

당밀 배지를 이용한 고탍량 RNA 효모의 유가배양

김재범 · 권미정 · 남희섭¹ · 김재훈¹ · 남수완*
동의대학교 미생물학과, ¹(주)농심 상품개발연구소

Fed-Batch Fermentation of High-Content RNA Yeast by Using Molasses Medium. Kim, Jae-Bum, Mi-Jung Kwon, Hee-Sop Nam¹, Jai-Hoon Kim¹, and Soo-Wan Nam*. Department of Microbiology, Dong-Eui University, Pusan 614-714, Korea, ¹Research and Development Center, Nong Shim Co., Ltd. Kyungi-do 435-030, Korea – In order to maximize the RNA accumulation and biomass production in *Saccharomyces cerevisiae* MTY62, a high-content RNA yeast strain, batch and fed-batch cultures were performed. Among the feeding modes of fed-batch cultures examined, the intermittent feeding mode IV (IFB-IV), in which 50 ml of 40% molasses and 20% corn steep liquor (CSL) solution was intermittently fed for 5 times, resulted in the cell concentration of 33.8 g-dry cell weight/l and the RNA concentration of 5221 mg-/l, and RNA content of 153 mg-RNA/g-dry cell weight. The constant fed-batch with feeding mode III (CFB-III), in which the feeding rate of 40% molasses and 20% CSL solution was stepwisely decreased from 48 ml/h (9~13 h), to 24 ml/h (13~21 h), and to 18 ml/h (21~48 h), gave the highest cell concentration of 42.7 g-dry cell weight/l and RNA concentration of 5536 mg-RNA/l, which were about 2.4-fold and 1.9-fold increased levels, respectively, compared to the results of batch culture. However, the RNA content of 130 mg-RNA/g-dry cell weight of the fed-batch was lower than that of the batch culture (171 mg-RNA/g-dry cell weight) and other fed-batch cultures. When the specific growth rates in the fed-batch cultures were increased, the RNA contents increased. This result indicates that the RNA content is adversely proportional to the cell concentration. However, at the same specific growth rate, the RNA content was maintained at higher level in the intermittent fed-batch than in the constant fed-batch culture.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*, high-content RNA yeast, fed-batch, molasses

효모는 세포 자체의 기능성과 영양성을 보강하거나 변형 시킴으로써 oligonucleotides(식품의 방향성 증강제), oligosaccharides(동물과 인간 장내 미생물의 증식을 촉진하는 생균제), oligopeptides(whey 단백질 분해로 생산, 면역증강제로서 축산 사료 첨가제) 등의 생산에 다양하게 응용되고 있다[1,8].

효모 추출물이 천연 풍미 소재로 널리 쓰일 수 있게 된 것은 같은 강도의 풍미를 내는 다른 소재들과 비교해 가격이 싸고, 보통 식품에 0.1~0.5%(w/w) 정도로 적은 양이 사용되기 때문이다. 세계적으로 1년에 생산되는 효모 추출물(yeast extract)은 약 35,000톤 정도에 이르며, 약 190만 달러의 시장을 가진다고 한다[8].

항미의 주요물질인 ribonucleic acid(RNA)는 모든 생체에 포함되어 있으며, 특히 효모의 경우에는 그 함량이 매우 높아 효모 세포내 총 핵산량의 약 95%를 차지하며, *Saccharomyces cerevisiae*는 값싼 배지에서도 잘 자라며 균체 수율도 높고, 균체의 회수와 RNA의 추출 조작도 쉬워 RNA

생산에 많은 이점을 가지고 있다[8].

세포내 RNA를 phosphodiesterase(PDE)(*Penicillium citrinum*, *Staphylococcus aureus*, 맥아의 잔뿌리 등에서 유래)로 처리하면 AMP, GMP를 얻을 수 있으며, AMP는 다시 AMP deaminase 처리로 IMP로 만들 수 있다. IMP와 GMP 등 정미성 nucleotide가 많이 함유된 효모 추출물은 기존의 효모 추출물보다 정미력이 월등히 뛰어나고 쇠고기 추출물의 대체 효과를 갖는 등 고부가가치의 정미 성분 제품으로 기대되고 있다. 이렇게 하여 제조된 효모 추출물은 순수 IMP나 GMP에서 느낄 수 없는 부드러운 맛이 나며 peptide 형태로 존재하는 MSG와의 상승작용으로 인해 정미력이 매우 뛰어나다. 이런 이유로 정미성 nucleotide가 풍부한 효모 추출물은 순수 IMP나 GMP보다 맛이 좋고 차별성을 갖게 된다[6,15].

효모 추출물 제조에 사용되는 효모는 주로 빵효모, 맥주 효모가 이용되며 일부 *Candida* 속의 효모가 이용되기도 한다. 맥주 산업의 부산물로 생성되는 맥주효모는 값이 싸기 때문에 많이 이용되지만, 맥주 효모(우리나라의 경우 하면 발효효모인 *S. uvarum*) 세포벽에 흡착되어 쓴맛을 주는 호프(hop) 유래의 isohumulone을 먼저 제거해야 하는 문제가 있다[4]. 이와는 달리 빵효모의 경우는 일반적으로 당밀

*Corresponding author
Tel. 82-51-890-1537, Fax. 82-51-891-7740
E-mail: swnam@dongeui.ac.kr

(molasses)로 배양된 효모이기 때문에 쓴맛 제거 공정이 불필요하고, 고품질로 제조하기 용이하고 맥주효모보다 안전하게 제조할 수 있는 잇점이 있다. 그러나, 대부분의 기존 빵효모는 제조회사에 특허화되어 있거나, 핵산 함량이 10% 내외로 낮거나, 맥주효모보다 값이 비싸기 때문에 산업적으로 정미성 천연풍미소재 생산용으로 사용되기에는 아직 몇 가지 해결해야 할 문제가 있다.

핵산 함량이 높은 효모를 당밀배지로 고농도세포 배양하기 위해서는 빵효모의 고농도 유가배양 기법을 적용할 수 있으나, 특이한 점은 효모 세포내 RNA 함량은 비증식속도(μ)가 높을수록 증가한다는 것이다[5]. 즉, 균체수율(Y_{xs}) 값이 높게 유지되는 비증식속도의 범위 내에서 최대한 높은 비증식속도를 유지하도록 기질공급속도를 정밀하게 조절해야 한다[3].

본 연구에서는 (주)농심에서 자체 분리한 RNA 함량이 높은 *S. cerevisiae* MTY62 균주의 다양한 유가배양(당밀과 corn steep liquor(CSL)를 공급기질로 이용)을 통해 균체증식 및 RNA 축적 특성을 살펴보고자 한다.

재료 및 방법

사용균주

본 연구에서는 (주)농심에서 분리한 *S. cerevisiae* MTY62를 사용하였다.

배지 및 배양조건

일반배양 배지로는 1% Bacto-yeast extract, 2% Bacto-peptone, 2% glucose로 구성된 YPD를 사용하였고, 본 배양 배지는 탄소원으로 당밀[(주)제일제당]를, 질소원으로 CSL[(주)삼양사]을, 기타 성분으로는(Urea 0.03%, KH_2PO_4 0.004%, MgSO_4 0.02%, ZnSO_4 0.02%, biotin 0.0001%)을 함유하는 배지를 사용하였다.

당밀은 105°C에서 30분간 열처리 후 7,000 rpm에서 7분간 원심분리 후 상등액을 사용하였고, CSL은 열처리없이 7,000 rpm에서 7분간 원심분리 후 상등액을 사용하였다. 발효조 (Ko Biotech. Co., Korea)에서의 회분배양은 10% 당밀, 5% CSL을 함유한 기본배지를 사용하였다.

YPD 평판배지의 colony를 10 ml YPD 배지 함유 시험관 (2.5×19 cm)에서 18시간 배양 후 플라스크(500 ml baffled-flask, 5% 당밀, 2% CSL, 50 ml)에 접종(5% v/v)하여 전배양(30°C, 170 rpm)하고 발효조에 접종하였다. 발효조 회분배양에서 초기 배양부피는 1.0 l, 배양 온도는 30°C, 배양 중의 pH 조절은 50% NH_4OH 와 1N HCl를 사용하여 pH 5.5로 조절하였다. 교반속도(200~600 rpm)의 조절로 용존산소(DO)를 공기포화의 30% 이상으로 유지하였고, 통기속도는 2 vvm을 유지하였다.

유가배양 기질공급 방식

유가배양에서는 10% 당밀과 5% CSL를 함유하는 기본 배지로 9시간 회분배양 후 농축 배지를 공급하였다. 간헐적 유가배양에서는 200 ml(10% 당밀, 5% CSL), 100 ml(20% 당밀, 10% CSL), 50 ml(40% 당밀, 20% CSL), 100 ml(5% yeast extract, 30% 당밀, 15% CSL) 등의 배지 농축액을 여러 번 나누어 공급하였다. 일정속도의 유가배양에서는 40% 당밀과 20% CSL 액을 12 ml/h, 18 ml/h, 24 ml/hr, 48 ml/hr 등의 속도로 조절하면서 공급하였다. 초기 배양액 부피는 1.0 l, 통기속도는 3 vvm, 교반속도는 300~1000 rpm(DO \geq 20%), pH 5.5 등의 조건으로 유가배양하였다.

균체 농도, 건조 균체량 측정

균체 농도는 일정시간 마다 채취한 배양액을 적당한 비율로 희석하여 분광 광도계(Shimadzu UV-160A, Japan)를 사용하여 600 nm에서 탁도(OD₆₀₀)로 측정하였다. 균체를 증류수로 세 번 세척하고 적당량의 증류수로 희석한 다음 80°C에서 24시간 건조시킨 후 항량을 측정하여 건조 균체량을 계산하였다. 흡광도와 건조 균체량의 보정곡선에 의해 OD₆₀₀값을 건조 균체농도(g-dry cell weight, g-DCW)로 환산하였다.

포도당, RNA추출 및 정량

잔존 환원당 농도는 배양액을 5,000 rpm에서 5분 원심분리한 후 배양 상등액을 얻고, dinitrosalicylic acid 방법을 사용하여 측정하였다[7]. 균체내 RNA를 추출하기 위하여 배양액을 5,000 rpm에서 5분 원심분리한 후 균체 침전물을 얻고, 이를 증류수로 세번 세척하고 10% perchloric acid를 첨가하여 90°C에서 한 시간동안 열처리하였다. 추출된 RNA는 orcinol 법[11]으로 정량하였다. 즉, orcinol(1%) 시약 (Sigma Co. USA)은 FeCl_3 (0.5%)와 함께 실험 직전에 HCl에 녹여서 사용하였다. 적정법은 검액 100 μ l에 증류수 650 μ l를 가해 750 μ l를 만들고, orcinol 시약 750 μ l와 혼합한 뒤, 95°C에서 20분간 반응시켰다. 반응이 끝나면 냉각시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정하여, 빵효모 RNA (Sigma Co. USA)로 작성한 검정곡선과 비교하여 정량하였다.

결과 및 고찰

발효조 회분배양을 통한 발효변수 측정

S. cerevisiae MTY62 균주의 플라스크 배양을 통해 당밀과 CSL의 최적 초기농도는 각각 10%와 5%였다(data not shown). 당밀 10%와 CSL 5%의 배지로 발효조 회분배양을 한 결과, Fig. 1에서 보는 바와 같이 배양 12시간

에서 가장 높은 세포 농도 17.5 g-DCW/l를 나타내었고, 이때 RNA 농도도 가장 높아 2988 mg-RNA/l을 나타내었으며, RNA 함량도 171 mg-RNA/g-DCW로 비교적 높은 값을 보였다. 잔존 환원당은 배양 9시간 때에 8.64 g/l였는데, 이는 기질로 사용된 당밀 내의 탄소원중 비발효성당(non-fermentable sugar)에 의한 것이라 생각된다. 잔존 환원당이 거의 소모되는 시간인 배양 9시간을 유가배양에서의 기질 공급시간으로 정하였다.

이상의 발효조 회분 배양 결과로부터 비증식속도와 증식수율을 계산한 결과, 대수증식기 구간(3~6 h)에서 최대 비증식속도(μ_{max})를 보이며 그 값은 0.31 h^{-1} 이었다. 증식수율($Y_{x/s}$)은 0.37~0.52 g-DCW/g-sugar 범위의 값을 보이지만 평균적인 값($Y_{x/s}$)은 0.47 g-DCW/g-sugar 였다. 이들 발효변수를 이용하여 기질소모 속도($q_s = \mu_{max} / Y_{x/s}^{ave} = 0.66 \text{ g-sugar/g-DCW} \cdot \text{h}$)를 계산하고, 유가배양에서의 기질공급속도 결정에 이용하였다.

간헐적인 기질공급에 의한 유가배양

회분배양 결과를 바탕으로 간헐적 유가배양을 수행하였다. 간헐적 유가배양 I(IFB-I)에서는 기질용액 400 ml(10% 당밀, 5% CSL)을 100 ml씩 네 번 공급하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이, 배양 24시간까지 공급된 탄소원은 활발히 소모되며 균체증식도 빠르게 일어났다. 최대세포농도는 22.6 g-DCW/l이며 RNA농도는 최대 4720 mg-RNA/l을 보여 RNA 함량은 209 mg-RNA/g-DCW를 나타내었다.

간헐적 유가배양 II(IFB-II)에서는 기질농도를 2배 증가시킨 기질용액 600 ml(20% 당밀, 10% CSL)을 100 ml씩 여섯 번 공급하였다. 배양 24시간까지 균체증식과 탄소원 소모는 일어나지만, 이후부터는 탄소원 소모속도가 크게 감소하였다(Fig. 3). 이는 탄소원 소모를 저해하는(당밀 내

sucrose 소모를 저해하는, 또는 효모세포의 invertase 활성을 저해하는) 미지의 저해인자가 축적되었기 때문으로 추정된다. 최대세포농도는 21.1 g-DCW/l이었으며 최대 RNA 농도는 5061 mg-RNA/ml을 보여, 가장 높은 RNA 함량(240 mg-RNA/g-DCW)을 보였다.

간헐적 유가배양 III(IFB-III)에서는 기질농도를 3배 증가시킨 기질용액 700 ml(30% 당밀, 15% CSL)을 100 ml씩 일곱 번 공급하였다. 그 결과 배양 20시간째 세포농도는 25.3 g-DCW/l를, RNA 농도는 5299 mg-RNA/l를 나타내었으나, 24시간 이후부터는 탄소원 소모가 크게 감소하고 축적된 RNA도 분해되기 시작하였다(Fig. 4). RNA 함량은 간헐적 유가배양 I과 비슷한 209 mg-RNA/g-DCW를 보였다.

간헐적 유가배양 IV(IFB-IV)에서는 기질농도를 4배 증가

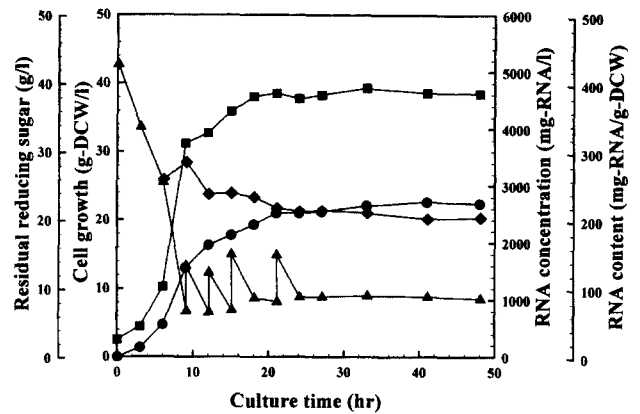


Fig. 2. Time profiles of cell growth, sugar consumption, and RNA accumulation in the intermittent fed-batch fermentation I (IFB-I) of *S. cerevisiae* MTY62. Each feeding medium (100 ml) was consisted of 10% molasses and 5% CSL. Symbols are the same as Fig. 1.

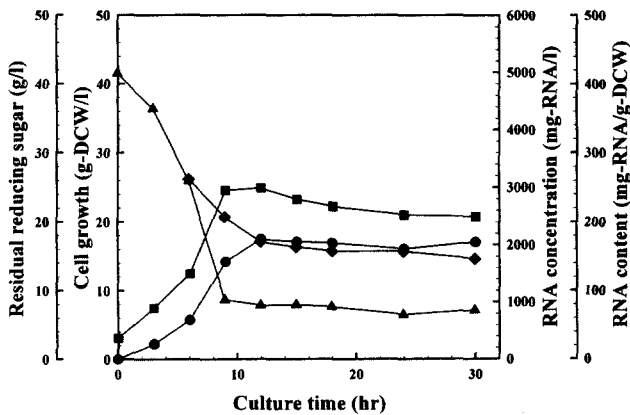


Fig. 1. Time profiles of cell growth, sugar consumption, and RNA accumulation in the batch fermentation of *S. cerevisiae* MTY62. Symbols: (●), cell growth; (▲), residual reducing sugar; (■), RNA concentration; (◆), RNA content.

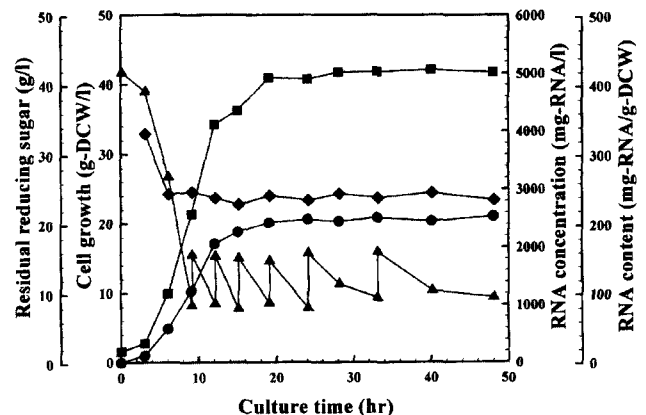


Fig. 3. Time profiles of cell growth, sugar consumption, and RNA accumulation in the intermittent fed-batch fermentation II (IFB-II) of *S. cerevisiae* MTY62. Each feeding medium (100 ml) was consisted of 20% molasses and 10% CSL. Symbols are the same as Fig. 1.

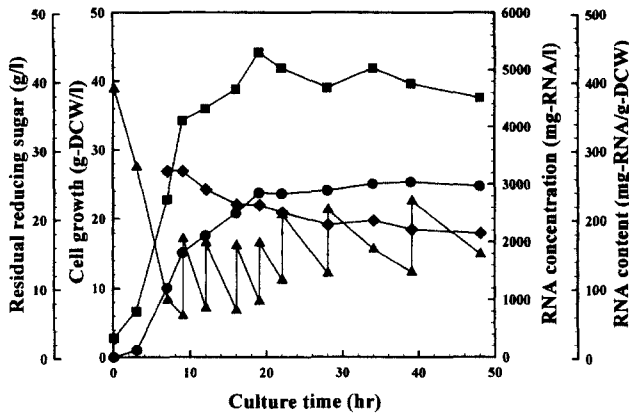


Fig. 4. Time profiles of cell growth, sugar consumption, and RNA accumulation in the intermittent fed-batch fermentation III (IFB-III) of *S. cerevisiae* MTY62. Each feeding medium (100 ml) was consisted of 30% molasses and 15% CSL. Symbols are the same as Fig. 1.

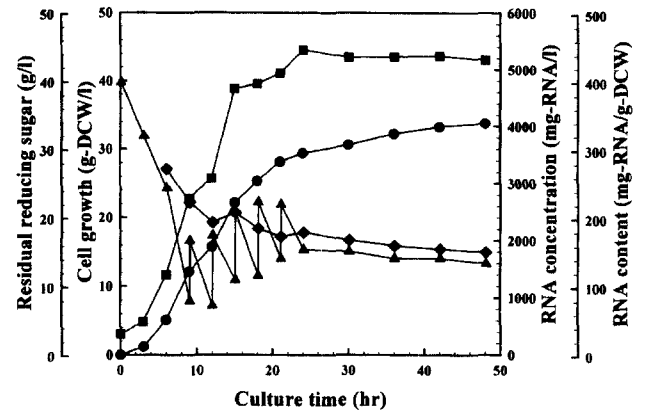


Fig. 5. Time profiles of cell growth, sugar consumption, and RNA accumulation in the intermittent fed-batch fermentation IV (IFB-IV) of *S. cerevisiae* MTY62. Each feeding medium (50 ml) was consisted of 40% molasses and 20% CSL. Symbols are the same as Fig. 1.

시킨 고농축배지 250 ml(40% 당밀, 20% CSL)을 50 ml씩 다섯 번 공급하였다. Fig. 5에서와 같이, 세포농도는 배양말기까지 꾸준히 증가하였고, 배양 24시간까지 탄소원 소모도 활발히 일어났다. 그 결과, 다른 유가배양보다 훨씬 높은 세포농도 33.8 g-DCW/l와 RNA 농도 5349 mg/l를 보였으나, RNA 함량은 158 mg-RNA/g-cell로 가장 낮게 나타났다.

이상의 결과로부터 RNA 농도는 세포농도와 거의 비례하여 증가하는 것을 알 수 있었다. 그러나 40 g-DCW/l 이상의 고농도 세포가 얻어지지 않아, 당밀 내에 생육 저해인자(또는 invertase 활성 저해인자)의 축적 또는 에탄올과 같은 증식저해 부산물의 축적 또는 비타민 등 중요 영양소의 결핍 때문인지를 규명하기 위해, 공급 배지 내에 yeast extract를 첨가한 기질용액 500 ml(5% yeast extract, 30% 당밀, 15% CSL)를 100 ml씩 5번 공급하는 유가배양(IFB-V)을 수행하였다. 그 결과 세포농도는 23.9 g-DCW/l를, RNA 농도는 4480 mg-RNA/ml를 보여, 간헐적 유가배양 III와 IV 경우에 비해 더 낮은 세포농도와 RNA 농도를 보였다. 또한, 에탄올 농도는 최대 5 g/l 이하로 측정되어 증식저해 농도 이하임을 알 수 있었다. 따라서, 40 g-DCW/l 이상의 고농도세포를 얻을 수 없었던 이유는, 증식저해 부산물의 축적 또는 영양소 결핍이 아니라, 당밀 내 존재하는 생육 저해인자(또는 invertase 활성 저해인자) 때문인 것으로 예상되었다. 실제로 당밀 내 고농도의 Ca⁺⁺, Cu⁺⁺, K⁺가 invertase 활성 저해인자로 작용함이 보고되고 있다[12,13].

일정한 속도의 기질공급에 의한 유가배양

간헐적 유가배양에서 가장 높은 세포농도와 RNA 농도를 나타낸 기질공급 방식(간헐적 유가배양 IV)과 동일한 기질용액(40% 당밀, 20% CSL)을 배양 9시간 이후부터 15시

간 동안 18 ml/hr의 속도로 공급하는 일정 속도의 유가배양 I(CFB-I)을 수행하였다. Fig. 6에서 보는 바와 같이, 배양 32시간까지 세포증식은 계속되었으며, RNA 축적은 배양 20시간까지 지속되었다. 최대 세포농도는 40.4 g-DCW/l를, 최대 RNA 농도는 5460 mg-RNA/l를 보여 RNA 함량은 135 mg-RNA/g-DCW를 나타내었다.

일정 속도의 유가배양 II(CFB-II)에서는 기질용액(40% 당밀, 20% CSL)을 배양 9~13시간에서는 48 ml/h로 공급하고 그 이후로는 12 ml/h의 속도로 기질공급속도를 한 단계 감소시키면서 공급하였다. 그 결과, 최대 세포농도는 35.7 g-DCW/l를, 최대 RNA 농도는 5534 mg-RNA/l를 보여 RNA 함량은 155 mg-RNA/g-DCW를 나타내었다. 일정 속도의 유가배양 I에서보다 세포농도는 감소하였지만 RNA

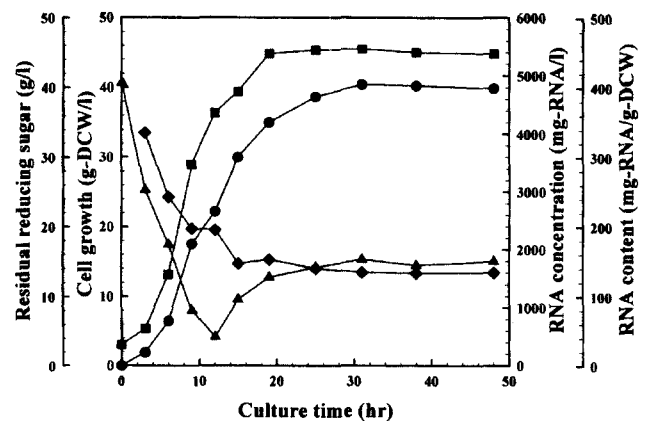


Fig. 6. Time profiles of cell growth, sugar consumption, and RNA accumulation in the constant fed-batch fermentation (CFB-I) of *S. cerevisiae* MTY62. Feeding medium was consisted of 40% molasses and 20% CSL, and fed at 9 hr with 18 ml/h. Symbols are the same as Fig. 1.

농도 및 RNA 함량은 증가한 결과를 보여주었다.

일정 속도의 유가배양 III(CFB-III)에서는 기질용액(40% 당밀, 20% CSL)을 배양 9~13시간에서는 48 ml/h, 13~21 시간에서는 24 ml/hr, 그 이후로는 18 ml/h로 기질공급속도를 두 단계 감소시키면서 공급하였다. Fig. 7에서 보는 바와 같이, 배양 42시간까지 세포증식은 계속되었으며, RNA 축적은 배양 22시간까지 지속되었다. 최대 세포농도는 42.7 g-DCW/l를 RNA 농도는 5545 mg-RNA/l를 보여 간헐적 및 일정속도 유가배양 중에서는 가장 높은 세포농도와 RNA 농도 값을 나타내었다. 그러나, RNA 함량 면에서는 가장 낮은 130 mg-RNA/g-DCW 값을 보였다. 즉, 세포농도가 높을수록 RNA 함량은 감소하는 경향을 나타내었다.

이상의 유가배양에서 잔존 환원당은 배양 12시간 이후부터 당이 조금씩 축적되기 시작하여 배양 말기에는 10~18 g/l로 높게 유지되었다. 이는 간헐적 유가배양에서와 마찬가지로

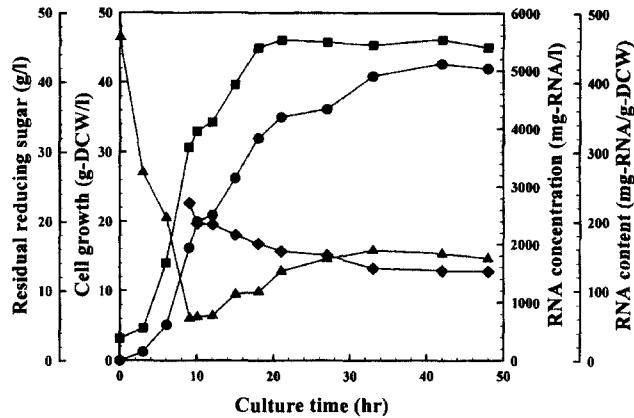


Fig. 7. Time profiles of cell growth, sugar consumption, and RNA accumulation in the constant fed-batch fermentation (CFB-III) of *S. cerevisiae* MTY62. Feeding rate were 48 ml/h during 9-13 hr, 24 ml/hr during 13-21 h, and 18 ml/h after 21 h. Symbols are the same as Fig. 1.

지로 당밀 내 증식저해인자(invertase 활성 저해인자)의 축적에 따른 sucrose(비발효성 당을 포함)의 농도증가라 생각된다.

이상의 유가배양 결과를 Table 1에 요약하였다. 최종적으로 일정속도의 유가배양(CFB-III)에서는 회분배양에 비해 세포농도는 2.4배, RNA 농도는 1.9배 증가하였고, 간헐적 유가 배양(IFB-IV)에 비해 세포농도는 1.3배 증가하였으나 RNA 농도는 약 250 mg/l 정도로 조금 증가한 값을 나타내었다. 이러한 결과로 일정속도의 유가배양에서의 RNA 함량은 회분배양과 간헐적 유가배양 때보다 훨씬 감소한 130~155 mg/g-DCW 수준에 머물렀다.

비증식속도와 RNA 축적과의 상관성

간헐적 기질공급 방식 및 연속적 기질공급 방식에서 가장 높은 세포농도와 RNA 농도를 나타낸 결과(IFB-IV 및 CFB-III)에서 비증식 속도(μ)에 따른 RNA 함량을 조사하였다. 두 가지 유가배양에서 비증식속도(μ)는 0.15 h⁻¹를 넘

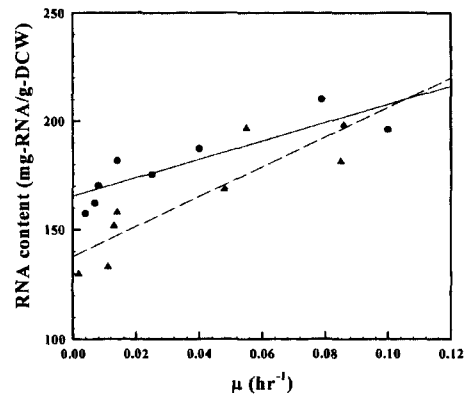


Fig. 8. Effect of the instantaneous specific growth rate on the RNA content in the fed-batch fermentations. Symbols : (●), intermittent fed-batch-IV (IFB-IV); (▲), constant fed-batch-III (CFB-III).

Table 1. Comparison of cell concentration, RNA concentration, and RNA content in batch and fed-batch cultures of *S. cerevisiae* MTY62

Culture Mode	Amount of Molasses fed (g)	Cell Conc. (g-DCW/l)	RNA Conc. (mg-RNA/l)	RNA Content (mg-RNA/g-DCW)
Batch		17.5	2988	171
Intermittent fed-batch				
IFB-I	40	22.6	4720	209
IFB-II	120	21.1	5061	240
IFB-III	210	25.3	5299	209
IFB-IV	100	33.8	5221	153
IFB-V	150	23.9	4480	187
Constant fed-batch				
CFB-I	108	40.4	5454	135
CFB-II	130	35.7	5534	155
CFB-III	175	42.7	5545	130

지 않았고, μ 값이 증가할수록 RNA 함량도 증가하였다. 그러나 일정한 μ 에서 RNA 함량을 비교하면, 높은 세포농도와 RNA 농도를 나타낸 일정속도의 기질공급 방식 보다 간헐적 기질공급 방식이 더 높은 RNA 함량을 나타내었다 (Fig. 8). 이와 같이 균체내 RNA 함량에 영향을 미치는 요인이 균체증식속도 이외에도, 유가배양에서의 기질공급방식에 따라 균체내 RNA 축적속도가 크게 달라짐을 알 수 있었다[2,5,9,10]. 결론적으로, 당밀 내 증식 저해인자(또는 invertase 활성 저해인자)의 제거와 함께 MTY62 균주의 배양·생리학적 특성 규명 연구를 통해, RNA 함량(축적)을 높게 유지하면서도 고농도 효모세포를 얻을 수 있는 유가배양 전략을 수립해야 할 것이다.

요 약

천연풍미소재로 정미성 nucleotide 함량이 높은 효모 추출물을 만들기 위해 세포내 RNA 함량이 높은 효모 균주 *S. cerevisiae* MTY62를 선별하였고, 당밀과 CSL 배지로 발효초 회분배양과 유가배양을 수행하였다. 여러 가지 다양한 간헐적 유가배양 중에서 40% 당밀과 20% CSL의 농축기질액을 50 ml 다섯 번 공급하는 간헐적 유가배양 (IFB-IV)에서 최대 세포농도는 33.8 g-DCW/l, RNA 농도는 5221 mg/l, RNA 함량은 153 mg-RNA/g-DCW 값을 나타내었다. 일정속도의 유가배양에서는 기질용액(40% molasses, 20% CSL)을 배양 9~13시간에서는 48 ml/h, 13~21시간에서는 24 ml/h, 그 이후로는 18 ml/h로 기질공급속도를 단계적으로 감소시키는 유가배양(CFB-III)에서 42.7 g-DCW/l의 최대 세포농도를, 5545 mg-RNA/l의 RNA 농도를 보여, 간헐적 및 일정속도 유가배양 중에서 가장 높은 세포농도와 RNA 농도 값을 나타내었다. 그러나, RNA 함량 면에서는 가장 낮은 130 mg-RNA/g-DCW 값을 보였다. 즉, 세포농도가 높을수록 RNA 함량은 감소하는 경향을 나타내었다. 이상의 두 가지 유가배양에 대해 비증식속도 (μ)에 따른 RNA 함량을 조사한 결과, μ 값이 증가할수록 RNA 함량도 증가하였다. 그러나 일정한 μ 에서는 일정속도의 기질공급 방식 보다 간헐적 기질공급 방식이 더 높은 RNA 함량을 나타내었다.

감사의 말

본 연구는 과학기술부의 선도기술개발사업의 연구비 지원에 의해 이루어 졌으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Belem, M. A. and B. H. Lee. 1998. Production of bioingredients from *Kluyveromyces marxianus* grown on whey: an alternative. *Crit. Rev. Food Sci. Nutri.* **38**: 565-598.
2. de Carvalho, J. C. M., E. Aquarone, S. Sato, M. L. Brazzazach, D. A. Moraes, and W. Borzani. 1993. Fed-batch alcoholic fermentation of sugar cane blackstrap molasses: influence of the feeding rate on yeast yield and productivity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **38**: 596-598.
3. He, R. Q., C. Y. Li, J. Xu, and X. A. Zhao. 1996. Estimation of the optimal concentrations of residual sugar and cell growth rate for a fed-batch culture of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **60**: 229-244.
4. Kim, J. S. 2001. Washing for debittering of brewers yeast slurry. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **33**: 205-208.
5. Kim, S. Y., H. S. Nam, and H. J. Lee. 1996. Change of yeast growth and its RNA content in fed-batch fermentation. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **28**: 122-126.
6. Matsunaga, S. 1997. Properties and application of edible nucleic acid. *Food Processing.* **39**: 92-94.
7. Miller, G. L., R. Blum, W. E. Glennon, and A. L. Burton. 1960. Measurement of carboxymethyl cellulase activity. *Anal. Biochem.* **2**: 127-132.
8. Nagodawithana, T. 1992. Yeast derived flavors and flavor enhancers and their probable mode of action. *Food Technol.* **11**: 139-144.
9. O'Connor, G. M., F. Sanchez-Riera, and C. L. Cooney. 1992. Design and evaluation of control strategies for high-cell-density fermentations. *Biotechnol. Bioeng.* **39**: 293-304.
10. Pham, H. T. B., G. Larsson, and S. -O. Enfors. 1998. Growth and energy metabolism in aerobic fed-batch cultures of *Saccharomyces cerevisiae* simulation and model verification. *Biotechnol. Bioeng.* **60**: 474-482.
11. Schneider, W. C. 1957. Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis. *Methods Enzymol.* **3**: 680-684.
12. Takeshige, K. and K. Ouchi. 1995. Factors affecting the ethanol productivity of yeast in molasses. *J. Ferment. Bioeng.* **79**: 449-452.
13. Takeshige, K. and K. Ouchi. 1995. Effects of yeast invertase on ethanol production in molasses. *J. Ferment. Bioeng.* **79**: 513-515.
14. Waldron, C. and F. Lacroute. 1975. Effect of growth rate on the amounts of ribosomal and transfer ribonucleic acids in yeast. *J. Bacteriol.* **122**: 855-865.
15. Yoshigi, A. 1990. Yeast extract with high 5'-IG, Aromild. *Food Chemical.* **6**: 99-103.

(Received Sep. 22, 2001/ Accepted Oct. 26, 2001)