*KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.*
*Vol.* 15, *No.* 2 (1983)

# 전분이용성 효모 *Sporobolomyces holsaticus*의 균체성분 분석에 대하여

박완수 · 구영조 · 신동화 · 서기봉
농어촌개발공사 식품연구소
(1983년 3월 7일 수리)

# Analysis of Cellular Components of Starch-Utilizing Yeast *Sporobolomyces holsaticus*

**Wan Soo Park, Young Jo Koo, Dong Hwa Shin and Kee Bong Suh**
*Food Research Institute / AFDC*
(Received March 7, 1983)

## Abstract

Starchy single cell protein produced by a starch-utilizing yeast, *Sporobolomyces holsaticus* FRI Y-5 was analyzed for its composition such as intracellular protein, amino acids, fatty acids, minerals, vitamins and pigments. It was shown that it contained 33.08% of total carbohydrate, 45.63% of crude protein, 20.01% of crude lipid, 3.24% of ash and 4.46% of pigment. Whole cell extracted by cold and hot NaOH method contained 40.89% of soluble protein and the estimated nucleic acid content from crude and soluble protein contents was about 7.6%. The sulphur-containing amino acids, threonine, isoleucine and valine were analyzed to be the limiting amino acids in the starchy SCP, and the protein score was calculated as 89.4. It was shown from its fatty acid analysis that it contained 6.5% of $C_{16:0}$, 2.4% of $C_{18:0}$, 81.9% of $C_{18:1}$, 3.2% of $C_{18:2}$, and 6.0% of $C_{18:3}$. Also it was observed that it contained, per 100 *g* of dry cell, 365.33 *mg* of Mg and 282.75 *mg* of K more than Fe and Ca. The content of Vit. $B_2$ was 3.7 *mg* per 100 *g* of dry cell, but niacin was not detected under this experimental condition. The UV-visible scanning result of pigment extract showed that the yeast contained carotenoid and unknown pigments.

## 서 론

전분으로부터 효모균체를 직접 생산하기 위하여, 전분이용성 효모를 분리 동정하였고[1], 그것에 대한 기본적인 배양조건[2]과 배양시 탄소원과 다른 영양원간의 영양균형이 균체생육도에 미치는 영향[3]을 검토하였으며, 이 효모의 배양중 전분자화특성[4]에 대하여 보고하였다.

본보에서는 식량자원으로서의 가능성을 검토하기 위하여 전분이용성 효모 *Sporobolomyces holsaticus* FRI Y-5의 균체성분을 분석하였기에 보고하는 바입니다.

## 재료 및 방법

### 사용균주와 사용배지조성

사용균주는 전보들[1-4]에서 보고한 *Sporobolomyces holsaticus* FRI Y-5를 사용하였다.

배지조성은 전보[4]에서 보고한 것을 기초로 하여 Table 1 과 같이 설정하였다.

배지살균과 배지의 pH 조절은 전보[3]에 준하였다.

### 배양방법

모든 실험은 2*l* 삼각플라스크에 배지 1*l*를 넣어 대형

**Table 1. Medium for growth of *Sp. holsaticus* FRI Y-5**

| Components | Concentration (*g/l*) |
|---|---|
| Soluble starch | 74.59 |
| Urea | 1.29 |
| $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ | 3.02 |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 2.31 |
| Yeast extract | 2.50 |
| $K_2SO_4$ | 0.02 |
| $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.03 |

회전식진탕기를 사용하여 200*RPM*에서 수행하였으며 이때 배양온도는 실온으로 하였다. 접종은 보존균주를 액체배지에서 30시간 활성화시켜 접종원으로 사용하였으며 이때 접종량은 5%(*V/V*)로 하였다.

**분석시료준비**

상기 배양방법으로 3일 배양후 10,000×*g*로 원심분리한 다음 증류수로 세번 세척하여 효모균체를 수거하였다. 이를 냉동 건조하여 80mesh 이상으로 분쇄한 분말균체를 냉장고의 desiccator에서 보관하며 분석시료로 사용하였다.

**가용성 단백질의 추출**

가. Hot NaOH extraction: Herbert등[5]의 방법을 기초로 다음과 같이 추출하였다.

원심분리용 시험관에 20~25*mg*의 건조균체와 5*ml*의 1*N* NaOH용액을 첨가하여 열탕수조에서 5분간 끓였다. 이것을 수돗물로 식힌후 3,000×*g*로 20분간 원심분리하여 상등액을 모으고 침전물에 5*ml*의 증류수를 첨가하여 다시 열탕수조에서 5분간 끓였다. 같은 방법으로 얻은 상등액을 처음 상등액과 혼합하여, 이것을 가용성단백질 측정을 위한 시액으로 하였다.

나. Cold and hot NaOH extraction: Mandels[6]의방법을 기초로 다음과 같이 추출하였다. 원심분리용 시험관에 100*mg*의 건조균체와 10*ml*의 1N NaOH용액을 첨가하여 냉장고에서 밤새도록 방치하였다. 이것을 3,000×*g*로 20분간 원심분리한 후 상등액을 모으고 침전물에 5*ml*의 1N NaOH용액을 첨가하여 50℃의 수조에서 30분간 용해시킨 후 원심분리하여 얻은 상등액을 처음 상등액과 혼합하여, 이것을 가용성 단백질 측정을 위한 시액으로 하였다.

**분석방법**

가. 조단백질, 조지방 및 회분함량의 측정은 전보[1]에 준하였다.

나. 총탄수화물함량은 Dubois등[7]이 개발한 phenol-sulfuric method[8]에 의하여 측정하였으며 기준물질로 glucose를 사용하였다.

다. 가용성 단백질함량은 Biuret method[9]와 Lowry등의 방법[9]으로 측정하였으며 기준물질로 bovine serum albumin (Sigma Co.)을 사용하였다.

라. 아미노산 분석 : Kohler등[10]의 방법으로 균체를 산분해시킨 후 Beckman amino acid autoanalyzer Model 116으로 정량분석[11]하였다. 산분해중 파괴되어 분석이 불가능한 아미노산중 tryptophan은 Spies등[12,13]의 방법을 변형시킨 Miller[14]의 방법으로 측정하였다

마. 색소함량 측정 및 분석 : Suzue[15]의 방법에 기초를 둔 saponification에 의한 carotenoid extraction method[15]를 사용하여 methanol로 추출하였으며 색소함량은 진공건조후 칭량하였으며, 다시 hexane에 용해시켜 UV-vIS spectrophotometer (Varian Techtron, model 635)를 사용하여 각 파장에서의 흡광도를 측정하기 위하여 scanning하였다.

바. 지방산조성분석 : 건조균체로부터 Bligh and Dyer method[16]에 의하여 지방을 추출한 후 지방산의 메틸에스테르는 14% $BF_3$/methanol로 처리하였으며[17], Gas chromatograph Tracor 550을 사용하여 전보[18]와 같은 조건에서 지방산 조성을 분석하였다.

사. 미량원소의 분석

분석가능한 Ca, Fe, K, Mg을 원자흡광 분광광도법[19,20]에 따라 atomic absorption spectrophotometer (Va-

**Table 2. Operating conditions of AA for mineral analysis of *Sp. holsacicus***

| | Wave length (*nm*) | Slit width (*nm*) | Lamp current (*mA*) | Flame | Flame stoichiometry |
|---|---|---|---|---|---|
| Ca | 422.7 | 0.2 | 3 | Air-acetylene | Reducing |
| Fe | 248.3 | 0.2 | 5 | Air-acetylene | Oxidizing |
| K | 766.5 | 0.5 | 5 | Air-acetylene | Oxidizing |
| Mg | 285.2 | 0.5 | 3 | Air-acetylene | Oxidizing |

**Table 3. Operating conditions of HPLC for vitamins analysis of *Sp. holsaticus***

| | Operating conditions required | |
|---|---|---|
| | Vit. $B_2$ | Niacin |
| Column | MicroBonda Pak $C_{18}$ | MicroPak MCH |
| Solvent | Methanol/$H_2O$ (4 : 1) | Acetic acid/$H_2O$ (1 : 99) |
| Detector | Fluorescence detector, Waters Model 420-E (Ex 360*nm*, Em 500*nm*) | UV detector, Waters (0.01 AUFS, 254*nm*) |
| Flow rate | 1.0*ml/min* | 1.0 *ml/min* |

rian Techtron, Model 1,200)로 분석하였으며 이때 작동조건은 Table 2.와 같다.

아. 비타민 분석

Vit. $B_1$와 niacin의 분석은 HPLC법에 따라 liquid chromatograph(Waters Ass. Inc.)로 분석하였으며 이때 작동조건은 Table 3과 같고, 비타민의 HPLC시료준비시 Vit. $B_2$는 Van de Weerdhof 등[21]의 방법에 따랐으며 niacin은 Pike 등[22]과 Tyler등[23]의 방법에 따라 건조균체를 처리하여 HPLC 시액을 준비하였다.

## 결과 및 고찰

### 전분효모의 균체조성분

전분이용성 효모, *Sporobolomyces holsaticus*의 균체조성분은 Table 4.에서 단백질효모인 *Candida utilis*[24,25]와 지방효모인 *Rhodotorula gracilis*[25,26]의 균체성분과 비교하였다.

일반적으로 미생물식량원으로서의 효모균체의 성분[27]은 조단백질이 47~56%, 조지방이 2~6% 회분은 5~9.5%인데 비하여, *Sp. holsaticus*는 조단백질이 45.63%로 약간 낮은 편이었고, 조지방은 20.01%로 상당히 높았다. 회분은 3.24%로 낮은 편이었다. 이때 회분함량은 전보[1]의 분리배지의 경우 9.2%보다 훨씬 작았으며 배지의 조성과 배양조건에 기인한다고 사료되었다.

Table 4. Cell composition of *Sp. holsaticus* FRI Y-5 compared with protein yeast, *C. utilis* and fat yeast, *Rh. gracilis*

(unit: percentage)

| | *Sp. holsaticus* | *C. utilis* | | *Rh. gracilis* | |
|---|---|---|---|---|---|
| Crude prtein | 45.63 | 59 | 54.1 | 13 | 13.1 |
| Crude lipid | 20.01 | 3 | 12.1 | 60 | 50.0 |
| Total carbohydrate | 33.08 | 30 | 29.8 | 24 | 32.9 |
| Ash | 3.24 | 8 | 4.0 | 3 | 4.0 |
| Pigment* | 4.46 | | | | |

* pigment content was contained in crude lipid content.

Table 4.에서 보는 바와 같이 *Sp. holsaticus*는 조단백질과 조지방함량을 고려해 볼 때 단백질효모와 지방효모의 중간적인 세포조성을 가지고 있었고 총탄수화물은 33.08%로 *C. utilis*나 *Rh. gracilis*보다 약간 많은 편이었다.

*Sp. holsaticus* FRI Y-5의 색소는 전보[1]에서 carotenoid계 색소로 판단되었으며 적색효모의 일종으로 알려져 있다. 건조균체량에 대한 색소함량은 4.46%로 조지방에 포함된다고 사료되었다.

### 세포단백질의 추출 및 함량측정

세포단백질의 추출방법에는 크게 cold NaOH extration과 hot NaOH extraction이 있는데 전자의 경우 그람음성균이나 *Bacilli*균주의 단백질은 대부분 추출되나 그람음성균과 효모, 곰팡이의 단백질은 잘 추출되지 않고, 후자의 경우에는 모든 세균, 효모곰팡이의 단백질이 완전히 추출되는 것으로 보고[5]되었다.

*Sp. holsaticus*의 세포단백질 추출시 완전세포(whole cell)와 탈지방세포(defatted cell)에 있어서의 hot extraction과 cold and hot extraction의 비교실험결과는 Table 5.와 같다.

전체적으로 완전세포나 탈지방세포에 있어서 hot extraction보다는 cold and hot extraction이 세포단백질추출시 더 효율적이었다. 완전세포의 조단백질함량은 45.63%이고 가용성단백질함량은 cold and hot extraction시 40.89%였다. 탈지방세포의 조단백질 함량은 53.0%이었으며 Table 4.의 조지방함량을 감안하여 완전세포로 환산했을 경우 42.39%로서 조단백질함량에 차이가 있었다. 이러한 차이는 지방추출시 용매에 의하

Table 5. Extraction and measurement of intracellular protein of *Sp. holsaticus*

(unit : percentage)

| | Total nitrogen | Crude protein (6.25xN) | Soluble protein | | Estimated nucleic acid** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Hot extraction | Cold & hot extraction | Hot extraction | Cold & hot extraction |
| Whole cell | 7.3 | 45.63 | 34.07 | 40.89 | 18.50 | 7.58 |
| Defatted cell | 8.48 (6.78)* | 53.0 (42.39) | 39.57 (31.65) | 49.30 (39.44) | 21.49 (17.18) | 5.92 (4.74) |

*Conversion to whole cell by correction factor, that is, crude lipid content

**Assumption 1) Nucleic acid N=Total N−Protein N

2) Nucleic acid contains 10% of nitrogen

여 추출되는 지용성 질소화합물로 설명될 수 있으며 이 때 추출된 질소함량은 건조균체량의 0.52%로 계산되었다.

또한 균체핵산의 질소함량은 Table 5 에서 간접적으로 계산할 수 있는데 일반적으로 총질소와 단백질의 질소함량의 차로서 추정되고 있다[6]. 완전세포의 경우 핵산의 질소함량은 cold and hot extraction시 0.76%로 계산되었다.

**Table. 6. Amino acid analysis of starchy single cell protein of *Sp. holsaticus***

| Amino acid | *g*/16*g*-*N* | FAO/WHO recommended chemical score 1965 | 1973 | Protein score |
|---|---|---|---|---|
| Aspartic acid | 7.91 | | | |
| Threonine | 3.86 | 2.8 | 4.0 | |
| Serine | | | | |
| Glutamic acid | 10.96 | | | |
| Proline | 3.07 | | | |
| Glycine | 4.98 | | | |
| Valine | 4.47 | 4.2 | 5.0 | 89.4 |
| Methionine | 1.27 | 2.2 | | |
| Total sulphur amino acid | | -- | 3.5 | |
| Isoleucine | 3.66 | 4.2 | 4.0 | |
| Leucine | 7.50 | 4.8 | 7.0 | |
| Tyrosine | 3.09 | 2.8 | | |
| Phenylalanine | 3.55 | 2.8 | | |
| Total aromatic amino acid | 6.64 | -- | 6.0 | |
| Lysine | 6.12 | 4.2 | 5.5 | |
| Histidine | 1.80 | | | |
| Arginine | 4.76 | | | |
| Tryptophan | 2.11 | 1.4 | 1.0 | |
| Essential amino acid | 32.54 | | | |

일반적으로 효모의 핵산함량은 6~11%로 추정되는데[28], DNA의 구조로부터 질소함량을 10%로 가정했을 때 *Sp. holsaticus*의 핵산함량은 Table 5.에서와 같이 약 7.6%로 계산된다.

일반적으로 미생물균체를 식량화할 때 핵산함량이 문제가 되는데[28], 이러한 핵산함량을 1~2%로 감소시키기 위해서는 효모세포의 ribonuclease에 의한 RNA 분해를 위하여 heat-shock incubation process나 혹은 alkaline extraction and acid coagulation process 등이 보고[27~31]되었다. 실제로 본 실험에서 용매에 의한 지방추출후의 세포내 핵산함량은 4.74%로 완전세포보다 적게 추정되었다.

**균체단백질의 아미노산 조성**

전분을 기질로 배양한 *Sp. holsaticus*의 균체단백질에 대한 아미노산을 분석하여 FAO 표준단백질[32]과 비교하였다(Table 6).

1973년 개정된 표준단백질에서는 함유 황아미노산의 총량으로 표시되어 있으나 실험에서 cysteine과 cystine을 분석하지 않아 1965년 발표된 표준단백질과 methionine을 비교하였다.

*Sp. holsaticus* FRI Y-5는 표준단백질보다 필수아미노산중 threonine, valine, isoleucine이 적었으며, 그때 valine의 단백가는 89.4이었다.

일반적으로 단세포단백질에서 제한아미노산은 methionine[27]으로 *Sp. holsaticus*의 경우 1.27*g*/16*g* of N로 낮은 편이었다. 그러나 methionine과 그것의 hydroxy analog는 비교적 값이 싼 생산품이므로 영양적 강화가 가능할 것으로 사료되었다.

또한 식물성단백질에 부족한 lysine은 6.12*g*/16*g*-N으로 우유[33]의 7.7*g*/16*g*-N보다는 적으나 밀가루[33]의 1.9*g*/16*g*-N보다는 많고 대두단백[33]의 6.2*g*/16*g*-N과 비슷하였다.

**균체지방의 지방산조성**

전분을 기질로 배양한 *Sp. holsaticus FRIY-5*의 건조균체를 *Bligh & Dyer method*[16]에 의하여 추출한 지

**Table 7. Comparison of fatty acid composition in *Sp. holsaticus* FRI Y-5 with those in palm oil, *Rh. gracilis*, *L. lipofera*, *C. utilis*, and *S. cerevisiae***

| Fatty acid | Relative proportion of fatty acid (%, w/w) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Palm oil | *Rh. gracilis* | *L. lipofera* | *Sp. holsaticus* | *C. utilis* | *S. cerevisiae* |
| Palmitic acid | 41.6 | 29.8 | 25.6 | 6.5 | 7.9 | 13.4 |
| Stearic acid | 6.3 | 8.8 | 5.9 | 2.4 | 3.8 | 8.3 |
| Oleic acid | 38.9 | 40.1 | 54.5 | 81.9 | 21.5 | 65.9 |
| Linoleic acid | 9.5 | 11.2 | 5.7 | 3.2 | 49.7 | 4.1 |
| Linolenic acid | 0.4 | 4.8 | 0.7 | 6.0 | 4.4 | -- |

방의 지방산분석 결과는 Table. 7에서 Palm oil[34] 과 *Rh. gracilis*[35], *Lipomyces lipofera*[36], *C. utilis*[37], *S. cerevisiae*[38]와 비교되었다.

*Rh. gracilis*[35]의 지방은 특히 필수지방산인 linoleic acid와 lino lenic acid가 많으며, *L. lipofera*[36]의 지방, palm oil[34]과 유사한 조성을 갖었으며, 단백질 효모인 *C. utilis*[37]은 *linoleic acid* 함량이 특이하게 많았는데 비하여 *Sp. holsaticus* FRI Y-5의 지방산조성은 oleic acid가 81.9%로 특이하게 많았으며 나머지 성분은 각각 6.5% 이하였다. 이러한 점은 *S. cerevisiae*[38] 지방산조성과 유사한 것 같으며, *Sp. holsaticus*의 지방은 melting point가 15℃ 이하의 비교적 낮은 지방산이 전체의 91.1%를 차지하고 있었다.

### 효모균주의 미량원소 및 비타민 함량

*Sp. holsaticus* 균체성분중 측정가능한 미량원소 및 비타민 함량은 Table 8.과 같으며 다른 미생물의 비타민 함량[26]과 비교되었다.

**Table 8. Minerals and vitamins of single cell protein of *Sp. holsaticus* compared with other microorganisms**

| Components | *mg* per 100*g* of dry cell | | | Baker's yeast |
|---|---|---|---|---|
| | *Sp. holsaticus* | *Rh. gracilis* | *C. utilis* | |
| Fe | 17.12 | | | |
| Ca | 1.86 | | | |
| Mg | 365.33 | | | |
| K | 282.75 | | | |
| Vit. $B_2$ | 3.7 | 1.3 | 6.0 | 3.4 |
| Niacin | *** | 7.1 | 40.0 | 25.5 |

Mg과 K의 함량은 균체 100*g*당 Fe 17.12*mg*이나 Ca 1.86*mg*보다 훨씬 많았고 각각 365.33*mg*과 282.75*mg*이었다.

측정된 비타민중 niacin은 본실험 조건하에서 검출되지 않았고 Vit. $B_2$는 3.7*mg*/100*g*으로 검출되었으며 L-undin[26]이 보고한 *Rh. gracilis C. utilis*, 및 baker's yeast에 비하여 전체적으로 비타민 함량이 낮았다.

### 색소추출물의 흡광현상

*Sp. holsaticus* FRI Y-5 균체를 알카리로 saponification 시키면서 methanol로 추출한 색소추출물에 대한 자외선 및 가시광선 부분에서의 흡광도를 측정한 결과는 Fig. 1과 Fig. 2에서와 같다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 가시광선부분과 자외선부분에서 각각 흡광도가 큰 부분을 볼 수 있었으며, 가시광선 부분의 경우 파장 476*nm*, 452*nm*, 431*nm*에서 강한

**Fig. 1. UV & visible absorption pattern of microbial pigment of *Sp. holsaticus* extracted by methanol with saponification**

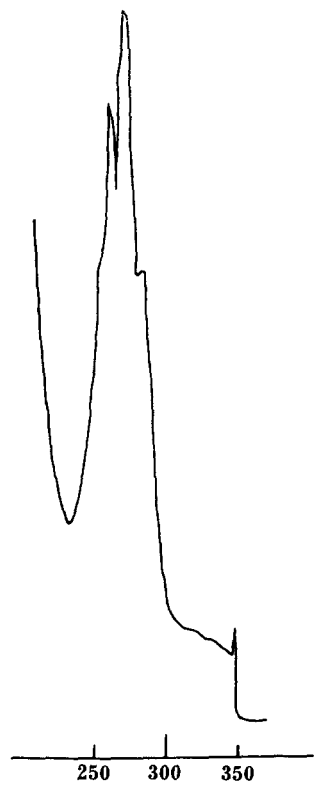


**Fig. 2. UV absorption pattern of microbial pigment of *Sp. holsaticus* extracted by methanol with saponification**

흡광현상을 관찰할 수 있었다.

이러한 가시광선 부분의 흡광현상은 이 효모의 carotenoid계 색소에 기인하는 것으로 사료되었다.

자외선부분의 경우는 Fig. 2에서 더욱 자세히 볼 수 있으며, 280*nm*와 268*nm*에서 큰 흡광도를 관찰할 수 있었다.

이 부분의 특징으로 가시광선 부분과는 달리 태양광에 의하여 파괴가 되지 않았다는 것을 알 수 있었다.

## 요 약

미생물을 이용한 식량자원개발의 일환으로 분리배양한 전분이용성 효모, *Sporobolomyces holsaticus* FRI Y-5의 균체성분에 대하여 검토하였다. 효모균체의 일반조 성분으로서 총 탄수화물이 33.08%, 조단백질이 45.63%, 조지방이 20.01%, 회분이 3.04%였으며, 그 밖에 색소수출물이 4.46%였다. 완전세포(Whole cell)의 가용성단백질함량은 cold and hot NaOH extraction 시 40.89%였으며, 이때 조단백질과 가용성단백질 함량으로부터 핵산함량이 7.6%로 추정되었다. 균체단백질의 아미노산분석결과, 표준단백질에 비하여 필수아미노산중 threonine, valine, isoleucine이 약간 적었으며 그때 제한아미노산인 valine의 단백가는 89.4였다. 균체지방의 지방산 조성은 $C_{16:0}$이 6.5%였고, $C_{18:0}$이 2.4%, $C_{18:1}$이 81.9%, $C_{18:2}$이 3.2%, $C_{18:3}$이 6.0% 였으며, 이 때 $C_{18:1}$이 특이하게 많았다. 또한 이 효모균체는 미량원소로서 Fe나 Ca에 비하여 Mg과 K을 많이 함유하고 있었으며, 각각 365.33*mg*/100*g*, 282.75*mg*/100*g*이었고, 비타민중 Vit. $B_2$는 3.7*mg*/100*g*이나 niacin은 검출되지 않았다. 색소수출물의 흡광도 실험결과, carotenoid계 색소가 확인되었으며 자외선부분에서 태양광에 파괴되지 않는 물질을 발견하였다.

## 문 헌

1. 박완수, 구영조, 신동화, 서기봉:한국식품과학회지 **15**, 46 (1983)
2. 박완수, 구영조, 신동화, 민병용 :한국식품과학회지 **15**, 51 (1983)
3. 박완수, 구영조, 신동화, 민병용:한국식품과학회지 **15**, 56 (1983)
4. 박완수, 구영조, 신동화, 민병용:한국식품과학회지 **15**, 177 (1983)
5. Herbert, D., Phipps, P. J. and Strange, R. E. : *Methods in Microbiology*, Vol. 5B, Academic Press Inc., London, p. 209 (1971)
6. Mendels, M. : *International Course-cum-Symposium on Bioconversion of Cellulose Materials into energy, Chemicals and Microbial Protein, New Delhi, India (1977)*
7. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P.A. and Smith, F. : *Anal. Chem.*, **28**, 350 (1956)
8. Clark, J. M. Jr. and Switzer, R. L. : *Experimental Biochemistry*, 2nd ed., Feeeman and Company, San Francisco, p. 12 (1977)
9. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : *J. Bioi. Chem.*, **193**, 265 (1951)
10. Kohler, G. O. and Polter, R. : *Cereal Chem.*, **44**, 512 (1967)
11. Spackman, D. H., Stain, W. H. and Moore, S. : *Anal. Chem.*, **30**, 1190 (1958)
12. Spies, J. H. and Chamber, D. C. : *Anal. Chem.*, **20**, 30 (1940)
13. Spies, J. H. and Chamber, D. C. : Anal. Chem., **21**, 1249 (1949)
14. Miller, E. L. : *J. Sci. Fd. Agric.*, **18**, 381 (1967)
15. Suzue, G., Toukada, K. and Tanaba, S. : *Biochem. Biophys. Acta*, **144**, 186 (1967)
16. Bligh, E. C. and Dyer, W. J. : *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911 (1959)
17. Metcaefe, C. D., Schmitz, A. A. and Pelka, J. R. : *Anal. Chem.*, **38**, 514 (1966)
18. 신동화, 김창식: 한국산업미생물학회지, **10**, 79 (1982)
19. AOAC : *Official Methods of Analysis*, 13th ed., Washington, D. C. (1980)
20. Van de Weerdhof, T., Wiersum, M. L. and Reissenweber, H. : *J. Chromat.*, **83**, 455 (1973)
21. Pike, R. L. and Brown, M. L. : *Nutrition on Intergrated Approach*, 2nd ed., John Willey and Sons, New York (1975)
22. Tyler, T. A. and Shrage, R. R. : *J. Liq. Chrom.*, **3**, 269 (1980)
23. Fink, H., Lechner, R. and Krebs, J. : *Biochem. Z.*, **301**, 143 (1939)
24. Enebo, L., Anderson, L. G. and Lundin, H. : *Arch. Biochem.*, **11**, 383 (1946)
25. Lundin, H. : *J. Insjt. Brewing*, **56**, 17 (1590)
26. Reed, G. : *Food Technol.*, **35**, 89 (1981)
27. Lipinsky, E. S. and Litchfield, J. H. : *Food Technol.*, **28**, 16 (1974)
28. Maul, S. B., Sinskey, A. J. and Tannenbaum, S. R. :

*Nature,* **228,** 181 (1970)
29. Ohta, S., Maul, S. B., Sinskey, A. J. and Tannenbaum, S. R. : *Appl. Microbiol.,* **22,** 415 (1971)
30. Sinskey, A. J. and Tannenbaum, S. R. : *Removal of Nucleic Acid, 2nd Int. Sym. Single Cell Protein,* MIT, Cambridge, Mass. (1973)
31. FAO/UN : Report of Joint FAO/WHO Expert Group on Protein Requirements FAO Nutrtion Meetings Report Series, No. 37 (1973)
32. Waslien, C. I. : *C. R. C. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.,* **6,** 471 (1975)
33. Hilditch, T. P., Meara, M. L., and Roels, P. A. : *J. Soc. Chem. Ind., Lond.,* **66,** 284 (1947)
34. Holmberg, J. : *Svensk kem. Tidskr.,* **60,** 14 (1948)
35. Hilditch, T. P. and Shrivastava, H. K. : *Biochem. Biophys Acta,* **2,** 80 (1948)
36. Reichert, R. : *Helv. Chim. Acta,* **28,** 484 (1945)
37. Täufel, K., Thaler, H. and Schreyegg, H. Z. : *Unters. Lebensm.,* **72,** 394 (1936)