

산화칼슘을 이용한 대두 올리고당의 회수

최연배 · 김강성 · 손현수

(주)정식품 중앙연구소

Recovery of Soy Oligosaccharides using Calcium Oxide

Yeon Bae Choi, Kang Sung Kim and Heon Soo Sohn

Dr. Chung's Food Co., Ltd.

Abstract

Soy oligosaccharide, a low calorie sugar, which is known to improve the intestinal microbial flora, was recovered from the waste of soymilk process by Steffen process. To remove protein contaminants, prior to the Steffen process, pH of the sample was adjusted to 3.5~4.0 or calcium chloride was added 8%(w/w) per sugar. Both pretreatment processes were found to remove about 25~30% of the protein initially present in the sample. Using the Steffen process, as much as 85% of soy oligosaccharide could be recovered as a saccharate form. The amounts of calcium chloride and lime used were 20%(w/w) and 100~120%(w/w) per total sugar, respectively. After the sugar was desorbed by CO₂, the final yield of oligosaccharide was 80% while 80% of protein were removed from the original solution. The composition of sugar was similar to that of soybean cooking water.

Key words: soy oligosaccharide, Steffen process, lime, stachyose, raffinose

서 론

대두 올리고당은 대두 중에 함유되어 있는 가용성 올리고당을 총칭하는 것으로 sucrose, raffinose, stachyose 등으로 구성되어 있다. 이중 raffinose와 stachyose는 sucrose에 galactose가 α -1,6 결합으로 각각 1, 2개 결합이 되어 있는 화학구조를 가지고 있어 인체의 효소에 의해서는 분해가 되지 않는 난소화성 올리고당이다. 이들은 여러 식물체에 매우 광범위하게 분포가 되어 있으며 대두 중에는 stachyose가 4%, raffinose가 1%, sucrose가 약 5% 정도 존재한다^(1,2). 이들 난소화성 올리고당은 인체에 의해 소화 및 흡수가 되지 않기 때문에 저칼로리당으로 사용이 되고 있고 특히 인체의 장내 미생물에 의해 이용되어 장내 유익세균의 생육을 촉진시키는 기능이 있어 기능성 식품소재로서도 많은 주목을 받고 있다⁽³⁾. 즉 인체에 유익한 세균으로 잘 알려진 *Bifidobacterium*속의 생육을 촉진시키고, 유해 균으로 잘 알려진 *Clostridium perfringens*의 생육을 억제하여 장내 활성화, 변비 및 설사 예방, 병원균의 감염예방, 장내 부패 억제, 비타민 생산 등의 기능을 가지고 있어 이를 bifidus factor라고도 한다^(4,5). 감미료로서의 특징을 보면, 감미도는 설탕의 약 70%에 해당하며, 감미질은 청량감이 있으며 고습스럽고, 열 및 산 등에도 매우 안정하며 저장 안정성이 뛰어난

식품 소재이다⁽³⁾. 특히 대두 올리고당은 다른 올리고당과는 달리 천연물로서 FDA의 GRAS 승인을 이미 취득한 상태로 전망이 매우 밝다고 할 수 있다.

그러나 대두 껍에서 분리, 정제하는 비용이 높아 가격이 다른 올리고당에 비해 비싼 편이다⁽⁶⁾. 상업적으로 생산되는 대두 올리고당의 분리, 정제 공정을 간단히 살펴보면 원료인 60°Brix의 농축대두단백 껍을 적당하게 회석하여 전처리로서 열화칼슘 처리, 가열, pH처리를 하여 단백질을 제거한다. 그 후 한외여과막, 활성탄, 전기투석 및 이온교환수지처리로 탈색, 탈염을 한 후 진공농축을 하여 대두 올리고당 시럽을 얻는다⁽⁷⁾. 그밖에 대두 올리고당을 분리하기 위한 방법으로 인산을 이용하여 pH를 3.0이하로 조절, 단백질을 제거하고, 이온교환수지 및 활성탄으로 정제를 하는 방법⁽⁸⁾, 활성탄에 올리고당을 흡착시킨 후 에탄올로 이를 탈착하여 회수하는 방법⁽⁹⁾, 사탕무의 당밀 중에 함유되어 있는 raffinose를 chromatography법으로 분리, 정제하는 방법⁽¹⁰⁾ 등을 들 수가 있다. 따라서 본 논문에서는 이러한 분리 및 정제 비용을 낮추기 위해 당밀에서 설탕을 회수하는 방법으로 잘 알려진 Steffen법을 응용하여 대두 껍이 중의 대두 올리고당을 회수하는 방법에 대한 결과를 얻어 이를 보고하고자 한다.

정확한 메카니즘은 아직 밝혀지지 않았지만 당액에 산화칼슘 분말을 첨가하면 당이 이 분말의 표면에 흡착되어 Ca-saccharate라고 하는 형태로 존재하게 되는데 이를 여과, 회수하면 당을 분리할 수가 있다. 이때 회

수율에 영향을 주는 인자로 온도, 무기물의 함량, 산화칼슘의 입자크기 등이 알려져 있다. 이 방법은 원래 사탕무에서 설탕을 생산할 때 부산물로 발생하는 당밀 중에서 설탕을 회수하는 데 이용되어 오던 방법으로 이때 설탕 외에도 raffinose도 같이 회수된다고 한다^(11,12). 또한 이 방법을 이용하여 사탕수수의 당밀에서도 설탕을 회수할 수 있다고 알려지고 있다^(13,14).

재료 및 방법

재료

(주)정식품 청주공장에서 두유를 제조할 때 대두 침지공정 중에서 부산물로 발생하는 대두 침지액을 200 메쉬의 여과포로 이물질질을 제거한 후 대두 올리고당 생산 원료로 사용하였다.

대두 올리고당의 분석

대두 올리고당의 조성은 TLC 및 HPLC를 사용하여 분석하였다. 각 단계에서 발생하는 시료 중의 올리고당을 정성적으로 분석하기 위하여 TLC(Silica gel 60, Sigma)를 사용하였다. 이동상의 용매조성은 butanol : acetic acid : ethylether : water = 7 : 6 : 2 : 4 이었고, 발색은 10% 황산을 사용하였다. 또한 HPLC를 사용하여 대두 올리

고당의 정량적인 조성을 분석하였다. 사용한 column은 Carbohydrate analysis column(Waters)이었고 용매조성은 acetonitrile : water = 7 : 3 이었으며, RI detector(Waters R401)를 사용하여 측정하였다. 총당 함량은 phenol-sulfuric acid법을 이용하여 측정하였고, 단백질은 Kjeldahl법으로 정량하였다.

Steffen 법을 응용한 대두 올리고당의 분리, 회수

Fig. 1에서 보는 것과 같은 방법으로 대두 올리고당을 분리하였다. 즉 대두 침지액에 염화칼슘(CaCl₂·2H₂O)을 첨가하여 교반한 후 냉각시켜, 여기에 200메쉬 이하의 분말 생석회를 첨가하여 교반, 정치하였다. 온도를 일정하게 하여 30분간 반응시켜, 여과하여 cold saccharate를 회수하고, 여액은 75~85°C로 가열하여 다시 여과하여 hot saccharate를 회수하였다. 두 saccharate를 합쳐 적당한 양의 물로 슬러리를 만든 후 탄산가스를 혼입시켜 여과하여 당을 회수하고, cake는 다시 수세하여 여과액과 수세액을 합쳐 올리고당액으로 하였다.

결과 및 고찰

전처리에 의한 단백질 제거

대두 침지액중의 단백질은 최종 제품의 품질에 가장 큰 영향을 미치는 요인으로 작용하기 때문에 이를 완전히 제거하는 것이 올리고당의 제조에서 가장 중요한 공정이다. 대두 침지액을 염화칼슘으로 처리하여 단백질을 제거하는 실험을 수행한 결과(Fig. 2), 첨가량에 비례하여 단백질 제거율이 증가하였으며, 약 8%를 첨가하였을 때 초기 단백질 함량의 약 25% 정도를 제거할 수 있었다. 그 이상의 염화칼슘 농도에서는 단백질 제거율이 크게 증가하지 않았으며, 초기 단백질 함량에 따라 제거율은 약간씩 차이를 보였다. 또한 염화칼슘을 첨가하는 대신 대두 침지액의 pH를 3.5~4.0으로 조절하여 초기 단백

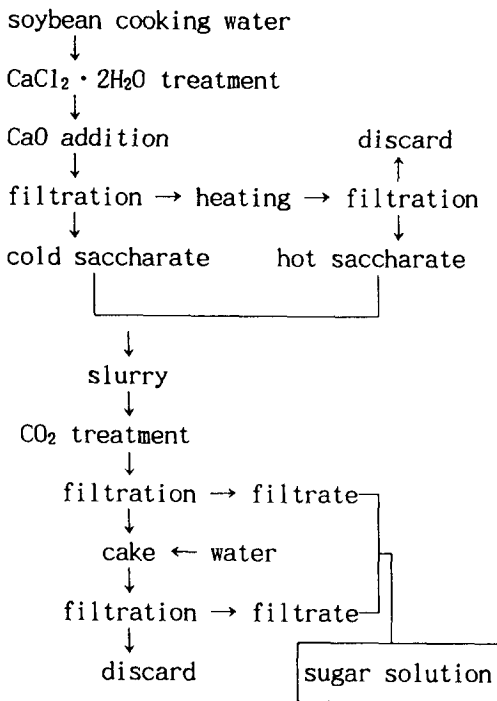


Fig. 1. Schematic diagram of Steffen process for the recovery of soy oligosaccharide from soybean cooking water

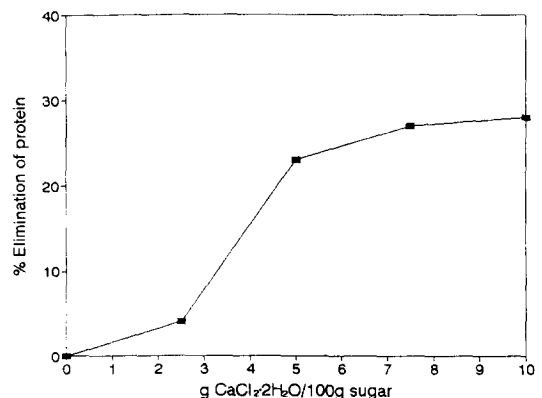


Fig. 2. Elimination of protein contaminants in soybean cooking water by calcium chloride treatment

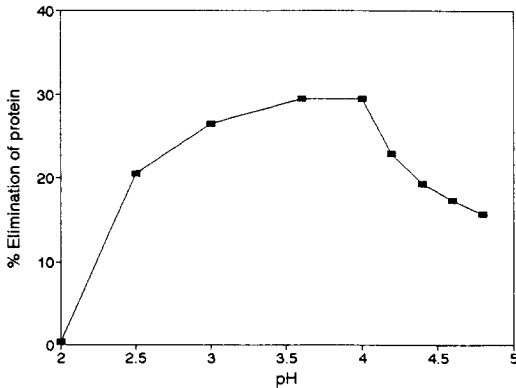


Fig. 3. Elimination of protein contaminants in soybean cooking water with pH adjustment

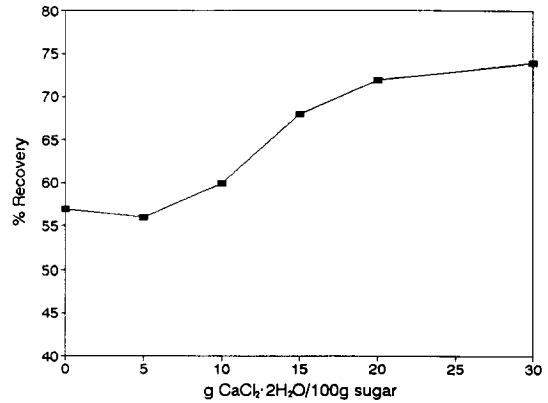


Fig. 5. Effect of calcium chloride supplementation on the recovery of soy oligosaccharide in the Steffen process

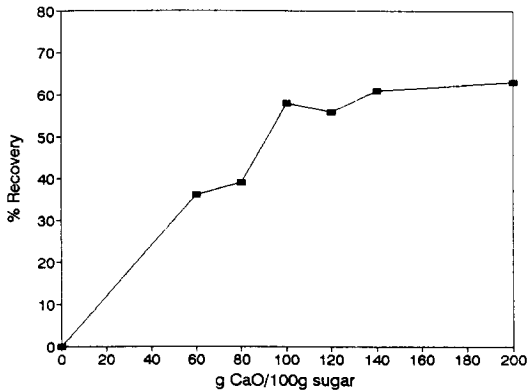


Fig. 4. Effect of calcium oxide treatment on the recovery of soy oligosaccharide in the Steffen process

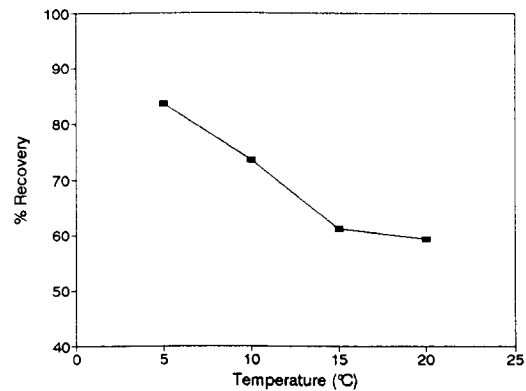


Fig. 6. Effect of reaction temperature on the recovery of soy oligosaccharide in the Steffen process

질의 약 30% 정도를 제거할 수도 있었다(Fig. 3). 등전점 보다 낮은 pH 범위에서 더 많은 단백질이 제거가 되었는데, 이는 인산을 이용하여 대두채이의 pH를 3.0이하로 조절을 하면 단백질을 효과적으로 제거할 수 있다는 보고와 유사한 결과이었으나 정확한 원인은 불분명하며, 향후 대두 침지액의 단백질 조성 등과 같이 이에 관련된 연구가 더 수행되어야 할 것이다⁸⁾.

Steffen 법에서 산화칼슘의 첨가량에 따른 대두 올리고당의 회수율

Fig. 4와 같이 냉각된 대두 침지액에 산화칼슘을 첨가하여 실험한 결과 산화칼슘의 첨가량이 당 대비 100% 이상일 때 약 60%의 당이 Ca-saccharate 형태로 회수되었으며 그 이상 첨가하여도 회수율은 크게 증가하지 않았다. 이는 사탕무 또는 사탕수수의 당밀에서 설탕을 회수할 때 산화칼슘을 당대비 약 110~120% 첨가하는 것과 일치하는 결과이었다¹¹⁻¹⁴⁾.

염화칼슘의 첨가가 대두 올리고당의 회수에 미치는 영향

Fig. 5에서 보는 것과 같이 산화칼슘을 첨가할 때 염화칼슘을 첨가하면 대두 올리고당의 회수율이 증가함을 알 수 있었다. 즉 첨가하는 양에 비례하여 회수율이 상승하여 당 대비 약 20%를 첨가하는 경우에 회수율은 57%에서 72%까지 증가하였다. 그러나 그 이상으로 첨가하여도 회수율은 크게 증가하지 않았다. 진처리로 염화칼슘을 첨가하여 단백질을 제거한 후 산화칼슘을 첨가한 경우와 이들을 동시에 첨가하는 경우에도 회수율은 크게 차이하지 않았다. 이 결과는 사탕수수 당밀에서 설탕을 회수할 때 염화칼슘을 첨가하면 염화칼슘의 염석 효과에 의해 당의 회수율이 첨가량에 비례하여 증가한다고 보고한 仲村¹³⁾의 연구와 일치하였다.

반응온도가 대두 올리고당의 회수율에 미치는 영향

반응온도를 각각 5, 10, 15, 20°C로 조정하여 실험을 한 결과 온도가 낮을수록 회수율은 높아서 5°C에서는 85%, 10°C에서는 75%, 15°C에서는 60%의 회수율을 보였다(Fig. 6). 仲村^(13,14)은 반응온도를 8~23°C로 조절하여 당을 회수하였고, 18°C 이하의 온도가 적합하다는 보고도 있다⁽¹¹⁾.

반응시간의 영향

반응온도를 각각 5°C, 10°C로 유지하면서 반응시간이 올리고당의 회수율에 미치는 영향에 대하여 살펴 본 결과(Fig. 7), 10°C에서는 약 40분 동안 반응시키면 회수율이 최대를 보였고, 5°C에서는 20분 후 최대를 보였다. 그러나 반응시간이 더 길어지면 회수율은 완만하게 감소하였다. 이는 반응시간을 25~30분으로 보고한 Watson⁽¹²⁾의 연구와 유사하였다.

Mass Balance 분석

1.0l의 대두 침지액을 전처리를 한 후 Steffen 법을 이용하여 올리고당을 회수하는 실험을 수행하였다. 회수된 Ca-saccharate를 슬러리로 만들어 탄산가스를 이용, 당을 탈착하여 분리하였다(Table 1). 최종 당액의 양을

500 ml로 하였을 때, 회수율은 약 80%이었다. 이때 단백질은 약 80%는 제거가 되었으며, 당액의 경우 약 1.6배의 농축 효과가 있었다. 슬러리를 만들 때 물 대신 회수된 당액을 재순환시킬 경우 약 2.8배의 농축이 가능하였으며, 이러한 공정개선에 대해서는 향후 더 연구할 필요가 있을 것으로 사료된다.

회수된 당액의 분석

대두 올리고당의 회수공정에서 각 단계의 당조성을 TLC로 분석한 결과(Fig. 8), 산화칼슘이 설탕, raffinose 및 stachyose와 비선택적인 결합을 한다는 것을 알 수 있었으며, 이들의 Rf 값은 각각 0.50, 0.35, 0.30이었다. 즉, 본 방법은 각 당에 대해 선택성이 없어 설탕 뿐 아니라 raffinose, stachyose와 같은 올리고당을 회수하는 데에도 이용될 수 있었다. 최종 당액의 당조성을 HPLC를 이용하여 측정한 결과 sucrose가 50%, raffinose가 5%, stachyose가 30% 및 기타가 15%로 구성되어 있었으며, 이는 상업적으로 판매되고 있는 대두 올리고당의 조성 과 유사하였다⁽³⁾. 그러나 이 방법만으로는 대두 올리고당을 완전히 정제하는 것은 곤란하였으며, 탈염 및 탈색 등을 위해서는 이온교환수지 및 활성탄의 처리가 필요할 것으로 생각된다.

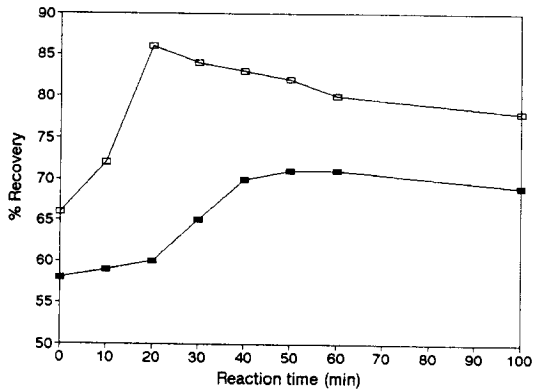


Fig. 7. Effect of reaction time on the recovery of soy oligosaccharide in the Steffen process(5°C: □—□, 10°C: ■—■)

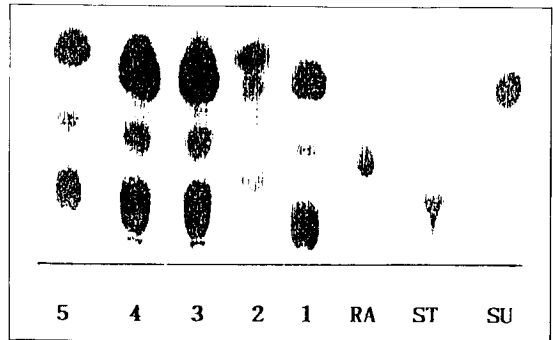


Fig. 8. TLC chromatogram of oligosaccharides obtained from each recovery stage

(SU: sucrose, ST: stachyose, RA: raffinose, 1: bean cooking water, 2: discard solution, 3: cold saccharate, 4: hot saccharate, 5: sugar solution)

Table 1. Mass balance of sugar and protein in the recovery steps of soy oligosaccharide from soybean cooking water

Components	Step	Bean cooking water	Pretreatment	Sugar recovered	Solution discarded
Volume(l)		1.00	1.00	0.50	
Sugar	concentration(%)	1.70	1.70	2.72	
	total amounts(g)	17.00	17.00	13.60	3.40
	yield(%)	100.00	100.00	80.00	20.00
Protein	concentration(%)	0.35	0.25	0.15	
	total amounts(g)	3.50	2.50	0.75	2.75
	yield(%)	100.00	71.43	21.43	78.57

요 약

저칼로리 감미료로서 장내 미생물 균총을 개선한다고 알려진 대두 올리고당을 전처리 및 Steffen법을 이용하여 대두 침지액으로부터 분리, 회수하였다. 전처리로서 pH를 3.5~4.0으로 조절하거나, 염화칼슘을 당 대비 8%(w/w)를 첨가하여 대두 침지액 중에 함유된 단백질을 약 25~30%가량 제거할 수 있었다. 또한 대두 침지액에 염화칼슘과 산화칼슘 분말을 각각 당 대비 약 20%, 100~120%씩 첨가한 후 5℃에서 20분 동안 반응시키는 Steffen법을 이용하면 대두 침지액 중에 존재하는 대두 올리고당의 약 85%를 saccharate 형태로 분리, 회수할 수가 있었다. 이산화탄소로 당을 탈착시켜 회수한 결과 최종적으로 약 80%의 수율로 당을 회수할 수가 있었으며 단백질은 약 80% 정도 제거할 수가 있었다. 회수된 당액의 당조성은 대두 침지액과 유사하였다.

감사의 말

본 연구는 과학기술처의 선도기술 개발사업 과제로 수행된 연구 내용의 일부입니다. 깊이 감사드립니다.

문 헌

1. Kennedy, I.R., Mwandemele, O.D. and McWhirter, K. S.: Estimation of sucrose, raffinose and stachyose in

- soybean seeds. *Food Chem.*, 17, 85 (1985)
2. Kuo, T.M., VanMiddlesworth, J.F. and Wolf, W.J.: Content of raffinose oligosaccharides and sucrose in various plant seeds. *J. Agric. Food Chem.*, 36, 32 (1988)
3. 正井 輝久: 대두 올리고당의開發과 今後的의 展望. *New Food Industry*, 32(5), 5 (1990)
4. 光岡 知足: 腸内 flora와 健康. *New Food Industry*, 32(10), 1 (1990)
5. Hoover, D.G.: Bifidobacteria, activity and potential benefits. *Food Technol.*, 47(6), 120 (1993)
6. 宮川 早苗: 新甘味料의 市場動向. *食品과 開發*, 29(11), 24 (1994)
7. 正井 輝久: 비피더스菌 増殖物質의 精製法. 日本特許出願公開 平 3-22971 (1991)
8. 長友 普一郎: 대두 올리고당의 製造法. 日本特許出願公開 平 4-187695 (1992)
9. Kim, K.S., Chung, H.K. and Sohn, H.S.: Purification of oligosaccharides from soybean using activated charcoal. *Foods Biotechnol.*, 3, 156 (1994)
10. 藤崎 裕之: 라피노스의 특성과 식품에의 응용. *New Food Industry*, 35(2), 65 (1993)
11. 藤卷 正生, 三浦 洋, 大塚 謙一, 河端 俊治, 木村 進: 砂糖. *食料工業*, 恒星社厚省閣, 東京, 93 (1985)
12. Watson, J.A.: The recovery of sucrose from low grade refinery syrups. *Sugar Technol. Rev.*, 8, 81 (1981)
13. 仲村 實久: 甘蔗最終糖蜜에서의 蔗糖의 回收方法. 日本特許出願公開 平 2-20299 (1990)
14. 仲村 實久: 甘蔗最終糖蜜에서의 蔗糖의 回收方法. 日本特許出願公開 平 2-20300 (1990)

(1994년 12월 5일 접수)