

# 효모 추출물의 제조에서 세포벽 분해 효소의 영향

김동청<sup>1</sup> · 채희정<sup>2</sup> · 오남순<sup>3</sup> · 인만진\*

<sup>1</sup>순천제일대학 식생활학부, <sup>2</sup>호서대학교 식품공학과의, <sup>3</sup>공주대학교 식품공학과, 청운대학교 식품영양학과 (2001년 8월 13일 접수, 2001년 10월 15일 수리)

**Key words:** yeast, lytic enzyme, yeast extract

## 서 론

효모는 양조, 제빵 등의 식품분야에서 오랫동안 사용되고 있는 미생물이며, 건조균체 내에 50% 내외의 단백질과 지질, RNA 등의 핵산, 각종 비타민 및 미네랄을 함유하고 있다. 효모 균체를 부분적으로 분해하여 제조하는 효모 추출물(yeast extract)은 미생물 발효배지, 천연 풍미소재, 건강식품 등의 원료로 전세계적으로 많은 양이 소비되고 있으며, 효모 추출물의 제법과 응용에 대하여는 꾸준히 연구되고 있다.<sup>1-3)</sup> 효모 추출물의 제조방법은 크게 자기소화법(autolysis)과 효소분해법으로 구분되며, 일반적인 자기소화법은 10~20%의 효모 현탁액에 식염이나 에탄올을 첨가하고 30~70°C에서 교반하여 세포 내 존재하는 분해효소의 작용으로 세포성분이 분해된 분해물을 얻는 방법이다.<sup>4)</sup> 자기소화법은 세포성분의 분해도가 낮아 효모 추출물의 수율이 낮으며 핵산성분의 분해가 낮기 때문에 정미성이 떨어지는 단점이 있다.<sup>5)</sup> 효소분해법은 효모 현탁액에 단백질과 RNA 분해효소 등을 첨가하여 세포성분의 분해도를 향상시켜 자기소화법에 비하여 정미성과 수율이 향상된 방법이다.<sup>6,7)</sup> 효소분해법으로 효모 추출물을 얻기 위하여는 효모 세포를 분해하여야 세포내 존재하는 정미성분의 원료가 되는 단백질, 핵산의 분해가 용이해진다. 효모 세포벽을 분해하는 방법으로는 기계적인 힘을 이용하는 물리적인 방법과 효소( $\beta$ -1,3-glucanase)를 이용하는 방법이 보고되어 있다.<sup>8,9)</sup> 세포벽 분해 효소를 이용하는 것이 경제적인 방법이나 효모 추출물의 제조에 적절한 세포벽 분해 효소에 대한 연구는 미미한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 적합한 세포벽 분해 효소를 선별하고 분해율을 향상시킬 수 있는 조건을 검토하였으며, 이미 선별한 단백질 분해효소를<sup>10)</sup> 사용하여 세포벽 뿐만 아니라 효모 단백질을 분해하여 수율이 향상된 효모 추출물의 제조공정 확립에 필요한 기초 자료를 확보하고자 하였다.

## 재료 및 방법

**재료.** 효모는 Jenico Foods Co.(Seoul, Korea)에서 생산된 제빵용 instant baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)를 사용하였다. 세포벽 분해효소는 Daiwa Kasei사(Osaka, Japan), Amano Pharmaceutical사(Nagoya, Japan)와 Biocatalysts사(Wales, UK), 단백질 분해 효소는 Novo Nordisk사(Bagsvaerd, Denmark)의 제품을 사용하였다.

**효모 세포벽 분해효소의 선별.** 건조 효모(instant dry yeast) 10 g을 500 ml 진탕 flask에 15%(w/w) 농도로 증류수에 현탁한 후 pH를 효소 반응의 최적 pH로 각각 조절하고 건조 효모량을 기준으로 효소를 0.1% 첨가한 다음 항온 진탕기에서 반응 최적 온도에서 교반(150 rpm)하면서 10시간 동안 반응시키고 효모 세포벽의 분해능을 비교하였다.

**효모 추출물의 제조.** 건조 효모를 증류수에 15%(w/w) 농도로 현탁하고 NaCl을 3%(w/w) 첨가하였으며 세포벽 분해효소로 DEPOL 39를 건조 효모량 기준으로 0.1% 가하고 pH 6.0, 50°C에서 150 rpm으로 교반하면서 5시간 동안 분해시킨 후 exopeptidase로 Flavourzyme과 endopeptidase로 Protamex를 단백질 기준으로 각각 2%(w/w)씩 사용하고 pH 7.0, 50°C에서 동일하게 교반하면서 7시간 반응시켰다. 효소 반응액을 끓는 물에 5분간 가열하여 효소를 실행시킨 후 4°C에서 원심분리(10,000×g, 20분)하여 불용성 성분을 제거하고 투명한 효모 추출물을 얻었다.

**분석방법.** 효소분해로 생성된 수용성 성분의 총량은 4°C에서 원심분리(10,000×g, 20분)하여 불용성 성분을 제거하고 상등액의 고형분 함량을 Brix meter(Atago사, Japan)로 측정하였으며, 총 질소(total nitrogen; TN) 함량은 micro-Kjeldahl법으로 분석하였다. 효소분해에 의한 효모의 고형분과 단백질의 가용화 정도를 비교하기 위하여 원심분리 후 상등액의 고형분 수율과 단백질의 이용률을 계산하였다.<sup>11)</sup>

## 결과 및 고찰

**효모 세포벽 분해효소의 선별.** 효모의 세포벽은 glucan( $\beta$ -1,3-glucan과  $\beta$ -1,6-glucan)과 mannan의 matrix구조로 매우 조밀하게 형성되어 있어<sup>12)</sup> 상당한 물리적인 충격이나 zymolase나  $\beta$ -1,3-glucanase와 같은 효모 세포벽 분해효소를 사용하지 않으면 세포벽을 파괴하기가 어렵다.<sup>6)</sup> 그러나 효모 추출물 제조과정에서 효모 세포벽이 분해되면 세포 내용물이 세포밖으로 유출되므로 단백질 및 핵산 분해효소의 작용이 용이하게 되므로 세포벽 분해효소에 의한 효모 세포벽의 분해가 필요하다.

효모 세포벽을 분해할 수 있는  $\beta$ -1,3-glucanase 활성을 갖는 산업용 효소 3종을 입수하여 효모 세포벽에 대한 분해활성을 비교하였다. Instant 효모 현탁액에 효모량 대비 0.1%로 효소를 첨가한 후 10시간 동안 반응시키고 원심분리하여 불용성 성분을 제거한 다음 세포벽의 분해되어 세포성분의 유출에 의한 상등액의 고형분 증가량을 측정하였다(Table 1). Amano사의 YL-

\*연락처  
Phone: 82-41-630-3278; Fax: 82-41-634-8740  
E-mail: manjin@www.cwunet.ac.kr

**Table 1. Comparison of yeast cell lysis activity of commercially available lytic enzymes**

Commercial name (Supplier)	Origin	Optimum temperature (°C)	Optimum pH	ΔTS after 10 h reaction (%) <sup>1</sup>
Tunicase (Daiwa Kasei, Japan)	<i>Arthrobacter</i> sp. ATCC 21712	35	7.5	2.6
Amano YL-15 (Amano Pharmaceutical, Japan)	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	50	7.0	3.6
DEPOL 39P (Biocatalysts, UK)	<i>Trichoderma</i> spp.	50	5.0	3.7

<sup>1</sup>Cell lytic enzyme was added to instant yeast suspension. After 10 h incubation in optimum pH and temperature of each enzyme, cell suspension was centrifuged and total solid content (TS<sub>=10</sub>) of supernatant was determined. ΔTS= TS<sub>=10</sub>-TS<sub>=0</sub>.

15와 Biocatalysts사의 DEPOL 39P 를 사용한 경우 고휘분의 농도가 유사하게 증가하였다. 그러나 산업용 효소인 YL-15와 DEPOL 39P는 분말상의 제품으로 단위 무게당 β-1,3-glucanase 활성은 유사하나, 경제적인 측면에서 효소의 단위 활성당 비용은 YL-15가 DEPOL 39P보다 크므로 효모 추출물의 제조에 효소처리 비용이 직접 제조원가의 약 30~40% 수준으로 소요되는 점<sup>10)</sup>을 고려하여 DEPOL 39P를 선별하였다. 또한 맥주 제조과정에서 사용하는 glucanase를 효모에 작용시킨 결과 상등액의 고휘분 증가량은 DEPOL 39P보다 미미하였다.

효모 추출물을 제조하는 과정에서 세포벽 분해효소인 DEPOL 39P의 효과를 조사하였다(Table 2). 효소를 사용하지 않고 12 시간 동안 자기소화시킨 경우에 비하여 세포벽 분해효소를 0.5% 첨가하여 반응시킨 결과 고휘분 수율은 60%로 증가하여 자기소화에 의한 결과 대비 30%가 증가하여 세포벽 분해효소의 사용이 매우 효과적임을 알 수 있다. 이러한 세포벽 분해효소에 의한 고휘분 수율(즉, 효모 고휘분의 가용화)의 증가는 *Basidiomycete aphyllphorales*기원의 β-1,3-glucanase 를 24시간 반응시킨 경우 고휘분 수율이 83%까지 증가(대조구의 수율

은 25%)한 것<sup>13)</sup>과 유사한 결과이다. 또한 세포벽 분해효소의 사용에 의한 단백질 이용율의 증가는 DEPOL 39P에 의하여 세포내 성분의 누출이 증가하므로 효모내 존재하는 단백질 분해 효소에 의한 가수분해 증가에 기인하는 것으로 판단된다. 효모의 자기소화를 촉진시키는 것으로 보고된<sup>5,8)</sup> NaCl을 3% 첨가하고 DEPOL 39P를 사용한 결과 고휘분 수율은 거의 증가하지 않았으나 단백질 이용율은 증가하였다.

**세포벽 분해효소와 단백질 분해효소의 병용 효과.** NaCl을 3% 첨가한 instant 효모 현탁액에 세포벽 분해효소인 DEPOL 39P를 0.1% 처리하여 효모의 세포벽을 용해시켜 세포 내용물을 세포 밖으로 빠져 나오게 한 후 endo형과 exo형의 단백질 분해 효소를 처리하여 효모 단백질을 분해하였다(Table 3). 단백질 분해효소 중 exo형의 Flavourzyme을 처리한 결과가 endo형으로 작용하는 Protamex의 처리 결과보다 고휘분 수율(74.4%)과 단백질 이용율(61.1%)면에서 모두 우수하였다. 대조구로 DEPOL 39P를 사용하지 않고 NaCl을 3% 첨가하고 5시간 동안 자기소화시킨 후 단백질 분해효소를 처리한 경우에도 동일한 경향으로 Flavourzyme을 처리한 경우 고휘분 수율과 단백질 이용율이 우수하였다. 자기소화 후 Flavourzyme을 처리한 것과 DEPOL 39P로 세포벽을 분해한 후 Flavourzyme을 처리한 결과를 비교하면 고휘분 회수율은 70%에서 74.4%로, 단백질 이용율은 51.9%에서 61.6%로 각각 증가하였다. 또한 DEPOL 39P를 처리한 후 Protamex와 Flavourzyme을 동시에 처리한 결과 수율은 76.9%, 단백질 이용율은 68.3%까지 향상되었다. 단백질 분해효소를 처리하지 않은 경우의 단백질 이용율(51.0%)에 비하면 약 34% 증가하였으며, 이는 exo형 단백질 분해효소의 작용으로 효모 단백질이 아미노산 단위로 상당히 분해되었기 때문으로 사료된다. 이러한 결과는 작용 기작이 상이한 두 종류의 endo형과 exo형의 단백질 분해효소를 병용하면 단백질의 수율과 가수분해도가 증가한다는 기존의 보고<sup>7,14)</sup>와 일치하는 것이다.

이상의 결과는 효소법으로 효모 추출물을 제조함에 있어 세포벽 분해효소의 처리는 효모의 자기소화보다 효과적이며, 단백질 분해효소와 병용하면 효모 추출물의 수율을 향상시킬 수 있음을 보여준다.

## 감사의 글

본 연구는 청운대학교 학술연구조성비(2000년도)와 순천제일대학 교내 연구비(2000년도)에 의해 이루어진 결과의 일부로서 지원에 감사드립니다.

**Table 2. Effects of cell lytic enzyme and salt on dry matter yield and protein availability**

Reaction conditions <sup>1</sup>		Dry matter yield (%)	Protein availability (%)
DEPOL 39P <sup>2</sup> (%)	NaCl (%)		
0	0	46.2	48.4
0.5	0	60.0	58.4
0.5	3	60.9	62.5

<sup>1</sup>Reaction conditions: yeast concentration, 15%; pH 5.5; temperature 50°C; reaction time, 12 h.

<sup>2</sup>DEPOL 39P was cell lytic enzyme manufactured by Biocatalysts (Wales, UK).

**Table 3. Effects of co-treatment of cell lytic and proteolytic enzymes on dry matter yield and protein availability**

Enzyme treatments(%) <sup>1</sup>			Dry matter yield (%)	Protein availability (%)
DEPOL 39P	Protamex	Flavourzyme		
0.1	0	0	65.6	51.0
0.1	2.0	0	66.7	58.3
0.1	0	2.0	74.4	61.1
0.1	2.0	2.0	76.9	68.3

<sup>1</sup>Substrate solution was composed of 15% yeast and 3% NaCl. After cell lysis by DEPOL 39P for 5 h at 50°C(pH 6), proteolytic enzymes were added and incubated for 7 h at 50°C(pH 7). DEPOL 39P, Protamex and Flavourzyme were commercial names of cell lytic enzyme, endopeptidase and exopeptidase, respectively.

## 참고문헌

1. Hirosh, S. (1974) Synergistic effect of ethanol and sodium chloride on autolysis baker's yeast for preparing food grade yeast extract. *J. Food Sci.* **39**, 939-942.
2. Izzo, H. V. and Ho, C. T. (1992) Ammonia affects maillard chemistry of an extruded autolyzed yeast extract: pyrazine aroma generation and brown color formation. *J. Food Sci.* **57**, 657-659, 674.
3. Choi, S. J. and Chung B. H. (1998) Simultaneous production of invertase and yeast extract from baker's yeast. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **13**, 308-311.
4. Lee, B. H. (1996) In *Fundamentals of Food Biotechnology*, VCH Publishers, Inc., New York.
5. Kim, J.-S., Kim, J.-W., Shim, W., Kim, J.-W., Park, K.-H. and Pek, U.-H. (1999) Preparation of flavor-enhancing yeast extract using *Saccharomyces cerevisiae* strain with high RNA content. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**, 475-481.
6. Knorr, D., Shetty, K. J., Hood, L. F. and Kinsella, J. E. (1979) An enzymatic method for yeast autolysis. *J. Food Sci.* **44**, 1362-1365.
7. Chae, H. J., Joo, H. and In, M.-J. (2001) Utilization of brewer's yeast cells for the production of food-grade yeast extract. Part 1: effects of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristics. *Bioresource Technol.* **76**, 253-258.
8. Lee, Y. C. and Kim, Y. S. (1993) Development of a new processing method and quality evaluation of yeast autolyzate. *Korean J. Food Sci. Technol.* **25**, 78-82.
9. Lee, S.-K., Park, K.-H., Pek, U.-H. and Yu, J.-H. (1993) Production of brewer's yeast extract by enzymatic method. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **21**, 276-280.
10. Chung, Y., Chae, H. J., Kim, D. C., Oh, N.-S., Park, M. J., Lee, Y. S. and In, M.-J. (1999) Selection of commercial proteolytic enzymes for the production of brewer's yeast extract. *Food Eng. Progress* **3**, 159-163.
11. Chae, H. J., In, M.-J. and Lee, J. D. (1998) Production of a protein supplement from soymilk residues by combined use of enzymes and microorganisms. *Agric. Chem. Biotechnol.* **41**, 73-77.
12. Rombouts, F. M. and Phaff, H. J. (1976) Lysis of yeast cell wall. *Eur. J. Biochem.* **63**, 109-120.
13. Rayan, E. and Ward, O. P. (1988) The application of lytic enzymes from *Basidiomycete aphyllphoroides* in production of yeast extract. *Process Biochem.* **23**, 12-16.
14. Chae, H. J., In, M.-J. and Kim, M.-H. (1997) Optimization of enzymatic treatment for the production of hydrolyzed vegetable protein. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 1125-1130.

---

**Effect of Cell Lytic Enzyme on the Production of Yeast Extract**

Dong Chung Kim<sup>1</sup>, Hee Jeong Chae<sup>2</sup>, Nam-Soon Oh<sup>3</sup> and Man-Jin In\* (*Department of Human Nutrition and Food Science, Chungwoon University, Hongsung 350-701, Korea; <sup>1</sup>Department of Food Science, Suncheon First College, Suncheon 540-744, Korea; <sup>2</sup>Department of Food Science and Technology, Hoseo University, Asan 336-795, Korea; <sup>3</sup>Department of Food Science and Technology, Kongju National University, Yesan 340-800, Korea*)

---

Key words: yeast, lytic enzyme, yeast extract

\*Corresponding author