

**보리쌀중의 Phenol 화합물이 *Saccharomyces cerevisiae*의
생육에 미치는 영향**

정기택 · 김옥한 · 송형익

경북대학교 식품가공학과

**Effects of Phenolic Compounds in Milled Barley Grains on the
Growth of *Saccharomyces cerevisiae***

Chung, Ki-Taek, Uk-Han Kim and Hyung-Ik Song

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

Abstract: The phenolic compounds contained in milled barley grains were separated and identified by gas liquid chromatography, and the effects of phenolic compounds extracted from milled barley grains and each authentic phenolic compound on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* were studied. Seven phenolic acids, namely cinnamic, protocatechuic, ferulic, sinapic, vanillic, syringic, gallic acids, were identified in milled barley grains by gas liquid chromatography. The contents of sinapic, ferulic, cinnamic, protocatechuic acids were larger than those of vanillic and gallic acids. Phenolic compounds, extracted from milled barley grains and supplemented in culture broth, were inhibitory to the growth of *Saccharomyces cerevisiae* at levels above 100 ppm to 24 hours but not inhibitory at all levels after 48 hours. Cinnamic, ferulic, vanillic acids at all levels were inhibitory to the growth of *Saccharomyces cerevisiae*, among them cinnamic acid was most inhibitory. Syringic acid was inhibitory to the growth of the yeast at the initial stage of culture. But sinapic and protocatechuic acids were slightly stimulatory to the growth of the yeast and gallic acid was ineffective to the growth of the yeast.

Key Words: *Saccharomyces cerevisiae*, phenolic compounds, growth inhibition

Phenol 화합물은 자연계에 널리 분포되어 있으며 맛, 색, 향기등에 영향을 미칠 뿐 아니라, 갈변의 한 근원으로도 작용하며 동물, 식물 및 미생물의 생장에도 많은 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Amerine and Ough, 1980; Swain 등, 1977).

식물체에 존재하는 phenol화합물과 토양중의 phenol화합물(Wang 등, 1967)은 식물의 발아나 생장, 그 식물체에 기생하는 미생물의 생육을 억제시키는 것과 촉진시키는 것이 있는데 이것은 식물, 미생물 및 phenol 화합물의 종류에 따라 다른 것으로 알려져 있다(Harborne,

1964). Phenol 화합물이 미생물에 미치는 영향에 대한 연구에는 Swaminathan과 Koehler (1976)가 고구마에서 추출한 물질이 *Aspergillus parasiticus* 생육과 aflatoxin의 생산을 억제하며 이 물질이 phenol화합물이라고 한 것 외에도 다수가 있다(Boonchird and Flegel, 1982; Bullerman 등, 1977; Sharma 등, 1979).

또한, phenol화합물은 과실주에는 많은 종류가 존재하고 있는 것으로 알려져 있으며 주류의 색, 맛, 향기에 관여하고 효모의 생육과 발효작용을 억제시킬 뿐 아니라 (Conner and Beuchat, 1984) 효소의 작용을 저해하기도 한

다(Chukwura and Muller, 1982; Daiber, 1975).

한편, 자연계에 존재하는 phenol화합물의 분석에 대한 연구에는 paper chromatography를 이용한 방법으로 El-sayed와 Luh(1965)가 살구에서 phenol 화합물을 분석한 것 외에도 많은 연구가 있고(Roberts and Wood, 1951; Sioud and Luh, 1966; Steck and Wender, 1965), 근래에는 GLC를 이용한 분석방법이 이용되고 있으며 Kuwatsuka와 Shindo(1973)가 벚꽃의 phenol 화합물을 GLC로 분석한 것 외에도 여러 연구가 있다(Casteele 등, 1976; Horvat and Senter, 1980; Senter 등, 1980). 보리쌀은 주식 뿐 아니라 주류제조원료로도 이용되고 있으며 보리쌀에도 여러가지의 phenol 화합물이 함유되어 있다(McMurrough 등, 1983). 그래서 보리쌀에 함유되어 있는 phenol 화합물도 효모의 생육에 어떤 영향을 미칠 것으로 생각되어 본 실험에서는 보리쌀중의 phenol 화합물을 GLC로 분석하고 그 phenol화합물이 *Saccharomyces cerevisiae*의 생육에 미치는 영향에 대하여 조사하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

원료 보리쌀

본 실험에 사용한 보리쌀은 시판 육조종(*Hordeum vulgare*) 보리쌀을 실온에서 3일간 건조시킨 후 waring blender로 분쇄한 다음 120 mesh채로 걸러서 시료로 사용하였다.

공식균주

Saccharomyces cerevisiae 국세청 기술연구소 No. 105를 국즙배지 200ml에 한 배금이 접종하고 30°C에서 3일간 배양한 것을 사용하였다.

표준물질

본 실험에 사용한 표준물질로 caffeic, syringic, p-hydroxybenzoic, sinapic(Sigma Chemical Company 제품), vanillic, ferulic, protocatechuic, gallic(Tokyo Chemical Company 제품), salicylic, cinnamic acid, pyrocatechol(Nakarai Chemical Company 제품)을 사용했다.

Phenol 화합물의 추출

Horvat와 Senter(1980)의 방법과 같이 시료 200g을 0.1% HCl-methanol 1000ml로 1시간 동안 격렬히 추출하고 여과한 후 여액에 sodium sulfate를 가하여 수분을 제거한 다음 다시 여과하여 그 여액을 35°C에서 감압 농축시키고 그 잔액을 추출액으로 사용했다.

Total phenol 측정

Singleton과 Rossi의 방법(Amerine and Ough, 1980)에 따라서 765nm(PYE UNICUM PU 8600 UV/VIS spectrophotometer)에서 추출액의 total phenol 함량을 측정하였다.

생육도 측정

보리쌀중의 phenol 화합물의 추출액을 total phenol 함량으로 50, 100, 250, 500 ppm이 되도록 glucose 함량을 5%로 한 YM배지 50ml에 첨가하고 pH 4.5로 조절한 후 희석한 효모 배양액 0.1ml씩 가하여 30°C에서 배양하면서 24시간마다 Hemacytometer로 균수를 측정하였다.

pH 측정

Jenco pH meter 602로 측정했다.

환원당 정량

Bertrand법으로 정량했다.

Phenol 화합물의 분석

시료 5g을 0.1% HCl-methanol 50ml로 전과 같은 방법으로 추출하여 감압농축시키고 건

Table 1. GLC operation conditions for TMS derivatives analysis.

Column	Chromosorb W 5% SE30, glass 1m × 3 mm
Detector	Flame ionization detector
Column temperature	130–210°C
Program rate	5°C/min
Injection temperature	220°C
Detector temperature	220°C
Carrier gas (N ₂)	30 ml/min
Hydrogen, air flow-rate	30, 275 ml/min
Chart speed	10 mm/min

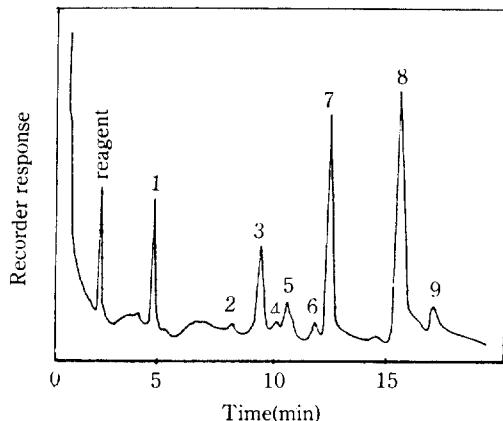


Fig. 1. *GLC of phenolic compounds in milled barley grains.*

1: cinnamic acid, 2: vanillic acid, 3: protocatechuic acid, 4: unknown, 5: syringic acid, 6: gallic acid, 7: ferulic acid, 8: sinapic acid, 9: unknown.

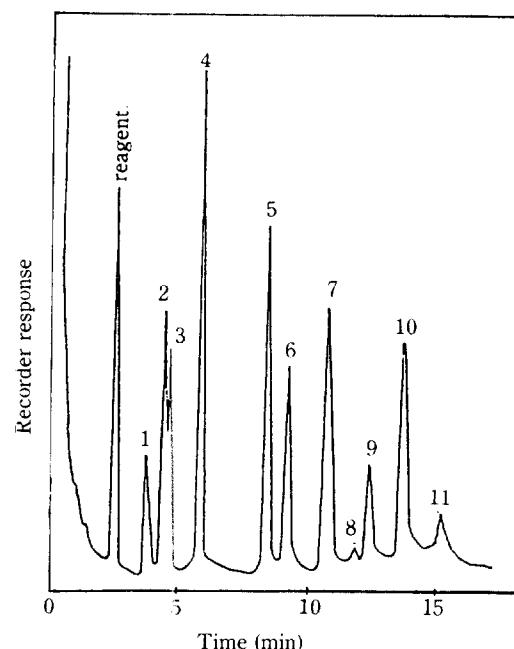


Fig. 2. *GLC of authentic phenolic compounds.*

1: pyrocatechol, 2: salicylic acid, 3: cinnamic acid, 4: p-hydroxybenzoic acid, 5: vanillic acid, 6: protocatechuic acid, 7: syringic acid, 8: gallic acid, 9: ferulic acid, 10: caffeic acid, 11: sinapic acid.

고잔사에 Katagi 등 (1973)의 방법으로 pyridine 1 ml와 N, N-bis(trimethylsilyl) acetamide 1 ml, trimethylchlorosilane 0.3 ml를 가하여 60°C에서 2시간 동안 TMS화 시킨 다음 3 μl를 GLC (HITACHI 663-50)에 주입하여 Table 1의 조건으로 분석했다.

또 phenol 화합물의 표준물질은 각각 0.3 mg 씩 취하여 pyridine 1 ml에 녹이고 N, N-bis(trimethylsilyl) acetamide 1 ml와 trimethylchlorosilane 0.3 ml를 가하여 60°C에서 2시간 TMS화 시킨 후 6 μl를 주입했다.

결 과

Phenol 화합물의 분리·확인

보리쌀중에 존재하는 phenol 화합물을 분리·확인하기 위하여 추출액을 TMS화 시킨 후 GLC로 분석한 결과는 Fig. 1과 같고 phenol화합물의 표준물질을 GLC로 분석한 결과는 Fig. 2와 같다. 즉 보리쌀중의 phenol 화합물중에서 cinnamic, vanillic, protocatechuic, syringic, gallic, ferulic, sinapic acid의 7종이 확인되었으며 이들의 retention time과 syringic acid의 함량과 분리된 각 phenol 화합물의 함량

비는 Table 2와 같다. Table 2에서 보는 바와 같이 sinapic, ferulic, cinnamic, protocatechuic acid가 많이 존재하는 편이었고 syringic, gallic, vanillic acid는 적게 존재하는 편이었다.

Table 2. *Retention time and ratio of concentration of phenolic compounds in milled barley grains.*

Peak No.	Compound	Retention time (min)	Ratio of conc.
1	Cinnamic acid	4.93	3.10
2	Vanillic acid	7.37	0.33
3	Protocatechuic acid	9.80	2.38
4	Unknown	10.60	0.17
5	Syringic acid	11.04	1.00
6	Gallic acid	12.29	0.44
7	Ferulic acid	12.89	5.84
8	Sinapic acid	16.08	10.44
9	Unknown	17.70	0.98

Table 3. Effect of phenolic compounds extracted from milled barley grains on the growth of *Saccharomyces cerevisiae*.

Conc. of total phenol (ppm)	Number of cells/ml ($\times 10^7$)			
	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs
Control	7.25	8.20	8.74	9.30
50	7.11	8.37	9.31	9.30
100	4.78	8.26	9.82	9.30
250	3.11	8.50	9.30	9.05
500	3.00	8.26	9.21	9.97

Phenol 화합물의 추출액이 효모의 생육에 미치는 영향

생육도 변화

보리쌀중의 phenol 화합물의 추출액은 total phenol 함량으로 12,500 ppm 이었으며 이 추출액을 농도별로 배지에 첨가한 후 균수를 측정한 결과는 Table 3 과 같다. Table 3에서 보는 바와 같이 배양 24시간째는 100 ppm 이상의 농도에서 효모의 생육이 억제되었으나 48시간 이후에는 억제효과가 없는 것으로 나타났다.

pH 변화

Table 4에서 보는 바와 같이 추출액의 농도에 따른 배양액의 pH 차이는 거의 없었으며 배양시간이 경과할수록 pH가 약간 낮아졌다.

잔당

Table 5에서 보는 바와 같이 보리쌀중의 phenol 추출액의 농도가 높을수록 96시간 후에 배양액의 잔당은 많은 것으로 나타났다.

각 phenol 화합물이 효모의 생육에 미치는 영향

보리쌀중의 phenol 화합물에서 GLC로 분리·확인된 7종의 각 phenol 화합물의 표준물질을 농도별로 가하고 효모의 생육에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 6 과 같다. Table 6에서 보는 바와 같이 cinnamic acid는 100 ppm 부터 효모의 생육을 억제해서 250 ppm 이상에서는 효모의 생육이 없었다. Ferulic acid와 vanillic acid는 농도가 높을수록 효모의 생육을 비교적 많이 억제했으며 1000 ppm에서는 24시간까지는

Table 4. Changes in pH of culture broth

Conc. of total phenol (ppm)	pH				
	Initial	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs
Control	4.5	4.1	4.0	4.0	4.0
50	4.5	4.0	3.9	3.9	3.9
100	4.5	4.0	3.9	3.9	3.9
250	4.5	4.1	3.9	3.9	3.9
500	4.5	4.1	3.9	3.9	3.9

효모의 생육이 없었으며 그 후에도 많은 억제를 했다.

Syringic acid는 24시간까지는 500 ppm 이상에서 많이 억제했으나 48시간 이후에는 별 영향이 없었다. Sinapic acid는 효모의 생육을 다소 촉진하는 것으로 나타났고 protocatechuic acid는 1000 ppm에서는 초기에 생육을 다소 억제했지만 그 이하의 농도에서는 다소 촉진하는 것으로 나타났다. Gallic acid는 생육에 별 영향이 없는 것으로 나타났다.

고 찰

보리쌀중의 phenol 화합물을 GLC로 분석한 결과 7종의 phenolic acid가 분리·확인되었으며 그 중에서 sinapic, ferulic, cinnamic, protocatechuic acid가 많이 존재하는 편이었고 syringic, gallic, vanillic acid는 적게 존재하는 편이었다. 보리쌀중의 penol 화합물의 추출액은 total phenol 함량으로 100 ppm 이상일 때 초기에는 효모의 생육을 억제했으나 48시간 이후에

Table 5. Concentration of residual glucose in culture broth after 96 hours.

Conc. of total phenol (ppm)	Residual glucose (%)
Control	0.19
50	0.19
100	0.25
250	0.25
500	0.26

Table 6. Effects of authentic phenolic acids on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* (I).

phenolic acid	Conc. of phenolic acid (ppm)	Number of cells ($\times 10^7$)/ml			
		24hrs	48hrs	72hrs	96hrs
Cinnamic acid	Control	3.10	8.72	8.76	8.36
	100	—	0.30	2.76	2.76
	250	—	—	—	—
Ferulic acid	Control	3.10	8.72	8.76	8.36
	100	2.42	7.68	7.96	8.52
	250	1.12	5.83	6.92	6.93
	500	1.05	4.44	4.56	3.92
	1000	—	1.86	2.24	2.80
Vanillic acid	Control	6.68	8.64	7.67	7.48
	100	5.83	8.16	6.45	6.28
	250	5.35	7.13	5.68	5.68
	500	4.25	5.18	5.20	5.35
	1000	—	5.04	5.08	3.63
Syringic acid	Control	1.83	8.50	8.16	7.92
	100	1.82	8.05	9.36	7.52
	250	1.80	8.75	10.09	7.16
	500	0.45	9.70	8.84	7.56
	1000	0.33	10.01	8.88	7.68

는 억제효과가 없었다. 이는 tannic acid가 알콜발효에서 초기에 효모의 생육을 억제하여 유도기가 길어지고 발효에 장해를 가져온다는 김(1981)의 보고와 같은 결과이다. Phenol 화합물이 미생물의 생육을 억제시키는 경우는 Bonchirid와 Flegel(1982)의 보고에서도 볼 수 있는데 이들은 eugenol과 vanillin이 저농도에서 *Candida albicans*와 *Cryptococcus neoformans*의 생육을 억제시킨다고 했고 Swaminathan과 Koehler(1976)는 고구마에 존재하는 chlo-rogenic acid와 caffeic acid가 *Aspergillus parasiticus*의 생육과 aflatoxin의 생산을 억제한다고 했다.

배양액의 pH가 시간이 경과할수록 낮아진 것은 효모가 배양중에 산을 생성하기 때문으로 추

Table 6. Effects of authentic phenolic acids on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* (II).

phenolic acid	Conc. of phenolic acid (ppm)	Number of cells ($\times 10^7$)/ml			
		24hrs	48hrs	72hrs	96hrs
Sinapic acid	Control	1.83	7.68	8.48	8.00
	100	1.85	12.40	9.84	8.60
	250	2.12	11.20	8.66	8.50
Protocatechuic acid	500	1.95	8.12	8.60	9.60
	1000	1.98	7.80	8.48	9.00
	Control	1.83	7.68	8.48	8.00
Gallic acid	100	2.38	10.80	10.40	9.84
	250	2.77	8.04	8.76	8.80
	500	1.98	7.38	9.28	10.30
Control	1000	1.15	6.96	9.92	10.60
	Control	1.83	8.50	8.16	7.92
	Gallic acid	100	1.88	10.10	8.80
Control	250	1.84	8.85	8.72	6.48
	500	1.84	8.60	8.64	6.52
	1000	1.33	9.00	6.96	6.64

정되며 96시간 후에 배양액의 잔당이 control과 50ppm에서 보다 100ppm 이상의 농도에서 더 많은 것은 초기에 균수가 억제된 것이 당의 소비에도 영향을 미친 것으로 생각된다. 보리쌀에서 분리·확인된 각 phenol화합물이 효모의 생육에 미치는 영향은 종류에 따라 억제효과에 차이가 있었다. Cinnamic acid가 가장 억제효과가 컷으며, vanillic, ferulic acid가 그다음이었으며, syringic acid는 초기에만 억제를 했다. Sinapic acid와 protocatechuic acid는 500ppm이하에서는 다소 촉진하는 것으로 나타났으며 gallic acid는 생육에 별 영향이 없는 것으로 나타났다.

이상의 결과로 볼 때 보리쌀중의 phenol화합물의 추출액이 효모의 생육을 초기에 억제한 것은 phenol화합물중에서 주로 cinnamic, vanillic, ferulic syringic acid의 영향이 클 것으로 추정된다.

적 요

보리쌀중의 phenol 화합물을 분리·확인하고 그 phenol 화합물의 추출액과 각 phenol 화합물이 *Saccharomyces cerevisiae*의 생육에 미치는 영향을 조사하였다. GLC로 분석한 결과, 보리쌀중에는 cinnamic, protocatechuic, ferulic, sinapic, vanillic, syringic, gallic acid의 7종이 분리·확인되었으며 그 중에서 sinapic, ferulic, cinnamic, protocatechuic acid가 많이 존재하는 편이었고 vanillic, syringic, gallic acid가 적게 존재하는 편이었다. Phenol 화합물의 추출액은 total phenol 함량으로 100ppm 이상에서 *Saccharomyces cerevisiae*의 생육을 24시간까지는 억제했으나 48시간 이후에는 억제하지 않았다. 분리·확인된 각 phenol 화합물 중에서 cinnamic, ferulic, vanillic acid는 효모의 생육을 전반적으로 억제했으며 그 중에서 cinnamic acid의 억제효과가 가장 커다. Syringic acid는 생육 초기에만 억제했으며, sinapic acid와 protocatechuic acid는 저농도에서 다소 촉진하는 것으로 나타났고, gallic acid는 생육에 별 영향이 없는 것으로 나타났다.

REFERENCES

1. Amerine, M. A., and C. S. Ough, 1980. Methods for analysis of must and wines. A Wiley-interscience publication, New York. pp. 175-199.
2. Boonchird, C., and T. W. Flegel, 1982. In vitro antifungal activity of eugenol and vanillin against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*. *Can. J. Microbiol.* **28**, 1235-1241.
3. Bullerman, L. B., F. Y. Lieu, and S. A. Seier, 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oil, cinnamic aldehyde and eugenol. *J. Food Sci.* **42**, 1107-1109.
4. Casteele, K. V., H.D. Pooter, and C.F.V. Lumere, 1976. Gas chromatographic separation and analysis of trimethylsilyl derivatives of some naturally occurring non-volatile phenolic compounds and related substances. *J. Chromatog.* **121**, 49-63.
5. Chukwura, E.N., and H.G. Muller, 1982. Effect of tannin african sorghum variety in relation to carbohydrate and amylase. *J. Food Sci.* **47**, 1380-1381.
6. Conner, D. E., and L. R. Beucnat, 1984. Effect of essential oils from plants on growth of food spoilage yeast. *J. Food Sci.* **49**, 429-434.
7. Daiber, K.H., 1975. Enzyme inhibition by polyphenols of sorghum grain and malt. *J. Sci. Fd. Agric.* **26**, 1399-1411.
8. El-sayed, A. S., and B.S. Luh, 1965. Polyphenolic compounds in canned apricots. *J. Food Sci.* **32**, 251-258.
9. Harborne, J. B., 1964. Biochemistry of phenolic compounds. Academic press, London and New York. pp. 511-544.
10. Horvat, R. J., and S. D. Senter, 1980. A gas-liquid chromatographic method for analysis of phenolic acids in plants. *J. Agric. Food Chem.* **28**, 1292-1295.
11. Katagi, T., A. Horri, Y. Oomura, H. Miyakawa, T. Kyu, Y. Iketa, and K. Itoi, 1973. Gas chromatography of flavonoids. *J. Chromatog.* **79**, 45-46.
12. Kuwatsuka, S., and H. Shindo, 1973. Behavior of phenolic substances in the decaying process of plants. *Soil Sci. Plant Nutr.* **19**, 219-227.
13. McMurrough, I., M. J. Loughrey, and G. P. Hennigan, 1983. Content of (+)-catechin and proantocyanidins in barley and malt grains. *J. Sci. Food Agric.* **34**, 62-72.
14. Reed, G., and Peppler, H. J., 1973. Yeast technology. The Avi publishing company. Inc. Westport. pp. 193-194.
15. Roberts, E. A. H., and D. J. Wood, 1951. A study of the polyphenols in tea leaf by paper chromatography. *Biochem. J.* **49**, 414-422.
16. Senter, S. D., R. J. Horvat, and W. R. Forbus, JR, 1980. Relation between phenolic acid content and stability of pecan in accelerated storage. *J. Food Sci.* **45**, 1380-1482.
17. Sharma, A., G. M. Tewari, and A. J. Shrikhande, 1979. Inhibition of aflatoxin-

- producing fungi by onion extracts. *J. Food Sci.* **44**, 1545-1547.
18. Sioud, F. B., and B. S. Luh, 1966. Polyphenolic compounds in pear puree. *Food Technology*. **4**, 182-186.
19. Steck, W., and S. H. Wender, 1965. Paper chromatography in benzen-acetic acid-water as an aid in estimating free hydroxyl groups in phenolic compounds. *J. Chromatog.* **19**, 564-571.
20. Swain, T., J. B. Harborne, and C. F. V. Sumere, 1977. Biochemistry of plant phenolics. Plenum Press, New York and London. pp. 1-28, pp. 557-640.
21. Swaminathan, B., and P. E. Koehler, 1976. Isolation of an inhibitor of *Aspergillus parasiticus* from white potatoes (*Solanum tuberosum*). *J. Food Sci.* **41**, 313-319.
22. Wang, T. S. C., T. T. Yang, and T. T. Chuang, 1967. Soil phenolic acids as plant growth inhibitors. *Soil Science*, **103**, 239-246.
23. 김성수, 1981. 식품중의 토너이 밭효에 미치는 영향. 중앙대학교 대학원 석사학위논문.
24. 정동호, 장현기, 1982. 최신식품분석법. 삼중당. 서울. pp. 120 - 125.

(Received Jan. 10, 1986)