



綠葉 蛋白質의 開發

金 俊 平

(中央大 教授)

I. 緒 言

家畜의 飼料로 쓰이던 牧草 野菜 草木의 軟質部를 原料로 하여 그중에 들어 있는 蛋白質을 抽出 分離한 濃縮蛋白質을 綠葉蛋白質 (Leaf Protein Concentrate: LPC)라 한다. 이 綠葉蛋白質은 이들 農產廢棄物이나 野生植物에서 蛋白質 등 營養物質을 抽出 分離調製하여 世界的으로 不足한 蛋白食糧을 解決하고자 이들의 開發研究가 20餘年前부터 추진되고 있으나 아직까지 穀類나 豆類의 蛋白質 研究처럼 많은 研究는 없고 또한 研究對象도 制限되고 있는 實情이며 未解決된 分野도 많다. 우리나라에서는 各種 植物잎에서 蛋白質을 물로 抽出 分離한 實驗結果를 報告한바 있다.

綠葉植物을 간단하게 磨碎하여 그 汁을 加熱하여 凝固시킨후 分離하는 研究로 부터 시작하여 最近에는 여러 抽出劑를 利用하여 効率的으로 蛋白質을 抽出하고 여기에 여러가지

沈澱劑를 適切히 利用하여 有效蛋白質을 分離하고 있다. 分離된 產物중 消化性이 없는 色素物質 및 有害物質은 除去하여 不足한 蛋白食糧에 代替하는 것이 그 目的이 될 것이다.

II. 蛋白質의 所在 및 性質

綠葉細胞는 細胞質(cytoplasm)과 葉綠體(chloroplast)으로 大別된다. 細胞質에는 mitochondria, 核 空胞(vacuole)가 存在하며 葉綠體가 分散되어 있다. 綠葉蛋白質은 細胞構造로 보아 細胞質蛋白質 葉綠體蛋白質 및 核蛋白質로 나눈다. 其他 細胞壁蛋白質 mitochondria 蛋白質, ribosome 蛋白質이 있음을 알 수 있다. 核蛋白質은 元來核에만 存在하는 것으로, 생각되어 왔으나 細胞質 葉綠體에 存在하는 顆粒 ribosome에도 存在함을 알았다. 核內的 核蛋白質은 그 乾燥重量의 50% 以上 存在하며 DNA와 混合한 鹽基性蛋白質 histone을 含有한다. histone은 chromosome의 主構成成分이다.

核의 仁에는 鹽基性蛋白質의 存在가 알려져 있으며, ribosome형태 顆粒중에 RNA와 結合되고 있다. 細胞質과 葉綠體의 ribosome에는 각각 同量의 RNA와 結合된 蛋白質이 들어 있으며 超遠心法에 의한 沈降係數로 보아 각각 80S ribosome 70S ribosome이라 부르고 있다. 核蛋白質은 全蛋白質의 1~2%程度이며 生理的 意義가 깊다. 綠葉蛋白質을 營養價로 볼때 細胞質蛋白質과 葉綠體蛋白質이 그 重要蛋白質이며 이들 兩蛋白質의 細胞內에 들어있는 量的比를 보던 다음 표 1와 같다.

표 1. 시금치의 細胞成分 組成의 比

組 織	乾物重量에 對한 %	新鮮重量에 對한 %	全窒素에 對한 %
細 胞 膜	23.8	2.5	
原 形 質	76.2	8.2	100'
a) 葉 綠 體	26.8	2.7	37.9
b) 細胞質蛋白質	15.8	1.9	39.3
c) 水溶性 低分 子量物質	33.6	3.6	22.8

任意的으로 100%로 하다.

(1) 細胞質 蛋白質

綠葉을 磨碎한 것은 물 0.2~0.3% NaOH 溶液 또는 알칼리緩衝液(例로 PH 9.2 硼砂緩衝液)에 잘 녹는 蛋白質로서 이들은 거의 PH 4~4.5에서 等電 沈澱한다.

Widman은 시금치로 부터 細胞質을 硫酸分劃하여 두 重要部分을 얻어 Fraction I protein, Fraction 2 protein이라 하였다. 前者는 硫酸 0.32 飽和로 沈澱시켰으며 全細胞蛋白質의 70~80%를 占有하고 있음을 알았다. 이 蛋白質의 沈澱係數는 18S이다. mitochondria에는 35~40%의 蛋白質이 있고 이의 約 40%는 不溶性의 構造蛋白質이다.

(2) 葉綠體蛋白質

全葉蛋白質의 約 50%가 葉綠體에 存在하

며 約 35~45%가 脂質 및 chlorophyll과 結合한 complex를 만들어 lamella細의 構造蛋白質을 構成하며 光合作用에 있어서의 明反應에 關與한다. 普通의 溶劑에 不溶性이며 0.3% NaOH性 60% 알코올溶液과 加熱하거나, phenol: acetic acid: water [2:1:1 (w/v/v)]와 같은 detergent에 抽出된다. 殘部の 65~55%의 溶性蛋白質과 70S ribosome는 stoma에 存在하며 光合성에 있어서의 暗反應에 關與하고 있다. 이 蛋白質은 葉綠體膜이 磨碎에 의해 破壞될 때 물 稀알칼리性 緩衝液에 易溶性이며 細胞質의 Fraction I Protein (18S)와 같은 性質을 가지고 있다. 葉綠體蛋白質의 全葉蛋白質에 對한 比率는 植物의 種類나 生理的 狀態에 따라 變動한다.

III. 抽出 分離法

osborn은 시금치와 alfalfa의 生葉 및 乾燥葉에서 蛋白質의 分離 精製法을 시도하였다. 綠葉에서 물 稀알칼리溶液 0.3% NaOH성 60% 알코올溶液을 써서 蛋白質을 抽出하여 等電沈澱法 알코올添加 凝固法에 의해 蛋白質을 分離하여 이것을 다시 精製하였다. 그러나 그 얻어진 標準品중 하나는 窒素含量이 16.3%程度 이었다. chibnall은 시금치의 無傷葉을 少量의 ether에 浸漬하여 原形質 分離를 일으키어 이것을 壓搾하여 먼저 空內容物을 除去한 후 잎을 磨碎하여 蛋白質을 抽出하였다. 混在한 葉綠體는 濾紙 펄프층에 通過시켜 除去하고 細胞質 蛋白質을 單離 精製하였다. 이와 같이 하여 얻은 蛋白質도 窒素含量이 16.25%程度로 滿足할만한 結果는 아니었다. 그 후 Miller Lugg Tristran 神立 掘米 保井等에 의해 改良方法이 研究되었다. 最近 Jennings

生葉蛋白質 抽出劑로 phenol : 초산 : 물 [2 : 1 : 1 (w/v/v)]이 適當하다는 報告가 있었다.

이 抽出劑로서 豆科生葉에서 全窒素의 98% 다른 生葉에서 91~96%까지 抽出하였다. 單離精製된 蛋白質은 茶褐色이며 窒素 含量도 11% 程度이다. 生葉을 常法으로 單離精製한 蛋白質의 窒素含量은 大概 10~15%이다. 細胞質蛋白質은 淡黃褐色~茶褐色이며 葉綠體蛋白質은 淡綠色~綠色으로서, 이들 蛋白質의 隨伴物質을 Lugg는 pentosan pectin등으로 생각해 왔으나 神立는 phenol性物質, 掘米는 核酸, 保井등은 外糖質의 存在를 認定하고 있다. 綠葉에 存在하는 phenol 化合物의 反應에는 두가지 形式이 있다. 첫째는 綠葉에 있는 低分子의 phenol 化合物이 含有되어 있어 이들이 polyphenol oxidase에 의해 酸化되어 quinone基를 가진 褐色化合物로 되며 다시 蛋白質과 結合하여 그 生化學 物理的性質을 改變시키고 있다. 둘째는 綠葉에 存在하는 高分子 phenol 化合物 tannin이 蛋白質과 不溶性化合物을 만들어져 不溶性으로 되는 反應이다. 이들 反應을 防止시키는데 tannin과 選擇적으로 結合하여 蛋白質에 影響을 주지 아니하는 物質을 加하는 경우도 있다. 이 目的에 가장 適合한 것이 polyvinyl pyrrolidone이다.

綠葉의 磨碎中의 大氣와 接觸은 蛋白質의 SH基의 酸化를 促進시킨다. 이들의 防止에는 還元劑를 抽出溶劑에 加할 必要가 있다. cysteine, glutanien, thioglycolate vitaminC등도 쓰이지만 普通 쓰이는 것은 mercaptoethanol (Dithio threitol)등이다. 이들은 phenol 化合物의 酸化도 部分的으로 防止한다. 保井등은 各種生葉을 먼저 80%의 methanoek와 같이 磨碎하여 酵素作用을 停止시킨후 다시 phenol 化合物 遊離아미노酸 可溶性糖質 脂質 色素類 pectin등을 完全除去하기 위해 熱 methanol,

熱 chloroform methanol混液 熱水 熱食鹽水 0.5% 蓼酸암모니움溶液 熱 ethanol 溶液으로 順次 前處理한후 蛋白質分離用 試料를 調製하였다. 이 前處理로서 細胞質蛋白質은 PH 9.2 硼砂緩衝液에 不溶으로 되나 0.3% NaOH性 60% 熱알코올로 試料의 全窒素의 90~95%가 抽出되었다.

最近 Betschart는 alfalfa 生葉에서 蛋白質分離에 있어서 蛋白質의 抽出量을 最大로 하고 그 變性을 最少限으로 줄이기 위해 0.5M sucrose, 7.5mM ascorbic acid, 6.6mM cysteine-HCl 14.2mM mercaptoethanol를 함유한 tris buffer PH 7.4의 緩衝液을 써서 4°C에서 生葉을 磨碎하면 좋은 結果가 얻어진다고 報告한바 있다. 이 方法으로서 綠葉蛋白質의 60.8%에 해당된 蛋白質이 抽出되었다. 그 抽出順序는 다음 Fig 1과 같다.

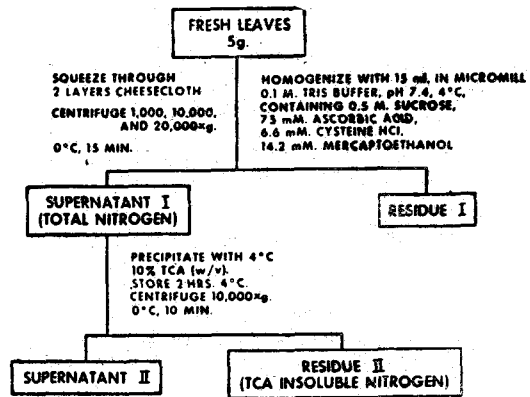


Figure 1. Extraction procedure which gave optimum yields of leaf protein.

(1) 蛋白質의 營養價

蛋白質의 消化率이 乾草를 調製할때 低下되는지에 對한 實驗報告는 그리 많지 않으나 一例로 300°F에서의 瞬間乾燥科法과 170°F以上에서의 通風乾燥法에서의 良質의 乾草가 調製되었으며 이 調製된 乾草의 蛋白質과 여러 營養素의 消化率 低下 實驗 結果 거의 消化率 低下는 찾아 볼수 없었다. 또한 다른 여러 研究

者에 의한 生葉에서 얻은 蛋白質과 乾草에서 얻는 蛋白質의 여러 酵素에 對한 消化率 實驗에 있어서도 兩者 다 別 差異가 없음을 알았다.

綠葉에서 얻는 蛋白質의 窒素含量은 Lugg의 指摘한바와 같이 16.1~16.9%로 생각되며 Block는 蛋白質의 窒素含量이 13.5% 이상이면 그 아미노酸 分析値는 充分히 信賴할 수 있다고 하였다. 지금까지 얻어진 Fraction I protein, LPC의 아미노酸 組成을 다음 표 2, 3에 수록하였다.

표 2. 綠葉蛋白質의 아미노酸分析値(같은 全蛋白質窒素에 對한 N%)

蛋白質標品	青刈大麥	Alfa-lfa	시금치	시금치	Alfa-lfa	양배추
	抽出蛋白質	抽出蛋白質	細胞質蛋白質	原形質蛋白質	細胞質蛋白質	全葉抽出蛋白質
蛋白質의 窒素含量 (%)	14.10	14.15	16.25	11.2	15.73	13.47
Amide	5.08	5.12	5.60	5.42	5.20	5.60
Asp	6.12	6.46	6.98	6.35	6.46	6.50
Glu	6.84	7.25	6.75	6.88	7.00	6.80
Ser	4.54	4.50	4.18	4.11	4.08	4.95
Thr	4.00	4.39	4.24	4.24	4.18	3.76
Pro	3.95	3.77	3.93	3.95	3.23	3.80
Gly	7.11	6.57	5.47	6.25	6.30	5.90
Ala	6.54	6.17	7.11	6.15	6.00	5.70
Val	4.65	4.87	4.84	4.66	4.88	5.00
Cys	1.34	1.17	1.39	1.30	1.29	1.86
Met	1.42	1.36	1.30	1.30	1.35	1.33
Ile	3.34	3.49	3.62	3.20	3.22	3.68
Leu	6.13	6.66	6.67	6.61	6.50	6.68
Tyr	2.31	2.30	2.70	2.60	2.80	2.20
Phe	3.16	2.28	3.64	3.12	3.02	2.93
Lys	8.71	8.61	9.64	9.91	8.72	9.74
His	3.87	4.07	4.72	4.46	5.23	4.20
Arg	12.89	12.95	13.50	13.06	16.50	13.30
Try	2.02	1.94	1.70	1.70	1.90	1.93
Total recovery	94.02	94.90	97.98	95.27	96.95	95.28
Total humin-ammonia	4.24	4.00	3.57	4.96	3.01	4.20

* Chibnall, A.C., Rees, M.W. and Lugg, J.W.H.: J. Sci. Food Agr., 14, 234 (1963)

各種蛋白質의 아미노酸을 比較할 때 雙子葉植物과 單子葉植物 또는 다른 種間의 植物사이의 差異는 찾아볼 수 없다. 綠葉蛋白質의 特徵은 lysine 含量이 穀類에 比해 높다. 그러나 methionine cystine의 含黃아미노酸의 含量이 적어 第1制限아미노酸으로 methionine을 들 수 있다. 아미노酸 組成으로 綠葉蛋白質은 脫脂 大豆蛋白質 程度로 생각할 수 있다.

IV. LPC의 一般的 性質 및 利用

LPC를 多量 生産하는데 있어서 材料인 植物의 選擇 採取의 時期와 再生能 施肥法 栽培期間 등이 問題로 檢討된다. 普通 綠葉는 그 窒素의 55~75%가 抽出可能하다. 한 例로 小麥의 綠葉에서의 蛋白質의 收量은 1954년에 1ha 當年 400kg였으나 1968년에 1ha當 530kg의 N施肥로 2,000kg까지 높이었다. 또 豆科 牧草에서는 1ha 當年間 1,200kg의 收量에 達하였으며 이들의 收量도 雨量이 많은 熱帶地方에서는 각각 3,000kg, 5,000kg까지 可能하다. 이들 材料로 되는 植物의 選擇과 品種改良은 LPC生産의 重要條件이 될 것이다.

Hartman등은 alfalfa에서 얻는 全汁液을 spray dry하여 얻는 LPC의 一般組成을 조사한 바 水分 4~5 蛋白質 31~35% 脂質 6% 纖維 0.7~0.9% 灰分 12~13%이었고 Subba, Raw등이 alfalfa에서 얻는 汁液을 加熱分別 凝固한 細胞質蛋白質 區分 LPC와 葉綠體區分 LPC의 一般組成을 分析한 結果 각각 蛋白質 77%, 46% 脂質 5%, 13.5% 纖維 0.5%, 3.5% 灰分 1.5% 11.0%의 結果를 얻었다. LPC의 아미노酸 組成은 材料의 種類의 差에 따라서도 別差異 없이 一定하다. 一般的으로 LPC의 生物價는 70~80 消化率 ' 75~85%로

表 3.

蛋白質의 아미노酸組成(아미노酸 g/ 窒素16.0g)

蛋白質	부 우 잎			시 금 치			白	赤	아	수	구	라	LPC ^(b)				
	前處理葉	bulk protein	cytoplasmic protein	chloroplast protein	bulk protein	cytoplasmic protein ^(c)							Fraction I protein ^(c)	크	크	아	수
全 窒 素(%)	5.63	16.26	14.31	12.01	16.39	16.25		16.05	15.61	15.53	16.08	16.29	16.28	9.44	10.6	5.15	8.94
Humin態 窒素	6.74	6.36	5.55	8.42	3.03	2.22		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
過剩암모니아態 窒素	0.43	0.66	1.56	3.01	0.32	1.34		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
아마이드態 窒素	7.99	4.53	4.07	4.00	5.59	5.60		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Arg	5.3	5.7	6.4	3.1	6.7	6.7	7.8	5.4	5.0	4.7	2.8	5.1	5.1	6.4	5.8	6.5	6.1
His	1.9	2.2	2.0	2.2	2.2	2.8	3.3	1.7	2.0	1.5	1.5	1.7	1.6	2.5	2.1	2.5	2.1
Lys	6.9	6.9	4.7	5.0	6.8	8.1	5.4	5.9	5.0	5.5	5.3	5.5	5.8	6.8	6.3	6.2	7.2
Tyr	1.8	5.0	4.5	3.9	4.7	5.6	6.3	4.9	4.9	4.8	4.4	4.7	4.8	4.4	4.5	4.0	4.1
Try	1.0	1.7	1.7	0.4	1.7	2.0	—	1.7	1.6	1.4	1.4	1.8	1.4	1.7	1.9	1.6	2.1
Phe	5.6	7.1	6.7	6.5	6.6	6.9	5.2	7.0	7.2	7.7	7.2	7.1	6.5	6.1	6.4	6.8	6.1
Cys	—	—	—	—	—	1.9	—	—	—	—	—	—	—	0.7	0.6	0.9	0.9
Met	1.5	2.3	2.2	2.5	2.0	2.2	2.4	1.9	1.8	2.0	1.8	2.0	1.8	1.7	1.9	0.9	1.6
Ser	4.1	3.9	4.4	2.6	4.5	5.0	2.9	4.5	3.0	3.7	4.0	4.5	4.2	4.6	4.3	5.3	5.4
Thr	4.5	4.3	4.8	3.1	5.3	5.8	5.8	5.0	3.5	4.2	4.3	5.2	4.7	65.4	5.1	5.3	5.2
Leu	8.6	11.4	10.2	10.1	10.2	10.0	8.8	10.5	10.7	11.4	10.3	10.6	9.0	9.5	9.6	9.9	9.5
Ile	4.6	5.2	5.9	5.4	5.6	5.4	2.7	5.5	5.7	6.1	5.9	5.9	5.0	5.3	6.6	5.3	5.0
Val	6.0	6.8	7.0	6.4	7.3	6.5	5.1	7.3	7.5	7.6	7.2	7.1	6.5	6.8	6.3	5.9	6.1
Glu	10.4	12.1	11.6	9.9	12.1	11.3	11.8	12.0	11.9	12.1	11.0	12.4	10.4	11.5	11.4	11.2	11.6
Asp	9.5	10.9	10.8	9.3	11.4	10.6	10.0	10.8	10.7	10.7	10.6	10.8	10.8	10.0	10.2	10.2	10.0
Gly	5.2	6.6	5.3	5.6	6.1	4.7	5.3	6.0	6.7	6.8	6.1	6.3	5.4	5.4	5.7	5.6	5.7
Ala	5.7	6.9	5.7	5.6	6.4	7.2	5.8	6.8	6.6	6.8	6.4	6.9	6.0	6.1	6.4	6.5	6.3
Pro	4.3	5.1	4.7	4.2	5.1	5.2	4.7	5.6	5.0	5.7	5.0	5.4	5.0	5.1	4.8	5.3	5.0
窒素回收率	102.0	101.7	95.7	90.2	100.9	98.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(.) humin態, 過剩암모니아態, 아마이드態의 窒素는 全窒素에 對한

(*) A.C. Chibnall et al.: J. Sci. Food Agr., 14, 234 (1963); (·) Gerloff E.D. et al.: J. Agr. Food Chem., 13, 139 (1965); (°) Kawashima,

보며, 加熱 乾燥 調製하면 각각 5~6, 10~20% 低下하다고 본다. 加熱에 의한 LPC蛋白質의 營養價의 低下의 한 原因을 LPC중에 含有한 脂質의 酸化에 의한 것으로 생각한다.

Lima등에 의하면 LPC에는 2.5~8.4%의 脂肪酸이 含有하며 特히 lenolenic acid(21~54%)와 lenoleic acid(3.8~25%)가 많이 含有되어 있기 때문이라 생각하였다. 또한 共存한 還元糖과 遊離-아미노酸은 Maillard反應을 일으키는 原因으로 생각한다. LPC를 다른 蛋白質과 混用하였을 때의 效果에 對해서도

若干의 報告가 있으며 병아리에 對한 實驗結果, 땅콩단백질과 燕麥 LPC의 gross protein value는 각각 40과 66이지만 兩者를 2:1~1:2로 混用하였을 때는 60~65로 上昇시킬 수 있었다.

또한 小麥粉과 小麥 LPC의 rat에서의 蛋白質의 PER(蛋白質 效率)는 각각 1.73, 1.98이지만 兩者를 8:2~2:8의 比로 混用하였을 때는 2.16~3.02로 上昇됨을 알 수 있었고 또한 多量의 蛋白質이 肝臟에 蓄積된 것을 알 수 있었다.

V. 結 言

爆發的으로 增加하는 人口에 比해 食糧生産은 限界點에 達하고 現在 地球上 人口의 約半數가 低營養, 蛋白質 攝取에 異常이 있으므로 이를 解決한다는 것은 쉬운 일이 아니다. 이들 食糧危機를 打開하는 方法으로 여러 食糧資源開發이 추진되고 있다. 最近에 와서 從來 家畜의 維持飼料로 重要한 蛋白質源의 하나인 綠葉蛋白質(靑刈作物 牧草 野菜 未利用草類)을 새로운 飼料蛋白質로서의 開發이 활발하

다. 綠葉에 있는 蛋白質을 適當한 溶媒로 抽出分離 精製하여 이를 家畜飼料뿐만이 아니라 人間의 不足한 食糧資源으로 단독으로 또는 混合 利用하여 飢餓狀態에 있는 人類을 구하여야 할 것이다.

筆者는 本食品工業誌에 蛋白食糧 資源의 開發에 對해 5회에 걸쳐 투고한바 있다. 充分한 調査를 못하고 투고한 경우도 있어 심히 송구스럽게 생각합니다.

앞으로 이것을 기초로 하여 더 좋은 原稿를 쓰고저 합니다. 그동안 協助하여 주신 食品工業協會 여러분에게 感謝를 드립니다.



◎ 카페인 : 코오피 茶 中에 있는 알칼로이드劑 (트리메틸크산틴) 이것은 혈압을 올리고 간장을 刺

戟하여 일반적으로 피로를 잊게 하는 작용이 있다.

코오피豆는 1%의 카페인을 함유하며 코오피는 18mg/온스 한컵중에는 100mg을 함유한다.

茶는 1.5-2.5% 카페인을 함유하며 음료에는 12-15mg/온스 있고 콜라음료에는 3-4.5mg/온스를 포함하고 있다.

◎ 캐러멜 : 糖을 응집 이상으로 가열해서 만든 갈색물질

식품첨가물로 허가되고 있으며 Black dack로 알려져 있다.

◎ 인 비브 : 生體條件下란 意味다. 시험관내에서의 In Vitro와 구별한다.

◎ 유비퀴논 : 천연적으로 널리 분포하는 1群의 색소에 주어진 일반명이다. 비타민 결핍의 쥐의 간장중에서 처음 발견되었다.

◎ 乳酸 : 유당을 발효시켜서 만든다. 산유음료의 풍미성분이다.

유산은 유해균의 번식을 억제하는 효과를 가지고 있다.

◎ 아폴리나리스 : 알칼리성으로써 많은 기체를 포함한 소금, 나트륨·칼슘·마그네슘의 탄산염을 함유한다. 아르계곡(프러시아)의 샘에서 얻어진다.

◎ 질산염 : 많은 식품중에 원래 존재하며 대부분은 미변화형태로 尿中에 배설되나 특히 유아의 경우에는 아질산염으로 변화할수 있다.

◎ 카세인 : 우유의 주요 단백질(약 3%) 락탈부민과 락트글로불린이 우유의 1%를 차지한다.

카세인은 산성조건에서 침전하지만 위의 두 물질은 침전하지 않으므로 지이즈는 카세인을 함유하고 만 두 물질은 웨이에 남는다.

◎ 카탈라아제 : 식물 동물에 있는 산소로서 과산화수소로 분해한다.

이것은 복합단백으로 헤프(헤모글로빈의 헤프와 동일)를 보결 분자족으로서 가지고 있다.