

## 식혜의 이소말토올리고당에 관한 연구 -5보 구조해석-

안용근·이석건\*

大阪市立大學 理學部 生物學科 酵素化學研究室, \*충남대학교 식품공학과

## A Study on Sugars in Korean Sweet Rice Drink "Sikhye" -5. Structure Analysis -

Yong-Geun Ann and Seuk-Keun Lee\*

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

\* Dept. of Food Science and Technology, Chungnam National University.

Gungdong, Yuseonggu, Taejeon, 305-764, R.O.Korea

### Abstract

Bench scale Sikhyes were produced from rice and glutinous rice and limit dextrins in rice Sikhye and glutinous rice Sikhye were purified by ethanol precipitation and Biogel P-2 gel chromatography and FPLC on Superose 12 column and analyzed. The purified limit dextrin in rice Sikhye and glutinous rice Sikhye showed both signal of  $\alpha$ -1,4- and  $\alpha$ -1,6- glucosidic linkage with its estimation ratio of 4.5 : 1 and 5.9 : 1, respectively, by <sup>1</sup>H-NMR analysis. Limit dextrins were hydrolyzed by pullulanase. The enzyme hydrolysis products contained maltose, maltotriose, maltotetraose, maltopentaose and matohexaose. These results suggest that limit dextrins were composed of these maltooligosaccharide series with  $\alpha$ -1,6- glucosidic bond.

Key words : rice Sikhye, glutinous rice Sikhye, limit dextrin

### 서론

본 연구자는 '시판식혜에 관한 연구<sup>1)</sup>'에서 시판식혜를 분석하여 설당이 주성분이기 때문에 시판식혜는 전통식혜로 볼 수 없다고 하였다. 그에 대하여 업체를 대변하는 한<sup>2,3)</sup>이 엿기름과 쌀만으로는 식혜가 될 수 없기 때문에 설당을 넣을 수 밖에 없고, 그래서 설당식혜도 전통식혜라는 무리한 주장을 폈다. 그러나, 본 연구자는 설당 들어간 식혜에 대한 기록은 최근에 등장하므로 설당식혜는 전통식혜가 아니고<sup>4)</sup>, 전통방식 대로 엿기름과 쌀만으로 식혜를 만들어 한의 주장이 사실무근이라는 점을 밝혔다<sup>5-9)</sup>. 그리고, 전통식혜 제조법을 체계화, 과학화시켰다<sup>5-9)</sup>.

나아가, 전통식혜(멥쌀식혜)에는  $\alpha$ -1,4-글루코시드 결합 다섯에  $\alpha$ -1,6-글루코시드 결합이 하나인 한계덱스트린이 5.3%<sup>7)</sup> 들어있고, 함유된 한계덱스트린과 밥알은 아밀라아제 소화성이 낮은 비피두스 활성인자로 밝혔다<sup>8)</sup>. 그러나, 시판식혜에는 한계덱스트린이 미량밖에 들어있지 않고, 함유된  $\alpha$ -1,6- 결합도 전통식혜의 1/3에 지나지 않았다<sup>9)</sup>

그리고, 비피두스균 활성인자인 한계덱스트린<sup>10,11)</sup>을 증가시키기 위해 찹쌀로 식혜를 제조하였다. 그 결과 한계덱스트린이 7.3%로 증가하였다<sup>12)</sup>.

그러나, 전보<sup>7,12)</sup>에서 분석한 멥쌀식혜와 찹쌀식혜의 한계덱스트린의 구조는 분자량 분포 범위가 넓어서 평균적인 결과이므로 본 연구에서는 정확한 값을 밝히기 위하여 겔 크로마토그래피의 FPLC로 한계덱스트린을

정제하여 NMR 분석 및 pullulanase 소화로 구조를 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 식혜 및 한계덱스트린의 조제

전보의 방법<sup>7,12)</sup>에 따라 멥쌀 및 찹쌀 20%, 엿기름 4% 농도로 하여 60℃에서 7시간 당화시켰다. 엿기름은 비락(주)에서 제공받은 것을, 멥쌀 및 찹쌀은 일본산을 사용하였다.

### 2. 한계덱스트린의 분리

멥쌀 한계덱스트린은 전보의 방법<sup>7)</sup>에 따라 에탄올 침전 3회, 찹쌀 한계덱스트린은 전보의 방법<sup>12)</sup>에 따라 에탄올 침전 4회 및 Biogel P-2 겔 크로마토그래피로 분리하였다.

### 3. 한계덱스트린의 정제

상기 2에서 얻은 찹쌀 및 멥쌀의 한계덱스트린을 Superose 12겔럼(1×30cm)을 사용한 FPLC로 유속 0.4ml/min, 용매는 증류수, 검출기는 굴절률 검출기를 사용하여 유출시간 37분에서 40분까지의 분획을 모은 다음 동결건조하여 다시 재크로마토그래피하여 균일한 부분만을 모아 동결건조하였다.

### 4. <sup>1</sup>H-NMR

동결건조 시료 3mg을 D<sub>2</sub>O 1ml에 녹여서 Varian-UNITY plus 500 NMR spectrometer로 40℃, 500 MHz에서 분석하였다. 표준물질로 sodium-4,4-dimethyl-4-sila-pentane sulfonate를 사용하여 화학적 시프트를 측정하였다.

### 5. HPLC

HPLC 펌프는 Shimadzu LC-6A, 적산기는 Shimadzu Chromatopak G-R3A, 검출기는 굴절률 검출기 Knauer 98.00, 겔럼은 Shimpack SCR 101N(0.75×30cm) 및 Superose 12(1×30cm), 겔럼오븐은 Shimadzu CTO-6A를 사용하여 유속 1ml/min, 60℃에서 증류수를 용매로 분석하였다.

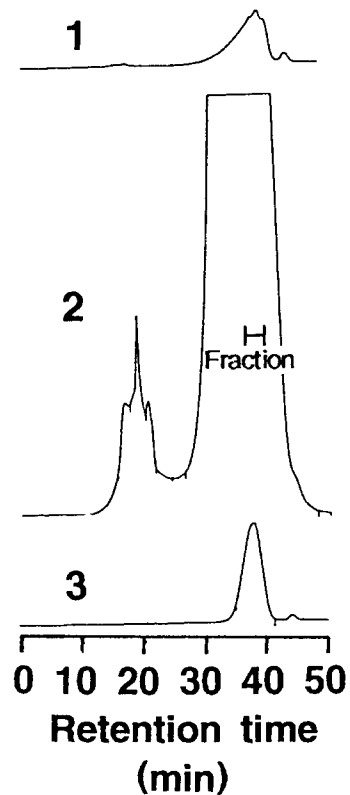
### 6. TLC

실리카겔 유리판(20×20cm)에 당시료 1~2μg을 찍어서 propanol-ethylacetate-water(7 : 1 : 2) 용매로 37℃에서 4시간 전개시킨 다음 1% orcinol을 함유한 50% 황산 용액을 분무하여 100℃에서 5분간 발색시켰

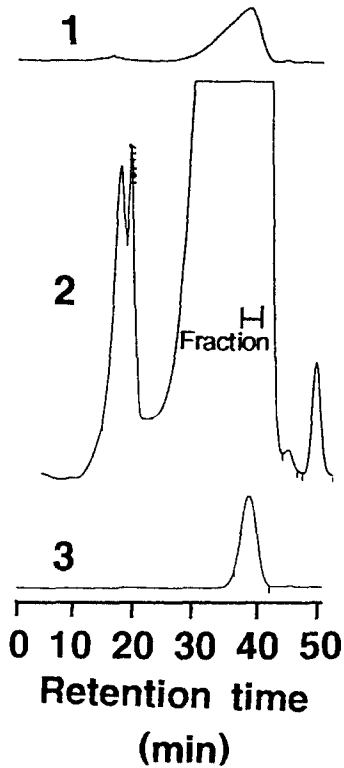
다.

## 결과 및 고찰

전보에서 멥쌀<sup>7)</sup> 및 찹쌀<sup>12)</sup>의 한계덱스트린은 소당용 겔럼을 사용한 HPLC에서 void volume으로 유출되어 크기를 정확하게 알 수 없었다. 그래서 FPLC용 Superose 12 겔럼을 사용하여 겔 크로마토그래피한 결과 멥쌀식혜의 한계덱스트린은 Fig. 1의 1과 같이, 찹쌀식혜의 한계덱스트린은 Fig. 2의 1과 같이 폭이 넓은 피크로 나타났다. 이것은 이들 한계덱스트린의 분자량 분포가 넓기 때문이다. 그래서 균일한 한계덱스트린을 얻기 위하여 Superose 12 겔럼으로 크로마토그래피하여 Fig. 1의 2와 Fig. 2의 2에 표시한 37분에서 40분 사이의 피크를 분취해 재크로마토그래피하였다. 이 같이 정제한 한계덱스트린은 Fig. 1의 3, Fig. 2의 3과 같이 예



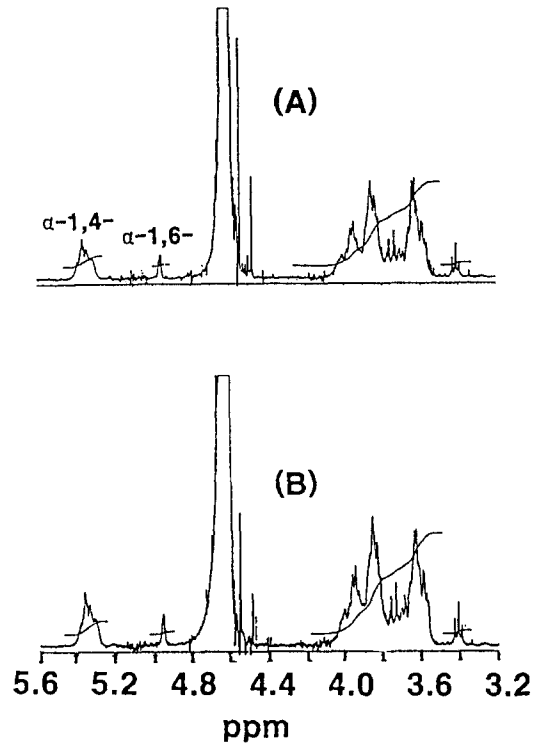
**Fig. 1. Purification of limit dextrin in rice Sikhye.** 1, Limit dextrin obtained by ethanol precipitation; 2, limit dextrin obtained by Superose 12 gel chromatography; 3, purified limit dextrin. Column, Superose 12 (1×30cm); elute, distilled water; flow rate, 0.4ml/min.



**Fig. 2. Purification of limit dextrin in glutinous rice Sikhye.** 1, Limit dextrin obtained by ethanol precipitation and Biogel P-2 gel chromatography ; 2, limit dextrin obtained by Superose 12 gel chromatography ; 3 purified limit dextrin. Column, Superose 12 (1×30cm) ; elute, distilled water ; flow rate, 0.4ml /min.

리하고 균일한 피크로 얻어졌고, 분자량이 크거나 작은 부분은 제거되었다.

멥쌀식혜의 한계덱스트린은 <sup>1</sup>H-NMR 분석 결과 Fig. 3의 B, 찰쌀식혜의 한계덱스트린은 Fig. 3의 A로 나타났다. 멥쌀식혜 한계덱스트린의 α-1,6-글루코시드 결합에 대한 α-1,4- 결합의 비율은 1:4.5를 나타내 전보<sup>7)</sup>의 1:4.8에 비해 α-1,6-글루코시드 결합 비율이 높아졌다. 반면, 찰쌀식혜의 한계덱스트린은 1:5.9를 나타내 전보<sup>12)</sup>의 1:5.3보다 낮아졌다. 이것은 멥쌀식혜의 한계덱스트린은 α-1,4-글루코시드 결합으로 형성된 다섯 글루코오스 잔기 사슬에 α-1,6-글루코시드의 가지 결합이 하나인 것을, 찰쌀식혜의 한계덱스트린은 α-1,4-글루코시드 결합으로 형성된 여섯 글루코오스 잔기 사슬에 α-1,6-글루코시드 가지 결합이 하나인 것을 의미한다. 전보와 본 결과의 차이는 분자량 차이에서 오는 결



**Fig. 3. Proton NMR of limit dextrans from glutinous rice Sikhye (A) and rice Sikhye (B).** The samples were analyzed by Varian-UNITY plus 500 NMR spectrometer operating at 500MHz in D<sub>2</sub>O at 40°C. Chemical shifts were measured with sodium-4,4-dimethyl-4-sila-pentane sulfonate(DSS) as an internal standard.

과이다. 멥쌀식혜와 찰쌀식혜의 한계덱스트린은 다른 시그널도 서로 같아서 구조상 차이는 나타나지 않았고, 전보의 결과<sup>7,12)</sup>와도 차이가 없다.

Pullulanase로 멥쌀식혜와 찰쌀식혜 한계덱스트린을 가수분해한 결과 Fig. 4와 같이 말토오스에서 말토헥사오스까지 생성되었다. 그러나, 찰쌀식혜 한계덱스트린은 전보<sup>12)</sup> 및 멥쌀식혜 한계덱스트린에 비해 말토펀타오스와 말토힥사오스가 줄어들었다.

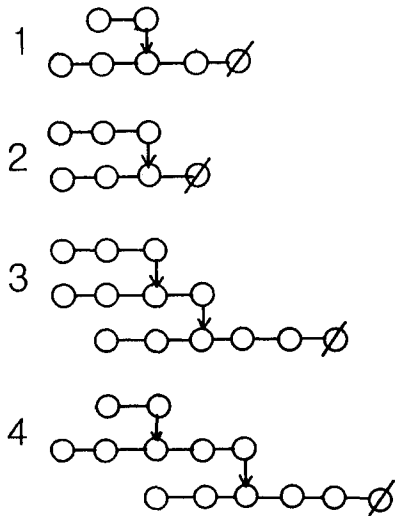
이들 결과는 멥쌀식혜와 찰쌀식혜의 단위구조는 말토오스, 말토티리오스, 말토테트라오스, 말토펀타오스, 말토힥사오스로, 이들이 서로 α-1,6-글루코시드의 가지 결합을 형성하여 한계덱스트린을 만들고 있는 것을 의미한다. 그 중 말토힥사오스는 주사슬로 작용하여 하나나 둘 이상의 가지가 결합한다.

이상의 결과로부터 멥쌀식혜 및 찰쌀식혜에 함유되어



**Fig. 4. Thin layer chromatogram of enzymatic hydrolysis products of limit dextrins from rice Sikhye and glutinous rice Sikhye.** Reaction mixtures contained 100units of pullulanase, 0.3% of limit dextrins from rice and glutinous rice Sikhye in 1ml of water. The reaction mixtures were incubated at 37°C for 1 hour. M, markers (G<sub>1</sub>~G<sub>9</sub>) ; B, limit dextrin from rice Sikhye. C, limit dextrin from glutinous rice Sikhye.

있는 한계덱스트린은 Fig. 5와 같은 구조로 추정되며, 멥쌀식혜와 찰쌀식혜 한계덱스트린은 글루코오스 한 잔기 차이가 있다. Fig. 5의 1과 2는 알려진 β-한계덱스트



**Fig. 5. Proposal structures of limit dextrin in Sikhye.** ○, Glucose residue ; ϕ, reducing end glucose residue ; -, α-1,4- glucosidic linkage ; ↓, α-1,6- glucosidic linkage.

린으로, 이외에도 작거나 큰 여러 가지가 있다. 그러나 본 결과에서는 말토헥사오스가 주사슬이기 때문에 Fig. 5의 3 및 4와 같은 구조로 추정된다. 그러나 자세한 것은 별도의 실험이 필요하다.

찰쌀을 β-amylase로 가수분해하면 β-한계덱스트린이 23% 생성된다<sup>13)</sup>. 그러나 엿기름에는 β-amylase와 α-amylase가 함께 들어 있다. 그래서 가수분해율이 훨씬 높기 때문에 전보<sup>13)</sup>에서 한계덱스트린은 1/3인 7.5%가 생겼다. 이것은 한계덱스트린의 가지가 매우 짧아져서 분자량이 1/3 정도로 줄어들고, α-1,6-결합율이 β-한계덱스트린의 3배 정도 증가하게 된 것이다.

**요 약**

멥쌀식혜와 찰쌀식혜의 한계덱스트린을 알코올침전, Biogel P-2의 겔 크로마토그래피, Superose 12 겔 크로마토그래피 컬럼을 사용한 FPLC로 정제하여 <sup>1</sup>H-NMR 분석을 행하였다. 멥쌀식혜의 한계덱스트린은 α-1,4-글루코시드 결합과 α-1,6-글루코시드 결합의 비율이 1:4.5, 찰쌀식혜의 한계덱스트린은 1:5.9를 나타냈다. Pullulanase 소화로 멥쌀식혜 및 찰쌀식혜의 한계덱스트린은 말토오스, 말토트리오스, 말토테트라오스, 말토펜타오스, 말토헥사오스까지 나타나 이들이 서로 조합하여 한계덱스트린을 만들고 있는 것으로 분석되었다.

**참고문헌**

1. 안용근, 이석건 : 시판 식혜에 관한 연구, *한국식품영양학회지*, 8, 165~171 (1995).
2. 한 역 : 쌀이용 전통음료의 산업화와 발전방향, 전통식품의 현황과 품질개선 심포지움논문집, *한국식품과학회*, 169~196 (1995. 11. 15).
3. 한 역 : 소위 설탕물 식혜에 관한 의견, *한국식품개발연구원* (1995. 11. 15).
4. 안용근, 이석건 : 전통식혜 및 시판식혜의 역사적 고찰 및 정의, *한국식품영양학회지*, 9, 37~44 (1996).
5. 안용근, 이석건 : 식혜산업의 문제점과 품질향상방안, *한국식품영양학회지*, 9, 41~51 (1996).
6. 안용근 : 전통식혜 제조, (주) 비락 위탁연구 결과보고서 (1996).
7. 안용근, 식혜의 이소말토올리고당에 관한 연구 - 1보 정제 및 구조해석 -, *한국식품영양학회지*, 10, 82~86 (1997).
8. 안용근 : 식혜의 이소말토올리고당에 관한 연구 - 2보 효소적 분석 -, *한국식품영양학회지*, 10, 87~91 (1997).
9. 안용근 : 식혜의 이소말토올리고당에 관한 연구 - 3보 시판식혜 -, *한국식품영양학회지*, 10, 92~96 (1997).
10. 北畑壽美雄, 糖質の機能, 糖質の科學, 新家龍, 南浦能至, 北畑壽美雄, 大西正健編, 朝倉書店 p69~105 (1996).
11. 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).
12. 안용근 : 식혜의 이소말토올리고당에 관한 연구 - 4보 참쌀  
식혜 , *한국식품영양학회지*, **10**, 180~185 (1997).
13. Umeki, K. and Yamamoto, T. : *J. Biochem.*, **78**, 897  
(1975).

---

(1997년 7월 1일 접수)