

분리방법에 따른 효소저항전분의 수율 비교

이신경 · 문세훈 · 신말식
전남대학교 식품영양학과

Resistant Starch Yield from Autoclaved Maize Starches with Different Enzymatic Assay

Shin-Kyung Lee, Sae-Hun Mun and Mal-Shick Shin
Department of Food and Nutrition, Chonnam National University

Abstract

Maize starches with different amylose content were repeated autoclaving-cooling cycles up to 4 times, and the yield of resistant starch (RS) from autoclaved maize starches was investigated by enzymatic-gravimetric method and α -amylase treatment. With increasing amylose content in starch and the number of autoclaving-cooling cycles, RS yield was also increased, regardless of isolation method. Enzymatic-gravimetric method severely hydrolyzed amorphous region of autoclaved maize starches. Crystalline region was obtained more effectively by enzymatic-gravimetric method than by α -amylase treatment.

Key words: resistant starch, maize starch, amylose content, autoclaving-cooling cycle

서 론

효소저항전분(enzyme-resistant starch)은 인체의 소장내 효소에 의해서도 흡수되지 않고 남아있는 전분^(1,2)으로 생성량은 전분의 종류⁽³⁾, 아밀로오스 함량⁽⁴⁾, 수분함량, 가열온도, heating/cooling cycle^(1,2,6), 첨가물질^(7,8) 등에 의해 영향을 받는데, 아밀로펙틴보다는 아밀로오스 함량과 양의 상관관계가 있어 고아밀로오스 전분에 열처리 및 냉각과정을 반복하여 처리할 경우 높은 수율을 얻을 수 있으며, 수분함량은 전분과 물의 비율이 1:10인 것보다 1:3.5인 것이, 가열온도는 100°C보다는 121°C에서 열처리시 높은 수율을 얻을 수 있다고 보고된 바 있다⁽⁹⁾.

Sievert와 Pomeranz⁽²⁾, Berry⁽¹⁾ 및 Englyst 등⁽⁹⁾은 각각 효소저항전분의 결정 및 분리방법에 대해 제의를 하였으며, Faisant 등⁽¹⁰⁾은 3가지 방법을 이용하여 효소저항전분의 수율을 비교하였을 때 사용하는 효소의 종류와 방법에 따라 효소저항전분의 생성량이 다르다고 하였다. Berry⁽¹⁾ 역시 효소저항전분을 분리하는데 저장기간보다 분리방법이 더 큰 영향을 끼친다고 하였다.

Tsuge 등⁽¹¹⁾은 α -amylase (*Bacillus subtilis*)를 이용하여 전분의 노화도를 신속히 측정할 수 있다고 하여 glucoamylase나 BAP를 이용한 방법보다 바람직하다고 하였다. 효소저항전분 중에 노화전분이 속하는데 α -amylase를 사용하여 측정하는 노화전분과 식이섬유를 측정하는 AOAC에 의해 분리된 효소저항전분 수율에 관한 연구는 거의 없다.

본 연구에서는 전분의 노화도를 측정할 때 사용되는 α -amylase 처리와 효소 중량법(enzymatic-gravimetric method)으로 분리된 노화전분의 수율을 비교하기 위하여 아밀로오스 함량이 다른 옥수수 전분을 이용하여 전분과 물의 비율을 1:3.5로 조절하고 고압 가열-냉각 사이클을 반복처리한 후, 효소 중량법과 아밀라아제 처리로 효소저항전분을 분리하고 그 수율을 비교하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 옥수수전분은 Amioca, PFP, Amylomaize V와 Amylomaize VII으로 American Maize Products Co. (Hammond, IN)에서 구하였으며, 일반성분은 수분과 회분함량이 10.11~10.57%와 0.09~0.17%,

Corresponding author: Mal-Shick Shin, Department of Food and Nutrition, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

총지방질과 단백질 함량은 0.39~1.03%와 0.14~0.57%였으며, 아밀로오스 함량은 각각 0%, 28.9%, 55.9%, 72.3%였다.

효소는 thermostable α -amylase (No. A-3306), *Aspergillus niger*로 부터 분리한 amyloglucosidase (No. A-9913), protease (No. P-3910) 및 *Bacillus subtilis*에서 분리한 α -amylase (No. A-6380)를 Sigma Chemical Co. (Louis, MO)에서 구입하여 사용하였다.

효소저항전분의 형성

Sievert와 Pomeranz의 방법⁽²⁾을 수정하여 옥수수 전분과 물의 비율을 1:3.5로 조절하여 121°C에서 1시간 호화시킨 후에 실온까지 냉각시키고 4°C에서 1일간 저장한 다음, 가열-냉각사이클을 4회까지 반복하고 냉동건조시킨 다음 마쇄하였다.

효소저항전분의 분리

효소저항전분의 분리는 효소 중량법⁽¹²⁾을 변형한 방법과 α -amylase 처리⁽¹⁾의 두가지 방법으로 효소저항전분을 분리한 후 수율을 비교하였다.

효소 중량법: 시료 1 g과 pH 6.0 인산완충용액 50 mL에 thermostable α -amylase 0.1 mL를 넣은 다음 끓는 수조에서 30분간 반응시킨 후 실온으로 냉각시켜 0.275 N NaOH로 pH를 7.5로 조정하였다. 이 용액에 50 mg protease를 1 mL의 인산완충용액에 분산시킨 용액 0.1 mL를 첨가하여 60°C에서 30분동안 흔들면서 반응시켰고, 다시 실온까지 냉각시켜 0.325 N HCl로 pH가 4.3이 되도록 조정하고 amyloglucosidase 0.3 mL를 첨가한 후 60°C에서 30분간 흔들면서 반응시켰다. 총 용액의 알코올 농도가 80%가 되게 에탄올을 첨가하여 Whatman No.1 여과지를 사용하여 여과한 후 아세톤으로 세척하고 불용성 잔사를 실온에서 하루 방치하여 건조시켰고 효소저항전분의 생성율은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{효소저항전분 생성율 (\%)} = \frac{\text{불용성 잔사의 무게 (g)}}{\text{시료의 무게 (g)}} \times 100$$

α -amylase 처리: 시료 0.5 g과 pH 6.0 인산완충용액 10 mL에 전분 mg당 10 unit의 α -amylase (from *Bacillus subtilis*)를 첨가한 다음 37°C 항온수조에서 16시간 반응시킨 후 80%농도가 되게 에탄올을 첨가하여 여과한 다음 불용성 잔사를 실온에서 건조시키고 효소저항전분의 생성율은 위와 동일한 방법으로 계산하

였다.

결과 및 고찰

효소저항전분의 생성

아밀로오스 함량이 다른 옥수수 전분으로 효소저항전분을 형성시킨 후 효소 중량법으로 분리한 효소저항전분의 생성량은 Table 1과 같다. 가열-냉각을 1회 실시한 시료의 효소저항전분의 수율은 PFP, Amylomaize V, Amylomaize VII 각각 6.2, 16.8, 28.2%로 전분의 아밀로오스 함량이 증가할수록 수율이 증가하였다. 이는 Sievert와 Pomeranz⁽²⁾에 의한 아밀로오스 함량과 효소저항전분의 수율이 양의 상관관계를 보이며, Amylomaize VII이 효소저항전분을 가장 많이 형성한다는 보고와 같았으며, Escarpa 등⁽¹³⁾의 potato amylose와 amylopectin을 조합하여 아밀로오스 함량을 0~100%로 증가시키면 효소저항전분의 수율이 7.61~36.51%로 증가하였다는 보고와 일치하여 효소저항전분을 형성하는데 아밀로펙틴보다는 아밀로오스의 영향이 큰 것을 확인할 수 있었다.

PFP의 경우에는 가열-냉각 횟수를 1회에서 4회까지 증가시키면 효소저항전분의 수율도 서서히 증가하여 4회 반복시 15.4%의 수율을 나타냈으며, Amylomaize V와 VII은 가열-냉각을 2회시켰을 때까지 효소저항전분의 수율이 급격한 증가를 보이다가 그 이후에는 큰 변화를 보이지 않았다. Sievert와 Pomeranz⁽²⁾는 아밀로오스 함량이 70%인 옥수수 전분으로 가열-냉각 횟수를 1회에서 20회까지 반복 실험하였을 때, 4회까지 효소저항전분의 수율이 30%정도로 급격히 증가하다가 그 이후에는 40%까지 완만한 증가를 나타냈다고 보고하였고, Gruchala와 Pomeranz⁽¹⁴⁾는 Amylomaize VII을 가열-냉각 횟수를 1~4회까지 증가시켰을 때, 효소저항전분의 수율이 20.7~31.7%까지 증가하였다고 보고하였다.

α -amylase로 처리하여 얻은 효소저항전분의 생성량은 Table 2와 같이 가열-냉각 횟수를 1회 실시한 시료의 효소저항전분의 수율은 Amioca, PFP, Amylo-

Table 1. Yield (%) of resistant starch from autoclaved maize starches by enzymatic-gravimetric method

Samples	Number of heating-cooling cycle			
	1	2	3	4
Amioca	-	-	-	1.8
PFP	6.2	9.9	11.9	15.4
Amylomaize V	16.8	23.6	25.3	25.2
Amylomaize VII	28.2	34.2	34.3	37.9

Table 2. Yield (%) of resistant starch from autoclaved maize starches by α -amylase treatment

Samples	Number of heating-cooling cycle			
	1	2	3	4
Amioca	12.5	19.7	20.1	23.9
PFP	24.6	27.2	29.3	33.4
Amylomaize V	48.0	52.0	52.6	54.3
Amylomaize VII	62.0	64.0	65.1	66.6

maize V와 Amylomaize VII이 각각 12.5, 24.6, 48.0, 62.0%로 효소 중량법보다는 높았으나 아밀로오스 함량과는 정상관관계를 보였다. 가열-냉각 횟수에 따른 효소저항전분의 수율 역시 모든 시료에서 1회 반복했을 때 급격한 증가를 보이다가 2회 이후에는 그 증가 정도가 완만하여졌다.

가열-냉각 횟수를 4회 반복한 옥수수 전분의 수율을 효소 중량법과 α -amylase 처리법과 비교하면 Amioca의 경우 각각 1.8%와 23.9%로 큰 차이를 보였으며, PFP는 15.4%와 33.4%, Amylomaize V는 25.2%와 54.3%, Amylomaize VII은 37.8%와 66.6%로 α -amylase 처리보다 효소 중량법으로 분리했을 때 효소저항전분의 수율이 낮은 결과를 보였다.

일반적으로 효소저항전분은 효소의 종류에 따라 얻어지는 효소저항전분의 양과 특성에 차이를 나타내게 되는데, Faisant 등⁽⁸⁾은 *in vivo*와 *in vitro*에서 얻어지는 효소저항전분의 수율을 비교하기 위해 Berry의 방법⁽¹⁾, 효소 중량법⁽¹¹⁾ 및 Englyst의 방법⁽⁹⁾을 이용하여 조사하였는데 각각 29.9%, 13.5%, 26.1%를 얻었다고 보고하였다. Sievert 등⁽⁶⁾이 효소 중량법과 porcine pancreatic α -amylase에 의해 Amylomaize VII으로부터 효소저항전분의 수율을 비교했을 때 가열-냉각 횟수 1회의 경우 각각 21.3%, 39.2%를 얻었다고 하였고, 다른 분리 방법에 비해 효소 중량법의 결과가 낮게 나타난 것은 이 방법이 100°C에서 heat-stable α -amylase에 의해 분해된 다음 반응에서 amyloglucosidase에 의해 분해되는 과정에서 더 많은 비결정성 부분이 제거되었기 때문이라고 하였다.

요 약

아밀로오스 함량이 다른 옥수수 전분을 고압 가열-냉각 사이클을 4회까지 반복한 후, 효소 중량법과 α -amylase 처리로 효소저항전분을 분리하여 그 수율을 비교하였다. 분리방법에 상관없이 아밀로오스 함량이 높을수록 효소저항전분의 수율이 증가하였고, 가열-냉각 횟수를 증가시키면 효소저항전분의 수율도 증가

하였다. 효소저항전분의 분리는 효소 중량법이 α -amylase 처리로 효소저항전분을 분리할 때보다 순도가 높았다.

감사의 말

이 연구는 1996년도 한국과학재단 핵심과제 연구비(과제번호 961-0605-046-1)에 의한 결과이며 이에 감사드립니다.

문 헌

- Berry, C.S.: Resistant Starch: Formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre. *J. Cereal Sci.*, **4**, 301 (1986)
- Sievert, D. and Pomeranz, Y.: Enzyme-resistant starch. I. Characterization and evaluation by enzymatic, thermoanalytical, and microscopic methods. *Cereal Chem.*, **66**, 342 (1989)
- Eerlingen, R.C., Crombez, M. and Delcour, J.A.: Enzyme-resistant starch. I. Quantitative and qualitative influence of incubation time and temperature of autoclaved starch on resistant starch formation. *Cereal Chem.*, **70**, 339 (1993)
- Russell, P.L., Berry, C.S. and Greenwell, P.: Characterisation of resistant starch from wheat and maize. *J. Cereal Sci.*, **9**, 1 (1989)
- Leloup, V.M., Colonna, P. and Ring, S.G.: Physicochemical aspects of resistant starch. *J. Cereal Sci.*, **16**, 253 (1992)
- Sievert, D., Czuchajowska, Z. and Pomeranz, Y.: Enzyme-resistant starch. III. X-ray diffraction of autoclaved amylozyme VII starch and enzyme-resistant starch residues. *Cereal Chem.*, **68**, 86 (1991)
- Eerlingen, R.C., Cillen, G. and Delcour, J.A.: Enzyme-resistant starch. IV. Effect of endogenous lipids and added sodium dodecyl sulfate on formation of resistant starch. *Cereal Chem.*, **71**, 170 (1994)
- Czuchajowska, Z., Sievert, D. and Pomeranz, Y.: Enzyme-resistant starch. IV. Effects of complexing lipids. *Cereal Chem.*, **68**, 537 (1991)
- Englyst, H.N., Kingman, S.M. and Cumming, J.H.: Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **46**, S33 (1992)
- Faisant, N., Champ, M., Colonna, P., and Bulon, A.: Structural discrepancies in resistant starch obtained *in vivo* in humans and *in vitro*. *Carbohydr. Polymers*, **21**, 205 (1993)
- Tsuge, H., Tatsumi, E., Ohtani, N. and Nakazima, A.: Screening of α -amylase suitable for evaluating the degree of starch retrogradation. *starch*, **44**, 29 (1992)
- A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis*, 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Total dietary fiber in foods, enzymatic-gravimetric method, Washington, D.C., p.1105 (1990)

13. Escarpa, A., González, M.C., Mañas, E., García-Diz, L. and Sauri-Calixto, F.: Resistant starch formation: Standardization of a high-pressure autoclave process. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 924 (1996)
14. Gruchala, L. and Pomeranz, Y.: Enzyme-resistant starch:

studies using differential scanning calorimetry. *Cereal Chem.*, **70**, 163 (1993)

(1996년 11월 7일 접수)