

GLC에 의한 버섯의 Amino Acid 定量

=Abstract=

Quantitative Analysis of Protein Amino Acid in Agaricus Bisporus by GLC

Jai-Kie Jung, Jai-Young Chung*, Sang-Moo La**

In Ha Univ. College of Engineering, Incheon, Korea

Quantitative analysis was achieved by gas-liquid chromatographic method (GLC) with a single column system of OV-17 for 16 of protein amino acids in mushroom (agaricus bisporus).

The quantities of protein amino acids in mushroom were determined 48.32~255.94 mg% alanine, 108.6F~364.82 mg% glycine, 124.30~314.17 mg% Valine, 32.99~418.79 mg% leucine and isoleucine, 151.78~669.07 mg% threonine, 88.12~4F6.3F mg% Serine, 21.9F~114.94 mg% Hydroxyproline, 20.F4~174.63 mg% proline, 34.52~173.59 mg% Methionine, 255.25~1417.61 mg% Aspartic Acid, 10F.00~392.17 mg% Phenylalanine, 12F.46~535.65 mg% Glutamic Acid and Lysine, Tyrosine in trace amount.

서 론

버섯(mushroom, agaricus bisporus)은 맛과 영양이 풍부한 우수한 식품으로서 Marlo R. Altamura¹⁾ 등은 버섯의 화학성분중에서 ninhydrin-positive compounds인 amino acid를 정량한 바 있다. 저자는 국내에서 산출되는 송이, 능이, 느타리버섯, 목이, 석이 및 표고버섯중의 amino acid 16種을 定量했다. amino acid의 정량적인 분석법으로는 Moore²⁾, Stein³⁾, Hamilton⁴⁾ 등에 의해서 발견된 Ion-Exchange Chromatography법, paper chromatography 및 amino acid autoanalyzer 등의 여러 방법이 사용되고 있으나, 1968년 Gehrke⁵⁾ 등은 EGA-OV-17 Dual column을 사용하여 Gas-Liquid Chromatography (GLC)에 의해서 protein amino acid 20種을 정량했다. 저자는 이 Gehrke 氏法에 의해 OV-17 single column을 사용하여 버섯

의 protein amino acid 16種을 定量的으로 分析했다.

실 험

A. 시 약

- 본 실험에 사용한 시약은 모두 특급시약을 사용했다.
1. amino acid; chromatography용 amino acid로 E. Merck 제를 사용했다.
 2. n-butanol · HCl; n-butanol 100 ml에 dry HCl gas를 포화시켰다.
 3. methanol (anhydrous); methanol 500 ml에 magnesium 5 g을 넣어 reflux시켜 증류했다.
 4. methanol · HCl; anhydrous methanol 100 ml에 dry HCl gas를 포화시켰다.
 5. methylene chloride (anhydrous); CH₂Cl₂ 100 ml에 anhydrous calcium chloride 25 g을 가하여 30분동안 reflux시켜 증류했다.
 6. trifluoroacetic anhydride; E. Merck 제 특급시약을 그대로 사용했다.
 7. Substrate; OV-17 (phenyl methyl silicone)
 8. support material; acid washed 80/100 mesh

*Chung-ang Univ. College of Engineering

**Ajou Institute of Technology, Dept. of Chemical Engineering.

표 1. 버섯의 protein amino acid의 함량

건조시료 100 g에 대한 mg(mg%)

Amino acid	송이	표고	능이	목이	느타리	석이
Alanine	252.64	255.94	172.51	249.91	239.80	48.23
Glycine	229.94	364.82	252.29	196.63	281.45	108.67
Valine	158.36	314.17	187.31	233.28	306.08	124.30
Leucine+Isoleucine	32.99	418.79	214.09	284.16	338.08	100.04
Threonine	377.24	523.13	669.02	151.78	366.93	330.08
Serine	88.12	288.60	289.90	123.88	476.37	139.20
Hydroxyproline	87.89	114.94	45.07	21.97	24.22	trace
Proline	100.12	174.63	77.89	101.60	113.67	20.74
Methionine	73.31	124.40	173.59	50.13	80.88	34.52
Aspartic acid	444.42	1417.61	518.79	404.88	521.38	255.25
Ornithine	—	—	—	—	—	—
Phenylalanine	296.11	392.17	241.37	209.90	313.08	107.00
Glutamic acid+Lysine	507.13	535.65	399.01	437.94	504.65	127.46
Tyrosine	9.72	68.72	69.93	trace	34.05	31.62
Total	2655.69	4514.78	3310.77	2466.06	3600.64	1472.65

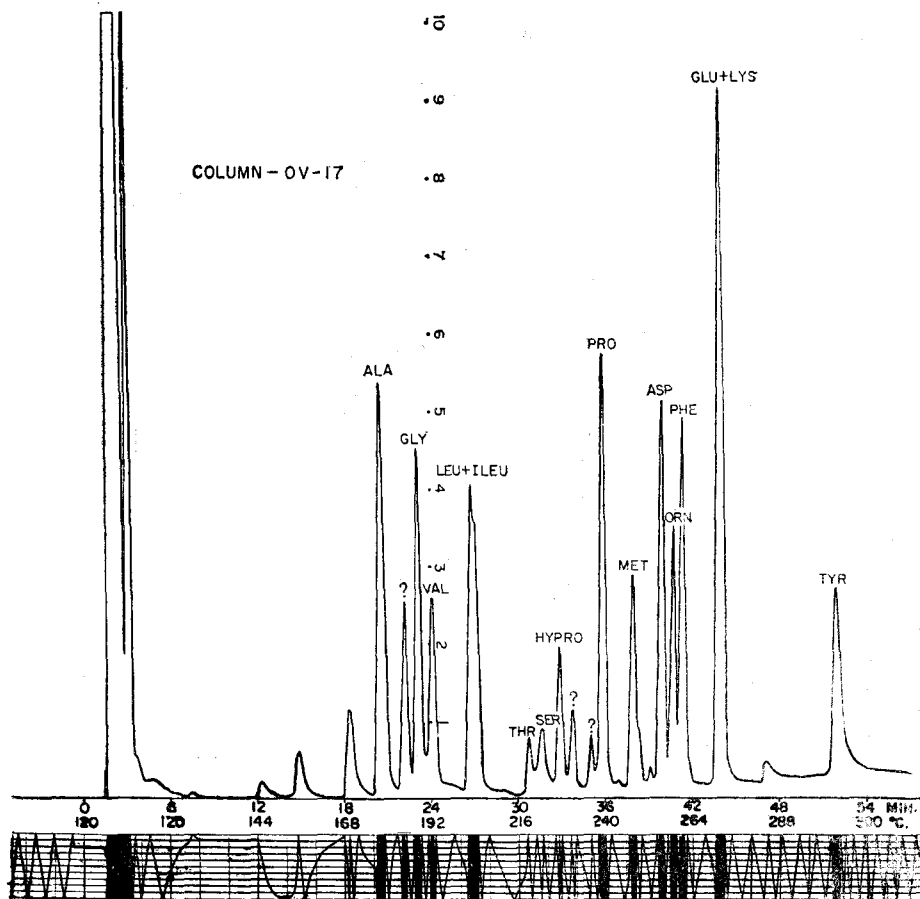


그림 1. Standard amino acid의 chromatogram.

chromsorb G를 $550 \pm 50^\circ\text{C}$ 에서 15시간 건조하여 200°C 로 냉각하여 P_2O_5 위에서 desiccator에 보관하여 사용했다.

B. standard amino acid stock solution.

Protein amino acid 20種을 각 30 mg 을 정량하여 0.1N-HCl 로 100 ml 로 했다.

C. 사용기기와 chromatographic conditions.

1. 사용기기.

gas chromatograph(varian aerograph model 1800)
recorder(varian aerograph 200)

2. chromatographic conditions,

6w/w% OV-17, 80/100 mesh chromsorb G $5' \times 1/8''$
column temperature. initial 120°C , final 300°C

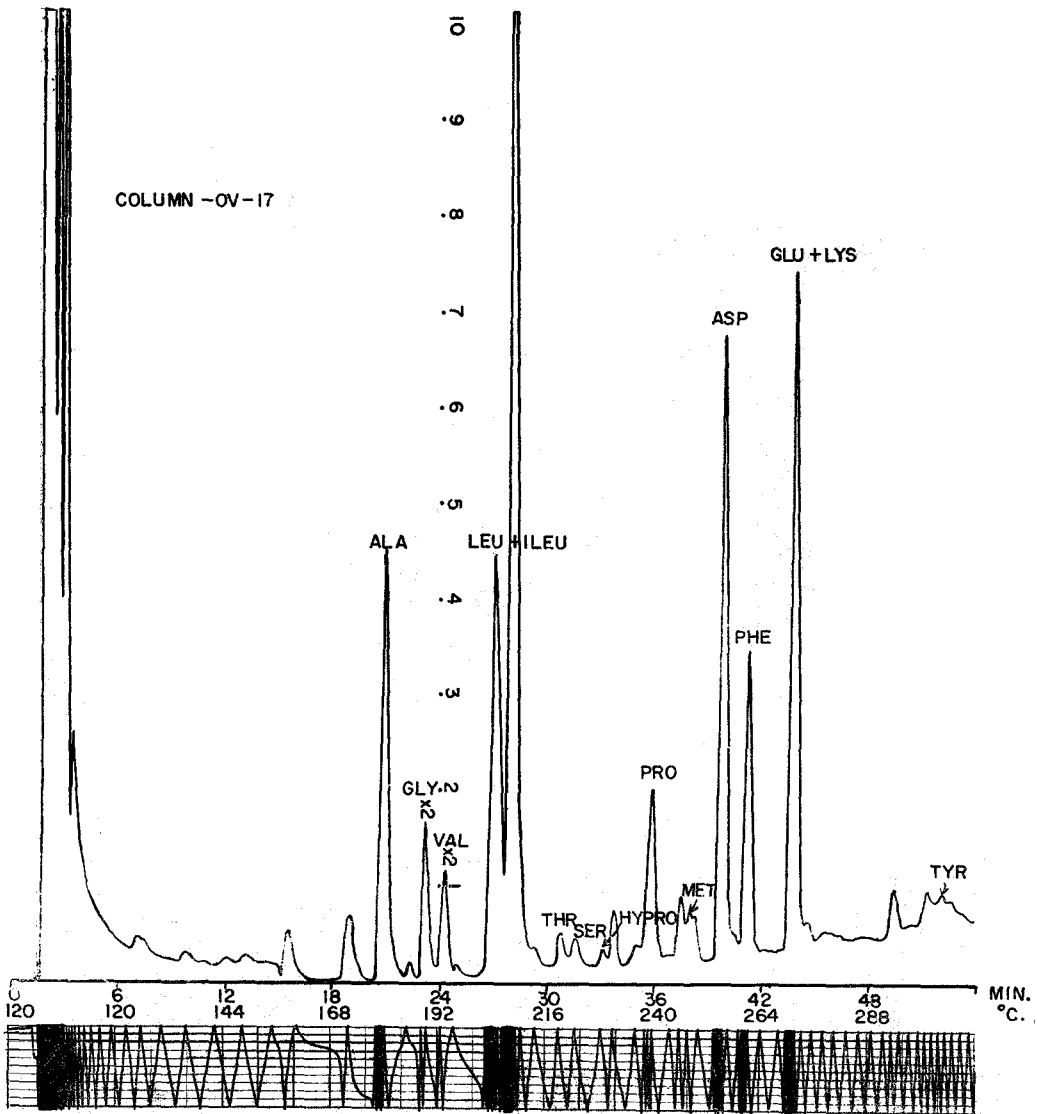


그림 2. 목이 버섯의 chromatogram.

program rate 4°C/min
 detector temperature 300°C
 sensitivity 32×10^{-10}
 carrier flow, N₂ 6.7 ml/min
 chart speed 10"/hr

D. 시 료

국내에서 산출되다 송이, 목이, 능이, 표고, 석이 및 느타리 버섯을 수집하여 70±5°C에서 건조한 버섯

0.5 g을 정평하여 culture tube에 넣고 6N-HCl 30 ml를 加하여 teflon cap를 하여 145±5°C에서 4시간 가수분해하여 glass filter로 여과한후 60°C에서 감압증류하여 수분을 완전히 제거한후 실험방법에서와 같이 amino acid의 N-trifluoro acetic anhydride n-butyl ester를 합성하여 2μl를 GLC에 주입했다.

E. GLC 분석용 amino acid derivative 의 합성

1. amino acid mixture에 CH₂Cl₂ 10 ml를 加하여

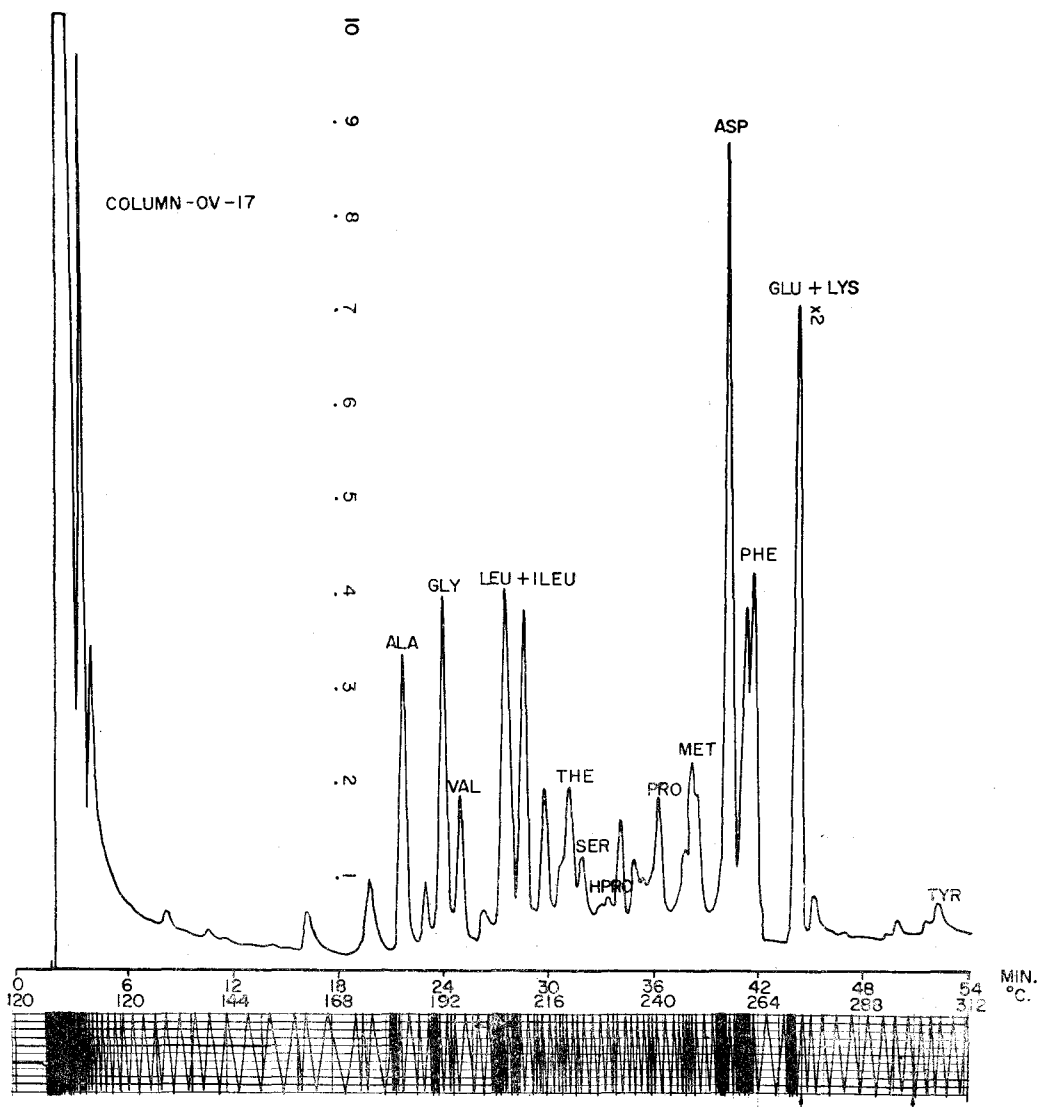


그림 3. 능이 버섯의 chromatogram.

60°C에서 질소 기류하에 감압 증류하여 수분을 완전 제거했다.

2. methanol HCl 10 ml를 加하여 culture tube에 넣어 실온에서 30분간 에스테르화 시킨 다음 60°C에서 질소기류하에서 감압증류하여 완전건조 시켰다.

3. n-butanol HCl 10 ml를 加하여 oil bath에서 150°C로 5분간 가열한후 100°C에서 1시간 에스테르

화 시키고 감압증류하여 완전 건조 시켰다.

4. CH_2Cl_2 7ml와 trifluoroacetic anhydride(TFAA) 5ml를 加하여 잘 흔들어준 다음 100°C에서 1시간 acylation 시킨다음 질소기류 하에서 감압증류하여 amino acid의 N-TFAA n-butyl ester를 합성하여 2 μ l를 GLC에 주입했다.

5. OV-17 single column을 사용하여 버섯에 함유

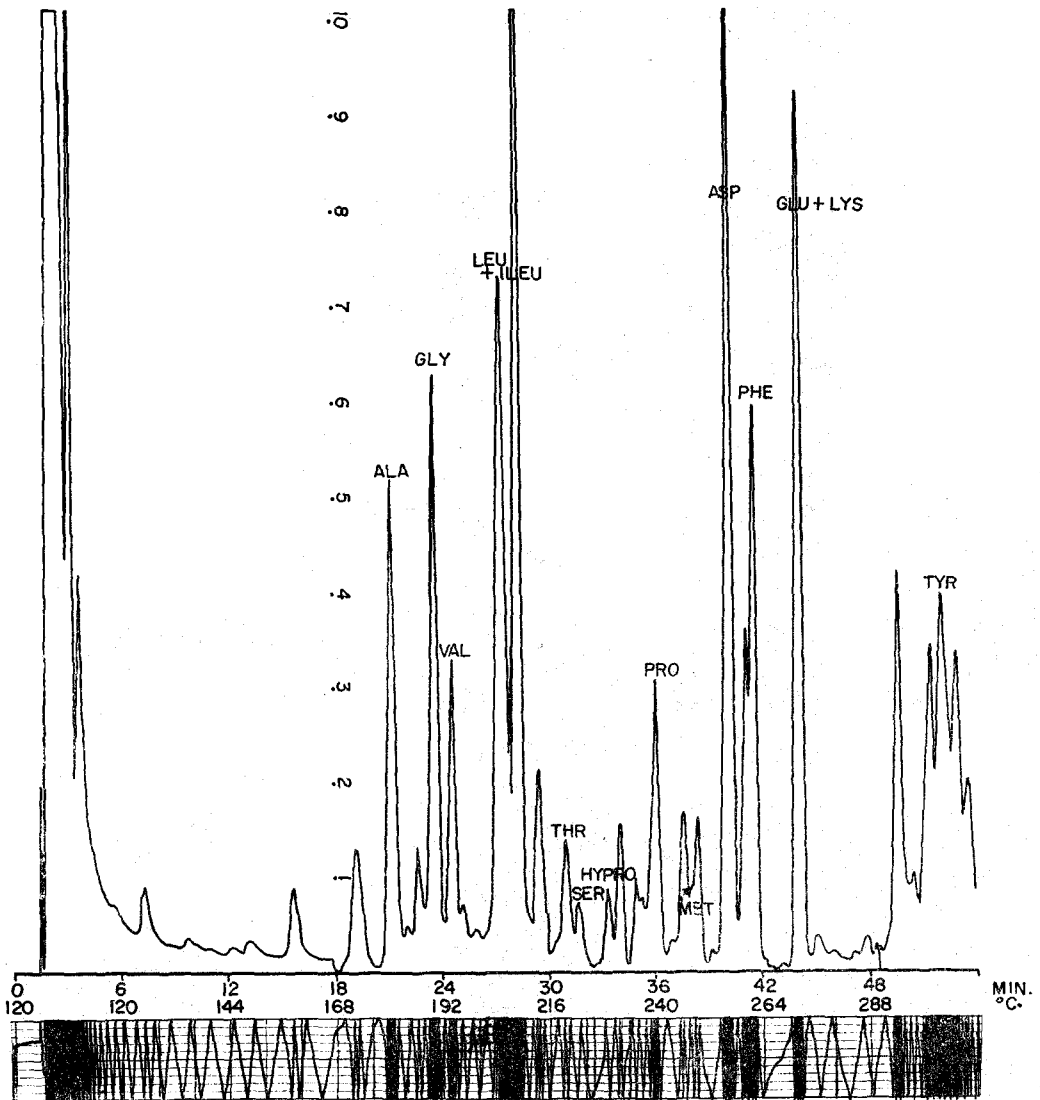


그림 4. 표고 버섯의 chromatogram.

되어 있는 protein amino acid를 정량했다.

결과 및 고찰

국내에서 산출되는 송이, 표고, 능이, 목이, 느타리 및 석이버섯에 함유된 amino acid를 OV-17 single

column system을 이용하여 정량했으며 각각의 버섯의 amino acid함량은 표 1과 같고 chromatogram은 그림 1~7에 실었다.

버섯의 amino acid는 total 1472.65~4514.78 mg% 함유 되어 있으며 버섯의 종류에 따라 차이가 심하다. 6종의 버섯중에서 특히 표고버섯이 4514.78 mg%로가

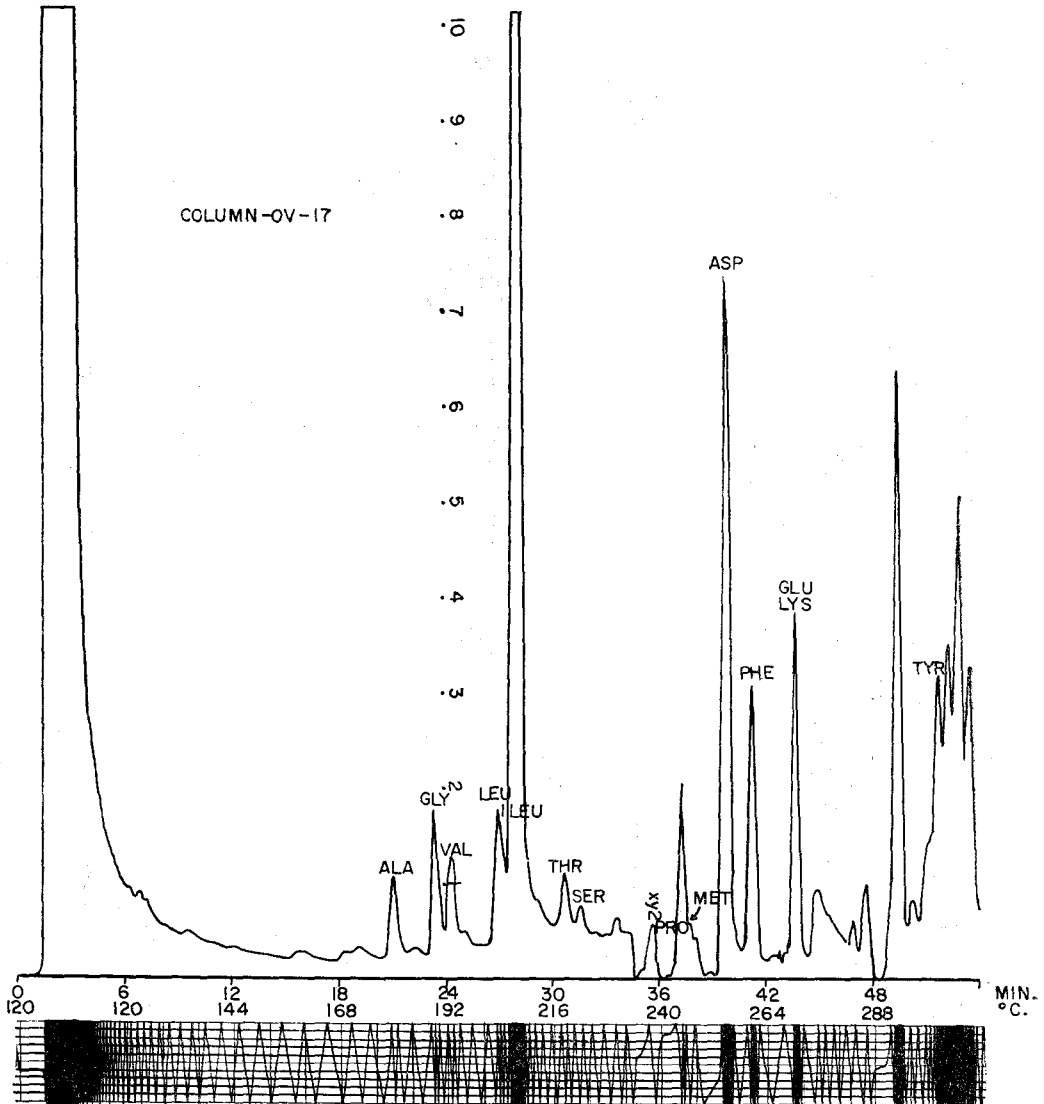


그림 5. 석이 버섯의 chromatogram.

장 많이 들어 있으며, 특히 甜味 amino acid 인 aspartic acid 는 255.25~1417.61 mg%로 가장 많이 함유되어 있고 포코버섯이 1417.61 mg%로서 가장 많다. threonine 은 151.78~669.02 mg%로서 능이 버섯에 가

장 많이 들어있고 glutamic acid 와 lysine 은 127.46~535.65 mg%로 포코버섯에 가장 많이 함유되어 있다. Ornithine 은 버섯에 함유되어 있지 않으며 tyrosine 은 trace 정도로 함유되어 있다.

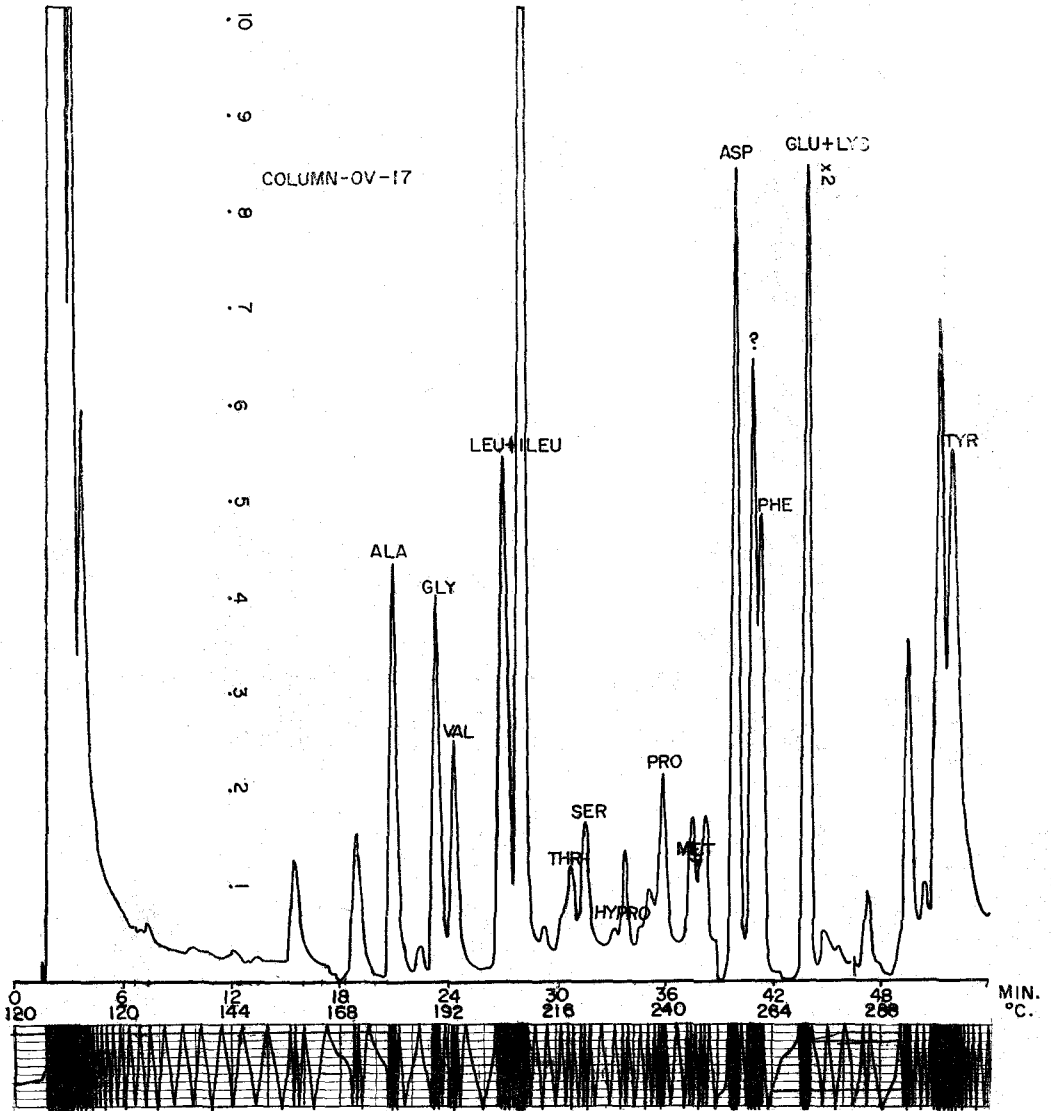


그림 6. 느타리 버섯의 chromatogram.

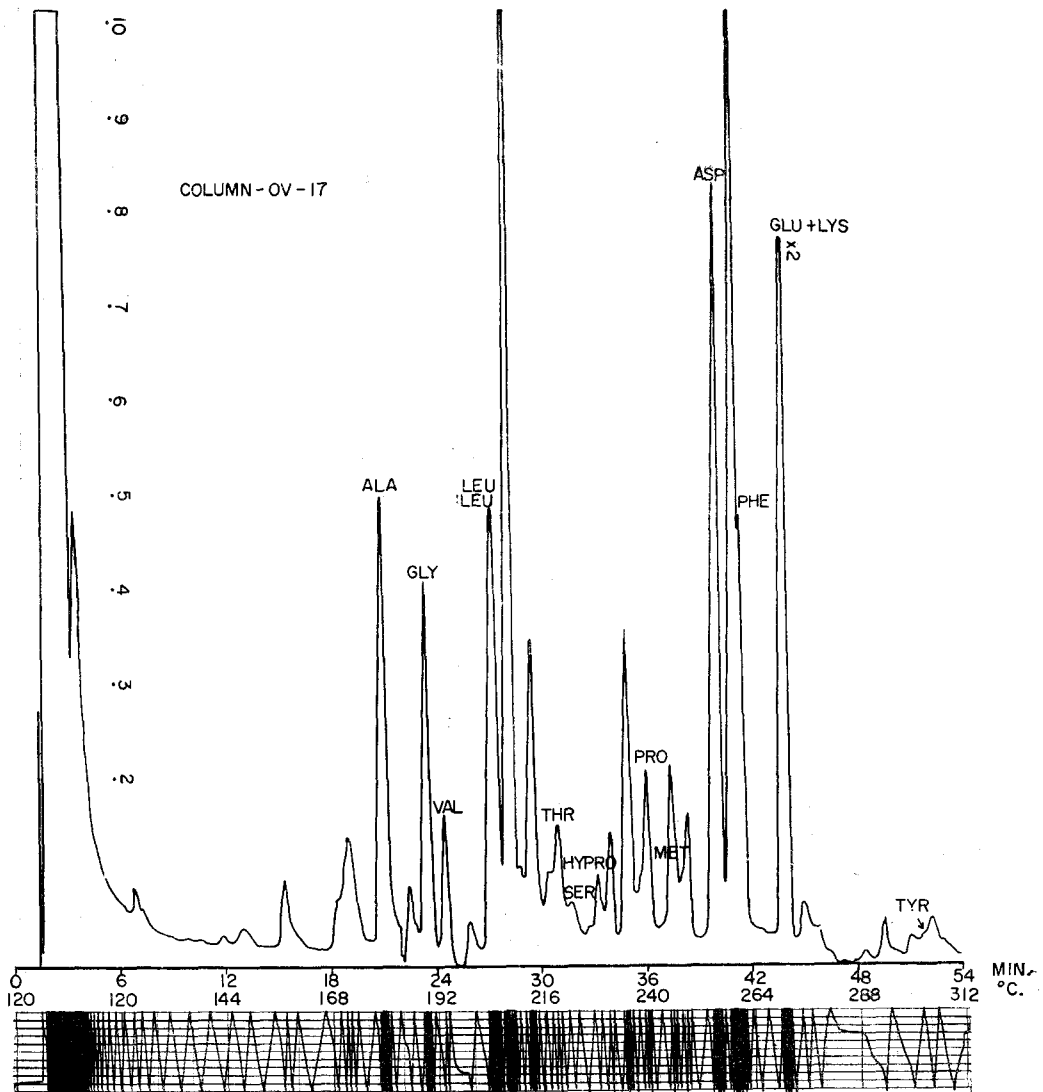


그림 7. 송이 버섯의 chromatogram.

결 론

1. OV-17 single column system을 사용하여 버섯에 함유된 amino acid 16種을 定量했다.
2. 국내에서 산출되는 송이, 능이, 느타리버섯, 목이, 석이 및 표고버섯의 amino acid의 함량은 48.32~255.94 mg% alanine, 108.67~364.82mg% glycine, 124.30~314.17 mg% valine, 32.99~418.78 mg% leucine 과 isoleucine, 151.78~669.07 mg% threo-

- nine, 88.12~476.37 mg% serine, 21.97~114.9 mg% hydroxyproline, 20.74~174.63 mg% proline, 34.52~173.59 mg% methionine, 255.25~1417.61 mg% aspartic acid, 107.00~392.17 mg% phenylalanine, 127.46~535.65 mg% glutamic acid와 lysine이 함유되어 있으며 Tyrosine은 trace 정도로 함유되어 있다.
3. 6種의 버섯중에서 표고버섯의 amino acid 함량이 4514.78 mg%로 가장 높다.
 4. 程味性 amino acid 중에서도 aspartic acid가 255.25~1417.61 mg%로 가장 높다.

REFERENCES

- 1) Mario, R., Altamura, et al.: *JAFCAU*, 15, 1040 (1967).
- 2) Moore, S., Spackman, D.H. and Stein, W.H.: *Anal. Chem.*, 30, 1185 (1958).
- 3) Moore, S., and Stein, W.H.: *J. Biol. Chem.*, 192, 663 (1951).
- 4) Hamilton, P.B., Bogue, D.C. and Anderson, R.A.: *Anal. Chem.*, 32, 1782 (1960).
- 5) Charles, W.Gehrke, Don Roach, and R.W. Zumwalt.: *J. Chromatogr.*, 53, 171 (1970).