



효모에 의한 남은 음식물의 호기성 액상발효

이기영, 유성진, 유승용

호서대학교 자연과학부 식품가공학과
(2000년 10월 27일 접수, 2000년 11월 23일 채택)

Aerobic Liquid Fermentation of Food Wastes by Using Yeast

Ki-Young Lee, Sung Jin Yu, Seung Yeung Yu

Food Technology, Natural Science, Hoseo University

ABSTRACT

For the probiotic feed production from residual food waste by using the yeast *Kluyveromyces marxianus*, aerobic liquid fermentation was attempted at 35°C. After grinding finely, optimal fermentation conditions of the substrate was investigated in shaking incubator. By controlling water content yeast growth was studied at each different solid content of 5, 10 and 15% respectively. The most active growth of the yeast was shown at 10%. For the stimulation of the cell growth, mixed culture with *Aspersillus oryzae* was conducted in a 2 litre-jar fermenter. As the results, the yeast growth rate was increased, but the maximum viable cell count amounted was slightly higher as 3.5×10^9 /ml than single culture.

Key Words : Residual Food Wastes, Aerobic Liquid Fermentation, *Kluyveromyces marxianus*

초 록

남은 음식물을 기질로 생균효모사료를 만들기 위해 *Kluyveromyces marxianus* 효모의 호기적 액상발효가 35°C에서 시도되었다. 먼저 액상으로 시료를 충분히 마쇄시킨 시료의 효모 생균수를 증가시키기 위한 적정발효조건이 진탕배양을 통해 연구되었다. 시료로 사용된 남은 음식물의 고형분 함량을 수분첨가로 5%, 10%와 15%로 다르게 조정하여 발효시킨 결과 고형분 함량 10%에서 생균수가 가장 높은 것으로 나타났다. 효모의 생균농도를 증가시키기 위하여 *Aspersillus oryzae*를 2리터용 jar fermenter를 이용하여 혼합배양한 결과 증식속도를 증가시켜 주었으나 최고 생균수는 3.5×10^9 /ml로서 단독 배양시보다 근소하게 높은 결과를 보여주었다.

핵심용어: 남은 음식물, 효모 액상 발효, *Kluyveromyces marxianus*

1. 서론

우리 나라 경제는 1997년 말부터 IMF 관리체제에 들어가면서 달러화에 대한 원화의 환율이 급등하였고, 이로 인하여 생산비의 절반이상을 사료, 특히 외국산 곡물류에 의존하고 있던 국내 축산업은 커다란 타격을 받았다¹⁾. 이를 해결하기 위한 방안의 하나로 현재 종량제 이후에도 지속적으로 증가되고 있는 남은 음식물을 이용한 사료생산이 추진되고있다²⁾. 더구나 매립장에서의 침출수로 인한 납비현상으로 음식물 쓰레기의 반입이 제한되면서 전국의 지자체들은 음식물 쓰레기를 자원으로 재활용하기 위한 퇴비화, 발효 사료화 시설들을 다투어 건립하고 있다. 그러나 퇴비화는 음식물의 염도가 높아 토양이나 작물의 생육에 문제점들을 유발시켜 그 이용이 제한되므로 남은 음식물의 사료화가 주목을 받아왔으나 병원성 미생물이나 이들이 생성하는 독소가 문제가 되어 이에 대한 해결이 시급한 형편이다.

정부에서는 음식물 쓰레기의 자원화 방향으로 사료화를 우선적으로 추진하여 재활용에 따른 부가가치를 높여 나가되 민간 주도의 사료화 시설의 설치 운영이 확대될 수 있도록 시장기능을 활성화시켜 나갈 예정이다. 이렇게 되면 2002년까지 음식물 쓰레기의 재활용율을 60%로 높일 수 있고 4,600톤/일의 사료화와 1,400톤/일을 퇴비화가 가능하다³⁾.

현재 우리 나라 뿐 아니라 이미 유럽의 많은 나라에서도 발효를 이용한 다양한 유기성폐기물들의 처리법이 개발되어 설치되는 추세에 있다. 독일의 경우 통계 자료에 의하면 혐기성 발효 시설은 93년도 말까지 처리 용량이 3만 톤에 불과하였으나 1995년도엔 19개소에 연간 처리 용량이 36만톤으로 급증하였다⁴⁾.

미생물을 이용한 발효사료화법들은 주로 장내미생물 균총의 균형을 개선시키는 생균제제인 probiotics⁵⁾로서 유용한 효모, 유산균, 고초균등의 생균 농도를 높이는 방법들이 있다. 발효를 통해 생성된 유기산이나 알콜은 보존성과 동시에 기호성 등 사료로서의 가치를 높여주며 증온 또는 고온에서의 발효가 가능하다. 미생물 균체는 단백질뿐만 아니라 비

타민, 지질등의 함량이 높고 특히 필수아미노산이 골고루 분포되어있어 영양적 가치가 크다⁶⁾. 식용이나 사료용 미생물로는 세균보다는 효모나 곰팡이가 이용되었으나 단세포 단백질 생산에는 주로 효모가 이용되어 왔다. 이것은 효모가 곰팡이에 비하여 작은 세포이므로 대사활성이 높고 성장속도가 빠르기 때문이다. 그뿐만 아니라 효모는 아주 낮은 pH나 온도 및 낮은 수분활성도에서도 잘 증식하며 매우 협기적인 조건에서도 증식을 유지하거나 발효를 일으키고, 높은 삼투압에도 잘 견디므로 염분이나 유기산 또는 당의 농도가 높거나, 유기성 고형분을 포함하는 남은 음식물의 발효에 효율적으로 이용될 수 있다.

본 연구에서는 남은 음식물을 기질로 이용한 발효사료를 생산함에 있어서 가능한 한 유용한 효모생균 농도를 높이고자 강제적 통기를 이용한 호기적 발효를 시도하였다. 종균으로는 아프리카에서 분리한 내열성 효모인 *Kluyvermyces marxianus*를 이용하였다⁷⁾. 또한 amylase를 비롯한 각종 효소를 다량 분비, 환원당이나 아미노산등의 농도를 높여줄 뿐만 아니라 probiotics로서 가축의 사료첨가제로도 이용되는 *Aspergillus oryzae*를 첨가하여 혼합발효시켜 증식을 촉진시켜주도록 증온 호기적 발효를 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 남은 음식물 시료

호서대학교 학생식당에서 배출되는 음식물 찌꺼기를 1주일 동안 매일 수거하여 혼합한 뒤 물기를 제거하였다. 물기가 제거된 시료를 분쇄기(동아산업, 오스카 DA502)로 1차 분쇄한 뒤 -70°C에서 냉동·저장하였으며 실험에 사용할 때에는 2차 분쇄하여(DIAX 900) 시료로 이용하였다.

이 시료의 조성은 (Table 1)과 같다.

2.2 미생물

우수균주 선발을 위한 발효종균으로 이용된 효모는 *Candida. rogosa*, *Candida tropicalis*, *Geotrichum candidum*, *Kluyvermyces*.

(Table 1) The chemical composition of residual food waste (dry basis)

composition content	Water content(%)	Crude protein(%)	Reducing sugar(g/l)	Crude lipid(%)	Crude fiber(%)	Carbohydrate(%)	Crude ash(%)
	86	19	7.6	8.22	11.63	41	9.03

[Table 2] Conditions for liquid fermentation of food waste

condition microorganisms	Temperature(°C)	Agitation(rpm)	Aeration rate(v.v.m)
A group (<i>Kl. marxianus</i>)	35	900	1.5
B group (<i>Kl. marxianus</i> + <i>Asp. oryzae</i>)	30	900	1.5

v.v.m: volume per volume & minutes

marxianus, *Saccharomyces cerevisiae* 와 곰팡이인 *Aspersillus oryzae* 이다. 이들 중 *Kl. marxianus*, *Candida rugosa*, *Candida tropicalis* 는 아프리카에서 분리된 내열성 효모 균주이고⁷⁾ 나머지는 한국유전자은행에서 분양 받아 사용하였다.

2.3 발효조건

균주는 2일간 전 배양하여 종균제로 사용하였고 발효는 jar fermenter(한국발효기, 2liter 용량)를 이용하여 [Table 2]와 같은 조건에서 진행하였다.

2.3.1 *Kluyvermyces marxianus*를 비롯한 효모의 전배양

액체 YM 배지에 첨가하여 35°C에서 2일간 진탕 배양시켜 남은 음식물기질의 10%(v/v)첨가하여 종균제로 사용하였다.

2.3.2 *Aspiggillus oryzae*의 전배양

한국유전자은행에서 분양 받은 *Aspergillus oryzae*를 YM액체 배지에 첨가하여 30°C에서 2일간 진탕 배양시켜 남은 음식물의 5%(v/v) 첨가하여 종균제 이용하였다.

2.4 생균수 측정

1ml의 시료를 단계별로 희석한 후, 희석액 0.1ml을 YM 배지에 도달하는 평판도말배양법을 이용하였다. 배지의 성분 및 배양온도는 [Table 3]과 같다.

3. 결과 및 고찰

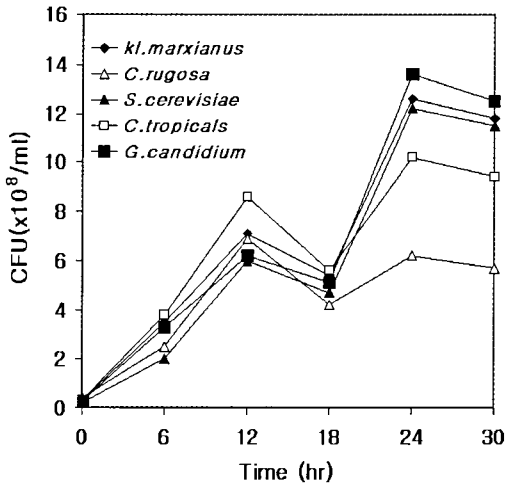
3. 1 액상 발효를 위한 균주의 선택

음식물 찌꺼기의 액상 발효를 위해 적합한 우량 효모균을 선택하기 위해 균체단백 생산용균주로 적합하다고 생각되는 *C. rogosa*, *C. tropicalis*, *Geotrichum candidum*, *Saccha. cerevisiae* 및 *Kl. marxianus*를 실험대상으로 정하였다. 고형분 함량 10%인 멸균시킨 2liter의 액상기질에 삼각플라스크에 전배양시킨 종균제 5%(v/v)를 각 각 접종시킨 뒤 35°C에서 26시간 동안 발효시켰다. 발효 초기인 12시간까지는 각 각의 효모들이 거의 비슷한 속도로 증식하였으며 그 중에서 특히 *C. tropicalis*의 증식속도가 가장 높았다(Fig. 1). 그러나 18시간 이후 대부분의 효모들의 생균수는 잠시 감소하였다가 26시간 이후 다시 증가하는 경향을 보였다. 이 현상은 복합기질내에서 포도당같이 우선 이용가능한 탄소원을 자화시킨 뒤 글리세린이나 유기산등의 2차대사물질의 이용으로 나타난 전형적인 이중증식곡선으로 생각되었다. 발효 초기에는 *Geotrichum candidum*이 가장 높은 증식율을 보여주었고 *Kl. marxianus*는 발효전기간에 걸쳐 다른 균주 들보다 비교적 생균수가 높았다.

발효가 끝난 배양액의 저장성을 평가하기 위해 실온에서 2주간 뚜껑을 연채 방치하고 냄새를 관찰한 결과 다른 4종의 발효물은 4일째부터 냄새가 나기 시작되어 2주 후에는 심한 악취를 내기 시작하였으나 *Kl. marxianus*의 발효물은 한 달이 지난 뒤에도 악취를 생성하지 않았고 따라서 부패되지 않았다. 이것은 *Kl. marxianus*에 의해 발효가 진행되면서 알콜 등의 세균에 의한 부패를 억제하는 물질이 생성되면서 이들이 보존제 역할을 하였기 때문일 것으로 추정되었다⁸⁾. 발효가 경과됨에 따른 유기산은 *Kl. marxianus*의 경우

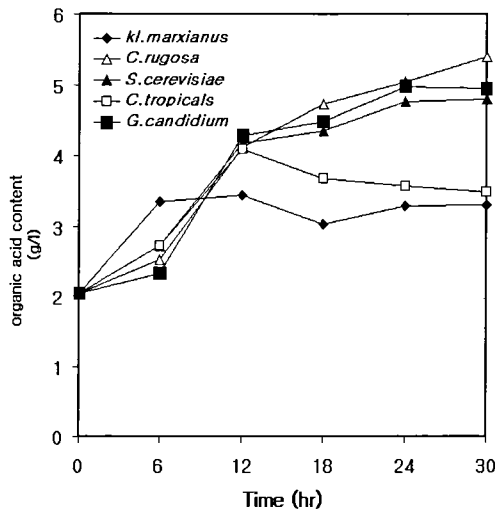
[Table 3] Comoposition of media and incubation temperature

Media	Composition	incubation temperature	
YM	3g Yeast extract, 3g Malt extract, 10g glucose, 5g Peptone, 15g Agar per liter	<i>Kl. marxianus</i>	35°C
		<i>Kl. marxianus</i> + <i>Asp. oryzae</i>	30°C



(Fig. 1) Change of viable cell count during the aerobic liquid fermentation of food waste in 10% of solid content at 35°C

알콜생성으로 인하여 비교적 적은양인 3.29g/l 가 생성되었고 다른 효모균들은 *C. tropicalis*를 제외하고는 4.7~4.9g/l 정도의 유기산 생성량을 나타내었다 (Fig. 2). 이에 따른 pH의 변화는 (Fig. 3)에서 나타난 바와 같이 시료의 pH는 초기에 4.5정도였으나 5가지 균주를 첨가하여 발효시킨 최종 발효 산물들이 pH 3.6~4.0까지 하락하였다(Fig. 3). 위와 같은 결과를 종합해 볼 때 5가지 균주 중 증식된 생균수가 비교적 높고 발효물을 상온에 장기간 방치해도 부패되지 않은 *Kl. marxianus*를 음식물 찌꺼기의 발효에 적합한



(Fig. 2) Change of organic acid content during the aerobic liquid fermentation of food waste in 10% of solid at 35°C

중균효모로 선택하였다.

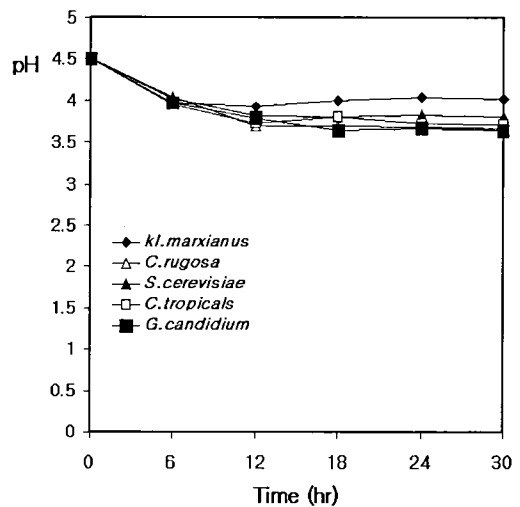
3. 2 최적 고형분 함량

발효에 알맞은 액상 기질의 고형분 함량을 결정하기 위해 중균으로 선택된 *Kl. marxianus*를 이용하여 기질의 고형분 함량을 5, 10, 15%로 변화시킨 기질을 24시간 진탕배양시켜 생균수의 변화를 관찰하였다 (Fig. 4). 효모의 생균수는 모든 실험군에서 발효초기인 16시간 이전까지는 크게 증가하지 않았고 그 이후부터 서서히 증가 하다가 24시간 이후 최대 균수를 나타내었다(Fig. 4).

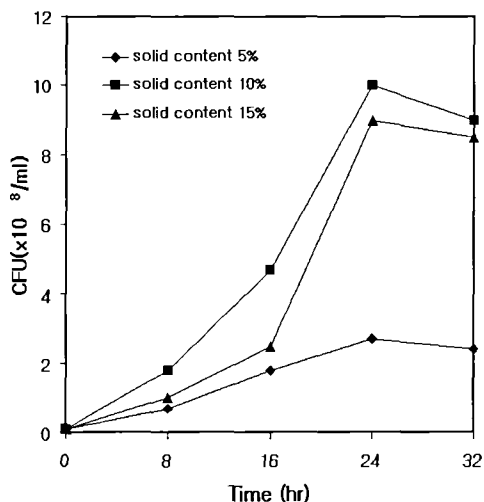
발효종료 후 측정된 생균수는 고형분 함량 5%시료에서보다는 10%에서 크게 증가하였으나 고형분 함량 15% 시료는 오히려 10%경우보다 낮게 나타났다. 5% 시료기질에서는 미생물이 이용할 수 있는 기질이 제한되어 있기 때문에 높은 균수의 증가가 나타나지 않은 것으로 보인다. 또한 고형분 함량 15%는 지나치게 높은 수용성 고형분 때문에 삼투압이 높거나 산소의 전달이 원활하게 이루어지지 않아서 고형분 함량 10%보다 낮은 균수의 증가를 나타낸 것으로 생각되었다⁸⁾.

3. 3 *Asp.gillus oryzae*의 혼합발효

발효기를 이용하여 고형분 함량 10%기질에 *Kl. marxianus*와 *Asp. oryzae*를 중균으로 혼합 발효시켜 *Kl. marxianus* 단독으로 발효시킨 경우와 생균수



(Fig. 3) Change of pH during the aerobic liquid fermentation of food waste in 10% of solid at 35°C

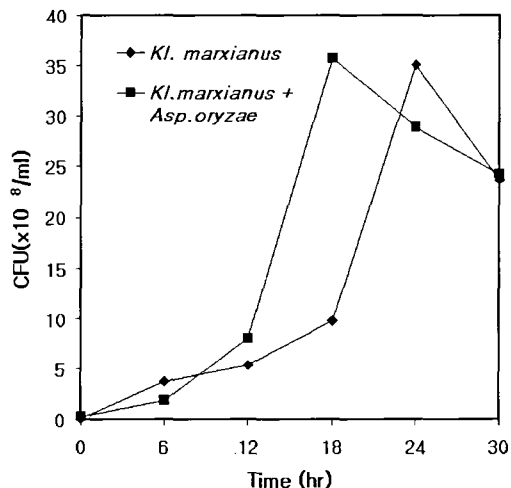


(Fig. 4) Change of viable cell count of *Kl. marxianus* during the aerobic liquid fermentation of food waste in according to solid content.

를 비교하였다. 발효를 시작하면서 두 그룹 모두 서서히 균수가 증가되기 시작하였으나 대수기가 시작되면서 혼합발효시킨 것은 발효개시 후 18시간에서 최대 생균수를 보였고 단독발효시킨 시료는 24시간이 지난 후에야 비로소 최대 생균수를 보였다(Fig. 5). 이러한 결과는 *Asp. oryzae*가 분비하는 당화효소나 단백질가수분해효소들이 발효기질 내에 함유된 각종 탄수화물이나 단백질 등의 고분자 물질들을 *Kl. marxianus*가 이용하기 쉬운 저분자 물질로 분해하여 기질의 이용율을 높였기 때문이라고 생각된다. 발효중기의 효모 생균수의 농도는 최고 3.5×10^9 에 이르러 단일 배양보다는 약간 높은 생균수를 보여주었다.

4. 결론

남은 음식물을 이용한 사료의 개발에 있어서 부패방지에 의한 보존성의 확립은 가장 필수적인 요소이다. 본 실험에서 사용된 여러 균주들 중에서 *Kl. marxianus*는 알콜 발효능이 있으므로 저장하는 동안 서서히 분해된 당이 혐기적 상태에서 알콜발효를 일으켜 알콜취가 생성되었고 이것이 다른 유해세균들의 증식을 억제하여 보존성을 연장시켜주는 역할을 한 것으로 판단되었다. 일반적으로 효모들은 고분자 물질의 분해능이 떨어지나 *Kl. marxianus*는 이눌린이나 라피노즈 등의 탄수화물 고분자나 다당류를 발



(Fig. 5) Change of viable cell count of *Kl. marxianus* during the aerobic liquid fermentation of food waste in 10% of solid content

효시키는 능력이 있음이 알려져 있다⁹⁾. 남은 음식물은 고분자 물질의 분해에 필요한 각종 가수분해효소의 활성이 떨어지는 일반적인 효모의 영양원으로서는 그리 적합하지 못한 편이다. 따라서 남은 음식물을 이용해 장내 균총을 개선해주는 효모생균이 풍부한 사료제재(probiotics)로 개발하기 위해서는 효모의 증식에 필요한 각종 증식인자가 균형을 이루도록 필요에 따라서 보충해 주거나 *Asp. oryzae*가 같은 가수분해효소들의 활성이 높은 균류와 혼합 배양을 시도해야 할 것이다.

참고문헌

1. 한성일, 남은 음식물 자원화의 경제적합리성. 남은 음식물사료화 심포지엄 proceeding 91-106. 남은 음식물 사료화 연구회, 농촌진흥청 축산기술 연구소, 1999
2. Eun-Hye Seo, Feed Production from Food Waste by using Microbial Fermentation. Hoseo-University Graduation Thesis, 1996
3. 고재영, 세천년 남은 음식물의 감량 및 재활용 정책, 남은 음식물 사료화심포지엄 proceeding 23-33, 남은 음식물 사료화 연구회, 농촌진흥청 축산기술 연구소, 2000

4. Reinhard Goeschl, Haekyung Lee. Recent Tendency to Organic Waste Treatment in Europe., 한국유기성폐자원학회추계학술대회 proceeding 4-14, 1998
5. 김명민. 가축의 유산균 Probiotics 이용 현황과 전망., 생물산업, Vol., 12 NO 2 June, 23-28, 1999.
6. 이기영, 이성택, 양익배, 양재경. 효모를 이용한 음식물 찌꺼기의 처리 및 사료자원화, 한국유기성폐자원학회 봄학술대회 proceeding 46-56, 1998
7. Ki-Young Lee and G, Baerwald, Ueber die Zusammensetzung von Ruebenmelasse-schlempe hinsichtlich ihrer Verhefung, Die Branntweinwirtschaft 14, 146-152, 1989
8. Lee, Ki-Young and Lee Sung-Ta, Yeast Biomass Production from Concentrated Sugar Cane Stillage Using a Thermotolerant *Candida rugosa*., Journal of Microbiology and Biotechnonoly Vol. 5, 114-116, 1995.
9. Kreger-van Rij, The yeasts, a taxonomic study, Elsevier, 233-236, 1987