

Aspergillus phoenicis 및 *Candida utilis*의 혼합培養에 의한 纖維素로부터의 蛋白質 生産

李永祿 · 朴京亮 · 李柱實 · 裴光星 · 白台鴻*
(高麗大學校 生物學科, *漢陽大學校 醫豫科)

Protein Production from Cellulosic Wastes by Mixed Culture of *A. phoenicis* and *C. utilis*

LEE, Yung Nok, Kyung Ryang, Park, Joo Sil, Lee,
Kwang Sung, Bae, Tae Hong, Baek *

(Dept. of Biology,* Medical School of Han Yang University)

ABSTRACT

Protein content of the cellulosic wastes, such as spent grain, hop bark, spent rye, rice straw, rice hull, saw dust and used newspaper, was increased by a mixed culture of *C. utilis* and *A. phoenicis*. The mixed cultures were carried out aerobically on a semi-solid cellulosic wastes having 66~75% moisture.

Among the fungal strains tested, *A. phoenicis* KU175 was the most powerful to increase the protein content of spent grain and hop bark by the mixed culture with *C. utilis*. Cellulase activities of *A. phoenicis* during the mixed culture with *C. utilis* in the CMC medium reached at the peak for one day culture after inoculation of the both strains at the same time, while it reached at peak from the beginning of the mixed culture, when *A. phoenicis* was inoculated for 12~24hours prior to the inoculation of *C. utilis*.

To increase the protein content of the cellulosic wastes by the mixed culture of *C. utilis* and *A. phoenicis*, the inoculation of both strains at the same time was more effective than the preinoculation of *A. phoenicis* for 6~24 hours. Content of crude cellulose in the used newspaper, saw dust and spent grain was high relatively, and the lignin content of spent grain, spent rye, and rice straw was reduced more than half by the treatment of 2% NaOH. However, effect of alkali treatment of increase the protein content of the cellulosic wastes was not prominent in the case of mixed culture.

Protein content of the cellulosic wastes was increased prominently by the mixed culture of *C. utilis* and *A. phoenicis* in semi-solid substrate, compared with the single culture of *C. utilis*, although the latter increased the protein content of cellulosic wastes considerably.

The effect of mixed culture of *C. utilis* and *A. phoenicis* increased 4-fold the protein content of spent grain, and more than doubled crude protein in hop bark and rice straw.

緒 論

최근 전세계적인 蛋白質 資源의 결핍과 産業

및 農産廢棄物의 처리문제로 말미암아 纖維質廢 資源으로부터의 蛋白質生産을 위한 많은 노력의 계속되고 있다.

Han and Smith(1978)는 알칼리前處理에 이
은 볏짚의 醱酵로 볏짚의 사료화를 시도하였고,
Moo-Young et. al.(1978) 등은 톱밥을 산이나
알칼리로 加水分解시켜 Chaetomium에 의한 細胞
蛋白質의 生産을 보고하였으며, Attia et. al.
(1977)은 *Aspergillus*에 의한 農産廢資源으로부터
의 glucoamylase의 生産을 보고하였다. 또한
Moreton(1978), Achremowicz et al.(1977) 등
은 *Candida*와 *Endomycopsis* 또는 種이 다른 두
*Candida*의 混合培養으로 單獨培養에서 보다도
높은 生體量의 生産을 보고하였다. 한편, Hass-
eltine(1972), Lindenfelser and cieglar(1975)
및 Han and Anderson(1975) 등은 酵素 또는 毒
素의 生成이나 볏짚의 蛋白質 含量을 높이기 위
한 半固體醱酵(semi-solid fermentation)의 效
율을 보고하고 있다. 즉, 菌體量 生産을 위한 통
상의 液體培養에서는 最終産物로서 微生物細胞,
소화되지 아니한 基質, 그리고 사용한 培養液등
이 남게 되는데, 이들로부터 微生物만을 수확하
여 蛋白質源으로 사용하게 되어 다른 副産物은
經濟性이 거의 없으며 또한 液體培養에서는 微
生物의 最適生長을 위해 엄격한 pH, 온도, 통
기 및 교반 등이 要求되고 생성물의 수확과정
에서도 비용이 많이 드는데 반하여 半固體培養
에서는 이러한 비용이 월등히 절감되는 이점이 있
다는 것이다.

그러나 이러한 연구들은 대개가 混合培養이나
半固體培養 또는 纖維質廢資源의 전처리 효과들
을 각각 단독으로 다루고 있어서 이들을 종합한
전체적 효과를 동시에 다루어 보았으면 하는 아
쉬움이 없지 않았다.

本研究에서는 纖維素廢資源을 飼料化하기 위한
연구의 일환으로 사입박, 호프박, 주정박, 왕겨,
볏짚, 톱밥 및 폐지 등 여러가지 纖維素廢資源을
ball mill 또는 알칼리로 前處理 한 後 이들의半
固體培養에서 *Candida utilis* 및 *Aspergillus*를
混合培養하여 이들 纖維素廢資源의 蛋白質含量
을 增大시키고자 하였으며 이러한 目的으로 行
한 一聯의 實驗結果를 報告하고자 한다.

材料 및 方法

1. 使用菌株

우리나라 중부이남지역에서 分離한 *Aspergil-*

lus 600여 菌株중 가장 強力한 Cellulase生成菌株
로 選別된 *A. phoenicis* KU 175(Lee and Park,
1977) 및 *Candida utilis* NCYC 359를 使用하였
다. 그리고 대조실험에서는 *A. niger* NRRL
337, *A. flavus* KU 153-1022(Lee et.al. 1980),
Trichoderma viride QM 9414 및 다음과 같은
方法으로 分離 選別한 *Penicillium* 11, *Trichod-*
erma 158 등을 使用하였다.

2. 纖維素酸化菌의 分離, 同定 및 選別

전국 각처에서 수집한 토양, 퇴비, 썩은나무
등 여러가지 표품으로부터 Carboxymethyl cell-
ulose(CMC)를 유일한 탄소원으로 하는 선택배
지에서 Mizukoshi et. al.(1977)의 方法에 따라
cellulase 生成菌을 分離하여 Czapek 培地에 保
存하였다. 이들 菌株들중 cellulase生成能이優秀
한 優良菌株를 選別하기 위하여 CMC액화법(H-
arza, et. al. 1958)을 써서 一次選別하고 그중
비교적 優秀한 cellulase活性을 나타내는 菌株들
은 Avicel, CMC, 및 Salicine을 基質로 하는
Cellulase活性을 Somogi-Nelson法으로 測定하여
二次選別하였다. 一次選別한 菌株들은 Rifai
(1969), Raper and Fannel(1965), 및 Raper,
et. al(1949) 등의 方法에 따라 우선 그 屬을 同
定하였고, 最終選別된 두 菌株은 本研究의 대조
실험에 使用하였다.

3. 基質의 成分分析 및 前處理

맥주사입박, 주정박, 호프박, 왕겨, 톱밥, 파
지 등 여러가지 纖維素廢資源을 건조시킨 後 c-
utting mill로 분쇄하여 2mm mesh screen을 통
과시킨 것을 基質로 使用하였다. 수분 및 회분
함량은 통상의 方法에 따라 重量法으로 定量하
였고, 蛋白質은 Robinson-Hodgen의 biuret m-
ethod의 변법(Herbert, et. al. 1971)으로 定量
하였다. Alcohol-benzen extract와 lignin양은
TAPPI standard method(1961)로, 조지방은
Soxhlet 추출법으로 測定하였고, 조섬유의 함량
은 시료의 全重量에서 上記物質들의 量을 제한
값으로 表示하였다.

알칼리 前處理는 Bae and Kim(1974)의 方
法에 따라 2% NaOH로 상온에서 6時間 처리
한 後 H_3PO_4 로 中和시켜 pH 6.5로 조절하였
다.

4. 培地 및 培養

混合培養은 酵母培養液의 탄소원을 포도당 대신 CMC로 대체한 CMC培地(yeast extract 0.3%, malt extract 0.3%, CMC 1%, pepton 0.5%, pH 6.0) 또는 廢纖維質의 半固體培地 상에 酵母와 絲狀菌을 동시 接種하거나 絲狀菌을 먼저 接種한 後 일정시간이 경과한 후에 효모를 접종하여 30°C에서 21탕배양하였다. 半固體培養은 250ml 용량의 삼각플라스크에 基質 10g과 물 20~30ml를 加하여 121°C, 15기압에서 15分, 가압멸균한 廢資源半固體培地에 菌을 接種하여 30°C에서 3~5日間 21탕배양하였다.

5. 菌體量의 測定

液體培養에서는 파장 610nm에서의 吸光度로 효모세포의 증식율을 표시하였고, 絲狀菌의 菌體量은 균사체의 건조중량으로 測定하였다. 半固體培養에서는 Robinson-Hogden biuret method의 변법을 써서 蛋白質 含量을 定量하고, 材料를 물에 현탁, 희석하여 Haemocytometer로 효모세포의 數를 측정하여 표시하였다.

結果 및 考察

1. 纖維素資化菌의 分離, 同定 및 選別

전국 각처에서 수집한 표품으로부터 *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium* 등 약 200여 菌株의 絲狀菌을 分離하여 Czapek培地에 보존하였다. 이들 菌株들은 CMC액 화법으로 Carboxymethyl cellulase活性을 조사하여 一次的으로 20여 菌株을 選別하고 그 屬을 同定하였다. 一次選別한 균주들은 wheat bran avicellase, salicinase, CMCase生成能을 測定하여 二次選別을 하였다 (Table 1). *Trichoderma* 158, *Penicillium* 11

Table 1. Selection of strains showing predominant cellulase production in wheat bran.

| Strain | number | CMC liquefaction (cm) | cellulase activity (mg/ml) | | |
|---------------------|--------------------|-----------------------|----------------------------|---------|-------------|
| | | | avic-elase | CMC ase | Salic inase |
| <i>Aspergillus</i> | 2 | 1.1 | 1.10 | 1.06 | 1.29 |
| | 61 | 1.1 | 1.44 | 3.28 | 3.48 |
| | 78 | 0.85 | 1.45 | 1.23 | 1.51 |
| | 90 | 0.85 | 1.05 | 1.23 | 1.75 |
| | 91 | 0.6 | 1.13 | 1.16 | 1.83 |
| | 105 | 1.05 | 1.10 | 1.16 | 1.29 |
| | 131 | 1.0 | 1.17 | 1.17 | 1.28 |
| | <i>Penicillium</i> | 11 | 1.1 | 2.79 | 2.22 |
| 31 | | 1.1 | 1.29 | 3.86 | 3.39 |
| 58 | | 1.15 | 1.09 | 2.42 | 1.27 |
| 76 | | 1.0 | 2.07 | 1.80 | 3.27 |
| 99 | | 1.0 | 1.31 | 1.42 | 1.49 |
| 124 | | 0.9 | 2.31 | 2.41 | 2.72 |
| 137 | | 1.0 | 0.90 | 1.48 | 1.65 |
| 138 | | 1.1 | 1.17 | 1.17 | 3.51 |
| 139 | | 1.2 | 1.17 | 1.40 | 2.00 |
| 167 | | 1.1 | 1.70 | 1.17 | 2.00 |
| <i>Trichode-rma</i> | 158 | 0.95 | 2.71 | 3.20 | 2.55 |
| | 165 | 1.15 | 2.64 | 2.40 | 2.26 |
| Unidentified | 19 | 0.9 | 1.46 | 1.17 | 1.73 |
| | 97 | 1.15 | 1.25 | 1.59 | 1.27 |

등이 가장 優秀한 Cellulase 生成菌株로 最終選別되었다.

Table 2. Protein production by various fungi strains in the mixed culture with *C. utilis* using the semi-solid cellulosic waste.

| Strain | Duration of culture (days) | Unit : % | | | | | | | |
|------------------------------|----------------------------|-------------|------|------|------|----------|------|------|------|
| | | Spent grain | | | | Hop bark | | | |
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| <i>A. flavus</i> KU 153-1022 | | 8.0 | 22.0 | 25.5 | 27.1 | 14.0 | 29.2 | 30.0 | 30.0 |
| <i>A. phoenicis</i> KU 175 | | 8.0 | 28.5 | 34.0 | 35.7 | 14.0 | 26.3 | 32.5 | 32.0 |
| <i>A. niger</i> NRRL 337 | | 8.0 | 21.5 | 28.0 | 28.0 | 14.0 | 25.5 | 30.0 | 31.0 |
| <i>Trichoderma</i> 158 | | 8.0 | 27.0 | 27.0 | 26.5 | 14.0 | 26.3 | 31.0 | 31.0 |
| <i>T. viride</i> QM 9414 | | 8.0 | 23.0 | 31.3 | 31.0 | 14.0 | 25.5 | 34.0 | 31.5 |
| <i>Penicillium</i> 11 | | 8.0 | 22.0 | 29.4 | 27.8 | 14.0 | 22.0 | 29.4 | 29.2 |
| Control | | 8.0 | 17.0 | 22.0 | 22.1 | 14.0 | 22.0 | 26.5 | 27.3 |

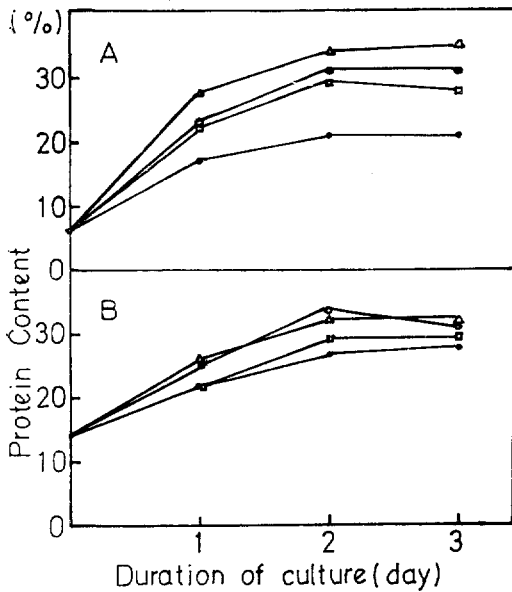


Fig 1. Protein production by various fungal strains in the mixed culture with *C. utilis* using semi-solid spent grain (A) and hop bark (B). (Δ - Δ *A. phoenicis*, \circ - \circ *Trichoderma viride*, \blacksquare - \blacksquare *Penicillium*, \bullet - \bullet control)

2. 菌株에 따른 混合培養의 效率

纖維質에 있어서의 酵母와 絲狀菌의 混合培養의 效率는 絲狀菌의 生成能이 비교적 우수한 국내외의 여러가지 균주들을 사용하여 사립박 및 호프박에 있어서의 蛋白質生成能을 測定 比較하였다(Table 2). 공시 사상균의 거의 모든 균주가 대조구인 *C. utilis* 單獨培養보다는 *C. utilis* 와 絲狀菌의 混合培養에서 사립박 및 호프박의 蛋白質 含量을 增加시켰다. 그중에서도 사립박에 있어서는 *A. phoenicis* KU 175가 가장 탁월한 효과를 나타내었고, 그 다음이 *T.viride* QM9414, *Penicillium* 11의 順이었다(Fig. 1-A). 強力한 glucoamylase 및 protease 生成菌인 *A. flavus* KU 153-1022는 공시균주 중 가장 효과가 적었다. 호프박에 있어서는 *A. phoenicis* KU 175, *T. viride* QM 9414가 가장 效果의이었고 그 다음 *A. flavus* KU 153-1022, *A. niger* NRRL 337, *Trichoderma* 158 등이 비슷한 效果를 나타내었다(Fig. 1-B).

3. 半固體培養에 있어서의 菌體生産

Table 3. Effect of moisture content in the medium on the biomass yield in the semi-solid mixed culture of *C. utilis* and *A. phoenicis* for 3 days in spent grain

| moisture content(%) (substrate: water) | Protein content(%) | Cell number ($\times 10^9/g$) |
|---|--------------------|------------------------------------|
| 50 (1:1) | 21.0 | 3.0 |
| 66 (1:2) | 27.3 | 5.7 |
| 75 (1:3) | 34.5 | 3.6 |
| 91 (1:10) | 27.3 | 7.2 |

사립박 半固體培地에서의 *C. utilis* 및 *A. phoenicis*의 混合培養에 의한 基質의 蛋白質 含量 및 細胞數의 增加에 미치는 培地의 水分含量의 影響을 Table 3에 表示하였다. 반고체배양에 있어서는 培地의 水分含量이 66~75%일 때에 사립박의 蛋白質含量이나 細胞數의 增加가 현저하였고, 培地의 水分含量이 50% 미만에서는 현저히 低下하였고 이러한 結果는 Han et. al(1978)의 *Cellulomonas*에 의한 發酵발효의 경우와 대체로 一致한다. 배지의 水分含量이 66%에서는 액체배양 수준인 91%와 거의 같은 量의 사립박의 蛋白質含量의 增加를 기할 수 있었고, 75%에서는 液體培養에서 보다는 오히려 높은 값을 나타내었다.

4. 接種時期에 따른 混合培養의 效率

C. utilis 및 *A. phoenicis*의 接種時기를 달리한 사립박 반고체배지 상에서의 混合培養으로 얻어진 사립박 蛋白質含量의 變化를 Table 4 및 Fig. 2에 表示하였다. 사립박의 蛋白質含量은 *C.*

Table 4. Protein content of spent grain by semi-solid mixed culture of *C. utilis* and *A. phoenicis*

| Duration of culture (days) | Single culture of <i>C. utilis</i> | Preinoculation period of <i>A. p hoenicis</i> in mixed culture (hours.) | | | | |
|----------------------------|------------------------------------|---|------|------|------|------|
| | | 0 | 6 | 21 | 18 | 24 |
| 0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 |
| 1 | 15.5 | 22.4 | 15.5 | 22.0 | 27.5 | 25.5 |
| 2 | 21.5 | 33.5 | 26.0 | 24.0 | 30.5 | 28.0 |
| 3 | 20.5 | 31.0 | 30.0 | 29.5 | 24.0 | 26.0 |
| 4 | 24.0 | 32.5 | 36.5 | 29.5 | 24.0 | 26.0 |
| 5 | 20.5 | 33.0 | 27.0 | 26.0 | 27.0 | 29.0 |

나 *A. phoenicis*와의 混合培養에서는 더욱 效果가 컸었다. 혼합배양에 있어서는 酵母의 接種에 앞서 먼저 (6, 12, 18, 24時間前) 絲狀菌을 接種하는 것보다도 兩 菌株를 同時에 接種하는 것이보다 效果의 이었다. Fig. 2에서 보는 것처럼 同時 接種區에 있어서는 사입박의 단백질 함량이 배양 전에 비해 4배가량 증가하였다.

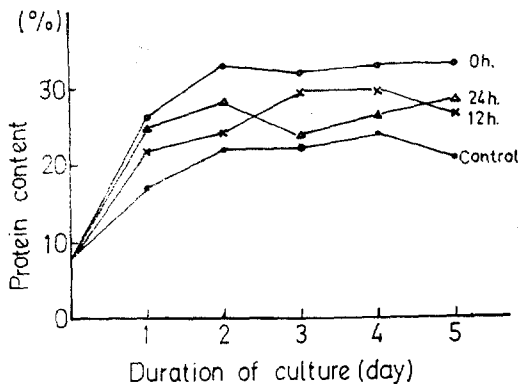


Fig 2. Increase in protein content of spent grain by semi-solid mixed culture of *C. utilis* and *A. phoenicis*. Number in the figure indicates the preinoculation period(hours) of *A. phoenicis* in the mixed culture. control: single culture

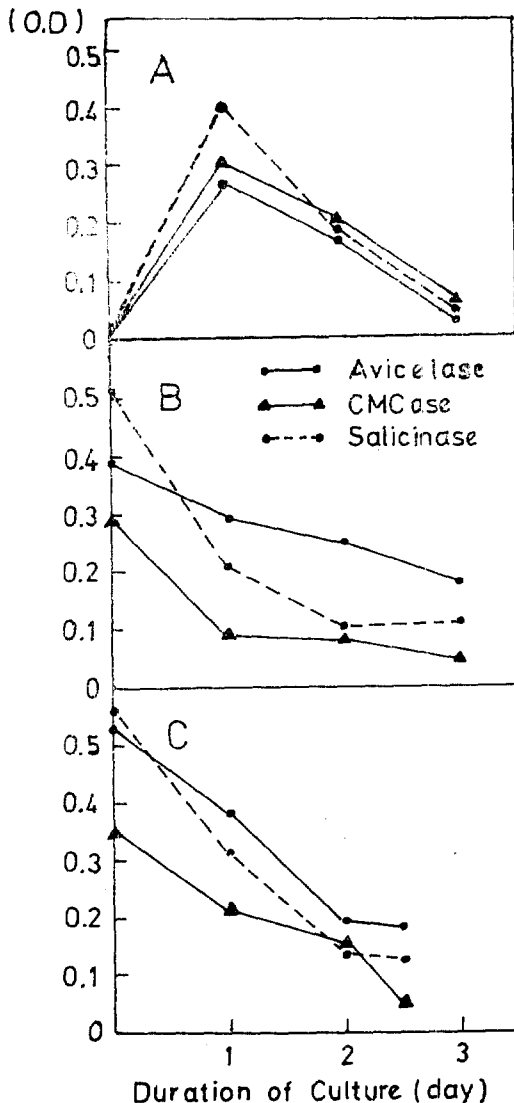


Fig 4. Cellulase activities produced by *A. phoenicis* during the mixed culture with *C. utilis* in CMC liquid medium. Both strains are inoculated at the same time (A). *C. utilis* is inoculated 12 hours (B) or 24 hours (C) later after inoculation of *A. phoenicis*.

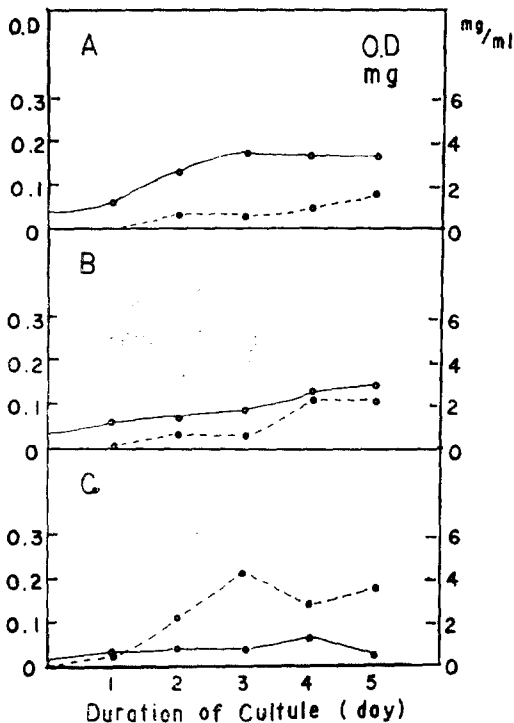


Fig 3. Biomass yield by mixed culture of *C. utilis* and *A. phoenicis* in CMC liquid media. Both strains are inoculated at the same time (A). *C. utilis* is inoculated 12 hours (B) or 24 hours (C) later after inoculation of *A. phoenicis*

*utilis*의 單獨培養에서도 약 2.5배가 增加하였으

5. 混合培養에 있어서의 Cellulase 生成

접종시기에 따른 혼합배양의 효율의 변화가 Cellulase 활성과 어떤 상관관계가 있는가를 밝히 고져 CMC 液體培地에 있어서의 接種時期를 달리 한 *C. utilis* 및 *A. phoenicis*의 混合培養에 의한

菌體의 生長率 및 cellulase 활성의 變化를 測定 하여 Fig. 3 및 Fig. 4에 각각 표시하였다. 酵母, *C. utilis*의 生長은 Fig. 3에서 吸光度로 表示하였고, 絲狀菌 *A. phoenicis*의 生長은 Fig. 4 菌體量으로 表示하였다. *C. utilis*와 *A. phoenicis*의 同時接種區에 있어서는 3日 後에 *C. utilis*

Table 5. Chemical composition of cellulosic wastes

Unit: %

| material | Moisture | Protein | Crude fat | Crude Cellulose | Lignin | Ash | Alcohol Benzene extract | Warm water Soluble substrate |
|----------------|----------|---------|-----------|-----------------|--------|------|-------------------------|------------------------------|
| Spent grain | 6.2 | 8.0 | 1.2 | 51.6 | 17.3 | 3.5 | 6.8 | 5.4 |
| Hop bark | 10.9 | 14.0 | 0.4 | 26.7 | 26.3 | 4.0 | 9.2 | 8.5 |
| Rice hull | 8.1 | 3.5 | 0.3 | 42.8 | 25.4 | 11.2 | 2.4 | 6.3 |
| Rice straw | 10.0 | 6.5 | 0.8 | 35.8 | 17.9 | 9.6 | 10.8 | 8.6 |
| Saw dust | 11.2 | 3.5 | 0.4 | 51.1 | 26.7 | 0.7 | 3.8 | 2.6 |
| Spent rye | 9.1 | 18.0 | 0.3 | 32.8 | 20.0 | 4.9 | 9.5 | 5.4 |
| Used newspaper | 7.5 | 0.7 | 0.1 | 60.6 | 20.3 | 3.0 | 1.5 | 6.3 |

의 生長이 월등히 增加하였다. 그러나 *C. utilis*의 接種에 앞서 미리 24時間 前에 *A. phoenicis*를 接種한 實驗區에서는 *A. phoenicis*의 生長이 월등히 증가한 반면에 *C. utilis*의 生長은 심한 저해를 입었다.

한편 avicelase, CMCase, 및 salicinase 등 cellulase 활성은 양 균주의 同時接種區에 있어서는 培養 1日 後에 peak에 달하였으나 효모접종에 앞서 12時間 또는 24時間 前에 *A. phoenicis*를 接種한 實驗區에 있어서는 混合培養의 시초의 시기인 *C. utilis*의 接種시에 이미 peak에 달

Table 6. Lignin content of cellulosic wastes treated with NaOH.

unit: %

| material | Non-treated | NaOH-treated |
|----------------|-------------|--------------|
| Spent grain | 17.3 | 7.3 |
| Hop bark | 26.3 | 16.0 |
| Rice hull | 25.4 | 18.4 |
| Rice straw | 17.9 | 9.0 |
| Saw dust | 26.7 | 21.7 |
| Spent rye | 20.0 | 11.2 |
| Used newspaper | 20.3 | 19.5 |

Table 7. Protein production from the cellulosic wastes treated with 2% NaOH by semi-solid mixed culture of *C. utilis* and *A. Phoenicis*

unit: protein content (%)

| substrates | Duration of culture(day) | NaOH treated | | | | Untreated | | | |
|----------------|--------------------------|--------------|-----|------|------|-----------|------|------|------|
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| Spent grain | | 6.3 | 15 | 25.1 | 23.9 | 8.0 | 22.4 | 34.0 | 28.9 |
| Hop bark | | 12.5 | 18 | 20.3 | 23.1 | 14.0 | 22.6 | 29.6 | 30.1 |
| Rice hull | | 1.6 | 2.7 | 7.0 | 3.6 | 3.5 | 3.8 | 3.9 | 5.5 |
| Rice straw | | 4.6 | 4.5 | 5.0 | 5.0 | 6.5 | 12.5 | 12.8 | 13.2 |
| Saw dust | | 3.3 | 4.0 | 4.7 | 6.3 | 3.5 | 4.3 | 6.25 | 5.5 |
| Spirit waste | | 7.8 | 8.2 | 10.9 | 14.8 | 18.0 | 22.1 | 25.7 | 27.3 |
| used newspaper | | 0.6 | 0.8 | 2.3 | 2.3 | 0.7 | 2.2 | 2.9 | 2.7 |

하고 있었는데 그후 점차로 감소하였다.

6. 基質의 成分分析 및 前處理 效果

사입박, 주정박, 호프박, 톱밥, 벚짚, 왕겨, 폐지 등 여러가지 纖維素廢資源의 成分을 分析하여 Table 5에 表示하였다. 公示한 纖維素廢資源의 조성요소 함량은 26.7%로 公示 재료중에서는 가장 적었다. 단백질 함량은 주정박, 호프박 등이 비교적 높은 편이었고, 리그닌의 함량은 公示한 대부분의 시료가 대체로 17~26% 정도의 리그닌을 함유하고 있었으나 이들은 NaOH 처리로 폐지나 톱밥을 제외하고는 현저히 감소

하였다(Table 6). 특히 사입박, 벚짚, 주정박 등에 있어서는 리그닌 함량이 대조구에 비해 절반 이하로 감소하였다.

Table 7에서 보는 바와같이 *C. utilis* 및 *A. phoenicis*의 혼합배양에 의한 섬유소 폐차원으로부터의 단백질 생산에 있어서는 알칼리 전처리에 의한 상승효과는 거의 기대할 수가 없었다. 廢纖維質의 蛋白質含量은 알칼리 前處理로 減小하였고, 混合培養에 의한 蛋白質의 生産效果도 왕겨, 톱밥, 폐지등에 있어서는 비슷하였으나, 호프박, 사입박, 벚짚 등에 있어서는 오히려 減

Table 8. Fungal protein production by semi-solid mixed culture of *C. utilis* and *A. phoenicis* in various cellulosic wastes

| Substrate | Duration of culture(day) | unit: % | | | | | | | |
|----------------|--------------------------|------------------------------------|------|------|------|---|------|------|------|
| | | Single culture of <i>C. utilis</i> | | | | Mixed culutur of <i>C. utilis</i> and <i>A. phoenicis</i> | | | |
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| Spent grain | | 8.0 | 17.1 | 22.0 | 22.1 | 8.0 | 22.4 | 34.0 | 28.9 |
| Hop bark | | 14.0 | 20.3 | 26.5 | 27.3 | 14.0 | 22.6 | 29.6 | 30.1 |
| Rice hull | | 3.5 | 3.8 | 4.4 | 5.2 | 3.5 | 3.8 | 3.9 | 5.5 |
| Rice straw | | 6.5 | 11.0 | 11.7 | 11.7 | 6.5 | 12.5 | 12.8 | 13.2 |
| Saw dust | | 3.5 | 4.5 | 5.9 | 5.5 | 3.5 | 4.3 | 6.25 | 5.5 |
| Spent rye | | 18.0 | 18.7 | 24.6 | 13.4 | 18.0 | 22.1 | 5.7 | 27.3 |
| used newspaper | | 0.7 | 2.0 | 2.3 | 2.3 | 0.7 | 2.2 | 2.9 | 2.7 |

Table 9. Growth of *C. utilis* by semi-solid mixed culture with *A. phoenicis* in various cellulosic wastes.

| substrate | Duration of culture(days) | unit: cell number($\times 10^9/g$) | | | | | | | |
|----------------|---------------------------|--------------------------------------|------|------|------|---|------|------|------|
| | | Single culture of <i>C. utilis</i> | | | | mixed culture of <i>C. utilis</i> and <i>A. phoenicis</i> | | | |
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| Spent grain | | 1.2×10^{-4} | 4.5 | 3.3 | 7.2 | 1.2×10^{-4} | 4.2 | 3.6 | 9.0 |
| Hop bark | | 1.2×10^{-4} | 2.7 | 4.5 | 10.8 | 1.2×10^{-4} | 4.5 | 4.2 | 4.8 |
| Rice hull | | 1.2×10^{-4} | 1.8 | 3.0 | 4.8 | 1.2×10^{-4} | 1.2 | 3.0 | 3.0 |
| Rice straw | | 1.2×10^{-4} | 6.9 | 9.6 | 11.7 | 1.2×10^{-4} | 2.4 | 11.2 | 7.2 |
| Saw duts | | 1.2×10^{-4} | 0.1 | 1.2 | 1.3 | 1.2×10^{-4} | 1.2 | 1.6 | 1.5 |
| spent rye | | 1.2×10^{-4} | 0.15 | 10.2 | 9.0 | 1.2×10^{-4} | 0.8 | 5.1 | 3.9 |
| used newspaper | | 1.2×10^{-4} | 0.06 | 0.6 | 0.96 | 1.2×10^{-4} | 0.24 | 0.72 | 0.72 |

小를 나타내었다. 이는 本實驗에서는 시료의 분쇄정도가 커서 알칼리가용성물질이 처리과정에서 溶出되었기 때문인 것으로 짐작된다.

7. 纖維素廢資源에 따른 菌體生産

C. utilis 및 *A. phoenicis*의 半固體 混合培養에 의한 사입박, 호프박, 주정박, 왕겨, 벚짚, 톱밥, 폐지등 여러가지 纖維素廢資源으로부터의 真菌類 蛋白質의 生成能 및 細胞數의 增加를 T-

Table 10. Chemical composition of fermented cellulosic wastes by the mixed culture of *C. utilis* and *A. phoenicis*.

| Materials | Single (S) or Mixed(M) culture | Protein | crude Cellulose | Lignin | crude Fat | Alcohol Benzene Extract | unit: % |
|-------------|--------------------------------------|---------|--------------------|--------|--------------|-------------------------------|------------------------------------|
| | | | | | | | Warm-water Soluble Substrate |
| Spent grain | S | 22.1 | 28.6 | 25.1 | 0.3 | 3.2 | 11.0 |
| | M | 28.9 | 3.9 | 32.8 | 0.3 | 4.3 | 20.1 |
| Hop bark | S | 27.3 | 10.5 | 36.9 | 0.6 | 2.4 | 12.8 |
| | M | 30.1 | 2.6 | 38.8 | 0.7 | 3.8 | 15.6 |
| Rice hull | S | 5.2 | 35.7 | 27.6 | 0.6 | 2.4 | 9.2 |
| | M | 5.5 | 34.6 | 29.6 | 0.1 | 2.4 | 8.5 |
| Rice straw | S | 11.7 | 31.1 | 18.5 | 0.2 | 2.3 | 16.6 |
| | M | 13.2 | 26.5 | 23.7 | 0.4 | 2.2 | 14.4 |
| Saw dust | S | 5.4 | 47.2 | 29.0 | 0.2 | 1.6 | 4.7 |
| | M | 5.4 | 49.1 | 26.9 | 0.2 | 2.1 | 4.4 |
| Spent rye | S | 23.4 | 26.2 | 20.1 | 0.6 | 4.7 | 11.0 |
| | M | 27.3 | 4.15 | 23.4 | 0.4 | 1.6 | 18.8 |

Table 8 및 Table 9에 각각 表示하였다. 酵母의 生長은 폐지에서는 약간 부진한 편이었으나 사입박, 벗짚, 호프박, 주정박 등에 있어서는 양호하였다. 이들 섬유소 폐자원의 단백질 함량은 微生物의 培養으로 보다 增加하였는데 그 효율은 *C. utilis* 및 *A. phoenicis* 混合培養이 *C. utilis* 單獨培養에 비해 월등히 컸다. 특히 사입박, 호프박, 주정박 등에 있어서는 단백질 함량이 크게 증가하였는데, 사입박의 경우에는 *C. utilis* 단독배양에서도 약 2.5배 가량 증가하였고 혼합배양에서는 4배 가량 증가하였다. 벗짚 및 호프박의 단백질 함량은 반고체 혼합배양으로 각각 약 2배 가량 증가하였고, 주정박, 톱밥, 왕겨 등은 각각 약 1.5배 가량 증가하였다.

Table 10에서 보는 바와 같이 *C. utilis* 및 *A. phoenicis*의 혼합배양으로 사입박, 주정박, 호프박 및 벗짚 등의 단백질 함량은 크게 증가한 반면에 이들의 조섬유소 함량은 상대적으로 크게 감소하였다. 또한 혼합배양으로 단백질 뿐만 아니라 리그닌 및 들에 가용성인 물질의 함량도 일반적으로 증가하였고, 호프박 및 주정박 등에 있어서는 조지방의 양도 약간 증가하였다.

摘 要

사입박, 호프박, 주정박 및 벗짚 등 섬유소폐

자원의 단백질 함량을 *C. utilis* 및 *A. phoenicis*의 반고체 혼합배양으로 크게 증대시킬 수 있었다. 이들 섬유소 폐자원의 단백질 함량은 수분 함량이 10% 내외인 상태에서 30% 내외로 까지 (벗짚에 있어서는 12% 정도) 증가시킬 수 있었으며, 배양전에 비해 사입박에 있어서 4배, 호프박 및 벗짚에서는 2배, 그리고 주정박에서는 1.5배 가량 증가하였다. 특히 호프박은 부패가 잘되지 않아 처리문제로 어려움을 안고있는 섬유소 폐자원인데 *C. utilis* 및 *A. phoenicis*의 혼합배양으로 이를 사료화 할 수 있다는 가능성을 얻게 되었다. 따라서 이들 폐자원 사료의 동물실험에서 다른 장애가 발생하지 않는다면 혼합배양으로 영양가가 증진된 양질의 사료를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Achremowicz, B., F.V. Kosikowski and K. Masuyama. 1977. Mixed cultures of different yeasts species and yeasts with filamentous fungi in the SCP production: I. Production of single cell protein by mixed cultures *Candida lipolytica* and *Candida tropicalis*. *Acta Microbiol Pol* 26(3) : 265-272
2. Attia, R.M. and S.A. Ali, 1977. Utilization of

- agricultural wastes by *Aspergillus awamori* for the production of glucoamylase. Zentralbl Bakteri-ol Parasitenkd Infektionskr Hyg Zweite Naturwiss Abt Allg Landwirtsch Tech Mikrobiol 132(4) : 322-325
3. Bae, M., B.H. Kim. 1974. Studies on the microbial utilization of agricultural wastes(Part 3): *Korean J.P. Appld. Microbiol. Bioeng.* 2 : 79-82
 4. Han, Y.W. and A.W. Anderson. 1975. Semisolid fermentation of ryegrass straw. *Appld. Microbiol.* 30 : 630-934
 5. Han, Y.W., P.L. Yu, and S.K. Smith. 1978. Alkalitreatment and fermentation of straw for animal feed. *Biotech. Bioeng.* 20 : 1015-1026
 6. Hasseltine, C.W. 1972. Solid state fermentation. *Biotech. Bioeng.* 14 : 517-532
 7. Hazra, A.K., S.K. Bose., and B.C. Guha. 1958. A rapid method of survey of cellulosic power of fungi, *Sci. Culture* 24(1) : 39-40
 8. Herbert, D., P.J.Phipps and R.E. Strange. 1971. Chemical extractional methods of microbial cells. in "Method in microbiology": 5B. 244-249
 9. Lee, Y.N., and Y.K. Park. 1977. Cellulase activities of Aspergilli distributed in South Korea. *Kor. J. i microbiol* 15 : 113-121
 10. Lee, Y.N., Y.K. Park and S.K. Koh. 1980. On a highly proteolytic mutant strain of *Aspergillus flavus* in press.
 11. Lindenfelser, L.A. and A. Ciegler. 1975. Solid substrate fermentation for ochratoxin A production. *Appl. Microbiol.* 29 : 323-327
 12. Lowry, O.H., N.J. Resenbrough, A.L. Farr. and R.J. Ranolall. 1951. Protein measure ment with the Folin Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265-275
 13. Mizukoshi, S., H. Sugi, H. Mori, and M. Ichihashi. 1977. Production of cellulase from *Pellicularia filamentosa*. *Ferment. Tech.* 55 : 548-552
 14. Moo-Young, M., D.S. Chahal. and D. Vlach. 1978. Single cell protein from various chemically pretreated wood substrates using *Chaetomium cellulolyticum*. *Biotech Bioeng.* 20 : 107-118
 15. Mcreton, R.S. 1978. Growth of *Candida utilis* on enzymatically hydrolyzed potato waste. *J. Appl. Bacteriol* 44(3) : 373-382
 16. Nelson, N., 1944. A photometric adaptation of the Somogi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* 195 : 375-380
 17. Raper and Faennell. 1965. The genus *Aspergillus*.
 18. Raper, Thom and Fannell. 1949. A manual of Pencillia.
 19. Rifai., 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. mycological paper No. 16.
 20. Somogy, M. 1952 Notes on sugar determinations. *J. Biol. Chem.* 153 : 375-380
 21. TAPPI Standard Method, 1961 Technical Association of Pulp and Paper Industry.