

大豆種子の發芽時間에 따른 Monosaccharides와 Oligosaccharides의變化에 관한研究

金 怡 勳
江原大學

Studies on the Changes of Monosaccharides and Oligosaccharides during Germination of Soybean Seeds.

E. Hun Kim

Gangweon National University, Chuncheon

ABSTRACT

緒 言

During the germination of soybean (variety Peongyang: *Glycine max* L.) which was treated by hypochlorite and standard procedure, fructose content was highest and followed by glucose and galactose. Fructose, glucose and galactose decreased as germination period was longer, in the standard procedure. When hypochlorite was treated the fructose content was highest but galactose was almost negligible, and as the period of treatment was longer, fructose content decreased. The sucrose content increased until 96 hours and decreased thereafter. Over the whole period, the germinated soybean treated by hypochlorite showed higher sugar content than standard procedure. Raffinose decreased and disappeared after 96 hours in the standard procedure, and it didn't show up after 48 hours when treated by hypochlorite.

Stachyose decreased in both case.

各種 炭水化合物은 主要한 植物 및 動物의 構成成分으로 動植物體內에서 여러 重要한 機能을 나타낸다. Energy의 根源이 되며 植物과 어떤 動物의 支枝組織을 形成하는 것으로 이것은 大多數의 動物에서 蛋白質과 함께 큰 역할을 한다.

炭水化合物은 生物學的으로 보던 植物體 構成成分인 蛋白質이나 脂肪보다 더 基本的인 物質로 生覺되며 各各 獨特한 生物學的 機能을 지니고 있다. 또한 炭水化合物은 地球上에 있는 有機物中 第一 많은 것으로 其 大部分이 植物에서 유래한 것이며 사람을 비롯한 草食動物들의 음식물의 主成分이다.

大豆는 蛋白質과 油脂가 豊富한 作物이며 重要한 Energy源이다.

發芽過程中 이들 化合物들의 機能에 關하여 Holman⁽¹⁾은 大豆發芽過程中 Lipoxidase activity와 脂肪成分 變化에 對하여 報告하였으며, Howell⁽²⁾은 發芽中 大豆子葉의 mitochondria의 metabolic characteristics에 關하여 發表 하였다. Izawa와 Okamoto⁽³⁾는 大豆種子の 發芽中 化學的 成分의 移動에 對하여 發

表했고 Singh⁽¹⁰⁾는 大豆에 含有되어 있는 油脂와 脂肪酸의 遺傳性에 關하여 發表하였다. J.E. East等⁽¹¹⁾은 大豆發芽의 過程中 Stachyose, Raffinose, Sucrose와 Monosaccharides의 變化에 關한 研究에서 大豆의 直接的인 食品利用은 非消化糖의 存在때문에 어려운데 이것이 Stachyose라고 하였으며 Stachyose와 Raffinose는 發芽開始後 96時間이 經過하면 없어지고 Sucrose는 急激히 減少되는 反面에 Monosaccharides는 점점 增加하는 傾向이라고 報告하였다.

Steggerda와 Dimmick⁽¹²⁾는 大豆를 섭취하였을때 生成되는 CO₂ gas의 濃도가 미치는 영향에 關한 研究에서 섬유를 섭취하여 生成되는 것보다 더 化學的 組成에 關係가 있다고 하였다. 또 Richard와 Steggerda⁽¹³⁾는 개(犬)의 腹內에서 gas의 生成과 阻害에 關한 實驗結果 大豆 meal을 섭취시키면 더 gas가 많이 생긴다고 하였고 계속해서 Steggerda⁽¹⁴⁾는 사람이 大豆를 直接 食用하였을때 gas의 生成要因이 되는 것은 Sucrose, Raffinose, Stachyose와 같은 低分子量의 Oligosaccharides이며 蛋白質이나 高分子量의 Polysaccharides는 主要原因이 아니라고 하였다. Steggerda⁽¹⁴⁾는 培養後 적어도 6時間부터 24時間사이에 Stachyose와 Raffinose가 gas로 되는에는 嫌氣性 細菌의 作用에 起因한다고 하였다.

反面 Rochland⁽⁶⁾는 鼓腸의 要因은 Monosaccharides 및 Oligosaccharides 以外에 他物質 때문이라고 하였고 Hsu⁽⁹⁾는 大豆種子發芽中 炭水化物的 含量變化에서 脂肪含量이 많은 Hawkeye(約 22%)와 脂肪含量이 적은 P.I. 86002(約 16%) 2個品種을 13日間 發芽시키면서 子葉과 胚軸의 乾重, 全可溶性 炭水化物과 의 各種 糖類를 paper chromatography 法으로 測定하였다. 그 結果 時間이 經過함에 따라 胚의 乾重은 減少하는 反面 胚軸은 增加됐고 子葉에 含有되어 있는 Stachyose와 Raffinose는 3日째에 急激히 減少되고 9日後는 나타나지 않았다.

Monosaccharides는 子葉이나 胚軸에서는 1日後부터 나타났고 5日째 까지는 增加됐다가 其後 減少되었다고 하였다.

大豆에 含有되어 있는 Stachyose를 消化性糖으로 變化시키면 食品으로서의 價値는 더욱 높아 지리라고 生覺한다.

이러한 見地에서 大豆 “平壤”品種을 標準發芽와 Hypochlorite를 處理한후 發芽時間에 따른 大豆種子內에 含有되어 있는 Mono- 및 Oligosaccharides의 含量變化를 Thin-Layer Chromatography 法으로 分析하고 그 結果를 報告한다.

材料 및 方法

1. 實驗材料 및 處理

精選한 大豆 “平壤”品種을 濕紙에 싸서 30°C 發芽器에서 8時間 放置한후 25°C로 固定시켜 發芽시키면서 24, 48, 72, 96, 120, 144時間 經過한 大豆種子 10g씩을 取하여 試料로 하였다.

또 精選한 大豆 “平壤”品種을 0.05%의 Sodium hypochlorite 溶液에 15分間 浸漬시킨 다음 12時間 水浸하였다. 其後 乾燥濾紙로 種子에 附着되어 있는 水分을 除去한후 25°C 發芽器에서 發芽시키면서 24, 48, 96, 120, 144 時間 發芽시킨 種子 10g씩 取하여 試料로 하였다.

2. 實驗方法

各 試料 10g을 秤量하여 50% Ethanol 溶液 100ml를 加하고 逆流冷却器를 附着시킨후 10分間 加熱시켰다. 冷却後 warling blender로 磨碎한후 10% Trichloroacetic acid 50ml를 加하여 除蛋白시킨 다음 2000×g에서 30分間 遠心分離시켜 殘渣를 除去하였다. 上澄液을 取하여 Amberite I.R. 120에 通過시켰다. 通過된 濾液을 60°C water bath에서 5ml가 될때까지 減壓濃縮시켜 糖 分離用 試料로 使用하였다.

試料 1μl를 取하여 3300μm로 塗布한 Plate(20×35 cm)에 Spotting하여 一次元으로 展開시켰다⁽¹¹⁾.

展開溶媒는 Ethyl acetate : Isopropanol : Acetic acid : H₂O(35 : 60 : 35 : 30V/V)로 하였다⁽¹⁵⁾.

展開가 끝난것은 乾燥시킨후 20mg의 Naphthoresorcinol을 10ml의 Ethanol溶液에 溶解시킨 다음 0.2ml Conc-H₂SO₄⁽¹⁶⁾를 加한 液을 噴霧하여 發色시켰다.

各 斑點을 ATAKO. self-recording densitometer(Model KEMI-7)로 Recording한 다음 standard sugar를 同一한 方法으로 展開하여 作製한 standard curve에서 含量을 求하였다.

結果 및 考察

標準發芽와 Hypochlorite를 處理 하였을 때 發芽過程中 Mono- 및 Oligosaccharides의 含量變化는 表 1과 그림 6과 같다.

1. Monosaccharides의 含量變化

Glucose(Fig 1); 標準發芽시킨 大豆의 種子는 時間이 經過함에 따라 점점 減少하는 傾向이었고 72時間째는 半量으로 急激히 減少되었다.

Table 1. Content of individual sugar in soybean seed. (mg/g dry weight)

| Treatment | Hours Sugar | Hours | | | | | | |
|----------------------|-------------|-------|------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | 144 |
| Standard germination | Glucose | 7.4 | 7.6 | 7.1 | 3.9 | 2.3 | 2.3 | 2.0 |
| | Fructose | 13.0 | 10.4 | 9.4 | 5.4 | 4.1 | 2.9 | 2.4 |
| | Galactose | 3.1 | 6.8 | 3.1 | 2.9 | 2.6 | — | — |
| | Sucrose | 0.4 | 1.1 | 1.8 | 1.5 | 1.8 | 1.2 | 1.0 |
| | Raffinose | 3.3 | 2.2 | 1.8 | 1.4 | — | — | — |
| | Stachyose | 6.0 | 3.9 | 3.5 | 3.3 | 1.1 | — | — |
| Hypochlorite | Glucose | 7.4 | 0.8 | 0.8 | 0.5 | 2.0 | 3.3 | 2.1 |
| | Fructose | 13.0 | 12.5 | 3.2 | 0.6 | 1.6 | 1.6 | 4.0 |
| | Sucrose | 0.4 | 2.8 | 2.2 | 3.7 | 2.5 | 1.4 | 1.5 |
| | Raffinose | 3.3 | 3.0 | — | — | — | — | — |
| | Stachyose | 6.0 | 5.0 | 1.5 | — | — | — | — |

Hypochlorite 處理는 72時間까지 減少되었으며 其後 120時間에 3.3mg로 增加되었다가 144時間에는 減少되었다. 發芽開始되면 急激하게 減少하였다.

處理間에 있어서 120時間과 144時間만이 Hypochlorite 處理가 含量이 약간 높았고 標準發芽시킨 것이 含量이 월등히 많았다.

Fructose(Fig. 2); 發芽前에 13.0mg로 含量이 第一 많았고 標準發芽時 時間이 經過함에 따라 점점 減少되었고 144時間에는 2.4mg로 含量이 第一 적었다.

Hypochlorite 處理한 후 發芽시켰을 때는 72時間까지는 0.6mg로 減少되었고 그후는 144時間까지 增加되었다.

全期間中 24時間제와 144時間에서 만이 Hypochlorite 處理 한 것이 含量이 많았고 48時間에는 3배, 72

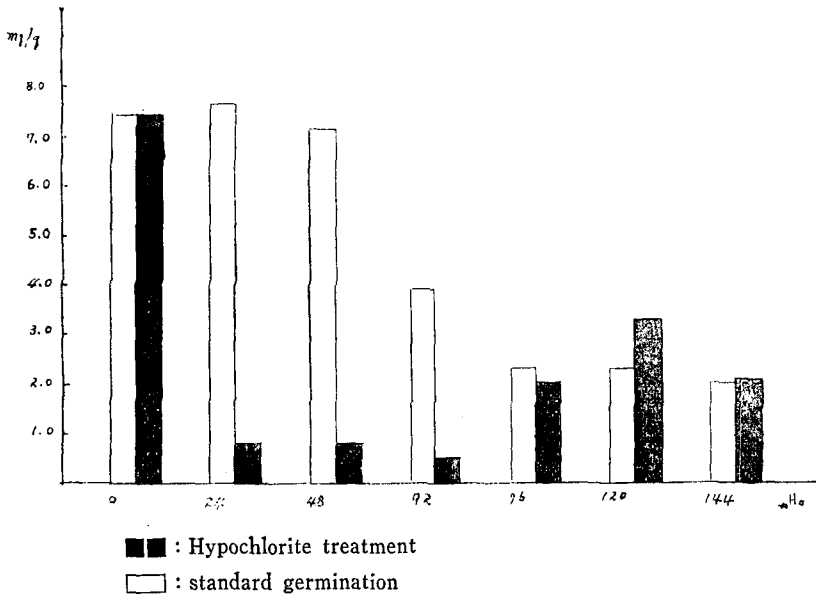


Fig. 1. Changes of glucose content

時間에는 9배, 96時間에는 2배, 120時間에는 1배씩 標準發芽時가 含量이 많았다.

Galactose(Fig. 3); 發芽前에 3.0mg이었다가 發芽開始 24時間에는 6.8mg로 增加되었고 其後 96時間까지 減少되었으며 120時間以後는 나타나지 않았다.

Hypochlorite 處理後 發芽시킨 大豆에서는 全然 나타나지 않았다.

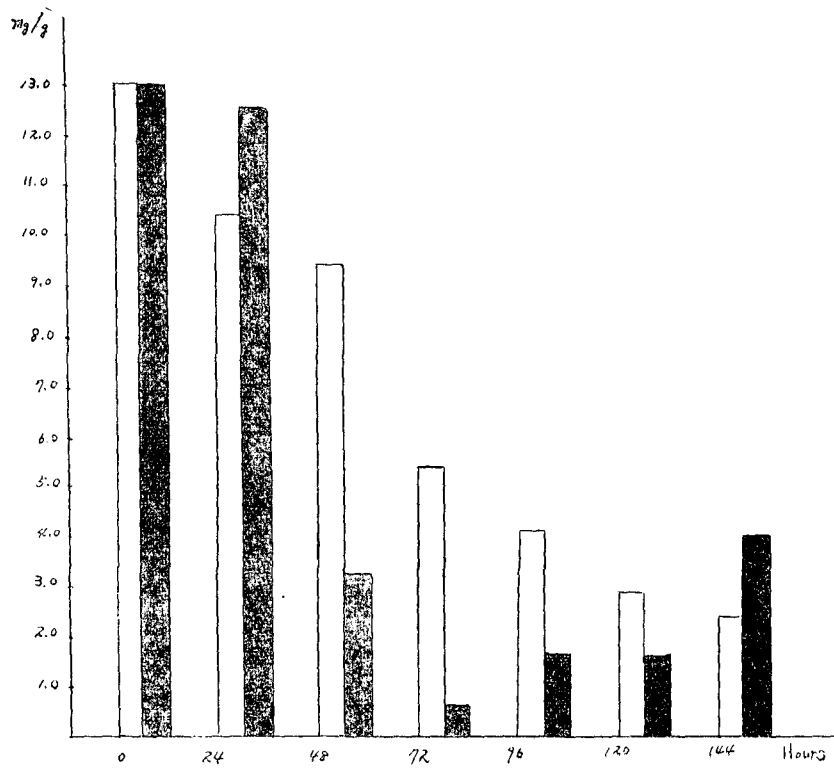
Monosaccharides 中에서 標準發芽時 全期間 Fructose가 第一 含量이 많았고 Glucose, Galactose順으로 含量이 적었다.

全 Monosaccharides의 含量變化는 時間이 經過함에 따라 점점 減少 되었다.

Hypochlorite 處理時 全期間中 96, 120時間을 除外하고는 標準發芽시켰을 때 含量이 많았다.

J.W. East等⁽⁴⁾의 發表에 依하면 Monosaccharide는 標準發芽時 發芽開始後 48時間부터 96時間까지 급격히 增加되었다가 그후는 減少하는 傾向이라고 하였다.

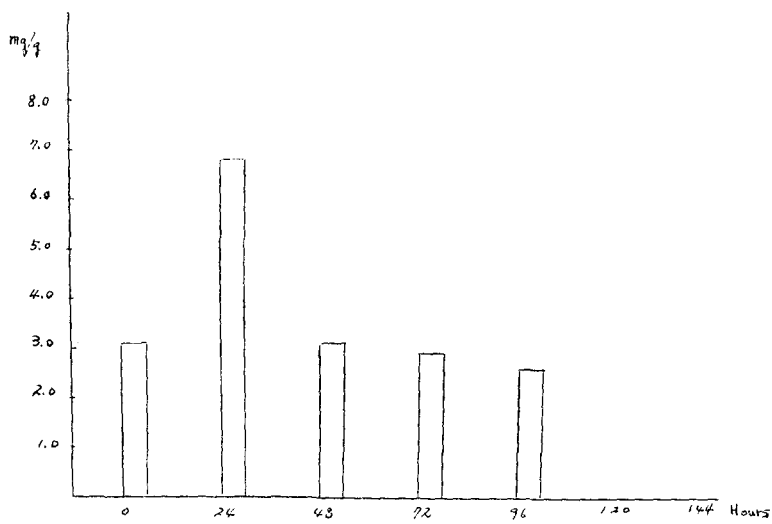
本 實驗에서는 發芽開始부터 계속 減少했다. Hsu等⁽⁶⁾이 發表한바에 依하면 發芽過程中 子葉과 胚軸의 糖含量이 5日제와 7日제에 各各 含量이 增加되었음을 감안할 때 種子中에 含有되어 있는 糖類들이 轉移되었을 것으로 보아 大豆種子의 Monosaccharides 含量이 적어진 것으로 본다.



■ : Hypochlorite treatment

□ : Standard germination

Fig. 2. Changes of fructose content



□ : Standard germination

Fig. 3. Changes of galactose content

2. Oligosaccharides의 含量變化

Sucrose(Fig 4); 標準發芽時 含量은 적으나 全期間中에 나타 났으며 發芽開始부터 96時間에까지는 增加되었다가 其後는 若干씩 減少하는 傾向이었다.

Hypochlorite處理時 72時間에 3.7mg로 第一 含量이 많았고 그후는 점점 감소되었다.

標準發芽와 Hypochlorite 處理間에는 Hypochlorite

處理가 全期間中 含量이 많았고 24時間과 72時間에 是 2倍가 含量이 많았다. East等⁽⁴⁾은 48時間까지는 若干씩 그리고 96時間까지는 急激히 減少했다가 144時間에는 含量의 變化가 없었다고 報告하였다. 그러나 本 實驗에서 兩處理 共히 72時間까지 增加되었다가 減少하는 傾向으로 보아 Tetrasaccharide인 Stachyose의 分解는 直接 Monosaccharides로 일단 di, tri의 단계적인 變化로 본다.

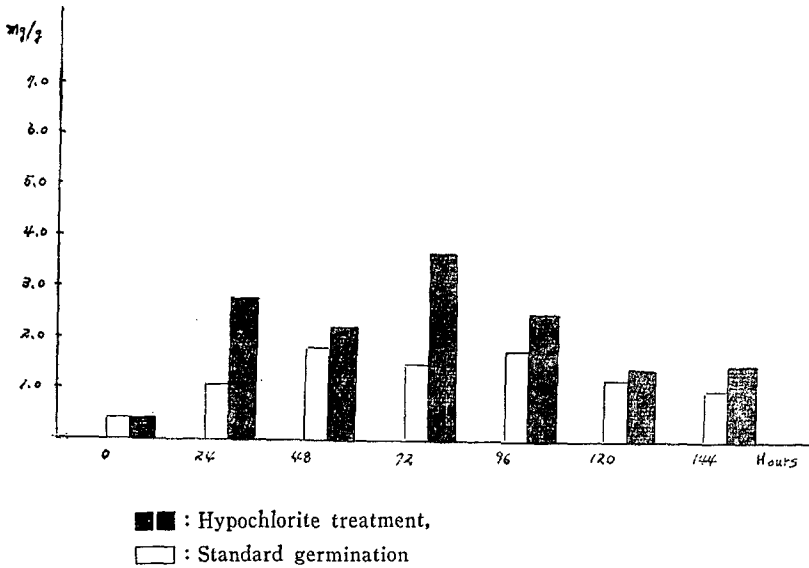


Fig. 4. Changes of sucrose content

Raffinose(Fig. 5); 標準發芽時 含量은 점점 감소되었고 96時間 以後에는 全然 나타나지 아니 하였다. 이 結果는 East의 實驗과 같은 경향이었다⁽⁴⁾.

Hypochlorite를 處理하였을때 24時間에만 나타났고 48時間 以後부터는 나타나지 않았다. East는 96時間

以後라고 하였으나 本 實驗에서는 48時間 以後부터 나타나지 아니하였다.

標準發芽時와 Hypochlorite 減少間에는 Hypochlorite處理가 24時間에 含量이 多少 많았다.

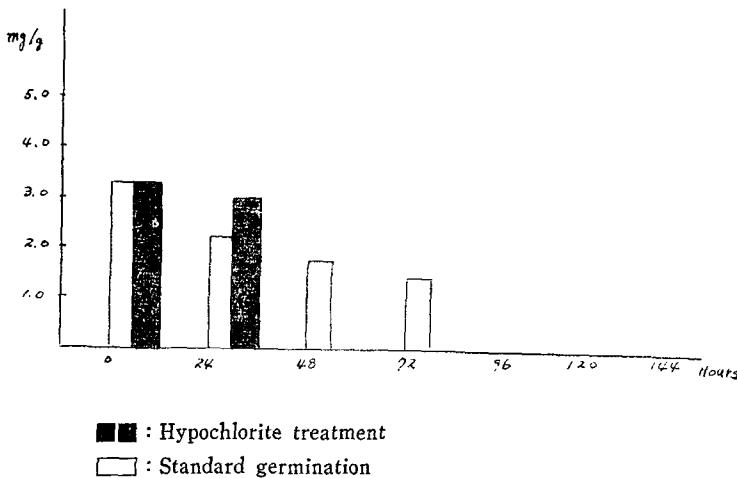
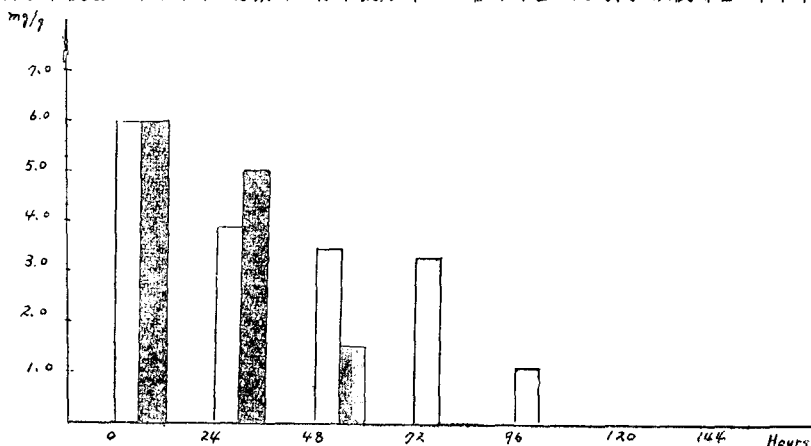


Fig. 5. Changes of raffinose content

Stachyose(Fig. 6) : 標準發芽時 96時間까지 含量이 減少되었으며 120時間 以後는 나타나지 않았다.

Hypochlorite處理時는 48時間까지 含量이 減少되었으며 72時間 以後는 나타나지 않았다. 標準發芽와



■ : Hypochlorite treatment

□ : Standard germination

Fig. 6. Changes of stachyose content

또 Hypochlorite處理는 96時間까지 나타난다고 하였으나 본실험은 72時間 以後에 나타나지 않았다.

全 Oligosaccharides 中 Stachyose가 含量이 많았지만 빨리 없어지는 傾向이었고 Hypochlorite處理가 標準發芽보다 더 빨리 없어졌으며 Oligosaccharide 中 Raffinose와 Stachyose가 특히 뚜렷한 傾向이었다.

摘 要

大豆에 含有되어 있는 Stachyose를 消化性糖으로 變化시켜 食品으로서의 價値를 提高시킬 目的으로 大豆 “平壤”品種을 標準發芽와 Hypochlorite를 處理한후 發芽過程中 種子內에 含有되어있는 Monosaccharides 및 Oligosaccharides의 含量變化를 Thin-Layer Chromatography法으로 實驗하였다.

1. Monosaccharides의 含量變化

標準發芽時 全期間中 Fructose가 第一 含量이 많았고 Glucose, Galactose順으로 含量이 적었고 時間이 經過함에 따라 점점 減少되었다. Hypochlorite處理時 全期間中 Galactose는 全然 나타나지 않았다.

두處理間에는 144時間을 除外하고 標準發芽시켰을 때가 Monosaccharide의 含量이 많았다.

2. Oligosaccharides의 含量變化

Sucrose는 標準發芽時 含量은 적으나 全期間中 나타났으며 96時間까지는 增加되었다가 若干씩 減少했다.

Hypochlorite處理間에는 24時間에는 Hypochlorite가, 48時間에는 標準發芽가 各各 含量이 많았다. East는 標準發芽時 144時間에도 나타났다고 하였으나 본실험에서는 120時間 以後에는 나타나지 않았다.

Hypochlorite 處理時 72時間에 含量이 많았고 그후는 감소하는 傾向이었으며 全 期間中 標準發芽보다 含量이 많았다.

Raffinose는 標準發芽時 含量은 減少되었고 96時間 以後에는 나타나지 않았다. Hypochlorite處理時 48時間 以後는 나타나지 않았다.

Stachyose는 두處理 共히 감소되었고 標準發芽時는 120時間 以後, Hypochlorite處理時는 72時間 以後에 나타나지 않았다.

引 用 文 獻

- Holman, R. T. 1948. Lipoxidase activity and fat composition of germinating soybeans. Arch. Biochem. 17:459-466.
- Howell, R.W. 1961. Changes in metabolic characteristics of mitochondria from soybean cotyledons during germination. Plant Physiol. 14:89-97.
- Izawa, G. and S. Okamoto. 1962. Transport of chemical constituents in germinating soybean seeds. Hyogo Noka Daigaku ken kyu Hokoku Nogekageikagaku Hen. 5:101-108.
- East, J. W., Nakayama and Parkman. 1972. Changes in stachyose, raffinose, sucrose and monosaccharides during germination of soybeans. Crop

Sci. Soc. Amer. 12:7-9.

5. Lato, M., Brunell and Giuffini. 1968. Analysis of carbohydrates in biological fluids by means of thin layer chromatography. *J. of Chromatog.* 36: 191-197.
6. Lato, M., Brunell and Giuffini. 1968. Bidimensional thin layer chromatography of carbohydrates on silica gel impregnated with boric acid. *J. of Chromatog.* 34:26-34.
7. Richards, E.A. and Steggerda. 1966. Production and inhibition of gas in various regions in intestine of the dog. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 122: 573.
8. Rockland, L.B. and Pieczarka. 1969. Stimulation of gas production and growth of clostridium *erfringens* type A (No. 3624) by legumes. *J. of Food Sci.* 34(5):411.
9. Hsu, S.H. and Hymowitz. 1973. Changes in carbohydrate contents of germinating soybean seeds. *Crop Sci.* 13:407-410.
10. Singh, B.B. 1967. Inheritance of oil and some of its fatty acids in soybeans. Thesis of Ph. D., University of Illinois Urbans, Illinois.
11. Steggerta, F.R. 1966. Effects of bean diets on concentration of carbon dioxide in flatus. *Am. J. Clin., Natri.*, 19:120.
12. Stefanis, V.A., and Ponte. 1968. Separation of sugars by thin layer chromatography. *J. of Chromatog.* 34:116-120.
13. Steggerda, F.R., Richards and Rackis. 1966. Effects of soybean products on flatulence in the adultman. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 121:1235.
14. Steggerda, F.R. 1968. Gastro intestinal gas following food consumption. *Ann. New York Acad. Sci.* 150:570.

SUMMARY

The objective of this experiment was to know the

results of increasing the value of soybean (*Glycine max L.*) as a human food. Soybean is expected to increase in the value of food by changing stachyose into digestable sugar. Variety "Peongyang" was used for this study. During the germination of soybean which was treated by standard procedure and hypochlorite, the contents of monosaccharides and oligosaccharides in soybean were estimated by thin layer chromatography.

1. Changes in content of monosaccharides.

During the germination period of standard procedure fructose was identified the dominant sugar followed by glucose and galactose. Fructose, glucose and galactose decreased as germination period became longer. When germination was treated by hypochlorite the fructose content was found the greatest proportion of sugars. Conversely, galactose was almost negligible. As the period of treatment was longer, the amount of fructose decreased. Soybeans that were treated by standard procedure contained much more sugars than the other treatment except when 144 hours were treated.

2. Changes in content of Oligosaccharides.

In case of treatment of standard procedure sucrose content was identified slightly over the whole period of treatment. The sucrose continued to increase until 96 hours treatment, and decreased thereafter. When germination was treated by hypochlorite, sugars had the tendency of decrease. Over the whole period, the germinated soybean treated by hypochlorite showed much more sugar content than the alternative treatment. Regarding raffinose, when treated by standard procedure raffinose decreased, and disappeared after 96 hours. On the other hand, it did not show up after 48 hours. Stachyose content decreased in both cases of treatment. When germinated by standard procedure, stachyose was not present after 120 hours. In addition, it did not appear after 72 hours when treated by hypochlorite.