

## 메밀 발아중 $\alpha$ -Amylase 활성도와 유리당 함량의 변화

이명헌 · 손홍수 · 주진순 · 오성기\* · 권태봉\*\*

한림대학교 한국영양연구소, \* 경희대학교 식품가공학과

\*\* 한림전문대학 식품영양과

## Changes in $\alpha$ -Amylase Activity and Free Sugar Contents of Buckwheat during Germination

Myung-Heon Lee, Heung-Soo Son, Jin-Soon Ju,  
Sung-Ki Oh\*, Tae-Bong Kwon\*\*

Korea Nutrition Institute, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea

\* Department of Food Technology, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

\*\* Department of Food Nutrition, Hallym Junior College, Chunchon 200-850, Korea

### Abstract

Changes in the  $\alpha$ -amylase activity and free sugar contents were investigated during buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Mönch) germination at 10°C for 7 days. The  $\alpha$ -amylase activity in ungerminated seeds was 1.66 U. It increased for the 1st day of germination, but then decreased until 3rd day, and thereafter increased. The free sugar contents in ungerminated seeds were as follows. The maltose, fructose, glucose and rhamnose were 1.81 mg%, 0.42mg%, 7.71mg%, 6.80mg% on dry weight basis, respectively. The maltose and fructose contents decreased in the initial stage of germination, but then gradually increased. The glucose contents decreased for the 3rd day, but sharply increased afterwards. The rhamnose contents decreased until 1 day, and then there was no significant change for the 6 days.

Key words : buckwheat, germination,  $\alpha$ -amylase activity, free sugar contents

### 서론

최근 늘어나는 성인병에 메밀이 예방효과가 있다는 연구보고에 따라 국민 1일당 메밀소비량이 1980년에 0.18 kg에서 1987년에 0.21 kg으로 증가하였고 2000년대에는 1.0 kg 수준으로 증가할 것으로 전망되고 있다<sup>1)</sup>. 한편, 늘어나는 중국메밀의 수입으로 국산메밀이 가격경쟁에서 뒤지고 있으므로 국산메밀의 부가가치를 높이고 메밀의 소비량 증대에 따른 농가 수입증대를 위해서는 국산메밀의 가공제품 생산이 시급하다.

곡류나 두류에 있어서 영양소의 유효도를 향상시키고 새로운 원료로서의 가치를 얻을 수 있는 방법 중의 하나는 식물종자를 발아시키는 것으로서 많은 연구가

이루어져 왔다<sup>2~9)</sup>. 막국수, 냉면, 메밀부침 등의 형태로 소비되고 있는 건강식품인 메밀을 이용하여 새로운 메밀가공 식품의 제조시 최적의 원료 공급을 목적으로 필자들은 전보<sup>10~12)</sup>에서 메밀을 발아시킴으로써 발아중 물리화학적 특성들과 주요 영양성분의 변화 및 특수성분으로써 rutin과 체내에서 중요한 생리적 기능을 나타내는 식이섬유의 변화를 보고한 바 있다.

고 등<sup>13)</sup>은 녹두 발아시 총당은 감소하고 환원당은 증가한다고 하였으며, 김 등<sup>14)</sup>은 대두 발아시 총당의 감소는 oligosaccharides가 주로 분해되기 때문이라고 하였다. 이 등<sup>10)</sup>은 메밀 발아시 총당의 감소는 발아중에  $\alpha$ -amylase의 활성도 증가로 인한 총당의 가수분해가 촉진되어 대사에 필요한 에너지원이나 식이섬유원인 자엽, 배축, 뿌리 등의 조직형성에 이용되기 때문이라 하였다. 한편 발아시 유리당의 변화에 있어서 김

Corresponding author : Tae-Bong Kwon

등<sup>15)</sup>은 유채 발아시 fructose와 glucose는 증가하고 sucrose는 감소한다고 하였다.

권의 보고<sup>16)</sup>에서 메밀 발아시 rutin의 함량은 발아 5일째에 초기에 비해 5배 정도 증가하였다는 점과 rutin은 glucose와 rhamnose로 구성된 rutinose와 quercetin의 배당체라는 점을 고려해 볼 때, 메밀 발아시 효소적 가수분해에 의한 유리당의 변화가 예상됨으로 본 연구에서는 메밀 발아에 따른  $\alpha$ -amylase의 활성도와 유리당 함량의 변화를 관찰, 비교하였기에 이를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

본 실험에 사용한 메밀은 강원도 춘천군 남산면에서 계약재배한 신농 1호를 추수한 것으로써 전보<sup>10)</sup>와 같이 결실 상태가 좋은 열매를 한겨울 동안 저장한 후 풍건(風乾), 석발(石拔), 정선(精選)하여 험잡물을 제거하고 사면체 모양의 종실이 충실한 종자를 선별하여 사용하였다.

### 2. 발아 및 시료의 제조

선별한 메밀종자를 전보<sup>10)</sup>와 같이 10°C로 유지된 항온기에서 1일 4회 주수와 뒤섞음을 하면서 7일 동안 발아시켰다. 발아 24시간마다 시료를 채취하여 수분함량 분석시료를 남겨 놓고 즉시 -20°C 냉동고에 보관한 뒤 동결건조기로 72시간 건조하였다. 건조시료를 실온에서 24시간 풍건한 후 분쇄기를 사용하여 분쇄하고, 20 mesh sieve로 쳐서 polyethylene bottle에 담아 parafilm으로 밀봉한 후 냉장고에 보관하면서 분석시료로 사용하였다.

### 3. $\alpha$ -Amylase 활성도 측정

#### 1) 조효소액 추출

시료로부터  $\alpha$ -amylase의 활성도를 측정하기 위해 먼저 발아메밀로부터 조효소액을 추출하였다. 즉 메밀 시료 1g에 0.5% NaCl 용액 100 ml을 가하여 30°C에서 1시간 진탕한 후 4°C, 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 원심분리한 상층액을 여과지 (Whatman

filter paper No. 2)로 여과한 후 효소활성용액으로 사용하였다.

#### 2) $\alpha$ -Amylase 활성도 측정

발아메밀의  $\alpha$ -amylase 활성도는 Peter의 방법<sup>17)</sup>에 의하여 측정하였다. 즉 0.0067M의 NaCl을 함유한 0.02M phosphate buffer(pH 6.9) 100 ml에 1 g의 soluble starch를 녹인 기질 용액 1 ml을 37°C에서 10분간 안정시킨 후, 조효소액 1 ml을 가하여 정확히 5분간 반응시켰다. 5분간 반응시킨 용액에 2 ml의 dinitrosalicylic acid reagent를 가하여 효소를 불활성화시킨 후, 끓는 water bath 상에서 5분동안 가열하고 재빨리 식힌 다음 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의  $\alpha$ -amylase 활성 측정시 외부로부터 첨가된 기질(soluble starch) 이외에 효소추출액 자체가 함유하고 있는 전분도 이용되기 때문에 효소추출액에 기질을 첨가하지 않은 상태에서  $\alpha$ -amylase 활성을 측정하여 측정값에서 빼주었다.  $\alpha$ -Amylase 활성도 (unit)는 37°C에서 5분간 반응시켰을 때 starch로부터 생성된 maltose의 mg수로 하였으며, 시료액의 단백질 함량은 Lowry 법<sup>18)</sup>에 준하여 측정하였고 bovine serum albumin을 사용한 검량선에 의하여 그 함량을 산출하였다.

#### 4. 유리당 분석

발아메밀의 유리당은 다음과 같이 추출하여 Valverde 등<sup>19)</sup>과 최 등<sup>20)</sup>의 방법에 의하여 HPLC로 분석하였다. 즉 시료 약 2 g을 정확히 칭량하여 250 ml round bottom flask에 취하고 여기에 80% ethanol 용액 100 ml을 가한 다음, reflux condenser를 부착하여 80°C water bath 상에서 2시간 동안 환류냉각시켰으며, 8,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 제단 백된 상층액을 회수하였다. 원심분리 후 pellet을 위와 같이 2회 더 반복처리하여 먼저 얻은 상층액에 더한 다음, 10% lead acetate 용액 1 ml을 가하고 다시 8,000 rpm에서 20분간 원심분리하였다. 그 상층액에 10% oxalic acid 용액 1 ml을 가하고 다시 원심분리하였으며, 여기서 얻은 상층액에서 30 ml을 취하여 vaccum rotary evaporator로 감압농축한 다음 10 ml로 정용하였다. 이것을 C<sub>18</sub> Sep-Pak에 통과시켜 색

색소를 제거하고 다시 millipore filter(pore size 0.45  $\mu\text{m}$ )로 여과하여 그 여액을 HPLC에 injection하였다. 이 때 사용한 HPLC 분석조건은 column ; Waters Sugar-Pak, solvent ; Acetonitrile:H<sub>2</sub>O (84:16), flow rate : 0.5 ml/min, detector ; RI, injection volume : 20 $\mu\text{l}$ 였다.

## 결과 및 고찰

### 1. $\alpha$ -Amylase 활성도의 변화

발아에 따른  $\alpha$ -amylase의 활성변화는 Fig. 1과 같다.  $\alpha$ -Amylase의 활성은 발아전 1.66 U에서 발아 1일째에 3.95 U로 급격히 증가하였으며, 발아 2, 3일째에 1.32 U, 1.09 U로 최저 활성을 나타내었다. 뿌리의 성장이 급격히 일어나기 시작하는 발아 4일째부터  $\alpha$ -amylase 활성도 급격히 증가하여 발아 5, 6일에는 2.44 U, 3.81 U의 활성도를 보였고, 발아 7일째에는 9.18 U로 발아 전에 비하여 약 6배 정도 증가하였다. 김 등<sup>7)</sup>과 민<sup>8)</sup>의 보고에 의하면 종자 발아시  $\alpha$ -amylase 활성도는 일반적으로 조사광도가 높아질수록, 조사 시간이 길어질수록, 발아가 가능한 온도범위내에서 온도가 높을수록 증가한다고 하였다. 한편 이와 같은 결과는 담배종자 발아시  $\alpha$ -amylase 활성도는 발아초기에 수분의 흡수와 함께 증가하고, 활성도의 증가와 더불어 발아는 급속히 진행되어  $\alpha$ -amylase 활성이 최고에 도달하였을 때 발아도 끝나는 양상을 보였다는 민<sup>8)</sup>의

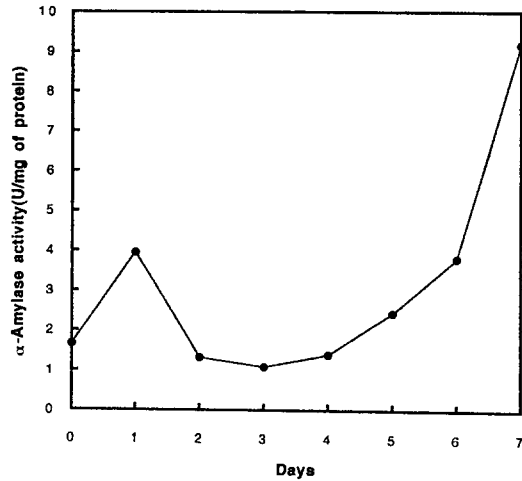


Fig. 1 Changes in the free sugar contents of buckwheat during germination at 10°C.

보고와 비슷하였으며, 보리종자의 발아중에  $\alpha$ -amylase 활성도가 증가하였다는 김 등<sup>7)</sup>의 보고와도 비슷한 경향을 나타내었다.

이와 같이 발아 초기에  $\alpha$ -amylase 활성도가 증가하는 것은 수분의 흡수와 함께 건조씨에 들어있는 long lived mRNA, ribosome, 단백질 합성 효소계 등이 저장 물질의 가수분해에 필요한 효소를 빠른 시간내에 합성하기 때문인 것으로 여겨지며, 발아 4일 이후 활성

Table 1. Changes in the free sugar contents of buckwheat during germination at 10°C (mg%)

Germination Time(days)	Maltose		Fructose		Glucose		Rhamnose	
	Wet basis	Dry basis	Wet basis	Dry basis	Wet basis	Dry basis	Wet basis	Dry basis
0	1.02	1.81	0.24	0.42	4.36	7.71	3.85	6.80
1	0.55	0.98	0.16	0.28	0.46	0.81	0.65	1.15
2	0.05	0.09	0.04	0.08	0.34	0.63	0.92	1.70
3	0.16	0.31	0.06	0.12	0.27	0.54	0.27	0.54
4	0.67	1.32	0.19	0.37	1.42	2.81	0.87	1.72
5	0.87	1.83	0.43	0.92	7.37	15.45	1.64	3.43
6	0.98	2.21	0.71	1.59	16.59	37.37	1.01	2.27
7	1.42	3.18	1.34	3.01	19.22	43.18	0.67	1.50

Values are mean of triplicates

도의 급격한 증가는 배의 유근이나 배축의 신장, 발아 시 에너지원으로서의 녹말 가수분해에 의한 포도당의 생성 등에  $\alpha$ -amylase의 합성이 유도되었기 때문이라 생각된다<sup>7, 20)</sup>.

## 2. 유리당 함량의 변화

발아에 따른 메밀의 유리당 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 유리당 함량은 건량기준으로 발아 전에 maltose 1.81 mg%, fructose 0.42 mg%, glucose 7.71 mg%, rhamnose 6.80 mg%이었다. 발아중 메밀의 유리당 함량변화를 건량기준으로 보면 maltose는 발아초기에 감소하기 시작하여 발아 3일째에 최저치를 나타내었고 4일째부터 뚜렷하게 증가하는 경향을 나타내었으며, fructose는 발아 2일째에 감소하였다가 3일째부터 서서히 증가하였다. Glucose는 발아 전 7.71 mg%에서 발아 3일째에 0.54 mg%까지 감소하였다가 점차 증가하기 시작하여 5일 이후 급격히 증가하였으며 발아 7일째는 43.18 mg%로 발아 전에 비해 약 5배 정도 증가하였다. Rhamnose의 경우 발아 전 6.80 mg%에서 발아 1일째에 1.15 mg%로 감소한 상태에서 이후 전 발아기간 동안 거의 변화가 없었다. 발아중 당함량의 변화에 관한 보고들에서 고등<sup>13)</sup>은 녹두 발아시 총당은 감소하나 환원당은 증가한다고 보고하였고, 이 등<sup>10)</sup>과 김 등<sup>14)</sup>은 메밀과 대두 발아시 총당이 감소하였다고 보고하였다. 한편 김 등<sup>14)</sup>은 대두 발아시 총당의 감소는 oligosaccharides가 주로 분해되어 에너지원으로 이용되기 때문이라 하였고, Per Aman<sup>22)</sup>은 녹두와 chickpea(이집트콩)의 경우 glucose 와 fructose는 증가하는 경향을, starch와 polysaccharides는 감소하는 경향을 나타내었다고 하였다. 김 등<sup>15)</sup>은 유채발아시 fructose와 glucose는 감소하였다가 증가하는 경향을, sucrose는 증가하였다가 감소하는 경향을 보였다고 하였다. 본 실험에서 발아중 환원당인 maltose, fructose, glucose의 증가는 권 등<sup>16)</sup>과 Per Aman<sup>22)</sup>의 보고와 비슷한 경향을 나타내었다.

한편, maltose, fructose, glucose가 발아초기 급격한 감소 후에 4일째까지 감소하는 것은 종자의 성장 대사작용에 필요한 에너지원이나 생합성에 많은 양의

유리당이 이용<sup>8, 23)</sup> 되었기 때문이라 생각되며, 4일 이후 이들의 급격한 증가는 앞서 측정된  $\alpha$ -amylase의 활성도와 비교해 볼 때 발아중  $\alpha$ -amylase의 활성증가로 인한 탄수화물의 가수분해에 의한 것이라 생각된다. 또한 발아 초기에 비해 rhamnose의 감소,  $\alpha$ -amylase의 활성증대와 glucose의 생성 그리고 권<sup>16)</sup>이 보고한 rutin 함량의 증가를 고려해 볼 때, 메밀발아중 rutin의 합성 전구체로 rhamnose와 glucose가 사용되는 것으로 생각된다.

## 요 약

메밀(신농 1호)을 10°C에서 7일간 발아시켜, 24시간마다 시료를 채취하여  $\alpha$ -amylase와 유리당의 변화를 관찰, 비교한 결과는 다음과 같다.  $\alpha$ -Amylase 활성도는 발아 전 1.66 U에서 발아 1일에 3.95 U로 급격히 증가하였고, 3일째에 1.09 U의 최저 활성을 나타내었으며, 4일째부터 다시 급격히 증가하여 발아 7일에는 9.18 U의 활성도를 나타내었다. 유리당 함량은 건량기준으로 발아 전에 maltose 1.81 mg%, fructose 0.42 mg%, glucose 7.71 mg%, rhamnose 6.80 mg%이었다. 발아중 메밀의 유리당 함량변화에 있어서 maltose는 발아초기에 감소하기 시작하여 3일째에 최저치를 나타내었고 4일째부터 뚜렷하게 증가하는 경향을 나타내었으며, fructose는 발아 2일째까지 감소하다가 3일째부터 서서히 증가하였다. Glucose는 발아 전 7.71 mg%에서 3일째에 0.54 mg%까지 감소하였다가 점차 증가하기 시작하여 5일 이후 급격히 증가하여 7일에는 43.18 mg%로 발아 전에 비해 약 5배 정도 증가하였다. Rhamnose는 발아 1일째에 1.15 mg%로 감소한 상태에서 이후 전발아기간 동안 거의 변화가 없었다.

## 감사의 말

본 연구는 1993년도 과학기술처 특정연구과제 과학기술지방확산사업에 의한 연구결과의 일부입니다. 연구비 지원에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. 농촌진흥청 : 농업경영관실, 농촌진흥청 보고서, p 512(1990)
2. 조병미, 윤석권, 김우정 : 유채 발아중 아미노산과 지방산 조성의 변화, 한국식품과학회지, 17(5), 371(1985)
3. Wu, Y.V. : Effect of germination on oat and oat protein, *Cereal Chem.*, 60(6), 418(1983)
4. Hsu, D., Leung, H. K., Finney, P. L. and Morad, M.M. : Effect of germination on nutritive value and baking properties of dry peas, lentils, and faba beans, *J. Food Sci.*, 45, 87(1980)
5. Colmenarse De Ruiz, A.S. and Bressani, R. : Effect of germination on the chemical composition and nutritive value of amaranth grain. *Cereal Chem.*, 67(6), 519(1990)
6. 김인숙, 권태봉, 오성기 : 발아에 의한 유채의 일 반성분, 지방산 및 무기물의 조성변화, 한국식품과학회지, 20(2), 188(1986)
7. 김진구, 김순동, 김광수 : 맥아제조시 적색광조사에 의한  $\alpha$ -amylase 활성변화, 한국식품과학회지, 17(40), 237(1985)
8. 민태기 : 담배의 종자형성 및 발아생리에 관한 연구, 고려대학교 박사학위 논문(1985)
9. Collins, J. L. and Sanders, G. G. : Changes in trypsin inhibitor activity in some soybean varieties during maturation and germination, *J. Food Sci.*, 41, 168(1976)
10. 이명헌, 손홍수, 최원균, 오성기, 권태봉 : 메밀 발아중 물리화학적 특성과 무기질 함량의 변화, 한국식품영양학회지, 7(4), 267(1994)
11. 이명헌, 우순자, 오성기, 권태봉 : 메밀 발아중 식이섬유 함량과 조성의 변화, 한국식품영양학회지, 7(4), 274(1994)
12. 이명헌, 우순자, 오성기, 권태봉 : 메밀 발아중 불용성식이섬유 함량과 조성의 변화, 한국식품영양학회지, 8(1), 36(1995)
13. 고무석, 박복희 : 녹두발아중 당함량의 변화, 한국영양식량학회지, 12(3), 236(1983)
14. 김우정, 오훈일, 오명원, 변시명 : 대두 발아가 대두유의 품질 및 아미노산 조성에 미치는 영향, 한국식품과학회지, 15(1), 12(1983)
15. 김인숙, 권태봉, 오성기 : 발아에 의한 유채의 glucosinolate 및 유리당 함량의 변화에 관한 연구, 한국식품과학회지, 20(2), 194(1988)
16. 권태봉 : 메밀의 발아과정 중 rutin과 지방산의 변화, 한국식품영양학회지, 7(2), 124(1994)
17. Bernfeld, P. : Amylases,  $\alpha$  and  $\beta$ , In *Methods in enzymology*, Colowich, S. P. and Kaplan, N. O.(ed.), Academic Press, N. Y. Vol. 1, p. 149(1955)
18. Lowry, O.H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 265(1951)
19. Valverde, C. V., Valverde, C.M., and Heranz, J. : Determination of soluble carbohydrate in yogurts by HPLC, *J. Dairy Sci.*, 67(4), 759(1984)
20. 최진호, 장진규, 박길동, 박명환, 오성기 : 고속액체 크로마토그래피에 의한 인삼 및 인삼제품중의 유리당의 정량, 한국식품과학회지, 13(2), 107(1981)
21. 안신성, 장영희, 김영진, 김윤식, 박봉규, 이연주, 하재청 : 생물과학, 아카데미 서적, 서울 p. 167(1987)
22. Per Åman : Carbohydrates in raw and germinated seeds from mung bean and chickpea, *J. Sci. Food Agr.*, 30, 869(1979)
23. Tajiri, T. : Suitable harvest time in reference to the changes of nutritional component during cultivation of bean sprouts, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 28(2), 79(1981)

---

(1995년 2월 27일 수리)