

Chlorella의 營養價에 關한 研究 (I)

朴 忠 雄·趙 仁 鎬·黃 鎬 觀*

全北大學校 文理科大學

Nutrition Value of Chlorella (I)

Chun-Ung Bark · In-Ho Cho · Ho-Kwan Hwang

Jeon-Buk National Univ.

Abstract

Though many papers have reported the nutrition value of Chlorella their results are all different because of the differences in processing method. To investigate its processing and nutrition value we provided the white rats with the Chlorella that were treated with boiling methanol. The results obtained in this investigation are summarized as follows:

Two groups, which were fed with 20% Chlorella protein and 10% Chlorella plus 0.37% DL-methionine gained less weight than the 10% egg protein group but equaled the 20% egg protein group in weight gain.

The digestion rates calculated from ordinary N-balance method were 83.6% for 20% Chlorella, 81.7% for 10% Chlorella, and 84.9% for 10% Chlorella plus methionine group. This value is lower than 20% Egg (93.8%) and 10% Egg group (89.6%).

Biological values from this method were 78.3% for 20% Chlorella and 79.1% for 10% Chlorella group, being lower than 20% Egg (85.2%), 10% Egg (93.2%). But the biological value of 10% Chlorella group was markedly enhanced to 92.2%, a value comparable to that of 10% Egg group, by adding methionine.

序 論

Chlorella는 제1차 世界大戰中 獨逸에서 食糧難을 解決할 目的으로 P. Lindner 教授가 最初로 研究하였으나 成果를 얻지 못하고 終戰되었다. 그後 제2차 大戰이 일어나자 獨逸에서再次 같은 案이 R. Harder 教授에 依해서 나왔으나 亦是 成果를 얻지 못하였다. 그後 1947년에 美國의 Spoehr¹⁾의 本格的인 實驗에 依해서 食糧價值가 認定된 이래 世界各國에서 重要한 蛋白源으로 注目되어 各 分野에 걸쳐서 研究를 實施하고 있다. 특히 獨逸에서는 Fink²⁾를 中心으로 藻體蛋白質

의 營養價에 對해서 많은 研究를 하고 있다. 各國의 研究目的은 그 나라 事情이나 技術水準에 依해서 相異하나, 美國과 같이 食糧 或은 飼料가 豐富한 나라에서는 Chlorella 藻體中에 含有되어 있는 特殊成分의 利用에 焦點을 두고 있고 이스라엘과 같이 食糧問題에 關心이 큰 나라는 食糧으로서 利用하는데 主力하고 있다. 우리 나라도 食糧問題에 關心이 큰 나라이므로 Chlorella의 食糧化 또는 飼料化에 대해서 많은 研究를 해야 한 것으로 본다. 著者들은 Chlorella의 培養法 處理加工法 等을 우리 나라의 實情에 맞게 研究開發해서 効果의인 食糧化 飼料化를 圖謀하고자 于先 Chlorella의

* 全北大學校 養範大學 家政教育科 (Dept. of Home Economics Education) Jeon-Buk National University

營養價에 關한 調査를 試圖하였다.

實驗方法

A) 試料의 調製

1) Chlorella 의 培養

Chlorella *ellipsoidea* 는 다음 Table 1과 같은 培養液에 接種하고 同調培養法에 依해서 培養하였다.

Table 1. Composition of the culture medium of Chlorella *ellipsoidea* (per liter)

KNO ₃	5.0	g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	2.5	g
KH ₂ PO ₄	1.25	g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	2.8	mg
B 0.5PPM H ₃ BO ₃	2.85	mg
Mn 0.5PPM. MnCl ₂ · 4H ₂ O	1.81	mg
Zn 0.05PPM. ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.22	mg
Cu 0.02 PPM. CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.078	mg
Mo 0.01PPM. 3(NH ₄) ₂ O · 7MoO ₃ · 4H ₂ O	0.171	mg

2) Chlorella 의 處理

同調培養法³⁾으로 培養하여 얻은 Chlorella *ellipsoidea* 를 高森⁴⁾의 Chlorella 脫色法으로 處理하고 이 때의 残渣를 乾燥시켜 Chlorella protein 으로서 飼育試驗에 使用하였다.

B) 飼育試驗

1) 試驗動物

体重 約 65g 의 Wistar系 흰쥐(♂)를 試驗動物로 使用하였다.

2) 試驗飼育方法

一群當 4마리로 하고 2마리씩 동일 箱子에 넣어서 飼料와 물(증류수)를 자유로이 먹였다. 飼料는 1日 1回 給與하고 飼育 cage의 構造는 山口⁵⁾ 等의 方式에 따랐으며 構造는 Fig. 1과 같다

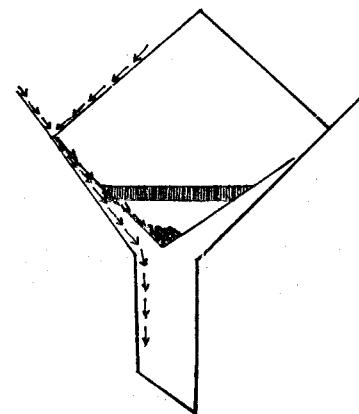


Fig. 1. Structure of metabolic box

Table 2. Composition of the experimental diets (%)

Component	Feeding Group					
	10% Egg	20% Egg	10% Chl.	20% Chl.	10% Chl. + Met.	No Prot
Egg white	10	20	—	—	—	—
Chlorella	—	—	17.20	34.40	17.20	—
DL-Methionine	—	—	—	—	0.37	—
Flour starch	75.45	65.45	68.25	51.50	67.88	85.45
Soy bean oil			5.00			
Filter paper powder			5.00			
Mineral mixture			4.00			
Vitamin mixture			0.35			
Cr ₂ O ₃			0.20			

4日間의豫備飼育期間에는 基礎飼料로써 다음의 Egg Protein 20% 授與群과 같은 것으로 飼育한 후 4日間의 本實驗을 實施하였다. 各群의 飼料組成은 Table 2와 같다.

i) 試驗飼育에 混入한 Mineral mixture 는 Phillips-Hart⁶⁾의 混合鹽Ⅳ⁷⁾이고 비타민 混合劑의 組成은 E.B Hari⁸⁾混合劑이다.

C) 分析試料의 採取 및 處理

1) 尿

箱子 下部에 놓여 있는 採尿器속에 2% 정도의 H₂SO₄ 20ml을 넣어서 每日同一時間(飼料給與時)에 採尿하였고 分析時까지 冷藏 保管하였다.

2)糞

採尿와 같은 時間에 箱子 속에서 採糞하고 約 5% 程

度의 H_2SO_4 30ml에 넣어서 分析時까지 冷藏保管하였다.

D) 化學的 分析方法

1) 全窒素의 定量

Semi-micro Kjeldahl 法으로 定量하였다.

2) Cr_2O_3 의 定量

鮫鳥⁷⁾의 方法에 依해서 定量하였다.

E) 結果의 計算

本實驗結果의 計算은 다음 式에 依하였다.

1) Protein Efficiency Ratio (P.E.R)=

$$\frac{\text{体重變化量}}{\text{摄入N} + .652}$$

2) N-Balance = 摄入N - 排泄N

3) Metabolic Fecal Nitrogen (MFN)

$$= \text{無蛋白群의 Feces 中 N} \times \frac{\text{初期와 終期体重의 平均值}}{\text{無蛋白群의 初期体重}}$$

4) 實際의 消化率 = $\frac{\text{實際吸收N}}{\text{摄入N}} \times 100$

5) Net Protein Utilization (NPU) = $\frac{\text{Net-balance}}{\text{摄入N}}$

6) Endogenous Urinary Nitrogen (EUN)

$$= \text{無蛋白群의 Urine 中 N} \times \frac{\text{初期와 終期体重의 平均值}}{\text{初期体重}}$$

7) Net N-Balance = 無蛋白群의 Balance + N Balance

8) Biological Value (BV)

$$= \frac{\text{保留N} (= \text{實際의 吸收N} - \text{Urine 中 N의 E.U.N})}{\text{實際의 吸收N} (= \text{摺衷기吸收N} + \text{無蛋白群의 MFN})} \times 100$$

結 果

A) 体重變化

飼育試驗한 各 群에 있어서 体重의 變化를 觀察하면 Fig. 2와 같다.

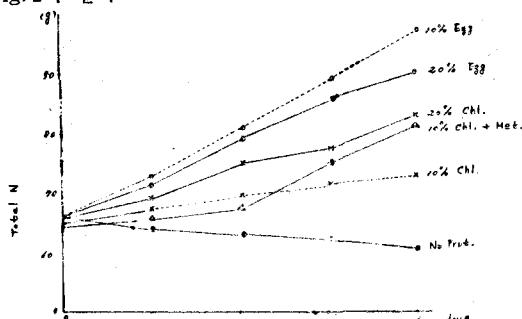


Fig. 2. Changes in body weight, mean value from four rats each are plotted against time in days.

Table 3. Changes in body weight

Group	Initial weight (g)	Weight at 4th days (g)	Change (g)
20% Egg	1 59	87	28
	2 66	87	21
	3 66	89	23
	4 66	88	22
			23.5 ± 1.56
10% Egg	1 60	87	27
	2 76	106	30
	3 64	89	25
	4 66	99	33
			28.8 ± 1.50
20% Chl.	1 60	80	20
	2 73	94	21
	3 65	84	19
	4 67	83	16
			19.0 ± 1.08
10% Chl.	1 59	72	13
	2 72	79	7
	3 65	77	12
	4 68	78	10
			10.5 ± 1.32
+Met.	1 60	69	9
	2 72	93	21
	3 66	82	16
	4 69	89	20
			16.5 ± 2.72
No Prot.	1 60	55	-5
	2 76	68	-8
	3 63	57	-4
	4 68	64	-4
			-5.8 ± 0.87

Egg white 20%를 飼料에 加한 群 (20% Egg과 略함)은 基礎飼料를 繼續먹은 群으로서 体重은 平均 66g에서 90.5g으로 4日間에 24g의 增加를 보았고 10% Egg white Group (10% Egg white과 略함)에서는 오히려 体重增加가 더 顯著하여 平均 66.5g에서 95.0g으로 43%의 增加를 보였다. Chlorella Protein 20%로 飼育한 群 (20% Chl.과 略함)은 Egg 10% 群 보다 낮고 28%의 增加를 보이고 있으며 Chlorella 10%群 (10% Chl.과 略함)은 体重增加率이 2日째부터 鈍화하기始作하였고 4日間에 15%의 增加에 不過하였다.

10% Chlorella protein의 制限因子인 DL-methionine 을 0.37% 添加한 群 (10% Chl. + Met.과 略함)은 제 2日까지는 10% Chl.와 비슷한 低調한 增加를 보였으

나 3~4일째 가서는 显著하게 增加하였다. 試驗飼育期間中에 蛋白質을 전혀 주지 않은 群 (no prot. 라 略함) 은 第1日에는 變化가 없으나 2日째부터 減少되기 시작하여 제4日에는 9%의 体重減少를 보이고 있다. 以上의 体重增加量은 各群별로 平均值와 그 標準差를 求해보면 Fig. 3과 같다. 即 10% Egg Group이 가장 体重增加가 크며 20% Egg Group은 20% Chlorella Group과 有意한 差異가 없다. 以上의 結果로써 20% Chlorella Group은 20% Egg Group과 같은 成長率을 보였으며 10% Chlorella Group은 20% Chlorella Group보다 낮으나 DL-methionine 0.37%를 加 함으로써 20% Chlorella Group과 거의 같은 体重增加를 한다는 것을 알 수 있다.

(B) N-Balance 實驗結果

1)糞中의 N排泄量의 變動

全窒素의 粪中排泄量의 變動은 Fig. 3과 같다.

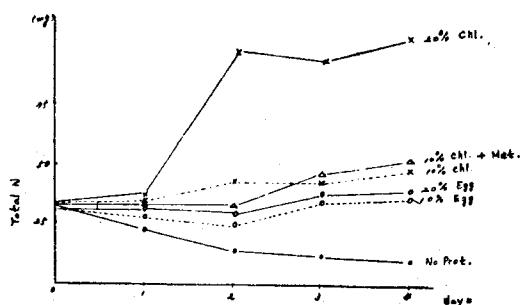


Fig. 3. Excretion of N in feces. Mean values from four rats are plotted against time in days

20% Egg Group과 10% Egg Group은 그 排泄量에 큰 差異를 보이지 않았고 날짜에 따라若干增加의 傾

Table 4. Various values obtained from N-balance study

changes in body weight(g)	Intake (mg)	Nitro- gen excr. (mg)	Balan- ce (mg)	N-ba- lance R. (%)	P. E. N (mg)	* appar- ent digest- ion ratio (%)	M. F. N (mg)	True diges- tion ratio (%)	Nin Urine (mg)	E. U. N (mg)	Urine E. U. (mg)	N Retain- ed (mg)	B. V (%)	Net Prote- in utiliz. (%)		
20% Egg	23.5	1372	423	949	69.1	2.77	151	89.0	66	93.8	274	84	190	1096	85.2	77.2
10% Egg	28.8	722	272	450	62.2	6.37	143	80.0	63	89.6	130	86	44	604	93.2	77.8
20% Chl.	19.0	1338	621	763	35.0	2.16	290	79.1	64	83.6	332	80	252	906	78.3	63.3
10% Chl. + Met.	10.5	659	363	271	44.2	2.47	180	72.6	60	81.7	182	76	106	426	79.1	61.2
No Prot.	-5.8	14	126	112	-	-	56	-	-	-	70	-	-	-	-	-

All values are means from 4 rats * average values from 4 days

向을 보였다. 10% Chlorella Group과 10% Chl. + Met. Group은 Egg Group보다若干增加하였다. 그러나 20% Chl. Group은 显著하게 增加하여 제2日에는 84mg으로서 頂點에 到達하여 維持되었으며 no-protein Group은 제2日부터 显著하게 줄어서 約 10mg程度의 排泄을 보였다.

2) 尿中の 窒素排泄量의 變動 尿中の 全窒素 排泄量은 Fig. 4와 같다.

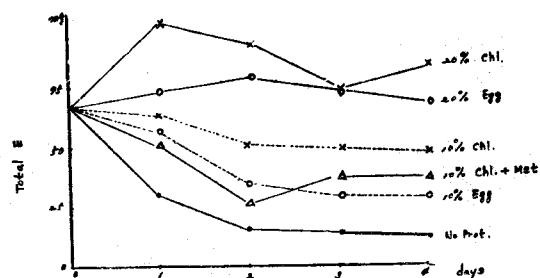


Fig. 4. Urinary excretion of N. Mean values from four rats are plotted against time in days.

20% Egg Group은 큰 差異가 없고 10% Egg Group은 显著하게 減少하였는데 体重增加와 關係가 있는 것 같다. 10% Chl. + Met. Group은 10% Egg Group과 거의 비슷하게 減少하였으며 10% Chl. Group은 그 減少率이 적고 約 25mg의 減少를 보이고 있다. 20% Chl. Group은 显著하게 增加하여 제1日에 가장 높았으며 점차 回復되었고 No-Protein Group은豫期한 바와 같이 甚한 減少를 보였다

3) Nitrogen Balance Study에 依한 比較值 体重變化 窒素摶취량 粪尿中の 窒素排泄量으로부터 計算한 比較值는 Table 4와 같다.

即 單位 단백질 섭취량에 대한 체중변화률을 나타낸 P.E.R를 보면 10% Egg Group이 가장 크고 다음으로는 10% Chl. + Met. Group이며 가장 낮은 것은 20% Chl. Group이다. True digestion ratio는 20% Egg, 10% Egg Group이 각각 約 94%, 90%의 높은 값을 보이나 20%Chl. 10%Chl. Group은 約 84%, 82%로 Chlorella 授與 Group은 Egg 授與 Group보다 約 10%程度 낮았다.

Biological Value는 10% Egg, 10%Chl. + Met. Group이 각 93.2%, 92.2%로 最高値를 보이고 20%Chl. 10%Chl. Group은 각각 73.3% 79.1%로 낮은 값을 보이고 있다.

C) Cr₂O₃標識法에 依한 消化率

糞中의 Cr₂O₃排泄量의 變動을 表示하면 다음 第5表와 같다.

Table 5. Amounts of Chromium oxide excreted in feces (mg)

Days	1	2	3	4
Group				
20% Egg	29.0	33.2	77.6	66.2
10% Egg	33.0	5.28	89.0	57.0
20% Chl.	40.4	66.2	61.0	44.8
10% Chl.	40.4	50.8	61.0	50.8
10% Chl. + Met.	24.8	48.6	76.6	49.6
No Prot.	31.0	46.6	36.2	25.8

Mean values from 4 rats.

Cr₂O₃은 腸內에서 吸收되지 않기 때문에 섭취한 飼料量을 反映한 것인데 단백질을 授與한 각群間に 顯著한 差異는 없으나 no-protein group은 섭취량과 比較하여 排泄量도 적었다.

Cr₂O₃標識法으로 計算한 消化率은 Table 6과 같다.

Table 6. Digestion ratio calculated from chromium labelling method.

Group	N in diet Cr ₂ O ₃	N in feces* Cr ₂ O ₃	Digestion ratio from N
20% Egg	15.80	1.18	92.6
10% Egg	8.05	1.39	82.8
20% Chl.	16.15	2.33	85.6
10% Chl.	8.18	1.44	82.4
10% Chl. + Met.	8.33	1.58	81.1

All values are means from 4 rats

* Average from last two days.

全窒素와 Cr₂O₃의 比率로부터 計算한 消化率은 20% Egg Group이 가장 높은 92.6%를 나타냈으며 다음으로는 20%Chl. Group이 82.4%이고 10% Chl. + Met Group이 81.1%로 가장 낮았다.

考 察

1. 實驗方法 및 結果에 關한 考察

本實驗에서 試圖한 同調培養法³⁾은 屋内에서 純粹培養하는데는 좋은 方法으로 알려져 있으며 Chlorella 處理는 乾燥한 Chlorella를 그대로 授與한 方法도 있으나 이것은 消化率이 나쁘다⁴⁾ 아세톤 메타놀 處理 등이 있으나 메타놀 중에서 끓인 것이 가장 좋으며 이方法으로는 단백질외의 可溶性 窒素化合物이 모두 溶出되고 또 脱色되고 無臭 白色의 粉末을 얻을 수 있다. 이와같이 處理해서 얻은 Chlorella는 蛋白質含量이 55~60%된다.

本實驗에서도 高森⁴⁾의 方式에 따라 메타놀로 處理하여 非蛋白性 窒素은 除去하였고 本實驗에 使用한 Chlorella는 단백질 含量이 54.14%이 었으며 20% Chl. Group에는 34.4g/100g. 10% Chl. Group에는 17.2gr을 混入하였다.

体重變動에 있어서 가장 增加에 顯著한 것은 10% Egg Group인데 20% Egg Group보다 더 하였다. 이것은 20% Egg Gruop은 너무 많은 蛋白質供給으로 오히려 有害한 效果를 나타낸 것이라고 또 P.E.R 等이 낮은 것으로 볼 수 있다.

그리고 20% Chl. Group은 20% Egg Group 10% Chl. + Met. Group과 거의 같은 것으로 보아 Chlorella 단백질은 잘 處理하면 重要한 蛋白源으로써 有用하다는 것을 알수 있다.

糞中의 窒素의 排泄은 飼料의 섭취량 (2중의 N含量) 그리고 消化率에 依하여 左右될 것이다. 따라서 20%Chl. Group이 10%Chl. Group보다 더 많은 질소를 粪中에 排泄한 것은 當然하다. 그러나 Egg protein 섭취 群은 10%나 20%가 거의 같았는데 이것은 Egg protein의 높은 消化率때문으로 본다. 다음 尿中 N의 排泄는 20% Egg, 20% Chl. Group을 除外하고는 모두 下降하여 2~3日째에 平均值를 이루고 있으며 이런 發育狀態는 豫備飼育 때문이라고 본다.

Cr₂O₃는 腸內에서 吸收되지 않기 때문에 飼料와 함께 섭취된 Cr₂O₃量은 飼料 섭취량과 比例할 것이고 N-Balance study의 正確性을 檢索하기 위하여 飼料에 添加된다. 이 實驗結果는 排泄量이 no-protein group에

서 全量 約 70mg^o이고 나머지 群들은 11~126mg^o로大概 비슷하다. Cr₂O₃의 排泄試驗에 關해서 鮫島⁹⁾는 河馬에서 Cr₂O₃가糞中에 나오는데 5日이나 결핍을 發見하고 이와 같은 時差때문에 오는 誤差를 경고하고 있다. 훈련에서는 그와 같지는 않으나 少少間에 發育狀態가 있을 것으로豫想된다.

2. Chlorella의 營養價에 關한 考察

Chlorella의 營養價에 關한 研究者들의 報告를 보면 PER에 對하여 Lubitz¹⁰⁾는 2.19 Cook¹¹⁾等은 Scenedesmus(10% protein level)에서 1.81를 얻었다. 本實驗에서는 메타놀 處理한 Chlorella 20% level에서 2.16으로 Lubitz와 비슷하다. 10% level에서는 2.47로써 다른 研究者들의 값보다 높으며 특히 methionine을 添加하면 더욱 높아져 3.16을 보였고 20% Egg보다 더 높았다.

消化率에 關해서 Cook¹¹⁾等은 乾燥와 autoclaving의 差는 없으며 65.5%이고 boiling으로若干增加하여 73%의 값을 얻었고 速水⁹⁾는 Chlorella 58.0% 脱色 Chlorella가 70% 神位⁹⁾等은 67~70%의 값을 얻었다. 本實驗에서는 N-Balance 法으로 20%level에서 83.6% 10% level에서 81.7% methionine을 添加해서 84.9% 이었다. 結局 Chlorella의 단백질은 處理如何에 따라 그리고 아미노 酸組成을 補正 함으로써 卵蛋白에 適色 없는 飼料가 될수 있음을 알 수 있고 大量培養, 適切한 處理加工 等으로 世界的인 食糧難 解決에 도움이 될수 있을것으로 看做된다.

結論

本研究는 Chlorella의 食糧化를 目的으로 于先 그것의 營養價를 調査한 結果 다음과 같다.

1) 메타놀로 處理한 Chlorella protein 20% 授與群과 Chlorella 단백질 10%에다 DL-methionine 0.37%를 添加한 群은 体重增加에 있어서 10% Egg Group보다 적었으나 20% Egg Group과는 거의 같았다.

2) N-Balance Method로 測定한 消化率은 20% Chlorella Group 81.7% 이었고 10% Chlorella Group에 Methionine을 添加한 것은 84.9%로 20% Egg Group 93.8% 10% Egg Group 89.6% 보다 낮았고 生物價는 20% 및 10% Chlorella Group이 각각 78.3% 79.1%로써 20% Egg protein Group 85.2% 10% Egg Group 93.2%보다 낮았으나 10% Chlorella Group DL-Methionine 0.37%를 添加한 것은 92.2%로써 10% Egg Group과 비슷하였다.

文獻

1. Spoehr H.A. and H.W. Milner: Plant physiol. 24, 120-149. 1949.
2. Fink, H. On the protein Quality and the Liver Necrosis Preventive Factor of Unicellular Algae (Presented at the conf. solar Energy: the scientific Basis, Tucson, Arizona, Oct. 31 and Nov. 1, 1955)
3. Tamiya, H., E. Hose, K. shibate, A. Mituza, T. Iwamura, T. Nihei, and T. Sasa. Kinetics of growth of Chlorella, with special to its dependence on quantity of available light and on temperature.
4. 高森乙松: クロレラとその飼料價値 (3) 畜産の研究 20, 921-924, 1966.
5. 山口迪夫, 神立誠; シロネズミの飼育方法に 關する 考案 (代謝試驗用飼育箱) 生化學, 33, 549-550, 1961.
6. Phillips, P.H. and E.B. Hari: J. Biol. Chem. 109, 657, 1935.
7. 東京大學 農學部 農藝化學教室 編 實驗農藝化學(上) 1960.
8. 速水決; 國立營養研究所 研究報告 15-16. 1957.
9. 鮫島宗一, 龜高正夫: 野生動物の消化に 關する研究. 動物園水族館雜誌 4, 10-12, 1962.
10. Lubitz, J.A: The protein quality, and composition of algae, Chlorella. 71105. J. Food Sci. 28, 229-232, 1962.
11. Cook, B.B. and E.W. Lau. The protein quality of wastegrown green algae alone and in combination with cereal and milk proteins. Fed. Proc. 20, 371, 1961.
12. Tamura, Eiyogaku. Zassi. 17, 87-88, 1959.
13. Kandatsu, M. und Y. Tadashiko: Überden Nahrwert des Eiweisser der einzelligen Grunalge Chlorella (II). Die verdauungseozoff: Zienten Von Kaninchen. J. Jap. Soc. Food und Nat. 16, 411-419, 1963.