

리보핵산 관련물질을 함유한 Yeast Extracts 제조에 *Streptomyces faecalis* MSF 배양액의 이용

임 익 규

(전) 주식회사 화영 생산부

Effects of Addition of Culture Broth of *Streptomyces faecalis* MSF for the Preparation of Yeast Extracts Containing Savory Compound Related to RNA. Uck-Kyu Lim. Hwa Young Foods Ind. Co., Ltd. Seoul 150-052, Korea—RNA accumulating strain of *Torulopsis versatilis* MT-1 was cultured in molasses medium for higher contents of RNA in cell. Yeast cells were harvested at logarithmic phase on synchronous culture. Yield of cells on dry base to input sugar was 59.5%. Crude protein content was 55.1% in cell. RNA content was 13.9%. Some problems found in the process for the preparation of yeast extracts were improved by the addition of culture broth of *Streptomyces faecalis* MSF which secrete RNase (5' nuclease and 5' adenylic acid deaminase). When the culture broth of *S. faecalis* MSF was added in autolysis process 46% of RNA in cell was converted to I and G(5' inosinic acid and 5' guanylic acid) in extract. By addition of 3~7% culture broth of *S. faecalis* MSF in autolysis or enzymolysis process at the start or early stage, RNA in extract was converted easily to I and G and protein in cells was easily extracted and hydrolyzed to amino acid. Taste of those yeast extracts was delicious. The yeasty smell in yeast extracts was removed. And cell debris was easily removed from extract.

인류가 효모를 이용하게 된 것은 오래된 일로 효모균 체중에는 50% 내외의 단백질외에 각종의 비타민 및 미네랄 성분과 효소등이 함유되어 있다. 효모를 효과적으로 이용하게 된것은 빵효모를 당질배지에서 호기적 조건으로 생산하기 시작하면서 부터이다(1, 2).

효모를 양조와 제빵에는 물론, 식용 또는 사료로 이용하고 나아가서는 yeast extracts의 원료로 이용하여 왔으나, 근래에는 효모균체를 핵산조미료용 RNA의 공급원으로도 이용하게 되었다. 효모는 핵산 축적능이 높고 핵산의 RNA비(RNA/DNA)가 크며 RNA의 추출이 용이하기 때문이다(3).

Yeast extracts용으로 이용하는 균체는 일반적으로 당밀배지에서 배양한 빵효모(*Saccharomyces cerevisiae* sp.)이다. 양조 부산물인 맥주효모의 고미(苦味)문제(4, 5)가 있긴하나 yeast extracts용으로 이용하는 경우도 있다(6).

Yeast extracts 제조방법은 크게 나누어 자기소화법과 효소분해법, 산분해법 및 물리적추출법 등이다. Yeast extracts의 특성이나 품질은 제법과 사용하는 균주 및 배양 방법에 따라서도 다르다.

Breddam 등(7)은 유기용매를 첨가하여 자기소화를 완료 시키는 데 20시간이 걸렸으며, Ning 등(8)은 *S. cerevisiae*의 자기소화 유도에 약 2시간이 걸리고 글리코

겐분해가 가장 빠르며 다음이 단백질분해로 핵산분해에는 약 12시간이 걸림을 확인했다. 효모균체의 자기소화에 Fedorova 등(9)은 proteolytic enzyme을, Rayan 등(10)은 용균효소와 papain을 혼용하기도 했다.

박(11)과 이 등(12)은 대수증식기의 효모균체를 고농도에서 plasmolyzer의 선택과 자기소화 조건의 적정화로 단시간 내에 양질의 yeast extracts를 높은 수득율로 생산할 수 있음을 확인했다.

효모균체의 자기소화에 관한 연구가 많으나(13-15) 산업적으로 고농도의 yeast extracts를 제조하는 경우에는 수득율이 낮고 유용 성분의 활용이 미흡하거나 추출 잔사의 여과성이 좋지않는 등의 문제가 있다.

효소분해의 경우는 proteolytic enzyme의 이용이(16) 일반적이긴 하나 세포벽 용해 효소(17-19) 또는 용균 효소를 이용하기도 한다(20).

산분해법에서는 주로 HCl을 사용한다(21). 물리적 방법으로는 가열 추출 외에 고압 상태에서 급격히 감압하는 방법(22), 고압 homogenizer를 이용하는 방법(23) 또는 초음파로 세포막을 파괴하는 방법(24) 등이 알려졌다.

한편 yeast extracts에서 효모취가 나는 것을 방지하기 위해 효모균체를 NaCl 또는 KCl로 처리하거나(25) yeast extracts를 유기용매(26)로 처리하는 방법이 있으나 공정이 복잡하고 유용성분이 손실되는 단점이 있다.

Kuninaka(27)의 핵산조미료에 관한 연구 결과가 발표된 후 효모 RNA의 유용성이 구체적으로 알려지게(28-30) 되자 정미성이 좋은 yeast extracts를 제조하기 위해

*Corresponding author

Tel. 82-2-841-5789, Fax. 82-2-841-5714

E-mail: uclim@whayongco.inchon.re.kr

Key words: Yeast extracts, RNA, *Streptomyces faecalis*, RNase

핵산분해효소의 이용(31-33)을 시도했으나 사용한 균체의 RNA 함유율이 낮았다.

본 연구에서는 증식력과 핵산축적능이 강한 효모균주를 고핵산 효모배양용 당밀배지에서 동조배양(synchronous culture)한 균체로 yeast extracts를 제조하기 위한 문제점을 검토하고, 이를 해결하기 위하여 핵산분해효소를 분비하는 방선균배양액을 이용한 yeast extracts 제조방법에 관한 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

사용 균주

효모균주는 미원연구소에서 보존하고 있는 균주 *Torulopsis versatilis* MT-01을 사용하고 핵산분해 효소를 분비하는 균주는 미원연구소에서 보존하고 있는 *Streptomyces faecalis* MSF를 사용하였다.

고 핵산 효모 배양

Torulopsis versatilis MT-01 균주는 malt extract 5%, sucrose 1%, yeast extracts 0.3%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.3%, KH_2PO_4 0.2%, MgSO_4 0.05%, pH 4.5의 한천배지에서 보존하였다. 이 균주를 Lime phosphate method(34)로 청징(clarifying)한 당함량 5.0%의 당밀액과 urea 4.0%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 10.0%, 액체인산 4.0%, KCl 1.0%, MgSO_4 0.5%, ZnSO_4 25 ppm, MnSO_4 15 ppm, Corn steep liquor 6.0%, 대두박 침지액 6.0%의 고핵산생산 배지로 pilot fermenter에서 pH 4.5, 30°C, 5 vvm의 통기와 300 rpm 교반으로 동조배양을 했다(2, 35). 배양 중인 균체를 종효모 접종으로부터 5시간째(대수 증식기)에 집균 수 세하여 건분함량 $19 \pm 0.5\%$ 로 물에 현탁한 효모유(yeast cream)를 $5 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 보관하면서 yeast extracts 실험용으로 사용했다.

Sf 배양액

Streptomyces faecalis MSF 균주는 peptone 0.5%, malt ex. 0.5%, glucose 1.0%, NaCl 1.0%, pH 7.2의 한천배지에서 28°C로 7일간 배양한 후 보존 하였다. 이 균주를 soluble starch 3.0%, 대두박 침지액 2.0%, dry yeast 0.2%, KH_2PO_4 0.1%, MgSO_4 0.05%의 배지를 이용하여 jar fermenter에서 pH 6.5, 28°C, 0.5 vvm의 통기와 50~150 rpm 교반으로 배양하여 배양액 중의 균체가 $2 \pm 0.2/5$ ml가 되었을 때(48시간 내외) 배양을 완료했다. 배양완료액을 HCl로 pH 4.0으로 조정하여 40°C에서 10분간 방치한 후 다시 NaOH로 pH 6.0, 45°C에서 붕산 0.6%를 첨가하여 RNase를 활성화 시켰다. 이를 $5 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 보관하면서 조리보핵산분해효소액(crude RNase)으로 사용했다.

자기 소화

효모유에 plasmolyzer로 NaCl의 첨가량과 pH 및 온도 등의 조건을 달리하여 자기 소화를 시켰다(4, 11, 15). 추출완료후 pH 5.6~5.8로 조정하여 93°C에서 10분간 열처리를 한 다음 잔사는 감압여과 또는 원심분리했다. 가열은 중탕으로하고 교반을 했다. pH 조정에는 HCl이나 NaOH를 사용했다.

효소 분해

Amano pharmaceutical co. 제품인 *Aspergillus*속 균주의 배양으로 얻은 중성 protease Amano P와 papaya의 미숙과에서 추출한 Papain W-40 및 pineapple 나무의 줄기에서 추출한 Bromelain을 사용했다(10, 16, 36). 이들 효소의 최적조건은 pH 5.5~8.0, 35~60°C의 범위에 있었으며 균체중의 단백질함량을 기준으로 각 효소의 역가에 따라 첨가량을 달리 했다(36). 효소를 첨가하기전에 효모유를 90°C로 10분간 처리했다.

산 분해

효모유 또는 자기소화나 효소분해 및 가열추출후의 여과잔사를 각기 다른 HCl 농도와 온도조건으로 상압에서 분해했다(21). 분해완료후 pH 5.6~5.8로 조정하고 감압여과 또는 원심분리로 잔사를 분리하였다.

Sf 배양액 첨가 분해

자기소화를 시키면서 시험구별로 처리조건 및 Sf 배양액(crude RNase)의 첨가량을 달리하면서 세포내용물의 용출 및 분해상태를 확인하였다. protease와 혼용하여 분해하는 경우도 같은 요령으로 했으며, 가열추출의 경우는 추출 완료액을 냉각한 후 앞에서와 같은 요령으로 Sf 배양액의 첨가효과를 확인했다.

일반 분석

탄수화물 정량에는 화학적정량법인 환원당정량법을 이용했으며 환원당은 Somogyi 변법으로 정량하였다(37). 질소정량은 micro kjeldahl법으로 하고 총질소량을 6.25 배하여 조단백질로 산출하였다. amino 태 질소정량은 Pope-Stevens의 가동법을(37), 회분정량은 직접회화법으로 정량하는 등 일반적인 분석방법에 따랐다(37).

아미노산 정량

효모균체중의 아미노산정량은 시료를 6 N HCl로 110°C에서 24시간 가수분해하고(37), yeast extracts 중의 유리아미노산은 시료의 분해과정을 거치지 않고 automatic amino acid analyzer(JLC-6AH JEO)로 분석하였다.

RNA 및 nucleotide의 정량

핵산관련물질의 정량은 Schmidt-Thannhauser-Schneider method에 의하여 RNA는 자외선흡수법(260 μm)으로, nucleotide(5' inosinic acid, 5' guanylic acid)는 이온교환수지 column chromatography법으로 정량하였다(37, 38).

기타 측정 및 판정

균체 내용물의 용출정도를 파악하기 위하여 액체의 밀도(density) 단위인 Brix(%)를 Refractometer(A.T.C type, Brix 0~32%)로 측정했다(39). 염산분해의 경우 Baumé(Bé) Baumé 비중계로 측정하고(37), 흡광도(A)를 측정하였다(40). 추출액 또는 분해액의 여과성은 직경 10 cm인 Büchner type funnel에 #50 Toyo filter paper를 깔고 일정한 양의 분해액을 상압에서 여과할 때 단위시간(30분)당의 여과량을 측정하는 방법을 썼다. 색상과 냄새 및 맛은 10명의 판넬요원이 판정 했다.

결과 및 고찰

Yeast extracts 시험용 효모균체를 얻기위하여 사용한 균주 *T. versatilis* MT-01을 반복된 배지 실험으로 선택한 고핵산효모생산배지에서 동조배양을 하면서(35) 시간경과에 따른 균체량과 균체중의 RNA 함유율을 측정하였다. 또한 효모세포의 배양 시간 경과에 따른 균체중의 RNA 용출율의 변화를 확인하였으며 이들 결과를 Fig. 1에 모았다.

배양 시간의 경과에 따라 균체 증식은 Incremental S 곡선 형태의 생장곡선을 보였으며(2), RNA 함유율은 대수증식기의 초기에 급상승하여 15.9% 수준에 이르렀으나 감소경향을 나타내다가 정상기(stationary phase)에 이르러 급속히 감소하였다.

배양중 1시간간격으로 집균한 균체중의 RNA 용출율은 종효모(seed yeast)접종으로부터 5시간대에 집균한 균체의 RNA 용출율이 가장 높았다. 증식초기 보다는 대수증식기에 높고 안정기에 다시 낮아졌다. 이와 같은 현상은 효모세포의 생리생태적 조건과 관련되는 것으로 판단된다.

RNA 용출량은 10%의 효모균체를 현탁한 효모유를 90°C로 10분간 처리한 후 액량에 대한 2%의 NaCl을 첨가하여 pH 5.5, 50°C에서 3시간 동안에 용출된 RNA 양을 기준했다. 이 실험결과는 *S. cerevisiae*의 경우 대수증식기의 배지에 NaCl을 첨가함으로써 자기소화가 쉽게 일어나며(13), yeast extracts의 추출율이 대수증식기에 높았던 경우(11, 12)와 같은 경향이였다. 대수증식기라 하더라도 동조배양의 경우가 RNA 함유율이 높고 용출율도 높았다.

Table 1에 종효모접종으로부터 5시간대(대수 증식기)

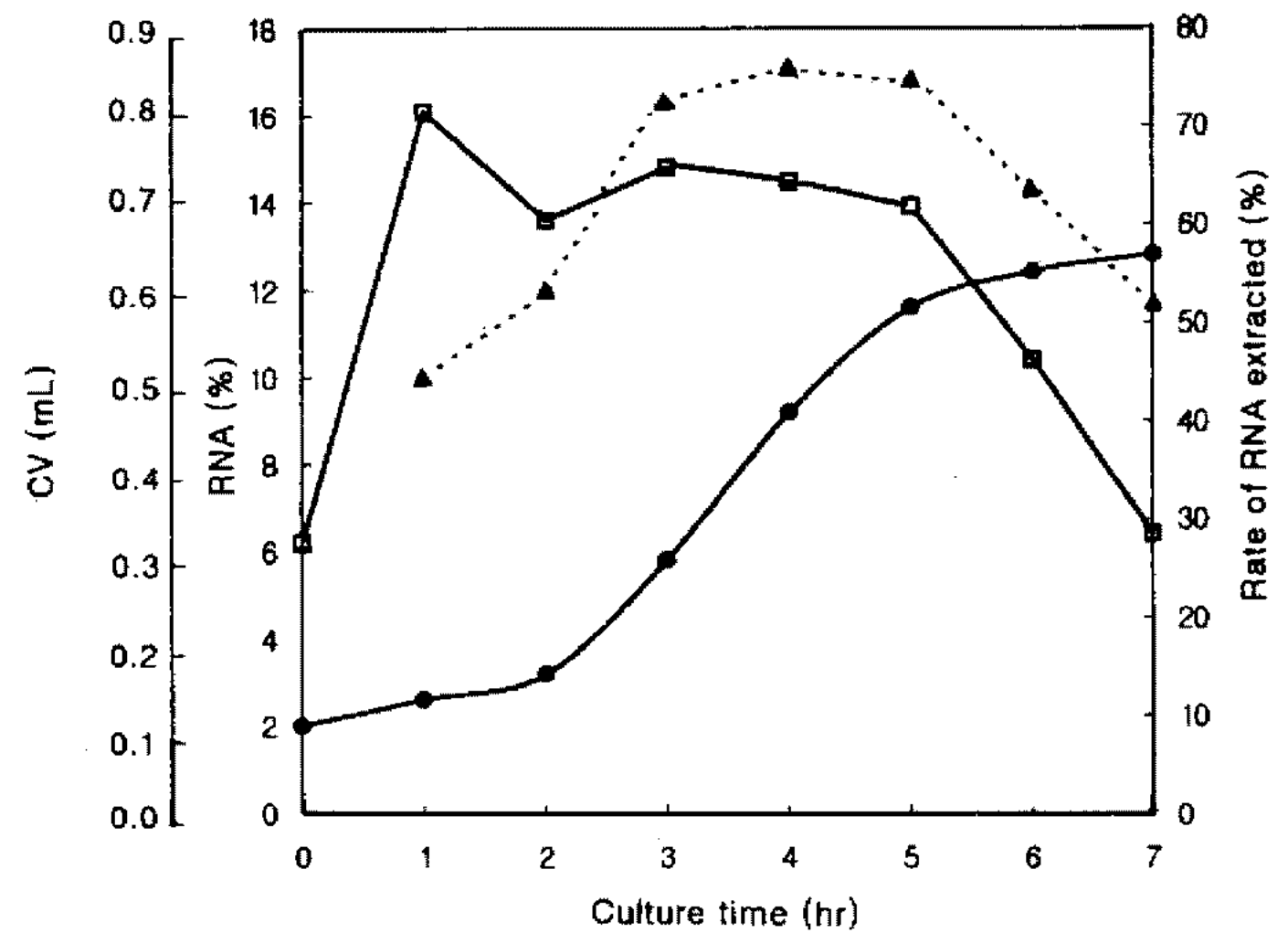


Fig. 1. Variation of RNA content in cell and releasing rate of RNA following cell growth.

Torulopsis versatilis Mt-01 was cultured synchronously in molasses medium for high content of RNA in cell. Yeast cells were harvested every hour after seeding. Growth curve of cells show on CV (-●-) as volume (ml) of cells in 5 ml of culture broth. RNA content (-□-) show as percentage in cell on dry base. Rate of RNA extracted (···▲···) show as percentage to RNA content in initial cells. RNA was extracted at 50°C, pH 5.5, for 3 hours, adding 2% NaCl in yeast cream (suspended 10% of cells as dry weight) after heating at 90°C for 10 min.

에 집균한 균체의 주요 성분함량을 모았다. 탄수화물 함유율 28.2%, 조단백질 55.1%, RNA 13.9%인 이 균체를 Yeast extracts 제조실험용으로 사용하였다. 일반적으로 빵효모의 경우 RNA 함유율이 5% 내외임을(2, 41) 감안할 때 이들 균체의 RNA 함유율은 월등하게 높았다. Glutamic acid 함유율도 높은 수준이다.

효모유에 plasmolyzer로 NaCl을 사용하여 자기소화를 시키는 경우와, 같은 조건하에서 Sf 배양액을 첨가한 경우를 대비하여 실험을 실시 하였다. 자기소화에 Sf 배양액을 첨가한 경우가 yeast extracts의 품질이나 수득율이 향상 되었다. 건조중량을 기준으로 15~20%의 균체 (Table 1)가 함유된 효모유의 액량에 대하여 Sf 배양액 3~7%를 첨가하여 pH 5.0~6.5, 45~60°C로 유지해야 했

Table 1. Composition of yeast cells used for the production of yeast extracts

General composition		Constituents of amino acid	
Moisture	79.3 (%)	Glutamic acid	6.31 (%)
Carbohydrate	28.2 (%)	Glycine	2.75 (%)
Ribonucleic acid	13.9 (%)	Alanine	3.32 (%)
*Crude protein	55.1 (%)	Lysine	3.57 (%)
Amino-N	0.93 (%)	Methionine	0.71 (%)

The strain of *Torulopsis versatilis* Mt-01 was cultured synchronously in molasses medium for high content of RNA in cell. Yeast cells were harvested after 5 hours from seeding. *Crude protein:Total nitrogen (%)×6.25.

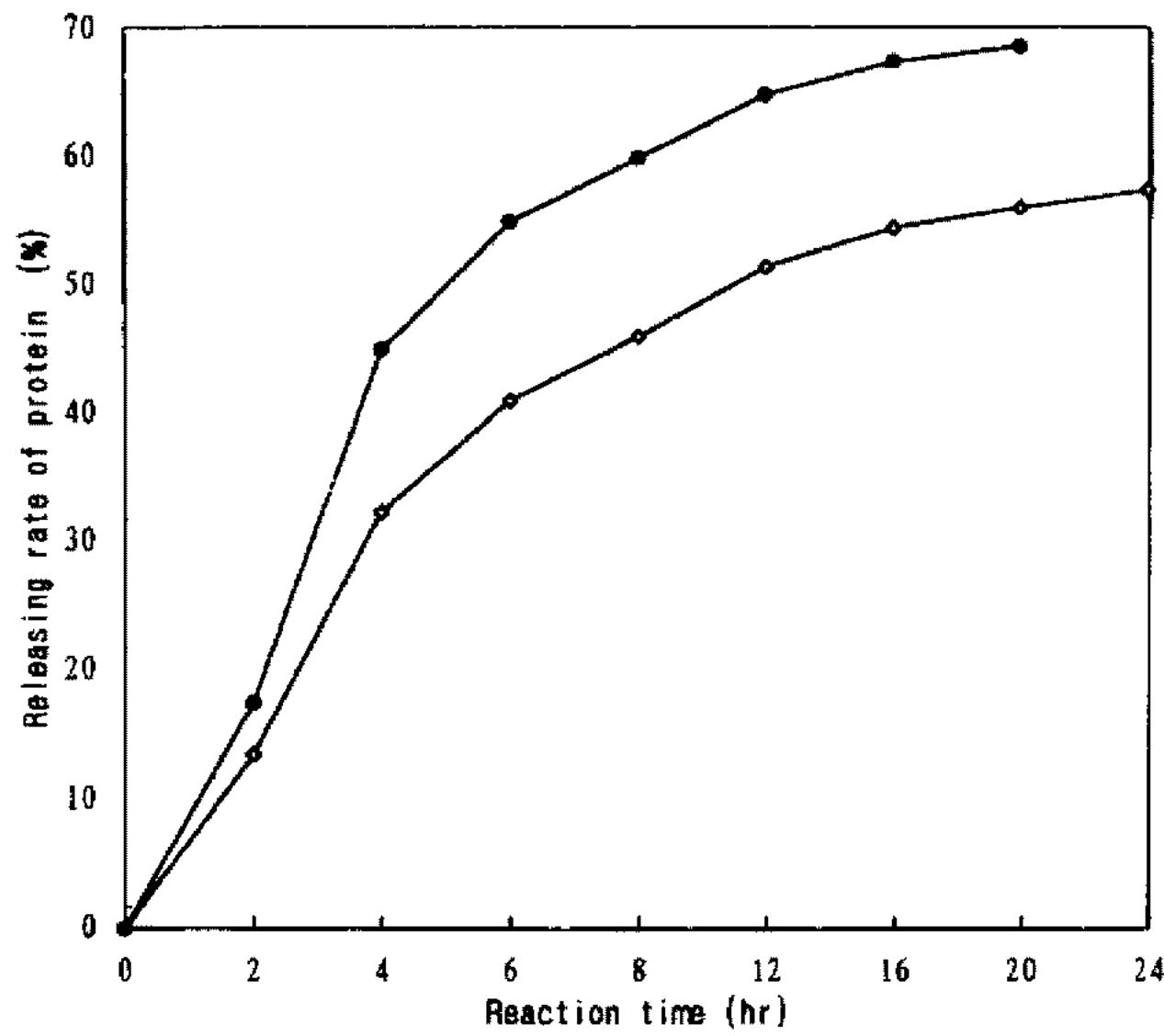


Fig. 2. Comparison of releasing rate of protein during autolysis by adding NaCl and culture broth of *S. faecalis* MSF. Releasing rates of protein in extract show as percentage to protein content of in initial cells. Autolysis was carried out at 50°C, pH 5.5, by adding 3% NaCl (-◇-) or adding 5% Sf-broth as crude RNase with 1.5% NaCl (-●-) in yeast cream suspended 18% cells as dry weight.

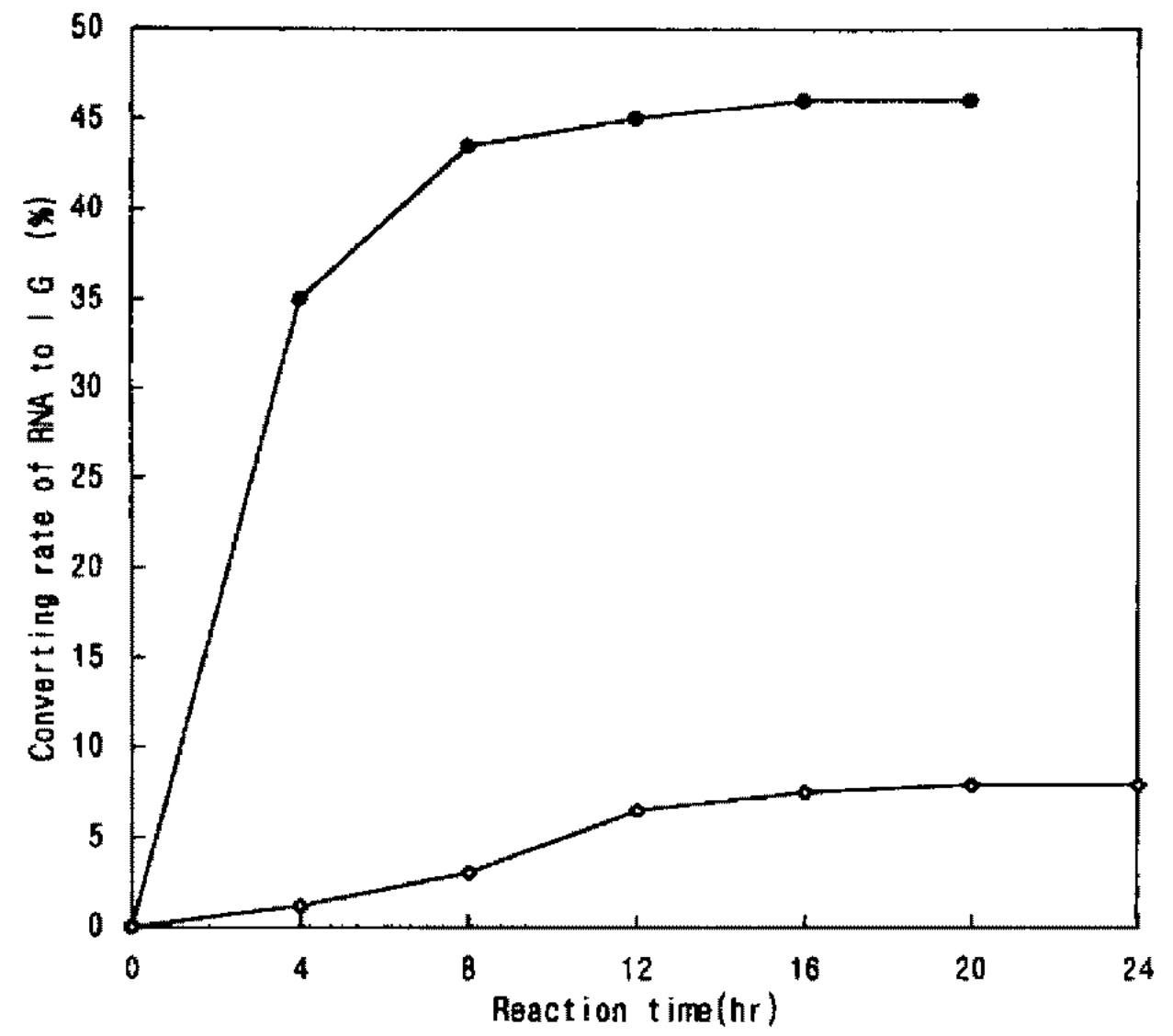


Fig. 3. Comparison of Converting rate of RNA to I&G (5'-inosinic acid & 5'-guanylic acid) during autolysis by adding NaCl and culture broth of *S. faecalis* MSF. Converting rates of RNA to I&G in extract show as percentage to RNA content in initial cells. Autolysis was carried out at 50°C, pH 5.5, by adding 3% NaCl (-◇-) or adding 5% Sf-broth as crude RNase with 1.5% NaCl (-●-) in yeast cream suspended 18% cells as dry weight as Fig. 2.

다. 첨가시기는 3시간 이내가 좋았다. 일 예를 Fig. 2에 나타냈다.

균체(Table 1)의 건조중량을 기준으로 효모균체가 18% 함유된 효모유(이하 같다)에 plasmolyzer로 NaCl 3%를 첨가하고 pH 5.5, 50°C에서 자기소화를 시킨 경우와, NaCl 1.5%와 Sf 배양액 5%를 첨가하여 자기소화와 같은 조건에서 처리한 경우의 시간경과에 따른 추출액 중의 단백질 용출율(TN 기준 조 단백질)을 나타낸 것이다. NaCl만 3% 첨가한 자기 소화의 경우 단백질 용출율이 24시간에 57.5% 이었으며 NaCl 1.5%와 Sf 배양액 5%를 첨가한 경우는 16시간에 단백질 용출율이 68.7% 이었다.

NaCl 3%를 첨가하여 자기소화를 시킨 경우 균체중의 RNA 용출은 2시간 동안에 55.7%로 완만한 증가를 보이면서 4~6시간대에 63%에 이르렀으나 6시간대 이후부터 급격히 감소하였다. 자기소화 조건에서는 RNA가 효모균체에 있던 효소에 의해 분해되기 때문이다(9, 14, 15).

NaCl만 첨가한 경우와 NaCl과 Sf 배양액을 함께 첨가하여 자기소화를 시킨 경우 용출된 RNA가 맛성분인 I&G(5' inosinic acid & 5' guanylic acid)로의 전환율은 크게 달랐다. 이를 Fig. 3에 나타냈다. 이는 Fig. 2의 경우와 같은 조건에서 균체 중 RNA의 I&G 전환율을 시간 경과에 따라 나타낸 것이다. NaCl만 3% 첨가한 자기 소화의 경우 균체 RNA의 I&G 전환율이 7.9%인데 비해 NaCl 1.5%와 Sf 배양액 5%를 첨가한 경우는 RNA의 I&G 전환율이 46%이었다.

I&G는 용액중에서 glutamic acid와 공존할 때 맛의 상승효과(synergistic effects)를 나타낸다(27, 28). 따라서 Sf 배양액 첨가의 경우가 Yeast extracts의 감칠맛이 월등한 것으로 판단된다. Sf 배양액 첨가의 경우 효모 취가 사라지고 균체잔사의 여과성도 향상하는 것을 확인할 수 있었다. 효모균체의 자기소화물에 핵산분해효소를 작용시킬 경우 정미성이 향상되며(27-29), 효모를 자기소화시키는 경우 균주에 따라 최적 pH가 4~5 또는 8~10이며 알카리측에서는 정미성이 있는 5' nucleotide가 생성되나 산성측에서는 정미성이 없는 3' nucleotide가 생성되는(15) 것으로 미루어 볼 때 Sf 배양액(crude RNase)을 첨가함으로써 5' nucleotide로의 전환을 촉진시킨 결과로 판단 된다.

효소 분해의 경우는 효모유를 90°C로 10분간 처리하고 냉각한 후 protease Amano-P와 Papain W-40 및 Bromeline을 첨가하였다. 균체중의 건분 용출율과 단백질 용출율에서 초기에는 효소별로 차이를 보였으나 분해완료 시점에서는 큰 차이가 없었다. 그 중의 일 예를 Fig. 4에 나타냈다.

효모유(건조 중량 기준 균체 함량 18%)에 protease를 단백질 1g 당 500 pu를 첨가하여(36) 분해할 경우 시간 경과에 따른 Brix(%)의 변화를 나타낸 것이다. 균체중의 내용물이 용출됨에 따라 분해액의 밀도(density)가 높아짐으로 Brix(%)가 올라간다. Brix(%)는 yeast extracts 중의 용출물 함유율과 일치한다. 균체중의 건분 용출율과 단백질 용출율은 비례하였다. 예열 처리로 초기 용출이

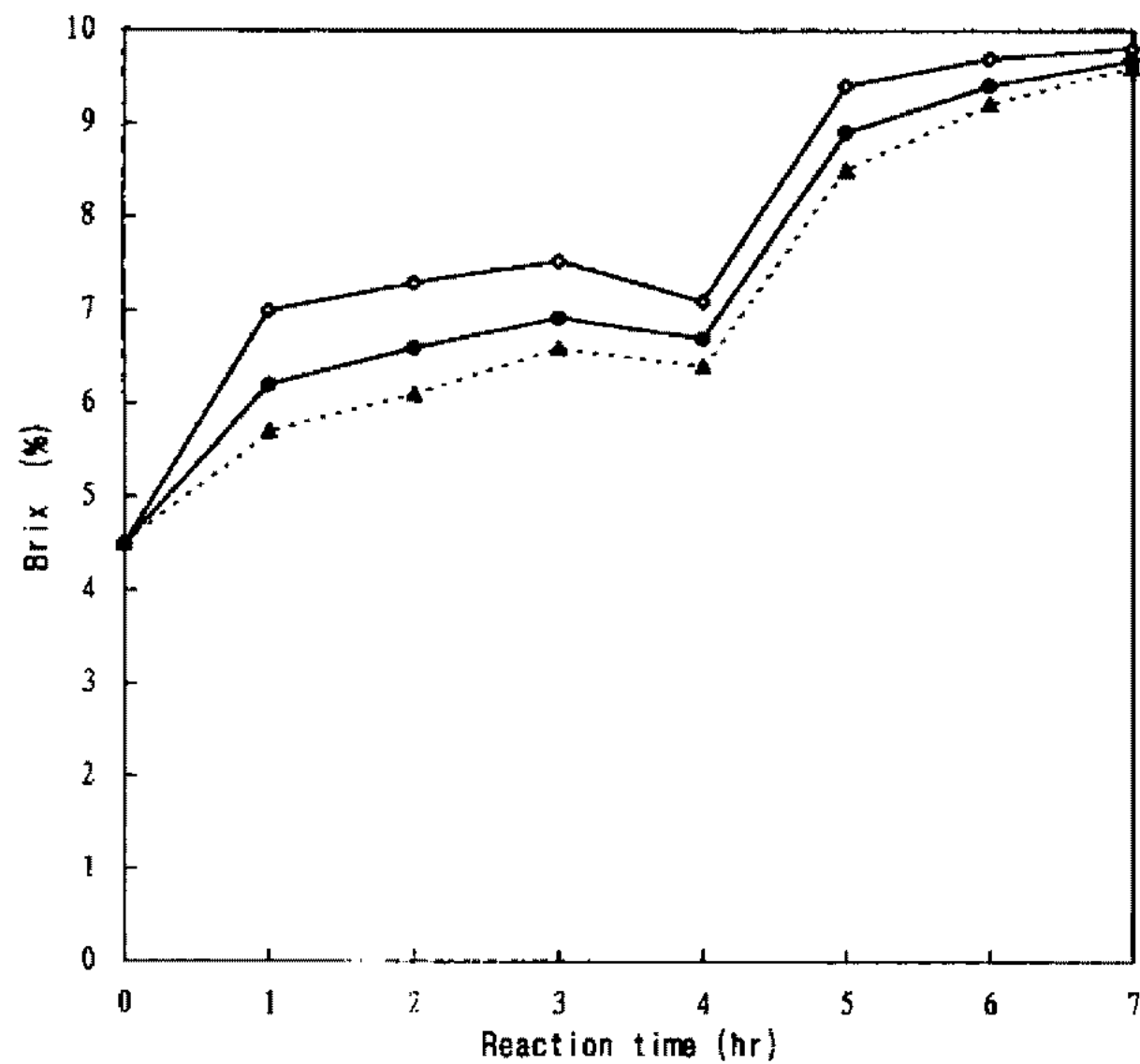


Fig. 4. Change of Brix (%) in extract during enzymolysis by adding different proteolytic enzymes.

Brix (%) show the density in extract during enzymolysis of yeast cells. After heating of yeast cream (suspended 18% cells as dry weight) at 90°C for 10 min, enzyme was added (500 pu/g protein) in yeast cream at 55°C, pH 5.5, then kept at same conditions. Protease Amano P (—◇—), Papain W-40 (—●—), Bromelain (—▲—).

있는 후로는 Brix(%) 증가가 완만하더니 4시간 대에 Brix(%)가 낮아지는 현상을 보이다가 급상승했다. 별도로 Optical density(OD380 nm)를 측정한 결과도 같은 현상을 보였다. 이는 기왕에 추출된 단백질의 분해 및 균체의 세포막 붕괴와 관련되는 현상으로 해석이 된다.

효소 분해의 경우에 Sf 배양액 첨가가 미치는 효과를 Fig. 5에 나타냈다. protease Amano P를 대조구로, Sf 배양액 3%와 Amano P를 혼용한 경우와 Sf 배양액만을 7% 첨가한 경우 시간 경과에 따른 Brix.(%)의 변화를 나타낸 것이다. 초기에는 Sf 배양액 3%와 protease를 혼용한 경우가 높고 다음이 Amano P의 경우로 Sf 배양액 7%만을 첨가한 경우가 낮게 나타났으나 4시간대 이후는 Sf 배양액 7%만을 첨가한 경우가 오히려 높게 나타났다.

효소분해의 조건하에서 균체중 RNA의 I&G 전환율은 25%로 자기소화에서 Sf 배양액을 첨가한 경우보다 낮았다. Protease 단독의 경우는 RNA의 I&G 전환은 확인할 수 없었으며 감칠맛이 적고 분해시간이 길면 쓴 맛이 났다.

효모유(건조 중량 기준 균체 함량 18%)를 pH 5.5, 93°C의 조건에서 6시간 동안 추출한 결과 단백질 추출율 37.5%로 RNA의 I&G 전환은 확인할 수 없었다. 감칠맛이 없고 효모취가 심했으며 추출완료 후 잔사의 여과성이 좋지 않았다. 조미제로 이용할 Yeast extracts로서는 적합하지 않았다. 그러나 가열 추출액에 Sf 배양액을 3~5% 첨가하여 pH 5.5, 55°C에서 6시간 처리한 결과 아미

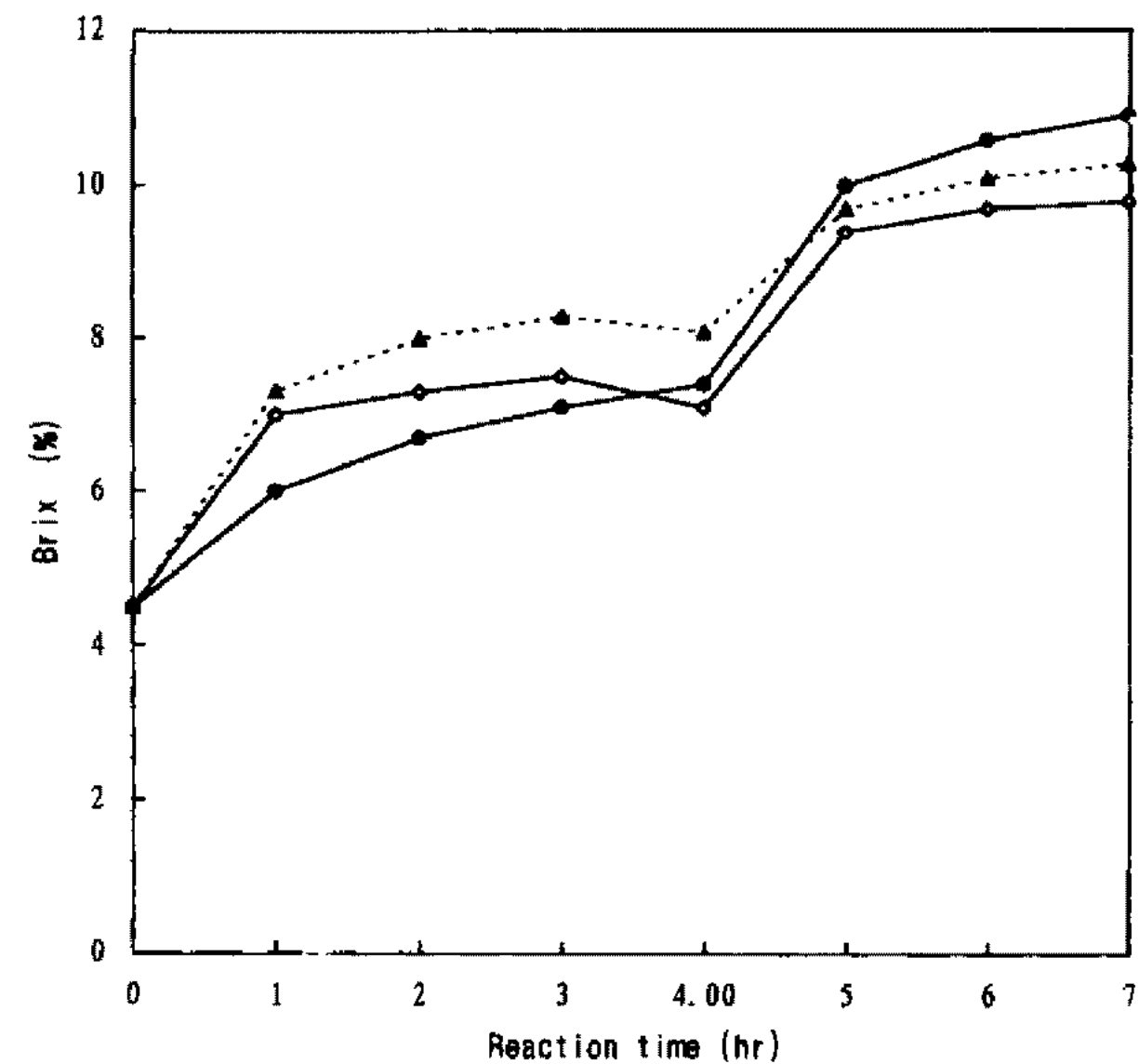


Fig. 5. Comparison of Brix (%) during extracting by adding protease Amano P and culture broth of *faecalis* MSF.

Brix (%) show the density in extract. After heating of yeast cream (suspended 18% cells as dry weight) at 90°C for 10 min, protease (500 pu/g protein) or Sf-broth was added in yeast cream at 55°C, pH 5.5, then kept at same conditions. Protease Amano P (—◇—), Amano P with 3% Sf-broth (—▲—), 7% Sf broth (—●—).

노산 함량이 높아지고 균체 중의 RNA를 기준으로 I&G 전환율은 12%이었으며 감칠맛이 나고 효모취가 없었다.

자기소화 공정과 효소분해공정 및 가열추출액에 Sf 배양액을 첨가하는 경우 초기에는 비린맛이 났으나 4시간대에 이르면서 구수한 냄새로 바뀌고 맛이 좋아졌다.

실험 결과들을 종합해 볼 때 Sf 배양액 중에는 5' nucle-ase나 5' adenylic acid deaminase 등의 RNase 뿐만 아니라 단백질이나 다당류 등을 분해하는 여러가지 효소가 혼재함으로써 나타나는 결과로 이는 Sugimoto 등(32)이 *S. satsumaensis* nov. sp. 배양액을 이용했던 경우와 유사한 결과이었다.

효모유(건조 중량 기준 균체 함량 18%)에 HCl을 첨가하여 산농도 3.6%가 되게 한 후 90°C에서 균체를 분해하였다. 시간경과에 따른 분해액의 비중과 여과성 및 분해액의 탈색성 변화를 보기 위한 실험 결과를 Fig. 6에 나타냈다. 분해시간의 경과에 따라 비중이 올라가고 여과가 잘되었다. 분해가 진행됨에 따라 Optical density가 낮아지는 것은 분해액 중 고분자성 유기물의 분해(저분자화)를 나타내는 것으로 판단 된다.

조미제로써의 yeast extracts라는 관점에서 3.6%의 HCl 농도에서는 20시간이 적당했다. 산농도가 너무 높거나 고온분해를 할 경우는 분해시간은 짧아지나 색깔이 검고 맛이나 냄새가 간장 같았다. 아미노산이 가장 높게 나타나는 경우가 산 분해이다. RNA는 파괴되고 I&G는 검출되지 않았다. 여과성이 좋지 않은 자기소화나 효소

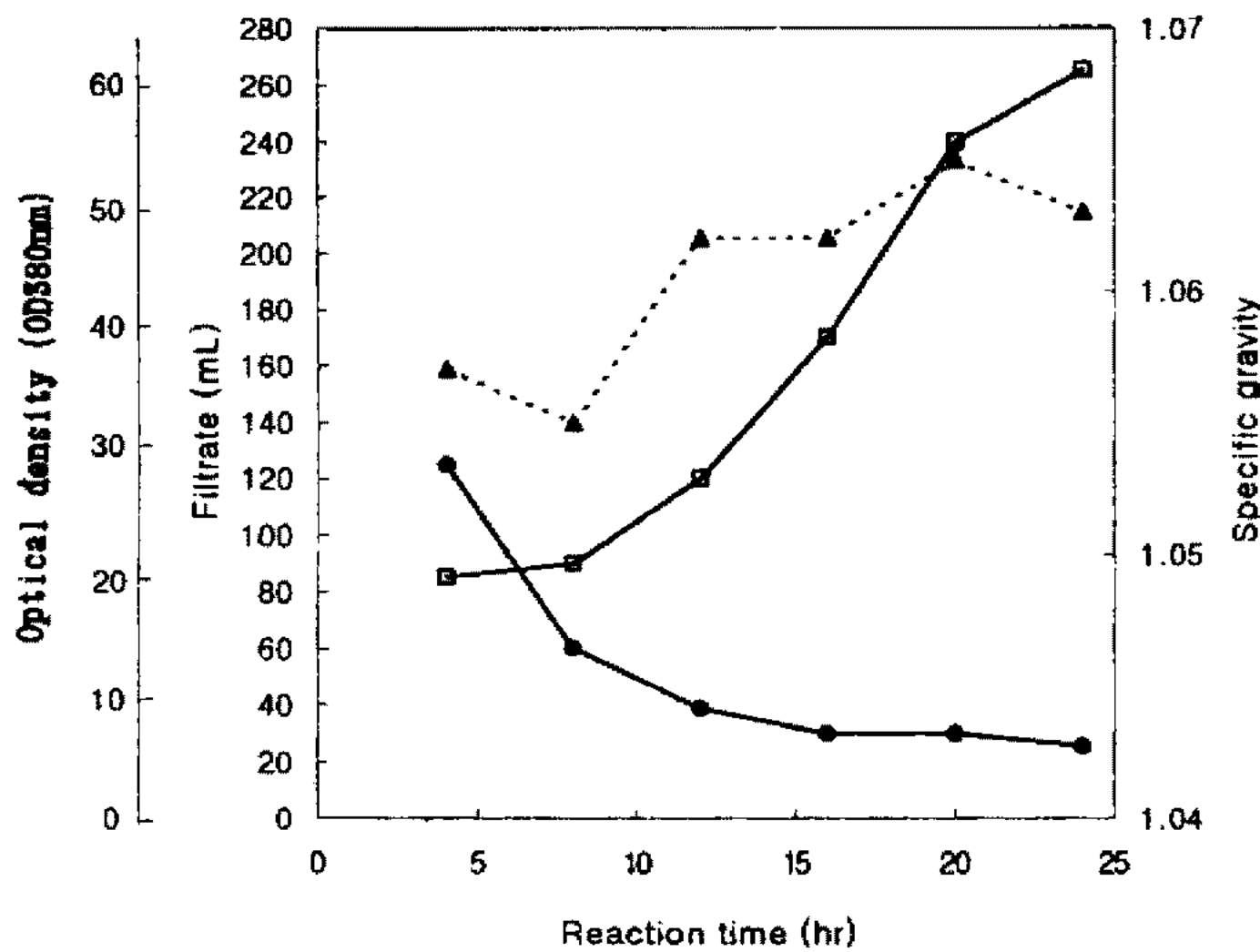


Fig. 6. Change of specific gravity, transmittance and filterability during acid hydrolysis of yeast cells.

Acid hydrolysis of yeast cells was carried out at 90°C. Yeast cells, 18% as dry weight, was suspended in 3.6% HCl sol. Specific gravity of hydrolysate (···▲···) was measured on filtrate. Optical density at 380 nm of hydrolysate (-●-) was measured after decolorizing by activated carbon. Filterability of hydrolysate (-□-) show as volume (ml) of filtrate for 30 min on #50 Toyo filter paper in Büchner type funnel (10 cm diameter).

분해 및 가열추출 후의 여과잔사 중의 유용물을 회수하는 방법으로 이용 할 수 있었다.

Table 2에 yeast extracts 실험방법별로 결과를 간추렸다. 수득율은 Sf 배양액을 첨가한 자기소화>NaCl만 첨가한 자기소화>protease 분해>산분해>가열추출 순으로 높았으며, 여과성은 산분해>Sf 배양액을 첨가한 자기

소화>protease 분해>NaCl만 첨가한 자기소화>가열 추출 순이었다. 아미노산함량은 산분해>protease 분해>Sf 배양액을 첨가한 자기소화>NaCl만 첨가한 자기소화>가열추출의 순이며, 균체중 RNA의 I&G 전환은 Sf 배양액을 첨가한 자기소화의 경우 외에는 NaCl을 첨가한 자기소화의 경우에 소량 있었다.

plasmolyzer로 NaCl을 첨가한 자기소화의 경우 아미노산 함량은 산 분해나 proteolytic enzyme에 의한 효소 분해의 경우에 미치지 못하나 효모 자체의 효소에 의해 분해된 아미노산과 peptide를 비롯한 성분들, 그리고 균체 성분들과 적은양이긴 하나 RNA 분해산물인 I&G가 복합되어 감칠맛이 있는 비교적 좋은 품질의 yeast extracts가 된다. 여기에 단백질의 용출율을 높이고 아미노산 함량을 높이면서 균체 RNA의 I&G 전환율을 높이는 방법으로 Sf 배양액 첨가가 효과적이었다. 또한 핵산(RNA) 함유율이 높은 균체를 이용하는 것은 그 효과를 더욱 높이는 결과이다. 균체의 자기소화에 Sf 배양액을 첨가하는 경우는 자기소화에도 protease 및 RNase 등의 효소를 혼합 첨가한 것 이상의 효과를 나타냈다.

요 약

균체증식력과 RNA 축적능이 강한 균주 *Torulopsis versatilis* MT-01을 고핵산효모배양용 당밀배지에서 동조배양하여 종효모 접종 후 5시간대에 집균한 결과 공급당에 대한 균체수득율 59.5%에 단백질 함유율 55.1%, RNA 함유율 13.9%의 균체를 얻었다.

Table 2. Comparison of yeast extracts produced on different method

	Method of extracting for yeast extracts				
	A (1.5% NaC)	B (3% NaCl)	C (protease)	D (acid)	E (heating)
Addition for extracting	5% Sf-broth	-	500 pu Amano P	3.6% HCl	-
Temperature for reaction (°C)	50	50	55	90	93
pH for reaction	5.5	5.5	5.5	-	5.5
Time for reaction (hr)	16	24	7	20	6
Releasing rate as dry weight (%)	45.7	39.5	34.6	37.5	27.6
Releasing rate of protein (%)	68.7	57.5	51.8	79.3	37.5
Converting rate of RNA to *I&G (%)	46	7.9	0.0	0.0	0.0
Releasing rate of glutamic acid (%)	79.2	68.9	71.7	89.5	0.7
Color of extract	yellow brown	yellow brown	brown	dark brawn	yellow -
Bitter taste of yeast extracts	-	±	+	-	E
Flavor of yeast extracts (as grade)	A (excellent)	B	C	D	E
Taste of yeast extracts (as grade)	A (excellent)	B	C	D	E
Filterability of cell debris (as grade)	B	D	C	A (speedy)	

Method (A) carried out by addition of 5% Sf-broth(culture broth of *S. faecalis* MSF as crude RNase) in autolysis with 1.5% NaCl. (B) was autolysis with 3% NaCl. (C) was enzymolysis by protease Amano P (500 pu/g protein) after heating of yeast cream at 95°C for 10 min. (D) was hydrolysis in 3.6% Hcl sol. (E) was extracted on heating of yeast cream. Yeast cells was suspended 18% as dry weight in yeast cream for all cases. *I&G:IMP & GMP.

고핵산 효모균체를 자기소화와 효소분해, 가열추출 등의 방법으로 yeast extracts를 만들 경우의 문제점을 검토하고 이를 개선하는 방법으로 Sf 배양액(*Streptomyces faecalis* MSF 배양액)을 효모유의 액량에 대하여 3~7%를 첨가함으로써 그 효과를 얻을 수 있었다.

Sf 배양액의 첨가조건은 pH 5.0~6.0, 45~60°C로 자기소화와 효소분해의 경우는 3시간 이내에, 가열 추출의 경우는 추출완료후에 첨가해야 했다. Sf 배양액 첨가로 추출액중의 RNA를 I&G(5' inosinic acid and 5' guanylic acid)로 전환시킬 수 있었으며, 자기소화의 경우는 균체에 함유한 RNA의 46%를 I&G로 전환시킬 수 있었다. Sf 배양액 첨가로 단백질 용출율과 단백질의 아미노산 전환율을 높였으며 효모취를 제거하고 균체 잔사의 여과성을 향상시켰다. Sf 배양액에는 5'-nuclease와 5'-adenylic acid deaminase 이외에 단백질과 다당류등을 분해하는 다른 효소가 공존하는 것으로 추정된다.

산분해의 경우는 Sf 배양액 첨가효과가 없었으며 자기소화와 효소분해 및 가열추출 잔사로부터 유용성분의 회수에 이용할 수 있었다.

본 실험에서 yeast extracts의 종합적인 품질 순위는 Sf 배양액을 첨가한 자기소화>NaCl만 첨가한 자기소화>효소분해>산분해>가열추출 순으로 Sf 배양액을 첨가한 경우 품질이 월등하게 좋았다.

참고문헌

- White, J. 1954. Yeast Technology, Pp 14-75. 1st ed. Chapman & Hall Ltd, London.
- 佐藤友太郎. 1966. *パン酵母*, Pp 40-42, 113-119. 珖林全書 19, 初版, 株式會社 珖林書院, 日本 東京.
- 橋谷義孝. 1967. *酵母學*, Pp 271-288. 初版, 岩波書店, 日本 東京.
- MACdonogii, J. V. and T. C. Haffenreffer. 1945. Some experiments in preparing brewers' yeast for food. *Wallerstein communications*. 39: 39-46.
- 高田亮平, 佐佐木博介, 仲 英助. 1973. 麥酒酵母の脱苦味法. *醸造學雜誌*. 17: 253-260.
- 松井敬一. 1966. 総合調味料 <미스트> - 自己消化によるビール酵母エキス *食品工業*. 9: 39-42.
- Breddam, K. and T. Beenfeld. 1991. Acceleration of yeast autolysis by chemical methods for production of intracellular enzymes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 35: 323-329.
- Ning, Z. X. 1994. Studies on autolysis dynamics of *Saccharomyces cerevisiae*. *Acta. Microbiol. SIN.* 34: 213-219.
- Fedorova, N. B. and A. D. Neklyudov. 1985. The effect of the yeast biomass concentration and of exogenous proteolytic enzymes on the intensity of the baker's yeast autolysis. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* 21: 714-718.
- Rayan, E. and O. P. Ward. 1988. The application of lytic enzymes from *Basidiomycete aphylophorales* in production of yeast extract. *Process Biochem.* 23: 12-16.
- 박장열. 1980. 빵효모로부터 효모 extracts의 생산에 관한 연구. 고려대학교 식품공학과 석사학위 논문집.
- 이철호, 박장열. 1982. 효모 엑기스의 제조방법. 특허공보, 제646호.
- Ogata, S. 1976. Autolysis, Autolysin, Autoplast. *Agr. Biochem. Japan.* 50: 57-77.
- Hough, J. S. and I. S. Maddox. 1970. Yeast autolysis. *Process Biochemistry.* May: 50-52.
- 魚住武司, 有馬啓. 1963. 微生物の自己消化について. *化學と生物*. 3: 569-574.
- クウエイ・シー・チヤオ. 1979. 酵母の自己分解およびその製造方法. 特許公報. 昭 55-54891.
- Tabata, S. and G. Terui. 1965. Digestion of yeast cells by yeast cell wall-lytic enzyme. *Ferment Tech.* 43: 766-772.
- 坂井拓夫, 大亦正次郎, 白石忠義. 1979. 酵母細胞壁溶解促進物質と酵母細胞壁 溶解酵素を用いる酵母菌體成分の抽出法. 特許公報. 昭 54-44752.
- 松平信治, 田中文夫, 鈴木太郎, 中崎正也. 1965. 酵母エキスの製造法. 特許公報. 昭 40-20668.
- 石田賢吾, 川合正允, 向井登, 山本淳. 1965. 酵母エキスの製造法. 特許公報. 昭 40-4379.
- 花岡建美, 梯登志郎, 豊曾龍太, 失田富雄. 1971. 菌體處理法. 特許公報. 昭 47-41034.
- 多田靖次. 1962. 調味料の製造方法. 特許公報. 昭 37-16662.
- 條崎龍夫, 朝廣崎紀夫, 吉川信之, 吉明地東, 藤谷文昭, 田中賢治郎. 1979. 酵母エキスの製造方法. 特許公報. 昭 54-28467.
- 桑原新. 1966. 超音波による細胞破壊方法. 特許公報. 昭 41-10181.
- 別所秀子, 太田三千男, 北村幸男. 1973. 酵母系呈味料の製造法. 特許公報. 昭 48-26237.
- 寺崎衛, 梶川昌弘, 喜多八洲男, 和田正三. 1970. 香味良好な酵母エキスの製造法. 特許公報. 昭 45-12266.
- 國中明. 1961. 5'ヌクレオチド類の呈味作用と製造方式 - 其の生化學的考察 - 蛋白質・核酸・酵素. 6: 403-410.
- 國中明. 1977. 酵母核酸の利用. *醱酵と工業*, 35: 836-844.
- 田島直. 1977. 特輯 微生物蛋白生産技術の實用化問題 (1) SCP核酸の特質. *食品工業*. 20: 30-37.
- 入江昌親. 1967. RNA分解酵素. - リボヌクレア(ゼ), ヌクレアーゼ, ホスホジエステラーゼ - 蛋白質・核酸・酵素. 25: 386-409.
- 藤田榮一朗, 大川榮之助, 緒方浩一. 1962. 調味料の製造法. 特許公報. 昭 37-13724.
- 杉本洋, 岩淺孝, 横塚保. 1972. 酵母エキスの製造方法. 特許公報. 昭 47-19744.
- 藤田榮一朗, 大川榮之助, 緒方浩一. 1964. 調味料の製造法. 特許公報. 昭 39-20198.
- 임억규. 1981. 효모 배지용 당밀의 청징법에 관하여. *한국미생물학회지*. 63: 121-127.
- 임억규, 임문영. 1981. 리리핵산 효모 배양법. 특허공보, 제630호.
- 天野製藥株式會社. 1992. 技術資料 蛋白質分解酵素, Pp 1-47. 日本 東京.

37. 유주현, 양한철, 정동효, 양 용 等. 1992. 식품공학실험서I, Pp 348-371, 382-389, 432-440, 589-607. 초판, 탐구당, 서울.
38. 社團法人. 日本生化學會編. 1975. 生化學實驗講座 2, 核酸の化學 1.—分離精製—. Pp 6~38. 初版, 株式會社日本化學同人. 日本 東京.
39. 日本生化學會編. 1966. 化學便覽 基礎編 II, Pp 473-474. 第二版, 丸善株式會社. 日本 東京.
40. 山口和夫, 山口辰良. 1965. 最新應用微生物學入門, Pp 224~230. 初版, 技報堂. 日本 東京.
41. 임억규, 정영호, 김준호. 1978. 효모의 환경내성에 대하여 제1보—균체의 성분 함량과 성장 및 감수성과의 관계—. 한국미생물학회지. **51**: 93-102.

(Received 10 June 1997)