

## 배추즙액을 기질로 이용한 *Candida utilis* 균체의 생산

이남석 · 경규향  
세종대학교 식품공학과

### Production of *Candida utilis* Biomass on Chinese Cabbage Juice

Nam-Seok Lee and Kyu-Hang Kyung

Department of Food Science, King Sejong University

#### Abstract

The possibility of using Chinese cabbage juice as a substrate for the production of *Candida utilis* cell mass was explored. Dry cell weight production and cell yield coefficient were 1.35-1.45 g/100 ml undiluted juice and 47-50%, respectively, when *C. utilis* was grown by shake flask culture at 30°C for 24 hr on more than three-fold diluted Chinese cabbage juice to make the final sugar content be equal to or less than 1.0%. Supplementation of glucose(2%),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (0.2%) and  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.2%) to three-fold diluted Chinese cabbage juice did not enhance the dry cell weight yield or the protein content of the yeast cell, while supplementation of yeast extract(0.2%) and peptone(0.2%) increased dry cell weight production and protein content but not as much as the amount of each nutrient added. It was found that Chinese cabbage juice was an excellent substrate for the cultivation of *C. utilis*.

Key words: Chinese cabbage juice, *Candida utilis*

## 서 론

우리나라에서는 김장용 원료로서 배추가 중요한 위치를 차지하나 흔히 과잉생산되어 폐기되는 사례까지 나타나서 농민의 경제적인 손실은 물론 국가전체적으로 볼 때 국내 농산자원이 낭비되고 있으므로 농산정책에 어려움을 겪게함은 잘 알려져 있다. 과잉생산된 해에는 과잉생산된 배추문제를 해결하기 위해 배추의 소비를 독려하고 있지만 이같은 방법은 새로운 수요를 창출하는 것이 아니고 이미 존재하는 수요를 앞당겨 채워주는 역할을 했을 뿐이기 때문에 근본적인 효과를 거둘 수 없으므로, 과잉생산된 배추를 활용할 수 있는 다른 새로운 방법을 강구하여야 한다고 본다. 배추의 과잉생산을 막기 위하여 농산정책 당국에서는 1990년의 경우 과종량을 줄이도록 농민에게 권장하였으나 농민들의 호응을 얻지 못하여 전년에 비해 47만톤이 과잉생산되었고 따라서 가격이 폭락됨에 따라 많은 배추를 폐기하기에 이르렀다.

배추는 원래 김치를 만들어 소비하는 것이 전통적인 이용방법이며 달리 이용할 수 없기 때문에 배추가 과잉생산되었을 때는 과잉생산된 만큼의 배추의 소비가 가능하지 않아서 가격폭락 등의 문제가 생기므로 배추를

김치 원료이외의 비전통적인 방법에 의한 활용방안이 필요하게 된다.

전보<sup>(1)</sup>에서는 재생가능한 자원(renewable resources)이며 국내에서 대량생산이 가능한 배추의 비전통적인 이용방안으로서 배추즙액에 효모를 배양하여 단세포단백질 생산의 기본적인 연구를 하였고, 그 결과 *Candida utilis*가 적합한 균주였으며 동결되어 김치원료로서의 가치가 상실된 배추까지도 신선한 배추와 마찬가지로 좋은 재료임이 밝혀졌다. 이에 따라 본 연구에서는 배추즙액의 전처리가 효모의 생육 및 균체단백질 함량에 미치는 영향을 연구하였다.

## 재료 및 방법

### 배추 및 배추즙액의 제조

배추는 1990년 11월부터 1991년 3월까지 서울 가락동 농수산물 시장에서 28종을 구입하여 사용하였다. 배추즙액의 제조방법은 전보<sup>(1)</sup>와 같으며 착즙수율은 80~85%였다.

### 사용균주 및 배양

사용된 효모는 *Candida utilis* ATCC 4126이었으며 YMPGA(0.3% yeast extract-0.3% malt extract-0.5% peptone-2.0% glucose-1.5% agar) 사면배지에 계대배양하였으며 3배 희석하여 살균한 배추즙액에 재접종하여 30°C에서 정처배양시킨 것을 종균으로 사용하였다.

Corresponding author: Kyu-Hang Kyung, Department of Food Science, King Sejong University, Kunja-dong, Sungdong-gu, Seoul 133-745, Korea

배추즙액 원액 또는 희석액을 500 ml 삼각플라스틱에 100 ml씩 넣어 살균하고 위의 종균 1 ml를 접종한 다음 30°C에서 200 rpm(Gyrotory Water Bath Shaker, New Brunswick Scientific Co., Edison, N.J.)으로 24~28시간 동안 진탕배양하였다.

**배추즙액의 전처리**

배추즙액(가용성 고형분 함량이 5.0°Brix이며 전당의 3.0%인 단일종의 즙액)을 증류수로 2배에서 6배까지 희석하였고 영양물질강화시에는 3배로 희석한 배추즙액에만 glucose(2.0%), (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(0.2%), peptone(0.2%) 및 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(0.2%)를 각각 첨가하였다.

**배양중 증식, 전당함량 및 pH의 측정**

배양중 효모균체 증식은 배양액을 매 4시간마다 적당량씩 취하여 필요한 경우에는 희석하여 550 nm에서 흡광도(Spectronic 20D, Milton Roy Co., Rochester, N. Y.)로 측정하였고, 배양액의 pH는 pH meter(Dong-Woo Medical Co.)로, 가용성고형물 함량은 굴절당도계(Atago Hand Refractometer, Atago Co., Japan)로 그리고 전당의 함량은 원심분리하여 균체를 제거한 배양액을 glucose를 표준물질로 하여 anthrone법<sup>(2)</sup>으로 측정하였다.

**건조균체량 및 조단백질 함량의 측정**

효모배양이 종결되었을 때 배양액 40 ml를 취해 1100 ×g(한일 원심분리기)의 속도로 원심분리하여 증류수로 1회 세척하고 재원심분리하여 미리 항량을 구해 놓은 용기에 증류수로 씻어 넣고 105°C에서 12시간 동안 건조시켜 건조중량을 구하였고, 조단백질 함량은 위의 건조균체를 microkjeldahl법<sup>(3)</sup>으로 측정한 질소함량에 계수 6.25를 곱하여 얻었다.

**결과 및 고찰**

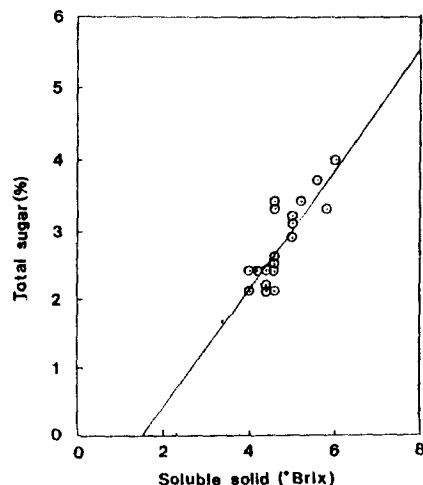
**배추의 가용성고형분 함량과 전당함량과의 관계**

본 실험에 사용한 28종의 가을배추의 가용성고형물 함량은 4.0~6.0°Brix의 범위에 있었으며 전당의 함량은 2.1~4.0%의 범위에 있었고 가용성고형물 함량과 전당

함량의 관계는 Fig. 1과 같았다. 이는 가을배추가 3.8~6.6°Brix의 함량을 갖는다는 심 등<sup>(4)</sup>의 연구와 유사하였으며 가용성고형물 함량과 전당함량의 관계를 회귀직선식으로 나타낸 결과  $Y=0.835X-1.143$ (Y=전당, X=가용성고형물 함량)로서 아주 밀접한 상관관계( $r=0.945$ )가 있음을 알 수 있었다. 가용성고형물 함량과 전당의 함량이 높은 상관관계가 있으므로 발효원료로 이용하고자 하는 배추즙액의 전당함량을 일일이 분석하지 않고도 가용성고형물 함량만 측정하므로써 간단히 희석해야 할 배수를 알 수 있다.

**배추즙액의 희석이 C. utilis의 증식에 미치는 영향**

C. utilis를 배추원액에 배양하였을 때 효모증식이 완전히 끝나고도 잔당이 0.14% 남아있고 소비당에 대한 효모균체생산수율(Yx/s)도 17%로서 C. utilis를 선인장(prickly pear) 즙액에 배양했을 때의 49%<sup>(5)</sup>와 포도당 이용시의 51%<sup>(6)</sup>에 비해 대단히 낮은 편이었으므로 배추즙액을 단계적으로 희석하여 이 희석액에 C. utilis를 배양하여 Yx/s 변화를 관찰하였다(Table 1). 배추원액



**Fig. 1. Relationship between soluble solid content and total sugar content of different kinds of Chinese cabbages**

**Table 1. Dilution effect of Chinese cabbage juice (CCJ) on sugar utilization, dry cell weight production and cell yield coefficient**

	Total sugar (%)		Dry cell weight (g/100 ml)	Cell yield coefficient (%)
	Before yeast growth	After 24 hr of yeast growth		
Undiluted CCJ	3.0	0.14	0.50	17
2×diluted CCJ	1.5	0.08	0.48	34
3×diluted CCJ	1.0	0.04	0.45	47
4×diluted CCJ	0.75	0.02	0.36	49
5×diluted CCJ	0.60	0.02	0.29	50
6×diluted CCJ	0.50	0.02	0.24	50

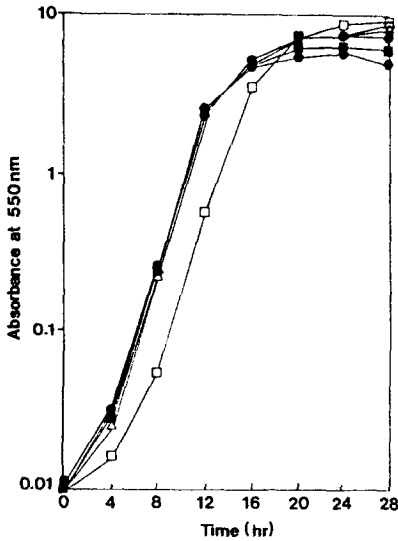


Fig. 2. Growth of *Candida utilis* on Chinese cabbage juice (CCJ) of different strength

□—□; undiluted CCJ, ○—○; 2×diluted CCJ, △—△; 3×diluted CCJ, ●—●; 4×diluted CCJ, ■—■; 5×diluted CCJ, ▲—▲; 6×diluted CCJ

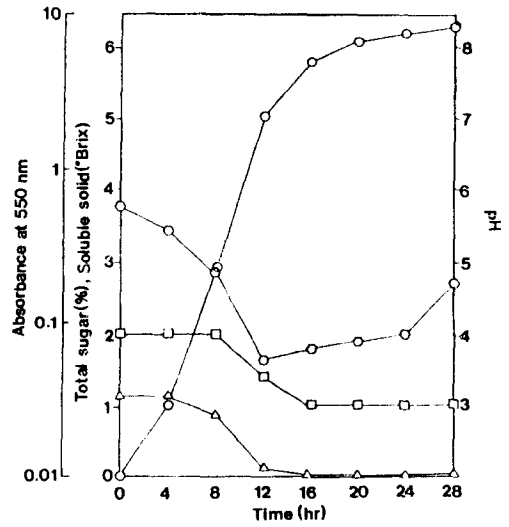


Fig. 4. Time course of changes in pH, absorbance, total sugar, soluble solid during the cultivation of *Candida utilis* on three-fold diluted Chinese cabbage juice

□—□; soluble solid, ○—○; absorbance, △—△; pH, ●—●; total sugar

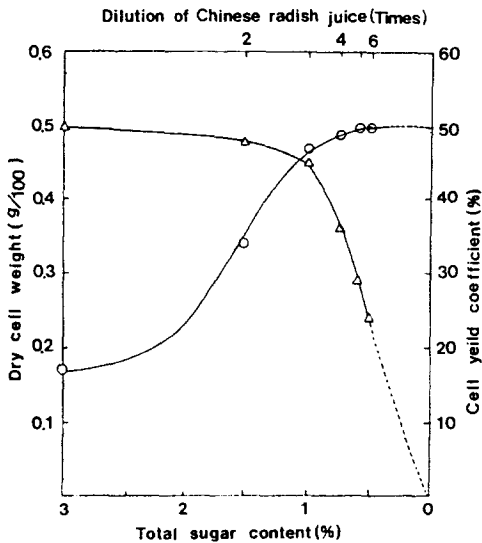


Fig. 3. Biomass yield and cell yield coefficient when *Candida utilis* was grown on Chinese cabbage juice of different strength

○—○; biomass yield, △—△; cell yield coefficient. Arrow indicates the optimum total sugar content of diluted cabbage juice and optimum dilution ratio of cabbage juice for the most efficient production of *Candida utilis* biomass

배지와 원액을 2배에서 6배까지 희석하여 *C. utilis*를 배양하였을 때의 효모증식곡선은 Fig. 2와 같아 배추원액배지에서는 *C. utilis*는 유도기가 희석액에서보다 길

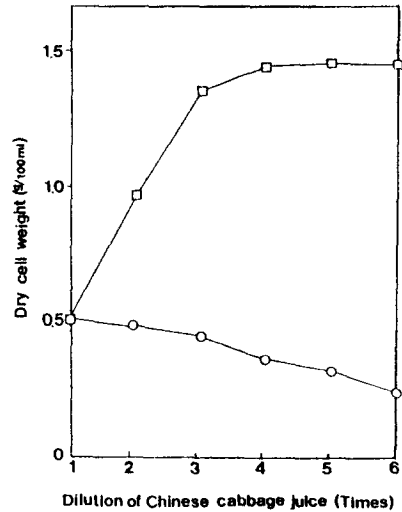


Fig. 5. Production of yeast biomass depending on the strength of Chinese cabbage juice (CCJ)

□—□; yeast dry cell weight/100 ml diluted CCJ, ○—○; yeast dry cell weight/100 ml undiluted CCJ

었으나 대수증식기에서의 증식속도에는 차이가 없는 것으로 나타났다.

$Y_x/s$ 의 변화를 배추즙액의 희석정도에 따라 비교했을 때, 원액(전당; 3.0%)을 2배 희석(전당; 1.5%)하여 *C. utilis*를 배양하였을 때는  $Y_x/s$ 가 2배로 증가하였으나 3배(전당; 1.0%) 또는 그 이상으로 희석했을 때는  $Y_x/s$ 가 47~50%로 일정하게 나타났으며, 다른 연구결과와 당의

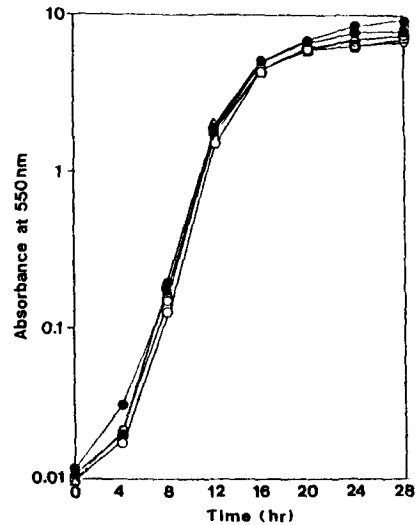
이용효율이 같았다<sup>(5,6)</sup>. 이러한 결과로부터 배추즙액을 기질로 하여 단세포단백을 생산하고자 할 때 배추에 함유된 에너지원의 이용을 극대화시킬 수 있는 조건은 희석된 배추즙액의 전당 함량이 약 1.0%가 되도록 희석하여야 함을 알았다(Fig. 3). 배추즙액을 3배 희석하여 *C. utilis*를 배양할 때의 흡광도, pH, 전당 및 Brix의 변화는 Fig. 4와 같으며 발효시작 후 24시간이 되었을 때는 효모의 증식이 완결되었고 전당의 함량은 거의 없었으나 가용성고형물은 약 1% 정도 이용되지 않고 남아 있었는데 이는 *C. utilis*가 이용할 수 없는 물질이거나 당질 이외의 물질로서 이용하고 남은 것일 수 있다. 한편 pH는 12시간까지는 4.0 이하로 내려가다가 다시 상승하기 시작하는데 희석배수가 높으면 상승이 빠르고 희석배수가 낮아서 당함량이 높으면 완만하였는데(Fig. 4 에는 일부 data만 있음) 이는 12시간 이후 당이 대부분 소비된 후 당이 충분할 때 대사의 결과로 생성된 산성 물질(예를 들면 유기산류)을 재소비하기 때문인 것으로 사료된다.

이와 같이 배추즙액을 희석하여 효모를 배양하고 희석액에서 생산된 건조균체량에 희석배수만큼을 곱하여 배추원액 100 ml당 생산될 수 있는 효모의 건조균체량을 Fig. 5에 표시하였다. 그림에서와 같이 배추원액을 이용하였을 때는 0.5 g/100 ml의 건조균체만 생산되었으나 3 배 희석액까지는 희석할수록 균체생산량이 증가하여 배추원액 100 ml당 1.35g의 건조균체가 생산되었고 그 이상 희석하였을 때는 변화없이 거의 일정하였다.

**영양원의 첨가가 효모의 증식, 균체생산 및 조단백질의 함량에 미치는 영향**

배추즙액을 이용하여 *C. utilis* 균체를 생산하고자 할 때는 전당함량이 1.0% 정도가 되도록 희석하였을 때가 가장 적합하였기 때문에, 이 최적 희석즙액에 영양원으로서 glucose를 2% 그리고 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, yeast extract, peptone 및 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>를 각각 따로 0.2%씩 첨가하여 증식속도, 건조균체량과 단백질 함량에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 6 및 Table 2와 같다. *C. utilis*의 증식은 yeast extract와 peptone을 첨가하였을 때는 초기증식속도만 다른 첨가물에 비해 약간 빨랐으나 대수기 이후의 증식과정에서는 무첨가군과 차이가 없었고 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, glucose 및 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 첨가하였을 때는 유의할 만한 차이가 없었다. Glucose(2%)를 첨가하였을 때는 희석하지 않은 배추의 원액의 전당함량과 같아졌으나 건조균체량 생산이 배추원액배지에 배양하였을 때에 비해 낮았던 것은(Table 1) 배추즙액을 희석하므로서 다른 영양소의 함량이 1/3로 감소된 상태에서 다른 영양소의 보강없이 glucose만 첨가하였기 때문에 효모균체의 생산이 원액 배지에 배양하였을 때에 비해 낮았던 것으로 판단된다.

균체생산면에 있어서 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>와 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 첨가군은 무첨가군보다 낮았고 glucose 첨가군은 무첨가군과 차



**Fig. 6. Effects of nutrient addition on the growth of *Candida utilis* on three-fold diluted Chinese cabbage juice**

○—○; control (three-fold diluted Chinese cabbage juice), ●—●; peptone (0.2%), □—□; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, □—□; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, △—△; yeast extract (0.2%), ■—■; glucose (2%)

**Table 2. Effect of nutrient supplementation to three-fold diluted Chinese cabbage juice (CCJ) on the production of cell mass and protein**

Nutrient supplemented	Dry cell weight (g/100 ml)	Dry cell weight produced from undiluted CCJ (g/ml)	Crude protein content (%)
3×diluted CCJ (control)	0.45	1.35	45
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.2%)	0.40	1.20	35
(KH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.2%)	0.43	1.29	53
Yeast extract (0.2%)	0.54	1.62	50
Peptone (0.2%)	0.50	1.50	52
Glucose (2.0%)	0.45	1.35	46

이가 없어서 3배 희석을 하더라도 배추즙액은 당이나 K, P, N 등이 결핍되지 않는 것으로 나타났고 yeast extract나 peptone을 첨가하였을 때는 건조균체량이 10~20% 정도 증가하여 위에서 언급한 물질 이외의 영양소가 보강되는 것으로 사료된다. 한편 알팔파로부터 녹엽단백질(leaf protein concentrate)을 생산하고 남은 즙액(alfalfa residual juice)에 *Phaffia rhodozyma*<sup>(7)</sup>와 *C. utilis*<sup>(8)</sup>를 배양하였을 때 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>를 첨가하면 균체생산량이

높아졌다는 보고와는 상치되는 결과이나 이는 사용한 원료의 성분차이 때문인 것으로 생각된다. 3배 희석하여 당함량을 1.0%로 조정된 배추즙액 희석액 및 여기에 여러가지 영양원을 첨가하여 배양하였을 때의 건조균체량을 배추원액 100 ml당 생산량으로 환산하면 yeast extract와 peptone을 첨가하였을 때에 각각 1.62 및 1.50g으로서 무첨가구의 1.35g에 비해 약간 높은 편이어서 균체생산량은 높여주기는 하였으나 이미 첨가한 yeast extract나 peptone의 양이 0.6 g/100 ml씩이기 때문에 영양원 첨가없이 배추즙액 자체만으로 효모배양을 하는 편이 훨씬 유리하였다.

건조균체의 조단백질 함량에 있어서  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  첨가군은 무첨가군의 조단백질함량(45%)에 비해 낮았으며(35%), glucose 첨가군은 변화가 없었고(46%),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , yeast extract 및 peptone을 첨가하였을 때는 10~20%씩의 증가효과가 있었다.

## 요 약

국내에서 대량생산될 수 있는 자생가능한 자원인 배추의 비전통적 이용을 위해 배추즙액에 효모 *Candida utilis*를 배양하여 단세포단백을 생산하는 연구를 하였다. 배추의 당함량은 2.1~4.0%의 범위에 있었고 배추원액을 그대로 사용하여 *C. utilis*를 배양했을 때보다는 배추즙액을 적절히 희석하여 배양하였을 때 증식속도가 빨라졌고 소비된 당에 대한 건조균체생산율도 17%에서 약 50% 정도로 향상되었다. 배추즙액에 *C. utilis*를 배양하여 단세포단백을 생산하고자 할 때는 당의 함량이 1.0% 정도로 희석하는 것이 적절하였고 당함량을 1.0%로 조정된 배추희석액에 영양원을 첨가하여 그 영향을 평가해 보았을 때 glucose,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 나  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 는 첨가

효과가 없거나 오히려 균체생산량을 감소시킨데 비하여 yeast extract나 peptone은 건조균체 생산 및 균체의 단백질 함량을 10~20%씩 증가시키는 효과가 있었으나 yeast extract나 peptone의 첨가량에 비해 건조균체생산량의 증가가 적어서 배추즙희석액 자체로만도 효모배양을 위한 좋은 기질임이 확인되었다.

## 문 헌

1. 이남석, 경규항: 배추를 이용한 단세포단백의 생산. 한국식품과학회지, 23, 646(1991)
2. 주현규, 박충균, 조규성, 채수규, 마상로: 식품분석법. 유림문화사, p.263(1989)
3. A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis*, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., p.16(1984)
4. 심선택, 김경제, 경규항: 배추의 가용성 고형물 함량이 김치의 발효에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 22, 278(1990)
5. Abbott, B.J. and Clemen, A.: The relationship of substrate, growth rate and maintenance coefficient to single cell protein production. *Biotechnol. Bioeng.*, 15, 117(1973)
6. Parades-Lopez, O., E., Camargo-Rubio, E. and Ornelas-Vale, A.: Influence of specific growth rate on biomass yield, productivity and composition of *Candida utilis* in batch and continuous culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, 31, 487(1976)
7. Okagbue, R.N. and Lewis, M.J.: Use of alfalfa residual juice as a substrate for propagation of red yeast *Phaffia rhodozyma*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 20, 33(1984)
8. Mudgett, R.E., Rajagopalan, K. and Rosenau, J.R.: Single cell recovery from alfalfa process waste. *Transactions of American Society of Agricultural Engineers*, 1590(1980)

(1992년 1월 19일 접수)