

Thin Layer Chromatography 및 Automatic Amino Acid Analyzer에 의한 소, 돼지, 山羊 및 토끼 고기중의 遊離아미노산 分布

趙 鍾 厚 趙 太 行 韓 壽 南

農村振興廳 家畜衛生研究所

서울大學校 農科大學 獸醫學科

緒 論

動物의 組織中에는 少量의 遊離 amino 酸이 恒常 存在하며 이 遊離 amino 酸은 動物의 種類 또는 同一한 種類의 動物일지라도 部位에 따라서 分布와 含量의 差異가 있다^{1,2,3,4,6,7}. 小原等⁵과 佐佐木等⁶은 牛肉 및 豚肉에 存在하는 遊離 amino 酸을 paper chromatography에 依하여 調査하고 動物의 種類에 따라 差異가 있으며 고기의 熟成過程中 遊離 amino 酸의 種類가 增加함을 報告하였다. 尹等⁷은 paper chromatography에 依하여 綿羊의 部位別 筋肉中 遊離 amino 酸의 分布를 調査하여 部位에 따라 差異가 있음을 報告하였다. 本實驗에서는 소, 돼지, 산양, 및 토끼의 各 2例式의 腕頭筋과 臀筋을 取하고 遊離 amino 酸의 分布와 含量을 thin layer chromatography와 amino acid analyzer에 依하여 分析하고, 部位別 差異가 있는지를 調査하였으며 部位別 差異에도 不拘하고 amino 酸의 分布曲線과 含量에 依하여 動物別 差異를 알아 낼 수 있는지를 檢討하였다.

材料 및 方法

試驗材料: 食肉의 目的으로 屠殺된 牛肉, 豚肉, 山羊肉, 및 兎肉의 各 2例에서 腕頭筋과 臀筋을 채취하여 即時 遊離 amino 酸을 抽出시켜 分析에 使用하였다.

遊離 amino 酸의 抽出: 遊離 amino 酸의 抽出은 小原等⁵ 및 李⁸의 方法을 基礎로 하여 遊離 amino 酸이 破壞되지 않도록 修正補完하였다. 即 牛肉, 豚肉, 山羊肉 및 兎肉을 磨碎하여 各 5g을 秤取하고 80% ethanol 200 ml을 加하여 유리 막대로 수시로 저어서 抽出시킨 다음 하루밤 放置시킨後 다시 저어서 濾過하여 蛋白質 沈澱物을 除去하였다. 殘渣는 다시 80% ethanol 100 ml로 3回 洗滌하여 그 洗液을 最初의 濾過液

에 合쳐 45°~50°C로 維持된 水浴上에서 減壓, 蒸發, 乾固시켰다. 이를 다시 蒸溜水 40 ml에 溶解시키고 ethyl ether 20 ml를 加하여 脂肪을 抽出, 除去하고 水層을 다시 50°~55°C에서 蒸發乾固시켜 pH 2.2 구연산 緩衝液에 溶解, 總量 22 ml로 만들고 이 抽出液을 thin layer chromatography와 automatic amino acid analyzer에 適用하였다.

Thin layer chromatography: Thin layer는 silica gel G 5g에 蒸溜水 12 ml를 加하여 混合한것을 유리板에 0.1 mm의 두께로 thin layer를 만들고 105°C에서 30分間 活性化시켜 使用하였다. 抽出液 0.03 ml를 thin layer에 spotting하고 展開溶媒로 butanol: acetic acid:water=4:1:5의 混液을 使用하여 室溫에서 約 7時間 展開시켜 展開距離 25 cm가 되도록 하였다. 展開가 完了된 thin layer는 即時 꺼내어 風乾시킨後 0.25% ninhydrin-acetone 溶液을 분무, 加熱시켜 아미노산을 發色시키고 標準 아미노산을 同樣으로 處理하여 얻은 Rf 値와 比較, 抽出液中の 遊離 아미노산 組成을 確認하였다.

아미노산의 定量分析: 抽出液 0.20 ml를 automatic amino acid analyzer (KLA-3B, Hitachi, Japan)에 適用시켜 아미노산 分布曲線을 만들고 標準 아미노산 分布曲線을 만들어 이와 比較하여 아미노산의 組成을 確認하고 各 아미노산의 面積을 求하여 아미노산의 含量을 計算하였다.

結 果

Thin layer chromatography에 依한 소, 돼지, 산양 및 토끼의 臀筋중 遊離아미노산 組成은 Table 1과 같으며 全試驗家畜에서 6種의 아미노산 spot가 確認되었으며 토끼의 경우를 제외하고는 spot의 分布가 비슷하였다.

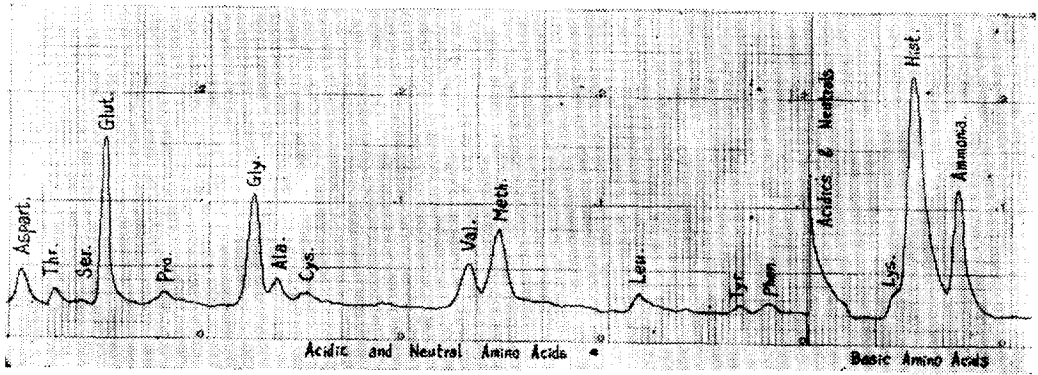


Fig. 1. Calibration of free amino acids in musculus gluteus of cattle by automatic amino acid analyzer

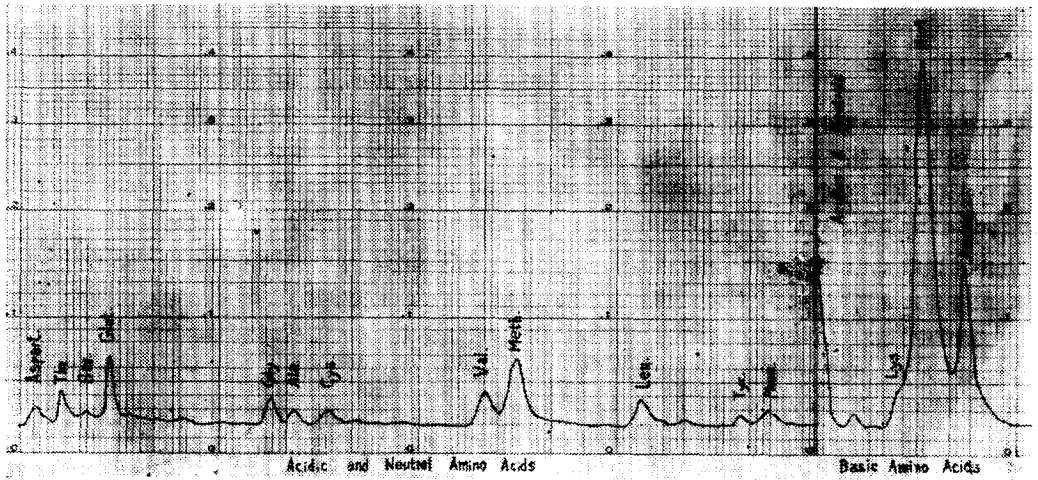


Fig. 2. Calibration of free amino acids in musculus gluteus of swine by automatic amino acid analyzer

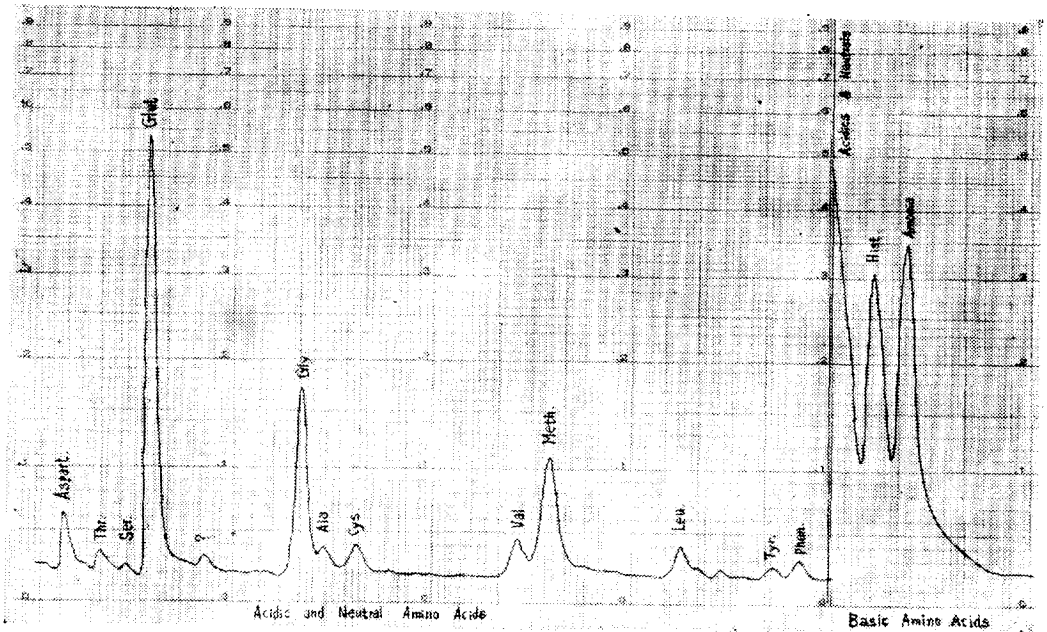


Fig. 3. Calibration of free amino acids in musculus gluteus of goat by automatic amino acid analyzer

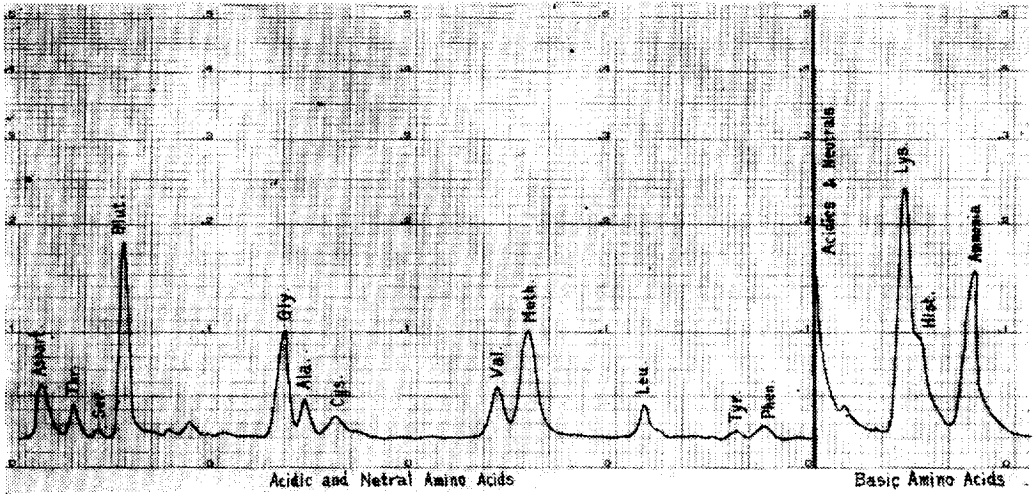


Fig. 4. Calibration of free amino acids in musculus gluteus of rabbit by automatic amino acid analyzer.

Table 1. Free Amino Acids in Musculus Gluteus of Cattle, Swine, Goat and Rabbit by Thin Layer Chromatography

Animals	Cattle	Swine	Goat	Rabbit
Amino acids				
Lysine	+	+	+	++
Histidine	++	++	++	++
Aspartic acid				
Glycine	+++	+++	+++	++
Glutamic acid				
Threonine				
Alanine	+	++	+	+
Methionine	++	+	+	+++
Valine				
Leucine	+	+	+	+

- : Negative

+, ++, +++ : Intensity of color developed

* : Color of spot mixed with various amino acids.

Automatic amino acid analyzer에 의한 소, 돼지, 山羊 및 토끼 臀筋의 遊離아미노산 分布曲線은 Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4와 같다. 分布曲線으로 보아 소와 돼지에서 비슷하였고 山羊 및 토끼는 差異가 많았으며 특히 鹽基性 아미노산 曲線에서 山羊에서는 lysine 曲線을 볼수 없으며 토끼는 lysine 曲線이 매우 크게 나타났다.

Automatic amino acid analyzer에 의한 소, 돼지, 山羊 및 토끼의 腕頭筋중 遊離아미노산의 組成 및 含量은 Table 2에서 보여주는 바와 같다. 소는 14種 돼지는 14種, 山羊은 11種, 토끼는 14種의 아미노산으로

Table 2. Free Amino Acids in Musculus Brachiocephalicus of Cattle, Swine, Goat and Rabbit (mg/100g)

Animals	Cattle	Swine	Goat	Rabbit
Amino acids				
Lysine	28.21	19.17	—	169.56
Histidine	207.50	558.25	331.89	69.77
Arginine	—	—	—	—
Aspartic acid	34.39	11.79	62.30	14.46
Threonine	4.18	6.59	6.63	6.39
Serine	trace	trace	trace	trace
Glutamic acid	116.38	15.97	135.33	13.45
Proline	—	—	—	—
Glycine	47.33	3.66	31.80	7.34
Alanine	12.71	2.55	2.83	8.70
Cystine	45.22	trace	4.42	trace
Valine	14.94	11.31	47.04	21.65
Methionine	47.20	37.55	47.95	40.36
Isoleucine	—	—	—	—
Leucine	trace	7.80	—	9.09
Tyrosine	trace	trace	—	trace
Phenylalanine	trace	trace	—	trace

로 組成되었으며 一般的으로 histidine, glutamic acid, methionine 등의 含量이 많았으나 山羊에서는 lysine 이 檢出 되지 않았고 토끼에서는 lysine 의 含量이 가장 많았다.

Automatic amino acid analyzer에 의한 소, 돼지, 山羊 및 토끼의 臀筋중 遊離아미노산의 組成 및 含量은 Table 3과 같다. 즉 소는 14種, 돼지는 14種, 山羊은 13種, 토끼는 14種으로 腕頭筋의 아미노산 組成

과 비슷하였고 함유에서 多少差異가 있었으나 含量順位는 비슷하였다.

考 察

小原等⁵⁾ 佐佐木等⁶⁾ 尹等⁷⁾의 paper chromatography에 의한 牛肉, 豚肉, 綿羊肉 등의 遊離아미노산은 9내지 16종의 아미노산分布를 보인데 比하여 thin layer chromatography에 의한 遊離아미노산 分布는 전동물에서 6種의 spot가 確認 되었으며 이러한 差異는 아미노산의 重複된 spot의 出現에 起因할지도 모른다. 소, 돼지, 및 山羊에서의 遊離아미노산 chromatogram은

Table 3. Free Amino Acids in Musculus Glutaeus of Cattle, Swine, Goat and Rabbit (mg/100g)

Animals	Cattle	Swine	Goat	Rabbit
Lysine	9.22	13.51	—	161.88
Histidine	279.17	468.01	584.26	99.89
Arginine	—	—	33.46	—
Aspartic acid	12.56	19.91	20.99	17.81
Threonine	4.59	3.96	4.36	6.18
Serine	trace	trace	1.72	trace
Glutamic acid	42.44	18.58	168.37	49.61
Proline	—	—	—	—
Glycine	21.00	6.76	36.11	16.80
Alanine	6.11	3.04	5.35	7.45
Cystine	trace	trace	35.23	37.14
Valine	15.31	12.23	9.28	19.33
Methionine	31.75	47.61	62.78	57.75
Isoleucine	—	—	—	—
Leucine	6.63	8.20	7.97	7.51
Tyrosine	trace	trace	trace	trace
Phenylalanine	trace	trace	trace	trace

spot의 分布 狀態에 依하여 動物間的 差異를 구별하기 難하였으나 소, 돼지, 산양에서는 glycine의 spot가 가장 分明하고 濃厚하였으며 토끼에서는 methionine의 spot가 가장 濃厚하여 다른 試驗動物과 가장 쉽게 구별 되었다. 그러나 一般적으로 chromatography 법에 依하여 抽出液을 多量 展開 시킬 수 없으며 各種 아미노산 을 滿足스럽게 分離시키기 어려우므로 automatic amino acid analyzer에 依한 分析이 더욱 正確하였으며 더욱 믿을만한것으로 생각된다. Automatic amino acid analyzer에 依한 各 動物의 臀筋중 遊離아미노산 分布 曲線은 動物別 差異가 確實하였으며 소와 돼지 間에서

가장 類似하였으며 소와 돼지간의 確實한 구별을 爲해서 是 아미노산의 含量順序를 決定하는것이 좋을것이다. 山羊은 鹽基性아미노산에 比하여 酸性아미노산, 特히 glutamic acid 曲線을 크게 形成하며 lysine 曲線의 出現 이 없는 것이 特徵의이었고 토끼에서는 lysine 曲線이 다른 鹽基性 아미노산 曲線보다 큰 曲線을 形成하여 다른 動物의 筋肉과 아미노산 分布曲線上 큰 差異點으로 생각된다.

全體的으로 아미노산 分布와 含量에서 小原等⁵⁾ 尹 等⁷⁾의 既存成績과 큰 差異를 보였으며 소, 돼지, 산 양에서는 histidine, glutamic acid, methionine 등이 가장 많이 存在하고 serine, cystine, tyrosine, phenylalanine 등은 痕跡으로만 나타났다. 토끼에서는 lysine의 含量이 가장 많고 다음이 histidine, methionine, glutamic acid 의 順으로 試驗動物중 가장 特徵의이며 아미노산 分布曲線과 함께 含量에서 뚜렷한 差異를 보였다. 아 미노산의 含量的 差異에 依한 소와 돼지간의 구별은 아미노산중 特히 lysine의 順位에 依하여 區別 할 수 있을것으로 생각된다. 即 소에서는 lysine이 7~9 번째 의 順位에 比하여 돼지에서는 3~5 번째의 順位에 位 置하였다.

各 動物의 腕頭筋과 臀筋間的 分布曲線은 거의 비슷 하였으며 含量에서 多少의 差異가 있었으나 아미노산 의 含量別 順序에는 거의 變動이 없었으며 이러한 事實 은 動物간의 서로 다른 部位의 筋肉중 遊離아미노산 分布를 調査하여 動物間的 差異를 구별 할 수 있는 根 據가 될지도 모른다.

結 論

소, 돼지, 산양 및 토끼 고기의 腕頭筋과 臀筋에 對하여 遊離아미노산의 組成과 含量을 thin layer chromatography 및 automatic amino acid analyzer에 依하여 分析한 結果 아래와 같은 成績을 얻었다.

1. Thin layer chromatography에 依한 소, 돼지, 山 羊 및 토끼의 腕頭筋중의 遊離아미노산은 glycine, his- tidine, methionine, lysine, alanine, leucine 등 6種이 었 으며 소, 돼지, 山羊에서 glycine의 spot가 가장 濃厚 하였었고, 토끼에서는 methionine의 spot가 가장 濃厚 하였다.

2. Automatic amino acid analyzer에 依한 소, 돼지, 山 羊 및 토끼의 遊離아미노산 分布曲線은 서로 差異가 있었으며 同一한 動物에서 腕頭筋과 臀筋間的 差異는 거의 없었다.

3. 소, 돼지, 山羊 및 토끼의 腕頭筋과 臀筋中 遊離

아미노산 함량은 部位別 약간의 差異가 있었으나 아미노산의 含量順位에 差異가 없었으며 試驗動物間에는 含量과 含量順位에 큰 差異가 있었다.

參 考 文 獻

1. Awapara, J.: Application of paper chromatography to the estimation of free amino acids in tissue. Arch of Biochem. 1948. 19 : 172.
2. Macy, R.L. Jr., Nauman, H.D. and Bailey, M.E.: Water soluble flavor and odor precursors of meats. I. Qualitative study of certain amino acids, carbohydrates, non-amino acid nitrogen compounds and phosphoric acid esters of beef, pork and lamb. J. Food Sci. 1964. 29 : 126.
3. McCain, G. R., Blumer T.N. Graig H.B. and Steel, R.G.: Free amino acids in ham muscle during successive aging periods and their relation to

flavor. J. Food Sci. 1968. 33 : 142.

4. Satterlee, L.D. and Lillard D.A.: A procedure for gas chromatographic analysis of free amino acids in meats. J. Food Sci. 1967. 32 : 682.
5. 小原哲二郎, 小笠原, 八十吉: 肉類의 貯藏에 關する ポーウ로그ウフ的 研究(第 5 報). 牛肉蛋白波と 肉成分變化 と의 關係(その 2). 日本農化學會誌 1960. 34 : 302.
6. 佐佐木林治郎, 藤卷正生, 川野武彦: 肉의 自己分解에 關する 化學的 研究(第 12 報). 肉의 熟成에 伴う 遊離 아미노酸의 變化에 關하여, 日本農化學會誌 1959. 33 : 186.
7. 尹衡植, 孫泰華, 朴元吉: 動物部位에 따르는 水溶性 遊離 아미노酸의 分布에 對한 研究(第 1 報) 韓國農化學會誌 1965. 6 : 29.
8. 李載容: Identification of amino acid composition of protein in dulse. 韓國農化學會誌 1965. 6 : 119.

Free Amino Acids in Meats of Cattle, Swine, Goats and Rabbits by Thin Layer Chromatography and Automatic Amino Acid Analyzer

Jong Hoo Cho, D.V.M., M.S. and T.H. Cho, B.A.S.

Institute of Veterinary Research, Office of Rural Development

Su Nam Han, D.V.M., Ph.D.

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Seoul National University

Abstract

Free amino acid extracts of musculus brachiocephalicus and musculus gluteus of cattle, swine, goats and rabbits are analyzed to see the composition and the contents of free amino acids by thin layer chromatography and automatic amino acid analyzer. The results obtained are summarized as follows:

1. Meats of cattle, swine, goats and rabbits analyzed by thin layer chromatography have 6 kinds of free amino acids such as glycine, histidine, methionine, lysine, alanine and leucine, and the spots of glycine in chromatogram of meats of cattle, swine and goats and the ones of methionine in chromatogram of meats of rabbits are the largest and the most dense of all other ones.

2. Distribution curves of free amino acids in meats of cattle, swine, goats and rabbits showed significant differences, but differences on distribution curves of free amino acids between musculus-brachiocephalicus and musculus gluteus of the same tested animal are not significant.

3. Contents of free amino acids in meats of cattle, swine, goats and rabbits showed significant differences, but differences on contents of free amino acids between musculus brachiocephalicus and musculus gluteus of the same tested animal are not significant.