

# 水原 近郊에서 分離한 *Chlorella ellipsoidea* 의 必須 Amino Acid 組成에 關한 研究 A study on the Essential Amino Acid Composition of *Chlorella ellipsoidea* Isolated Near Suwon

嶺南大學校 農畜產大學 食品加工學科

鄭 永 健

=Abstract=

## A Study on the Essential Amino Acid Composition of *Chlorella ellipsoidea* Isolated Near Suwon

Yung-Gun Chung

Department of Food Science and Technology Yeung nam University

The essential amino acids composition of Green algae (*Chlorella ellipsoidea*) that was isolated near the Suwon was compared with that of soy flour and the provisional pattern of amino acids of reference protein of FAO and found that the limit amino acid was methionine. The rest of essential amino acids were distributed widely and abundantly. While soy flour was deficient in methionine and valine on comparing with the provisional pattern.

Slightly more content of methionine was recognized in *Chlorella* protein than that of *Spirulina maxima* which was reported to be eaten in the Lake Chad region of Africa and Mexico as a daily food. It was concluded that good quality protein is able to be synthesized from the wild algae if a qualified algae media was given to them.

### I. 諸 論

二次世界大戰終戰을 前後하여 부터 美國, 獨逸, 日本 등을 비롯한 自由陣營 國家에서는 勿論 소련, 체코 등 共產國家에서까지 蛋白質食糧問題의 解決策으로 生長 速度가 빠른 各種 微生物을 利用한 소위 SCP(Single Cell Protein)에 關한 研究가 광범할 程度로 進展하여 소위 石油를 炭素源으로 하여 酵母 細菌을 대량 培養하여 얻은 石油蛋白 生産과 *Chlorella* 와 같은 綠藻類 *Spirulina* 屬의 藍藻類(Blue-Green Algae)를 이 용한 藻類蛋白의 大量生産을 試圖하고 있는 국가가 여러곳이 있고 그 化學的 組成, 當養價等에 對하여도 많은 研究者들에 依하여 研究되었으나 우리나라에서는 아직 工業的 規模로 研究하는 곳은 없고 몇년전 水原 農村振興廳 農工利用研究所에서 研究用 屋外 培養槽를

설치하여 몇가지 綠藻類와 水原 西湖 近處의 논에서 採取하여 分離한 *Chlorella ellipsoidea* 를 N8 *Chlorella* 培地로 屋外 培養하여 收穫하고 spray drier로 乾燥시킨 후 이것의 蛋白效率(PER)을 測定(動物試驗)하여 3週間 平均 PER이 1.32로서 大豆(長端白目)의 1.72 보다 약간 떨어진다. 이 이유는 試驗動物이 *Chlorella* 蛋白質 飼料區에서 1週 및 2週間에는 이 *Chlorella* 蛋白質에 익숙치 못하여 生長에 必要한 만큼 充分히 蛋白質을 攝取하지 못했기 때문에 3週間 平均 PER은 大豆 蛋白質의 PER 보다 떨어지나 3週째만의 PER을 比較해 보았을때는 *Chlorella* 蛋白質의 PER가 2.27이고 大豆蛋白質의 PER은 오히려 2.20으로 *Chlorella* 蛋白質이 若干 우수하다는 것을 알았기 때문에 이들의 Amino Acid 組成을 分析해 보면 흥미있는 結果를 얻을것 같아서 同 研究者가 培養하여 乾燥시켜둔 試料과 大豆(長端白目)를 比較하여 分析해본 結果 筆者가 예상한 바와 같

이 좋은 결과를 얻었으므로 여기에 報告하는 바이다.

## II. 材料 및 實驗方法

(1) 供試材料: 水原 西湖 近處에서 分離한 *Chlorella ellipsoidea* 綠藻類를 屋外 培養槽에서 大量培養하여 噴霧乾燥器로 乾燥시킨 것과 大豆는 農村振興廳 作物試驗場에서 栽培한 大豆(長端白目)을 볶은 후 껍질을 벗기고 粉碎器로 分碎한 後 60메쉬체로 친것을 供試材料로 使用 하였다.

### (2) 實驗方法

**Amino acid 分析:** Amino acid 分析은 다음과 같이 여러 方法으로 加水分解한 後 Beckman 120-A Amino acid Autoanalyser 를 使用하여 分析 하였다. ① 酸加水分解<sup>3)</sup> 이 方法은 特級 HCl 을 조자게 증류장치로 再 蒸溜한 蒸溜水로 1:1 稀釋하여 造製한 6N HCl 溶液을 1~3 ml 을 外徑 12~16 mm 길이 120~200 mm 硬質 試驗管(이 試驗管은 中央部를 Burner 로 加熱한 후 당겨 허리와 같이 잘록하게 만들어 둔 것임)에 10 mg 程度의 N(질소)가 含有한 試料과 함께 넣고 試料을 鹽酸 溶液에 잘 分散시킨 다음 이 試驗管을 dry ice acetone 속에 담구어 試料을 凍結시키고 眞空 pump 에 연결된 乾 dry ice-acetone 으로부터 꺼내어 서서히 녹히는데 氣泡가 發生하여 試驗管벽을 따라 기어 올라오면 다시 dry ice-acetone 에 담구어 氣泡를 사라지게 하였다. 試料을 解凍 시켜도 氣泡가 發生하지 않을 때까지 이 操作을 반복하여 溶存 氣體를 完全히 除去했다. 그 후 Burner 로 加熱하여 試驗管을 密封하고 110 °C 의 Oven 에서 24時間 加水分解를 行했다. 加水分解를 終了後 加水分解物을 50 ml 의 三角 flask 에 옮기고 試驗管벽을 少量의 蒸溜水로 씻어내려 40°C 의 水浴槽 위에서 HCl 을 減壓하여 蒸發 除去 시켰다. PH 2.2의 Na-citrate 緩衝液으로 稀釋하여 Toyo No. 6 潤紙로 濾過하여 不溶物을 除去 感壓 處理하여 HCl 을 完全히 날려 보내고 PH 2.2의 Na-citrate 緩衝液으로 稀釋하여 정용으로 하고 이液 0.5 ml 로서 Amino acid 自動分析器로 Amino acid 을 定量하였다.

② Performic acid oxidation 法: 試料 蛋白質中에 包含한 Methionine 과 cystein cystine 을 methionine sulphone 과 cysteic acid 로 各各 酸化시켜 安定化 시키기 위하여 試驗管에 0.5 ml 의 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 4.5 ml 의 HCOOH 를 넣어 한 時間 동안 室溫에 放置하여 performic acid 의 濃度가 最高值에 到達한 後 이溶液

2 ml 을 加水分解用 試驗管(前說明)에 넣고 이것을 0°C 로 冷却 시켜 5 mg 의 蛋白質이 含有한 試料을 넣고 0 °C 에서 1夜를 放置하여 含有黃 Amino acid 을 各各 酸化시킨후 0.75 ml 의 48% · HBr 을 加하여 performic acid 를 파괴시킨 다음 40°C 에서 眞空으로 하며 試藥을 蒸發시키고 이것을 6N HCl 에 依한 酸 加水分解를 行하고 Na-citrate 緩衝液으로 PH 2.2로 調節定容하고 濾過後 總含有黃 Amino acid 과 methionine 分析用 試料로 行했다.

③ Alkali 分解: 酸 加水分解로 分離되기 쉬운 Tryptophan 을 定量하기 위하여 따로 alkali 加水分解法으로 다음과 같이 加水分解 시켰다. 20 mg 의 N 을 含有하도록 試料을 flask 에 秤량하고 5.5N Ba(OH)<sub>2</sub> 溶液으로 20時間 加水分解 시키고 Ba 이온은 強 黃酸으로 沈澱 시키고 遠心分離 除去하고 上等液의 PH 를 2.2로 測定했다. Lysine 을 分離하기 爲하여 加水分解物 1 ml 를 Amberlite CG-120 樹脂로 채워진 10 cm 의 column 을 다음과 같이 通過시켰다 55°C 로 column 溫度가 맞춰지게 後 68 ml/hour 의 流速으로 PH 5.8 의 緩衝液과 함께 85分間 通過 시켰다. 또 methionine, Cytidine, threonine, Valine 을 分離하기 위하여 위와같이 樹脂가 充填된 55 cm 의 column(55°C 로 測定)을 流速 68ml/hour 로 PH 3.28의 緩衝液으로 1 ml 의 加水分解物을 通過 分離시켰다. Isoleucine, leucine, tyrosine 및 phenylalanine 도 methionine 과 같은 方法으로 分離 시켰는데 다만 緩衝液의 PH 만 4.25로 달랐다.

Tryptophan 을 分離하기 爲하여 2 ml 의 加水分解物을 13.5 cm 의 column 에 30 ml/hour 의 流速으로 PH 5.28의 緩衝液으로 씻어 내렸다. 그리고 570 m $\mu$  에서 amino acid-Ninhydrin complex 의 發色強度를 測定하여 나타난 chromatogram 을 standard amino acid chromatogram 과 比較計算하여 各各의 amino acid 含量을 求했다.

(以上の 分離는 Amino acid-autoanalyzer 에서 實施된 것이다)

## III. 實驗結果 및 考察

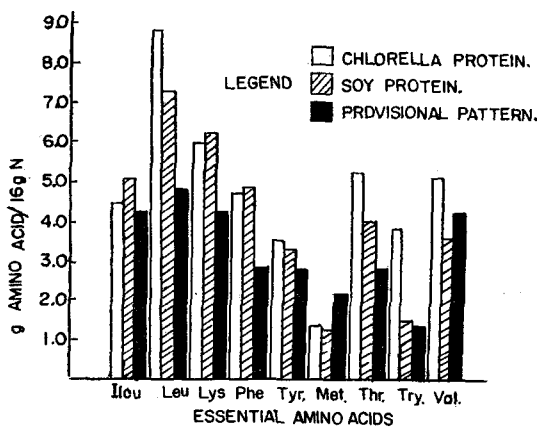
Table 1 및 Fig. 1에서 보는 바와 같이 水原近郊에서 分離해서 培養시켜 噴霧乾燥器로 乾燥시킨 *Chlorella* 의 아미노酸 組成은 모든 必須아미노酸 成分이 골고루 들어있고 FAO 가 制定한 reference protein 의 Provisional Pattern<sup>2)</sup>에 比較해 볼때 *Chlorella* 의 아미노酸

**Table 1.** Essential amino acids composition of chlorella protein, soy protein and other sources(g of amino acid/16g N)

Amino acid	Provisional* pattern	Chorella ellipsoidea protein	Soybean protein	Spirulina maxima** (Blue-Green algae)
Isoleucine	4.2	4.4	5.0	6.03
Leucine	4.8	8.8	7.2	8.02
Lysine	4.2	5.9	6.2	4.59
Phenylalanine	2.8	4.7	4.8	4.97
Tyrosine	2.8	3.5	3.3	3.95
Sulphur amino acid(Total)	—	4.0	3.1	1.80
Methionine	2.2	1.4	1.3	1.37
Threonine	2.8	5.2	4.0	5.46
Tryptophan	1.4	3.8	1.5	1.40
valine	4.2	5.1	3.6	6.49

\* FAO Nutr. Studies No. 16 p.26(1957). Protein Requirement.

\*\* Clement G. et al (1967) J. Sci. Food Agr., 18(11), 497.



**Fig. 1.** Essential amino acid composition of chlorella protein, soy protein and provisional pattern of Reference protein.

組成中 다른것은 모두 Provisional pattern 보다 많으나 含硫黃 必須아미노酸인 methionine 만 1.4g 으로서 reference protein 의 2.2g 보다 훨씬 떨어져서 制限아미노酸으로 作用함을 알 수 있다. 그리고 함께 分析한 大豆粉의 蛋白質과 chlorella 蛋白質을 比較해 보면 chlorella 蛋白質은 methionine 만이 制限因子로 作用하는데 反해서 大豆粉은 valine 도 reference protein 보다 적게 含有하여 制限因子로 作用함을 알 수 있어 아미노酸 組成의 化學分析結果만으로 볼때는 chlorella 蛋白質이 大豆 蛋白質 보다 若干 優秀하며 崔<sup>9)</sup>가 이 試

料로서 動物試驗한 結果 第3週째 만으로 봤을때 大豆를 먹인區 보다 PER 이 若干 높았다고 하는 결과와 一致 되는 것임을 알 수 있어 植物性蛋白質 中에서 相當히 質이 良好한 것으로 알려진 大豆 以上の 質을 가진 chlorella 蛋白質의 食用을 爲해서는 chlorella 에서 나오는 독특한 臭 냄새 같은 냄새를 除去하도록 研究되어야 하겠고 또 分析結果 穀物蛋白質 特히 小麥蛋白質에서 否足하다는 Lysine 이 reference protein 보다 chlorella 蛋白質이 많이 含有되어 있기 때문에 小麥粉等과 chlorella 粉을 適當히 섞으면 兩者의 否足한 Amino acid 이 相互 보완되어 蛋白效率이 上昇될 것으로 生覺한다. Clement<sup>1)</sup>가 報告한 藍藻類 spirulina maxima 는 옛날부터 Mexico 와 Africa Chad 共和國에서 常食하고 있는 것으로 Table 1. 에서 보는 바와 같이 그 Amino acid 組成은 chlorella 보다 Methionine 含量이 若干 떨어져고 Tryptophan 含量도 떨어져다. 이와같은 點을 考慮할때 chlorella 도 앞으로 食糧 事情이 惡化 될때 좋은 蛋白質 源이 될 것임을 確信한다. Fowden<sup>3,4)</sup> Shieler<sup>6)</sup> 등 및 Hundley<sup>5)</sup> 등은 chlorella 中에 cystine 과 Methionine 이 否足한 外에 다른 Amino acid 은 널리 分布되었다고 報告한것은 本人이 水原近郊에서 分離 chlorella 의 것과 一致하는데 이것은 Spoehr<sup>7)</sup> 등이 培地組成에 따라 chlorella 의 組成이 달라 진다는 것과 結付시켜 生覺할 때 野生의 藻類도 培地中의 營養成分만 잘 供給하면 良質의 蛋白質을 合成할 수 있다는 事實을 보여주며 앞으로 다른 野生 藻類의 分離 및 蛋白質 含量이 높고 細胞 크기가 크며 生長速度가 빠른 菌株의 選發育種에 對한 研究가 있어야 할 것이다.

#### IV. 結 論

水原 近郊에서 分離 培養한 chlorella의 Amino 酸 造成을 FAO의 reference protein 의 그것과 比較해 봤을 때 Methionine 等の 含有黃 amino 酸 만이 制限 amino 酸으로 되어 있을 뿐 다른 Amino 酸은 reference protein 의 Provisional pattern 보다 많이 含有 하고 大豆 蛋白質 보다 分析結果로 比較 했을때는 오히려 優秀했고 Africa Chad 共和國과 南美의 Mexico 에서 住民이 常食하고 있다고 Clement<sup>1)</sup> 등이 報告한 藍藻類 spirulina maxima 보다 Amino 酸組成이 優秀하므로 野生藻類라도 分離하여 좋은 培地에서 培養하면 良質의 蛋白質을 大量生産 할 수 있다고 본다.

#### 結 考 文 獻

- 1) Clement, G.C. Giddey and R. Menzi.: *J. Sci. Food Agr. Vol. 18*(No. 11), 497-501, 1967.

- 2) FAO, U.N.: *FAO Nutr. Studies No. 16 p.26* cf. in *Principles of Nutrition, Eva D Wilson* 等著, *Wiley Eastern Private Ltd. New Delhi* (1968)刊 1957.
- 3) Fowden, L.: *Biochem, J. 50*, 355, 1952.
- 4) Fowden, L.: *Biochem, J. 52*, 300, 1953.
- 5) Hundley, J.M., Ing, R.B. and R.W.: Krauss, *Science, 124*:536, 1956.
- 6) Shieler, L., L.E. McClure and M.S. Dunn.: *Food Research, 18*, 377, 1953.
- 7) Spoehr, H.A. and H.W. Milner.: *Food Technology 3*:6, 1951.
- 8) 延世大, 食工科編: 食品工學實驗 探究堂刊 pp.352-371 "Amino 酸의 系統的 定關法. 1975,
- 9) 崔光洙 嶺南大學校 論文集 8輯(自然科學專), 339-344. 1974,