

효소적 분해에 의한 배추부산물 hemicellulose 분획으로부터 수용성 식이섬유소 함유 가수분해물의 생산

박서연 · 윤경영*
영남대학교 식품영양학과

Production of Enzymatic Hydrolysate Including Water-soluble Fiber from Hemicellulose Fraction of Chinese Cabbage Waste

Seo Yeon Park and Kyung Young Yoon*
Department of Food and Nutrition, Yeungnam University

Abstract This study was performed to determine the optimal hydrolysis conditions for the production of hydrolysates, including water-soluble dietary fiber from Chinese cabbage, with commercial enzymes. The optimal pH and temperature for hydrolysis of the hemicellulose fraction were pH 5.0 and 40°C, and optimal enzyme concentrations were 45 units and 21 units for Shearzyme plus and Viscozyme L, respectively. The yields of the hydrolysate including the water-soluble dietary fiber from the hemicellulose fraction by Shearzyme plus and Viscozyme L were 22.64 and 24.73%, respectively, after a 72 h reaction. The molecular weight distribution of alcohol-insoluble fiber was characterized by gel chromatography; degradation of hemicellulose increased with increasing reaction time. Our results indicate that the hemicellulose fraction was degraded to water-soluble dietary fiber by enzymatic hydrolysis, and its hydrolysate could be utilized as new water-soluble food materials.

Keywords: soluble dietary fiber, Chinese cabbage, optimal condition, enzymatic hydrolysis, recycling

서 론

최근 서구화된 식생활 습관으로 인해 육류 및 지방의 섭취가 증가하고, 식품의 가공기술의 발달로 영양이 좋아지면서 비만의 증가와 함께 대장암의 발생률이 빠르게 증가하고 있는 추세이다. 대장암의 예방을 위한 식이요법으로 섬유소의 섭취를 권장하고 있으며, 특히 당류를 기본물질로 하는 수용성 식이섬유는 보수성의 특성으로 여러 가지 생리작용을 제공하여 다양한 식품에 첨가되어 사용되고 있다(1).

수용성 식이섬유는 보수성이 강해 물과 결합하여 gel matrix를 형성함으로써 소장 내용물의 점도를 증가시키고, 다른 영양소와 성분이 확산되는 것을 억제하여 흡수를 조절함으로써 포도당의 흡수를 지연하여 혈당상승을 억제한다. 또한 장내에서 담즙산을 흡착하여 체외로 배출시켜 혈중 콜레스테롤의 농도를 저하시킨다(2). 식품 소재로서 수용성 식이섬유는 음료, 수프 등의 액상식품에 직접 사용되거나 밀가루, 유지 등의 증점제로 이용되고 있으며, 제과, 제빵 등의 고체 식품에만 이용되는 불용성 식이섬유에 비해 식품산업에서의 이용성이 매우 크다(3). 이런 특성 때문

에 불용성 식이섬유를 다량 함유한 소재에 화학적·물리적 처리를 하여 수용성 식이섬유의 함량을 증가시켜 기능적 특성을 향상시키려는 연구가 이루어지고 있다(4).

배추(*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*)는 십자화과에 속하는 식물로 한국, 중국, 일본 등 동양 3국에서 중요한 채소로 재배되고 있으며, 생육 적온이 18-22°C로 서늘한 기후에서 생육하는 호냉성 채소이다. 배추는 우리나라에서 소비량이 가장 많은 채소로, 신선한 맛과 독특한 조직감, 무기물 및 식이섬유가 풍부하여 알칼리성 식품으로서 가치를 인정받아 왔다(5). 뿐만 아니라 펠룰류, 플라보노이드, 함황 화합물 등이 풍부하여 항산화 효과가 좋다(6). 배추 생산량은 약 267,000톤으로 국내에서 소비량이 가장 많고 주로 김치를 담그는 재료로 이용된다(7). 외식산업과 단체급식의 활성화로 김치의 대량 생산이 증가하면서 배추의 유통 과정과 김치 제조 과정에서 발생하는 부산물의 양도 증가하고 있다(8). 부산물의 약 40%는 폐기되고 있으며, 그 중 일부만 동물 사료로 이용되고 있다.

이와 같이 식품을 가공하는 과정에서 각종 부산물이 생산되는데, 이들은 대부분 불용성 상태로 존재하여 식품 소재로의 이용 가능성이 제한된다. 따라서 가공 부산물의 활용 방법으로 효소를 첨가하여 수용화시킨 효소 가수분해물의 연구가 진행되고 있다(9). 농산 부산물의 주요 성분인 cellulose와 hemicellulose 같은 고분자 화합물들을 저분자로 전환하기 위해서는 가수분해과정이 필수적인데, 최근에는 생물학적인 방법인 효소가수분해가 주로 사용되고 있다. 효소 분해를 이용한 연구로는 옥수수 대, 오렌지 껍질 등의 부산물을 효소 처리하여 에탄올, 올리고당 등의 새로운 물질을 만들어 내는 연구(10,11)부터 혼합효소를 이용해 cellulose

*Corresponding author: Kyung Young Yoon, Department of Food and Nutrition, Yeungnam University, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-749, Korea
Tel: 82-53-810-2878
Fax: 82-53-810-4768
E-mail: yoonky2441@ynu.ac.kr
Received July 11, 2014; revised November 24, 2014;
accepted November 27, 2014

계의 바이오매스를 효과적으로 분해하는 연구(12)와 탁주박의 가수분해 및 효소 분해물의 특성을 연구(13)한 결과가 있다. 이 외에도 효소를 이용하여 당근박(14), bergamot 껍질(15)로부터 식이섬유와 올리고당을 생산한 연구 결과가 있다. 최근에는 배추 부산물의 일종인 배추 겉잎으로부터 항산화능을 가진 식이섬유 생산 등(16) 배추 부산물 이용의 다양한 방안이 모색되고 있으나(17,18), 세포벽 분해효소를 이용한 배추 부산물의 활용에 관한 연구는 없다.

따라서 본 연구에서는 농산 부산물의 일종인 배추 겉잎의 이용성을 증진시키기 위하여 배추의 불용성 식이섬유소의 일종인 hemicellulose를 가수분해하여 기능성 식품소재 및 식품첨가물로서의 이용성이 높은 수용성 식이섬유를 함유한 가수분해물을 생산하고자 하였다. 먼저 이를 위해 효소에 의한 hemicellulose 분획의 최적 분해 조건을 설정하고, 생산된 식이섬유의 분자량을 변화를 측정하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 배추(*Brassica campestris L. ssp. pekinensis*)는 전남 해남에서 재배한 국내산 품종으로 외관과 크기가 균일한 것을 사용하였다. 구입한 배추는 세척 후 60°C의 dry oven (VS-1202D3, Vision Scientific Co., Seoul, Korea)에서 건조하고 Food Mixer (FM-681C, Hanil, Incheon, Korea)를 이용하여 마쇄한 후 45 mesh (No. 60, Chung Gye Indus. MFG. Co., Seoul, Korea)로 체질하였다. 이후 -40°C deep freezer (MDF-415, Sanyo, Tokyo, Japan)에 보관하면서 실험에 사용하였다.

배추부산물의 hemicellulose 분획의 효소 분해를 위해 xylanase의 활성을 가지는 Shearzyme plus (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark)와 arabanase, β -glucanase, hemicellulase, xylanase의 활성을 나타내는 Viscozyme L (Novozymes A/S)을 사용하였다.

배추의 hemicellulose의 분획

Hemicellulose는 식물 세포벽에서 cellulose를 제외한 다당류를 총칭하며 알칼리에 의해 용해되는 특성을 가진다. 따라서 배추로부터 hemicellulose를 분리하기 위해 Xu 등(19)의 방법에 따라 알칼리를 이용하여 추출하였다. 즉, 배추 30 g당 1 M의 NaOH 300 mL를 가하여 homogenizer (AM-1, Nihonseiki Kaisha LDD, Nissei, Japan)로 180 rpm으로 3분간 균질화한 다음, 100 mL의 1 M NaOH를 첨가하여 25°C, shaking incubator (KMC-8480SF, Vision Scientific Co., Seoul, Korea)를 이용하여 200 rpm으로 3시간 교반하였다. 반응액을 원심분리(Supra-21K, Hanil, Incheon, Korea)하여 얻은 상층액을 hemicellulose 분획으로 하였다. 상층액은 -40°C deep freezer (MDF-415, Sanyo)에 보관하여 수용성 식이섬유소 함유 가수분해물 생산을 위한 효소 분해에 사용하였다.

효소활성 측정

Hemicellulase의 일종인 Shearzyme plus, Viscozyme L은 50 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0)에 녹인 0.1% xylan (Sigma, St. Louis, MO, USA) 용액 0.4 mL에 0.1% 효소액을 가해 shaking waterbath (BS-11, Jeio Tech, Seoul, Korea)에서 최적 활성을 나타내는 조건인 25°C에서 30분간 반응시킨 후, DNS법(20)으로 환원당량을 측정하였다. 이 때 표준물질은 xylose (Tokyo Chemical, Industry Co., Tokyo, Japan)로 하여 작성한 검량선으로부터 환산하였다. Shearzyme plus와 Viscozyme L의 활성 단위는 25°C

에서 1분 동안에 1 μ mol xylose를 분해하는 효소량을 1 unit으로 하였다.

Hemicellulose 분획의 효소적 분해 조건 설정

배추의 hemicellulose 분획을 분해하기 위한 효소의 최적 분해 조건을 설정하기 위해 pH (3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0), 온도(30, 40, 50, 60°C) 및 효소농도(Shearzyme plus; 15, 30, 45, 60 unit, Viscozyme L; 7, 14, 21, 28 unit)를 변화시키면서 가수 분해물인 xylose의 생성량을 DNS법을 이용해 측정하였다. pH는 hemicellulose 분획물 20 mL에 HCl를 첨가해 각각의 pH를 조절한 후 25 mL 메스플라스크에 증류수로 정용하여 실험에 사용하였다. 분해율은 반응한 hemicellulose 분획 1 L 중 효소 반응 후 생성된 환원당량으로 하였다.

수용성 식이섬유 함유 가수분해물의 수율 측정

알칼리 전처리된 시료로부터 수용성 식이섬유를 제조하기 위해 효소 가수분해를 시행하였으며, hemicellulose 분획의 최적 분해 조건하에서 72시간까지 효소 분해를 실시하였다. 즉, pH 5.0으로 조절한 500 mL의 hemicellulose 분획을 최적 분해 온도인 50°C의 shaking incubator (KMC-8480SF, Vision Scientific Co., Daejeon, Korea)에서 1시간 동안 incubation 한 뒤, Shearzyme plus (45 unit)와 Viscozyme (21 unit)을 첨가하여 72시간 효소 분해하였다. 각 효소를 이용하여 반응 시간에 따른 수율을 측정하기 위해 24시간 간격으로 분해액을 채취하였고, 90°C의 waterbath에서 3분간 가열하여 효소를 불활성화시켰다. 다음 분해액을 여과하여 미분해된 잔사를 제거한 후 얻은 여액을 동결건조 하여 수용성 식이섬유를 생산하였다. 수용성 식이섬유의 수율은 효소 반응 후 분해물의 건조 중량을 효소 반응 전 반응물의 건조 중량에 대한 비로 나타내었다.

$$\text{수율 (\%)} = \frac{\text{효소 반응 후 분해물의 건조 중량}}{\text{효소 반응 전 반응물의 건조 중량}} \times 100$$

알코올 불용성 식이섬유의 분리

효소분해에 의해 생산된 수용성 식이섬유 중 분자량이 다소 큰 수용성 식이섬유를 얻고자 Chau와 Haung(21)의 방법에 따라 알코올에 대한 용해도 차이를 이용하여 알코올 불용성 식이섬유를 분리하였다. 즉, 최적 조건으로 효소 가수분해한 후 동결 건조한 hemicellulose 분획에 60°C로 가열한 80% ethanol을 분획의 20배에 해당하는 양을 가해 용해시켰다. Hemicellulose 분획 중 알코올에 용해된 부분을 제거하고 남은 분획을 알코올 불용성 식이섬유로 하였으며, 이를 동결하여 분자량 분포 측정을 위한 시료로 사용하였다.

겔 크로마토그래피에 의한 알코올 불용성 식이섬유의 분자량 분포 측정

알코올 불용성 식이섬유의 분자량 분포를 측정하기 위해 Yoon 등(14)의 방법에 준하여 gel permeation chromatography를 이용해 분자량의 분포를 측정하였다. 즉, 동결 건조한 50 mg의 알코올 불용성 식이섬유를 10 mL 증류수에 용해한 후, Sephacryl S-200 column (2.5×30 cm, Pharmacia LKB Biotechnology, Uppsala, Sweden)에 1.5 mL/min의 유속으로 평형화된 column에 loading 하여 전개시켰다. 용출액은 분획 collector (Foxy Jr, Teledyne Isco, Lincoln, NE, USA)를 이용해 4 mL씩 분취한 후 각 분획으로부터 당

함량을 phenol-sulfuric acid법(22)에 의해 측정하였으며, 그 수치를 chromatogram으로 나타내었다. 즉, 분획 1 mL에 5% phenol 용액 1 mL를 가해 vortex한 후 진한 황산 5 mL를 넣어 실온에 20분 동안 방치한 다음 480 nm에서 흡광도를 측정하여 총당 함량에 대한 chromatogram을 작성하였다. 분자량 분포는 분자량이 12,000, 25,000, 50,000, 80,000 Da인 dextran 표준품(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하여 비교하였다. 먼저 위의 조건에 따라 표준품을 gel chromatography한 결과, 분자량 12,000 Da dextran은 fraction number 82-92 사이에서 peak가 확인되었으며, 분자량 25,000 Da dextran은 fraction number 60-68 사이에서 peak가 확인되었다. 또 분자량 50,000 Da dextran은 fraction number 30-41, 분자량 80,000 Da는 fraction number 15-23 사이에서 peak가 확인되었다.

통계분석

실험결과는 3회 반복으로 수행한 평균값과 표준편차를 나타냈고, 각 실험결과에 대한 통계분석은 SPSS (Ver. 19, Chicago, IL, USA) 통계 프로그램을 이용하여 일원배치 분산분석을 시행하였다. 각 실험군 평균치간의 유의적 차이는 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결과 및 고찰

Shearzyme plus를 이용한 hemicellulose 분획의 최적 분해 조건

식이섬유를 함유한 가수분해물의 생산을 위한 pH의 최적 조건을 설정하기 위하여 pH를 3.0에서 7.0까지 조절하여 효소 분해하였고, 분해물의 환원당량을 측정된 결과는 Table 1과 같다. 분해물의 환원당 함량은 반응 72시간까지 유의적으로 증가하였으며, 대체적으로 72시간에서 효소 분해에 의한 생성된 환원당량이 가장 높았다. 0시간과 24시간에서의 반응액은 pH 3.0, 4.0, 5.0에서 다른 pH에 비해 유의적으로 높은 분해율을 나타내었다. 48시간에서는 pH 4.0과 pH 5.0에서 각각 14.63, 14.76 mg/L의 환원당

량을 나타내었으며, 72시간에서는 pH 5.0에서 15.91 mg/L로 가장 높은 환원당량을 나타내었다. Sz wajgier 등(23)은 Shearzyme plus가 pH 5.0에서 최적 활성을 나타낸다고 보고하였으며, 이는 본 결과와 유사하였다. 따라서 Shearzyme plus를 이용한 hemicellulose의 최적 분해 조건으로 pH를 5.0로 선정하였다.

최적 조건으로 설정된 pH 5.0에서 온도에 의한 효소 분해율은 Table 2와 같다. 30°C에서 60°C까지 10°C 간격으로 시간별 분해율을 측정된 결과 72시간까지 유의적으로 증가하였고, 모든 시간대에서 40°C가 가장 높은 환원당함량을 나타내었다. 특히 40°C에서 48시간은 17.09 mg/L, 72시간은 17.22 mg/L로 다른 온도에 비해 비교적 높은 환원당 함량을 나타내어 효소분해 최적 반응의 조건임을 확인하였다. 밀겨와 껍질로부터 효소 분해에 의한 arabinoxylan을 생산한 Escarnot 등(24)의 연구에 따르면 Shearzyme plus의 활성은 40°C에서 최적이며, 24시간 분해 시 xylose와 glucose의 함량이 각각 48.6, 17.7%로 다른 효소 분해물에 비해 높은 당량이 검출되었다고 보고해 본 연구의 결과와 일치하였다. 따라서 hemicellulose 분획으로부터 Shearzyme plus에 의한 식이 섬유를 함유한 가수분해물을 생산하기 위한 최적 분해 온도는 40°C로 선정되었다.

Hemicellulose 분획의 효소 반응 최적 조건을 설정하기 위해 pH 5.0, 40°C에서 효소량에 따른 분해율을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 시간별 분해된 반응물의 환원당 함량은 72시간까지 시간이 지날수록 증가하였다. 특히, 45 unit에서의 환원당량은 0시간에서 12.18 mg/L, 24시간에서 12.68 mg/L, 48시간에서 15.15 mg/L, 72시간에서 15.64 mg/L로 다른 효소량에 비해 유의적으로 높은 당 함량을 나타내었다. 그러나 72시간의 경우, 효소 분해물의 당량은 효소 농도에 따른 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 따라서 hemicellulose 분획으로부터 식이섬유를 생성하기 위한 효소농도는 분해 시간에 관계없이 가장 높은 분해율을 나타낸 45 unit으로 결정하였다.

Viscozyme L을 이용한 hemicellulose 분획의 최적 분해 조건

Hemicellulose 분획의 식이섬유 생산을 위한 최적 pH를 설정하

Table 1. Effects of pH on enzymatic hydrolysis of hemicellulose fraction by Shearzyme plus

(reducing sugar, mg/L)

Time (h)	pH				
	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0
0	12.16±0.15 ^{cA}	12.33±0.03 ^{cA}	12.25±0.15 ^{dA}	9.50±0.07 ^{dC}	10.15±0.16 ^{cB}
24	13.68±0.31 ^{bA}	13.45±0.03 ^{bA}	13.36±0.06 ^{cA}	10.06±0.15 ^{cC}	10.73±0.16 ^{bB}
48	13.95±0.14 ^{bB}	14.63±0.09 ^{aA}	14.76±0.05 ^{bA}	10.74±0.05 ^{bC}	10.74±0.06 ^{bC}
72	14.90±0.13 ^{aB}	14.78±0.18 ^{aB}	15.91±0.07 ^{aA}	14.39±0.27 ^{aC}	11.44±0.06 ^{aD}

Mean±SD (n=3).

Values with different superscript capital letters in the row are significantly different at $p<0.05$.

Values with different superscript small letters in the column are significantly different at $p<0.05$.

Table 2. Effects of temperature on enzymatic hydrolysis of hemicellulose fraction by Shearzyme plus

(reducing sugar, mg/L)

Time (h)	Temperature (°C)			
	30	40	50	60
0	12.93±0.02 ^{dB}	13.40±0.06 ^{dA}	11.81±0.11 ^{dD}	12.07±0.04 ^{dC}
24	15.58±0.10 ^{cA}	15.57±0.06 ^{cA}	14.98±0.07 ^{cC}	15.15±0.08 ^{bB}
48	15.19±0.02 ^{bD}	17.09±0.15 ^{bA}	15.83±0.09 ^{bB}	15.57±0.15 ^{bC}
72	16.42±0.05 ^{aC}	17.22±0.07 ^{aA}	16.70±0.12 ^{aB}	16.64±0.05 ^{aB}

Mean±SD (n=3). Values with different superscript capital letters in the row are significantly different at $p<0.05$.

Values with different superscript small letters in the column are significantly different at $p<0.05$.

Table 3. Effects of enzyme concentration on enzymatic hydrolysis of hemicellulose fraction by Shearzyme plus (reducing sugar, mg/L)

Time (h)	Enzyme concentration (unit)			
	15	30	45	60
0	11.90±0.18 ^{dB}	12.15±0.08 ^{dA}	12.18±0.06 ^{dA}	12.15±0.11 ^{dA}
24	12.39±0.08 ^{cB}	12.44±0.05 ^{cB}	12.68±0.06 ^{cA}	12.70±0.11 ^{cA}
48	14.91±0.14 ^{bB}	14.99±0.02 ^{bAB}	15.15±0.03 ^{bA}	15.09±0.11 ^{bAB}
72	15.5±0.13 ^{aNS}	15.5±0.16 ^a	15.64±0.10 ^a	15.67±0.11 ^a

Mean±SD (n=3). Values with different superscript capital letters in the row are significantly different at p<0.05. Values with different superscript small letters in the column are significantly different at p<0.05. NS, not significant.

Table 4. Effects of pH on enzymatic hydrolysis of hemicellulose fraction by Viscozyme L (reducing sugar, mg/L)

Time (h)	pH				
	3	4	5	6	7
0	12.08±0.05 ^{cC}	12.47±0.03 ^{cB}	12.15±0.11 ^{dC}	11.53±0.01 ^{bD}	12.69±0.08 ^{aA}
24	15.61±0.05 ^{bA}	14.92±0.04 ^{bB}	15.52±0.20 ^{cA}	11.74±0.22 ^{bD}	11.83±0.11 ^{bC}
48	15.80±0.11 ^{aB}	16.22±0.08 ^{aA}	16.08±0.04 ^{bA}	12.65±0.12 ^{aC}	12.66±0.18 ^{aC}
72	15.93±0.07 ^{aB}	16.52±0.11 ^{aA}	16.67±0.06 ^{aA}	12.80±0.08 ^{aC}	12.85±0.17 ^{aC}

Mean±SD (n=3). Values with different superscript capital letters in the row are significantly different at p<0.05. Values with different superscript small letters in the column are significantly different at p<0.05.

Table 5. Effects of temperature on enzymatic hydrolysis of hemicellulose fraction by Viscozyme L (reducing sugar, mg/L)

Time (h)	Temperature (°C)			
	30	40	50	60
0	13.70±0.16 ^{dA}	13.58±0.19 ^{dA}	12.03±0.00 ^{dB}	12.01±0.11 ^{cB}
24	18.11±0.06 ^{cA}	18.07±0.10 ^{cA}	17.29±0.23 ^{cB}	16.68±0.11 ^{bC}
48	18.42±0.11 ^{bA}	18.56±0.06 ^{bA}	18.39±0.04 ^{bA}	17.50±0.11 ^{aB}
72	19.36±0.14 ^{aAB}	19.39±0.04 ^{aA}	19.10±0.08 ^{aB}	17.52±0.10 ^{aC}

Mean±SD (n=3). Values with different superscript capital letters in the row are significantly different at p<0.05. Values with different superscript small letters in the column are significantly different at p<0.05.

기 위하여 pH를 3.0에서 7.0까지 조절해 효소 분해하여 환원당량을 측정 한 결과는 Table 4와 같다. 분해물의 환원당 함량은 0시간부터 72시간까지 유의적으로 증가하였으며, 72시간의 경우 생성된 환원당량이 가장 높았다. 72시간 분해 후 pH 4.0과 5.0이 각각 16.52, 16.67 mg/L로 다른 pH에 비해 유의적으로 높은 수치를 나타내었다. Winkler 등(25)은 자트로포(*Jatropha curcas*) 종자유를 추출하기 위해 효소 처리한 결과, 물 추출에 비해 48% 높은 수율을 나타내었으며, pH 4.5에서 가장 높은 수율을 보였다고 보고하여 본 연구 결과와 유사하였다. 따라서 Viscozyme L을 이용한 hemicellulose 분해를 위한 pH는 유의적인 차이는 없으나 분해율이 가장 높은 pH 5.0을 최적 조건으로 설정하였다.

pH 5.0로 선정된 최적 조건에서 온도에 의한 효소 분해율은 Table 5와 같다. 시간별 효소 분해된 환원당량을 측정 한 결과 72시간까지 유의적으로 증가하였고, 72시간에서 가장 높은 분해율을 나타내었다. 특히 40°C에서 모든 시간대의 환원당량이 유의적으로 높게 나타났다. 72시간에는 40°C에서의 효소 분해된 환원당 함량이 19.39 mg/L로 30°C에서의 당량과 유사한 경향을 보였으나 다른 온도에 비해 높은 함량을 나타냈다. 풋사과에서 폴리페놀을 추출하기 위한 효소 반응의 최적 조건을 설정하는 연구에서는 반응 표면 분석법을 이용하여 40-50°C가 최적 분해 조건임을 확인하였고, 효소 분해 시 총 폴리페놀이 2배, caffeic acid가

13배 이상으로 증가하였다(26). 이상의 결과로 Viscozyme L에 의한 hemicellulose 분해를 위한 온도는 40°C로 선정하였다.

Viscozyme L에 의한 hemicellulose 분획의 최적 분해 조건을 설정하기 위해 pH 5.0, 40°C에서 효소농도에 따라 분해된 당 함량은 Table 6에 나타내었다. 분해물의 환원당 함량은 72시간까지 시간이 지남에 따라 증가하였고, 72시간에는 28 unit에서 17.55 mg/L로 7과 14 unit에 비해 유의적으로 높은 분해율을 보였으나, 환원당량이 17.43 mg/L인 효소량 21 unit와는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 효소의 효율성에 따른 식이섬유의 생산량을 감안하여 효소 농도를 21 unit으로 설정하였다. 대두 부산물인 okara를 Viscozyme L로 가수분해 하여 대두 올리고당을 제조한 결과(27), 10 unit의 효소 첨가가 올리고당의 최대 수율을 보여 본 연구와 약간의 차이가 있으나 이는 기질의 특성과 전처리 과정의 차이에서 오는 결과로 생각된다. 따라서 Viscozyme L에 의한 hemicellulose의 분획의 최대 효소량을 21 unit으로 결정하였다.

수용성 식이섬유 함유 가수분해물의 수율

Hemicellulose의 Shearzyme plus 및 Viscozyme L처리에 의한 수용성 식이섬유소 함유 가수분해물의 수율을 측정 한 결과는 Table 7에 나타내었다. Shearzyme plus 처리에 의해 얻은 수용성 식이섬유함유 가수분해물의 수율은 효소 처리 시간과 비례하는

Table 6. Effects of enzyme concentration on enzymatic hydrolysis of hemicellulose fraction by Viscozyme L (reducing sugar, mg/L)

Time (h)	Enzyme concentration (unit)			
	7	14	21	28
0	11.64±0.15 ^{cb}	12.07±0.06 ^{ca}	11.96±0.15 ^{da}	11.92±0.07 ^{da}
24	13.37±0.13 ^{bd}	14.21±0.10 ^{cc}	14.61±0.07 ^{cb}	15.05±0.10 ^{ca}
48	16.21±0.14 ^{ab}	16.85±0.13 ^{ba}	16.64±0.14 ^{ba}	16.73±0.31 ^{ba}
72	16.13±0.10 ^{ac}	17.25±0.14 ^{ab}	17.43±0.11 ^{aAB}	17.55±0.14 ^{aA}

Mean±SD ($n=3$).

Values with different superscript capital letters in the row are significantly different at $p<0.05$.

Values with different superscript small letters in the column are significantly different at $p<0.05$.

Table 7. Yields of enzymatic hydrolysate including soluble fiber from hemicellulose fraction of Chinese cabbage (%)

Time (h)	Shearzyme plus		Viscozyme L	
	AISF	Total	AISF	Total
0	0.37±0.05 ^c	7.34±1.19 ^d	0.37±0.05 ^c	7.34±1.19 ^c
24	2.14±0.46 ^b	11.24±0.58 ^c	1.89±0.42 ^b	15.18±0.46 ^b
48	3.36±0.85 ^{ab}	16.60±0.95 ^b	4.15±0.78 ^a	22.10±1.52 ^a
72	4.10±0.26 ^a	22.64±0.60 ^a	4.70±0.54 ^a	24.73±1.08 ^a

Mean±SD ($n=3$).

AISF, alcohol-insoluble dietary fiber

Values with different superscript letters in the column are significantly different at $p<0.05$.

것으로 나타났으며, 72시간 동안 효소 처리한 후의 수율은 22.64%로 효소 처리전의 수율인 7.34% 보다 15.3%가 증가하였다. 알코올 불용성 식이섬유의 수율은 가수분해 전 0.37%로 매우 낮았으나 24시간 가수분해 후 2.14%로 증가하였으며, 72시간 가수분해 후에는 4.10%로 크게 증가하였다.

Viscozyme L에 의한 수용성 식이섬유의 수율도 Shearzyme plus에 의한 가수분해와 비슷한 경향으로 효소처리에 의해 크게 증가하였다. 특히, 가수분해 24시간 후 15.18%로 Shearzyme plus 처리에 비해 약 3% 높은 수율을 보였다. 72시간 가수분해 후에는 24.73%로 시간이 지날수록 증가하였으나 48시간 가수분해 후 22.10%와 유의적인 차이는 보이지 않았다. 또한 알코올 불용성 식이섬유의 수율은 24시간 후 1.89%로 Shearzyme plus에 비해 수율이 다소 낮았으나 48시간 가수분해 후에는 4.15%로 크게 증가하였다. 72시간 가수분해 후에는 4.70%로 증가하였으나 48시간 처리후의 수율과 유의적인 차이는 없었다.

이상의 결과에서 가수분해 시간이 증가할수록 수용성 식이섬유의 수율을 증가하였으며, Viscozyme L 처리 시 Shearzyme plus 처리에 비해 높은 수율을 보였다. 이러한 결과는 Shearzyme plus 및 Viscozyme L의 cellulase, arabanase, β -glucanase, hemicellulase, xylanase의 다양한 작용으로 인해(23) 불용성의 hemicellulose가 저분자화 되어 수용성의 식이섬유로 전환됨을 확인할 수 있었다. 또한 이들 효소에 의해 glucose, arabinose, xylose, galactose, mannose, arabinose 등의 단당류와 xylo-oligosaccharides, galacto-oligosaccharides 등의 다양한 올리고당이 생성되어(28) 수율증가에 크게 영향을 준 것으로 판단된다.

알코올 불용성 식이섬유의 분자량 분포

Shearzyme plus에 의해 생성된 알코올 불용성 식이섬유의 gel chromatogram은 Fig. 1과 같다. 효소 분해되지 않은 식이섬유의 분자량은 25,000-50,000 Da에서 가장 큰 peak를 나타냈으며, 분자량 80,000 Da에서 다음으로 큰 peak를 나타냈다. 분자량 12,000-25,000 Da에서도 작은 peak가 확인되었다. 효소 처리 후 24시간

이 지났을 때는 분자량 25,000-50,000 Da에서 가장 크고 넓은 peak가 나타났고, 50,000-80,000 Da에서 작은 peak가 나타내어 효소 분해가 진행되고 있음을 확인하였다. 48시간에서는 분자량 50,000-80,000 Da 사이에 peak 하나와 25,000-50,000 Da에서 peak가 확인되어 24시간 분해 후 chromatogram과 유사하였으며, peak가 낮고 주위에 여러 개의 작은 peak가 나타났다. 72시간에서는 분자량 12,000 Da 이하의 범위에 peak가 명확히 나온 것을 제외하고 12,000-80,000 Da의 넓은 범위에서 여러 개의 작은 peak가 확인되었다.

Viscozyme L에 의해 생성된 알코올 불용성 식이섬유의 gel chromatography의 결과는 Fig. 2와 같다. 효소 처리가 되지 않은 0시간에서의 식이섬유의 분자량은 50,000 Da 부근에서 가장 큰 peak를 나타냈으며, 분자량 80,000 Da에서 다음으로 큰 peak를 나타냈다. 효소 분해 후 24시간이 지났을 때도 분자량 50,000 Da 부근의 25,000-50,000 Da에서 가장 큰 peak가 나타났고, 50,000-80,000 Da에서 다음으로 큰 peak가 나타났다. 48시간에서는 24시간과 큰 차이가 없었으나 분자량 12,000 Da 이하에서 peak가 확인되어 저분자량의 당이 생성되고 있음을 확인하였다. 72시간에는 분자량 12,000-80,000 Da의 전범위에서 여러 개의 작은 peak를 확인하였고, 12,000 Da 이하의 분자량에서 확인된 peak가 증가함을 확인하여 효소의 분해로 인한 당의 저분자화가 활발히 진행됨을 알 수 있었다. 식용달팽이 유래 조효소의 분해반응을 통해 당근으로부터 얻은 수용성 식이섬유소를 sephacryl S-200 column에 주입하여 분획한 결과에 따르면(14), 효소 처리 1일째부터 10,000 Da 부근에서 peak를 나타냈으며 반응 4일째에는 10,000 Da 이하의 peak가 크게 나타나 본 연구와 유사함을 확인하였다.

요 약

본 연구에서는 농산부산물인 배추 겉잎의 이용성을 증진시키기 위하여 배추의 불용성 식이섬유인 hemicellulose를 분획한 후

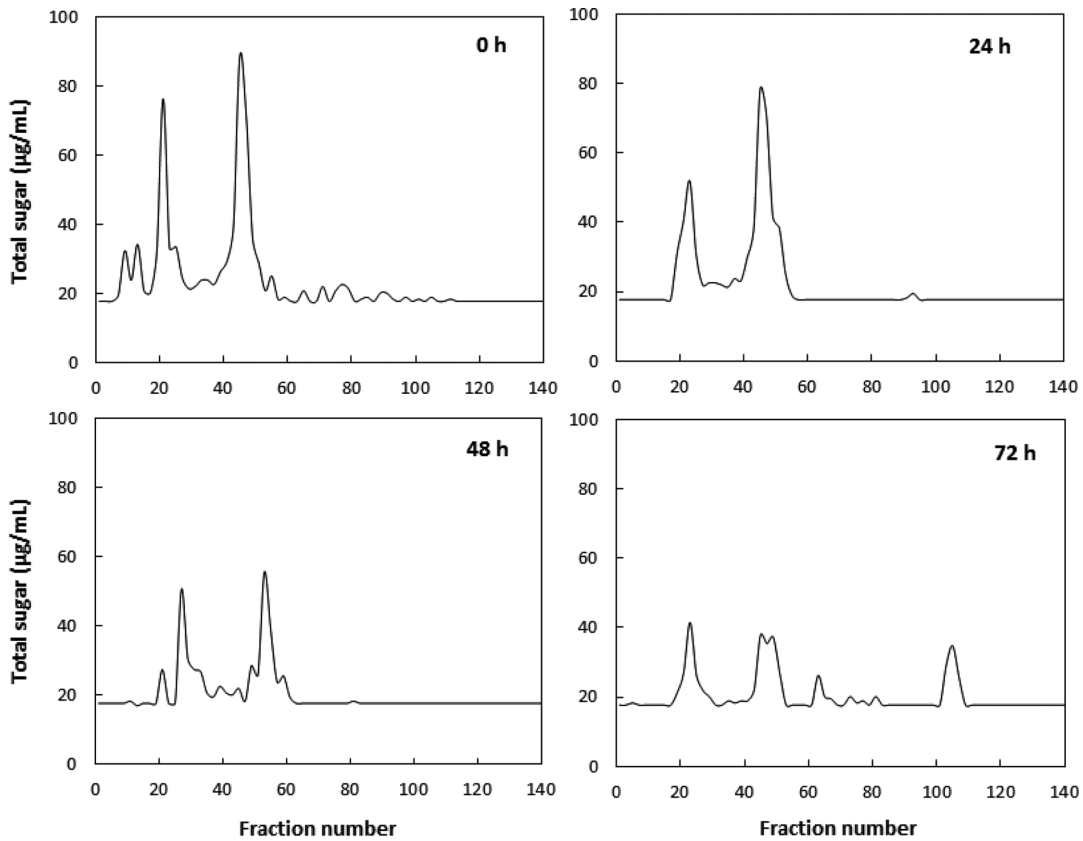


Fig. 1. Chromatogram of alcohol insoluble fiber obtained from hemicellulose fraction by Shearzyme plus. Column size: 2.5×30 cm, flow rate: 1.5 mL/min. Elution solvent: distilled water, Fraction volume: 4 mL.

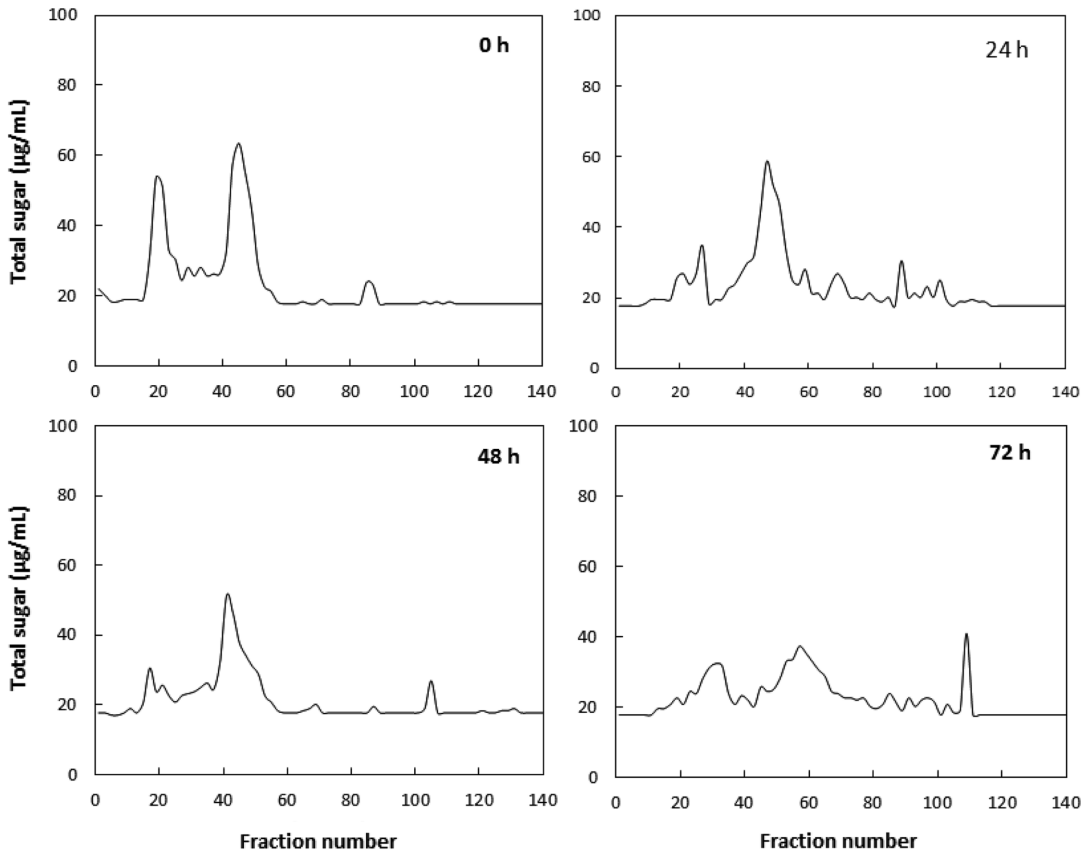


Fig. 2. Chromatogram of alcohol insoluble fiber obtained from hemicellulose fraction by Viscozyme L. Column size: 2.5×30 cm, flow rate: 1.5 mL/min. Elution solvent: distilled water, Fraction volume: 4 mL.

효소 처리하여 수용성 식이섬유를 함유한 가수분해물을 생산하고자 하였다. 이를 위해 다양한 pH, 온도, 기질농도 및 효소농도에서 hemicellulose 분획을 효소 처리한 후 환원당 함량을 측정된 결과, pH 5.0, 40°C, 효소농도 45 unit (Shearzyme plus), 21 unit (Viscozyme L)의 조건으로 가수분해 했을 때 가장 높은 분해율을 나타내었다. 선정된 조건으로 72시간 가수분해하여 수율을 측정 한 결과, Shearzyme plus 및 Viscozyme L 처리 시 각각 22.64% 와 24.73%의 수율을 보였다. 또한 알코올 불용성 식이섬유의 겔 크로마토그래피에 의한 분자량 분포를 확인한 결과, Shearzyme plus 및 Viscozyme L에 의해 생성된 식이섬유는 반응 시간이 증가함에 따라 저분자화 되는 것을 확인 할 수 있었다. 이상의 결과에서 배추 부산물 hemicellulose 분획을 효소로 가수분해함으로써 불용성 식이섬유가 저분자화 되어 수용성 식이섬유로 전환됨을 확인하였으며, 생산된 식이섬유소 함유 가수분해물은 기능성 식품 및 식품가공 분야에 다양하게 이용될 수 있을 것으로 판단 된다.

References

- Hur JW, Park YA, Sohn SK, Lee SM, Jung EJ, Lee KY, Kim SJ, Ha WK. Effect of yogurt enriched water-soluble fiber on functional constipation. *J. Korean Soc. Coloproctol.* 23: 312-320 (2007)
- Yangilar F. The application of dietary fibre in food industry: structural features, effects on health and definition, obtaining and analysis of dietary fibre: a review. *J. Food Nutr. Res.* 1: 13-23 (2013)
- Andon SA. Applications of soluble dietary fiber. *Food Technol.* 41: 74-75 (1987)
- Ning L, Villota R, Artz WE. Modification of corn fiber through chemical treatments in combination with twin-screw extrusion. *Cereal Chem.* 68: 632-636 (1991)
- Shim YH, Ahn GJ, Yoo CH. Characterization of salted chinese cabbage in relation to salt content, temperature and time. *Korean J. Food Cook. Sci.* 19: 210-215 (2003)
- Hwang ES, Hong E, Kim GH. Determination of bioactive compounds and anti-cancer effect from extracts of Korean cabbage and cabbage. *Korean J. Food Nutr.* 25: 259-265 (2012)
- Ministry of Agriculture and Forestry (MAF). Statistics of vegetables production amount. Available from: <http://www.mifaff.go.kr>. accessed Dec. 10, 2011.
- Kim SH, Yang JY, Kang SA, Chun HK, Park KY. Current state and improvement for Korean Kimchi industry. *Food Indus. Nutr.* 12: 7-13 (2007)
- Shin HH, Lee SH, Park BS, Rhim TS, Hwang JK. Solubilization of whole grains by extrusion and enzyme treatment. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 849-855 (2003)
- Aden A, Foust T. Technoeconomic analysis of the dilute sulfuric acid and enzymatic hydrolysis process for the conversion of corn stover to ethanol. *Cellulose* 16: 535-545 (2009)
- Martinez M, Yanez R, Alonso JL, Parajo JC. Chemical production of pectic oligosaccharides from orange peel wastes. *Ind. Eng. Chem. Res.* 49: 8470-8476 (2010)
- Chena BY, Chena SW, Wang HT. Use of different alkaline pretreatments and enzyme models to improve low-cost cellulosic biomass conversion. *Biomass Bioenerg.* 39: 182-191 (2012)
- Kim CW, Choi HJ, Han BK, Yoo SS, Kim CN, Kim BY, Baik MY. Derivatization of rice wine meal using commercial proteases and characterization of its hydrolysates. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 729-734 (2011)
- Yoon KY, Cha MH, Shin SR, Kim KS. Enzymatic production of a soluble-fibre hydrolyzate from carrot pomace and its sugar composition. *Food Chem.* 92: 151-157 (2005)
- Mandalari G, Bennett RN, Kirby AR, Lo Curto RB, Bisignano G, Waldron KW, Faulds CB. Enzymatic hydrolysis of flavonoids and pectic oligosaccharides from bergamot (*Citrus bergamia Risso*) peel. *J. Agr. Food Chem.* 54: 8307-8313 (2007)
- Nilnakara S, Chiewchan N, Devahastin S. Production of antioxidant dietary fibre powder from cabbage outer leaves. *Food Bioprod. Process.* 87: 301-307 (2009)
- Choi MH, Park YH. Production of yeast biomass using waste Chinese cabbage. *Biomass Bioenerg.* 25: 221-226 (2003)
- Choi MH, Ji GE, Koh KH, Ryu YW, Jo DH, Park YH. Use of waste Chinese cabbage as a substrate for yeast biomass production. *Bioresour. Technol.* 83: 251-253 (2002)
- Xu F, Sun JX, Liu CF, Sun RC. Comparative study of alkali- and acidic organic solvent-soluble hemicellulosic polysaccharides from sugarcane bagasse. *Carbohydr. Res.* 341: 253-261 (2006)
- Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31: 426-428 (1959)
- Chau CF, Huang YL. Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibers prepared from the peel of *Citrus sinensis* L. Cv. Liucheng. *J. Agr. Food Chem.* 51: 2615-2618 (2003)
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356 (1956)
- Szwajgier D, Pielecki J, Targoski Z. The release of ferulic acid and feruloylated oligosaccharides during wort and beer production. *J. Inst. Brew.* 111: 372-379 (2005)
- Escarnot E, Aguedo M, Paquot M. Enzymatic hydrolysis of arabinoxylans from spelt bran and hull. *J. Cereal Sci.* 55: 243-253 (2012)
- Winkler E, Foidl N, Gbitz GM, Staubmann R, Steiner W. Enzyme-supported oil extraction from *Jatropha curcas* seeds. *Appl. Biochem. Biotech.* 97: 63-65 (1997)
- Zheng HZ, Hwang IW, Kim SK, Lee SH, Chung SK. Optimization of carbohydrate-hydrolyzing enzyme aided polyphenol extraction from unripe apples. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 53: 342-350 (2010)
- Wu J, Wu Y, Yang C, Wang Z. Enzymatic preparation and characterization of soybean oligosaccharides from okara. *Procedia Eng.* 37: 186-191 (2012)
- Yoon KY, Woodams EE, Hang YD. Enzymatic production of pentoses from the hemicellulose fraction of corn residues. *LWT-Food Sci. Technol.* 39: 388-392 (2006)