

## 2,2,6,6-Tetramethyl-1-Piperidine Oxoammonium Ion에 의한 다당류내 1차 알코올의 특이적 산화

장관식 · 조계봉  
서울산업대학교 식품공학과

### Oxidation of Primary Alcohol Groups of Polysaccharides with 2,2,6,6-Tetramethyl-1-Piperidine Oxoammonium Ion

Pahn Shick Chang and Gye Bong Cho

Department of Food Science and Technology, Seoul National Polytechnic University

#### Abstract

The primary alcohol groups of four kinds of polysaccharides (corn starch, rice starch, sweet potato starch, and cellulose), with different structures and water solubilities, were oxidized to carboxyl groups using 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidine oxoammonium ion (TEMPO) at 25°C. The optimum pH, TEMPO content, and NaBr content for the TEMPO/hypobromite-catalyzed oxidation of the polysaccharides were 10.5~11.0, 10 mmol/mol primary alcohol, and 0.49 mol/mol primary alcohol, respectively. The oxidation degree for the primary alcohol group was more than 90% for all four kinds of the polysaccharides. The oxidation process greatly increased the water solubility of the polysaccharides. Water-insoluble polysaccharide such as cellulose became water-soluble to the extent of 8.42% (w/v). And also, the polysaccharides with very low water solubility (less than 0.10% (w/v)) such as corn starch, rice starch, and sweet potato starch had high water solubility of approximately 45% (w/v). The gel-forming abilities with calcium ion were determined. The oxidized polysaccharides are new anionic polymers with unique structures that could have application as gums, gels, and films.

Key words: primary alcohol oxidation, water solubility, gel-forming ability

#### 서 론

다당류 물질은 곡류나 식물의 줄기 및 뿌리등의 주 성분으로서 식품공업을 비롯하여 제지, 의약품, 섬유공업등 각종 산업의 중요한 소재로서 사용되고 있으며<sup>(1-3)</sup>, 특히 식품공업에서는 식품의 골격을 형성하는 재료나 점증제로서 주로 이용되어왔다<sup>(4,5)</sup>.

한편, 이러한 다당류 물질은 그 출처에 따라 독특한 성질을 가지며, 일반적으로 찬물에 용해되지 않고 호화액은 노화에 의하여 이수현상(synersis)을 보이는 등의 단점들 때문에 천연 다당류를 이용할 수 있는 정도에는 한계가 있으며, 따라서 다당류의 성질을 인위적으로 바꾸는 조작이 많이 적용되어왔다<sup>(6-13)</sup>.

종래에는 강산 혹은 강알칼리, 무기축매, 고온 및 고

압등의 극단적인 화학공학적 방법으로 천연 다당류를 변성시켜 전분의 호화 및 조리성질의 개선, 노화의 감소, 낮은 온도에서의 물에 대한 용해도 향상등의 장점을 갖게 하여 특정한 용도에 적합한 기능성을 가질 수 있게 하였다. 그러나 이러한 화학공학적인 방법은 여러가지 부작용을 수반함으로써 인하여 최종 산화물의 등급이 떨어지며 탈색, 탈취 및 분리공정등이 요구되는 단점이 지적되어왔다.

따라서, 근래에는 Miyazawa 등<sup>(14)</sup> 및 Anelli 등<sup>(15)</sup>이 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidine oxoammonium ion (TEMPO)을 사용하여 1차 alcohol을 carboxylic acid로, 2차 alcohol은 ketone으로 전환시키는 특이적인 반응을 성공적으로 수행하였다. 그런데, 이러한 방법은 2차 alcohol을 산화시키기 때문에 다당류에 적용할 경우 다당류를 구성하고 있는 기본 단위당류 고유의 환상구조와 polymer로서의 특성마저 소실되는 결정적인 단점을 지니고 있는 바, 최근에는 De Nooy 등<sup>(16,17)</sup>이 TEMPO와 hypobromite 축매를 동시에 사용하여 1차

Corresponding author: Pahn Shick Chang, Department of Food Science and Technology, Seoul National Polytechnic University, 172 Kongneung-dong, Noweon-gu, Seoul 139-743, Korea

alcohol만을 특이적으로 산화시키는 방법을 고안하여 Miyazawa 등<sup>(14)</sup> 및 Anelli 등<sup>(15)</sup>이 개발하였던 방법을 개선하였다.

한편, De Nooy 등<sup>(16,17)</sup>은 1차 alcohol을 특이적으로 산화시키는 방법을 개발하였지만, 다당류 산화를 위한 최적조건을 확립하지 못하였으며 산화물질의 식품 소재로서의 가능성 여부도 판단하지 못하였는 바, 본 연구에서는 중요 다당류내의 1차 alcohol만을 특이적으로 산화시키기 위한 최적조건을 확립하였으며 생산된 산화물질의 물에 대한 용해도 및 겔 형성능력을 조사하여 식품소재로서의 적용 가능여부를 판단하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험재료

본 실험에서 사용한 옥수수전분은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)에서 구득하였으며, 쌀전분 및 고구마전분은 한국식품개발연구원에서 기증받아 사용하였다.

결정형 셀룰로오스(microcrystalline cellulose)는 American Viscose Corp.(Marcus Hook, PA, U.S.A.)에서 구입하여 사용하였다.

TEMPO는 Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI, U.S.A.)로부터, sodium hypochlorite 용액(10%, w/v)은 Junsei Chemical Co. (Tokyo, Japan)에서 각각 구입하여 사용하였다.

그외 시약은 EP등급의 제품을 사용하였다.

#### 다당류의 산화

옥수수전분, 쌀전분, 고구마전분 및 셀룰로오스 0.405 g (2.50 mmol of primary alcohol)을 50 mL의 증류수내에 분산시켜 현탁액을 제조한 후, TEMPO 3.9 mg ( $2.50 \times 10^{-2}$  mmol), NaBr 125 mg (1.215 mmol) 및 10% (w/v) sodium hypochlorite 용액 7.88 mL (5.50 mmol)를 첨가하여 산화반응을 시작하였다. 이때 반응액의 pH는 0.5N-NaOH 용액으로 채워진 pH-stat (Metrohm Ltd., Herisau, Switzerland)을 사용하여 조절하였으며, 반응온도는  $25 \pm 0.05^\circ\text{C}$ 로 고정하였다.

일정한 pH를 유지하기 위한 NaOH를 2.50 mmol 첨가하였을 때, 1.25 mL의 ethanol을 첨가하고 4M-HCl을 이용하여 반응액을 중화하여 반응을 종결시켰다.

#### 산화물질의 회수

종결된 산화반응액에 2~3배의 ethanol을 첨가하여 산화된 다당류를 침전시킨 후 6,000 rpm에서 10분간

원심분리하여 상등액을 제거하였으며, 회수한 침전물은 acetone으로 3~4회 세척한 후 원심분리하여 TEMPO 및 다른 촉매물질들과 완전히 분리하였다.

세척한 산화물질은 60°C의 진공오븐에서 건조하여 분말화한 후, 향후 실험에 사용하였다.

#### 산화율의 결정

1차 alcohol이 carboxylic acid로 산화·전환되는 정도는 일정한 pH (10.5~11.0)하에서 산화반응이 진행될 때 소모되는 NaOH 함량을 측정된 후, 아래의 관계식에 대입하여 결정하였다.

$$\text{Oxidation degree, \%} = \frac{\text{Moles of NaOH consumed}}{\text{Initial moles of primary alcohol group in the polysaccharide}} \times 100$$

한편, 1차 alcohol이 carboxylic acid로 전환되어 생성된 uronic acid 함량을 측정하거나<sup>(18,19)</sup> <sup>13</sup>C-NMR 및 <sup>1</sup>H-NMR을 이용하여 산화율을 결정하는 방법<sup>(16)</sup> 등으로 보완하는 것이 이상적이지만, 소모되는 NaOH 함량 측정에 의한 산화율 결정법이 uronic acid 함량 측정<sup>(18,19)</sup> 및 NMR 이용에 의한 산화율 계산법<sup>(16)</sup>을 대신할 수 있음을 전보<sup>(20)</sup>에서 이미 보고하였는 바, 본 실험에서는 단순하고 예민한 방법인, 소모되는 NaOH 함량 측정법을 이용하여 1차 alcohol의 산화율을 결정하였다.

#### 물에 대한 용해도의 측정

각종 다당류 및 산화물질의 물에 대한 용해도는 Fig. 1의 방법에 의하여 결정하였다. 먼저 다당류 분산액(600 mg/mL) 5 mL를 제조한 후 25°C에서 24시간

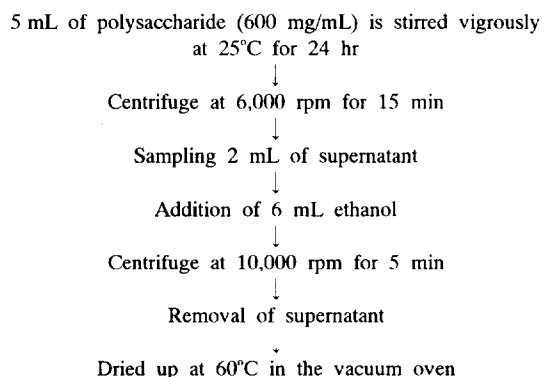


Fig. 1. Procedure for the determination of water solubilities of unoxidized and oxidized polysaccharides.

교반시켰다. 과포화된 다당류 및 산화물질 분산액을 6,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상등액 2 mL를 취하여 6 mL ethanol을 첨가하였다. 10,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 침전물을 회수하고 60°C 진공오븐에서 건조, 칭량한 후 2 mL의 물속에 용해된 무게를 측정하여 물에 대한 용해도를 계산하였다.

겔 형성능의 측정

3% (w/v)의 농도로 용해된 산화물질 수용액 1 mL를 4% (w/v)의 CaCl<sub>2</sub>용액 100 mL내에 방울방울 떨어뜨리면서 겔 형성 여부를 조사하였다. 이때 형성되는 겔의 응결을 방지하기 위하여 CaCl<sub>2</sub>용액을 800 rpm의 속도로 교반시키면서 산화물질을 녹인 용액을 천천히 떨어뜨렸다.

결과 및 고찰

산화반응을 위한 TEMPO농도의 최적화

각종 전분 및 셀룰로오스내의 1차 alcohol을 특이적으로 산화시키는 데 가장 중요한 촉매로서 첨가되는 TEMPO의 함량이 산화율에 미치는 영향을 검토하기 위하여 TEMPO 농도를 변화시키면서 산화반응을 수행하여 Fig. 2의 결과를 얻을 수 있었는데, 10 mmol/mol primary alcohol의 TEMPO 농도까지는 산화율이 효율적으로 증가함을 알 수 있었다. 그러나 10 mmol/

mol primary alcohol 이상의 농도에서는 산화율의 증가폭이 점차 감소하여 TEMPO의 첨가가 비효율적인 것으로 나타났다. 따라서, TEMPO의 최적 첨가량을 10 mmol/mol primary alcohol로 결정하여 이후의 실험에 적용하였으며 이러한 TEMPO 최적농도는 De Nooy 등의 보고<sup>(17)</sup>와 일치하였다.

다당류산화를 위한 NaBr 농도의 최적화

각종 전분류의 산화를 위하여 NaBr 및 NaClO를 동시에 사용하는 방법에 대하여는 Biliaderis 등이 이미 보고하였다<sup>(21)</sup>. 이때 NaClO의 경우, 과다한 농도로 첨가하면 전분류를 구성하고 있는 기본 단위 구성당의 환상구조 및 glycosidic linkage가 파괴되어 전분류의 특성마저 소실되는 결정적인 단점이 있다. 따라서, NaClO는 De Nooy 등의 보고<sup>(17)</sup>에서 알려진 사용한계량인 2.20 mmol/mol primary alcohol의 농도로 첨가하였으며, 이러한 NaClO 함량에 대응하는 NaBr의 최적 농도를 결정하였다.

NaBr의 첨가량을 변화시키면서 각종 다당류내의 1차 alcohol을 특이적으로 산화시킨 결과 Fig. 3을 완성하였는 바, 0.49 mol/mol primary alcohol의 농도가 지는 산화율이 효율적으로 증가하였지만 그 이상의 농도에서는 산화율의 증가가 저하되는 경향을 나타내었다. 따라서, NaBr의 최적 첨가량을 0.49 mol/mol primary alcohol로 결정하였다.

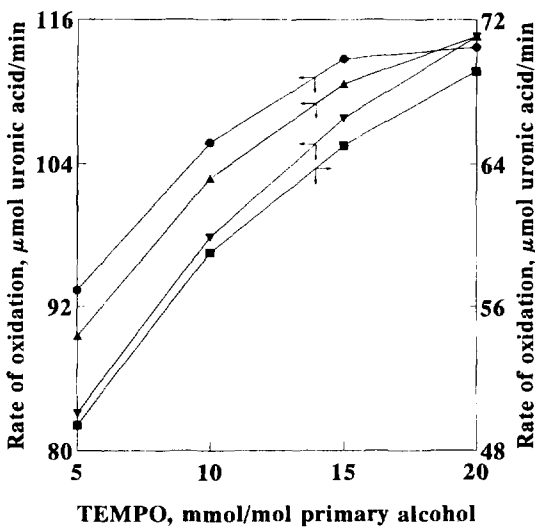


Fig. 2. Effect of TEMPO concentration on the rate of oxidation. ●—●: Corn starch, ▼—▼: rice starch, ▲—▲: sweet potato starch, ■—■: cellulose. Rate of oxidation means the reaction velocity at 20 min in 50 mL of reactant.

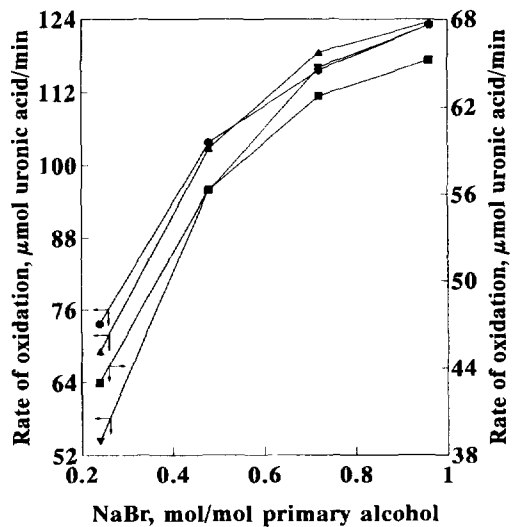


Fig. 3. Effect of NaBr concentration on the rate of oxidation. ●—●: Corn starch, ▼—▼: rice starch, ▲—▲: sweet potato starch, ■—■: cellulose. Rate of oxidation means the reaction velocity at 20 min in 50 mL of reactant.

산화반응을 위한 pH의 최적화

반응액의 pH를 변화시키면서 다당류를 산화시켜 Fig. 4의 결과를 얻었는데, 산화반응을 위한 최적의 pH는 10.5~11.0인 것으로 판명되었다.

한편, 다당류내의 1차 alcohol이 특이적으로 산화되는 기작에 대하여 전보<sup>(20)</sup>에서 이미 제시한 바 있는데, 산화과정을 3가지 반응단계로 표현하면 Fig. 5와 같다.

다당류내의 1차 alcohol이 특이적으로 산화되어 carboxylic acid로 되는 핵심 단계를 [1]번에서 나타내고 있는데, 이 단계를 Fig. 6에서 상세하게 표현하였는데, 반응액의 pH가 9.0 이상의 높은 알칼리 상태를 유지하는 조건이 필요하다고 Besemer 등<sup>(22,23)</sup>이 보고하였다.

한편, [3]번 단계인 hypochlorite가 hypobromite로 전환되는 반응은 pH가 11.0 이상되는 극도의 알칼리 상

태하에서 급격히 저해된다고 De Nooy 등<sup>(16)</sup>이 보고한 바 있다.

따라서, 본 실험에서 확립한 최적 pH 범위(10.5~11.0)는 이상의 보고들에 의하여 논증되는 것으로 생각하였다.

TEMPO/hypobromite 촉매에 의한 다당류내 1차 alcohol의 특이적 산화반응

최적 pH 및 촉매조건하에서 각종 다당류들을 산화시켜 Fig. 7의 결과를 얻었는데, 반응시간에 따른 산화율은 sigmoid 형태의 곡선을 그렸으며 이러한 곡선은 TEMPO/hypohalite를 촉매로 하여 산화시켰을 때의 결과<sup>(15)</sup>와도 일치함을 알 수 있었다.

한편, 산화반응에 의하여 생산되는 각종 산화물의 구득 수율은 90% 이상을 나타내었는데, TEMPO/hypo-

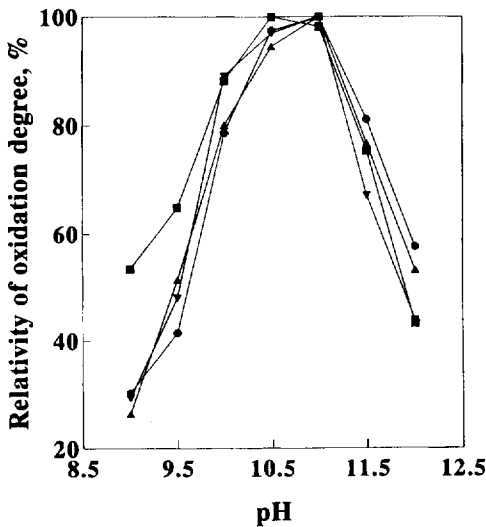


Fig. 4. Effect of pH on the degree of oxidation. ●—●: Corn starch, ▼—▼: rice starch, ▲—▲: sweet potato starch, ■—■: cellulose.

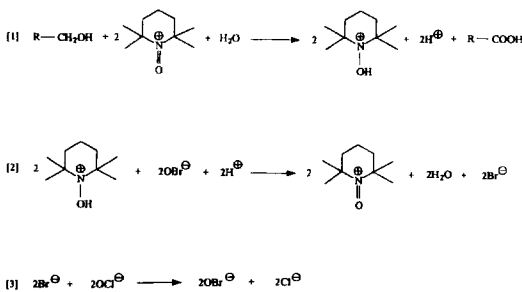


Fig. 5. Proposed mechanism for the TEMPO/hypobromite mediated oxidation of primary alcohol group in the polysaccharide.

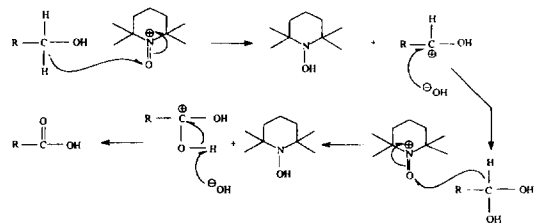


Fig. 6. Representative diagram for the main step of the TEMPO/hypobromite mediated oxidation of primary alcohol group in the polysaccharide.

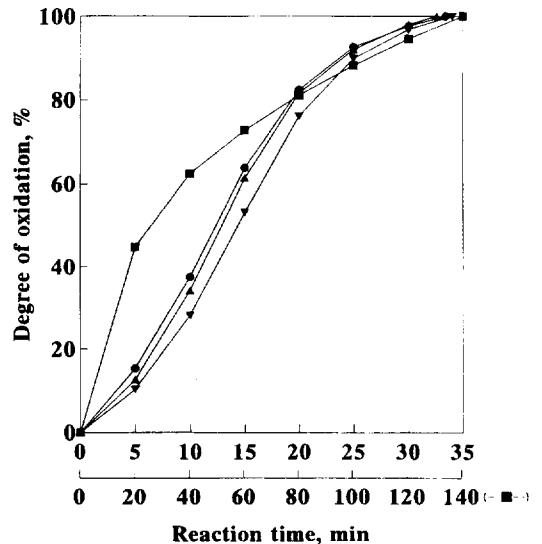


Fig. 7. Time course of TEMPO/hypobromite mediated oxidation reaction under optimum conditions. ●—●: Corn starch, ▼—▼: rice starch, ▲—▲: sweet potato starch, ■—■: cellulose.

**Table 1. TEMPO/hypobromite mediated oxidation of different polysaccharides**

Polysaccharide	Temperature (°C)	Time <sup>1)</sup> (min)	Yield <sup>2)</sup> (%)
Corn starch	25	30	98.94
Rice starch	25	26	96.31
Sweet potato starch	25	31	96.19
Cellulose	25	172	90.89

<sup>1)</sup>The time necessary for the consumption of 1 mmol OH<sup>-</sup>/mmol of primary alcohol.

**Table 2. Water solubilities of unoxidized and oxidized polysaccharides**

Polysaccharide	Solubility of unoxidized polysaccharide (% w/v)	Solubility of oxidized polysaccharide (% w/v)
Corn starch	0.02	46.18
Rice starch	0.06	44.98
Sweet potato starch	0.02	46.10
Cellulose	0.06	8.42

bromite 촉매에 의한 다당류내 1차 alcohol group의 산화가 성공적으로 수행된 것으로 판단하였다(Table 1).

또한, 옥수수전분, 쌀전분 및 고구마전분의 경우, 30~35분 이내에 산화반응이 종결되었으며 셀룰로오스의 경우는 140분이 경과되어 산화반응이 완성됨을 알 수 있었는데(Table 1), 이러한 결과는 셀룰로오스의 기하학적 구조가 다른 전분들에 비하여 더욱 치밀한 원인에 기인하는 것으로 생각되었다.

#### 산화물질의 특성 변화-물에 대한 용해도

TEMPO/hypobromite 촉매에 의하여 특이적으로 산화된 물질의 물에 대한 용해도를 원료물질의 경우와 비교한 결과 Table 2를 완성 하였는 바, 산화된 전분류의 경우는 물에 대한 용해도가 약 45% (w/v)까지 증가하였으며, 물에 전혀 녹지 않는 셀룰로오스의 경우에도 산화에 의하여 8.42% (w/v)까지 증가하였다.

이상의 물에 대한 용해도 증가 경향은 1차 alcohol이 carboxylic acid로 전환되어 여러 가지 다당류들이 물에 쉽게 해리될 수 있는 특성을 지니게 되는 현상에 기인하는 것으로 추측된다.

#### 산화물질의 특성 변화-겔 형성능

"재료 및 방법"에서 상술한 방법에 따라 산화물질 및 원료 다당류 물질들의 겔 형성능을 비교하여 Table 3의 결과를 얻었는 바, Ca<sup>2+</sup>이온과의 겔 형성능력이 없었던 다당류들이 산화반응에 의하여 겔 형성

**Table 3. Gel formation with Ca<sup>2+</sup> for the unoxidized and oxidized polysaccharides**

Polysaccharide	Gel forming ability (Yes, No)	
	Unoxidized	Oxidized
Corn starch	No	Yes
Rice starch	No	Yes
Sweet potato starch	No	Yes
Cellulose	No	Yes

능이 생성되었음을 알 수 있었으며, 이러한 결과로부터 TEMPO/hypobromite 촉매에 의한 산화반응은 다당류내의 1차 alcohol을 carboxylic acid로 전환시키며, 다당류를 구성하고 있는 기본당의 환상구조 및 다당류의 골격구조인 polymer 상태(glycosidic linkage)를 안정하게 유지할 수 있는 것으로 생각되었다.

따라서, 본 실험에 의하여 제조된 산화물질이 각종 gum, gel 및 film의 새로운 소재로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 요 약

구조와 용해도가 다른 4종류의 다당류(옥수수전분, 쌀전분, 고구마전분 및 셀룰로오스)내의 1차 alcohol group을 25°C에서 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidine oxoammonium (TEMPO)을 사용하여 carboxyl group으로 산화, 전환하였다. TEMPO/bromite 촉매를 이용한 산화반응계에서 최적 pH, TEMPO 함량 및 NaBr 함량은 각각 10.5~11.0, 10 mmol/mol of primary alcohol, 0.49 mol/mol primary alcohol이었으며, 반응 최적조건하에서의 산화율은 4종류의 다당류 모두 90% 이상이였다. 산화반응은 다당류의 물에 대한 용해도를 매우 증가시켰는 바, 물에 불용성인 셀룰로오스의 경우 산화에 의하여 8.42% (w/v)로 증가되었으며, 옥수수전분, 쌀전분 및 고구마전분과 같이 물에 거의 불용성인(0.10% (w/v) 이하) 다당류들도 약 45% (w/v) 수준으로 물에 대한 용해도가 증가하였다. 또한 본 실험에서의 산화공정에 의하여 제조된 산화물질은 Ca<sup>2+</sup>이온과의 겔 형성능을 갖게됨을 확인하였는 바, 각종 gum, gel 및 film의 새로운 소재로 활용될 수 있을 것으로 기대되었다.

## 감사의 글

본 연구는 1996년도 서울산업대학교 교내연구비 지원에 의하여 수행되었으므로 이에 감사하는 바이다.

## 문헌

1. Johnson, J.C.: *Industrial Starch Technology Recent Development, Chemical Technology Review*, Noyes Data Corporation, New Jersey, 142, p.1 (1979)
2. 中村, 鈴木: 澱粉科學 *handbook*, 朝倉書店, 東京, p.413 (1977)
3. Rutenber, M.W.: Starch and its modifications. In *Handbook of Water-soluble Gums and Resins*, Davidson, R. L. (Ed.), Kingsport Press, New York, p.22 (1982)
4. Stering, C.: Textural qualities and molecular structure of starch products. *J. Texture Stud.*, **9**, 225 (1978)
5. Waldt, L.M. and Kehoe, D.: Starch chemistry for the food technologist. *Food Technol.*, **13**, 1 (1959)
6. Galliard, T.: Starch availability and utilization. In *Starch Properties and Potential*, Galliard, T. (Ed.), John Wiley & Sons, New York, p.1 (1987)
7. Radley, J.A.: Starch production technology. In *Starch Technology*, Applied Science Pub. Ltd., Vol. 1, p.449 (1982)
8. Greenwood, C.T.: Starch. In *Advance in Cereal Science and Technology*, Pomeranz, P. (ed.), AACC, Inc., Vol. 1, p.119 (1976)
9. Smith, P.S.: Starch derivatives and their use in foods. In *Food Carbohydrates*, Lineback, D.R. (Ed.), AVI Pub. Company, Inc., Chicago, p.237 (1982)
10. Rutenberg, M.W. and Solarek, D.: Starch derivatives: production and uses. In *Starch Chemistry and Technology*, 2nd ed., Whistler, R.L. and Bemillre, J.N. (Ed.), Academic Press, New York, p.312 (1984)
11. Radley, J.A.: The food industry. In *Starch Technology*. Applied Science Pub. Ltd., London, Vol. 3, p.51 (1982)
12. 中村, 鈴木: 澱粉科學實驗法, 朝倉書店, 東京, p.239 (1979)
13. Lii, C.Y. and Chang, S.M.: The properties of some modified starches and their applications. In *Role of Chemistry on Quality of Processed Food*, Fennema, O.R., Chang, W.H. and Lii, C.Y. (Ed.) Food & Nutrition Press, Inc., Westport, Conn., p.314 (1986)
14. Miyazawa, T., Shiithashi, E.S., and Okawara, M.: Substituted N,N-dialkylanilines: Relative ionization energies and proton affinities through determination of ion-molecule reaction equilibrium. *J. Org. Chem.*, **50**, 332 (1985)
15. Anelli, P.L., Biffi, C., Montanari, F., and Quici, S.: Fast and selective oxidation of primary alcohols to aldehydes or to carboxylic acids and of secondary alcohols to ketones mediated by oxoammonium salts under two-phase conditions. *J. Org. Chem.*, **52**, 2559 (1987)
16. De Nooy, A.E.J., Besemer, A.C., and Van Bekkum, H.: Highly selective nitroxyl radical-mediated oxidation of primary alcohol groups in water-soluble glucans. *Carbohydr. Res.*, **269**, 89 (1995)
17. De Nooy, A.E.J., Besemer, A.C., and Van Bekkum, H.: Highly selective TEMPO mediated oxidation of primary alcohol groups in polysaccharides. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **113**, 165 (1994)
18. Knutson, C.A. and Jeanes, A.: A new modification of the carbazole analysis: Application to heteropolysaccharides. *Anal. Biochem.*, **24**, 470 (1968)
19. Nelly, B. and Gustav, A.: New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.*, **54**, 484 (1973)
20. Chang, P.S. and Robyt, J.F.: Oxidation of primary alcohol groups of naturally occurring polysaccharides with 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidine oxoammonium ion. *J. Carbohydr. Chem.*, **15**, 819 (1996)
21. Biliaderis, C.G., Grant, D.R., and Vose, J.R.: Structural characterization of legume starches. II. Studies on acid-treated starches. *Cereal Chem.*, **58**, 502 (1981)
22. Besemer, A.C. and Van Bekler, H.: Dicarboxy-starch by sodium hypochlorite/bromide oxidation and its calcium binding properties. *Starch*, **46**, 95 (1994)
23. Besemer, A.C. and Van Bekler, H.: The catalytic effect of bromide in the hypochlorite oxidation of linear dextrans and inulin. *Starch*, **46**, 101 (1994)

---

(1997년 2월 27일 접수)