

식혜의 이소말토올리고당에 관한 연구 - 4보 찹쌀식혜 -

안 용 근

大阪市立大學 理學部 生物學科 酵素化學研究室
日本國 558 大阪市 住吉區 杉本 3-3-138

A Study on Sugars in Korean Sweet Rice Drink "Sikhye" - 4. Glutinous Rice Sikhye -

Yong-Geun Ann

Laboratory of Enzyme Chemistry, Department of Biology, Faculty of Science,
Osaka City University, Sugimoto 3-3-138, Sumiyoshi, Osaka, 558, Japan

Abstract

Sikhye was produced from glutinous rice. The glutinous rice Sikhye was found to contain 7.3% of limit dextrin, 10.1% of maltose, 1.3% of maltotriose and 1.75% of rice residue. Limit dextrin in glutinous rice Sikhye was purified by ethanol fractionation followed by gel chromatography on Biogel P-2. The purified limit dextrin showed both signal of α -1,4- and α -1,6-glucosidic linkage with its estimation ratio of 5:1 by $^1\text{H-NMR}$ analysis. Limit dextrin was digested with enzymes(30units/ml) of α -amylase, α -glucosidase and glucoamylase from *Aspergillus awamori*, sweet potato β -amylase and human salivary α -amylase at 37°C for 1 hour, respectively. Hydrolysis rates of these amylases on it were similar that of rice Sikhye. α -Glucosidase plus human salivary α -amylase hydrolyzed it to 18%. The results suggest that glutinous rice is more effective to produce high level of branched maltooligosaccharide compared with rice as raw material for Sikhye making.

Key words : commercial Sikhye, sweet rice drink, limit dextrin

서 론

본 연구자는 시판식혜를 분석하여 주성분이 설탕이기 때문에 시판식혜는 전통식혜로 볼 수 없다고 하였다¹⁾. 그에 대하여 업체를 대변하는 한^{2,3)}이 엿기름과 쌀만으로는 식혜가 될 수 없기 때문에 설탕을 넣을 수 밖에 없고, 그래서 설탕식혜도 전통식혜라는 무리한 주장을 폈다. 그러나, 본 연구자는 설탕이 들어간 식혜에 대한 기록은 최근에 등장함으로써 설탕식혜는 전통식혜가 아닌 것으로 밝히고⁴⁾, 전통방식대로 엿기름과 쌀만으로 식혜를 만들어 한의 주장이 사실무근이라는 점을 밝혔다⁵⁻⁹⁾. 그리고, 전통식혜 제조법을 체계화, 과학화시킨 결과를 발표하였다⁵⁻⁹⁾.

나아가, 전통식혜(멥쌀식혜)에는 α -1,4-글루코시드 결합 다섯에 α -1,6-글루코시드 결합이 하나인 한계덱스트린(이소말토올리고당)이 5.3%⁷⁾ 들어있다는 점과, 함유된 한계덱스트린과 밥알은 아밀라아제 소화성이 낮기 때문에 비피두스 활성인자라는 점을 밝혔다⁸⁾. 그러나, 시판식혜에는 한계덱스트린이 미량밖에 들어 있지 않고, 함유된 α -1,6-결합도 전통식혜의 1/3에 지나지 않기 때문에 실효성이 적은 것으로 나타났다⁹⁾.

식혜의 건강적 가치는 비피두스균 활성인자인 한계덱스트린 함량이 높을수록 높다^{10,11)}. 멥쌀은 α -1,6-결합이 많은 아밀로펙틴이 적고, α -1,6-결합이 없는 아밀로오스의 함량이 많기 때문에 한계덱스트린의 생성량에는 한계가 있으나 찹쌀은 α -1,6-결합을 많이 함유한 아밀

로펙틴 만으로 이루어져 있으므로 한계덱스트린 생산량을 증가시킬 수 있다.

본 연구는 한계덱스트린 함량이 높은 식혜를 얻기 위하여 찹쌀로 식혜를 제조하여 한계덱스트린과 밥알을 분리정제하고, 구조와 아밀라아제 소화성을 분석한 결과이다.

재료 및 방법

1. 식혜제조 및 한계덱스트린과 밥알의 분리 조제

전보의 방법⁶⁾에 따라 찹쌀 20%, 엿기름 4% 농도로 하여 60°C에서 7시간 당화시켰고, 당화중 1시간 간격으로 HPLC 및 TLC로 분석하였다. 엿기름은 비락(주)에서 제공받은 것을, 찹쌀은 일본산을 사용하였다.

2. 한계덱스트린의 분리정제

상기 방법으로 조제한 식혜를 원심분리(10,000rpm×15분)하여 침전을 제거한 용액 400ml에 에탄올 1,200ml를 가하여 원심분리(10,000rpm×15분)하여 생성된 침전을 물 200ml에 녹여 에탄올 600ml를 가하여 원심분리(10,000rpm×15분)하였다. 이와 같은 방법으로 에탄올 침전을 2회 반복하여 얻은 침전을 물 50ml에 녹여서 그 중 10ml를 Biogel P-2 컬럼(4.5×55cm)에 가하여 증류수를 용매로 크로마토그래피하여 HPLC 분석으로 균일한 부분만을 취해 동결건조하여 시료로 사용하였다.

3. 당함량 및 단백질 함량

당함량은 페놀-황산법¹²⁾, 단백질 함량은 Lowry-Folin법¹³⁾으로 측정하였다.

4. 한계덱스트린 및 밥알의 효소적 가수분해

전보⁸⁾와 동일한 효소를 사용하여 동일한 방법과 조건으로 분석하였다.

5. HPLC, TLC, ¹H-NMR

전보⁷⁾와 동일한 방법과 조건으로 분석하였다.

결 과

1. 식혜제조시의 당성분 변화

찹쌀식혜 제조시의 당성분별 당화 패턴은 멥쌀식혜와 거의 차이가 없으나, 멥쌀식혜는 당이 7시간까지 꾸준히 증가하는 데 반해 찹쌀식혜는 4시간에 당화가 거의 완료되었다. 찹쌀식혜의 말토오스 함량은 10.1%로 멥쌀식혜보다 약간 적으나 한계덱스트린은 7.3%를 나타내 멥쌀식혜의 5.3%⁷⁾보다 38%나 증가한 결과를 나타냈다. 멥쌀식혜는 한계덱스트린이 7시간까지 꾸준히 증가하는데 반해 찹쌀식혜는 4시간째에 7.9%로 최대를 나타낸 다음 점차 줄어들어 7.3%를 나타냈다. 이것은 아밀로펙틴에 α -1,6-의 결사슬이 많아서 α -아밀라아제와 β -아밀라아제가 α -1,6- 가지 부분을 가수분해하는데 시간이 걸리기 때문이다. 글루코오스는 멥쌀식혜보다 적게 생성되었다(Fig. 1, 2, Table 1).

7시간 당화시킨 식혜의 총당은 18.9%, 밥알은 1.75%를 나타냈다.

한편, 건조 밥알의 당함량은 26.4%, 단백질 함량은 41.6%를 나타냈다.

2. 한계덱스트린의 ¹H-NMR 분석 및 pullulanase 분석

찹쌀식혜의 한계덱스트린은 멥쌀식혜와 같이 알코올 침전법 만으로는 정제가 잘 안 되어 알코올 침전을 4회 반복하여 Biogel P-2 겔 크로마토그래피로 정제하였다(Fig. 3, 4). 정제 한계덱스트린의 ¹H-NMR 분석 결과 α -1,4-글루코시드 결합과 α -1,6-글루코시드 결합이 5:1, 즉, 글루코오스의 α -1,4-글루코시드 결합 다섯에 α -1,6-의 결사슬이 하나인 구조를 나타냈다(Fig. 5). 이것은

Table 1. Changes of sugars in the product of Sikhye with time of reaction

(unit : %)

Sugar time	0	1	2	3	4	5	6	7
G ₁ ¹⁾	0.05	0.06	0.11	0.06	0.1	0.12	0.17	0.18
G ₂ ²⁾	0.8	3.4	7.4	9.0	9.9	10.0	10.0	10.1
G ₃ ³⁾	0.3	0.9	1.1	1.1	1.1	1.2	1.2	1.3
Limit dextrin	0.6	3.4	6.8	7.4	7.9	7.6	7.5	7.3
Total	1.8	7.8	15.4	17.6	19.0	18.9	18.9	18.9

¹⁾ glucose

²⁾ maltose

³⁾ maltotriose

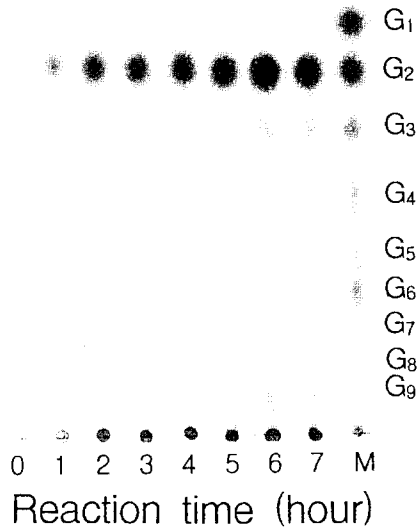


Fig. 1. TLC of sugars in glutinous rice Sikhye. Reaction mixture contained 20% glutinous rice and 4% malt. The reaction mixture was incubated at 60°C for 7 hour, the samples were taken out at one hour intervals as indicated, and applied TLC plate.

멥쌀식혜의 한계덱스트린⁷⁾과 같은 결과로, 다른 시그널도 같아서 구조상 차이는 나타나지 않았다. Pullulanase로 가수분해한 결과도 멥쌀식혜의 결과와 같이 말토오스에서 말토헥사오스까지 생성되어 말토헥사오스 또는 말토펜타오스 주사슬에 말토오스에서 말토테트라오스까지의 결사슬이 결합된 한계덱스트린으로 나타났다 (Fig 6, Fig. 7의 7).

3. 한계덱스트린과 밥알의 아밀라아제 가수분해
참쌀식혜의 한계덱스트린과 밥알을 여러 아밀라아제

로 소화시켜서 생성된 당의 종류는 멥쌀식혜와 같다 (Fig. 6, 7). 한계덱스트린에 대한 아밀라아제 가수분해율은 글루코아밀라아제가 57%로 가장 높고, 다음 *Aspergillus awamori* α -아밀라아제가 47%를 나타냈다. 그 중 인체에 존재하는 타액 α -아밀라아제는 10%, α -글루코시다아제는 6% 가수분해하였고, 이들을 함께 가한 것은 18% 가수분해하였다. 이들 결과는 멥쌀식혜의 결과⁸⁾와 거의 차이가 없다 (Table 2).

밥알의 아밀라아제 가수분해율도 멥쌀식혜와 거의

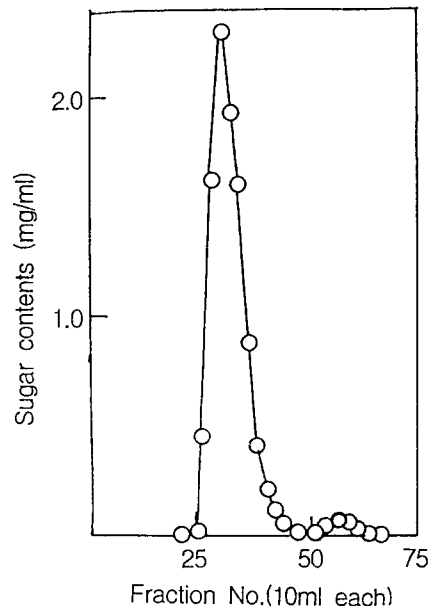


Fig. 3. Gel chromatogram of limit dextrin from glutinous rice Sikhye on a column of Biogel P-2. Column size, 4.5×55cm : elute, distilled water.

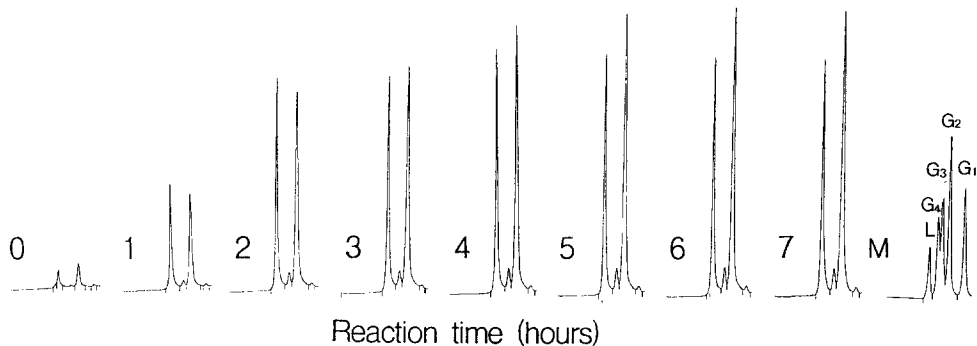


Fig. 2. HPLC of sugars in glutinous rice Sikhye. Reaction conditions were the same as in Fig. 1. Markers : G₁, glucose ; G₂, maltose ; G₃, maltotriose ; L, limit dextrin.



Fig. 4. Purification of limit dextrin in glutinous rice Sikhye. 0, Sikhye ; precipitate from 2, 2nd ethanol fractionation ; 3, 3rd ethanol fractionation ; 4, 4th ethanol fractionation ; C, Biogel P-2 gel chromatography. Markers : G₁, glucose ; G₂, maltose ; G₃, maltotriose ; I, limit dextrin

같다.

전보의 전통식혜(멥쌀식혜)⁸⁾ 및 시판식혜⁹⁾, 본보의 찰쌀식혜의 한계덱스트린과 밥알의 아밀라아제 가수분해율은 Table 2와 같다. 멥쌀식혜와 찰쌀식혜는 차이가 그다지 없으나 시판식혜의 한계덱스트린은 가수분해율이 매우 높다. 중요한 것은 인체에 존재하는 α -아밀라아제와 α -글루코시다아제를 함께 작용시켰을 때, 멥쌀식혜와 찰쌀식혜는 18% 밖에 가수분해되지 않아 효과

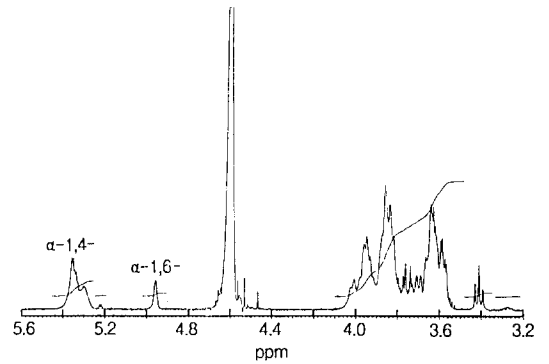


Fig. 5. ¹H-NMR analysis of limit dextrin from glutinous rice Sikhye. The sample was analyzed by JERO-GX-400 NMR spectrophotometer operating at 400MHz in D₂O at 40°C. Chemical shifts were measured with sodium-4,4-dimethyl-4-sila-pentane sulfonate (DSS) as an internal standard.

적인 비피두스 활성인자로 나타났으나 시판식혜는 61%나 가수분해되어 비피두스 활성효과가 그다지 없다. 이것은 시판식혜의 한계덱스트린은 덱스트린이라기보다 전분에 가까운 것을 의미한다⁹⁾.

전보⁸⁾에서 멥쌀식혜의 한계덱스트린은 25% 가수분해된 것으로 보고하였으나 그것은 외부 마커를 사용한 결과이다. 그러나 내부 마커를 사용하여 계산한 결과 18%를 나타냈다. 본 결과는 모두 내부 마커를 사용하였다.

이같이 멥쌀식혜와 찰쌀식혜의 한계덱스트린의 구조와 α -아밀라아제와 α -글루코시다아제 가수분해율은 18%로, 비피두스균 활성화 효과는 동일하다. 그러나, 찰쌀식혜의 한계덱스트린 함량은 멥쌀식혜보다 38%나 더 많으므로 비피두스균 활성화 효과는 훨씬 높다.

찰쌀식혜 밥알은 α -아밀라아제와 α -글루코시다아제의 혼합 작용으로 26% 가수분해되었다. 가수분해율은 멥쌀식혜 > 시판식혜 > 찰쌀식혜의 순을 나타내 찰쌀식혜 밥알의 가수분해율이 가장 낮아서 비피두스균 활성화 효과 및 식이섬유 효과가 가장 높은 것으로 나타났다. 다른 아밀라아제에 의한 가수분해율은 시판식혜가 비교적 낮다.

결과적으로, 찰쌀식혜에 함유된 한계덱스트린과 밥알은 구조와 수율상 비피두스 활성화 효과 및 식이섬유 효과가 가장 우수한 것으로 나타났다.

요 약

찰쌀 20%, 엿기름 4%를 가하여 7시간 동안 당화시

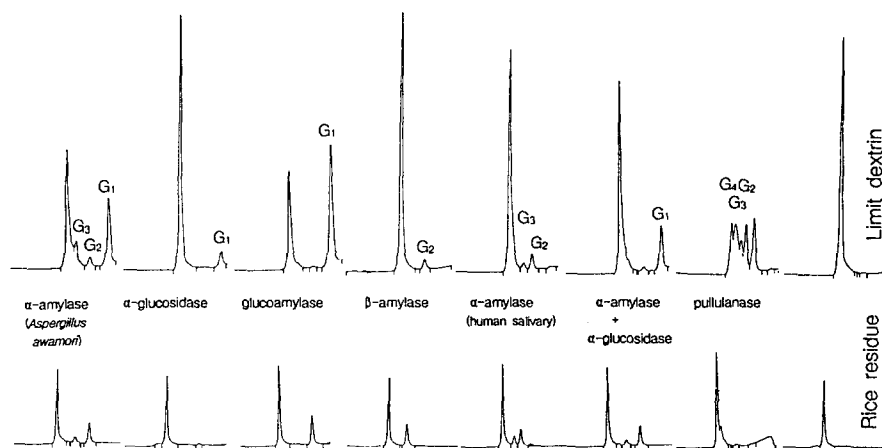


Fig. 6. Amylase digestion of limit dextrin and rice residue from glutinous rice Sikhye. Reaction mixture contained 30units of each amylase, 2% of isomaltooligosaccharide and rice residue from glutinous rice Sikhye in 1ml of 0.05M acetate buffer(pH 5.5). The reaction mixtures were incubated at 37°C for 1 hour and heated 3min at 100°C. 15 μ l aliquot of the supernatant after centrifugation was applied on HPLC.

Table 2. Digestion rates of limit dextrin and rice residue from Sikhye by amylases (Unit : %)

Amylases	Limit dextrin			Rice residue		
	Rice Sikhye	Glutinous rice Sikhye	Commercial Sikhye	Rice Sikhye	Glutinous rice Sikhye	Commercial Sikhye
α -Amylase ^{a)}	45	47	56	33	28	28
α -Glucosidase	6	6	5	3	3	17
Glucoamylase	64	57	66	35	33	28
β -Amylase	8	4	30	32	28	19
α -Amylase ^{b)}	16	10	28	39	29	24
α -Amylase ^{b)} + α -glucosidase	18	18	61	40	26	28

^{a)} *Aspergillus awamori*, ^{b)} human salivary

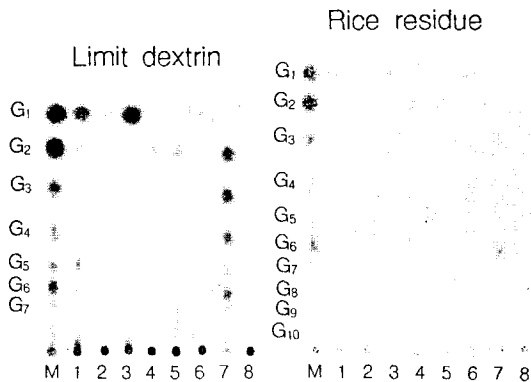


Fig. 7. Hydrolysis of limit dextrin and rice residue from glutinous rice Sikhye by amylases. Reac-

tion conditions were the same as in Fig. 6

1, *Aspergillus awamori* α -amylase ; 2, *Aspergillus awamori* α -glucosidase ; 3, *Aspergillus awamori* glucoamylase ; 4, sweet potato β -amylase ; 5, human salivary α -amylase ; 6, *Aspergillus awamori* α -glucosidase + human salivary α -amylase ; 7, pullulanase ; 8, substrate ; M, markers.

켜 제조한 식혜는 말토오스 10.1%, 한계덱스트린 7.3%, 말토트리오스 1.3%, 글루코오스 0.18%, 밥알 1.75%를 나타냈다. 알코올 침전, Biogel P-2의 겔 크로마토그래피로 식혜의 한계덱스트린을 정제하여 ¹H-NMR 분석한 결과 한계덱스트린은 α -1,4-글루코시드 결합과 α -1,6-글루코시드 결합이 5:1로 이루어졌고, pullulanase 처리한 결과 말토오스와 말토헥사오스까지의 분포를 나타내어 멥쌀식혜에서 얻은 한계덱스트린과 구조

가 같은 결과이다. 밥알의 당함량은 26.4%, 단백질 함량은 41.6%를 나타냈다.

참쌀식혜의 한계덱스트린과 밥알에 30unit/ml의 α -아밀라아제, 글루코아밀라아제, α -글루코시다아제, β -아밀라아제를 작용시킨 결과 글루코아밀라아제 외에는 일부밖에 가수분해하지 못하였다. 인체의 효소인 α -아밀라아제와 α -글루코시다아제를 함께 작용시킨 결과 한계덱스트린의 가수분해율은 18%, 밥알의 가수분해율은 26%를 나타냈다.

알 림

본 연구는 大阪市立大學 理學部 生物學科 酵素化學研究室의 南浦能至 교수와 飯塚勝 교수의 協力과 支援으로 이루어졌다. *Aspergillus awamori*의 α -아밀라아제와 글루코아밀라아제, α -글루코시다아제는 같은 연구실의 Mrs. Trisanti Anindyawati에게, pullulanase와 isoamylase는 大阪市立工業研究所의 北畑壽美雄 박사에게 받았다. 이에 감사드린다.

참고문헌

1. 안용근, 이석건 : 시판식혜에 관한 연구, 한국식품영양학

- 회지, 8, 165-171 (1995).
2. 한역 : 쌀이용 전통음료의 산업화와 발전방향, 전통식품의 현황과 품질개선 심포지움논문집, 한국식품과학회, 169-196 (1995. 11. 15).
3. 한역 : 소위 설탕물 식혜에 관한 의견, 한국식품개발연구원 (1995. 11. 15).
4. 안용근, 이석건 : 전통식혜 및 시판식혜의 역사적 고찰 및 정의, 한국식품영양학회지 9, 37-44 (1996).
5. 안용근, 이석건 : 식혜산업의 문제점과 품질향상방안, 한국식품영양학회지 9, 41-51 (1996).
6. 안용근 : 전통식혜 제조, (주) 비락 위탁연구 결과보고서 (1996).
7. 안용근 : 식혜의 이소말토올리고당에 관한 연구 - 1보 정제 및 구조분석 -, 한국식품영양학회지, 10, 82-86 (1997).
8. 안용근 : 식혜의 이소말토올리고당에 관한 연구 - 2보 효소적 분석 -, 한국식품영양학회지, 10, 87-91 (1997).
9. 안용근 : 식혜의 이소말토올리고당에 관한 연구 - 3보 시판식혜 -, 한국식품영양학회지, 10, 92-96 (1997).
10. 北畑壽美雄 : 糖質の機能, 糖質の科學, 新家龍, 南浦能至, 北畑壽美雄, 大西正健編, 朝倉書店 p69-105 (1996).
11. 菅野智榮 : 分枝オリゴ糖, 天然添加物と新食品素材, 食品化學新聞社, p89-92 (1988).
12. Dubois, M., Gills, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. : Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Anal. Chem.*, 28, 350-356 (1956).
13. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951).

(1997년 5월 22일 접수)