

설탕을 원료로 제조된 프락토올리고당 액상 제품에서 프락토올리고당의 가수분해에 영향을 미치는 요인

인만진* · 김동청¹ · 채희정²

청운대학교 식품영양학과, ¹순천제일대학 식품영양과, ²호서대학교 식품생물공학과

Influencing Factors on the Hydrolysis of Fructooligosaccharides in Fructooligosaccharides Liquid Mixture

Man-Jin In*, Dong Chung Kim¹ and Hee Jeong Chae²

Department of Human Nutrition and Food Science, Chungwoon University, Hongseong 350-701, Korea

¹Department of Food Science, Suncheon First College, Suncheon 540-744, Korea

²Department of Food and Biotechnology, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

Received October 27, 2005; Accepted February 1, 2006

Key words: fructooligosaccharides, hydrolysis, pH, total solid, fructose

서 론

프락토올리고당(fructooligosaccharides, FOS)은 설탕의 과당 잔기에 과당 1~3분자가 β -(2→1)-glycoside 결합으로 결합되어 각각 1-kestose(GF₂), nystose(GF₃) 그리고 1^F-fructofuranosylnystose (GF₄)로 명명된 올리고당으로 바나나, 벌꿀, 양파, 아스파라거스, 우엉 등에 소량씩 함유되어 있는 천연의 당질이다.^{1,2)} FOS는 섭취 시 사람의 소화 효소로 분해되지 않는 비소화성 당류로 대장에서 유익한 세균인 bifidobacteria를 선택적으로 증식시킬 수 있는 prebiotics의 한 종류로 식품 및 사료의 첨가물로 널리 사용되고 있다.³⁻⁵⁾ 최근 우리나라에서는 건강기능식품에 관한 법률에 따라 FOS는 장내 비피더스균의 증식 및 장내 유해균의 성장 억제에 도움이 되며 배변 활동을 원활히 하고 칼슘의 흡수에 도움이 되는 기능성이 인정되어 고시형 건강기능식품으로 추가되었다. 따라서 FOS의 수요는 안정적으로 증가할 것으로 예상된다.

건강기능식품 또는 식품첨가물로서 FOS는 inulin을 화학적 또는 효소적인 방법으로 분해하여 oligofructose를 얻거나, 설탕을 원료로 하여 *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans* 등의 미생물 균체 또는 균체내의 효소를 회수하여 회분식 혹은 연속식으로 제조하는 방법이 상업화되어 있다.⁶⁻¹⁰⁾ 후자의 경우 설탕에 과당 전이효소(fructosyltransferase) 혹은 β -fructofuranosidase를 작용시키면 설탕의 55% 이상이 FOS로 전환되어 미반응 설탕과 부산물로 포도당과 소량의 과당이 공존하는

반응액을 농축한 저순도 액상 제품(FOS 함량 40% 이상)과 이를 크로마토그래피로 FOS만을 분리하여 건조한 고순도 분말 제품(FOS 함량 95% 이상)이 생산되고 있다. 지금까지는 경제적인 이유로 액상 FOS 제품이 주로 생산되어 식품과 사료용으로 사용되고 있다. 그러나 FOS는 isomaltooligosaccharides나 galactooligosaccharides와 같은 다른 종류의 올리고당에 비하여 내열성과 내산성이 취약한 특성과¹¹⁾ 산성 pH조건에서 온도가 증가할수록 FOS의 분해 속도가 증가한다는 연구 결과¹²⁾를 고려하면 FOS 액상 제품의 경우 저장과 유통 과정에서 FOS가 분해되어 품질이 저하되는 심각한 문제가 발생된다.

본 연구에서는 설탕을 원료로 제조한 저순도 FOS 액상 제품의 저장과 유통 과정에서 FOS의 분해를 최소화하여 액상 제품의 품질 유지기간을 향상시키기 위하여 저순도 액상 제품에서 FOS의 분해에 영향을 주는 요인들을 검토하였으며 이를 바탕으로 FOS의 분해를 최소화할 수 있는 조건을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

재료. 본 실험에 사용된 액상 FOS는 기존의 방법에 따라 제조하였다.^{8,13)} 이온교환수지에 고정화시킨 *Aureobasidium pullulans* KFCC 10754 기원의 β -fructofuranosidase를 충전한 50°C packed-bed 반응기에 50%(w/w)의 설탕용액(pH 5.0)을 연속적으로 통과시켜 설탕을 FOS로 전환시킨 후 농축하였으며, 원료로 사용한 설탕은 식품용 정백당(삼양사, 한국)이었다.

FOS의 안정성 조사. 제품의 고형분 농도, pH 및 최종 제품에서 과당 농도 등이 FOS의 안정성에 미치는 영향을 다음과 같은 방법으로 조사하였다. 효소 반응액을 70°C에서 진공 농축

*Corresponding author
Phone: +82-41-630-3278; Fax: +82-41-632-3278
E-mail: manjin@chungwoon.ac.kr

하여 제조한 FOS 액상 제품 200 g을 FOS의 분해를 촉진시키기 위하여 유리병에 넣은 후 완전히 밀봉하지 않고 60°C incubator에 보관하면서 정기적으로 시료를 채취하여 FOS 함량을 분석하였다. 결과는 3회 이상 반복하여 평균값으로 나타내었다.

분석방법. 효소 반응액과 제품의 FOS와 설탕, 포도당, 과당의 함량은 Sugar-Pak 1 column(Waters, Milford, MA)을 사용하여 HPLC(Waters R-401, refractive index detector)로 분석하였다.¹³⁾ Ca-EDTA 용액(50 mg/l)을 mobile phase로 사용하였고 유속은 0.5 ml/min이었으며 column 온도는 90°C이었다. FOS의 함량은 1-kestose(GF₂)와 nystose(GF₃), 1^F-fructofuranosylnystose(GF₄)의 함량의 합으로 나타내었다. FOS 함량의 변화는 초기 농도에 대한 상대적인 값으로 계산하였다.

결과 및 고찰

pH의 영향. 효소 반응으로 50%(w/w) 설탕 용액에서 설탕의 55% 이상이 FOS로 전환된 효소 반응액을 고형분 농도 75%(w/w) 이상으로 농축하여 제품화하는 것이 일반적이다. 농축하기 직전의 효소 반응액의 pH가 FOS의 안전성에 미치는 영향을 조사하였다. 반응액의 pH를 5.0~6.5로 각각 조절한 후 고형분 농도 75%로 농축하여 60°C에 보관하면서 FOS의 함량변화를 측정하였다(Fig. 1). 반응액의 pH가 5.0인 경우, 16일 경과 후 FOS가 약 54% 잔존하였으나 6.0 이상의 경우에는 FOS의 87%가 잔존하였다. 특히 pH 6.0 이상에서는 FOS의 잔존율이 높았으며 이러한 경향은 pH가 증가하면 FOS의 가수분해가 감소된다는 기존의 보고¹²⁾와 일치하는 결과이다. 따라서 FOS 반응액의 pH는 농축 전에 6.0으로 조절하는 것이 적당할 것으로 판단된다. 반응액의 pH를 조절함에 있어 FOS의 가수분해 속도는 사용하는 산의 종류(염산, 황산, 초산)에 영향을 받지 않는 것으로 보고¹⁴⁾되어 있으나, 염산과 levulenic acid를 사용하여 pH 4.5로 조절하고 동일하게 FOS의 함량변화를 측정할 결

과, 4일 경과 후 FOS의 잔존율이 81%와 69%로 levulenic acid를 사용한 경우 FOS의 분해가 촉진되었다(Fig. 2). 다당류의 분해로 생성되는 levulenic acid는 분자구조에 ketone group이 존재하는 유기산으로 염산보다 FOS의 분해를 촉진시킨 것은 반응성이 강한 ketone group에 의한 것으로 사료된다.

고형분 농도의 영향. 효소 반응액의 pH를 6.0으로 조절한 후 고형분의 농도를 70, 75, 80%(w/w)로 각각 농축하여 60°C에 보관하면서 FOS의 함량변화를 측정하였다(Fig. 3). 고형분 농도가 80%인 경우, 16일까지 FOS의 분해정도가 매우 미미하였으나 70%로 농축한 경우, 35%의 FOS가 분해되어 FOS의 잔존율은 고형분의 농도에 비례하였다. 고형분 농도 40% 까지에서 oligofructose의 가수분해 속도는 고형분 농도에 비례한다는 보고¹⁴⁾와 상이한 결과이나 이는 본 연구와 고형분 농도의 차이에 기인하는 것으로 사료된다. 고형분의 함량을 기존의 액상 FOS 제품은 75% 이상, 물엿은 80% 이상으로 제조하는 것이

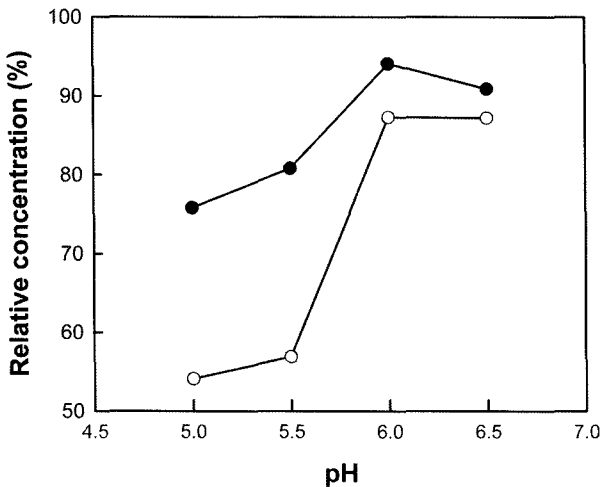


Fig. 1. Effects of pH on the FOS hydrolysis in 75% (w/w) FOS mixture at 60°C. Closed circle: relative FOS concentration after 12 days incubation, open circle: relative FOS concentration after 16 days incubation.

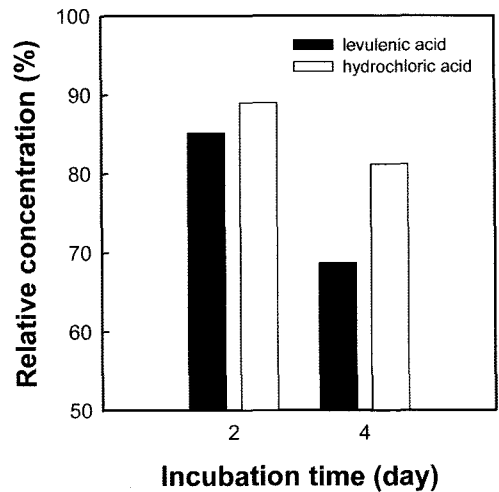


Fig. 2. Effects of types of acid on the FOS hydrolysis in 75% (w/w) FOS mixture (pH 5.0) at 60°C.

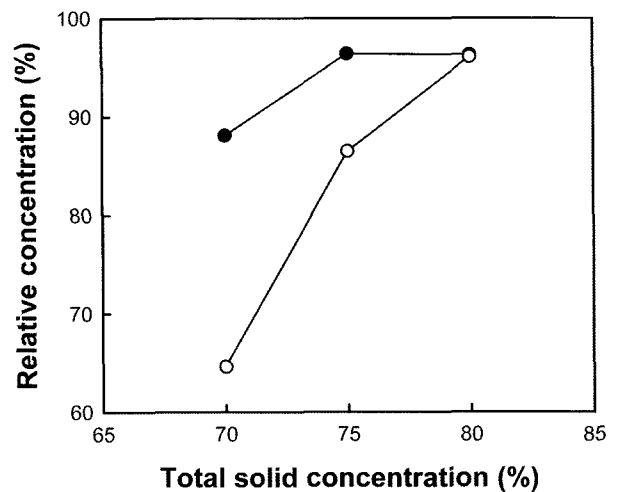


Fig. 3. Effects of total solid concentration on the FOS hydrolysis in 75% (w/w) FOS mixture (pH 6.0) at 60°C. Closed circle: relative FOS concentration after 10 days incubation, open circle: relative FOS concentration after 16 days incubation.

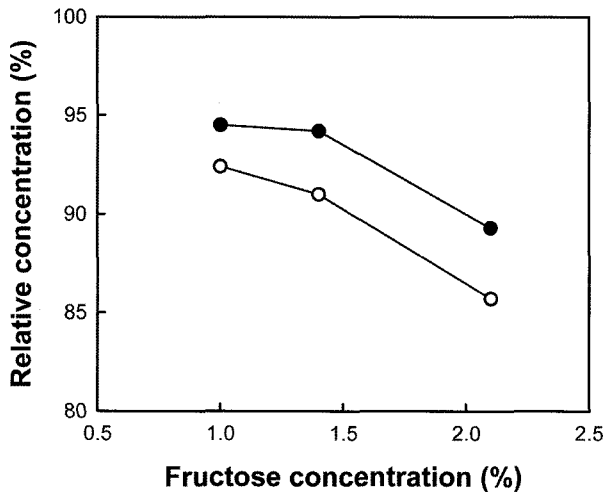


Fig. 4. Effects of initial fructose concentration on the FOS hydrolysis in 75% (w/w) FOS mixture (pH 5.0) at 60°C. Closed circle: relative FOS concentration after 5 days incubation, open circle: relative FOS concentration after 10 days incubation.

일반적이거나 FOS의 분해를 최소화하기 위하여는 FOS 액상 제품도 물엿과 유사하게 고형분의 농도를 80% 수준까지 높이는 것이 필요할 것으로 판단된다.

과당농도의 영향. 과당은 ketone group이 존재하는 반응성이 강한 단당이므로 과당의 함량이 FOS 성분의 분해에 미치는 영향을 조사하였다. pH 5.0의 효소 반응액을 고형분 농도 75%로 농축한 후 과당을 첨가하여 과당의 함량을 1.0~2.1%로 조절한 후 60°C에 보관하면서 FOS의 함량변화를 측정하였다(Fig. 4). 10일이 경과 후 과당의 농도가 1.0%인 경우 FOS는 약 7% 분해되었으나 과당의 농도가 2.1%로 높아지면 FOS는 14% 분해되어 FOS의 분해는 과당의 농도에 비례하는 것으로 나타났다. 효소 반응액의 pH를 6.0으로 조절한 경우 동일한 조건에서 FOS의 분해는 완화되었으나 과당 농도의 영향은 동일한 경향이 있었다(데이터 제시는 생략함). 효소 반응액에 과당이 존재하면 FOS의 분해가 촉진되며 GF₂, GF₃, GF₄에서 과당과 과당의 결합은 포도당-과당의 결합 보다 쉽게 분해되므로¹⁵⁾ 과당의 농도가 급속히 증가하게 되고 따라서 FOS의 분해는 촉진된다. 그러므로 효소 반응액 중 과당의 농도를 낮게(1% 이하) 유지하는 것이 FOS의 분해를 줄일 수 있는 방법이다. *A. pullulans* 기원의 효소는 설탕을 FOS로 전환시키는 반응 과정에서 과당을 생성하지 않는 것으로 알려져 있으며¹⁶⁾ FOS의 성분(GF₂, GF₃, GF₄)은 설탕과 동일하게 과당의 수용체와 공여체로 작용할 수 있다.²⁾ 그러므로 효소 반응에서 GF₅ 이상의 고분자 성분과 역반응으로 설탕이 생성되지 않으므로 전환반응 과정에서 설탕의 농도가 낮아지고 FOS 함량이 높아지면 GF₂, GF₃, GF₄가 기질로 작용하여 분해되어 반응액 중 과당의 농도가 증가하게 된다. 따라서 효소반응을 정확하게 조절하여 과당의 생성을 최소화하는 것이 중요하다.

FOS 안정성 비교. 고형분 농도, pH, 과당의 농도가 FOS의 분해에 미치는 영향을 동시에 조사하였다. 효소 반응액의 pH 5.0, 고형분 농도 75%, 과당농도 1.8%의 FOS 액상 시료와 효소 반응액의 pH 6.0, 고형분 농도 80%, 과당농도 1.1%의 시료

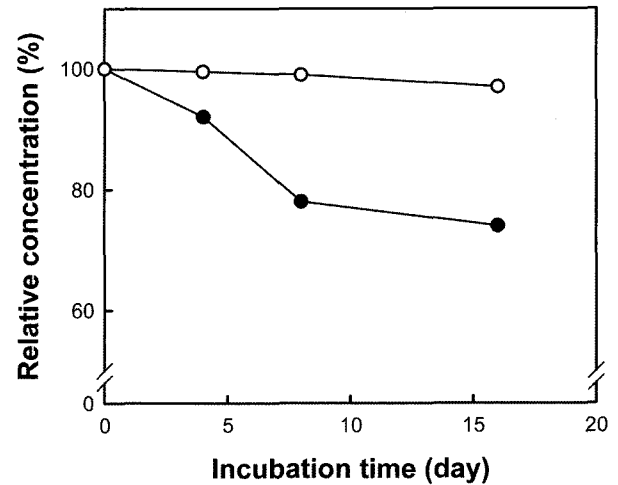


Fig. 5. Time course of FOS hydrolysis in FOS mixtures at 60°C. Open circle: pH 6.0, total solid concentration 80% (w/w), initial fructose concentration 1.1%, closed circle: pH 5.0, total solid concentration 75% (w/w), initial fructose concentration 1.8%.

를 60°C에 보관하면서 FOS의 함량변화를 측정하였다(Fig. 5). FOS의 분해 요인들의 영향을 최소화한 경우 16일 경과 후 FOS의 잔존율은 75%에서 95%로 크게 향상되었다. 이상의 결과는 액상 제품에서 FOS의 분해를 최소화하여 품질 유지기간 향상에 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

초 록

설탕을 원료로 제조한 액상 프락토올리고당 제품의 품질 유지기간을 향상시키기 위하여 pH, 고형분 농도, 과당 농도가 프락토올리고당(FOS)의 가수분해에 미치는 영향을 조사하였다. 효소 반응액의 pH 6.0 이상과 최종 제품의 고형분 농도 80%에서 FOS의 잔존율이 크게 향상되었다. 또한 과당 농도가 증가할수록 FOS의 잔존율은 감소하였다. 효소 반응액의 pH 6.0, 고형분 농도 80%, 과당 농도 1.1%의 시료를 60°C에 16 일간 보관한 결과 FOS의 잔존율은 95%로 높게 유지되었다.

Key words: 프락토올리고당, 가수분해, pH, 고형분 농도, 과당 농도

참고문헌

- Spiegel, J. E., Rose, R., Karabell, P., Frankos, V. H., and Schmitt, D. F. (1994) Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients. *Food Technol.* **48**, 85-89.
- Yun, J. W. (1996) Fructooligosaccharides-Occurrence, preparation, and application. *Enzyme Microb. Technol.* **19**, 107-117.
- Tomomatsu, H. (1994) Health effects of oligosaccharides. *Food Technol.* **48**, 61-65.
- Kaplan, H. and Hutkins, R. W. (2000) Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 2682-2784.
- Park, M. K., In, M. -J. and Jung, Y. C. (2002) Effect of

- fructooligosaccharides and chlorella powder on Kimchi fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 760-764.
6. Bornet, F. R. J., Brouns, F., Tashiro, Y. and DuVillier, V. (2002) Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides: natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. *Digest. Liver Dis.* **34** (Suppl. 2), s111-s120.
7. Hidaka, H., Hirayama, M. and Sumi, N. (1988) A fructooligosaccharide-producing enzyme from *Aspergillus niger* ATCC 20611. *Agric. Biol. Chem.* **52**, 1181-1187.
8. Yun, J. W. and Song, S. K. (1996) Continuous production of fructooligosaccharides using fructosyltransferase immobilized on ion exchange resin. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **1**, 18-21.
9. Sheu, D. -C., Duan, K. -J., Cheng, C. -Y., Bi, J. -L. and Chen, J. -Y. (2002) Continuous production of high-content fructooligosaccharides by a complex cell system. *Biotechnol. Prog.* **18**, 1282-1286.
10. Katapodis, P., Kalogeris, E., Kekos, D., Macris, B. J. and Christakopoulos, P. (2004) Biosynthesis of fructo-oligosaccharides by *Sporotrichum thermophile* during submerged batch cultivation in high sucrose media. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **63**, 378-382.
11. Kweon, H. K. and Yook, C. (1994) Physicochemical properties of isomaltooligosaccharides and its application to foods. *Bioindustry News* **7(2)**, 26-30.
12. L'Homme, C., Arbelot, M., Puigserver, A. and Biagini, A. (2003) Kinetics of hydrolysis of fructooligosaccharides in mineral-buffered aqueous solutions: Influence of pH and temperature. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 224-228.
13. Kim, M. -H., In, M. -J., Cha, H. J. and Yoo, Y. J. (1996) An empirical rate equation for the fructooligosaccharide-producing reaction catalyzed by β -fructofuranosidase. *J. Ferment. Bioeng.* **82**, 458-463.
14. Blecker, C., Fougny, C., van Herck, J. -C., Chevalier, J. -P. and Paquot, M. (2002) Kinetic study of the acid hydrolysis of various oligofructose sample. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 1602-1607.
15. Heyraud, A., Rinaudo, M. and Tavel, F. (1984) Isolation and characterization of oligosaccharides containing D-fructose from juices of Jerusalem artichoke. Kinetic constants for acid hydrolysis. *Carbohydr. Res.* **128**, 311-320.
16. Jung, K. H., Yun, J. W., Kang, K. R., Lim, J. Y. and Lee, J. H. (1989) Mathematical model for enzymatic production of fructooligosaccharides from sucrose. *Enzyme Microb. Technol.* **11**, 491-494.