

느타리버섯 廢床堆肥 酸加水分解液을 利用한 酵母生産

洪載植 · 高武錫* · 金正淑** · 李克魯

全北大學校 全南大學校* 光州瑞江專門大學**
(1984년 7월 16일 수리)

Production of Yeast from the Acid Hydrolyzate of the Waste Composts of Oyster Mushroom

Jai-Sik Hong, Moo-Seok Koh*, Jeong-Sook Kim** and Keug-Ro Lee

Chonbuk National University, Chonnam National University*,
Seokang Junior College**, Korea.

Abstract

Culture conditions for yeast production from the acid hydrolyzate of the 2nd waste composts of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) were determined.

Among the yeast strains tested, *Candida quilliermondii* JAFM 215, which was culture at 30°C, pH 5.0, showed good culture yield.

Yeast production was the highest yield with the medium composition of 0.3% NH₄Cl, 0.15% KH₂PO₄, 0.02% MgSO₄·7H₂O, and 0.05% CaCl₂.

Yeast growth was increased at the concentration of 0.001 to 0.01% furfural, but at the higher concentration the yeast growth was inhibited.

Utilization rate of sugar was 86.2%, and yield of yeast from sugar was 50.45%. Crude protein of yeast ranged from 50 to 52%.

緒 論

오늘날 人口가 急增함에 따라 食糧增産의 問題는 매우 심각한 課題로 대두되어 그 解決策의 일환으로 非食糧資源 및 廢資源의 食糧化方案이 다각적으로 研究, 檢討되고 있다.

특히, 不足되는 蛋白質資源을 보충하기 위하여 菌體蛋白質을 生産하려는 시도는 一次大戰중 獨逸에서 시작되어 1960년대에 와서 이에 대한 활발한 研究가 進行되었다.

菌體蛋白質 生産에는 세균, 효모, 조류, 곰팡이 등의 여러가지 微生物이 利用되고 있지만 營養價値가 풍부하여 食·飼料用 또는 藥用으로 널리 利用되어 온 것은 酵母이다.

酵母를 利用한 SCP 生産에 관한 研究, 報告로는 石油化學製品,¹⁻⁴⁾ 아세테이트,⁵⁾ 釀造廢液,⁶⁾ 酒精廢液,⁷⁾ 식물성기름,⁸⁾ 纖維素加工廢液과 甲殼類의 키틴질 加工廢棄物^{9,10)}등을 대상으로 한 研究報告가 있으며 그 외에도 柳藤¹¹⁾은 밤송이糖化液, 李 등¹²⁾은 절간고구마원료酒精廢液, 成 등¹³⁾은 澱粉粕을 添加한 왕겨 및 벚꽃의 酸糖化液을 炭素源으로

로 酵母를 生産한 바 있다.

著者들은 前報¹⁴⁾에서 느타리버섯 栽培期間중 各週期別로 採取한 堆肥의 糖化條件을 檢討한 바 있고 本報에서는 2週期버섯收穫後 堆肥와 대조구로 벗짚糖化液을 유일한 炭素源으로 酵母의 培養條件을 檢討하여 몇가지 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1. 供試菌株

全北大學校 食品加工學科 醱酵微生物室에 分離, 保管중인 *Saccharomyces Cerevisiae* JAFM 102 外 5種의 酵母를 供試菌株로 使用하였다.

2. 基本培地

2週期堆肥와 벗짚에 2.0% H₂SO₄를 20倍 또는 25倍量 添加하여 1.5kg/cm² 蒸氣壓에서 30分間 加水分解시킨 分解液¹⁴⁾을 濾過한 후 NaOH로 中和하여 基本培地로 使用하였다.

3. 酵母의 前培養

백아즙(Brix 10°, pH 6.0) 40ml를 함유한 250ml 삼각 flask에 酵母 1白金耳量을 接種, 30°C에서 24時間 培養하여 使用하였다.

4. 酵母培養法

必要에 따라 여러가지로 調整한 糖化液 20ml를 250ml 삼각 flask에 前培養한 酵母液을 一定量 接種하여 30°C에서 培養하여 比較하였다.

5. 菌體量 測定

① 酵母生育度: 酵母懸탄액을 spectronic 20로 660nm에서 absorbance를 測定하여 比較하였다.

② 乾燥菌體量: 酵母培養液을 Whatman No. 45 濾紙로 濾過하고 蒸溜水로 數回 洗滌한 다음 60°C眞空乾燥器에서 3時間 乾燥, 秤量하여 乾燥菌體量으로 나타내었다.

結果 및 考察

1. 優秀酵母의 選定

酸加水分解液에서 잘 生育할 수 있는 優秀酵母를 選拔하기 위하여 本實驗室에서 分離, 保管중인 *Saccharomyces cerevisiae* JAFM 102의 5種의 酵母를 經時的으로 培養하여 檢討한 結果는 Table 1과 같다.

Table 1과 같이 벗짚糖化液보다는 2週期糖化液에서 酵母生育도가 높았으며 菌株別로는 *Candida quilliermondii* JAFM 215가 다른 菌株보다 월등히 生育이 좋았고 48時間 培養했을때 酵母生育이 最高에 이르렀으며 그 이후부터는 오히려 減少되었다. 그러므로 이 이후에 實驗은 *Candida quilliermondii* JAFM 215를 使用하였다.

2. pH의 影響

培地 pH를 3.0~9.0으로 달리 調整하여 酵母의 生育을 檢討한 結果는 Fig. 1과 같다. Fig. 1과 같이 培地의 pH 5.0~6.0에서 酵母生育이 良好하였으며 兩培地 모두 pH 5.0에서 가장 生育이 좋았다. 일반적으로 酵母의 最適pH는 5.0~7.0으로 알려져 있는데 本實驗에서의 最適pH 5.0은 柳 등¹¹⁾의 발송이 酸加水分解液을 利用 *Candida tropicalis*를 培養할때 pH 6.0과 朴 등¹⁵⁾의 澱粉質로 부터 *Sporobolomyces holsaticus* FRI Y-5를 培養할때 pH 6.9보다 낮은 pH영역으로서 雜菌繁殖의 우려가 적은

Table 1. Relationship between the cultivation time and the growth of the yeast strains. (Unit : absorbance)

Hydrolyzate Time(hr)	2nd compost			Rice straw		
	24	48	72	24	48	72
<i>Sacch. cerevisiae</i> JAFM 102	0.15	0.58	0.43	0.12	0.24	0.20
<i>C. pseudotropicalis</i> JAFM 211	0.59	1.48	1.35	0.48	1.32	1.24
<i>C. quilliermondii</i> JAFM 215	0.61	1.78	1.62	0.56	1.64	1.51
<i>C. krusei</i> JAFM 219	0.29	0.56	0.43	0.14	0.28	0.22
JAFM 501	1.09	0.74	0.46	0.98	0.37	0.24
JAFM 502	0.20	0.55	0.33	0.16	0.48	0.28

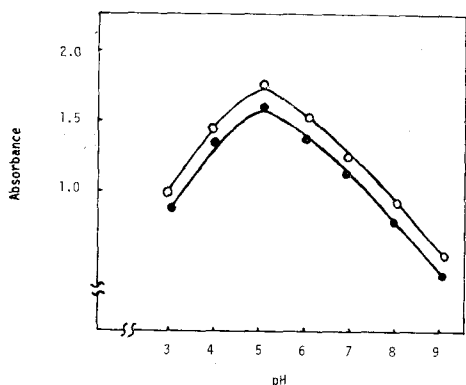


Fig. 1. Effect of pH on the growth of *C. quilliermondii* JAFM 215

○—○ Hydrolyzate of 2nd composts
●—● Hydrolyzate of Rice Straw

有利한 條件이라 하겠다.

3. 溫度의 影響

培養溫度를 달리하여 酵母의 生育을 檢討한 結果는 Table 2와 같다.

Table 2와 같이 兩培地에서 20~30°C, 48時間까지는 酵母生育이 계속 增加하다가 그 이후부터는 減少되었으며 이는 *Candida*屬의 菌株培養에 生育 適溫이 30°C이었다는 報告¹⁶⁾와는 一致하는 傾向이었다.

4. 窒素源의 影響

窒素源이 酵母의 生育에 미치는 影響을 檢討한 結果는 Table 3과 같다.

Table 3과 같이 몇 種 糖化液보다는 2週期糖化液에서 酵母의 生育이 良好하였으며 NH₄Cl와 (NH₄)₂

Table 2. Effect of temperature and time on the growth of *C. quilliermondii* JAFM 215 (Unit : absorbance)

Time(hr)		12	24	36	48	60
Temperature (°C)						
Hydrolyzate						
2nd compost	20	0.12	0.39	1.43	1.60	1.52
	25	0.13	0.56	1.64	1.79	1.71
	30	0.13	0.70	1.76	1.83	1.80
	35	0.22	0.82	1.70	1.60	1.52
Rice straw	20	0.09	0.27	1.40	1.54	1.45
	25	0.10	0.31	1.60	1.66	1.62
	30	0.12	0.43	1.67	1.72	1.70
	35	0.21	0.67	1.60	1.56	1.46

Table 3. Effect of N-sources on the growth of *C. quilliermondii* JAFM 215 (Unit : absorbance)

Conc. (%)		0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
N-sources								
Hydrolyzate								
2nd compost	NH ₄ Cl	1.42	1.52	1.58	1.68	1.66	1.56	1.52
	(NH ₄) ₂ SO ₄	1.42	1.50	1.56	1.62	1.58	1.55	1.51
	Urea	1.42	1.54	1.08	1.06	0.36	—	—
	NH ₄ NO ₃	1.42	1.50	1.55	1.61	1.58	1.53	1.52
	(NH ₄) ₂ HPO ₄	1.42	1.45	1.53	1.58	1.54	1.45	1.43
	NH ₄ H ₂ PO ₄	1.42	1.44	1.52	1.54	1.53	1.49	1.41
Rice straw	NH ₄ Cl	1.33	1.45	1.55	1.58	1.54	1.52	1.50
	(NH ₄) ₂ SO ₄	1.33	1.44	1.56	1.58	1.55	1.51	1.50
	Urea	1.33	1.43	1.45	1.35	0.41	—	—
	NH ₄ NO ₃	1.33	1.38	1.42	1.46	1.43	1.38	1.35
	(NH ₄) ₂ HPO ₄	1.33	1.39	1.44	1.49	1.45	1.41	1.38
	NH ₄ H ₂ PO ₄	1.33	1.36	1.41	1.43	1.36	1.35	1.31

Table 4. Effect of K and P sources on the growth of *C. quilliermondii* JAFM 215
(Unit : absorbance)

Conc. (%)		0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30
K and P sources	hydrolyzate							
2nd compost	KH ₂ PO ₄	1.40	1.55	1.67	1.69	1.63	1.58	1.52
	K ₂ HPO ₄	1.40	1.54	1.65	1.67	1.62	1.56	1.50
	K ₃ PO ₄	1.40	1.51	1.56	1.60	1.58	1.52	1.49
Rice straw	KH ₂ PO ₄	1.31	1.46	1.55	1.58	1.52	1.49	1.46
	K ₂ HPO ₄	1.31	1.45	1.53	1.56	1.50	1.47	1.41
	K ₃ PO ₄	1.31	1.43	1.50	1.49	1.44	1.41	1.39

Table 5. Effect of Mg sources on the growth of *C. quilliermondii* JAFM 215
(Unit : absorbance)

Conc. (%)		0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.12
Mg sources	Hydrolyzate							
2nd compost	MgSO ₄ 7H ₂ O	1.45	1.71	1.69	1.65	1.63	1.50	1.52
	MgCl ₂ 6H ₂ O	1.45	1.65	1.59	1.56	1.54	1.51	1.49
Rice straw	MgSO ₄ 7H ₂ O	1.37	1.61	1.58	1.55	1.53	1.51	1.50
	MgCl ₂ 6H ₂ O	1.37	1.57	1.55	1.53	1.50	1.49	1.47

SO₄는 다른 窒素源보다 菌體生育에 좋은 窒素源이었는데 이는 밤송이 糖化液에서 *Candida tropicalis* 培養에 NH₄Cl가 菌體生育에 좋은 窒素源이었다는 柳 등¹¹⁾의 報告와는 一致하였으나 産業廢水로부터 *Candida curvata* SAFM 70의 培養에 (N-H₂)₂CO 添加가 좋았다는 報告¹⁷⁾와는 差異가 있었다. 한편, 2週期糖化液에서는 NH₄Cl 0.3%, 벗짚 糖化液에서는 NH₄Cl와 (NH₄)₂SO₄ 0.3% 濃度에서 酵母生育이 가장 良好하였으며 그 이상의 濃度에서는 生育이 減少되었고 요소는 窒素源濃度の 增加에 따라 오히려 減少의 傾向을 보였다.

그러므로 酵母培培을 위한 實驗은 窒素源으로 NH₄Cl 0.3% 濃度を 使用하였다.

5. K와 P源의 影響

K와 P源이 酵母의 生育에 미치는 影響을 檢討한 結果는 Table 4와 같다.

Table 4와 같이 兩培地에서 磷酸鹽을 添加하지 않을때 보다 添加했을때가 酵母의 生育에 良好하였고 이 중에서도 KH₂PO₄ 0.15%添加에서 더 良好하였다. 이는 成 등¹⁸⁾의 澱粉粕을 添加한 왕겨 및 벗짚糖化液에서 *Hansenula subpelliculosa*를 培養할때 KH₂PO₄ 0.2~0.6% 添加에서 酵母生育

이 높았다는 報告보다는 낮은 濃度에서 最適이었다

6. Mg源의 影響

Mg源이 酵母의 生育에 미치는 影響을 檢討한 結果는 Table 5와 같다.

Table 5와 같이 兩培地에서 無添加보다는 兩Mg源을 0.02% 添加했을때 果效의이었고 이 중에서도 MgSO₄·7H₂O 0.02% 添加가 가장 良好하였다.

7. 기타無機鹽類의 影響

各種無機鹽類가 酵母의 生育에 미치는 影響을 檢討한 結果는 Table 6과 같다.

Table 6과 같이 各種無機鹽類를 濃度別로 添加했을때가 添加하지 않을때보다도 酵母의 生育에 效果과 있었는데 NaCl와 MnCl₂는 兩培地에서 0.03%, 0.04%, 그리고 CaCl₂는 2週期糖化液에서는 0.05%, 벗짚 糖化液에서는 0.04%添加했을때가 제일 良好하였으며 이들 無機鹽類중에서도 CaCl₂가 더 效果的이었다.

8. furfural의 影響

微生物 生育 阻害劑로 알려진 加水分解의 副產物인 furfural을 兩培地에 添加하여 酵母의 生育에 미치는 影響을 檢討한 結果는 Table 7과 같다

Table 6. Effect of inorganic salts on the growth of *C. quilliermondii* JAFM 215
(Unit : absorbance)

Conc. (%)		0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08
Inorganic salts										
Hydrolyzate										
2nd compost	CaCl ₂	1.54	1.65	1.67	1.69	1.72	1.74	1.70	1.65	1.62
	NaCl	1.54	1.62	1.65	1.70	1.68	1.64	1.62	1.60	1.58
	MnCl ₂	1.54	1.60	1.64	1.67	1.68	1.63	1.61	1.59	1.56
Rice straw	CaCl ₂	1.41	1.52	1.55	1.60	1.62	1.58	1.55	1.53	1.51
	NaCl	1.41	1.54	1.56	1.58	1.55	1.53	1.51	1.50	1.48
	MnCl ₂	1.41	1.45	1.49	1.52	1.54	1.54	1.52	1.49	1.46

Table 7. Effect of furfural concentration on yeast cultivation
(Unit : absorbance)

Hydrolyzate	2nd compost	Rice straw
Conc. (%)		
None	1.48	1.39
0.001	1.51	1.42
0.01	1.50	1.40
0.1	1.47	1.36
1.0	0.82	0.71

Table 7과 같이 兩培地에서 0.001%~0.01% furfural 濃度에서는 오히려 약간 增加의 趨勢를 보였으며 0.1% 濃度에서부터 점차로 減少하다가 1.0% 濃度에서는 심한 阻害現象을 나타내었다. 한편, 前報¹⁴⁾와 같이 酸加水分解時 生成되는 furfural 含量이 0.08~0.09%로 本實驗에 使用된 酵母의 生育에는 크게 阻害를 주지는 않았다.

9. 培養期間중에 經時的인 變化

上記의 最適酵母培養條件下에서 經時的으로 酵

母를 培養하여 殘留糖, 菌體量, pH의 變化를 檢討한 結果는 Table 8과 같다.

Table 8과 같이 殘留糖은 兩培地의 初期糖液의 濃度 1.09%, 0.97%에서 36時間 培養했을때 0.15%, 0.18%로 大部分의 糖을 消費하였고, 菌體量은 接種후 12時間의 誘導期를 거쳐 對數期에 이르는 36時間까지 급격히 增加되었으나 그 이후부터는 큰 變化가 없었으며 兩培地의 pH는 5.0이던 것이 培養時間이 經過됨에 따라 3.1, 3.0으로 減少하였는데 이것은 培養時 生成되는 酸과 陰이온의 影響이라 생각되어 진다.

10. 菌體의 收率

最適酵母培養條件下에서 菌體의 收率을 檢討한 結果는 Table 9와 같다.

兩培地에서 糖液 100ml에 대한 菌體量은 各各 0.550g, 0.465g이었으며 糖에 대하여 50.45, 47.93%의 乾燥酵母를 얻었다. 한편 成登¹⁹⁾은 옥수수 澱粉粕 酸糖化液을 炭素源으로 하여 *Candida tropicalis*를 培養했을 때 對糖菌體收率が 38.25%였다고 하였는데 이보다는 菌體收率が 월등히 높음

Table 8. Residual sugar, cell weight and pH during the cultivation

Time (hr)		0	12	24	36	48	60
Hydrolyzate							
2nd compost	Residual sugar(%)	1.09	0.81	0.51	0.15	0.11	0.10
	Cell weight(g)	—	0.012	0.048	0.110	0.113	0.115
	pH	5.0	4.6	4.1	3.5	3.3	3.1
Rice straw	Residual sugar(%)	0.97	0.79	0.54	0.18	0.13	0.11
	Cell weight (g)	—	0.011	0.036	0.092	0.098	0.101
	pH	5.0	4.6	4.0	3.5	3.2	3.0

Table 9. Yeast production with acid hydrolysis of 2nd compost and rice straw in liquid culture

	Hydrolysis			Yeast cultivation			
	Pressure	H ₂ SO ₄ conc. (%)	Reducing sugar/sample	Reducing sugar/broth	Sugar utilized/total sugar	Cell wt./100ml	Cell wt./sugar
2nd compost	1.5	2.0	22.80(%)	1.09(%)	86.2(%)	0.550(g)	50.45(%)
Rice straw	1.5	2.0	21.34(%)	0.97(%)	81.4(%)	0.465(g)	47.93(%)

Table 10. Composition of dry yeast (Unit : %)

Composition Hydrolyzate	Crude protein	Crude lipid	Crude ash	Carbohydrate
2nd compost	52.3	2.7	5.1	39.9
Rice straw	50.1	2.1	4.8	43.0

을 알 수 있었다.

11. 菌體의 化學成分

本實驗에 使用한 乾燥酵母의 化學成分을 分析한 結果는 Table 10과 같다.

Table 10과 같이 *Candida quilliermondii* JAFM 215의 粗蛋白質 含量은 50~52% 이었다. 이는 釀造廢液을 利用하여 *Candida steatolytica* 培養의 경우 蛋白質 含量이 21~44%라고 하였는데²⁰⁾ 이보다는 높았고 産業廢水에서 *Candida curvata* SAFM 70을 培養했을때 粗蛋白質含量 51.8%¹⁷⁾와는 비슷한 結果를 나타내고 있다. 이상의 結果를 綜合하여 보면 빛짚糖化液보다는 빛짚에 느타리버섯을 栽培하여 90%이상 버섯을 收穫하고 느타리버섯균에 의한 纖維素分解酵素에 의하여 1次纖維素 分解가 이루어진 2週期버섯收穫후堆肥 酸糖化液에 酵母를 培養하여 버섯도 收穫하고 보다 좋은 培養條件下에서 酵母를 生産할 수 있었다. 그러나 濾過, 菌體分離와 같은 복잡한 過程을 거치지 않고 Semi solid한 상태에서 酸糖化후 中和한 다음 바로 酵母를 培養하여 濃厚化할 수 있는 方法에 대하여도 계속 研究되어야 하겠다.

要 約

느타리버섯 2週期堆肥糖化液으로 부터 酵母生産을 위하여 酵母培養條件을 檢討한 結果 여러 酵母중에서 *Candida quilliermondii* JAFM 215가 가장 良好하였고 最適pH와 溫度는 5.0, 30°C이었다.

酵母生産은 NH₄Cl 0.3%, KH₂PO₄ 0.15%, MgSO₄·7H₂O 0.02%, CaCl₂ 0.05% 添加가 가장 良好하였다.

furfural은 0.001~0.01% 濃度일때 酵母의 生育이 약간 增加되었으나 그 이상의 濃度에서는 沮害를 받았다.

糖의 利用率은 86.2%이고 糖에 대한 酵母의 收率은 50.45%였으며 酵母의 粗蛋白質은 50~52%였다.

參 考 文 獻

1. Wang, D.I.C.: Chem. Eng. August, 26 : 99 (1962).
2. Ogata, K. et al: Agr. Biol. Chem., 33 : 1519(1969).
3. Coony, C.L. et al: Adv. in Appl. Microbiol., 15 : 337(1972).
4. Shacklady, C.A.: World rev. Nutri. Diet., 14 : 154(1972).
5. Matsuura, S., Takahashi, H. and Minabe, M.: J. Ferment. Technol. 53 : 658(1975).
6. Shannon, L.J. and Stevenson, K.E.: J. Food Sci., 40 : 826(1975).
7. Oh, D.W., Yang, R. and Yu, J. H.: Kor. J. Appl. Microbio. Bioeng., 4 : 43(1976).
8. Nakahara, T., Sakaki, K. and Tabughi, T.: J. Ferment. Technol., 60 : 89(1982).
9. Cosio, I.G., Fisher, R.A. and Carroad, P. A.: J. Food Sci., 42 : 901(1982).
10. RwVah-MoiSeev, S. and Carroad, P.A.: Biotech. and Bioeng. 23 : 1067(1981).
11. 柳洲鉉·梁隆·洪允命·朴正吉: 韓國産業微生物學會誌, 3 : 135(1975).
12. 이형춘·구영조·민병용·이홍근: _____, 10 : 95(1982).

13. 成洛癸 · 金鍾奎 : _____ , 4 : 152(1976).
14. 洪載植 · 高武錫 · 金正淑 · 李克魯 : 韓國農化學會誌, 27 : 29(1984).
15. 박완수 · 구영조 · 신동화 · 민병용 : 韓國食品科學會誌, 15 : 51(1983).
16. 朴正吉 · 梁隆 · 柳洲鉉 : 韓國產業微生物學會誌, 3 : 141(1975)
17. 李啓瑚 · 李康洽 · 朴性五 : 韓國農化學會誌, 23 : 64(1980).
18. 成洛癸 · 沈奇煥 · 李千洙 : 韓國產業微生物學會誌, 4 : 152(1976).
19. 成洛癸外 4人 : 韓國農化學會誌, 19 : 219(1976).
20. Shannon, L.T. and Stevenson, K.E.: J. Food Sci., 40 : 830(1975).