

Soybean Whey에 培養한 *Candida guilliermondii*의 菌體組成

李 江 子

嶺南大學校 家政大學

(1982년 1월 10일)

The Composition of *Candida guilliermondii* Grown in Soybean Whey

Kang Ja Lee

College of Home Economics, Yeungnam University

(Received January 10, 1982)

Abstract

A strain of yeast (*Candida guilliermondii* KFCC 35120) was cultivated by using the soybean whey with supplement of blackstrap molasses (4%) and ammonium acetate (0.5%). By the cultivation continued for 48 hours, 8.1g of dry cell was produced.

The cell was consisted of carbohydrate 39.3%, protein 40.5%, lipid 3.9%, nucleic acid 9% and ashes 6%. The protein was analyzed to contain 18% of glutamic acid and 10% of lysine. Other amino acids showed a content near that of FAO reference protein except Methionine.

Total lipid content was varied by nutritional condition especially by the kind of carbon source, however it showed a content 1.7 to 2.5 times higher than that of *Saccharomyces cerevisiae*.

The lipid contain 48% of oleic acid, 17% linoleic acid and 4% linolenic acid. The content of linoleic and lonolenic acid was higher than that of *S.cerevisiae* by 9 and 24 times, respectively.

序 論

世界的으로 急激한 人口增加로 말미암아 深刻한 食糧問題에 逢着하게 되었으며, 그 中에서도 特히 蛋白質資源의 不足으로 因하여 幼兒 死亡率의 增加를 招來하고 있으며¹⁾, 아시아 및 아프리카의 넓은 地域에 걸쳐 Kwashiorkor이나 Marasmus와 같은 營養障礙現象이 蔓延되고 있는 實情으로 앞으로도 增加될 展望이다.^{2,3)} 이로서 蛋白質資源不足問題는 人間의 生存을 爲하여 時急히 解決하여야 할 課題로 登場되었다. 이를 爲하여 세균, 細菌, 곰팡이, 크로테라 等을 利用한 菌體蛋白生產이 試圖되고 있으나 現在로서는 酵母가 主軸을 이루고 있으며^{4,5)} 그 가운데서도 *Candida* 屬 酵母가 主된 生產菌株로 利用되고 있다.^{6,7)} 그러나 酵母菌體를 直接 人間의 食品 또는 家畜의 飼料로 利用하는

境遇에 衛生面과 아울러 營養的 價值가 優先的으로 檢討되어야 할 것이다.⁸⁾

이런 見地에서 豆腐製造 後 放流되는 soybean whey를 利用하여 酵母菌體를 生產하고 菌體의 一般成分 및 蛋白質含量과 amino acid 및 脂肪酸 組成을 檢討하였다.

材料 및 方法

1. 供試 菌株

供試 菌株는 *Candida guilliermondii* (KFCC 35120)와 *Saccharomyces cerevisiae* (KFCC 35123)를 使用하였다.

2. 培 地

工場에서 豆腐製造 後 放流되는 soybean whey(以下 whey로 略함)를 牧去하여 遠心分離하여 固形物을 除去하고 여기에 ammonium acetate(0.5%)와 糜糖蜜

(4.0%) 또는 2% glucose 를 添加하여 0.75kg/cm² 에서 10분間 加壓殺菌하였다.

菌株保存에는 2%의 塞天을 添加한 yeast-malt extract 培地⁹⁾를 使用하였다.

3. 菌體培養

30°C에서 15~20時間 振盪培養(1.0cm×90 strokes/min)한 것을 種菌으로 하여 2l의 Jar fermenter 로서 48時間 通氣培養하였다.

種菌 接種量은 培養液의 5%를 標準으로 하였다.

4. 菌體成分 分析

菌體成分은 以下 記述하는 各項의 方法에 따라 分析하였다.

① 糖 : 乾燥菌體를 2N-HCl 을 使用하여 105°C에서 24時間 密封 加水分解한 後 anthrone sulfate 法¹⁰⁾에 準하여 定量하였다.

② 粗脂肪 : ethyl-ether(1:1)를 溶媒로 하여 soxhlet 法으로 抽出한 後 60°C에서 15時間 乾燥하여 秤量하였다.

③ 蛋白質 : 1N NaOH 로 100°C에서 10분間 加熱 抽出한 後 Lowry 法¹¹⁾으로 定量하였다.

④ 核酸 : Schmidt-Tanhauser-Schneider의 分割法¹²⁾에 準하여 RNA 및 DNA 를 分割 抽出하고 각各 orcinol 法¹²⁾ 및 Diphenyl amine 法¹²⁾으로 定量하였다.

⑤ 灰分 : 600°C에서 9時間 灰化한 後 秤量하였다.

⑥ 아미노酸 : 乾燥菌體에 0.04%의 2-mercaptoethanal 을 含有한 6N-HCl 로 減壓密封한 後 110°C에서 24時間 加水分解하였다. 이것을 瀝過하여 減壓乾燥시킨 後 여기에 sodium citrate buffer(pH 2.2)를 加하여 稀釋하고 amino acid 自動分析器(Hitachi, KLA-5)로 分析하였다.

秤量標準液으로는 和光純藥(株)의 amino acid 混合液을 使用하였다.

⑦ 脂肪酸 分析 : 脂肪을 0.5N NaOH 로 加水分解하여 生成된 脂肪酸을 Fire stone 과 Horwitz의 方法¹³⁾에 따라 BF₃-methanol 로 메틸화 시킨 後 gas liquid chromatograph(Hitachi, GLC-163)를 使用하여 分析하였다.

結果 및 考察

1. 菌體培養

廢糖蜜 및 ammonium acetate 를 添加하여 48時間 培養하고 菌體 生成量을 檢討한 結果 Table 1과 같이 liter 當 乾燥菌體 8.1g 과 蛋白質 2.9g 이 生產되었다.

2. 菌體 分析

① 一般分析 : 菌體의 成分을 分析한 結果 Table 2와

Table 1. Productivity of yeast cell and Protein

	Productivity(g/liter)
Dry cell	3.1
Protein	2.9

Table 2. Composition of yeast cell

Component	Content(%)
Carbohydrate	39.3
Lipid	3.9
Protein	40.5
Ash	6.0
Ribonucleic acid	8.5
Deoxyribonucleic acid	0.6

같이 蛋白質과 炭水化物이 各各 約 40%로서 全體의 80%를 點하였으며 核酸 約 9%, 脂質 約 4%, 灰分 6%를 含有하였다. 이리한 菌體의 組成은 酵母菌體의一般的 組成¹⁴⁾인 蛋白質 38~70%, 脂質 2~6%, 炭水化物 24~37%, 灰分 3~9%와 거의 一致하는 組成으로서 廉價을 利用한 他菌體 生產의 境遇에 比較하면 cheese whey 로 培養한 *P. frequentans*¹⁵⁾의 蛋白質 39.8%, 核酸 10.5%, *C. utilis*¹⁶⁾의 蛋白質 42%, 核酸 8%와도 거의 近似한 組成이다.

② 아미노酸 組成 : 培養菌體로부터 抽出한 蛋白質의 amino acid 組成은 Table 3과 같이 lysine 과 glutamic acid가 各各 10%와 17%로서 가장 높은 含量을 나타내었다.

이 組成은 FAO의 provisional amino acid scoring

Table 3. Amino acid composition of the yeast protein (unit:mg/g protein)

Amino acid	FAO ref. protein	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. guilliermondii</i>
Lysine	55	97.0	106.6
Threonine	40	50.0	53.4
Valine	50	57.6	64.0
Methionine	35	11.0	11.4
Isoleucine	40	49.5	53.3
Leucine	70	68.2	77.2
Phenylalanine	60	38.8	47.0
Tryptophan	10	trace	trace
Histidine		29.3	31.5
Arginine		60.1	55.6
Aspartic acid		48.3	71.9
Serine		47.4	47.7
Glutamic acid		220.3	172.5
Proline		39.4	39.0
Alanine		61.1	69.2
Cystine		3.4	3.4
Glycine		49.7	53.5
Tyrosine		34.4	40.5

Amino acids were analyzed by using the autoanalyzer (Hitachi KLA-5)

pattern¹⁷⁾에 比하여 methionine과 tryptophan 含量은 낮으나 lysine이 높았으며 그 外의 amino acid 含量은 近似하였다.

같은 酵母인 對照의 *S. cerevisiae* 및 *S. fragilis*¹⁸⁾와 도 全體의 으로 類似한 組成을 나타내었으며 Chlorella¹⁹⁾에 比하여는 芳香族 amino acid 含量은 낮은 反面에 lysine 含量이 特히 높았다.

本 結果로 미루어 *C. guilliermondii*의 蛋白質은 豚類蛋白質에 不足되기 쉬운 lysine을 多量 包含하고 있는 것은 注目할 만하다.

한편 amino acid 組成은 使用한 炭素源의 種類에 影響을 받아 glucose를 添加하여 培養한 菌體는 Table 4와 같이 whey에 糖蜜을 添加하여 培養한 菌體에 比하여 aspartic acid가 顯著히 增加된 反面에 arginine과 含硫黃 amino acid가 減少하였으며 다른 必須 amino acid 類들도 糖蜜 添加區에 比하여 全般的으로 減少하였다.

Table 4. Amino acid composition of protein extracted from the cells of *C. guilliermondii* grown on glucose-enriched medium without addition of molasses.

(unit: mg/g protein)

Amino acid	Content	Amino acid	Content
Lysine	100.3	Arginine	50.6
Threonine	51.3	Aspartic acid	93.7
Valine	63.3	Serine	50.4
Methionine	10.0	Glutamic acid	179.1
Isoleucine	51.3	Proline	31.1
Leucine	73.4	Alanine	63.1
Phenylalanine	45.5	Cystine	1.6
Tryptophan	trace	Glycine	49.3
Histidine	30.1	Tyrosine	39.7

A 2% glucose was added instead of molasses.

③ 脂肪 含量 및 脂肪酸 組成 : Table 5와 같이 *C. guilliermondii*가 對照의 *S. cerevisiae*보다 1.7~2.5倍의 높은 脂肪 含量을 나타내었으며 兩菌株가 같은 whey 單獨으로 培養한 菌體가 糖蜜을 添加하여 培

Table 5. Lipid content in the yeast growth with or without supplement of molasses

(unit: %)

Yeast	Crude fat
<i>C. guilliermondii</i>	
Whey	5.79
Whey+molasses	2.82
<i>S. cerevisiae</i>	
Whey	2.33
Whey+molasses	1.65

養한 菌體보다 約 2倍의 높은 含量을 나타내었다.

本 結果로 미루어 菌體의 脂質 含量은 培養條件에 依하여 크게 影響을 받는 것으로 判斷된다.

菌體의 脂肪酸 組成은 Table 6과 같이 oleic acid가 48%로서 가장 높은 含量을 나타내었고 linoleic acid와 linolenic acid 含量이 각각 約 17% 및 4%로서 *S. cerevisiae*에 比하여 각각 約 9倍와 24倍에 達한 反面에 palmitic acid 含量은 約 5.5%로서 *S. cerevisiae*에 比하여 낮았다(約 1/7).

Table 6. Fatty acid composition of the yeast lipid
(unit: %)

Fatty acid	<i>C. guilliermondii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
12:0	0.05	0.10
14:0	0.16	0.40
16:0	13.54	8.57
16:1	5.54	39.32
18:0	6.22	5.26
18:1	48.05	42.54
18:2	17.05	1.95
18:3	4.33	0.18
Others	5.06	1.68

要 約

豆腐 製造時 放流되는 soybean whey에 4%의 糖蜜 및 0.5% ammonium acetate를 添加하여 *Candida guilliermondii*(KFCC 35120)를 培養하여 liter 當 8.1 g의 乾燥菌體를 얻었으며 菌體 分析 結果는 다음과 같다.

- 乾燥菌體는 炭水化物 39.3%, 蛋白質 40.5%, 脂質 3.9%, 核酸 9%, 灰分 6%를 含有하였다.
- Amino acid 組成은 lysine 含量이 約 10%이었고 glutamic acid가 18%로서 가장 높은 含量을 나타내었다.

3. 脂肪含量은 *C. guilliermondii*가 對照의 *S. cerevisiae*보다 1.7~2.5倍 높은 含量을 나타내었으며 兩菌株가 모두 whey 單獨으로 培養한 菌體가 糖蜜을 添加한 것 보다 約 2倍의 높은 含量을 나타내었다.

菌體의 脂肪酸 組成은 oleic acid가 48%로서 가장 높은 含量을 나타내었고, linoleic acid와 linolenic acid 含量이 각각 17% 및 4%로서 *S. cerevisiae*에 比하여 각각 9倍와 24倍에 達한 反面에 palmitic acid 含量은 約 5.5%로서 *S. cerevisiae*에 比하여 낮았다.

謝 意

本 研究는 文教部 學術研究助成費에 의하여 이루어 진 것으로 文教部 當局에 감사드린다.

文 獻

1. Hegsted, O.M.: WHO/UNICEF—Protein Advisory Group, News Bulletin **6**, 13(1966)
2. Champagnat, A. Scientific American. **213**, 13 (1965)
3. FAO. The state of food and agriculture Rome (1965)
4. 關泰益: 食品科學, **11**, 4(1978)
5. Museng, H.M., J.G. Anderson and R.S. Holdom: *Biotech. letters*, **2**, 35(1980)
6. Lipinsk, E.S. and J.H. Litchfield: *Food Techol.*, May, 16(1974)
7. Rogers, P.L.: *J. Food Technol.*, Australlia, **30**, 109(1978)
8. Svetlana, G.K.: *Ann. Rev. Microbial.*, **32**, 301 (1978)
9. Lodder, J.: The yeasts, The Avi publishing Co., North-Holland, **39**(1970)
10. 福井作藏: 還元糖 定量法, 東京大學出版會(東京)
- 47(1974)
11. Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr. and R.J. Randal. *J. Biol. chem.*, **193**, 265(1951)
12. 水野重樹: 核酸の一般的分離定量法, 東京大學出版會(東京) 78(1973)
13. Fire stone, D. and W. Horwitz: *J. Assoc. off. Anal Chem.*, **62**, 709(1979)
14. 山田浩一: 微生物 利用學 概論, 地球社(東京), 68 (1974)
15. Abraham, M.J. and R.A. strinivasan.: *J. Food. Sci. and Technol. in India*, **16**, 11(1979)
16. Gierhart, D.L. and N.N. Potter: *J. Food. sci.*, **43**, 1705(1978)
17. Energy and protein Requirements, FAO Nutrition Meetings Rept Series 52, and WHO Tech. Rept. series 522, Rome: *Food and Agr. Organ.*, 63(1973)
18. Rory, A.M., D.R. Kennedy and B.D. wally: *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 1177(1975)
19. 満田久輝: 榆養と食糧, **20**, 16(1967)