

식혜의 이소말토올리고당에 관한 연구 (Ⅱ) —효소적 분석—

안 용 근

大阪市立大學 理學部 生物學科 酵素化學研究室
日本國 558 大阪市 住吉區 杉本 3-3-138

A Study on Sugars in Korean Sweet Rice Drink "Sikhye" (Ⅱ) —Enzymatic Analysis of Isomaltooligosaccharides and Rice Residue—

Yong-Geun Ann

Laboratory of Enzyme Chemistry, Department of Biology, Faculty of Science, Osaka City University,
Sugimoto 3-3-138, Sumiyoshi, Osaka, 558, Japan

Abstract

Isomaltooligosaccharides in Sikhye were digested with enzyme (30unit/ml) of α -amylase, α -glucosidase and glucoamylase from *Aspergillus awamori*, sweet potato β -amylase and human salivary α -amylase at 37°C for 1 hour, respectively. These amylases acted on these saccharides to give hydrolysis products with less than 20% of degree of hydrolysis, except the case of glucoamylase with 62% of high degree of hydrolysis. α -Glucosidase plus human salivary α -amylase hydrolyzed it to attain the hydrolysis value up to 25%, but further increment of hydrolysis was not observed. Rice residue in Sikhye has similar sugar composition and structure, judging from sugar analyses by the enzymatic hydrolysis. These results suggest that isomaltooligosaccharides and rice residue in Sikhye can be a growth factor for *Bifidobacterium* and dietary fiber which is useful for human health.

Key words : Sikhye, isomaltooligosaccharide, rice residue, *Bifidobacterium* factor, dietary fiber.

서 론

본 연구자는 전보¹⁾에서 식혜의 한계덱스트린을 분리 정제, 구조를 분석하여 이소말토올리고당으로 밝혔다.

올리고당은 이의 항부식성, 유산균인 비피두스균의 증식활성인자, 변성개선, 정장작용, 장내 부패산물의 생성억제, 저칼로리, 콜레스테롤 함량 억제, 혈당조절, 면역촉진 활성, 칼슘흡수 촉진 작용을 하는 것으로 알려져 있다²⁾. 전분에서 생성되는 당으로는 이소말토오스, 이소말토트리오스, 판노오스 등의 α -1,6-글루코시드 결합을 갖는 이소말토올리고당이 그런 작용을 한다³⁾.

식혜는 엿기름의 α -아밀라아제 및 β -아밀라아제의 작용으로 만들어진다. β -아밀라아제는 전분의 비환원성 말단에서 α -1,4-글루코시드 결합을 차례로 가수분해하여 주로 말토오스를 생산한다. 그러나, α -1,6-글루코시드의 가지결합은 가수분해하지 못하여 β -한계덱스트린

을 생산한다⁴⁾. α -아밀라아제는 말토올리고당과 이소말토올리고당을 생산한다⁵⁾. 식혜는 이같이 엿기름의 α -아밀라아제와 β -아밀라아제의 작용으로 주생산물인 말토오스 외에 α -1,6-결합을 많이 갖는 이소말토올리고당을 생성한다. β -아밀라아제 단독의 작용으로 생성되는 한계덱스트린은 분자량이 매우 크고 α -아밀라아제나 α -글루코시다아제가 상당히 가수분해한다. 그러나, 본 연구자는 전보에서 식혜에서는 글루코오스 6잔기마다 α -1,6-결사슬이 하나씩 함유된 이소말토올리고당이 생성된다는 사실을 밝혔다¹⁾. 이것은 소화되기 힘들어서 소장을 지나 대장에서 비피두스균의 활성인자로 작용하게 된다³⁾.

본 연구는 전보에서 구조가 확인된 식혜의 이소말토올리고당과 밥알에 여러 아밀라아제를 작용시켜 소화성을 분석하여, 인체에서 비피두스균의 활성인자로 작용할 가능성을 밝힌 결과이다.

재료 및 방법

1. 효 소

α -Amylase, α -glucosidase 및 glucoamylase는 *Aspergillus awamori*의 효소를 사용하였고, 고구마 β -amylase는 본 연구자의 방법⁶⁾에 따라 조제하였으며, 타액 α -amylase는 본 연구자의 타액을 사용하였다. Pullulanase는 Enzyme CK-20L(天野製藥)을 사용하였다. 이들 아밀라아제는 다음 방법으로 활성을 측정하여 30unit/ml 농도로 사용하였다.

2. 활성 측정

아밀라아제는 0.5M 아세트산 완충액(pH 5.5)에 희석하였다. 호화 가용성 전분 기질은 같은 완충액을 사용하여 2%로 조제하였다. 이같이 조제한 효소액 0.5ml에 기질액 0.5ml를 가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 다음 생성된 환원당을 Somogyi-Nelson법⁷⁾으로 비색정량하였다. 즉, 시료에 Somogyi-Nelson A시약 1ml를 가하여 100°C에서 10분간 가열한 다음 B시약 1ml를 가하고 증류수로 10ml로 채워 500nm에서 비색정량하였다. 표준당으로서는 포도당을 사용하였다. 1unit는 1분간에 1 μ mol의 포도당을 생성하는 양으로 정하였다.

3. 식혜, 이소말토올리고당 및 밥알의 조제

전보의 방법⁸⁾에 따라 조제하였다.

4. 이소말토올리고당과 밥알의 아밀라아제 가수분해

0.05M 아세트산 완충액(pH 5.5)으로 조제한 2%짜리 이소말토올리고당과 밥알 기질 0.5ml에 30unit/ml의 효소액 0.5ml를 가하여 37°C에서 1시간 반응시킨 후 100°C에서 3분간 가열하여 효소를 실활시켰다. 다음, 원심분리하여 침전을 제거하고 상정액을 TLC 및 HPLC 분석하였다. Pullulanase는 1/10로 희석하여 사용한 것만 다르다.

5. HPLC 및 TLC

전보¹⁾와 동일한 방법으로 분석하였다.

6. 밥알의 염산 가수분해 및 α -amylase와 glucoamylase에 의한 가수분해

염산 가수분해는 밥알 분말 2% 현탁액에 1N 염산을 가해 환류 냉각관을 부착하여 100°C에서 2시간 가수분해한 다음 NaOH로 중화하여 pH 5.5로 맞추었다. 효소가수분해용 기질은 밥알 200mg에 0.1N NaOH를 3ml 가해 100°C에서 3분간 가열하여 녹인 다음 0.1N

HCl로 pH 5.5로 조절하고, 30unit/ml의 α -아밀라아제와 글루코아밀라아제를 3ml씩 가하고, 나머지를 물로 채워 37°C에서 24시간 가수분해하였다.

결 과

1. 이소말토올리고당

식혜의 이소말토올리고당과 밥알을 아밀라아제로 가수분해하여 Fig. 1 및 2의 결과를 얻었다. 글루코아밀라아제는 α -1,4-글루코시드 결합과 α -1,6-글루코시드 결합을 모두 가수분해하기 때문에 이소말토올리고당을 62% 이상 가수분해하였으나 나머지 효소는 가수분해율이 매우 낮다.

α -글루코시다아제와 글루코아밀라아제는 글루코오스를, β -아밀라아제는 말토오스를, 타액 α -아밀라아제는 말토오스와 말토트리오스를 생성하였으나 글루코아밀라아제 외에는 가수분해율이 매우 낮고, 시간을 연장하거나 효소량을 늘여도 가수분해율은 증가하지 않았다. 타액 α -아밀라아제와 β -아밀라아제가 밥알과 이소말토올리고당을 더 이상 가수분해시키지 못한 것은 옛기름의 α -아밀라아제와 β -아밀라아제가 더 이상 가수분해될 수 없는 한계까지 가수분해한 것이기 때문이다.

사람은 α -아밀라아제의 작용과 α -글루코시다아제의 작용으로 전분을 소화하여 섭취한다. 사람 타액 α -아밀라아제는 이소말토올리고당을 14%, α -글루코시다아제는 10% 가수분해하였다. 사람의 소화성을 알아보기 위해 α -아밀라아제와 α -글루코시다아제를 같은 양 혼합하

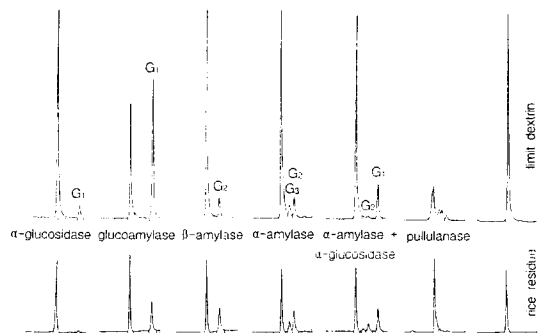


Fig. 1. Hydrolysis of isomaltooligosaccharides and rice residue from Sikhye by amylases. Reaction mixture contained 30units of each amylase, 2% of isomaltooligosaccharides and rice residue from Sikhye in 1ml of 0.5M acetate buffer (pH 5.5). The reaction mixtures were incubated at 37°C for 1 hour and heated 3min at 100°C. 25 μ l aliquot of the supernatant after centrifugation was applied on HPLC.



Fig. 2. Hydrolysis of isomaltooligosaccharides and rice residue from Sikhye by amylases. Reaction conditions were the same as in Fig. 1.

1. *Aspergillus awamori* α -amylase ; 2. *Aspergillus awamori* α -glucosidase ; 3. *Aspergillus awamori* glucoamylase ; 4. sweet potato β -amylase ; 5. human salivary α -amylase ; 6. *Aspergillus awamori* α -glucosidase + human salivary α -amylase ; 7. pullulanase ; M, marker.

여 작용시킨 결과에서는 25%의 가수분해율을 나타냈다. 이것은 이들 효소를 각각 작용시켰을 경우의 가수분해율을 합한 결과로, 더 이상 가수분해되지 않았다. 이것은 식체의 이소말토올리고당이 사람의 타액과, 췌장의 α -아밀라아제, 소장의 α -글루코시다아제의 작용으로도 가수분해되기 힘든 것을 나타내는 결과이다. 실험에 사용된 30unit /ml이라는 효소활성은 매우 강한 것으로, 이런 조건에서도 가수분해되지 않은 것은 소장을 통과할 때까지 가수분해되지 않고, 대장에서 비피두스균의 영양원으로 이용되는 것을 의미한다.

의학 분야에서는 전분은 타액과 췌장의 α -아밀라아제와 소장의 글루코아밀라아제의 작용으로 α -1,6-결합도 모두 가수분해되어 소장에서 글루코오스로 흡수가 완료되는 것으로 잘못 알려진 경우^{9,10)}도 있으나 사람에게는 글루코아밀라아제가 존재하지 않고 α -글루코시다아제가 존재하는 것으로 밝혀져 있다¹¹⁾.

α -글루코시다아제는 글루코아밀라아제와 달리 α -1,6-결합은 가수분해하기 힘들기 때문에 α -1,6-결합을 가지는 이소말토오스, 이소말토트리오스, 판노오스 등의 이소말토올리고당은 소장에서 가수분해되지 않고 대장까지 가서 비피두스균의 영양원으로 이용된다³⁾. 그래서 일본 건강, 영양식품협회는 α -1,6-결합을 갖는 이소말토올리고당을 특정 보건용 식품에 관여하는 성분으로 평가하고 있다²⁾. 그리고, α -글루코시다아제는 α -1,6-결합을 가수분해하기는 하지만 가수분해율이 매우 낮아서 α -1,6-결합에 이르면 작용이 멈추기 때문에 이를 이용하여 α -1,6-결합을 갖는 이소말토오스, 이소말토

트리오스, 판노오스 등을 생산하기도 한다¹²⁾.

2. 밥 알

밥알도 아밀라아제 가수분해 결과 이소말토올리고당과 거의 같은 결과를 나타냈다. 이것은 밥알에 남아 있는 33.4%의 당도 역시 이소말토올리고당과 같이 α -1,6-결합을 많이 함유한 구조를 갖고 있는 것을 의미한다. 그러나 이소말토올리고당보다 가수분해율이 약간 더 높기 때문에 α -1,6-결합율은 이소말토올리고당보다 낮은 것으로 보인다. 그러나 밥알의 당의 용해도는 매우 낮기 때문에 NMR 분석은 하지 못하여 정확한 값은 밝히지 못하였다. 밥알의 효소 가수분해 후의 덱스트린 함량과 당함량이 대조구보다 높아진 것은 효소가 당을 가용화시켰기 때문이다.

그러나, 인체 내에서는 밥알에 남아 있는 당이 한계 덱스트린의 이소말토올리고당보다 더 소화되기 어려울 것으로 보인다. 그것은, 밥알의 당이 단백질 및 다른 성

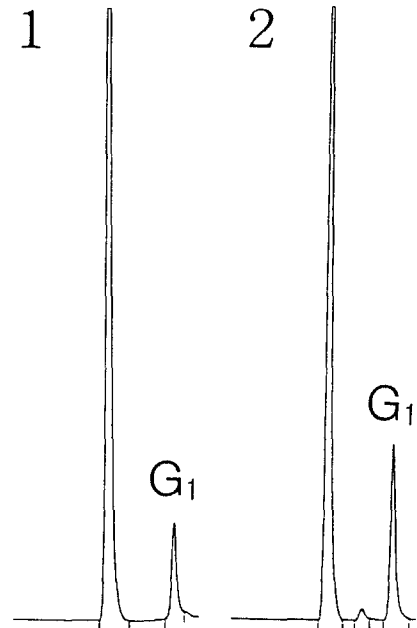


Fig. 3. Hydrolysis of rice residue from Sikhye by HCl and *Aspergillus awamori* α -amylase plus glucoamylase.

1. Reaction mixture contained 2% Sikhye rice residue and 1N HCl in 10ml (heated 100°C, 2 hour).
2. Reaction mixture contained 2% of Sikhye rice residue and 30units of α -amylase and glucoamylase from *Aspergillus awamori* in 0.05M acetate buffer (pH 5.5) in 10ml (37°C, 24 hour).

분과 엉겨 있어서 아밀라아제가 작용하기 힘들고, 밥알이 붙어 거의 녹지 않기 때문이다. 본 실험에서는 밥알을 분쇄하고 0.1N NaOH를 가해 100℃에서 가열하여 녹였다. 그리고, 2시간 염산 가수분해와, α -아밀라아제와 글루코아밀라아제에 의한 24시간 가수분해 결과도 한계덱스트린이 가용화되는 데 그쳤을 뿐 가수분해율은 높지 않았다(Fig. 3). 이같이 거의 녹지도 않고 가수분해되기도 힘들기 때문에 인체에서는 식이섬유로 작용할 가능성이 크다.

식이섬유는 [사람의 소화효소로는 분해되지 않는 음식물 중의 모든 성분]으로, 보수성(保水性), 겔 형성력, 양이온 결합이나 교환작용, 유기화합물 흡착력 등의 작용으로 장내 유용균의 증식 촉진, 소화관 작용 활성화, 변용적의 증가, 내용물의 소화관 통과시간 단축(변비 예방), 장내압이나 장압의 저하, 식사성분의 소화흡수 지연(비만 예방), 장관을 순환하는 담즙산의 감소(지방산 흡수 지연에 의한 비만 예방, 혈중 콜레스테롤 감소), 당뇨병 환자의 혈당감소 작용을 하는 것으로 알려져 있다^{2,13)}.

고 찰

이상의 결과는 식체의 이소말토올리고당과 밥알이 비피두스균의 활성인자 및 식이섬유로 작용할 수 있는 가능성을 강하게 시사하고 있다. 그리고, 소화되기 어렵기 때문에 비만방지도 효과 있다.

대장에는 여러 혐기성균이 살고 있다. 생후 4~5일이 되면 비피두스균이 가장 많아지며 젊고 건강할수록 비피두스균이 가장 많다. 노인이 되면 비피두스균이 줄고 부패균이 많아져서 암모니아, 아민, 인돌, 황화수소 등의 부패물이 다량 발생한다. 그래서 설사, 변비 등의 위장장애와, 암이나 고혈압 등의 성인병을 유발하고, 노화를 촉진시킨다. 그러므로 비피두스균 수를 늘여서 그런 유해균을 억제하는 것이 건강과 장수에 유효하다고 한다. 비피두스균은 병원균에 의한 장관 감염이나 식중독의 예방, 장내 부패산물의 억제, 변비 개선, 설사 방지, 비타민 생성, 간기능 개선, 발암물질 억제 등의 효과가 있다고 한다. 칼슘 섭취 부족은 골소공증, 동맥경화, 고혈압, 당뇨병 등의 성인병의 원인이 되지만 비피두스균은 초산과 유산을 생성하여 칼슘의 용해도가 높은 산성 pH를 만들어 주어 칼슘 섭취율을 높이고, 생성된 산이 장의 운동을 활발하게 하여 변성을 개선한다고 한다^{2,12)}.

사람에게는 글루코아밀라아제가 존재하지 않고, 대신 α -글루코시다아제가 존재한다¹¹⁾. α -글루코시다아제

는 α -1,6-결합을 가수분해하기 어렵고, 장관속에 살고 있는 미생물이 글루코아밀라아제를 분비하지도 않기 때문에 α -1,6-결합을 갖는 식체의 이소말토올리고당은 소화되기 힘들어서 대장까지 가서 비피두스균의 활성인자로 작용하게 된다. 부패성 균은 올리고당을 이용하지 못하고 비피두스균만 이용하여 왕성하게 자란다. 비피두스균은 산을 생성하여 장내 부패균의 증식을 억제한다.

식체에 함유된 이소말토올리고당은 5.31%이다. 밥알에 함유된 것까지 합하면 약 6.5%로, α -1,6-결합이 많기 때문에 인체의 효소로는 가수분해되기 힘들어서 비피두스균의 활성인자로 작용하게 된다. 물론 직접적인 증명은 인체를 대상으로 더 연구해야 한다. 이들 비피두스 활성인자의 효과는 널리 알려져 있기 때문에 식품마다 비피두스 활성인자인 올리고당을 첨가하였다고 선전하고 있으나 올리고당은 비싸서 다량 첨가할 수 없다. 그래서 얼마나 첨가하였는지 표기하지 않는 것이 많으며, 식체와 같이 6.5%나 함유한 것은 거의 없다. 결국, 식체는 올리고당의 보고인 것이다.

전통식체의 주성분인 말토오스도 여러가지 효능이 있다. 그 중 하나는 충치 예방이다. 충치균 *Streptococcus mutans*는 설탕을 이용하여 충치의 원인인 불용성 글루칸을 생산한다. 그러나 말토오스에서는 설탕의 28% 밖에 생산하지 않는다²⁾.

식체는 엿기름을 사용하므로 엿기름이 갖는 여러 유효 성분이 함유되어 있다.

엿기름을 더 발아시킨 녹맥아는 당질, 단백질, 지방질을 풍부하게 갖고 있다. 그외에 칼슘은 우유와 시금치의 11배, 칼륨은 우유의 55.5배 및 시금치의 18배, 마그네슘은 우유의 16배 및 시금치의 3.8배, 철은 우유의 158배 및 시금치의 4.8배, 구리는 우유의 68배 및 시금치의 5.2배를 갖고 있다고 한다. 그래서 알칼리도는 우유, 꿀, 상치, 토마토, 양배추의 평균값보다 17.6배나 높다. 비타민 B₁은 우유의 30배, 사과 129배 및 시금치의 10.8배, 비타민 C는 우유의 164.4배, 사과 65.8배 및 시금치의 3.3배, 카로틴(비타민 A)은 우유의 2,600배, 사과 115.6배 및 시금치의 6.5배나 함유하고 있다고 한다¹⁴⁾.

이들 성분과 기타 유효 성분의 작용으로 피로회복, 염증, 알레르기성 피부염, 천식, 습진, 비만, 피부미용, 빈혈, 장력감퇴, 근시, 충치, 출산, 변비, 요통, 당뇨병, 혈압 이상, 심장질환, 심근경색, 위염, 위궤양, 신장병, 간경변, 간장질환, 췌장염, 노이로제, 암 억제 등에 효과가 있다고 한다¹⁴⁾. 이들 효과는 과장된 면도 있고, 섭취량과 대상, 조건에 따라 다르겠지만 식체도 엿기름을 주성분으로 하기 때문에 어느 정도는 효과가 있다고 볼

수 있다.

이상과 같이 전통식혜는 주성분인 말토오스 외에 비피두스 활성인자인 이소말토올리고당, 식이섬유인 밥알, 엿기름의 유효성분이 함유된 우수한 식품으로, 김치도 연구할수록 우수성이 계속 발견되듯이 식혜도 연구가 진행될수록 우수성이 계속 밝혀질 가능성이 많다.

아쉬운 점은 시판 식혜는 이런 우수한 전통식혜의 성분을 대부분 설탕으로 바꾸어 버린 점이다. 그러므로, [올리고당 식혜]인 전통식혜를 생산하는 것이 국민건강에 이바지하고 매출액을 증가시키는 데 도움이 될 것이다.

요 약

식혜에 함유된 이소말토올리고당과 밥알에 30unit/ml의 α -아밀라아제, 글루코아밀라아제, α -글루코시다아제, β -아밀라아제를 가하여 작용시킨 결과 글루코아밀라아제 외에는 일부밖에 가수분해하지 못하였다. 그리고, 인체의 효소인 α -아밀라아제와 α -글루코시다아제를 함께 작용시켜도 25% 이상 가수분해하지 못하므로 비피두스균의 활성인자로 작용할 것으로 보인다. 밥알은 물에 녹지 않기 때문에 식이섬유로도 작용할 것으로 보인다.

감사의 말

본 연구는 大阪市立大學 理學部 生物學科 酵素化學研究室의 南浦能至 교수와 飯塚勝 교수의協力과 支援으로 이루어졌다. *Aspergillus awamori*의 α -아밀라아제와 글루코아밀라아제, α -글루코시다아제는 같은 연구실의 Mrs. Trisanti Anindyawati에게, pullulanase와 isoamylase는 大阪市立工業研究所의 北畑壽美雄 박사에게 받았다. 엿기름에 대한 자료는 神戸大學 農學部 農藝化學科의 新家龍 教授의 도움을 받았다. 이에 감사드

린다.

참고문헌

1. 안용근 : 식혜의 말토올리고당에 관한 연구 - 1보 정제 및 구조해석 -, 한국식품영양학회지, 10, 82-86 (1997).
2. 北畑壽美雄 : 糖質의機能, 糖質의科學, 新家龍, 南浦能至, 北畑壽美雄, 大西正健編, 朝倉書店 p69~105 (1996).
3. 菅野智榮 : 分枝オリゴ糖, 天然添加物と新食品素材, 食品化學新聞社, p89~92 (1988).
4. Yasuhito Takeda : Sweet potato β -amylase in Handbook of amylases and related enzymes, ed. The Amylase Research Society of Japan, p89~94, Pergamon press (1988).
5. Yoshiyuki Sakano : Porcine pancreatic α -amylase in Handbook of amylases and related enzymes, ed. The Amylase Research Society of Japan, p22~26, Pergamon press (1988).
6. Yong-Geun Ann, Masaru Iizika, Takehiko Yamamoto and Noshi Minamiura : Preparation and some properties of active monomer of sweet potato β -amylase, *Agric. Biol. Chem.*, 54, 769~774, (1990).
7. Nelson, N. : A photometric adaption of the Somogyi method for determination of glucose, *J. Biol. Chem.* 153, 375~379 (1944).
8. 안용근 : 전통식혜 제조, (주) 비락 위탁연구 결과보고서 (1996).
9. 武居能樹 : 糖質의膜消化酵素, 臨床生理學シリーズ, 腸, 朝倉均, 馬場忠雄, 鈴木 裕一編, 南江堂, p22~26 (1990).
10. 星猛 : 糖質의消化吸收, 織田敏次 岡博編, 消化管機能と病態, 中外醫學社, p121~135 (1981).
11. Minamiura, N : Mammalian α -glucosidase in Handbook of amylases and related enzymes, ed. The Amylase Research Society of Japan, p105~109, Pergamon press (1988).
12. Sumio Kitahata : Utilization of oligosaccharides in foods and their enzymic synthesis, 올리고당의 기능성, 한국식품과학회 심포지움집, p47~55 (1994. 9. 29)
13. 山下龜次郎 : 糖尿病における食物纖維とオリゴ糖の効果, 食品機能, 學會出版センター, p287~293 (1988).
14. 秋原義秀 : 驚異의健康源麥綠素, Non Book, 祥傳社 (1981).

(1997년 3월 12일 접수)