammonium oxalate	12.6	7.7	14.0	7.2
Ammonium sulfate	13.9	7.6	13.8	7.2
Ammonium chloride	14.2	7.5	13.1	6.9
Urea	12.0	7.9	11.2	7.4
Peptone	17.6	7.7	14.7	7.4
Yeast extract	16.4	7.7	14.8	7.3
None	11.9	7.8	10.8	7.1

Each organic nitrogen source was added to soybean curd waste water at concentration of 0.1%, but inorganic nitrogen sources were added at concentration of 0.1% on a nitrogen basis.

Cultivation condition was the same as that described in the legend of Table 2 and 2.5% molasses (as total sugar) was added to each medium.

으로 2.5%되게 조절함이 效果的임을 알 수 있었다.

질소원의 영향

Table 1에 나타낸대로 두부 폐용액에는 비교적 다량의 질소를 함유하고 있지만 C/N율을 생각할 때 菌體 生育에는 다소 不足되리라 사료되므로 molasses를 전당으로 2.5%첨가한 두부폐수에 各種 ammonium鹽, urea 등의 무기질소원과 peptone, yeast extract와 같은 유기질소원을 各各 添加하여 25°C에서 24시간 培養 하였다(Table 4).

Table 4에 나타난 바와 같이 두菌株 모두 ammonium acetate 첨가가 질소원중 가장 뚜렷한 균의 生育을

가져왔으며 다음으로 peptone, yeast extract와 같은 유기질소원이 비교적 양호한 편이였다. 일반적으로 微生物은 유기질소원을 무기질소원보다 잘 利用하는 것으로 알려져 있으나 본실험에서는 무기질소원인 ammonium acetate가 월등히 좋았는데 이는 價格面에서 바람직한 결과라 사료된다. 물론 ammonium acetate分子内에는 질소원뿐만아니라 탄소원을 함유하고 있어서 순수한 질소원이라 보기 어려우나 거의 同一한 탄소원을 함유한 ammonium oxalate와 urea를 비교하더라도 ammonium acetate는 역시 우수한 질소원임을 알 수 있었다.

또한 각질소원 添加가 두부폐수 그대로를 배양한 결과보다 모두 우수하므로 두부 폐용액의 培養에는 질소원의 添加가 必要하며 그 가운데서도 ammonium acetate利用이 바람직함을 알 수 있다.

Ammonium acetate 濃度の 영향

*C. utilis*와 *C. guilliermondii*의 生育에 가장 效果的인 질소원 ammonium acetate의 最適濃度를 조사하기 위하여 미리 molasses를 전당으로 2.5%되도록 添加한 두부폐수에 ammonium acetate를 질소로서 0.05~0.5%범위내의 各濃度로 첨가하여 균을 배양하였다(Fig. 4).

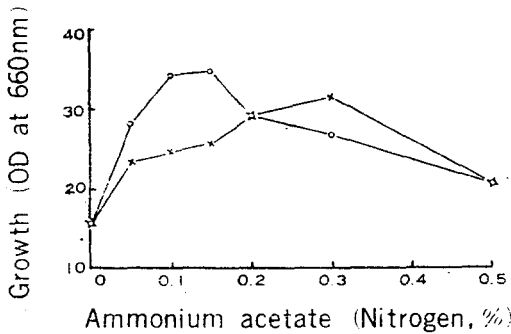


Fig. 4. Effect of ammonium acetate concentration on growth of *C. utilis* YUFE 1508 and *C. guilliermondii* KFCC 35120 (at 25°C for 24 hr)
○—○ ; *C. utilis*, ×—× ; *C. guilliermondii*
2.5% molasses (as total sugar) was added to each medium.

그 결과 *C. utilis*에 있어서는 ammonium acetate를 질소함량이 0.1~0.2%되게 添加했을 때가 가장 生育이 좋았으므로 0.1%첨가가 바람직했으며 *C. guilliermondii*에서는 이보다 많은 0.3%첨가가 가장 좋았다. 두균주 모두 最適濃度 以上の 첨가는 균의 生育을 저해했다.

KH₂PO₄ 농도의 영향

균의 生育에는 탄소원, 질소원 以外에도 P원이나 K원이 必要하므로 KH₂PO₄를 使用, P含量기준으로 0.05~1.0%되게 조절하여 균을 배양한 다음 生育度를 측정하였다.

Fig. 5에 나타난 바와 같이 *C. utilis*의 경우는 P함량기준 0.1%에서 0.8%까지 添加하여도 菌生育에 큰 차이가 인정되지 않았으므로 0.1%첨가로 충분하였으며 *C. guilliermondii*의 경우는 0.2~0.7%첨가가 대체로 비슷한 生育을 보이므로 0.2%첨가가 바람직하리

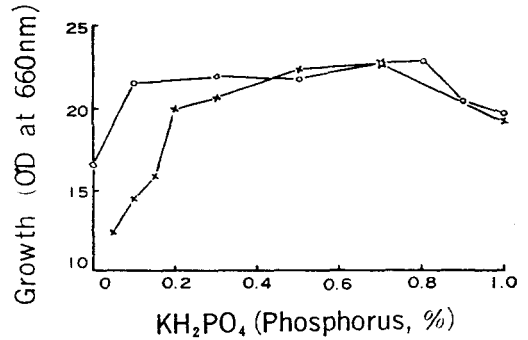


Fig. 5. Effect of potassium phosphate (monobasic) concentration on growth of *C. utilis* YUFE 1508 and *C. guilliermondii* KFCC 35120 (at 25°C for 24 hr)
○—○ ; *C. utilis*, ×—× ; *C. guilliermondii*

라 사료된다. 또한 두균주 모두 이들 최적농도보다 고농도에서는 菌生育이 첨가농도에 비례해서 저해되었다.

K₂HPO₄ 濃度の 영향

P원 및 K원으로 K₂HPO₄를 첨가하여 P함량별 균의 生育度를 조사하였다(Fig. 6).

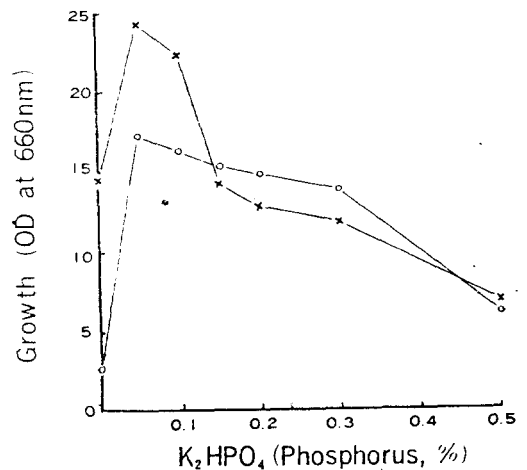


Fig. 6. Effect of potassium phosphate (dibasic) concentration on growth of *C. utilis* YUFE 1508 and *C. guilliermondii* KFCC 35120 (at 25°C for 24 hr)
○—○ ; *C. utilis*, ×—× ; *C. guilliermondii*

그 결과, 두菌株 모두 0.05%첨가가 월등히 生育이 좋았으며 그 以上の 농도에서는 첨가량에 비례해서 급속한 生育감소가 나타났다. 두균주를 비교할 때 最適濃度인 0.05%에서 *C. guilliermondii*가 *C. utilis*보다

Table 5. Effect of metal salts on growth of *C. utilis* YUFE 1508 and *C. guilliermondii* KFCC 35120

	<i>C. utilis</i>		<i>C. guilliermondii</i>	
	Relative growth (%)	Final pH	Relative growth (%)	Final pH
None	100	6.9	100	7.1
MgCl ₂ ·6H ₂ O	96	6.8	96	7.1
MgSO ₄ ·7H ₂ O	95	6.9	95	7.0
FeSO ₄ ·7H ₂ O	102	7.1	116	6.4
FeCl ₃ ·6H ₂ O	106	7.0	117	6.3
MnSO ₄ ·H ₂ O	100	6.9	91	6.9
ZnCl ₂	91	6.9	102	6.6
CuCl ₂ ·2H ₂ O	102	6.7	112	6.6
CaCl ₂	96	6.8	98	7.0

Each metal salt was added to soybean curd waste water (pH 5.8) at concentration of 0.01% on a metal ion basis.

Cultivation was carried out on a reciprocal shaker at 25°C for 24 hr.

Table 6. Culture conditions for cell growth experiment

Medium	Soybean curd waste water supplemented with; molasses 2.5% (as total sugar), CH ₃ COONH ₄ 0.1% (as nitrogen), KH ₂ PO ₄ 0.1% (as phosphorus), K ₂ HPO ₄ 0.05% (as phosphorus).
Sterilization	1 kg/cm ² , 15 min
Volume of medium	100 ml in 500 ml shaking flask
Volume of seed culture	1 ml (10 ⁶ cells/ml)
Cultivation condition	Shaking (120 strokes/min, amplitude 7 cm)
Initial pH	6.0
Temperature	25°C

필선 좋은 생육을 보였다.

두가지 인산염, KH₂PO₄와 K₂HPO₄를 P원을 기준으로 비교하면 同一한 生育을 가져오는데 KH₂PO₄가 K₂HPO₄보다 약 2~4배 정도 더 소요됨을 알 수 있다 이는 P원의 영향이라기 보다는 오히려 K원의 영향때문이 아닌가 생각된다.

금속염의 영향

微量金屬鹽을 金屬함량기준으로 0.01% 첨가하여 菌의 生育에 미치는 영향을 조사하였다(Table 5). *C. utilis*의 生育은 金屬鹽의 첨가여부와 金屬염의 종류에 關係없이 거의 一定하였으며 *C. guilliermondii*의 경우는 Fe鹽과 Cu鹽의 첨가가 약간 生育이 촉진될 정도이고 다른 金屬염의 영향은 인정되지 않았다. 以上の 결과로 미루어 두부 폐용액에는 菌의 生育에 충분한 微量元素가 含有되어 있으므로 미량금속염을 전혀 첨

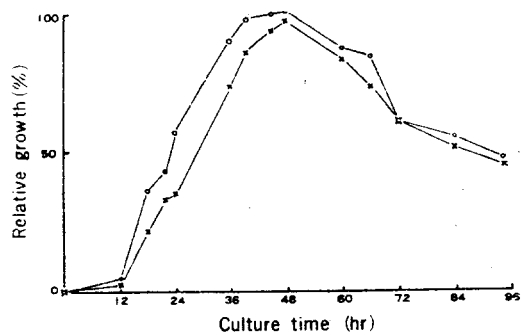


Fig. 7. Time course of yeast cell growth under the culture conditions described in Table 6

○-○ ; *C. utilis*, ×-× ; *C. guilliermondii*

Table 7. Effect of carbon sources on cell yield of *C. utilis* YUFE 1508 and *C. guilliermondii* KFCC 35120 cultivated for 48 hr

		Total sugar (%)	Dry cell weight (g)	Sugar utilized per total sugar (%)	Dry cell weight per total sugar (%)
None	A*	—	0.578	—	—
	B**	—	0.599	—	—
Glucose	A	2.5	1.272	92.0	54.7
	B	2.5	1.294	91.9	55.7
Sucrose	A	2.5	1.239	91.7	53.4
	B	2.5	1.214	92.5	51.9
Molasses	A	2.5	1.313	72.6	68.4
	B	2.5	1.322	67.4	74.2

Cultivation conditions were the same as Table 6 except for carbon source.

* A ; *C. utilis* YUFE 1508, **B ; *C. guilliermondii* KFCC 35120

가하지 않고도 균생육이 가능함을 알 수 있다.

培養時間의 영향

지금까지 檢討한 Table 6과 같은 最適배양조건에서 두균주 *C. utilis*와 *C. guilliermondii*를 各各 배양하여 배양시간에 따른 菌의 生育度를 조사하였다(Fig. 7). 그 결과, 두균주 모두 유도기, 대수기, 정지기, 사멸기를 거치는 전형적인 生育曲線을 나타내었다. 배양개시후 12시간의 유도기를 거친 다음 대수증식기에 들어가 급격히 증식하여 배양 40~48시간에 정지기에 이르고 그以後는 비교적 빠른 속도로 감소되는 경향을 보여 autolysis가 다소 심한 菌株임을 알 수 있다. 배양 48시간의 배양액 100 ml의 乾燥菌體量은 *C. utilis*가 1.313 g, *C. guilliermondii*가 1.322 g이었다.

탄소원에 따른 菌體收率

Table 6과 같은 배양조건에서 탄소원만을 달리 조정하고 두균주를 48시간 배양하여 菌의 生育度를 건조균체량으로 나타내었다(Table 7). 먼저 糖 利用性을 보면 두균주 모두 glucose와 sucrose가 92%정도이고 molasses가 67~73%로 비교적 낮게 나타나서 glucose와 sucrose가 molasses보다 월등히 높았다. 또한 첨가한 糖含量에 대한 건조균체량을 나타내는 對糖 균체수율은 molasses가 훨씬 높아서 68~74%였고 glucose가 55~56%, sucrose가 52~53%로 나타났다. 糖利用率과 對糖菌體收率에서 이와같은 결과가 나온 것은 molasses내에 함유된 糖 以外の 微量成分 때문이 아닌가 생각된다. molasses를 사용할 때 두균주를 비교해보면 *C. guilliermondii*가 *C. utilis*보다 糖利用率は 떨어지지만 對糖菌體收率은 높으므로 SCP生産을 위해서

는 훨씬 우수한 菌임이 입증되었다.

한편 梁等⁽⁴³⁾은 고구마 澱粉粕 酸糖化液을 탄소원으로 이용하여 *Saccharomyces cerevisiae*를 배양, 이때의 對糖균체수율이 50.1%이고 glucose, molasses사용이 각각 30.3%, 43.4%였다고 보고하고 있다. 이와 비교할 때 本實驗에서의 菌體收率은 월등히 높음을 알 수 있다. 또한 糖을 첨가하지 않고 배양한 경우 건조균체량이 molasses를 첨가한 때의 40%에 지나지 않는 것으로 나타났다.

건조 효모균체의 단백질 함량

Table 6에 나타난 바와 같은 최적 배지組成과 최적 배양조건에서 48시간 효모를 배양한 다음 배양액을 원

Table 8. Crude protein content of dry yeast determined by Biuret method and Kjeldahl method

	Biuret	Kjeldahl
<i>C. utilis</i>	50.5*	55.4
<i>C. guilliermondii</i>	56.2	57.3

* Figure indicated percentage based on dry yeast. Cultivation conditions were the same as those described in the legend of Table 6.

심분리하여 菌體를 회수하였다. 이를 다시 生理食鹽水에 2회, 증류수에 1회 세척한후 다시 원심분리하고 도가니에 넣어 105°C에서 18시간 건조시켜 Biuret법과 Kjeldahl법을 併用하여 단백질 함량을 조사하였다(Table 8).

그 결과 조단백질 함량이 *C. utilis*가 약 54.0%, *C. guilliermondii*의 경우가 56.8%정도였다. 타피오카주정페액⁽³⁰⁾을 利用, *Saccharomyces cerevisiae*와 *C. tropicalis*를 混合培養시 조단백질이 54~60%였고 소맥분 주정페액⁽⁴¹⁾을 이용한 *Saccharomyces cerevisiae* 배양에서는 56.96%였으며 타피오카건분페액⁽³⁴⁾을 利用한 *C. utilis*배양에서 50%, 양조페액⁽³⁷⁾을 利用한 *C. steatolytica*배양의 경우 단백질 함량이 13~44%였다는 보고를 감안할 때 本實驗에서 얻어진 건조균체의 단백질 함량이 비교적 높은 편이었다.

그러나 菌體의 成分中 조단백질을 제외한 핵산, 지질, 당, 회분 및 아미노산함량 등은 앞으로 더 연구될 과제이며 또한 두부폐수를 효모生産에 利用함은 물론 효모배양에 의한 BOD감소효과에 대하여 폐수처리적 側面에서 계속 연구되어야 할 것이다.

要 約

두부폐수를 利用한 SCP生産의 기초 연구로서 有用 효모의 檢索, 최적배지선정 및 배양조건이 檢討되었다. 총 18種의 효모中 두부폐수를 가장 잘 利用하는 효모 *C. utilis* YUFE 1508과 *C. guilliermondii* KFCC 35120을 선정했으며 이들 효모의 최적生育 pH는 6.0~6.5였고 최적배양온도는 25°C였다.

탄소원으로서 molasses 2.5%(전당기준), 질소원으로 ammonium acetate 0.1~0.3%(N함량기준), P 및 K원으로 KH_2PO_4 0.1~0.2%(P함량기준) 및 K_2HPO_4 0.05%(P함량기준)를 두부폐수에 各各 添加함이 효모生育에 가장 效果의이었으며 金屬鹽의 첨가는 生育에 아무런 影響을 미치지 못했다.

최적배양조건에서 48시간 배양했을때에 最大 生育에 도달했으며 이때의 배양액 100 ml의 건조균체중량은 *C. utilis* YUFE 1508이 1.313 g, *C. guilliermondii* KFCC 35120의 경우가 1.322 g이었다. 이를 對糖 건조균체수율로 환산하면 각각 68.4%, 74.2%였다. 또한 건조효모균체의 조단백질 함량은 *C. utilis* YUFE 1508이 약 54.0%, *C. guilliermondii* KFCC 35120의 경우가 56.8%정도였다.

文 獻

- Laskin, A. I. : In "Annual reports on fermentation processes (Vol 1)", ed. Perlman, D., Academic Press, New York, p. 151 (1977)
- Litchfield, J. H. : In "Microbial Technology (Vol 1)", ed. Pepler, H. J. and Perlman, D., Academic Press, New York, p. 93 (1979)
- 이철호 : 한국산업미생물학회지, 8, 207 (1980)
- Pepler, H. J. : In "Annual Reports on Fermentation Processes (Vol 2)", ed. Perlman, D., Academic Press, New York, p. 191 (1978)
- Litchfield, J. H. : *Food Technol.*, 31, 175(1977)
- Ratledge, C. : In "Annual Reports on Fermentation Processes (Vol 1)", ed. Perlman, D., Academic Press, New York, p. 49 (1977)
- Cooney, C. L., Levine, D. W. and Snedecor, B. : *Food Technol.*, 29, 32 (1975)
- Yokote, Y., Sugimoto, M. and Abe, S. : *J. Ferment. Technol.*, 52, 201 (1974)
- Ogata, K., Nishikawa, H. and Ohsugi, M. : *Agri. Biol. Chem.*, 33, 1519 (1969)
- Mimura, A., Wada, M., Nakano, T., Hayakawa, S. and Iguchi, T. : *J. Ferment. Technol.*, 56, 443 (1978)
- Minami, K., Yamamura, M., Shimizu, S., Ogawa, K. and Sekine, N. : *J. Ferment. Technol.*, 56, 1 (1978)
- Masuda, Y., Kato, K., Takayama, Y., Kida, K. and Nakanishi, M. : *U. S. Patent*, 3,868,305 (1975)
- Ridgeway, J. A., Jr., Lappin, T. A., Benjamin, B. M., Corns, J. B. and Akin, C. : *U. S. Patent*, 3,865,691 (1975)
- Enomoto, K., Ueyama, H. and Fukimbara, T. : *J. Ferment. Technol.*, 53, 637 (1975)
- Enomoto, K., Ueyama, H. and Fukimbara, T. : *J. Ferment. Technol.*, 53, 643 (1975)
- Matsuura, S., Takahashi, H. and Minabe, M. : *J. Ferment. Technol.*, 53, 658 (1975)
- Champagnat, A. and Filosa, J. : *U. S. Patent*, 3,193,390 (1965)
- Evans, G. H. and Shennan, J. G. : *U. S. Patent*, 3,846,23E (1974)
- Cooper, P. G., Silver, R. S. and Boyle, J. P. : In "Single Cell Protein II" ed. Tannenbaum S. R., and Wang, D. I. C., MIT Press, Cambridge, MA. p. 454 (1975)
- Sonoda, Y., Someya, J., Futai, N., Tagaya, N. and Murakami, T. : *J. Ferment. Technol.*, 51, 479 (1973)
- Ueno, K., Asai, Y., Shimada, M. and Goto,

- S. : *J. Ferment. Technol.*, **52**, 861 (1974)
22. Ueno, K., Asai, Y., Shimada, M. and Goto, S. : *J. Ferment. Technol.*, **52**, 867 (1974)
23. Ueno, K., Asai, Y., Shimada, M. and Goto, S. : *J. Ferment. Technol.*, **52**, 873 (1974)
24. Thanh, N. C. and Wu, J. S. : *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, **8**, 202 (1975)
25. Church, B. O., Erickson, E. E. and Widmer, C. H. : *Food Technol.*, **27**, 36 (1973)
26. Romantschuk, H. : In "*Single Cell Protein II*", ed. Tannenbaum, S. R., and Wang, D. I. C., MIT Press, Cambridge, MA, p. 344 (1975)
27. Shannon, L. J. and Stevenson, K. E. : *J. Food Sci.*, **40**, 830 (1975)
28. Delaney, R. A. M., Kennedy, R. and Walley, B. D. : *J. Sci. Food Agr.*, **26**, 1177 (1975)
29. Reed, G. and Peppler, J. H. : *Yeast technology*, Avi Pub. Co., Inc., Westport, Conn., p. 6 (1973)
30. 정동효, 박준희 : 한국산업미생물학회지, **6**, 173 (1978)
31. 권태완, 민태익, 박용, 변유량 : 식품과학회지, **2**, 56 (1970)
32. 박용, 민태익, 변유량, 권태완 : 식품과학회지, **2**, 61 (1970)
33. 변유량, 권태완 : 한국미생물학회지, **9**, 95 (1971)
34. 이용현, 변유량, 권태완 : 식품과학회지, **4**, 200 (1972)
35. 변유량, 권태완, 지규만, 김춘수 : 식품과학회지, **4**, 252 (1972)
36. 민태익, 변유량, 권태완 : 식품과학회지, **6**, 219 (1974)
37. 변유량, 민태익, 권태완 : 식품과학회지, **6**, 231 (1974)
38. 양한철, 신규철 : 한국산업미생물학회지, **5**, 29 (1977)
39. 오두환, 양용, 유주현 : 한국산업미생물학회지, **4**, 71 (1976)
40. 오두환, 양용, 유주현 : 한국산업미생물학회지, **4**, 43 (1976)
41. 유주현, 오두환, 양용 : 한국산업미생물학회지, **2**, 83 (1974)
42. 양한철, 최용진, 성하진 : 한국산업미생물학회지, **2**, 95 (1974)
43. 성낙계, 김종규 : 한국산업미생물학회지, **4**, 1 (1976)
44. 성낙계, 김명찬, 심기환 : 한국산업미생물학회지, **4**, 51 (1976)
45. 이제훈, 문종안 : 식물성 기질의 당화에 의한 균체 단백질 생성에 관한 연구, 과학전람회 생물 분야 우수작 (1976)
46. 박태원, 김태영, 염성배, 서형준 : 과학기술처 연구개발 사업 보고서 (1975)
47. 윤장식, 최준연, 장진형 : 기술 연구보고(육기), **3** 1 (1964)
48. 정동효, 장현기 : 식품분석, 진로연구사, p. 128 (1980)
49. 생물화학연구회 편 : 생화학실험서, 동명사, p. 80 (1979)
50. Herbert, D., Rhipps, P. J. and Strange, R. E. : In "*Methods in microbiology* (5B)", ed. Norris, J. R., and Ribbons, D. W., Academic Press, New York, p. 244 (1971)
51. Lane, J. H. and Eynon, L. : *J. Soc. Chem. Ind.*, **10**, 150T (1925)
52. 정동효 : 발효와 미생물 공학, 선진문화사, p. 442 (1979)