

미역의 아미노酸 및 비타민에 對한 營養學的 研究

釜山大學校 文理科大學 家政學科

李 鉉 琪

(1965. 11. 4 受理)

Studies on the Nutrition of Amino Acids and Vitamins in *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar.

by

Hyun Ki Lee

Department of Home Economics, Pusan National University

(Received Nov. 4, 1965)

Abstract

Leuconostoc mesenteroides P-60, *Lactobacillus arabinosus* 17-5, *Streptococcus faecalis* R have been successfully used for the quantitative determination of sixteen amino acids in *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar hydrolysate by alkaline and acid hydrolysis for successive two hours from two to twelve hours, by means of microbiological assay. And thiamine and riboflavin were fluorometrically determined by thiochrome and lumiflavin in powder (80mesh) of *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar.

The results were as follows:

- 1) Arginine content was the highest in hydrolysate for two hours, but longer the hydrolysis, the more content *Undaria pinnatifida* was decreased.
- 2) The adequate contents of other amino acids were obtained by hydrolysis for six hours.
- 3) Growth check and improve of *Lactobacillus* were not identified in determination by microbiological assay for *Undaria pinnatifida*.
- 4) The following values were obtained in *Undaria pinnatifida* hydrolysate six hours: asparatic acid 466, arginine 230, lysine 317, histidine 74, isoleucine 242, methionine 202, phenylalanine 256, proline 231, threonine 231, tyrosine 161, valine 415, glycine 302, leucine 414, glutamic acid 625, cystine (5 hrs.) 53 and tryptophan (8 hrs.) 90mg per nitrogen one gram.
- 5) Protein score was 81 (limiting factor was isoleucine) and essential amino acids pattern was of satisfactory results. And methionine contained was higher than FAO value or milk value.
- 6) Sulphur contained amino acids (methionine plus cystine) contained in *Undaria pinnatifida* were 225 mg/N-g. That was satisfactory results.
- 7) Absorption spectrum of wave length were not different 1% HAc from buffer-sol. (pH 6.8) in dilution for determination of riboflavin. Both methods might be suitable.
- 8) Thiamine and riboflavin contained in *Undaria pinnatifida* were (B₁, 82.51±1.1)γ/N-g and (B₂, 115.29±1.5)γ/N-g.

序 論

Mclaughlan(1961)에 依하여 microbiological assay 의 micro 化가 더욱 試行된 後, 이 方法은 近來食品, 蛋白質을 비롯하여 血液, 尿, 汗, 酵素, Virus, 菌等에 含有되어 있는 아미노酸의 定量에 널리 쓰여지고 있으며 Lewis는 諸種의 海藻의 遊離아미노酸에 對한 研究中, 綠色의 것은 褐色의 것보다 遊離아미노酸量이 많다는 것을 報告하였고, 杉村¹⁾는 淺草김의 全아미노酸을 microbiological assay 로 定量하여 必須아미노酸의 均衡에 있어서 特히 含硫아미노酸의 量이 적다고 報告되고 있으며, 李²⁾는 海藻中의 아미노酸을 이온交換크로마토그래피로서 定量한 바등이 있으나 韓國産미역의 아미노酸에 대한 microbiological assay 로 定量한 營養學的 研究報告가 아직 없는 것 같다. 著者는 韓國人 產婦가 產後調理食으로 많은 미역을 먹고 있으므로 이 미역의 아미노酸含量과 그 pattern 및 protein score 를求하고자 16種의 아미노酸을 microbiological assay 로 定量하였으며, 또한 熱量代謝의 TCA 回轉에 Co-enzyme 로서 크게 影響되는 thiamine (以下 B₁ 로 略함)과 riboflavin (以下 B₂ 로 略함)을

Thiochrome 螢光法 및 Lumiflavin 螢光法으로 定量하였으므로 그 結果를 報告한다.

實驗 方法

1. 試料: 미역 [*Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar]은 慶尙南道 機張産으로서 1964年 2月 頃에 採取된 1年生 釜山市販 乾燥品을 使用하였다.

미역을 0.3% 소금물로 씻은後 水洗 除鹽하여 低溫通風乾燥, 粉末(80mesh)로 한 後 加水分解하여³⁾ microbiological assay⁴⁻¹⁰⁾에 供試하였으며 thiamine 및 riboflavin 은 80mesh 粉末을 供試하였다. 窒素는 micro-kjeldahl 法에 依하여 定量하였다.

2. 試料의 加水分解: 아미노酸定量用의 檢液은 加熱하여 加水分解하였다. 그 方法을 Fig. 1 에 나타낸다.

3. 檢液調製: 加水分解한 試料를 pH 4.0 로 調節하여 生成한 fumin 質, Ba 鹽 및 殘液等을 濾別하여 다시 pH 6.8 로 하여 定量用檢液으로 하였다. 그 方法을 要約하여 Fig. 2 에 나타낸다.

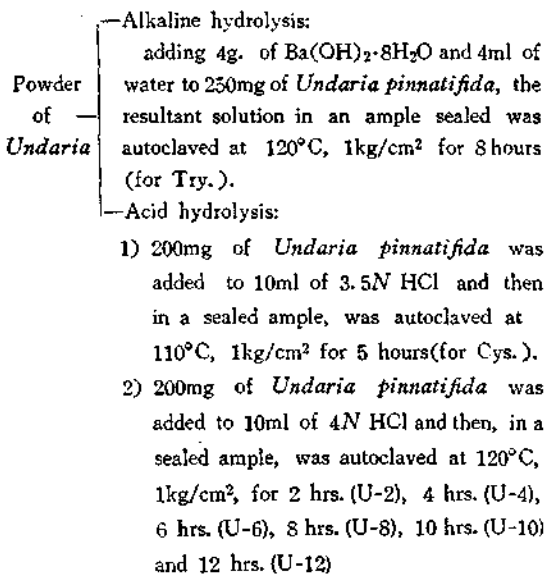


Fig. 1 Procedure of hydrolysis for *Undaria pinnatifida*.

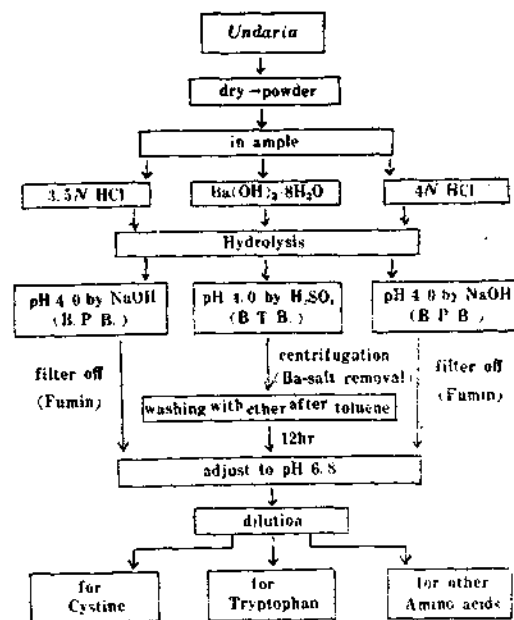


Fig. 2 Procedure of preparation for *Undaria pinnatifida*.

4. 定量方法

a) 아미노산의 定量: 그 방법을 Fig. 3에 要約하여 나타낸다.

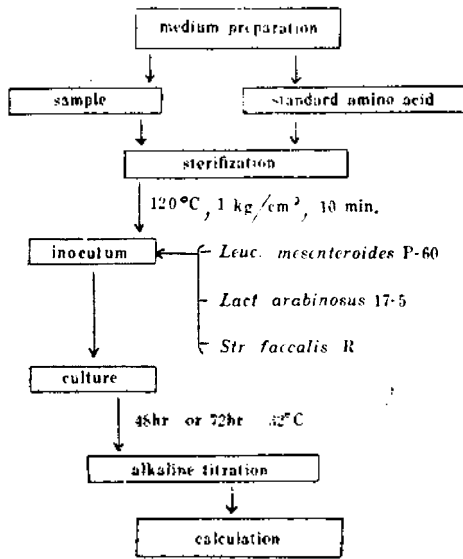


Fig. 3 Procedure of determination for amino acids by microbioassay.

即 *Leuc. mesenteroides* P-60, *Lact. arabinosus* 17-5, *Str. faecalis* R 등의 發育에 必要한 養分을 全部 含有하고 있는 液體完全合成培地에서 定量코자 하는 目的아미노酸을 除去한 basal medium을 만들어 이 medium 2ml를 內徑 15mm의 시험관에 分注하고 定量코자하는 目的아미노酸의 標準液을 段階的으로 添滴한 後 各試驗管에 물을 添加하여 總液量이 4ml가 되도록 하여 120°C, 1kg/cm²에서 10 min.間 加壓滅菌하였다.

菌의 接種: Table I과 같은 培養地로서 別途 培養한 乳酸菌을 使用하였다.

이 乳酸菌을 미리 遠心分離用小試驗管에 5ml의 培養培地로서 32°C, 24 hrs. 培養하여 無菌的으로 遠心分離하고 (3000 r. p. m., 15 min.) 殺菌生理食鹽水로 洗滌懸濁하여 heavy inoculum로 한 그 液 2滴을 各試驗管에 接種 32°C, 72 hrs. (48 hrs.: Leu.) 培養하였다. 培養이 끝난 것은 5 min 間 끓는 물에 담구었다가 식힌後 1/20 N NaOH 또는 1/10 N NaOH로서 0.2% Brom Thymol Blue와 0.2% Neutral Red의 混合指示藥을 使用하여 microautomatic biuret로서 菌이 生成한 乳

酸의 量을 滴定하였다.

基礎培地: Bacto assay medium (recommended for the micro-bioassay of threonine using *Streptococcus faecalis* R) tryptaphan 用의 casein 酸分解 medium, 田村學造 medium (for other amino acids)을 使用하였다. 그 組成 및 調製方法을 Table II 및 III에 나타낸다.

定量條件: 本實驗에 使用한 strain, medium, 培養時間 및 滴定에 使用한 NaOH 濃度등을 一括하여 Table IV에 나타낸다.

b) Thiamine 定量: Thiochrome 螢光法¹¹⁾은 浸出操作에서 始作하여 Permutit의 ion 交換反應에 依하여 B₁을 吸着하여 水洗로서 B₁以外의 盲螢光 夾雜物을 除去한 後 B₁을 溶出하여 알칼리性에서 BrCN¹²⁾에 依하여 B₁을 thiochrome로 酸化시켜 螢光을 測定하여 定量하였다.

浸出溶液의 調製: 檢體미역 5g(80mesh)에 0.1N H₂SO₄ 45ml를 加한後 沸騰浴에서 5 min. 間 攪 혼든다. 5 min.마다 한번씩 攪 혼들어 30 min. 間 處理後 50°C 以下로 冷却하여 4M CH₃·COONa 3ml를 加하여 이것에 5% Taka diastase¹¹⁾ 6ml를 加하고 45~50°C의 溫浴에 2 hr. 두었다. (때때로 저어줌) 室溫으로 冷却後 물을 加하여 100 ml로 定容하여 7000 r. p. m. 로서 15 min. 遠沈하여 沈물을 取하여 浸出液으로 하였다.

Table I Composition of Medium Uniform for *Lactobacillus*..

Component	Lactobacillus		
	L. m. P-60	L. a. 17-5	S. f. R
Yeast extract (g)	5.0	5.0	5.0
Pepton(g)	5.0	5.0	5.0
Glucose(g)	5.0	5.0	5.0
Sodium acetate(g)	5.0	5.0	—
Salt A(ml)*	5.0	5.0	—
Salt B(ml)*	5.0	5.0	—
Vitamin mix. (ml)	5.0	5.0	—
K ₂ HPO ₄ (g)	—	—	1.0
Liver extract(g)	—	—	5.0
Sodium citrate(g)	—	—	5.0
Single salt(ml)	—	—	2.5

Make to 500cc(pH 6.8) after adding agar-agar 1~3%

* Salt A, B: refer Table II.

Table II Composition of Basal Medium Uniform.

Component	Amount	Component	Amount
[Amino acids]	(mg/l)	Glucose(g/l)	20
<i>dl</i> -Alanine	200	[Salts]	(g/l)
<i>dl</i> -Asparatic acid	400	Na—acetate	(a) 20 (b) 1
<i>l</i> -Arginine·HCl	200	Na—citrate	— 20
<i>l</i> -Cystine	100	NH ₄ Cl	3 3
<i>l</i> -Glutamic acid	500	[Salt A]	(mg/l)
Glycine	100	KH ₂ PO ₄	500 —
<i>l</i> -Histidine	100	K ₂ HPO ₄	500 5000
<i>dl</i> -Isoleucine	200	[Salt B]	(mg/l)
<i>l</i> -Leucine	100	MgSO ₄ ·7H ₂ O	200 800
<i>l</i> -Lysine	200	FeSO ₄ ·7H ₂ O	10 40
<i>dl</i> -Methionine	200	MnSO ₄ ·4H ₂ O	10 160
<i>dl</i> -Phenylalanine	200	NaCl	10 40
<i>l</i> -Proline	100	[Vitamins]	(r/l)
<i>dl</i> -Serine	100	Thiamine·HCl	1000
<i>dl</i> -Threonine	200	Riboflavin	1000
<i>dl</i> -Tryptophane	100	Pyridoxine	1000
<i>l</i> -Tyrosine	100	Pyridoxal	200
<i>dl</i> -Valine	200	Ca—pantothenate	1000
[Base]	(mg/l)	Nicotinic acid	1000
Adenine·SO ₄	10	<i>p</i> -Amino benzoic acid	200
Guanine·HCl	10	Biotin	10
Uracil	10	Folic acid	10
Xanthine	10		

adjust to pH 6.8. (a) For *Lact. arabinosus*, *Lact. fermentic* and *Leuc. mesenteroides*. (b) For *Str. faecalis*.

Table III Composition of Basal Medium for Tryptophan.

Component	Amount	Component	Amount
	mg(N)	Pyridoxine	200 r
Casein—hydrolysate	200	Pyridoxal	50 "
Na—acetate	0.5g	Ca—pantothenate	100 "
Glucose	4.0g	Nicotinic acid	150 "
<i>l</i> -Cystine	40	<i>p</i> -Amino benzoic acid	50 "
Adenine·SO ₄	2	Folic acid	0.8 "
Guanine·HCl	2	Biotin	0.5 "
Uracil	2	Salt A*	1.0ml
Thiamine·HCl	100 r	Salt B**	1.0ml
Riboflavin	100 "		

pH 6.8(with NaOH) added distilled water to 100ml. * Salt A: KH₂PO₄ 25g, K₂HPO₄ 25g, H₂O 250ml

** Salt B: MgSO₄·7H₂O 10g, NaCl 0.5g, FeSO₄·7H₂O 0.5g, MnSO₄·4H₂O 0.35g, H₂O 250ml.

Table IV Titration Condition for Sample.

Amino acids	Medium	Strain	Incubation (hrs.)	Titration NaOH
Asp.	T	L. m.	72	0.05N
Arg.	T	"	"	"
Lys.	T	"	"	"
His.	T	"	"	0.1N
Ileu.	T	"	"	0.05N
Met.	T	"	"	"
Phe.	T	"	"	"
Pro.	T	"	"	"
Thr.	D	S. f.	"	"
Tyr.	T	L. m.	"	"
Val.	T	"	"	"
Try.	C	L. a.	"	0.1N
Cys.	T	L. m.	"	0.05N
Gly.	T	"	"	0.1N
Leu.	T	"	48	"
Glu.	T	"	72	0.05N

C: Casein hydrolysate medium
 D: Difco-medium
 T: Tamura's medium
 L. m: *Leuconostoc mesenteroides* P-60
 L. a: *Lactobacillus arabinosus* 17-5
 S. f: *Streptococcus faecalis* R

附着 및水洗: 褐色吸着管(上部內徑 20mm, 길이 100mm, 下部內徑 7mm, 길이 150mm)에 H₂O 를 가지고 少量의 유리綿을 밑에 깔고 permutit 를 完全히 吸着管에 옮긴後 活栓을 열어 물을 다 흘려버리고 3% HAc 10ml 를 흘려 내린後 물 20ml 을 1ml/min. 의 流速으로 通過 시켰다. 여기서 浸出液 10ml 를 注入하고 역시 위의 流速 으로서 B₁ 을 permutit 에 吸着시켰다. 液이 다 흘려내린 뒤 pH 4.5 의 鹽酸 5ml 로서 吸着管의 上部를 씻었고 吸着이 끝난後 沸騰水로써 流速 3~4ml/min. 로 씻었다.

脫着 및 酸化: 吸着을 끝낸 뒤 吸着管이 아직 더울 때 沸騰 25% KCl·HCl 液을 加하여 1 ml /min. 의 流速으로 通過시킨 液을 脫着液으로 正確히 25ml 로 定容하여 sample 로 하였다.

定量法: Table V 와 같이 하였다.

共徑遠沈管에서 이같이 操作한 後 濾물의 butanol 層을 5ml, 큐벳드에 取하여 Coleman Instr-

Table V Established Form of Determination of B₁.

	Blank(f ₀) (ml)	Main(f ₁) (ml)	Add. (f ₂) (ml)
Sample	5.0	5.0	5.0
B ₁ -standard(0.5r/ml)	—	—	0.5
Acetate buffer(pH4.5)*	0.5	0.5	—
30%-NaOH	2.0	—	—
BrCN	3.0	3.0	3.0
30%-NaOH	—	2.0	2.0
Butanol	20.0	20.0	20.0
Na ₂ SO ₄ (g)	2.0	2.0	2.0
Centrifugation	(3000r. p. m., 15min.)		

* Acetate buffer ¹¹⁾: (CH₃COONa 13.6g + glacial HAc 6ml)/H₂O 1l

uments Inc, Maywood I. 11, 의 Electronic Photofluorometer ¹³⁾ (Filter No. I : 12—221, II : 14—211 사용)로 測定하였다. (以下 Fluorometer 로서 略함)

c) Riboflavin 의 定量

Lumiflavin 螢光法 ¹⁴⁻¹⁶⁾: 生物體中에는 B₂ 濃度가 낮을뿐만 아니라 共存螢光物質이 많으므로 이같은 物質中의 B₂ 를 光分解하였을 때 生成하는 lumiflavin 을 CHCl₃ 에 녹여 미역 속에 들어있는 螢光物質과 分離하여 共徑遠沈管下部의 chloro-

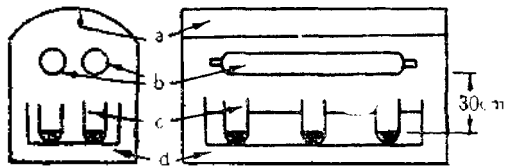
Table VI Procedure of Determination of B₂.

Material 5g(30mesh)→adding water 20ml→80°C, 15min. →make up to 100ml (with water)→centrifugation (7000 r. p. m., 15min.)→supernatant liquid(sample)

estimation for total B₂

	Main(f ₂) (ml)	Add. (f ₁) (ml)	Blank(f ₃) (ml)
Sample	5.0	5.0	5.0
H ₂ O	1.0	—	1.0
B ₂ -standard(0.5r/ml)	—	1.0	—
N-NaOH	6.0	6.0	6.0
Photolysis*	1 hr. cused in dark room		
Glacial-HAc	1.0	1.0	1.0
3% KMnO ₄	0.5	0.5	0.5
3% H ₂ O ₂	0.5	0.5	0.5
CHCl ₃	10.0	10.0	10.0
Shaking time(with cooling)	300	300	300
Centrifugation	(3000 r. p. m., 15min.)		

* Photolysis: 光分解裝置는 Fig. 4 와 같이 하였다.



a: Reflection mirror
b: Fluorescence lamp
c: Centrifuge tube
d: Centrifuge tube stand

Fig. 4 Equipment of photolysis.

form 層을 5ml 큐벳드에 取하여 lumiflavin 이 나타내는 螢光을 Fluorometer¹³⁾ (Filter No. I:12~222, II:14~212 使用)로써 測定하여 B₂를 定量하였다. 그 方法을 Table VI 에 要約하여 나타낸다.

5. 實驗結果

a) 標準曲線(아미노酸): 各 아미노酸의 定量에 適當한 *Leuconostoc mesenteroides* P-60, *Lactobacillus arabinosus* 17-5, *Streptococcus faecalis* R의 strain 을 선정하여 Table III 와 같이 使用하여 16 種의 아미노酸을 測定하였다. 縱軸에 response, 橫軸에 아미노酸의 量을 取하여 dose-

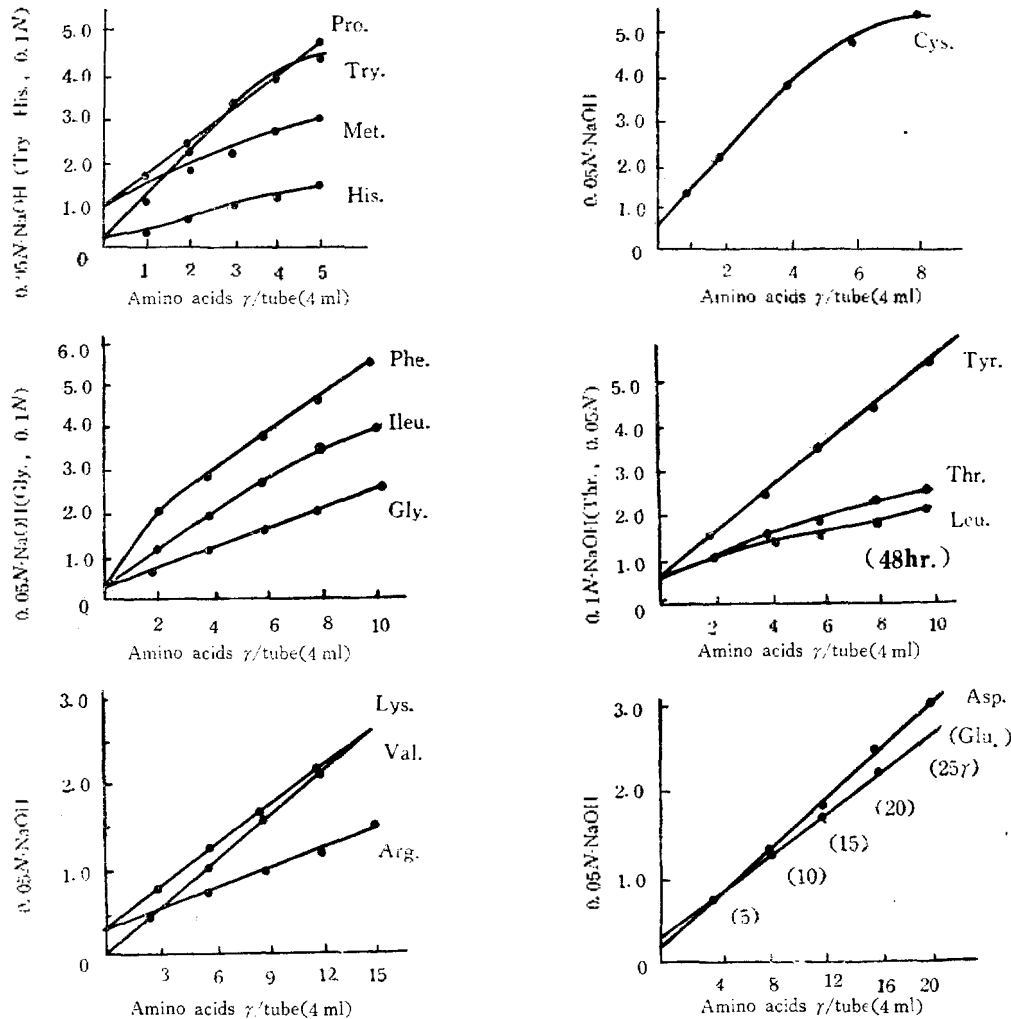


Fig. 5 Dose-response for standard amino acids with *Leuc. mesenteroides* P-60, *Lact. arabinosus* 17-5, and *Str. faecalis* R.

response를 만들었다. 이 dose-response에 있어서 methionine, proline은 높은 blank(0γ에서 1.0~1.2cc)였으며 cystine, threonine, tyrosine, lysine, arginine, leucine은 中間 blank (0γ에서 0.5~0.9cc)였으며 valine, tryptophan, glycine, isoleucine, asparatic acid, phenylalanine, glutamic acid 등은 낮은 blank(0γ에서 0.5cc以下)를 나타내었다. 이 16種의 標準 아미노산의 dose-response를 Fig. 5에 나타낸다.

b) 回收率: 미역의 加水分解液에 標準 아미노산을 6段階로 添加 recovery를 測定하여 그 滴

Table VII Recovery of Amino Acids from *Undaria* Hydrolysate (r/tube:4ml).

Amino acids	Samp. le (cc)	U-6					Recovery (%)
		Amino acids in hydrolysate (γ)	Found amino acids (γ)	Added amino acids (γ)	Recovery of added amino acids (γ)	Recovery (%)	
Asp.	0.5	6.60	10.90	4	4.30	107.5	
	1.0	13.80	17.81	4	4.01	100.2	
	1.5	20.20	23.90	4	3.70	97.5	
Arg.	0.5	4.21	7.60	3	3.39	113.0	
	1.0	8.00	11.23	3	2.23	107.7	
	1.5	11.50	14.71	3	3.21	107.0	
Lys.	0.5	5.70	9.05	3	3.35	111.6	
	1.0	11.80	14.83	3	3.05	101.6	
	1.5	17.52	20.99	3	3.47	115.6	
His.	0.5	1.34	3.53	2	2.19	109.5	
	1.0	2.65	4.58	2	1.93	96.5	
	1.5	3.97	5.84	2	2.34	93.5	
Ileu.	0.5	3.46	5.80	2	2.34	117.0	
	1.0	7.20	9.02	2	1.82	91.0	
	1.5	10.71	12.50	2	1.79	89.5	
Met.	0.3	1.72	2.85	1	1.13	113.0	
	0.6	3.65	4.65	1	1.00	100.0	
	0.9	5.33	6.27	1	0.94	94.0	
Phe.	0.3	1.83	4.32	2	2.49	124.5	
	0.6	4.51	6.41	2	1.90	95.0	
	0.9	6.75	8.90	2	2.15	107.5	
Pro.	0.2	1.40	2.35	1	0.95	95.0	
	0.4	2.62	3.70	1	1.08	108.0	
	0.6	4.02	5.09	1	1.07	107.0	
Thr.	0.3	1.74	3.25	2	1.51	75.5	
	0.6	3.30	5.55	2	2.25	112.5	
	0.9	5.41	7.20	2	1.79	89.5	
Tyr.	0.5	2.44	4.42	2	1.98	99.0	
	1.0	4.60	6.60	2	2.00	100.0	
	1.5	6.97	8.95	2	19.8	94.0	
Val.	0.3	3.68	6.71	3	3.03	101.0	
	0.6	7.30	10.79	3	3.49	116.3	
	0.9	11.50	14.70	3	3.20	106.6	
Gly.	0.5	4.44	6.60	2	2.16	108.0	
	1.0	8.96	11.18	2	2.22	114.0	
	1.5	13.00	15.22	2	2.22	111.0	
Leu.	0.2	2.48	4.77	2	2.29	114.5	
	0.4	4.91	7.00	2	2.09	104.5	
	0.6	7.03	9.20	2	2.17	108.5	
Glu.	0.3	5.40	10.38	5	4.98	99.6	
	0.6	11.00	16.50	5	5.50	110.0	
	0.9	16.71	22.05	5	5.30	106.8	

定値를 檢討하였다. 即 使用菌이 試料中の 定量 코저 하는 아미노酸以外的 物質의 영향으로 因한 生育의 促進 또는 阻止됨 없이 比較的 잘 回收 되었다. 16種의 아미노酸에 對한 recovery를 U-6의 檢液에 對하여 一括하여 Table VII 및 VIII에 나타낸다.

Table VIII Recovery of Cystine and Tryptophan from *Undaria* hydrolysate (r/tube:4ml).

Amino acids	Samp. le (cc)	Amino acid in hydrolysate (γ)	Found amino acid (γ)	Added amino acid (γ)	Recovery of added amino acid (γ)	Recovery (%)	Hydrolysis (hr)
Cys.	0.3	0.46	2.69	2	2.23	111.5	5
	0.6	0.93	3.03	2	2.10	105.0	
	0.9	1.44	3.61	2	2.17	108.5	
Try.	0.5	0.81	1.73	1	0.92	92.0	8
	1.0	1.64	2.64	1	1.00	100.0	
	1.5	2.49	3.58	1	1.09	109.0	

c) Amino acid 含量: Micro-bioassay에 依하여 미역 中の amino acid의 含量을 定量한 값을 Table IX에 나타낸다. (全 N:2.44%, mg/N-g로서 나타내었다.)

Arginine은 加水分解時間이 길어짐에 따라 定 量值가 減少되어져 같은 熱에 分解가 甚하므로 2hr. 加水分解로 定量함이 좋을 것으로 생각된다. Asparatic acid, lysine, isoleucine, valine, phenylalanine은 2hr. 加水分解로서는 그 遊離 되는 量이 적으며 大體的으로 6hr. 程度부터

Table IX Contents of Amino Acids in *Undaria pinnatifida* (mg/N-g).

Hyd. (hrs)	2	4	6	8	10	12	5
Asp.	248	442	466	479	481	493	—
Arg.	372	272	230	184	171	165	—
Lys.	286	298	317	320	327	331	—
His.	61	73	74	74	74	76	—
Ileu.	181	229	242	246	255	263	—
Met.	157	185	202	206	211	213	—
Phe.	197	240	256	259	267	276	—
Pro.	220	228	231	232	235	235	—
Thr.	197	211	231	240	246	259	—
Tyr.	126	150	161	162	162	163	—
Val.	364	413	415	430	436	434	—
Try.	—	—	—	90	—	—	—
Cys.	—	—	—	—	—	—	53
Gly.	284	294	302	305	306	310	—
Leu.	313	363	414	418	433	428	—
Glu.	421	559	625	638	631	637	—

는 그 定量値의 變化가 적음을 볼 수 있다.

Glutamic acid, leucine 은 6 hr. 부터 그 定量値의 變化가 적었다. 特히 histidine, glycine, pro-

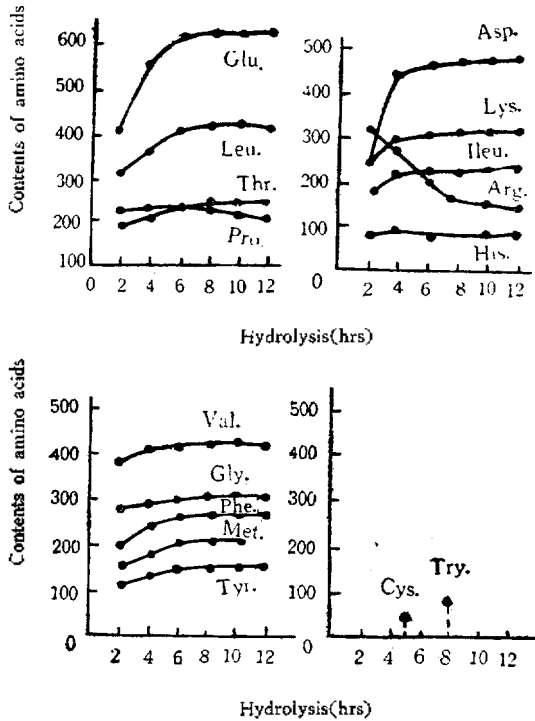


Fig. 6 Contents of amino acids in *Undaria pinnaefida* hydrolysate(mg/N-g).

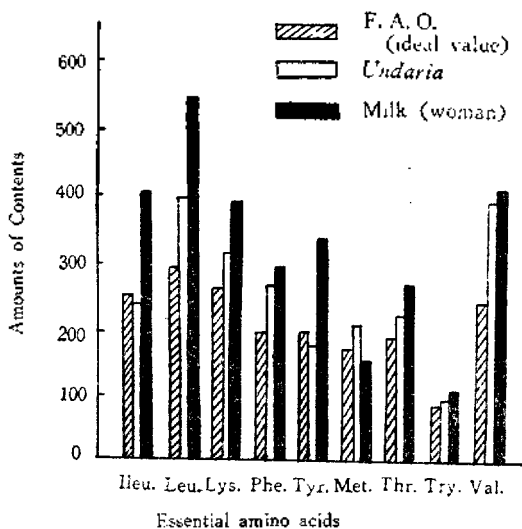


Fig. 7 Comparison with essential amino acids in *Undaria*, milk and F. A. O. value(mg/N-g).

line, threonine 은 加水分解時間을 2 hr. 에서 12 hr. 까지 分解시켜도 그 定量値의 變化에 크게 影響되지 않았다.

d) Essential Amino Acids Pattern: 6 hr.

加水分解한 U-6 試料의 미역을 滴定한 essential amino acids 値와 F. A. O의 理想型¹⁷⁾과 人乳値를 比較하여 essential amino acids의 pattern을 보기 爲하여 Fig. 7에 나타낸다. Tyrosine과 isoleucine은 理想型보다 약간 낮으나 lysine, methionine, phenylalanine, threonine은 若干 높으며 그 중 特히 valine과 leucine은 理想値보다 훨씬 많았으며 methionine의 含量은 特히 많았다. 미역의 protein score는 80.96(limiting factor: isoleucine)으로서 매우 좋은 amino acid pattern을 이루고 있었다.

e) B₁, B₂의 檢定: B₁의 結晶(田邊製 36EC 3397) 및 B₂의 結晶(田邊製 F3024)을 藤原^{18,19)}渡邊²⁰⁾ 등의 方法으로 調製하여 島津光電分光光度計 QV-50形¹²⁾으로 測定한 結果를 Fig. 8에 나타낸다.

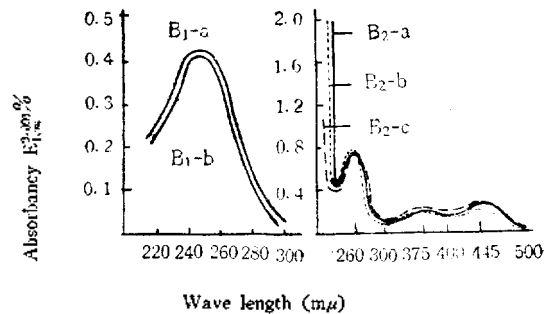


Fig. 8 E-value(220m μ ~300m μ) of B₁ 10 γ /ml. in pH 3.8 and E-value (220m γ ~460m μ) of B₂ 10 γ /ml in pH 2.4, 7.0 and 6.4 solution.

(B₁-a, B₁-b): B₁ 結晶 50mg을 105°C에서 2hr. 乾燥 0.001N HCl로 100ml로 定容, 500 γ /ml로 하여 0.001N HCl로써 10 γ /ml로 稀釋하여 a, b 두개의 檢體를 만들었다.

(B₂-a, B₂-b, B₂-c): B₂ 結晶 50mg을 105°C에서 2hr. 乾燥, 1% HAc로 500ml 100 γ /ml로 定容하여 100 γ /ml로 한 後 1% HAc로써 10 γ /ml로 한 것을 B₂-a로 하였다. (最終 pH 2.4) 1% HAc와 0.5% NaOH로써 稀釋하여 10 γ /

ml로 한 것을 B₂-b로 하였다. (最終 pH 7.0)

Buffer-sol (1/15MKH₂PO₄ 9.07g/l 4ml와 1/15MNa₂HPO₄·2H₂O 11.88g/l 6ml의 混液 : pH 6.9 8)로써 10γ/ml로 稀釋하여 B₂-c로 하였다. (最終 pH 6.4)

B₂檢定에 있어서 1% HAc나 buffer-sol로써 稀釋한 檢液은 wave length에 따른 absorption spectrum의 差가 거의 없이 一致되므로 어느쪽을 使用하더라도 좋을 것 같다. 1% HAc와 0.5% NaOH로써 稀釋한 檢液은 wave length의 absorption spectrum이 全體的으로 若干 낮았으나 各 peak는 거의 같았다. 또한 B₁은 比較的 잘 檢定되었다.

$$B_1 \text{의 純度}\% = \frac{E_{1cm}^{0.001\%} 246m\mu}{0.421} \times 100$$

$$B_2 \text{의 純度}\% = \frac{E_{1cm}^{0.001\%} 445m\mu}{0.3004} \times 100$$

Table X Purity of Standard B₁ and B₂.

	λ(mμ)	Purity	Factor
B ₁	0.414	98.30	1.0176
B ₂	0.296	98.54	1.0152

f) B₁, B₂의 檢量曲線: B₁ 및 B₂ 結晶으로써 만든 標準液을 2.0γ/ml, 1.5γ/ml, 1.0γ/ml, 0.5γ/ml, 0.1γ/ml로 acetate buffer로써 稀釋하여 thiochrome 螢光法으로써 B₁을 測定하고 위의 5단계농도의 標準液으로 1% HAc로써 稀釋하여 lumiflavin 螢光法으로써 B₂를 測定하였다. 그 結果는 Fig. 9에 나타낸다.

g) B₁ 및 B₂의 含量: B₁은 檢體미역 5g을 100ml로 浸出하여 그 10ml를 吸着시킨後 25ml

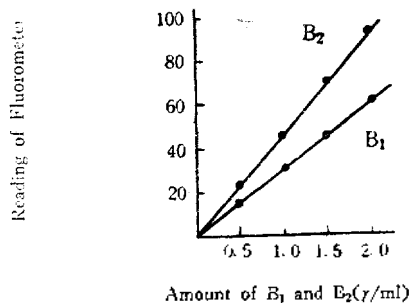


Fig. 9 Dose-response of standard B₁ and B₂ solution.

로 脫着하여 5ml를 酸化시켰다. B₂는 B₁과 같이 100ml로 浸出하여 그 10ml를 다시 100ml로 稀釋하여 그 5ml를 酸化시켜 各各 Fluorometer로써 測定하였다.

$$M = C \times \frac{f_1 - f_0}{f_2 - f_1} (\mu g) \dots \dots \text{主檢中の } B_1 \text{ 量}$$

C: added B₁ standard

f₀: blank, f₁: main, f₂: add.

$$x = M \cdot \frac{N}{D} \cdot \frac{V}{A} (\mu g/g) \dots \dots \text{試料中の } B_1 \text{ 量}$$

V: dilution N: deabsorption

A: absorption. D: oxidation

$$C \times \frac{f_2 - f_3}{f_1 - f_2} \times \frac{b}{a} (\mu g/g) \dots \dots \text{試料中の } B_2 \text{ 量}$$

C: added B₂ standard

f₁: add. f₂: main, f₃: blank

a: sample b: dilution

Table XI Contents of B₁ and B₂ in *Undaria pinnatifida*.

Vitamin	Times of determination	Contents (γ/100g)	Contents (γ/N-g)	Average error (N-g)	Recovery (%)
B ₁	1st	200.9	82.33	(±1.1)	99.64
	2nd	199.1	81.59		
	3rd	204.0	83.61		
	Ave.	200.1	82.51		
B ₂	1st	278	113.93	(±1.5)	99.91
	2nd	285	116.80		
	3rd	281	115.16		
	Ave.	281.3	115.29		

結 論

미역 [*Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar]을 低溫通風乾燥粉末(80mesh)로 하여 水酸化바륨, 鹽酸으로써 110°C, 120°C, 1kg/cm²에서 2 hrs., 4hrs., 5hrs., 6hrs., 8hrs., 10hrs., 12hrs. 加水分解하여 16種의 아미노酸을 *Leuconostoc mesenteroides* P-60, *Lactobacillus arabinosus* 17-5, *Streptococcus faecalis* R를 使用하여 microbiological assay로 求하였다. 또 이 粉末미역을 試料로 하여 thiamine을 thiochrome 螢光法, riboflavin을 lumiflavin 螢光法으로 求하여 다음의 結果를 얻었다.

1) 水解條件檢討結果 arginine 은 加水分解 2 hrs. 때 가장 큰 定量値를 나타내었으며 加水分解時間이 길어질에 따라 定量値가 減少되었다.

2) 다른 아미노酸(Try., Cys. 除外)은 6 hrs 加水分解때 適當한 定量値를 나타내었다.

3) 미역을 micro-bioassay 로 定量할 때 生育促進 또는 阻害作用은 認定되지 않았다.

4) 試料미역(6hrs.) N-1g 당 (N:2.44%) 含量은 Asp. 466mg, Arg. 230mg, Lys. 317mg, His. 74mg, Ileu. 242mg, Met. 202mg, Phe. 256mg, Pro. 231mg, Thr. 231mg, Tyr. 161mg, Val. 415mg, Gly. 302mg, Leu. 414mg, Glu. 625mg, Try. 90mg, (8hrs.), Cys. 53mg (5 hrs.)이었다.

5) Protein score 81(limiting factor:Ileu)로서 必須 아미노酸의 pattern이 매우 良好하였으며 methionine 은 FAO 値나 母乳値보다 含量이 컸었다.

6) 含硫아미노酸(methionine+cystine)의 含量은 255 mg/N-g 로서 良好하였다.

7) Riboflavin 檢液에 있어서 1% HAc 와 buffersol(pH 6.98)로 稀釋한 檢液의 absorption spectrum 의 差가 거의 없었으므로 共用하여도 좋을 것 같다.

8) 미역 중의 thiamine 의 含量은(82.51±1.1) γ /N-g 였으며, riboflavin 의 含量은(115.29±1.5) γ /N-g 였었다.

끝으로 始終 本實驗을 直接 指導하여 주신 東京大學 農藝化學科 榮養化學 主任教授 神立誠博士 日本國立榮養研究所 生化學部長 田村盈之輔博士와 同所 松野信郎技官에 對하여 深甚한 感謝를 드린다.

또한 本實驗은 위의 兩教室研究費로써 同教室

에서 實驗하였다.

文 獻

- 1) Sugimura: *J. Food and Nutrition*, **18**, 2, 103 (1965).
- 2) 李基寧, 李春寧, 李泰寧, 權泰完: *Bulletin of the Scientific Research Institute Korea*, **5**, 129 (1960).
- 3) Tamura, Tunoda et al: *J. Agr. Chem. Soc., Japan.*, **26**, 464 (1952).
- 4) Hac. L. R., Snell. E. E. and Williams, R. J. J.: *J. Biol. Chem.*, **159**, 273 (1945).
- 5) Lucile Hac et al: *ibid.*, **159**, 291 (1945).
- 6) Kuiken et al: *ibid.*, **151**, 615 (1943).
- 7) Horn et al: *ibid.*, **176** 176, (1948).
- 8) Greene R. D., Black, A.: *J. Biol. Chem.*, **155**, 1 (1954).
- 9) McMahan, J. R. and Snell, E. E.: *ibid.*, **125**, 83 (1944).
- 10) Henderson, L. M., Snell. E. E.: *ibid.*, **172**, 15 (1948).
- 11) 藤原元典: *ビタミン*, **9**, 148(1955).
- 12) Fujiwara, M., Matsui, K.: *Anal. Chem.*, **25**, 810 (1953).
- 13) Electronic Photofluorometer (Coleman Institute Inc. May Wood I 11).
- 14) 八木國夫: *ビタミン*, **9**, 349 (1955).
- 15) Kunio Yagi, Hiroshi Kondo and Jun Okuda: *J. Biochem.*, **51**, No. 3, 231 (1962).
- 16) Kunio Yagi: *ibid.*, **38**, No. 2, 161 (1951).
- 17) M. L. Orr and B. K. Watt: U. S. Dep. of Agriculture, **8** (1957).
- 18) 藤原洋, 中田富義: *武田研究所年報* **17**, 7 (1958).
- 19) 渡邊厚, 神尾英雄, 藤原洋, 備中住子: *ibid.*, **13**, 56 (1954).
- 20) 藤原洋: *ibid.*, **17**, 13 (1958).