

쌀가루 냉수추출 α -D-glucan의 분자구조적 특성

박용곤 · 석호문 · 남영중 · 최광수*

한국식품개발연구원, *영남대학교 식품가공학과

Structural Properties of Cold Water Extractable α -D-glucan in Rice Flours

Yong-Kon Park, Ho-Moon Seog, Young-Jung Nam and Kwang-Soo Choi*

Korea Food Research Institute, Banwol, Kyonggi-Do,

*Department of Food Science and Technology, Yeungnam University, Taegu

Abstract

The structural properties of cold water extractable α -D-glucan in rice flours obtained by various milling methods were investigated. The blue value, λ_{max} values of the iodine complex and β -amylolysis limit of the cold water extractable α -D-glucan were in the range of 0.026~0.030, 518~522 nm and 52.7~59.6%, respectively, indicating these materials were composed mainly of amylopectin-like polymer. The gel chromatography on Sepharose CL-2B indicated that the cold water extractable α -D-glucan had lower molecular weight but wider molecular weight distribution than that of the original rice amylopectin. The Sephadex G-50 gel chromatography showed that the unit chain distribution of cold water extractable α -D-glucan after debranching with pullulanase was similar to that of rice amylopectin. And the ion chromatography of the distribution pattern of the chain length below D.P.30 in the debranched α -D-glucan indicated only blade-milled flour was similar to the amylopectin, but in the amount of unit chain below D.P.10, all the α -D-glucan in rice flours was higher than that of amylopectin.

Key words : rice flour, α -D-glucan, structural properties

서 론

전분입자는 분자간의 강인한 수소결합에 의해 냉수에 불용이나⁽¹⁾, 제분 과정중 전분에 대한 물리적 손상은 전분분자들 사이의 수소결합의 파괴를 초래하여 그 결과 물에 대한 전분입자의 성질을 변화시켜며⁽²⁾, 특히 제분시 물리적 손상에 의해 냉수에 용해되는 물질들의 거의 대부분은 전분의 구성성분 중 아밀로펙틴에 가까운 고 분자물질임이 알려져 있다⁽³⁾. 본 연구에서는 쌀제분시 물리적 손상에 의해 냉수에 추출되어지는 쌀가루 α -D-glucan의 분자구조적 특성을 조사하여 제분시 쌀가루에 대한 물리적 손상이 쌀전분의 구성요소에 어떠한 영향을 미치는가를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

쌀가루의 제조를 위해 사용한 제분기, 제분방법 및 냉수추출되는 쌀가루의 α -D-glucan의 분리, 정제는 전

보⁽⁴⁾와 같으며, 쌀전분 및 아밀로오스와 아밀로오펙틴의 분리, 정제는 Bhattacharya⁽⁵⁾, Bank 등⁽⁶⁾, 의 방법에 따라 각각 행하였으며, 분리전분의 일반성분은 수분 12.30%, 회분 0.15%, 조단백 0.07%, 조지방 0.09% 그리고 아밀로오스는 18.0%였다.

분자구조적 특성

쌀전분 및 그의 구성성분인 아밀로오스와 아밀로펙틴 그리고 쌀가루 냉수추출 α -D-glucan의 blue value는 Gilbert 등⁽⁷⁾의 방법, β -amylase(Sigma Chemical Co., U.S.A., sweet potato β -amylase, 980 U/mg) 단독 혹은 β -amylase와 pullulanase(Sigma Chemical Co., U.S.A., *Enterobacter aerogenes*, 31 U/mg) 조합처리에 의한 분해율은 Watanabe 등⁽⁸⁾의 방법에 따라 행하였고, 냉수 추출 α -D-glucan 및 쌀전분의 분자량 분포는 Yamada 등⁽⁹⁾의 방법에 따라 Sepharose CL-2B로 충진된 칼럼(1.6 × 95 cm)을 이용하여 13.6 ml/hr의 속도로 용출하였으며, 용출액은 투브당 3.4 ml/씩 fraction collector(LKB 2070, ultrorac, Sweden)로 분취하여 이 중 0.5 ml를 취해 페놀-황산법으로⁽¹⁰⁾ 총 당합량을, 나머지 용액은 0.1 ml/ 요드 용액을 가하여 600 nm에서의 흡광도와 극대흡수파장 (λ_{max})을 측정하였다. 한편, 쌀아밀로펙틴 및 쌀가루 냉

Corresponding author : Yong-Kon Park, Korea Food Research Institute, Banwol, Hwaseang, Kyanggi-Do 445-820

Table 1. Ion chromatography running conditions for unit chains of cold water extractable α -D-glucan in rice flours

Instrument	Dionex 4000I
Column	Carbopac PA1
Integrator	SP 4290
Gradient program	0~100% B in 30 min
Eluant	A : 100 mM NaOH B : 100 mM NaOH + 600 mM MaoAC
Detector	Pulsed amperometric detector 39 K range, gold electrode

수추출 α -D-glucan의 단위쇄장의 분포측정은 Craig 등⁽³⁾의 방법에 따라 pullulanase로 측쇄를 절단한 다음 Sephadex G-50칼럼(2.6×95 cm)에서 24 ml/hr의 속도로 용출하였고, 용출액은 튜브당 6 ml씩 모아 총 당 및 환원당량을⁽¹¹⁾ 측정하였다. 또한 pullulanase로 가지를 절단 시킨 분해물들에 대한 중합도 30 이하의 단위쇄장분포는 ion chromatography(Dionex BioLC, U.S.A.)에 의하여 Table 1과 같은 조건으로 행하였다.

결과 및 고찰

냉수추출 α -D-glucan의 특성

쌀가루의 냉수추출 α -D-glucan과 쌀에서 분리한 아밀로오스와 아밀로페틴의 blue value, 극대흡수파장(λ_{max}) 및 β -amylolysis limit를 측정한 결과는 Table 2와 같다. 쌀가루 냉수추출 α -D-glucan의 추출률은 blade mill의 경우가 0.32%로 가장 낮고, roller mill과 micro mill을

병용한 것이 1.47%로 가장 높은 값을 나타내어 대체로 전분의 손상도가 증가함에 따라⁽⁴⁾ 이들 α -D-glucan의 추출률은 증가하는 경향이었으며, blue value의 측정결과 α -D-glucan은 0.026~0.030, 아밀로오스와 아밀로페틴은 0.780 및 0.045를 나타내었고 또한 극대흡수파장의 측정결과에 있어서도 α -D-glucan은 518~522 nm의 범위로서 전분의 구성성분 중 아밀로페틴의 531 nm에 가까운 값을 나타내었다.

이들 α -D-glucan과 쌀전분 및 그의 구성성분인 아밀로오스와 아밀로페틴의 β -amylase와 pullulanase에 의한 분해율은 쌀전분의 경우 β -amylase에 의해 분해율은 70.0%로써 다른 전분의 분해율보다 다소 높았고^(13,14), 아밀로오스와 아밀로페틴은 각각 89.0%, 54.1%로 일반적으로 알려져 있는 이들의 분해율과 비슷한 경향이었다⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. 쌀가루 냉수추출 α -D-glucan의 경우 β -amylase에 의한 분해율은 hammer mill의 52.7%에서 roller mill과 micro mill을 병용한 경우의 59.6%로 쌀아밀로페틴과 거의 유사하였으며, 이들 α -D-glucan 역시 가지절단효소인 pullulanase와의 병용처리시 거의 100%에 가까운 분해율을 나타내어 쌀가루에서 냉수에 추출된 α -D-glucan은 아밀로페틴에 유사한 성격을 지닌 고분자물질임을 알 수 있었다.

냉수추출 α -D-glucan의 분자량 분포

Fig. 1은 쌀전분을 Sepharose CL-2B 칼럼으로 gel permeation chromatography한 결과로서 쌀전분의 경우 두 개의 peak로 분리되었고, void volume 부근에서 용출된 peak는 요오드와의 반응으로 극대흡수파장(λ_{max})이 530 nm인 점 및 쌀전분에서 분리한 아밀로페틴의 용출곡선(Fig. 1B)으로 미루어 쌀전분의 구성성분 중 아밀로페틴에 해당되며, 이후의 peak는 620~640 nm의 극대흡수파장과 요드 결합력이 총 당값보다 높아 아밀로오스에

Table 2. Properties of cold water extractable α -D-glucan in rice flours and rice starch fractions

Mill	Extraction yield (g/100g rice flour)	Blue value (at 680 nm)	λ_{max} (nm)	β -amylolysis limit(%)	
				I ^{a)}	II ^{b)}
α -D-glucan					
Blade	0.32	0.026	518	53.3	96.2
Hammer	0.64	0.029	521	52.7	96.4
Test	1.24	0.029	522	59.0	98.0
Micro	1.15	0.026	521	58.8	97.1
Roller & Micro	1.47	0.030	522	59.6	99.1
Starch	-	0.227	604	70.0	99.1
Amylose	-	0.780	640	89.0	105.0
Amylopectin	-	0.045	531	54.1	96.2

a) β -amylase alone

b) Concurrent action of β -amylase and pullulanase

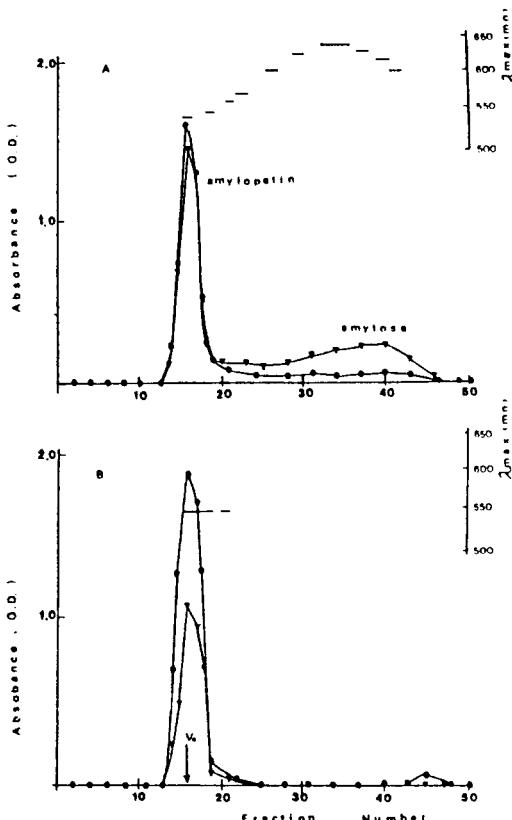


Fig. 1. Elution patterns of rice starch(A) and rice amylopectin(B) on Sepharose CL-2B

●—● : Total carbohydrate(490 nm),
▲—▲ : Iodine complex(600 nm)

해당함을 알 수 있었다.

쌀가루 냉수추출 α -D-glucan을 Sepharose CL-2B로 gel permeation chromatography한 결과는 Fig. 2와 같고, Table 3은 이들 α -D-glucan의 chromatogram을 세 개의 fraction으로 나누어 각 fraction별 α -D-glucan의 구성비를 구한 결과이다. 쌀가루 냉수추출 α -D-glucan의 경우 그의 분자량은 void volume 부근에서 용출되어지는 고 분자량에서 저분자량 영역까지 광범위하게 분포되어 있고, 요오드화의 반응에 의한 극대흡수파장이 530~570 nm 등의 결과로 미루어 보아 냉수에 추출되는 쌀가루 α -D-glucan은 아밀로펩틴에 유사한 물질이기는 하나 쌀 전분의 아밀로펩틴에 비해 분자량은 낮은 반면 그 분포는 보다 넓게 존재함을 알 수 있고 밀가루 냉수추출 α -D-glucan과 유사한 경향이었다⁽³⁾.

한편, 이들 α -D-glucan의 각 fraction별 구성비를 살펴보면(Table 3) void volume 근방에서 용출되는 fraction I 및 저분자량측의 fraction III에 있어서는 test

mill의 경우를 제외하면 쌀가루의 입자가 미세하여짐에 따라⁽⁴⁾ 점차 증가하였고, fraction II에 있어서는 점차 감소하는 것으로 나타나 쌀가루의 경우 제분에 의한 전분의 손상은 전분의 아밀로펩틴에 우선적으로 영향을 미치며, 그 결과 냉수에 용출되어져 나오는 α -D-glucan의 경우에도 제분방법에 따라 분자량의 크기에 차이가 있게 되는 것으로 나타났다.

냉수추출 α -D-glucan의 단위 쇄장분포

쌀가루 α -D-glucan에 pullulanase를 작용시켜 가지를 절단한 후 유리된 죽쇄의 쇄장분포를 Sephadex G-50 gel 여과로 살펴본 결과는 Fig. 3과 같다. 쌀전분에서 분리한 아밀로펩틴의 경우 3개의 peak로 분리되었고, 이 중 void volume 상에서 용출된 분자량이 큰 peak I은 아밀로오스에 가까운 극대흡수파장(605~610 nm)을 나타낼 뿐 아니라 β -amylase에 의한 분해율이 높은 점으로 미루어 보아 아밀로펩틴 분리시 아밀로오스 혼입물^(12,18) 혹은 곰류전분에 희석 존재하는 (5~10%) 아밀로오스와 아밀로펩틴의 중간적 성질을 지닌 물질로⁽¹⁹⁾ 사료되며, peak II와 III은 원래의 아밀로펩틴이 가지가 절단되어 생긴 것으로 전형적인 bimodal 분포의 unit chain을 나타내었으며, 아밀로펩틴의 외부체인(A체인)에 해당하는 peak III과 내부체인(B체인)인 peak II의 정점에서의 중합도는 각각 14, 40 부근이었다. 또한 쌀가루 냉수추출 α -D-glucan의 경우에 있어서도 3개의 peak로 분리되었고, peak II, III 정점에서의 중합도는 아밀로펩틴과 거의 유사하였으며, α -D-glucan 또한 void volume 상에서의 peak I을 형성하여 아밀로오스 역시 제분에 의해 다소는 손상을 받게 되고, 따라서 손상을 받아 냉수에 가용화된 죽쇄상 성분들이 아닌가 생각되어지나 양적으로 그다지 크지 않은 것으로 나타났다.

Table 4는 Sephadex G-50 칼럼에서 아밀로펩틴과 쌀가루 냉수추출 α -D-glucan들의 각 peak별의 구성비와 내부체인 (peak II)에 대한 외부체인(peak III)의 몰 및 중량비를 구한 결과이다. Table에서 보는 바와 같이 α -D-glucan 중 test mill의 경우 peak II의 구성비가 19.0 %로 다소 높았고, 견식과 습식을 병용한 roller & micro mill은 peak III이 64.8%로 다른 α -D-glucan보다 낮은 구성비를 나타내었다. 그러나 아밀로오스의 죽쇄상 성분으로 추정되는 peak I의 경우 쌀가루의 입자가 미세하여짐에 따라 점차 증가하게 되는 사실로 미루어 볼 때 과도한 제분은 아밀로펩틴 뿐만 아니라 아밀로오스에 있어서도 영향을 미치게 되는 것이 아닌가 생각된다.

한편, α -D-glucan의 몰 및 중량비는 쌀아밀로펩틴보다

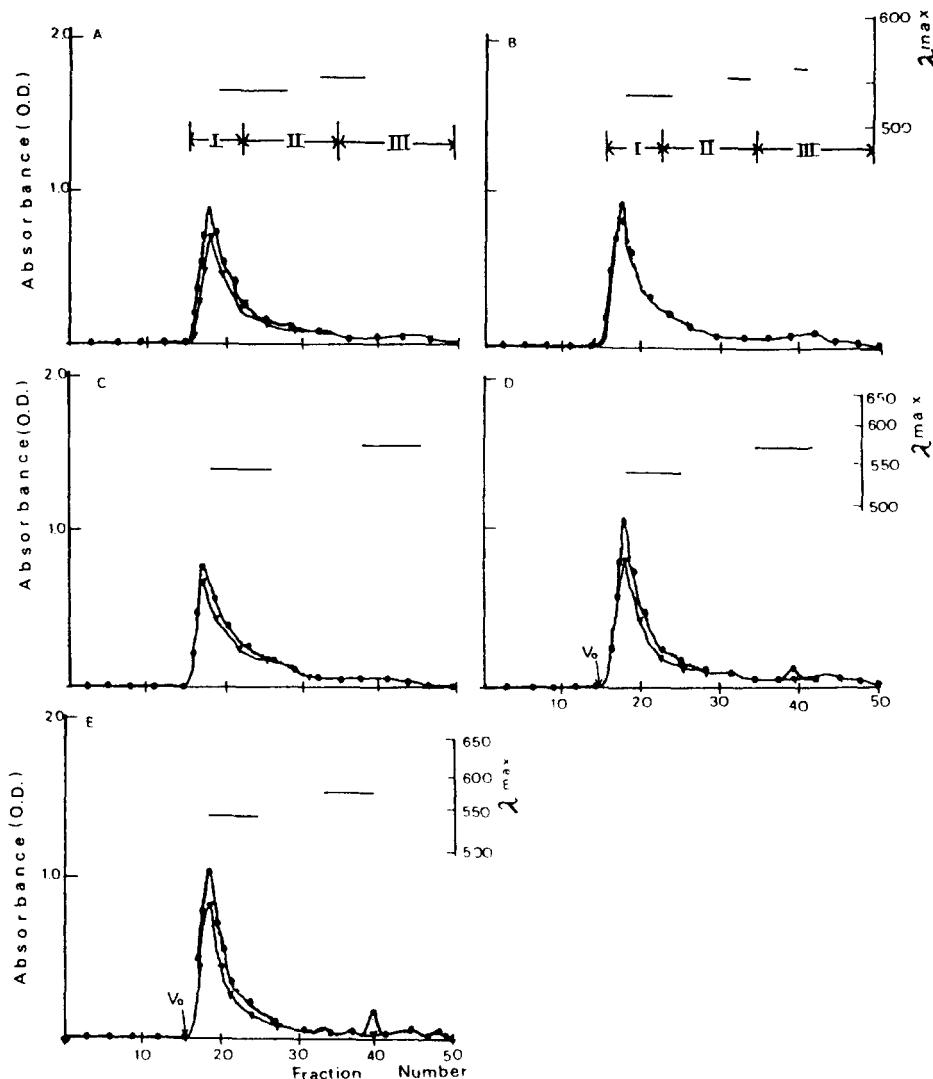


Fig. 2. Elution patterns of cold water extractable α -D-glucan in rice flours on Sepharose CL-2B

A : Blade, B : Hammer, C : Test, D : Roller & Micro mill

●—● : Total carbohydrate(490 nm). ▼—▼ : Iodine complex(600 nm)

Table 3. Fraction of cold water extractable α -D-glucan in rice flours on Sepharose CL-2B

Mill	Carbohydrate content in fraction(%) ^{a)}		
	I	II	III
Blade	67.4	23.9	8.7
Hammer	67.8	23.0	9.2
Test	66.0	24.1	9.9
Micro	68.0	21.6	10.4
Roller & Micro	68.8	20.7	10.5

a) I : Fraction No.16~22, II : Fraction No.23~35, III : Fraction No.36~50

다소 높은 수치를 나타내어 물리적 손상에 의해 냉수에 추출되는 쌀가루 α -D-glucan은 쌀전분의 아밀로펩틴에 의해 glucose 연쇄의 내부가 물리적으로 절단을 받아 체인이 다소 짧아진 때문으로 생각된다⁽²⁰⁾.

Sephadex G-50의 경우 전체적인 단위체의 분포는 알 수 있으나 개개의 구성측쇄의 중합도는 알아보기 어려우므로 외부구성측쇄의 쇄장분포를 ion chromatography를 사용하여 조사한 결과는 Fig. 4~6과 같다. 쌀전분 아밀로펩틴(Fig. 4) 및 쌀가루 냉수추출 α -D-glucan(Fig. 5, 6) 모두 중합도 30 이하의 각 성분들이 개개의 peak로서 분리되어 이들 물질의 외부체인은 서로 다른

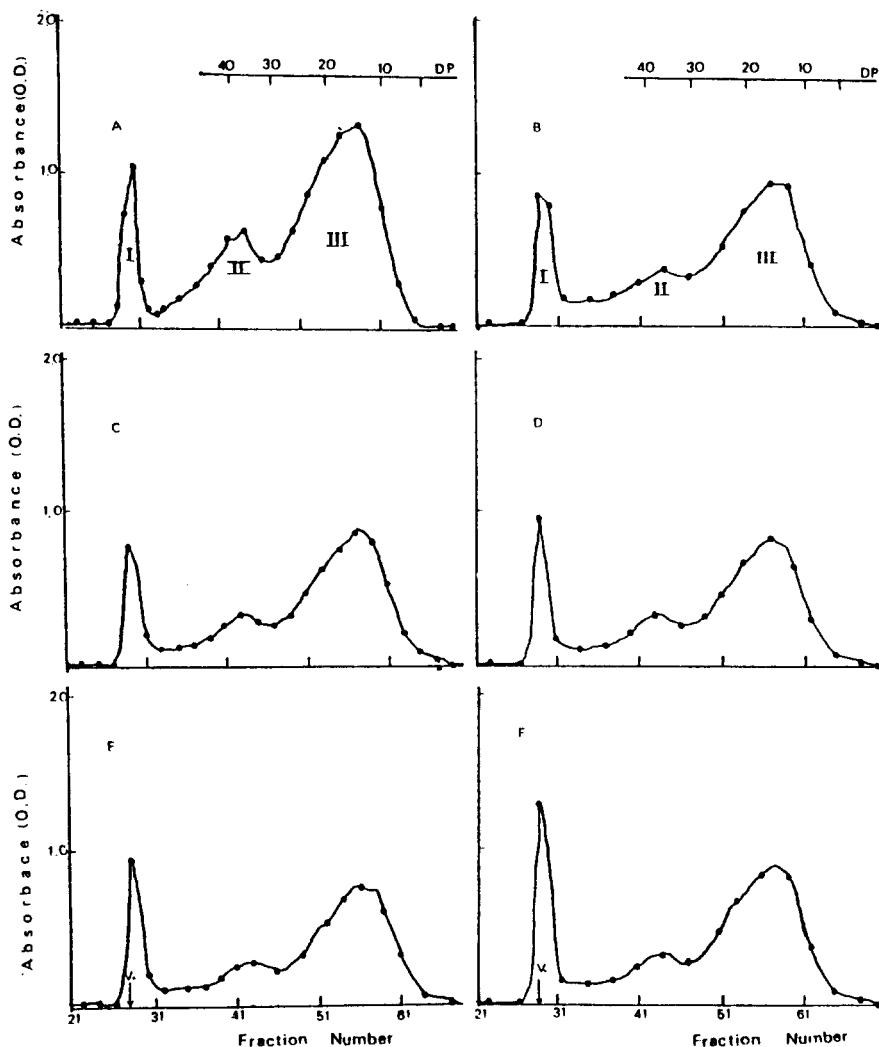


Fig. 3. Elution patterns of rice amylopectin and cold water extractable α -D-glucan in rice flours after debranching with pullulanase on Sephadex G-50

A : Amylopectin, B : Blade, C : Hammer, D : Test, E : Roller & Micro mill

●—● : Total carbohydrate(490 nm)

Table 4. Relative sizes of groups unit chain from rice amylopectin and cold water extractable α -D-glucan in rice flours after debranching with pullulanase^{a)}

Mill	Distribution of peak(%)			Molar ratio of III to II peak	Weight ratio of III peak to II peak
	I	II	III		
Blade	14.4	18.3	67.3	10.51	3.68
Hammer	13.9	18.6	67.5	10.37	3.63
Test	16.2	19.0	64.8	9.74	3.41
Micro	16.8	17.7	65.5	10.57	3.70
Roller & Micro	18.0	17.2	64.8	10.77	3.77
Amylopectin	10.9	21.3	67.8	9.09	3.18

a) As percentage of total material eluted from column of Sephadex G-50

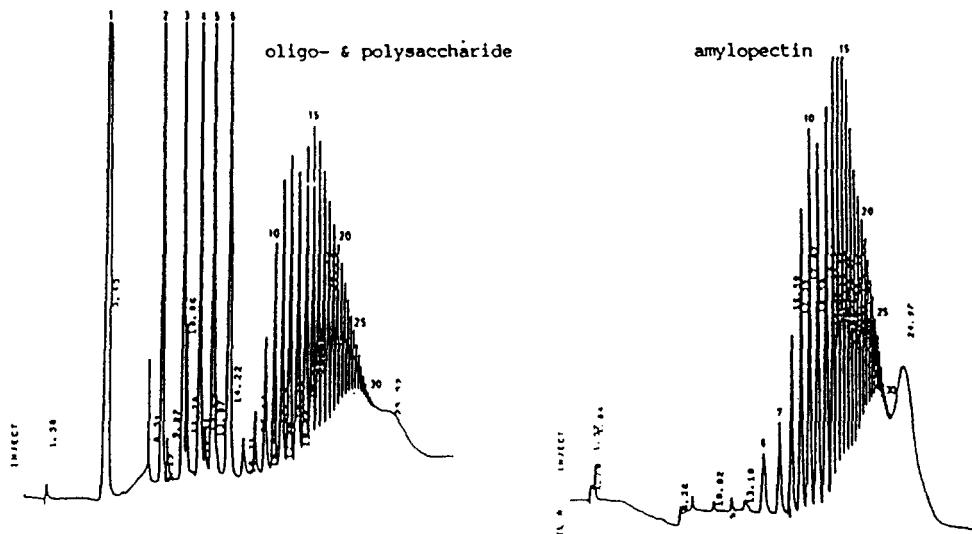


Fig. 4. Elution profiles standard oligo- & polysaccharides and rice amylopectin after debranching with pullulanase on Carbopac PA1 column

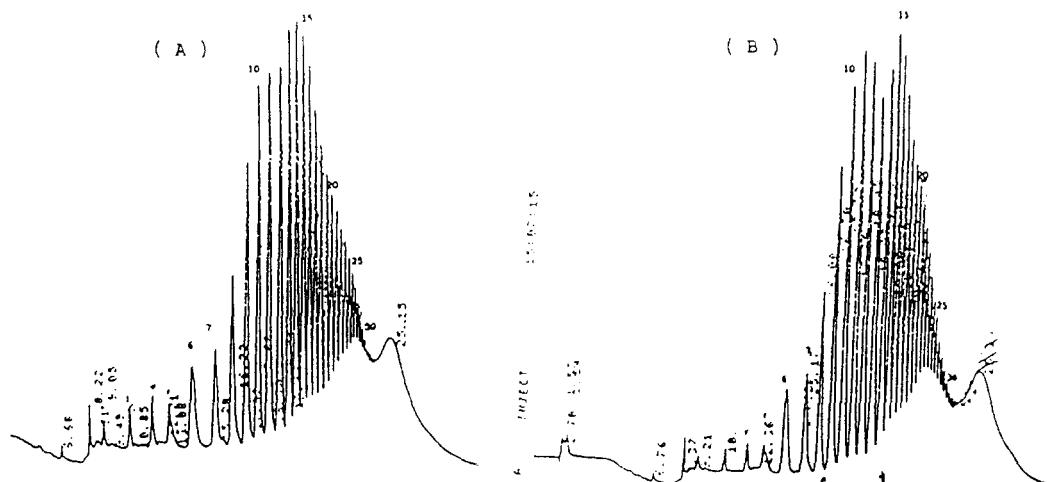


Fig. 5. Elution patterns of cold water extractable α -D-glucan in rice flours after debranching with pullulanase on Carbopac PA1 column

A : Blade, B : Hammer

중합도의 unit chain들로 구성되어 있음을 알 수 있고, 특히 쌀아밀로펩틴은 maltohexaose(peak 6) 이하의 물질은 극히 소량 검출되었으며, 이는 쌀아밀로펩틴은 maltohexaose 단위보다 적은 unit chain은 거의 존재하지 않음을 시사하는 것으로 Bio-gel P-4를 사용한 보리아밀로펩틴 분리결과와⁽¹⁷⁾ 유사한 경향이었다.

한편, 제분방법별 쌀가루의 경우 이들 외부체인의 분포를 비교하여 보면 쌀아밀로펩틴 및 blade mill의 경우에는 중합도 13, 14, 15에서 하나의 peak정점을 형성

하지만, 그 밖의 쌀가루에 있어서는 이와는 달리 중합도 10, 11, 12 및 중합도 15, 16에서 2개의 peak 정점을 형성하여 제분방법은 쌀가루 냉수추출 α -D-glucan의 외부체인의 중합도에 영향을 미치게 됨을 알 수 있다.

Table 5는 ion chromatography로 분리한 각 unit chain들을 중합도군(즉 DP 6, DP 6~10, DP 11~15, DP 16~20, DP 21~25 및 DP 26~30 등)으로 나누어 이들 peak의 상대적인 면적비를 구한 결과이다. 쌀아밀로펩틴은 DP 6 이하 및 DP 6~10으로 구성된 단위체의

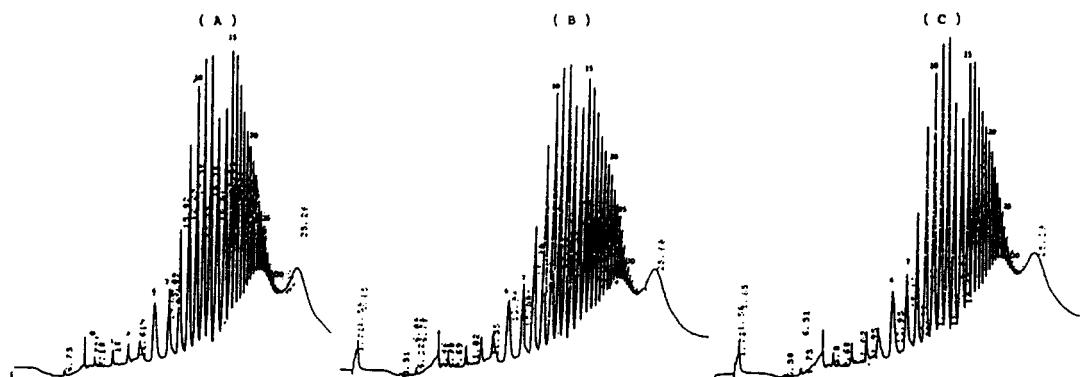


Fig. 6. Elution patterns of cold water extractable α -D-glucan in rice flours after debranching with pullulanase on CarboPac PA1 column

A : Test, B : Micro, C : Roller & Micro mill

Table 5. Relative sizes of groups unit chain from rice amylopectin and cold water extractable α -D-glucan in rice flours after debranching with pullulanase

(relative peak area)^{a)}

D.P. ^{b)}	Amylopectin	Mill				
		Blade	Hammer	Test	Micro	Roller & Micro
<6	10	33	24	25	32	39
6~10	302	303	297	301	306	317
11~15	562	520	517	522	501	501
16~20	401	368	365	370	348	346
21~25	255	248	232	226	217	217
26~30	130	127	125	121	116	116

a) As a sum of peak area eluted from column of CarboPac PA1

b) D.P. : Degree of polymerization

구성비가 각각 10, 302로서 쌀가루 냉수추출 α -D-glucan (24~39, 294~317)보다 낮은 반면 DP 10 이상의 물질들은 쌀아밀로펩틴이 높은 구성비를 나타내어 쌀가루의 경우 제분시의 물리적 손상으로 분자의 중합도가 감소한 것으로 사료되며, 손상받지 않은 전분과 손상전분 사이에는 intrinsic viscosity에 있어서도 차이가 있는 것으로 알려져 있다⁽²⁾. 또한 쌀가루 냉수추출 α -D-glucan 중에서는 쌀가루의 입자가 가장 미세한 roller mill과 micro mill을 병용한 것이 DP 10 이하의 구성비가 가장 높았고, 전분 손상도 가장 높았으나 몰 및 중량비가 가장 낮은 test mill의 경우 DP 11~15 및 16~20의 구성비가 각각 522, 370으로 가장 높은 것으로 나타나 제분방법은 쌀전분의 이화학적 특성 뿐만 아니라 분자구조에도 변화를 초래하게 되는 것으로 사료된다.

요 약

쌀가루로부터 추출한 냉수가용 α -D-glucan의 blue va-

lue는 0.026~0.030, 극대흡수파장은 518~522 nm, β -amylolysis limit는 52.7~59.6% 정도의 범위를 나타내어 이를 물질은 아밀로펩틴에 유사한 성질을 지니고 있었으며, 또한 이들 α -D-glucan에 가지절단효소인 pullulanase를 처리한 후 분해물의 쇄장분포를 조사한 결과 이들 α -D-glucan은 쌀아밀로펩틴의 unit chain 분포와 유사하였고, 또한 이들 분해물에 대해 중합도 30 이하의 쇄장분포는 쌀가루 냉수추출 α -D-glucan 중 blade mill의 것만이 아밀로펩틴과 유사한 쇄장분포를 나타내었고 중합도 10 이하의 구성비에 있어서는 냉수추출 α -D-glucan의 것이 아밀로펩틴보다 높았다.

문 현

1. Swinkels, J.J.M. : Sources of starch, its chemistry and physics. In *Starch Conversion Technology*, G.M.A. Van Beijnum and J.A. Roelofs. (ed), Marcel Dekker, Inc., New York, p.31 (1985)

2. Meuser, F., Klingler, R.W. and Niediek, E.A. : Characterization of mechanically modified starch. *Staerke*, 31, 376(1978)
3. Craig, S.A.S. and Stark, J.D. : The effect of physical damage on the molecular structure of wheat. *Carbohydrate Res.*, 125, 117(1984)
4. 박용곤, 석호문, 남영중, 신동화 : 세분방법별 쌀가루의 이화학적 특성. *한국식품과학회지*, 20(4), 504(1988)
5. Bhattacharya, K.R. and Chinnaswamy, R. : Characteristics of gel chromatographic fractions of starch in relation to rice and expanded rice-product qualities. *Staerke*, 38, 51(1986)
6. Bank, W. and Greenwood, C.T. : The fractionation of laboratory-isolated cereal starches using dimethyl sulfoxide. *Staerke*, 19, 394(1967)
7. Gilbert, G.A. and Spraggs, S.P. : Iodimetric determination of amylose. In *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Whistler, R.L.(ed), Academic press, New York, Vol. 4, p. 168(1964)
8. Watanabe, Y., Ayano, Y. and Obara, T. : Studies on gamma irradiation of high amylose corn starch : Part II. Some effects of gamma irradiation on physicochemical properties of amylose and amylopectin fractioned from amylomaize starch. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, 22(2), 77(1976).
9. Yamada, T. and Taki, M. : Fractionation of maize starch by gel chromatography. *Staerke*, 28, 374(1976)
10. Dubios, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Reber, P.A. and Smith, F. : Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Anal. Chem.*, 28(3), 350(1956)
11. Nelson, N. : A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, 153, 375(1944)
12. Biliaderis, C.G., Grant, D.R. and Vose, J.R. : Structural characterization of legume starches : I Studies on amylose, amylopectin and β -limit dextrin. *Cereal Chem.*, 58(6), 496(1981)
13. Takeda, C., Takeda, T. and Hizukuri, S. : Physicochemical properties of lily starch. *Cereal Chem.*, 60(3), 212(1983)
14. Sargeant, J.G. and Whcombe, H. : Determination of amylose : amylopectin ratios of starches. *Staerke*, 34 (3), 89(1982)
15. Reyes, A.C., Albano, E.L., Briones, V.P. and Juliano, B.O. : Varietal difference in physicochemical properties of rice starch and its fractions. *J. Agr. Food Chem.*, 13(5), 438(1965)
16. Vidal, A.J. and Juliano, B.O. : Comparative composition of waxy and nonwaxy rice. *Cereal Chem.*, 44, 86 (1967)
17. Juliano, B.O. : Phosphorus and amylose branching in rice starch granules. *Staerke*, 35, 348(1983b)
18. MaGregor, A.W. and Morgan, J.E. : Structure of amylopectin isolated from large and small starch granules of normal and waxy barley. *Cereal Chem.*, 61(3), 222 (1984)
19. Lineback, D.R. : Current concepts starch structure and its impact on properties. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, 33(1), 80(1986)
20. Watanabe, Y., Ayano, Y. and Obara, T. : Studies on gamma irradiation of high amylose corn starch : Part III. The decomposition products of amylomaize starch irradiated with gamma rays. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, 23(3), 137(1976)

(1990년 3월 17일 접수)