

보리 전분의 대·소입자에 관한 연구

강미영

경북대학교 사범대학 가정교육과

Some Physicochemical Properties of Large and Small Starch Granules of Barley

Mi-Young Kang

Department of Home Economics Kyungpook National University, Taegu

Abstract

Large and small starch granules were isolated and characterized from kernels of Hiproly barley. Average size of large granules were 28-30 μ m and that of small granules were 6 μ m. The small granules consist of 95% of total starch granules. Large granules contained more amylose than small granules. Distribution of isoamylase-debranched starch components, X-ray diffraction patterns, gelatinization characteristics by differential scanning calorimetry, and starch-granule susceptibility to acid were investigated. Large granules contained more long B chains of amylopectin and had the lower ratios of Fr. III to Fr. II, which represent one of the structural characteristics of amylopectin, than those of small granules. Small granules had higher conclusion temperature and smaller heat of gelatinization than those of large granules by D.S.C.. Both granules had A-type pattern of X-ray diffractograms, but hydrolysis of granules with acid showed different A-type patterns between large and small granules.

Key words: Hiproly barley, large starch granule, small starch granule

서 론

맥류(보리, 밀, 호밀, 연맥 등)의 종자는 내배유 세포에 전분 입자가 형성될 때 대입자와 소입자의 2개의 군으로 생성 존재한다⁽¹⁾. 分化과정에서 이들 입자의 차이는, 배유의 전분 입자가 分化와 더불어서 증대하여 대입자를 형성하고, 受粉 후 18일 전후로 하여 새로 이 소입자가 다수 생성된다는 점이다⁽²⁾. 그리고 이들 입자의 형성시, 소입자는 대입자와는 다른 유전적 지배를 받는다는 연구 보고도 있다⁽³⁾. 보리 전분의 품종간의 차이와⁽⁴⁾, 受粉 후 전분 입자의 형성에 있어서의 대입자 소입자의 차이에 관해 검토한 결과⁽⁵⁾, non-waxy 보리 품종에 따른 보리 전분의 이화학적 특성은 대입자와 소입자의 비율의 차에 의한 것일 가능성이 사료되었다. 이에 본 연구에서는 보리 전분의 대입자와 소입자의 차이에 관해서, 전자현미경(SEM)에 의한 전분 입자의 관찰 및 粒度 분포에 의한 전분 입자의 크기, 전분을 iso-amylase로 α -1,6 glu-

coside 결합을 가수분해 시킨후 gel 여과를 행하여 아밀로오스 함량의 측정과 아밀로펙틴의 사슬길이 분포에 관한 검토와, DSC(Differential Scanning Calorimetry)를 이용하여 전분 입자의 호화 양상과 아울러 산에 의한 전분 입자의 분해성, 그리고 X선 회절도에 의한 전분 입자의 결정성에 관해서 검토하였다.

재료 및 방법

재료

일본 농림수산성 시코쿠 농사시험장에서 재배한 고단백, high lysine 함량의 품종인 Hiproly의 곡립을 Watson⁽⁶⁾과 Schoch⁽⁷⁾의 방법에 의하여 澱粉乳液을 만든다. 이 전분 유액을 Meredith⁽⁸⁾의 방법 등을 참고로 하여 전분 입자의 침강의 차에 의해서 대입자와 소입자를 분리하여 전분 시료로 하였다.

전자현미경에 의한 대입자 소입자의 관찰

시료의 조제 및 관찰의 조건은 Fuwa 등⁽⁹⁾의 방법에 의하여 행하였고,日立 HHS 2R형 전자현미경에 의하여

Corresponding author: Mi-Young Kang, Department of Home Economics, Kyungpook National University, Taegu 702-013

관찰하여, 배율 500배로 찍은 사진을 2배로 확대하여 대입자, 소입자의 수를 세었다.

아밀로오스 함량과 아밀로펙틴의 사슬길이 분포

전분의 아밀로오스 함량과 아밀로펙틴의 함량 및 그 사슬길이 분포는 gel 여과에 의한 분획법으로 검토하였다. 이 방법은 전분을 호화시킨 후 *Pseudomonas*의 iso-amylase로 α -1, 6 glucoside 결합을 가수분해 시킨 후, Sephadex G-75로 gel 여과를 행하여 아밀로오스 함량을 정량함과 더불어, α -1, 4 glucoside 결합의 사슬길이 분포를 명확히 할 수 있는 방법이다^(10,11). 그리고, 이 방법에 의해서 분획된 각 획분의 I_2 흡수 곡선의 λ_{max} 에 의해서 Fr. I, II, III, 중간 구분으로 구분하였다. 각 분획의 total sugar 함량은 phenol-H₂SO₄ 법⁽¹²⁾으로 측정하였고, 환원 말단기수는 Park-Johnson 법⁽¹²⁾에 의해서 측정하였다. 각 분획의 중합도는 total sugar의 함량과 환원 말단기수의 비로부터 구하였다.

Fr. I은 λ_{max} 가 620nm 이상이며 void volume으로 용출하므로 아밀로오스에 해당하는 분획이고(중합도 200 이상), Fr. II와 Fr. III는 아밀로펙틴의 사슬에 해당한다.

전분 입자의 호화양상

호화열의 정량적 분석법으로서, DSC 측정 장치를 이용하여 측정하였다. 전분 약 4-5mg을 두껍달린 액체용 알루미늄 밀폐 용기에 넣어 건조 전분 : 물 = 1 : 2(W/V)이 되도록 증류수를 넣는다. 理學電氣會社의 저온 DSC (Cat No. 8050)을 이용하여 승온속도(5°C/min), chart speed(10mm/min), 검출감도(± 1 mc/sec)로 행하였다.

전분 입자의 크기 측정

島津 원심 침강식분포 측정장치 SA-CP II형을 이용하여 전분 입자의 밀도 1.5, 분산용액의 밀도 0.998, 분산 매의 점성계수 1.009, 침강거리 3cm 10,000 x g의 조건에서 측정하였다.

Nägeli 형 아밀로텍스트린의 조제

전분입 200mg에 15% H₂SO₄, 16ml를 첨가하여 37°C에서 3일간 산분해를 행한 후 50% 정도의 산분해가 진행된 Nägeli 형 아밀로텍스트린을 얻었다.

X선 회절도

Hizukuri 등⁽¹³⁾의 방법을 이용하여 충분히 수분을 함유시킨 전분 입자를 日本電子製, X선 회절장치 JDX-7 E형을 이용하여 X선 회절도를 얻었다.

결과 및 고찰

전분 입자의 크기

Fig. 1은 Hiproly 곡립 절단면의 SEM 사진으로써 보리 배유 부분의 사진이다. 사진에서 보이는 바와 같이, 보리의 전분 입자는 대입자와 소입자가 혼합된 형태로 존재한다. Non-waxy 품종 보리의 경우, 보리의 품종에 따라 대입자의 평균 직경은 high protein type(≈28 μ m) normal type(≈15 μ m) low protein type(≈13 μ m)의 순서이며, 소입자의 평균 직경은 품종에 관계없이 약 6 μ m이었다⁽⁴⁾. 본 실험에 사용하는 high protein, high lysine type인 Hiproly 전분의 대입자와 소입자의 평균 직경은 각각 30 μ m와 6 μ m이었다. 보리 품종별로 SEM 사진을 관찰한 결과, Hiproly의 경우에는 특히 소입자가 대입자 보다 그 수적인 면에서 많이 존재한다는 점과, 소입자가 집중적으로 국재하는 부분이 관찰되었다. 이에 Hiproly 곡립의 각각 다른 부분의 사진 10장을 확대하여 사진속의 대입자와 소입자의 수를 세었다. 소입자의 수는 총 전분 입자의 수의 97%에 달하였다. 같은 방법으로 보리 품종에 따른 소입자의 비율을 검토한 결과, 소입자의 총 전분 입자에 대한 비율이 97%-80%이었다⁽⁴⁾. 이러한 결과로부터 보리 품종별 전분의 이화학적 성질은 대입자와 소입자의 존재 비의 차에 의해 결정되는게 아닌가 라고 생각되어진다.

아밀로오스 함량과 아밀로펙틴의 사슬길이 분포

Fig. 2는 Hiproly 전분으로부터 분리한 대입자와 소입자전분을 iso-amylase로 전분의 α -1, 6glucoside 결합을 가수분해 시킨후 Sephadex G-75 크로마토그래피를 행하였을 때의 유출 패턴이고, Table 1은 Fig. 2의 유출 패턴을 수치화 하여 정리한 것이다. Fig. 1은 아밀로오스 함량에 해당하며, 대입자는 29.3%이고 소입자는 24.8%로써 대입자가 소입자 보다 아밀로오스 함량이 높다. Fr. II는 아밀로펙틴의 분자구조(Meyer의 model)에서 이른바 B 사슬에 해당되는 분획이라 여겨지는 분획인데, 대입자의 경우는 15%이고 소입자는 14%로써 거의 같은 치를 나타낸다. 그러나 사슬의 평균 중합도는, 대입자가 38이고 소입자는 33이었다. 이는 사슬의 길이

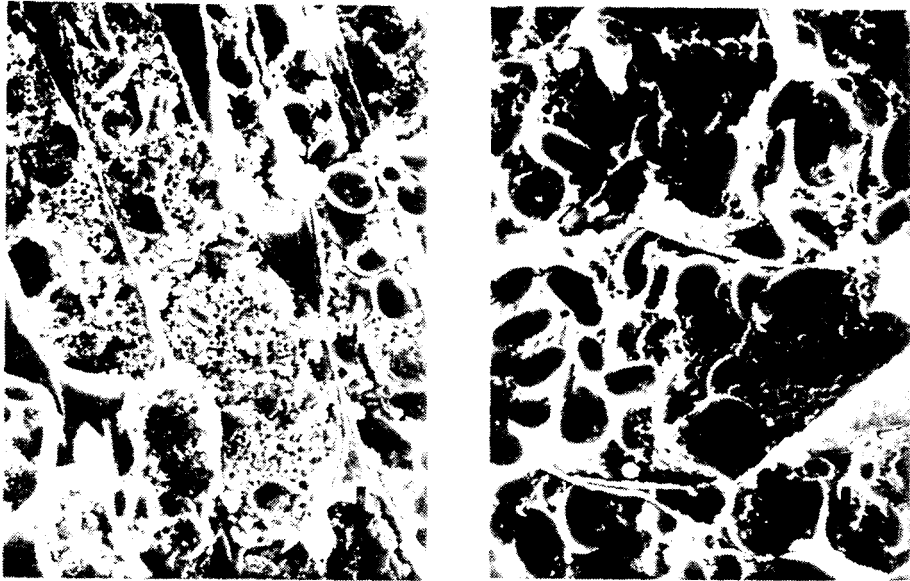


Fig. 1. Scanning electron micrographs of barley(Hipoly) starch granules.

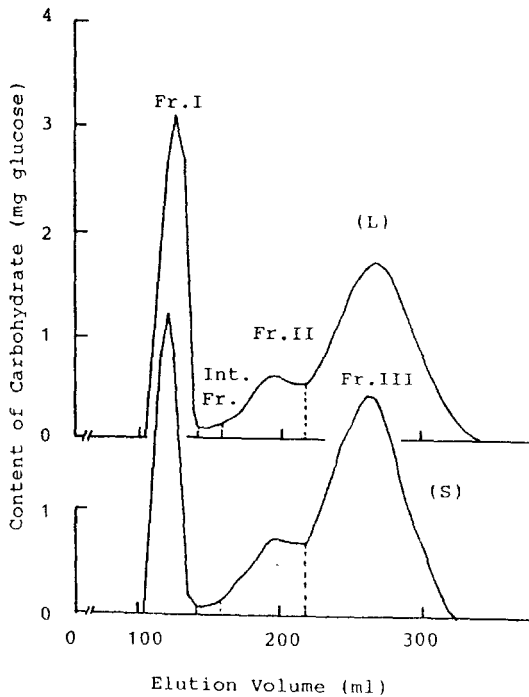


Fig. 2. Elution patterns on Sephadex G-75 column of large(L) and small(S) starch granules from Hipoly barley starches debranched by isoamylase.

Table 1. Distribution of *Pseudomonas*-isoamylase -debranched components of large(L) and small(S) starch granules of Hipoly

	Distribution of starch components (%)				
	Fr. I	Int. Fr.	Fr. II	Fr. III	Fr. III/Fr. II
L	29.3	1.4	15.3	54.0	3.6
S	24.8	1.8	13.6	49.9	4.4

Each fraction(fr.) was divided according to λ_{max} of iodine-carbohydrate complexes as follows: Fr. I, $\lambda_{max} \geq 620nm$, Intermediate Fr., $620nm > \lambda_{max} \geq 600nm$, Fr. II, $600nm > \lambda_{max} \geq 540nm$, and Fr. III, $540nm \geq \lambda_{max}$

는 대입자가 소입자 보다 길다는 것을 나타낸다 할 수 있겠다. Fr. III는 이른바 A 사슬에 해당하는데 대입자와 소입자의 함량은 각각 54%와 60%이며 평균 중합도는 각각 15와 12 이었다.

아밀로펙틴의 A 사슬과 B 사슬의 분포는 Table 1의 Fr. III/Fr. II의 수치로써 유추할 수 있는데 대입자의 경우는 3.6이고 소입자의 경우는 4.4이다. 이는 전분 구성 성분중에 아밀로펙틴의 긴 사슬의 짧은 사슬에 대한 중량비가 대입자 보다 소입자가 크다는 결과이며, 이는 대입자와 소입자의 아밀로펙틴의 미세 구조상에 차이가 있다는 것을 의미하는 결과이다.

전분 입자의 호화 특징

전분이 호화될 때의 흡열반응을 DSC(differential scanning calorimetry)를 이용하여 측정하고, 전분의 호화과정을 이 DSC의 diagram의 해석으로 검토하였다⁽¹⁴⁾.

각종 전분의 호화에 따른 흡열량, 즉 호화열의 정량적인 분석법으로써 DSC 측정에 의한 peak 면적은 직접적으로 호화열(ΔH)와 비례하여 나타난다. 그리고 흡열곡선의 변곡점으로부터 호화 개시 온도 및 종료 온도를 알 수가 있다. ΔH 가 높으면 전분 입자가 호화되는데 저항을 가지며, 구조를 무정형으로 하는데에 보다 많은 에너지를 필요로 한다고 생각되어지고 있다. 그러므로 peak 면적이 크고, 즉 ΔH 의 값이 크다는 것은 입자의 결정성이 크다는 것을 의미한다.

Table 2에 나타내는 바와 같이 Hiproly 전분의 대입자와 소입자의 호화 특징은, 호화 개시 온도에는 차이가 없으나 호화 종료 온도는 소입자가 조금 높고, 호화열은 대입자가 소입자 보다 약 2배 정도 높다. 이는 대입자가 소입자 보다 결정성이 높다는 것을 의미한다.

Table 2. Heat of gelatinization and endotherm characteristics of large(L) and small(S) starch granules of Hiproly

starch granules	To (°C)	Tp (°C)	Tr (°C)	ΔHG (cal/g dry starch)
(L)	59	63	67	2.3
(S)	59	64	71	1.2

T₀: onset temperature, T_p: peak temperature, T_r: recovery temperature, T_G: heat of gelatinization

산분해성의 차이

온화한 산처리에 의해서 전분 입자의 비결정성 부분이 보다 빨리 분해 가용화 되어 소실되고, 결정성 부분은 글루코오스 사슬이 일정하게 배열되어 있으므로 내산성이 있어서 남는다. 이 내산성 부분(Nägeli형 아미로렉스트린)이 전분 입자의 결정성 부분에 해당한다는 사실에 의하여 French 등⁽¹⁵⁾은 아밀로펙틴의 망상구조를 제시하였다. 한편, Robin 등⁽¹⁶⁾은 고무마 전분을 염산으로 처리하여 얻은 lintner 가용성 전분의 사슬길이 분포를 검토하여 아밀로펙틴의 방상 모델을 제안하였다. 이렇듯 Nägeli형 아미로렉스트린은 전분의 구조를 연구하는 하나의 수단으로써 이용된다. 이에 본 연구에서는 전분 입자에 15% H₂SO₄로 37°C에서 3일간 산처리 하여, 원심

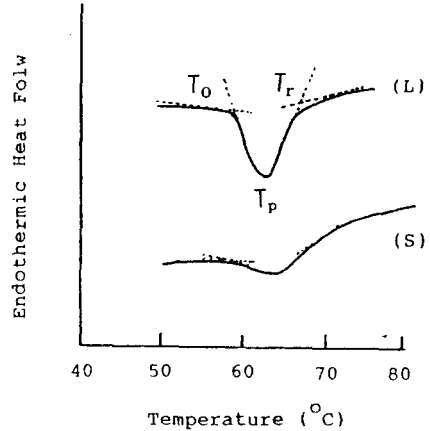


Fig. 3. DSC diagrams of large(L) and small(S) starch granules by differential scanning calorimetry.

분리를 행한 후 그 상등액에 존재하는 유리된 당 함량으로부터 산분해율을 구하였다. 그리고, 이 논문에서는 제시하고 있지 않으나, 실험 도중 산분해의 진행 결과를 확인하기 위한 산분해 잔사의 광학현미경 관찰에 의하면 50% 정도 산분해가 진행된 잔사 부분은 광학현미경 관찰의 결과 대입자의 경우는 전분 입자중에 동심원이 뚜렷이 관찰되는데, 소입자에서는 동심원이 관찰되지 않았다. 이는, 대입자에는 내산성의 부분인 결정성 부분이 동심원의 형태로 존재하는데 비해서 소입자의 경우는 결정성의 부분이 동심원의 형태는 아닌, 어느 정도 무작위적으로 존재하리라는 가능성이 생각되어진다 하겠다. 이에 내산성 부분으로 남아 있는 아밀로펙틴 부분의 사슬길이 분포를 측정한 결과, Table 3과 같이 대입자의 경우 Fr. II의 양은 7.3%이고 대부분이 Fr. III로써 거의가 짧은 사슬만이 남아 있다. 소입자의 경우는 Fr. II의 양이 23.6%로써 대입자 보다는 긴 사슬이 많이 남아 있다는 것을 알 수 있다. 이는 전분 입자의 아밀로펙틴 방상 모델에서, 내산성 부분인 결정성 부분에서의 구조적인 차이가

Table 3. Changes in properties of Pseudomonas- α -amylase-debranched components of residual large(L) and small(S) starch granules of braley following acid hydrolysis(15% H₂SO₄, 37°C, 50% hydrolysis)

	Distribution of starch components (%)				
	Fr.I	Int.Fr.	Fr.II	Fr.III	Fr.III/Fr.II
(L)	0	0	7.3	92.7	12.7
(S)	0	0	23.6	76.3	3.2

대입자와 소입자 사이에 존재한다고 생각할 수 있게 하는 결과라 할 수 있겠다.

산분해 잔사의 X선 회절도

전분 입자는 전분 분자가 무질서하게 집합된 것일 뿐 아니라 부분적으로 미소한 결정구조가 발달하여, 미세결정상의 구조를 가지며 X선 분말법으로 명료한 회절도를 그린다. 이러한 X선 회절도에 의해서 전분의 식별이 가능하고, 전분 입자의 물리적, 화학적 처리에 의한 구조 변화 등의 추적과, 전분입을 형성하는 미세결정의 크기, 결정화도 등의 측정이 가능하다. X선 회절도로부터 전분입을 A형, B형, C형으로 구분하며⁽¹⁰⁾, A형이 B형과 다른 점은 1의 peak가 없고, 4의 peak가 4a, 4b로 나뉘어 있으며, 6의 peak가 하나인 점이다.

Fig. 4에서 나타내는 바와 같이 보리 전분은 대입자 소입자 양쪽 다 지상 전분인 A형을 나타내며, 산분해의 결과 대입자는 회절도형이 원래보다 날카롭게 변한데 비해서 소입자는 산분해의 결과 회절도형이 날카롭게 변화하지 않았으며 4a, 4b의 peak 중 4a peak가 없어지고 4b peak만이 남아 있는 것을 알 수 있다. 즉 대입자와 소입자간의 회절도형의 변화가 크게 다름을 알 수 있다. 이는 대입자와 소입자의 아밀로펙틴의 미세구조 간에는 큰 차이가 있음을 나타내는 것이라 할 수 있겠다.

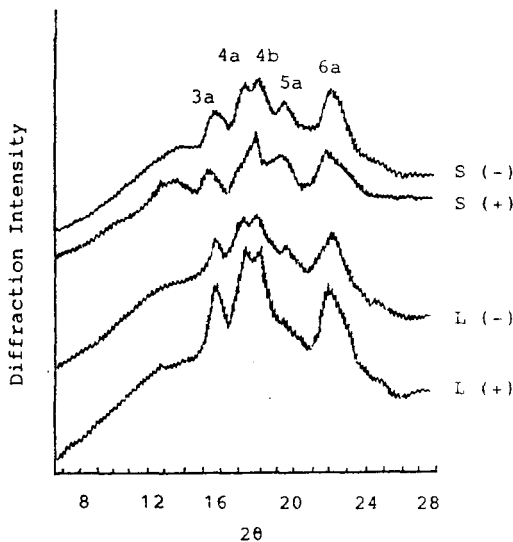


Fig. 4. X-ray diffraction diagrams of large(L) and small(S) starch granules of Hiproly with(+) or without(-) acid treatment(15% H_2SO_4 , 37°C).

요 약

보리 전분입을 구성하는 대입자와 소입자의 물리, 화학적 차이에 관해서 비교하였다. 대입자의 직경은 약 28-30 μm 이고, 소입자는 약 6 μm 이었으며, Hiproly 전분 입자의 수에 대한 소입자의 수는 95% 정도 이었다. 아밀로오스의 함량은 대입자가 소입자 보다 높게 나타났다. 아밀로펙틴의 분자 형태에 관한 대입자 소입자 전분의 고찰로써, iso-amylase 처리 전분의 구성성분의 차이, X선 회절도의 차이, 호화특성, 산분해성 등의 검토에 의하면, 아밀로펙틴의 미세결정 구조인 망상구조상에 있어서 대입자와 소입자가 서로 다른 구조를 하고 있으리라 예측된다.

문 헌

- Jenkins, L.D., Loney, D.P. and Meridith, P. : Periodicity of growth and starch deposition in the developing wheat grain. *Cereal chem.*, 51, 718(1974)
- Banks, W. and Greenweeo, C.T. : Molecular properties of the starch components and their relation to the structure of the granule. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 210, 17(1973)
- Goering, K.J. and Dehass, B. : A comparison of the properties of large- and small-granule starch isolated from several isogenic lines of barley. *Cereal chem.*, 51, 573(1974)
- 강미영 : 보리 전분의 구조와 성질, 일본 오오사카 시립대학교 석사학위 논문(1983)
- Kang, M.Y., Sakamoto, S. and Fuwa, H. : Developmental changes in the amylose content of endosperm starch of barley during the grain filling period after anthesis. *Agric. Biol. Chem.*, 49, 3463(1985)
- Watson, S.A. : Determination of starch gelatinization temperature. In *Methods in carbohydrate chemistry*, ed. by R. Whistler. Vol. 4, p. 240, Academic press N.Y.,(1964)
- Schoch, T.J. and Maywald, E.C. : Chemistry and technology. In *Starch*, ed. by R. Whistler and E.F. Paschall. Vol. 2, p.639, Academic press N.Y.(1967)
- Christchurch, P.M. : Large and small starch granules in wheat-Are they really different? *Stärke*, 33, 40(1981)

9. Fuwa, H., Glover, D.V., Sugimoto, Y. and tanaka, M. : Comparative susceptability to amylases of starch granules of several single endosperm mutants representative in four inbred lines of maize. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 24, 437(1978)
 10. Akai, H., Yokobayashi A., Misaki H., and Harada T. : Structural analysis of amylopectin using Pseudomonas isoamylase. *Biochem. Biophys. Acta*, 252, 427(1971)
 11. Akai, H., Yokobayashi A., Misaki H., and Harada T. : Completer hydrolysis of branching linkages in glycogen by Pseudomonas, Distribution of linear Chains. *Biochem. Biophys. Acta*, 237, 422(1971)
 12. 福井作蔵 : 還元糖の定量法, 東京大學出版會(1973)
 13. 檜作進 : 澱粉粒の X 線回折, 澱粉科學ハンドブック 二國二郎 監修, 朝倉書店(1977)
 14. Wootton M. and Bamunuarachchi A. : Application of differential scanning calorimetry to starch gelation. *Stärke*, 31, 201(1979)
 15. Kainuma, K. and french, D. : Nāgelidextrin and its relationship to starch granule structure. *Bio-polymer*, 11, 2241(1972)
 16. Robin, J.P., Mercier, C., Charbonniere, R. and Guilbots, A. : Lintnerized starches, gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. *Cereal chem.*, 51, 389(1974)
- (1988년 6월 18일 접수)