

韓國產 野生酵母에 關한 研究(第 4 報)

—醱酵飼料의 製造에 對하여—

朴 明 三

(全南大學校 文理科大學 生物學科)

Studies on the Wild Yeasts in Korea(IV)

—On the Production of Fermented Feed\*—

PARK, Myung Sam

(Dept. of Biology, Chonnam National University)

ABSTRACT

Fermented feed using rice, barley, wheat, and defatted rice brans as the raw materials were prepared by 3 species of wild yeasts which were selected among 35 strains of yeasts isolated, and their analytical values were examined. The results were as follows:

1. The three yeasts were identified as *H. anomala* var. *anomala* (No. 225), *Candida utilis* (No. 400), and *Irpex-cellulase (consors)* (No. 403-A).
2. The optimum pH, and sugar concentration of these yeasts in liquid culture were pH 5.0 and Bllg. 10° each. The optimum temperature was 30°C for No. 225 and No. 403-A, 25°C for No. 400. The No. 225 and No. 403-A grow at higher temperature than 37°C and 40°C each.
3. The No. 225 yeast had a large vegetative cell and strong sugar fermentability. The No. 225 and 403-A could assimilate cellobiose, xylose, KNO<sub>2</sub> and KNO<sub>3</sub>. These properties were fit for bran fermentation.
4. The No. 403-A microorganism was a yeast-like microbe and showed cellulase activity which might help the propagation of other yeasts on the brans.
5. The analytical data of fermented feed indicated the following order of usable value; rice-wheat-barley bran 4:4:2, rice-wheat bran 5:5, rice-barley bran 5:5, rice-defatted rice bran 5:5.
6. The fermented feed were prepared by mixing brans, 0.3% ammonium sulfate and 5%(w/w) inoculum of yeast suspension in 4% glucose solution. Water content 70~80%, fermentation temperature 25~30°C, and fermentation time 2~3 days were given.
7. The rice-wheat bran 5:5 and rice-barley bran 5:5 fermented feed showed 11.17~11.45% protein increase, and the rice-barley-wheat bran 4:4:2 and rice-defatted bran 5:5 showed 3.75~6.03% protein increase.
8. The fermented feed prepared in this experiment by the author might work as a nutritive feed using microbial cell body, enzymes produced by microbes and other microbial cell constituents.

\* This work was supported by a grant from The Asia Foundation

## 緒 論

現在 家畜飼料의 不足을 解決하기 위한 手段으로는 여러가지가 있겠으나 本 研究는 野生酵母菌을 利用한 醱酵飼料는 特히 韓國과 같이 廣範한 草地造成을(飼料作物의 栽培) 못하고 加工副産物(槽糠類)의 直接的인 利用만으로는 畜産業의 效率의인 發展을 期할 수 없으므로 이들 槽糠類등을 野生酵母菌으로 醱酵시켜 飼料化 시킬 수 있는 研究가 시급한 實情이다. 따라서 粗飼料를 濃厚化해서 飼料原料 自體의 榮養的 價値를 改善하는 方向으로 榮養價値가 豊富한 醱酵飼料를 값싸게 大量生産할 수 있다면 畜産을 獎勵하려는 目的에서도 重要하다고 본다. 從來 醱酵飼料에 關한 研究로서는 硫安을 添加한 澱粉粕에 麴菌을 培養하여 純蛋白質을 合成하는 金(1962), 住江(Suae, 1949), 坂口(1950)등의 報告와 cellulase 生成菌으로 醱酵飼料를 製造하여 成鷄에 飼養試驗한 金(1969)등의 報告가 있으며 또한 微生物의 菌體를 利用한 飼料醱母에 對한 多數의 研究報告(大原, 前田, 1958)등이 있다. 또한 裊(1971)등은 菌體와 酵素를 利用할 수 있는 醱酵飼料의 生産에 關한 研究로서 有用酵母의 分離同定 및 培養條件과 酵素生成條件에 關한 報告등이 있다. 그러나 槽糠類에 다 野生酵母菌을 利用한 醱酵飼料의 製造는 아직 未開拓의 分野라고 해도 좋을 것이다. 本 研究에서 利用한 原料로서 植物性 槽糠類(米糠, 脫脂糠, 大麥糠, 小麥麩등)를 利用한 醱酵飼料를 製造하기 위해서는 원래 體蛋白質構成源으로서의 蛋白質含量이 적으며 또한 粗纖維가 많아 消化率을 低下시키기 때문에 良質의 飼料로서 轉換시키기 위해서는 粗纖維를 分解하여 可消化性成分을 增大시키고 蛋白質이나 비타민등을 合成하여 榮養的 價値를 높여야 하기 때문에 槽糠類를 利用한 醱酵飼料를 만들기 위해서는 自然界에서 棲息하는 野生酵母는 抵抗力이 세고 榮養이 좋지 않은 곳에서도 잘 繁殖하기 때문에 特히 cellobiose 나 xylose를 資化하며

窒酸鹽( $KNO_2$ ,  $KNO_3$  등)을 同化하는 優良菌種을 分離同定한 것을 槽糠類에 醱酵시켰던바 繁殖이 잘되는 酵母菌法 醱酵飼料의 製造에 關한 結果를 얻었으므로 報告하는 바이다.

## 材料 및 方法

### 1. 菌株의 分離와 同定

前報 “韓國産 野生酵母에 關한 研究”(I, II, III報)에서 이미 發表한 野生酵母의 採集方法으로 分離한 菌株中에서 35種을 純粹分離한 野生酵母는 形態的 및 生理學的인 性質로 特히 最近의 實驗方法인 “Replica typing method”에 依하고 正確한 同定을 하는 데는 1970年版 J.Lodder의 “The Yeast—a taxonomic study—(North Holland Pub Co.)”에 따랐다.

### 2. 酵母菌飼料의 選擇菌株

酵母菌法 醱酵飼料의 製造上 더우기 重要な 것은 使用菌種의 選擇이다. 그러므로 菌株의 性質을 充分히 알고 原料를 選定하여 菌體의 增殖을 하여 製造하는데 利用하였다. 特히 *Candida*, *Torulopsis*, 및 *Hansenula* 屬 系統의 酵母菌을 實際 製造上 더우기 좋은 菌種으로서 選擇하였다. 이들 野生酵母는 抵抗力이 세고 糖分이 좋지 않은 곳에서도 잘 繁殖하기 때문에 優良菌種을 찾는 目的을 두었으며 特히 野生酵母의 繁殖速度는 菌種에 따라서 多少 差異는 있으나 따라서 本 研究에 使用時에는 처음 35菌株中에서 cellobiose, xylose 및 窒酸鹽을 資化하는 것을 選擇하였다. 培養酵母인 *Saccharomyces* 屬(例 *S. cerevisiae*)은 알콜 醱酵力이 強하기 때문에 飼料酵母로서는 좋지 않고 野生酵母中에서 菌糸를 많이내는 *Candida* 屬과 産膜酵母인 *Hansenula* 屬으로 光澤이 없으며 皮膜을 形成하는 것으로 開放의 醱酵飼料 製造時에 槽糠類의 表面에 잘 붙 수 있는 酵母菌으로 澱粉이나 cellulose는 利用을 못하므로 水溶性 糖分이 어느 程度들어 있는 槽糠類로서 cellobiose, xylose 및 窒酸鹽을 資化하고 醱酵能이 強한 菌種

을 同定한것 中에서 찾아 最大로 增殖醱酵하는 3 菌株을 醱酵飼料 製造하는데 應用했다.

### 3. 供試菌株

使用한 菌株로서는 有孢子酵母類 *Hansenula anomala* var. *anomala*(225), 無孢子酵母類 *Candida utilis*(400) 및 酵母類似菌 *Irpex-cellulase*(403-A) 등을 使用하였다. 特히 *H.anomala* var. *anomala*(225)는 麗水 梧桐島 堤防 밑 海水에 떠있는 “거머리말”에서 分離했기 때문에 榮養분이 적으므로 2% glucose 海水에서 前培養을 거치면 約 7日後 병 밑 部分에 酵母의 群集이 나타나는데 이를 白金耳로 무쳐 malt extract 平板培地에 接種하여 3日間 incubation 시키면 培地위에 나타난 2個의 群體를 選擇하며 plating technique 法으로 純粹分離한 것을 J.Lodder(1970)와 一部는 Wicherham(1955)의 方法에 따라 分離同定하였다.

### 4. 培養方法

一般的으로 malt extract media 를 使用한 液體培地와 固體培地(Bllg. 10°, pH4.5—5.0)는 榮養이 豊富한 培地로서 野生酵母의 分離, 一般的 培養 및 保存用으로 使用하였다. 그리고 醱酵飼料을 만들기 위한 前培養 培地로는 glucose-yeast extract-peptone medium을 使用하였으며 이 培地는 特히 酵母의 多量培養을 위해서는 좋다고 한다.

#### ㄱ) Malt extract medium

dry malt .....250g  
chloramphenicol.....0.1g  
1N-HCl .....7ml  
dist. water .....1,000ml

#### ㄴ) Glucose-yeast extract-peptone medium

glucose ..... 40g  
yeast extract .....5g  
peptone .....10g  
tap water .....1,000ml

上記 ㄴ) 液體培地를 均一한 9부 試驗管에 10ml 씩 넣어 15 lb, 121°C 로 15分間

autoclave에서 滅菌한 후 選定菌株을 接種하여 25°C, 2日間 incubator에서 培養한 것을 種菌으로 使用하였다. 또한 醱酵飼料製造를 위한 培養液도 glucose-yeast extract-peptone media 로 500ml의 flask에 150ml를 넣고 滅菌한 후 30°C가 될적에 前培養한 種菌 10ml씩 接種하여 全量 160ml가 된 것을 30°C의 恒溫 rotary shaker에 걸어서 18—24時間 培養한 多量菌液을 醱酵飼料 製造時 使用하였다.

### 5. 醱酵飼料의 製造

#### 가. 原料

醱酵飼料의 原料는 大端히 廣範圍하나 一般的으로 우리나라 農家에서 물에 타서 直接飼料로 먹이고 있는 各種 槽糠類등으로 이 中에 國內에서도 多量生産되고 있는 米糠, 大麥糠, 小麥麩 및 脫脂糠등이다. 그러나 이들中에서도 原料 그대로 良質의 飼料로 使用될 수 있는 것도 있지만 本研究에서는 여러가지 槽糠類를 配合하여 野生酵母菌을 接種시켜 醱酵飼料化 함으로써 보다 濃厚 飼料를 만드는데 主眼點을 두었다. 酵母는 直接 澱粉이나 cellulose를 分解해서 自己의 榮養源으로 할 수 없기 때문에 酵母菌의 培養原料는 어느 程度의 澱粉을 含有하고 있어야 하는데 米糠이나 大麥糠은 어느 程度 含有하는 糖分에 依해서 酵母菌이 增殖된다는 것이 알려져 있다.

#### ㄱ. 原料의 配合

原料는 特別히 制限된 것은 없고 周圍에서 손쉽게 購入할 수 있는 槽糠類면 좋은데 여기에서 注意할 점은 炭水化合物과 蛋白質의 配合比가 均衡을 이루어야 하기 때문에 다음과 같은 原料比率로 配合하였다.

A) Rice bran: Wheat bran: Barley bran  
(4 : 4 : 2)

B) Rice bran: Wheat bran(5 : 5)

C) Rice bran: Barley bran(5 : 5)

D) Rice bran: Defatted rice bran(5 : 5)

槽糠類=Crude brans

混合糠類=Mixed brans

米糠(쌀겨)=Rice bran

大麥糠(보리겨)=Barley bran  
 小麥麩(밀기울)=Wheat bran  
 脫脂糠=Defatted rice bran  
 醱酵飼料=Fermented feed  
 酵母類似菌=Yeast-like fungi

#### ㄴ. 浸漬와 蒸煮

乾燥된 原料는 適當한 물을 添加하여 菌의 生育에 적합하도록 物理的인 組織을 改善할 目的으로 原料에 다 물을 加할때 原料 무게의 0.3% 되게  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 녹혀 全體水分量 70~80%로서 乾泥狀의 形態를 갖게 되도록 調節하였다. 混合糟糠類의 A, B, C 및 D의 原料는 2l 容 Erlenmeyer flask 에 200g 썩 넣어 autoclave에서 15 lb (121°C) 20分間 蒸煮하여 滅菌하여 雜菌을 除去하고 同時에 澱粉質을 糊化시켜 酵母의 發育을 容易하게 하였다.

#### ㄷ. 接種

上記한 混合糟糠類의 各 原料에는 菌體의 前培養한 酵母培養液 160ml 에다 滅菌한 4% glucose溶液 3倍量을 添加하여 全量 500ml 로 稀釋한 菌液을 原料 重量 5%되게 接種하였다. 使用菌株의 稀釋液은 *H. anomala* var. *anomala*, *Candida utilis* 및 *Irpex-cellulase* 등 3菌株를 同時에 接種한 것과 또한 接種區는 *H. anomala* var. *anomala*와 *Candida utilis* 2菌株를 同量 添加 接種한 것으로 區分하여 培養하였다.

#### ㄹ. 本培養

醱酵飼料의 培養은 普通 實驗室 規模이기 때문에 15坪되는 恒溫室 25°C에서 2~3日間 培養하는데 酵母菌은 好氣性이기에 수시 교반하여 酸素를 供給하여 줌으로써 菌體의 增殖을 자극하고 醱酵을 抑制하여 異質物을 生成치 못하게 하였다. 교반 操作을 行하면 停止하였을 경우보다 菌體가 增加하고 또한 成分을 均一하게 하여 菌의 分布와 生育을 고르게 하는데 이 操作을 酵母菌 醱酵飼料의 製造에 있어서는 重要한 것으로 通氣를 좋게 하면 菌體의 增殖을 促進시켰다. 培養

物의 醱酵가 끝나는 時期는 甘味와 酸味가 있고 香味가 나며 가스가 發生하고 색깔이 褐色으로 變하는 때로 보아 2~3日로 決定했다. 本培養物을 長期間 放置하면 酵母가 分泌하는 酵素에 依해서 代謝作用이 進行되어 原料中の 榮養分이 消耗되므로 좋지 않다.

#### ㄹ. 醱酵飼料의 一般成分 分析

①의 配合比率로 만든 混合糟糠類는 2l 容 Erlenmeyer flask 에다 200g 썩 넣고 水分이 70~80%로 한것을 autoclave에서 15 lb (121°C) 20分間 滅菌한 것에 前記한 選定菌株(No. 225, No. 400, No. 403-A)를 接種하여 25°C 恒溫室에서 3日間 培養한 것을 dry oven 60~70°C에서 24時間 乾燥시켜 分析 試料로 使用하였다. 水分量은 105°C의 乾燥器中에서 恒量이 될때까지 乾燥한 후의 減量, 粗蛋白質은 micro-kjeldahl 法, 粗脂肪은 soxhlet 抽出法, 灰分은 600°C의 furnace에서 灰化하여 分析하였고 炭水化合物은 培養物總量에서 水分, 蛋白質, 脂肪, 灰分을 감한 量으로 表示하였다.

### 結果 및 考察

#### 1. 菌株의 分離와 同定

自然界의 여러 棲息處로 부터 分離同定한 35菌株中에는 cellobiose 나 xylose 그리고 窒酸鹽( $\text{KNO}_2$ ,  $\text{KNO}_3$  등)등을 資化하는 菌株만을 選定하여 malt extract medium에서 가장 왕성하게 生育하는 菌株를 選定하고 이들의 菌學的 性質에 對한 strain No. 225, No. 400 및 No. 403-A의 實驗 結果는 Table 1, 2와 같다. 分離選定菌株의 菌學的 性質은 Lodder(1970)의 分類 key에 따라 同定한 結果 strain No. 225는 *Hansenula anomala* var. *anomala*, strain No. 400은 *Candida utilis*, strain No. 403-A는 *Irpex-cellulase*(*Irpex consors*)로 各各 同定되었다. 또한 이들 菌株의 培養最適條件을 보면 malt extract medium의 pH는 4.5~5.0로 1N-HCl로 調整한 培地에 接種하여 30°C로 2日間 培養한 結果 分離菌株

Table 1. The morphological characteristics of the selected 3 strains

Strain No.	Item	Shape and size of cells	Form, No. per ascus	Pseudomycelium	Ring and pellicle in liquid wort	Malt agar plate		
						color	elevation	surface
225		Globose (3.3×3.8)~(5.0×8.0) $\mu$	hat-shaped 1-2	-	white pellicles (creeping)	yellowish white	flat smooth	smooth
400		Elliptical (2.3×4.0)~(5.3×9.5) $\mu$	-	+	-	tin yellow	convex	smooth
403-A		Elongate, sausage-shaped (8×11)~(14×24) $\mu$	-	+	islets and heavy	white	convex	dry

Table 2. Various physiological properties of the selected 3 strains

Strain No.	Item	Fermentation					Assimilation of carbon source															
		Gl.	Gal.	S.	M.	L.	R.	Gl.	Gal.	S.	M.	L.	R.	I.	C.	X.	E.	Mel.	Gly.	L-Arb.	Rh.	Er.
225		+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+
400		+	-	+	-	-	1/3	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
403-A		-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	W	+	+	-	+	-	-	-	-
		Ad. Ma. So. Sa. M-G. I. G-L.					Arbutin	Vitamin	KNO <sub>3</sub>	37°C growth												
225		+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+									
400		-	-	-	+	W	-	-	+	+	+	-	-									
403-A		-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+										

Gl=Glucose; Gal=Galactose; S=Sucrose; M=Maltose; L=Lactose; R=Raffinose; I=Inulin; C=Cellobiose; X=Xylose; E=Ethanol; Mel=Melibiose; Gly=Glycerol; L-Arb=L-Arabinose; Rh=L-Rhamnose; Er=Erythritol; Ad=Adonitol; Ma=D-Mannitol; So=D-Sorbitol; Sa=D-Salcin; M-G= $\alpha$ -Methyl-D-glucoside; I=Inositol; G-L=Glucono- $\delta$ -lactone; W=Weak; +, - =Seldom.

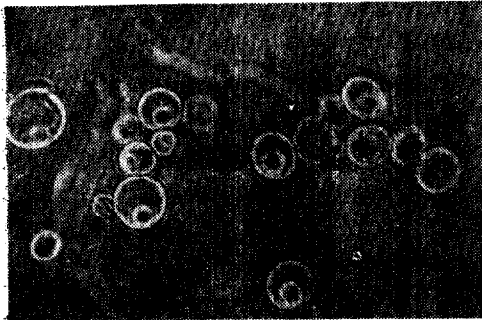


Fig. 1. *H. anomala* var. *anomala*,  $\times 850$   
(3 days old in malt extract at 25°C)

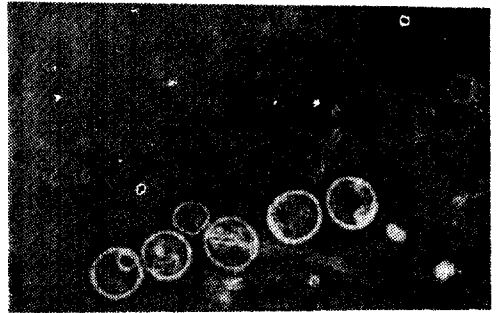


Fig. 2. *H. anomala* var. *anomala*,  $\times 850$   
(10 days old in malt extract at 25°C).  
→No. /ascus 2

가 pH5.0에서菌株増殖이 가장良好하였으며 培地の糖濃度を Bllg. 10~20°로 하여 30°C에서 2日間培養할 경우는 모두 Bllg. 10°에서良好하였다. 또한培養溫度를 25~30°C로 2日間培養한結果 strain No. 225와 strain No. 403-A는 30°C에서 菌體増殖이良好하였으며 strain No. 400은 25°C에

서良好하였다. 30°C로培養하여培養期間이經過해도 4日까지는 어브스이나 菌體増殖은多少 계속되었다. 菌體의生理學的性質로 보더라도糖의 醱酵能을 보면 strain No. 225는 lactose만이 negative고 glucose, galactose, maltose, sucrose 및 raffinose 등은 모두 positive였는데 특히 glucose,

maltose 그리고 sucrose 등은 强하게 빨리 醱酵하였다. 또한 37°C 에서도 生育하며 特히 앞서도 말했지만 高等植物의 槽糖類는 hexosan 의 一種인 cellulose 와 hemicellulose 가 細胞壁의 主成分으로 이들 分解物인 cellobiose 나 xylose 의 資化力을 가지는 野生酵母를 選定하여 製造實驗에 使用했던바 增殖이 잘되는 것을 볼 수 있었다. Strain No. 400인 *Candida utilis* 는 獨逸에 있어서 最初 穀物の 酸糟化物 등을 使用했으나 그후 木材糖化液이나 亞黃酸 펄 廢液을 使用해서 培養한 最適菌株로 알려졌던 것이며 本研究에서도 野生酵母菌을 利用하여 安價한 槽糖類를 原料로서 이菌株을 利用했던바 xylose 나 arabinose 등을 資化하기 때문에 菌體의 增殖이 良好하였다. 또한 strain No. 403-A 는 榻榻에서 繁殖力이 强하기 때문에 槽糖類에서도 利用할 수 있으리라고 보아 應用했던 바 아주 잘 繁殖이 되며 菌糸는 原料위에 나타나 直視할 수 있을 정도로 이菌株은 32°C 以上에서 發育이 잘 되는 것을 볼 수 있었다. 特히 이菌株은 酵母 類似菌으로 cellulose 를 分解하기 때문에 本研究에서 使用한 原料가 槽糖類로서 이들 構成物인 cellulose 를 分解하여 strain No. 225 *H. anomala* var. *anomala* 나 strain No. 400 *Candida utilis* 가 遊離 糖分을 利用할 수 있다고 보아 共棲培養 하였던 바 아주 菌體 增殖이 잘되어 滿 12時間만에 表面에 白色

의 菌糸가 많이 發生하는 것을 보았다. 無機窒素源의 影響을 보면 70~80% 水分添加時에 混合槽糖類에 黃酸 ammonium 을 0.3~0.5의 濃度로 添加하여 培養하였다. 여기에서는 酵母菌이 生育上 糖과 ammonia 및 少量의 無機鹽類를 必要로 하며 그중에서도 蛋白質合成을 위해서 窒素源으로서는 黃酸 ammonium 으로 充分하다고 보아 添加했던 바 0.3%의 濃度에서 無添加區 보다 菌體가 增加됨을 보았다. Dirr & Decker 는 酵母의 全窒素의 64~74%가 蛋白質로 存在하지만 이들 蛋白質은 生命現象에 極히 密接한 關係를 가짐으로 對象으로 하는 酵母의 生活環境 或은 培養條件 등 또는 酵母自體의 外部環境이 다름에 따라서 量的 및 質的 變動을 수반하는 것은 當然하다고 말하지만 一般的으로 酵母의 粗蛋白質量은 乾燥菌體重量의 35~60%이며 *Candida* 酵母의 경우는 50~60% 程度라고 말하고 있다.

供試菌株 3菌株을 液體培養하여 槽糖類를 混合配合한 A, B, C 및 D를 30°C 에서 培養한후 醱酵飼料의 一般成分을 分析한 結果는 Table 3과 같다. 여기에서 對照區로서 醱酵物이 아닌것은 A-1, B-1, C-1 및 D-1 등으로 比較 分析한 것이다. 本研究에서 意圖한 것이 粗飼料를 濃厚飼料化하는 것이기 때문에 原料에다 野生酵母菌을 接種시켜 增殖하는 것으로서 더욱 槽糖類에 잘 繁殖하

Table 3. The chemical composition of feeds and fermented feeds

Samples	Components (dry base %)				
	Ash	Protein	Fat	Cellulose	Carbohydrate
A	10.14	31.96	9.04	10.14	44.74
A-1	9.41	28.21	10.13	9.41	48.71
B	8.52	33.34	5.58	10.18	40.88
B-1	10.02	24.89	11.85	12.72	42.02
C	10.47	35.34	8.32	2.56	43.30
C-1	7.55	24.17	12.14	9.94	45.90
D	7.91	34.74	10.31	9.90	35.56
D-1	11.64	28.71	7.00	4.40	48.25

A, B, C and D are fermented feeds.

는優良菌株를 찾아서 利用했다. 培養酵母보다도 低溫이나 高溫에서도 繁殖이 좋고 乾燥한 原料에 對해서도 抵抗力이 強하기 때문에 처음 目的했던 바와 같이 槽糠類에 接種培養한 후 수시로 교반하여 酸素를 供給하여 주면 菌體의 增殖을 자극하여 停止하였을 때보다 菌體가 增加하여 또 成分을 均一하게 하여 分析試料로 使用했다. Table 3에서 醱酵飼料 A, B, C 및 D를 乾物量 %로 보면 protein 含量이 比較的 많아 3~10% 程度까지 增加되었으나 carbohydrate 含量이 2~6% 가량 減少한 것은 酵母菌體가 增殖할 때 糖分을 利用했기 때문이라고 생각된다. Fat의 含量도 줄어 들었으며 特別 醱酵物 C를 C-1과 比較하면 protein 含量이 많았으며 cellulose 量은 醱酵物에서 7%까지 減少되었다는 것은 strain No. 403-A *Irpex-cellulase* 菌이 混合糠類中의 cellulose를 分解해서 利用했다고 볼 수 있다. Fat, ash 및 cellulose 含量은 10% 內外이며 이中 protein과 carbohydrate 量이 많았으나 結局 飼料의 營養價面에서 볼 적에 protein 含量이 모든 醱酵物中에 增加된 것으로 보아 飼料價値의 向上이 되었다고 보았다. 李(1970) 등은 石油利用 微生物로서 分離한 *Candida curvata* Hy-69-19의 배양에 있어서 無機窒素源으로  $(NH_2)_2CO$ 가 가장 良好하다고 報告하고 또한 Yamada (1968)도 *Candida tropicalis*의 培養에 있어서  $(NH_2)_2CO$ 는  $(NH_4)NO_3$ 나  $(NH_4)_2SO_4$ 보다도 資化速度가 높다고 報告한바 있다. 李(1970)등이 報告한 *Candida curvata* Hy-69-19 보다는 菌體培養物의 分析値는 적으나 槽糠類에 菌體培養한 乾燥量이나 裴(1971) 등이 *Endomycopsis fibuliger*, *E. javonensis*와 *Candida tropicalis*를 液體培養하여 얻은 菌體를 一般分析한 protein 含量보다도 本實驗에서 얻은 乾物量中의 protein 含量이 많았다. 住江(1949)은 高구마粉에 硫安을 3%씩 2回 添加하여 *Asp. oryzae*로 製麴한 境遇 麴中에 純蛋白質量은 19.64%로서 最大値에 達했다고 報告한바 있다. 또

한 金(1962) 등은 高구마 및 高구마 澱粉粕에 4%의 硫安을 添加하여 麴菌을 培養함으로써 純蛋白質量 9~11%인 醱酵飼料를 製造할 수 있다고 報告하고 있다. 絲狀菌의 蛋白質 合成에 對하여는 坂口(1950) 등의 報告가 있으며 酵母에 依한 ammonia 態窒素利用 機作에 對하여는 菅原(1958) 등의 報告를 볼 수 있다. 原料로서 槽糠類의 特性을 보면 米糠의 糖分은 前田(1959)에 依하면 sucrose 10.6%로 glucose와 fructose로 되어 米糠中의 糖分은 糠(겨)과 胚芽에 存在한다고 한다. 米糠의 抽出液에서는 10%라고 하는데(高田) 酵母菌醱酵飼料로서는 最適의 原料이다. 米糠이 酵母菌의 發育增殖에 뛰어난 것은 糖뿐만 아니라 各種의 磷(P)을 含有하고 있기 때문에 酵母菌의 醱酵를 促進한다고 본다. 또한 酵母菌을 米糠培養液에 增殖시키면 米糠中의 vitamin B<sub>1</sub>은 菌體中에 거의 集積된다고 한다. 米糠 100g中 vitamin B<sub>1</sub>은 1,500~4,000 $\gamma$ 로 이는 菌體中에 모여서 家畜에 攝取되어 體內에 利用된다. Vitamin B<sub>2</sub>는 최고 米糠 100g中에 180 $\gamma$ , vitamin A는 거의 들어있지 않으며, 酵母의 培養에 依해서 合成되어 菌體內에 蓄積된다. 木原, 高田 등은 米糠浸出液으로 食用酵母를 培養해서 相當한 收量을 얻었다고 報告하고 있다. 脫脂糠은 粗脂肪이 아주 떨어져 米糠에 比해서 營養價가 낮으나 夏節에는 脂肪이 變敗할 염려가 없기 때문에 모든 家畜飼料로서 廣範하게 利用되고 있지만 醱酵飼料 培養物로서는 좋지 않다. 大麥糠의 成分과 飼料價値는 原料가 大麥이나 裸麥이나에 依해서 다르며 精白度에 依해서도 差가 있다. 糖分으로서는 sucrose 1%, glucose, fructose, maltose 및 raffinose 등 polysaccharide 까지하면 7種類가 包含되어 있다. 木原등은 大麥糠의 浸出液에 *Candida* 屬酵母菌을 培養해서 1日 30%, 2日에 50%라는 收量을 報告하고 있다. 이것을 보면 大麥糠은 酵母菌法 醱酵飼料의 原料로서 어느程度 含有하는 糖分에 依해서 酵母가 增殖한다는 것이 알려졌다.

本研究에서도 混合比率을 米糠 : 大麥糠(5 : 5)로 設定한 培養區에서 protein 含量이 다른區에 比較해서 현저하게 增加되었음을 보여주고 있다.

小麥麩는 製粉工程에서 또는 小麥의 品種에 따라서 成分이 다르다. 糖分으로서는 sucrose, glucose, raffinose 및 dextrin 등 그外 것이 있으나 麩(기울)로서는 含量이 적다. 木原등은 밀기울과 胚芽를 酸性水로 浸出한 液은 糖濃度가 1.29%라고 報告하고 있다. 現在 韓國의 農村에서나 養畜家들은 이들 槽糠類를 直接 물에 타서 주거나 다른 原料에 混合飼料로 利用하고 있을 뿐 이를 보다 더 濃厚飼料化해서 利用하는 家畜飼料에 있어서 肥肉面에서나 能力을 向上한다는 것은 考慮에 넣지 않고 있기 때문에 本研究에서는 이들 原料에다 野生酵母가 잘 繁殖하는 優良菌株을 選定하여 菌體를 增殖시켜 醱酵飼料를 만든 것이다. 安價한 飼料를 얻기 위해서는 農産廢棄物과 같은 原料를 利用하여 濃厚化하는 길뿐일 것이다. 外國의 경우 亞黃酸 펄 廢液, 木材糖化液, 糖密, potato starch waste, 果實廢液 및 酪農廢液을 利用해서 거기에 잘 繁殖이 되는 酵母菌株을 選定하여 乾燥酵母를 만들어 配合飼料에 添加하는 方法이 있을 뿐이다. 最近에 와서 人造섬유工業의 副産物인 木材 펄 廢液에 含有되어 있는 2~4%의 水溶性 糖分을 酵母菌에 依해서 同化시켜 菌體의 增殖을 하여 飼料酵母를 製造하는 것이며 石油을 利用하여 炭化水素를 資化하는 酵母菌을 培養하여 飼料酵母를 만드는 技術이 日本에서는 하나의 model case로 注目을 끌고 있다. 이때의 酵母菌은 *Mycotorula*, 및 *Candida tropicalis*, *C. rugosa* 등을 使用菌株로 選擇하고 있다. 또한 日本醱酵化學의 飼料酵母는 1% 糖密液에 窒素磷酸分을 加해 通氣培養(10數間)한 것을 液과 酵母로 各各 分離乾燥한 것에 米糠과 小麥麩를 配合해서 乾燥酵母를 添加하여 製造한 것들이 있다. 日本의 Oriental 酵母工業에서는 Oriental 酵母飼料(닭의 酵素劑)로서 "Origine"

強力 固型酵母飼料 등을 製造하고 그外 獨逸, 英國, 佛蘭西 등에서도 gas-oil(石油)을 利用한 S.C.P. 工場에서 飼料酵母 등을 製造하여 配合飼料에 添加劑로서 現在 몇 會社에서 酵母飼料를 製品化하고 있는 實情이다. 特히 本研究와 比較하여 外國의 경우를 보면 乾燥酵母를 만들어 配合飼料나 槽糠類에다 混合해서 酵母添加飼料를 製造하고 있으나 本人은 韓國 農村에서 求하기 쉬운 槽糠類에다 直接酵母菌을 接種培養해서 醱酵飼料를 製造하는 點이 相異하다고 할 수 있다.

結局 酵母菌을 利用한 醱酵飼料는 菌體成分을 利用한 所謂 菌體飼料와 酵母菌 培養物中에 含有되어 있는 各種 酵素, 有機酸, ester, vitamins 등을 利用하는 것이라 하겠다. 그러나 이中에서 特히 重要한 것은 첫째 菌體飼料인데 酵母는 體內에 豊富한 榮養素를 갖추고 있으므로 다른 微生物(細菌 등)과는 달라 菌體의 體細胞가 크기 때문에 本研究에서 選定한 *H. anomala* var. *anomala*, *Candida utilis*, 및 *Irpex-cellulase* 菌株들은 槽糠類등에 增殖이 잘 되었다. 앞서도 말했지만 *Saccharomyces* 屬系統의 酵母는 alcohol 醱酵力이 너무 强하기 때문에 적합치 않다고 볼 수 있으며 酵母菌 醱酵飼料로는 *Hansenula* 屬이나 *Candida* 屬系統이 適合하며 cellulase를 分泌하는 *Irpex* 系統의 이들 菌株를 가지고 實驗하였던 바 좋은 結果를 얻었다고 본다.

特히 本菌株들은 槽糠類와 같이 값이 싼 糖類를 炭素源으로 또 黃酸 ammonium과 같은 安價한 無機窒素를 窒素源으로 利用해서 amino acid 組成이 좋은 蛋白質 및 各種의 vitamins를 菌體成分으로 合成할 수 있다고 보았다. 또한 將次 이들 3菌株를 槽糠類에 接種醱酵해서 通氣培養을 하여 大量의 工場規模로 實際製造해도 可能하다. 特記할 것은 醱酵飼料는 分析에 依해서 簡單하게 劣等하다고 말할 수 없으며 또한 이飼料는 速効的인 作用보다도 小量으로 끊임없이 長期間 급여하는 것이 큰 效果를 나타낸



다고 한다. 살아있는 酵母菌을 添加해서 製造하는 醱酵飼料은 다른 濃厚飼料와는 다르다는 것을 念頭에 두지 않으면 안된다. 酵母菌은 發熱에 依해서 자기응해를 하고 可

消化性이 되며 各種飼料中에 酵素를 充分히 分泌하게 되기 때문에 菌體 및 그의 生産物이 家畜에게 좋은 영향을 미치리라고 確信하는 바이다.

## 摘 要

野生酵母를 利用한 醱酵飼料의 生産에 있어서 菌體와 酵素를 利用할 目的으로 自然界로부터 生育狀態가 旺盛한 酵母菌 35菌株中 優秀菌株 3株를 選定하여 Lodder(1970)의 key에 依해서 同定하고 液體培養한 것을 接種한 米糠, 大麥糠, 小麥麩 및 脫脂糠 등을 混合하여 醱酵飼料을 만들어 實驗한 結果는 다음과 같다.

- 1) 醱酵飼料 製造에 利用된 菌株은 3株로 strain No. 225는 *H. anomala* var. *anomala*, strain No. 400은 *Candida utilis*, strain No. 403-A *Irpex-cellulase* (*consors*) 등으로 同定되었다.
- 2) 選定菌株의 液體培養條件은 strain No. 225, strain No. 400 및 strain No. 403-A 生育最適 pH는 5.0, 最適糖濃度는 Bllg. 10°였으며 strain No. 225와 No. 403-A의 生育最適溫度는 30°C, strain No. 400의 最適溫度는 25°C였다. 그리고 strain No. 225는 最高 37°C 이상과 strain No. 403-A는 最高 40°C 이상에서 生育이 되었다.
- 3) Strain No. 225는 體細胞가 크며 糖의 醱酵能이 強하고 strain No. 225, 403-A 등도 cellobiose나 xylose 그리고 KNO<sub>3</sub>, KNO<sub>2</sub>를 資化하는 菌株로 槽糠類를 原料로해서 醱酵飼料을 만드는데 菌體增殖이 가장 良好한 것으로 보았다.
- 4) Strain No. 403-A는 酵母類似菌으로 cellulase를 分泌하는 菌株로 植物性 槽糠類이기 때문에 다른 酵母菌의 增殖을 도와 原料中에 酵素를 生成했다.
- 5) 酵母菌 醱酵飼料은 混合 糠類(A, B, C 및 D의 原料配合)로 良好하였으며 黃酸 ammonium을 0.3% 添加하여 水分量은 70~80%, 培養溫度는 25~30°C로 維持시켰다.
- 6) 混合糠類(A, B, C 및 D)에 菌株의 接種은 各各 前培養한 strain No. 225, No. 400 및 No. 403-A에 4% glucose 溶液을 3倍量 添加 稀釋하고 原料重量 5%되게 接種하여 共棲培養期間은 2~3日間이 最適條件이었다.
- 7) 混合糠類로 만든 醱酵飼料中, B) 米糠과 小麥麩(5:5), C) 米糠과 大麥糠(5:5)은 蛋白質 增加率이 11.17~11.45%였으며, A) 米糠, 大麥糠 및 小麥麩(4:4:2)와 D) 米糠과 脫脂糠(5:5)은 蛋白質 增加率이 3.75~6.03%였다.

以上과 같은 結果로 보아 本研究에서 野生酵母菌 3菌株를 混合糠類에 接種하여 만든 醱酵飼料은 家畜의 菌體構成成分의 利用으로 菌體도 生物과 같이 各種營養素로 되어 있으며 菌體가 그대로 家畜의 營養素로 될 것이다. 酵母가 生成하는 酵素 以外的 生成物의 利用을 들수 있어 消化作用에 對한 補助的인 役割도 될 것이며 多量으로 培養하면 安價로서 營養豐富 價値가 높은 醱酵飼料의 製造가 可能하다고 본다.

## 引 用 文 獻

1. Dirr, K., Decker, P., 1943. *Biochem. Z.*, **316**, 245.
2. Kinichiro Sakaguchi, Hiroshi Okazaki, Takashi Iwasaki, 1950. Studies on the protein synthesis by molds. *J. Agri. Chem. Soc. Japan*, **24**, 197.
3. Lee Ke Ho, Hyun Kyung Shin, 1970. Studies on the petroleum hydrocarbon utilizing microorganism (part 1), *J. Kor. Agri. Chem. Soc.*, **13**, 43.
4. Lodder, J. ed., 1970. The Yeasts, a taxonomic study, North-Holland Pub. Co.,

- Amsterdam.
5. Paff, H. J., Miller, M. W., Mrak, E. M. 1966. The Life of yeasts, Havard Univ. Press.
  6. Von Soden, Dirr, K., 1942. *Biochem. Z.*, 312, 252.
  7. Wickerham, L. J., 1951. Taxonomy of yeasts, Technical Bulletin no.1029, 2—56. U.S. Dept. Agri. Wash., D.C.
  8. Yamada, K., J. Takashi, Y. Kawabata, I. & T. Onihara, 1968. In single cell protein, MIT press.
  9. 朝井勇宜, 1956. 微生物工学, 微生物利用飼料, 朝倉書店刊, 223—252.
  10. 飯塚, 後藤, 1969. 酵母の分類同定, 東京大學出版會刊, 1—143.
  11. 今井, 黒田, 1966. Cellulaseによる植物細胞膜の分解, 日酸工誌, 44, 11, 854—857.
  12. 岩崎, 新原, 松田, 1967. 纖維素分解酵素について(1) 纖維崩壊によるセルラーゼ活性の測定法ならびに木材腐朽菌およびその他の菌類のセルラーゼの活性, 日酸工誌, 45, 11, 1072—1079.
  13. 若林, 西澤, 1964. *Irpex lacteus* の cellulase系について, 日酸工誌, 42, 6, 347—355.
  14. 佐藤清次, 1959. 微生物 醱酵飼料の基礎と實際, 畜産飼料研究所, 105—162, 344.
  15. 住江, 松家, 1948. 微生物による蛋白質飼料, 飼料の製造(2), 特に甘藷麴を利用せる場合に就て, 日農化誌, 23, 507—509.
  16. 西澤一俊, 1962. Cellulaseの酵素的分解機序, 日酸工誌, 10, 150—160.
  17. 菅原, 熊谷, 志村, 1958. 酵母による ammonia態窒素の作用機作に關する研究(1), 窒素飢餓酵母における基礎的諸條件の検討, 日農化誌, 32, 348—351.
  18. 坂口, 岡山, 岩崎, 1950. 糸狀菌による蛋白質合成に關する研究, 日農化誌, 24, 77—79.
  19. 宮路憲二, 1955. 應用菌學, 下卷, 岩波書店刊, p. 366—368.
  20. 橋谷義孝, 1967. 酵母學, 岩波書店刊, 534—543.
  21. 金浩植, 曹惠鉉, 姜禮信, 1962. 麴菌醱酵飼料の製造法에 關한 研究, 서울大論文集(D) 生農系, 11, 69—71.
  22. 金燦祚, 崔宇永, 1969. Cellulase 生産菌에 關한 研究(2), 分離菌株의 同定 및 그 作用에 對하여, 韓農化誌, 11, 89—94.
  23. 朴明三, 1970. 野生酵母의 利用에 關한 研究(1), 全南大 論文集, 16, 1—16.
  24. 朴明三, 羅鐵昊, 1970. 韓國產 野生酵母에 關한 研究(2), 野生酵母斗 *Drosophila*, 微學誌, 8, 95—102.
  25. 朴明三, 1972. 韓國產 野生酵母에 關한 研究(3), 野生酵母의 分布調査, 微學誌, 10, 51—68.
  26. 鄭東孝, 1969. Cellulase에 關한 研究(1), cellulase 生成菌의 分離斗 粗酵素의 諸性質, 韓農化誌, 11, 109—117.
  27. 鄭東孝, 1969. Cellulase에 關한 研究(2), cellulase 生成菌 Ku-4383의 菌學的 性質, 韓農化誌, 11, 119—122.
  28. 裴貞高, 李澤守, 朴允中, 李錫健, 1971. 醱酵飼料의 生産에 關한 研究(1), 有用酵母菌의 分離同定 및 培養條件, 微學誌, 9, 27—31.
  29. 裴貞高, 朴允中, 李錫健, 李澤守, 1971. 醱酵飼料의 生産에 關한 研究(2), 有用酵母菌의 酵素生成條件斗 硫安添加의 影響, 微學誌, 9, 32—38.