KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 15, *No.* 1 (1983)

탄소원과 다른 영양원간의 영양균형이 *Sporobolomyces holsaticus*의 균체생육도에 미치는 영향

박완수 · 구영조 · 신동화 · 민병용

농어촌개발공사 식품연구소

(1982年 11月 1日 수리)

The Effect of Nutritional Balance between Carbon and other Nutrient Sources on the Growth of *Sporobolomyces holsaticus*

Wan Soo Park, Young Jo Koo, Dong Hwa Shin and Byung Yong Min

Food Research Institute, AFDC, Hwasung-kun Kyunggi-do 170-31, Korea

(Received November 1, 1982)

Abstract

Direct production of biomass from starch using amylolytic yeast, *Sporobolomyces holsaticus* FRI Y-5 was studied with varying the ratios between carbon and other nutrient sources in the medium. It was investigated under condition of constant C/P and C/S ratio to influence the initial concentration of starch (S_0) and C/N ratio on its growth which is described as the specific growth rate (μ), cell yield (Y), the maximum concentration of cell (X_m), and productivity (P). They were very dependent on both S_0 and C/N ratio. The form of the relationship between μ and S_0 was observed to be similar to saturation kinetics atC/N = 100 but presented substrate inhibition at other C/N ratios. As S_0 was changed from 22.5 to 90 g/l, Y was observed to vary with C/N ratios but seemed to decrease as a whole. X_m was linearly related to S_0 at more than C/N = 50 but at less than C/N = 10 substrate inhibition was presented. P increased suddenly to S_0 = 45 g/l and then changed decreasingly at less than C/N = 50, but at more than C/N = 100 it changed increasingly. The effect of C/P ratio and C/S ratio on the yeast growth was also investigated at constant S_0 and C/N ratio. μ was dependent on C/P and C/S ratios, but Y, independent on them. But X_M was reliant upon C/P ratio but not upon C/S ratio.

서 론

전보에서 저자 등[1]은 전분으로부터 효모균체를 직접 생산하기 위하여 전분이용성 효모를 분리 · 동정하였고 그것에 대한 기본적인 배양조건을 검토하여[2] 보고한 바 있다.

본보에서는 다당류인 전분질로부터 균체의 직접 생산 시 중요한 인자들로 사료되는 비성장속도, 최대균체량, 균체수율 및 균체생산속도에 대한 탄소원과 다른 영양원간의 영양균형의 효과를 검토하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

사용균주 및 사용배지조성

사용균주는 전보[1,2]에서 보고한 *Sporobolomyces holsaticus* FRI Y-5을 사용하였다.

배지조성은 전보[2]에서 보고한 것을 기초로하여 Table 1과 같이 설정하였다.

Table 1. The designed medium composition for *S. holsaticus* FRI Y-5

Components	Concentration (g/l)
Soluble starch	22.5~90.0
Urea	0.0858~17.149
$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$	0.3022~15.111
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.4617~23.083
K_2SO_4	0.0174 ($10^{-4}M$)
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.0287($10^{-4}M$)
pH 6.9	

배지살균은 121℃에서 15분간 행하였고, 배지의 pH는 살균후 HCl 용액이나 NaOH 용액을 사용하여 pH 6.9로 조절하였다.

배양방법

모든 실험은 500ml 삼각플라스크에 배지 150ml을 넣어 왕복식수조진탕기로 stroke 120, 진폭 3.5cm에서 수행하였으며 이때 배양온도는 23℃로 하였다.

접종은 보존균주를 액체배지에 30시간 증식시켜 접종원으로 사용하였으며 접종량은 5%로 하였다.

분석방법

가. 건조균체량, 비성장속도, 전분함량, 균체수율—전보[1,2]에 준하였다.

나. 균체생산속도(productivity)[3]—회분식 진탕배양에서의 균체생산성은 최대건조균체량을 그 때까지 소요된 배양시간에 대한 비로서 계산하였다.

결과 및 고찰

비성장속도에 대한 초기전분농도와 C/N비의 영향

비성장속도에 대한 배지의 초기전분농도와 그 때의 C/N비의 영향을 검토하기 위하여 초기전분농도는 22.5 g/l에서 90g/l까지의 범위로 하였으며 그 때의 C/N비는 각 전분농도에서 5에서 500까지 되게 하였다. 이때 C/P비와 C/S비는 각각 33.33과 100으로 일정하게 하였다. 이러한 일련의 실험결과는 Fig. 1과 Fig. 2에서와 같다.

1949年 Monod[4]는 성장속도와 기질농도사이에 단분자흡착현상과 비슷한 saturation kinetics 현상을 관찰하였는데, Fig. 1에서 보여주듯이, C/N비가 100일 때만 이러한 전형적인 현상을 관찰할 수 있었고, 그밖의 C/N비에서는 전분농도가 증가함에 따라 비성장속도가 증가하나 전분농도 약 60g/l 이상에서는 감소하였다. 이

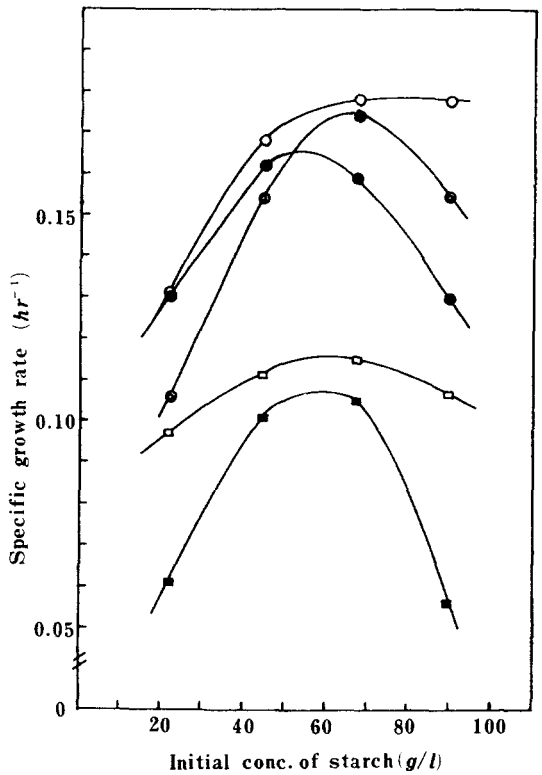

Fig. 1. Effect of the initial conc. of starch on the specific growth rate with varying the C/N ratios(■—■ 5, □—□ 10, ●—● 50, ○—○ 100 and ◎—◎ 500)

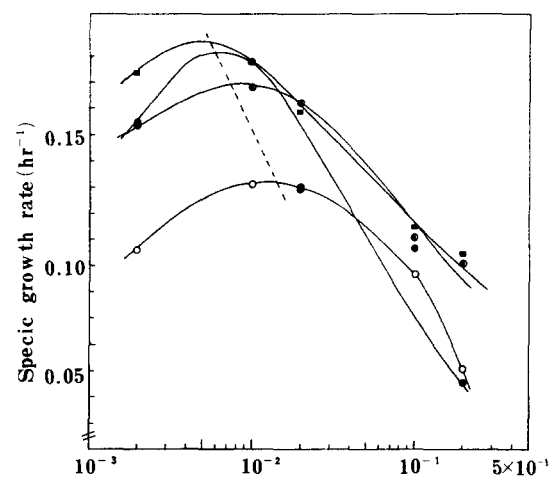

Fig. 2. Effect of the initial N/C ratios on the specific growth rate varying the initial conc. of starch (○—○ 22.5g/l, ◎—◎ 45g/l, ■—■ 67.5g/l, and ●—● 90g/l)

러한 사실은 C/N 비가 100 이상일 때는 질소원 보다는 상대적으로 많은 탄소원인 탄수화물의 삼투압에 의한 저해작용이 있다고 사료되며, 이는 석유탄화수소에서와 같이 초기탄소원농도가 비성장속도에 영향을 끼치지 않는다[5]는 사실과는 다르며 고농도의 전분을 사용할 수 없음을 나타내고 있다. 반면 100이하일 때는 탄소원에 비해 상대적으로 질소원의 함량이 많아 질소원인 요소의 저해작용이 크다고 사료되며, 이러한 사실은 Fig. 2에서 더욱 명확히 알 수 있다.

전체적으로 C/N 비가 증가함에 따라 비성장속도는 증가하다 감소하는 경향을 보여 주었으며, V. Carrizalez 등[6]이 보고한 *A. niger*의 경우와 일치한다. 이때 각 전분농도에서 최대비성장속도를 나타내는 C/N비는 전분농도가 증가할수록 증가하는 경향을 보여주었으며 일정한 직선(Fig. 2의 점선) 상에 놓여있는 것으로 관찰되었다. 이러한 사실은 최대비성장속도를 나타내는 질소의 절대요구량이 0.14~0.15*g/l*로 일정함을 나타내며, 이러한 제한농도이상일 때 저해작용을 일으켰다. 그러나 탄소원 저해작용을 일으키는 전분농도 90*g/l*에서는 최대비성장속도를 보여주는 질소의 절대요구량이 감소함을 보여주었다.

균체수율에 대한 초기전분농도 및 C/N비의 영향

균체생산에 있어 균체수율은 중요한 요인중의 하나로 앞서 언급한 비성장속도와 같은 실험조건하에서 전분의 첨가량별 실험결과는 Fig. 3와 같다.

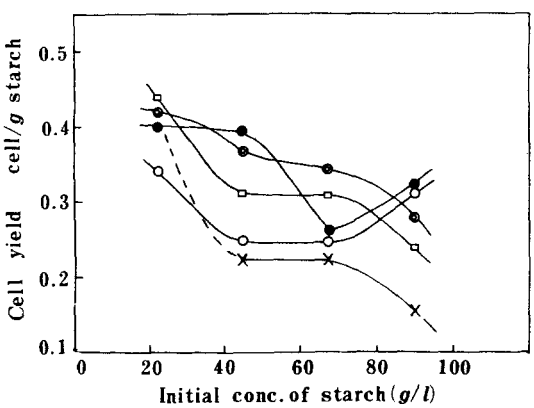

Fig. 3. Effect of the initial conc. of starch on the on the cell yield with varying the initial C/N ratios (×—× 5, □—□ 10, ◎—◎ 50, ●—● 100 and ○—○ 500)

전분의 첨가량증가에 따라 전반적으로 전분중량에 대한 균체수율이 떨어지고 있는데 이러한 결과는 강(1974年)[7]과 N. Okada 등[8] (1980)의 결과와 일치한다. C/N 비가 50 이하일 경우에는 45*g/l*~67.6*g/l*의 전분농도에서는 균체수율이 거의 일정하였는데 그 결과는 Aiba[9]의 실험결과와 일치한다. 그러나 C/N 비가 100, 500일 경우에는 전분첨가량이 증가할수록 균체수율은 감소하다 다시 증가하는 결과를 얻었는데 이러한 특이한 현상은 탄소원에 비해 상대적으로 적은 질소원의 첨가량에 기인하는 것으로 사료되며, 이러한 질소원의 첨가량에 의한 영향은 Fig. 4에서와 같다.

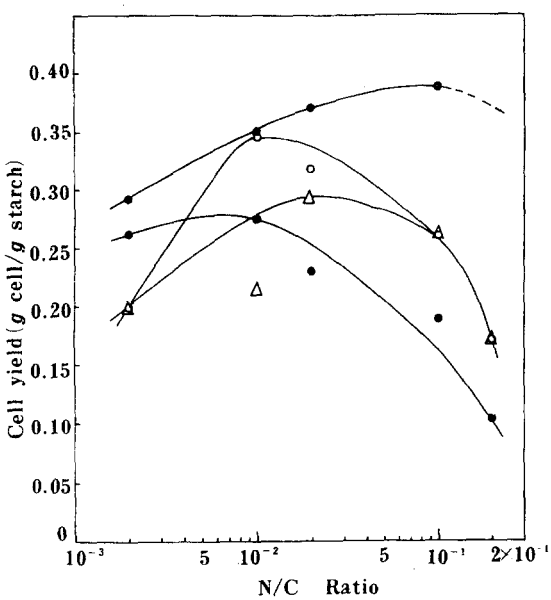

Fig. 4. Effect of the initial N/C ratios on the cell yield with varying the initial conc. of starch (◎—◎ 22.5 *g/l*, ○—○ 45*g/l*, △—△ 67.5*g/l* and ●—● 90*g/l*)

전체적으로 C/N 비가 감소할수록, 즉 질소원의 첨가량이 증가할수록 균체수율은 증가하다 감소하는 경향을 가지고 있으며 이러한 결과는 N. Okada[8]의 실험결과와 일치한다. 그러나 전분농도 22.5*g/l* 일때 C/N 비가 500에서 5까지의 실험범위에서는 균체수율은 계속 증가하는 결과를 얻었다.

이상의 결과에서 탄소원과 질소원의 균체수율에 대한 영향은 다르게 나타났으며 탄소원의 경제적 첨가량은 45*g/l*~67.5*g/l*이며 그때의 C/N 비는 50~100이 적당하다고 사료된다.

최대균체량에 대한 초기전분농도와 C/N비의 영향

비성장속도와 같은 실험조건하에서 진탕배양시 축적되는 최대균체량에 대한 초기전분농도와 C/N 비의 영향을 검토한 결과는 Fig. 5와 Fig. 6에서와 같다.

이러한 초기전분농도의 영향은 C/N 비에 따라서 일정한 경향을 갖고 있는 것으로 나타났다. 즉 C/N비가

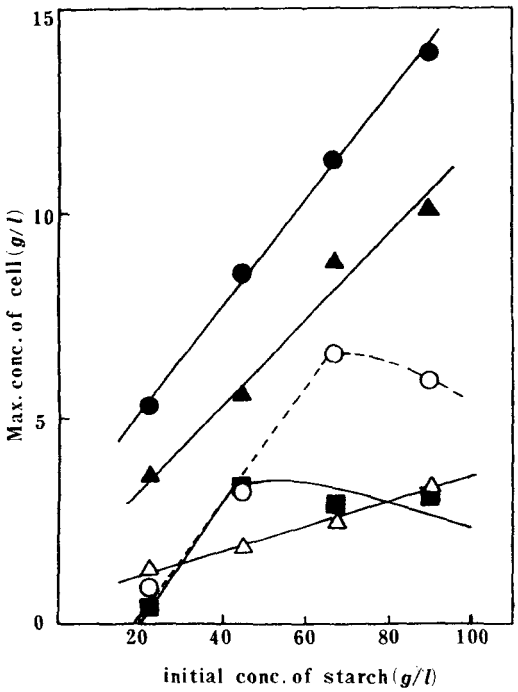

Fig. 5. Effect of the initial conc. of starch on the max. conc. of cell with varying the C/N ratios (■—■ 5, ○—○ 10, ●—● 50, ▲—▲ 100 and △—△ 500)

50 이상일 경우에는 전분농도가 증가함에 따라 최대 균체량은 직선적으로 증가하며[10], C/N비가 증가함수록 다시 말하면 질소원의 함량이 상대적으로 감소함에 따라 최대균체량의 축적효과는 감소하였다. 그러나 C/N 비가 50 미만일 경우에는 전분농도가 증가함에 따라 최대균체량은 증가하다 감소하는 저해작용을 관찰할 수 있는데[7,8,11], 이는 C/N 비가 감소할수록 질소원의 절대함량이 최대균체량에 미치는 저해효과가 탄소원보다 크다고 사료된다.

이러한 질소원의 영향은 Fig. 6에서 보다 확실하게 알 수 있다. 전분농도와는 무관하게 C/N비 50을 중심으로 상승효과와 저해효과부분으로 구별되며, 이러한 결과는 N. Okada[8]등과 정[11] 등의 결과와 일치한다. C/N비 50에서 전분농도가 증가함에 따라 질소원의 절대함량이 증가되어야만 최대균체량을 얻을 수 있음을 알 수 있다. 이러한 사실은 최대균체량을 얻기 위해서는 탄소원과 질소원의 영향균형이 중요한 요인임을 암시한다[12].

균체생산속도에 대한 초기전분농도 및 C/N비의 영향

균체생산시 균체수율외에 중요한 요인중의 하나로 균체생산속도(Productivity)를 고려할 수 있는데 이에 대한 전분첨가량과 그때의 C/N 비의 영향을 검토한 결과는 각각 Fig. 7과 Fig. 8에서와 같다.

Fig. 7에서 보는 바와같이 전분첨가량의 영향은 C/N 비에 따라서 일정한 경향을 가지고 있는데 C/N 비가 50

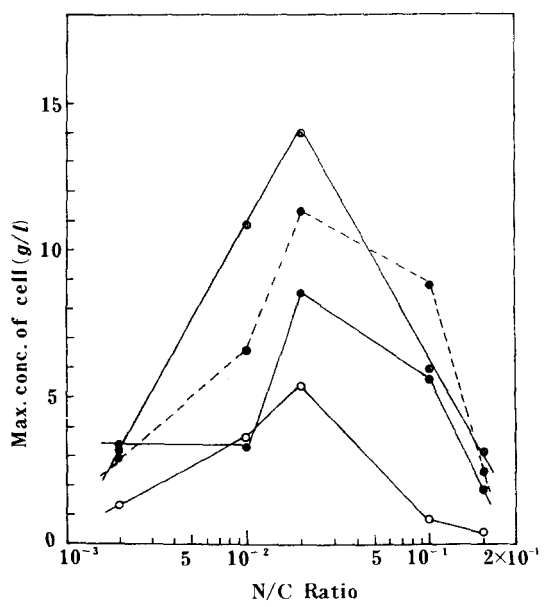

Fig. 6. Effect of the initial N/C ratio on the max. conc. of cell with varying the initial conc. of starch (○—○ 22.5g/l, ●—● 45g/l, ●···● 67.5g/l, and ◎—◎ 90g/l)

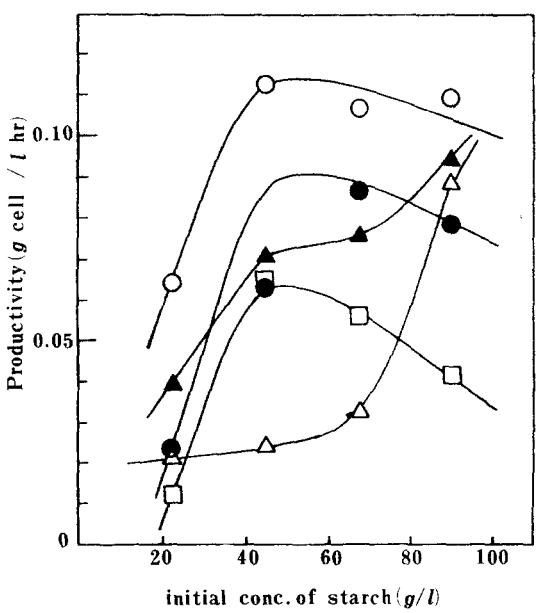

Fig. 7. Effect of the initial conc. of starch on the productivity with varying the initial C/N ratios (□—□ 5, ●—● 10, ○—○ 50, ▲—▲ 100 and △—△ 500)

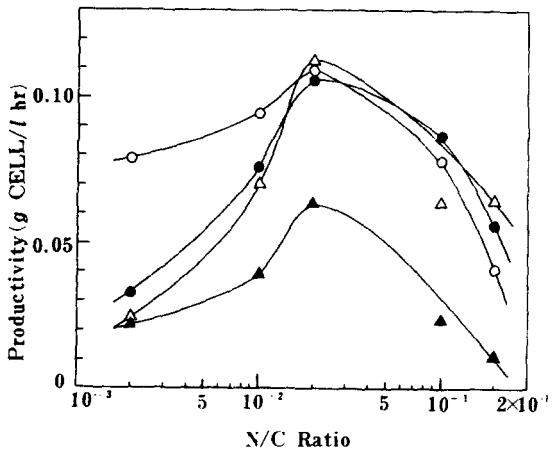

Fig. 8. Effect of the initial N/C ratio on the productivity with varying the initial conc. of starch (▲—▲ 22.5g/l, △—△ 45g/l, ●—● 67.5g/l, ○—○ 90g/l)

이하일 경우에는 전분농도가 증가할수록 균체생산속도는 증가하다 감소하며 그때의 최대값은 전분 첨가량이 45g/l일 때였다. 그러나 C/N 비가 100 이상일 경우 전분첨가량이 증가할수록 균체생산속도도 점진적으로 증가하였다. 이러한 사실은 탄소원에 비해 상대적으로 질소원의 함량이 높은, C/N 비가 50 이하의 낮은 범위에서는 질소원의 영향이 큰 것으로 사료되며 이러한 사실은 Fig. 8에서 더욱 명확해진다.

전체적으로 질소원의 함량이 증가할수록 균체생산속도는 증가하다 감소하는 경향을 보여주고 있으며 그때의 최대값은 C/N 비가 50일 때였다.

이상의 결과로 균체생산속도는 탄소원과 그에 따른 C/N비에 크게 영향을 받으며, 진탕배양시 전분농도 45 g/l, 그때의 C/N 비는 50에서 가장 좋았다.

비성장속도, 최대균체량 및 균체수율에 대한 C/P 비의 영향

P원으로 $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$을 첨가하여 P함량별 균체생육도를 검토하기 위하여 전분농도 67.5g/l로 일정하게 하고 이때 C/N 비와 C/S 비는 각각 50, 100으로 하였으며 C/P 비는 10에서 500까지 달리했을 경우 얻은 결과는 Fig. 9와 같다.

C/P 비가 감소함에 따라 즉 P 함량이 증가함에 따라 균체수율은 거의 일정하였는데 이러한 결과는 N. Okada 등[8]의 결과와 상반된다. 그러나 비성장속도와 최대균체량은 증가하다 감소하는 경향을 보여주며 C/P 비가 50일때 각각 최대로 이것은 N. Okada 등[8]의 실험과 일치한다. C/P 비가 50일때 P 함량은 0.3g/l로 정등[11]의 1.5g/l, 성등[10]의 1.17g/l에 비하여 비교적 적은 양

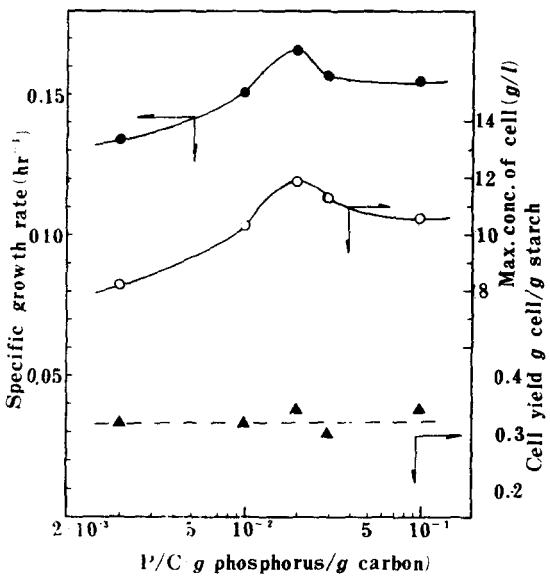

Fig. 9. Effect of the initial P/C ratios on specific growth rate (●—●), cell yield (▲···▲) and max conc. of cell (○—○).

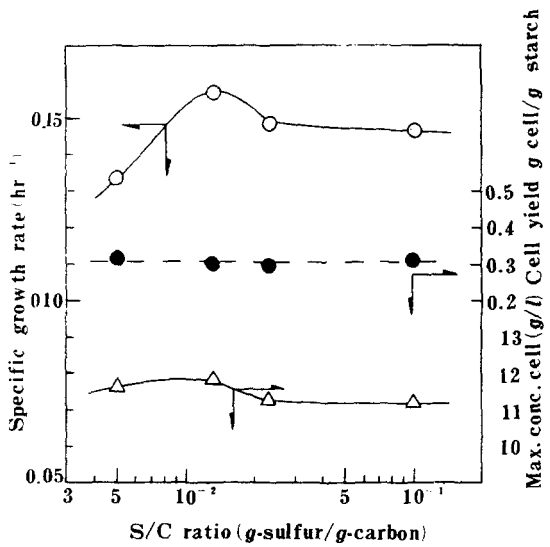

Fig. 10. Effect of the initial S/C ratios on specific growth rate (○—○), cell yield (●—●) and max. conc. of cell (△—△).

의 P원을 요구하는 것으로 사료된다.

비성장속도, 최대균체량 및 균체수율에 대한 C/S 비의 영향

S원으로 $MgSO_4 \cdot 7H_2C$, K_2SO_4, 및 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$을 첨가하여 S원 함량별 균체생육도를 검토하기 위하여, 전분농도 67.5g/l로 일정하게 하고 그때 C/N비와 C/P 비는 각각 50, 33.33으로 했을 때, C/S 비는 9.72에서

204.52까지 달리했을 경우 얻어진 결과는 Fig. 9에서 보여주고 있다.

C/N 비가 감소할수록, 즉 S함량이 증가할수록 균체수율은 C/P 비와 마찬가지로 아무런 영향이 없었으며, 최대균체량은 약간 감소하나 거의 변화가 없으며, 이러한 결과는 유등[13]과 오등[14]의 결과와 상반된다. 그러나 비성장속도는 S함량이 증가할수록 급격히 증가하다 서서히 감소하며 이때 최대치는 C/S 비가 77.57일때이며 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 함량은 2.308*g/l*였다.

약

전분질로부터 효모균체를 직접 생산하기 위하여 분리 동정된 전분이용성 효모, *Sp. holsaticus* FRI Y-5에 대한 배지의 탄소원과 그 외의 질소원, P원, S원간의 영양균형에 대하여 실험하였다.

C/P비와 C/S비가 각각 33.33과 100으로 일정할 때 비성장속도는 전분농도 67.5*g/l*, 그때의 C/N비가 100일 때 0.178hr^{-1}로 가장 빨랐으며, 최대균체량은 전분농도 90*g/l* C/N 비가 50일때 14*g/l*로 최대였다. 또한 균체수율은 전분농도 67.5*g/l*, C/N비가 50일 때 0.344로 가장 좋았고 균체생산속도는 전분농도 45*g/l* C/N 비가 50일때 0.113 *g/l·h*로 가장 빨랐다.

한편 C/P 비의 영향은, 전분농도 67.5*g/l*, C/N비 50, C/S비 100으로 일정할 때 균체수율과는 무관하나 비성장속도와 최대균체량은 C/P가 50일때 각각 0.165hi^{-1}, 11.88*g/l*로 최대였다.

또한 C/S의 영향은, 전분농도 67.5*g/l*, C/N비 50, C/P비 33.33으로 일정할 때, 균체수율과 최대균체량은 거의 무관하나 비성장속도는 C/S비가 77.57일때 0.157hr^{-1}로 최대였다.

문 헌

1. 박완수, 구영조, 신동화, 서기봉 : 한국식품과학회지, **15**, 46 (1983)
2. 박완수, 구영조, 신동화, 민병용 : 한국식품과학 회지, **15**, 51 (1983)
3. Wang, D. I. C., Cooney, C. L., Demain, A. L., Dunnill, P., Humphrey, A. E. and Lilly, M. D. : in *Fermentation and Enzyme Technology*, John Wiley & Sons, Inc. (1979)
4. Monod, J. : *Ann. Rev. Microbiol.*, **3**, 371 (1949)
5. 박 용, 민태익, 변유량, 권태완 : 한국식품과학회지, **2**, 61 (1970)
6. Carrizalez, V., Rodriguez, H. and Sardina, I. : *Biotech. & Bioeng.*, **23**, 321 (1981)
7. 강효원 : 한국산업미생물학회지, **2**, 155 (1974)
8. Okada, N., Ohta, T. and Ebine, H. : 日食工誌, **27**, 213 (1980)
9. Aiba, S., : *J. Ferment. Technol.*, **47**, 203 (1969)
10. 성낙계, 김명찬, 심기환 : 한국산업미생물학회지, **4**, 51 (1976)
11. 정기택, 송형익 : 한국식품과학회지, **13**, 91 (1981)
12. Tomlinson, E. J. : *Water Research*, **10**, 367 (1976)
13. 유주현, 양용, 홍윤명, 박성길 : 한국산업미생물학회지, **3**, 135 (1975)
14. 오두환, 양용, 유주현 : 한국산업미생물학회지, **4**, (1976)