

표고버섯의 수용성 유리 아미노산 정량분석

Water-Soluble Amino acid of Shiitake, Cortinellus

目 次	
I	서 론
II	실 험
1.	시 료
2.	실험 방법
III	결과 및 고찰
IV	결 론
▶	參考文獻

慶北大 師大 姜 信 珠
Sin Ju, Kang
" 鄭 善 子
Sun Ja, Jung

I 서 론

각종 식용 버섯에 대해 그 조성성분이 이미 보고되어 있어 영양과 맛이 우수한 식품으로 알려져 있다.

근래에 와서 이들의 인공재배가 많이 장려 보급되어 1967년 경북 도내 인공 재배량은 표고버섯이 141 ton으로서 양송이 (641 ton) 다음으로 많이 생산되었다. Paper Chromatography 법을 이용하여 버섯에 대한 수용성 유리 Amino산에 관한 연구는 Durand과 Bonnet⁽¹⁾가 양송이(Mushroom Armillaria)에 대해 정성 분석하였고, 그 후 Chang⁽²⁾이 다시 양송이의 정성분석을 하였다. Seekkoft와 Schuster⁽³⁾는 양송이 내의 Amino산을 정성 및 정량분석하였다. 그러나 표고버섯에 관해 보고된 성분분석에 의하면⁽⁴⁾ 단백질과 다른 영양소의 양에 관해 조사된 바 있으나 유리 Amino산에 대한 연구는 되어 있지 않다.

본 실험에서는 Paper Chromatography를 이용하여 건조 표고버섯 내의 수용성 유리 Amino산에 대하여 정성 및 정량분석을 시도해 보았다.

II 실 험

1. 시 료

(1) 시료 채취

본 실험에서 사용한 표고버섯은 청송군 경북 대학교 연습림에서 인공으로 재배한 것이

다. 1967년 3월 참나무에 종균을 접종하여 온습한 조건에서 재배한 후 1968년 4월에 채취한 것이다.

이것을 30°~60°C로 3일간 건조하여 Polyethylene Sheet로 포장해 둔 것이다.

(2) 시료 처리

포장되어 있는 버섯에서 줄기 부분을 제거하고 70°~80°C에서 5시간 동안 건조하여 분쇄하였다.

이 분말표고 5g을 저울에 달아서 물 200ml로서 1시간 reflux 시킨 후 여과하고 그 잔사를 다시 뜨거운 물 10ml로 두 번 세척하여 본 여액에 혼합하였다.

여액 내에 혼입된 단백질을 제거하기 위하여 0.5% TCA⁽⁶⁾ (Trichloroacetic acid) 수용액 50ml를 가하여 침전 물질을 원심분리기로 분리하고, 그 상등액을 Ethyl Ether로 추출하여 TCA를 제거하였다. 이것을 20ml로 농축하여 Paper Chromatography용 시료로 사용하였다.

2. 실험 방법

(1) 정성 분석

일차원 상승법 Paper Chromatography로 정성 분석하였으며 여지는 Chromatograph용 Whatman No. 1을 사용하고 전개 용매로서는 n-BuOH : AcOH : 물 = 4 : 1 : 2(v/v)⁽⁶⁾를 사용하였다. 18~24시간 동안 전개한 후 실온에서 24시간 건조하였다. 정색제로는 0.2% Ninhydrin의 Butanol 용액을 분무하고 105°C에서 2~3분간 가온하였다.

각 Spot에 해당하는 Amino산은 표준 Amino산의 Rf치와 비교하여 결정하였고 여기서 결정된 Amino산의 표준 Amino산을 시료에 미량 첨가하여 다시 전개함으로써 그 종류를 확정할 수 있었다. 시료에서 검출된 Tyrosine은 Xanthoprotein 반응⁽⁷⁾으로 다시 확인하였다.

(2) 정량 분석

a. Amino산의 분리

정성 분석 때와 같은 방법으로 Paper Chromatogram을 얻었다. 정성을 위해 다른 여지도 정량용과 동일한 조건에서 전개하여 Ninhydrin을 분무하고 정량하려는 Amino산에 해당하는 반점의 위치를 찾았다.

정량용 여지에서 이 반점에 해당하는 부분을 잘라내어 시험관(구경 1.5cm, 길이 1.6cm)에 넣고 여기에 5ml의 Reagent(i)를 가하여 끓는 Water Bath에서 20분간 두었다가 Reagent(ii) 5ml로서 희석하여 10분간 혼든 다음 570m μ 의 흡광도를 측정하였다.⁽⁸⁾ 시료액 중의 Amino산 농도는 검량곡선에 의해 구하였다.

흡광계로서는 Photoelectric Photometer, ERMA TYPE No.5를 사용하였다.

b. Reagent 제조

i. Ninhydrin-Hydrindantin 용액⁽⁶⁾ pH 4.7

Ninhydrin	5.0g
Sn Cl ₂ , 2H ₂ O	0.5g
Methyl Cellosolve	500ml
1N—NaOH	250ml
2N—CH ₃ COOH	250ml의 혼액

ii. 회석액

n—Propanol : H₂O = 1 : 1(v/v)

c. 검량곡선의 작성

각 농도의 표준 Amino산 수용액을 만들어 1ml씩 시험관에 취하고 Reagent (i) 5ml를 가하고 Reagent (ii) 4ml로 회석하여 (a)에서와 같은 방법으로 570m μ 의 흡광도를 측정하여 검량곡선을 얻었다.

Ⅲ 결과 및 고찰

1. Amino산의 정성

Paper Chromatograph에서 시료액과 표준 Amino산의 Rf치와 색조를 비교한 결과 다음 7종의 수용성 유리 Amino산, 즉 Cystine, Arginine, Glycine, Glutamic acid, Alanine, Tyrosine 및 Isoleucine을 검출하였다.

Rf	Shiitake	Intensity of colored spots	cystine	Arginine	Glycine	Glutamic acid	Alanine	Tyrosine	Isoleucine
0.11	○	++	○						
0.16	○	+		○					
0.23	○	+			○				
0.31	○	++				○			
0.37	○	++					○		
0.44	○	+++						○	
0.49	○	+							
0.69	○	+							○

Fig. 1. Paper Chromatogram of Standard Amino Acid Solutions and Shiitake Extract.

표고버섯의 수용성 유리 아미노산 정량 분석

이 실험에서 검출된 Amino산 중 Tyrosine은 Xanthoprotein 반응으로서도 확인할 수 있었다.

Durand⁽¹⁾에 의하여 양송이 내의 수용성 유리 Amino산으로 검출된 Valine과 Lysine이 표고버섯에서는 발견되지 않았고, 또한 이들에게서는 검출되지 않은 Isoleucine, Cystine은 본 시료에 미량 함유되어 있었다.

표고버섯의 수용성 유리 아미노산을 분리하는데 n-BuOH : AcOH : 물 = 4 : 1 : 2(v/v)는 용해력이 일정하고 반점이 분명히 나타났으므로 용매로서 가장 적합하였다. 본 실험에 나타난 Rf치 0.49에 해당하는 Amino산은 확인할 수 없었다.

2. Amino산의 정량

표고버섯에서 분리 검출된 Amino산 중에서 시료중 함량이 비교적 크다고 생각되는 Glycine, Glutamic acid, Alanine을 선택하여 정량분석을 시도하였다.

각 Amino산의 검량곡선과 시료중 Amino산 농도를 비교한 결과 시료액 0.2ml(시료 5g을 20ml의 물에 용출한 것) 내의 Amino산 함량은 :

Glycine	0.0231mg
Glutamic acid	0.0554mg
Alanine	0.0612mg

즉 건조 표고버섯 100g에 대한 함량은 :

Glycine	46.2mg
Glutamic acid	110.8mg
Alanine	122.4mg이었다.

IV 결 론

인공재배에서 얻은 표고버섯(Shiitake Cortinellus)의 수용성 유리 Amino산에 대하여 Paper Chromatography법으로 분석한 결과

(1) 건조 표고버섯에서 Cystine, Arginine, Glycine, Glutamic acid, Alanine, Tyrosine, Isoleucine이 검출 확인되었다.

(2) 이들 Amino산 중에서 발색조 강도로 보아 함량이 비교적 크다고 생각되는 Glycine, Glutamic acid, Alanine을 정량한 결과 건조표고 100g에 대한 함량은 :

Glycine	46.2mg
Glutamic acid	110.8mg

Alanine 122.4mg이었다.

(3) 표고버섯의 수용성 유리 Amino산 분석에는 Paper Chromatography용 전개 용매로서 n-BuOH : AcOH : 물=4 : 1 : 2(v/v)가 가장 적합하였다.

▶ 參考文獻

- (1) M. Durand & J.L. Bonnet, Ann. Pharm. franç. 15, 677—82(1957)
- (2) Wei-Hsien Chang, J. Agri. Chem.(Taiwan) 9, 14—18(1960)
- (3) Carl Seekkoft & Hugo Schuster, Univ. Wurzburg Ger., Z. Lebensm-Untersuch. U.-Forsch. 106, 177—87 (1957)
- (4) 鷲見瑞穂・松岡 等 共著, 食品化學, 大日本出版株式會社, p. 170(1948)
- (5) 赤堀四郎 編, 酵素研究法 I, 朝倉書店, p. 161(1955)
- (6) FRIEDRICH CRAMER, PAPER CHROMATOGRAPHY; 한국번역도서주식회사, p.29 및 p.75(1951)
- (7) 姜信珠, 營養學, p.52(1964)
- (8) J. Awapara, J. Biol. Chem. 178, 113(1949)