

메밀껍질의 효소분해에 의한 수용성 식품섬유소의 생산 및 기능적 특성

임희진 · 박보연 · 윤경영*
영남대학교 식품영양학과

Production of Soluble Dietary Fiber of Buckwheat Hulls by Enzymatic Depolymerization and its Characteristics

Hee Jin Im, Bo Yeon Park, and Kyung Young Yoon*
Department of Food and Nutrition, Yeungnam University

Abstract This study was conducted for the production of water-soluble dietary fiber (SDF) from buckwheat hulls by using Celluclast or Viscozyme. The functionality of this SDF, including antioxidant activity, glucose- and bile acid-retardation effects *in vitro*, was measured. SDF yields from cellulose and hemicellulose fractions were 60.5 and 123.7 g/kg dry matter, respectively. Analysis of molecular weight distribution of SDF by using gel chromatography showed that SDF degradation increased with increase in reaction time. The antioxidant activity of SDF obtained by enzymatic hydrolysis was higher than that of dietary fiber without enzyme treatment. SDF showed higher retardation effects on glucose and bile acid than the sample without dietary fiber did. The results of this study suggested that SDF produced from buckwheat hull by enzymatic hydrolysis is a good source of functional food material because of its high antioxidant activity and glucose- and bile acid-retardation effects.

Keywords: buckwheat, glucose-retardation effects, bile acid-retardation effects, antioxidant activity, soluble dietary fiber

서 론

식품섬유는 '인간의 소화효소에 의해 가수분해 되지 않는 식물성 다당류와 리그닌(lignin)의 합'으로 정의되며 주로 셀룰로스(cellulose), 헤미셀룰로스(hemicellulose), 펙틴(pectin) 등으로 이루어져 있다(1). 식품섬유는 물리적·화학적 특징에 따라 크게 수용성 식품섬유(soluble dietary fiber) 및 불용성 식품섬유(insoluble dietary fiber)로 구분되며, 이들은 서로 다른 생리효과를 가진다(2). 수용성 식품섬유는 음식물의 점성 증가, 내당능 개선 효과와 혈청 콜레스테롤 조절에 유효하다. 반면, 불용성 식품섬유는 분변량 증가, 분변의 장내 통과시간 촉진 및 대장암의 예방 등에 효과적인 것으로 보고된다(3). 이와 같이 식품섬유의 기능성이 입증된 후 식품섬유와 이를 이용한 식품의 수요가 계속 증가하고 있다(4). 특히 수용성 식품섬유는 고체 식품뿐만 아니라 액체 식품에도 직접 사용할 수 있어 불용성 식품섬유보다 활용도가 높아 식품에 다양하게 이용될 수 있다(5).

식물조직의 세포벽은 셀룰로스와 헤미셀룰로스, 펙틴 등의 식품섬유, 소량의 당단백질 및 미량의 페놀계 물질로 구성되어 있으며, 이들은 복잡한 사슬로 연결되어 있다(6). 농작물 수확 또는 식품 가공 시 발생하는 쉼, 껍질, 박, 잎, 씨 부산물들은 대부분 세포벽으로 이루어져 있고, 자체의 천연 생리활성물질을 함유하

고 있어 이들을 기능성 소재로서 활용할 수 있는 가능성이 크다(7). 최근 연구에 의하면 식물 가공부산물들은 식품섬유의 우수한 소재일뿐만 아니라, 값이 저렴하고 대량 이용이 가능하여 기능성 소재로 주목을 받고 있으며, 현재 일부는 산업적으로 활용되고 있다(7-9).

식물 가공부산물을 활용하려면 이들의 주요 성분인 셀룰로스, 헤미셀룰로스와 같은 고분자 화합물들은 저분자로 전환하기 위한 가수분해과정이 필요한데, 물리적, 화학적 방법의 가수분해 공정은 2차 오염, 에너지 소모와 시설비가 크다는 단점이 있어 최근에는 생물학적인 방법인 효소가수분해가 많이 이용되고 있다(10). 효소분해는 효소가 특정한 기질에만 촉매반응을 하고 화학적 처리방법에 비해 분해생성물 및 부산물이 적어 환경오염을 방지하며 반응되지 않은 물질은 배출되어 다른 용도로 사용할 수 있으며, 시설비가 적게 들어 경제적으로 용이하다는 장점이 있다(11).

메밀(Buckwheat; *Fagopyrum esculentum*)은 마디풀과에 속하는 한해살이풀로서 탄수화물, 단백질, 필수 아미노산, 불포화 지방산 및 무기물과 비타민을 함유하고 있다(12). 또한 메밀은 루틴(rutin) 등 다양한 페놀화합물을 함유하고 있으며, 동맥경화 예방, 혈압 강하 및 당뇨병 치료에 유효한 것으로 인정되고 있다(13). 이와 같이 메밀의 생리활성기능과 영양학적 가치가 알려지면서 메밀의 수요가 증가하고 있다(14). 그러나 대부분 메밀은 알곡 형태로 소비되고 있어 매년 약 1000톤의 메밀껍질 부산물이 발생되고 있으며, 이는 메밀의 40% 가량을 차지하고 있으며 다른 곡류의 부산물 발생비율에 비해 높은 수준이다(15,16). 메밀껍질은 알곡에 비해 퀘세틴(quercetin)과 루틴(rutin) 등의 유효성분을 더 많이 함유하고 있음에도 불구하고 대부분 폐기되고 있어(17), 이를 기능성 식품 소재로 활용하기 위한 방법 모색이 필요하다.

*Corresponding author: Kyungyoung Yoon, Department of Food and Nutrition, Yeungnam University, Gyeongsan 38541, Korea
Tel: +82-53-810-2878
Fax: +82-53-810-4768
E-mail: yoonky2441@ynu.ac.kr
Received September 3, 2015; revised October 7, 2015;
accepted October 7, 2015

따라서 본 연구에서는 농산 부산물인 메밀껍질로부터 효소적 가수분해에 의해 기능성이 높은 수용성 식품섬유를 생산하고자 하였다. 또한 효소분해에 의해 얻은 수용성 식품섬유의 특성을 확인하고자 분자량 분포 및 산화방지, 포도당 및 담즙산 흡수 지연 효과를 측정하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 메밀껍질은 경북 봉화에서 구입한 것으로 크기와 외관이 균일한 것을 사용하였다. 구입한 메밀껍질은 이물질 제거 및 세척 후 동결 건조하고, 마쇄 후 체질하여 -40°C 초저온냉동고(MDF-435, Sanyo, Tokyo, Japan)에 냉동보관하면서 실험에 사용하였다.

메밀껍질로부터 수용성 식품섬유소 생산을 위해 사용된 효소는 셀룰로스가수분해효소(cellulase) 활성을 가지는 Celluclast 1.5 L (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark)와 아라비나스가수분해효소(arabanase), 베타글루칸가수분해효소(β -glucanase), 헤미셀룰로스가수분해효소(hemicellulase), 자일란가수분해효소(xylanase)의 활성을 나타내는 Viscozyme L (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark)을 사용하였다.

셀룰로스가수분해효소와 자일란가수분해효소 활성은 카복시메틸셀룰로스(carboxymethylcellulose, CMC, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 자일란(xylan, Sigma-Aldrich)을 기질로 하여 생산된 환원당량을 DNS법(18)으로 측정하여 나타내었다. 즉 셀룰로스가수분해효소의 활성단위는 1분 동안 pH 5.0, 50°C 에서 CMC로부터 포도당 1 μmol 을 분해하는 효소량을 1 Unit으로 하였으며, 자일란가수분해효소의 활성은 pH 5, 40°C 에서 1분 동안 자일란으로부터 자일로스(xylose) 1 μmol 을 분해하는 효소량을 1 Unit으로 나타내었다.

메밀껍질의 셀룰로스 및 헤미셀룰로스의 분획

식물 세포벽에서 셀룰로스를 제외한 다당류를 총칭하는 헤미셀룰로스는 강한 알칼리에 용해되는 특성을 가진다. 따라서 Xu 등(19)의 방법을 이용하여 메밀껍질로부터 헤미셀룰로스를 분리하였다. 즉, 메밀껍질 30 g당 300 mL의 1 M NaOH를 가하여 균질기(homogenizer, AM-1, Nissei, Tokyo, Japan)로 180 rpm으로 3분간 균질화한 후, 1 M의 NaOH 100 mL를 첨가하고 진탕배양기(shaking incubator, KMC-8480SF, Vision scientific Co., Daejeon, Korea)를 이용하여 25°C 에서 200 rpm으로 3시간 동안 교반하였다. 반응액은 원심분리하여 상층액과 잔사로 분리한 후, 상층액은 1 M HCl로 중화(pH 7.0)하고 잔사는 증류수로 pH 7.0이 될 때까지 증류수로 세척하였다. 이 때, 상층액은 헤미셀룰로스 분획으로, 잔사는 셀룰로스 분획으로 하였으며, 동결건조(FD-1, Eylea, Tokyo, Japan) 후 40°C 초저온냉동고(MDF-415, Sanyo)에 보관하면서 식품섬유 생산을 위한 효소분해에 사용하였다.

효소분해

메밀껍질로부터 추출된 셀룰로스 분획과 헤미셀룰로스 분획으로부터 수용성 식품섬유를 생산하기 위하여 효소분해를 실시하였다. 즉, 셀룰로스 분획은 pH 5.0인 50 mM 아세트산 완충용액(sodium acetate buffer) 350 mL에 셀룰로스 분획 14 g을 가한 후 40°C 진탕배양기(KMC-8480SF, Vision scientific Co.)에서 24시간 동안 팽창시켰다. 그 후, 0.1% Celluclast 0.25 mL (20 Unit)을 가하여 같은 온도에서 150 rpm으로 0, 24, 48, 72시간동안 효소분

해하였다. 헤미셀룰로스 분획은 pH 5.0으로 조절한 헤미셀룰로스 분획 250 mL를 40°C 에서 1시간 동안 진탕배양기(KMC-8480SF, Vision scientific Co.)에서 배양(incubation)한 후, Viscozyme 30 Unit을 첨가하여 효소분해(0, 24, 48, 72시간)하였다. 효소 반응을 끝낸 분해액은 90°C 에서 5분간 가열하여 효소를 불활성화 시킨 후 원심분리 하였으며, 이때 얻어진 상층액을 동결건조 하여 수용성 식품섬유소로 사용하였다.

알코올 불용성 식품섬유 분리

효소분해 후 동결건조 된 수용성 식품섬유에 함유된 저분자의 당을 제거하기 위하여 Chau와 Haung(20)의 방법을 이용하여 알코올 불용성 식품섬유를 분리하였다. 즉, 최적 조건으로 효소분해한 후 동결 건조한 셀룰로스 분획과 헤미셀룰로스 분획의 20 배에 해당하는 60°C 의 80% 에탄올(ethanol)을 가해 용해시킨 후 여과하여 에탄올에 용해된 저분자의 당을 제거하였다. 이 때 저분자 당류 제거 후 셀룰로스 분획 및 헤미셀룰로스 분획으로부터 얻은 수용성 식품섬유를 각각 SDFC 및 SDFH로 하였다. 수용성 식품섬유의 수율은 메밀껍질의 건조 중량(kg) 당 효소 반응 후 얻은 SDFC 및 SDFH의 건조 중량(g)으로 나타내었다.

겔 크로마토그래피에 의한 분자량 분포 측정

메밀껍질로부터 생산된 식품섬유의 분자량 분포는 Yoon 등(21)의 방법에 따라 겔투과크로마토그래피(gel permeation chromatography)를 이용하여 측정하였다. 즉, 수용성 식품섬유 20 mg을 증류수 3 mL에 용해한 후, 1.5 mL/min의 유속으로 평형화된 Sephacryl S-200 column (2.5×30 cm, Pharmacia LKB Biotechnology, Uppsala, Sweden)에 loading 하여 전개시키고, 용출액은 분획수집기(fraction collector, Foxy Jr, Teledyne Isco, Lincoln, NE, USA)를 이용해 4 mL씩 분취하였다. 분취한 각 분획의 당 함량을 페놀황산법(phenol-sulfuric acid법) (22)을 변형하여 측정하였다. 즉, 분획 0.5 mL에 5% phenol 용액 0.5 mL를 가하고, 2.5 mL의 진한 황산을 넣어 20분간 실온에 방치한 후 470 nm에서 흡광도를 측정하여 총당 함량에 대한 크로마토그램(chromatogram)을 작성하였다.

이때 표준품은 분자량이 5000, 12,000, 25,000, 50,000, 80,000인 텍스트란(dextran, Sigma-Aldrich)을 사용하여 비교하였다. 먼저 위의 조건에 따라 텍스트란을 gel chromatography 한 결과, 분자량 5,000 텍스트란은 분획(fraction) No. 32-40 사이(최고점 분획 No. 36)에서 피크(peak)가 확인되었으며, 12,000 텍스트란은 분획 No. 24-30 사이(최고점 분획 No. 26)에서 피크가 확인되었으며, 분자량 25,000 텍스트란은 분획 No. 18-22 사이(최고점 분획 No. 20)에서 피크가 확인되었다. 또 분자량 50,000 텍스트란은 분획 No. 16-20(최고점 분획 No. 18), 분자량 80,000은 분획 No. 12-18 사이(최고점 분획 No. 14)에서 피크가 확인되었다.

수용성 식품섬유의 산화방지 활성 측정

메밀껍질로부터 생산된 수용성 식품섬유의 산화방지 활성은 전자공여능, ABTS⁺ 라디칼 소거능, Fe²⁺ 킬레이팅 활성을 시료 농도별로 측정된 뒤, 각 시험에서 라디칼을 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도인 IC₅₀ (50% inhibition concentration)을 구하여 나타내었다.

식품섬유의 전자공여능은 Blois(23)의 방법으로 측정하였다. 안정한 유리라디칼인 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH, Sigma-Aldrich)에 대한 시료 용액과의 전자공여 효과로써 반응에 의해 DPPH 라디칼이 감소하는 정도를 측정하였다. 각 식품섬유를 농

도별로 제조하여 시험관에 0.5 mL 취하고, 0.1 mM DPPH 용액 1 mL를 가하여 10초간 혼합하였다. 이를 37°C에서 30분간 반응시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 소거활성은 Re 등(24)의 방법을 일부 변형하여 실험하였다. ABTS 7 mM과 과황산칼륨(potassium persulfate) 2.45 mM을 증류수에 용해하여 12-16시간 동안 암소에 방치하여 ABTS 양이온(cation) 라디칼(ABTS^{•+})을 형성시킨 다음 80% 에탄올을 이용하여 이 용액이 734 nm에서 0.700±0.002의 흡광도 값을 갖도록 희석하였다. 증류수에 희석한 50 µL의 시료를 시험관에 가하고 희석된 ABTS^{•+} 용액 3 mL를 첨가하여 실온에서 6분간 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Fe²⁺ 킬레이팅 활성은 Dinis 등(25)의 방법을 수정하여 측정하였다. 식품섬유를 증류수에 녹여 농도별로 1 mL 취한 뒤, 2 mM 염화철(FeCl₂)과 5 mM 페로진(ferrozine) [3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4',4''-disulfonic acid; Sigma]을 각각 25 µL씩 첨가하고 vortex mixing 하였다. 이를 10분간 실온에 방치 한 다음 562 nm에서 흡광도를 측정하였다.

in vitro 법에 의한 포도당 흡수지연 효과

유리상태의 포도당은 투석막을 통과하나 고분자 물질과 흡착한 포도당은 통과하지 못하는 원리를 이용한 Adiotomre 등(26)의 방법에 준하여 투석 외액의 포도당 농도를 분석하여 포도당 흡수 지연 효과를 측정하였다. 생체 소장막의 조건과 가장 유사한 투석막(D7884, Sigma, M.W. cut off ≤1,200)을 10 cm로 잘라 0.1% 아자이드소듐(sodium azide, Sigma-Aldrich) 용액에 24시간 동안 담귀 전처리한 후 사용하였다. 투석막의 한쪽 끝을 실로 단단히 묶어 밀봉한 후 투석막 내부에 메밀껍질로부터 생산된 수용성 식품섬유 0.2 g를 넣고, 포도당 36 mg을 용해시킨 0.1% 아자이드소듐 용액 6 mL를 넣었다. 반대쪽 투석막 끝도 실로 밀봉한 250 mL 용량의 뚜껑이 있는 용기에 넣어 14시간 수화시켰다. 대조군으로는 시료를 넣지 않고 포도당을 녹인 아자이드소듐 용액만 넣은 것으로 하였다. 또한, 메밀껍질로부터 생산된 수용성 식품섬유소 대신 CMC (Sigma-Aldrich)와 펙틴(pectin, Fluka-biochemika, Buchs, Switzerland)을 비교 표준시료로 사용하였다. 수화 종류 후, 용기에 100 mL의 0.1% 아자이드소듐 용액 첨가한 다음 37°C 진탕탕온수조(shaking water bath, BS-11, Jeio-Tech, Seoul, Korea)에서 100 rpm 24시간 동안 반응시키면서 일정시간 간격으로 투석 외액을 1 mL씩 취해 DNS법으로 포도당 함량을 측정하였다.

in vitro 법에 의한 담즙산 흡수 지연 효과

담즙산 흡수 지연 효과는 투석막 내의 담즙산이 투석막 외부로 유출되는 원리를 이용한 Adiotomre 등(26)의 방법에 따라 측

정하였다. 10 cm로 자른 투석막을 0.1% 아자이드소듐 용액에 24시간 담귀 후 사용하였다. 투석막 한쪽 끝을 묶어 밀봉한 후 메밀껍질로부터 생산된 수용성 식품섬유 0.2 g과 0.1% 아자이드소듐가 용해된 50 mM 인산완충용액(phosphate buffer, pH 7.0) 6 mL에 1 L당 타우로콜산(taurocholic acid, TCL, Tokyo, Japan)가 15 mM이 되도록 넣고, 투석막을 밀봉하여 250 mL의 용기에 넣어 14시간 수화시켰다. 대조군은 타우로콜산 용액만 넣은 것으로 사용하였고, 포도당 흡수 지연 효과와 동일하게 CMC (Sigma-Aldrich)와 펙틴(Fluka-biochemika)을 비교 표준시료로 사용하였다. 수화 후, 시료에 50 mM 인산완충용액(pH 7.0)에 용해된 0.1% 아자이드소듐 용액 100 mL를 첨가하고 37°C 진탕탕온수조(BS-11, Jeio-Tech)에서 100 rpm으로 24시간 반응시켰다.

투석 외액의 타우로콜산의 함량은 Boyd 등(27)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 1 mL의 투석 외액에 5 mL의 70% H₂SO₄ 용액을 넣고 5분간 반응시킨 후, 0.25% 푸르푸랄(furfural) 용액 1 mL를 가하여 실온에 60분 동안 방치하여 최대로 발색한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

본 실험결과는 3반복으로 수행된 평균값과 표준편차로 나타냈고, 각 실험결과에 대한 통계분석은 SPSS (Ver. 21, Chicago, IL, USA) 통계 프로그램을 이용하여 p<0.05 수준에서 일원배치 분산분석법을 시행하였으며, 각 실험군 평균치간의 유의적 차이는 던칸시험(Duncan's multiple range test)으로 검증하였다.

결과 및 고찰

수용성 식품섬유의 수율

Celluclast 및 Viscozyme의 가수분해에 의해 메밀껍질의 셀룰로스 및 헤미셀룰로스 분획으로부터 생산된 수용성 식품섬유의 수율을 측정된 결과는 Table 1과 같다. 셀룰로스 분획의 경우 효소분해 전 식품섬유의 함량은 2.4 g/kg이었으며, 효소처리 24시간 후 5.4 g/kg으로 약 2.2배의 수율 증가를 보였다. 이후 분해 시간이 증가함에 따라 수율도 증가하여 72시간 후 수율은 6.1 g/kg로 효소처리 전에 비해 약 2.5배의 증가를 보였다. Viscozyme 효소분해에 의해 헤미셀룰로스 분획으로부터 생산된 수용성 식품섬유의 양은 효소처리 전 84.3 g/kg이었으며, 분해시간이 증가함에 따라 유의적으로 증가하여 72시간 분해 후 식품섬유의 수율은 123.7 g/kg로 약 1.47배 증가하였다. 메밀껍질로부터 생산된 총 수용성 식품섬유의 수율은 효소분해 전 86.7 g/kg이었으며, 분해 시간이 증가함에 따라 총 수율도 유의적으로 증가하여 72시간 효소분해 후 총 수율은 129.8 g/kg으로 나타났다. 이는 Celluclast 및 Viscozyme은 식물세포벽 복합분해효소로써 셀룰로스가수분해효

Table 1. Yields of soluble dietary fiber from buckwheat hull by enzymatic hydrolysis

Hydrolysis time (h)	Yields (g/kg) (increase ratio, %)		
	SDFC	SDFH	Total
0	2.4±0.1 ^c (100.0)	84.3±2.2 ^d (100.0)	86.7±0.2 ^d (100.0)
24	5.4±0.4 ^b (222.4)	104.4±3.6 ^c (123.9)	109.8±3.4 ^c (125.5)
48	5.7±0.5 ^{ab} (236.5)	112.9±1.8 ^b (133.9)	118.6±1.6 ^b (137.8)
72	6.1±0.2 ^a (251.0)	123.7±2.9 ^a (146.7)	129.8±3.1 ^a (149.6)

SDFC, soluble dietary fiber produced from the cellulose fraction by enzymatic hydrolysis; SDFH, soluble dietary fiber produced from the hemicellulose fraction by enzymatic hydrolysis.

Mean±SD (n=3).

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

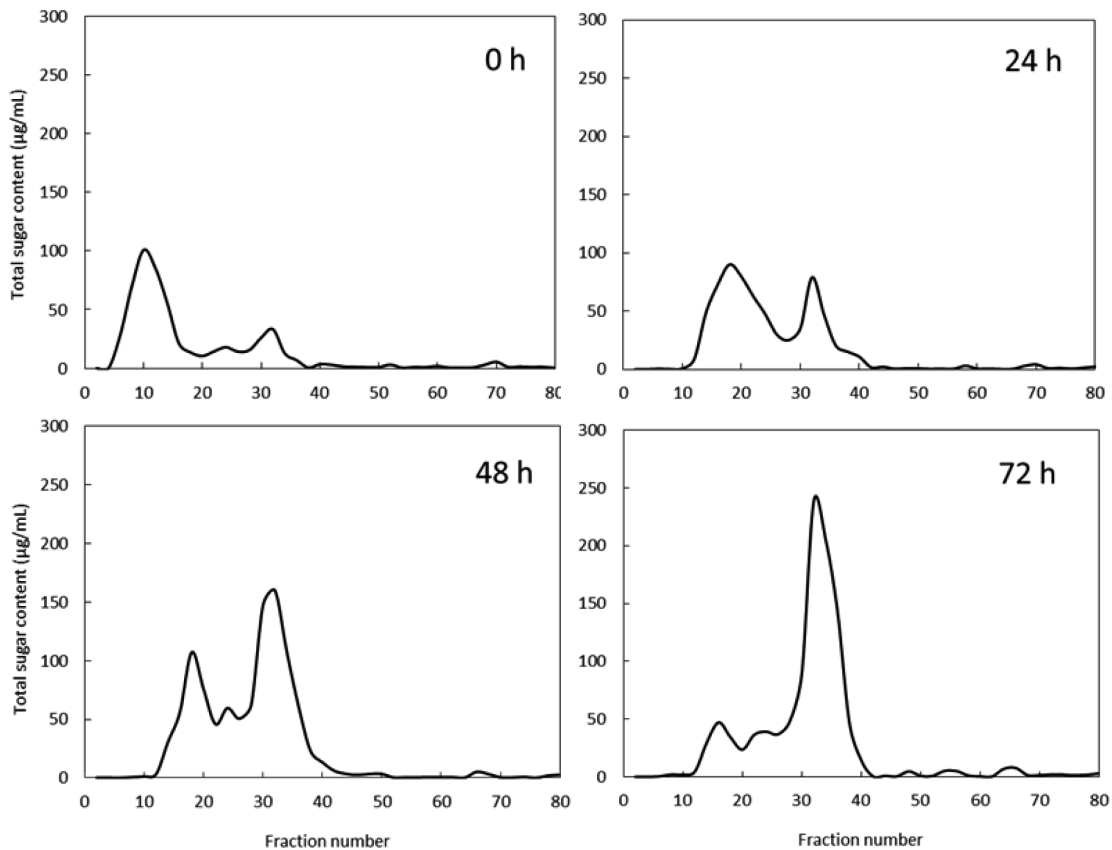


Fig. 1 Chromatograms of soluble dietary fiber produced from cellulose fraction by enzymatic hydrolysis. Column size, 2.5×30 cm; flow rate, 1.5 mL/min; elution solvent, distilled water; fraction volume, 4 mL

소, 헤미셀룰로스가수분해효소, 자일란가수분해효소 등이 식물의 세포벽에 존재하는 불용성의 고분자물질 물질들을 분해하여 가용화함으로써 수율의 향상을 가져온 것으로 판단된다(28).

분자량 분포

Fig. 1은 셀룰로스 분획의 효소분해에 의해 생산된 수용성 식품섬유를 Sephacryl S-200 column에 주입하여 분획한 후 분자량 추이를 크로마토그램으로 나타낸 결과이다. 효소처리 하지 않은 SDFC는 분자량 80,000 부근에서 큰 피크와 분자량 5,000-12,000과 25,000-80,000에서 각각 작은 피크가 나타났다. 효소처리 24시간이 지난 후 분자량 25,000-80,000 그리고 12,000-5,000에서 각각 큰 피크가 나타나 효소에 의해 SCFC의 분해가 진행되고 있음을 알 수 있었다. 효소분해 48시간 후 25,000-80,000의 피크 크기가 작아진 반면 12,000-5,000에서 큰 피크가 나타나 24시간에서 확인되었던 피크들의 분해가 일어났음을 확인하였다. 효소분해 72시간에서는 큰 분자량의 피크들이 작아지고 분자량 5,000 부근의 피크의 높이와 크기가 커진 것을 알 수 있었으며, 분자량 5,000 이하에서 작은 피크가 나타났다. 이로 인해 시간이 지날수록 효소분해로 인해 큰 분자량의 다당류가 작은 분자량으로 분해되었음을 확인할 수 있었다. 당근박에서 얻은 수용성 식품섬유의 분자량 분포 결과에 따르면(21), 효소처리 24시간 후부터 10,000 이하의 피크가 나타났으나, 72시간 후 분자량 10,000 이하의 피크가 가장 크게 나타나 본 연구결과와 유사하였다.

Viscozyme L에 의해 분해된 헤미셀룰로스 분획에서 얻은 수용성 식품섬유의 분자량 크로마토그램은 Fig. 2와 같다. 효소처리 전의 SDFH는 분자량 25,000-80,000에서 가장 큰 피크가 나타났

고, 12,000-5,000에서 작은 피크가 나타났다. 24시간 후 25,000-80,000에서 여전히 큰 피크를 보였으나 효소처리 전보다 작아졌으며, 12,000-5,000 사이에 존재하던 피크의 크기가 커졌다. 또한 분획 No. 80 부근(분자량 5,000 이하)에서 작은 피크가 나타났다. 48시간이 경과한 후에는 24시간 분해 후의 크로마토그램과 유사하나 5,000 이하의 분획에서 작은 피크가 여러 개 나타났다. 72 시간에서는 48시간 후에 나타난 주요 피크의 위치는 비슷하나 크기와 높이가 작아졌으며, 5,000 이하에서의 피크도 더 많아졌음을 알 수 있었다. 이로써 헤미셀룰로스 분획과 마찬가지로 시간이 지날수록 효소분해가 진행되고 있음이 확인되었다. 배추 부산물로부터 얻은 수용성 식품섬유의 분자량 분포를 보면(29), 효소분해 24시간 후 25,000-50,000에서 가장 큰 피크가 나타났고, 48시간 후 12,000 이하에서 피크가 확인되어 본 연구결과와 유사하였다. 또한 SDFC와 비교하여 효소처리 시간이 길수록 피크가 작아지는 것으로 보아 SDFH가 SDFC보다 효소분해로 인한 당의 저분자화가 활발히 진행된 것을 알 수 있었다.

산화방지 활성

메틸겉질로부터 생산된 식품섬유의 산화방지 활성을 확인하기 위하여 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능 및 Fe^{2+} 킬레이팅 효과를 측정하고, 이에 대한 IC_{50} 의 값을 구하였다(Table 2). DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과, SDFC의 IC_{50} 은 효소분해 전 26.35 $\mu\text{g/mL}$ 이었으며, 분해시간이 증가할수록 라디칼 소거능이 유의적으로 증가하여 72 시간 분해 후에는 16.84 $\mu\text{g/mL}$ 의 IC_{50} 을 나타내었다. SDFH의 경우, DPPH 라디칼 소거능의 IC_{50} 값은 분해시간이 증가할수록 감소하여 48시간 효소분해 후 15.90 $\mu\text{g/mL}$ 으로 유

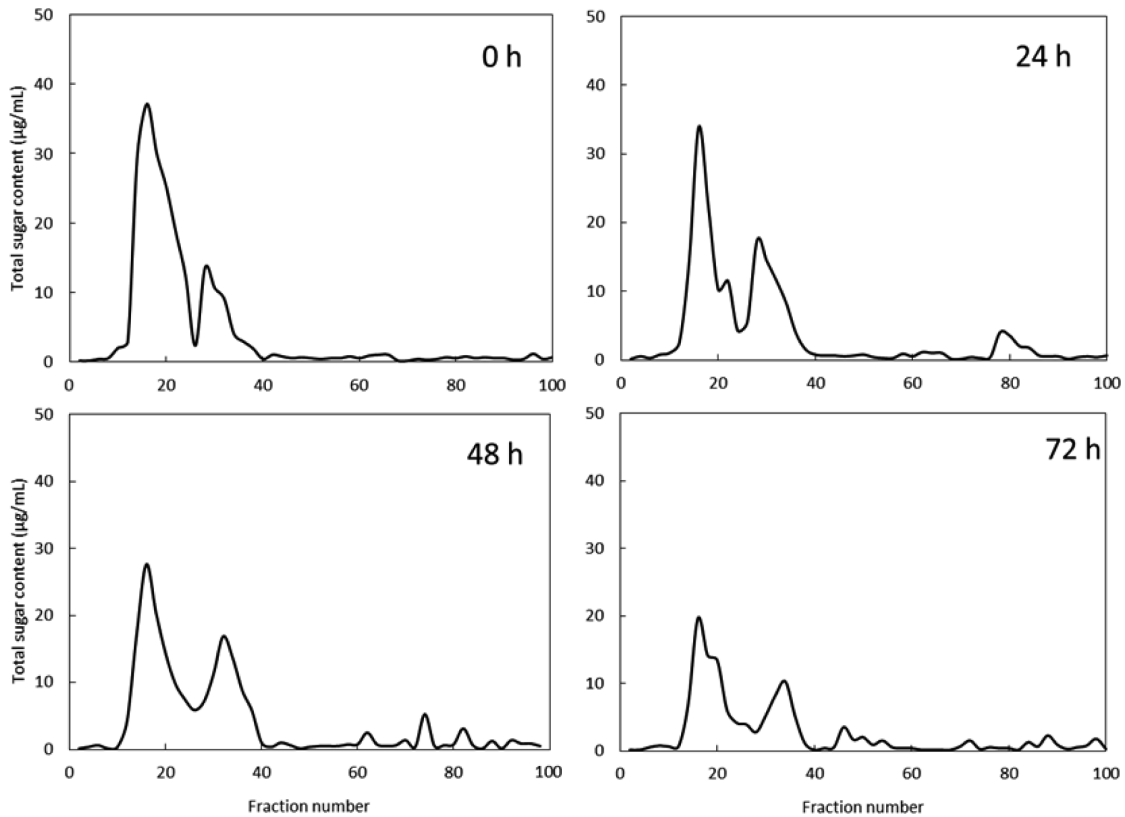


Fig. 2. Chromatograms of soluble dietary fiber produced from hemicellulose fraction by enzymatic hydrolysis. Column size, 2.5×30 cm; flow rate, 1.5 mL/min; elution solvent, distilled water; fraction volume, 4 mL

의적으로 가장 높은 산화방지 활성을 보였으나 72시간 후에는 다시 활성이 감소하였다. 이는 다양한 세포벽 분해효소 작용을 가진 Viscozyme에 의해 DPPH 라디칼 소거능 관련 항산화 물질이 분해되었기 때문으로 판단된다. Yoon 등(30)의 연구에서 단메밀과 쓴메밀의 DPPH 소거능이 500 µg/mL의 농도에서 각각 44.1%, 79.4%라고 보고하여, 본 연구에서 효소분해에 의해 생산된 메밀껍질의 수용성 식품섬유가 메밀 알곡에 비해 산화방지방능이 높음을 알 수 있었다.

ABTS 라디칼 소거능을 측정한 결과, SDFC는 효소분해가 진행될수록 소거능이 유의적으로 증가하여 효소처리 48시간 후 가장 낮은 IC₅₀ (1.76 mg/mL)을 나타내었으나 72시간 후에는 소거능이 다소 감소하였다. 따라서 48시간 이상 효소분해는 SDFC의 ABTS 라디칼을 소거 활성을 가진 산화방지 물질이 분해되는 것으로 예상된다. SDFH의 ABTS 라디칼 소거능은 분해시간이 길어질수록 유의적으로 감소하여 72시간이 가장 낮은 IC₅₀ (1.43 mg/mL)을 나타내었다. 또한 SDFH는 SDFC보다 높은 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 나타내어 셀룰로스 분획보다 헤미셀룰로스 분획에서 DPPH와 ABTS 라디칼을 소거하는 생리활성 물질이 더 많을 것으로 예상된다.

Fe²⁺ 킬레이팅 효과의 IC₅₀ 값을 측정한 결과, SDFC의 경우 효소분해 전 371.39 µg/mL으로 그 값이 가장 높았으며, 24시간 분해 후 313.53 µg/mL으로 가장 낮았으나 분해시간이 증가할수록 다시 유의적으로 증가하였다. SDFH의 경우에는 분해시간이 길어질수록 IC₅₀ 값이 유의적으로 감소하여 분해 72시간 후 394.89 µg/mL으로 가장 낮은 값을 나타내었다. Liu 등(31)의 연구 결과, 1250 µg/mL의 농도에서 Fe²⁺ 킬레이팅 효과는 단메밀의 추출물이 68.8%, 쓴메밀의 추출물이 45%로, 본 연구의 결과보다 현저히 낮

은 값을 나타내 효소분해에 의한 메밀껍질로부터 생산된 식품섬유의 킬레이팅 효과가 메밀알곡 보다 높은 것을 알 수 있었다. 또한 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능과 달리 SDFC가 SDFH에 비해 높은 Fe²⁺ 킬레이팅 효과를 나타내었다.

이상의 결과에서 효소분해되지 않은 메밀껍질의 수용성 식품섬유소에 비해 효소분해에 얻은 수용성 식품섬유소의 산화방지 활성이 높음을 확인할 수 있었다. 이는 식물세포벽에 존재하는 다당류, 단백질, 리그닌 등의 세포벽 성분과 결합되어 존재하던 불용성의 폴리페놀 화합물이 세포벽 분해효소의 작용에 의해 유리되어 수용성 식품섬유 분획에 혼입되었기 때문으로 판단된다(32). 따라서 메밀껍질로부터 생산된 수용성 식품섬유는 식품섬유의 기능성 뿐 만 아니라 식물유래 기능성 성분에 의한 산화방지 활성도 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

포도당 흡수지연 효과

In vitro 법에 의한 포도당 흡수지연 효과를 측정한 결과(Fig. 3), 메밀껍질의 효소분해에 의해 생산된 수용성 식품섬유는 식품섬유를 첨가하지 않고 투석한 대조군에 비해 높은 포도당 흡수지연 효과를 보였다. 1시간 투석 후 포도당 투과율은 대조군이 44.89%로 가장 낮은 포도당 흡수 지연효과를 보였으며, SDFH (39.74%), 펙틴 (38.30%), SDFC (37.69%), CMC (34.08%) 순으로 나타나, CMC의 포도당 흡수지연 효과가 가장 크게 나타났으며 SDFC와 SDFH는 펙틴과 유사한 효과를 보였다. 투석 2시간 후 SDFC의 포도당 투과율은 53.43%로 펙틴의 투과율 52.81%와 유사한 값을 보였으나, SDFH의 포도당 투과율은 57.13%로 증가하였다. 투석이 진행될수록 포도당의 투과율은 증가하여 24시간 투석 후 대조군의 포도당 투과율은 98.59%로 투석막 내부에 존

Table 2. Antioxidant activity of soluble dietary fiber produced from buckwheat hull by enzymatic hydrolysis

Sample	Hydrolysis time (h)	IC ₅₀ values		
		DPPH radical scavenging activity (μg/mL)	ABTS ^{•+} radical scavenging activity (mg/mL)	Fe ²⁺ chelating ability (μg/mL)
SDFC	0	26.35±0.02 ^c	2.76±0.01 ^d	371.39±0.27 ^d
	24	24.30±0.17 ^b	2.41±0.01 ^c	313.53±0.91 ^a
	48	23.47±1.16 ^b	1.76±0.01 ^a	338.59±0.25 ^b
	72	16.84±0.08 ^a	2.26±0.01 ^b	339.89±0.41 ^c
SDFH	0	17.32±0.38 ^b	1.62±0.01 ^d	667.15±2.56 ^d
	24	17.06±0.12 ^b	1.60±0.00 ^c	660.75±5.34 ^c
	48	15.90±0.16 ^a	1.58±0.01 ^b	628.09±2.40 ^b
	72	18.30±0.25 ^c	1.43±0.01 ^a	394.89±0.75 ^a

SDFC, soluble dietary fiber produced from the cellulose fraction by enzymatic hydrolysis; SDFH, soluble dietary fiber produced from the hemicellulose fraction by enzymatic hydrolysis.

Mean±SD (n=3).

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

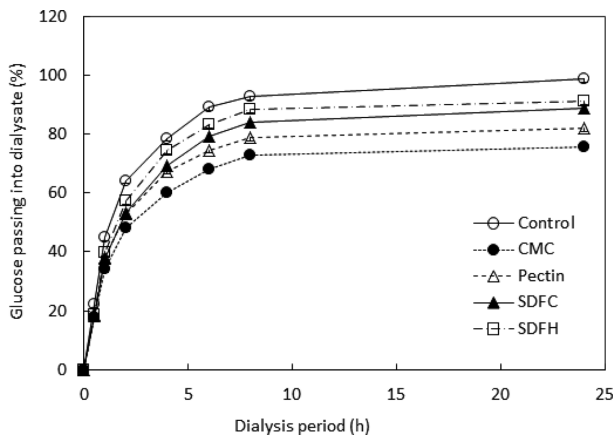


Fig. 3. Passive transport of glucose *in vitro* in the presence of soluble dietary fiber from buckwheat hull by enzymatic hydrolysis. SDFC, soluble dietary fiber produced from cellulose fraction by enzymatic hydrolysis; SDFH, soluble dietary fiber produced from hemicellulose fraction by enzymatic hydrolysis; CMC, carboxymethylcellulose. Sodium azide solution without dietary fiber was used as control.

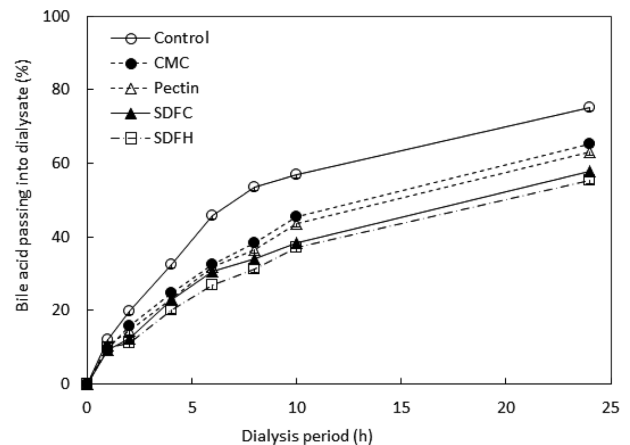


Fig. 4. Passive transport of bile acid *in vitro* in the presence of soluble dietary fiber produced from buckwheat hull by enzymatic hydrolysis. SDFC, soluble dietary fiber produced from cellulose fraction by enzymatic hydrolysis; SDFH, soluble dietary fiber produced from hemicellulose fraction by enzymatic hydrolysis; CMC, carboxymethylcellulose. Sodium azide solution without dietary fiber was used as control.

재했던 대부분의 포도당이 투석막 외부로 유출되었음을 알 수 있었다. 24시간 투석 후 CMC, 펙틴, SDFC 및 SDFH의 포도당 투과율은 각각 75.75, 82.03, 88.71 및 91.08%로 나타났다.

투석초기의 포도당 투과량은 포도당 흡수지연 효과를 판단하는 지표가 될 수 있다(33). 또한 일반적으로 보수력과 점성이 높은 수용성 식품섬유의 포도당 흡수지연 효과가 높게 나타나는 것으로 알려져 있다(2). 따라서 SDFC는 초기 포도당 투과율은 펙틴과 비슷한 경향을 보여 포도당 흡수지연 효과를 기대할 수 있음을 알 수 있었다. 또한 SDFH는 CMC와 펙틴에 비해 포도당 투과량은 다소 높았으나 대조군에 비해서는 지속적인 포도당 투과 지연효과는 보였다.

담즙산 흡수지연 효과

담즙산 흡수지연 효과 또한 포도당 흡수지연 효과와 동일한 방법으로 투석막을 통해 투석되는 담즙산의 양을 측정하여 담즙산의 투과율을 나타내었으며, 그 결과는 Fig. 4와 같다. 담즙산의 투과율은 포도당 투과율에 비해 완만한 증가를 보였다. 투석 2시

간 후 식품섬유소를 첨가하지 않은 대조군의 투과율이 19.7%로 가장 높았으며, SDFH가 11.0%의 가장 낮은 투과율로 CMC (15.8%)와 펙틴 (14.42%)의 투과율에 비해 낮았다. 또한 투석 10시간 후 SDFC와 SDFH는 각각 38.4, 37.0%로 CMC 45.5%, 펙틴 43.8%에 비해 낮은 투과율을 보였으며, 24시간 후에도 CMC (65.4%), 펙틴 (63.2%), SDFC (57.9%), SDFH (55.5%) 순으로 메틸겔질의 효소분해로 생산된 식품섬유소가 CMC와 펙틴에 비해 높은 담즙산 흡수지연 효과를 보였다. 소수성인 담즙산은 소장 내에서 식품섬유에 흡착됨으로써 담즙산의 대사 및 체내 이용성을 떨어뜨린다(34). 또한 식품섬유와 담즙산과의 결합에 의해 유리 상태의 담즙산 함량을 감소시켜 재흡수되는 담즙산의 함량에 변화를 주어 콜레스테롤 합성이 저하된다(35). 따라서 본 실험의 메틸겔질로부터 생산된 수용성 식품섬유가 CMC와 펙틴에 비해 담즙산 흡수지연 효과가 있는 것으로 확인되어, 효소분해에 의해 생산된 수용성 식품섬유소 섭취 시 혈청 LDL 콜레스테롤의 감소를 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 메밀 알곡에 비해 유효성분이 많음에도 불구하고 식품학적 가치가 떨어져 폐기되고 있는 메밀껍질을 기능성 식품소재로 활용하기 위해 메밀껍질을 효소로 분해하여 수용성 식품섬유를 생산하고자 하였다. 메밀껍질을 효소를 이용하여 72시간 분해하여 수용성 식품섬유소의 수율을 측정된 결과, 72시간 효소분해 후 셀룰로스 및 헤미셀룰로스 분획으로부터 얻은 수용성 식품섬유는 각각 60.5 g/kg, 123.7 g/kg이었으며, 총 수용성 식품섬유소의 수율은 129.8 g/kg이었다. 겔 크로마토그래피에 의한 수용성 식품섬유소의 분자량 추이를 측정된 결과, 분해 시간이 증가함에 따라 저분자의 피크가 크게 증가하여 효소 반응 시간이 증가할수록 분해가 진행되었다. 효소분해되지 않은 메밀껍질의 수용성 식품섬유에 비해 효소분해에 의해 생산된 식품섬유소의 산화방지 활성이 높게 나타났으며, 대조군에 비해 높은 포도당 및 담즙산 흡수 지연효과를 보였다. 따라서 메밀껍질로부터 생산된 수용성 식품섬유소는 산화방지를 비롯한 포도당 및 콜레스테롤의 흡수저하 효과를 가진 건강기능식품 소재로 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

References

- Trowell H. Definition of dietary fiber and hypotheses that it is a protective factor in certain diseases. *Am. J. Clin. Nutr.* 29: 417-427 (1976)
- Scheeman BO. Soluble vs insoluble fiber: different physiological responses. *Food Technol.* 47: 81-82 (1987)
- Ebihara K, Nakamoto Y. Comparative effect of water-soluble and -insoluble dietary fiber on bowel function in rats fed a liquid elemental diet. *Nutr. Res.* 18: 883-891 (1998)
- Chai YM, Lim BK, Lee JY, Kim YH, Rhee SJ. Preparation of soluble dietary fiber from oak wood (*Quercus Mongolica*) and its physiological function in rat red high cholesterol diets. *Korean J. Nutr.* 36: 9-17 (2003)
- Harris S. Health claims for foods in the international marketplace. *Food Technol.* 46: 92-94 (1992)
- Park YM, Kim JK. Characterization of the degradation of pear fruit cell wall by pectolytic enzymes and their use in fruit tissue liquefaction. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 38: 255-262 (1997)
- Chantaro P, Devahastin S, Chiewchan N. Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. *LWT-Food Sci. Technol.* 41: 1987-1994 (2008)
- Nawirska A, Kwasniewska M. Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. *Food Chem.* 91: 221-225 (2005)
- Dilas S, Canadanovic-Brunet J, Cetkovic G. By-products of fruits processing as a source of phytochemicals. *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.* 15: 191-202 (2009)
- Park CY, Kim C, Ryu YW. The enzymatic hydrolysis of cellulose in supercritical carbon dioxide fluid. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 13: 687-692 (1998)
- Park SJ, Park JW, Lee HS, Kim BY, Baik MY. A study on the changes of insoluble protein and dietary fiber of the rice by-products prepared by mixed enzyme treatment. *Food Eng. Prog.* 16: 157-163 (2012)
- Krkošková B, Mrazova Z. Prophylactic components of buckwheat. *Food Res. Int.* 38: 561-568 (2005)
- Lee SY, Shim HH, Ham SS, Rhee HI, Choi YS, Oh SY. The nutritional components of buckwheat flours and physicochemical properties of freeze-dried buckwheat noodles. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 20: 354-362 (1991)
- Lee CY, Lee SJ, Oh SS. Recent trends in buckwheat allergen research: A mini review. *Food Eng. Prog.* 16: 314-324 (2002)
- Statistics Korea. 2012 Crop Production Statistics. Kangmoon, Daejeon, Korea. pp 62-63 (2013)
- Wang L, Yang X, Qin P, Shan F, Ren G. Flavonoid composition, antibacterial and antioxidant properties of tartary buckwheat bran extract. *Ind. Crop. Prod.* 49: 312-317 (2013)
- Park BJ, Kwon SM, Park JI, Chang KJ, Park CH. Phenolic compounds in common and tartary buckwheat. *Korean J. Crop Sci.* 50: 175-180 (2005)
- Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 32: 426-428 (1959)
- Xu F, Sun J, Liu C, Sun R. Comparative study of alkali- and acidic organic solvent-soluble hemicellulosic polysaccharides from sugarcane bagasse. *Carbohydr. Res.* 341: 253-261 (2006)
- Chau C, Huang Y. 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)
- 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)
- Dubois KA, Gilles JK, Hamilton P, Rebersand FS. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356 (1959)
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200 (1958)
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 26: 1231-1237 (1999)
- Dinis TC, Madeira VM, Almeida LM. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Arch. Biochem. Biophys.* 315: 161-169 (1994)
- Adiotomre J, Eastwood MA, Edwards C, Brydon WG. Dietary fiber: *In vitro* methods that anticipate nutrition and metabolic activity in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 52: 128-134 (1990)
- Boyd GS, Eastwood MA, Maclean N. Bile acids in the rat: Studies in experimental occlusion of the bile duct. *J. Lipid Res.* 7: 83-94 (1996)
- Lee PH, Park SY, Jang TH, Tim SH, Nam SH, In MJ, Kim DC, Chae HJ. Effects of complex carbohydrase treatment on physiological activities of pear peel and core. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 404-410 (2014)
- Park SY, Yoon KY. Production of enzymatic hydrolysate including water-soluble fiber from hemicellulose fraction of Chinese cabbage waste. *Korean J. Food Sci. Technol.* 47: 6-12 (2015)
- Yoon BR, Cho BJ, Lee HK, Kim DJ, Lee SK, Hong HD, Kim KT, Cho CW, Choi HS, Lee BY, Lee OH. Antioxidant and anti-adipogenic effects of ethanolic extracts from tartary and common buckwheats. *Korean J. Food Preserv.* 19: 123-130 (2012)
- Liu J, Guan X, Zhu D, Sun J. Optimization of the enzymatic pretreatment in oat bran protein extraction by particle swarm optimization algorithms for response surface modeling. *LWT-Food Sci. Technol.* 41: 1913-1918 (2008)
- Arranz S, Saura Calixto F. Analysis of polyphenols in cereals may be improved performing acidic hydrolysis: A study in wheat flour and wheat bran and cereals of the diet. *J. Cereal Sci.* 51: 313-318 (2010)
- Lee KS, Lee SR. Retarding effect of dietary fibers on the glucose and bile acid movement across a dialysis membrane *in vitro*. *Korean J. Nutr.* 29: 738-746 (1996)
- Matheson HB, Story JA. Dietary psyllium hydrocolloid and pectin increase bile acid pool size and change bile acid composition in rats. *J. Nutr.* 124: 1161-1165 (1994)
- Kritchevsky D. Dietary fibre and lipid metabolism. *Int. J. Obes.* 11S: 33-43 (1987)