

밤의 Amino酸과 糖에 關하여

白 光 煜

<江原大 教授>

I. 緒 言

밤(chestnut)은 救荒食品 또는 非常食品이라고도 한다.

또한, 代用食品이라고도 한다.

利用面이 많아서 그동안 밤나무 團地를 山野, 開川邊等に 造成하여 病蟲害에 關하여서도 問題點이 있지만 過剩生産 段期에 접어들어 加工 貯藏法 等 多邊的인 研究가 實施되고 있다.

밤은 離乳期의 兒童給食에는 必要不可決의 食品이다.

또한, 藥用面에 있어서도 血壓이 높은 사람의 血壓 調節用으로 愛用되는 等 高貴한 食品이다.

칼로리도 높지만 蛋白質과 粗澱粉含量이 많고, 無機物도 Ca, P 含量이 많으며 Vitamin으로는 V. A, V. C 含量이 많다.

이제 著者는 밤(栗(成分組成中의 Amino酸과 糖類를 考察하기 爲하여 A. T. PMartin 及 R. L. M. Synge 等の paperchromatography 法¹²⁾³⁾에 依하여 Amino酸과 糖類를 檢索하였기에 그 結果를 報告한다.

II. 實驗方法

1. 試料調製

① 試料前處理

밤(栗) 20g을 脫殼하고 內皮를 除去한 後 磨碎하여 約 30時間 ether로 脫脂한 後 室溫에서 完全 乾燥하여 供試⁴⁾하였다.

② 蛋白質構成 Amino酸

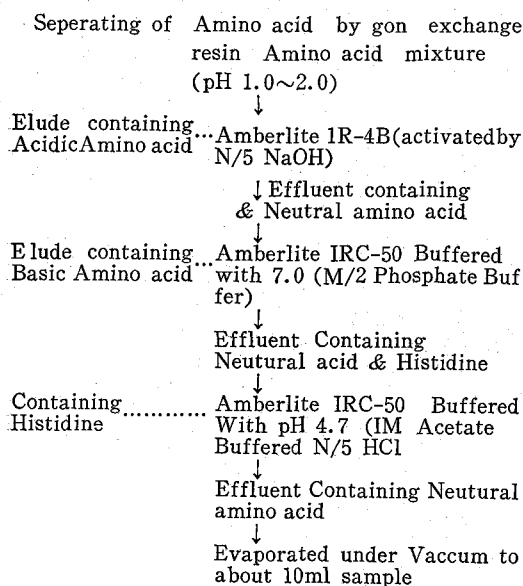
脫脂乾燥한 試料 1g을 6N-HCl 10ml와 같이 試驗管에 넣고 密封한 後 130~140°C 高溫乾燥器中에서 約 30時間 加水分解한 後 開封하여 50ml 蒸溜水로 稀釋하여 沈澱이 생기지 않을 때까지 鹽基性醋酸鹽을 加하고 硫化水素를 通하여 過剩鉛을 除去하고 減壓濃縮하여 硫化水素를 完全히 除去한 後 Ion交換樹脂로 Amino酸을 群別한다.¹⁾²⁾³⁾

Amino酸 群別은 丸田法⁵⁾⁶⁾에 依하여 濃縮한 Amino酸溶液을 100ml로 稀釋(pH. 1.0~2.0)하고 Amberlite 1R-4B及 pH 7.0及 pH 4.7의 Amberlite IRC-50으로 各群別 Amino酸을 分離하고 減壓濃縮하여 10ml 定容으로 paper chromatography의 試料로 하였다.

試料 1g에 5N-NaOH 50ml을 가하여 120~125°C의 恒溫乾燥器內에서 10時間程度 加水分解한 後 glass filter로 濾過한 後 Amberlite 1 R-120(2N-HCl로 活性)에 通過시켜 中和⁷⁸⁾後 濾液을 減壓乾涸하여 95% Ethanol로 Ninhydrin反應이 陰性이 될때까지 溫浸出을 返復하여 抽出液을 모은다.

그 다음 減壓下에 Alcohol을 除去하고 殘渣를 蒸溜水 1.5ml에 溶解하여 paper chromatography試料로 하였다.

Table. I



③ 進離糖調製

脫殼하고 內皮를 除去한 밤(栗) 200g을 磨碎하여 Ether로 室溫에서 約 2週間 脫脂한 後 乾燥하여 40mesh 粉末 50g에 80% Ethanol 300ml을 가하여 Molish反應이 陰性이 될때까지 80°C로 6時間式 4回 抽出한 것을 濾過하여 65°C에 減壓濃縮⁹⁾¹⁰⁾하여 paper chromatography의 供試로 하였다.

④ polysaccharide分別

Free Sugar와 同樣으로 脫脂한 試料 50g에

50% Ethanol 300ml을 가하여 可溶部의 濾液을 65°C에서 減壓濃縮하여 約 100ml로 하고 無水 Alcohol을 가하면서 攪拌하여 生成하는 白色 Jelly狀 沈澱을 除去하고 濾液을 20ml로 減壓濃縮한 後 無水 Alcohol 150ml을 가하여 생긴 白色沈澱을 遠心分離하여 再次 無水 Alcohol로 處理 脫水 後 鹽化石灰—Desiccator 中에서 乾燥한 polysaccharide 3.5g을 얻는다. 이 polysaccharide 1g에 0.5N-HCl 5ml을 試驗官에 封官하여 85~90°C 水浴中에서 8~9時間 加水分解한 後 粉末 CaCO₃로 中和 後 濾別한 濾液을 65°C下에서 다시 減壓濃縮乾涸 後 80% Ethanol 10ml로 3回 溫抽出하여 Ethanol을 除去하고 다시 10ml로 定容하여 paper chromatography 供試로 하였다.

2. 試葉과 材料

① Amino酸 展開溶媒는 n-Butanol: Acetic acid:H₂O(4:1:5 v/v/v)를 調製하고 濾紙는 標準品인 東洋濾紙 No. 50을 使用하였으며 定性用은 Watman paper No. 1을 使用하였다. 發色溶液은 豫備發色用과 本發色用은 같이 0.1% Ninhydrin action 溶液을 調製使用하였다.

緩衝液은 試料調製時와 展開溶媒로서 M/2—磷酸 Buffer (pH 7.0)와 1M—醋酸緩衝液을 調製使用하였다.

② 糖類 paper chromatography 展開劑는 merk 製試某으로 n-BuOH:Pyridine:H₂O(6:4:3v/v/v)을 調製하고 發色劑는 糖檢索用으로 Aniline hydrogen phthalate¹¹⁾¹²⁾ (Aniline 0.93g phthalic acid 1.66g을 100ml 水飽和 Butanol Sol)를 使用하였으며 濾紙는 東洋濾紙 No. 50을 使用하였다.

3. 操作法

① 一定한 規格으로 切裁한 濾紙上의 原點에 sample을 micropipet로 spotting하고 10入식 spotting한 濾紙上의 sample은 熱風乾燥器로 徐徐히 乾燥하였다. sample을 spotting한 濾紙는 一次元 paper chromatography로 多重 展開하여 Amino酸을 分離하였으며 展開條件은 25~27°C에서 三重展開을 實施하고 一回 展開에 要하는 時間은 大體 18~20時開이며 展開가 끝난後에는 phenol을 使用하였으며 이것은 風乾後 Ether로 洗滌하여 脫phenol作用을 한다.

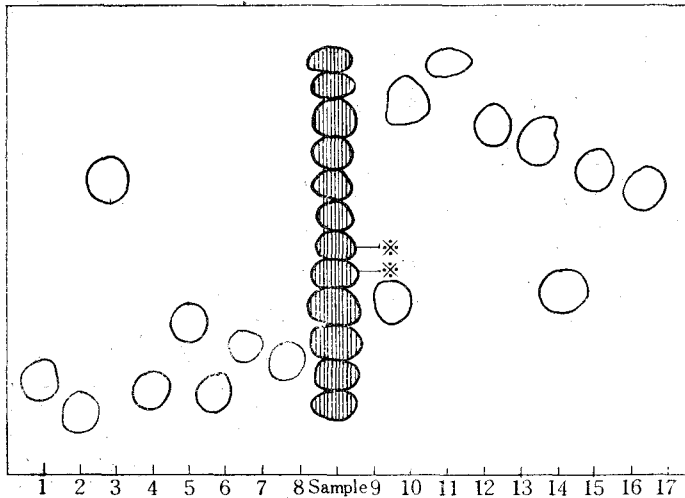


Fig. 1. paper chromatogram of natural amino acid of chestnuts.

Notes:—Toyo blotting paper; No. 50(8×40cm).

Solvent; n-butanol-HAC-H₂O(4 : 1 : 5) : developed repeatedly three times by unidimensional ascending method at temperature 25 to 27°C

Standard Substances;

- | | | |
|-------------------|--------------|------------------|
| 1. Asparagine | 2. Lysine | 3. Tryptophane |
| 4. Histidine | 5. Threonine | 6. Asparagine |
| 7. Serine | 8. Arginine | 9. Glutamic acid |
| 10. Phenolalanine | 11. Leucine | 12. Valine |
| 13. Methionine | 14. Glycine | 15. Tyrosine |
| 16. Alanine | 17. Cistin. | |

發色은 風乾한 paperchromatography에 0.1% Ninhydrin acetone溶液을 spray하여 60°C 恒溫乾燥器內에서 約 7分間 發色킨 다음 各各의 Amino酸을 標準 Amino酸의 斑點 Rf值를 對照하여 特殊 試葉으로 Amino酸을 檢索한다.

② 糖類 paperchromatography展開는 一定한 規格으로 切裁한 原點에 調製한 試料를 micro pipet로 10入식 spotting하여 熱風乾燥器로 徐徐히 完全 乾燥한 後 미리 準備하여 놓은 飽和 glass chamber로 15~25°C에서 30cm程度 下降法多重展開를 實施하여 暗所에서 乾燥한다.

完全히 乾燥한 後 檢索用發色劑 Anilinehydrogen-phthalate를 spray하여 105°C 定溫乾燥器內에서 5分間 發色시켜 標準試料와 比較하여 糖을 檢索하고 Rf值로 確認 後 試料中の 各糖類를 檢索하였다.

III. 結果 及 考察

① 밤(chestnut)의 一般成分組成

밤의 一般成分組 成은 다음의 表II와 같다.

Table. II General composition of Chestnuts

Ca l	Moisture	Crude protein	Crude fat	Nitrogen tree extract	Cellulose	Crude ash	Carbo-hydrate	Ca mg%	P mg%	Fe mg%	VA I:V	VC mg%
208	48.5	4.0	1.2	44.1	1.1	1.1	42.0	32	66	1.0	35	30

② paperchromatography에 의한 Amino酸 檢索

一次元 paperchromatography로 二重 三重 展開를 實施하여 Chromatogram上에 나타난 Amino酸의 斑點을 standard amino酸의 Rf值와 對照 檢索한 結果 Rf值가 近似值인것이 많았다.

때문에, 여기에 上昇法三重展開를 實施하였지만 亦是 分離度가 良好하지 못하였다.

Chromatogram은 앞 페이지의 Fig. 1과 같다.

以上 Fig. 1에서, 보는바와 같이 Amino酸은 n-BuOH:HAC:H₂O(4:1:5 v/v/v) 溶媒로 三重 展開를 實施하여 個個의 Amino酸 分割이 可能 하였으며 Methionine과 Valine, Asparagine과 Histidine Arginine과 Serine, glutamicacid와 threonine 及 glycine等은 Rf值가 近似值가 되어 出現頻度가 明確하지 못하지만 以上과같이 個別的으로 Amino酸을 展開하여 Ninhydrin發色에 依한 結果에서 完全分離檢索이 10個 重疊이 5個, 未確認物이 2個 等を Standard와 對照하여 檢索이 可能하였다. 檢索한

Fig. 2. paper chromatogram of sugar components of the chestnuts.

Notes:—Toyo blotting paper: No. 50(8×40cm) Solvent; n-butanol-pyridine-H₂O(6:4:3)

Sample 1; Sugar compounds of polysaccharide

Sample 2; Frees sugar

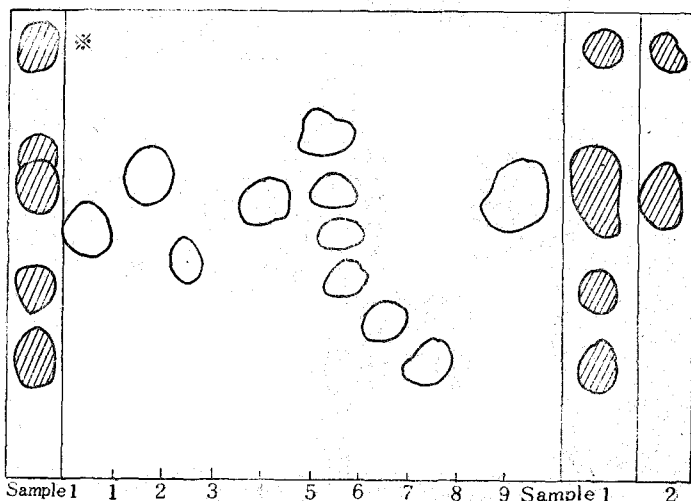
Standard Sugar

- | | | |
|--------------|--------------|---------------|
| 1. Galactose | 2. Arabinose | 3. Saccharose |
| 4. Fructose | 5. Xylose | 6. Maltose |
| 7. Lactose | 8. Raffinase | 9. Glucose |

Amino 酸은 Lysine, Asparagine+Histidine, Arginine+Serine, glutamicacid+ threonine+glycine, Alanine, Tyrosine, Tryptophane Methionine+Valine 等이다.

③ 糖의 檢索

밤(栗)中の 糖類는 遊離糖과 靈糖類構成糖을 綜合的으로 n-BuOH:Pyridine:H₂O(6:4:3 v/v/v) 溶媒로 下降法三重展開를 實施한 結果



糖 paperchromatogram은 다음의 Fig. 2와

같다.

以上の Fig. 2에서 보는바와 같이 Glucose, Fructose, maltose, Lactose 4種이 나타나고未確認物이 하나며 Fructose와 Arabinose는重疊되었으며 glucose와 Fructose도 Rf値가近似值이기 때문에 完全分離되지 못하였다.

IV. 總 括

밤(chestnut)成分을 paperchromatography로 檢索分析한 結果 Amino酸은 lysine alanine histidine+asparagine, arginine+serine, tyrosine, glycine+threonine+glutamic acid, tryptophane, valine+methionine, phenylalanine, leucine 等 10種이 分離되었으며 이중 5種은 重疊 되어있고 確認할 수 없는 未知物이 2種이였었다.

糖은 4種이 分離되었으며 未確認物이 하나 分離되었다.

時間關係로 定量이 不可能하였음을 謝過드리며 다음의 研究課題로 한다.

밤(栗)은 蛋白質이 4% 粗澱粉이 42%로 糖含量이 많으며 營養價에 對한 試驗結果에 依하면¹⁾ 米麥雜穀, 토란, 도토리, 같은것보다는 優良한 것에 屬하며 이것은 蛋白質 Vitamin과 消化吸收의 點이 優秀한것에 基因한것이라고 岩田氏¹⁾는 말하였다. Ca, P, VA, VC, 含量이 많은 救荒食品 또는 非常食品이라고도 하며 代用食品이라고도 한다. 離乳期의 애기들의 給食用으로 많이 利用되었으며 血壓이 높은 사람들은 血壓調節의 特効로 널리 愛用되기도 한다.

加工, 貯藏, 病虫害도 問題이지만 特殊成分 등 營養價와 葉用에 關한 問題가 앞으로의 研究課題가 되지 않을 수 없다.

< 參 考 文 獻 >

- ① 柴田村治: paperchromatography法 83(1961)
- ② 佐竹一夫: chromatography 103(1962)
- ③ F. Cramer: papier chromatographie 76(1954)
- ④ 久米讓: 日本農藝化學會誌 37.6.439(1963)
- ⑤ 丸田芳樹: " 28.10.775(1954)
- ⑥ 岡崎冲佳子: " 35.3.195(1961)
- ⑦ 京都大學: 農藝化學實驗書 2卷 755(1957)
- ⑧ 日野伊東林: 日本農藝化學會誌 35.8.779(1961)
- ⑨ 上野喬宏: " 34.12.1039(1960)
- ⑩ 斗ヶ, 勝又, 岩動, 高橋: 35.7.624(1961)
- ⑪ 岩田久敬: 食品化學 378(1955)

投稿을 歡迎합니다

食品工業誌는 보다 새롭고 생생한 業界 소식을 보다 正確하고 보다 迅速하게 傳達키 위해 會員社의 積極적인 參與와 投稿을 바랍니다.

□ 다 음 □

□ 原稿種類

- ① 會員社의 各種 行事 소식
- ② 會員 (會員社 代表)의 動靜
- ③ 企業經營 成功事例
- ④ 海外視察記 (紀行文)
- ⑤ 國際會議 參加記

□ 原稿길이

- ① 行事소식 및 會員動靜: 200字 原稿紙 2장 이내
- ② 成功事例·紀行文 등은 200字 原稿紙 18장 이내

□ 原稿가람: 수시 接受

□ 接受處: 食品工業誌 編輯室