

대두침출액으로부터의 대두올리고당 생산을 위한 효모발효 효과

구경형 · 박동준 · 목철균*
한국식품개발연구원
*경원대학교 식품생물공학과

Effects of Yeast Fermentation on the Production of Soy-oiligosaccharides from Bean Cooking Water

Kyung-Hyung Ku, Dong-June Park and Chulkyoon Mok*

Korea Food Research Institute

*Department of Food and Bioengineering, Kyungwon University

Abstract

Bean cooking water was used as a raw material for the production of soy-oligosaccharides. To maximize the yield of the physiologically functional oligosaccharides such as raffinose and stachyose, a fermentation process was introduced to reduce sucrose content. Yeast strains utilizing sucrose, but scarcely affecting the raffinose and stachyose for the growth were initially selected to reduce the sucrose content in the bean cooking water. The selected strains were *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, *S. cerevisiae* KCTC 7039 and *Hansenula anomala* KFRI 626. Bean cooking water with 2% inoculation volume of these yeasts was fermented until 48 hrs, respectively. The results of sugar analysis according to the fermentation time showed, bean cooking water treated with *S. cerevisiae* KCTC 7039 and *H. anomala* KFRI 626 used almost sucrose without decreasing stachyose for the growth.

Key words: soy-oligosaccharides, yeast, bean cooking water

서 론

동식물과 미생물에 존재하는 탄수화물은 당을 구성하고 있는 수에 따라 단당류, 올리고당 및 다당류로 분류하는데, 이중 올리고당은 글루코스와 갈락토오스 등의 단당이 2~10개 정도 결합한 분자량 300~20,000 가량의 저분자 물질이다. 이들 올리고당은 효소에 의해 이용되지 못하는 비발효성 당으로서 대부분의 당질이 신체내의 소화효소에 의하여 단당으로 분해되어 흡수되는데 반하여, 올리고당은 분해되지 않고 대장에 도달하여 장내 유용세균의 대표적인 비피더스균에 의하여 선택적으로 이용된다⁽¹⁾. 현재 식품소재로 사용되고 있는 올리고당 중에서 대두올리고당은 대두에 함유되어 있는 스타키오스, 라피노스, 수크로스 등이 주성분인데, 효소에 의해 제조되는 것이 아니라 대두 자체를 원료로 하여 제조된 당으로 올리고당 중에는

유일하게 미국 FDA의 GRAS 승인을 받은 것이다.

대두올리고당에 관한 지금까지의 연구 동향을 살펴 보면 주로 미국 등의 서구에서는 대두에 존재하는 스타키오스와 라피노스가 난소화성이며 장내에서 가스 등을 발생시키는 물질로 규정하여 이들을 제거하는 방향으로 연구^(2,3)가 진행된 반면, 일본에서는 이러한 성분들이 사람의 장내 세균에 바람직한 영향을 준다는 점과 대두올리고당이 기존의 올리고당보다 소량으로도 비피더스균 증식효과가 크다는 연구를 발표하여 주목을 받은 이후 생산량이 급속히 신장되고 있는 추세이다^(6,7). 대두 올리고당의 경우 대두 자체에는 대략 스타키오스 4%, 라피노스 1%, 수크로스 5%정도 함유되어 있는데, 현재 일본에서 시럽과 과립의 형태로서 판매되고 있는 대두 올리고당의 경우 수크로스 함량이 34~44%이고, 스타키오스 18~23%, 라피노스 6~7%로 수크로스의 함량이 상대적으로 높은 편이다.

한편 대두올리고당의 제조방법에 관한 보고는 탈지 대두나 두유박을 원료로한 일반적인 제조공정만 언급하였을 뿐 구체적인 것은 기업의 know-how로서 발표

Corresponding author: Kyung-Hyung Ku, Korea Food Research Institute, San 46-1 Baekhyun-dong, Boondang-gu, Seongnam, Kyonggi-do 463-420, Korea

된 것이 없는 실정이고, 국내에서도 대두올리고당의 기능성을 인식하고 일부 기업에서 연구하고 있으나, 상품화단계에는 이르지 못하고 있다. 본 연구진에 의해 폐기되고 있는 식품부산물물을 이용하여 고부가가치 제품생산과 환경오염 방지 효과를 동시에 거두기 위한 목적으로 두유가공시 대두전처리 과정에서 다량 발생하는 대두침출액을 이용하여 대두올리고당을 회수하는 연구^(8,9)가 시도된 바 있다. 그러나 본 연구진의 연구 결과도 일본에서 시판되고 있는 올리고당과 마찬가지로 수크로스 함량이 아직 많은 편이어서 기능성 올리고당인 라피노스와 스타키오스의 함량을 높이는 기법에 관한 연구가 필요한 상태이나 이에 관한 연구 보고는 없다.

그러므로 본 연구는 두유제조시 부산물로 발생하는 대두침출액을 원료로 대두올리고당 구성성분 가운데 스타키오스와 라피노스 함량을 높이는 공정을 개발하기 위하여, 미생물 증식시 분자량이 적은 당류를 먼저 이용한다는 이론에 기초하여 실시하였다. 비교적 가격도 저렴하고 식품에 사용하고 있는 효모를 택하여 수크로스는 상당량 감소시키면서도 라피노스와 스타키오스 함량은 비교적 유지시키는 효모균주 및 처리 시간에 따른 올리고당 함량 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

대두

대두는 탈피한 반할두를 (주)정식품에서 제공받아 10°C에 보관하면서 시료로 사용하였다.

대두침출액 제조

대두침출액 제조는 두유 생산공정의 대두 침지조건을 적용하여, 끓는 물에 반할두를 첨가하고(1:3, w/v) 220초동안 끓인 후, 원심분리기(Sorvall RC-5B, Dupont Instrument, SS-34 rotor)로 2,987×g에서 10분간 원심분리한 다음 상징액을 회수하여 시료로 사용하였다.

효모처리

대두침출액(bean cooking water, BCW)에 *Saccharomyces strains* 13종과 *Hansenula anomala*를 YM broth (Difco, U.S.A.) 10 mL에 1백금이씩 접종하여 25°C에서 48시간 배양시킨 것을 2% (v/v) 접종하고, 동일한 조건에서 6시간 배양한 다음 수크로스, 라피노스, 스타키오스 함량을 분석하여 수크로스 함량의 감소량을 기준으로 효모를 선정하였다. 이때 사용한 각 균주의 초기 미생물 수는 6.0×10^7 ~ 9.7×10^7 /mL였다. 또 일정

량의 대두침출액에 선정된 효모 배양액을 20 L의 대두침출액에 2~6%로 접종하여 25°C에서 0~48시간까지 배양하면서 배양시간의 경과에 따른 올리고당 함량의 변화를 조사하였다.

올리고당 분석

올리고당 함량은 HPLC로 분석하였으며, 시료의 전처리는 시료 5 mL에 10% lead acetate 용액을 1 mL 첨가하고 원심분리기(Sorvall RC-5B, Dupont Instrument, SS-34 rotor)로 12,000×g에서 10분간 원심분리한 다음 상징액을 취해 10% oxalic acid 1 mL를 첨가하여 다시 같은 조건에서 10분간 원심분리한 후 상징액을 취하였다. 이 상징액을 membrane filter (Gelman, pore size 0.2 μm)로 여과한 것을 시료로 하여 Carbohydrate analysis column (3.9×300 mm, Waters)을 사용하여 분석하였다. 이때 guard pak은 μ-bondapak insert C₁₈을 사용하였으며, 25 μL injector가 부착된 waters 410 HPLC pump에 시료 20 μL를 주입하여 1.2 mL/min로 이동시켰고, 이동상은 탈기한 75% acetonitrile (Fisher, Co.)이었다. 수크로스, 라피노스 및 스타키오스의 함량은 HPLC로 분석한 면적비를 표준검량곡선에 적용하여 산출하였다.

결과 및 고찰

효모균주의 선정

대두올리고당의 구성성분 중 난소화성의 스타키오스와 라피노스 함량에는 영향을 주지 않으면서 장내에서의 소화흡수율이 높은 수크로스만을 선별적으로 제거할 수 있는 효모를 선정하기 위하여 한국식품개발연구원 생물공학연구부의 보존균주 중에서 분양받은 *Saccharomyces strains* 13종과 *Hansenula anomala* 등 14종의 균주를 YM broth에서 배양시켜 대두침출액에 2% (v/v)씩 접종한 다음, 25°C에서 6시간 배양한 후에 잔존하는 올리고당 함량을 조사하였다. 그 결과 (Table 1) 효모를 처리하지 않은 대두침출액에 비하여 효모를 처리한 시료의 경우 수크로스와 라피노스는 100% 이용한 반면 스타키오스는 균주에 따라 감소율이 초기 당함량에 15~75%의 범위를 보였다. 당을 이용하는 능력을 기준으로 비교적 스타키오스의 이용률이 높은 균주는 *S. cerevisiae* ATCC 11528과 *S. cerevisiae* ATCC 6037이었으며 각각 초기 당함량의 66~75%를 감소시켰다. 반면에 스타키오스 이용률이 낮은 균주는 *S. cerevisiae* ATCC 9763과 KCTC 7039 및 *H. anomala* KFRI 626로 15%~43%가 감소되었다.

Table 1. Oligosaccharide contents of bean cooking water after 6 hours of fermentation at 25°C using different yeast strains

Strains	Sucrose (%)	Raffinose (%)	Stachyose (%)
BCW ¹⁾	0.87	0.12	0.64
BCW+YM broth ²⁾	1.40	0.17	0.99
<i>S.cerevisiae</i> ATCC 9763	0.00	0.00	0.85
" KCTC 1199	0.33	0.00	0.51
" ATCC 6037	0.00	0.00	0.34
" KCTC 1211	0.00	0.00	0.48
" KCTC 1549	0.00	0.00	0.50
" KCTC 7039	0.00	0.00	0.56
" KFCC 11528	0.00	0.00	0.25
" KFCC 11484	0.00	0.00	0.50
" KFCC 11529	0.00	0.00	0.40
" IFO 0304	0.00	0.00	0.47
" ATCC 13264	0.00	0.00	0.42
" ATCC 4098	0.00	0.00	0.40
" ATCC 42940	0.00	0.00	0.43
<i>Hansenula anomala</i> KFRI 626	0.06	0.00	0.60

¹⁾Bean cooking water.

²⁾Inoculation volume 2% (v/v).

따라서 대두올리고당중 수크로스 함량을 감소시키기 위한 균주는 수크로스는 쉽게 이용하는 반면 스타키오스 이용율이 낮았던 *S. cerevisiae* ATCC 9763, *S. cerevisiae* KCTC 7039 및 *H.anomala* KFRI 626을 선정하였다.

효모첨가량 및 시간에 따른 변화

일정량의 대두침출액에 선정된 효모배양액(*S. cerevisiae* KCTC 7039, *S. cerevisiae* ATCC 9763, *H. anomala* KFRI 626)을 2~6% (v/v) 범위로 첨가하여 2시간 간격으로 6시간까지 시료를 취하여 올리고당 함량변화를 조사하였다. 균주 KCTC 7039의 경우 (Table 2) 균주 접종량과 배양시간이 증가함에 따라 올리고당의 함량이 감소하였는데, 배양 6시간일 때 2%, 4%, 6% 첨가구의 경우 각각 수크로스는 초기함량의 10%, 34%, 41%가 감소되었다. 라피노스와 스타키오스는 배양시간이 같을 경우 균주접종량이 증가할수록 올리고당 함량이 감소되었는데, 배양 6시간일 때 2%, 4%, 6% 첨가구는 각각 초기 당함량에 비하여 약 20%, 30%, 40%가 감소되었다.

Table 3은 *S. cerevisiae* ATCC 9763으로 처리한 결과로 균주첨가량과 배양시간의 증가에 따라 *S. cerevisiae* KCTC 7039보다 수크로스 함량이 급격히 감소하여 6% (v/v)수준의 균주를 첨가하여 4시간 배양시켰을 경우 초기 당함량의 85%가 감소하였고, 2% (v/v) 수준의 균주를 6시간 배양시켰을 때, 수크로스함량은

Table 2. Effects of inoculation volume of *Saccharomyces cerevisiae* KCTC 7039 and fermentation time on the oligosaccharide contents of bean cooking water

Inoculation volume (% v/v)	Time (hr)	Content (%)		
		Sucrose	Raffinose	Stachyose
2	0	1.41	0.22	0.83
	2	1.48	0.18	0.88
	4	1.46	0.17	0.84
4	6	1.29	0.16	0.64
	0	1.55	0.22	0.88
	2	1.18	0.16	0.72
6	4	1.07	0.16	0.69
	6	1.02	0.15	0.75
	0	1.47	0.22	0.85
6	2	1.22	0.14	0.77
	4	1.30	0.13	0.81
	6	0.86	0.13	0.55

Table 3. Effects of culture broth volume of *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 and fermentation time on the oligosaccharide contents of bean cooking water

Inoculation volume (% v/v)	Time (hr)	Content (%)		
		Sucrose	Raffinose	Stachyose
2	0	1.41	0.22	0.83
	2	0.79	0.17	0.84
	4	0.85	0.17	0.83
	6	0.65	0.05	0.65
4	0	1.55	0.22	0.88
	2	0.89	0.14	0.81
	4	0.33	0.12	0.71
	6	0.36	0.12	0.79
6	0	1.47	0.22	0.85
	2	0.65	0.16	0.79
	4	0.22	0.18	0.61
	6	0.22	0.15	0.68

53.9% 감소되었다. 또 라피노스와 스타키오스의 경우는 발효시간이 증가함에 따라 전반적으로 감소경향을 나타내었으나 균주 접종량에 따라서는 큰 차이를 보이지 않았다.

Table 4는 대두침출액을 *H. anomala* KFRI 626으로 처리한 결과로 균주 첨가량과 배양시간에 따라 올리고당을 합한 양은 감소하는 경향이었으나, 라피노스 및 스타키오스는 유의적인 경향을 나타내지 않았다.

이상의 결과중 균주 접종량이 2%이고, 6시간 발효시켰을 경우 균주 선택을 위한 실험 결과(Table 1)와

Table 4. Effects of inoculation volume of *Hansenula anomala* KFRI 626 and fermentation time on the oligosaccharide contents of bean cooking water

Inoculation volume (% v/v)	Time (hr)	Content (%)		
		Sucrose	Raffinose	Stachyose
2	0	1.41	0.22	0.83
	2	1.54	0.17	0.83
	4	1.49	0.09	0.83
	6	1.34	0.13	0.90
4	0	1.55	0.22	0.88
	2	1.15	0.16	0.66
	4	1.34	0.13	0.81
	6	1.14	0.15	0.62
6	0	1.47	0.22	0.85
	2	1.39	0.16	0.79
	4	1.27	0.14	0.82
	6	1.20	0.15	0.83

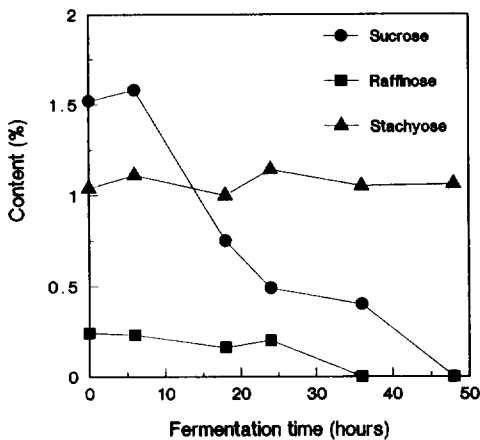


Fig. 1. Changes of oligosaccharide contents in bean cooking water by fermentation of *S. cerevisiae* KCTC 7039.

차이가 있는데, 이는 균주 선택을 위해서는 대두침출액 10 mL를 시료로 사용하였으나, 2번째 선택 단계에서는 대두침출액을 20 L를 사용하여 균주 첨가량은 같지만 발효조건의 차이로 결과에 차이가 있다고 여겨진다.

Fig. 1-3은 균주배양액을 균주(*S. cerevisiae* KCTC 7039, *S. cerevisiae* ATCC 9763, *H. anomala* KFRI 626)의 소요량 및 회수 과정에서의 기술적, 경제적인 면을 고려하여 본 연구에서 접종 최소량인 2%로 고정하고, 배양시간을 48시간까지 연장하여 각각의 올리고당 함량 변화를 조사한 결과이다.

S. cerevisiae KCTC 7039의 경우(Fig. 1) 발효시간이

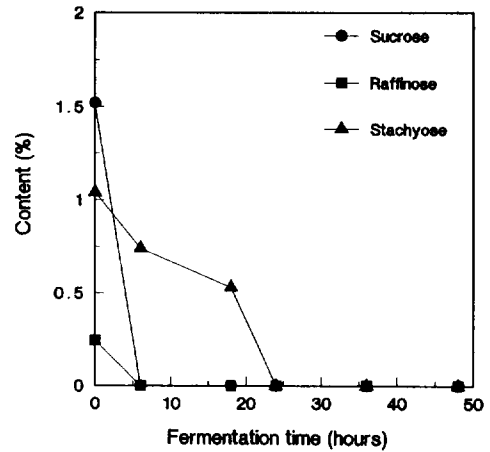


Fig. 2. Changes of oligosaccharide contents in bean cooking water by fermentation of *S. cerevisiae* ATCC 9763.

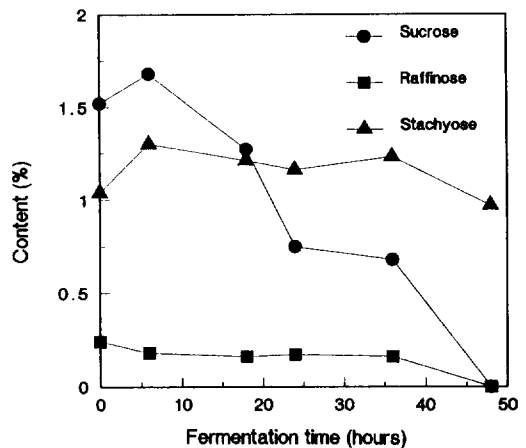


Fig. 3. Changes of oligosaccharide contents in bean cooking water by fermentation of *H. anomala* ATCC 9763.

증가함에 따라 수크로스는 급격히 감소하여 발효 48시간에는 거의 전부 제거되었다. 또 라피노스는 발효 24시간까지는 감소함이 없다가 발효 36시간에서 전부 제거된 반면, 스타키오스는 발효전반에 걸쳐 거의 변함이 없는 일정한 함량을 보였다.

Fig. 2는 *S. cerevisiae* ATCC 9763을 처리한 것으로 전반적으로 발효 6시간내에 수크로스 및 라피노스가 전부 소모되었고, 스타키오스의 경우도 다른 균주 처리시료에 비하여 소모되는 속도가 빨라 발효 24시간 내에 전부 제거되었다.

H. anomala KFRI 626으로 처리한 대두침출액의 경우(Fig. 3) 수크로스는 발효시간이 경과함에 따라 감소

하여 발효 48시간에 전부 제거되었고, 라피노스는 36시간까지 초기함량에 비하여 감소를 보이지 않다가 48시간에 완전히 소비되었으나, 스타키오스는 발효 48시간까지 거의 일정한 수준을 유지하였다.

요 약

대두침출액중의 비소화성 올리고당인 라피노스나 스타키오스함량에는 영향을 주지 않으면서 수크로스 함량을 낮추기 위한 효모는 균주의 선택적 당이용 능력을 기준으로 선발하였다. 14종의 대상균주 중 스타키오스 이용율이 낮았던 *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763, KCTC 7039)와 *Hansenula anomala* KFRI 626이 적합하였다. 일정량의 대두침출액에 선정된 3종의 효모배양액을 각각 첨가하여 발효시간에 따른 올리고당 함량의 변화를 조사한 결과, 균주간에 차이는 있었으나, 전반적으로 균주 첨가량과 발효시간이 증가함에 따라 각 올리고당 함량이 감소경향을 보였다. 또 이들 3균주의 첨가량을 2%로 고정하고 발효 시간을 연장하여 당함량을 조사한 결과 수크로스 제거에 적당한 균주는 *S. cerevisiae* KCTC 7039와 *H. anomala* KFRI 626이었다.

감사의 말

본 연구는 1993-1994년도 과학기술처 선도기술개발 사업으로 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사

드립니다.

문 헌

1. 박관화 : 탄수화물 신소재의 개발. 식품과학과 산업, 25(2), 73 (1992)
2. Borejszo, Z. and Khan, K.: Reduction of flatulence-causing sugars by high temperature extrusion of pinto bean high starch fractions. *J. Food Sci.*, 57, 771 (1992)
3. Chang, K., Chang, D. C. and Phatak, L.: Effect of germination on oligo-saccharides and nonstarch polysaccharides in navy and pinto beans, *J. Food Sci.*, 54, 1615 (1989)
4. Conkerton, E. J. and Parrish, F. W., Chapital, D. C. and Ory, R. L.: Isolation of a stachyose-sucrose complex from soybeans and peanuts. *J. Food Sci.*, 48, 1269 (1983)
5. Calloway, D. H., Hickey, C. A. and Murphy, E. L.: Reduction of intestinal gas-forming properties of legumes by traditional and experimental food processing methods. *J. Food Sci.*, 36, 251 (1971)
6. 正井輝久 : 大豆オリゴ糖の開発と今後の展望. *New Food Industry*, 32, 5(1990)
7. 福山忠男 : 機能性食品の開発と實際. *食品と科學*, 1, 93 (1990)
8. 목철균, 구경형, 박동준, 김남수, 손현수 : 대두올리고당 생산을 위한 대두침출액의 한의여과, 한국식품과학회지, 27, 181 (1995)
9. 구경형, 박동준, 목철균 : 대두올리고당 생산을 위한 한의여과 대두침출액의 이온교환. 한국식품과학회지, 27, 313 (1995)

(1996년 8월 16일 접수)