

人蔘成分이 효모의 Alcohol醱酵에 미치는 影響

3. Saponin pattern, pH 및 有機酸 含量의 變化

朴世浩 · 劉太鍾* · 李錫健**

(株) 一和 · 高麗大學校農科大學* · 忠南大學校農科大學**

(1982년 4월 21일 접수)

Studies on the Effect of Korean Ginseng Components on Alcoholic Fermentation by Yeast.

3. Effect on the changes of saponin pattern, pH and production of organic acid.

Se-Ho Park, Tae-Jong Yu*, Suk-Kun Lee**

IL HWA CO., LTD., College of Agriculture, Korea University*, Seoul

College of Agriculture, Choong Nam national University.** Tae Jeon

(Received April 21, 1982)

Abstract

This studies were conducted to investigate the changes of saponin pattern, pH and organic acid contents of malt wort added ginseng components during alcoholic fermentation by *Sacch. uvarum*. The results are as follows.

Saponin patterns of fermented wort were same as that of the non-fermented wort, but the weight of former was decreased comparing to that of the latter.

pH value of fermented wort contained 0.1~0.5% of ginseng extract were almost same as that of control (pH 4.23).

Lactate, pyruvate, succinate and fumarate, pyroglutarate and citrate contents of the fermented wort were increased by the addition of ginseng extract and pyruvate content, particularly, was increased from 28.4 to 214mg/100ml while that of control was 33.2mg/100ml.

Citrate content of fermented wort contained ginseng saponin was almost same as control (37.5mg/100ml). But pyruvate content was lower 4-8.6mg/100ml than that of control (33.2 mg/100ml).

緒 論

前報¹⁾에 이어 本 研究에서는 Alcohol발효에 의한 Saponin pattern의 변화 여부와 人蔘成分의 맥아즙에 첨가가 酒類의 品質要因이 되는 pH 및 유기산 생성에 어떤 영향을 미치는가를 조사하였다.

實驗材料 및 方法

人蔘Extracts, Saponin 및 供試菌株: 전보¹⁾와 同一한 것을 사용하였다.

Saponin pattern의 分析 : 발효액을 감압농축하여 Alcohol分을 溜去하고 前報²⁾의 方法에 따라서 Saponin을 分離하였다.

이 Saponin을 methanol에 용해하여 TLC용 試料로 하였다. 110℃에서 1시간 활성화 시킨 silica gel thin plate (FM Thin plate, 20×20cm, Japan)에 Saponin 試料 10 μ 를 Spotting한 후에 전개용매 (CHCl₃; CH₃OH; H₂O=65:35:10, 하층)에서 약 17cm 전개하고, 전개용매를 제거한 후 발색제 (H₂SO₄: Ethanol=50:50)를 분무하여 100℃에서 2분간 가열하여 발색시켰다.

한편 試料 Saponin 1 μ 를 取하여 silica gel glass rod (chroma rod S, Japan)에 spotting하여 前記의 전개용매에서 10cm전개하였다. 전개용매를 제거한 후에 FID가 부착된 薄層自動 檢出裝置 (Thinchromograph, TFG-10, IATRON, Japan)를 利用하여 Table 1의 分析條件으로 Quantitative thin layer chromatogram을 얻었다.

Table 1. Operating conditions of T. L. C. for the analysis of saponins.

Instrument : Thinchromograph T F G - 10, IATRON, Japan
Thin rod : Glass rod coated with silica gel.
Detector : FID
Detector flow : H ₂ 1.2 kg/cm ²
Air 2200ml/min.
Chart speed : 24 cm/min.

pH의 測定 : 발효액을 取하여 실온에서 흔들어 gas를 제거한 후에 Beckman digital pH meter로 측정하였다.

有機酸의 分離 및 定量^{3,4,5)} : Lactic acid로서 50mg 정도의 酸을 含有하도록 시료 一定量을 取하여 Amberlite-120 및 IR-45의 Ionexchange column (10×1.5cm, 6.5cm packing)을 順次 통과하여 유기산을 IR-45에 흡착시켰다. 50ml의 증류수로 세척한 후에, 1N-NH₄OH 및 증류수를 각각 50ml씩 통과하여 유기산을 Ammonium 鹽으로 회수하였다. 이것을 50℃ 이하에서 감압 농축하여 과잉의 Ammonia를 유거하고, 다시 IR-120 column을 통과하여 遊離의 유기산을 회수하고, 0.1 N-NaOH로 적정하여 有機酸-Na 鹽으로 하는 同時에 총산을 구하였다.

有機酸의 Butylester化는 다음 方法에 의하였다. 즉, 有機酸-Na 鹽 용액을 시험관에 옮겨 50℃ 이하에서 감압 농축하여 유기산염을 분말화하였다. 여기에 Butanol 2ml, H₂SO₄ 0.2ml 및 Na₂SO₄ (anhydrous) 2g을 加한 후 즉시 냉각관을 부착하고 흔들어 유기산염을 용해하며 30분간 온화하게 비등시켜 ester化하였다. 이것을 냉각시켜 증류수 5ml를 加하고 n-Hexane으로 4회 추출하였다. Hexane 추출액에 一定量의 n-tridecane을 加하고 전량을 20ml로 하였다. 약 2g의 Na₂CO₃를 加하여 中和하고 그 상등액을 GLC分析用 시료로 하였다.

시료 3 μ 를 取하여 Table 2의 조건으로 分析하였다. 또한 표준의 각 유기산염을 같은 조건으로 Butylester化하여 retention time으로 有機酸을 同定하고 内部標準法에 의하여 peak면적으로 표준곡선을 작성하여 시료중의 유기산을 정량하였다.

Table 2. Operating conditions of G. L. C. for analysis of organic acid.

Instrument	: Gas chromatograph, Tracor 550, U. S. A.
Column	: 5% Reoplex on chromosorb W. A. W (60/80 mesh) 3mm×2m, glass, dual.
Detector	: FID, dual
Sample Size	: 3 μ l
Injection port temp	: 230°C
Column temp.	: Held at 50°C for 4 min, then programmed to 180°C at rate of 6°C/min.
Detector temp	: 230°C
Carrier flow N ₂	: 60ml/min. × 2
Detector flow : H ₂	: 50ml/min. × 2
	: Air, 0.7 SCFH × 2

結果 및 考察

Alcohol醱酵에 의한 Saponin pattern의 변화: 人蔘 및 그 Extract中的 Saponin의 含量은 人蔘의 產地,⁸⁾ 採取時期,⁹⁾ 人蔘部位⁸⁾ 및 抽出⁹⁾ 등의 加工方法¹⁰⁾에 따라서 다른데, 試料 Extract의 Crude Saponin의 含量은 19.3%였다.

한편 Namba¹¹⁾는 溶血活性이 강한 Rg 및 Rh분획과 溶血防禦活性을 나타내는 Rb 및 Rc의 含有比 즉 Saponin의 pattern을 중요시하였다. 따라서 발효 전후의 Saponin pattern의 變化를 알고저 分析한 Quantitative TLC Chromatogram의 一部가 Fig. 1에 表示되었으며, 各 Saponin의 상대적인 含量比는 Table 3과 같다. 발효액에서 분리한 No. 5, 6, 7의 Saponin peak의 상

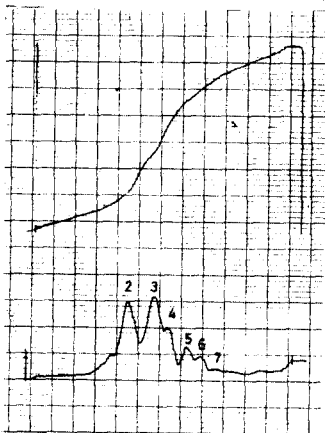


Fig. 1. Quantitative thin layer chromatogram of ginseng saponins (G. F. E) extracted from fermented wort containing ginseng extract.

Table 3. Relative peak area percentage of individual saponins.

(unit: %)

Peak No.	2	3	4	5	6	7
G. E	4.7	27.9	35.8	11.7	13.2	7.0
G. F. E	5.1	29.7	35.9	9.2	9.2	4.1
G. F. S	4.1	24.3	33.7	12.1	12.4	5.6

G. E. = Saponin of ginseng extract.

G. F. E. = Saponin from fermented wort containing ginseng extract.

G. F. S. = Saponin from fermented wort containing ginseng saponin.

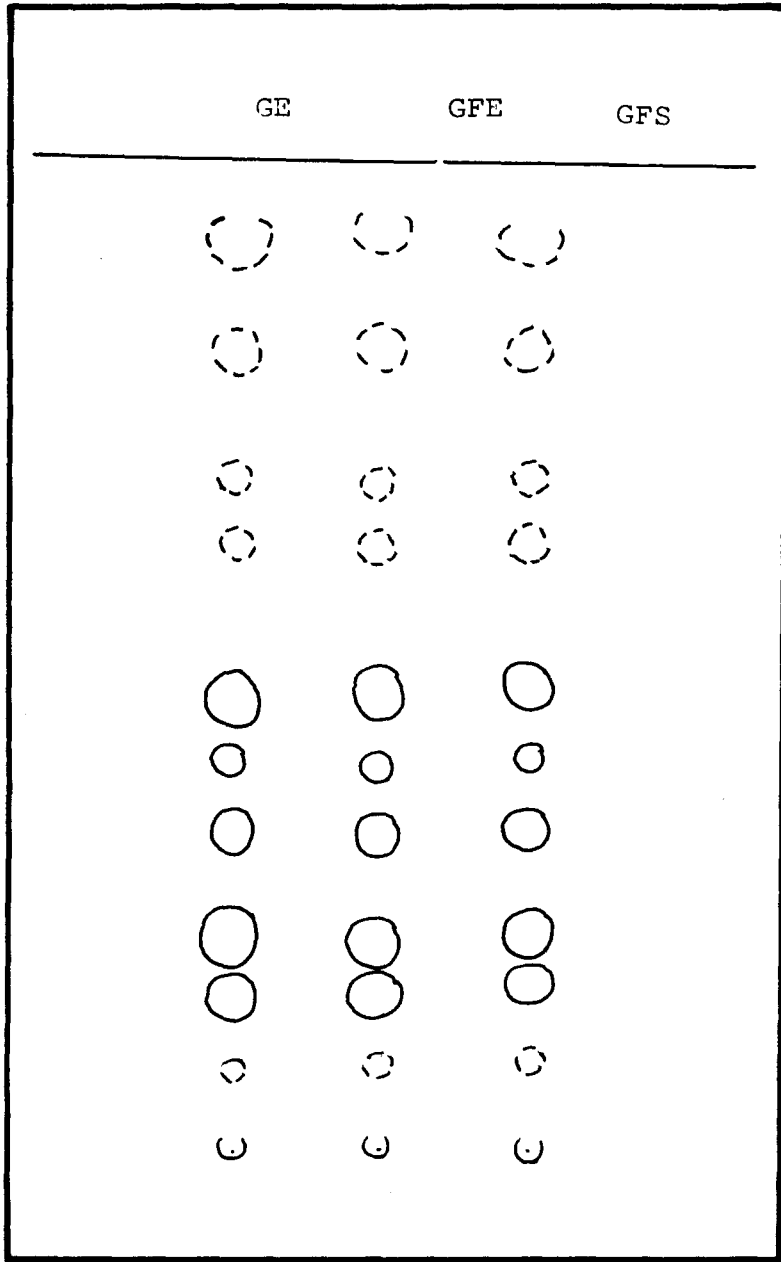


Fig. 2. Thinlayer chromatogram of ginseng saponins.

G. E = saponin of ginseng extract.

G. F. E. = Saponin from fermented wort containing ginseng extract.

G. F. S. = Saponin from fermented wort containing ginseng saponin.

Developing solvent : $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{H}_2\text{O} = 65 : 35 : 10$ (low layer)

Color reaction : Spraying with $\text{d-H}_2\text{SO}_4$, and heating in an oven at 100°C

대함량비가 2.5~4% 적게 나타났으나, 전체적인 Saponin의 pattern은 변화하지 않고, 다만 Saponin의 중량이 발효전에 비해 약 4% 감소된 것으로 나타났다. 이것은 효모응집시에 같은 갈색물질이 혼합된 현상으로 보아 인삼 Extract첨전에 기인된 것으로 판단된다. 梁¹²⁾등도 홍삼 추출물을 첨가하여 유산균을 배양할 경우 발효전후의 Saponin pattern은 변하지 않았다고 했는데 알콜발효에서도 특별한 변화는 없는 점에서 일치하였다. 또한 Fig. 2의 T.L.C Chromatogram에서도 saponin의 spot수는 각각 10개로 그 위치도 같았다.

人蔘成分이 발효액의 pH에 미치는 영향 : 발효 경과중의 발효액의 pH를 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. Saponin첨가구는 발효전에 pH가 5.24~5.16으로 대조구(pH5.24)와 비슷하지만, Extract첨가구는 그 첨가 농도에 따라 낮아졌다. 즉, 0.1% Extract 첨가구는 pH값이 5.23인데, 10% Extract첨가구는 pH 4.96을 나타냈다. 이것은 Extract에 존재하는 유기산의 영향으로 생각된다.

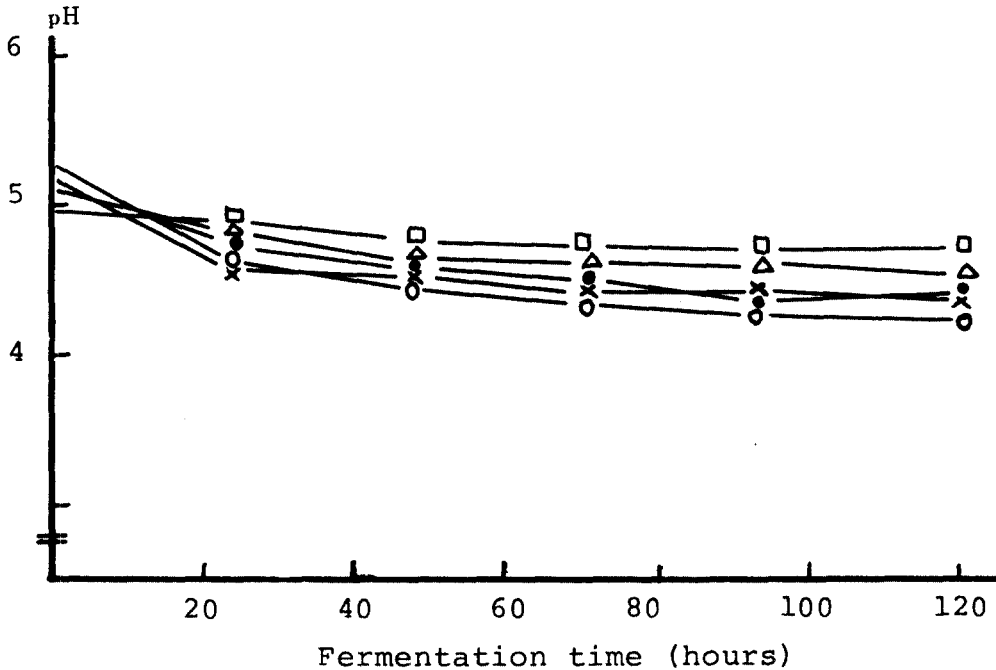


Fig. 3. Influence of ginseng extract content in wort on pH value during alcoholic fermentation by *Sacch. uvarum* (Batch fermentation)

Fermentation conditions

Temp, :15°C ± 1

Media :Malt wort

Wort are contained 0% (O-O), 0.5% (x-x), 1% (●-●), 5% (△-△) and 10% (□-□) of ginseng extract.

Gerhard¹³⁾는 beer중의 acid pH는 부패방지 요인의 하나라고 했는데, 발효종료 후의 Extract 0.1~0.5% 첨가구는 pH 4.27~4.37로 대조구의 pH 4.23과 비슷하였다. 그러나, 10% Extract 첨가구는 pH 4.96으로 pH값이 0.2 밖에 감소하지 않았는데, 이것은 Extract의 완충 작용으로

思料되었다.

人蔘成分이 有機酸 生成에 미치는 영향 : 人蔘 Extract를 0 ~ 5 %, 人蔘 Saponin을 0.02~0.2% 各各 첨가하여 발효한 다음 4℃에서 1개월 저장한 발효액 중의 有機酸의 함량을 정량한 結果는 Table 4 와 같으며 一部の GLC Chromatogram은 Fig. 4 ~ 5 에 表示되었다.

Table 4. Influence of ginseng extract and saponins concentrations in wort on the production of organic acid of fermented wort by *Sacch. uvarum*. (Unit;mg/100ml)

Organic acid				Succinate		Pyro-	
	Lactate	Glycolate	Pyruvate	Fumarate	malate	glutarate	Citrate
Control	8	0.8	33.2	16.2	19.7	1	37.5
G. E 0.1%		—	28.4	13.5	18.9	Trace	38.5
G. E 0.5	13.2	1.4	60.3	17.2	20.3	3	44
G. E 1	17.6	0.6	98.4	16	41.7	7	59
G. E 5	28	2	21.4	29.9	88	41	79.5
G. S 0.02	5.6	0.3	24.6	23	20.5	2.5	33.3
G. S 0.1	27.8	0.7	23.6	27.3	19.2	3	34.5
G. S 0.2	24.8	1.1	29.2	31	19.7	3	35.7
Ginseng Ex. (mg/g)	3.1		57.1	12.4	7.1	5.9	15.4

G. E 1% = Wort contained 1% of ginseng extract.

G. S 0.1% = Wort contained 0.1% of ginseng saponins.



Fig. 4. Gas chromatogram of organic acid in fermented wort contained 5% of ginseng extract. peak 1;n-tridecane 2;lactate 3;glycolate 4;unknown 5;pyruvate 6;succinate & fumarate 7;unknown 9;malate 10;pyroglutarate 11;citrate

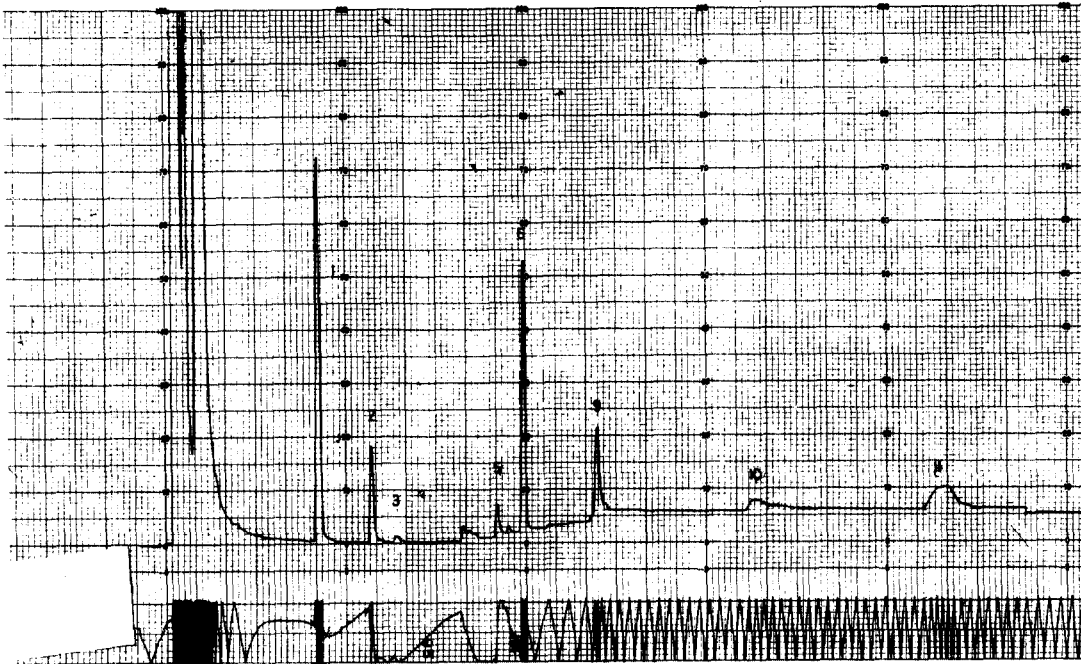


Fig. 5. Gaschromatogram of organic acid in fermented wort contained 0.1% of ginseng saponins.
 peak 1;n-tridecane 2;lactate 3;glycolate 4;unknown 5;pyruvate 6;succinate
 and fumarate 9 malate 10;pyroglutarate 11;citrate

人蔘 Extract 1g중에는 pyruvate 57.1mg, succinate & fumarate 12.4mg, citrate 15.4mg¹⁾ 함유되어 있고, oxalate, lactate, malate, pyroglutarate가 각각 7.6mg, 3.1mg, 7.1mg 및 5.9mg 함유되어 있었다. 朴¹⁴⁾은 인삼에서 citric, iso-citric, malic, ketoglutaric, pyruvic, succinic 및 tartaric acid를 검출하였으나, 本 실험에서는 tartaric acid가 나타나지 않았다.

한편, 人蔘 Extract 첨가구에서 lactate의 함량은 그 첨가농도에 따라서 13.2~28mg로 증가하였고, 0.1~0.2% Saponin첨가구는 27.4~24.8mg/100ml의 함량으로 对照区(8 mg/100ml)에 비하여 3배 이상이었다. glycolate는 0.3~2 mg/100ml로 적은 함량이었다.

Succinate & fumarate는 Extract 0.1~1% 첨가구는 13.5~17.2mg/100ml로 대조구 16.2 mg/100ml와 비슷하지만, Extract 5% 첨가구는 29.9mg/100ml로 높은 함량이었다. Saponin첨가구에서는 23~31mg/100ml로 대조구 보다 높은 함량을 나타냈다.

Malate 함량에서는, Extract 0.1%, 0.5% 및 Saponin 첨가구는 대조구 19.7mg/100ml와 같은 수준이나, Extract 1% 및 5% 첨가구는 41.7 및 88mg/100ml로서 대조구 보다 22~69.3mg/100ml가 높았다.

Citrate 함량에서, Saponin첨가구는 대조구 37.5mg/100ml와 비슷한 함량이나, Extract 0.1, 0.5, 1 및 5% 첨가구는 각각 38.5, 44, 59 및 79.5mg/100ml로 그 첨가농도에 따라서 점차 증가하였다.

Coote¹⁵⁾는 beer중의 pyruvic acid의 농도는 taste threshold에 밀접하며, beer 중에 50~400 mg/l를 첨가하면 mouth feel의 특성을 변화시킨다고 하였는데, 이에 비추어, 대조구의 pyruvate

의 함량 33.2mg/100ml에 비하여 Extract 0.5, 1 및 5% 첨가구는 각각 65.1, 98.4 및 214mg/100ml로 증가하므로 흥미있는 사실이다. 한편 Saporin 첨가구는 24.6~29.2mg/100ml로 대조구보다 낮은 함량이었다.

Harison⁽⁴⁾은 lactic 및 pyruvic acid등이 beer 중에서 높은 flavour potential을 가진다고 하였는데 이들 유기산의 함량이 Extract 첨가에 따라 증가하므로 향미에 중요한 영향을 미치리라 思料되었다.

要 約

맥아즙에 人蔘成分을 첨가하고, *Sacch urarum*으로 발효할 때에 발효액 중의 saponin pattern의 변화, pH 및 유기산에 관하여 조사하였다.

1. Saponin의 pattern은 발효 前과 큰 차이가 없으나, 그 중량으로 약 4% 감소하였다.
2. 人蔘 Extract가 0.1~0.5% 첨가된 발효액의 pH는 대조구 pH 4.23와 비슷하였다.
3. Extract 첨가농도가 높을 수록 유기산 (lactate, succinate & fumarate, malate, pyroglutamate, citrate)의 함량이 증가하였으며, 특히 pyruvate의 함량은 28.4~21.4mg/100ml로 증가하였다.
4. Saponin 첨가구에서 citrate의 함량은 대조구(37.5mg/100ml)와 같았고, pyruvate의 함량은 대조구(33.2mg/100ml)에 비하여 4~8.6mg/100ml가 낮았다.

参 考 文 献

1. 朴世浩, 劉太鍾, 李錫健: 고려인삼학회지, 5(2) 139(1981)
2. 양용, 최용조, 이상경, 박세호: 한국인삼과학회지, 10(2) 181(1978)
3. 山下市二, 田村太郎, 吉川誠次, 高波修一: 日本農化, 48(3) 165(1974)
4. 山下市二, 田村太郎: 日本食品工業学会誌, 19(2) 62(1972)
5. 山下市二, 田村太郎, 吉川誠次, 鈴木重治: *Japan Analyst*, 22, 1334(1973)
6. 白德禹, 朴大植, 元道喜: 國立保健研究院報, 8, 231(1971)
7. 한병훈, 우린근, 우원식: *Korean Biochem J.*, 8(2) 133(1975)
8. 金海中, 南成熙, 福良義昭, 李錫健: 한국식품과학회지, 9(1) 24(1977)
9. 崔康注, 金万旭, 成約淳, 洪享根: 고려인삼학회지, 4(1) 88(1980)
10. 金海中: 연세대학교 학위논문(1977)
11. 難波恒雄, 吉崎正雄: 日本藥學雜誌, 94(2) 252(1974)
12. 梁宰源, 劉太鍾: 고려인삼학회지, 3(2) 113(1979)
13. Gerhard J. Hass: *Industrial Microbiology*, McGraw-Hill Book Co., New York, 165(1976)
14. 朴明三: 人蔘文獻特集, 3, 1(1979)
15. N. Coote, B. H. Kirsop and G. K. Buckee: *J. Inst. Brew*, 79, 298(1973)
16. G. A. F. Harrison: *J. Inst. Brew*, 76, 486(1970)