

무의 α -Amylase 활성 및 가공 안정성

- 연구노트 -

조은혜¹ · 최아름¹ · 최선주¹ · 김소영¹ · 이건순² · 이수성³ · 채희정^{1*}

¹호서대학교 식품생물공학과 및 식품기능안전연구센터

²한국농업대학 교양공동학부

³㈜바이오브리딩연구소

α -Amylase Activity of Radish and Stability in Processing

Eunhye Cho¹, A-Reum Choi¹, Sun Ju Choi¹, Soyoung Kim¹,
Gun Soon Lee², Soo Seoug Lee³, and Hee Jeong Chae^{1*}

¹Dept. of Food and Biotechnology, and Center for Food Function and Safety,
Hoseo University, Chungnam 336-795, Korea

²Dept. of Living Sciences, Korea National Agriculture College, Gyeonggi 445-760, Korea

³BioBreeding Institute, Gyeonggi 456-831, Korea

Abstract

The effects of processing conditions on the α -amylase activity of radish were investigated at various temperatures, pHs and drying conditions. The α -amylase activity of radish root was 3.1-fold higher than that of radish trunk. As the freeze-dried radish was incubated at various temperatures and pHs, α -amylase activity was stably maintained at pH range of 4~7 and temperature of 25~40°C. When radish was processed to kakkugi and danmooji, the residual α -amylase activity was 45.39% and 19.19%, respectively. Consequently, the α -amylase activity was greatly affected by processing conditions such as heat treatment and pH. It is suggested that radish should be processed at below 60°C and at neutral to acidic pH condition.

Key words: α -amylase, radish, activity, stability, processing

서 론

국민소득의 증가로 식생활이 다양해지면서 식용으로 무의 수요가 증가하고 있다. 무(*Raphanus sativus* L.)는 겨자와 또는 십자화과(Brassicaceae)에 속하는 한해살이 또는 두해살이 쌍떡잎식물로, 배추와 함께 우리나라에서 대량 소비되는 2대 채소 중의 하나이다(1). 현재까지 무에 대한 연구로는 대부분이 품종별, 계절별로 재배된 무의 이화학적 특성과 깍두기나 동치미 등의 김치 발효에 관한 연구(2,3), 무에서 추출한 myrosinase의 분자량과 효소적 특성에 관한 연구(4,5)와 일부 기능성 성분에 관한 연구(6)가 보고되었다.

예로부터 무를 많이 먹으면 속병이 없다는 말이 있는데 그 이유는 무 중에는 여러 가지 소화효소를 많이 함유하고 있기 때문이다. 무는 떡이나 밥 등의 곡물 음식을 먹을 때 함께 섭취하면 소화를 돕는 작용을 한다고 여겨져 왔다(7-9). 무의즙에는 amylase, amidase, glycosidase 등의 효소가 있으며 특히 amylase가 많아 생식하면 소화를 돕는다고 알려져 있다(10-12). 현재까지 무와 관련된 효소에 대한

연구는 김치, 배추 등의 조직감에 관련된 효소 연구(13,14)가 일부 있을 뿐 다양한 가공조건에 따른 amylase 활성 변화에 대한 연구는 진행된 바 없다.

α -amylase((1-4)- α -D-glucan-4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1)는 전분의 성분인 amylase와 amylopectin의 α -1,4 결합을 임의로 공격하는 endoamylase로서 여러 형태의 소당류를 분해하는 전분 액화효소이다(15). 이 효소는 동물, 식물, 미생물에 널리 분포하고 있는데 미생물 amylase가 다른 기원의 amylase에 비하여 이용범위가 넓고 성분이 균일하며 경제성이 있어 많이 연구되고 있다(16).

무의 amylase는 미생물 유래의 amylase에 비하여 경제적인 가치는 없으나 천연의 소화효소로서의 이용가치에 대한 평가가 필요하다. 소화촉진 작용과 같은 기능성을 이용하기 위해서는 각종 무 관련 식품의 가공과정에서 활성을 유지하기 위한 조건을 검토할 필요가 있다. 특히 깍두기나 단무지 같이 가공과정 중 pH 변화를 겪는 경우 즉, 온도, pH에 민감한 가공과정 중의 열처리 조작이나 pH의 변화에 의해 효소의 활성이 달라질 수 있다. 따라서 본 연구에서는 무의 가공

*Corresponding author. E-mail: hjchae@hoseo.edu
Phone: 82-41-540-5642, Fax: 82-41-532-5640

중의 α-amylase 활성변화를 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 시료 전처리

본 실험에 사용된 재래종무 23종과 갯무 2종은 ㈜바이오브리딩연구소에서 제공받아 사용하였고 일부 실험용 재료는 시중에서 구입하여 사용하였다. 무는 무 뿌리와 줄기로 구분하여 흐르는 물에 깨끗이 씻어 잔뿌리와 비가식 부분을 다듬은 후, 가식 부분만을 분석용 시료로 사용하였다. 무 뿌리의 경우에는 무 뿌리를 슬라이스하여 생무, 동결건조한 무, 열풍건조한 무를 구분하여 믹서기로 마쇄한 후 분석에 사용하였다. 무 줄기는 비가식 부분을 다듬은 후, 가식부분만을 열풍건조하여 믹서기로 마쇄한 후 분석에 사용하였다.

동결건조한 무는 무를 슬라이스하여 동결건조기(IIshin Lab, Yangju, Korea)에서 -40°C이하의 진공조건에서 24시간 동안 건조하였고, 열풍건조한 무는 무를 슬라이스하여 열풍건조기(Dongguan, Hwaseng, Korea)에서 100°C로 20시간 동안 건조하여 준비하였다. 표준효소액으로 사용한 돼지 췌장(porcine pancreas) 기원의 α-amylase는 Sigma사(Uppsala, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 소금과 식초(산도: 6~7%)는 시판 소금과 식초를 구입하여 포장상태로 상온저장 하여 두고 실험용 원료로 사용하였다.

α-amylase 활성 측정

α-amylase의 활성은 iodine법(17)에 따라 분석하였다. 각 시료 5 g에 0.05 M NaCl과 0.001 M CaCl₂가 포함된 0.05 M potassium phosphate buffer(pH 6.9) 40 mL을 넣고 40분 shaking(JEIO-TECH, Seoul, Korea)하였다. 시료를 원심분리(3,200 rpm, 10 min)한 후 상등액을 여과 카트리지(hydrophilic PES 0.45 μm Millipore Millex-HP, New Bedford, USA)로 여과하여 조효소액으로 사용하였다. 또한 α-amylase 표준효소액을 가지고 표준검량선을 사용하였다. 0.05 M potassium phosphate buffer(pH 6.9)에 녹인 1% 전분용액 1 mL를 시험관에 넣고 미리 조제한 표준효소액 또는 조효소액 1 mL를 첨가하여 40°C에서 30분간 반응시켰다. 반응액에 1 M 초산 5 mL를 가하여 반응을 정지시키고 1 M 요오드 용액 5 mL를 넣어 3분간 방치 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성데이터는 단위 시료 질량당 비활성도(specific activity, unit/mg)로 표시하였다. 실험결과는 3회 반복측정한 후 평균±표준편차로 나타내었다.

pH 및 열안정성 분석

α-amylase의 최적 pH를 조사하기 위하여 0.05 mM potassium phosphate buffer를 pH 별로 조제하여 기질(1% soluble starch) 및 조효소액을 40°C에서 30분간 반응시켜 각각 α-amylase의 활성도를 측정하였다. 열안정성은 각각 25, 40, 60°C에서 30분간 처리한 후 돼지 췌장 기원의 α-

Table 1. Formulas for radish processed foods

Ingredients	Kakdugi	Danmooji	Radish pickle
Raw radish (g)	400	400	400
Red pepper powder (g)	14	-	-
Salt (g)	21	50	5
Sugar (g)	4	200	200
Vinegar (mL)	-	80	200
Water (mL)	-	200	200

amylase로 iodine법을 이용하여 열 안정성을 검토하였다.

무의 가공방법에 따른 α-amylase 활성 측정

무의 가공방법에 따른 α-amylase 활성을 비교하기 위하여 생무(radish), 깍두기(kakdugi), 단무지(danmooji), 초절임무(radish pickle) 및 익힌 무(cooked radish)를 제조하였다. 실험처리 조건은 Table 1과 같다. 실험에 사용된 무는 시중에서 구입한 무를 400 g씩 절단하여 사용하였다. 깍두기는 무의 겹질을 0.3~0.5 cm의 두께로 벗긴 다음 3×3×3 cm의 크기로 썰었다. 무 400 g에 소금(21 g)을 넣어 절인 후 6시간 방치하여 소금 맛을 충분히 들게 한 후 찬물에 행구었다. 행군 무에 고춧가루, 설탕, 소금을 넣어 간을 하고 모든 부위가 골고루 섞이도록 하였다. 하루 동안 실온에서 숙성시킨 후 사용하였다. 단무지는 무 400 g을 4등분하여 소금(45 g)을 모든 부위에 골고루 섞이게 하였다. 6시간 경과 후 생긴 소금물을 버리고 설탕(200 g), 물(200 mL), 식초(80 mL), 소금(5 g)을 배합한 후 끓인 혼합용액을 부어 2일간 상온에서 숙성시킨 후 사용하였다. 초절임무는 물(200 mL), 설탕(200 g) 및 식초(200 mL)를 배합한 혼합용액에 무 400 g을 0.2 cm의 두께로 슬라이스 하여 넣어준 후 1일간 상온에서 숙성시킨 후 사용하였다. 익힌 무는 90°C에 끓는 물에서 10분 동안 익혀서 사용하였다.

결과 및 고찰

무의 전처리조건에 따른 α-amylase 활성 측정

무의 건조 방법에 따른 α-amylase의 활성차이를 검토하기 위하여 동결건조 무와 열풍건조 무에 대하여 α-amylase 활성을 분석하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이, 생무(0.151 ± 0.011 unit/mg)와 동결건조 무(0.304 ± 0.060 unit/mg)에 비하여 열풍건조 무(0.035 ± 0.110 unit/mg)의 경우 α-amylase 활성이 거의 소실되는 것으로 나타났다. 따라서 이후의 α-amylase 활성 분석은 동결건조한 무 시료를 사용하여 시행하였다.

일반 재래종무 시료(23종)와 갯무(2종)를 각각 동결건조하여 α-amylase의 활성을 분석하여 비교한 결과, 무 뿌리와 무 줄기의 α-amylase의 활성이 각각 0.286 ± 0.092, 0.092 ± 0.428 unit/mg로 무 뿌리의 α-amylase 활성이 무 줄기의 α-amylase 활성에 비해 3.1배 높게 나타났다. 이것은 통계적으로 유의한 결과이었다(p<0.001).

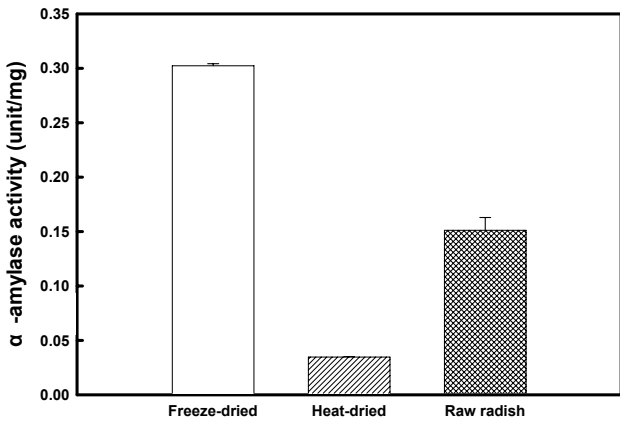


Fig. 1. α-amylase activity of freeze-dried (□), heat-dried (▨), and raw (▩) radish root.

pH 및 열안정성 측정

기존의 보고된 연구결과에서도 무 즙에 함유되어 있는 각종 효소(amylase, amidase, glycosidase)들의 최적 pH와 최적 온도는 각각 pH의 경우 5.2~5.8, 온도의 경우 55~60°C로서 그 이상이거나 이하이면 활성을 잃는 것으로 보고되었다(14-16). 동결건조한 시료 5 g을 다양한 pH 조건(pH 4~9)과 다양한 온도 조건(25~60°C) 하에 인큐베이션하면서 α-amylase 활성을 분석하였다.

Fig. 2(a)에서 보는 바와 같이 pH 4와 pH 7에서는 반응시간이 60분일 때까지 α-amylase 활성은 비교적 안정적으로 유지되었으며, 다만 pH 9와 같은 알칼리 조건에서는 pH 4와 pH 7과 같은 산성이나 중성 조건보다 낮은 활성을 보였다. 이는 Chung과 Hwang(18)이 보고한 바대로 α-amylase 활성이 pH 5에서 가장 높은 활성을 나타냈으며 알칼리 조건인 pH 11에서 가장 낮은 활성을 나타냈다는 보고와 일치하였다.

온도에 따른 α-amylase 활성을 분석한 결과, Fig. 2(b)에서 보는 바와 같이 25°C와 50°C에서 60분까지 높은 활성을 유지하였으나, 60°C에서는 시간이 지남에 따라 α-amylase

의 활성이 급격히 감소함을 보였다. 즉 60°C 이상의 가열처리 조건에서는 amylase의 활성을 잃는 것으로 사료된다. Chung과 Hwang(18)이 보고한 바, 토양 속 균주 *Alternaria alternata*의 α-amylase에 대한 온도의 영향은 20°C에서 80°C까지 10°C 간격으로 활성을 측정 한 결과 α-amylase의 활성은 40°C에서 가장 높았다. 반면 50°C로부터 그 이상의 온도에서는 α-amylase의 활성이 낮은 온도 대비로 20% 이상 감소됨을 보였다. 이는 본 연구에서와 같이 60°C 이상의 가열처리 조건에서는 amylase의 활성이 소실되는 점에서 일치한다. 결과적으로 무의 열처리 가공 시에는 그 처리 온도를 60°C 이하로 하는 것이 α-amylase 활성의 소실을 최소화 할 것으로 판단된다.

무의 가공에 따른 α-amylase 활성 측정

무의 다양한 가공 예라 할 수 있는 익힌 무(cooked radish), 깍두기(kakdugi), 단무지(danmooji), 초절임무(radish pickle)를 각각 조제하여 α-amylase 활성을 분석하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 α-amylase 활성은 생무, 깍두기, 단무지, 초절임무 및 익힌 무의 순으로 높았으며, 각각 0.091 ± 0.091 , 0.041 ± 0.087 , 0.017 ± 0.017 , 0.0031 ± 0.003 및 0.0018 ± 0.001 unit/mg이었다. 가공하지 않은 생무에서 가장 높은 활성을 보였고, 높은 온도(100°C)에서 열처리하여 조제한 익힌 무의 α-amylase 활성은 열에 의한 효소의 파괴로 인하여 가장 적은 활성을 보였다. 깍두기와 단무지로 가공한 무의 α-amylase 활성은 생무의 활성 대비로 각각 45.39%와 19.19%의 잔류 활성을 보였다. 또한 초절임무의 α-amylase 활성은 단무지, 깍두기에 비해서 α-amylase 활성이 거의 소실된 것으로 분석되었다. 단무지와 초절임무는 제조과정상 소금, 설탕 및 식초를 모두 처리하는 공통점을 갖고 있지만, 단무지에 비해 초절임무에는 소금 사용이 적은 대신 식초 사용량이 많다는 차이를 갖고 있다. 이상의 결과는 김치의 재료인 무에 존재하는 peroxidase, polygalacturonase 및 pectinesterase의 활성이 낮은 pH에서 감소되었다는 보고

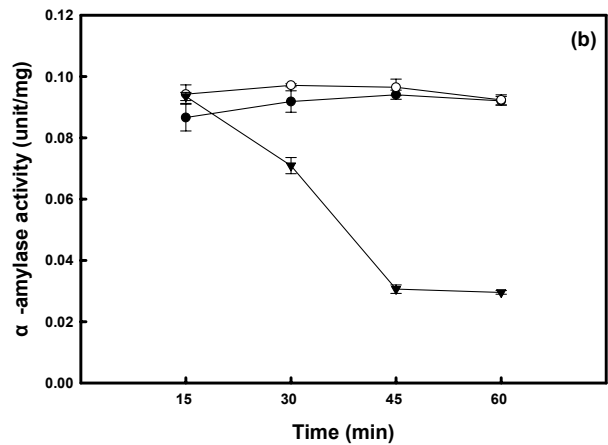
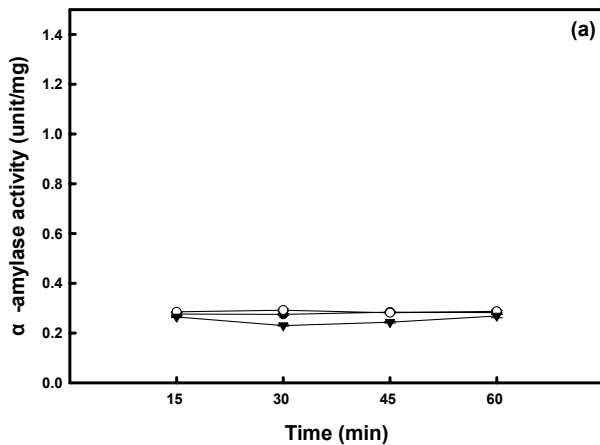


Fig. 2. α-amylase stability of radish at (a) various pHs (▼: pH 9, ○: pH 7, ●: pH 4) and (b) temperatures (●: 25°C, ○: 40°C, ▼: 60°C).

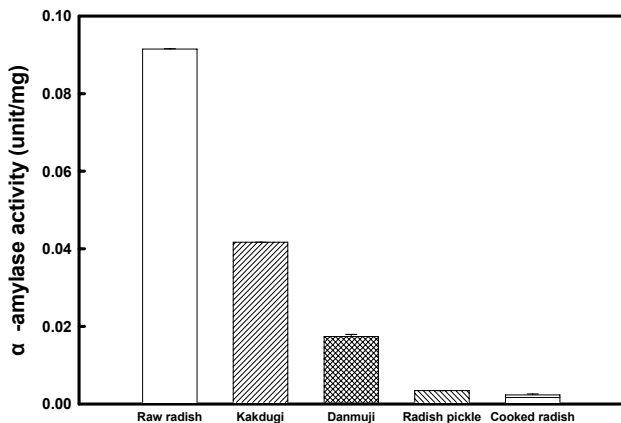


Fig. 3. α-amylase activity of radish after various treatments. □: raw radish, ▨: kakdugi, ▩: danmuji, ▪: radish pickle, ▤: cooked radish.

(14)와 일치하는 결과이었다. 이러한 실험결과를 토대로 무의 소화효소활성을 이용하고자 할 때에는 식초를 이용하여 가공식품을 만드는 것이 바람직하지 않을 것으로 사료된다.

요 약

소화 촉진 작용이 있다고 알려진 무의 건조방법, 온도, pH 등의 가공조건이 α-amylase 활성에 미치는 영향을 검토하였다. 동결건조 한 무 뿌리와 무 줄기의 α-amylase의 활성을 비교한 결과 무 뿌리가 무 줄기의 3.1배 높은 수준의 활성을 보였다. 무를 pH와 온도를 달리하여 안정성을 측정 한 결과, pH 범위가 4~7이며 온도가 25~40°C일 때 α-amylase 활성이 높았다. 무의 α-amylase는 산성이나 중성 조건에서 처리하고 60°C 이하의 온도로 가열처리하여야 활성을 유지하였다. 무를 깎두기와 단무지의 형태로 가공하였을 때 무의 α-amylase 잔류활성은 각각 15.39%와 19.193%이었고 초절임무에서는 α-amylase의 활성이 대부분 소실됨을 보였다. 결과적으로, 무의 소화효소인 α-amylase 활성은 열과 pH 등의 가공조건에 의해 크게 영향을 받는 것을 알 수 있었으며 60°C 이하의 온도에서 열처리하는 것과 중성이나 약산성에서 α-amylase 효소의 활성도가 유지되는 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업(1-4, 2005-2007

년)지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사를 드립니다.

문 헌

1. Korea Society of Food and Cookery Science. 2003. *Dictionary of Food Cookery Science*. Kyomunsa, Korea. p 100-101.
2. Lee SE. 2006. Investigation of cooking usage according to the physicochemical and textural characteristics in *Nabakkimchi* with different radish cultivars. *Korean J Culinary Res* 12: 284-298.
3. Ryu KD, Chung DH, Kim JK. 2000. Comparison of radish cultivars for physicochemical properties and *Kakdugi* preparation. *Korea J Food Sci Technol* 32: 681-690.
4. Kim MR, Lee HS. 1989. Purification and characterization of radish myrosinase. *Korean J Food Sci Technol* 21: 136-144.
5. Sim KH, Kang KS, Seo KI. 1993. Purification and enzymatic properties of myrosinase abstracted from radish. *J Korean Agric Chem Soc* 36: 86-92.
6. Pack YK, Kim MH, Park MY, Kim SR, Choe IW. 1999. Physicochemical and functional properties of turnip. *J Korean Soc Food Sci* 16: 568-576.
7. You TJ. 1993. *Source Book of Food*. Seo-Woo, Seoul. p 168-169.
8. Woon BS, Lee KS. 1985. *Food Ingredients*. Su-Hak Sa, Seoul. p 83-84.
9. Cho JS. 1987. *Food Ingredients*. Moon-Un Dang, Seoul. p 150-151.
10. Kim CM, Beak WS, Kang CG. 2001. *Chinese Pictorial Book*. Academy Books, Seoul. p 123.
11. 한국식품공업협회 한국식품연구소. 1994. 가공식품의 원료로 사용할 수 있는 동식물범위에 관한 연구. 한국식품공업협회. p 71.
12. Chi HJ. 1998. *Chinese Standard Annotation*. Korea Medical Index Corp., Seoul. p 142.
13. Baek HH, Lee CH, Woo DH, Park KH, Pek UH, Lee KS, Nam SB. 1989. Prevention of pectinolytic softening of *Kim-chi* tissue. *Korean J Food Sci Technol* 21: 149-153.
14. Park HO, Kim KH, Yoon S. 1990. A study of characteristics of pectinesterase polygalacturonase and peroxidase in *Kimchi* materials. *Korean J Dietary Culture* 5: 443-448.
15. Robyt JF. 1984. *Starch*. Academic Press, New York. p 87-118.
16. Kim YS. 1983. Studies on the producing amylase by the *Aspergillus* sp. *MS Thesis*. Jungang University. p 1-30.
17. Bergmeyer HU, Bernt E. 1974. Determination of glucose oxidase and peroxidase. In *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer HU, ed. Academic Press, New York, San Francisco and London. p 1205-1215.
18. Chung S, Hwang B. 1996. Characterization of *Alternaria alternata* α-amylase. *Korean J Mycology* 24: 8-16.

(2009년 1월 23일 접수; 2009년 5월 7일 채택)