

食品分野에서의 X線結晶學의 利用



박 홍 구
 <세종대 교수>

1. 序 論

X線은 1895年 독일의 Roentgen에 의하여 發見되었고 1912年 Laue, Friedrich, Knipping 등은 硫酸銅單結晶에 X線을 쬐어 Laue寫眞을 얻었다. 이 實驗結果, X線의 波動性과 同時에 結晶이 空間格子的 構造로 되어 있음을 明確히 하였다. 이 發見을 기점으로 X線分光學과 X線結晶學의 두가지 學問이 發達하였으니 Laue의 이 發見이야말로 人間의 自然認識에 關한 偉大한 巨步일 것이다. 이 實驗結果에 刺戟되어 같은해 W.H 및 W.L. Bragg父子는 X線의 結晶에 依한 迴折現象을 極히 理解하기 쉽게 表現한 Bragg의 反射條件 $2d\sin\theta = \lambda$ 를 發表하였고 連달아 다음해 NaCl, KCl 등의 結晶構造의 研究를 完成하였다. 이것이 X線에 依하여 結晶內의 原子配置를 決定한 最初의 論文이다. 그後 無機化合物 또는 有機化合物의 構造가 續續決定되므로써 分子의 概念은 勿論, ion結合, 原子結合의 具體的인 知

識이 確立되었다. X線結晶學의 研究對象을 結晶體로 固定하였을 때 分子 한個에 關한 知識을 提供하는 以外에 分子間의 結合狀態를 明確히 할 수 있으며 不確實성이 없는 最終의 三次構造가 決定된다는 點이다. 特히 Fourier 級數法을 構造解析에 導入하므로써 結果의 精密度가 增大하였고 原子와 分子의 形態를 보 고 싶어하던 人類의 꿈이 達成되었다.

Fourier 級數로 單位格子內의 電子密度 $\rho(xyz)$ 는 다음과 같다.

$$\rho(xyz) = \frac{1}{V} \sum h \sum k \sum l F(hkl) \exp\{-2\pi i(hx + ky + lz)\}$$

V : 單位格子의 體積 (hkl): Miller 指數
 $F(hkl)$: 結晶構造因子
 xyz : 各原子의 座標

實驗的으로 얻어지는 $|F(hkl)|^2$ 의 數는 單位格子의 크기와 空間群에 따라서 다르나 普通 2,000~3,000個이며 $|F(hkl)|^2$ 를 적당히 利用하여 各 $F(hkl)$ 의 位相을 決定하는 것이 研究의 最大難關이다. $F(hkl)$ 의 位相이 決定되면 單位格子內의 各原子의 電子密度는 上式에 依하여 計算할 수 있으며 各原子의 電子密度의 極大點을 求하여 原子의 位置로 한다.

第二次大戰後에는 結果의 精密化를 爲하여 Differential synthesis, (F_o-F_c)-synthesis, Least-square method 등을 利用하여 原子間距離와 原子間角의 誤差를 各各 0.005 Å, 0.5° 以內로 精密化할 수 있게 되었다. 이 結果 水素의 位置도 決定할 수 있게 되고 固體物性論研究者에 一層 精密한 構造의 基礎를 提供하고 있다. 또 一面 I. B. M. 等으로 計算方法이 簡便化됨에 따라 大端히 複雜한 物質의 構造決定이 可能케 되었다. X線結晶學의 중요한 것은 ① 간단한 物質의 精密解析이며 이것은 X線結晶學의 主流를 이루고 있으며 시료를 재결정시켜 얻은 單結晶을 computed controlled four-circle diffractometer로서 X線반사강도를 측정하여 patterson function 및 symbolic addition법에 의하여 구조를 정밀화한다. ② 복잡한 物質의 구조결정이며 이것은 Benzylpenicillin, Vitamin B₁₂, 단백질효소, polyvinylalcohol, Nylon등과 같은 거대분자구조를 Fourier 급수법을 이용하여 각 原子間的 전자 밀도까지 계산하는 것이다. ③ 粉末 X線法 등이다.

2. 粉末線回折像의 工業的應用

X線回折粉末法은 1916年 Debye와 Scherrer, 1917年 Hull에 의해서 考案되었다. 主로 야금화학, 광물화학, 섬유화학, 약품화학, 식품화학분야에서 公業化學적연구, 生産면에 밀접히 關連되어 있다. 원리는 구조적인 문제에 귀착되거나 기초적인 연구때는 單결정의 시료로 하는데 한편 응용적인 필요 때는 결정분말을 사용하는 Debye-Scherrer법이 사용된다. X線の 회절像으로부터 結晶性物質의 定性 및 定量分析은 물론이려니와 結晶을 이루고 있는 原子의 配列까지 決定할 수 있도록 급속하게

발전하였다. 結晶을 構成하는 原子, 分子의 크기와 그 排列은 化合物에 의하여 다르므로 格子面間隔 및 그의 格子面에서 回折하는 X線の 強度는 各化合物에 特有의 定數가 된다. 粉末寫眞으로 부터 各回折線을 反射한 結晶內의 格子面의 間隔 d 는 波長既知의 X線을 使用하여 θ 를 測定하여 Bragg法則 $2d\sin\theta = n\lambda$ 에서 $\frac{d}{n}$ 을 算出할 수 있고 同時에 그의 強度를 測定하여 物質을 同定할 수 있다. X線回折法은 結晶物質의 同定法으로써 有用한 것 以外 2種以上の 結晶混合物의 分析에 쓰이며 또 그 結晶混合物이 混晶인가, 機械的 混合物인가, 또는 分子化合物인가의 解明, 그리고 어떤 物質이 異性體인가 異像體인가의 決定에도 쓰이며 더구나 X線回折法은 物質中에 있는 微結晶의 相(crystalline phase)을 定性的으로 決定하는 迅速正確한 方法이며, 物質에 多晶形(polymorphic forms)의 存在를 決定하는데 利用하는 唯一의 手段이다. X線回折分析에는 2가지 重要한 方法이 있다. 하나는 X線回折에 의한 分析으로 시료중의 원자의 배열상태를 구명할 수 있고, 다른 方法은 螢光 X線分析인데 원소분석의 수단으로 使用되고 있다. X線分析을 널리 利用할 수 있게 된 것은 그 장치가 대단히 편리해졌고 또 자동화된 20여년 전부터라 하겠다. X線回折장치는 X線回折 데이터를 기록하는 장치이다. 회절데이터의 檢出 및 기록은 크게 나누면 2種으로서 즉 필름에 기록하는 方法과 counter에 의해서 기록하는 方法이다. 필름법은 2次元데이터를 한 번에 얻을 수 있는 장점이 있지만 정량성에는 다소 부족한 면이 있다. 이것에 비해서 counter법은 정량적인 취급이 尤호하지만 한 번에 측정할 수 있는 것은 一點뿐이므로 목적한 Data를 얻으려면 counter를 움직이면서 측정해야 한다. X線회절장치는 또 사용하는 試

料결정이 單結晶인가 多結晶(粉末)인가에 의해서도 분류된다. 다음에 Debye-Scherrer의 사진법과 counter를 사용하는 Diffractometer (回折計)을 간단히 소개한다.

a. Debye-Scherrer의 사진법

固體物質은 잘아서 분말로 만든다. 분말은 될 수 있는 대로 고운 것이 좋으므로 300mesh의 체를 통과시키는 것이 바람직하다. Debye Scherrer카메라 用 시료는 지름이 약 0.5mm 길이 약 1cm의 가느다란 棒狀이라야 한다. 지름 5.73cm의 카메라가 흔히 사용되는데 이 특정한 지름은 1rad을 度數로 표시한 수의 $\frac{1}{10}$ 에 해당하고 cm로 측정된 S를 10倍라 하면 θ 가 度로 쉽게 얻어지므로 계산할 때 대단히 편리하다. 그러나 카메라의 지름은 약 5~20cm이다. 지름이 커질수록 필름상에서 특정한 2本の 선에 대한 분리성이나 解像力이 좋아진다. X線분석에서 解像力은 面間隔이 대단히 近接한 二組의 回折線을 분리하는 능력이므로 $\frac{d}{\Delta d}$ 로 취할 수 있다. S를 필름상의 특정한 회절선으로부터 透過線이 필름에 충돌한 點까지의 거리라면 (그림 1) $S=2\theta R$, $\Delta S=R\Delta 2\theta$, R는 카메라의 반지름이다. 解像力은 Bragg의 법칙을 微分하므로써 얻어진다. $\lambda=2d'\sin\theta$, $\frac{d\theta}{dd'} = \frac{-1}{d'} \tan\theta$ 따라서 $d\theta = \frac{dS}{2R}$ 그런데 $\frac{ds}{dd'} = \frac{-2R}{d'} \tan\theta$

解像力은 $\frac{d'}{\Delta d'} = \frac{-2R}{\Delta S} \tan\theta$

그림 2에 Debye-Scherrer카메라의 필름을 배치하는 세가지 방법을 나타내었다. 그림 2(a)에는 필름의 중심에 구멍이 뚫려 있으므로 透過線은 필름의 구멍을 통과한다. 회절 圖形은 이 구멍의 양쪽에 대칭으로 나타내고 특정한 반사각 θ 의 값은 反射X線에 同一圓錐에 의해서 생긴 2개의 회절선 사이의 거리 U를 측정하여 구한다. $4\theta R=U$. 그림 2(b)에

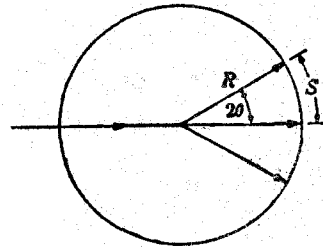
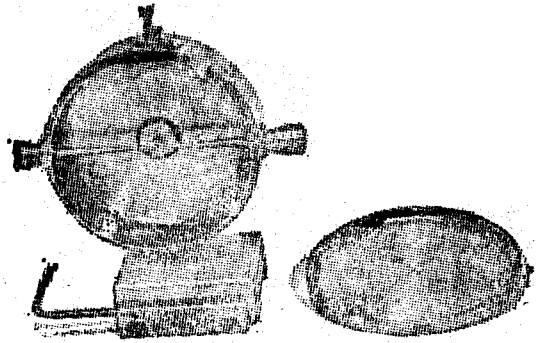


그림 1. Debye-scherrer 카메라장치 및 관계

서 입사선은 필름의 구멍으로 들어가고 θ 는 다음식에서 구한다. $(2\pi-4\theta)R=V$. (a), (b)는 필름의 수축으로 인한 오차를 Knife edge로 補正하는 것이 바람직하다. 그림 2(c)는 필름을 넣는 非대칭적인 방법 또는 Straumanns法이 표시되어 있다. 입구의 Collimator와 beam stopper를 피하기 위하여 필름에는 2개의 구멍이 뚫려 있다. 필름을 측정함으로써 어떤 구멍을 입사선이 통과하고 또 어느 點을 투과선이 통과 하였는지를 결정할 수 있으므로 필름 수축의 補正 때문에 Knife edge를 쓸 필요는 없다. 입사선이 통과한 點 X($2\theta=180^\circ$)는 선 5, 5의 측정위치의 중간이고, 마찬가지로 투과선이 통과한 點 Y($2\theta=0^\circ$)는 선 1, 1의 중간이다. X, Y의 각 위치의 差는 W이고, θ 는 비례관계이므로 다음과 같이 구한다.

$\frac{2\theta}{\pi} = \frac{S}{W}$. 그림 2의 오른쪽 그림은 입사선에 대한 필름의 위치를 표시하였고 왼편 그림은 평면으로 펼친 필름을 표시하였다.

b. 회절선強度의 측정

분말사진의 해석은 먼저 필름에서 회절선의

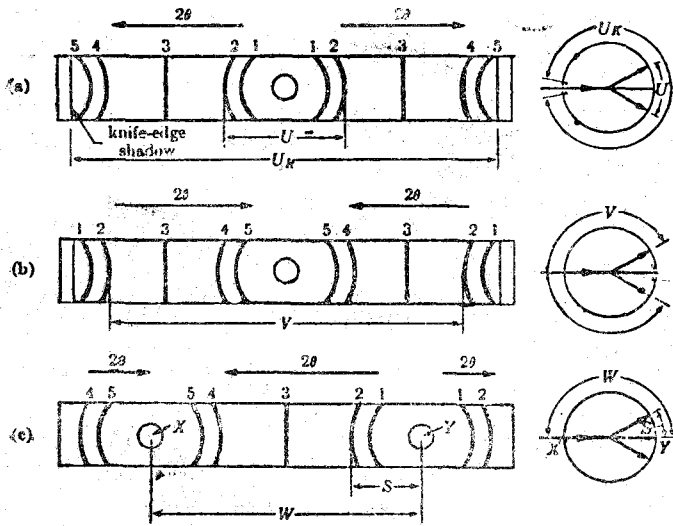


그림 2. Debye Scherrer 카메라에 필름을 넣는 법

위치를 측정하는 것부터 시작된다. X선의 강도는 사진필름의 黑化量으로 측정된다. 이것은 다음의 관계식으로 定義된다. $D = \log_{10} \frac{I_0}{I}$ I_0 : 필름에 입사하는 可視광선의 강도, I : 투과광선의 강도, 感光밀도는 그 값이 약 1.0 (투과광선은 입사광선의 10%)에 도달할 때까지는 露出시간에 비례한다. 여기서 露出이란 $露出 = (X선의 강도) \times (시간)$.

한장의 필름에서 모든 회절선에 대한 시간은 일정하므로 感光밀도는 X선강도에 비례한다.

이밀도는 microphotometer로 측정한다. 가장 간단한 측정장치는 光源과 렌즈 및 Slit

로 되어 있고, 이것은 가느다란 광선을 X선필름에 照射하고, 투과한 빛을 記錄檢流計에 접속한 光電管에 닿게 한다. 檢流計를 흐르는 전류는 光電管에 닿는 빛의 강도에 비례하므로 檢流計가 가리키는 S 는 투과광선의 강도 I 에 비례한다. 광선의 단면은 대개 높이가 약 3mm, 넓이 0.1mm^2 의 短形이다. 필름을 움직임으로써 이 beam은 필름을 가로방향으로 움직여서 그림 3(a)에 표시

한 것과 같은 회절선을 그리게 된다. 이렇게 해서 얻어진 檢流計의 기록은 그림 3(b)에 檢流計의 가리침을 縱軸에, 회절선의 위치를 橫軸에 표시하고 있다. 단 橫軸은 약 5倍로 확대되어 있다. 기록계의 위쪽에 있는 檢流計가 露出을 표시하고, 밑의 線 B는 광선이 필름에 露出되지 않은 부분, 즉 모든 散亂 X선으로부터 보호되어 있던 부분을 통과할 때의 가리침, 즉 最大値 S_0 를 표시한다. 따라서 S_0 는 一定하고, 입사광선의 강도 I_0 에 비례한다. 이렇게 해서 읽은 것은 露出되지 않은 필름의 background의 黑化에 대한 補正이다. 필름의 露出된 부분의 感光度는 다음의 관계식으로 구한다.

$$D = \log_{10} \frac{I_0}{I} = \log_{10} \frac{S_0}{S}$$

곡선은 2θ 의 함수로서 X선강도로 표시된다. 연속 background 선은 각 peak의 밑에 그려지고 적분 강도나 회절선의 半價幅 B의 측정은 그 선의 위부분에 대해서 행한다. 즉 적분강도는 background上에서 陰影으로 표시한 부분의 면적으로 주어진다.

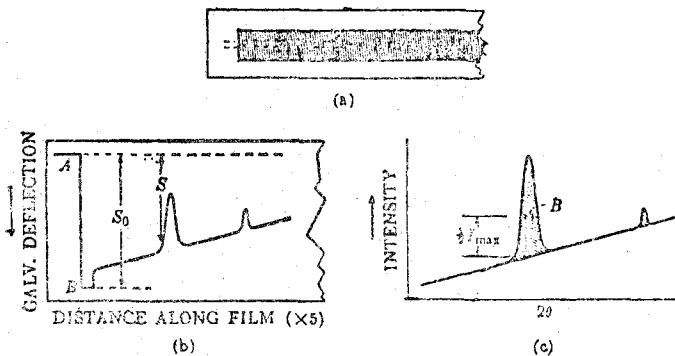


그림 3. Microphotometer에 의한 回折線 강도의 측정
(a) 필름, (b) 檢流計의 기록, (c) X線강도 곡선

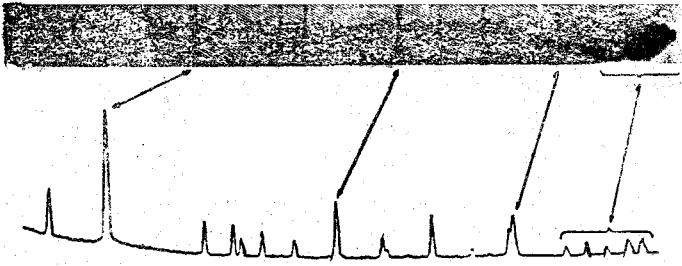


그림 4. 石英의 粉末圖形(上)과 이 그림에 대응하는 microphotometer의 곡선(下)

실제로 microphotometer의 기록은 그림 4에 표시되어 있다.

c. Diffractometer

과장을 알고있는 X線을 사용하여 시료에 의해서 회절되는 상태를 측정하므로써 결정질 물질을 연구하는 장치로써 회절카메라에서는 회절선의 세기는 beam에 의한 사진필름의 黑化量에 의해서 측정된다. 黑化量은 필름을 microphotometer로 측정하여 X선강도로 환산된다. Diffractometer에서 회절선의 강도는 beam에 의한 기체의 電離 또는 고체로부터 생기는 螢光에 의해서 직접 측정된다. 각 pulse는 X선의 1量子가 상자에 들어가서 전리가 일어남으로써 생긴다. 적당한 전기회로에 의해서 단위시간에 일어나는 pulse의 수를 셀 수 있다. 이 수는 가스상자에 들어있는 X선의 강도에 직접비례한다. 이 장치를 計數管(counter)라 한다. Diffractometer는 본래 Debye scherrer카메라에 準해서 만들어졌다. 단지 필름대신에 위치를 변화시킬 수 있는 計數管이 붙어있다. 양쪽다 單色 X線이 쓰이고 X선의 檢出器(필름 또는 計數管)는 분말시료를 중심으로한 圓周上에 놓인다. Diffractometer의 기본구조를 그림 5에 표시하였다. 平板분말시료 C는 도면에 수직인 軸 O의 迴轉을 회전하는 臺上에 놓인다. X線源은 X선管의 타켓 T上에 線狀초점 S이다. S는 도면

이다. X선은 이 X線源으로부터 發散하고 그리고 시료에 의해 회절되고 收斂회절선으로 되어 Slit에서 초점에모여 計數管 G에 들어간다. A 및 B는 각각 입사선 및 회절선을 평행으로 만드는 특별한 Slit이다. 입사선용 Slit와 計數管은 軸 O의 迴轉을 회전하는 운반대 E상에 붙여놓고 그 角 위치 2θ 는 눈금 K로

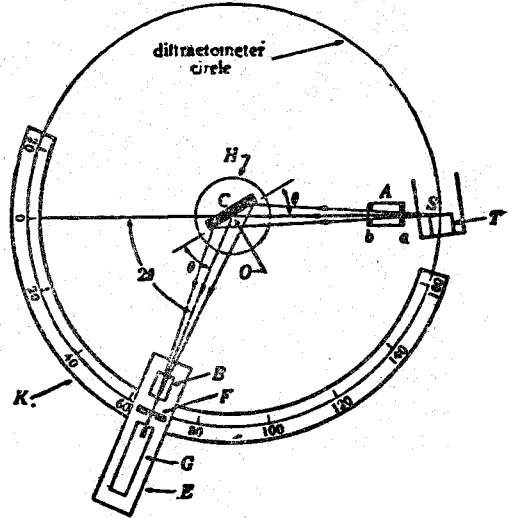


그림 5. X선 Diffractometer.

에 수직이므로 diffractometer의 軸 O에 평행 읽을 수 있다. E와 H는 계수관이 $2x$ 度 회전하면 시료는 자동적으로 x 度 회전하도록(기계적으로) 연결되어있다. 이 연결로 板狀시료에 대한 beam의 입사角과 시료에서의 반사각은 항상 서로같고, 또한 全회절각의 절반과 같으므로 집중조건이 만족스런 상태에 있다. 계수관은 일정한 각 속도로 diffractometer의 迴轉을 회전하거나 혹은 손으로 임의의 角 위치로 움직이게 된다.

3. 粉末 X線法の 食品化學的 寄與

a. 脂質의 多形現象

1920年代에 脂肪酸, Triglyceride, 油脂等이

結晶質이라는 것을 알았다. 結晶化는 液體로부터 固體로 相이 變化하며 融解現象은 固體가 液體로 變化하는 現象이다. 이런 現象以外에 固體內에 있어서도 여러가지 型的 相轉移가 存在한다. 多形現象은 固相에 있어서 相轉移의 現象이다. 同一의 化學式에 있어서도 結晶을 成長시키면 成長條件에 따라 結晶構造를 달리하는 現象이 생긴다. 이것을 多形現象이라 한다. A. E. Bailey는 熱測定에 의하여 Triglyceride의 多形現象을 보고하였다. 그後 Bailey, Lutton, Hoerr 等に 의하여 Triglyceride의 變態에는 4種類가 있음을 確

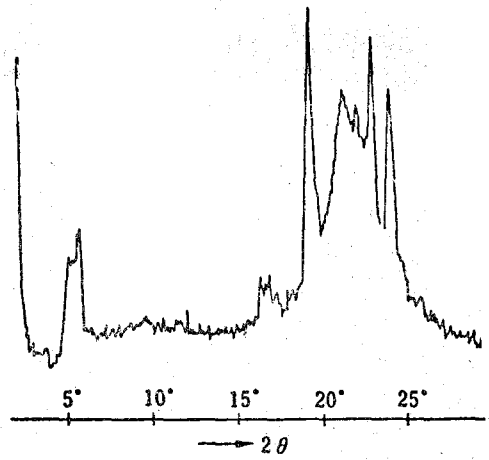


그림 6. Triglyceride β型變態 X線回折 pattern.

표 1. Hoerr에 의한 Triglyceride 變態의 命名法

變態型	面間隔值			
α型	4.15Å			
β'型	4.20Å			3.80Å
Intermediate型 (中間型)	4.62Å	4.13Å	3.75Å	
β型	4.57Å	3.86Å		3.65Å

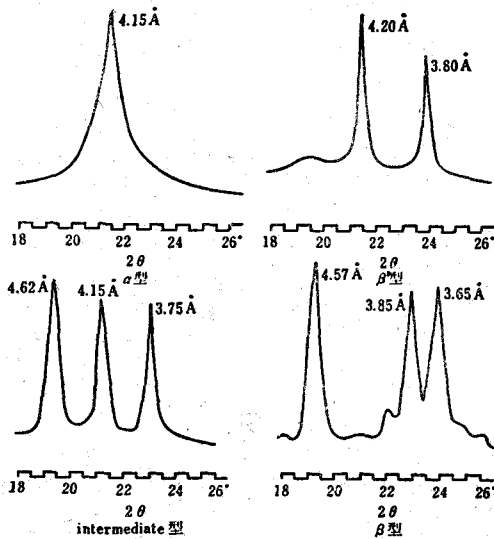


그림 7. Triglyceride의 熱處理에 의한 α變態

認하였다. Triglyceride 融液을 急冷한 固體는 α型的 變態로 이것은 熱的으로 不安定하므로 곧 β', Intermediate型, β型으로 轉移하며 X線回折強度에서 얻은 面間隔值도 다르다고 보고 하였다(표1, 그림6.7.). H. Witzel et al

에 의하면 Cacao butter는 結晶多形으로 적어도 6種의 結晶形이 存在하는 것으로 알려졌다. 이것의 구조는 X線回折에 의하여 상세히 조사되었다. 그림 8의 (A)는 m.p 36.3°C, (B)는 m.p 33.8°C이다.

b. 澱粉의 X線粉末回折圖

澱粉粒의 X線粉末回折圖形은 그림 9에서 보는 바와 같이 상당히 銳利한 回折線을 나타내므로 澱粉粒도 結晶領域을 함유하고 있음을 알 수 있다. 이 圖形은 澱粉의 種類에 의하여 다르며 cornstarch를 나타내는 (a) 圖形은 穀類전분에서 볼 수 있고 potatostarch를 나타내는 (b) 圖形은 塊莖전분에서 많이 볼 수 있다. C. Sterling에 의하면 potatostarch의 경우 20~30%가 結晶領域, 남은 70%는 非晶領域이다. 二國二郎에 의하면 粒內 微結晶의 大部分은 amylopectin에 의하여 形成되고 amylose는 非晶領域을 充填한다고 하나 amylose

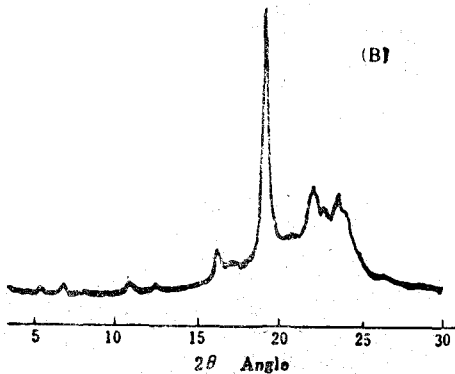
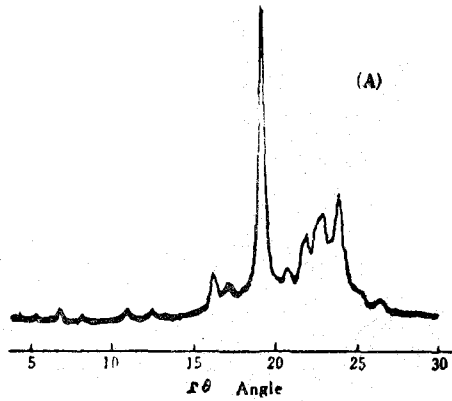


그림 8. 結晶形이 다른 2種의 Cacao Butter의 X線回折 pattern

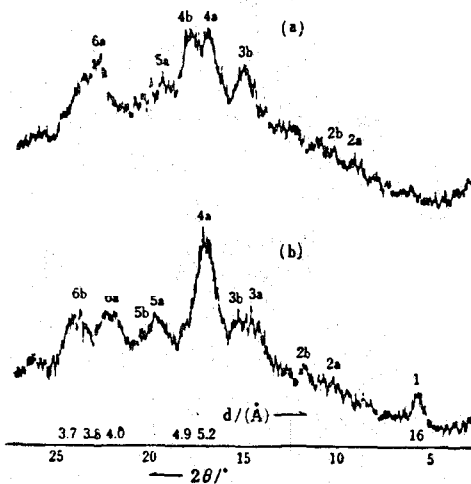


그림 9. 전분의 粉末 X線回折圖
(a) cornstarch
(b) potatostarch

도 一部分의 結晶構造를 形成하는 보고도 있다. L. Sair는 전분의 結晶구조를 人工的으로 變化시켰다. 즉 相對濕度 100%下에서 전분粒을 autoclave에서 加熱하면 (濕熱處理) 전분粒의 外觀에는 거의 變化가 없으나 結晶構造와 物性이 變化함을 보고하였다. 전분粒의 X線圖形과 水分收着能사이는 밀접한 關係를 가진다고 할 수 있다(그림 10). 그리고 鹽析法에 의하여 얻은 amylose, 즉 전분粒($MgSO_4$ 含有)을 autoclave에서 약 $160^\circ C$ 加熱하여 전분粒을 完全히 崩壞시킨 後 溫度를 내려 am-

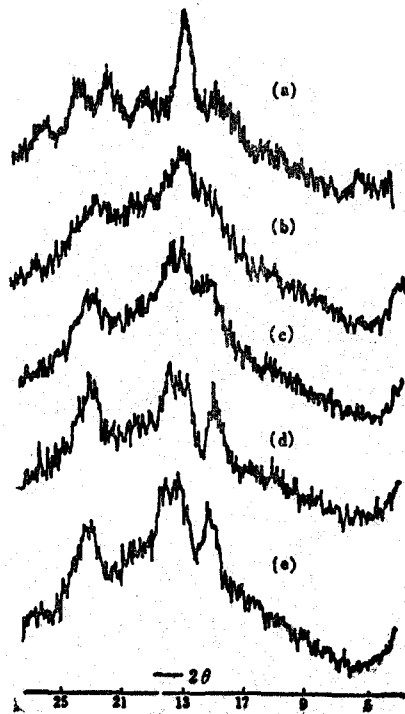


그림 10. 전분의 濕熱處理에 의한 X선 회절도형의 變化

- (a) 未處理 potato starch
- (b) 濕熱處理 potato starch ($128^\circ C$, 15分 r. h 100%)
- (c) 濕熱處理 potato starch ($120^\circ C$, 2時間, r. h 100%)
- (d) 未處理 corn starch
- (e) 濕熱處理 corn starch ($120^\circ C$, 2時間 r. h 100%)

amylose만을 선택적으로 折出시켜 얻은 老化 amylose의 X線回折圖形은 그림 11과 같다. 이 圖形에서 보는 바와 같이 回折強度가 弱하고 非晶圖形에 가깝다. 그러나 鹽析 amylose를 Butanol에 의하여 再結晶한 amylose는 대단히 銳利한 回折線을 나타낸다. 전분의 老化現象을 X線回折法으로 評價할 수 있다. 즉 co-

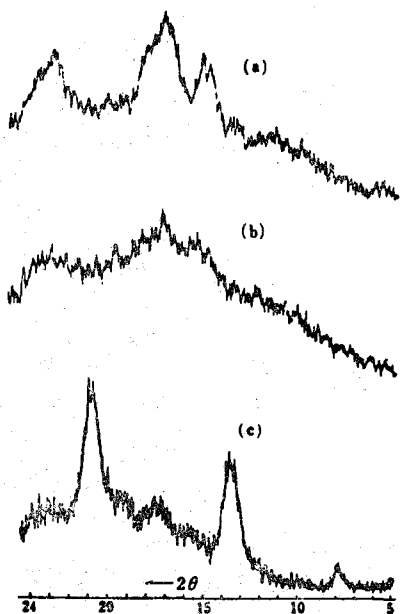


그림 11. 전분 및 amylose의 X線粉末回折圖

- (a) 고구마전분
- (b) 鹽折 amylose
- (c) 再結鹽析 amylose

cornstarch 14.3% 水懸液物을 30分間 加熱糊化시켜 얻은 전분 糊를 냉장고 中에(4°C)保存하면서 老化시킨다. 一定時間마다 一部를 取하여 alcohol로 脫水한 다음 粉末化시켜 얻은 X線回折圖形은 그림 12와 같다.

4. 금후의 전망

장치가 매우 高價라는 점과 物理的인 기초지식을 要하는 점 등으로 X線結晶學은 매우 有用하나 아직 널리 보급되지 못한 것 같다.

單結晶 사진법에서 Multiple film techniq-

ue를 使用하는 Weissenberg Camera, Reciprocal lattice의 한 Layer를 Film상에 그대로 나타내는 precession camera 등이 일반화 되었고 powder camera에 대치되는 Diffractometer도 실험결과와 精밀성과 간편성때문에 애용되고있다. X線결정학의 학문적 흐름은 간단한 물질의 전자밀도분포를 精確히 연구함으로써 결정구조의 기본적 성질을 구명하는 방향과 복잡한 유기화합물, 고분자화합물, 단백질

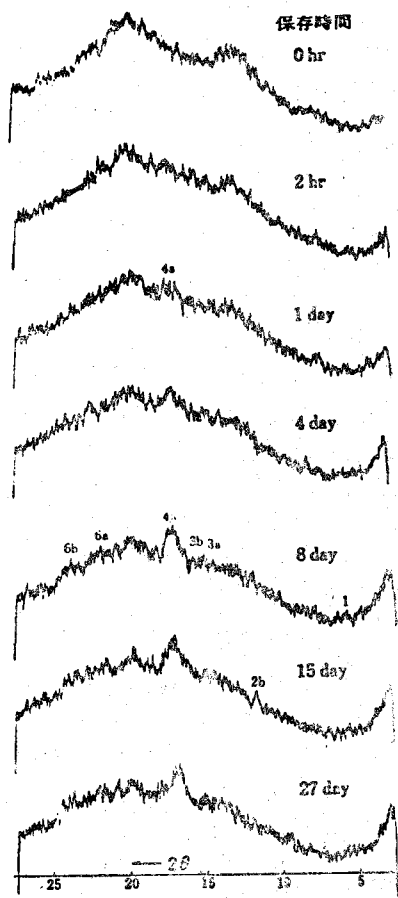


그림 12. 老化 cornstarch의 X線回折圖形의 變化, 효소 등의 구조결정방향, 그리고 분말 X線법의 연구결과가 積대성됨에 따라 응용화학에 적용되는 응용결정학이라고 칭할 수 있는 분야가 비약적으로 확대될 것으로 전망된다.