

참조기의 아미노산 분리정량

차 월 석 · *김 중 균 · **김 연 순

조선대학교 공과대학 화학공학과 · *이리농림고등학교 식품가공학과 · **조선대학교 사범대학 가정교육과

On the Chemical Analysis of Amino Acid of Yellow Corvenia

Wol-Suk Cha, Chong-Kun Kim* and Youn-Soon Kim**

Dept. of chemical engineering college of engineering Chosun University *Dept. of Food Science and Technology Agriculture high school, Iri, Chon Puk. **Dept. of Home Economics Education college of Education, Chosun University

ABSTRACT

The contents of total amino acid and free amino acid in the protein of yellow corvenia were analysed quantitatively by HPLC.

The results were as follow ; The contents of free amino acid of yellow corvenia flesh and yellow corvenia roe were 323.0mg/100 g and 932.5mg/100 g, respectively. The contents of total amino acids of yellow corvenia flesh and yellow corvenia roe were 33,2620.0 mg/100 g and 64,861.0 mg/100 g, respectively. The contents of essential amino acid of yellow corvenia flesh and yellow corvenia roe were 12,196.0 mg/100 g and 13,143.0 mg/100 g, respectively.

서 론

조기(Yellow Corvenia, *Pseudosciaena manchurica*)는 海龍魚, 黃魚, 江魚, kinguche(日)라 부르며, 몸빛깔은 회색을 띤 황금색으로 특히 입술이 홍색을 띠고 있는 점과 鰓腔(새갈) 및 腸間膜(장간막)이 흑색이고 전장이 300mm 내외이다. 우리나라 서남해 일대(특히, 위도, 연평도, 대화도근해) 및 뽀하이(渤海)만에서 동남 중국해 일대와 대만근해에 널리 분포하고 3월 중순에서 6월 상순경까지 간석지에서 산란하며 부화는 수온 13.1~20.7°C에서 60시간이 걸리며 우리나라 생산중 최고 생산고를 가진 주요 어적으로 연간 67,000톤을 어획하여 굴비 및 젓갈 등으로 소비된다(1). 이와같이 한국 근해안에서 어획되는 조기는 한국사람들이 즐겨 먹어온 고유의 수산식품이다. 지금까지 보고된 조기와 굴비에 관한 연구로서는 이등(3,4)이 굴비 가공중의 유리 아미노산의 변화에 관하여, 굴비제조중의 핵산관련물질 변화에 관하여 보고한 바 있고, 李(5)는 소금절임 및 가열 조리에 의한 조기의 물리적인 변화, 조(6)는 굴비저장중에 일어나

는 미생물군의 변화와 그 호염성세균에 관한, 염(7)은 굴비의 지방산 조성과 malonaldehyde 함량변화에 관하여 보고한 바 있으며 Min(8) 등은 굴비제조중 아민류, 포름알데하이드 및 지방산 분포의 변화에 대하여 보고한 바 있다. 일반적으로 어류의 맛성분은 여러가지 성분이 혼합되어 나타나는데 주로 핵산의 분해산물인 유리 아미노산에 기인 한다는것은 이미 보고 되어있고(9, 10) 또 Glutamic acid가 다시마의 정미성분임이 Ikeda에 의해 발견됨으로써 처음으로 아미노산이 식품의 맛과 관련됨을 보고하였는데, 그 이후 각종 어류 식품의 유리 아미노산에 대한 연구가 진행되어 온 것으로 보고 되었다(10). 따라서 본 연구에서는 조기를 가식부와 어란으로 나누어 총 아미노산 유리 아미노산, 필수 아미노산의 조성을 HPLC에 의해 분석하여 조사한 결과를 보고한다.

재료 및 방법

시료처리

본 실험에 사용한 조기는 광주 양동 시장에서 1988년 3월에 구입하고, 조기어란과, 조기가식부로 분리하여 항

온조에서 60°C로 6시간 건조 하였으며, 조지방, 조단백질, 아미노산 분석시료는 가식부를 50mesh 정도로 분쇄하고, 어란은 그대로 사용 하였다.

시약 및 기기

표준 아미노산 조제는(1) Waters Co의 Amino acid analysis manual에 따라 Standard Amino acid Sample(18종 日本 Wako Co.)을 각각의 농도가 0.105 μ/mole/ml 되게 하여 혼합해서 사용하였다.

Sample 및 STD 조제는 각 sample 및 STD를 50 μl 채취하여 PICO-TAG Work station 에서 Vacuum 으로 drying 한 후 MeOH(HPLC 용, 日本 東京化成) : H₂O : TEA (Triethylamine, 日本 東京化成) : PITC(phenylisothiocyanate, 日本 東京化成)=7:1:1:1(%) solution 20 μl를 가하고 잘 혼합한 후 실온에서 20분간 방치하여 유도체화 한후 다시 PICO-TAG Workstation 에서 Vacuum건조시키고 PICO-TAG Sample diluent 250 μl를 가한다음 이중에서 10 μl를 취해 injection 하였다.

분석에 사용한 High Performance liquid chromatography는 Waters의 Associate Model, M441이고 Integrator는 Young In D520 model 이었다.

실험방법

조지방 함량은 각 시료 1g 씩을 취해 ethyle ether 용매를 사용하여 Soxhlet장치로 24hrs 추출한 후 항온조에서 건조시켜 조지방 함량을 산출하였다.

조단백질 함량은 A.O.A.C법(12)(Micro kjeldahl)에 따라 조작하고 질소 factor를 6.25로 하여 조단백질 함량을 구하였다.

유리 아미노산 분석(13)은 각 시료를 건조시켜 분쇄한 것을 2g씩 정평하여 추출용 flask 에 넣고 75% ethanol 30ml 을 가하여 수욕상에서 30분간 추출하여 냉각시킨 후 추출액을 모으고, 잔사에 다시 75% ethanol 20ml 을 가하여 30분간 수욕상에서 추출하여 추출액을 합하였다. 잔사는 75% ethanol 10ml 로 잘 씻어 여과하고, 추출액을 전부 합하여 수욕상에서 ethanol을 증발 제거하고 침전물을 여과한다. 여액을 분액 깔때기에 모아서 ethyl ether 20ml 을 가해 ether층을 분별 제거하고, 비등 수욕사에서 약 1ml 가 되도록 농축하여 식힌후 pH 2.2 구연산 원충액을 가해 25ml 로 한다음 앞에서의 시약조제 방법으로 처리한 후 여액을 Millex HA filter(Millipore corp. pore size: 0.45 μm)에 여과시켜 10 μl 를 주입하였으며 분석조건은 Table 1과 같다.

총 아미노산 분석(14)은 각 시료를 건조시켜 분쇄한 것을 1g씩 취해 실험관에 넣고 6N·HCl 6ml 을 가한후 N₂ gas 로 7분간 충전시켜 밀봉하고 sandbath 를 이용 110°C ±1°C로 24시간 가수분해 시키고 실온에서 냉각한 후 0.

Table 1. Operating conditions for analysis of amino acid by HPLC.

- Detector : waters M 441 uv Detector
- Column : PICO · TAG column
- Columnsize : 3.9mm x 150mm
- Integrator : YOUNG-IN D 520 Integrator
attenuation : 128
- Mobile phase :
 - A: Sodium acetate 20g
 - TEA 600 μl
 - Milli Q quality water 1 L
 - phosphoric acid pH 6.4
 - 이액 940ml + Acetonitrile 60ml→
filtering
 - B: 60% Acetonitrile
- Gradient Table

Time	Flow	%A	%B	Curve
Initial	1.0	100	0	*
10:00	1.0	54	46	5
10:50	1.0	0	100	6
11:00	1.5	0	100	6
14:00	1.5	0	100	6
14:50	1.5	100	0	6
20:50	1.5	100	0	6
21:00	1.0	100	0	6

○ Standard Concentration: 0.125 μmole/ml

○ Injection amount: 10 μL

○ Temperature: 상온

2 μ m filter 를 통해 침전물을 여과하여 여액을 50 ml beaker 에 넣고 비등 수욕상에서 염산을 제거하고 pH 2.2 희석용 구연산 원충액 2 ml 을 가한다음 앞에서의 시약조제 방법으로 처리하여 여액을 Millex HA filter 에 여과시켜 10 μ l 을 취해 주입 하였으며 HPLC 의 분석 조건은 Table 1과 같다.

결과 및 고찰

조지방 및 조단백질 함량

조기의 조지방 및 조단백질의 분석결과는 Table 2와 같다.

조지방 함량은 조기 가식부가 2.35%조기 어란이 3.65%로서 조기 어란이 많이 함유되어 있으며, 송어 어란(15) 27.23%, 청어 어란(16) 10.7%보다 훨씬 적게 함유되어 있다. 조단백질 함량은 조기 가식부가 46.92%조기 어란이 67.40%로서 조기 어란이 많이 함유되어 있고 송어 어란(15) 45.02% 보다는 많이 함유되어 있음을 알 수 있었고, 청어 어란(16) 75.9% 보다는 적게 함유되어 있음을 알 수 있었다.

Table 2. Crude oil and Crude protein Contents of Yellow Corvenia (%).

Sample Items	Yellow Corvenia flesh	Yellow Corvenia roe
Crude oil	3.35	3.65
Crude protein	46.92	67.40

유리 아미노산의 조성

조기의 유리아미노산을 HPLC로 분석한 결과는 Fig. 1, 2, 3과 같으며 Table 3에 나타냈다. Table3에서 보는 바와 같이 조기 가식부의 총량은 323.0mg/100g 이고, 조성 순서를 보면 Arginine 이 138.8mg/100g 으로 가장 많으며 Glutamic acid 가 79.5mg/100g, Alanine 이 26.7mg/100g, Aspartic acid 이 24.5mg/100g 의 순이며, 조기어란의 경우 총량은 932.5mg/100g 이며 조성 순서를 보면 Arginine 이 274.5mg/100g, Leucine 89.6mg/100g, Alanine 56.5mg/100g 의 순으로 구성되어 있다.

시료중 유리아미노산 총량의 조성은 조기 어린이 932.5mg/100g 가식부가 323.0mg/100g으로 조기어란이 609.5mg/100g이 더 많이 함유 되어 있음을 알 수 있다.

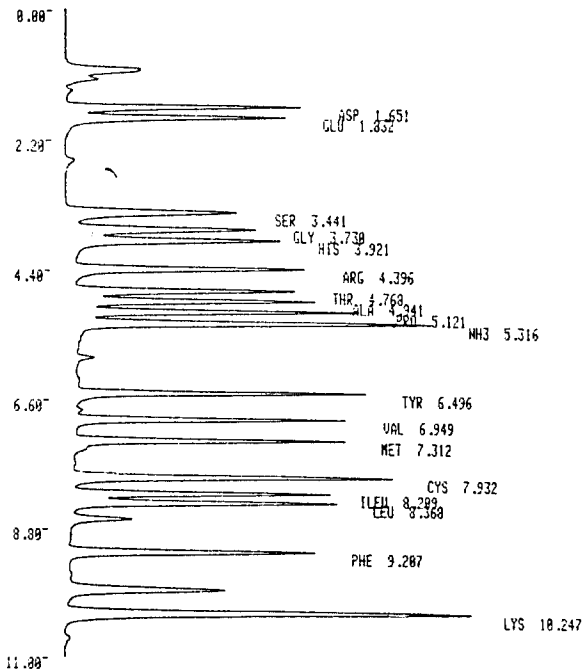


Fig. 1. Amino acid chromatogram of standard agent by HPLC.

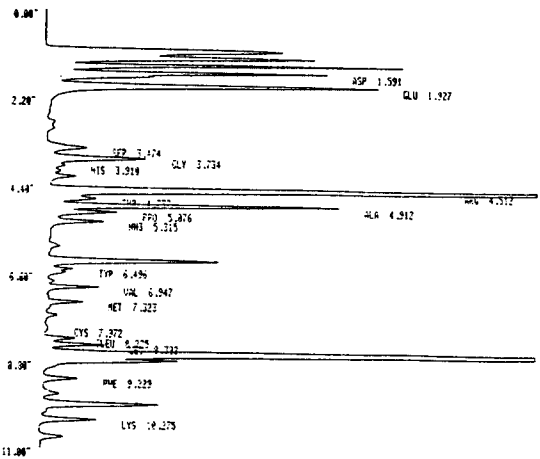


Fig. 2. Chromatogram of Free Amino acid in Yellow Corvenia flesh by HPLC.

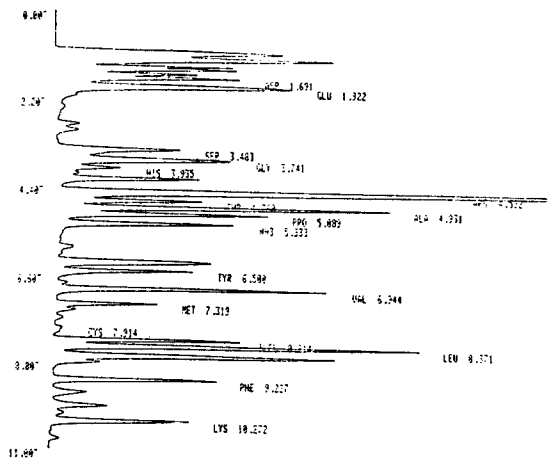


Fig. 3. Chromatogram of Free Amino acid in Yellow Corvenia roe by HPLC.

총 아미노산의 조성

조기의 총 아미노산을 HPLC로 분석한 결과는 Fig. 4, 5와 Table4에 나타냈다. Table4에서 보는 바와 같이 조기 가식부의 경우 총량은 33,260.0mg/100g이고, 조성순서를 보면 pyoline이 6,476.0mg/100g으로 제일많이, Glutamic acid가 4,070.0mg/100g, Leucine이 3,024.0mg/100g, Aspartic acid가 2,676.0mg/100g의 순으로 구성되어 있으며, 조기 어란의 경우 총량은 64,861.0mg/100g이고 조성순서를 보면, Tyrosin이 29,409.0mg/100g으로 가장 많고 pyoline이 10,896.0mg/100, phenylalanine이 3,693.0mg/100g, Glutamic acid가 2,938.0mg/100g의 순으로 구성되어 있다. 아미노산 총량

Table 3. Composition of free Amino acid in Yellow Corvenia (mg/100g).

Sample Free Amino acid	Yellow Corvenia flesh	Yellow Corvenia roe
Asparatic acid	24.5	28.1
Glutamic acid	79.5	110.1
Serine	5.8	30.8
Glycine	10.4	35.6
Histidine	0.9	14.4
Arginine	138.8	274.5
Threonine	0.9	29.3
Alanine	26.7	56.5
Proline	5.2	36.7
NH ₃	—	—
Tyrosine	1.2	35.5
Valine	4.9	54.8
Methionine	4.4	22.3
Cystine	0.5	0.7
Isoleucine	3.3	42.0
Leucine	6.3	89.6
Phenylalanine	5.5	50.3
Lysine	4.2	21.1
Tryptophan	—	—
Total	323.0	932.5

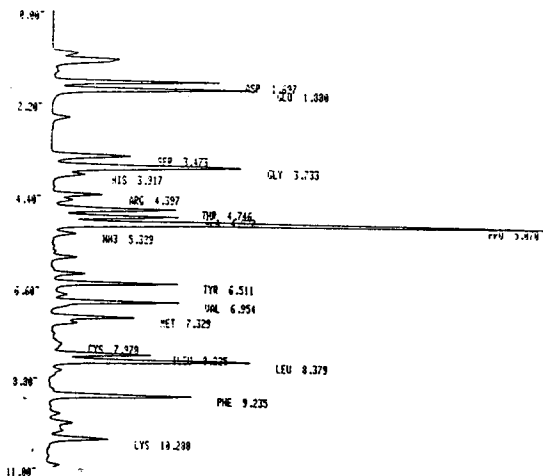


Fig. 4. Chromatogram of Total Amino acid in Yellow Corvenia flesh by HPLC.

의 경우, 송어 어란(15) 40,510.0mg/100g에 대하여 조가 가식부 33,262.0mg/100g은 7,248.0mg/100g이 더 적게 함유 되어 있음을 알 수 있고 또 청어어란(16)의 27.613mg/100g 보다는 훨씬 더 많이 함유 되어 있음을 알

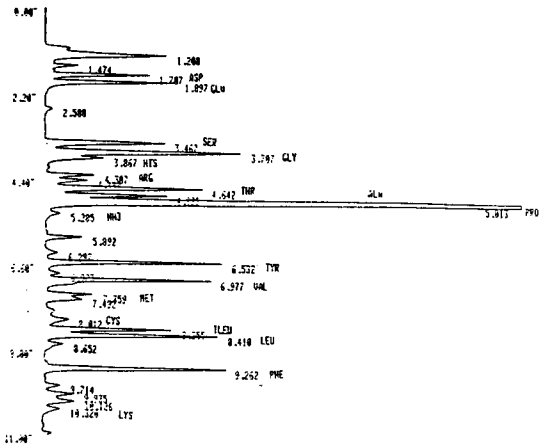


Fig. 5. Chromatogram of Total Amino acid in Yellow Corvenia roe by HPLC.

Table 4. Composition of Total amino acid in Yellow Corvenia (mg/100g).

Sample Total amino acid	Yellow corvenia flesh	Yellow corvenia roe
Aspartic acid	2.676.0	1.740.0
Glutamic acid	4.070.0	2.938.0
Serine	1.288.0	1.912.0
Glycine	2.446.0	2.430.0
Histidine	173.0	447.0
Arginine	736.0	709.0
Threonine	1.988.0	2.027.0
Alanine	1.134.0	947.0
Proline	6.476.0	10.896.0
NH ₃	—	—
Tyrosine	1.900.0	29.409.0
Valine	1.695.0	2.495.0
Methionine	1.003.0	300.0
Cystine	167.0	290.0
Isoleucine	1.302.0	1.824.0
Leucine	3.024.0	2.640.0
Phenylalanine	2.632.0	3.693.0
Lysine	552.0	164.0
Tryptophan	—	—
Total	33.262.0	64.861.0

수 있다. 그리고 Ress(17) 및 Moore(18)등에 의하면 6N-HCl 100℃의 비등 환류로 24시간 가수분해 시킬때 Threonine이 약 5.3%, Serine이 10.5% 또 2시간 가수분해시 Cystine, Tyrosine은 약 50%, Serine은 10% 까지

파괴된다는 점을 감안 하였을때 자연상태에서 Protein 중의 Amino acid 조성량은 실험치의 총량 보다는 더 많이 함유 되어 질것으로 생각된다.

필수 아미노산의 조성

조기의 필수 아미노산을 분석한 결과는 Table 5와 같다. 조기 가식부의 총량은 12.196mg/100g으로 총 아미노산 33,262.0mg/100g에 대하여 20.26%를 차지한다. 그리고 송어어란의 필수 아미노산 16.975mg/100g보다 적게 함유 되어 있으며, 청어(16) 어란 12.242mg/100g 보다는 조기 가식부는 조금적이고 조기어란은 더 많이 함유 되어 있음을 알 수 있고, 함유된 필수아미노산으로 보아 양질의 필수 아미노산으로 구성됨을 알 수 있다.

Table 5. Composition of Essential Amino acid in Yellow Corvenia (mg/100g)

Sample Essential amino acid	Yellow Corvenia flesh	Yellow Corvenia roe
Threonine	1988.0	2027.0
Tryptophan	—	—
Valine	1635.0	2495.0
Methionine	1003.0	300.0
Isoleucine	1302.0	1824.0
Leucine	3024.0	2649.0
Phenylalanine	2632.0	3693.0
Lysine	552.0	164.0
Total	12.196.0	13.143.0

요 약

조기의 유리 아미노산, 총 아미노산의 조성을 규명하기 위해 HPLC를 사용하여 분리정량한 결과와 조지방, 조단백의 결과는 다음과 같다.

1. 조지방 함량은 조기 가식부 : 2.35%, 조기 어란 : 3.65%이고, 조단백질은 조기 가식부 : 46.92%, 조기 어란 : 67.40%로서 다른 어류보다는 조지방은 적으나 조단백질은 비슷하다.

2. 유리 아미노산의 총 함량은 조기 가식부가 323.0mg/100g, 조기 어란이 932.5mg/100g으로 조기 어란이 더 많이 함유되어 있다.

3. 총 아미노산의 총 함량은 조기 가식부가 33,262.0mg/100g, 조기 어란이 64,861.0mg/100g으로 조기 어란이 31,599.0mg/100g이 더 많이 함유 되어 있다.

4. 필수 아미노산 함량은 조기 가식부가 12,196.0mg/100g, 조기 어란이 13,143.0mg/100g이며, 가식부와 어란이 총 Amino산에 비교하면, 조기 가식부가 20.26%, 조기 어란이 36.66%를 차지하고 있다.

참 고 문 헌

- 鄭文其(1977), 韓國魚 譜, 一誌社, 351, 352
- Ibid, 559, 560
- 이응호, 성낙구, 하진한, 정승용(1976), 한국식품과학회지 8(4), 225
- 이응호, 김수현(1975) · 부산수산대학연구보고, 14 (2), 29
- 李貞淑(1977). "소금절임 및 가열조리에 의한 조기의 물리적인 변화". 영남대학 대학원 석사학위 논문
- 조용계(1968). 부산수산대학 대학원 석사학위 논문
- 염조애(1980). 한국영양식량학회지. 13(3), 145
- Min, Shin, Jhon, and Hong(1988), *Korean. J. Food sci, Technol.* 20(2) 125-132
- A.W, Khan J, Davididek and C.P. Lentz(1968), *J-Food science*, 33, 25
- 이계호(1969), 한국농화학회지. 11. 1
- Waters Associates(1983). *Amino acid Analysis system, operators manual*, No. 07124 U.S.A. waters Associates, 37-41
- William Herwitz(1980), "official method of analysis of the Association of offical analytical chemists", thirteenth, 15, 126, Association of analytical chemist, Box 540, Benzamin Franklin station Washington, DC 20044 U.S.A.
- 波多野博行(1964), 일본 화학도이. 79
- 波多野博行(1964), 아미노산 자동 분석법, 63
- 金 順, 朴圓記, 金千奎(1985), HPLC에 의한 송어 어란의 아미노산 조성 조선대학교 동력자원연구. I, 265-275
- 전승규(1981), 식품분석표, 수원, 농촌 지흥청, 114 -115
- M.W. Ress, (1946) *Biochem., J.*, 40, 639
- S. Moore, (1960) *J. Biochem*235, 633

(Received July 11. 1989)