

산처리 쌀전분의 분자구조와 노화속도

강길진 · 김관* · 이상규** · 김성곤***

광주지방식품의약품청, *전남대학교 식품공학과,
국방과학연구소, *단국대학교 식품영양학과

Relationship between Molecular Structure of Acid-Hydrolyzed Rice Starch and Retrogradation

Kil-Jin Kang, Kwan Kim*, Sang-Kyu Lee** and Sung-Kon Kim***

Korea Food & Drug Administration

**Department of Food Science and Technology, Chonnam National University*

***Agency for Defence Development*

****Department of Food Science and Nutrition, Dankook University*

Abstract

The relationship between the molecular structure of acid-hydrolyzed rice starch and the retrogradation rate of starch gel was investigated. The molecular structure of starch was modified by acid hydrolysis with 1 N HCl at 35°C. The molecular weight of starch decreased as acid hydrolysis time was increased. At the early stage of hydrolysis up to 3 hr, the branching point of amylopectin was degraded and thereafter both α -1.4 and α -1.6 linkages were hydrolyzed. The starch gel (50%) stored at 20°C revealed that the rapid retrogradation occurred during 4 hr of storage which was more pronounced as the hydrolysis time increased. The degree of retrogradation of starch gels after 4 hr storage showed a linear relationship with the yield of hydrolyzate. These results suggested that the retrogradation of starch gel was accelerated by degradation of α -1.6 linkages with acid.

Key words: rice, rice starch, lintnerization, retrogradation

서론

전분의 노화는 전분내의 아밀로오스와 아밀로펙틴이 팽윤된 상태에서 다시 결정성을 가진 상태로 변해가는 물리적 변화로서, 전분질 식품의 저장 중에 나타나는 바람직하지 못한 변화 중의 하나로서 저장 초기에 아밀로오스가 관계하고 저장 후기에는 아밀로펙틴이 관련한 것으로 알려져 있다⁽¹⁾. 따라서 전분질 식품의 저장 중에 일어나는 노화는 주로 아밀로펙틴의 차원에서 연구가 이루어지고 있다^(2,3). Ward 등⁽⁴⁾은 옥수수 수와 밀에서 노화의 차이를 아밀로펙틴의 사슬길이를 설명하였다. 또한 Zhang과 Jackson⁽⁵⁾은 밀 전분에서 아밀로펙틴의 분자 크기가 작고, 가지점이 적고, 사슬 길이가 길면 초기 노화 속도가 빨라진다고 하였다. Kalichevsky 등⁽⁶⁾은 짧은 사슬길이를 가진 곡류의 아

밀로펙틴은 다른 것보다 노화속도가 느리다고 하였다. Sterling⁽⁶⁾ 그리고 Wursch와 Gumy⁽⁶⁾는 β -아밀라아제에 의해 아밀로펙틴의 사슬길이를 감소시킴으로써 아밀로펙틴의 노화를 감소시킬 수 있다고 하였다. Levine과 Slade⁽⁷⁾는 호화된 전분의 노화를 위해 적어도 분자량 3,000 그리고 직쇄 포도당 분자가 18개 정도 필요하며, 아밀로펙틴의 겔 형성을 위하여 아밀로펙틴 분자는 포도당 분자 15개를 가진 분지의 결정성으로 결합되어 있다고 하였다. 한편, 노화를 억제시키는 아밀라아제는 아밀로펙틴에 작용하여 아밀로펙틴의 사슬을 12-15 또는 19-21개의 포도당 단위로 분해작용을 하는 것으로 알려져 있다⁽⁸⁾. Kang 등⁽⁹⁾은 쌀 전분은 산(2.2 N HCl)에 의하여 3단계로 가수분해가 일어나며 초기에 아밀로오스와 아밀로펙틴이 부분적으로 가수분해된다고 하였다. Pessa 등⁽¹⁰⁾은 산처리(0.1 ~ 1 M HCl) 초기에 아밀로펙틴이 가수분해 되고 아밀로오스는 큰 영향을 받지 않는다고 하였으며, 겔의 강도는 약해졌다고 하였다. 본 연구에서는 산처리에 의

Corresponding author: Sung-Kon Kim, Department of Food Science and Nutrition, Dankook University, Seoul 140-714, Korea

한 전분의 부분분해로 일어나는 구조 변화와 그에 따른 노화도를 측정하여 전분의 구조에 따른 전분의 노화 메카니즘 구명을 위한 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

재료

1994년산 동진벼를 농촌진흥원으로 부터 분양받아, 알칼리 침지법⁽¹⁰⁾에 의하여 전분을 분리하여 사용하였다.

산가수분해

전분의 산처리는 Robin 등⁽¹²⁾의 방법에 따라 전분 3 g을 1 N HCl 120 mL에 현탁시키고 왕복 배양기에서 35°C, 120 rpm으로 가수분해 시켰다. 일정 시간(0.5~120 hr) 가수분해 시킨 후 2,000 g에서 20분간 원심분리시키고 침전물은 증류수로 세척한 후 에탄올로 탈수시키고 감압 건조하여 산처리 전분 시료로 하였다. 산 가수분해율은 원심분리한 상정액으로부터 총당량⁽¹¹⁾을 구하여 가수분해 당량으로 하고 시료전분에 대한 백분율로 나타내었다.

요드 반응

산처리 전분의 요드 반응은 Williams 등⁽¹³⁾의 방법에 따라 시료 10 mg을 50 mL 용량 플라스크에 취하고 0.5 N KOH 용액 10 mL를 가하여 잘 분산 시킨 다음 증류수를 가하여 50 mL로 하였다. 이 액 10 mL를 취하여 0.1 N HCl 5 mL를 가하여 중화시킨 후 요드액(0.2% I₂+2% KI) 0.5 mL를 가하고 전체를 50 mL로 되게 증류수로 희석한 다음 실온에서 20분간 발색 시켜서 최대흡수파장과 625 nm에서의 흡광도를 구하였다.

분자량 분포 측정

산처리 전분의 분자량 분포는 Sepharose CL-2B (1.6 × 95 cm) 칼럼을 이용하여 조사하였다. 시료 10 mg을 DMSO 0.5 mL와 물 1.5 mL를 가하여 끓는 수조에서 녹인 다음 1.5 mL를 칼럼에 주입하였다. 칼럼은 0.02% sodium azide를 함유한 증류수로 시간당 12.5 mL의 속도로 20°C에서 용출시키면서 3 mL씩 분획하였다. 각 획분에서 0.5 mL를 취하여 총당을 페놀-황산법⁽¹⁴⁾으로 측정하고, 요오드 반응은 나머지 획분에 대하여 0.2% 요드 용액 0.03 mL로 반응시켜 625 nm에서 흡광도와 최대 흡수 파장을 측정하여 용출 패턴을 조사하였다⁽¹⁵⁾.

사슬 분포 측정

산처리 전분 25 mg을 DMSO 1 mL와 0.1 M 초산완충용액(pH 4.8)을 가지고 끓는 수조에서 완전히 녹인 다음 이소아밀라아제(sigma사, EC, 3.2.1.68) 5,000단위를 가지고 37°C에서 48시간 반응시킨 다음 끓는 수조에서 20분 가열하여 반응을 종료시켰다.

반응액 2 mL를 Sephadex G-50 칼럼(2.8 × 88 cm)에 주입하고 0.02% sodium azide를 함유한 10 mM 인산완충용액(pH 7)으로 시간당 21 mL 속도로 20°C에서 용출시키면서 5 mL씩 분획하였다. 각 획분에서 0.5 mL를 취하여 총당을 페놀-황산법⁽¹⁴⁾으로 측정하여 용출패턴을 조사하였다. 그 용출패턴으로 부터 아밀로펙틴의 A, B 사슬의 분포를 결정하였다⁽¹⁷⁾.

전분 겔의 노화도 측정

산처리 전분 겔은 50% 전분 현탁액을 비닐팩에 밀봉한 후 100°C에서 30분간 가열한 다음 상온으로 식혀서 제조하였다. 이렇게 제조된 겔은 밀봉한 상태로 20°C에서 저장하면서 저장 시간별로 노화 정도를 조사하였다. 노화도는 α -아밀라아제법⁽¹⁶⁾으로 측정하였다.

결과 및 고찰

산 가수분해율

쌀 전분을 1 N HCl 로 35°C에서 가수분해 할 때 산

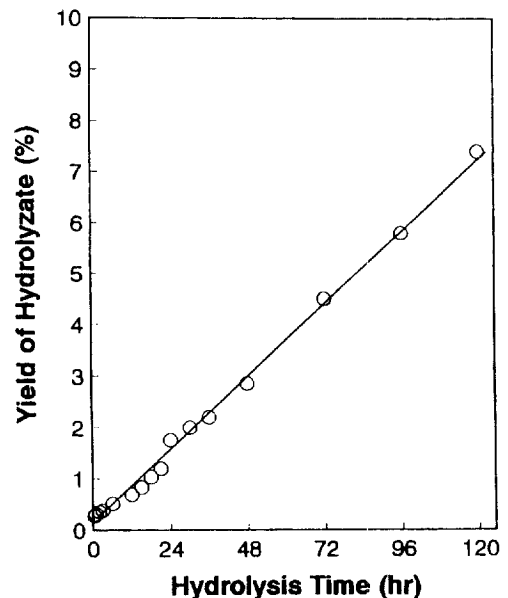


Fig. 1. Yield of hydrolyzate of rice starch with 1 N HCl at 35°C.

처리 시간에 따른 가수분해율은 Fig. 1 과 같다. 산처리 시간에 따라 가수분해율은 직선적으로 증가하였다. 산처리 1시간에 0.31%, 산처리 3시간에 0.39%, 산처리 12시간에 0.7% 그리고 산처리 72시간에 4.7%가 가수분해 되었다.

요드 반응

산처리 시간에 따른 전분의 요드 반응 결과는 Fig. 2, 3과 같다.

산처리 전분 요드 복합체의 625 nm에서 흡광도는 생전분 0.26에서 산처리 1시간에 0.27까지 증가 하였다가 점차적으로 감소하여 산처리 12시간에 0.25 그리고 산처리 72시간에 0.18이었다(Fig. 2). 또한 산처리 전분 요드 복합체의 최대 흡수 파장은 생전분 594 nm에서 산처리 0.5~2시간에 600 nm로 증가 하였으나 산처리 2시간 이후부터서는 점차적으로 감소하여 산처리 24시간에 592 nm 그리고 산처리 72시간에 580 nm 였다. 이러한 산처리 초기(0.5~3시간)에 요드 반응 값(흡광도 및 최대흡수파장)이 생전분의 것 보다 증가 한다는 것은 전분의 α -1,6 결합이 산에 의해 가수분해 됨으로써 전분의 α -1,4 결합과 요드의 포접화가 증가 하기 때문으로 생각된다.

분자량 분포

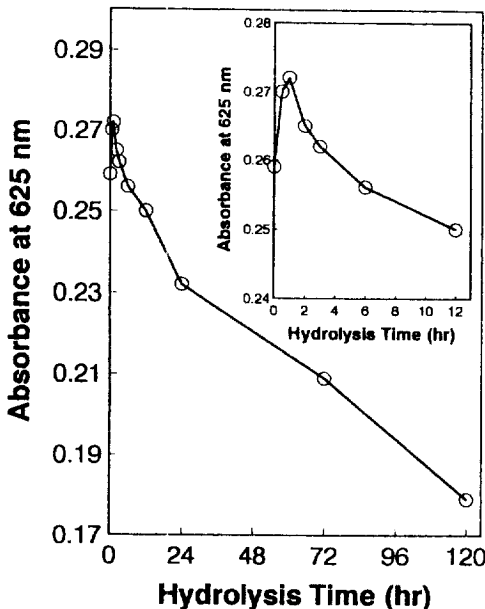


Fig. 2. Iodine reaction of acid(1 N HCl)-hydrolyzed rice starch.

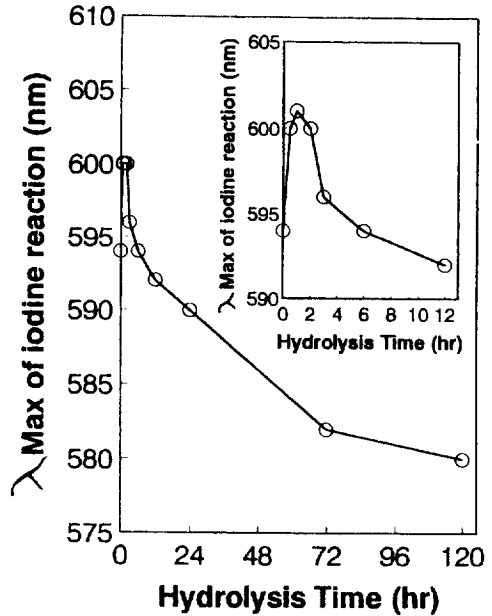


Fig. 3. Maximum wavelength for iodine reaction of acid-hydrolyzed rice starch.

산처리 전분을 Sepharose CL-2B에 의한 용출 패턴으로 본 분자량 분포는 Fig. 4와 같다.

그림에서 분자량 $5 \times 10^6 \sim 40 \times 10^6$ 의 획분은 아밀로펙틴이 용출되어 나온 부분이고, 분자량 5×10^6 이하의 획분에서 용출을 보인 것은 아밀로오스이다. 산처리에 따라 아밀로펙틴은 점차 분해되었는데, 산처리 3시간까지는 분자량 $5 \times 10^6 \sim 40 \times 10^6$ 의 획분이 서서히 분해되면서 아밀로오스 부분으로 이동하였으나, 6시간, 12시간에서 이 부분의 획분이 대부분 분해되면서 24시간 후에는 완전히 분해되었으며, 아밀로오스에 해당하는 분자량 5×10^6 이하의 획분에서도 분자량이 감소하는 현상을 보였다.

따라서 이러한 결과는 전분은 산에 의하여 먼저 아밀로펙틴이 분해되면서 아밀로오스도 함께 분해됨을 가리킨다. Kang 등¹⁹⁾은 쌀 전분을 2.2 N HCl로 산처리했을 때 3단계로 가수분해 현상이 일어나며 그 첫 단계인 산처리 초기(20시간 이내)에 아밀로오스와 아밀로펙틴이 동시에 분해된다고 하였다.

전분-요오드 복합체의 변화로(Fig. 5) 본 산처리 전분의 구조 변화를 살펴 보면 산처리 초기(3시간 이내)에 아밀로펙틴에 해당하는 분자량 $5 \times 10^6 \sim 40 \times 10^6$ 획분의 전분-요오드 복합체 흡광도 값이 생전분의 것 보다 높았다.

일반적으로 전분-요오드 복합체의 625 nm에서 흡광

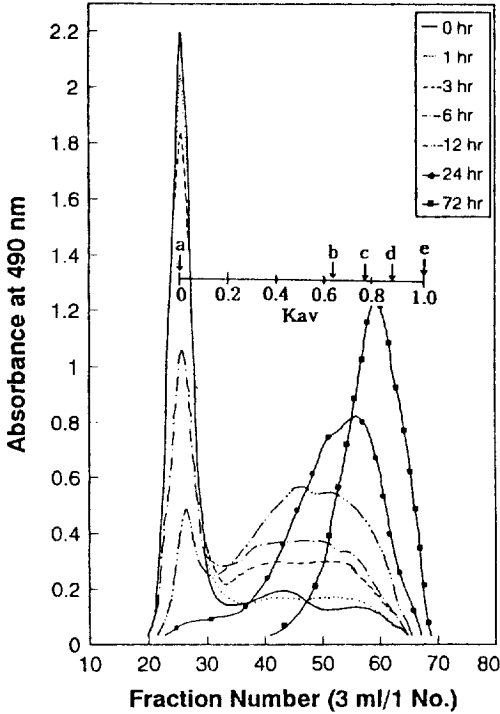


Fig. 4. Molecular weight distribution of acid-hydrolyzed rice starch. a: Dextran (M.W. 5×10^6 - 40×10^6), b: Dextran T-500 (M.W. 50×10^4), c: Dextran T-40 (M.W. 4×10^4), d: Dextran T-10 (M.W. 1×10^4), e: Glucose.

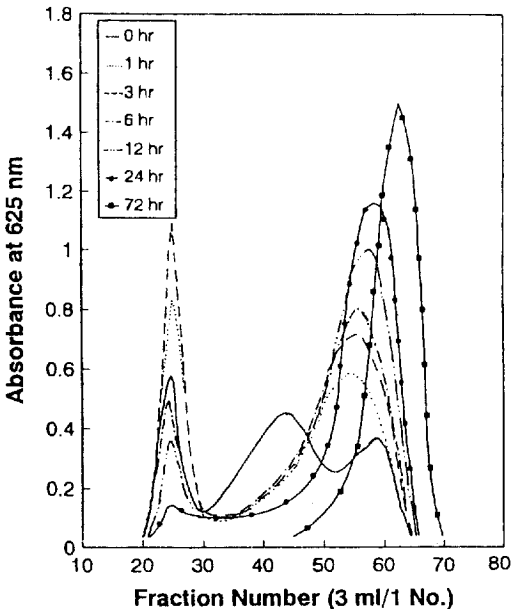


Fig. 5. Elution profiles of starch-iodine complex on Sepharose CL-2B of acid-hydrolyzed rice starch.

도 값이 증가한다는 것은 α -1,4 결합인 직쇄 사슬의 증가로 볼 수 있다⁽¹³⁾. 따라서 산처리 1시간과 3시간의 아밀로펙틴 부분의 요드 반응 값이 증가한다는 것은 산처리에 의한 α -1,6 결합이 분해되어 α -1,4 결합과 요드의 복합체 형성 능력을 증가시켰기 때문이다.

그리고 산처리 3시간 이후에 이 획분에서 전분-요드 복합체의 흡광도 값이 생전분 보다 더 낮은 것은 아밀로펙틴의 α -1,6 결합과 α -1,4 결합이 분해되면서 α -1,4 결합을 가진 사슬 길이의 감소로 α -1,4 결합과 요드 복합체의 형성이 감소하기 때문이다.

또한, 아밀로오스에 해당하는 분자량 5×10^6 이하의 획분에서도 산처리에 따라 전분-요드 복합체의 흡광도 값이 변하였는데, 생전분 보다 더 작은 분자량 획분에서 더 높은 흡광도 값을 보였다. 이것은 아밀로오스도 산에 의하여 분해됨을 가리킨다.

사슬 분포

쌀 전분을 이소아밀라아제로 가수분해 한 후 Sephadex G-50에 의한 용출 패턴은 Fig. 6과 같다. 쌀 전분은 아이소아밀라아제에 의해 α -1,6 결합이 분해되어 크게 세 개의 획분으로 나누어 졌다. 획분 1(F1)은 주로 α -1,4 결합으로 되어있는 아밀로오스에 해당하며 획분 2(F2)는 아밀로펙틴의 긴 사슬인 B 사슬, 획분 3(F3)은 아밀로펙틴의 짧은 사슬인 A 사슬이다. 산처리 시간에 따른 전분을 이소아밀라아제로 α -1,6 결합을 가수분해하여 Sephadex G-50을 이용하여 그 용출 패턴(Fig. 6)으로 부터 사슬 분포를 본 결과는 Table 1과 같다.

아밀로오스 획분에 해당하는 획분 1(F1)은 산처리 3시간 까지는 큰 변화가 없었으나, 산처리 3시간 이후 부터는 서서히 감소하여 72시간에 11.5%로 감소하였다. 따라서 산처리 초기에는 아밀로오스의 구조에는

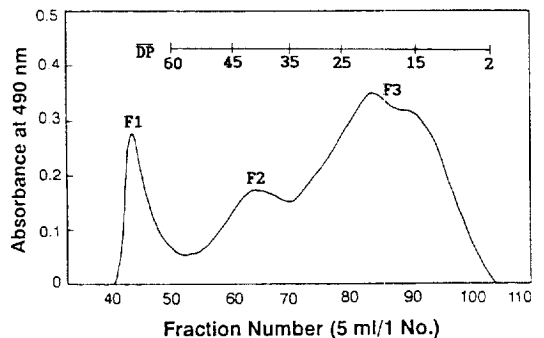


Fig. 6. Elution profile on Sephadex G-50 of rice starch debranched by isoamylase.

Table 1. Carbohydrate proportion(%) of fractions in gel chromatography of acid (1 N HCl)-hydrolyzed rice starch debranched by isoamylase

| Acid hydrolysis time (hr) | F1 | F2 | F3 | F3/F2 |
|---------------------------|------|------|------|-------|
| 0 | 15.4 | 15.7 | 68.9 | 4.39 |
| 0.5 | 15.6 | 15.7 | 68.7 | 4.37 |
| 1 | 15.5 | 15.7 | 68.8 | 4.38 |
| 3 | 15.6 | 15.9 | 68.5 | 4.31 |
| 6 | 15.1 | 16.1 | 68.8 | 4.28 |
| 12 | 14.2 | 16.0 | 69.8 | 4.36 |
| 24 | 13.3 | 16.1 | 70.6 | 4.39 |
| 72 | 11.5 | 16.1 | 72.4 | 4.50 |

큰 변화가 없으며, 산처리 3시간 이후 부터 아밀로오스가 분해됨을 알 수 있었다. 이것은 Fig. 2 와 Fig. 3에서 보았듯이, 전분-요드 복합체의 흡광도와 최대흡수파장이 산처리 초기 3시간 까지는 생전분의 값 보다 더 높았으나 3시간 이후에는 생전분의 값 보다 더 낮은 것과 일치하였다.

아밀로펙틴의 B 사슬에 해당하는 획분 2(F2)는 산처리에 따라 큰 차이가 보이지 않았으며 아밀로펙틴의 A 사슬에 해당하는 획분 3(F3)은 마찬가지로 산처리 6시간 까지는 큰 변화가 없었으나 산처리 12시간 이후 부터는 증가하였다. 산처리에 따라 A 사슬에 대한 B 사슬의 비율은 큰 변화가 없었다. 산처리 초기 (0.5~3시간)에 A 사슬과 B 사슬에 변화가 없는 것은

산처리 초기에 산에 의해 α -1,6 결합만 가수분해되고 아밀로오스의 분해가 거의 일어나지 않으나, 산처리 6시간 이후 부터 아밀로오스의 분해로 인한 그 분해물이 A 사슬 과 B 사슬을 증가시켰으며, 산처리 시간이 길어 질수록 A 사슬 보다는 B 사슬이 더 증가한 것으로 보인다. 즉 산처리에 의한 아밀로펙틴의 A 사슬과 B 사슬의 증가는 아밀로오스의 분해물로 볼 수 있다. Pessa 들⁽⁴⁾은 산처리(0.1~1 M HCl) 초기에 아밀로펙틴이 가수분해되고 아밀로오스는 큰 영향을 받지 않는다고 하였다.

전분 겔의 노화

산처리 전분 겔(50%)을 20°C에서 저장하면서 노화도를 측정 한 결과는 Fig. 7과 같다. 산처리 전분 겔의 노화도는 저장 4시간에 급속히 증가하였는데 이러한 현상은 산처리 시간이 긴 전분 겔일 수록 더욱 심하였다. 저장 초기(저장 4시간) 노화도와 산처리 시간(산가수분해율)과의 관계는 Fig. 8 과 같다. 산처리 시간이 증가할 수록 전분겔의 노화도는 비례적($r=0.9981$)으로 증가하였다. 이러한 결과는 전분이 산에 의하여 분해될 수록 노화는 더욱 심하게 일어남을 가리킨다. 이러한 현상은 산에 의해 전분의 α -1,6 결합이 분해되면서 α -1,4 결합들이 쉽게 매트릭스를 형성하기 때문으로 생각된다. Sterling⁽⁵⁾ 그리고 Wursch와 Gummy⁽⁶⁾는 아밀

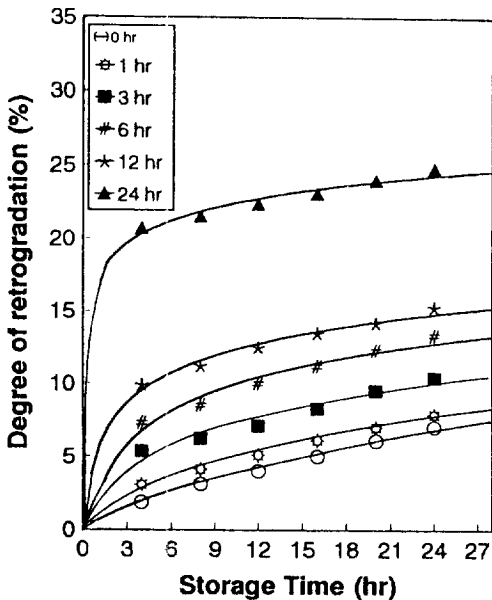


Fig. 7. Effect of acid-hydrolysis time on the degree of retrogradation of rice starch gels stored at 20°C.

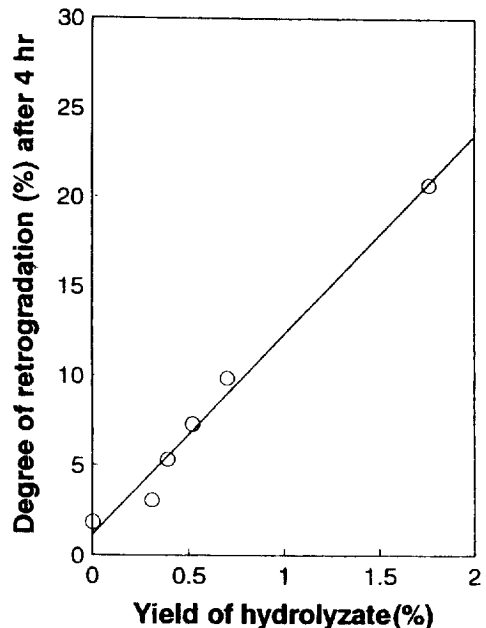


Fig. 8. Degree of retrogradation of rice starch gel stored for 4 hr at 20°C against acid-hydrolysis.

라아제에 의해 아밀로펙틴의 α -1,4 결합을 분해시킴으로써 전분의 노화가 억제된다고 하였다.

한편, 저장 4 시간 이후의 노화도는 산처리 시간에 관계없이 비슷한 속도를 보였는데, 이는 아직 산에 의해 분해되지 않은 α -1,6 결합과 결합된 α -1,4 결합들이 서서히 노화됨을 암시한다고 볼 수 있다.

지금까지의 결과로 볼 때, 산처리에 의한 아밀로펙틴의 α -1,6 결합의 분해는 노화를 촉진 시킨다는 것을 알 수 있었다.

요 약

쌀 전분을 1 N 염산용액으로 가수분해하였을 때 가수분해율은 1시간에 0.31%, 3시간에 0.39%, 12시간에 0.7%, 72시간 후에 4.7%이었다. 전분은 산에 의하여 α -1,4 결합과 α -1,6 결합이 모두 분해되었는데, 산처리 전분의 요드 반응과 분자량 분포로 보아, 산처리 3시간까지는 α -1,6 결합이 분해되었으며, 그 이후부터는 α -1,4 결합도 분해되기 시작하였다. 산처리 전분젤(50%)의 초기 노화도는 산가수분해 정도와 정의 상관관계를 보였고, 산에 의한 아밀로펙틴의 α -1,6 결합의 분해는 노화를 촉진 시켰다.

문 헌

- Krog, N., Olesen, S.K., Toernaes, H. and Joensson, T.: Retrogradation of the starch fraction in wheat bread. *Cereal Foods World*, **34**, 281 (1989)
- Ward, K.E.J., Hosney, R.C. and Seib, P.A.: Retrogradation of amylopectin from maize and wheat starches. *Cereal Chem.*, **71**, 150 (1994)
- Zhang, W. and Jackson, D.S.: Retrogradation behavior of wheat starch gels with differing molecular profiles. *J. Food Sci.*, **57**, 1428 (1992)
- Kalichevsky, M.T., Orford, P.D. and Ring, S.G.: The retrogradation and gelation of amylopectin from various botanical sources. *Carbohydr. Res.*, **198**, 49 (1990)
- Sterling, C.: Textual qualities and molecular structure of starch products. *J. Tex. Stud.*, **9**, 225 (1978)
- Wrsch, P. and Gumy, D.: Inhibition of amylopectin retrogradation by partial beta-amylolysis. *Carbohydr. Res.* **256**, 129 (1994)
- Lin, W. and Lineback, B.R.: Changes in carbohydrate fractions in enzyme supplemented bread and the potential relationship to staling. *Starch*, **42**, 385 (1990)
- Levine, H. and Slade, L.: Polymer physicochemical characterization of oligosaccharides. In *Biotechnology of Amylodextrin Oligosaccharides* (ACS Symp. Ser 458). Friedman, R.B. (Ed.), ACS Books, Washington, DC, USA, p.219 (1991)
- Kang, K.J., Kim, K. and Kim, S.K.: Three stage hydrolysis pattern of rice starch by acid-treatment. *J. Appl. Glycosci.*, **41**, 201 (1994)
- Pessa, E., Suortti, T., Autio, K. and Poutanen, K.: Molecular weight characterization and gelling properties of acid-modified maize starches. *Starch*, **44**, 64 (1992)
- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J.K., Revers, P.A. and Smith, F.: Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350 (1956)
- Robin, J.P., Mercier, C., Charbonniere, R. and Guilbot, A.: Lintnerized starches : filtration and enzymatic studies of insolubles from prolonged acid treatment of potato starch. *Cereal Chem.*, **51**, 389 (1974)
- Williams, P.C., Kuzina, F.D. and Hlynka, L.: A rapid colorimetric procedure for estimating the amylose content of starches and flours. *Cereal Chem.*, **47**, 411 (1970)
- 강길진, 김 관, 김성곤 : 열수 가용성 쌀 전분의 구조와 전분의 구조 및 밥의 텍스처와의 관련성. *한국식품과학회지*, **27**, 757 (1995)
- Kang, K.J., Kim, K., Kim, S.K. and Murata, A.: Relationship between molecular structure of amylose and texture of cooked rice of Korean rice. *J. Appl. Glycosci.*, **41**, 35 (1994)
- Tsuge, H., Hishida, M., Watanabe, S. and Goshima, G.: Enzymatic evaluation for the degree of starch retrogradation in food and foodstuffs. *Starch*, **42**, 213 (1990)
- 강길진, 김 관, 김성곤 : 쌀의 아밀로펙틴 분자구조와 밥의 텍스처. *한국식품과학회지*, **27**, 105 (1995)
- Yamamoto, K., Sawada, S. and Onogaki, T.: Properties of rice starch prepared by alkali method with various conditions. *Denpun Kagaku*, **20**, 99 (1973)

(1997년 6월 27일 접수)