

# Pulp 廢水에서의 數種 酵母의 增殖 및 菌體性分

朱 東 驥

(서울大學校 自然科學大學 植物學科)

## Growth and Cell Constituents of several Yeasts on the Pulp Mill Waste Liquor.

JU, Dong Ky

(Dept. of Botany, College of Natural Sciences, Seoul National University)

### ABSTRACT

Effect of some nutrients on the growth of 3 yeast strains in the pulp mill waste liquor was determined during an attempt to lower the BOD content of the waste liquor and to produce the fodder yeast. The strains applied were *Debaryomyces castelli* Capriotti, *D. phaffii* Capriotti, and *Cryptococcus luteolus* (Saito) Skinner. The necessity of the addition of 0.2%  $(NH_4)_2SO_4$ , 0.5% yeast extract, 0.2%  $KH_2PO_4$ , and 0.1%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  for the best growth of all three strains in the waste liquor was ascertained as a result. After 3-day treatment of the yeast cells on the waste liquor, the BOD content was lowered by about 60—70%. Harvested yeast cells contained ca. 75% water with 1.5—3% lipid, 40—46% protein, 50% carbohydrate and 3—5% ash on the dry weight basis, indicating the possibility of being utilized as the fodder yeast.

### 緒 論

微生物에 依하여 汚染된 水質을 淨化시키려는 努力은 이미 오래 전부터 계속되어 오고 있어 전혀 새로운 일이 아니다. 많은 學者들이 廢水處理場에서의 有機物 分解能에 着眼하여 *Zoogloea* 等の 微生物에 對한 研究을 수행하여 오고 있으며(Butterfield, 1935, 1937; Dugan and Lundgren, 1960; Dias and Bhat, 1964), 한편으로는 廢水에 對한 微生物의 處理로서 비단 廢水를 淨化시킬 뿐 아니라 이 處理結果 얻어지는 菌體를 飼料等으로 利用하자는 試圖 또한 오래 전부터 이루어지고 있음은 周知의 事實이다 (Inskeep *et al.*, 1951; Dunn, 1958; Hong *et al.*, 1972). 우리 나라의 경우도, 近來 産

業發達에 따른 水質汚染은 이미 심각한 사회문제로 대두되고 있는 실정에 있어, 이에 대한 적극적인 對應策이 절실히 요구되는 바 있다. 그러나 國內에서는 各種 水質汚染에 對한 現況의 調査報告가 散見되어질 뿐, 이의 淨化를 爲한 積極的인 努力은 거의 이루어지지 않고 있는 實情이다. 이러한 點을 감안하여 本 研究에서는 우선 主要한 河川오염원의 하나로 간주되는 pulp공장 폐수에 生育度가 우수한 數種 酵母를 處理하고 이들의 영양 요구성을 조사하여 그 증식율을 높임으로써 pulp공장 폐수의 수질 오염의 主要因의 하나인 BOD를 낮추려 시도하였다. 한편 이러한 처리의 결과 폐수중에서 상당한 量의 酵母菌體의 증식을 인정할 수 있었으므로 이들 菌體의 成分을 분석하

여 家畜 飼料로서의 轉用 可能性을 診斷코 지 하였다. 最近 酪農業은 급격한 성장추세를 보이고 있으나 이에 따른 원할한 사료의 공급이 이루어지지 못하고 있는 點을 감안하면 이와 같은 시도는 연구의 진전 여하에 따라서는 상당한 의의를 지닐 수 있을 것이라 믿어지는 바이다.

## 材料 및 方法

### 1. 使用 菌株

Hong等(1972)은 pulp폐수의 처리를 위하여 17種의 酵母를 分離, 同定한 바 있으며, 本 實驗에서는 이들에 의하여 pulp폐수에서의 生育可能性이 提示된 *Debaryomyces castelli* Capriotti, *Debaryomyces phaffii* Capriotti 및 *Cryptococcus luteolus* (Saito) Skinner 等の 3菌株를 使用하였다.

### 2. 菌株의 培養

Seed culture 및 菌株의 保存을 위하여는 glucose nutrient broth (GNB) 培地 및 glucose nutrient agar (GNA) 培地를 使用하였다. 培養溫度는  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 였으며, 液體 培養의 경우는 全 實驗을 通하여 500ml 容量 flask에 100ml의 培養液을 사용하여 每 分當 110~130회의 速度로 왕복시켜 진탕배 양을 하였다. 菌體 接種量은  $10^6$  cells/ml이었다.

한편 使用한 培地의 調成은 다음과 같다.

GNB培地 :	glucose	20.0g
	peptone	3.5g
	yeast extract	5.0g
	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	2.0g
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.0g
	tap water	1,000ml
	pH	6.0

GNA培地 : GNB培地 + 1.5% agar

### 3. Pulp 폐액에서의 영양원 요구성

폐수에서의 最適生育을 위한 영양원 요구성을 조사하기 위하여는  $0.1 \sim 1.0\%$ 의  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  및 yeast extract를 각기 폐수에 첨가시킨 후  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 3日間 진탕배양하였다. 3日 培

養후의 菌體의 증식율은 hemacytometer를 使用한 計數로서 測定하여 그 結果를 比較하였다.

### 4. Pulp 폐수의 BOD 감소

Pulp폐수에 균체를 접종한 후 3日間 培養하여 酵母菌體를 除去한 培養液의 BOD 감소를 常法에 따라 測定하였다.

### 5. 菌體의 成分 分析

폐수에서 3일간 培養한 菌體를 遠心分離에 의하여 集菌하고 2回 水洗한 後, AOAC의 一般分析法에 依하여 水分, 脂質, 蛋白質, 灰分, 炭水化物 等の 含量을 定量하였다.

## 結果 및 考察

### 1. Pulp폐수의 性狀

本 實驗에 使用한 pulp폐수는  $0.8 \sim 1.2\%$  정도의 固型成分과  $0.3 \sim 0.5\%$ 의 糖分을 含有하고 BOD가 8,000~12,000이며 pH가  $11 \pm 0.5$  정도의 강한 알칼리성을 띠는 진한 흑갈색 폐수이다. 原料 木材로서 廢木을 使用하고 있어 木材의 종류에 따라 性狀에 變化가 많으며 따라서 試水採取時마다 BOD값도 상당한 變化를 보이고 있다. 廢液中の 固型物은 강알칼리성 조건하에서는 浮游物의 狀態로 存在하고 있었으나 산성인 조건에서는 침전을 형성하였으므로 원심분리, 혹은 濾過에 의하여 除去될 수 있었다. 이때 제거 속도는 pH를 낮출수록 빨라져 pH 4에서는 pH 5인 경우보다 거의 두배나 빨리 여과시킬 수 있었다. 폐수의 짙은 흑갈색은 phenol 化合物에 의한 것이라 推定되었으나, 活性炭 등에 吸着되지 않아 除去할 수 없었다.

### 2. Pulp폐수에서의 각 菌株의 영양원 요구성

本 實驗의 한 主要한 目的이 酵母에 의한 pulp폐수의 BOD 저하에 있었으므로 pulp 폐수에서 酵母를 배양하기 위하여 餘分의 糖類를 添加하는 문제는 전혀 고려되지 않았다. 各 菌株들은 대체로 接種後 약 3일이 경과하면 stationary phase에 돌입하는 것으로 나타났으므로 영양원 요구성의 측정을 위한 菌體의 計數는 일률적으로 接種 3일후

Table 1. Effects of some nutrients on the growth of the three yeast stains in the pulp mill waste liquor.

Nutrients added (%)	Growth ( $\times 10^6$ cells/ml)		
	<i>D. castelli</i>	<i>D. phaffii</i>	<i>C. luteolus</i>
None	10.8	8.8	11.2
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.1	17.0	11.6
	0.2	20.1	18.3
	0.3	19.8	21.4
	0.4	18.8	20.2
	0.5	16.2	17.3
Yeast extract	0.01	13.6	13.0
	0.05	17.4	16.3
	0.10	19.1	17.5
	0.50	18.6	18.0
	1.00	17.8	16.7
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0.01	14.8	11.5
	0.05	17.2	19.2
	0.10	18.4	19.0
	0.20	18.5	19.1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.01	13.0	15.0
	0.05	16.4	16.5
	0.10	17.7	15.8
	0.20	15.3	14.2

Growth was measured after 3-day incubation at 30°C.

에 행하였다. 사용한 균주들은 모두 질소원으로서  $\text{KNO}_3$ 를 資化하지 않으므로(Hong *et al.*, 1972) 질소원으로는  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5%씩 각각 첨가하였다. 이 결과는 Table 1 및 Fig. 1에 나타낸 바와 같다. 이에 의하면 各 菌株 共히  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 의 첨가에 의하여 성장량이 크게 증가하고 있음을 알 수 있으며, 그 最適濃度는 *D. castelli*와 *C. luteolus*의 경우는 0.2%, *D. phaffii*는 0.3%에 이르고 있었고, 各其 최적 농도에서 無添加區에 비해 2배쯤의 증식을 나타내고 있다. 이처럼 질소원의 첨가에 의하여 성장량이 증가하는 사실은 Hong等(1972)이 이미 이들 세 균주가 모두 C:N=2:1 정도의 높은 질소원 함유 배지에서 잘 자란다고 報告한 바와 一致하는 것이다.

한편 0.01~1.0%의 yeast extract를 첨

가하였을 경우의 성장량의 변화는 Table 1 및 Fig. 2에서 보는 바와 같다. 각 균주가 모두 0.1~0.5%의 농도에서 최적 성장을 나타내 주고 있으며 이러한 농도의 yeast extract의 첨가에 의하여 약 2배의 성장량 증가 효과를 보여주고 있다. 많은 學者들이 이미 酵母의 vitamin 要求性에 대한 多角的인 報告를 한 바 있고(Olson and Johnson, 1949; Jackson and Kilkenny, 1951; Wickerham, 1946), Hong等(1972)은 *D. castelli*와 *D. phaffii*가 vitamin-free medium에서 성장하지 않으며 *C. luteolus*의 경우는 매우 약한 성장만을 나타낸다고 報告하고 있어 이러한 사실은 이미 예측하고 있던 바와 같은 것이라 생각된다. 그러나 對照區에서도 상당한 성장을 기록하고 있었던 점에 비추어 보면 폐수중에는 이미 어느 정도의 vitamin이 存在하고 있었음을 알

수 있다.

$\text{KH}_2\text{PO}_4$ 의 최적 농도는 대체로 0.1~0.2%로 나타나(Table 1, Fig. 3) Leonian and Lilly (1942), Wickerham (1946), Wickerham and Burton (1948) 등의 연구결과와 크게 다르지 않음을 알 수 있다.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 에 의한 성장량의 증가 역시 약 2배에 달하였다.

균체의 증식에 미치는  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 의 영향은 前述한 다른 영양원만큼 크지는 않으나 역시 다소간 성장에 영향을 미치는 것으로 판명되었다(Table 1, Fig. 4). 그러나 Leonian and Lilly (1942), Wickerham (1946) 및 Wickerham and Burton (1948) 등에 의하여 제안된 농도인 0.5%에는 크게 미치지 못하여 대체로 0.05~0.1%의 농도에서 최적 성장을 보이며 그 이상의 농도에서는 오히려 성장량의 감퇴를 초래하고 있다.

### 3. 酵母에 의한 BOD의 감소와 菌體의 增殖

上記 結果에 依하여 pulp폐수에  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%, yeast extract 0.5%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.2% 및  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.1%를 각각 가한 후 균체를 접종하여 3日 배양한 후에 측정 한 폐수의 BOD감소율은 대체로 60~70%를 보여 주었다. 그러나 前述한 바와 마찬가지로 폐수의 sampling시기에 따른 性狀의 差가 심하여 이를 精確하게 data化 하기에는 더 많은 연구가 필요할 것이라 사료된다. 폐수량에 대한 균체 증식을 역시 *C. luteolus*의 경우 약 0.21%, *D. castelli* 및 *D. phaffii* 등은 약 0.18%의 증식을 보여 주었으나 현재까지의 과정에서는 폐수의 精確한 構成成分 및 有害物質 含有與否 등이 판명되지 못한 상태에 있어 이것이 가능한 最高의 生長率이라 단언하기 어려운 형편이며, 이와 같은 性狀을 완전히 把握한다면 보다 더 높은 증식율을 기대할 수 있으리라 豫測할 따름이다.

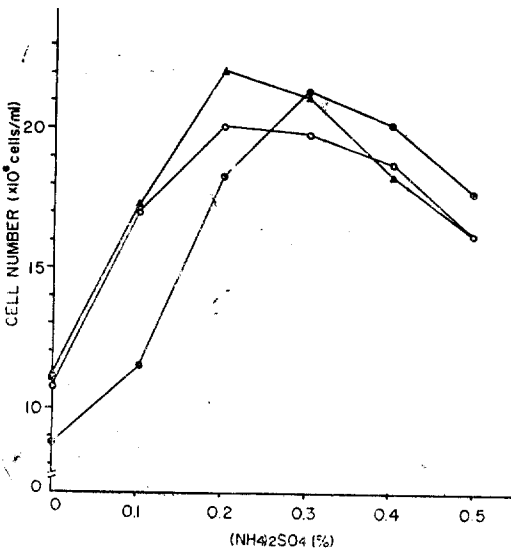


Fig. 1. Effect of  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  on the growth of yeasts.

- *D. castelli*
- *D. phaffii*
- ▲—▲ *C. luteolus*

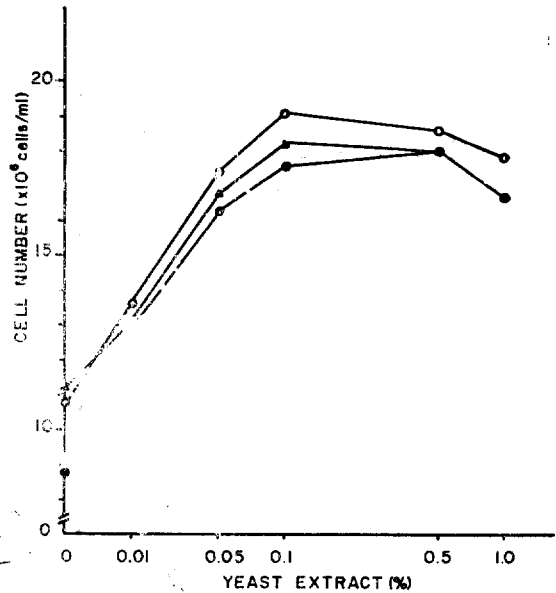


Fig. 2. Effect of yeast extract on the growth of yeasts.

- *D. castelli*
- *D. phaffii*
- ▲—▲ *C. luteolus*

4. 菌體의 成分 分析

以上 3菌株는 pulp폐수 내에서 상당한 량의 BOD감소능을 보여주고 있으며, 또한 앞으로의 培養條件 改善 如何에 따라서는 菌體의 증식율도 보다 높일 수 있을 것으로 기대하여, 이의 飼料로서의 개발 가능성에 대한 희망을 가질 수 있을 것이라 믿어졌으므로 飼料로서의 개발을 위한 첫 단계로서 菌體의 대체적인 構成成分을 조사하였다. 이 결과는 Table 2에 要約된 바와 같다.

다른 모든 化學的 性分과 마찬가지로 酵母의 水分 含量도 菌體의 종류나 배양 조건

Table 2. Cell constituents of the three yeast strains.

Item	Content (per cent/wet weight)		
	<i>D.castelli</i>	<i>D.phaffii</i>	<i>C.luteolus</i>
Water	76.47	75.65	76.53
Lipid	0.79	0.37	0.32
Protein	9.31	11.37	9.00
Ash	0.72	0.79	1.19
Carbohydrate	12.81	11.82	12.96

연령등에 따라 상당한 차이를 보이나, 一般的으로는 65~75% 정도인 것으로 알려져있고

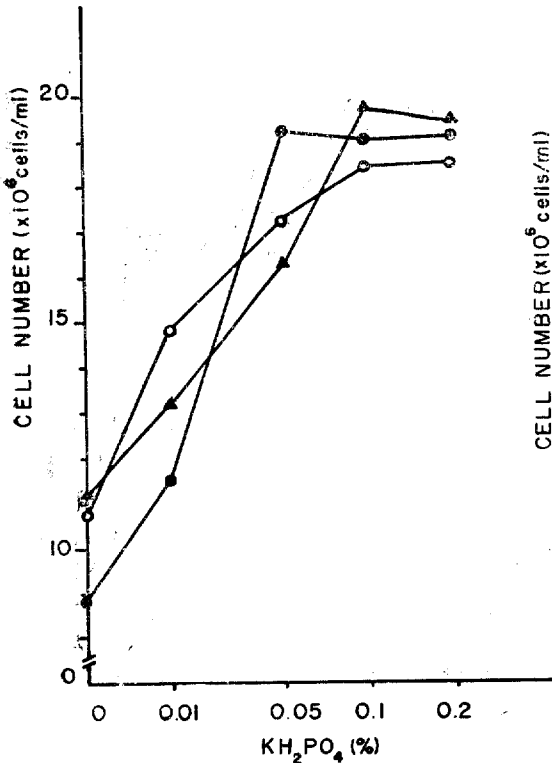


Fig. 3. Effect of  $KH_2PO_4$  on the growth of yeasts.

- *D. castelli*
- *D. phaffii*
- ▲—▲ *C. luteolus*

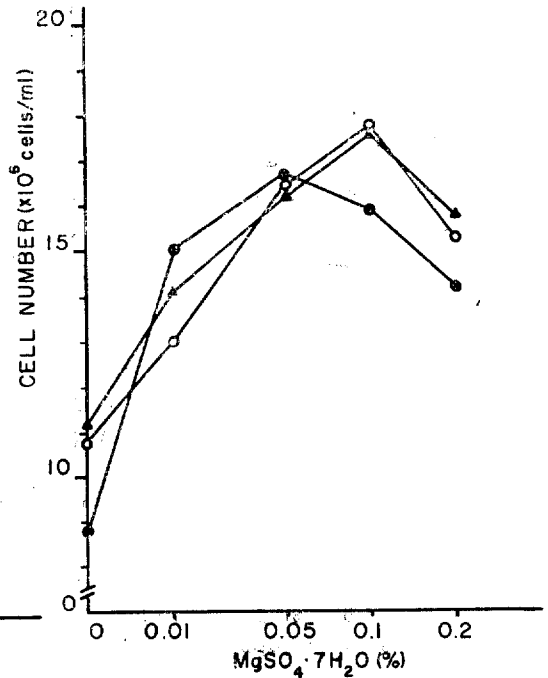


Fig. 4. Effect of  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  on the growth of yeasts.

- *D. castelli*
- *D. phaffii*
- ▲—▲ *C. luteolus*

있다(Montgomery and White, 1945). 본 실험에 사용된 균주들 역시 이 範圍를 크게 벗어나지 않아 대체로 75% 정도의 수분을 함유하고 있었다.

酵母는 보통 건조 균체의 2~3%의 脂肪質을 함유하고 있는 것으로 알려져 있어 그 함량은 비교적 낮은 편이다. 본 실험에 있어서도 지방질 함량은 1.5~3% 정도로서 별다른 특이성을 보이지 않는다.

酵母가 사료로서의 가치를 인정받는 것은 무엇보다도 주로 높은 단백질 및 vitamin 含量에 起因하는 것이므로 단백질 함량은 대단히 중요한 의의를 지닌다 할 수 있다. 본 실험에서의 균주들은 대체로 生體重量의 9~11%, 건조 균체의 40~46%에 달하는 단백질을 함유하고 있는 것으로 나타났는데 이는 일반적인 酵母菌體의 단백질 함량인 45~55%에 비교할 때 그다지 높은 값은 아니나 사료로서의 가치를 따진다면 이는 무시할 수 없는 양이라 믿어진다. 특히 벵진, 쌀겨, 밀기울 혹은 목초등에 첨가시켰을 경우에는 단백질 함량을 높이는데 상당히 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

효모는 단백질 사료임과 동시에 炭水化合物

源으로서도 사용될 수 있음은 주지의 사실인데, 본 실험에서도 3균주가 모두 건조 중량의 50%정도에 해당하는 탄수화물 함량을 보여주고 있어 건조 균체의 거의 전부가 단백질과 탄수화물로 이루어져 있음을 알 수 있다. 비록 이러한 점이 대다수 효모의 공통되는 점으로서 特記할 만 한 가치가 없는 것이라 할지라도 본 실험의 意義는 단순히 사료로서의 효모를 개발하려는 것이 아니고 pulp폐수에서 생육가능한 효모를 이용하여 폐수의 EOD를 낮춤으로써 水質汚染의 防止에 一役을 담당하고 同時に 副産物로서 얻어지는 酵母菌體를 飼料로서 이용하자는 것이므로 이러한 觀點에서 본다면 上記한 바와 같은 細胞 성분은 상당히 鼓舞的이라 여겨지는 바이다. 다만 현재까지의 結果만으로는 만족할 만한 BOD의 저하나 균체의 증식을 기하였다 하기 어려우므로, 앞으로 보다 우수한 균주의 screening 및 既存 菌株의 改良, 그리고 영양학적 측면 이외에도 가축 사료로 사용했을 때의 有害性 여부등에 관한 검토등도 계속 수행되어야 한다는 등의 問題點은 여전히 남아 있는 것이라 하겠다.

## 摘 要

Pulp工場 廢水에서의 生育이 可能な *Debaryomyces castelli* Capriotti, *D. phaffi* Capriotti 및 *Cryptococcus luteolus* (Saito) Skinner 等の 3 酵母를 利用하여 pulp폐수의 BOD를 저하시키려는 努力의 일환으로 이들 酵母의 pulp 폐수에서의 증식에 미치는 數種 영양원의 효과가 검토되었으며 同時に 증식된 균체의 飼料로서의 利用 可能性을 診斷하기 爲하여 菌體의 成分을 分析하려 試圖하였다. 이 菌株들은 모두 폐수중에서의 最適生長을 爲하여  $(NH_4)_2SO_4$  0.2%, yeast extract 0.5%,  $KH_2PO_4$  0.2% 및  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.1% 등의 첨가를 必要로 하였으며, 이러한 條件下에서 3日 培養한 結果 폐수의 BOD를 60~70% 감소시켰다. 한편 이들 균주는 대체로 세포내에 약 75%의 水分을 함유하며, 건조 중량에 대하여 脂肪 1.5~3%, 蛋白質 40~46%, 炭水化合物 約 50%, 灰分 3~5% 등을 含有하고 있어 사료로서의 사용 가능성을 示唆하여 주었다.

## 引 用 文 獻

1. Butterfield, C.T. 1935. *Public Health Reports*, 50 : 671.
2. Butterfield, C.T. 1937. *Public Health Reports*, 52 : 387.
3. Dias, F.F., and J.V. Bhat. 1964. *Appl. Microbiol.* 12 : 412.
4. Dugan, P.R., and D.G. Lundgren. 1960. *Appl. Microbiol.*, 8 : 357.
5. Dunn, C.G. 1958. *Econ. Botany*, 12(2) : 145.
6. Hong, S.W., Y.C. Hah, and Y.W. Kang.

1972. *Kor. J. Microbiol.*, 10 : 9.
7. Inskeep, G.C., A.J. Wiley, J.M. Holderby, and L.P. Hughes. 1951. *Ind. Eng. Chem.*, 43 : 1702.
8. Jackson, S., and B.C. Kilkenny. 1951. *J. Chem. Soc.*, 2 : 1561.
9. Leonian, L.H., and V.G. Lilly. 1942. *Am. J. Botany*, 29 : 459.
10. Montgomery, E.A.V., and J. White. 1945. *J. Inst. Brew.*, 51 : 279.
11. Olson, B.H., and M.J. Johnson. 1949. *J. Bacteriol.*, 57 : 235.
12. Wickerham, L.J. 1946. *J. Bacteriol.*, 52 : 293.
13. Wickerham, L.J., and K.A. Burton, 1948. *J. Bacteriol.*, 56 : 363.