

빵효모의 자기분해에 대한 몇가지 처리의 효과*

최 일 순 · 심 경 미

동덕여자대학 식품영양학과
(1984년 6월 25일 접수)

Effect of Some Treatments on the Autolysis of Baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)

Im-Soon Choi and Kyung-Mi Shim

Department of Food and Nutrition, Dongduck Women's University
(Received June 25, 1984)

Abstract

Some chemical, biochemical and physical treatments on the baker's yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*) before 12-hour digestion at 50°C were made to accelerate their autolysis.

Dilute alkali treatment with 0.01N-NaOH solution showed a considerable increase in soluble nitrogen extraction only in the 6-hour initial autolysis. The addition of fresh yeast autolysate, 10% to the yeast slurry, could increase the autolysis rate from 65% to 83%. Microwave treatment of yeast slurry for 40 seconds also raised the autolysis rate by about 15%, while longer exposures to the microwave accompanying high temperatures repressed the autolysis process. Extrusion of the yeast cells with high pressures of 16,000 to 20,000 psi brought about significantly higher autolysis rate until the digestion time of 9 hours, but thereafter it showed a gradual drop in soluble nitrogen extraction.

서 론

효모에 영양소의 공급을 중단시키고 효모세포내에 존재하는 효소들이 작용하기에 적절한 온도를 유지시키면, 효모세포를 구성하는 단백질, 다당류 및 핵산등의 고분자화합물이 가수분해하여 아미노산, 펩타이드, 다당류, nucleotides 등이 주성분을 이루는 효모자기분해물(yeast autolysate)을 얻을 수 있다. 이 효모자기분해물로부터 불용성 성분등을 제거시키면 효모추출물(yeast extract)을 얻을 수 있는바, 이는 고기의 향미를 가지고 있고 질소화합물과 비타민등의 좋은 급원이기 때문에 수프, 썬오스,

육가공품, 어육가공품, 가향치즈의 제조 및 미생물 배지로서 널리 사용되고 있으며¹⁾ 최근 천연조미료로서 그 이용이 급속히 증가하고 있다.

효모의 자기분해에 영향을 미치는 요인으로는 온도, pH, 자기분해촉진제, 금속이온, 효모의 생육단계 등이 알려져 있다. 자기분해를 촉진시키기 위해서는 외부에서 papain, ficin, bromelain, pancreatin 및 *Aspergillus proteases* 등과 같은 효소를 효모슬러리에 대해 0.01~1.0%씩 첨가함으로써 효모단백질의 가수분해를 현저히 촉진시켰다는 보고가 있으며²⁾ 한편 외부로부터 세포벽 가수분해효소를 가하여 효모의 세포벽을 파괴시키면 효모세포 사이의 여러가

* 본 연구는 1984년도 문교부학술연구조성비의 지원에 의한 연구의 일부임.

지 화합물들이 쉽게 방출되어 가수분해가 현저히 촉진되는 것이 보고되어 있다⁸⁻⁵⁾. 이러한 사실로부터 기계적 방법^{6,7)}이나 알카리 처리방법⁸⁻¹⁰⁾에 의해서 세포벽을 파괴 또는 손상시킴으로써 미생물의 자기분해를 촉진시키기 위한 많은 시도가 이루어졌다.

한편 Sugimoto¹¹⁾는 자기분해 촉진제로 식염과 에탄올을 함께 사용함으로써 위생적으로 안전하고 미생물에 의한 부패가 발생하지 않으면서 수율도 높고 품질이 양호한 효모추출물을 제조할 수 있었다고 하였다.

최근 국내에서도 효모의 자기분해에 대한 연구가 일부 보고되고 있는 바, 박¹²⁾은 효모의 생육시기, 효모현탁액의 농도, 교반의 효과 등이 자기소화율에 미치는 영향을 조사하였으며 정¹³⁾은 자기소화 진행과정 중 효모추출물 중의 단백질, 아미노산, 아미노산 등의 화학성분 변화와, 제조된 효모추출물의 관능검사 결과 자기분해가 진행될 수록 냄새보다 맛이 민감하게 변화한다는 것을 보고하였다.

본 연구에서는 효모의 자기분해를 촉진시킬 수 있는 방법을 검토하기 위해서 상기 Sugimoto¹¹⁾의 방법을 기준으로 하여 자기분해에 영향을 미칠 것으로 예상되는 알카리처리, 효모자기분해물의 첨가, 초단파처리 및 기계적인 세포파열 등이 빵효모의 자기분해에 미치는 영향을 조사하여 보고한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

제일 Universal사의 제빵용 압착 생효모(*Saccharomyces cerevisiae*) 제품을 수확시부터 24시간 이내의 것을 구입하여 즉시 2~3°C의 냉장고에 보관하면서 2일 이내에 시료로 사용하였다.

시료 효모의 수분과 단백질의 함량은 상법에 의해 분석한 결과 각각 66.00% 및 16.15% 였다.

2. 실험방법

1) 성분분석

가용성 질소: 자기분해시킨 시료를 12,000×g로 20분간 원심분리하여 불용성 성분을 제거한 후 상등액을 여과하여 micro Kjeldahl법¹⁴⁾으로 질소를 정량하였다.

환원당: Somogyi법¹⁵⁾을 사용하여 측정하였다.

2) 자기분해 방법 및 자기분해를 측정

자기분해를 진행시키는 방법은 Sugimoto¹¹⁾의 방법이 가장 양호한 것으로 확인되어¹⁶⁾ 이 방법에 준하여 25g의 생효모에 2.5g의 식염과 2.5ml의 에탄올 및 30ml의 증류수를 가하여 잘 교반한 효모 현탁액을 100ml의 삼각 플라스크에 넣고 50°C의 수조안에서 40 rpm의 속도로 교반시켰다. 자기분해된 효모 현탁액은 자기분해가 급격하게 이루어지는 12시간까지 일정 시간 간격으로 취하여 100°C에서 30분간 열처리하여 자기분해를 중단시킨 다음 원심분리하여 상등액을 취하고, 물로 2회 희석한 후 다시 원심분리시켜 이들 액을 2~3°C의 냉장고에 보관하면서 가용성 질소량을 분석하였다. 자기분해액 중의 가용성 질소량과 아미노산 질소량의 비율은 대체적으로 일정한 비율을 나타내므로^{16,17)} 가용성 질소량만을 분석하여 자기분해율을 비교하였다.

3) 효모의 자기분해 촉진을 위한 처리방법

알카리 처리 실험: 시료 효모 25g에 0.01N, 0.05N 및 0.1N-NaOH 용액 30ml를 넣고 30분간 실온에서 처리한 후 1N-HCl 용액으로 원래 효모 현탁액의 pH인 5로 조절하여 2.5g의 식염과 2.5ml의 에탄올을 첨가한 다음 50°C의 수조안에서 0, 3, 6, 9 및 12시간 동안 자기 분해시킨 후 추출액 중의 가용성 질소량을 측정하였다.

효모의 자기분해물 첨가 실험: 50°C에서 12시간 동안 자기분해시킨 효모자기분해물을 상기와 같은 효모슬러리에 5% 및 10% 수준으로 첨가하여 50°C에서 자기분해를 진행시켰다.

초단파 처리 실험: 시료 효모에 증류수를 가하여 45% 현탁액을 만든 다음 초단파 오븐 (삼성전자, model RE-700w)으로 2,450 MHz에서 30, 40, 및 50초 동안 처리하여 얼음물에 넣어 신속하게 온도를 실온까지 떨어뜨린 후 식염과 에탄올을 가하고 50°C에서 자기분해를 진행시켰다.

고압에 의한 세포파괴 실험: 시료 효모현탁액의 농도를 35%, 45% 및 55%로 조절한 다음 French Pressure Cell Press (American Instrument Company)를 사용하여 압력을 각각 16,000, 18,000, 및 20,000 psi로 유지하면서 세포막을 파괴한 후 즉시 50°C의 수조에서 자기분해를 진행시켰다.

결과 및 고찰

1. 알카리처리의 효과

Fig. 1에서 보면 0.01 N-NaOH 처리구에서는 반응 초기 3시간 동안에 균체질소량의 45%가 가용성 상태로 추출되어 알카리를 처리하지 않은 대조구에 비해서 거의 20%나 높은 추출율을 보여주고 있으나 6시간 이후에는 대조구와 별 차이가 없어졌다. Hayashi 등은 빵효모의 효소에 관한 일련의 연구¹⁸⁻²⁰⁾를 통해서 A, B, C 3종의 단백질 가수분해효소를

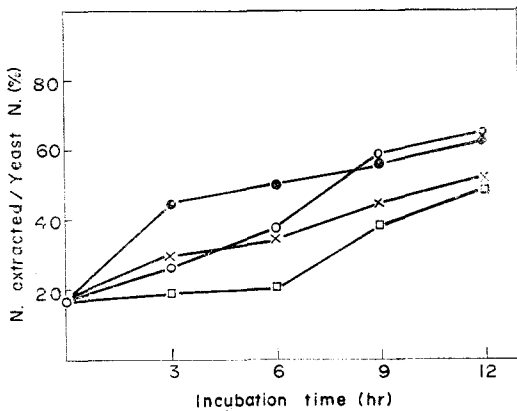


Fig. 1. Effect of alkali treatments on the autolysis of baker's yeasts.

○—○ : control ●—● : 0.01N NaOH
×—× : 0.05N NaOH □—□ : 0.1N NaOH

순수 분리한 다음 이들의 효소적 특성을 조사한 결과 Enzyme B와 C의 경우 자기분해 초기에 pH를 7로 유지시켰다가 이어서 pH를 4.5~5로 낮추게 되면 이들 자기분해 효소들의 활성이 현저히 증가되는 것을 발견하였는데 이는 Enzyme B 또는 C가 불활성 형태로 존재하다가 중성 또는 알카리성 조건에서 활성화 되었기 때문으로 해석하고 있다. 따라서 0.01 N-NaOH 처리구에서 자기분해 초기에 단백질분해가 촉진된 것은 위와 같이 Enzyme B 또는 Enzyme C가 pH의 변화에 따라 활성화 되었거나 효모 세포벽이 알카리 처리에 의해서 일부 손상되거나 파괴되어 세포 내용물이 용액속으로 용이하게 용출되었기 때문 일 것으로 추정된다.

그러나 0.05 N이나 0.1 N-NaOH 용액에서는 다 같이 대조구에 비해서 질소 추출율이 낮게 나타나고 있다. 이는 효모의 자기분해에 관여하는 상기 효소들의 안정성을 유지시킬 수 있는 pH가 6.0~6.2인

점²¹⁾으로 판단할 때 0.05 N-NaOH 용액의 pH 9.0, 그리고 0.1 N NaOH 용액의 pH 10.5가 이들 자기분해 효소들의 활성을 저하시킬 수 있을 정도로 높은 pH 수준이었기 때문인 것으로 생각된다. 한편 0.1 N-NaOH 시험구에서는 6시간까지는 가수분해가 거의 일어나지 않다가 그 이후 상당히 증가되는 경향을 볼 수 있는데 이는 알카리 처리에 의한 효모 단백질의 변성의 결과 초기 가수분해가 지연되지 않았나 추정되지만 이의 원인을 파악하기 위해서는 보다 깊은 연구가 필요한 것으로 보인다.

2. 효모자기분해물 첨가의 효과

Fig. 2에서 보면 효모의 자기분해물을 첨가한 결과 6시간까지의 초기의 자기분해는 비첨가구에 비해서 현저히 증가하여 질소추출율이 20% 이상이나 높은 것을 알 수 있으며 12시간 동안 자기 분해를 진행시켰을 때도 10% 첨가구에서는 비첨가구에 비해서 18% 정도 높은 가수분해율을 보여 주었다. 이렇게 질소추출율이 높아진 것은 첨가한 효모의 자기

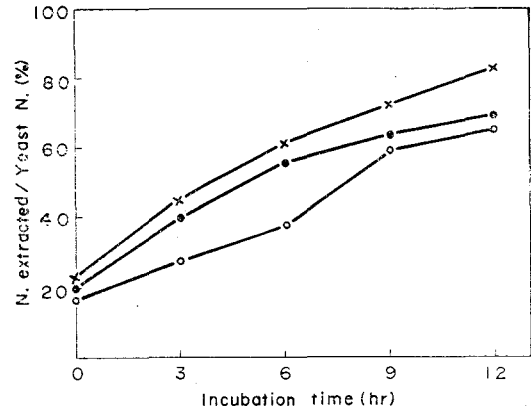


Fig. 2. Effect of the addition of yeast autolysate on the autolysis of baker's yeasts.

○—○ : control
●—● : addition of 5% yeast autolysate
×—× : addition of 10% yeast autolysate

분해물에는 이미 단백질가수분해효소들이 활성화되어 있어서 바로 가수분해가 진행되었기 때문으로 판단된다. 이러한 사실은 자기분해물을 연속적으로 제조할 경우 매우 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 또한 외부에서 효소를 첨가할 경우 자기분해산물의 조성이 달라져 맛이나 냄새가 변화할 우려가 있으나 효모의 자기분해물을 가하면 동일한 효소들이므로 분해산물의 조성이 비교적 일정하여 품질이

우량한 제품을 얻을 수 있는 이점도 있다.

3. 초단파 처리의 효과

본 실험에서는 순간적으로 균체의 내부까지 열처리를 함으로서 세포막을 파괴시키거나 손상을 주어 효소나 질소화합물의 용출을 용이하게 하여 자기분해의 효율을 증가시키고자 초단파 처리를 실시하였다. 효모현탁액에 초단파를 조사하면서 현탁액의 온도를 측정된 결과 Fig. 3에서와 같이 30 초 40 초 및 50 초 동안에 급격하게 상승하여 효모현탁액의 온도가 각각 50°C, 63°C 및 75°C에 달하였다. 초단파를 처리한 다음 자기분해를 진행시킨 결과 30 초(50°C)까지 처리한 시험구에서는 초단파를 처리하지 않은 구와 별 차이가 없는 것을 알 수 있다. 이는 이 정도의 순간 고온처리에 의해서는 세포막이나 세포벽이 손상을 입거나 파괴되지 않았기 때문으로 생각된다. 한편 50 초 까지 처리한 결과 자기분해가 거의 진행되지 않음을 볼 수 있는데 이는 이 때 현탁액의 온도가 75°C 까지 상승하므로 이 온도에서 단백질 가수분해 효소가 불활성화 되었거나, 또는 세포막을 구성하는 단백질이 변성되어 단백질 가수분해효소와 같은 수용성물질의 통과가 힘들어졌기 때문으로 보인다. 한편 초단파처리에 의한 효과는 초단파의 특성에 의한 영향인지 또는 초단파에 의한 가열효과에 의한 것인지는 본실험에서 확인하지 못하였다.

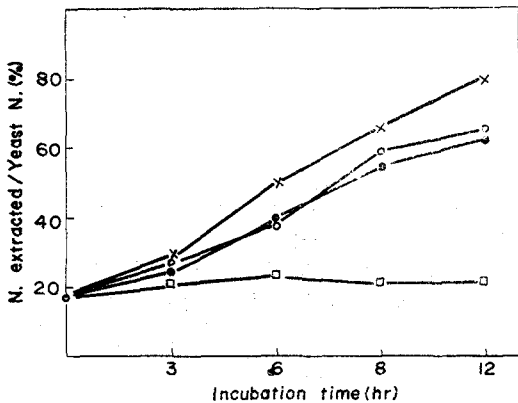


Fig. 3. Effect of microwave treatments on the autolysis of baker's yeasts.

- : control
- : after 30 seconds (50°C)
- ×—× : after 40 seconds (63°C)
- : after 50 seconds (75°C)

4. 고압처리에 의한 세포파괴의 효과

본 실험에서는 압력의 정도 및 균체의 농도가 세포막의 파열 정도에 영향을 미칠 것으로 판단하고 효모의 균체농도를 35%, 45% 및 55%로 변화시키면서 16,000, 18,000 및 20,000 psi의 서로 다른 압력으로 처리한 다음 자기분해를 실시하였다. 40 ml의 효모현탁액을 처리하는데 약 15~25 분이 소요되었으며 처리 중 현탁액의 온도는 0°C에서 15°C 정도까지 상승하였으나 이러한 정도의 온도상승은 효모내의 효소를 불활성화시키거나 또는 활성화시키기에는 낮은 온도로 생각된다.

Fig. 4에서 보면 균체농도 35%에서는 자기분해 반응 9시간까지는 가압처리한 실험구에서 무처리구보다 15% 정도까지 질소성분의 추출율이 높으나 그 이후에는 오히려 추출액 중의 가용성 질소량의 절대량이 감소하는 현상을 나타내고 있다. 균체농도 45

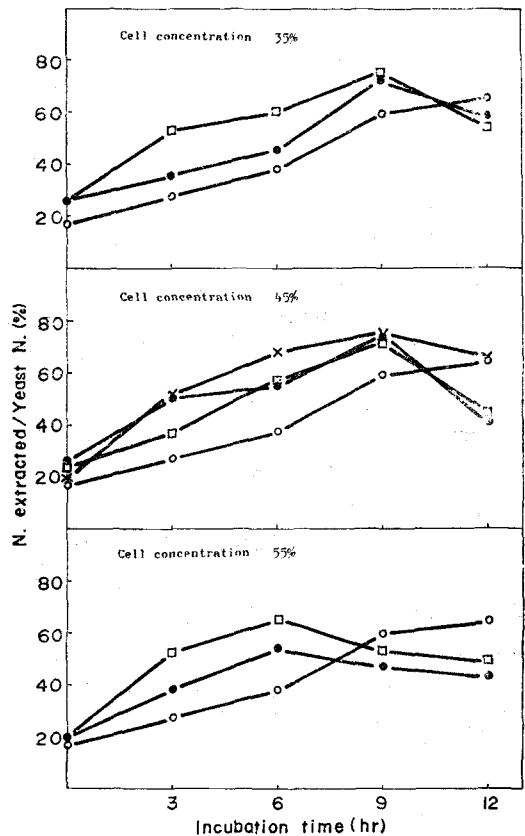


Fig. 4. Effect of the high-pressure extrusion with different cell concentration on the autolysis of baker's yeasts.

- : control
- : 16,000 psi
- ×—× : 18,000 psi
- : 20,000 psi

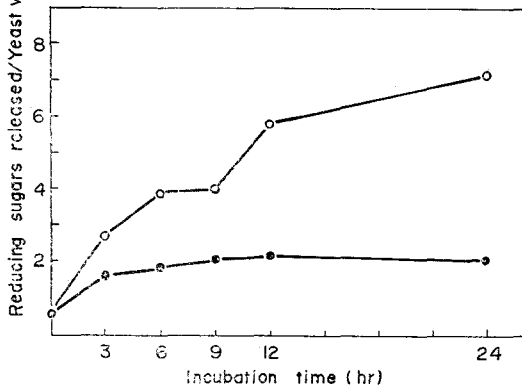


Fig. 5. Release of reducing sugars during the incubation of high pressure extruded yeast cells.

○—○ : control
●—● : high-pressure extruded cells

% 처리구에서도 자기분해시간 9시간 까지는 가압 처리구가 무처리구에 비해 상당히 높은 자기분해율을 나타내고 있으나 그 이후에는 역시 무처리구에서는 계속 증가하는데 비하여 추출된 질소량이 감소하고 있다. 또한 균체농도 55%에서는 자기분해 6시간 만에 가압처리구의 최대 가용성질소량을 나타낸 다음 그 이후는 감소하는 경향을 보여주고 있다.

가압처리구에서 어느 정도 이상 자기분해가 진행되면 수용액 속의 질소 절대량이 감소하는 것은 일단 생성된 가용성 형태의 질소 화합물이 불용성의 타물질로 변했기 때문일 것이다. 한편 무처리구와 가압처리구(20,000 psi—균체농도 45%)에서의 자기분해 과정 중 생성되는 환원당을 정량한 결과 Fig. 5에서 볼 수 있는 바와 같이 무처리구에서는 24시간 동안 환원당이 계속해서 증가하고 있으나 가압처리구에서는 무처리구에 비해 절반이하의 낮은 수준에서 거의 증가하지 않고 머물러 있음을 알 수 있다. 이는 가압처리구에서 생성된 아미노산등 질소 화합물이 환원당과 반응하여 불용성의 새로운 Maillard 반응물질을 생성하였을 것으로 추측된다. 그러나 무처리구에서 생성된 화합물에 비하여 가압처리구에서 생성된 화합물의 종류가 어떻게 다르며 이들 중 어떤 화합물이 환원당과 반응하였는지에 관해서는 좀 더 깊은 연구가 있어야 해명될 수 있을 것이다.

요 약

빵효모의 자기분해를 촉진시키기 위해서 50°C 에

서 12시간 동안 자기분해를 진행시키기 전에, 몇가지 화학적, 생화학적 및 물리적 처리를 행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 0.01 N-NaOH 용액의 묽은 알칼리를 처리한 결과 자기분해 초기에는 비처리 대조구에 비해 현저하게 자기분해율이 증가하였으나 6시간 이후에는 대조구와 별차이가 나타나지 않았다. 한편 그 이상의 알칼리 농도에서는 오히려 추출율이 감소하는 경향을 보여주었다.

2. 효모의 자기분해물을 10% 첨가하여 자기분해를 진행시킨 결과 추출수율이 18% 이상 증가하였다.

3. 초단파 처리의 경우 40초 동안 처리하여 효모 슬러리의 온도가 63°C 일때는 15% 이상의 추출율증가가 나타났으며 그 이상 처리한 결과 고온으로 인해 추출수율이 감소하였다.

4. French Press에 의해 16,000~20,000 psi의 고압으로 세포를 파괴한 결과 자기분해 9시간 까지는 추출액중 가용성 질소의 양이 75% 수준까지 높다가 그 이후에는 무처리구 보다 낮아지는 결과를 나타냈다.

문 헌

- Albrecht, J. J. and Deindoerfer, F. H.: *Fd. Engr.*, **28**, 92(1966)
- Chao, K. C., McCarthy, E.F. and McConaghy, G. A.: U.S patent 4,218,481 (1980)
- Fleet, G.H. and Phaff, H. J.: *J. Bacteriol.*, **119**, 207(1974)
- Knorr, D., Shetty, K. J., Hood, L.F. and Kinsella, J.E.: *J. Fd. Sci.*, **44**, 1362(1979)
- Scott, J.H. and Schekman, R.: *J. Bacteriol.*, **142**, 414(1980)
- Follows, M., Hetherington, P.J., Dunnill, P. and Lilly, M.D.: *Biotechnology and Bioengineering XIII*, John Wiley & Sons, Inc., New York, 549(1971)
- Mosqueira, F.G., Higgins, J.J., Dunnill, P. and Lilly, M.D.: *Biotechnology and Bioengineering XXIII*, John Wiley & Sons, Inc., New York, 335(1981)
- Achor, I.M., Richardson, T. and Draper, N.R.: *J. Agric. Fd. Chem.*, **29**, 27(1981)
- Cornett, J.B., Johnson, C.A. and Shockman,

- G. D.: *J. Bacteriol.*, **138**, 699(1979)
10. Hughes, R.C. and Tanner, P.J.: *Biochem. and Biophys. Res.*, **33**, 22(1968)
 11. Sugimoto, H.: *J. Fd. sci.*, **39**, 939(1974)
 12. 박장열: 고려대학교 식량개발대학원, 석사학위논문 (1980)
 13. 정경식: 고려대학교 식량개발대학원, 석사학위논문 (1981)
 14. Joslyn, M.A.: *Methods in Food Analysis*, 2nd ed., Academic press, New York, 650(1970)
 15. 정동호, 장현기: 최신 식품 분석법 (삼중당, 서울), 129(1982)
 16. 심경미: 동덕여자대학 대학원 석사학위논문, (1983)
 17. 이철호, 박장열, 정경식: 한국식품과학회지, **13**(3), 181(1981)
 18. Hayashi, R., Oka, Y., Doi, F. and Hata, T.: *Agr. Biol. Chem.*, **32**, 359(1968)
 19. Hayashi, R., Oka, Y. and Hata, T.: *Agr. Biol. Chem.*, **33**, 199(1969)
 20. Hayashi, R., Minami, Y. and Hata, T.: *Agr. Biol. Chem.*, **36**, 621(1972)
 21. Hough, J.S. and Maddox, I.S.: *Process Biochem.*, **5**, 50(1970)