

## 大豆의 Flatulence Factor 除去를 위한 $\alpha$ -Galactosidase 효소제의 특성

鄭相守·李瑞來

이화여자대학교 식품영양학과

## Enzymatic Characteristics of $\alpha$ -Galactosidase for the Removal of Flatulence Factor in Soybean

Sang-Soo Jung and Su-Rae Lee

Department of Food and Nutrition, Ewha Woman's University, Seoul

### Abstract

For the removal of raffinose and stachyose related to flatulence in soybean,  $\alpha$ -galactosidase activity of six commercial enzyme preparations was compared and their enzymatic characteristics were investigated. Among the tested enzymes, one product from *Aspergillus niger* was shown to be the most potent in  $\alpha$ -galactosidase activity. The enzyme characteristics of the selected preparation were shown to be pH 4.0-4.5 for optimum activity, pH 4.5 for optimum stability and 45°C for optimum activity. Upon reaction on a synthetic substrate, p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-galactoside, Michaelis constant was 2.08 mM and maximum velocity was 435 micromoles of substrate/minute/g enzyme preparation. The enzyme was proved to be essential for SH group for its activity and capable of hydrolyzing raffinose, sucrose and p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-galactoside almost completely. Thin-layer chromatographic analysis exhibited that the enzyme treatments of raffinose and stachyose were resulted to produce only monosaccharides in 2 hours of hydrolysis. It was, therefore, assumed that the flatulence factor in soybean foods can be easily removed by the use of enzymes showing  $\alpha$ -galactosidase activity.

### 서 론

大豆는 蛋白質 및 脂肪質 함량이 높은 농산물로서 食糧資源으로 매우 중요한 위치를 차지하고 있다. 그러나 生大豆중에는 여러가지의 바람직하지 못한 有害成分이 존재하는 것으로 알려져 大豆를 食品으로 加工, 利用코자 할 경우에는 이를 有害成分의 除去를 위한 전처리 과정이 요구되고 있다.

大豆중에 존재하는 有害成分으로는 trypsin inhibitor, hemagglutinin (적혈구 응집활성)<sup>(1,2)</sup> 그리고 무기질의 흡수를 억제하는 phytate<sup>(3,4)</sup>와 아울러 腸內에서의 가스發生因子(flatulence factor)<sup>(5-9)</sup> 등이 알려져 있다. 이들 중 가스發生因子는 大豆중에 소량으로 존재하는 raffinose 와 stachyose 가 대장을 통과하는 도중에 혐기성 미생물의 작용을 받아 가스를 發生하는 것이며, 식사후 腸內에서의 가스발생은 바람직하지 못하기 때문에 서양인들은 大豆食品을 꺼리는 경향이 있고, 동양인들은 그의 1회 섭취량을 제한하여 왔다.

그런데 최근에 들어와 세계 여러나라에서 豆乳(soymilk)를 비롯한 大豆食品의 소비가 크게 증가하고 있는 바, 大豆加工食品에서 가스발생의 요인으로 알려진 이들 少糖類의 완전 除去나 그 함량을 감소시키고자 하는 연구 노력이 시도되어 왔다. 예컨대 大豆 제조 중에 酵素劑 처리를 하면 galactose-containing oligosaccharides를 除去할 수 있었으며, 市販酵素剤<sup>10</sup>나 lactic acid bacteria,<sup>(11)</sup> *Aspergillus awamori*,<sup>(12)</sup> *Aspergillus saitoi*,<sup>(10)</sup> *Cladosporium cladosporioides*<sup>(13)</sup> 등에서 얻은 酵素剤가 그 효과가 좋았다고 한다. 또한 酵素剤의 이용방법 이외에도 大豆제조시 發芽과정을 이용하여 少糖類를 감소시킬 수 있었고,<sup>(14)</sup> 限外여과법<sup>(15)</sup>을 이용하여 96%의 少糖類를 除去할 수 있었다고 한다.

따라서 본 연구에서는 국내에서 市販되는 酵素剤들의  $\alpha$ -galactosidase 力價를 비교하였고, 가장 높은 力價를 보여 준 *Aspergillus niger*로 부터 생산된 pectinase 제제에 대하여 酵素的 特性을 조사하였다.

그리고 酵素剤 처리에 의한 raffinose 와 stachyose 의 除去 효과를 thin-layer chromatography 로 조사함으로써 이 酵素剤의 이용가능성을 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용한 酵素剤는 太平洋化學工業주식회사에서 생산되는 6종의 市販用 제제이었다.

合成基質로는 p-nitrophenyl-a-D-galactoside(Sigma)를 사용하였으며, 天然基質로는 raffinose(Merck), stachyose(Merck)를 사용하였다.

### 酵素力價 측정법

$\alpha$ -galactosidase 力價의 표준적인 측정법으로는 0.05M McIlvaine buffer(pH6.5)에 녹인 2mM p-nitrophenyl-a-D-galactoside 용액 1ml 와 같은 buffer에 녹인 1ml 酵素용액을 각각 40°C에서 온도 평형을 시킨 후, 40°C에서 酶素반응을 시켰다. 10분 후에 1M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 5ml 를 넣어 반응정지와 아울러 酶素에 의해 생성된 p-nitrophenol 을 발색 시킨 후, Spectronic 21 spectrophotometer 에 의하여 400 nm에서의 흡광도를 읽었다.

그리고 p-nitrophenol 을 가지고 작성한 표준곡선으로부터 酶素반응에 의해 생성된 p-nitrophenol 의 양을 계산하였다. 이와 같은 측정조건 하에서 酶素力價는 흡과도가 1.5를 넘지 않는 범위안에서 비례관계가 성립되었다. 따라서 酶素반응은 이 범위 내에서 측정하였다. 이때 흡광도가 1.0을 넘을 때에는 적당히 회석하여 흡광도를 측정하고 그 값에 회석 배수를 곱하였다. 효소 단위는 International Union of Biochemistry 의 권고에 따라 1分간에 1 micromole의 基質 p-nitrophenyl-a-D-galactoside 를 분해할 수 있는 酶素량을  $\alpha$ -galactosidase 1 unit로 규정하였다.

### 酵素剤의 特性 실험법

#### 1) pH 의 영향 측정법

pH-activity 관계는 pH2.0—7.0까지는 0.1M McIlvaine buffer에 녹인 2mM p-nitrophenyl-a-D-galactoside 1ml 와 같은 buffer에 녹인 酵素용액 1ml 를 반응시켜 측정하였고, pH7.5—9.0까지는 0.1M Tris-HCl buffer를 사용하였다.

pH-stability 관계는 酵素용액을 pH2.0—9.0의 범위에서 0.01M buffer 중에 5°C에서 96시간 동안 보관한 후 酵素용액 1ml 와 0.1M McIlvaine buffer (pH6.

5)에 녹인 2mM p-nitrophenyl-a-D-galactoside 1ml 를 각각 40°C에서 온도 평형시킨 후에 40°C에서 10분간 반응시켜 측정하였다.

#### 2) 온도의 영향 측정법

酵素용액을 10°C—80°C의 온도 범위에서 15분간 보관한 후 표준 측정조건에서  $\alpha$ -galactosidase 力價를 측정함으로써 온도 영향을 조사하였다.

#### 3) Michaelis constant(Km) 및 maximum velocity(Vmax) 측정법<sup>(16)</sup>

合成基質인 p-nitrophenyl-a-D-galactoside 의 농도를 0.6, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0mM 로 달리하여 酶素반응을 10분간 그리고 20분간 시킨 후, 그 결과로 부터 extrapolation 에 의하여 초기反應速度를 계산하였다. 그 다음 Lineweaver-Burk 의 double-reciprocal plot 에 의하여 Michaelis constant 와 maximum velocity 를 구하였다.

### 加水分解率 측정법

#### 1) p-Nitrophenyl-a-D-galactoside

合成基質인 p-nitrophenyl-a-D-galactoside에 대한 酶素剤의 加水分解 정도를 보기 위하여 加水分解로 생기는 p-nitrophenol 의 생성량을 經時的으로 측정하였다. 즉 0.36 μ mole p-nitrophenyl-a-D-galactoside/7ml reaction mixture 로 만들어 酶素반응을 시킨 후, p-nitrophenol 의 표준 곡선으로 부터 0.36 μ mole p-nitrophenol 의 OD 400값인 1.0 을 나타낼 때를 100%의 加水分解로 정하고 10分間隔으로 2시간 30분동안의 加水分解率를 측정하였다.

#### 2) 少糖類

天然基質인 raffinose에 대한 加水分解정도는 酶素반응으로 생기는 還元糖을 Somogyi의 요오드 측정법<sup>(17)</sup>에 의하여 측정하고 galactose에 대한 표준곡선으로부터 galactose의 양으로 표현하였다.

선정된 酶素剤속에 sucrase activity 가 같이 존재한다면 raffinose 分解시 galactose, glucose, fructose 가 생겨 還元糖은 3배로 증가하게 된다. 따라서 3mM raffinose 1ml 와 酶素용액 1ml 를 反應시켰을 때, 100% 加水分解되면  $180.16 \times 0.003 \times 3 = 1.62\text{mg}$  의 還元糖이 생기게 된다.

아울러 酶素剤의 sucrase activity 여부를 알기 위해 3mM sucrose 1ml 와 酶素용액 1ml 를 反應시켜 보았으며 이때 100% 加水分解되면  $180.16 \times 0.003 \times 2 = 1.08\text{mg}$  의 還元糖이 생기게 된다. 酶素反應은 둘 다 20分간격으로 4시간 동안의 加水分解를 측정하였다.

### 酵素 分解産物의 분석법

1) 표준糖용액의 thin-layer chromatography(TLC)<sup>(18,19)</sup>  
0.02M sodium acetate로 impregnation 시킨 Kieselguhr G(Merck)를 입힌 20cm×20cm TLC plate (250 μ thickness)위에 spot 당 2μ g의 糖이 포함되도록 표준糖용액을 spotting 하였다. 이것을 butanol-pyridine-water(75:15:10) 용액으로 전개한 다음 diphenylamine-aniline-phosphoric acid로 발색시키고 Rf 값을 구하였다.

### 2) 酵素 分解産物의 thin-layer chromatography

Raffinose와 stachyoze의 糖용액을 각각 0.1M McIlvaine buffer(pH 6.5)에 녹인 酵素用액과 부피비를 1:1로 하여 40°C에서 30分, 60分, 120分, 180分씩 반응시킨 후 끓는 물에서 10分간 중탕시켜 反應을 정지시켰다. 그리고 표준糖용액을 측정했을 때와 같은 방법으로 thin-layer chromatography를 행하였다. 그 다음 표준糖용액의 Rf 값을 비교하여 少糖類를 확인하고 分解되어 나온 단당류를 확인하였다.

### 결과 및 고찰

#### 酵素剤의 α-galactosidase activity

국내에서 생산, 판매되는 몇 가지 酵素剤를 試料로 하여 合成基質인 p-nitrophenyl-α-D-galactoside를 사용하여 酵素力價를 비교한 결과는 Table 1과 같다.

실험한 酵素剤 중 *Aspergillus niger*에서 얻은 pectinase제제는 α-galactosidase의 力價가 가장 높았다. 酵素의 작용 조건으로는 大豆食品中 豆乳를 만들 때의 利用可能性을 감안하여 pH 6.5에서의 力價를 비교하였으며 실험의 편의상 合成基質을 사용하였다. 따라서 실험한 여러가지 중 酵素力價가 가장 높았던 *Aspergillus niger*에서 얻은 酵素剤를 선정하여 다음의 실험을 계속 하였다.

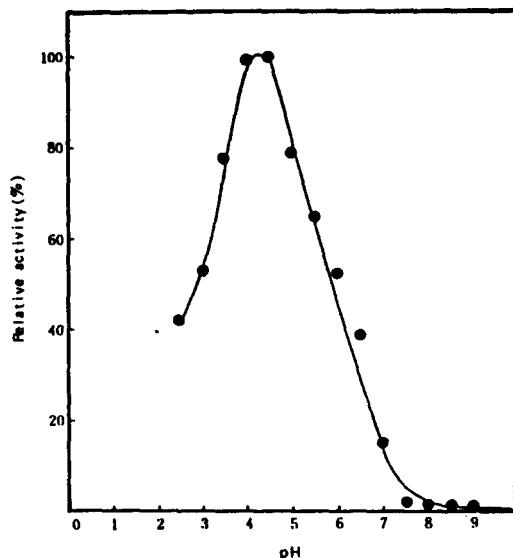


Fig. 1. pH-activity curve of α-galactosidase from *Aspergillus niger*.

pH 2.5-7.0: McIlvaine buffer  
pH 7.5-9.0: Tris-HCl buffer

#### 酵素剤의 酵素的 特性

##### 1) pH-activity 관계

酵素반응액의 pH를 2~9사이에서 변화시켜 α-galactosidase 力價를 측정, 비교한 결과는 Fig. 1과 같다. 효소반응의 最適 pH는 비교적 예민하여 4.0~4.5로 판정되었고 pH 6.5에서는 최고力價의 40%에 불과하였다.

##### 2) pH-stability 관계

酵素剤의 安定度에 미치는 pH의 영향을 보기 위하여 두가지 조건하에서 실험을 수행하였다. 하나는 酵素剤의 使用條件를 감안하여 酵素用액을 pH 2~9의 범위에서 0.01M buffer 중에 55°C에서 20分간 보관한 후 측정조건인 pH 6.5로 환원시킨 다음 곧 酵素力價를 측정하였다. 그 결과는 Fig. 2와 같다. 酵素剤의 安定度 범

Table 1. α-Galactosidase activity of commercial enzymes

Enzyme	Microbial source	Enzyme activity* (unit/g)
Bacterial α-amylase	<i>Bacillus subtilis</i>	1.8
Fungal α-amylase	<i>Aspergillus oryzae</i>	23.0
Fungal cellulase	<i>Trichoderma viride</i>	7.0
· ugal glucoamylase	<i>Aspergillus usamii</i>	82.5
Pectinase	<i>Aspergillus niger</i>	237.5
Protease	<i>Bacillus subtilis</i>	2.8

\* α-Galactosidase activity expressed as the ability to hydrolyze p-nitrophenyl-α-D-galactoside at 40°C and pH 6.5.

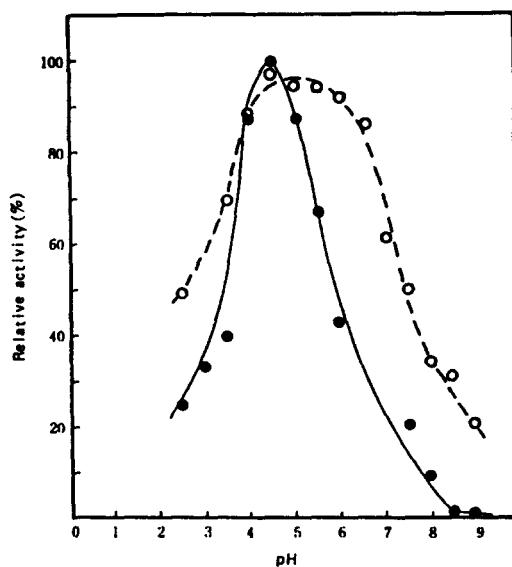


Fig. 2. pH-stability curves of  $\alpha$ -galactosidase from *Aspergillus niger*

Enzyme solution in 0.01M buffer was preincubated at 55°C for 20 minutes (●-●) or 5°C for 96 hours (○-○) and its activity was assayed at pH 6.5.

위는 매우 좁아 pH4~5에서 가장 안정되었으나 이 범위를 벗어나면 그活性이 급격하게 떨어졌다. 특히 pH6.5에서는 실험조건 하에서 그活性이 35%로 떨어졌는 바 豆乳처리에 이용할 때는 이 점을 신중하게 재검토해야 할 것이다.

다른 하나는 酶素剤의 저장조건을 감안하여 酶素용액을 pH2~9의 범위에서 0.01M buffer 중에 5°C에서 96시간동안(4일간) 보관한 후 측정조건인 pH6.5로 환원시킨 다음 곧 酶素力價를 측정하였다. 그 결과는 Fig. 2와 같다. 이러한條件下에서 酶素剤의 安定度 범위는 pH4~6.5로 최고역가의 80%를 유지하였다. 따라서 酶素剤를 조제한 후 냉장고에 보관할 때 4日간은 酶素力價의 큰 손실없이 그대로 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

### 3) Temperature-activity 관계

酶素剤의 作用과 安定度에 미치는 온도의 영향을 보기 위하여 酶素剤용액을 10~80°C의 온도 범위에서 15分간 반응시킨 후 酶素分解산물의 농도를 측정하였다. 그 결과는 Fig. 3과 같다. 반응온도가 45°C까지는 온도가 올라갈수록 酶素반응이 더 촉진되었으나 그보다 높은 온도에서는 酶素力價가 급격히 떨어졌다. 따라서 본 酶素剤를 사용할 때는 50°C를 넘지 않는 온도 범위에서 作用시켜야 될 것으로 생각된다.

### 4) 基質농도의 영향

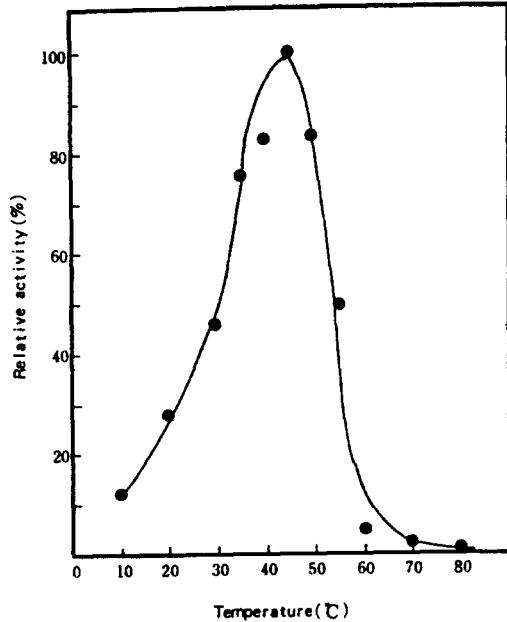


Fig. 3. Temperature-activity curve of  $\alpha$ -galactosidase from *Aspergillus niger*

Enzyme solution was incubated at the indicated temperature for 15 minutes and determined for its activity at 40°C.

酶素반응에 미치는 基質농도의 영향을 보기 위하여 合成基質인 p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-galactoside의 농도를 5가지로 달리하여 Michaelis constant와 maximum velocity를 구하였다. 그 결과는 Fig. 4와 같다. 여기에서 얻

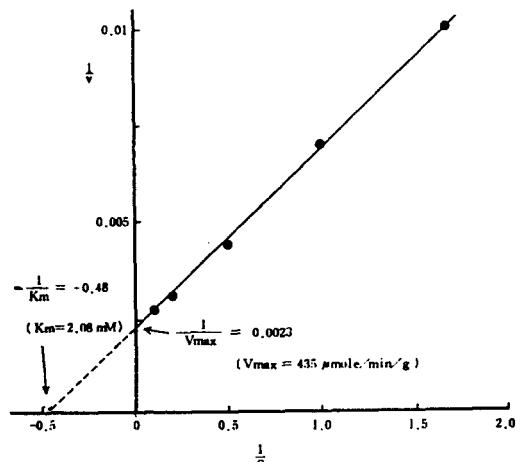


Fig. 4. Lineweaver-Burk plot of  $\alpha$ -galactosidase toward p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-galactoside  
s: mM; v:  $\mu\text{mole substrate}/\text{minute}/\text{g enzyme}$

어느  $K_m$ 값은  $2.08 \text{ mM}^{\circ}$ 이고  $V_{max}$ 는  $435 \mu\text{mole substrate/min/g enzyme preparation}$ 으로서  $p$ -nitrophenyl- $\alpha$ -D-galactoside에 대한 酶素親和力은 매우 높은 것으로 판단되었다. 그러나 본 연구에 사용한  $\alpha$ -galactosidase가 天然基質에 대해서는 어떻게 作用할 것인지 追試되어야 할 것이다.

### 5) 阻害劑의 영향

酶素반응에 미치는 여러가지 阻害劑의 영향을 보기 위하여 酶素반응에 지정된 농도로 阻害劑를 넣고 酶素力値를 측정한 결과는 Table 2와 같다.

무기물중에서  $\text{Ag}^{+}$ ,  $\text{Hg}^{++}$ 는  $\alpha$ -galactosidase의活性을 크게 억제하였는데 이들은 酶素蛋白質의 변성을 일으켰기 때문으로 생각된다. 따라서 大豆제품의酶素처리시 이들 금속이온에 의해 오염되지 않도록 주의해야 될 것이다.

유기물중에서는 p-chloromercuribenzoate가 강력한 阻害作用을 보였는바 이는  $\alpha$ -galactosidase가 SH 기

를 필요로 하는 酶素蛋白質임을 말해주는 것이라 할 수 있다. 이러한 결과는 *Aspergillus saitoi*에서 얻은  $\alpha$ -galactosidase에서도 나타났다.<sup>(10)</sup> 糖類中에서는 galactose가 약간의 阻害作用을 보였는 데 이것은  $\alpha$ -galactosidase에 대한 product inhibition의 결과로 보아야 될 것이다.

### 少糖類의 加水分解 限度

선정된 阻害劑를 合成基質인 p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-galactoside에 작용시켜 加水分解 限度를 추적한 결과는 Fig. 5와 같다. 주어진 반응조건에서 基質은 2시간만에 거의 완전하게 加水分解되었다.

한편, 酶素剤를 天然基質인 raffinose에 대하여 3 mM基質농도에서 作用시킨 결과는 Fig. 6과 같다. 이 때 加水分解率은 生成된 還元糖을 galactose當量으로 표현하여 계산하였다. Raffinose의 分解率은 3시간만에 거의 限界值에 도달했으며 理論值의 95%까지 加水

Table 2. Effect of inhibitors on  $\alpha$ -galactosidase activity from *Aspergillus niger*

Inhibitor	Final concentration (M)	Relative activity (%)
None	—	100.0
KCN	$1 \times 10^{-3}$	88.9
EDTA	$1 \times 10^{-3}$	98.2
8-Hydroxyquinoline	$1 \times 10^{-3}$	113.5
Cysteine	$1 \times 10^{-3}$	106.1
p-Chloromercuribenzoate	$2 \times 10^{-5}$	5.9
Iodine	$5 \times 10^{-4}$	0.7
Sodium pyrophosphate	$4 \times 10^{-2}$	17.2
Sodium citrate	$1 \times 10^{-2}$	81.1
Metal ions		
KCl	$1 \times 10^{-3}$	96.5
MgCl <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-3}$	100.0
CaCl <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-3}$	98.8
AnCl <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-3}$	93.9
FeCl <sub>3</sub>	$1 \times 10^{-3}$	109.8
CuCl <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-3}$	100.7
AgNO <sub>3</sub>	$1 \times 10^{-3}$	5.3
HgCl <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-3}$	1.3
Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-3}$	118.4
Sugars		
D-Glucose	$1 \times 10^{-2}$	90.4
D-Galactose	$1 \times 10^{-2}$	70.4
D-Fructose	$1 \times 10^{-2}$	99.4
Sucrose	$1 \times 10^{-2}$	86.9

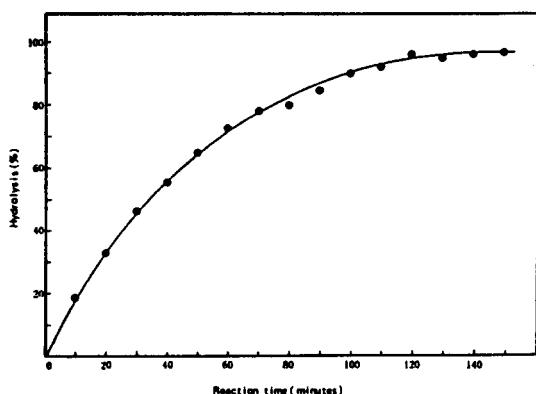


Fig. 5. Progress curve of hydrolysis of p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-galactoside by  $\alpha$ -galactosidase from *Aspergillus niger*

分解되었다. 이러한 加水分解率은 먼저  $\alpha$ -galactosidase活性에 의하여 raffinose로 부터 galactose와 sucrose가 생성된 다음 sucrase에 의하여 glucose와 fructose로 완전하게 가수분해되기 때문인 것으로 생각된다.

본 실험에 사용된 효소제중에는 sucrase活性이 共存할 것으로 생각되어 sucrose를 基質로 하여 加水分解시킨 결과 2시간만에 완전히 加水分解되었다. 加水分解곡선으로 보아 sucrose의 加水分解는 raffinose의 加水分解 속도

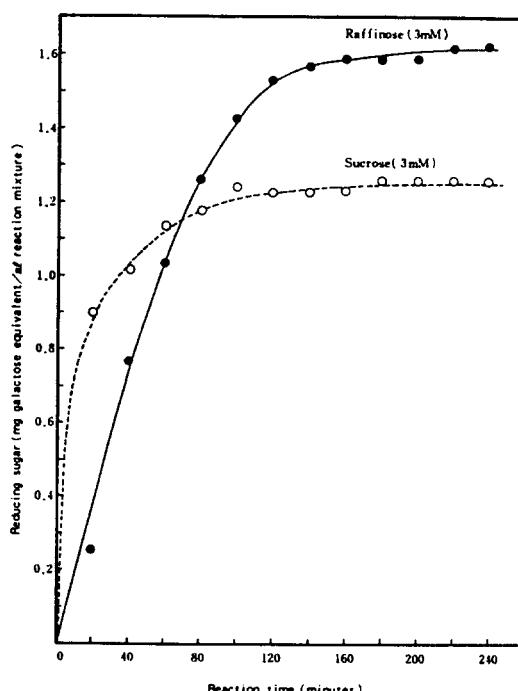
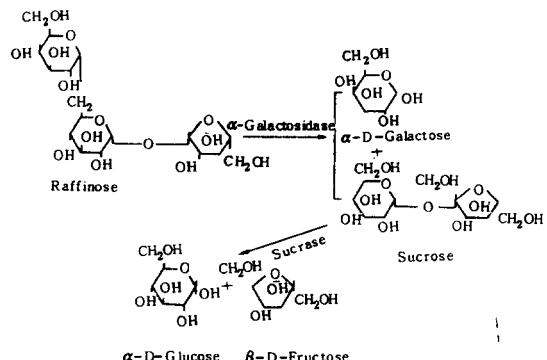


Fig. 6. Progress curves of hydrolysis of raffinose and sucrose by  $\alpha$ -galactosidase from *Aspergillus niger*

보다 더 빠른 것으로 나타났다. 그러나 sucrase는 raffinose 분자에는 직접作用하지 못하는 것 같고  $\alpha$ -galactosidase에 의하여 galactose 잔기가 제거된 다음에 비로소作用하게 되는 것으로 판단된다. 이러한 결론은 反應의 진행에 따라 生成되는 加水分解 산물의組成을 확인함으로서 내릴 수 있을 것이다.



#### 少糖類의 分解산물

각종 표준 糖類의 단일 용액과 혼합용액을 TLC plate 위에 spotting 한 후 butanol-pyridine-water로 전개시키고 diphenylamine-anil-ine-phosphoric acid로 발색시킨 결과 각종 糖類의 Rf 값과 spot 색깔은 Table 3과 같다.

\* Stachyose와 raffinose를 각각  $\alpha$ -galactosidase酶素용액으로 반응시킨 후 그 분해산물을 TLC에 의하여 분석한 결과는 Fig 7,8과 같다. Fig. 7을 보면 stachyose의 경우 반응 30분이 지나면 galactose만이 형성된 것을 볼 수 있는데 이는 酶素劑에 들어 있는  $\alpha$ -galactose가 차례로 떨어졌다고 볼 수 있다. 그리고 생성물로 예상되는 sucrose, raffinose는 너무 미량이기 때문에 TLC에서 검출되지 않은 것으로 생각된다. 반응 60분후에는 다량의 galactose와 소량의 sucrose가 검출되었다. Fructose도 sucrose와 비슷한 Rf 값

Table 3. R<sub>f</sub> values and colors of sugar spots in thin-layer chromatography

Sugar	R <sub>f</sub> value	Color
Fructose	0.50	Light red
Glucose	0.54	Blue grey
Galactose	0.46	Blue grey
Melibiose	0.33	Blue
Sucrose	0.49	Lilac
Raffinose	0.28	Violet
Stachyose	0.10	Violet

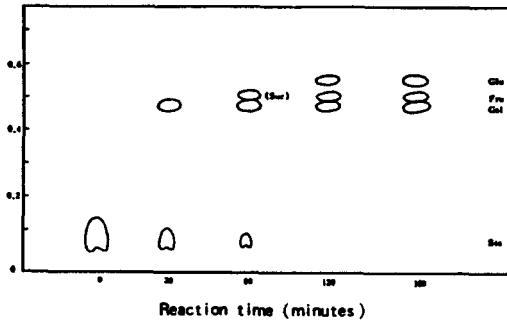


Fig. 7. Thin-layer chromatogram of hydrolysates of pure stachyose during enzyme treatment

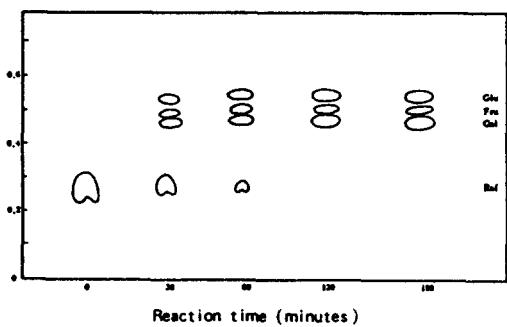


Fig. 8. Thin-layer chromatogram of hydrolysates of pure raffinose during enzyme treatment

을 보이지만 sucrase에 의해 fructose가 생성되었다면 같은 농도의 glucose가 동시에 생성되어야 한다. 그러나 glucose가 검출되지 않았으므로 이 spot는 sucrose로 간주된다. 반응 120分 후에는 stachyose가 없어지고 높은 농도의 galactose와 비슷한 농도의 glucose와 fructose가 검출되었다. 결국 stachyose分子에서 두개의 galactose가 완전히 分解되어 나오고, 생성된 sucrose分子에  $\beta$ -fructofuranosidase인 sucrase가作用하여 glucose와 fructose가 生成될을 볼 수 있었다. 즉 반응시간 120分이 지나면 stachyose는 거의 100% 加水分解되어 단당류만을 生成함을 알 수 있으며 本 실험에 사용한 酶素剤는  $\alpha$ -galactosidase 결합에 먼저 作用하고 sucrase 作用은 후에 나타남을 볼 수 있었다.

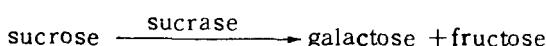
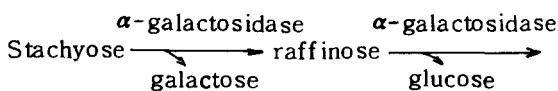


Fig. 8을 보면 raffinose의 경우  $\alpha$ -galactosidase에 의해 galactose가 분리되자마자 곧 sucrase가 作用하므로 반응 30分 후에도 stachyose와는 달리 galactose, fructose와 glucose가 동시에 거의 비슷한 농도로 형성됨을 볼 수 있었다. 120分후에는 raffinose가 거의 100% 加水分解되어 단당류만이 검출됨을 알 수 있었다.

이상의 실험결과로 미루어 보아 大豆로 부터 豆乳를 만들 때, 酶素剤를 사용하면 腸內 가스發生因子로 알려진 raffinose와 stachyose를 거의 완전하게 除去할 수 있을 것이다. 그러나 豆乳의 제조과정중 酶素剤 처리의 실용화를 위해서는 더 많은 연구가 계속 되어야 할 것이다.

## 要 約

大豆中에 존재하는 腸內 가스發生因子(flatulence factor)인 raffinose와 stachyose의 除去에 酶素剤를 이용하기 위한 기초연구로서, 市販酶素剤에 대한  $\alpha$ -galactosidase의 活性度를 비교하고 그의 酶素的特性을 조사하였다. 市販되는 6종의 酶素剤중 Aspergillus niger에서 얻은 pectinase 제제가 가장 강력하였다.

선정된 酶素剤의 特性을 조사한 결과 作用最適 pH는 4.0~4.5, 安定度最適 pH는 4~5, 作用最適 온도는 45°C였다. 合成基質인 p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-galactoside에 대한 Michaelis constant(Km)는 2.08 mM, 最大反應速度(Vmax)는 435  $\mu$ moles substrate/minute/g enzyme preparation 이었으며 阻害剤의 실험 결과 SH基를 필수로 하는 酶素로 밝혀졌다. 本酶素剤는 3가지 基質인 raffinose, sucrose, p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-galactoside를 거의 완전하게 加水分解하였으며, raffinose와 stachyose의 分解과정을 thin-layer chromatography로 조사한 결과 단당류의 spot만이 나타났다. 따라서 大豆食品중의 腸內 가스發生因子는  $\alpha$ -galactosidase 力値를 가지는 酶素剤의 이용에 의하여 쉽게 제거될 수 있을 것이다.

## 감사의 말

본 연구의 일부는 1985년도 農業產學協同基金의 支援을 받아 이루어졌으므로 이에 깊은 謝意를 표하는 바이다. 酶素剤를 分양 해 주신 太平洋化學工業(株) 徐恒源 理事에게 감사한다.

## 文 献

1. Liener, I.E.: *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*, Academic Press, New York, Chapters 2-3 (1980).
2. 강명희, 김용화, 이서래 : 한국식품과학회지, 16, 358(1980)
3. Maga, J.A.: *J. Agr. Food Chem.*, 30, 1 (1982)
4. deBoland, A.R., Garner, G.B. and O'Dell, B.L.: *J. Agr. Food Chem.*, 23, 1186 (1975)
5. Rockland, L.B., Gardiner, B.L. and Pieczarka, D.: *J. Food Sci.*, 34, 411 (1969)
6. Steggerda, F.R., Richards, E.A. and Rakis, J.J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 121, 1235 (1966)
7. Rakis, J.J., Sessa, D.J. and Honing, D.H.: *Proc. International Conference on Soybean Protein Foods*, Peoria, Ill., May 1967, ARs 71-35, USDA, p.104 (1967)
8. Rakis, J.J., Honing, D.H., Sessa, D.J. and Stegger, F.R.: *J. Agr. Food Chem.*, 18, 977 (1970)
9. Rakis, J.J., Sessa, D.J., Steggerda, F.R., Shimizu, T., Anderson, J. and Pearl, S.L.: *J. Food Sci.*, 35, 634 (1970)
10. Sugimoto, H. and Van Buren, J.P.: *J. Food Sci.*, 35, 655 (1970)
11. Mital, B.K. and Steinkraus, K.H.: *J. Food Sci.*, 41, 114 (1975)
12. Smiley, K.L., Hensley, D.E. and Gasdorf, H.J.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 31, 615 (1976).
13. Cruz, R., Batistela, J.C. and Wosiacki, G.: *J. Food Sci.*, 46, 1196 (1981)
14. 김우정 : 식품과학, 17(2), 4(1984)
15. Omosaiye, O., Cheryan, M. and Mathews, M.E.: *J. Food Sci.*, 43, 354 (1978)
16. Michal, G: *Methods of Enzymatic Analysis*, 1, 144 (1974)
17. Somogyi, M.: *J. Biol. Chem.*, 195, 19 (1952)
18. Lewis, B.A. and Smith, F.: *Thin-Layer Chromatography*, Springer-Verlag, New York, p.807 (1954)
19. Kirchner, J.G.: *Thin-Layer Chromatography*, Wiley & Sons, New York, Chapter 19 (1978)

(1986년 7 월24일접수)