

각종 효소를 이용한 맥주 폐효모로부터 효모추출물 제조

이옥환¹ · 이성갑¹ · 손종연¹ · 김경임 · 김현덕 · 이부용*

한국식품개발연구원, ¹국립 한경대학교 식품공학과

Preparation of Yeast Extract from Waste Brewer's Yeast using Various Enzymes

Ok-Hwan Lee, Seong-Kap Rhee¹, Jong-Youn Son¹,
Kyung-Im Kim, Hyun-Duk Kim and Boo-Yong Lee*

Korea Food Research Institute

¹Department of Food Science and Technology, National hankyong University

This study was performed to investigate the optimum process conditions for manufacturing yeast extract from waste brewer's yeast using various enzymes. Contents of IMP, GMP, free amino acids, and crude protein of yeast extracts were measured by enzymes treatment. Crude protein contents of yeast extracts subjected to cell wall digestion enzyme treatment were 21.1, 33.6, and 28.0% for the control group, glucanase (0.5%, 12 h), and tunicase (1%, 18 h), respectively. Crude protein contents of yeast extracts subjected to protease treatment were 22.0, 30.8, and 29.8% for control group, bromelin (1%, 3 h), and protamex (1%, 3 h), respectively. Crude protein content of yeast extract subjected to glucanase and protamex mixed treatment was 34.4%. The total contents of IMP and GMP of yeast extracts subjected to G+P+A (glucanase+phosphodiesterase+adenyldeaminase) and G+Pro+P+A (glucanase+protamex+phosphodiesterase+adenyldeaminase) treatments were 1,066 and 1,047 mg/100 g, respectively. The content of free amino acids of yeast extract was the highest (2,302 mg/100 g) in G+Pro+P+A treatment. Optimum concentration and process condition of enzyme treatment to obtain yeast extract with high IMP, GMP, and free amino acid content were in the order of glucanase (0.5%, 12 h), protamex (1%, 3 h), phosphodiesterase (0.1%, 3 h) and adenyldaminase (1%, 1.5 h) treatments.

Key words: brewer's yeast, enzymes, IMP, GMP, free amino acids

서 론

효모는 인류역사와 함께 지내온 미생물군의 하나로 세균에 비해 유해성이 적은 단세포단백질(single cell protein: SCP)로서 주요 단백질 급원이며 빵의 제조, 맥주, 청주 및 위스키 등의 양조에서와 같이 알콜발효에 있어서도 중요한 위치를 차지하고 있다⁽¹⁾. 효모 추출물이 천연풍미 소재로 널리 활용된 것은 같은 강도의 풍미를 내는 다른 소재들에 비해 가격이 저렴하기 때문이다. 세계적으로 연간 생산되는 효모 추출물은 약 35,000톤 정도에 이르며, 190만 달러의 시장을 가진 산업이다⁽²⁾. 천연 풍미 소재들의 식품기능성으로 중요한 것은 높은 수분 흡착력, 조직감 향상 및 맛의 증진 등을 들 수 있다⁽³⁾. 또한 효모는 배양이 용이하고 리보핵산 함량이 상

대적으로 높기 때문에 GMP(guanosine monophosphate)와 IMP(inosine monophosphate) 등 정미성 nucleotides의 제조 또는 효소를 이용한 IMP와 GMP가 풍부한 효모 추출물을 제조하는데 이용한다⁽⁴⁻⁶⁾. 효모추출물을 만드는 방법에는 자가소화에 의한 방법과 효소 처리에 의한 방법, 그밖에 산, 알칼리에 의한 방법, 기계적, 물리적 힘에 의한 방법 등이 보고되고 있다⁽⁷⁻⁹⁾. 이상의 방법들은 각각의 독립적인 방법으로 연구되어진 것도 있지만 대부분 복합적인 방법으로 실험된 것들이다. 그 예로는 자가소화 후 효소분해를 실시하거나 산, 알칼리 처리 후 효소분해나 기계적인 힘을 이용한 방법 등이 보고되어 있다⁽¹⁰⁻¹²⁾. 하지만 위의 방법들은 장시간의 추출공정으로 인한 미생물의 오염과 핵산계 정미성분(IMP, GMP)의 추출율이 낮아 고품질의 효모 추출물을 제조하는데 어려움이 많았다. 이는 효모의 세포벽이 단단하여 효모 세포내의 핵산계 정미성분을 쉽게 얻을 수 없기 때문이며 이를 분해하고 파괴함으로써 풍부한 핵산계 정미성분과 유리아미노산 등을 추출하여 맛과 영양적인 측면에서 뿐만 아니라 상품성이 높은 조미료를 얻을 수 있다⁽¹³⁾. 지금까지 발표된 연구 보고들에서 효소를 이용한 효모추출물의 제조방법은 하나의

*Corresponding author : Boo-Yong Lee, Korea Food Research Institute, San 46-1 Backhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam-si, Kyonggi-do 463-420, Korea
Tel: 82-31-780-9074
Fax: 82-31-780-9234
E-mail: lbyong@kfri.re.kr

효소나 단순히 몇 가지 효소들의 조합으로 효모추출물을 제조한 결과들을 보고한 것들이 대부분 이었다. 본시험의 의도처럼 여러 가지 효소들을 복합하여 각각의 효소처리에 의한 최적의 효소 조합 및 공정법에 대한 연구는 그리 많지 않다. 현재 각종 가공 식품의 소비증가와 함께 양질의 효모추출물의 이용이 늘어나고 있는 실정을 감안하여 볼 때, 효모추출물의 제조에 있어서 핵산계 정미성분과 유리아미노산 등을 다량 추출할 수 있는 효소처리 제조공정의 최적화가 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 맥주 생산 후 남은 맥주 폐효모박을 이용하여 정미성분(IMP, GMP, 유리아미노산)의 다량 추출 제조시 여러 가지 효소를 복합적으로 사용하여 최적의 효소 조합 및 공정법을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

재료

맥주 폐효모는 맥주 제조 후 부산물로 생산된 건조 맥주 폐효모박(C제품, J사)을 사용하였다. 세포벽 분해효소용으로는 glucanase(天野, Japan)와 tunicase(Vison biochem., Korea)를, 단백질 분해효소용으로는 pascalase, panazyme, bromelin, collupulin(Vison biochem., Korea), protamex(Novo Com., Denmark), veron P, veron L10(Röhm Com., Germany)을, 효모 균체중에 존재하는 다량의 RNA를 nucleotide로 분해하는 핵산분해효소는 phosphodiesterase(天野, Japan)를, nucleotide 중 정미성이 없는 AMP를 정미성이 강한 IMP로 전환하는 핵산전이효소는 adenyldaminase(天野, Japan)를 사용하였다.

효모 추출물의 제조

Kim 등⁽⁵⁾의 방법에 따라 10% 농도로 제조한 효모 현탁액을 100°C에서 20분간 가열 처리하여 효모 내의 잔존 효소를 실험시켰다. 자체효소의 활성이 실험된 효모를 Table 1과 같이 각각의 효소가 최적 활성을 나타내는 반응온도 및 반응 pH에서 교반(180 rpm)하면서 각각의 효소농도 및 반응시간에 따른 효모분해율을 측정하였다.

효모 분해율의 계산

효모 추출물 중의 정미성분은 주로 질소원을 가진 단백질

이기 때문에 정미성분 함량(IMP, GMP, 유리아미노산)의 지표성분으로 총 질소 함량을 측정하였다. 총질소의 함량은 semimicro-kjeldahl법⁽¹⁴⁾으로 측정한 후 질소계수 6.25를 곱하여 조단백질 함량으로 나타내었다.

유리아미노산의 분석

효모추출물 중의 유리아미노산은 Kim 등⁽¹⁵⁾의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 시료 약 0.2 g을 정확히 취하여 50 mL 앰플에 넣고 6 N HCl 15 mL를 가한 다음 N₂로 치환하여 신속하게 밀봉하였다. 이를 110°C 오븐에서 24시간 가수분해시킨 뒤 방냉하여 50 mL 정용플라스크에 옮기고 탈이온수로 정용한 후 0.2 µm membrane filter로 여과하였다. AccQ·Fluor Reagent Kit를 사용하여 AccQ·Tag 방법⁽¹⁶⁾으로 유도체화시켜 아미노산을 분석하였다. 즉, 여과된 유리 아미노산 시료 10 µL를 취하여 시험관(φ6×50 mm) 밑바닥에 조심스럽게 담고 여기에 AccQ·Fluor Reagent Kit의 1용액 70 µL를 넣어 혼합하였다. 여기에 미리 55°C에서 반응시킨 2A 용액 20 µL를 넣어 재 혼합하였고, 이를 실온에서 1분간 방치한 후 55°C에서 10분간 유도체화시킨 다음 HPLC로 유리 아미노산을 측정하였다.

분석에 사용한 아미노산 표준물질은 amino acid standard H(Pierce, USA)이고, 칼럼은 AccQ·Tag column(3.9×150 mm, Waters, USA)이었다. 1 L 정용 플라스크에 0.14 M sodium acetate trihydrate와 0.05% triethylamine이 각각 함유케 하여 HPLC용 H₂O로 정용한 후 인산을 사용하여 pH 5.0으로 조정한 이동상 A용액과 60% acetonitrile인 이동상 B용액을 gradient로 공급하면서 용출시켰다. 검출기는 fluorescence detector(Ex. 250 nm, Em. 395 nm, Jasco, Japan), 시료주입량은 5 µL, column의 분석온도는 37°C이었다.

IMP 및 GMP 함량의 분석

Lee 등⁽¹⁷⁾의 방법에 따라 효모추출물 중의 IMP 및 GMP 함량은 HPLC로 분석하였다. 칼럼은 Nova-Pak C₁₈ column(Waters, USA)이었으며 이동상은 2.45% CH₃CN/65 mM KH₂PO₄+2.5 mM PIC A reagent(pH 3.2)이었다. 검출기는 photodiode array detector(UV 254 nm), 시료주입량은 10 µL, 칼럼의 분석온도는 37°C이었다. 시료 1 g을 취하여 10% perchloric acid 25 mL로 가하여 25분간 교반한 후 4°C에서

Table 1. Reaction conditions of enzymes digestion to get yeast extract

Enzymes	Reaction temp. (°C)	Reaction time (hr)	Added concentration (%)	Reaction pH
Glucanase	50	0-24	0.1-1.0	7.0
Tunicase	50	0-24	0.1-1.0	7.5
Protamex	40	0-6	0.1-1.0	6.0
Veron P	50	0-6	0.1-1.0	5.0
Pascalase	60	0-6	0.1-1.0	10.0
Panazyme	55	0-6	0.1-1.0	6.5
Collupulin	60	0-6	0.1-1.0	6.0
Bromelin	55	0-6	0.1-1.0	5.0
Veron L10	50	0-6	0.1-1.0	5.0
Phosphdiesterase	70	0-4.5	0.1-1.0	5.0
Adenyldaminase	45	0-3	0.1-1.0	6.0

30분간 방치하였다. 방치한 시료액은 원심분리($10,000 \times g$, 10 min)한 후 $0.45 \mu m$ millipore filter로 여과하여 분석시료로 사용하였다.

결과 및 고찰

세포벽 분해효소 처리

효모의 세포벽을 분해시켜 다량의 정미성분을 추출하기 위하여 세포벽 분해효소인 glucanase 및 tunicase의 첨가농도에 따른 효모의 분해정도를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 유리 아미노산과 정미성 nucleotide의 함량을 대변하는 기준인 조단백질의 함량을 측정한 결과, 효소반응 12시간시 glucanase 0.1%, 0.2%, 0.5% 및 1.0% 첨가구의 조단백질 함량은 각각 28.1%, 30.0%, 33.6% 및 33.7%로 증가하였다. 효소반응 18시간시 tunicase 0.1%, 0.2%, 0.5% 및 1.0% 첨가구는 각각 25.7%, 26.2%, 27.4%, 및 28.0%로 증가하였다. Glucanase와 tunicase의 세포벽 분해율을 비교해 보면 0.5% glucanase가 분해시간도 짧게 걸리며 저농도에서 분해율도 높았다. 즉 glucanase 0.5% 농도와 12시간 반응이면 충분한 것으로 나타

났다. 이와같은 결과는 Kim 등⁽⁵⁾의 세포벽 분해효소의 농도 0.5~1.0%에서 12~18시간 반응시켰을 때 세포벽 분해율이 증가하였다는 결과와 Lee 등⁽⁷⁾의 보고에서 효모 현탁액 10%에 세포벽 분해효소 1%를 첨가하였을 때 24시간까지 분해율이 증가한다는 결과와도 같은 경향을 나타내었다.

단백질 분해효소 처리

효모세포벽 등에 포집되어 있는 비가용성 단백질들을 더 용출시키기 위하여 예비실험으로 단백질 분해효소 농도를 1%로 설정하여 각각의 효소처리에 대한 효모 추출물의 조단백질 함량을 측정한 결과는 pascalase처리가 28.9%, bromelin가 28.1%, collupulin이 24.7%, protamex가 24.4% 순이었다. 그러나 pascalase로 처리된 효모 추출액은 이취가 발생하는 등 부정적인 요소로 인하여 적합치 못한 효소로 판단되어 본 실험에서는 제외시켰다.

예비실험 결과로부터 효모의 분해율이 높게 나타난 3가지 단백질 분해효소(bromelin, protamex, collupulin)의 첨가농도에 따른 효모 단백질의 분해정도를 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 효소반응 3시간시 bromelin 0.1%, 0.2%, 0.5% 및

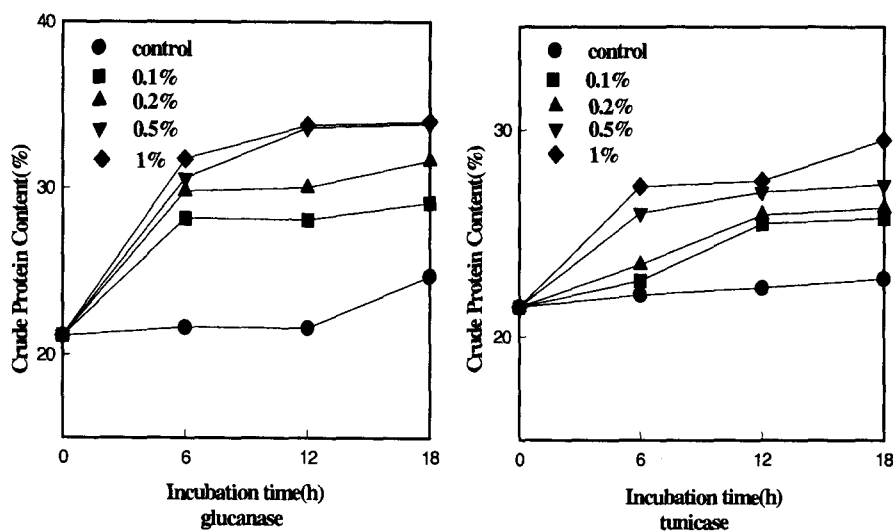


Fig. 1. Effects of glucanase and tunicase concentration on crude protein content of yeast extract.

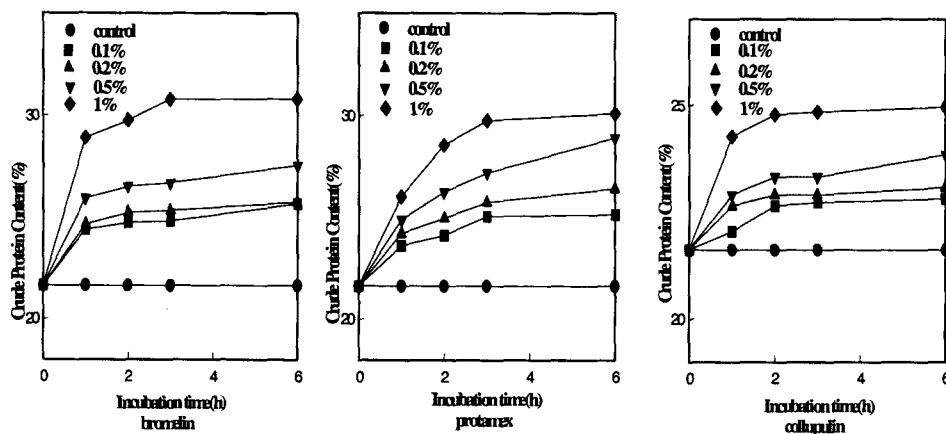


Fig. 2. Effects of bromelin, protamex and collupulin concentration on crude protein content of yeast extract.

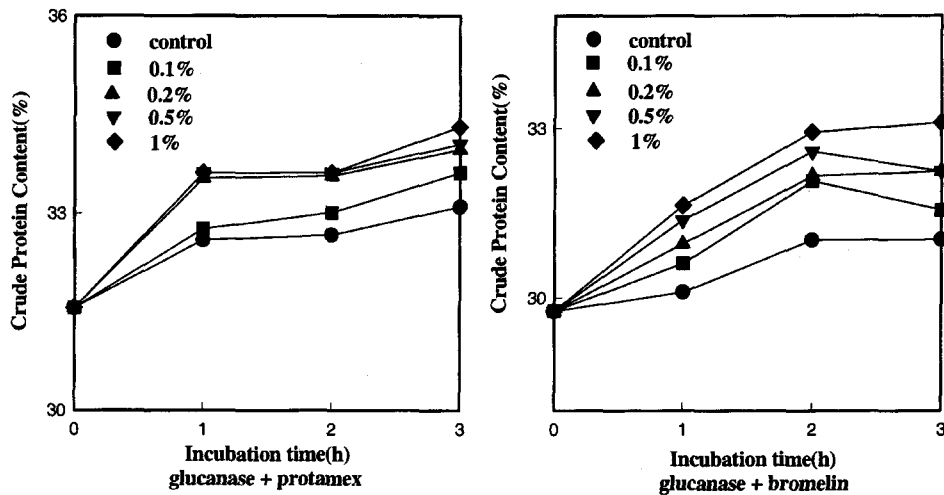


Fig. 3. Effects of glucanase and proteases concentration on crude protein content of yeast extract.

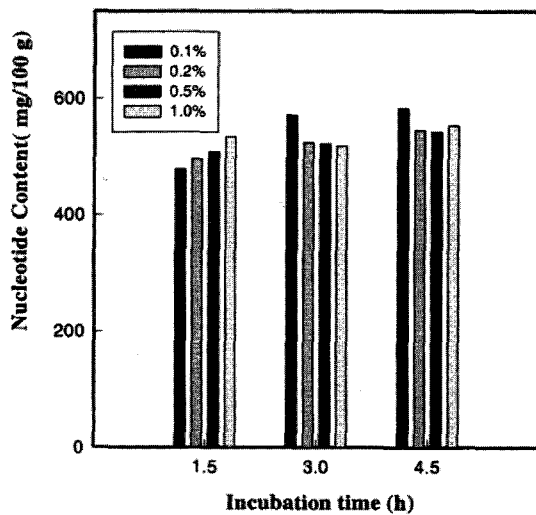


Fig. 4. Effect of phosphodiesterase concentration on nucleotides content of yeast extract.

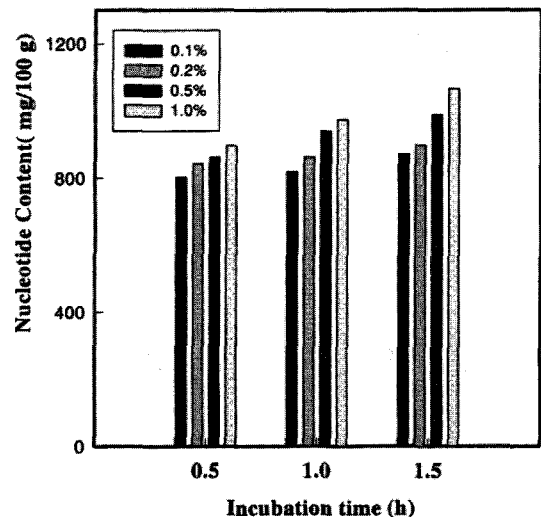


Fig. 5. Effect of adenyldaminase concentration on nucleotides content of yeast extract.

1.0% 첨가구의 단백질 함량은 각각 24.8%, 25.3%, 26.7% 및 30.8%로, protamex 0.1%, 0.2%, 0.5% 및 1.0% 첨가구는 25.0%, 25.7%, 27.2% 및 29.8%로, collupulin 0.1%, 0.2%, 0.5% 및 1.0% 첨가구는 22.7%, 22.9%, 23.3% 및 24.4%로 증가하는 경향을 보였다. 이상의 결과로 볼 때 bromelin 1%와 protamex 1% 농도와 3시간 반응으로 효모의 단백질이 효과적으로 용출되는 것으로 나타났다.

Glucanase와 protamex의 복합 처리

Glucanase(0.5%, 12시간)로 효모의 세포벽을 파괴한 후 용출된 단백질을 정미성분의 유리아미노산으로 분해하기 위해 처리한 protamex 및 bromelin의 효과를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. Glucanase(0.5%, 12시간 반응)를 처리한 후 protamex를 각각 0.1%, 0.2%, 0.5% 및 1.0% 첨가하여 3시간 효소반응시 효모 추출물의 조단백질 함량은 각각 33.6%, 34.0%, 34.0% 및 34.4%이었다. Bromelin 복합첨가구의 경우는 protamex보다 전체적으로 단백질 분해율이 조금 낮게 나타났다.

따라서 glucanase 0.5%(12시간) 및 protamex 1%(3시간)의 농도가 최적이었다.

Phosphodiesterase에 의한 핵산분해

Phosphodiesterase는 RNA를 nucleotide(GMP, AMP, CMP, UMP)로 분해하는 핵산분해 효소 중의 하나이다. 즉, glucanase로 효모의 세포벽을 파괴하여 효모 균체 중에 상당량 함유되어 있는 RNA를 용출시킨 후 phosphodiesterase를 가하여 nucleotides로 분해시켰다. Phosphodiesterase의 농도에 따른 효모에서 용출된 RNA 분해정도는 Fig. 4와 같다. 4.5시간 동안 효소반응을 시켰을 때 0.1%, 0.2%, 0.5% 및 1.0%의 농도에서 IMP+GMP의 함량은 583 mg/100 g, 545 mg/100 g, 542 mg/100 g 및 553 mg/100 g으로 나타나 효소의 농도, 반응시간이 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 따라서 효모 균체중의 RNA를 nucleotide로 분해할 때 최소량인 0.1%의 농도와 3시간 정도의 반응시간이면 충분한 것으로 판단되었다.

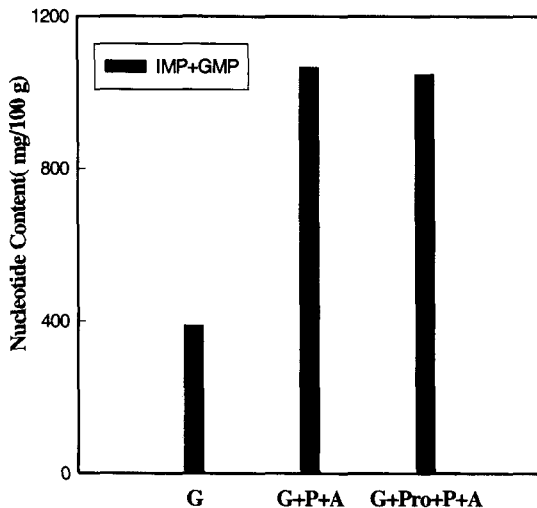


Fig. 6. Effect of enzymes treatment on the total content of IMP and GMP of yeast extract.

G, glucanase

G+P+A, glucanase+phosphodiesterase+adenyldeaminase

G+Pro+P+A, glucanase+protamex+phosphodiesterase+adenyldeaminase

Adenyldeaminase에 의한 핵산전이

Phosphodiesterase로 처리하여 RNA를 nucleotide로 분해시킨 후 이들 중 정미성이 없는 AMP를 adenyldeaminase를 이용하여 IMP로 전환시킨 결과는 Fig. 5와 같다. 1.5 시간 효소반응시 0.1%, 0.2%, 0.5% 및 1.0% 효소농도에서 정미성분(IMP + GMP)의 함량은 870 mg/100 g, 898 mg/100 g, 988 mg/100 g 및 1,066 mg/100 g으로 증가하였다. 이와같은 결과는 Kim 등⁽⁵⁾의 보고에서 처럼 adenyldeaminase의 첨가에 의해 AMP가 IMP로 전환하여 IMP + GMP의 함량이 크게 증가한 결과와 일치한다. 즉 adenyldeaminase 처리는 1.0% 농도와 1.5 시간 처리에서 IMP와 GMP의 총합량이 가장 높게 나타났다.

Glucanase, protamex, phosphodiesterase 및 adenyldeaminase의 복합처리에 의한 핵산과 유리아미노산의 함량 변화

효모의 세포벽을 분해하여 단백질 및 유리아미노산을 용출시키고 효모내의 정미성분들을 유리아미노산과 정미성 nucleotide로 분해 및 전이하여 정미성을 최대화하는 최적의 조건을 모색하고자 glucanase, protamex, phosphodiesterase 및 adenyldeaminase를 앞에서 시험된 최적농도 및 반응시간대로 순차적으로 적용시켜 정미성분(IMP + GMP, 유리아미노산)들의 함량을 비교, 분석한 결과는 Fig. 6 및 Table 2와 같다. 핵산계 정미성분(IMP + GMP)의 함량은 glucanase + phosphodiesterase + adenyldeaminase(G + P + A) 처리구에서 1,066 mg/100 g이었으며, glucanase + protamex + phosphodiesterase + adenyldeaminase(G + Pro + P + A) 처리구에서 1,047 mg/100 g으로 나타났다. Nucleotide(IMP + GMP)의 함량은 G + P + A 나 G + Pro + P + A 처리구에서 비슷하게 나타났지만, 유리아미노산 함량이 G + Pro + P + A 처리구에서 2,302 mg/100 g으로 나타나 G + P + A 처리구(2,050 mg/100 g)보다 12.4% 정도 높게 나타났다. 따라서 IMP, GMP 및 유리아미노산의 함량

Table 2. Content of free amino acids in yeast extract using glucanase, protamex, phosphodiesterase and adenyldeaminase (mg/100 g)

Free amino acid	
G ¹⁾	1165
G+Pro ²⁾	1292
G+P+A ³⁾	2050
G+Pro+P+A ⁴⁾	2302

¹⁾Glucanase.

²⁾Glucanase and protamex.

³⁾Glucanase and phosphodiesterase and adenyldeaminase.

⁴⁾Glucanase and protamex and phosphodiesterase and adenyldeaminase.

을 모두 고려해 볼 때 G + P + A 처리구 보다는 G+Pro+P+A 처리구가 더 효율적인 효소처리법으로 판단되었다. Kim 등⁽⁵⁾의 결과에서 효모의 돌연변이 균주로부터 고핵산을 함유한 효모 추출물을 제조할 때 세포벽 분해효소로 효모의 세포벽을 분해한 후 핵산분해효소 및 전이효소로 균체중의 RNA를 GMP, AMP등으로 분해·전이하였고 단백질 분해효소로 유리아미노산을 추출하여 높은 함량의 정미성분을 얻은 결과와 같은 경향을 보였으며, Lee 등⁽⁷⁾의 결과에서 맥주 효모박을 효소로 분해하여 약 1.26%의 핵산(IMP + GMP)을 얻은 결과와는 수치적으로도 비슷한 결과를 얻었다. 조미료의 정미성은 유리아미노산계와 핵산계가 적절히 혼합될 때 맛의 상승작용이 일어나 최고의 품질로 평가받고 있다. 따라서 결론적으로 세포벽 분해효소(glucanase 0.5%, 12시간 반응)로 효모세포벽을 분해시키고, 단백질 분해효소(protamex 1%, 3시간 반응)로 처리하여 효모로부터 RNA 및 단백질 등을 최대한 용출시키고, 핵산 분해효소(phosphodiesterase 0.1%, 3시간 반응) 및 핵산 전이효소(adenyldeaminase 1%, 1.5시간 반응)를 순차적으로 적용시켜 핵산을 가수분해시키고, 정미성이 높은 nucleotide로 전이시키는 것이 효모 추출물의 정미성을 높이는 최적의 효소 복합 사용공정으로 판단되었다.

요 약

정미성이 높은 효모 추출물을 얻고자 각종 효소의 사용에 대한 최적 조합 및 공정법을 알아보기 위하여 맥주 폐효모박을 각종 효소로 처리하여 효모추출물 중의 정미성분(IMP, GMP 및 유리아미노산)을 측정하여 비교, 분석하였다. Glucanase(0.5%) 처리에 의한 효모추출물중의 조단백질 함량은 33.6% 이었다. Tunicase(1%) 28.0% 와 무처리구 21.1%에 비해 최고 1.6배의 증가를 보였다. 단백질 분해효소처리에 의한 조단백질의 함량은 bromelin(1%), protamex(1%) 처리에서 각각 30.8%, 29.8%로 무처리구에 비해 최고 1.4배의 증가를 보였다. 효소 복합처리에 의한 상승효과는 glucanase(0.5%) + protamex(1%) 처리구에서 조단백질의 함량이 34.4%로 나타나 glucanase 단독처리구의 33.6%보다 높은 함량을 나타냈다. IMP + GMP 총합량은 glucanase + phosphodiesterase + adenyldeaminase(G + P + A) 혼합 처리구에서 1,066 mg/100 g, glucanase + protamex + phosphodiesterase + adenyldeaminase(G + Pro + P + A) 혼합 처리구에서는 1,047 mg/100 g으로 비

숫하였다. 유리아미노산의 함량은 protamex가 첨가된 G + Pro + P + A 혼합처리구에서 2,302 mg/100 g으로 가장 높게 나타났다. 따라서 IMP, GMP 및 유리아미노산의 함량을 모두 고려해 볼 때 세포벽 분해효소(gulcanase 0.5%, 12시간), 단백질 분해효소(protamex 1%, 3시간), 핵산 분해효소(phosphodiesterase 0.1%, 3시간) 및 핵산 전이효소(adenyldeaminase 1%, 1.5시간)를 순차적으로 적용시켜 가수분해시키는 것이 효모 추출물의 정미성을 높이는 최적의 효소 복합 사용공정으로 판단되었다.

문 헌

1. Lee, C.H. Functional properties of single-cell protein. Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng. 3: 207-212 (1980)
2. Nagodawithana, T. Yeast derived flavors and flavor enhancers and their probable mode of action. Food Technol. 11: 139-144 (1992)
3. Anheuser-Busch Inc. Whiter, milder-flavored brewers yeast, circle 893, St. Louis, Mo, USA
4. Kim, J.S., Kim, J.W., Shim, W., Min, B.C., Kim, J.W., Park, K.W. and Pek, U.H. Development of *Saccharomyces cerevisiae* strains with high RNA content. Korean J. Food Sci. Technol. 31: 465-474 (1999)
5. Kim, J.S., Kim, J.W., Shim, W., Kim, J.W., Park, K.W. and Pek, U.H. Preparation of flavor-enhancing yeast extract using a *Saccharomyces cerevisiae* strain with high RNA content. Korean J. Food Sci. Technol. 31: 475-481 (1999)
6. Lee, Y.C. and Kim, Y.S. Development of a new processing method and quality evaluation of yeast autolyzate. Korean J. Food Sci. Technol. 25: 78-82 (1993)
7. Lee, S.K., Park, K.H., Pek, U.H. and Yu, J.H. Production of brewer's yeast extract by enzymatic method. Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 21: 276-280 (1993)
8. Lee, C.H., Park, C.R. and Chung, K.S. Changes in the chemical composition and flavor of yeast extracts during the autolysis of baker's yeast. Korean J. Food Sci. Technol. 13: 181-187 (1981)
9. Kim, S.Y., Kwon, O.S., Nam, H.S. and Lee, H.J. Effect of growth rate cultivation temperature on the yeast RNA accumulation and autolysis efficiency. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 129-133 (1995)
10. Kim, S.Y., Nam, H.S. and Lee, H.J. Change of yeast growth and RNA content in fed-batch fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 122-126 (1996)
11. Cogman, G.K. and Sarant, R. New development in savoury flavor enhancement. J. Food Trade Rev. 1: 15 (1977)
12. Tsang, S.K., Lee, C.H. and Rha, C.K. Disintegration of cell wall and extraction of protein from *Candida lipolytica*. J. Food Sci. 44: 97-99 (1979)
13. Shunichi, F., Kumpei, K., Tatsuhiko, K. and Yasushi, Y. Preparation of yeast extract by cell wall lytic enzyme. J. Ferment. Technol. 52: 828-836 (1974)
14. AOAC. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1990)
15. Kim, C.H., Shin, Y.K., Back, S.C. and Kim, S.K. Changes of oligosaccharide and free amino acid in soy yogurt fermented with different mixed culture. Korean J. Food Sci. Technol. 31: 739-745 (1999)
16. Waters AccQ-Tag Amino acid Analysis System. Operator's Manual (1993).
17. Lee, S.H., Han, J.S. and Koh, J.K. Changes in cerebral energy metabolism during ischemia and reperfusion. Korean J. Biochem. 20: 125 (1988)

(2002년 9월 16일 접수; 2002년 10월 4일 채택)