

Gas-liquid Chromatography에 의한 우리나라 主要 食品의 아미노산 含量 測定

Gas-liquid Chromatographic Determination
of Amino acids in Typical Korean Foods

서울大 農大 朴 陽 子
Yang Ja, Bark

I 緒 論

여러가지 食品과 蛋白質의 分析에 대한 연구는 이미 많이 發表되었다. 大部分의 分析이 微生物學的 方法과 ion-exchange chromatography法에 의한 것이다. 蔡氏 등 (參考文獻1)은 우리나라 食品 30種에 대한 10種의 必須 아미노산 含量을 酸과 酵素에 의한 hydrolyses를 微生物學的 方法에 의하여 測定하였다.

本實驗은 우리나라 食品中の Protein 아미노산 含量을 gas-liquid chromatography法에 의한 測定을 示圖한 것이다.

II 實 驗

① 使用機器 및 實驗條件

Gas-liquid chromatography; F & M Division of Hewitt Packard Co., Penn. 製 F & M Model 810

Column; $\frac{1}{4}$ inch o.d. \times 6 feet copper tubing

Supporting material; 60/80 mesh chromosorb W

Stationary phase; EGSS-X와 DEGS 0.25/0.75 W/W%

Carrier gas, He, flow rate; 100 ml/min at 40 Psig

Hydrogen(to detector); 100 ml/min at 20 Psig

Air(to detector); 800 ml/min at 40 Psig

Column temperature; Initial 65°—final 198°C

Program rate; 2°C/min

Injection port temperature; 120° ± 20°C

Detector cell temperature; 210° ± 10°C

Chart speed; 1.016 cm/min

試料注入量; Chloroform 10 ml로 稀釋해서 4 μ l

② 標準 아미노산의 n-butyl N-tri-fluoroacetyl esters의 調製는 Gehrks 등(2, 5)에 의한 方法을 使用하였다.

③ 試料의 製造

本實驗에서 使用한 食品中 쌀(水原 82호), 보리(水原 18호와 부흥), 수수, 녹두, 대두(장단백묵)는 水原市 農科大學에서, 대두는 농촌 진흥청에서 그리고 市販 밀치와 팽어포는 水原市場에서 각각 구하였다.

食品中の N含量은 micro-kjeldahl法(6)으로서 測定하였다. 이 窒素의 量을 基準으로 하여 flask에 一定量의 乾燥된 食品試料와 5mg protein(N%×6.25)當 1ml의 6NHCl을 넣어 붓하고 110°±5°C의 오븐에서 22시간 동안 加水分解시킨 후 glass fiber/paper(Reeve Angel 934 AH filter)를 통하여 濾過시켰다. 이 濾液을 60°±5°C에서 rotary evaporator로 염산을 증발시키고 다시 2회에 걸쳐 증류수를 加하고 같은 方法으로 乾燥시켰다. 乾燥試料를 P₂O₅ 진공 desiccator에서 一晝夜 乾燥시킨 후 gas chromatography 注入을 위하여 n-butyl N-trifluoroacetyl esters로 만들었다.

Ⅲ 結果 및 考察

本實驗에서 얻은 Retention temperature(3)와 Relative molar response(RMR)值(2, 4)는 Table 1에서 보는 바와 같다. 示圖한 17種의 [아미노산]中 arginine, cystine, histidine과 tyrosine을 제외한 13種만이 注入한 量에 比例하는 detector response를 얻을 수 있었다.

二種의 食品, 대두와 팽어포의 酸 加水分解物로서 ion-exchange chromatography 法과 gas chromatography 法을 이용하여 各 아미노산值를 比較하였다. 대두에서는 alanine, valine, aspartic acid와 glutamic acid 含量은 두 가지 方法에 의한 差異가 별로 없었으나 leucine, proline, threonine, phenylalanine과 lysine量은 GLC法에 의한 數值가 ion-exchange 法에 의한 것보다 약간 높았다. 팽어포에서는 threonine과 aspartic acid 量만이 비슷하고 그의 7種의 아미노산量은 역시 GLC法에 의한 것이 높았다. 이 實驗은 Column 製造直後에 試圖한 것이므로 glycine과 isoleucine peaks가 완전히 增첩되었다.

Table 2는 各 食品中 아미노산 含量을 보여 주고 있다. Gehrks 등이 發表한 the internal

Table 1 Retention Temperature and Relative Molar Response of n-butyl N-trifluoroacetyl Esters for 13 amino acids in Mixture

Amino acid	Retention a Temperature °C	RMR b by flame Ionization
DL-alanine	101	0.57 d
DL-valine	107	0.72
Glycine	112	0.47
L-isoleucine	113	0.88
L-leucine	118	0.87
L-proline	124	0.52
DL-threonine	127	0.50
DL-serine	134	0.40
DL-methionine	142	0.74
L-phenylalanine	151	1.12
L-asparagine hydrate	156	1.07
L-glutamic acid c	169	1.00
Methyl stearate e	180	0.53
L-lysine HCl	195	0.73

Table. 1 (con't)

a column: 183 × 0.63cm o.d. copper tubing packed with 0.75/0.25 W/W % of DEGS/EGSS-X on 60—80 mesh chromosorb W.

Flow rate: 100ml/min He at 40 Psig.

Air: 800ml/min at 55 Psig.

H: 100ml/min at 20 Psig.

Column temperature: initial 60°

Programmed at 2°C/min to 198°C

Sample size: 4μl of a 10ml CHCl₃ containing derivatives prepared from 0.1 m mole of 17 amino acids.

b RMR=Amino acid molar response where amino acid glutamic acid molar response, molar response is area per mole of amino acid

c Arbitrarily set at unity

d Experimental, Average of 4 chromatograms.

e RMR=glutamic acid molar response methyl stearate molar response

Table 2. Summaries of Amino acid Analyses of Food Hydralyzates (F), with comparison to Available Literature Date (L)

(Grams amino acid per 16.0 nitrogen; Avg of 4 GLC run)

Food	Ala	Val	Gly	Ileu	Leu	Pro	Thr	Ser	Met	Phe	Asp	Glu	Lys
F1 Rice (Suwon No. 82)	5.1	3.0	3.8	2.2	6.1	5.2	2.5	5.7	10.4	4.3	7.3	14.8	1.4
L White rice meal (7)		6.4		4.4	8.6		3.6		1.4	4.8			2.8
F2 Barley (Suwon No. 18)	3.4	3.1	3.3	2.8	6.0	14.2	2.7	5.2	6.0	5.5	4.3	26.2	1.6
F3 Barley (Woo-heung)	3.0	2.5	2.9	2.1	5.0	14.5	2.9	4.6	5.1	4.5	4.0	21.7	2.6
L Barley (7)	4.1	3.8	2.9	4.8	6.8	4.8	3.2	5.3	3.5	5.7	2.5	22.0	3.3
F4 Sorghum (local)	9.8	4.6	2.9	3.9	13.2	9.4	3.2	7.5	5.1	6.0	5.7	19.6	1.1
L Sorghum (7)		7.0		4.4	13.1		3.3		1.4	4.9			1.5
F5 Mungbean	4.0	4.6	3.8	3.6	7.4	3.7	4.0	7.0	2.6	6.0	10.7	16.9	4.7
L Avg Mungbean (8)	3.0	5.9	1.8	5.5	9.0	4.4	3.1	3.0	1.1	4.8	8.6	11.5	7.6
F6 Soybean (changdan-Baik Mok)	3.9	3.8	3.9	3.8	7.0	6.7	3.7	2.8	2.3	4.9	9.4	16.8	5.3
F7 Soybean (local)**	4.4	4.9	4.4	5.0	8.5	8.2	4.3	1.8	1.9	5.7	10.9	20.4	11.0
L Soybean (7)	5.7	4.8	1.7	4.3	7.2	4.3	2.6	5.2	1.1	3.8	6.7	16.0	5.3
F8 Small sardine (choo-by)	5.9	4.5	4.8	4.0	7.4	5.5	4.3	2.0	2.2	4.1	8.3	12.8	8.6
F9 Small sardine*	5.6	3.3	4.8	2.9	5.3	5.2	2.6		2.2	3.5	7.9	12.7	5.4
L Sardine (7)		5.1	5.1	4.4	7.0		4.7		2.8	3.6	8.3	12.8	8.2
F10 White-bait pemmican**	5.2	4.4	5.2	4.7	7.1	5.8	2.5	7.1	1.6	4.0	7.7	13.6	10.0
L Whole egg (7)		7.8	3.6	6.8	8.3		4.7		3.1	5.4	5.6	11.9	6.7

* Day inference included (within three days)

** From the recovery study. Avg of two GLC run

standard method(2,4)를 이용하여 4번의 chromatograms에 나타난 各 peaks의 面積으로부터 계산하여 平均值를 내었다. 그 食品의 產地, 品種, 季節, 貯藏方法 및 試料의 準備, 分析方法에 差異가 있어서 直接比較가 어려우나 문헌상에 發表된 비슷한 재료들의 아미노산 含量과 比較하여 보았다. 10種의 食品中 protein 含量이 비교적 많은 멸치에 있어서 문헌상의 數値와 거의 비슷한 平均值를 보이고 있다.

IV 要 約

Gehrks 등에 의하여 發表된 gas chromatographic method를 일부 변경하여 食品의 酸加水分解物로부터 아미노산 定量을 示圖하였다. 不揮發性인 아미노산을 揮發性인 n-butyl N-trifluoroacetyl esters로 바꾸었다.

使用한 gas chromatographic column dual은 column이고, 가능한 한 均등한 크기의 support(60/80 mesh chromosorb W.)에 혼합된 polar stationary phases (EGSS-X와 DEGS 0.25/0.75 W/W%)를 입혀 채웠다.

本實驗에서 示圖한 17種의 amino산 中 13種인 alanine, valine, glycine, isoleucine, leucine, proline, threonine, serine, methionine, phenylalanine, aspartic acid, glutamic acid와 lysine 유도체만이 定量分析이 가능하였다.

▶ 參考文獻

- (1) 蔡禮錫·劉貞烈·安玉卿·金文子, 중앙화학연구소 보고 제 8 권 별책 제 9 권, 1959. 1960
- (2) Gehrks, C.W. and Stalling, D.L., Separation Sci. 2(1), 101, 1967
- (3) Szymanski, H.A., Lecture on gas chromatography 1962, plenum press, 1963.
- (4) Lamkin, W.M. and Gehrks, C.W., Anal. Chem. 37, 383, 1965
- (5) Gehrks, C.W., Lamkin, W.M., Stalling, D.L. and Shahrokhi, F., Biochem. and Bioph. Res. comm. 19(3), 328, 1965
- (6) Horwity, W., Official methods of analysis of the AOAC, 10thed. George Banta Co. Inc. 744, 1965
- (7) Block, B.J. and Weiss, K.W., Amino acid Handbook, Charles C. Thomas Pub., 1956
- (8) Orr, M.L. and Watt B.K., H.E. Res. Report No.4, USDA, Washington, D.C. U.S. Gout, Print. Off., 1957.