

마른김의 有機酸組成과 저장중의 변화

朴 榮 浩

釜山水産大學 食品工學科
(1973년 9월 17일 수리)

Changes in Organic Acid Composition of Dried Lavers during Storage

by

Young-Ho Park

Department of Food Science and Technology, Pusan Fisheries College

(Received September 17, 1973)

Abstract

Dried lavers, *Porphyra yezoensis* Ueda, were stored at 20°C for 10, 25 and 45 days under a dry and humid conditions respectively, and changes in the contents of organic acids were studied by GLC and supplementary use of GC-MS.

- 1) Out of eight acids determined, i. e., pyruvic, lactic, oxalic, malonic, fumaric, succinic, malic, and citric acid, relatively abundant ones were oxalic, succinic, malic, and citric acid.
- 2) Oxalic, malic, and succinic acid did not show any notable changes in their contents under a dry condition, however, under a humid condition the contents of the former two acids decreased rapidly showing contrast to that of succinic acid, of which content increased markedly. The content of citric acid rapidly decreased independent of the storage conditions.
- 3) Among some unidentified components, two of them were presumed to be aromatic acids from their mass spectra. The contents of the two acids decreased slowly under a dry condition, however, rapidly decreased under a humid condition and after 45 days storage almost all of them disappeared.
- 4) The contents of total volatile acids were increased under the both storage conditions, however, the rate of increment was larger under a humid than under a dry condition.

緒 言

食品中の 有機酸은 食品의 風味 또는 色調의 變化등에 큰 영향을 미치는 重要な 成分인데도 김의 有機酸에 關해서는 아직 別로 알려져 있는 것이 없다. 本研究에서는 마른김의 有機酸組成과 이것의 저장중의 變化를 밝히고저 試料를 高濕度와 低濕度の 극단적으로 相反하는 두條件下에 恒溫저장을 하여 GLC法에 依하여 調査檢討하였다. 有機酸의 GLC分析에 關하여는 從來 많은

研究報告^(1~9)가 提出되고 있으나, 本研究에서는 有機酸의 同定을 보다 正確히 하기 위하여, GC-MS(gas chromatography and mass spectrometry system)法을 併用하여 補完하였다.

實 驗 方 法

1. 試 料

日本の 神奈川縣 金澤灣 海苔養殖場에서 採取한 방사 무늬김(*Porphyra yezoensis* Ueda)을 自動海苔抄製機로써

抄製하여 熱風乾燥 (乾燥時間 約 4時間, 乾燥終了時의 乾燥室溫 約 37°C, 乾燥後의 水分含量 10.4%)한것을 使用하였다.

2. 試料의 저장

乾製한 김은 8片으로 끊어서 줄에 꿰어 플라스틱製 그물바구니(44×32×16 cm 높이)에 매어 달고, 濕度調整 用 저장상자(양철板으로 內張한 나무상자, 64×40×46 cm 높이)에 넣어 密封하여, 20±1°C의 恒溫室에 저장 하였다. 濕度調整은 高濕度의 것은 飽和황산암모늄液 (相對濕度 79%)⁽¹⁰⁾을, 低濕度의 것은 濃황산을 各各 1 l씩 40×28×7 cm 높이의 容器에 넣어 使用하였다. 저장은 濕度別, 저장期間別(10日, 26日 및 45日間)로 各各 40枚의 다른김을 個別的으로 저장하였다. 저장을 마친 김의 平均水分含量은 高濕度의 것은 21.4%, 低濕度의 것은 6.7%였다. 一定期間의 저장을 마친 試料는 五酸化磷이 들은 眞空데시케이터에 넣어, 約18時間 乾燥시켜 粉末化한 다음 잘 混合하여 供試하였다.

3. 有機酸의 抽出

試料 50 g에 물 250 ml를 加하여 乳鉢에서 磨碎한 後 750 ml의 에탄올과 같이 비이커에 옮겨 magnetic stirrer를 使用하여 3時間 攪拌抽出한 後 遠沈하였다. 殘渣에 75% 에탄올 500 ml를 加하여 1時間, 300 ml를 加하여 1時間씩 2回 再抽出을 反復한 다음 抽出液을 여과하고 여액을 減壓濃縮하여 250 ml로 定容하였다.

4. 이온交換樹脂處理

抽出液의 40 ml를 Amberlite IRA-400 column (100~200 mesh, CO₃型, ϕ1.8 cm×20 cm)에 通過시켜 有機酸을 吸着시키고 水洗한 다음 1.5 N 炭酸암모늄 100 ml를 흘려 有機酸을 溶出し켜서 암모니아臭가 없어질때까지 減壓濃縮하였다. 다음 이것을 Amberlite IR-120 column (100~200 mesh, H型, ϕ1.8 cm×20 cm)에 흘려서 水洗하고 流出液을 減壓濃縮으로 乾固한 다음 五酸化磷이 들은 眞空데시케이터에 넣어 約 18時間 充分히 乾燥시켰다.

5. 메틸화

이온交換樹脂處理를 한후 乾固한 抽出物에 2% 鹽酸·메탄올液 20 ml를 加하여 還流冷却器를 붙여 65°C에서 4時間 反應시켜 메틸화하였다. 다음 이것을 減壓濃縮하고 물 20 ml를 加한후 約 25 ml의 鹽化메틸렌으로써 메틸 에스테를 抽出하는 操作을 5回 反復하였다. 抽出液은 無水황산나트륨으로써 脫水후 內部標準物質로서 methyl stearate의 一定量을 加하고 減壓濃縮하여 GLC 및 GC-MS에 供試하였다.

6. GLC 및 GC-MS

操作條件은 Table 1 및 Table 2 와 같다.

7. 有機酸의 同定 및 定量

有機酸의 同定은 標準有機酸의 retention time 과의 比較 및 GC-MS의 mass spectrum에 依하였으며, 定量

은 內部標準法에 依하였고 內部標準物質로서는 methyl stearate를 使用하였다.

Table 1. Operating condition for GLC

Instrument	: Shimadzu GC-4APF
Column	: 3 m x ϕ 3 mm i.d., glass column.
Support material	: Shimalite W, 60~80 mesh
Packing material	: DEGS 10%
Column temp	: Initial temp 130°C, final temp 200°C, temp programming 2°C/min
Injection temp	: 260°C
Detector temp	: 250°C
Detector	: FID
Carrier gas	: N ₂ , flow rate 25 ml/min

Table 2. Operating condition for GC-MS

Instrument	: Gas chromatograph-mass spectrometer, Shimadzu-LKB 9000
Gas chromatography	
Column	: 2 m x ϕ3 mm i.d., glass column.
Support material	: Shimalite W, 60~80 mesh
Packing material	: DEGS 10%
Column temp	: Initial temp 110°C, final temp 195°C, temp programming 2°C/min
Injection temp	: 260°C
Detector	: TIC
Carrier gas	: He, flow rate 28 ml/min
Mass spectrometry	
Temp. i. S.	: 270°C
Mol. sep.	: 250°C
Acc. h. v.	: 3.5 kv
Elec. energy	: 70 ev
Trap curr.	: 60 μA
Scan speed	: 7
Recorder speed	: 10 cm/sec

8. 揮發酸의 定量

揮發酸의 定量에 있어서는 一定期間 저장을 마친 試料를 眞空데시케이터에 넣어 乾燥하지 않고 그대로 細切하여 使用하였다. 約 5 g를 稱取하여 물 20 ml와 에탄올(알데히드 및 酸을 除去한것) 80 ml를 加하여 5分間 homogenize 하고 3時間 抽出한 後 遠沈하였다. 殘渣에 80%에탄올 50 ml를 加하여 3分間 homogenize 하고 1時間 再抽出하는 操作을 2回 反復한 後 抽出液을 여과하였다. 다음 여액을 Dowex 2×8 column (100~200 mesh,

OH型, $\phi 1.8 \times 15$ cm)에 흘려서 酸을 吸着시킨다음 水洗하고 1N 황산 100 ml를 흘려서 吸着된 酸을 溶出하였다. 溶出液에 황산마그네슘 10g을 加하여 常法대로 水蒸氣蒸溜를 하여 溜出液을 N/20 苛性소오다로써 滴定하여 揮發酸量을 酢酸으로서 算出하였다.

結果 및 考察

마른김의 有機酸으로서 同定 및 定量을 한 酸은 pyruvic, lactic, oxalic, malonic, fumaric, succinic, malic 및 citric acid의 8種이며, 이것들의 gas chromatogram의 一例를 Fig. 1에 表示하였다. 또 저장중의 有機酸組成의 變化는 Table 3과 같았다.

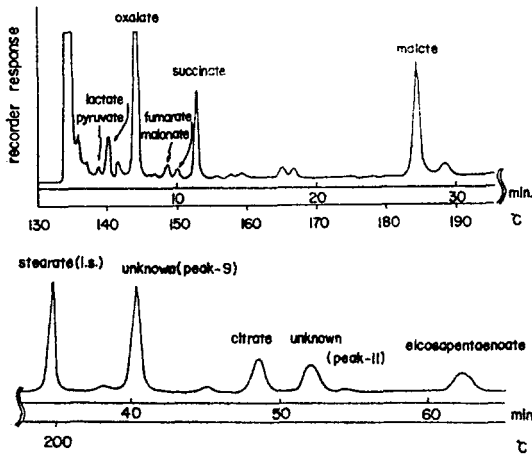


Fig. 1. Gas chromatogram of the methyl esters of organic acids in dried layers

Table 3. Changes in contents of organic acids in dried layers during storage at 20°C (mg/100g, dry basis)

Organic acids	0 day	10 days		25 days		45 days	
		D*	H*	D	H	D	H
Pyruvic	0.7	0.5	0.7	0.5	0.8	0.5	0.9
Lactic	4.0	4.2	4.6	4.8	6.8	5.0	7.7
Oxalic	72.7	74.9	18.5	72.9	9.7	75.5	8.2
Malonic	1.7	1.5	2.9	1.2	2.7	1.2	2.6
Fumaric	1.3	0.9	1.0	0.7	0.7	0.7	0.7
Succinic	11.8	12.3	36.4	10.9	39.1	10.6	28.4
Malic	42.2	44.1	16.1	52.9	12.1	50.6	12.4
Citric	41.2	23.3	25.9	16.0	15.1	15.2	14.7
Peak-9**	83.8	71.8	43.2	67.3	5.3	57.3	1.8
Peak-11**	37.3	27.7	0.6	26.5	0.1	25.3	trace

* D: stored under a dry condition, H: stored under a humid condition.

** Calculated as citric acid.

量的으로 主要한 酸은 oxalic, succinic, malic, 및 citric

acid이며, 其中 oxalic, malic 및 succinic acid는 低濕度下에서는 큰 變化를 보이지 않으나, 高濕度下에 있어서는 oxalic 및 malic acid는 顯著히 增加하는 極히 對照的인 變化를 보였다. 即 高濕度下에 있어서 oxalic 및 malic acid는 10日間의 저장으로 各各 1/4程度로 減少하는데 比하여 succinic acid는 10日間의 저장으로 約 3倍量으로 增加하고, 그후 더욱 增加하였다가 다시 減少하는 變化를 보였다. 한편 citric acid에 있어서는 濕度에 따른 變化의 差는 없고, 低濕度에서나 高濕度에서나 다 같이 저장期間에 따라 急速히 減少하였다. (Fig. 2 및 Fig. 3)

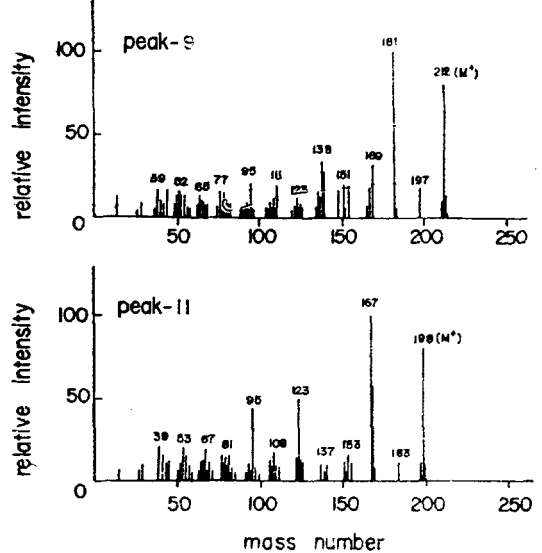


Fig. 2. Mass spectra of the methyl esters of unknown components (peak-9 and peak-11) shown in Fig. 1) in dried layers

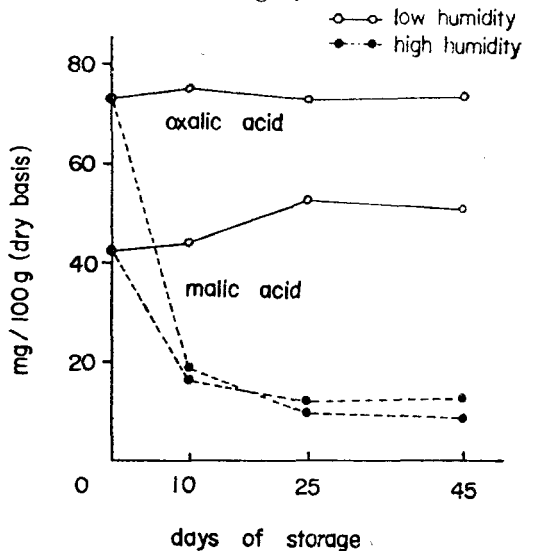


Fig. 3. Changes in oxalic acid and malic acid of dried layers during storage

未同定成分中 gas chromatogram上的 peak-9과 peak-11은 量的으로도 많고, 저장中の變化도 特徴적이었는데 그 mass spectrum은 Fig. 4와 같다. 即 peak-9과 peak-11은 그 parent ion의 質量으로 보아, 메틸 에스테르로서의 分子量이 各各 212와 198이며, 顯著한 parent peak를 나타내고 있어 選狀構造 特히 芳香族環 또는 複素芳香族임을 짐작할 수 있다. 또 base peak가 parent ion에서 methoxyl基가 떨어진것에 相當하는 M⁺-31에 있으므로 芳香族酸의 메틸 에스테르임을 推定할 수 있다. 또한 M⁺+1 및 M⁺+2의 peak의 M⁺ peak에 對한 比로 보아 鹽素 및 臭素등은 含有하지 않을 것이고, M⁺+2 peak의 M⁺+1 peak에 對한 比로 보아 硫黃도 含有하지 않을 것이다. 또 "N rule"에 依하여 窒素는 含有하지 않든가, 含有한다고 하면 偶數個를 가질 것이다. 이와 같은 性狀의 2成分의 同定에 對하여는 繼續 檢討를 하고 있다. Chelidonic acid와 syringic acid의 메틸 에스테르의 分子量은 各各 212 이나 GLC에 있어서의 retention time이 peak-9의 그것과 比較하였으나 一致하지 않았다.

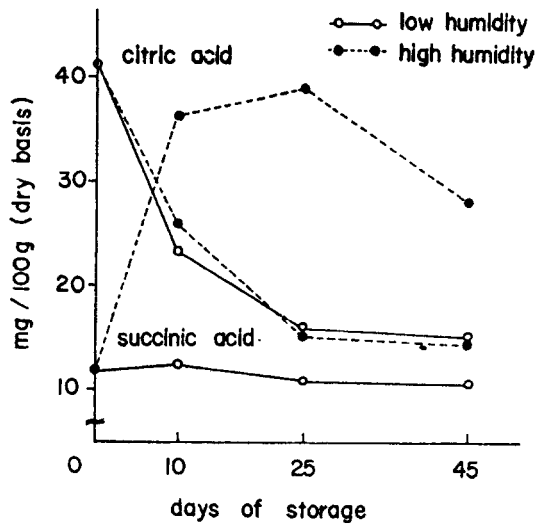


Fig.4. Changes in citric acid and succinic acid of dried lavers during storage

Table 4. Changes in total volatile acids in dried lavers during storage at 20°C(Calculated as acetic acid, mg/100 g on dry basis)

Days of storage	Storage condition	Total volatile acid
0		50
25	D*	69
	H*	75
45	D	84
	H	91

*See footnote of Table 1.

이들 未同定成分이 저장中の變化는 극히 類似한 pattern을 보여, 低濕度에서는 아주 徐徐히 감소하나 高濕度에서는 迅速히 減少하여 45日 後에는 거의 消失되었다.

揮發酸量의 저장中の變化는 Table 4와 같다. 即 揮發酸量은 저장에 따라 增加하는 傾向을 나타내었으며, 더욱이 低濕度에서 보다 高濕度에 있어서의 增加率이 높은 傾向이었다.

要 約

마른김의 有機酸組成과 이것의 저장中の變化를 GLC 및 GC-MS를 使用하여 調査檢討하였다.

1. 마른김에 含有된 有機酸으로서 同定 및 定量을 한 것은 pyruvic, lactic, oxalic, malonic, fumaric, succinic, malic 및 citric acid의 8種이며, 量的으로 主要酸은 oxalic, succinic, malic 및 citric acid였다.

2. oxalic, malic 및 succinic acid는 低濕度下에서는 큰 變化를 보이지 않으나, 高濕度下에서는 oxalic 및 malic acid는 急速히 減少하고, 反對로 succinic acid는 顯著히 增加하는 對照의인 變化를 보였다. citric acid만은 低濕度에서나 高濕度에서나 大같이 저장期間에 따라 急速히 減少하였다.

3. 未同定成分中, 그 mass spectrum으로 보아 環狀構造의 酸이라고 推定되는 2成分은 量的으로 극히 많았으며, 저장中の變化는 低濕度下에서는 徐徐히 減少하나, 高濕度下에서는 迅速히 減少하여 45日間の 저장으로 거의 消失하였다.

4. 揮發酸量의 變化는 저장期間에 따라 增加하였으며, 低濕度에서 보다 高濕度에서의 增加傾向이 높았다.

參 考 文 獻

- 1) Luke, H. H., Freeman, T. E. and Kier, L. B. : *Anal. Chem.*, **35**, 1916 (1963).
- 2) Rumsey, T. S., Noller, C. H., Burns, J. C., Kalb, D., Rhykerd, C. L. and Hill, D. L. : *J. Dairy Sci.*, **47**, 1418 (1964).
- 3) Rumsey, T. S. and Noller, C. H. : *J. Chromatog.*, **24**, 325 (1966).
- 4) Canvin, D. T. : *Can. J. Biochem.*, **43**, 1281 (1965)
- 5) Estes, F. L. and Bachmann, R. C. : *Anal. Chem.*, **38**, 1178 (1966).
- 6) Simmonds, P. G., Pettitt, B.C. and Zlatkis, A. : *Anal. Chem.*, **39**, 163 (1967).
- 7) Jansen, L. and Samuelon, O. : *J. Chromatog.*, **57**, 353 (1971).
- 8) 山下市二・田村太郎 : 日本食品工業學會誌, **19**, 62 (1972).
- 9) 山下市二・宇高京子・田村太郎 : 日本食品工業學會誌, **19**, 194 (1972)
- 10) Rockland, L. B. : *Anal. Chem.*, **32**, 1375 (1960).