

자기소화법에 의한 효모 Extract중 불용성 물질의 분석화학적 특성

김재웅 · 김동희 · 이정복* · 이서구*

유한전문대학, * 국립공업기술원

Analytical Properties for Insoluble Fraction of Yeast Extract by Autolysis

Jae-Woong Kim, Dong-Hee Kim, Jung-Bock Lee*, Sur-Koo Lee*

Yuhan Junior College, Bucheon 422-749, Korea.

* National Industrial Institute, Kwacheon 427-715, Korea.

Abstract

Because yeast is rich in vitamins, nucleotides and essential amino acids, it has been used as a nutrient and dietary supplements. Particularly yeast extract functions as a seasoning, flavor enhancer in meats. In this study, naturally occurring insoluble components during yeast extract process by autolysis were microanalyzed by using SEM, XRD, HPLC, GC, FT-IR and DSC. On the basis of useful datas, authors have characterized the analytical points for the purpose of improving products in the preparation of yeast extract.

Key words : autolysis, yeast extract, essential amino acids, analytical properties

서 론

조미료의 분류방법에 대하여 아직도 명확한 정의는 없으나 대체로 글루타민산 나트륨(MSG)이나 IMP, GMP같은 핵산관련 물질 등 자체가 지닌 맛은 특이하지 않을지라도 식품에 첨가될 때 고유의 맛을 증대시킬 수 있는 성분이 단일물질이면 단순 조미료라 하고, 두 가지 이상의 증미성분을 임의의 비율로 섞은 것을 복합 조미료, 동식물성 물질의 가수분해 산물 또는 추출 농축액을 천연 조미료라 하는데 이들에 MSG, 핵산물질, 당류, 유기산, 향신료, 무기질 등 단순 조미료가 첨가된 것을 배합형 조미료 또는 풍미 조미료라 한다. 그 밖에도 화학 조미료, 핵산 조미료, 발효 조미료라는 명칭도 사용되고 있는 실정이다.

효모(*Saccharomyces cerevisiae*)는 현재 약 600여 strains가 알려져 있으며 출아로 증식하는 단세포 미생물로서 배양하기가 쉽고, 다루기도 안전한 진핵세포이기 때문에 생물학적인 특성 연구에 중요한 실험 세포가 되어 왔다. 1,2) 식품분야에서는 일찍부터 제빵, 알코올 제조, 식재료 단백질, 단세포 단백질 자원(SC-

P), 비타민, 핵산관련 물질의 조미료 생산 등에 이용되어 왔는데, 특히 자기소화된 빵 효모의 extract는 효모취가 적을 뿐 아니라 아미노산, 펩티드, 아데닐산이나 구아닐산, 유기산(젓산, 호박산), 지질, 당류 등 다수의 영양성분이 포함되어 있고, 맛성분에는 감칠맛외에도 조미료간에 원숙한 맛의 조화를 이루게 하여 특유한 풍미를 부여하기 때문에 많은 가공식품들에 이용 가치가 크다고 알려져 있다.³⁻⁶⁾ 그러나 효모 extract는 원료 효모의 종류, 배양조건, 자기소화 조건(pH, 온도, 시간, lytic 효소의 활성조절)에 따라서 제품의 특성에는 차이가 있을 수 있다.

본 연구에서는 자기소화법에 의한 효모 extract의 제조 과정에서 생성되는 불용성 물질들이 영양학상으로 중요치 않을 뿐 아니라 관능검사에도 나쁜 영향을 미칠 수가 있다고 판단되므로 그 성분들을 정밀분석, 검토함으로써 효모 extract의 품질개선에 도움을 주고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 빵 효모 extract는 페이스트 상태

로 시판되고 있는 제품을 그대로 사용하였다.

2. 사용기기

Ultracentrifuge(Hanil Sci., Supra 28K), freeze dryer(Hanil Sci.), SEM(Philips Co., XL30), XRD(Rigaku Denki Co., Geiger Flex M-3A), FT-IR spectrophotometer(Bruker Co., IFS-120 HP), HPLC(Waters Co., pico-tag column), GC(Shimadzu Co., GC-9AG, FID detector), TLC scanner(Shimadzu Co., dual wave length CS-910), DSC(Setaram Co., France)가 사용되었다.

3. 시료의 전처리

페이스트 상태의 효모 extract 100g을 차거운 증류수 300mL에 풀어 녹이고 4℃에서 하룻밤 방치한 후, 6000×g로 20분간 원심분리하였다. 상층액(supernatant fraction)은 즉시 냉동 농축하였으며, 잔사는 차거운 증류수로 4회 반복 세척하고, 100mL의 증류수에 재현탁시킨 다음 상온에 방치하였다. 바닥에 갈아 앉은 침전 덩어리(white debris fraction)와 현탁된 불용성 부유물질(insoluble fraction)들은 decantation을 함으로써 간단히 분리하고 각각 냉동건조하였다.

4. SEM과 XRD의 측정⁷⁾

SEM(scanning electron microscope)은 ion coater(Eico Co., IB-3)로 4mA에서 5분간 gold coating 시킨 후 30KV에서 미세구조와 morphology의 특성을 관찰하였고, 필름은 polaroid No 655를 사용하였다. XRD(x-ray diffractometry)분석에서 target는 Cu, filter는 Ni, power는 30KV-15mA, scan speed는 3°/min, full scale range는 1.5Kcps, 측정 각도는 2θ=5~60°범위에서 회절분석 되었다.

5. 아미노산 분석^{7,8)}

아미노산을 정량하기 위하여 시료 50mg을 1mL의 6N-HCl과 함께 150℃에서 1시간 가수분해한 후 실온으로 식히고 총 부피가 5mL 되도록 증류수를 첨가한 다음 30분간 초음파 처리하고, 0.45mM Millex - HV filter로 여과하였다. 그 중 시료 50μL를 시료 튜브에

취하고 work station에서 진공감압으로 완전히 건조시킨 다음, redry시약(MeOH : H₂O : triethylamine, 2:2:1, v/v) 10μL를 가한 후 가볍게 흔들고 다시 건조시켰다.

PITC 유도체 시약(MeOH : H₂O : trimethylamine : phenylisothiocyanate, 7:1:1:1, v/v) 20μL을 가하고 실온에서 20분간 방치한 후 pico-tag 컬럼(3.9×150mm, 4μM, 50℃)을 장착한 HPLC로 UV-254nm에서 아미노산을 정량 하였다.

6. 중성지질, 인지질 및 지방산 조성의 정량^{7,8)}

지질을 분석하기 위하여 시료 100mg에 CHCl₃ : MeOH(2:1, v/v) 혼합용매 2mL를 가하여 지질성분을 추출하고 질소가스로 농축 건조한 후 실리카겔 G-60이 코팅된 TLC판(Merck Co.)에 petroleum ether : acetone(7:3, v/v) 용매계로 전개한 다음 원점에서는 인지질을, 전개된 부분에서는 중성지질을 모두 회수하여 농축하였다. 중성지질에 대하여는 표준품과 함께 petroleum ether : diethyl ether : acetic acid(90:10:1, v/v) 용매계로 전개하여 지질성분을 정성확인하였고, 인지질에 대하여는 1차 전개용매 CHCl₃ : MeOH : 7N-NH₄OH(130:60:8, v/v)와 2차 전개용매 CHCl₃ : MeOH : Acetic acid : H₂O(170:25:25:4, v/v)를 번갈아 사용하여 2차원 전개를 실시하고, 1% 닌히드린 시약(in butanol)과 40% H₂SO₄를 각각 분무, 130℃에서 15분간 탄화시켜 지질성분을 정성확인한 다음, TLC scanner로 440nm에서 중성지질과 인지질을 각각 정량하였다. 구성지방산은 중성지질과 인지질을 각각 10% 알코올성 KOH로 검화시킨 후 유리된 지방산을 12.5% BF₃-MeOH로 메틸에스테르화한 다음 15% DEGS(diethylene glycol succinate)의 유리컬럼(100~200mesh chromosorb WAW, 195℃)을 장착한 GC(FID, 230℃~250℃)로 정량하였다.

7. 원적외선 분광 스펙트럼 측정

전보에서와 같은 조작방법으로 FT-IR spectrum을 측정하여 작용기의 구조를 확인하였다.⁷⁾

8. 열적인 성질의 측정

시차 주사 열량을 측정하기 위하여 DSC(differential scanning calorimeter)용 백금용기에 시료 5mg을 취하여 봉합한 후 질소기류하에서 20~500℃까지 10℃/min의 가열속도로 조절하면서 열량변화 곡선을 측정하였다. 또한 시차 주사 열량계법에 의해서 온도에 따른 열용량의 차이로 TG(thermal gravity)의 %를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 관능검사

시판의 효모 extract는 황갈색 페이스트 상태에서 미세한 흰색의 불용성 물질을 포함하고 있었다. 맛 성분에서는 농후한 감칠맛 외에도 MSG맛 등이 조화를 이루고 있었으며, 12% 정도의 짠맛 성분이 있었는데 이것은 보존용으로 제품에 첨가한 NaCl 때문이라고 판단되었다. 향기성분을 조사한 바 구수한 냄새 등 식욕을 돋구는 냄새를 지니며, 당밀이나 효모취 등 바람직하지 않는 것은 극히 적은 것으로 평가되었다.

용해도 검사에서는 효모 extract의 농도가 5% 이내일 때, 불투명한 황갈색 용액이 되지만 일정시간 실온에 방치해 두거나 농도가 점차로 진해지면 용해도가 감소하면서 불용성 부유물질과 바닥에 갈아앉는 흰색의 침전 덩어리가 상당량 나타나게 되는데 불용성 부유물질은 수용액속에서 부피는 크지만 비중이 가볍고 고유의 맛과 향기를 지니고 있지 않았다.

2. SEM과 XRD의 측정

시료의 미세구조와 morphological 특성을 관찰하기 위하여 SEM을 촬영한 결과는 Fig. 1과 같다. White debris fraction은 효모가 자기소화되어 부분적으로 파쇄된 세포벽으로 확인되었으며 정상적인 자기소화 조건으로서는 autolysis가 쉽게 일어나지 않는다는 것을 잘 나타내고 있다(Fig. 1A).

Insoluble fraction의 물리적인 성질을 보면, 효모 extract가 수용액속에 분산되어 있을 때는 표면적이 크고 비중이 가벼우나, 한번 냉동건조 되었을 때는 재



Fig. 1. SEM(scanning electron microscope) photograph.

A: white debris fraction from yeast extract(2,000×) B: Insoluble fraction from yeast extract(5,000×)

분산되지도 않을 뿐 아니라 강한 정전기적인 인력이 존재하며 부분적으로 세포막이 파괴된 소수성 proteoglycan의 복합체로 확인되었다(Fig. 1B). 표준품의 glucan과 비교해 본 결과 이들은 선형의 고분자물질들이 proteoglycan의 결합 단백질에 비공유결합되어 있고, COO 기 외에도 ester화된 SO₃⁻기를 포함하여 중성용액에서 다가음이온성 다당류로 존재할 것으로 사려된다. 또한 이들 대부분은 비특이적인 비공유결합 형태의 구조로 존재하면서 단백질과의 상호작용, collagen 성분과의 작용, lipoprotein과의 작용, 입체적인 배제작용에 관여할 것으로 믿어진다.⁹⁾

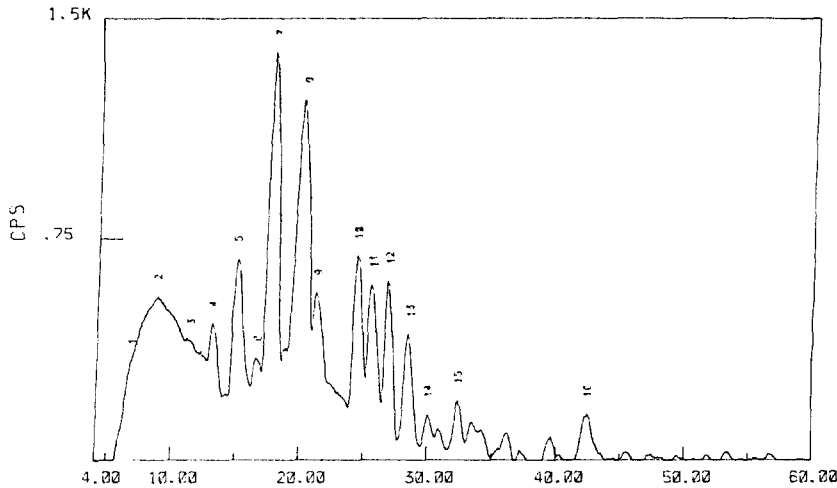


Fig. 2. XRD(x-ray diffractometry) spectrum of insoluble fraction from yeast extract.

Insoluble fraction의 XRD 측정결과는 Fig. 2에 보였다. 순수한 glucan, chitin의 것과는 전혀 다른데, 이와 같은 사실은 전형적인 proteoglycan이 자기소화 과정에서 부분적인 가수분해를 받아서 비공유결합이나 수소결합이 파괴되므로써 분자량의 크기와 생리적인 구조가 크게 변형된 것으로 판단되었다.

Compbell등에 따르면,¹⁾ 효모의 세포벽 주성분은 glucans (80~90%의 β -1,3, 10~20%의 β -1,6, α -1,3, 및 α -1,6)외에 소량의 cellulose, mannoprotein 과 chitin이 포함되어 있고, 이들은 서로 공유결합적으로 link되어 있어서 polymer 구조를 이루고 있다는데, chitin은 단백질과 β -glucan에 연결되어 있으며, 또 β -glucan은 mannoprotein과 S-S결합, 수소결합, 수소성 결합 등으로 복합체를 이루고 있다는 것이다. 또한 당의 moiety가 펩티드의 Ser, Thr 잔기에 공유결합적으로 결합되어서 proteoglycan을 이루고 있다는 것이다. 따라서 효모 세포벽은 glucan, mannan, chitin 등의 다당류와 단백질, 지질성분이 상호결합하여 단단한 구조를 이루고 있는데, 곰팡이와는 대조적으로 효모가 çıkar되는 싹 부위에는 chitin이 소량 존재하며 이곳이 취약하기 때문에 자기소화가 쉽게 일어난다는 것이다. 이와 같은 사실을 뒷바침하는 것으로서는 XRD와 SEM 사진에서도 판상의 chitin 구조가 전혀 관찰되지 않고 있었다.

3. 아미노산의 분석

효모 extract의 아미노산 조성을 HPLC로 분석한 결과는 Table 1과 같다.

Supernatant fraction의 아미노산 조성은 Glu(3.57%)의 함량이 가장 높았으며, 그 다음이 Lys, Ala,

Table 1. Amino acid compositions of yeast extracts

Amino acid	Supernatant	Insoluble	White debris
Asp	0.64	0.28	0.17
Glu	3.57	0.92	0.15
Ser	0.57	0.36	0.09
His	0.47	0.20	0.05
Glu	0.47	0.35	0.08
Thr	0.55	0.38	0.16
Ala	1.60	0.54	0.16
Arg	0.05	0.42	0.21
Tyr	0.15	15.91	0.09
Val	0.61	0.40	0.11
Met	—	0.01	0.05
Phe	0.10	1.77	0.08
Ileu	0.29	0.37	0.09
Leu	0.45	0.53	0.12
Lys	2.21	0.42	0.07
Pro	0.09	0.23	0.09

Asp, Val, Gly 및 Leu 순서였다. Insoluble fraction에서는 방향족 아미노산인 Tyr(15.91%)과 Phe(1.77%)이 대부분으로 전체 조성의 76.5%를 차지하였으며, 또한 Glu도 다른 아미노산보다는 약간 함량이 높았다. 흰색의 침전 덩어리는 아미노산 조성에 별다른 특이성이 없었고 Arg, Asp, Thr, Glu, Ala의 조성이 서로 비슷한 양으로 존재하였다.

감칠맛에 영향을 주는 아미노산은 Glu, Ala, Asp, Ser, Gly 및 Pro의 성분 때문이고, 일반적으로 육류와 어류의 추출물에는 Ala, Lys, Glu, Gly의 함량이 높지만, 야채와 과일의 것은 Glu, Asp, Leu, Pro의 성분이 많다고 알려 졌다.^{3,5,6)} 그런데 본 실험에 사용된 효모의 extract에는 Glu, Lys, Ala, Asp, Val, Ser, Gly, Leu의 성분이 많아서 HVP나 HAP에 가깝고, 어류의 중간적인 성분을 갖게 됨으로써, 특유한 풍미와 감칠맛이 있고 이들이 핵산관련 물질과 원숙한 조화를 이루기 때문에 가공식품들에 이용가치가 클 것으로 생각되었다.^{3,4)}

일반적으로 생효모의 세포에서는 protease A, B, C 3종류의 효소가 알려졌는데 protease A는 최적 pH가 3으로 기질의 특이성이 없으며 cathepsin D와 유사한 분해 특성이 있고, B 형태는 최적 pH가 9로서 불안정하며, C 형태는 분자량이 60Kda이며 최적 pH가 5~6으로 cathepsin A, chymotrypsin과 유사한 성질이 있다는 것이다.²⁾

효모 extract의 insoluble fraction에서 정량된 아미노산 중 Tyr, Phe의 아미노산 함량이 특히 높은 것은 자기소화 과정에서 ~Gly-Phe, 또는 -Tyr 등 벤젠핵을 갖는 펩티드 유도체의 인접결합을 특이적으로 절단할 수 있는 열적으로 안정한 protease가 존재하는 것으로 믿어진다.

Biemann은¹⁰⁾ FAB(fast atom bombardment) ionization법을 사용하며 화학적인 수식, 당단백질의 확인, S-S결합, 효소의 기능을 확인할 수 있는 방법을 제안한 바 있다.

4. 중성지질, 인지질 및 지방산의 조성

효모 extract중 불용성 물질로부터 총 지질을 추출하고 TLC로 분리정제한 다음 각 지질성분을 정량한 결과는 Fig. 3, Fig. 4 및 Table 2와 같다.



Fig. 3. TLC chromatogram of neutral lipids.

중성지질과 인지질의 조성비는 86.11% : 13.89%였고 중성지질의 조성은 TG(24.47%), 유리 지방산(24.03%), steryl ester(19.22%), 및 sterol(5.9%) 순서였다. 인지질의 조성은 PE(38.07%), PG(36.51%), PI(8.01%), CL(7.44%), PC(6.98%), PS(3.00%) 순서로 정량되었다.

구성지방산을 GC로 분석한 결과는 Table 3 과 같다.

Supernatant fraction은 C_{16:1}, C_{18:1}, C_{16:0} 순서

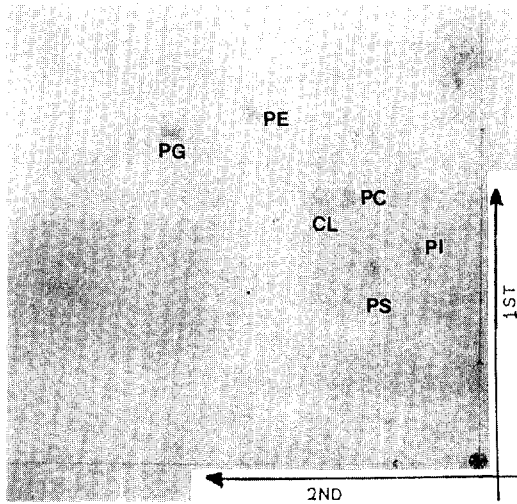


Fig. 4. TLC chromatogram of phospholipids.

Table 3. Fatty acid compositions of yeast extracts

Fatty acid	Supernatant	Insoluble	White debris
C _{12:0}	1.44	4.65	0.32
C _{14:0}	2.25	5.22	0.67
C _{14:1}	0.25	0.37	0.29
C _{16:0}	17.86	18.12	16.98
C _{16:1}	32.15	21.77	4.85
C _{17:1}	0.72	0.31	0.68
C _{18:0}	8.85	11.15	14.19
C _{18:1}	32.01	33.77	34.14
C _{18:2}	4.53	4.64	6.15

Table 2. Lipid compositions of insoluble yeast extracts

Neutral lipid	Composition(%)	Phospholipid	Composition(%)
Monoglyceride(MG)	1.17	Phosphatidyl glycerol(PG)	36.51
Free sterol(FS)	5.90	Phosphatidyl ethanolamine(PE)	38.07
Free fatty acid(FA)	24.03	Phosphatidyl choline(PC)	6.98
Unknown 1(UK)	5.06	Phosphatidyl inositol(PI)	8.01
Triglyceride(TG)	24.47	Cardiolipin(CL)	7.44
Unknown 2(UK)	11.03		
Unknown 3(UK)	6.98		
Steryl ester(SE)	19.22		
		Neutral lipids / Phospholipids =	86.11 / 13.89

로 지방산의 함량이 높지만 C_{16:1} 과 C_{18:1}의 조성은 서로 비슷하였다. 그러나 불용성 fraction과 침전물에서는 C_{18:1}의 함량이 C_{16:1}보다 오히려 높아서 C_{18:1}, C_{16:1}, C_{16:0} 순서였다. 또한 C_{18:0}, C_{18:1}과 C_{18:2}의 함량도 supernatant의 것보다는 높은 경향이 있었다.

Weete에 따르면,¹¹⁾ 55종류의 효모 세포벽으로부터 분석한 총 지질의 함량은 <2.0~13.5% 범위이고, phospholipid(49%)>TG(25%)>steryl ester(16%)>ester(3%)의 순서로 구성되었으며, 인지질의 함량은 PC(25~55%)>PE(13~38%)>PI(7~21%)>PS(4~19%)>CL(1~15%) 순서라고 하였다. 또한 효모의 종류와 배양조건에 따라서 다르나, 소기관을 이루는 총 막지질은 30~50%인데 단백질과 인지질의 비율이 0.95~21%이고, 인지질은 15~25%, 단백질은 46~49.3%, 37.8~45.6%의 지질, 0.97% DNA, 6~7% RNA, 3~6% 당, 5~6%의 sterol로 구성되었다고 하였다. 지방산의 조성을 보면 C_{16:1}은 상대적으로 많아서 총 지방산의 20~60%이고, C_{16:1}>C_{18:1}>C_{18:0} 순서로 함량이 높으며 이들이 전체의 90% 이상이 된다고 하였다.

본 실험에서 사용된 효모 extract의 지방산 조성도 Weete의 분석결과와 완전히 일치되고 있다. 그러나 PG의 함량은 Juvenile 또는 성숙한 효모 세포에서 흔히 높게 나타나는 유일한 성분인데, 본 연구에서 인지질 중에 PG의 함량이 높고 PC의 함량이 상대적으로 낮은 이유는 자기소화과정에서 phospholipases의 작용을 받아 인지질들이 분해되었기 때문으로 믿어진다.

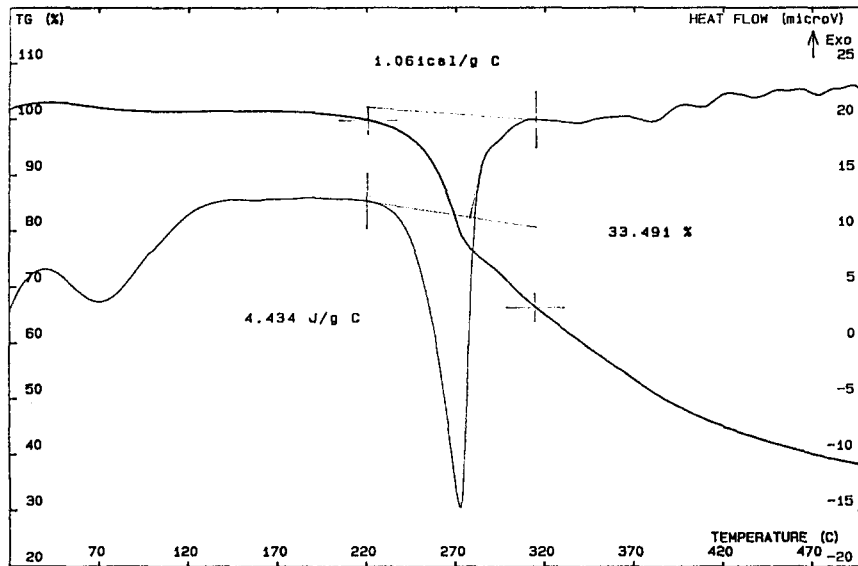


Fig. 5. DSC thermogram and TG curve of insoluble fraction.

5. FT-IR spectrum

Insoluble fraction의 원적외선 스펙트럼의 특성은 다음과 같다.⁷⁾

IR ν_{\max} (KBr) 3404(w, NH), 3205(s, OH), 2975, 2930, and 2851(s, CH), 1692(w, C=O), 1610 and 1331(s, COO⁻), 1550 and 1514(s, C=C), 1454(s, CH₂, CH₃), 1363(s, CH₃), 1246(s, C-O), 1099~1022(m, C-N), 1022, 967 and 965(vs, trans CH=CH), 950, 835(m, R₂C=CHR), and 790cm⁻¹ 대조물질로서 chitin의 것은 IR ν_{\max} (KBr) 3439(m), 3279(w), 3110(s), 2924(m), 2370(w), 1656(s), 1561(s), 1378(s), 1313(s), 1075(s), and 596cm⁻¹ 이었다.

6. 열적인 성질의 특성

Insoluble fraction의 TG와 DSC thermogram은 Fig. 5에 나타나 있다. DSC 결과에서 이것은 발열반응의 피크가 두 곳에서 나타나고 있는데 70°C일 때는 발열정점이 broad하며, 270°C에서는 발열반응의 엔탈피(ΔH) 값이 1.061 cal/g°C이며 강하고 날카로운 피크로 관찰되었다. TG의 온도는 220°C이고 열

중량의 감소는 33.49%인데, 220°C에서 서서히 열분해가 시작되어 270°C 근방에서 열중량이 급격히 변화하다가 310°C에서 완전히 분해되었다.

대조물질로서 순수한 chitin(Sigma Co.)을 사용한 결과 TG온도는 250°C이고 열중량 감소는 62.16%이며, DSC 결과 350°C와 437°C 두 곳에서 흡열정점을 갖고 있는데, 350°C에서는 흡열정점의 엔탈피(ΔH) 값이 0.071cal/g°C였다. 이것은 chitin의 열 안정성이 상대적으로 크기 때문에 시료보다 열분해 온도가 증가되었다고 판단된다.

또 하나의 대조물질로서 순수한 glucan을 사용하였을 때 DSC 결과는 240°C, 300°C, 437°C, 473°C 4지점에서 흡열반응의 엔탈피(ΔH) 값을 나타내었다.

순수한 glucan과 chitin은 엔탈피가 증가하는 흡열반응이었고 자유도가 증가하므로써 결국은 엔트로피(ΔS)가 감소하는 것으로 생각되었다. 또한 시료의 DSC와 TG 온도가 대조물질보다 각각 낮게 나타난 사실은 자기소화 과정에서 polymers의 3차구조가 파괴되어 평균 분자량이 감소되었고 이들이 지질, 결합 단백질, 불규칙한 당 사슬과 소수성 결합으로 불안정한 복합체를 이루고 있음을 뜻하는데, 시료 복합체의 구성탄소 사슬이 길어지면 그 만큼 주위에는 결합수가

많고 흡착이온들도 많게 되어서 반발력이 크므로 결국 분산력이 크고 비중에도 영향을 미친다고 판단되었다.

일반적으로 생체고분자 물질의 TG 전이온도는 유리상태에서 gum상으로 전이되는 현상으로 정의되는데, 분자운동에 기인된 생체고분자 물질의 열안정성은 평균 분자량, 중합체의 반응형태, 대칭성 구조, 작용기의 입체효과, 극성기의 종류와 수에 따라 다를 수 있다. 시료의 유리 전이온도가 220°C인데 이것은 합성된 고분자 물질에 비하여 시료 분자 중에는 methyl기나 phenyl기 같은 소수성 작용기와 amide결합이 많고, -OH 그룹에 의한 분자간에 수소결합이 강하여 엔트로피(ΔS)가 감소하기 때문에 높은 전이온도를 가지며, 소수성기의 증가로 고분자 물질의 구조적인 대칭성과 작용기에 따른 입체구조에 영향을 미치기 때문에 분자사슬의 운동이 상대적으로 높은 온도에서 일어난 결과로 해석된다. 또한 분자내에 -glucoside 결합이나 peptide 결합이 많아지면 분자간에는 수소결합으로 단단히 고정되므로 엔트로피(ΔS)가 감소하기 때문에 열안정성이 그 만큼 더 높고, 생체내에 투입되었을 때는 분해속도가 늦을 것으로 생각된다.¹²⁾

요 약

자기소화법에 의한 빵 효모의 extract중 불용성 물질들의 분석화학적 특성이 연구되었다.

적절한 효모의 배양조건 (효모의 종류, 페 당밀의 농도, 효소활성 첨가제, 온도, pH)에 따라 효모의 최적 자기소화는 48시간(때로는 2~3일)을 기준으로 하여 효소반응을 중지한 다음 농축하여 extract를 제품화하고 있다. 효모를 배양할 때 세포벽이나 세포막의 형태변화, 막 분해효소의 활성, 원형질의 분리 등은 효모의 자기소화 조건에서 중요한 인자가 되는데, 48시간 이상의 자기소화로 효모 균체로부터 단백질의 수율이 80% 이상(킬달법 정량) 분해가 가능하다는 연구들이 있으나,⁴⁾ 균체의 세포벽이나 세포내 소기관의 세포막들은 여러 종류의 다당류와 지질로 구성된 proteoglycan의 복합체이기 때문에 자기소화 능력만으로는 시간이 걸리고 충분히 분해되지 않아서 실제로 이용될 수 있는 효모 균체의 소화율은 상대적으로 낮을 수밖에 없다. 또한 48시간 이상을 자기소화한다 할지라도

세포벽은 완전히 분해되지 않은채 미세한 분말로 남아 있을 뿐만 아니라 부분적으로 파괴된 소기관들의 세포막 등 불용성 부유물질들이 함께 포함되어 있기 때문에 관능검사에 좋지않은 영향을 미칠 수도 있다. 그렇지만 자기소화 시간이 무작정 길어진다는 것도 생산비나 제품의 품질면에서 그리 바람직하지 못하다.

아미노산의 분석결과 효모 균체에는 Glu, Ala, Lys, Asp, Val이 풍부한 단백질이 포함되어 있고, 그들의 이용가치를 높이려면 이미 공업적으로 생산되고 있는 lytic효소들을 사용하면 효과적일 수도 있다.

현재 상품화 되어서 판매되는 세포막의 분해효소들은 5종류가 있다.^{1,2)} 첫째 snail-gut액, 둘째 helicase, 셋째 glusulase가 있는데 이것은 효모의 plasma membrane 분리시에 사용되지만 helicase보다 4배나 효과가 크다는 것이다. 넷째 β -glucanase는 *Arthrobacter luteus* 등 몇가지 미생물로부터 생산되는데 helicase나 glusulase보다는 강력하다는 것이다. 마지막으로 *Arthrobacter luteus*가 생산하는 zymolyases (miles)가 있는데 이 효소는 β -glucanase의 활성 뿐 아니라 protease의 활성도 함께 가지고 있으나 빵 효모의 세포막 분해활성은 낮다는 것이다. 그밖에 lyticase(Sigma Co.)도 시판되고는 있다.

따라서 자기소화 전단계에서 위에 열거된 lytic효소들을 적절히 사용하여 효모의 세포벽이나 세포막을 미리 연화, 용해시키는 것이 효과적일 것이나 빵 효모에는 작용이 대부분 미약하다고 알려졌으며¹³⁾ 이들은 원래 분자생물학적인 기법의 실험을 위하여 개발된 것이므로 소규모의 실험에서나 가능할 것이며²⁾ 실제로 대형 공장에서는 생산경비가 많이 들게 되고, 또한 실험결과에서 얻어진 자료에서 보는 바와 같이 영양학상으로 그리 중요치 않다고 판단되는 물질들을 힘들게 분해할 필요도 없을 듯하다. 그러나 관능검사에서 간혹 문제점이라도 발생한다면 자기소화 시간을 적절히 늘리거나, 또는 효모 extract가 지닌 구수하면서도 감칠맛을 내게되는 최적 소화조건과 시간대에서 자기소화를 중지하고 농축단계로 접어들기 전단계에서 냉수를 가하여 점도를 낮춘 다음, 실온에서 최소한 회전력이 3,000×g 이상 되는 원심분리기로 10분간 원심분리하거나, 여러 형태의 여과장치를 병행하는 방법으로 미분해된 세포벽과 불용성 세포막 성분을 물리적으로

제거한다면 품질개선에 도움이 될 것으로 생각한다.

참고문헌

1. Compbell, I., and Duffus, J. H. : *Yeast*, IRL (1988)
2. Verachtert, E., : *Biotechnology and Biocatalysis*, Dekker (1990)
3. 김우정 : 천연 조미료의 제조와 장래성, *식품과학회*, 19, 46 (1986)
4. 이철호 : 효모 엑기스의 제조와 이용, *식품공업협회*, 60, 73 (1980)
5. 越智宏倫 : 最近の洋風スーフォと天然調味料, *Food Sci.* 22, 52 (1983)
6. 緒方伸夫, 石田賢吾 : 中華スーフォの需給と加工技術動向, *Food Sci.* 22, 36 (1983)
7. 김재웅, 이서구 : 대하로부터 분리정제한 Carotenoprotein의 특성에 관한 연구, *대한화학회*, **38**, 608 (1994)
8. 김재웅, 김동희, 이정복, 이서구, 민태진 : 사철느타리 버섯중 G418-sensitive 미토콘드리아성 ATPase /ATP synthase의 특성, *분석과학회*, 5, 477 (1992)
9. Kreis, T., and Vale, R. : *Guide Book to the Extracellular Matrix and Adhesion Proteins*, Oxford (1994)
10. Biemann, K. : Mass Spectrometry of Peptides and Proteins, *Ann. Rev. Biochem.* 61, 977 (1992)
11. Weete, J. D. : *Lipid Biochemistry*, Plenum (1980)
12. Gilding, D. K. : *Biodegradable Polymer in Biocompatibility of Clinical Implant Material*, CRC press (1981)
13. Rombouts, F. M., and Phaff, H. J. : Lysis of Yeast Cell Wall, *Eur. J. Biochem.* 63, 109 (1976)

(1994년 9월 16일)