

고구마 전분에 대한 고구마 조효소와 전분분해 효소의 작용에 관하여

신말식 · 안승요*

전남대학교 식품영양학과, *서울대학교 식품영양학과

Action of Crude Amyolytic Enzymes Extracted from Sweet Potatoes and Amyolytic Enzymes on the Sweet Potato Starches

Malshick Shin and Seungyo Ahn*

Department of Food Science and Nutrition, Chonnam National University, Kwang Ju

*Department of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul

Abstract

The action of crude amyolytic enzymes extracted from Wonki and Chunmi sweet potatoes, α -amylase, and β -amylase on the sweet potato starches from Wonki (dry type) and Chunmi (moist type) were studied. The activity of crude amyolytic enzyme extracted from Wonki was higher than that extracted from Chunmi. The content of reducing sugar released from the reaction between crude amyolytic enzyme and Chunmi starch preheated at 70°C was higher, but that preheated at 95°C was lower than that from Wonki starch preheated at the same temperature. The activities of α -amylase and β -amylase on the Wonki starch were higher than those of the Chunmi starch at the same conditions. Iodine affinity of amyolytic enzyme-treated starch was decreased and enzyme treated starch granule shape was found with porous structure having inner layers. X-ray diffraction patterns of amyolytic enzyme-treated starches were the Ca type like the intact starches and relative crystallinity was decreased.

서 론

고구마는 가열 후의 텍스처특성에 따라 분질고구마와 점질고구마로 구분된다⁽¹⁾

고구마는 저장이나 가열 중에 전분가수분해효소의 활성이 증가되어 당이 생성되며 이것이 질감에 영향을 준다는 보고가 있다. Hammet⁽²⁾는 점질고구마가 중간 질고구마보다 아밀로펙틴, 텍스트린, 환원당 함량이 높다고 하였으며 Walter 등⁽³⁾은 가열한 고구마의 텍스처는 점질고구마에서 텍스트린의 고유점도와 상관성이 있다고 하였으며 고구마 전분은 68~73°C에서 호화되며 호화되지 않은 전분에는 전분가수분해효소가 작용하지 않는다고 하였다. 반면 Ali 등⁽³⁾은 baking 후의 조직의 연화에는 말토오스나 텍스트린의 존재와는 무관하다고 보고하였다. 가열 후의 고구마에는 말토오스만이 증가되었으며 주로 α -amylase가 작용한다고 하였다⁽⁴⁾ 고구마 내에 포함되어 있는 전분가수분해효소

의 작용에 의해 생성된 당의 함량변화와 전분가수분해 효소의 특성에 관하여는 연구가 이루어져 왔으나^(6,7) 텍스처와의 연관성에 대하여는 아직 미흡한 실정이다.

Baugardner 등⁽⁸⁾은 고구마의 알코올 불용성 고형물(AIS)이 경도와 상관성이 있다고 하였으며 이들⁽⁹⁾은 점질 고구마의 AIS 함량이 분질고구마보다 낮았다고 하였다.

AIS 중 대부분을 차지하는 전분에 관한 연구로는 이 화학적인 특성에 관한 연구와^(10,12) 산처리시의 변화에 관한 연구⁽¹³⁾가 있으며 전분분가수분해효소와의 작용에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

그러므로 본 연구에서는 점질고구마인 천미와 분질 고구마인 원기의 전분을 분리하여 전분가수분해효소를 작용시켰을 때 생성되는 당의 변화와 효소처리된 전분의 특성을 관찰하여 비교, 검토하였다.

재료 및 방법

재료

고구마는 수원 농촌진흥청 작물시험장에서 수확된 천미와 경기도 양주군 별내면에서 수확된 원기를 구입하여 사용하였다.

전분의 조제

전분은 고구마로부터 알칼리 침지법⁽¹⁴⁾으로 분리한 후 실온에서 풍건하여 100mesh 체로 쳐서 시료로 사용하였다.

조효소 분리

생고구마를 잘게 자른 후 20g을 취하고 pH6.0인 인산완충용액 100ml를 첨가하여 Waring blender로 마쇄한 후 Whatman No.1여과지로 여과한 것을 조효소로 사용하였다.

전분가수분해효소

α -amylase는 곰팡이로부터 분리된 것 (Junsei 제, Japan)을, α -amylase는 고구마로부터 분리된 것 (Merck 제)을 사용하였다.

조효소의 활성도 측정

Walter 등⁽⁷⁾의 방법을 수정하여 1% 가용성전분 4ml(pH6.0)를 끓는 수조에서 10분간 중탕한 후 다시 65°C 항온수조로 옮겨 조효소액 1ml씩 첨가하고 15분간 반응시킨 후 5% trichloroacetic acid를 첨가하여 효소를 불활성화 시키고 냉각 후 상등액을 취하여 Somogyi-Nelson 법⁽¹⁵⁾으로 환원당을 정량하여 전분가수분해효소의 활성을 측정하였다. 대조구는 조효액을 인산완충용액에 넣어 같은 방법으로 실시하였다.

각 전분에 대한 조효소의 작용

분리된 고구마 전분 0.05g 씩에 아세트산 완충용액(pH5.0)을 넣고 48°C, 65°C, 70°C, 95°C의 항온수조에서 15분 가온시킨 후 이것을 50°C 항온수조로 옮겨 조효소액 2ml를 가하고 같은 온도에서 1시간씩 작용시켰다. 끓는 물로 효소를 불활성화 시키고 냉각 후 Toyo No.2 여과지로 여과하여 일정량으로 만든 후 phenol-sulfuric acid 법⁽¹⁶⁾으로 총당량을, Somogyi Nelson 법으로 환원당량을 측정하였고 대조구도 병 실시하였다.

전분분해효소의 작용

α -amylase의 작용은 Walter 방법⁽⁷⁾을 수정하여 각 전분 0.1g에 인산완충용액(pH6.0, 0.3%NaCl)을 넣고

65°C에서 15분간 가온한 후 α -amylase (0.01g/ml)를 2ml 넣어 65°C 항온수조에서 1시간 반응시켰다.

β -amylase의 작용은 Watanabe의 방법⁽¹⁷⁾을 수정하여 각 전분 0.5g에 아세트산 완충용액(pH5.0)을 넣고 β -amylase(100unit/ml) 2.5ml를 넣은 후 40°C 항온수조에서 48시간 작용시켰다. 여기에 에탄올을 가하여 효소작용을 정지시킨 후 냉각하여 Toyo No.2여과지로 여과하였고 그것으로 총당량과 환원당 함량을 측정하였다.

전분분해효소처리 전분의 특성

위에 전분분해효소를 처리한 전분을 P₂O₅ 데시케이터하에서 건조하였고 이 전분의 요드 반응을 실시하여 겔보기 아밀로오스 함량(apparent amylose content)을 비교하였으며⁽¹⁸⁾ 전분의 결정도는 X-ray 회절도에 의하여 비교하였다. X-ray 회절도는 X-ray diffractometer(Rigaku Co, Japan)를 이용하여 target Cu, filter Ni로 회절각도(2 θ)40°~5°까지 회절시켜 분석하였다. 효소 처리된 전분의 형태는 SEM(JEOL JSM-35C, Scanning Electron Microscope)으로 배율을 1300배로 관찰 비교하였다.

결과 및 고찰

조효소의 활성도 측정

원기와 천미고구마로부터 추출한 조효소를 가용성 전분에 작용시켜 생성된 환원당 함량으로 표시된 조효소의 활성도는 원기로부터 추출된 것이 천미에서 추출된 것보다 2배 정도 높았다(표 1). 고구마로부터 얻은 조효소에는 전분분해능을 지닌 α -amylase와 β -amylase가 혼합되어 있으며 이 효소들에 의해 전분이 분해되어 당이 생성된다고 알려져 있다⁽⁵⁾

고구마전분에 대한 조효소 작용

각 고구마에서 분리된 전분을 일정온도에서 호화시킨 후 조효소를 작용시켜 생성된 당의 함량 변화를 측

Table 1. Crude amylolytic enzyme activity of sweet potato cultivars

Cultivars	Enzyme activity* (glu%)
Wonki	0.225
Chunmi	0.112

* amount of the reducing sugars liberated from the soluble starch

정한 결과는 그림1과 같다.

그림1과 같이 총당량과 환원당 함량의 변화 양상은 비슷하였으며 65°C 이하에서는 당의 생성은 거의 없었으며 65°C 이상에서는 급격히 증가하였다. 이는 고구마 전분이 이 온도 부근에서 호화하기 시작하여 효소의 작용을 더 용이하게 하기 때문인 것으로 생각된다. 임등⁽¹⁵⁾은 천미 전분은 67°C에서, 원기 전분은 69°C에서 호화되기 시작하였다는 보고로 미루어 볼 때 70°C에서 생성된 환원당 함량이 천미 전분을 기질로 한 경우가 더 높게 나타난 것을 설명할 수 있다. 호화된 전분의 양이 적은 경우에는 효소의 활성보다는 기질의 종류에 의해 당의 생성정도가 영향을 받는 것으로 추정된다. 대부분의 전분이 호화된 상태인 95°C에서는 원기로부터 추출된 조효소의 활성이 천미로부터 추출된 것보다 높았으며 기질에 의한 영향은 거의 없었다. 즉, 고구마 전분에 대한 조효소의 작용은 전분의 호화정도에 영향을 받으며 전분이 호화된 상태에서는 효소의 활성에 의해 좌우된다고 생각된다.

고구마 전분에 대한 전분분해효소의 작용

각 고구마 전분에 정제된 α -amylase 또는 β -amylase를 작용시켜 얻은 결과는 표2와 같다.

α -amylase 나 β -amylase를 작용하였을 때 원기 전분이 더 쉽게 반응하여 많은 양의 환원당을 생성하

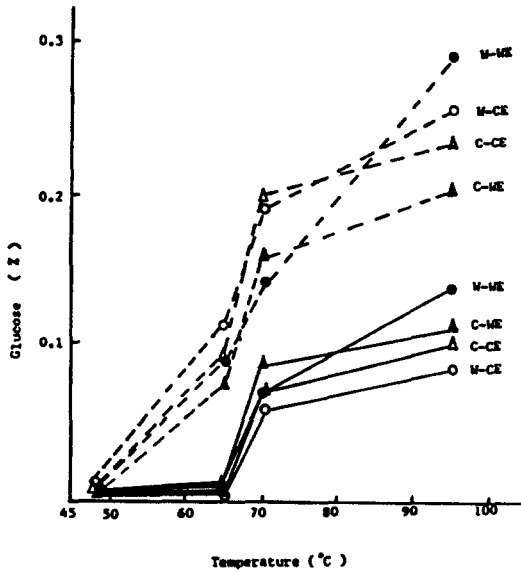


Fig. 1. Changes of reducing sugar (—) and total sugar (---) content released by reacting between crude amylolytic enzyme and starch from sweet potatoes; starch, Wonki (W) and Chunmi (C), crude amylolytic enzyme from Wonki (WE) and Chunmi (CE)

Table 2. Sugar contents in sweet potato starch after amylolytic reaction

Enzyme	α -amylase		β -amylase	
	Total ^a	Reducing ^a	Total ^a	Reducing ^b
Wonki	2.71	1.68	0.53	1.19
Chunmi	2.52	1.63	0.49	1.12

^a Glucose % ^b Maltose %

었다. 원기 전분이 당을 생성하는 정도는 천미 전분에 대한 상대적인 비율로 볼 때 α -amylase 작용시에 총당이 108%, 환원당이 103% 증가된 반면 β -amylase 작용시에는 총당이 108%, 환원당이 106% 증가하였다. 즉 전분에 α -amylase 나 β -amylase가 작용했을 때 생성되는 당의 조성은 알 수 없으나 함량 비는 비슷하였다. 이는 전분구조에 의해 전분가수분해효소의 작용이 영향을 받기 때문인 것으로 생각된다. 전분을 구성하는 아밀로오스와 아밀로펙틴의 함량 비가 다르며 원기전분은 아밀로오스가 18.0%, 천미전분은 16.8% 들어 있다⁽¹³⁾ Madamba 등⁽¹²⁾은 고구마의 전분 중 아밀로펙틴 함량이 높은 것이 고구마를 가열했을 때 많은 당을 생성하며 또 이러한 종류의 고구마는 점질을 나타냈다고 하였다. 그러나 이 경우에는 고구마에서 전분을 분리하지 않고 고구마 자체의 가열에 의해 나타나는 현상이므로 아밀로펙틴 함량과의 상관관계를 설명하기에는 미흡하다. 전분과 효소의 반응은 전분을 구성하는 아밀로오스와 아밀로펙틴의 함량 비 뿐만 아니라 중합도나 branching 정도가 큰 영향을 줄 것이라 생각된다.

효소처리 전분의 특성

α -amylase 와 β -amylase 로 처리된 고구마 전분의 요드와의 반응 결과는 표3과 같다.

표3에서와 같이 효소처리한 전분의 요드 반응 후의 λ max 와 680nm에서의 흡광도는 생전분보다 낮았으며 α -amylolysis 후에 더 낮았다. 흡광도가 낮아진 것은 요드와 결합할 수 있는 아밀로오스의 일부가 가수분해되었음을 시사해준다. 겔보기 아밀로오스 함량은 원기전분이 18.0%에서 α -amylolysis 후에 13.1%, β -amylolysis 후에 14.6%로 감소한 반면 천미 전분은 16.8%에서 14.8%와 16.1%로 낮아졌다. 겔보기 아밀로오스 함량의 감소 정도는 원기 전분이 더 컸으며 α -amylase 작용 후에 더 많이 감소되었다. 표2에서 원기 전분에 전분분해효소를 작용시킨 경우에 생

Table 3. Properties of iodine-stained native and amyolytic sweet potato starches

Starch	Treatment	λ max (nm)	Absorbance at		Apparant amylose (%)
			λ max	680nm	
Wonki	native	607	0.428	0.372	18.01
	α -amylolysis	606	0.356	0.313	13.10
	β -amylolysis	604	0.382	0.331	14.60
Chunmi	native	605	0.415	0.357	16.76
	α -amylolysis	604	0.385	0.333	14.76
	β -amylolysis	599	0.410	0.349	16.09

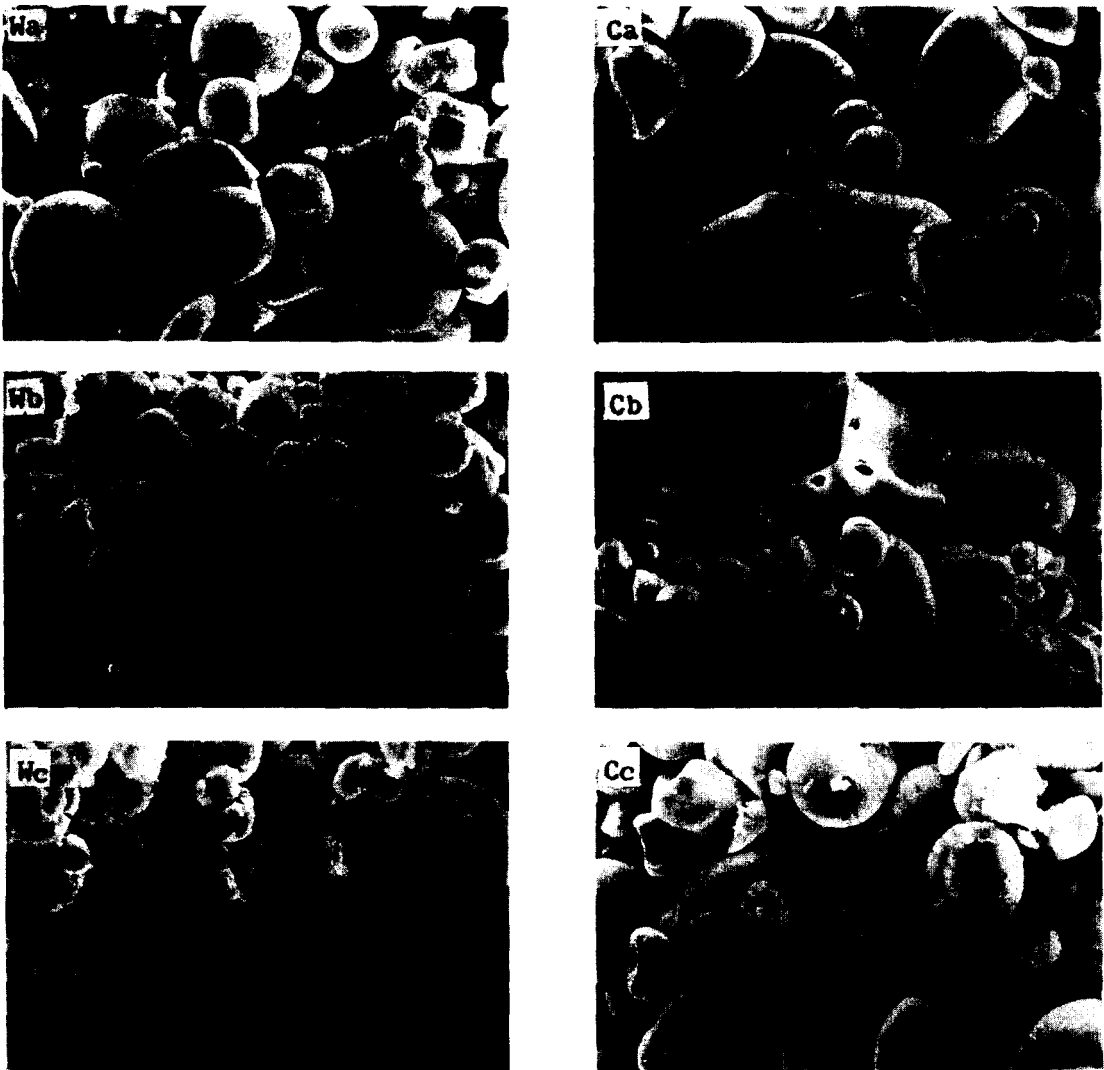


Fig. 2. Attack of amyolytic enzyme on sweet potato starches from Wonki(W) and Chunmi(C) ($\times 1300$)
 a; untreated b; α -amylolysis c; β -amylolysis

성된 환원당 함량이 더 많은 것은 겔보기 아밀로오스 함량의 감소에 기인되는 것 같다. 특히 β -amylase 작용시의 조건이 β -limited dextrin을 생성할 수 있는 농도임⁽¹⁸⁾에도 표3과 그림 2의 결과같이 일부의 분해만 일으켰던 것은 전분입자의 표면에 전분가수분해효소의 작용을 받기 어려운 물질로 되어 있지 않나 생각된다. 전분을 전분가수분해효소를 작용시키기 전에 가열등의 처리를 했을 때는 이런 분해작용의 방해물 제거할 수 있을 것이다.

SEM을 통해 본 생전분입자와 효소처리 전분입자의 형태는 그림2와 같다. 고구마 전분 입자는 전분의 근원에 관계없이 둥근형이며 입자의 크기는 천미전분입자가 원기 저분 입자에 비해 큰 편이었으며 크기는 다양하였다. 임등⁽¹³⁾은 원기전분 입자 크기는 8~18 μ m, 천미전분입자는 11~20 μ m에 분포한다고 보고한 바 있다. 전분가수분해효소를 처리했을 때는 전분입자의 표면 중 공격받기 쉬운 부분으로부터 구멍이 뚫리면서 내부로 효소작용을 받는 것 같았다. Shetty 등⁽¹⁹⁾에 의하여 전분가수분해효소를 작용시킨 밀전분등도 비슷한 경향을 보였다. α -amylolysis 후의 전분입자는 구멍이 뚫리면서 효소의 공격을 받았으며 공격을 받은 부위의 내부로부터 전분입자가 여러 층을 이루는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 Bushuk 등⁽²⁰⁾에 의한 α -amylase 작용 후의 호밀이나 감자전분도 같은 양상을 보였다. 이런 층을 이루는 것은 전분구조 중 결정성 부분과 비결정성 부분이 효소 작용에 다른 결과를 나타내기 때문이라고 하였다 반면 β -amylolysis 후의 전분은 가수분해 정도가 미비했으며 일부 전분입자 표면에 홈이 파인 것 같았고 일부에 점액상의 물질이 있음을 보였다.

그러므로 전분가수분해효소 작용 후 전분입자의 형태는 전분구조나 효소작용 조건에 따라 달라질 수 있으며, 앞으로 계속되는 연구를 통해 설명될 수 있을 것이다.

생전분과 효소처리 전분의 X-선 회절양상은 그림3과 같다.

생전분은 회절각도(2 θ) 14.8°, 16.9°, 17.3°, 22.8°에서 강한 peak를 갖는 Ca형의 회절양상을 보였으며^(10, 13) 효소처리 후에도 같은 결정형을 유지하였다. 2 θ 가 22.8°에서의 상대적인 결정도는 원기전분이 천미전분보다 높았으며 전분가수분해 효소처리 후에는 생전분의 75% 정도로 peak 강도가 낮아졌으며 전분의 근원에 따른 차이는 없었다. peak의 예리한 정도는 효소처리 후에 감소하는 양상을 보였다. 표3과 비교하여 볼 때 겔보기 아밀로오스 함량과 결정도와는 별 상관성이 없는 것 같았다.

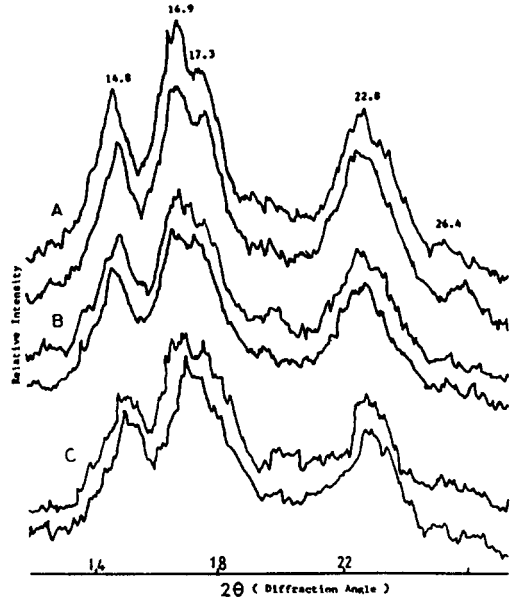


Fig. 3. X-ray diffraction patterns of the sweet potato starches from Wonki (up) and Chunmi (down). A; untreated, B; after α -amylolysis C; after β -amylolysis.

요 약

본질고구마인 원기와 점질고구마인 천미로부터 얻은 전분에 각 고구마에서 추출된 조효소와 전분가수분해효소를 작용시켜 비교 검토한 결과는 다음과 같았다.

천미보다 원기에서 추출한 조효소의 전분가수분해활성이 높았으며 각 전분의 호화온도에 따른 조효소의 작용으로 생성된 환원당 함량은 70°C에서는 천미전분을 기질로 한 것이, 95°C에서는 원기 전분을 기질로 한 것이 더 높았다. 원기전분에 대한 α -amylase와 β -amylase 활성은 천미전분에 대한 것보다 높았다. 효소처리 전분의 요드 반응 후의 흡광도는 생전분보다 낮았으며, 형태는 표면에서 내부로 여러 층을 갖는 구멍이 있고 둥근형이었다. 각 전분의 X-선 회절양상을 관찰한 결과 본 실험에 사용된 고구마 전분은 효소처리 후에도 생전분과 같이 Ca형을 유지하였으며 상대적 결정도는 효소처리전분이 생전분보다 낮았다.

문 헌

1. Walter, W.M., Purcell, A.E. and Nelson, A.M.: *J. Food Sci.*, 40 : 793(1975)
2. Hammett, H.L.: *Amer. Soci Hort. Sci.*, 78 :

- 421(1961)
3. Hoover, M.W. and Hamon, S.J.: *Food Technol.*, 21 : 1529(1967)
 4. Ali, M.K. and Jones, L.G.: *J. Sci. Ind. Res.*, 10 : 121(1967)
 5. 이은희, 안승요 : 한국농화학회지, 24, 245(1981)
 6. Hasling, V.C.: *J. Food Sci.*, 38, 338(1973)
 7. Walter, W.M. Jr and Purcell, A.E.: *J. Food Sci.*, 38, 548(1973)
 8. Baugardner, R.A. and Scott, L.E.: *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 83, 629(1963)
 9. 이경애, 신말식, 안승요 : 한국식품과학회지, 17, 421(1985)
 10. 신말식 안승요 : 한국농화학회지, 26, 137(1983)
 11. Nikuni, Z., Hizkuni, S., Fujii, M., Doi, K., Hasegawa, H., Moriwaki, T., Nara, S. and Meda, I.: *J. Agri. Chem. Soc., Japan*, 37, 673 91963)
 12. Madamba, L.S.P., Bustrillos, A.R. and Sanpedro, E.L.: *The Phillippine Agriculturist J.*, 58, 338(1975)
 13. 임서영, 신말식, 안승요 : 한국농화학회지, 28, 156(1985)
 14. Medcalf, D.G. and Gilles, K.A.: *Cereal Chem.*, 42, 558(1965)
 15. Southgate, D.A.T.: *Determination of Food Carbohydrates* Applied Science Publishers Ltd 105(1976)
 16. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, T.K., Rebers, P.A. and Smith, F.: *Anal. Chem.*, 25, 1656(1953)
 17. Watanabe, T., Akiyama, Y., Takahashi, H., Adachi, T., Matsumoto, A. and Matsuda, K.: *Carbohydrate Research*, 109, 221(1982)
 18. Lii, C.Y. and Lineback, D.R.: *Cereal Chem.*, 54, 138(1977)
 19. Shetty, R.M. and Seib, P.A.: *Cereal Chem.*, 51, 364(1974)
 20. Whistler, R.L., Bemiller, J.N. and Paschall, E.F.: *Starch, Chemistry and Technology* Academic Press Inc., 189(1984)
 21. Zobel, H.F.: *Methods in Carbohydrate Chemistry* Whister, R.L.(ed.) Academic Press N.Y. Vik. 4(1964)
 22. Leach H.W. and Schoch, T.Y.: *Cereal Chem.*, 38, 34(1961)
-
- (1986년 6월 29일 접수)