

韓國產 麥酒成分에 關한 研究 (第 1 報)

“Total carbohydrates, amino acids 및 peptides 의 定量에 關하여”

韓 弘 毅*, 金 鍾 協**

**(原子力研究所 生物學研究室)

Studies on analysis of the Korean lager beers. (I)

“On the estimation of total carbohydrates, amino acids and peptides”

Han, Hong Eui.,* and Kim, Jong Hyup.**

**(Div. of Biology, Atomic Energy Research Institute, Korea.)

Abstract

Total carbohydrates, amino acids and peptide-like substances in two kinds of Korean lager beers have been analyzed by the colorimetric method of Dreywood's anthrone reagent and Fowden's ninhydrin reagent. The samples were fractionated with column of ion-exchange resin.

The experimental results are as follows;

1. Amounts of non-hydrolyzed carbohydrates in the part of column processed is 1.82% and 1.96 % (the value was measured by Bertrand's method). But the amounts of those measured by Dreywood's anthrone method are 5.57% and 4.25%, this values are much more than those of Bertrand's method.
2. It can be estimated the amounts of gum and dextrin are 3.75% and 3.30% in both two beers, by comparison of samples with the above mentioned two method.
3. The amounts of carbohydrates by anthrone reagent in acid-hydrolyzed beers are much increased than those of non-hydrolyzed, so it is suggested the presence of polymer carbohydrates which couldn't be detected by Bertrand's method.
4. Total amounts of amino acids are 0.015% and 0.025% (as glycine) in non-hydrolyzed beers mesured by ninhydrine color reaction method, on the other hand the amount of amino acids in acid hydrolyzed beers are 0.06% and 0.056%, this is much more than those of non-hydrolysis. The different amounts means that of peptide-like substances.
5. It is necessary to determine the constituent of amino acid for the better taste of beer, and also it is desirable to check the role of carbohydrates in the course of fermentation, mashing and on lager beer for effective utilization of carbohydrate materials to eliminate the losses.

緒 論

麥酒釀造工業에 있어서 麥汁 및 麥酒의 炭水化合物含量과 釀造中間段階에 있어서의 釀造液의 炭水化合物含量 등을 迅速, 正確히 決定하는 것은 麥酒製造에 있어서 重要な 課題라고 생각되는 것이다.

釀造進行에 따라서 麥汁의 炭水化合物含量은 점차로 減少하면서 炭酸 gas 와 alcohol(酒精)로 分解되는 것이며, 原料의 效率의 利用과 製品의 質의 向上을 위하여 釀造過程에서의 原料麥汁 및 麥酒自體의 炭水化合物 含量을 迅速하고도 簡便하게 測定하는 方法이 切實히 要求되는 것이다. 現今까지 酒類의 炭水化合物代身에 還元糖 分析만으로써 그 酒類의 品

* 現所屬: 朝鮮麥酒株式會社 研究室

質을 間接적으로 評價하고 있는 實情이고, 좀 더 正確한 方法으로써 Somogi 法이 實施되고 있으나, 그 實驗 節次의 複雜性과 各糖의 還元力의 差異로 말미암아 相當한 error 가 있다. 그리고 이 Somogi 法은 역시 還元糖만을 다루게 되는 만큼 前者의 不備點은 그대로 남아 있는 것이다.

麥酒生産에 있어서는 酵母菌 細胞가 麥汁의 炭水化合物을 醱酵하는 것을 利用하는 만큼 이 還元糖만을 唯獨 分析만 하는 檢査의 意味의 方法을 止揚하여, 酵母菌의 炭水化合物 代謝 自體의 pattern에 對해서 生化學的 考察을 加한 必要가 있는 것이다.

Dreywood (1946)가 anthrone 試藥을 使用하여 colorimetric method 로써 炭水化合物, 特히 cellulose 에 對한 分析法을 確立한 以來, Morris (1948) 역시 Dreywood 法을 더욱 開發하여 mono-, di-, polysaccharides, dextrans, dextrins, starch, gum 등의 炭水化合物 分析에 成功하였다. 그러나 polyvinyl alcohol, protein, sugar alcohol 등은 이 試藥으로서는 發色되지 않았다고 한다.

한편, Scott (1956), Koeller (1952), Trevelyan (1956) 등에 의해서도 이 方法은 많은 發展을 거듭하여 왔다. 最近 Pinnegar, 1965 는 醱酵工業에 있어서의 Automatic Analysis 法을 確立하여 麥汁과 麥酒의 總炭水化合物 測定에 있어서 anthrone 試藥法을 適用하였다. 요즘 麥酒醱酵의 基質原料로써 麥汁 以外의 炭水化合物 資源이 活用되고 있는 것을 考慮할 때에 糖化度, 醱酵度, 炭水化合物 殘渣 등의 決定에 있어서 炭水化合物에 對한 이 方法의 應用이 注目되고 있는 것이다.

따라서 本研究에 있어서는 韓國產 麥酒의 總炭水化合物의 보다 正確한 微量分析을 위하여 이 anthrone 試藥法의 可能性을 實驗하고, 아울러 나타난 몇가지 點을 考察하였다.

그리고 麥酒는 그 風味가 amino acids 및 peptides 의 組成과 含量의 影響을 받고 있는 것이므로 從來의 滴定法의 不正確性을 止揚하고 colorimetric method 로써 正確하고도 예민하게 分析을 加하므로써 韓國產 麥酒의 品質 向上에 貢獻코저 實驗을 實施하였다.

끝으로 本 實驗을 1967 年에 遂行함에 있어서 全幅적으로 協助를 하여 주신 原子力研究所의 李根培 博士께 感謝를 드린다.

實驗材料 및 方法

1. 麥酒: 韓國에서 生産되는 二大 麥酒會社의

lager beer 를 1968 年 1 月에 購入하여 即時 使用하였다.

2. 炭水化合物과 amino acids 및 peptides 의 resin column 에 의한 分離.

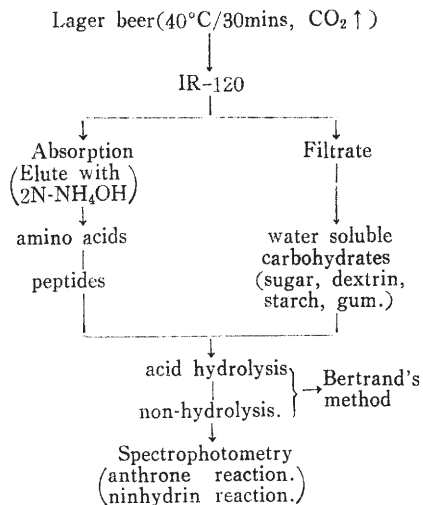
實驗에 使用한 lager beer (#1, #2)는 heating magnetic stirrer 上에서 40°C, 30 分間 攪拌하면서 炭酸 gas 를 除去하였다. 이 sample 을 Ion Exchange Resin(IR-120)에 通過시켜 sugar, dextrin 및 soluble starch 등의 溶液을 얻었다. 이것을 2% 黃酸溶液으로써 100°C, 3 時間 酸加水分解를 시키고, 對照로는 非加水分解物을 取하였다. 이 流出液을 Bertrand 法과 anthrone 試藥法을 使用하여 總炭水化合物을 定量하였다.

그리고 IR-120 에 吸着된 amino acids 및 peptides 는 2N-암모니아수로 elution 시킨 후 2% 鹽酸溶液으로 121°C 에서 8 時間 酸加水分解시키고 對照로는 非加水分解物을 取하였다. 炭水化合物과 amino acids 및 peptides 를 麥酒로부터 分離시키는 fractionation scheme 은 Fig. 1. 과 같다.

a) Bertrand 法에 의한 還元糖定量 實施

Bertrand 法은 醱造分析法(山田正一)에 依하였으며 炭水化合物의 含量은 Bertrand 表에 依據하여 glucose 로써 算出하였다.

Fig. 1. Fractionation scheme for lager beer.



b) Anthrone 試藥에 의한 炭水化合物의 比色定量法

Dreywood의 anthrone 試藥을 使用하는 Trevelyan 의 變法을 引用 實施하였다. glucose 의 標準 working solns. 를 各各 μM 單位로 3ml 式 上記 9ml 에 Anthrone 試藥(96% 黃酸, Anthrone 400mg, 蒸溜

水 15ml를 혼합한 용액) 8.2ml를加하고, 7秒間 混合시킨 後, 10分間 放置하고, 5分間 冷却하여 이것을 spectrophotometer (Beckman B type)로써 620m μ 波長으로 그 optical density를測定하였다. 이 標準液의 calibration curve는 Fig. 2와 같다.

c) Amino acids 및 Peptides 定量

總 amino acids 定量에 있어서 glycine을 標準溶液으로定하고 그 working solns을 ninhydrin 試藥 (ninhydrin 4g, hydrindantin 80mg을 methyl cello-solve에溶解하여 100ml로한 것과 citric acid-NaOH

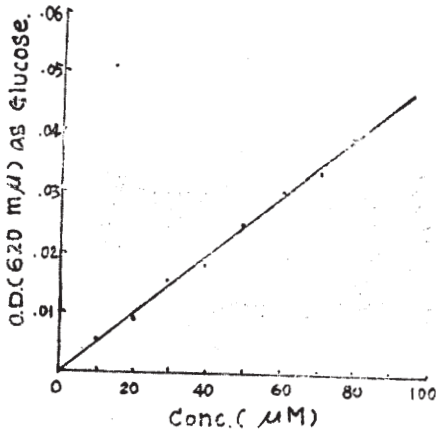


Fig. 2. Calibration curve of carbohydrates

Remark: Experimental equation for curve is expressed as follow; glucose ($\mu\text{M}/\text{ml}$) = $717.97 \cdot A_{620} + 1.17$

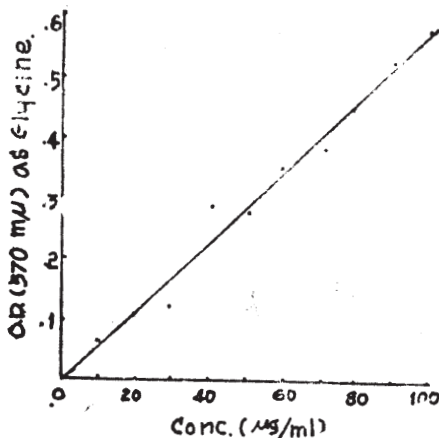


Fig. 3. Calibration curve of amino acids

Remark: Experimental equation for curve is expressed as follow: glycine ($\mu\text{g}/\text{ml}$) = $173.04 \cdot A_{570} + 3.24$

buffer 100ml와 혼합한 용액) 2ml와混合하여 100°C water bath에서 7分間 加熱, 發色後, total volume을 50ml로하고 spectrophotometer를使用하여 570m μ 波長에서 optical density를測定하였다.

그 calibration curve는 Fig. 3과 같다. Peptides의 fractionation은 酸加水分解 後에 amino acids 測定法과 同一하게 實施하였다.

結果 및 考察

Beer #1과 Beer #2의 炭水化物的 含量에 對한 比較는 Table 1과 같다. 즉, Beer #1의 非加水分解區內의 炭水化物含量은 Bertrand法으로는 1.82%, Anthrone 試藥法으로는 5.57%이었다. 이것은 anthrone 試藥에 依하여 還元糖以外의 可溶性 炭水化物이 合쳐져서 測定된 것으로 본다.

한편 酸加水分解區는 Bertrand法에서 3.01%에 對해서 anthrone 試藥法에서는 6.01%의 炭水化物이 測定되었으며 이것은 非還元性糖인 炭水化物까지 包含되어 있다. 그리고 Beer #1과 Beer #2에 있어서 炭水化物含量의 差異는 仕込過程에서의 原料의 使用量과 醱酵日數, 仕込中の 醱酵性糖의 生成度와 關係가 있는 것으로 生覺된다.

Table 1. Amounts of carbohydrates in two lager beers by different methods.

Beer	Beer #1		Beer #2	
	Non-hy-drolysis	Acid hy-drolysis	Non-hy-drolysis	Acid hy-drolysis
Hydrolysis				
Carbohydrate				
Bertrand's method	w/v% 1.82	w/v% 3.08	w/v% 1.96	w/v% 3.01
Anthrone reagent method	5.57	6.01	4.26	4.64

Remark: Carbohydrates were estimated as glucose.

또한 非加水分解區에 있어서 Beer #1과 Beer #2를 例를 들면, anthrone 試藥에 依한 炭水化物含量으로부터 Bertrand法의 炭水化物을 減한 3.75%, 3.30%는 各各 gum과 dextrin에 該當하는 것으로 生覺된다. 이와 같은 數値는 Prescott & Dunn의 引用表와 近似한 數値를 나타낸다. 即, 韓國產 麥酒는 그 質에 있어서 國際의 水準에 있음을 알 수 있다.

麥酒內의 gum과 dextrin은 麥酒의 泡持力과 粘 감에 많은 영향을 준다. 그러나 必要量 以上の 炭水化物이 存在한다는 것은 原料의 損失을 意味하는

것으로 생覺되며, 糖化 및 醱酵工程에서 이 點을 고려하여야만 할 問題라고 看做된다.

加水分解에 의하여 分析된 Beer #1의 炭水化物 6.01%는 非加水分解區 5.57%보다 0.44%만큼 더 많은 數値가 나타났다. Beer #2에 있어서도 同一하게 0.38%가 더욱 많았다. 이것은 酸加水分解에 의하여 高分子性 炭水化物이 glucose 以上の 物質까지 分解됨으로써 anthrone 發色の 濃度を 增強한 것으로 生覺된다. 따라서 非醱酵性의 高分子性 炭水化物이 若干量 存在하고 있는 것은 明白하며, 이 物質의 存在價値를 考察하여야 한다.

Beer #1과 Beer #2의 amino acids와 peptides 類似物質의 含量은 Table 2와 같다. 이것은 總 amino acids를 表示한 것이며 glycine으로써 換算되었다. 이 測定에 있어서는 Ion exchange resin을 通過시켜서 測定하였으며 酸加水分解後에 定量한 總 amino acids 含量은 Kijeldahl 法에 의한 Total-N의 換算値와 近似하다. 그러나 現行되는 Kijeldahl 法으로써는 遊離 amino acids만을 別途로 測定하지 못하므로 amino acids가 가지는 獨特한 風味를 單獨으로 測定할 必要가 있는 것이다. Table 2의 amino acids의 實驗値는 이 必要性을 解決하기 위한 基礎의 實驗의 結果이다. 한편 酸加水分解區의 amino acids로 부터 非加水分解區의 amino acids 値를 減한 것은 peptides 및 水溶性

蛋白質을 意味하는 것으로 본다.

現在로는 Kijeldahl 法에 의한 Total-N의 分析 또는 Formol 適定法에 의한 amino acids의 定量이 實施되고 있는 것으로 보며, 이 點은 比色定量法과 fractionation을 實施함으로써 改良할 必要가 있는 것으로 생각한다.

麥酒中の 蛋白質 및 peptides는 混濁과 泡持力에

Table 2. Amounts of amino acids and peptide-like substances in two different lager beers.

Beer	Beer #1		Beer #2	
	Non-hydrolysis	Acid hydrolysis	Non-hydrolysis	Acid hydrolysis
Amino acids				
Amino acids	w/v% 0.015	w/v% 0.06	w/v% 0.025	w/v% 0.056
Peptide-like substances	0.045		0.031	

Remark: Amino acids and peptides were estimated as glycine.

많은 영향을 주고, 한편 amino acids는 風味를 支配하는만큼 呈味物質에 對한 各個 分析이 必要한 것이다. 이와 같은 面에서 볼 때에 Total-N을 求하는 것보다는 amino acids와 peptides를 따로이 分析하는 것이 意義가 있는 것으로 생각되었다.

摘 要

韓國產 lager beer 二種을 sample로 取하여 麥酒中の 總炭水化物을 Ion exchange resin (IR -120) column로서 fractionation하여 anthrone 試藥法으로 比色定量하였다.

또 麥酒中の 總 amino acids와 peptides 類似物質을 Ion exchange resin(IR -120) column로서 fractionation하여 ninhydrin 試藥法으로 比色定量하였다. 그 結果는 다음과 같다.

1) 二種의 韓國產 麥酒中の 炭水化物含量은 非加水分解時 Bertrand 法에 의한 定量에서 各各 1.82%, 1.96%이고, anthrone 試藥法에 의한 比色定量法에서는 各各 5.57%, 4.26%의 數値를 나타내었다. 그리고 酸加水分解時 Bertrand 法에 의한 定量에서 各各 3.08%, 3.01%이고, anthrone 試藥法으로써는 各各 6.01%, 4.64%가 나타났다.

2) Gum과 dextrin의 含量은 各各 3.75%, 3.30%였다.

3) 非醱酵性의 高分子炭水化物이 若干量 存在하는 것이 確認되었다.

4) Amino acids의 含量은 非加水分解時 各各 0.015%, 0.025%이었고, 酸加水分解時 0.06%, 0.056%이었다.

5) Peptides 類似物質은 各各 0.045%, 0.031%이었다.

References

1. Dreywood, R., 1946. Qualitative test for carbohydrate material, Ind. Eng. Chem. vol. 18, p. 499.
2. Morris, D.L., 1948. Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood's anthrone reagent. Science, Vol. 107, p. 254~p. 255.
3. Dubois, M, et. al. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances Anal. Chem. Vol. 28, p. 350.
4. Scott, T.A., and Melvin E.H. 1953. Determination of dextran with anthrone. Anal. Chem. Vol. 25. No. 1, p.1956.
5. KOEHLER. L.H., 1952. Differentiation of carbohydrates by anthrone reaction rate and color intensity. Anal. chem. Vol 24, 1576,
6. Pinnegar, M.A., 1965. Automatic analysis in Brewing total-carbohydrates estimation of wort and beer. J. Inst. Brew., 21(5) 398.
7. Fowden, L., 1951. The quantitative recovery and colorimetric estimation of amino acids seperated by paper chromatography. J. B. C. Vol. 48. p. 327~333.
8. Trevelyan, W.E., et. al, 1956. Studies on yeast metabolism. The Biochem. J. Vol. 63, 23.
9. Fowden, L., 1950. Elimination of losses in the quantitative estimation of amino acid by paper chromatography. Nature, 195 : 846—847.
10. Clerck J.D., 1957. A. textbook of brewing. Vol. I, II, Chapman & Hall, Ltd. London,