

고구마 주정폐액을 자화하는 효모에 의한 SCP 생산

정 동 옥·정 지 훈*

일양약품 중앙연구소, *전남대학교 농과대학 식품공학과

(1987년 8월 30일 수리)

Single Cell Protein Production by a Yeast Utilizing Alcoholic Waste Fluid of Sweet Potatoes

Dong-Ok Chung and Ji-Heun Jung*

Central Research Institute, Il Yang Pharmacy Ltd., Seoul

*Department of Food Science and Technology, Chonnam National University, Kwangju, Korea

Abstract

The waste gained from alcohol production with sweet potato was considered as a potential substrate for the production of single cell protein (SCP). The high content in organic materials, simplicity to filtrate and a suitable pH for the growth of yeasts were indicated as a good substrate. A yeast utilizing this substrate was isolated from the compost ground and identified as *Candida boidinii*. The strain was the highest in assimilation of this alcoholic waste and the yield was maximized at pH 5.0, 30°C after 72 hrs incubation. The dry cell weight and crude protein content at optimal conditions were 1.02g/100ml and 54.5%, respectively. The growth of the yeast was stimulated with the addition of 0.2% urea, 0.1% K₂HPO₄, and 0.02% MgSO₄·7H₂O.

緒 論

미생물의 단세포 단백질(single cell protein)은 未來의 유망한 단백질 자원의 하나로서¹⁾, 이와 같은 SCP 생산을 위해서 廢資原의 活用이 摸索되어 왔다. 特히 農産廢棄物中 木材糖化液, 통조림공장 廢液²⁾, Whey 및 酪農廢液³⁾, 釀造廢液⁴⁾ 등의 利用 可能性이 確認되었다. 한편 우리나라에서는 結 甘고구마를 原料로 한 酒精生産⁵⁾이 해마다 증가 일로에 있어 이에 따른 酒精廢液의 活用이 必要하 다고 생각된 바, 주정폐액은 SCP 生産에 적절한 基質로서⁶⁾, 이에 관한 研究는 松尾⁷⁾, 唐木⁸⁾ 등의 페당밀 주정폐액을 이용한 효모배양과 李等⁹⁾의 結 甘고구마 주정폐액을 이용한 *T. candida* 배양 및 폐액의 BOD 제거에 對한 研究 등이 있다. 本 研究는 結甘고구마를 原料로 한 주정폐액의 利用性 을 檢討하기 위하여 資化性이 우수한 酵母를 土壤 으로부터 分離하여 SCP 生産性을 檢討하였다.

材料 및 方法

1. 實驗材料

酒精廢液: 本實驗에 使用된 材料는 結甘고구마 를 原料로 하여 酒精을 生産을 行한 B회사의 蒸 溜廢液을 구입하여 使用하였으며, filter paper (No. 5C)로 여과하여 여액을 121°C, 15分 살균후 基本培地로 하였다. 이 여액의 一般成分은 환원당 1.02%, 총질소 0.15%, 灰分 0.42%, pH 4.1이 었다.

供試土壤: 광주시내의 구조장 및 퇴비장 등에 서 채취된 60種의 토양시료를 菌分離用 試料로 하 였다.

2. 實驗方法

試料採取: 各 채취구의 토양에서 약 300g 정도 석 취하여 本實驗에 使用하였다.

酵母分離: 200ml erlenmyer flask에 기본배지

20ml씩 분주한 후 토양시료 각 2g을 첨가하여 28~29°C에서 7일간 진탕배양(reciprocal, 120rpm)하였다. 진탕배양한 현탁액 1ml씩을 새로운 배지에 접종한 후 3일 간격으로 5회 반복배양하여 廢液酸化酵母를 평판도말배양법으로 순수분리하였다. 이 중에서 가장 生育도가 우수한 균주를 본 실험에 사용하기 위하여 사면배지에 보존하였다.

生育度 測定 : 진탕배양후 生育도는 spectrophotometer를 사용하여 550nm에서 O.D.를 측정하여 比較하였다.

分離菌株의 同定 : 分離된 酵母는 Lodder의 方法⁹⁾에 의하여 同定하였다.

乾燥菌體量의 測定 : 배양액을 3,500rpm에서 15분간 원심분리한 후 集菌된 菌體를 乾燥法(60°C, 10시간)으로 측정하였다.¹⁰⁾

菌體의 一般成分 分析¹¹⁾ : 환원당은 Somogi 變法, 총질소는 Kjeldahl 法, 회분은 600°C 직접회화법으로 3회 반복실험하였다.

結果 및 考察

1. 優秀菌株의 選拔

60種의 토양시료로부터 순수분리된 85 菌株中 퇴비장에서 분리된 C-321 효모가 가장 높은 생육도를 나타냈다.

2. 菌株의 分類學的 性質

C-321 菌株의 形態學的, 培養學的, 生理學的 性質을 검토한 결과는 다음과 같다.

形態學的 性質 : 細胞의 형태는 대개 long-ovoid, cylindrical 형이며 크기는 2.7~5.4×5.9~10.8μ

Table 1. The culture characteristics of the selected strain

Classification	Characteristics
2% glucose-yeast extract-peptone agar	
Colony from	Circular, convex
Colony edge	Entire
Surface	Smooth(rough in center)
Color	Light-grey
2% glucose-yeast extract-peptone water	
Pellicle	Positive
Sediment	Positive
Ring	Negative

정도였다. 多極出芽에 의해 증식되며, pseudomycelium을 형성하였고 자낭포자는 형성하지 않았다.

培養學的 性質 : 培地の 種類에 따른 分離菌의 배양학적 성질을 관찰하기 위하여 2% glucose-yeast extract-peptone agar 배지에 分離菌을 배양하고 또한 上記 培地の liquid medium 에서의 pellicle 형성과 sediment를 관찰한 결과는 Table 1과 같다.

生理學的 性質 : 分離菌은 단지 glucose만 발효하였고 자화능은 glucose, xylose, ribose, ethanol, erythritol, ribitol, mannitol, lactic acid, glycerol 등에서 나타났다. 질산염의 자화능은 미약하였고 생육에 vitamin을 必要로 하였다.

菌株의 同定 : 이상과 같은 형태학적, 배양학적, 생리학적 성질을 Lodder의 分類學的 性質과 比較한 결과는 Table 2,3과 같다.

결과에 의하면 크기에 있어 약간의 차이를 나타냈고 raffinose 자화능이 약한 것이 상이하였으나,

Table 2. Comparison of the selected strain with *Candida boidinii* in morphological and culture characteristics

Species	Shape	Size	Pseudomycelium	Ascospore
Selected strain	Long-ovoid, Cylindrical	(2.7~5.5)×(5.9~10.8)μ	+	-
<i>C. boidinii</i>	Long-ovoid, Cylindrical	(1.5~3.7)×(7.0~12.0)μ	+	-

Species	Color	Pellicle	Sediment	Ring
Selected strain	Light-grey	+	+	-
<i>C. boidinii</i>	Yellowish cream	+	+	-

*Candida*屬 중 nitrate-positive인 다른 여러 種들과 비교한 生理學的 特性이 아주 달라 *Candida boidinii*로 同定되었다.

Table 3. Comparison of the selected strain with *Candida boidinii* in physiological characteristics

Assimilation of carbon compounds	Species	
	Selected strain	<i>C. boidinii</i>
Carbon compounds		
Glucose	+	+
Galactose	-	-
Sucrose	-	-
Maltose	-	-
Cellobiose	-	-
Treharose	-	-
Lactose	-	-
Melibiose	-	-
Raffinose	+(w)	-
Inulin	-	-
Soluble starch	-	-
D-Xylose	+	+
L-Arabinose	-	-or+
D-Arabinose	-	-
D-Ribose	+	+
L-Rhamnose	-	-
Ethanol	+	+
Glycerol	-	-
Erythritol	+	+
Ribitol	+	+
Galactitol	-	-
D-Mannitol	+	+
D-Glucitol	+	+
Salicin	-	-
Citric acid	-	-
Inositol	-	-
Lactic acid	+(w)	+(w)
Assimilation of potassium nitrate	+	+
Growth in vitamin-free medium	w	w
Fermentation of carbon compounds		
	only glucose	only glucose

+ : Positive, - : Negative, w : Weak

3. 分離, 同定한 C-321菌의 生育最適條件

pH의 영향: 기본배지를 1N NaOH 또는 HCl로 pH 2.0~9.0 범위내에서 조절하고 28°C에서 3일간 진탕배양한 후 pH별 배양액의 흡광도를 측정 한 결과는 Fig. 1과 같다.

pH 2.0~3.0에서는 거의 生育하지 않았고 pH 4.0부터 生育이 현저히 증가하여 pH 4.0에서 가장 生育이 좋았다. 한편 李 등⁸⁾은 절간고구마 주정폐액을 이용 *Torulopsis candida*를 배양할 때 최적 pH가 4.0으로 보고하였고, Shannone 등⁹⁾의 양조폐액을 이용한 *C. steatolytica* 배양, Thanh 등¹⁰⁾의 타피오카 전분폐액을 이용한 *C. utilis* 배양시의 결과와 일치하였다.

培養溫도의 영향: 배양온도에 따른 生育도가 Fig. 2에 나타나 있다.

28°C, 30°C에서 양호한 生育을 나타냈고 그 중 30°C가 최적인 점 등은 林 등¹¹⁾의 *C. tropicalis*의 배양결과와 같은 경향이 었다.

질소원의 종류별 영향: 본균주에 대한 최적 질소원을 찾기 위해 NH₄NO₃, NH₄Cl, (NH₂)₂CO, (NH₄)₂SO₄, NH₄H₂PO₄, (NH₄)₂HPO₄, NaNO₃ 등을 질소함량이 0.1% 되게 첨가한 다음 30°C에서 72시간 배양한 결과는 Fig. 3과 같다.

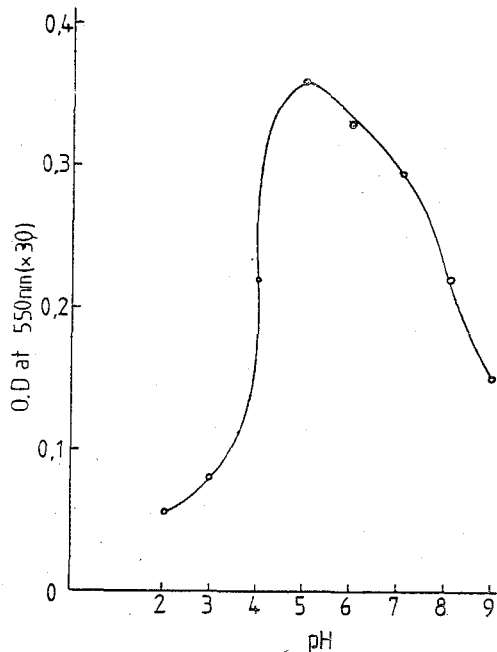


Fig. 1. Effect of pH on the growth of the isolate

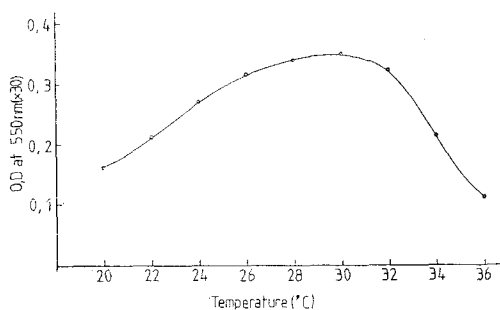


Fig. 2. Effect of temperature on the growth of the isolate

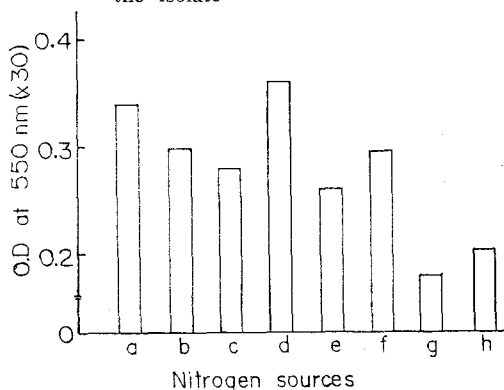


Fig. 3. Effect of nitrogen sources on the growth of the isolate

a : NH_4NO_3 , b : NH_4Cl , c : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,
d : Urea, e : $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, f : $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$,
g : NaNO_3 , h : Control

Urea가 가장 우수한 질소원으로서 柳 등¹³⁾의 소맥분 주정페액에 *Sacch. cerevisiae*의 배양시의 결과와 일치하였으며 Omata 등¹⁴⁾의 보고와도 일치하였다.

질소원의 농도별 영향 : 가장 우수한 질소원으로 확인된 urea와 NH_4NO_3 두 종의 질소원을 택하여 농도에 따른 生育度를 측정한 결과 Fig. 4에서와 같이 urea 0.2%, NH_4NO_3 0.3%의 농도에서 최대에 달하였다.

인산 및 칼륨원의 영향 : 인산과 칼륨원의 최적 농도를 검토한 결과는 Fig. 5와 같다.

KH_2PO_4 , K_2HPO_4 를 각각 인산함량을 기준으로 0.1% 첨가하였을 때 양호한 생육을 나타냈고 이중 K_2HPO_4 의 효과가 더 큰 경향을 나타내었다. 한편 鄭 등¹⁵⁾은 두부 폐수를 이용 *C. utilis* 배양시 K_2HPO_4 0.05%가 가장 양호하다고 하였고, 柳 등¹³⁾은 소맥분 주정페액을 이용한 *Sacch. cerevisiae* 배양시에 K_2HPO_4 0.1%가 최적농도였다고

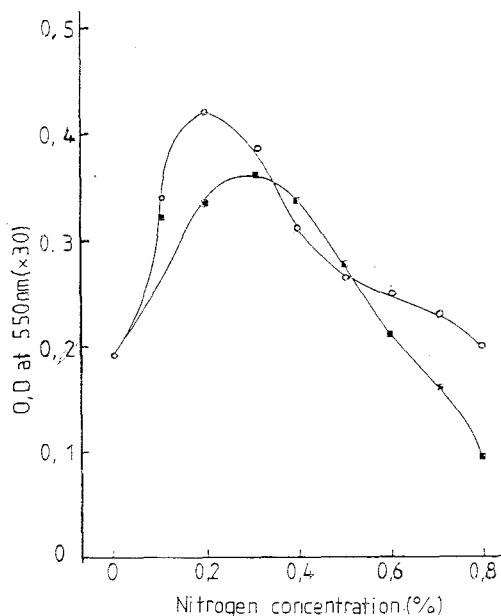


Fig. 4. Effect of nitrogen concentration on the growth of the isolate

○—○ : Urea, ■—■ : NH_4NO_3

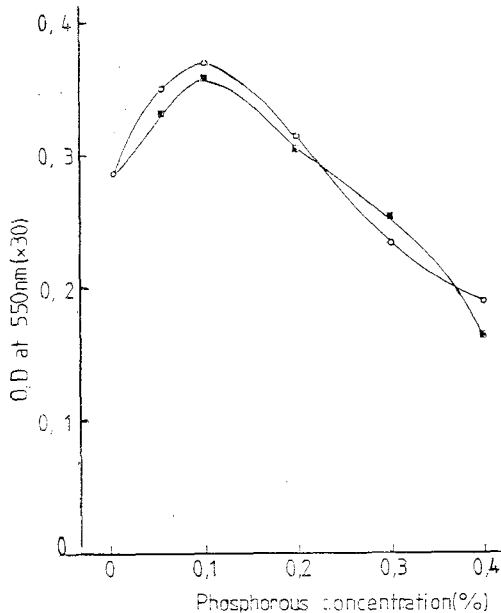


Fig. 5. Effect of phosphorous concentration on the growth of the isolate

○—○ : K_2HPO_4 , ■—■ : KH_2PO_4

보고한 바 있다.

무기염류의 영향 : 6종의 무기염류를 0.01% 첨가했을 때의 균의 생육에 미치는 영향은 Fig. 6과 같다.

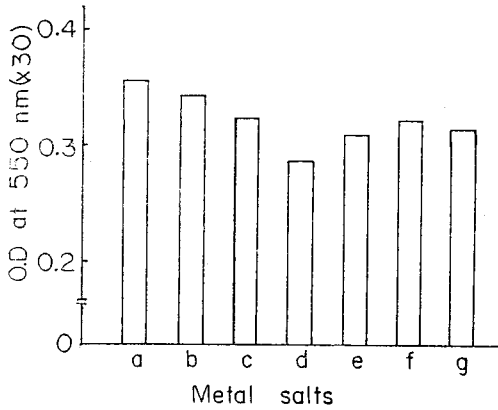


Fig. 6. Effect of minerals on the growth of the isolate

a : $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, b : $FeCl_3 \cdot 6H_2O$,
 c : $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, d : $ZnCl_2$, e : $CaCl_2 \cdot 2H_2O$,
 f : $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, g : Control

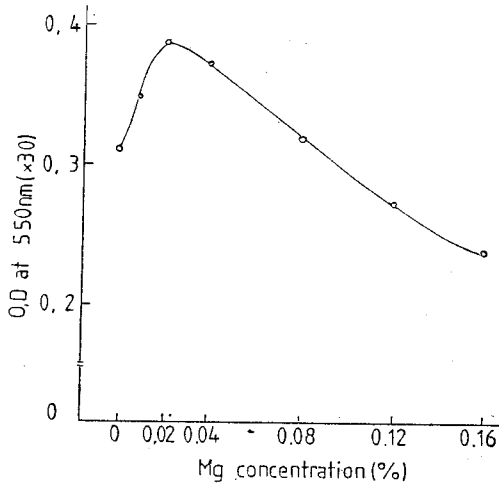


Fig. 7. Effect of Mg concentration on the growth of the isolate

Mg²⁺와 Fe³⁺를 첨가했을 때 균의 생육이 촉진됨을 알 수 있었고 Mn²⁺과 Cu²⁺은 거의 변화가 없었으나 Zn²⁺과 Ca²⁺의 첨가에 의해서는 생육이 억제됨을 알 수 있었다. 이에 따라 가장 생육촉진효과를 나타낸 Mg²⁺의 농도에 따른 영향을 살펴본 결과는 Fig. 7과 같은데 0.02%에서 최대의 생육을 나타냈고 그 이상의 농도에서는 생육이 억제되었다.

배양시간에 따른 菌生育度 : 이상과 같은 최적배양조건에서 培養時間에 따른 생육도를 검토하였는데 生菌數는 72시간 배양후 4.16×10⁸개/ml로 최대를 나타냈고 96시간 후에 3.92×10⁸개/ml로 감소되었기 때문에 72시간 배양후에 균체량이 최대

에 달함을 알 수 있었다.

蛋白質 含量 : 본 실험에서 나타난 최적조건하에서 배양한 결과 균체량은 1.02g/100ml로, 소맥분 주정폐액에서의 *Sacch. cerevisial*의 배양시¹³⁾에는 1.38g, 두부폐수를 이용한 *C. utilis*¹⁶⁾의 1.31g에 비해 다소 적은 양을 나타냈으나 건조균체중의 조단백질 함량은 54.5%, 조희분은 7.21% 였다는 결과는 소맥분 주정폐액을 이용한 *Sacch. cerevisiae* 배양시¹³⁾의 조단백질이 56.96%, 타피오카 주정폐액을 이용한 *Sacch. cerevisial*와 *C. tropicalis*의 혼합배양시¹⁷⁾의 57.19%, 타피오카 전분폐액을 이용한 *C. utilis*의 50% 및 절간고구마 주정폐액에 *T. candida* 배양시의 47.98%였다는 보고와 비교할 때 本實驗에서 얻어진 건조균체중의 粗蛋白質 含量은 比較的 良好한 편이라고 思料된다.

초 록

절간고구마 주정폐액은 여과가 용이하고, 유기질 함량이 높으며 pH가 효모의 생육에 적합하여 미생물의 단세포 단백질(single cell protein) 생산을 위한 기질로 적합하였다. 본 실험에 사용한 *Candida boidinii*는 토양으로부터 분리된 고구마 주정폐액 자화성이 가장 우수한 균주로서, 72시간 배양하였을 때 배지 100ml당 1.02g의 건조균체량을 얻을 수 있었으며, 이 때의 조단백질 함량은 54.5%였다. 효모의 생육은 pH 5.0과 30°C에서 72시간 배양하였을 때 최대에 달하였고 urea 0.2%와 무기염류를 첨가하면 생육이 촉진되었다.

참 고 문 헌

1. Litchfield, J.H.: Food Technol., 31:175 (1977)
2. Delaney, R.A., R. Kennedy and Walley, B.D.: J. Sci. Food Agri., 26:1177 (1975)
3. Shannon, L.J. and Stevensou, K.E.: J. Food Sci., 40:826 (1975)
4. 대한주류공업협회: 주류공업, 3(1): 69~71 (1983)
5. 矢野式, 堀井和男, 尾崎淺一郎: 醱酵協會誌, 13:43 (1970) 4
6. 松尾次雄, 石川不二夫, 山中正美, 小西敬: 醱酵協會誌, 23:320 (1965)

7. 唐木功, 石川不二夫, 山中正美, 西岡誠治 : 醱
酵協會誌, 24 : 457 (1966)
8. 이형춘, 구영조, 민병용, 이홍근 : 한국산업미
생물학회지, 10 : 95 (1982)
9. Lodder, J.: The yeasts, A taxonomic study,
2nd Ed., North Holland Pub. (1971)
10. A.O.A.C.: Official Methods of Analysis,
13th Ed., Washington D.C. (1980)
11. 임홍빈, 유승곤, 이보성 : 한국산업미생물학회
지, 9 : 77 (1981)
12. Thanh, N.C. and J.S. Wu: Can. Inst. J.
Food Sci. Technol. J., 8 : 202 (1975)
13. 유주현, 오두환, 양용 : 한국산업미생물학회지
2 : 83 (1974)
14. Omata, S., S. Murao and H. Teraiima: J.
Ferment. Assoc., 26 : 313 (1969)
15. 정기택, 송형익 : 한국식품과학회지, 13 : 91
(1981)
16. 박완수, 구영조, 신동화, 민병용 : 한국식품과
학회지, 13 : 91 (1981)
17. 유주현, 오두환, 양용 : 한국식품과학회지, 4:
71 (1976)