

## 쌀전분과 그 구성 성분의 분자구조적 성질

조형용·이신영\*·양 용·변유량

연세대학교 식품공학과, \*강원대학교 발효공학과

### Structural Properties of Rice Starch and Its Components

Hyung-Yong Cho, Shin-Young Lee\*, Ryung Yang and Yu-Ryang Pyun

Department of Food Engineering, Yonsei University, Seoul

\* Department of Fermentation Engineering, Kangweon National University, Chuncheon

#### Abstract

The structural properties of rice starch and its components were investigated. The intrinsic viscosities of rice starch, amylose and amylopectin solutions were 1.053, 1.772 and 1.596 ml/g, respectively.  $\beta$ -amylolysis limits of rice starch was 73% and those of amylose and amylopectin were 106 and 56%, respectively. The outer chain length (OCL) and inner chain length (ICL) of amylopectin were 1.56 and 7.7, respectively. Debranching of rice starch with pullulanase yield two peaks on Sephadex G-75. The peak I at void volume was principally amylose components and peak II at  $\overline{dp}$  25-10, constituted of branched amylopectin. However, the elution profile of debranched amylopectin by pullulanase revealed a bimodal peak distribution at  $\overline{dp}$  35-25 hydrolyzers and  $\overline{dp}$  25-10, and no distinct peak at void volume. The elution profile of the debranched,  $\beta$ -amylase hydrolyrates of starch and amylopectin yielded major peak at  $\overline{dp}$  2-10.

#### 서 론

전분의 분자구조적 연구는 (1-3) 최근에 와서 세균으로부터 분리한 분자절단 효소인 isoamylase와 pullulanase를  $\alpha$ -1,4-glucan의 미세구조 연구에 사용하면서부터 시작되었으며, 글리코젠 및 일부 생전분 또는 산 가수분해 곡류 전분에 대하여 연구되었다. 그러나 주로 아밀로오스 함량이 거의 없는 waxy 종이나 유전적으로 선택된 50-70%의 고 아밀로오스 함량을 갖는 일부 품종에 치중하여 연구되었다.

쌀전분의 구성 성분인 아밀로오스와 아밀로펙틴은 취반특성 및 식미등 쌀의 품질 결정에 중요 인자로 알려져 있다.(4,5) 그러나 지금까지 밝혀진 전분의 물리화학적 성질(6,7) 만으로 이들 특성을 구체적으로 설명하기에는 미흡하여 분자구조적 성질을 검토할 필요가 있다. 따라서 본 연구에서는 쌀 전분 및 그 구성 성분인 아밀로오스와 아밀로펙틴을 분리하여 물리화학적 성질을 조사하고,  $\beta$ -amylase와 pullulanase로 단독 또는 조합처리하여 gel-filtration 한 후 용출곡선의 양상 및 각 분획성분의 중합도(DP), 가지당 길이,  $\beta$ -amylolysis limit(%) 등의 분자적 성질을 조사하여 쌀전분의 기초적 특성 및 가공 적성을 이해하는 기초자료를 마련하고자 하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재 료

본 연구에서 사용한 재료는 1985년도에 도입한 미국산 medium grain 품종의 Carlose 쌀이며, 쌀은 도정 후 100mesh로 분쇄하여 4°C의 저온실에서 보관하면서 사용하였다.

전분은 알칼리 침지법(8)으로 분리하였으며, 아밀로오스 및 아밀로펙틴은 Montgomery의 방법(9)으로 분리하였다.

##### 분석방법

일반성분은 상법(10), 호화온도는 Wilson들(11)의 방법, blue value는 Gilbert들(12)의 방법으로 측정한다. 아밀로오스 함량은 요오드 비색법(13)으로 구하였으며, 이때, 표준곡선은 앞서 분리한 아밀로오스 및 아밀로펙틴을 사용하여 작성하였다. 한편 고유점도는 0.05~0.3g/dl 농도범위의 시료 전분 및 이의 구성성분 용액에 대하여 25°C에서 Cannon-Fenske 점도계(No. 50)을 사용하여 구하였다.

전분 및 그 구성 성분인 아밀로오스와 아밀로펙틴의  $\beta$ -amylolysis limit(%)는 Lee들(14)의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 시료를 100 mg취하여 dimethyl

sulfoxide(DMSO) 1 ml를 넣고 증류수 9 ml를 넣어 시료용액으로 하였다. 별도로 아세트산완충액(pH 4.8, 50ml)에  $\beta$ -amylase (대부분)를 60units/ml 되게 넣고 이 용액 10ml와 시료용액 10ml를 혼합하여 37°C 항온조에서 14시간 방치하였다. 이를 끓는물 중에 넣어 반응을 종결시키고 McCready<sup>(15)</sup> 및 Somogyi-Nelson<sup>(16)</sup>으로 각각 전당량과 환원당량을 정량하여  $\beta$ -amylolysis limit(%)를 계산하였다. 아밀로오스와 아밀로펙틴의 end group analysis는 Potter<sup>(17)</sup>의 periodate산화법으로 측정하였다. 한편 전분의 gel permeation chromatography (GPC)는 Robin<sup>(18)</sup>의 방법에 따라 전분기질 용액과 효소용액을 1일간 또는 2일간 반응시킨 후 행하였다. Sephadex G-75를 사용하였으며 5°C에서 인산완충액으로 4ml/h의 속도로 용출시키면서 용출액 2ml를 fraction collector(ISCO, model petriever III)에 취하여 전당량 및 환원당량을 정량하여 용출곡선을 작성하였다. 한편 각 분획 성분의 중합도(DP)는 Lii와 Linenback<sup>(19)</sup>의 방법에 의하여 계산하였으며, void volume는 blue dextran 2,000을 사용하여 결정하였다.

결과 및 고찰

시료 쌀전분의 일반 성분, 호화 온도, blue value 및 아밀로오스 함량은 Table 1과 같으며 시료전분 및 이의 아밀로오스와 아밀로펙틴 용액의 점도를 25°C에서 측정하고 환원점도를 계산하여 농도에 대하여 도시한 결과는 Fig. 1과 같다. 동일 농도에서 환원점도 값은 아밀로오스 > 전분 > 아밀로펙틴의 순서였으며, 환원점도 값은 모두 농도증가에 따라 직선적으로 증가하여 환원점도( $\eta_{sp}/C$ )와 농도(C) 사이에는 다음의 Huggins 식<sup>(20)</sup>이 성립되었다.

Table 1. Physico-chemical properties of Carlose starch

Moisture	13.03%
Ash	0.043%
Crude lipid	0.078%
Crude protein (N×6.25)	0.042%
Amylose	14.00%
Blue value	
Starch	0.190
Amylose	1.201
Amylopectin	0.123
Gelatinization temperature	55 °C

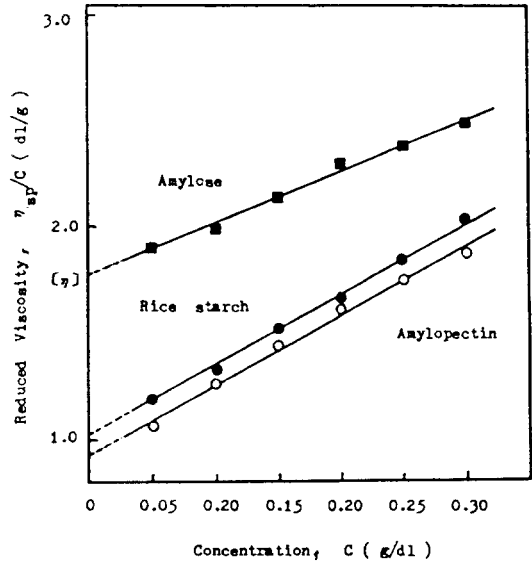


Fig. 1. Plot of reduced viscosity vs. concentration of rice starch and its componet solutions

$$\eta_{sp}/C = [\eta] + K [\eta]^2 C$$

여기서 $[\eta]$ 는 고유점도, K는 Huggins 정수이며, 직선의 기울기와 외삽한 절편값으로부터 각각 K 및  $[\eta]$  값을 구하였다.

아밀로오스와 아밀로펙틴의 고유점도는 각각 1.7718 및 0.9193(ml/g)으로 아밀로오스가 훨씬 높았으며, 전분의 고유점도는 아밀로오스와 아밀로펙틴의 중간값 범위인 1.0533이었다. 고유점도는 용질분자의 수력학적 부피를 나타내는 값으로 입자크기 및 팽윤정도를 나타낸다.<sup>(21)</sup> 한편 전분, 아밀로오스 및 아밀로펙틴의 k값은 각각 2.7041, 0.9875 및 3.2531이었다. K값은 명확하지는 않으나 용질 입자의 형태 및 강도 또는 용매와 용질이 상호작용으로부터 결정되는 값이며, 용질이 강하게 됨에 따라 커지고 또 용질 입자가 구형이면 그 값은 2에 가까워진다고 알려져 있다.<sup>(22)</sup> 따라서 쌀전분은 구형의 형태에서 크게 벗어나며 아밀로오스의 용매와의 상호작용은 아밀로펙틴 보다 훨씬 낮은 것을 알 수 있었다.

쌀전분 및 이의 구성 성분인 아밀로오스와 아밀로펙틴의 분자구조적 성질을 측정한 결과는 Table 2와 같다.

쌀전분의  $\beta$ -amylolysis limit는 73%로서 다른 전분의 일반적인  $\beta$ -amylolysis limit 값<sup>(23)</sup> (62-64%)보다 큰 값을 나타내었다. 또 아밀로오스는 106%로서 쌀 전분 아밀로오스에 대하여 보고 된 값<sup>(24)</sup> (83-99%)보다 높은 값을 나타내었으며  $\beta$ -amylase의 활성외에

Table 2. Properties of starch, amylose and amylopectin from Carlose rice

Starch		Amylose		Amylopectin				
$\beta$ -amylolysis limit (%)	$\beta$ -amylolysis limit (%)	$\overline{dpn}^{(1)}$	Unit chain length $\overline{CL}^{(3)}$	$\beta$ -amylolysis limit (%)	$\overline{dpn}^{(2)}$	Unit chain length		
						$\overline{CL}$	$\overline{OCL}^{(4)}$	$\overline{ICL}^{(5)}$
73	106	1311	332	56	1103	24.3	15.6	7.7

1) Intrinsic viscosity value  $\times 7.4$  = average degree of polymerization ( $\overline{dpn}^{(1)}$ )<sup>(18)</sup>

2) Intrinsic viscosity value  $\times 12$  = average degree of polymerization ( $\overline{dpn}^{(1)}$ )<sup>(18)</sup>

3)  $\overline{CL}$  = average unit chain length

4)  $\overline{OCL}$  = average outer chain length

5)  $\overline{ICL}$  = average inner chain length

$\alpha$ -amylase활성의 존재 또는 아밀로오스내에 분자구조의 아밀로펙틴 성분이 존재하지 않음을 보였다.<sup>(25)</sup> 그러나 아밀로펙틴의  $\beta$ -amylolysis limit는 56%로 보리전분의 경우와 비슷한 값이었다<sup>(23)</sup>.

한편 average unit chain length ( $\overline{CL}$ )는 아밀로오스와 아밀로펙틴에서 각각 332와 24.3이었다. 아밀로오스의 경우는 다른 곡류 전분(525-1490)보다는 낮은 값을 나타내었으나,<sup>(26)</sup> 아밀로펙틴의 경우는 24.3으로 다른 전분과 유사한 범위의 값<sup>(1,23)(24-26)</sup>이었으며, Kim들<sup>(27)</sup>이 보고한 통일 및 팔달 쌀전분의 값(22-21)과 비슷하였다.

아밀로펙틴의  $\overline{OCL}$ (outer chain length)과  $\overline{ICL}$ (inner chain length)의 계산값은 각각 15.6과 7.7로  $\overline{OCL}$ 과  $\overline{ICL}$ 의 비는 약 2:1이었다.

Whelan들<sup>(2)</sup>은 밀, 감자, 찰옥수수 및 찰사탕수수의  $\overline{OCL} : \overline{ICL}$ 의 비가 1.5~2.6:1이라고 보고하였다.

아밀로오스와 아밀로펙틴의  $\overline{dpn}$ 값은 각각 1311 및 1103의 포도당 단위로, 감자전분의 1273 및 1560, 보리전분의 1568보다는 약간 낮은 값을 보였다.<sup>(7,28)</sup>

쌀전분 및 아밀로펙틴을 pullulanase로 처리하고 Sephadex G-75로 용출시킨 결과는 Fig. 2와 같다. 전분의 경우는 void volume 부근 및  $\overline{dp}$  25-10에서 두 개의 주요 peak를 나타내었다. 각 peak에서의 다당류량은 Table 3에서 보는바와 같이  $\beta$ -amylolysis limit 값이 100%였으므로 pullulanase에 의하여 전분이 완전히 분해되었음을 알 수 있었다. Peak I은 아밀로오스 성분 ( $\overline{dp} > 55$ )을 나타내고, peak II는 debranching 후의 아밀로펙틴 성분을 나타내며  $\overline{dp}$  55-25가 28.8%,  $\overline{dp}$  25이하가 60.1%이었다. 그러나 아밀로펙틴의 경우에는 void volume 부근에서 peak를 나타내지 않았으며  $\overline{dp}$  35-25 및  $\overline{dp}$  25-10부근에서 peak를 나타내었다. 이와 유사한 양상은 감자, 옥수수 및 밀전분

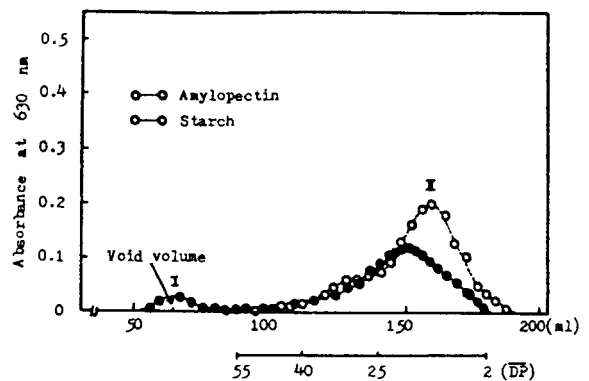


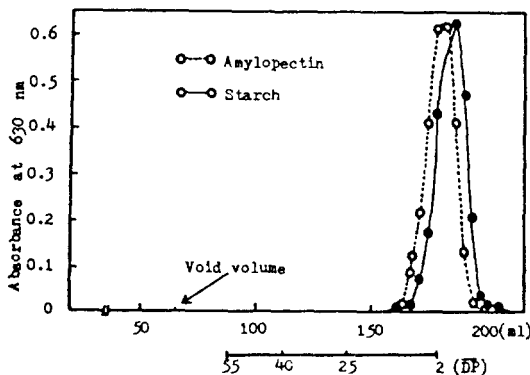
Fig. 2. Elution patterns on a column of Sephadex G-75 of rice starch and amylopectin in d ebranched with pullulanase

등의 아밀로펙틴에서도 관찰되었다.<sup>(2)</sup> 또한 시료전분의 아밀로펙틴은  $\overline{dp}25$ 를 기준으로 1:4의 비율로 나누어 지는 분명한 bimodal 특성을 나타내었다. Robin들<sup>(18)</sup>은 아밀로펙틴 분자들은 절단효소에 의해 두개의 분명한 분자량으로 분별되는 선형 chain군을 만든다고 보고하였으며 이들 bimodal분포는 아밀로펙틴 분자구조의 model을 밝히는데 기초가 된다고 하였다.

한편, pullulanase로 debranching 한 후  $\beta$ -amylase로 처리한 쌀전분 및 이의 아밀로펙틴에 대한 Sephadex G-75 용출 곡선은 Fig. 3과 같다. 용출분포는 두 시료 모두  $\overline{dp}$ 값이 높은 부분에서는 peak가 나타나지 않았으나 낮은  $\overline{dp}$ 부근에서는 peak가 나타나 강력히 가수분해되었음을 보여 주었으며, 쌀전분과 아밀로펙틴에서 서로 비슷한 양상을 나타내었다. Hood들<sup>(3)</sup>에 의하면 높은  $\overline{dp}$  부근의 peak분획은 아밀로오스에 약간의 branched intermediate fraction을 포함한 불균일 물질이 존재할 때 또는 debranching되지 않은 아밀로펙틴이 존재하기 때문에 나타난다고 하였고, Suzuki

**Table 3. Characteristics of pullulanase-debranched and  $\beta$ -amylase-hydrolyzed rice starch and amylopectin**

Source		Percent
Amylopectin	<u>Pullulanase-debranched</u>	
	Degree of polymerization	
	>25	19.5
	<25	80.5
	<u>Debranched and hydrolyzed with <math>\beta</math>-amylase</u>	
	Degree of polymerization	
	>25	0
	<25	100
	$\beta$ -Amylolysis limit (%)*	56
	<u><math>\beta</math>-Amylase hydrolyzed</u>	
Degree of polymerization		
>55	40.4	
<10	59.6	
Starch	<u>Pullulanase-debranched</u>	
	Degree of polymerization	
	>55	11.1
	55-25	28.8
	<25	60.1
	<u>Debranched and hydrolyzed with <math>\beta</math>-amylase</u>	
	Degree of polymerization	
	>25	0
	<25	100
	$\beta$ -Amylolysis limit (%)*	73
<u><math>\beta</math>-Amylase hydrolyzed</u>		
Degree of polymerization		
>55	6.8	
<10	93.2	



**Fig. 3. Elution patterns on a column of Sephadex G-75 of rice starch and amylopectin Debranched and hydrolyzed with  $\beta$ -amylase**

들<sup>(29)</sup>은 선형의 phosphorylated molecule로 구성된 성분의 존재로 나타난다고 하였다. 그러므로 위의 결과는 아밀로오스의  $\beta$ -amylolysis limit 값이 높았던 Table 2의 결과와 함께 고려하면 쌀전분의 아밀로오스 분자는 균일한 선형 분자로 이루어져 있음을 시사하는 사실이라고 볼 수 있다. 또 Fig. 3에서의 분획은 Table 3에서와 같이  $\overline{dp}$  2-10에서 약 100% 분획성분을 나타내었으므로 이 범위의 물질은 maltotriose, maltose 및 glucose 등의 단당류 또는 소당류인 것으로 판단된다. 또한 쌀전분 및 이의 아밀로펙틴을  $\beta$ -amylase로 가수분해한 후의 Sephadex G-75 용출 분포는 Fig. 4와 같다. 쌀전분은  $\overline{dp}$  40-25와  $\overline{dp}$  10이하에서, 그리고 아밀로펙틴은  $\overline{dp}$  55이상과  $\overline{dp}$  10이하에서 각각 2개의 주요 peak를 나타내었다. Peak II 분획은 두 시료

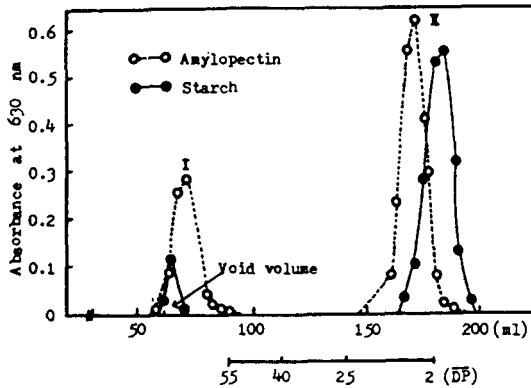


Fig. 4. Elution patterns on a column of Sephadex G-75 of rice starch and amylopectin hydrolyzed with  $\beta$ -amylase

모두  $\overline{dp}$  10 이하로 이 양은 쌀전분과 아밀로펙틴에서 각각 93.2% 및 59.6%이었다. 효소처리전의  $\beta$ -amylolysis limit값과 비교하여 볼때 아밀로펙틴의 경우는 비슷한 반면 쌀전분은 많은 차이를 나타내었다. 이는 쌀전분이 아밀로오스와 아밀로펙틴으로 이루어져 있기 때문이다. 따라서 쌀전분의 peak II 분획은 주로  $\beta$ -amylase에 의해 가수분해된 아밀로오스 또는 아밀로펙틴의 outer chain length 성분들의 가수분해 산물인 maltose, glucose 및 maltotriose인 것으로 볼 수 있다. 한편 void volume 부근의 peak I 분획은 쌀전분 및 아밀로펙틴에서 각각  $\overline{dp}$  25-40 및  $\overline{dp}$  55 이상이었으며 이들 분획은  $\beta$ -amylolysis limit는 거의 무시되는 정도였다. 그러므로 peak I 분획의 성분은 주로  $\beta$ -amylase에 의하여 가수분해되지 않은 아밀로펙틴의 inner chain 성분 즉,  $\beta$ -limit dextrin인 것으로 생각된다. 이상의 분자적 성질들은 앞으로 품종별로 비교 검토하므로써 품종차 또는 품종에 따른 가공 적성의 차이를 이해하는 중요 수단이 될 것으로 판단된다.

#### 요 약

쌀전분 및 이의 구성성분인 아밀로오스와 아밀로펙틴을 분리하여 이들의 분자 구조적 성질을 비교 검토하였다. 시료전분 및 아밀로오스와 아밀로펙틴의 고유 점도는 각각 1,053, 1,772 및 0.919ml/g이었다. 또 쌀전분, 아밀로오스 및 아밀로펙틴의  $\beta$ -amylolysis limit값은 각각 73, 106 및 56%이었으며 아밀로펙틴의 outer chain length(OCL)와 inner chain length(ICL)은 각각 15.6 및 7.7로 두 chain길이의 비는 약 2:1이었다. 한편, 전분은 pullulanase로 debranching 한 후 sephadex G-75로 분획한 결과 두개의 성분 분

획을 나타내었으며 void volume에서의 peak I은 주로 아밀로오스 그리고  $\overline{dp}$  25-10에서의 peak II는 아밀로펙틴 성분이었다. 그러나 아밀로펙틴을 debranching한 후의 용출분포는 void volume에서 peak를 나타내지 않았으며  $\overline{dp}$  35-25 및  $\overline{dp}$  25-10에서 bimodal peak를 나타내었다. 또 pullulanase와  $\beta$ -amylase를 동시에 처리한 경우는  $\overline{dp}$  2-10에서 peak를 나타내었다.

#### 문 헌

- Manners, D.J. and Matheson, N.K.: *Carbohydr., Res.* **90**, 99 (1981)
- Marshall, T.J. and Whelan, W.J.: *Arch. Biochem. Biophys.* **161**, 234 (1974)
- Hood, L.F. and Mercier, C.: *Carbohydr. Res.*, **61**, 53 (1978)
- Juliano, B.O.: In "Proceeding of the Workshop on Chemical Aspects of Rice Grain Quality" p. 69 (1979)
- Juliano, B.O., Onate, L.U. and del Mundo, A.M.: *Food Technol.*, **19**, 1006 (1965)
- Sterling, C.: *J. Texture Studies*, **9**, 225 (1978)
- Manners, D.J.: *Brewers Digest.*, **49**, 56 (1974)
- 山本和夫, 沢田澄恵, 小野垣俊雄: *澱粉科學*, **20**, 99 (1977)
- Montgomery, E.M. and Senti, F.R.: *J. of Polymer Science*, **28**, 1 (1958)
- AOAC: "Official Methods of Analysis" 13th, Ed., Association of Official Analytical Chemist, Washington, D.C., p. 711 (1980)
- Wilson, L.A., Birmingham, V.A., Moon, D.D. and Snyder, H.E.: *Cereal Chem.*, **55**, 661 (1978)
- Gilbert, G.A. and Spragg, S.P.: In "Method in Carbohydrate Chemistry", vol. 4, ed. by R.L. Whistler, AP, New York, P. 168 (1964)
- McCready, R.M. and Hassid, W.Z.: *J. Am. Chem. Soc.*, **65**, 1154 (1943)
- Lee E.Y.C. and Whelan, W.J.: *J. Biol. Chem.*, **153**, 375 (1944)
- McCready, R.M., Guggolz, J., Silveira, V. and Qwens, H.S.: *Anal. Chem.*, **22**, 1156 (1950)
- 福井作藏: 還元糖の定量法, 東京大出版會, p.10 (1971)
- Potter, A.L. and Hasid, W. Z.: *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 3488 (1948)
- Robin, J.P., Mercier, C., Charbonniers, R. and Guilbort, A.: *Cereal Chem.*, **51**, 389 (1974)
- Lii, C.Y. and Linenbkac, D.R.: *Cereal Chem.*, **54**, 138 (1977)

20. Greenwood, C.T.: In "Method in Carbohydrate Chemistry", ed, by R. L. Whistler, vol. 4, Academic press, New York, p. 179 (1964)
21. Barotc. A. and Mark. H.: *J. Am. Chem. Soc.*, **65**, 1902 (1943)
22. Ifak, A.M. ass. G. Phillips, G.O. and Morley, R.G.: *J. Sci. Food Agr.*, **28**, 895 (1977)
23. 최준복 : 강원대학교 대학원 석사학위 논문(1985)
24. Juliano, B.O.: In "Rice: Chemistry and Technology." ed. by D.F. Houston, chap. 2. p. 33, AACC, St. Paul, MN (1972)
25. GreenWood, G.F.: In "Advances in Cereal Science and Technology", ed. by. P. Pomeranz vol.1, p. 119, AACC, St. Paul. M N,(1976)
26. EL Tinay, A.H., EL Hardalou, S.B. and Nour, A.M.: *J. Fd. Technology*, **18**, 1 (1983)
27. 김성곤, 한태룡, 이양희, 비 엘 다폴로니아 : 한국식품과학회지, **10**, 157(1978)
28. Dreher, M.L., and Berry, J.W.: *Stärke*, **35**, 76 (1983)
29. Suzuki, A., Hizukuri, S. and Taketta, Y: *Cereal Chem.*, **58**, 286 (1981)
- (1987년 5월 11일 접수)