

## 고핵산 함유 *Saccharomyces cerevisiae* 균주를 이용한 정미성 효모 추출물의 제조

김재식 · 김진욱\* · 심 원\* · 김정원\*\* · 박관화\*\*\* · 백운화\*  
영동대학교 식품공학전공, \*두산인재기술개발원  
\*\*인천대학교 자연과학대학 생물학과  
\*\*\*서울대학교 식품공학과 및 농업생물신소재연구센터

### Preparation of Flavor-enhancing Yeast Extract Using a *Saccharomyces cerevisiae* Strain with High RNA Content

Jae-Sik Kim, Jin-Wook Kim\*, Won Shim\*, Jung-Wan Kim\*\*,  
Kwan-Hwa Park\*\*\* and Un-hua Pek\*

Department of Food Science and Technology, Youngdong University  
\*Doosan Training & Technology Center, \*\*Department of Biology, Incheon University  
\*\*\*Department of Food Science and Technology and Research Center for  
New Bio-Materials in Agriculture, Seoul National University

#### Abstract

Yeast extracts were prepared using either autolysis or enzymatic digestion methods for industrial application of the *Saccharomyces cerevisiae* B24 strain developed previously to have high RNA content. Extraction ratio of yeast extract from yeast cell reached 65% when autolysis of yeast slurry having 10% solid content was induced at 50°C and pH 5.0 by agitating with 100 rpm. However, neither 5'-IMP nor 5'-GMP was detected from the autolyzate. In another attempt to prepare a yeast extract *S. cerevisiae* B24 culture was treated at 90°C and then treated by various enzymes including  $\beta$ -1,3-glucanase, phosphodiesterase (nuclease P1), adenylic deaminase, and a protease. The yeast extract prepared by the enzymatic digestion method contained 3.2g of 5'-IMP and 5'-GMP/100g dry yeast extract.

Key words: yeast extract, 5'-IMP, 5'-GMP, enzymatic digestion

#### 서 론

활성 혹은 불활성의 효모 균체를 부분적으로 분해시켜 제조하는 효모 추출물(yeast extract)은 식품 산업에서 영양 성분 혹은 천연 풍미 소재로 널리 사용되는 분말이나 페이스트상의 제품이다. 효모 추출물이 천연 풍미 소재로 널리 쓰일 수 있게된 것은 같은 강도의 풍미를 내는 다른 소재들과 비교하였을 경우 가격이 저렴하기 때문이며, 보통 식품에 무게비로 0.1~0.5% 정도 사용된다. 세계적으로 1년에 생산되는 효모 추출물은 약 35,000톤 정도에 이르며, 약 190만 달

리의 시장을 가진 산업이다<sup>1)</sup>.

효모 추출물은 크게 세가지 방법으로 제조되는데, 첫째는 온도, pH, 시간 등을 조절하여 효모 내에 있는 자기소화 효소를 활성화시켜 세포 성분을 가용화시키는 자기소화(autolysis)이고, 둘째는 일정 온도와 압력에서 효모를 염산으로 처리해 거대 분자를 분해하여 가용화시키는 가수분해(hydrolysis)이며, 셋째는 고농도의 염용액에 효모를 넣어 세포가 삼투압에 의해 자체의 수분을 잃어 결국은 죽게되어 분해가 일어나는 plasmolysis이다<sup>2)</sup>. 이 중 자기소화란 세포내 존재하는 분해 효소의 작용으로 세포 성분이 용해되는 것을 의미하며 온도, pH, 분해 시간을 주의 깊게 조절하여 반응을 일으키고 경우에 따라 분해를 촉진시키는 효소나 다른 물질을 넣어주게 된다. 단백질 분해로 생성된 유리 아미노산은 식품 풍미에 직접적인 영향을 미치

Corresponding author: Kwan-Hwa Park, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Life Science, Seoul National University, 103 Seodoo-dong, Kwun-sun-gu, Suwon 441-744, Korea

며 또한 맛을 내는 글루탐산이 아미노산 및 펩티드의 구성 성분으로 되어 있기 때문에 산분해 간장에서처럼 글루탐산 일나트륨(monosodium glutamate, MSG)의 맛이 나지 않게 된다. 이렇게 제조된 효모 추출물은 식품의 풍미 개선제 혹은 발효 배지 등 주로 상업적으로 이용되는 만큼 산업적인 생산 기술도 많이 보고되고 있다. 자기소화를 촉진하기 위하여 활성 효모에 식염 및 에탄올을 첨가하는 방법<sup>(2,3)</sup>, 맥아근에서 추출한 5'-phosphodiesterase를 첨가하여 정미성 뉴클레오티드를 자기소화액 내에 생성시키고자 하는 시도가 있었으며<sup>(4)</sup>, 이 외에도 건조 효모를 효소 분해후 키토산을 첨가하여 불용 물질을 흡착 제거하는 방법에 대한 보고도 있었다<sup>(5)</sup>. 이상의 연구 이 외에도 핵산 분해 효소를 이용하여 효모 추출물의 정미성을 높이기 위한 많은 연구가 진행되었다<sup>(6-10)</sup>.

한편, 최근 들어 글루탐산 일나트륨(monosodium glutamate, MSG)을 대체할 수 있는 천연 풍미 소재에 대한 관심이 높아지고 있는데, 글루탐산 일나트륨이 미국 FDA에서 일반적으로 안전하다고 인식되는 (generally recognized as safe, GRAS) 물질이지만 과량 섭취시 소위 "chinese restaurant syndrome" 이라는 부작용을 동반하므로 식품에 첨가했을 때는 반드시 표기를 해야 한다. 이는 IMP와 GMP에서도 마찬가지여서 화학적 합성으로 만든 IMP와 GMP 제품은 식품에 첨가되었을 때 반드시 표기해야 한다. 그러나 효모 추출물은 천연 제품으로 분류되어지며 정미성 뉴클레오티드가 많은 고핵산 효모 추출물은 화학적 합성법에 의하지 않고 정미 성분이 다량으로 함유된 천연 제품의 대표적인 예라 하겠다.

본 연구에서는 식용 단백질 생산 균주로 널리 알려진 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 7754 균주를 개량하여 핵산 함량이 높아진 *S. cerevisiae* B24 균주를 당밀 배지에서 배양한 후 균체를 수득하고 세척한 다음 자기소화법 혹은 효소 분해법으로 고핵산 효모 추출물을 제조하여 5'-IMP, 5'-GMP 등의 정미성 뉴클레오티드 함량 및 추출 수율을 비교하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 7754의 돌연변이 균주 *Saccharomyces cerevisiae* B24를 이용하여 정미성 뉴클레오티드가 풍부한 효모 추출물을 제조할 때, 효모 세포벽 분해 효소  $\beta$ -1,3-glucanase는 天野製藥(일본)의 YL-15을, phosphodiesterase와 adenylic deaminase도

각각 天野製藥(일본)의 nuclease RP-1과 deamizyme을 사용하였으며, 단백질 분해 효소는 Novo사(Denmark)의 flavourzyme을 사용하였다. 정미성 뉴클레오티드 분석에 필요한 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 분석장치는 Tosoh사(일본)의 SC-8010을 사용하였으며 관(column)은 YMC사(일본)의 polyamine-II를 사용하였다. 정미성 뉴클레오티드 함량을 비교하기 위해서 효모 추출물을 시중에서 구입하였다.

### 자기소화법에 의한 효모 추출물의 제조

5 L 용량의 발효조(NBS Bioflo III, U.S.A.)에 당밀 20 g/L, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g/L, K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0.26 g/L, thiamine·HCl 120 mg/L, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 140 mg/L, NH<sub>4</sub>Cl 12.6 g/L, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 4.8 g/L가 포함된 당밀배지 2.5 L를 넣고 효모를 발효액의 1% 가량 접종한 후 pH 4.5, 30°C, 500 rpm으로 30시간 동안 B24 돌연변이주를 배양하였다. 회수된 효모를 물을 사용하여 3회 이상 깨끗이 세척한 다음 약 10% (w/w) 균체 농도가 되도록 물을 첨가하여 현탁시켰다. 이를 다시 5 L 용량의 발효조에 넣고 50°C, pH 5.0에서 서서히 교반하면서 약 48시간 동안 자기소화시켰다. 이 때 잡균에 의한 오염을 방지하고 자기소화를 촉진하기 위해 정제 소금(한주)을 반응액의 1% (w/w) 그리고 시약급 초산 에틸(Junsei, Japan)을 0.01% (w/v) 가량 미리 첨가하였다. 자기소화가 끝난 후 반응액을 3,000 rpm에서 5분간 원심 분리한 후 상등액인 자기소화 추출물 (autolyzate)을 분리하였다. 또한 침전물을 1회 이상 물로 세척하여 남아 있는 자기소화 추출물을 회수하였다. 이렇게 얻어진 자기소화 추출물을 90°C 이상의 온도에서 약 20분간 가열하여 잔존 효소를 불활성화시키고 진공 농축기로 60°C에서 고형분 함량 70% (w/w) 정도까지 농축하였다. 이 때 자기소화 추출물의 수득율 혹은 자기소화 수율 (autolysis yield)은 자기소화 전의 균체 고형분에 대한 자기소화 추출물의 고형분의 비, 다시 말하면 균체 고형분이 추출물로 이전된 비율을 나타낸다. 즉,

$$\text{자기소화 수율, \%} = \frac{\text{자기소화 추출물의 고형분 함량 (g)}}{\text{자기소화전 슬러리의 균체 함량 (g)}} \times 100$$

또한 추출물의 아미노태 질소는 ninhydrin 방법<sup>(11)</sup>을 사용하여 측정하였다.

### 효소적 분해법에 의한 핵산 효모 추출물의 제조

전술한 방법대로 배양된 효모 배양액을 원심 분리

기를 이용하여 물로 3회 세척한 다음 100°C에서 20분간 가열 처리하여 세포내 모든 효소를 불활성화시켰다. 이 때 가능한 한 빨리 승온시켜야만 온도 상승 중에 RNase, phosphomonoesterase에 의해 리보핵산이 분해되어 손실되는 것을 막을 수가 있다. 가열 처리한 효모 배양액의 온도를 약 50°C로 낮추고 고형분 농도를 10% (w/w)가 되도록 하였다. 이를 교반기가 달린 반응조에 넣고 반응액의 0.08% (w/w)에 해당하는  $\beta$ -1, 3-glucanase를 첨가한 후 pH 7.0, 50°C에서 18시간 반응시켰다. 다시 온도를 70°C로 승온시키고 0.026% (w/w) phosphodiesterase (nuclease P1)을 넣고 pH 5.0에서 3시간 동안 반응시킨후, 45°C로 온도를 낮추어 0.01% (w/v) adenylic deaminase를 첨가하고 pH를 6.0으로 맞추어 교반하면서 1시간 동안 반응시켰다. 다시 반응액을 50°C로 승온시키고 0.026% (w/w) 단백질 분해 효소를 첨가하고 pH를 7.0으로 하여 12시간 반응시켰다. 이렇게 얻어진 핵산 효모 추출물을 90°C 이상의 온도에서 약 20분간 가열하여 잔존 효소를 불활성화시키고 진공 농축기로 60°C에서 고형분 함량 70% 정도까지 농축하여 고핵산 효모 추출물을 얻었다.

**효모 추출물의 정미성 뉴클레오티드 분석**

정미성 뉴클레오티드인 5'-IMP와 5'-GMP의 분석은 YMC사(일본)의 polyamine-II 판을 사용하여 HPLC를 행하였다. 효모 추출물의 고형분 함량이 5~10%가 되게끔 증류수로 희석하여 sep-pak 처리 후 0.45  $\mu$ m 미세 여과지(Whatman, U.K)로 여과하여 전처리하였다. 용매는 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (pH 3.5) 완충 용액을 사용하여 관 온도를 40°C로 유지하면서 1 mL/min의 유속으로 용매를 충분히 흘려 바탕선을 안정시킨 후 20  $\mu$ L의 시료를 주입하여 자외선 검출기(Tosoh UV-8010, Japan)로 254 nm에서 검출하였다. 표준 곡선은 IMP와 GMP (Sigma Chemical Co. U.S.A.)를 증류수에 녹여 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.5 mg/mL의 농도로 희석하여 분석하고 각 peak의 면적과 농도관계로 작성하였다.

**결과 및 고찰**

**자기소화법에 의한 효모 추출물의 제조**

당밀을 배지로 한 유가식 배양법으로 호기적 조건 하에서 배양한 B24 배양액을 자기소화 시키면서 세포내의 고형분이 분해되어 자기소화액으로 이전되는 고형분 이전 수율(자기소화 수율 혹은 수율이라고 함)을 반응 시간별로 측정한 결과는 Fig. 1과 같았다. 효모 세포내에 있던 고형분은 자기소화가 진행됨에 따라

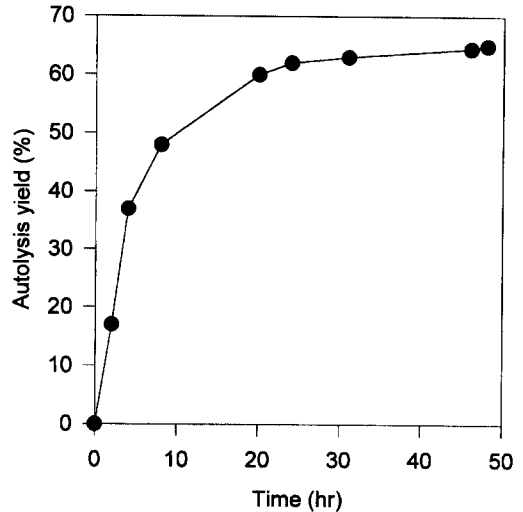


Fig. 1. Extraction rate of yeast extract from yeast cell during autolysis of *S. cerevisiae* B24.

반응액으로 이전되어 효모 추출액 중의 고형분 함량은 점차 늘어나게 되고 자기소화 시작 후 24시간이 지난 시점에서는 약 60% 이상의 세포 고형분이 효모 추출액 중으로 이전되게 되며 48시간 만에 최대 수율 65%를 얻을 수 있었다.

자기소화의 기작은 아직 정확히 규명되어 있지 않으나 Hough와 Maddox<sup>(12)</sup>는 다음과 같은 가설을 주장한 바 있다. 즉, 높은 온도로 인해 자기소화 반응 동안 살아 있는 세포, 죽어 가는 세포, 이미 죽은 세포가 공존하게 되는데, 죽은 세포의 세포막은 선택적 투과가 파괴되어 세포내 물질이 밖으로 유출되게 된다. 살아 있더라도 높은 온도의 악조건으로 인해 불리한 환경에 처하게 된 세포는 반응액으로 유출된 단백질을 이용하기 위해 단백질 분해 효소를 반응액으로 분비시켜 단백질을 아미노산으로 분해하게 된다. 단백질 분해 효소 외에도 핵산 분해 효소가 유리되어 핵산을 분해하게 된다. 이런 과정이 계속되어 결국에는 모든 세포가 죽게 되고 자기소화도 끝나게 된다고 설명하였다.

B24 배양액의 자기소화 진행 정도를 확인하기 위해 단백질이 분해되어 생성되는 유리 아미노태 질소를 측정하여 본 결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 시간이 경과되어 자기소화가 진행될수록 아미노태 질소는 증가되어 48시간 이후에는 자기 소화액 1 g 당 최고 1.6 mg의 아미노태 질소가 생성되는 것을 알 수 있었다.

**B24 자기소화 추출물의 정미성 뉴클레오티드 분석**

식품 중의 정미성 핵산 성분인 5'-IMP와 5'-GMP를

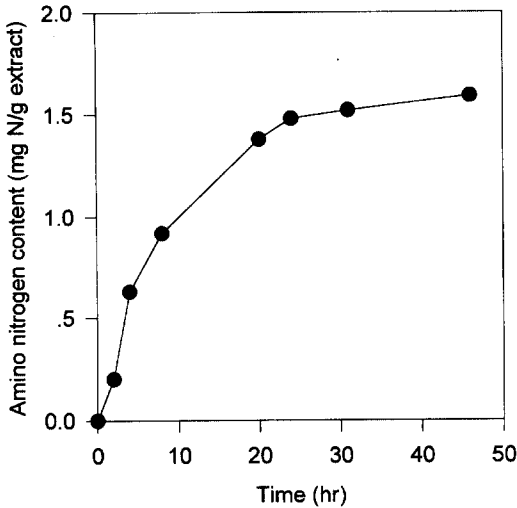


Fig. 2. Amino nitrogen content in yeast extract during autolysis of *S. cerevisiae* B24.

분석하는 방법으로 여러 가지가 알려져 있다. 이 중 음이온 교환 크로마토그래피<sup>(13)</sup>가 뉴클레오티드의 분리와 정량에 매우 유용한 방법이기도 하나 식품의 정미성 핵산 성분을 분석할 때는 높은 염 농도로 인해 peak 분리가 어려워 사용에 제한을 받게 된다<sup>(14)</sup>. 역상 HPLC로 세포내 뉴클레오시드나 뉴클레오티드를 분석하기도 하나 다른 성분과 5'-IMP, 5'-GMP의 분리가 깨끗하지 않아 본 실험에서는 polyamine-II 판을 사용하여 HPLC로 분석하였다.

B24 자기소화 추출물을 HPLC로 분석한 결과를 Fig. 3A에 나타내었다. 표준 물질의 분석에서 나타난 머무름 시간(retention time, RT) 14분 정도의 5'-IMP peak와 RT 20.7분 정도의 5'-GMP peak를 관찰할 수 없었고 RT 20.7분 정도에서 약간의 shoulder가 나타남을 볼 수 있었다. 즉 B24의 자기소화 추출액에는 정미성 핵산성분인 5'-IMP와 5'-GMP가 거의 검출될 수 없을 정도로 미량 존재함을 알 수 있었고 이는 세포 밖으로 핵산이 빠져 나오지 않았거나 핵산이 뉴클레오시드 혹은 염기와 5탄당으로 분해되었음을 시사하는데, B24의 자기소화 추출물에 내부 표준 물질로 5'-IMP와 5'-GMP를 각각 0.25 mg씩 넣고 HPLC로 분석한 결과는 Fig. 3B와 같다. RT 13.98분과 RT 20.75분에 각각 5'-IMP와 5'-GMP peak를 관찰할 수 있었고 이상의 결과에서 고핵산을 함유한 효모 균주를 단순히 자기소화시키게 되면 핵산 성분이 5'-IMP, 5'-GMP 등과 같은 정미성 성분이 아닌 다른 성분으로 바뀌어 지거나 혹은 세포내에 그대로 잔존하고 있는 것으로

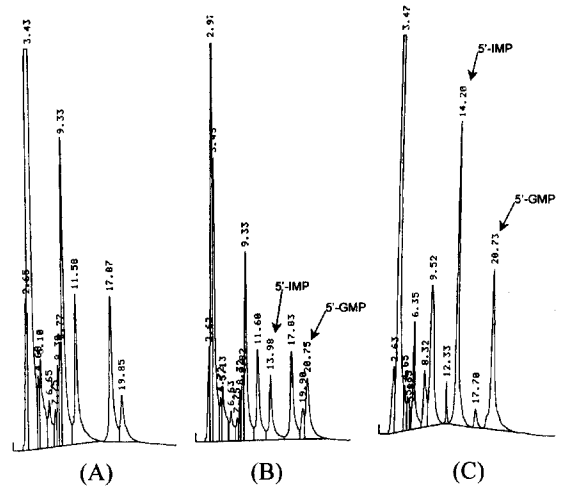


Fig. 3. HPLC of yeast extracts prepared from *S. cerevisiae* B24. (A) autolyzate (B) autolyzate with 5'-IMP and 5'-GMP as internal standards (C) enzymatic digestion product.

추측되어진다. 실제로 자기소화가 끝난 후 효모를 수거하여 자기소화 전의 효모와 비교하여 현미경으로 관찰했을 때 자기소화가 끝난 후에도 효모의 세포벽은 깨지지 않고 거의 변화가 없음을 관찰할 수 있었으며 단지 세포 성분이 추출액으로 이전되어 세포 크기가 작아졌음을 관찰할 수 있었다.

Hough와 Maddox<sup>(12)</sup>은 자기소화가 진행되면서 리보핵산은 먼저 효모 세포내의 산성 RNase에 의해 뉴클레오티드로 분해되고 이는 다시 phosphomonoesterase에 의해 뉴클레오시드와 무기 인산으로 분해된다고 보고하였고, Shetty 등<sup>(15,16)</sup>은 *S. carlsbergensis*로부터 ribonuclease (RNase: EC 3.1.14.1)를 분리하여 특성을 조사한 결과 pH 6.0, 52°C 부근에서 최대의 역가를 나타내며 자기소화 온도인 50°C에서 10분간 방치하여도 90%의 안정한 역가를 나타낸다고 보고한 바 있다. 그러나 70°C에서는 2분 안에 완전히 불활성화되는 것으로 보고하였다. 균주에 따라 RNase는 80°C에서도 상당한 열안정성을 보이는데 *Aspergillus oryzae*로부터 분리한 RNase T1<sup>(17)</sup>이나 *Streptomyces erythreus*에서 분리한 RNase<sup>(18)</sup>가 대표적인 예이다. 따라서 핵산 성분이 효모 RNase에 의해 비가역적으로 뉴클레오시드-3'-인산으로 분해되기 이전에 70°C 이상의 온도에서 열처리하여 RNase를 불활성화시키는 것이 고핵산 효모 추출물 제조에 있어서 중요한 조작이라고 할 수 있다.

효소분해법에 의한 고핵산 효모 추출물의 제조  
자기소화 과정에서 단백질 분해 효소 등 세포내 성

분은 주로 출아흔을 통하여 세포 외로 분비된다는 것은 잘 알려진 사실이다<sup>(19)</sup>. 그러나 세포가 완전히 파괴되지 않는 한 세포 내의 모든 성분이 세포 밖으로 유출되지는 않는다. 효모의 세포벽은 글루칸과 만난의 매트릭스 구조로 이루어져 있으며 고압 균질기에 의한 물리적인 충격이나 zymolase나  $\beta$ -1,3-glucanase와 같은 효모 세포벽 분해 효소를 작용시키지 않고는 세포벽을 완전히 파괴하기란 어렵다<sup>(20)</sup>. 특히 *S. cerevisiae*속은 실온에서는 효모 세포벽 분해 효소( $\beta$ -1,3-glucanase)의 작용에도 세포벽이 거의 파괴되지 않고 90°C 이상의 온도에서 열처리를 한 후 효소를 작용시켜야 세포벽 분해율을 증가시킬 수 있는 것으로 보고된 바 있다<sup>(21)</sup>. 따라서 효소 분해법으로 효모 추출물을 제조하려면 *S. cerevisiae* 속 효모를 세포벽 분해 효소인  $\beta$ -1,3-glucanase로 처리하기 전에 열처리를 해야 하는데 본 실험에서는 90°C 이상의 온도에서 20분 가량 끓여 주었다. 이러한 열처리로 핵산 분해에 관여하는 RNase, phosphomonoesterase, phosphatase 등이 불활성화되며 기타 단백질 분해 효소도 불활성화될 것으로 예측된다.

모균주 ATCC 7754 및 돌연변이 균주 B24 배양액을 저온에서 세척한 후, 위와 같이 열처리하여 세포벽을 연화시킨 후 세포벽 분해 효소인  $\beta$ -1,3-glucanase를 작용시켜 효모 세포벽을 용해시키고 세포 내용물을 세포 밖으로 빠져 나오게 한 다음 phosphodiesterase (nuclease P1), adenylic deaminase, protease를 순차적으로 반응시켜 핵산과 단백질 성분을 분해시킨 후 원심 분리하여 효모 추출물만을 회수하고 농축하였다. 그

결과 Table 1에서 보는 바와 같이 1 L의 배양액으로부터 70% (w/w) 고형분의 효모 추출물을 ATCC 7754의 경우는 77 g, B24는 84 g을 각각 얻었는데, 이를 균체 성분이 효모 추출물로 이전된 비율로 환산하면 각각 79%와 85%였다. 이 때 세포내의 리보핵산은

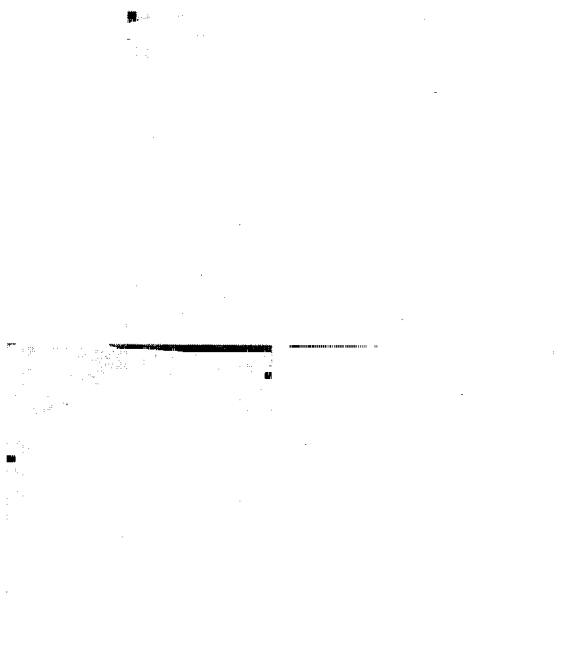


Fig. 4. Micrographs (400x) of the B24 cells during enzymatic digestion for the preparation of yeast extract. (A) intact cell (B) after treatment with  $\beta$ -1,3-glucanase (C) after treatment with the rest of the enzymes.

Table 1. 5'-IMP and 5'-GMP content and extraction yield in the preparation of yeast extract by enzymatic digestion of *S. cerevisiae* ATCC 7754 and B24 cells

Treatment	Composition of extract							
	<i>S. cerevisiae</i> ATCC 7754				<i>S. cerevisiae</i> B24			
	TS(g)	I(g)	G(g)	I+G(g) <sup>1)</sup>	TS(g)	I(g)	G(g)	I+G(g)
Culture	51(8.2) <sup>2)</sup>	0	0	0	51(10.1) <sup>2)</sup>	0	0	0
Heat shock <sup>3)</sup>	11.2	0.073	0.026	0.88	12.3	0.085	0.037	0.99
$\beta$ -1,3-glucanase	37.7	0.034	0.015	0.13	41.9	0.071	0.021	0.22
Phosphodiesterase	38.1	0.046	0.453	1.31	42.6	0.085	0.643	1.71
Adenylic deaminase	37.8	0.484	0.348	2.20	43.1	0.789	0.547	3.10
Protease								
Yeast extract	40.5	0.535	0.356	2.20	43.6	0.859*	0.536*	3.20*
Conversion ratio of RNA to I+G			10.9%				13.9%	
Yeast extract weight from 1 L culture			77 g				84 g	

<sup>1)</sup>TS=Total solid, I=5'-IMP, G=5'-GMP.

<sup>2)</sup>Numbers in parentheses are total RNA weight.

<sup>3)</sup>Boiling for 20 min.

\*Significant at p<0.05.

Table 2. 5'-IMP &amp; 5'-GMP content in B24 extract and various commercial yeast extracts

Yeast Extract	Yeast Species	Preparation Method <sup>1)</sup>	5'-IMP (% DB) <sup>2)</sup>	5'-GMP (% DB)	5'-IMP&5'-GMP (% DB)
B24	<i>S. cerevisiae</i>	A	0	0	0
	<i>S. cerevisiae</i>	E	1.97	1.23	3.20
A Co., U.S.A.	<i>S. uvarum</i>	A	0	0	0
	<i>S. cerevisiae</i>	E	0.65	1.24	1.89
B Co., Netherland	<i>S. cerevisiae</i>	A	0	0	0
	<i>S. cerevisiae</i>	E	0.47	1.34	1.81
C Co., Canada	<i>S. cerevisiae</i>	U	0	0	0
	<i>S. cerevisiae</i>	U	0	0	0
D Co., Germany	<i>S. cerevisiae</i>	A	0	0	0
	<i>S. cerevisiae</i>	A	0	0	0
	<i>S. cerevisiae</i>	E	1.25	1.75	3.00
E Co., Japan	<i>C. utilis</i>	E	1.57	1.33	2.90
	<i>C. utilis</i>	E	1.79	1.70	3.49
F Co., Korea	<i>S. cerevisiae</i>	A	0	0	0
G Co., Korea	<i>S. cerevisiae</i>	A	0	0	0

<sup>1)</sup>A=Autolysis, E=Enzymatic digestion, U=Unknown.

<sup>2)</sup>DB: dry base.

세포 밖으로 이전되어 효소에 의해 5'-IMP와 5'-GMP로 전환되었는데, B24 효모 추출물을 HPLC로 분석한 결과 Fig. 3C에서 보는 바와 같이 RT 14.20분과 RT 20.73분에 각각 5'-IMP와 5'-GMP peak를 관찰할 수 있었다. B24 배양액으로 제조한 효모 추출물은 건물량 기준으로 3.2% (w/w)의 5'-IMP와 5'-GMP를 함유하며, ATCC 7754의 2.2% (w/w) 5'-IMP와 5'-GMP 함유량과 비교하여 1% 가량 높았으며, 5회 반복 실험 후에 분산 분석을 실시한 결과 95% 신뢰구간에서 유의차가 있는 것으로 나타났다.

결론적으로 ATCC 7754, B24 배양액 1 L로부터 70% (w/w) 고형분의 효모 추출물을 각각 77 g (5'-IMP와 5'-GMP함량 2.2%), 84 g (5'-IMP와 5'-GMP함량 3.2%)을 제조할 수 있었으며 추출물 제조 수율, 5'-IMP와 5'-GMP 함량 등에서 B24가 우수하였고 유의차가 있는 것으로 나타났다. 이 들 반응 중에 효모 세포가 용해되는 과정을 Fig. 4에 나타내었는데 효소 반응 종료 시점에서 효모 세포가 대부분 파괴된 것을 볼 수 있었다. 효소 분해법으로 제조한 B24 효모 추출물을 시중에서 구입한 효모 추출물과 비교 분석한 결과를 Table 2에 나타내었다. 자기소화법으로 효모 추출물을 제조한 경우는 5'-IMP와 5'-GMP를 거의 검출할 수 없었으며 효소적 분해법을 이용하여 B24로 제조한 효모 추출물의 5'-IMP와 5'-GMP함량이 다른 추출물 에 비해 많음을 관찰할 수가 있었다.

## 요 약

핵산 함량이 높은 변이주 *Saccharomyces cerevisiae* B24를 산업적으로 활용하기 위해 배양 후 자기소화 혹은 효소 분해법으로 효모 추출물을 제조하였다. 배양액의 균체 농도를 10% (w/w)로 하고 pH 5.0, 50°C에서 서서히 교반하면서 48시간 자기소화시켰을 때 세포 내용물이 효모 추출물로 이전되는 수율은 65% 정도였으나 리보핵산은 정미력이 없는 다른 성분으로 분해되어 정미성 핵산성분인 5'-IMP나 5'-GMP가 거의 검출되지 않았다. 반면 90°C 이상의 온도로 B24 배양액 1 L를 열처리하여 핵산 분해 효소를 불활성화시키고 세포벽을 변성시킨 다음  $\beta$ -1,3-glucanase, phosphodiesterase, adenylic deaminase, protease 등을 순차적으로 작용시켜 정미성 5'-IMP와 5'-GMP가 총 3.2% 함유된 효모 추출물(고형분 함량 70%) 84 g을 얻을 수 있었고 이 때 추출물 수득율은 고형분 기준으로 85% 이었다. 반면 모균주인 *S. cerevisiae* ATCC 7754를 효소적으로 분해할 때 정미성 5'-IMP와 5'-GMP가 총 2.2% 함유된 효모 추출물(고형분 함량 70%)을 77 g 밖에 얻지 못하였다.

## 문 헌

1. Nagodawithana, T.: Yeast derived flavors and flavor enhancers and their probable mode of action. *Food*

- Technol.*, 11, 139-144 (1992)
2. Sugimoto, H., Takeuchi, H. and Yokotsuka, T.: Process for autolysis of yeast. *U.S. Patent* 3,961,080 (1976)
  3. Sugimoto, H.: Synergistic effect of ethanol and sodium chloride on autolysis of baker's yeast for preparing food-grade yeast extracts. *J. Food Sci.*, **39**, 939-942 (1974)
  4. Tanegawa, T.: Preparation method of yeast extract (in Japanese). *Japanese Patent* 57-22313 (1982)
  5. Okada, H. and Miyazaka, H.: Preparation method of yeast extract (in Japanese). *Japanese Patent* 8-56611 (1996)
  6. Nakamura, K., Kawaoka, A. and Minari, K.: Preparation method of yeast extract (in Japanese). *Japanese Patent* 2-242654 (1990)
  7. Harada, S.: Preparation method of yeast extract (in Japanese). *Japanese Patent* 63-805267 (1988)
  8. Okawa, O., Oka, T., Yuta, M. and Yashiro, J.: Yeast extract with high flavor-enhancing nucleotide and its preparation method (in Japanese). *Japanese Patent* 6-113789 (1994)
  9. Yuta, M., Oka, T., Shiragi, J. and Yashiro, J.: Composition of yeast extract and its preparation method (in Japanese). *Japanese Patent* 6-70716 (1994)
  10. Mayuru, K.: Preparation method of yeast extract (in Japanese). *Japanese Patent* 5-34939 (1993)
  11. A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis*, 14th ed., Association of Official Analytical chemists, Arlington, p. 216 (1984)
  12. Hough, J.S. and Maddox, I.S.: Yeast autolysis. *Process Biochemistry*, **5**, 50-52 (1970)
  13. Nissinen, E.: Analysis of purine and pyrimidine bases, ribonucleosides, and ribo- nucleotides by high-pressure liquid chromatography. *Anal. Biochem.*, **106**, 497-505 (1980)
  14. Wayne, W.F.: A method for the quantitation of 5'-mononucleotides in foods and food ingredients. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 1098-1101 (1991)
  15. Shetty, J.K., Weaver, R.C. and Kinsella, J.E.: A rapid method for the isolation of ribonuclease from yeast (*Saccharomyces carlsbergensis*). *Biochem. J.*, **189**, 363-366 (1980)
  16. Shetty, J.K., Weaver, R.C. and Kinsella, J.E.: Ribonuclease isolated from yeast (*Saccharomyces carlsbergensis*): Characterization and Properties. *Biotech. Bioeng.*, **23**, 953-964 (1981)
  17. Egami, F., Takahashi, K. and Uchida, T.: *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, Davidson, J. N. and Cohn, W.E., (Ed.), Academic, New York (1964)
  18. Tanak, K.: *Proceedings in Nucleic Acid Research*, Cantoni, G. L. and Davies D. R., (Ed.), Harper and Row, New York, (1966)
  19. Reed, G. and Pepler, H.J.: *Yeast Technology*. AVI, Connecticut, p.15-32, p.47-52, p.355-366 (1973)
  20. Knorr, D., Shetty, K.J., Hood, L.F. and Kinsella, J.E.: An enzymatic method for yeast autolysis. *J. Food Sci.*, **44**, 1362-1365 (1979)
  21. Tabata, S. and Terui, G.: Digestion of yeast cells by yeast cell wall lytic enzyme. *J. Ferment. Technol.*, **43**, 766-769 (1965)

---

(1997년 10월 23일 접수)