

## β-Glucanase를 이용한 국내산 찰보리 전분 추출공정의 최적화 및 추출 전분의 주요 이화학적 특성에 관한 연구

정용선<sup>1</sup> · 배재석<sup>1</sup> · 김정원<sup>1</sup> · 이의석<sup>1</sup> · 이기택<sup>1</sup> · 이미자<sup>2</sup> · 홍순택<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>충남대학교 식품공학과, <sup>2</sup>국립식량과학원 벼맥류부

### Optimization of β-Glucanase-assisted Extraction of Starch from Domestic Waxy Barley and Its Physicochemical Properties

Yong-Seon Jeong<sup>1</sup>, Jae-Seok Bae<sup>1</sup>, Jeong-Won Kim<sup>1</sup>, Eui-Seok Lee<sup>1</sup>, Ki-Teak Lee<sup>1</sup>,  
Mi-Ja Lee<sup>2</sup> and Soon-Taek Hong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Technology, College of Agriculture and Life Science, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Rice and Winter Cereal Crop, National Institute of Crop Science, Iksan 570-080, Korea

#### Abstract

In the present study, optimization on β-glucanase-assisted extraction was made in order to isolate waxy barley starch from domestic cultivar using the D-optimal design suitable for response surface methodology (RSM). The results demonstrated that the amount of enzyme was found to be a major influencing factor on the extraction yield, which was substantially increased by increasing the amount of enzyme. It was also influenced by the reaction time and amount of water addition; however, the two factors were less influential than the amount of enzyme. The optimized condition by RSM for the reaction time was found to be 2.63 hours and amount of enzyme 1.7%, and amount of water addition 4.38 times the weight of raw material. With the enzyme treatment, the starch content in residues (R), particularly in R1 and R5, was reduced considerably, resulting in an increase in the extraction yield and therefore primarily and effectively releasing B-type starch small granule confirmed by scanning electronic microscopy. In addition, the study determined the physicochemical properties of isolated waxy starch (i.e., purity, water adsorption capacity, thermal properties, rheology and starch morphology) and compared them with those from the enzyme-not treated sample. It was found that they were almost similar to each other, except for the purity of starch, which was lower in the enzyme-treated sample than in the enzyme-not treated one.

**Key words:** Waxy-barley, β-glucanase, optimization, physicochemical properties.

#### 서 론

전분은 탄수화물계 고분자로서 아밀로스와 아밀로펙틴으로 구성되어 있으며, 자연에 풍부하게 분포하여 사람의 주된 에너지원으로 섭취·이용되어 왔다. 또한 전분은 각종 식품의 증점제, 전분당 제조, 물성 개량제 등과 같은 식품산업용뿐만 아니라(Chang *et al* 2001), 의약품, 제지, 섬유산업용 등으로도 이용되고 있으며, 석유에너지를 대체할 가능성이 가장 큰 소재로써 태양 에너지나 원자력 에너지와 함께 3대 에너지원으로 주목을 받고 있다(Lee HS 1997).

보리는 생산량 규모(세계 기준)로 보면 밀, 쌀, 옥수수 다음으로 4대 주요 곡물 중 하나이다. 그 화학적 구성 성분은

전분이 65~68% 정도를 차지하고, 나머지는 단백질(10~17%), β-glucan(4~9%), 섬유질, 수분 등의 기타 성분 20%로 이루어져 있다(Macgregor & Fincher 1985). 일반적으로 보리 배유부 외층의 구성 물질은 β-glucan(70~75%), arabinoxylan(20~35%) 등이 겹겹이 쌓여있는 매트릭스(matrix) 형태를 형성하고 있으며(Fincher GB 1975), 배유부 내에서 큰 전분 입자와 작은 전분 입자가 단백질에 불규칙한 형태로 둘러 싸여 있는 단백질 middle-lamella를 형성하고 있다. 따라서 전분을 분리하기 위해서는 배유부 외층의 β-glucan 및 arabinoxylan을 제거한 뒤, 배유부 내의 단백질 middle-lamella에 싸여 있는 전분을 추출해야 하는 난점이 있다(Palmer GH 1972, Palmer GH 1975).

이러한 난점을 극복하고자, 보리 전분 추출 방법에 관하여 습식 분쇄법(wet milling)(De Hass & Goering 1972), 온수 추출법(Fleming & Kawakami 1977), autoclave 법(Anderson *et*

\* Corresponding author : Soon-Taek Hong, Tel: +82-42-821-6727, Fax: +82-42-821-8900, E-mail: hongst@cnu.ac.kr

al 1978), alkali 처리법(Wood *et al* 1983, Palmer & Mackenzie 1986), perchloric acid 처리법(Ahluwalia & Ellis 1984) 등 다양한 방법이 연구되어 왔으나, 추출된 전분 수율이 60%의 저조한 수준이었기 때문에 보다 효과적인 전분 추출 방법이 요구되고 있다.

국내산 쌀보리 중 흰찰 쌀보리는 소비자의 선호도가 높을 뿐만 아니라, 수요량 및 재배면적이 해마다 증가하고 있는 품종으로서 본 연구의 재료로 사용하게 되었다. 하지만 일반적인 메보리의  $\beta$ -glucan 함량이 약 5%인 것에 비하여 흰찰 쌀보리는 약 8%로(Lee *et al* 2011),  $\beta$ -glucan 함량이 높아 전분 추출이 용이하지 않다. 최근 연구(Bae *et al* 2012)에 의하면, 보리전분 추출 공정에  $\beta$ -glucanase를 사용하면 보리 배유부 외층의  $\beta$ -glucan을 효과적으로 분해·제거되어 전분 추출을 용이하게 할 뿐 아니라, 용액의 점도를 감소시킴으로써 추출 공정 시간이 단축되고, 추출 수율이 약 90%까지 증대되었음이 보고되었다. 그러나 Bae *et al*(2012)의 연구는 이러한 효소 반응의 최적 조건에 대한 실험은 수행하지 않았으며, 특히 전분 추출 공정 후 남은 잔여물(R1)에 상당량의 전분이 남아 있었으며, 게다가 습식 제분(wet milling) 시 빠른 분쇄 속도(speed 3)로 인하여 전분 손상도가 높은 문제점이 있는 것으로 조사되었다(data not shown). 따라서 본 연구는 추출한 전분의 손상도를 낮추기 위해 보리의 전처리 중 수침 조건과 roll milling 횟수를 달리하고, 습식 제분 시 분쇄 속도를 낮추었으며, 전분 추출 공정의 방법을 변형하여 잔여물(R1)에서 여분의 전분을 추출하고자 하였다. 또한  $\beta$ -glucanase를 이용한 보리전분 추출 조건 최적화를 위하여 반응 시간, 효소량, 가수량을 독립 변수로 하여 반응 표면 분석법(response surface methodology)을 통한 효소 반응의 최적 조건을 검토하고, 최종적으로 효소 처리 유무에 따른 전분 간의 이화학적 특성을 비교하는데 실험 목적이 있다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

본 실험에 사용된 흰찰 쌀보리(2012년)는 국립식량과학원(농촌진흥청 벼맥류과)에서 재배된 것으로 Sadake test mill (M05, Satake, Japan)을 이용하여 보리 200 g을 중량 대비 23% 도정해 시료로 사용하였다.

사용된 효소 Ultraflo L(Novozyme, Denmark)은 *Humicola insolens*에서 얻은 것으로, 열에 안정적인  $\beta$ -glucanase이며, endo  $\beta$ -1,3(4)-D-glucan에 작용해 oligosaccharides 또는 glucose 단위로 분해한다. Ultraflo L의 unit은 45 FBG/g(Fungal  $\beta$  Glucanase unit)이며, 부가적으로 cellulase, xylanase, pentosanase, arabanase가 포함되어 있다. 반응 최적 조건은 pH 6.5, 온도는

45°C이다.

### 2. 전분 추출을 위한 보리의 전처리

흰찰 쌀보리의 전분 추출을 위한 전처리 공정은 이전 연구인 Bae *et al*(2012)의 방법을 변형하였다. 본 실험에서는 전분 손상도를 낮추기 위해 도정한 보리의 5배(w/w)의 20°C 수돗물을 가하고, 침지 시간을 늘려 2시간 침지하였으며(이전 연구 10분), 이후 수침 시료를 체에 걸러 물기를 제거한 후 30°C, 80% 상대 습도 조건에서 30분간 건조시켜 roll 통과 횟수를 3회로 줄여(이전 연구 5회) roll milling하였다(roll 간격: 1 mm). 이렇게 하여 얻은 분쇄 보리(crushed barley)는 저장 중 변질을 방지하기 위해 -20°C 냉동고에 보관하면서 실험에 이용하였다.

### 3. 전분 추출 공정

보리전분의 추출은 Bae *et al*(2012)의 방법을 변형하여 추출하였고, 이를 Fig. 1에 나타내었다. 먼저 분쇄 보리 35 g(dry basis)을 250 mL의 침지액에 넣고 45°C 인큐베이터에서 16시간 동안 침지시켰다. 침지액은 분쇄보리가 가지는 내부 효소의 활성을 막고자 0.03 M HCl 용액을 사용하였다(Hopkins *et al* 1946). 수침이 완료된 시료를 Omni-mixer(Omni mixer macro homogenizer, Omni International, USA)를 이용하여 속도 '2.5'에서 분쇄하였다. 분쇄액은 75  $\mu$ m filter bag에 넣어 여과한 다음, filter에 남은 잔여물을 재수집하여 5배의 수돗물을 가하여 위 과정을 2차례 반복하였다. 효소 비처리 추출 공정의 경우, filter에 남은 여과 잔여물을 R1(a)로 수집하여 다음 공정을 진행하였고, Bae *et al*(2012)의 연구와 달리 본 실험의 효소 처리 추출 공정의 경우, 상당량의 전분이 남아있던 잔여물 R1(a)와 여과액을 혼합한 후 다음 공정으로 진행하였다. 다음으로 3,000  $\times$  g의 조건에서 원심 분리하여 침전물 및 상등액(R2)를 얻었으며, 침전물은 Table 1의 반응 시간( $X_1$ ), 효소 첨가량( $X_2$ ), 가수량( $X_3$ , w/w)을 독립 변수로 하여 효소 반응을 시켰다. 반응이 완료된 용액은 수돗물을 추가로 첨가하여 총 1 L가 되도록 채워주고, 1 N NaOH를 이용하여 pH 11.5로 조정하고 30분간 교반하였다. 이후 75  $\mu$ m filter bag에 넣어 여과한 다음, 남은 여과 잔여물은 효소 처리 추출 공정의 R1(b)로 하여 보관하고, 25  $\mu$ m filter bag에 통과시켜 잔여물은 R3로 수집하였다, 여과액은 다시 pH 11.5로 맞춘 뒤 10분간 교반한 후 이를 3,000  $\times$  g로 원심 분리하여 상등액은 R4로 수집하였고, 침전물 중 상층부인 갈색층은 spatula로 긁어내어 R5로 수집하였다. 남은 전분층은 따로 회수하여 물을 5배(w/w) 넣고 다시 원심 분리를 통해 R4, R5를 재수집한 뒤, 최종적으로 얻은 전분은 45°C 인큐베이터에서 건조하여 분석용 시료로 하였다.

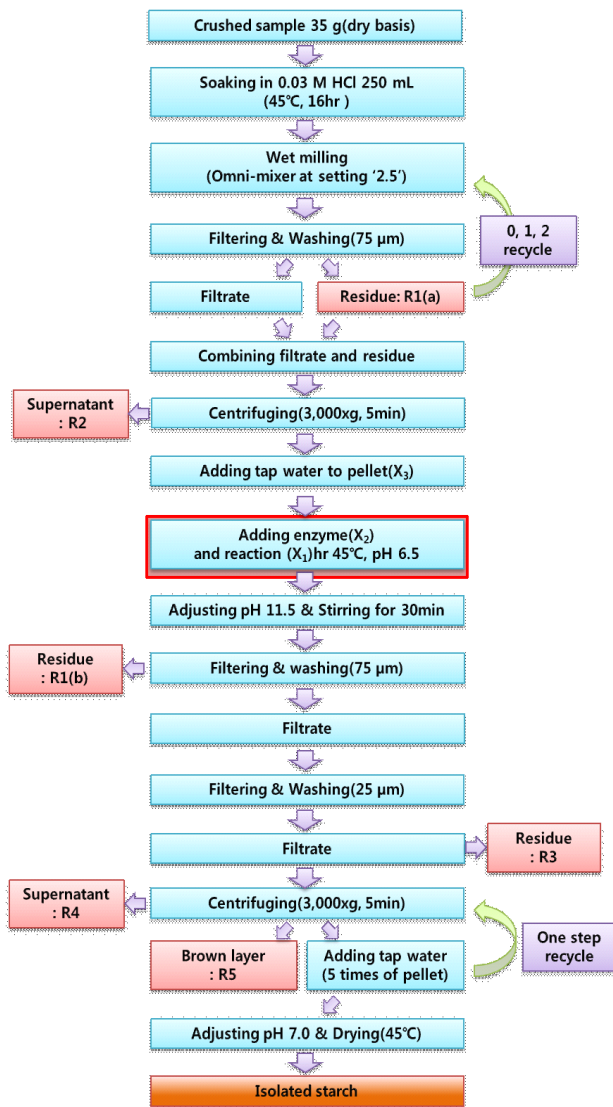


Fig. 1. Starch and by-products isolation procedure.

4. 효소 반응 공정 최적화

전분 추출 수율을 향상시키기 위한 효소 최적 추출 조건을 도출하기 위해 반응 표면 분석에 적합한 D-optimal design에 따라 실험을 설계하였다(Table 1). 독립 변수( $X_n$ )로는 반응 시간( $X_1$ ), 효소 첨가량( $X_2$ ), 가수량( $X_3$ )을 설정했으며, 반응 변수( $Y_n$ )는 추출 수율( $Y_1$ )로 하였다. 추출 수율(Yield, %)은 다음 공식을 이용해 계산하였으며, 모든 실험값들은 Modde version 5.0 software(Umertsics, Sweden)를 사용하여 분석하였다.

$$\text{추출 수율(\%)} = \frac{\text{추출된 전분의 건물량(g)} \times \text{추출된 전분의 전분 순도(\%)}}{\text{분쇄보리의 건물량(g)} \times \text{분쇄보리의 전분 순도(\%)}} \times 100 \quad (1)$$

5. 일반 성분 및 전분 순도 측정

분쇄 보리 및 추출한 전분의 일반 성분은 AOAC 법(1990)을 이용하여 측정했으며, 수분은 상압가열 건조법, 조지방은 직접 회화법, 조지방은 Soxhlet 법, 조단백질은 Micro-Kjeldahl 법으로 측정하였다. 전분의 순도를 측정하기 위한 실험 방법으로 AOAC 방법의 amyloglucosidase/ $\alpha$ -amylase method를 이용한 kit(K-TSTA, Megazyme International Ltd, Ireland)를 사용하여 분석하였다.

6. 전분의 물결합력

전분의 물결합력은 Medcalf & Gilles(1965)의 방법을 이용하여 측정하였다. 전분 1 g(건물량 기준)과 증류수 40 mL를 혼합하여 1시간 동안 교반하고, 15,000 × g에서 30분간 원심분리하여 상등액을 제거한 다음, 침전된 전분의 무게를 측정하였으며, 다음 공식을 이용하여 물결합력을 계산하였다.

$$\text{물결합력(\%)} = \frac{\text{침전 전분의 건물량(g)} \times \text{시료의 건물량(g)}}{\text{시료의 건물량(g)}} \times 100 \quad (2)$$

Table 1. Experimental combinations according to codes of experimental design at various extraction conditions of reaction time, amount of enzyme and amount of water

Treatment	Actual parameters			Actual parameters		
	T (hr)	En (%)	W (ratio)	Time (hr)	Enzyme (%)	Water (ratio)
	$X_1$	$X_2$	$X_3$			
1	-1	-1	-1	1	0.2	2
2	1	-1	-1	6	0.2	2
3	1	1	-1	6	2	2
4	-1	-1	1	1	0.2	5
5	1	-1	1	6	0.2	5
6	-1	1	1	1	2	5
7	1	1	1	6	2	5
8	-1	1	-0.333	1	2	3
9	-1	0.333	-1	1	1.4	2
10	-0.333	1	-1	2.66667	2	2
11	1	0	0	6	1.1	3.5
12	0	-1	0	3.5	0.2	3.5
13	0	0	1	3.5	1.1	5
14	0	0	0	3.5	1.1	3.5
15	0	0	0	3.5	1.1	3.5



**Table 3. Extraction yield data according to the extraction conditions for response surface analysis**

No.	Extraction conditions			Responses
	Time (hr)	Enzyme (%)	Water (ratio)	Yield (%)
1	1	0.2	2	79.70±0.14 <sup>1)g2)</sup>
2	6	0.2	2	77.32±0.12 <sup>h</sup>
3	6	2	2	85.47±0.18 <sup>e</sup>
4	1	0.2	5	86.41±0.30 <sup>d</sup>
5	6	0.2	5	74.14±0.16 <sup>i</sup>
6	1	2	5	87.72±0.35 <sup>c</sup>
7	6	2	5	88.69±0.17 <sup>b</sup>
8	1	2	3	87.91±0.34 <sup>c</sup>
9	1	1.4	2	89.37±0.25 <sup>a</sup>
10	2.66667	2	2	89.73±0.22 <sup>a</sup>
11	6	1.1	3.5	80.95±0.30 <sup>f</sup>
12	3.5	0.2	3.5	84.90±0.27 <sup>e</sup>
13	3.5	1.1	5	86.66±0.37 <sup>d</sup>
14	3.5	1.1	3.5	89.29±0.79 <sup>ab</sup>
15	3.5	1.1	3.5	89.94±0.82 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Mean±S.D.

<sup>2)</sup> Values with different superscripts within a row are significantly different at  $p < 0.05$ .

험구)에서 수율이 74.14%로 가장 낮아 최고 수율보다 15.8% 수율 차이를 보였다.

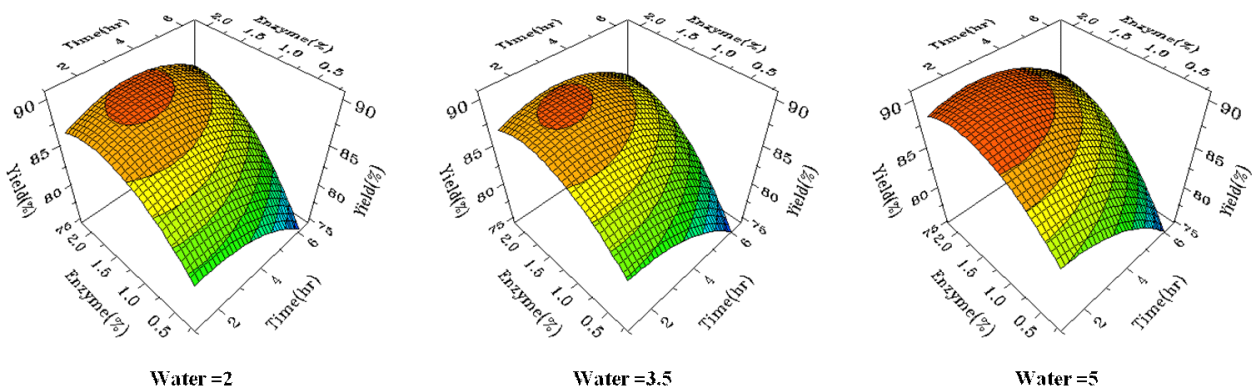
독립 변수 값의 변화에 따른 반응 변수 값을 등고선 분석을 통해 Fig. 2에 나타내었다. 눈에 띄는 변화로는 효소량이 증가할수록 전분 수율이 증가하는 결과를 보였으며, 전반적

으로 반응 시간이 짧을수록, 효소량이 많을수록, 가수량이 많을수록 수율은 증가하는 경향을 나타내었다.

가장 높은 수율을 유도한 조건(No.15 실험구)을 기준으로 각 독립 변수 값의 변화에 따른 수율의 변화를 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 3에 의하면 효소량에 따른 수율의 변화는 0.2%에서 최저 수율 80.3%, 1.66%에서 최대 수율 89.2%로 효소량이 증가할수록 수율이 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 효소량이 증가함에 따라 보리 배유부의 세포벽을 구성하고 있는 β-glucan과 arabinoxylan 등이 효과적으로 분해되어 전분 입자의 노출을 용이하게 만들기 때문인 것으로 사료되며, 이러한 결과는 β-glucanase를 이용해 보리전분을 분리한 Seo HC(1999)의 결과와 일치하고 있다. 반응 시간에 따른 추출 수율의 변화는 반응 2시간 후 최대 수율 88.6%, 6시간 후 83.2%로 반응 시간이 증가할수록 수율은 감소하는 것으로 관찰되었다. 이와 같은 수율 감소의 원인은 사용된 효소(Ultraflo-L) 내에 포함되어 있는 전분 분해 효소(α-amylase)의 작용으로 인해 효소 반응 시간이 증가할수록 전분이 분해되기 때문인 것으로 추정된다. 한편, 가수량에 따른 수율의 변화는 2.87배에서 최저 수율 87.7%, 5배에서 최대 수율 88.9%로 나타나 가수량이 증가할수록 수율이 소폭 증가했지만, 전분 추출 수율에 미치는 영향은 효소량과 반응 시간에 비해 상대적으로 적은 것으로 추정되었다.

### 3. 효소 반응 공정의 최적화

반응 변수 Y 및 독립 변수의 일차항( $X_1, X_2, X_3$ ), 이차항( $X_1^2, X_2^2, X_3^2$ ), 상호항( $X_1X_2X_3$ )을 통해 얻은 반응변수에 대한 반응 표면 회귀식과 유의성을 Table 5에 나타내었다. 모형의 적합성 평가를 위한 ANOVA에서의 lack of fit(p-value)이 0.05 이상이어야만 적합한 모형이라 판단하며,  $R^2$ (coefficient of determination)은 회귀 모델이 데이터를 얼마나 근접하게 예측하고 있는가를 나타내는 척도가 되고, 그 수치가 1에 가



**Fig. 2. Contour plots for extraction yield data with respect to the extraction conditions.**

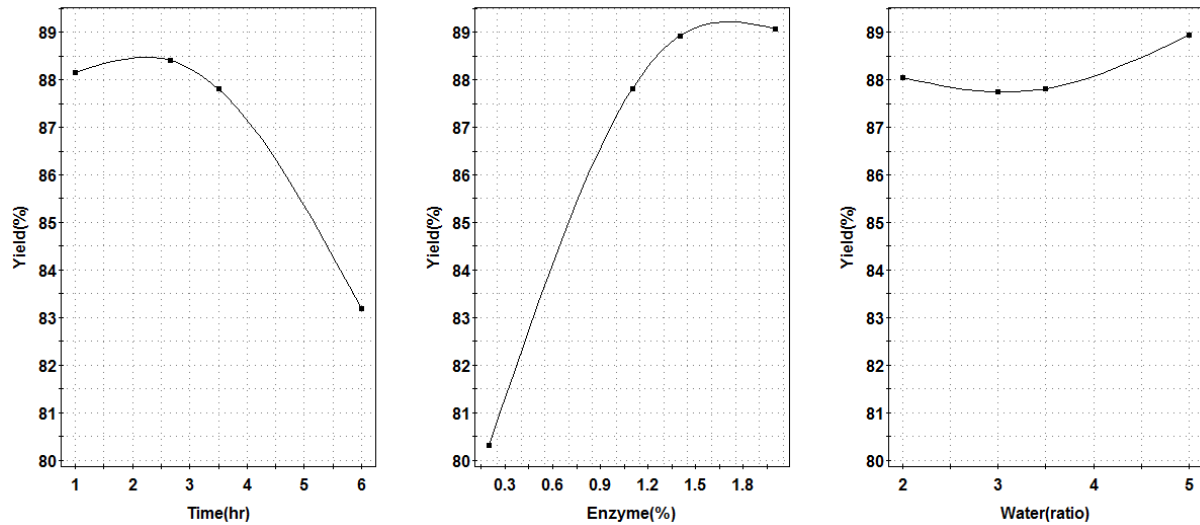


Fig. 3. Response prediction plots for the effect of reaction time, amount of enzyme and amount of water content on the extraction yield.

Table 4. Second order polynomials for yield data of the extract under different condition

Response variable (Y)	Second order polynomial	$R^2$	Lack of fit (p-value)
Yield (%)	$Y^{(1)} = 89.341 - 2.429X_1 + 3.822X_2 + 0.403X_3 - 3.805X_1^2 - 1.304X_2^2 - 0.923X_3^2 + 1.737X_1X_2 - 0.631X_1X_3 + 0.024X_2X_3$	0.870	0.294

<sup>1)</sup>  $X_1$ : reaction time;  $X_2$ : amount of enzyme;  $X_3$ : amount of water.

까울수록 실험 모델식이 실제 실험 값과 일치하는 좋은 모형임을 나타낸다(Lee & Lee 2007). 추출 수율(Y)에 대한 lack of fit의 p-value는 0.294로 나타나, 본 실험을 위해 가정된 모델(Table 1)은 적합한 것으로 판단되었으며,  $R^2$ 은 0.870로 나타났다. 회귀 분석 결과, 모델식의 최대 추출 수율을 나타내는 최적 조건은 반응 시간 2.63시간, 효소량 1.70%, 가수량 4.38배일 때 추출 수율 91.34%로 예측되었다.

#### 4. 추출 공정 단계별 잔여물의 전분 Balance

효소를 처리한 경우, 수율이 증가한 원인을 규명하기 위하여 추출 공정 시 발생하는 잔여물(R1-R5, starch)들의 중량(% dry basis) 및 전분 함량을 Table 5, Fig. 4에 나타내었다. 본 실험에서는 Bae *et al*(2012)의 경우와 달리 잔여물 R1(a)을 포함하는 pellet(X3)에 효소를 첨가하였으며, 그 결과 효소 처리 공정의 경우, 효소 비처리 공정에 비하여 전분 추출 공

Table 5. Weight (% dry basis) and starch content (g dry basis) of residues obtained from extraction process (R1-R5)

Residues	With enzyme		Without enzyme	
	Weight (%)	Starch (g)	Weight (%)	Starch (g)
R1	5.41±0.04 <sup>1)</sup>	0.20±0.01	27.48±0.17	3.34±0.14
R2	15.53±0.05	0.16±0.00	13.87±0.16	0.12±0.01
R3	3.3±0.06	0.65±0.01	1.77±0.07	0.34±0.06
R4	9.96±0.08	0.01±0.00	1.68±0.07	0.00±0.00
R5	0.54±0.01	0.15±0.01	5.25±0.19	1.41±0.11
Isolated starch	65.26±0.19	19.43±0.10	49.94±0.25	15.83±0.16
Total	100.0	20.60	100.0	21.05

<sup>1)</sup> Mean±S.D.

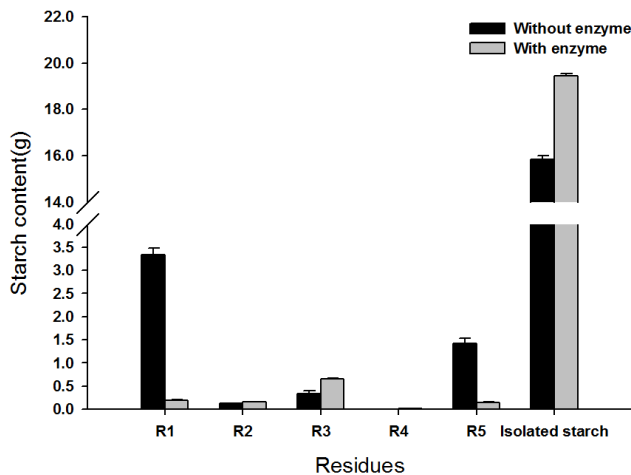


Fig. 4. Comparison of starch content in residues (R1-R5) and isolated starch.

1) See the Table 5.

2) Mean $\pm$ S.D.

정 초기의 75  $\mu$ m filter에 남은 여과 잔여물인 R1의 중량이 27.48%[R1(a)]에서 5.41%[R1(b)]로 약 22% 감소하였고, 전분 함량 또한 3.34 g에서 0.2 g으로 감소하여 전분이 거의 남아있지 않은 것을 확인할 수 있었다. Andersson *et al*(2001)에 의하면, R1에는 많은 양의 전분이 섬유질(dietary fiber) 및  $\beta$ -glucan 내에 피포성(encapsulated)의 형태로 존재하며, 이러한 보리의 섬유질들을 습식 제분(wet-milling) 공정으로 분쇄하기 어렵기 때문에 전분 추출 수율이 낮은 원인이 된다고 하였다. 따라서 본 실험에 사용된 효소에 의해  $\beta$ -glucan 및 arabinosyran 등의 보리 섬유질이 효과적으로 분해되어 거의 모든 전분이 수용액 상으로 노출된 것으로 추정되며, 이러한 결과는  $\beta$ -glucanase 외 다수의 효소를 사용하여 보리 섬유질을 제거하고, 보리 전분 추출 수율을 높인 Zheng & Bhatti (1998)의 결과와 잘 일치하고 있다. R2의 경우, 효소처리 공정과 효소 비처리 공정 간의 무게나 전분 함량 차이가 없는 것을 확인할 수 있었다. 한편, 25  $\mu$ m filter에 남은 여과 잔여물인 R3의 경우, 효소 처리 공정 시 중량이 1.77%에서 3.3%로 약 1.5%, 전분 함량은 0.34 g에서 0.65 g으로 약 0.3 g 증가하였다. 하지만 이는 전체적인 전분 추출 수율 측면에서 봤을 때 증가량이 극히 미미한 정도로, 효소 처리 공정 시 전분 추출 수율에 영향을 미치는 요인으로 보기 어려웠다. 원심 분리 후 상등액인 R4의 경우, 효소 처리 공정 시 효소 비처리 공정에 비하여 중량이 1.68%에서 9.96%로 약 8.3% 증가한 것을 볼 수 있는데, Bae *et al*(2012)에 의하면 이는 효소에 의해 분해된  $\beta$ -glucan 및 기타 mucilage 등이 원심 분리 시 침전되지 않고, 상등액 내에 존재하기 때문이라고 하였다. 원심 분리 후 침전물의 상층부에 존재하는 갈색층인 R5의

경우, 효소 처리 공정 시 효소 비처리 공정에 비하여 중량이 5.25%에서 0.54%로 약 4.7% 감소하였으며, 전분 함량 또한 1.41 g에서 0.15 g으로 감소한 것을 확인할 수 있었다. R5는 불용성의 단백질, 섬유질, mucilage 등이 전분 입자 중 small-granule과 matrix를 형성하여 침전되어 있는 형태(McDonald & Stark 1988),  $\beta$ -glucanase 처리 시 전술한 matrix를 분해하여 효과적으로 전분을 분리할 수 있다고 한 Bae *et al*(2012)의 결과와 잘 일치하고 있었다.

### 5. 전분 입자의 표면 형태

효소 처리 유무에 따른 전분의 입자 표면 형태를 주사 전자 현미경을 이용하여 관찰한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 효소 비처리 전분 입자의 경우, 큰 입자(A-granule)와 작은 입자(B-granule)로 이루어져 있었으며, 이는 보리전분의 경우 10~30  $\mu$ m의 범위에서 분포하는 A-granule과 1~4  $\mu$ m의 범위에서 분포하는 B-granule로 이루어져 있다고 한 Jeong *et al* (2013)의 결과와 일치하고 있었다. 효소 처리 전분 입자의 경우, 큰 입자와 작은 입자 외에도 작은 입자들이 서로 붙어서 cluster 형태로 존재하는 것을 확인할 수 있었는데, McDonald & Stark(1988)에 의하면 갈색층인 R5에 함유되어 있는 전분의 약 99%가 B-granule로 이루어져 있으며, 이들은 단백질에 붙어 matrix 형태로 존재하고 있는 모양이라 하였다. 따라서 본 실험의 효소를 처리한 경우, 나타나는 cluster 형태의 전분 입자는 주로 R5에 기인된 것으로 추정되며, 효소 처리에 의하여 R5에 내재되어 있던 B-granule-protein matrix가 분리되어 전분 추출 수율이 증가한 것으로 사료되었다(Bae *et al* 2012).

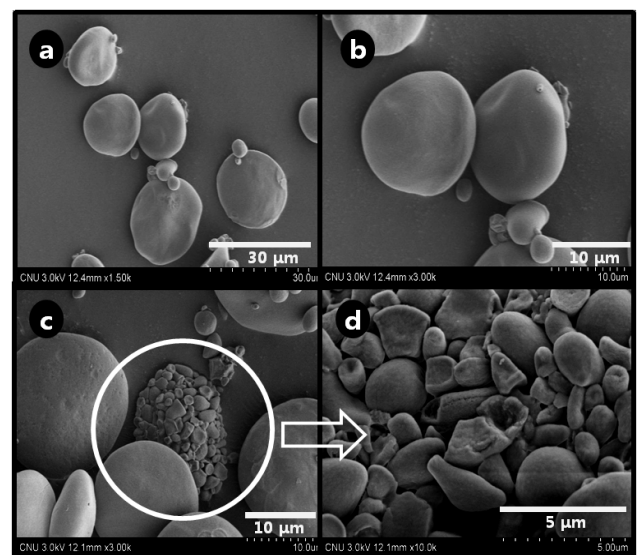


Fig. 5. Scanning electron micrographs of barley starch.

a:  $\times$ 1,500; b, c:  $\times$ 3,000; d:  $\times$ 10,000.

a, b: without enzyme; c, d: with enzyme.

## 6. 전분의 시차 주사 열량계 분석, 전분겔의 강도

효소 처리 유무에 따른 전분의 열적 특성을 Table 6에 나타내었다. Table 6에 의하면 호화 개시 온도( $T_0$ )는 효소 비처리 전분과 효소 처리 전분이 각각 62.54°C, 63.23°C로 측정되었으며, 호화 정점 온도( $T_p$ )는 효소 비처리 전분과 효소 처리 전분이 각각 66.06°C, 66.08°C로 측정되었고, 호화 종결 온도( $T_c$ )는 효소 비처리 전분과 효소 처리 전분이 각각 68.69°C, 68.97°C로 측정되었다. 또한 호화 엔탈피( $\Delta H$ (J/g))는 효소 비처리 전분과 효소 처리 전분이 각각 4.23, 4.18(J/g)로 측정되었다. Zheng & Bhatt(1998)에 따르면,  $\beta$ -glucanase의 다수의 효소를 처리하여 보리전분을 추출한 경우, 전분의 이화학적 성질의 변화 없이 전분을 획득할 수 있다고 하였다. 따라서 본 실험의 효소 처리 유무에 따른 전분의 열적 특성은 서로 유사한 것으로 판단되며, 효소를 처리한 경우에도 전분의 열적 특성 변화를 일으키지 않는 것으로 사료되었다.

Controlled stress rheometer를 이용한 겔 강도의 측정은 small-deformation oscillatory measurement로 겔 구조의 붕괴를 유도하지 않는(non-destructive) 방법으로 알려져 있다(Ross-Murphy SB 1984). 따라서 전분겔 형성 과정의 유변학적 특성 변화를 분자 차원에서 검토하고자, 효소 처리 유무에 따른 전분 현탁액의 가열과 냉각에 따른 저장 탄성률( $G'$ )의 변화를 Fig. 6에 나타내었다. 겔 강도가 증가하기 시작하는 겔 형성 지점에서 최대의 겔 강도를 나타내는 온도 범위는 효소 비처리 전분과 효소 처리 전분이 각각 63.5~66.0°C, 65.7~67.7°C로 측정되었다. 또한 전분겔의 최대 강도는 효소 비처리 전분과 효소 처리 전분이 각각 1,099±161, 957±143 Pa를 나타내어 효소 처리 전분의 겔 강도가 다소 낮게 나타났다. 전분겔의 강도는 용출된 아밀로스 분자들이 3차원 망상 구조를 형성하고(Hennig *et al* 1976, Eliasson AC 1986, Tester & Morrison 1990), 여기에 팽윤된 전분 입자가 결합하여 발현되는 것으로 알려져 있으며(Ring SG 1985), 효소 처리 전분이 다소 낮은 겔 강도를 나타내는 것은 주로 전술한 낮은 전분 순도에 기인한 것으로 사료되었다. 전분겔 최대 강도 이후의 지속적인 가열에 따라 효소처리 유무에 따른 두 전분 모두 겔 강도는 감소하였으며, 90°C에서의 유지 및 5°C까지의 냉각 과정에 따라 두 전분 모두 겔 강도가 지속적으로 감

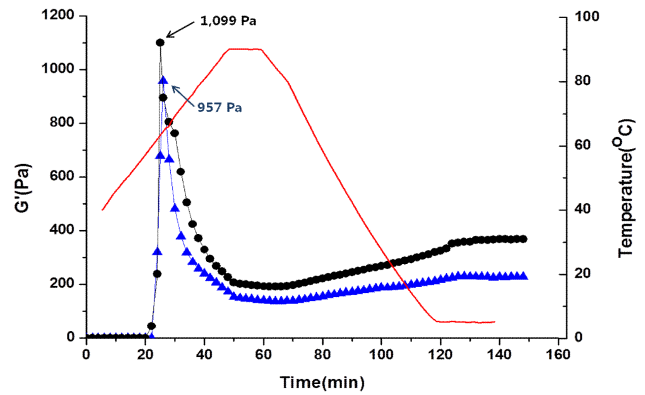


Fig. 6. Changes in the gel strength ( $G'$ ) of barley starch during temperature sweep ( $\blacktriangle$ : with enzyme;  $\bullet$ : without enzyme;  $-$ : temperature).

소하다가 80~85°C 이후의 냉각 범위에서 겔 강도가 완만하게 증가하였다. 이러한 결과는 Jeong *et al*(2013)이 가열과 냉각 과정에 따른 흰찰보리의 전분겔 강도를 측정 한 결과와 유사한 것으로, 전형적인 가열과 냉각 과정에 따른 보리전분 현탁액의 전분겔 강도 변화를 나타내었다.

## 요약 및 결론

$\beta$ -Glucanase를 이용하여 국내산 찰보리로부터 전분을 추출하고 전분 추출 수율을 최적화하는 효소 반응 조건을 반응 표면 분석법을 통해 조사하고자 하였다. 추출 수율은 독립 변수인 반응 시간이 짧을수록, 효소량이 많을수록, 가수량이 많을수록 높았으며, 효소량이 추출 수율에 가장 큰 영향을 주었다. 회귀 분석 결과, 최대 추출 수율을 나타내는 최적 조건은 반응 시간 2.63시간, 효소량 1.7%, 가수량 4.38배로 예측되었다. 효소를 처리하여 전분을 추출하는 경우 추출 수율이 크게 증가하였으며, 이의 원인을 규명하기 위해 전분 추출 공정 중 발생하는 잔여물(R1-R5)들의 전분 balance를 측정 한 결과, 효소를 처리했을 때 R1과 R5에 함유되어 있던 전분량이 크게 줄어든 것을 확인할 수 있었다. 따라서 전분 추출 수율이 증가한 주된 요인은, 전분 추출 공정 중 발생하는 잔여물 중 상당량의 전분을 내포하고 있던 R1과 R5에  $\beta$ -gluca-

Table 6. Pasting properties of isolated starches by differential scanning calorimetry

Sample	$T_0$ (°C)	$T_p$ (°C)	$T_c$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)
Without enzyme	62.54±0.02 <sup>1)a2)</sup>	66.06±0.46 <sup>a</sup>	68.69±0.45 <sup>a</sup>	4.23±0.76 <sup>a</sup>
With enzyme	63.23±0.03 <sup>b</sup>	66.08±0.18 <sup>a</sup>	68.97±0.37 <sup>a</sup>	4.18±0.34 <sup>a</sup>

$T_0$ : onset temperature,  $T_p$ : peak temperature,  $T_c$ : completion temperature,  $\Delta H$ : enthalpy for gelatinization.

<sup>1)</sup> Mean±S.D.

<sup>2)</sup> Values with different superscripts within a row are significantly different at  $p<0.05$ .



nase가 작용하여  $\beta$ -glucan 및 섬유질 등이 효과적으로 분해·제거되어 전분의 분리가 잘 이루어졌기 때문인 것으로 사료되었다. 또한 주사 전자 현미경을 통한 효소 처리 및 효소 비처리 전분 입자의 형태를 분석한 결과, 효소를 처리한 경우, 작은 크기의 전분 입자인 B-granule이 효율적으로 분리되었음을 알 수 있었다. 효소 처리 유무에 따른 전분의 순도는 효소 처리 시 다소 낮았으며, 이화학적 특성을 비교한 결과, 두 전분 간에는 대체로 유사한 경향을 나타내어 효소 처리에 따른 전분의 이화학적 특성 변화는 없는 것으로 사료되었다.

### 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 PJ008242)의 지원에 의해 이루어진 것임.

### 문헌

- Ahluwalia B, Ellis EE (1984) A rapid and simple method for the determination of starch and  $\beta$ -glucan in barley and malt. *J I Brewing* 90: 254-259.
- Anderson MA, Cook JA, Stone BA (1978) Enzymatic determination of 1,3:1,4- $\beta$ -glucans in barley grain and other cereals. *J I Brewing* 84: 223-239.
- Andersson AAM, Andersson R, Åman P (2001) Starch and by-products from a laboratory-scale barley starch isolation procedure. *Cereal Chem* 78: 507-513.
- AOAC (1990) Official Method of Analysis 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC. p 292.
- Bae JS, Jeong YS, Kim JW, Lee ES, Lee MJ, Hong ST (2012)  $\beta$ -Glucanase-assisted extraction of starch from glutinous barley. *CNU J Agric Sci* 39: 387-393.
- Chang YH, Lim ST, Yoo BS (2001) Effect of sucrose on the rheological properties of corn starch. *Korean J Food Sci Technol* 33: 700-705.
- De Haas BW, Goering KJ (1972) Chemical structure of barley starches. *Starch-Stärke* 24: 145-149.
- Eliasson AC (1986) Viscoelastic behavior during the gelatinization of starch I. Comparison of wheat, maize, potato and waxy-barley starches. *J Texture Stud* 17: 253-265.
- Fincher GB (1975) Morphology and chemical composition of barley endosperm cell walls. *J I Brewing* 81: 116-122.
- Fleming IA, Kawakami K (1977) Studies of the fine structure of  $\beta$ -D-glucans of barley extracted at different temperature. *Carbohydr Res* 57: 15-23.
- Henning VHJ, Lechert H, Goemann W (1976) Examination of swelling mechanism of starch by pulsed NMR method. *Starch-Stärke* 28: 10-14.
- Hopkins RH, Murray RH, Lockwood AR (1946) The  $\beta$ -amylase of barley. *Biochem J* 40: 507-512.
- Jeong YS, Kim JW, Lee ES, Han YY, Gil NY, Lee MJ, Lee GH, Hong ST (2013) Studies on physico-chemical characterization of starch extracted from domestic barley cultivars. *Food Eng Prog* 17: 203-211.
- Kim YS, Lee YT, Seog HM (1999) Physicochemical properties from waxy and non-waxy hull-less barleys. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 240-245.
- Lee HS (1997) Status and Prospectives of food industry. *Bull Food Technol* 10: 24-35.
- Lee MJ, Lee JH (2007) Analysis of processing conditions on *maesil kochujang* production using response surface methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 629-635.
- Lee MJ, Lee NY, Kim YK, Park JC, Choi ID, Cho SG, Kim JC, Park HK, Park KH, Kim KJ, Kim SH (2011) Physicochemical properties of pearled hull-less barley cultivars with normal and low amylose content. *Food Sci Biotechnol* 20: 55-62.
- Macgregor AW, Fincher GB (1985) Enzymatic quantification of (1-3), (1-4)  $\beta$ -D-glucan in barley and malt. *J I Brewing* 91: 285-295.
- McDonald AML, Stark JR (1988) A critical examination of procedures for the isolation of barley starch. *J Inst Brew* 94: 125-132.
- Medcalf DF, Gilles KA (1965) Wheat starches. I. comparison of physicochemical properties. *Cereal Chem* 42: 558-568.
- Palmer GH (1972) Morphology of starch granules in cereal grains and malts. *J I Brewing* 78: 326-332.
- Palmer GH (1975) Influence of endosperm structure on extract development. *J Am Soc Brew Chem* 33: 174-180.
- Palmer GH, Mackenzie CI (1986) Levels of alkali-soluble  $\beta$ -D-glucan in cereal grains. *J I Brewing* 92: 461-462.
- Ring SG (1985) Some studies on starch gelation. *Starch-Stärke* 37: 80-83.
- Ross-Murphy SB (1984) Biophysical Methods in Food Research. Blackwell Scientific Publications, London. pp 138-199.
- Seo HC (1999) Development of isolation process of barley starch using  $\beta$ -glucanase. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 15: 238-243.
- Tester RF, Morrison WR (1990) Swelling and gelatinization

- of cereal starches. I. Effect of amylopectin, amylose and lipids. *Cereal Chem* 67: 551-557.
- Wood PJ, Paton D, Siddiqui IR (1983) Determination of  $\beta$ -glucan in oats and barley. *Cereal Chem* 54: 524-533.
- Zheng GH, Bhatti RS (1998) Enzyme-assisted wet separation of starch from other seed components of hull-less barley.

*Cereal Chem* 75: 247-250.

---

접 수: 2013년 10월 28일  
최종수정: 2013년 12월 20일  
채 택: 2013년 12월 27일