

食品工業에 있어서

酵母 活用の 問題點



建國大學校 應用微生物研究所

教授 李 培 咸

1. 緒論

21세기 初에 가면 世界의 人口는 현재의 약 63億에 달하게 되며 이들의 生命을 維持하려면 蛋白質이 6,000만 ton이 必要하다는 계산이 되는데 現代 科學技術을 動員하여 動物性 및 植物性 食糧을 增産한다고 하여도 도저히 必要量의 食糧이 충족될 수 없게 된다. 여기서 微生物의 生産性을 이용하는 食糧 生産이 등장하지 않을 수 없게 된다. 第2次 世界大 戰 당시 獨逸은 酵母를 食糧生産에 이용하고자 노력 하였는데 그 후 事情이 回復되어서 이 努力은 곧 飼料 生産으로 轉向되었다.

그런데 최근 다시 食糧增産의 必要性에 直面하게 되어 酵母를 포함한 微生物에 의한 食糧生産이 다시 台頭되었다.

酵母 등 微生物들은 蛋白質 뿐만 아니라 脂肪生産, 核酸生産, 비타민生産도 가능하다는 것이 立證되었고, 또 그 原料인 其質이 당분 같은 炭水化合物 외에 石油에서 얻는 炭化水素도 利用될 수 있다는 것이 밝혀졌고 또 아주 싼값으로 生産될 수 있다는 展望이 보이게 되었다.

또 食品工業 生産에 있어서 微生物의 역할을 보면 ① 微生物 그 自體를 生産目的物로 이용하는 경우, ② 培養된 微生物의 代謝産物을 이용하는 경우와 ③ 微生物이 分泌한 酵素를 目的物로 하는 경우 등으로 구분할 수 있다. ①의 경우는 動植物을 飼育 또는 栽培하여 그 生物體의 全體 또는 어떤 部分을 食糧에 供給하는 경우와 같은 것이며 酵母를 合理的인 條件에서 培養하여 藥用·食糧·飼料 등에 供與하는 것이 그 예라고 볼 수 있다. ②의 경우는 合理的인 性質을 가진 1種 또는 2種 이상의 微生物을 어떤 基質에 培養하여 生成된 代謝産物을 이용하는 것이며 酒類 간장 같은 釀造가 그 예로 볼 수 있다. ③의 경우는 願하는 特徵의 酵素를 生産하는 특정 微生物을 가장 알맞는 條件下에서 培養하여 酵素를 分泌시켜 酵素劑를 生産하는 것이며 食品工業에 이용되는 Amylase, Protease 등 酵素劑 生産이 그 예라고 할 수 있다.

그런데 微生物을 이용하여 食品을 生産 또는 加工하여 온 歷史는 매우 오래인 것이지만 合理的인 科學技術이 開發되고 또 導入된 것은 先進國이라 할지라도 최근의 일이며 현재의 이 순간도 눈부시게 발전해 가고 있다. 이 발전해 가는 科學技術의인 面을 잘

살펴보면 첫째, 合理的인 優秀한 微生物 菌株의 開發이고, 둘째로 生産工程課程의 改善을 들 수 있다. 둘째로 生産工程課程의 改善을 들 수 있다. 여기서 필자는 酵母의 菌株 開發과 菌株의 保存을 中心으로 食糧工業에 關聯시켜 論하고자 한다.

2. 有用酵母의 開發

有用酵母의 開發은 그 目的 生産物에 따라 다르며 一般的으로 目的 生産物의 生産能이 높은 것을 分離 選拔하는 것이 첫째의 일이고, 또 生産工程課程에 適合한 素質을 가진 것, 즉 生産費를 싸게 할 수 있는 素質을 가진 것을 選拔하는 것이 둘째의 일이다. 예를 들어보면 糖類와 無機窒素를 이용하여 蛋白質을 生産하는 酵母의 開發의 경우, 가장 값싸고 손쉽게 얻을 수 있는 糖類를 炭素源으로 이용하고 窒素源도 가장 값싼 無機窒素를 이용하여 蛋白質 특히 가장 귀한 아미노酸을 包含한 蛋白質을 量的으로 收率이 높게 生産할 수 있는 性能의 酵母菌株를 選拔한다. 또 이런 高性能菌株라 할지라도 蛋白質生産過程에서 특수한 環境條件을 요구하는 것은 生産費가 높아가므로 값싸고 一般의 環境條件에서 培養이 잘 되는 그런 素質을 겸비한 것을 選拔해야 한다. 또 選拔에 있어서 考慮할 점은 培養後 蛋白質을 食糧化 또는 飼料化할 때 不利한 性質을 갖지 않도록 유의해야 한다. 가령 細胞膜이 두껍다든지 또 견고하여 食糧化工程에서 지장을 주는 일이 없도록 해야 할 것이다.

有用菌株의 分離 選拔法의 要領

어떤 目的의 酵母 菌株를 분리하는 데는 여러가지 방법이 있고 또 이 操作은 매우 주요한 것이다.

目的의 菌株를 選拔할 때 그 目的의 菌株가 특별히 特異한 性質을 요구할 때 이 性質이 保存中の 菌株中에서는 發見되지 않는 경우, 또 保存中の 菌株中에 요구되는 性質이 있다고 하더라도 그 性能이 낮을 때는 새로운 試料에서 분리하는 것이다.

물론 保存中の 菌株中에 要求性質이 있고 또 性能이 만족스러울 때는 여기서 분리하는 것이 당연하다.

새로운 試料源은 주로 關聯性을 가지고 있는 食品 및 食品의 腐敗物·飼料 그리고 土壤 등이 될 수 있다.

試料는 가급적 많을수록 우수한 菌株를 選拔할 수 있는 확률이 많을 것이다. 分離用 培地는 加급의 값이 싼 C源, N-源 기타 營養素를 添加하는 것이 普通이지만 그 目的에 따라서는 特殊成分을 添加하게 된다. 가령 石油에서 由來된 炭化水素를 C-源으로 이용하여 蛋白質을 生産하고자 하는 酵母의 分離用 培地는 그 炭化水素를 C-源으로 添加한다. 이런 경우 特殊成分을 미리 試料에 添加하여 그 特殊成分을 특별히 基質로서 잘 이용하는 微生物만을 그 増殖을 助長시켜 分離를 容易하게 하는 培養法을 集積培養法(Enrichment Culture)이라고 한다. 이 方法은 微生物의 種類에 따라 營養要求性에 差가 있는 것을 이용하여 特定生理의 性質을 가지고 있는 菌株를 選拔적으로 増殖시켜 分離를 쉽게하는 方法이다. 다음 培養條件이 問題되는데 보통, 酵母는 常溫, 常壓에서 그 醱酵가 이루어지는 것이지만 엄밀히 말하면 역시 最適溫度條件 기타 培養에 필요한 環境條件이 요구되는데 가장 값싼 條件으로 培養되고 所定의 目的物이 生産되는 것이 바람직하다. 環境條件에 특히 考慮되는 것은 培地의 PH인데, 보통 酵母는 PH 4~5에서 잘 生育한다. 또 이런 정도의 酸性培地에서는 他細菌의 生育을 억제하므로 分離에 便利하다. 그런데 培地의 PH는 接種時의 PH보다 生育始作後의 PH의 變化가 더 중요하다는 것을 잊어서는 안된다. 이런 점에 있어서 培地의 C-源, N-源 및 無機鹽의 種類와 量이 問題가 되니, 調節해야 한다. 그리고 필요에 따라서는 生育途中에 PH의 調節이 이루어질 수도 있다.

3. 菌株保存과 利用

食品工業에 活用되고 있는 酵母는 그것이 自然 試料에서 分離된 것이든 또는 人爲的인 方法으로 育成된 突然變異株든 그 菌株가 가지고 있는 여러 性質을 保存한다는 것이 生産에 있어서 매우 중요한 일이다. 酵母를 포함한 微生物은 高等生物과는 다르게 非生活의 標本은 의미가 없는 것이다. 실제 酵母가 試驗管內에서 保存되고 있는 사이에 醱酵能 같은 生理的 性質 또는 形態的 性質 등이 變異하는 것이 보통이다. 優良菌株가 變異한다고 하면, 生覺될 수 있는 것

，生産에 직접 관계되는性質이劣變해 간다는 것이다. 실제 經驗家들은退化라는 모호한現象으로認하고 있다. 따라서 微生物工業에 있어서 生産手段로 이용되고 있는 菌株은 그 生産目的物에 관계된性質의劣變 없이 保存維持해 간다는 것은 절대요한條件이 된다. 현재 各國의 發達된 微生物工業에서 菌株을 保存하고 있는 現況을 보면 다음 같條件이 留意된 方法이 慣用되고 있다. 즉 ① 保存·死滅과 變異를 막고, ② 保存期가 加급적 길것과 ③ 接種源으로 자주 이용될 수 있고, ④ 雜菌의 汚染 일어나지 않고, ⑤ 操作과 容器가 加급적 간편한 등이다. 실제 保存方法을 소개하면 다음과 같다.

A) 繼代培養保存法(Periodic transfer method)

옛부터 이용된 保存方法이고 또 현재에도 일반적으로 이용되는 方法이다. 그러나 現代의인 企業體의 驗室에서는 다음의 保存法인 파라핀注入法과 凍結乾燥法이 併用되고 있다. 이 方法은 또 품이 많이 든 短點이 있고 汚染의 機會가 많고 자주 移植해 하는 短點도 있다. 그러나 接種源으로 자주 이용수 있는 利點과 관찰이 쉽다는 利點 등이 있다. 그리고 이 方法에서 가장 주의해야 할 점은 培地條과 保存溫度인데 가장 알맞는 條件에 두어야 한다.

a) 培地: 일반적으로 다음 점들이 留意되어야 한다. (가) 動植物性 즉 天然物의 엑기스를 이용하고, (나) 炭水化合物의 成分의 濃度를 낮게 하고, (다) 繼移植의 過程에서 異種의 培地를 교대로 사용한다. 들면 營養이 풍부한 培地와 貧弱한 培地를 교대여 사용한다. 보통 酵母用으로 이용되는 培地는 말·엑스랙트·아가(Malt Extrat Agar), 감자·구루즈·아가(Potato, Glucose, Agar), SY 培地 등인데 한 경우 繼代 3~4 회에 1 회씩은 糖濃度가 낮은 培地를 이용하는 것이 좋다.

※SY 培地

Peptone	3.5g
Yeast extract	3.0g
KH ₂ PO ₄	2.0g
Mg SO ₄ · 7H ₂ O	0.1g

(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0g
Glucose	20.0g
Agar	20.0g
H ₂ O	1000.0 ml

b) 培養 保存: 調製된 斜面培地를 30℃에서 3~4 日 保存하여 殺菌이 完전한 것을 확인한 다음 母菌株에서 移植한다. 처음 25~28℃에서 培養하여 發育이 旺盛한 것을 확인하고 보존실에 옮겨 保存한다. 保存溫度는 2~10℃이고 溫度는 약 55%가 좋다. 濕度가 낮으면 寒天培地의 乾燥가 빠르며 또 반대로 높으면 綿栓을 통하여 Aspergillus屬 곰팡이 등의 침입에 의한 汚染이 쉽게 일어난다. 保存菌株은 반드시 2本式하고 하나는 다음 繼代用으로 保存하고 나머지 하나는 研究·試驗·檢定用·接種用으로 이용한다. 保存途中 定期的으로 異常이 없는가를 檢査해야 한다. 이 方法은 보통 6~8 개월이 되면 乾燥하므로 약 4~6 개월에 1 회씩 새로운 培地에 繼代한다.

B) 파라핀封入法(Paraffin sealing method)

이 方法은 細胞의 增殖이 지나치지 않게하고 새로 增殖된 細胞를 그냥 休息狀態로 옮기고 物質代謝를 억제하여 細胞의 老化를 遲延시키고 또 培地의 乾燥를 防止하므로 실제 數年間 保存할 수 있다.

a) 培地: 前記 繼代培養保存法의 培地와 같다.

b) 保存方法: 培養方法은 前記와 같고 다음 별도로 준비한 殺菌流動 파라핀을 斜面培養面에 더 필 수 있게 注入한다. 보통 1cm 두께의 파라핀層이 된다. 保存溫度는 5~10℃가 좋다.

c) 流動파라핀의 調製: 파라핀은 良質의 것을 써야 하며 綿栓을 한 후라스크에 넣고 121℃에서 120分間 蒸壓殺菌하고 다시 170℃에서 60分 乾燥한後 사용한다. 이 方法은 보통 4~6 年 保存되는데, 그러나 Schizosaccharomyces屬의 어떤 것은 2年까지 生存하지 못한 경우도 있다.

C) 凍結乾燥保存法(Lyophile preservation method)

이 方法은 不安定한 生體成分의 性質을 變化시키지 않고 長時間 保存이 가능하며 따라서 變異가 생키

지 않고 長期保存이 가능하며 보통 10年은 保存이 가능하다고 한다.

a) 方法: 試料 酵母를 寒天斜面培地에 약 4~7日 培養한다음, 다음에 記述한 分散媒에 細胞懸濁液을 만든다. 이때 均質하게, 그리고 濃하게 細胞懸濁液을 만든다. 이 液을 0.5~0.1ml씩 殺菌한 小試驗管(Ampule)에 無菌的으로 分注하고 綿栓을 한다. 이들을 眞空裝置의 多岐管에 連結하고 凍結槽에 넣고 드라이 아이스(dry ice)와 아세톤(acetone)으로 -40~-50℃에서 凍結시킨다. 다음 곧 眞空펌프로 급히 10^{-2} ~ 10^{-3} mmHg 程度의 減壓으로 乾燥시키는데 보통 30分 정도면 된다. 다음 溫度를 높여 30℃로 하고 眞空狀態에서 試驗管을 密封한다.

b) 分散媒(Suspending medium): 分散媒의 種類와 品質은 保存性에 影響을 주는 것이며 널리 사용되는 것들은 다음과 같다.

○血清

○스킨 밀크(Skin milk)

○10% 스킨 밀크粉末+1% Na-glutamate + 5% sucrose

○20% Sucrose(또는 Glucose)

○M/15 Phosphate buffer + 5% Glycerol

c) 保存: 密封한 液體들을 보통 5~7℃의 低溫狀態에서 보존한다. 이 方法에 의하면 10년간은 保存이 가능하다. 이 方法에 의한 保存試驗은 같은 液體를 여러개 마련하였다가 일정기간의 간격으로 生育試驗을 할 수 있다.

D) 凍結保存法(Deep freezing method)

이 方法은 液體室素(-180℃)로서 凍結한 채 보존하는 方法인데 처음 바이러스(Virus)에 이용되었는데 1968年 第1次 國際種菌保存會議에서 각국에서 酵母 기타 곰팡이에게도 가장 좋은 方法이라고 보고된 바

있다. 酵母를 이 方法으로 보존하려면 처음 신선한 酵母細胞를 다음 記述한 分散媒에 懸濁시킨 것을 -180℃ 液體室素內에 凍結 保存한다. 凍結方法은 처음 급속히 -180℃까지 凍結하는 方法과 처음 -20℃까지는 毎分 1℃씩 低下시켜가다가 -20℃이하에서부터는 급속히 冷却시키는 方法이 있는데 前者는 急冷法(rapid freezing method)라하고 後者는 緩冷法(slow freezing method)라 한다. 일반적으로 後者가 處理後의 生存率 등이 良好하다고 한다. 이 方法에 사용하는 液體는 耐壓그라스 튜브를 써야 하며 凍結保存後 還元(thawing)條件에 관하여는 확정된 것이 아직 없으며 보통 40~60℃의 溫湯에서 급속히 녹인다(rapid thawing). 分散媒는 다음 같은 것을 사용한다.

○10~20% glycerol

○10% dimethyl-sulfoxide

○Peptone

4. 結論

酵母를 포함한 微生物들은 食糧및 人間의 生活에 關係되는 必須品을 생산하는 데에 있어서 중요한 역할을 하기 시작하였다. 또 生産手段으로 無限에 가까운 가능성을 제시해주고 있다. 이 가능성은 微生物들이 가지고 있는 變異에서 由來된다. 이 微生物들이 가지고 있는 變異性은 生産手段으로 利用되는 高性能菌株開發의 原動力이 되는 것이다. 그러나 微生物의 變異는 우리가 원하는 방향의 반대로도 작용하는 것이 사실이고 간과되어서는 안될 것이다. 그래서 앞으로 우리의 生産手段으로 無限한 可能性을 가지고 있는 微生物들은 그 恩澤을 그들이 가지고 있는 變異의 科學的本質을 이해할 수 있고, 여기에 關係되는 技術의 수단을 습득한 사람에게만이 주어질 것이다.

국위떨친 파월용사 우리 모두 환영하자.