

# 韓國 酒類成分에 關한 研究 (第 2 報)

Paper Chromatography 에 依한 濁酒中의 遊離  
Amino 酸의 檢索

金 燦 祚

忠南大學校 農科大學

(1967年 11月 20日受理)

## Studies on the Components Korean Sake (Part 2)

Detection of the Free Amino Acids in Takju by Paper Partition  
Chromatography

Agricultural College of Choong Nam University

Chan Jo Kim

### SUMMARY

Takju (Korean native Sake) was mashed with two different materials. One of the material was polished rice and Nuruk(mold wheat), the other one was corn and Nuruk. The amino acids in those fermenting mashers were identified by paper partition chromatography at regular intervals. The results were summarized as follows;

a) Following 14 kinds of amino acids were identified in the mash of rice material;

lysine, valine, proline, leucine, serine, glycine, aspartic acid, alanine, cystine, tyrosine, histidine, glutamic acid, tryptophan and phenylalanine.

b) Following 12 kinds of amino acids were identified in the mash of corn material; lysine, valine, proline, leucine, serine, glycine, aspartic acid, alanine, cystine, histidine, arginine and tryptophan.

c) The main amino acids in the Takju mash according to the color density of the each amino acid spot on the paper chromatograms were checked as lysine, valine, leucine, serine, proline and glycine.

### 緒 言

酒類中의 Amino 酸의 檢索定量으로서 濁酒와 共

通點이 많은 日本清酒에서 大高<sup>(1)</sup>는 Glutamic acid 를 비롯한 15種을 PPC法으로서 檢出하였고 田村等<sup>(2)</sup>은 Isoleucine 을 비롯한 17種을 L. arabinosus 等の 乳酸菌을 利用한 微生物定量法으로서 檢索定量하고 또한 大場等<sup>(3)</sup>은 Amino 酸 自動分析器로서 Tryptophan 을 비롯한 18種의 Amino 酸을 經時的으로 定량하여 發表하였다.

著者は 우리나라 濁酒의 成分研究로서 PPC法과 Somogyi法으로서 糖類 및 有機酸의 消長을 檢索定量하고<sup>(4)</sup> 또한 Vanillin 硫酸法으로서 Fusel 油의 消長을 定量하여<sup>(5)</sup> 發表한바 있는데 本研究에서는 濁酒의 口味와 營養學의으로 主要成分인 Amino 酸을 比較的 現在 많이 使用하고 있는 쌀 및 옥수수를 原料로 담금한 醱酵液과 熟成술덧을 試料로하여 經時的으로 PPC法으로서 檢索하여 그 結果를 여기에 報告한다.

이 實驗을 하는데 많은 敎示를 하여주시는 서울大學校 農科大學長 金浩植 博士님께 深甚한 謝意를 드리며 實驗을 도와준 劉鉉福 學士에게 感謝하는 바이다.

### 實 驗

#### 1. 實驗材料

1. 白米(農林 29 號) 및 옥수수粉(市販輸入品)
2. 麴子: 大田市 太白種麴社 製
3. 用水: 大田市 文化洞 井水
4. 容器: 20l 들이 항아리

## 2. 實驗方法

前報<sup>(4)</sup>의 麴子單用法에 準한 比率로서 白米區와 옥수수區로 濁酒를 담금하여 24時間마다 一般法으로서 Alcohol, 總酸 및 PH의 測定으로 醱酵의 異常有無를 檢討하고 白米區는 第3, 5, 7日, 그리고 옥수수區는 第4, 6日 만의 醱酵液을 濾過하여 Formol法<sup>(6)</sup>으로 Amino-N를 定量하고 이 窒素의 量을 基準으로 展開用試料濾液의 濃縮과 Spotting 量을 調節하여 Amino-N가 Spotting 量中에 約 30r 含有되게끔 하였다. 即 試料濾液의 10 ml를 水浴上에서 1/4~1/5 量으로 濃縮하여 미리 計量한 Thoma 血球計算器用 Melangeur 로서 그 2~3 μl를 38×38 cm 크기의 東洋濾紙 No. 2에 直經 5 mm 程度로 Spotting 한 後 圓筒狀으로하여 一次元 上昇法으로서 25°C 恒溫室에서 展開시켰다.

使用溶劑는 大高<sup>(1)</sup>에 準하여

第1溶劑: phenol; H<sub>2</sub>O: Ammonia = 75 : 25 : 0.1 (重量比).

Phenol은 U.S.P市販品을 0.1% Al-Powder와 0.05% NaCO<sub>3</sub>를 加하여 常壓에서 蒸溜한 것을 使用하였다<sup>(7)</sup>.

第2溶劑: Collidine : Pyridine : H<sub>2</sub>O = 65 : 10 : 35 (重量比)

Collidine은 Merck製는 그대로 日本의 和光社製는 再蒸溜하여 使用하였다.

展開後 90°C의 Oven에서 充分히 乾燥시켜 H<sub>2</sub>O飽和 n-Butanol의 0.1% Ninhydrin液을 噴霧하고 100°C에서 10分間 處理하여 나타나는 Spot의 位置, 色, 그리고 그 呈色度를 比較 測定하였다.

또한 試料中의 各個 Amino酸을 確認하기 爲한 Control Pattern을 얻기 爲해서 Glutamic acid, Aspartic acid, Arginine, Alanine, Glycine, Histidine, Lysine, Serine 및 Valine等 9種의 pure amino acid는 各 5 mg씩을 2.5 ml의 H<sub>2</sub>O에 녹이고 Isoleucine, Leucine, Tyrosine, Tryptophan 및 Cystine等 5種의 Pure amino acid各 5 mg씩은 2.5 ml의 N-HCl에 녹여 그 2 μl를 Spotting하여 前記와 같이 展開 및 發色시켜서 試料의 것과 對照하고 또 試料를 Spotting한 것 위에 Rf值가 顯著히 다른 純粹 Amino酸 2個를 5 r씩 다시 Spotting하여 展開 및 發色시켜서 各個 Amino酸을 確認하였다.

## 結果 및 考察

1. 白米區 및 옥수수區 醱酵술덧에 對하여 24時間마다 Alcohol, 總酸 및 PH를 測定한 結果는 第1報<sup>(4)</sup> 및 第3報<sup>(5)</sup>에 發表한 바와 類似하여 醱酵

에 異常이 없음을 보였으며 官能적으로도 兩區에 異常이 없었다. 그리고 總酸과 PH의 變動은 兩區가 비슷하였으나 Alcohol分은 第3報<sup>(5)</sup>에 發表한 바와 같이 옥수수區가 떨어졌다.

2. Formol法에 依한 經時的인 兩區 Amino-N의 測定 結果는 第1表와 같다.

Table 1. Changes of Amino Nitrogen Contents

Date Sample	3	4	5	6	7
Rice Mash	(%) 0.1064	(%) 0.1047	(%) 0.1429	(%) 0.1484	(%) 0.1568
Corn Mash	0.084	0.0805	0.0952	0.0882	0.0994

\* 表中 數值는 係數 0.0014를 乘한 Amino窒素 (NH<sub>2</sub>-N)로서 表示하였다.

第1表에서와 같이 Amino-N는 大體로 醱酵進行에 따라 增加하였으며 特히 醱酵旺盛期인 4~5사이 에 많은 增加를 보이고 또한 옥수수區보다. 白米區가 훨씬 많은 含量을 보였다.

3. 14種의 Pure amino acid를 展開시킨 Control Pattern은 第1圖과 같으며 白米區 및 옥수수區에서 經時的으로 取한 各試料의 PPC Pattern은 第2, 3, 4, 5 및 6圖와 같다.

1) Fig. 1은 Control Pattern으로서 이 Pattern에 있는 Spot들의 Rf值와 文獻<sup>(8,9)</sup>의 Rf值를 比較하면 Control의 것이 全般的으로 낮은 값을 보였으며 特히 Collidine을 主溶劑로 한 二次展開에서 더 낮은 값이 있는데 이 傾向은 共存하는 干涉物質이 많은 술덧濾液을 展開한 PPC (Fig. 2, 3, 4, 5, 6)에서 더 하였다.

그러나 PPC Pattern의 全體的인 相對的位置와 또 Pure amino acid 3個씩을 別途로 展開시킨 것과 比較하여 各 Amino酸을 推定하였다.

2) Fig. 2는 白米區 第3日제의 醱酵술덧 濾液을 展開시킨 Pattern으로써 12個의 Spot가 나타나 이것을 Control Pattern(Fig. 1) 및 文獻<sup>(1)</sup>의 Pattern과 比較하여 Spot No. 1은 Aspartic acid, 2; Cystine, 5; Glycine, 6; Serine, 7; Alanine, 8; Tyrosine 9; Lysine, 10; Valine, 11; Leucine, 12; Proline으로 推定할수 있었는데 이들中 Serine과 Lysine은 그 Pure amino acid를 前記한 바와같이 試料를 Spotting한 것 위에 다시 Spotting하여 確認하였으며 Aspartic acid 및 Cystine은 靑灰色, Proline은 褐色, Tyrosine은 灰紫색으로 特有한 Ninhydrin呈色<sup>(9)</sup>을 보였다.

肉眼上의 呈色度는 Table 2에 表示한 바와같은 것으로 Leucine과 Lysine에 該當하는 Spot가 가장

强하였고 다음이 Glycine, Valine 및 Serine 등이 비슷하게 强하였다.

그리고 Spot No. 2는 Rf 値로서는 Glutamic acid에 相當한 것이나 黄色으로 나타나서 推定할 수 없

었으며, No. 3은 濃黄褐色의 큰 Spot로서 亦是推定할 수 없는 것이었다.

3) Fig. 3은 白米區 第5日째 醱酵술덧 濾液을 展開시켜 14개의 Spot가 나타남 것이다. 이들 Spot

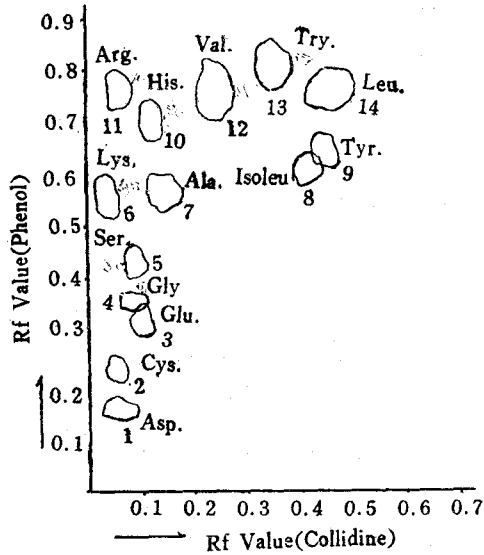


Fig. 1. The Paper chromatograms of the standard Amino acid (control) Pattern)

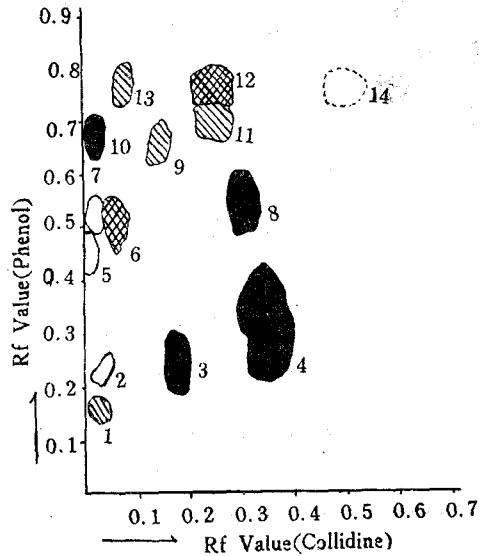


Fig. 2 The Paper chromatograms of Amino acid in the 3rd day's Rice mash

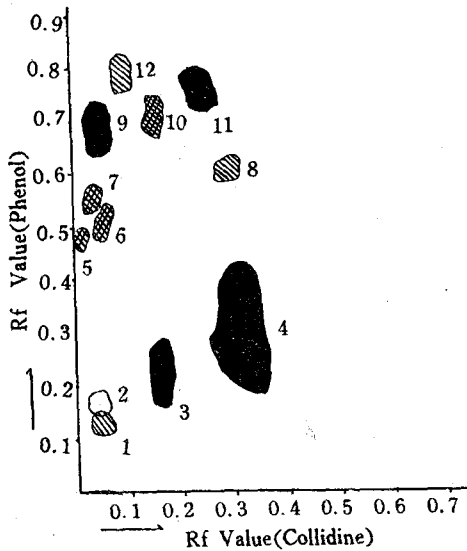


Fig. 3 The Paper chromatograms of Amino acid in th 5 the day's Rice mash.

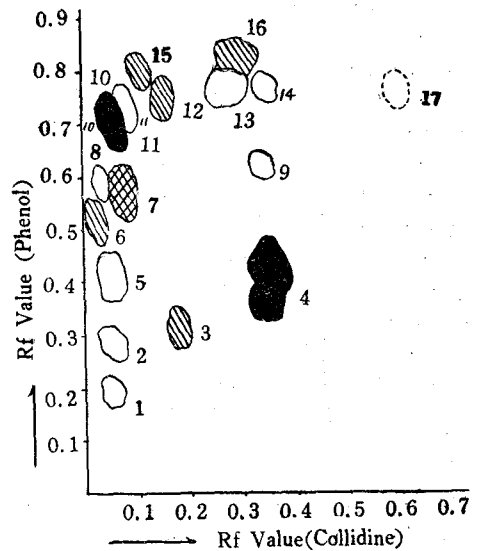


Fig. 4 The Paper Chromatograms of Amino acid in the 7 th day's Rice mash

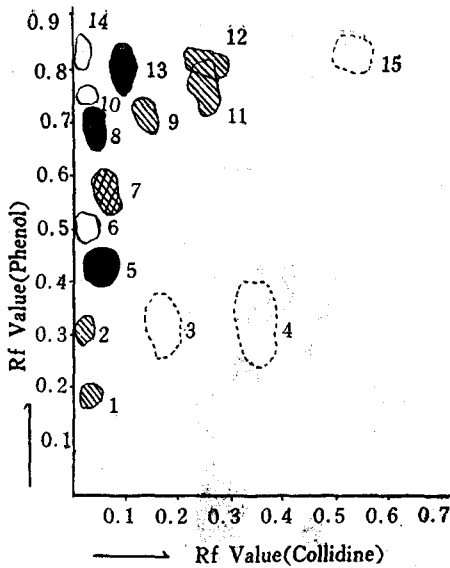


Fig. 5 The paper chromatograms of Amino acid in the 4th day's corn mash.

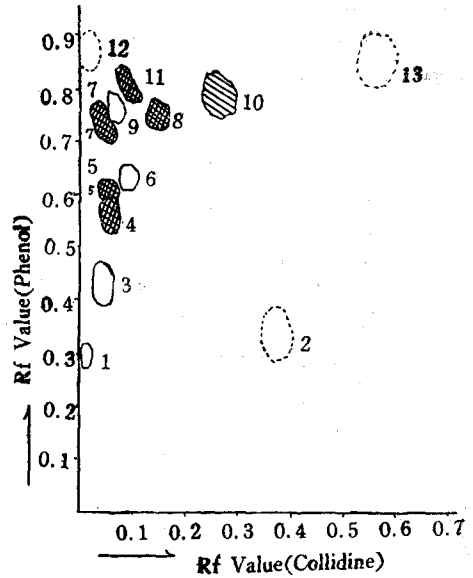


Fig. 6 The Paper Chromatograms of Amino acid in the 6th day's corn mash.

Table 2. Color density of the each amino acid spot

Sample Days Amino acid	Rice mash			Corn mash	
	3 rd	5 th	7 th	4 th	6 th
Alanine	###	+	+	##	+
Arginine				+	±
Aspartic acid	++	±	+	++	+
Cystine	+	+	+	++	+
Glutamic acid			+		
Glycine	##	+	++	###	##
Histidine			+	+	+
Leucine	###	##	++	++	++
Lysine	###	###	###	###	###
phenylalanine			+		
Proline	++	++	++	###	##
Serine	##	##	##	+	##
Tryptophan		++	+	++	
Tyrosine	++	###	+		
Valine	##	++	++	++	##

의 Rf 値는 Fig. 2 의 것과 多少 差가 있으나 全體의 인 Pattern 은 類似하여서 Spot No 1 : Aspartic acid, 2 : Cystine, 5 : Glycine, 9 : Serine, 7 : Alanine, 8 : Tyrosine, 9 : Valine, 10:Lysine, 11:Tryptophan 12 : Leucine, 13 : Proline 으로 推定할 수 있었다. 이中 Aspartic acid 와 Tyrosine 은 그 Pure amino acid

를 前과 같이 添加하여서 確認하였으며 또한 Aspartic acid, Cystine, Proline 및 Tyrosine 등은 特有한 發色을 하였고 나타난 Amino acid Spot 들의 呈色度 順은 Table 2 에 表示한 바와 같다.

그리고 白米區 5 日째 試料中에 生成된 Amino acid 의 呈色度 濃淡은 3 日째의 것과 큰 差가 없었으나 Alanine 및 Glycine 이 多少 弱해진 것 같았으며 Spot No. 3, 4 는 Fig. 2 에서와 같이 뚜렷하였으나 未知의 것이었고 No. 14 는 Fig. 2 에는 없는 것으로 淡紫色의 Spot 이나 推定 할 수 없었다.

4. Fig. 4 는 白米區 第 7 日째 熟成(熟成되었음) 濾液을 展開시킨 것으로써 여기서는 17 個의 Spot 가 나타나서 Spot No. 1:Aspartic acid, 2:Cystine, 5 : Glutamic acid, 6 : Glycine, 7:Serine, 8:Alanine, 9:Tyrosine, 10:Lysine, 11;Histidine, 12;Valine 13;Tryptophan, 14;Phenylalanine, 15;Proline 19; Leucine, 으로 推定되었다. 이中 Valine, Leucine 및 Tryptophan 은 그 Pure amino acid 를 前과 같이 添加하여 確認하고 이들 Amino acid Spot 들의 呈色度 는 Table 2 에 表示한 바와 같다.

그리고 Spot No. 3, 4 는 亦是 黃, 黃褐色으로 나타난 未知의 것이었고 No. 17 은 白米區 5 日째 試料에서 나타난 Spot No. 14 와 비슷한 淡紫色의 Spot 로서 推定 할수 없는 것이었다.

5. Fig. 5 는 옥수수區 第 4 日째 熟成濾液을 展開시킨 것으로서 15 個의 Spot 가 나타났다. 이中

Spot No. 1은 Aspartic acid, 2; Cystine, 5; Glycine, 6; Serine, 7; Alanine, 8; Lysine, 9; Valine, 10; Histidine, 11; Tryptophan, 12; Leucine, 13; Proline, 14; Arginine, 으로 推定되었으며 Glycine 및 Arginine은 그 pure acid를 添加하여 確認하였다.

Spot 들의 色度는 Table 2와 같이 Lysine, Glycine 및 Proline 등이 強하였으며 白米區에서 初期부터 顯著하였던 Tyrosine Spot가 認定되지 않았고 또한 Spot No. 3, 4는 白米區에서는 黃, 黃褐色의 큰 Spot로 나타났으나 여기서는 大端히 弱하게 認定되었다.

그리고 Spot No. 15는 白米區에서도 末期에 弱한 淡紫色으로 나타난 Spot에 相當하는 것으로 未知의 것이다.

6. Fig. 6은 옥수수區 6日째 술덧濾液을 展開시킨 Pattern으로서 13個의 Spot가 나타났다. 이中 Spot No. 1은 Aspartic acid, 3; Cystine, 4; Glycine, 5; Serine, 6; Alanine, 7; Lysine, 8; Valine, 9; Histidine, 10; Leucine, 11; Proline, 12; Arginine 등으로 推定되었으며 여기서 Cystine 및 Alanine은 그 Pure acid를 添加하여 確認하였다.

色度는 Table 2와 같이 Glycine, Lysine Valine 및 Proline 등이 強하였으나 全般的으로는 第4日째 것 보다 弱하였다.

그리고 Spot No. 13은 4日째의 No. 15에 相當하는 未知의 것으로 大端히 靑은 紫色으로 나타났으며 또 Fig. No. 2, 3, 4, 5에서 表示한 未知인 3, 4의 Spot는 여기서는 거의 나타나지 않았다.

上記와 같은 結果로서 白米原料區에서는 醱酵進行에 따라 數種의 Amino acid가 더 增加하여 結局熟成술덧中에는 Fig. 4에서 表示한 바와 같은 14種以上の Amino acid가 存在하였다. 그리고 白米原料濁酒술덧中の Amino acid의 消長은 大場가 淸酒에서 分析한 바와 같이<sup>(3)</sup> 初期부터 大部分의 Amino acid가 存在하는 것이라고 하겠다.

一方 옥수수原料 술덧에서는 4日째부터 이미 檢出되는 Amino acid가 全部 나타나서 그後 變動이 거의 없었고 Amino acid의 種類에 있어서는 白米區와 大差없이 12種을 檢出하였다. 그러나 白米區에서 恒存하였던 Tyrosine이 檢出되지 않았으며 白米區에서 거의 認定할수 없었던 Arginine이 微弱하나 檢出되었고 白米區에서도 大端히 微弱하였던 Phenylalanine과 Glutamic acid는 옥수수區에서는 거의 보이지 않는 點 등이 兩原料別에 따르는 Amino acid種類에 있어서의 相違이었다.

이와같이 濁酒中에는 14種 内外의 Amino acid가 存在하며 이中 그 色度等으로 보아 Lysine, Valine, Leucine, Serine, Proline 및 Glycine 등이 濁酒中에서 主體가 되는 Amino acid인 것을 알수있으며, 또한 多量의 存在가 豫想된 Glutamic acid와 Arginine 등이 微弱하였는데 이것은 日本淸酒술덧에서 檢出定量化 大高<sup>(1)</sup>, 大場<sup>(3)</sup> 등의 結果와 差異가 있는 것으로 即 大場<sup>(5)</sup>는 淸酒술덧中에 多量含有되는 Amino acid으로서 Arginine, Alanine, Leucine, Glutamic acid, Serine, 및 Glycine을, 그리고 淸酒酒母에서는 Leucine, Lysine, Glutamic acid, Alanine, 및 Serine을 들었으며, Arginine은 酒母에서는 初期에는 檢出되지 않았으나 10日頃에 急激히 增加되어 其後 다시 多少減少되는 特異한 Amino acid라 하였으며 또한 Tryptophan은 酒母와 本술덧 醱酵過程中에서 微量 또는 痕跡으로 나타나는 것이라고 하였고 大高<sup>(3)</sup>는 P.P.C. 法의 色度로서 淸酒中の 主 Amino acid를 Glutamic acid, Glycine, Alanine, Valine, Leucine 및 Arginine 등이라 하고 田村<sup>(4)</sup>은 微生物定量化法으로서 Arginine, Aspartic acid, Glutamic acid, Leucine, Serine 및 등이 多量이라고 하였다.

그리고 純粹 Amino acid를 各各 5r씩 Spotting 하여 같은 方法으로 展開發色시킨 色度와 試料 PPC에 나타난 前記 主體 Amino acid들의 色度を 比較하면 同等 또는 그 以上의 濃度로 主體 Amino acid들이 色度됨을 보였다.

또한 本實驗으로 濁酒中에서 檢出한 Amino acid와 白米中の 遊離 Amino acid<sup>(10)</sup> 및 白米의 主蛋白質인 Glutelin<sup>(2,11)</sup>, Globulin<sup>(2)</sup>, Albumin<sup>(2)</sup>, Prolamin<sup>(2)</sup> 등의 構成 Amino acid類를 比較하면 白米蛋質中에 있는 것으로서 Methionine, Threonine 및 Isoleucine, 이 檢出되지 않았으며 Glutamic acid, Arginine, Histidine 등이 甚히 弱하게 檢出되었다. 그리고 이들 Methionine, Threonine 및 Isoleucine은 大高<sup>(1)</sup>는 PPC法으로서는 淸酒에서 檢出하지 못하였으며 田村<sup>(2)</sup>은 微生物定量化法으로서 이들을 檢出하고 大場<sup>(3)</sup>는 自動分析器法으로 이 三種을 檢出하였으나 Threonine과 Methionine은 담금後 5~10日 以後부터는 없거나 痕跡으로 含有된다는 것을 發表하였다.

## 要 約

1. 麴子를 使用하여 白米 및 옥수수를 原料로 濁酒를 담금하고 經時的으로 그 醱酵술덧中の Amino-N를 Formol法으로 定量化하고 또한 遊離 Amino acid

을 PPC 法으로 檢出하였다.

2. 白米定料濁酒술덧 中에서는 Aspartic acid, Cystine Glutamic acid, Glycine, Serine Alanine, Tyrosine, Histidine, Valine, Tryptophan, Phenylalanine, Proline 및 Leucine 等 14 種의 Amino 酸을 檢出하였다.

3. 옥수수原料濁酒술덧 中에서는 Aspartic acid, Cystine, Glycine, Serine, Alanine, Lysine, Valine, Aistidine, Proline, Leucine 및 Tryptophan 等 12 種의 Amino 酸을 檢出하였다.

4. 白米 및 옥수수原料濁酒中의 主體 Amino 酸은 Paper Chromatography 에 나타난 各 Spot 의 形色度로 보아 Lysine, Valine, Leucine, Serine, Proline 및 Glycine 等으로 推定하였다.

## 參 考 文 獻

- (1) 大高洋一; 日農化誌 24 366 (1950)
- (2) 田村, 角田等; Ibid 26 480 (1952)
- (3) 大場. 來間, 布川; 日釀協誌 59 993 (1964)
- (4) 金榛祚; 農化學會誌 4 33 (1963)
- (5) 金榛祚; 忠南大學校 論文集(自然科學) 6 133 (1967)
- (6) 山田正一; 釀造分析法 產業圖書株式會社 p 117
- (7) O.J. Draper ; Science 109 448 (1949)
- (8) A.S.J Martin et al; Biochem J. 38 224 (1944)
- (9) 中川一郎編; 榮養學實驗書 p 227 朝倉書店
- (10) 岡崎, 冲; 日農化誌 35 194 (1961)
- (11) 田村, 劍持; Ibid 37 278 (1963)