

등속 중인 보리 종실중 (1-3, 1-4)- β -Glucan과 전분 함량 및 이들의 가수분해효소 활성

윤성중* · 박상래** · 유남희*

(1-3, 1-4)- β -Glucan and Starch Contents and Their Hydrolytic Enzyme Activities in Developing Barley Kernels

Song Joong Yun*, Sang Rae Park** and Nam Hee Yoo*

ABSTRACT : To obtain information on the accumulation of (1-3, 1-4)- β -glucans during kernel maturation, (1-3, 1-4)- β -glucan contents and (1-3, 1-4)- β -glucanase activities were determined in developing kernels of the two Korean cooking barley varieties, Neulssalborig and Saessalborig. (1-3, 1-4)- β -Glucan contents in kernels at 5 and 10 days after anthesis(DAA) were very low and the contents increased rapidly in kernels at 15 to 25 DAA. (1-3, 1-4)- β -Glucan content in kernels at harvest was about 3.5 to 4% of kernel dry matter. (1-3, 1-4)- β -Glucanase activities were relatively higher in younger kernels but the levels of the activity were very low compared with those in germinating kernels. A significant negative correlation was observed between (1-3, 1-4)- β -glucan contents and (1-3, 1-4)- β -glucanase activities. Low levels of (1-3, 1-4)- β -glucanase activites in kernels at 15 to 30 DAA, however, may indicate that (1-3, 1-4)- β -glucanases have little effect on the final content of (1-3, 1-4)- β -glucans in barley kernels. Starch contents and α -amylase activities were also determined in developing barley kernels. Starch contents increased rapidly as kernels matured and the content at harvest was about 60% of kernel dry matter. Relativley higher levels of α -amylase activities in kernels at the earlier developmental stage decreased rapidly as kernels matured.

Key words : α -Amylase, Barley, (1-3, 1-4)- β -Glucan, (1-3, 1-4)- β -Glucanase, Glucose, Kernel, Maturation, Starch.

최근 건강에 대한 관심이 높아지면서 식품에 함유되어 있는 기능성 성분⁴⁾에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 보리에 함유된 탄수화물 중 특히 관심의 대상이 되고 있는 성분은 (1-3, 1-4)- β -glucan(β -glucan)이다.

β -glucan은 glucose분자가 (1-3)- 또는 (1-4)- β 결합으로 연결된 선형의 다당류로서^{7,20)} 식물의

배유, 호분층, 잎, 줄기 등의 세포벽을 구성하는 성분이다. 화곡류의 종실, 특히 보리와 귀리의 배유 세포벽에 다량 축적되어 있는 β -glucan은 일종의 저장물질로서 종자의 발아와 밀접하게 관련되어 있는 물질이다^{6,7,20)}. β -glucan은 화합물내의 (1-3)- β 결합으로 인하여 cellulose와 달리 수화되면 강한 점성을 나타내는 특성을 지니고 있다.

이 논문은 1996년도 전북대학교 지원 연구비에 의하여 연구되었음.

* 전북대학교 농과대학(College of Agriculture, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea)

** 농촌진흥청 호남농업시험장(National Honam Agricultural Experiment Station, RDA, Iksan 570-080, Korea)

<97. 2. 26 接受>

β -glucan의 이와 같은 성질은 맥주보리를 이용하여 맥주를 만드는 과정에서 여과효율 및 맥아수율을 저하시키는 원인이 된다. β -glucan과 β -glucan 가수분해 효소에 대한 연구는 이러한 실용상의 문제점과 연관되어 주로 맥주보리에서 활발하게 이루어졌다⁶⁾. 맥주보리의 경우에는 β -glucan 함량은 낮으면서 β -glucan 분해효소의 활성은 높은 것이 실용적으로 유리하다.

사람이 식용으로 보리를 직접 이용하는 경우에는 β -glucan은 식이섬유로서 유용한 성분이다. β -glucan의 생리활성에 대한 연구결과에 의하면 β -glucan은 콜레스테롤치를 낮추어 심장질환을 예방하며, 지방의 축적을 억제하여 비만을 방지하는 효과가 있다^{1,8)}. 따라서 취반용으로 이용하는 보리는 β -glucan 함량이 높은 편이 유용하다.

이와 같이 보리의 용도에 따라 β -glucan은 품질을 저하 또는 제고시키는 요인이 되기도 한다. 지금까지의 β -glucan에 대한 연구는 주로 맥주맥에서 이루어져 와서 밟아서 β -glucan 함량 변화 및 β -glucanase 활성에 대한 연구가 주종을 이루어 왔다. 그러나 β -glucan의 식이섬유로서의 유용성에 대한 관심이 고조되면서 취반용 보리의 β -glucan 축적기작에 대한 연구가 요청되고 있다.

본 연구는 등숙중인 취반용 보리종실의 β -glucan 함량과 (1-3, 1-4)- β -glucanase 활성을 조사하여 β -glucan 축적기작에 대한 기초정보를 얻고자 실시하였으며, 등숙 중 다른 성분의 함량 및 효소활성의 변화 특성과도 관련이 있을 것으로 생각되어 전분함량 및 전분 분해효소활성의 변화양상을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 시험재료

국내에서 재배되고 있는 쌀보리인 늘쌀보리와 새쌀보리를 1996년도 10월 하순에 호남농업시험장 전작포장에 파종한 다음 표준 재배관리하여 실험용 종실재료를 채취하였다. 보리 식물체 각 개체의 개화기를 조사한 다음 개화 후 5일 간격으로 6회 시료를 채취하였다. 외영과 내영을 제거한 종

실시료는 생체중을 측정한 후 동결건조하고 마쇄기로 마쇄하여 시료분말을 준비하였다.

2. β -Glucan, 전분, 포도당의 정량

β -Glucan의 정량은 McCleary method¹¹⁾를 사용하였으며 β -glucan 정량에 필요한 시약과 효소는 Megazyme(Ireland)으로부터 구입하였다. 전분과 포도당 함량은 Antherone시약²²⁾을 사용하여 정량하였다.

3. (1-3, 1-4)- β -Glucanase 및 α -amylase 활성측정

(1-3, 1-4)- β -Glucanase 활성은 Azo-barley glucan 기질(Megazyme, IL)을 이용하여 측정하였으며¹²⁾ α -amylase의 활성은 Blocked ρ -nitrophenyl maltoheptaoside(BPNPG7, Megazyme, IL)을 이용하여 측정하였다¹³⁾.

결과 및 고찰

1. 등숙 중인 종실의 β -glucan 함량과 (1-3, 1-4)- β -glucanase 활성 변화

개화 후 5일 간격으로 보리 이삭을 채취한 다음 외영과 내영을 제거하여 종실의 생체중을 측정하였다. 종실의 생체중은 개화 직후부터 증가하기 시작하여 품종에 따라 개화 후 20일 내지 25일까지 직선적으로 증가하다가 수확기에는 감소하였다(그림 1). 새쌀보리의 종실 생체중은 개화 후 20일에 약 57mg으로 최고에 이르렀으며 이후 수확기인 개화 후 30일까지 계속 감소하여 42mg 내외가 되었다. 늘쌀보리의 종실 생체중은 새쌀보리보다 증가속도가 다소 완만하였으며 개화 후 25일에 약 53mg으로 최고에 이르렀고 이후 급격히 감소하여 개화 후 30일에는 35mg 내외가 되었다. 새쌀보리가 늘쌀보리보다 최고 생체중과 수확기 생체중이 각각 7%와 16% 정도 높았다.

보리 종실내 β -glucan 함량은 등숙 초기에는 낮았으나 등숙이 진전될수록 증가하였다(그림 2). 개화 후 약 15일까지는 β -glucan 함량이 종실 건물중의 1% 내외로 낮았으나, 개화 15일 이후부

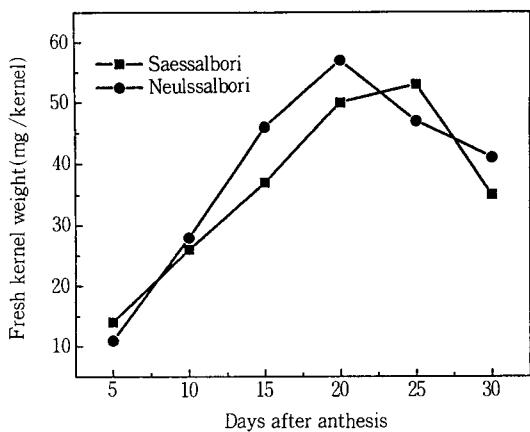


Fig. 1. Changes in fresh weight of developing barley kernels.

터 25일 사이에 급격히 증가하였고 이후 완만한 증가를 보여 수화기인 개화 후 30일경에는 3.5~4%에 달하였다. 개화 후 30일의 β -glucan 함량은 개화 후 15일보다 새쌀보리와 늘쌀보리가 각각 2.7와 3.5배 증가하였다. β -glucan의 축적속도는 개화 후 15일에서 25일 사이에 가장 빨라서 이기간동안에 생합성이 가장 왕성하게 진전됨을 알 수 있었다. 등숙과정 중 종실내 β -glucan 함량의 변화 양상은 두 품종에서 유사하였으나 새쌀보리가 늘쌀보리보다 줄곧 높았고 개화 후 30일의 β -glucan 함량도 새쌀보리가 늘쌀보리보다 0.5%정도 높았다.

보리의 등숙단계에 따른 β -glucan 함량 변화양상에 대한 연구는 많지 않지만, β -glucan 함량은 종실의 발육단계, 품종 및 재배환경의 영향을 받는 것으로 알려져 있다. Kim et al.⁹⁾은 종실의 β -glucan 함량변화를 출수 후 25일부터 45일까지 조사하였던 바 등숙이 진전될수록 함량이 2.5에서 4.9%까지 증가하며, 출수 후 25일에서 35일 사이의 10일간에 2배가 증가하였다고 보고하였다. Aman et al.¹⁰⁾은 스웨덴의 재배조건하에서 보리 종실의 등숙이 진진될수록 β -glucan 함량이 증가하였으며 개화 후 15일에서 40일의 25일 사이에 함량이 급속히 증가하였다고 보고하였다¹⁰⁾. 등숙 중 β -glucan 함량변화에 관한 본 연구의 결과는 타 보고와 일반적으로 일치하는 경향이지만, β -

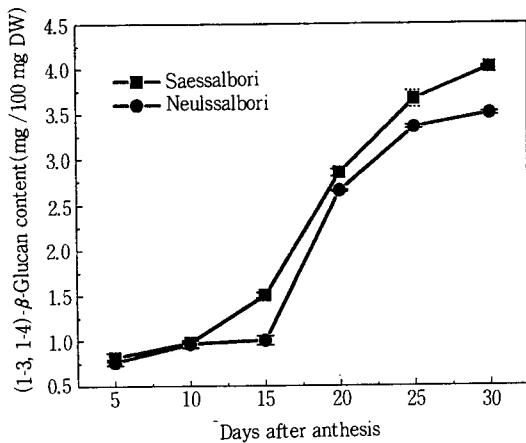


Fig. 2. Changes in (1-3, 1-4)- β -glucan contents in developing barley kernels.

glucan 함량이 급속히 증가하는 시기가 일치하지 않은 것은 품종 및 보리 등숙기간의 차이와 재배 조건의 차이에 기인한 것으로 사료된다.

등숙 중인 보리 종실 내 (1-3, 1-4)- β -glucanase 활성을 등숙 초기에는 높고 등숙이 진전될수록 감소하였으며 개화 20일 이후에 감소 정도가 커서 성숙기에는 매우 낮았다(그림 3). 등숙 중인 보리 종실 내 (1-3, 1-4)- β -glucanase 활성을 발아 중인 종실(발아 5일째 종실의 (1-3, 1-4)- β -glucanase 활성은 약 460U/kg)에 비하여 매우 낮은 수준이었다. 등숙 중인 보리 종실 내 (1-3,

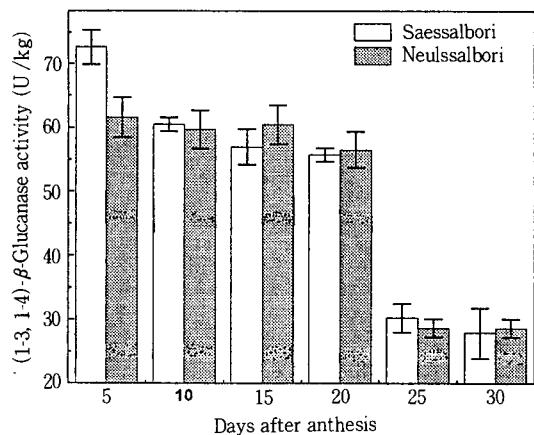


Fig. 3. Changes in (1-3, 1-4)- β -glucanase activities in developing barley kernels.

1-4)- β -glucanase 활성에 대한 보고는 찾아보기 어렵지만, 수확 후 저장 중에도 낮은 수준의 효소 활성이 있는 것으로 알려져 있다²¹⁾, 등숙 중인 귀리 종실에서도 낮은 수준의 (1-3, 1-4)- β -glucanase 활성이 존재하며 등숙 초기에 활성이 높고 종실의 등숙이 진전됨에 따라 활성이 현저히 감소한다고 보고된 바 있다²³⁾.

종실의 형성 및 발달과정은 호르몬에 의하여 크게 영향을 받는다. 발달 중인 보리 종실에는 cytokinin, gibberellin(GA), auxin, abscisic acid(ABA) 등의 호르몬이 상당량 존재하고 등숙 단계에 따라 함량의 변화가 크게 일어난다^{10,17, 18,19)}. 종실의 등숙은 동화기관 및 기타 영양기관으로부터 전이된 동화산물이나 양분을 재이용하여 진행되며 β -glucan은 동화기관으로부터 합성되어 전이된 자당을 분해하여 얻어지는 포도당을 주원료로 하여 합성된다. (1-3, 1-4)- β -glucan의 생합성에 대해서는 알려져 있지 않다. 본 실험결과에 의하면 β -glucan의 함량은 개화 후 15~25일 사이에 급속히 증가하였다(그림 2). 따라서 이 기간 동안에 β -glucan의 생합성계도 활발히 진행될 것으로 추측된다. 이 시기는 등숙 초기부터 지속적으로 증가하는 종실 생체중이 최고에 이르고(그림 1) auxin과 ABA의 함량이 최고에 이르는 시기에 해당된다^{10,17,18,19)}. GA의 함량은 종실의 부피가 최고에 이르는 등숙 중기에 최고에 이르나 등숙 전기와 후기에도 함량이 일시 증가했다가 다시 감소하는 것으로 알려져 있다^{10,17,19)}. 종실 내 호르몬 함량의 변화와 β -glucan 축적 특성을 고려해 보면 β -glucan 생합성 관련 효소의 발현은 GA와 ABA 또는 auxin에 의해 조절되고 있는 것으로 추측된다. 이 시기에 발현이 활발한 유전자의 선별적 cloning 기법을 이용하여 β -glucan 생합성 관련 효소에 대한 유전자를 분리하여 종실 중 β -glucan 생합성을 증가시킬 수 있는 방법을 모색할 수 있을 것으로 생각된다.

등숙 종실 중에서 발현되는 (1-3, 1-4)- β -glucanase의 활성은 등숙이 진전될수록 감소하였다. 발아 및 영양체의 발달과정에서 발현되는 (1-3, 1-4)- β -glucanase에는 3종의 동위효소(E I, E II, E III)가 존재한다⁶⁾. 이들 효소의 유전자는 모

두 GA에 의해 발현이 촉진되며 ABA에 의해 발현이 억제되는 조절을 받는다. 등숙 종실 중의 일반적인 호르몬 함량 변화양상과 본 실험에서의 효소활성 변화양상은 등숙 중에 발현되는 (1-3, 1-4)- β -glucanase도 지금까지 알려진 동위효소와 동일한 호르몬 조절을 받는 것으로 해석된다.

등숙 중인 보리 종실 내 β -glucan 함량과 (1-3, 1-4)- β -glucanase 활성 사이에는 고도로 유의한 부의 상관관계가 있는 것으로 나타났다(그림 4). 하지만 등숙 초기 및 β -glucan의 축적이 왕성하게 진행되는 등숙 중기와 후기에 발현되는 (1-3, 1-4)- β -glucanase의 활성은 발아 3일째의 종실에서 검출되는 수준(131.88U/kg)보다 낮아서 β -glucan 축적량에 미치는 영향은 미미할 것으로 생각된다. 따라서 보리 종실 중 β -glucan 함량 증대를 위해서는 β -glucan 생합성을 증대시키는 방안이 모색되어야 할 것이고 이를 위해서는 (1-3, 1-4)- β -glucan 생합성에 대한 기초 연구와 생합성 관련 유전자의 단리가 필요할 것으로 사료된다.

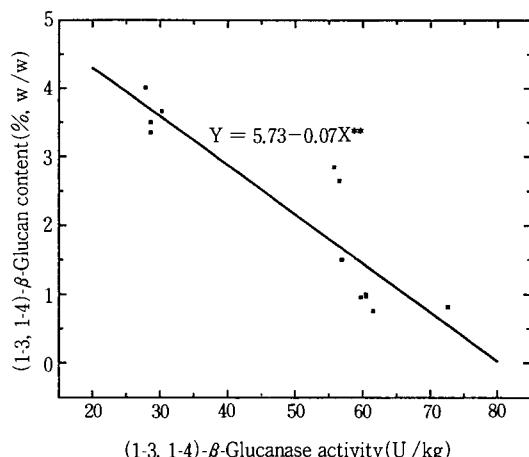


Fig. 4. Relationship between (1-3, 1-4)- β -glucan contents and (1-3, 1-4)- β -glucanase activities in developing barley kernels.

2. 등숙 중인 종실내 전분과 α -amylase 활성 변화

등숙 중인 종실내 전분함량은 등숙 초기에는

종실 건물중의 5% 정도로 낮았고 등숙이 진전될 수록 지속적으로 증가하여 개화 후 30일에는 60% 정도가 되었다(그림 5). 늘쌀보리와 새쌀보리의 전분함량 변화양상은 거의 동일하였으나 개화 20~25일경에 다소 차이를 보였다. 포도당함량은 전분함량과 대조적인 변화양상을 보였다. 개화 후 5일에 종실 건물중의 52~56% 수준을 보이다가 이후 함량이 급속히 감소하여 개화 후 20일에는 2.7% 정도로 감소하였으며 개화 후 30일에는 1% 이하가 되었다. 포도당함량의 변화양상은 2품종에서 유사하였다. 전분 및 포도당함량의 변화양상에 대한 본 연구의 결과는 보리 및 기타 화곡류 종실 등숙 중 이들 성분함량 변화에 대한 연구결과와 일치하였다^{3,15,19)}.

등숙 중인 보리 종실의 α -amylase 활성은 등숙 초기에 높고 등숙이 진전될수록 현저히 감소하여 개화 후 20일 이후의 활성은 개화 후 5일의 활성의 8~9% 이하 수준으로 매우 낮았으며(그림 6), α -amylase 활성 변화양상은 두 공시품종에서 유사하였다. 등숙 중인 보리의 α -amylase 활성은 발아 중인 보리(발아 5일째 종실의 α -amylase 활성: 183.67U/g)에 비하여 매우 낮은 수준이었다.

등숙 중 종실의 α -amylase 활성변화에 관한 연구는 종실의 발달 및 품질과 관련하여 많이 이루어져 왔으며 대부분의 연구에서 등숙 중 보리 종실에서 α -amylase 활성이 검출되었고 최대 활성은 대부분 개화 후 10~20일경에 존재하였다¹⁴⁾.

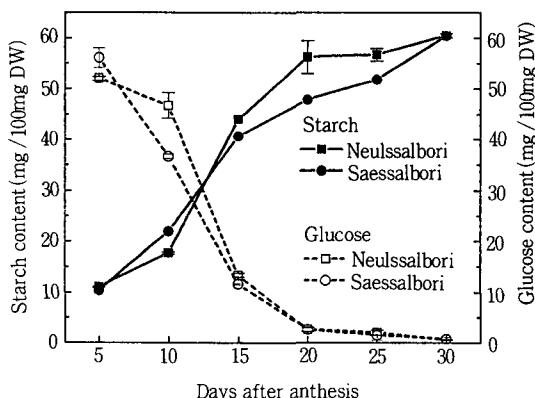


Fig. 5. Changes in starch and glucose contents in developing barley kernels.

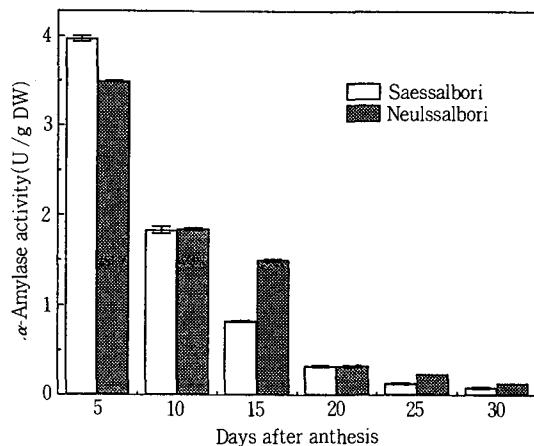


Fig. 6. Changes in α -amylase activities in developing barley kernels.

종실을 조직별로 분해하여 효소활성을 조사한 경우 α -amylase 활성은 과피에서만 관찰되었으므로^{5,17)} 등숙 중 보리 종실에서 검출되는 α -amylase는 과피에서 발현되는 효소에 의한 것으로 생각되고 있다.

등숙 보리 종실에서 α -amylase 활성에 대한 본 연구의 결과는 다른 보고와 달리 공시품종 모두 최대 효소활성이 개화 후 5일의 종실에 존재하였다. 본 연구에서는 종실 조직을 분해하지 않고 종실 전체를 함께 마쇄하여 종실 건물중 단위로 효소활성을 측정하였기 때문에 나타난 결과일 가능성성이 높으나 품종 및 환경적 요인에 의한 결과일 가능성도 배제할 수 없다.

적 요

취반용 보리 종실 내 (1-3, 1-4)- β -glucan의 축적기작을 알아보기 위하여 개화 후 일정 간격으로 보리 종실을 채취하여 (1-3, 1-4)- β -glucan 함량, (1-3, 1-4)- β -glucanase 활성 및 전분함량과 α -amylase 활성을 조사하였다. β -glucan 함량은 등숙 초기에 매우 낮았으나 개화 후 15~25일 사이에 급속히 증가하였고 개화 후 30일경에는 종실 건물중의 3.5~4%로 증가하였다. (1-3, 1-4)- β -

glucanase 활성은 등숙 초기에 높았으며 등숙이 진전될수록 감소하였다. β -glucan 함량과 (1-3, 1-4)- β -glucanase 활성간에는 고도로 유의한 부의 상관관계가 인정되었으나 등숙 종실 중의 (1-3, 1-4)- β -glucanase 활성이 매우 낮은 수준이므로 β -glucan 축적량에 크게 영향을 미치지 않을 것으로 추정되었다. 전분함량은 등숙이 진전됨에 따라 지속적으로 증가하였으며 개화 후 10~20일에 가장 뚜렷하게 증가하였다. 포도당함량은 등숙이 진전됨에 따라 현저히 감소하였으며, 등숙 초기와 중기에 감소 정도가 매우 커졌다. α -amylase의 활성도 등숙이 진전됨에 따라 현저히 감소하였으며, 감소 정도는 등숙 초기와 중기에 매우 커졌다.

LITERATURE CITED

- Aman P, Graham H and Tilly A.C. 1989. Content and solubility of mixed-linked (1-3), (1-4)- β -D-glucan in barley and oats during kernel development and storage. *J. Cereal Sci.* 10:45-50.
- Anderson J.W and Chen W-J.L. 1986. Cholesterol-lowering properties of oat products. In *Oat: Chemistry and Technology*(Webster F.H. ed.). AACC. St. Paul, MN, USA. pp. 309-333.
- Cerning J and Guilbot A. 1973. Changes in the carbohydrate composition during development and maturation of the wheat and barley kernel. *Cereal Chem.* 50: 220-232.
- 조홍연. 1995. 기능성 식품. 생물산업. 8(2) :44-51.
- Dedio D.H, Simmonds D.H, Hill R.D and Shealy H. 1975. Distribution of α -amylase in the triticale kernel during development. *Can. J. Plant Sci.* 55:29-36.
- Fincher G.B. 1989. Molecular and cellular biology associated with endosperm mobilization in germinating grains. *Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 40:305-346.
- ____ and Stone B.A. 1986. Cell walls and their components in cereal grain technology. In *Advances in Cereal Science and Technology* 8:207-295.
- Kahlon T.S, Sauners R.M, Chow F.I, Chiu M.M and Betschart A.A. 1990. Influence of rice bran, oat bran, and wheat bran on cholesterol and triglycerides in hamsters. *Cereal Chem.* 67:439-443.
- Kim B.H, Suh D.Y and Suh H.S. 1995. Changes of β -glucan component during grain filling in barley. Proceedings of '95 Spring Meeting of Korean Crop Breeding Society. pp. 38-39.
- Lenton J.R and Gale M.D. 1987. Hormonal changes during cereal grain development. In *Fourth International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals*(Mares D.G. ed.), Westview Press, Boulder, Colorado, USA. pp. 253-264.
- McCleary B.V and Codd R. 1991. Measurement of (1-3), (1-4)- β -D-glucan in barley and oats: A streamlined enzymic procedure. *J. Sci. Food Agri.* 55:303-312.
- ____ and Shameer I. 1987. Assay of malt β -glucanase using Azo barley glucan: An improved precipitant. *J. Inst. Brew.* 93:87-90.
- ____ and Sheehan H. 1987. Measurement of cereal α -amylase: A new assay procedure. *J. Cereal. Sci.* 6:237-251.
- Muthukrishnan S and Chandra G.R. 1988. Regulation of the expression of hydrolase genes in cereal seeds. In *Advances in Cereal Science and Technology*, Vol. IX (Pomeranz Y. ed.) AACC. St. Paul, MN, USA. pp. 129-159.

15. Peterson D.M and Smith D. 1976. Changes in nitrogen and carbohydrate fractions in developing oat groats. *Crop Sci.* 16:67-71.
16. Powell W, Caligari P.D.S, Swanston J.S and Jinks J.L. 1985. Genetical investigations into β -glucan content in barley. *Theor. Appl. Genet.* 71:461-466.
17. Radley M. 1976. The development of wheat grain in relation to endogenous growth substances. *J. Expt. Bot.* 27: 1009-1021.
18. Rock C.D and Quatrano R.S. 1995. The role of hormones during seed development. In *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology* (Davies P.J. ed.). Kluwer Academic Publishers. pp. 671-697.
19. Wheeler A.W. 1972. Changes in growth-substance contents during growth of wheat grains. *Ann. Appl. Biol.* 72:327-334.
20. Wood P.J. 1986. Oat β -glucan: Structure, location and properties. In *Oats: Chemistry and Technology*. AACC. St. Paul. MN, USA. pp. 121-152.
21. _____, Siddiqui I.R and Paton D. 1978. Extraction of high-viscosity gums from oats. *Cereal Chem.* 55:1038-1049.
22. Yoshida S, Forno D.A, Cook J.H and Gomez K.A. 1972. Laboratory manual for physiological studies of rice. IRRI. pp. 38-41.
23. Yun S.J. 1992. (1-3, 1-4)-beta-Glucan 4-glucanohydrolase gene expression in oat. Ph. D. Thesis. University of Minnesota.