

쌀아밀로펙틴의 분자구조적 성질

김 봉 찬 · 안 승 요*

선일포도당(주) 기술연구소, *서울대학교 식품영양학과

초록: 일반계 품종인 천마벼, 다수계 품종인 용문벼와 인디카형인 마하트마등 세 품종의 쌀에서 아밀로펙틴을 분리하여 분자구조적 성질을 조사하였다. 천마벼, 용문벼, 마하트마의 고유점도는 각각 148.3 ml/g, 156.6 ml/g, 167.5 ml/g였고, β -amylolysis limit(%)는 54.6, 55.4, 52.9였다. 평균사슬길이(CL)와 안쪽사슬길이(ICL)는 마하트마가 다른 품종보다 길었다. β -amylase에 의한 쌀아밀로펙틴의 가수분해물을 Sephadex G-50으로 겔 크로마토그래피를 했을 때, 동일한 두 개의 주요 peak(void volume과 \overline{DP} 3)가 얻어졌으며, 각 품종에서 동일한 형태를 보였다. 이들 아밀로펙틴의 pullulanase에 의한 가수분해물은 Sephadex G-50으로 겔 크로마토그래피를 했을 때, 세 개의 peak(void volume, \overline{DP} 35-45, \overline{DP} 10~20)가 얻어졌고, 품종간에 유사한 형태를 보였으나 peak의 면적과 사슬길이(\overline{DP})는 품종간에 차이가 있었다. 천마벼, 용문벼, 마하트마의 Peak II에 대한 Peak III의 면적비는 각각 3.9, 3.4, 3.3였다(1989년 12월 5일 접수, 1990년 2월 22일 수리).

쌀의 품질 및 취반후의 밥맛은 주로 아밀로오스함량에 영향받으며¹⁾, 쌀의 단백질함량도 쌀의 품질 및 취반후의 밥맛에 중요한 인자로 작용하여 단백질함량이 적을수록 밥이 부드럽고 끈기가 있으며 밥의 구수한 냄새도 많다고 하였다²⁾. 그리고, 쌀의 지질이 밥의 조직감에 영향을 주며 탈지에 의해 쌀의 수화속도가 증가하고, 점도가 증가한다고 보고되었다³⁾. 그러나, 아밀로오스함량이 비슷한 쌀 품종간에도 밥맛의 차이가 있으며, 밥맛과 아밀로오스함량이 항상 비례관계에 있지는 않다. 한편 비슷한 아밀로오스함량을 가지는 쌀 전분에서 아밀로펙틴의 사슬길이가 전분의 노화속도에 영향을 미치며, 물리적 성질의 차이도 존재한다고 보고되었다⁴⁾. 전분의 아밀로오스함량에 큰 차이가 없음에도 불구하고, 결정구조, 팽윤력, 염류에 대한 호화양상등 물리적 성질이 달랐으며⁵⁾, 상대적 결정화도가 큰 품종의 전분은 열, 산, 알칼리처리에 강한 저항성을 보이고, 물결합능력이 작고, 팽윤력이 크고, 취반 후의 밥이 단단하다고 하였다⁶⁾. 따라서, 아밀로오스함량이 비슷한 쌀에서의 취반특성은 전분의 결정성과 아밀로펙틴의 사슬구조등 분자구조적 성질과 관련이 있다고 생각되어진다. 현재까지의 쌀 전분의 분자구조에 대한 구체적 자료는 미흡한 실정이며, 쌀 품종간의 특성차에 대한 연구는 거의 보고되지 않았다.

본 연구에서는 일반적으로 밥맛에 차이가 있다고 알려진 일반계 쌀인 천마벼, 다수계 쌀인 용문벼, 인디카형 쌀인 마하트마 등 세 품종의 쌀에서 아밀로펙틴을 분리하여, 평균사슬길이, β -amylolysis limit(%), 효소 가수분

해산물의 겔 크로마토그래피 결과를 비교하였다.

재료 및 방법

재 료

농촌진흥청 작물시험장에서 1986년 가을에 수확한 일반계 품종인 천마벼, 다수계 품종인 용문벼와 미국 텍사스 주의 휴스턴 소재 Riviana Food Inc.에서 생산된 인디카형인 마하트마(Mahatma, 상품명) 등 세 품종을 사용하였다.

전분의 제조 및 아밀로오스 함량 측정

이등⁷⁾의 방법에 따라 전분을 분리하고, 분리한 전분층의 아밀로오스함량을 Sowbhagya와 Bhattacharya⁸⁾의 방법에 따라 측정하였다.

아밀로펙틴의 분리

아밀로펙틴은 Montgomery와 Senti⁹⁾의 방법을 변형하여 다음과 같이 분리하였다. 속스렛드 장치를 이용하여 메탄올로 탈지한 전분 20g을 인산완충액(pH6.0~6.3) 10ml을 가한 1ℓ의 증류수에 넣고 98°C에서 15분간 교반시킨 후 원심분리하였다. 원심분리관의 하층에 침강된 전분침을 다시 800ml의 증류수에 현탁시키고, 앞의 조작과 같이 98°C에서 15분간 교반시킨 후 원심분리하였다. 하층침강물에 대하여 위의 조작을 한번 더 반복하였다. 이때 나온 침강물을 메탄올과 ethyl ether로 씻고 풍건시켜 아밀로펙틴을 얻었다.

Key words : rice, amylopectin, molecular structure

Corresponding author : S. Y. Ahn

고유점도

고유점도는 Greenwood¹⁰⁾의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 아밀로펙틴을 1N KOH 용액에 0.5-5 mg/ml의 농도로 녹이고, glass filter로 여과한 후 phenol-sulfuric acid방법¹¹⁾으로 당농도를 측정하였다. 시료용액을 Ubbelode 점도계에 넣고, 30 °C의 항온수조에서 30분간 열평형 시킨 후, 시료액의 일정량이 유하하는 시간을 측정하여 specific viscosity(η_{sp})를 구하였으며, 이로부터 고유점도($[\eta]$)를 구하였다.

β -Amylolysis limit(%)

아밀로펙틴의 β -amylolysis limit는 Suzuki 등¹²⁾의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 시료 3 mg을 한 방울의 에탄올로 적시고 0.5 N NaOH용액 0.3 ml로 용해시킨 다음, 1M 아세트산으로 pH 4.8로 조정하였다. 이 용액에 β -amylase(EC 3.2.1.2, E. Merck사)를 ml당 100 units로 녹인 용액을 1 ml 가한 후, 항온수조에서 37 °C로 유지시켰다. 이 반응액 중의 환원당을 측정하면서¹³⁾, 더 이상의 환원당의 증가가 없는 것을 확인하고 48시간을 반응시킨 후, 끓는 수조에서 30분간 넣어 반응을 종결시켰다. 효소반응액중의 총당량을 측정하고 포도당으로 환산하여 β -amylolysis limit(%)를 계산하였다.

평균 사슬길이

아밀로펙틴의 평균사슬길이는 Potter와 Hassid¹⁴⁾의 periodate 산화법으로 다음과 같이 실시하였다. 아밀로펙틴 200 mg을 125 ml의 공전 삼각플라스크에 취하고 3% NaCl용액 5 ml를 넣어 잘 분산시켰다. 이 용액에 0.37 M sodium metaperiodate용액 10 ml를 넣고 밀봉한 다음 광 차단하에 2 °C에서 교반하면서 25시간 반응시켰다. 반응이 완결된 후 ethylene glycol 1 ml를 넣고 1시간 동안 상온에 방치하여 반응을 정지시키고 메틸레드 지시약으로 0.01 N Ba(OH)₂를 사용하여 적정하였다. 0.01 N Ba(OH)₂ 적정값으로 아밀로펙틴의 평균단위사슬길이(average unit chain length(\overline{CL}))를 다음 계산식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Average unit chain length}(\overline{CL}) = \frac{\text{Sample weight}}{0.01 \times \frac{\text{Ba(OH)}_2(\text{ml})}{1.000}} \div 162$$

아밀로펙틴의 바깥사슬길이(\overline{OCL})와 안쪽사슬길이(\overline{ICL})는 Lee 등¹⁵⁾이 보고한 식에 의하여 계산하였다.

겔 크로마토그래피

아밀로펙틴 25 mg씩을 네개의 시험관에 넣고, 각 시험관에 dimethyl sulfoxide(DMSO) 1 ml와 0.1 M 아세트산 완충액(pH 4.8) 4 ml를 가하여 끓는 수조에서 흔들면서 녹였다. 완전히 녹지않은 부분은 여과지(Whatman No. 42)로 흡입 여과시켜 제거하였다. 첫째 시험관에는 효소를 처리하지 않았고, 둘째 시험관에는 β -amylase(EC 3.2.1.2, E. Merck사) 100 units를 가해서 37 °C에서 48시간 반응시킨 후 끓는 수조에서 30분간 넣어 효소를 실패시켰다. 셋째 시험관에는 *Enterobacter pullulanase*(EC 3.2.1.41, Sigma Chemical Co.) 1 unit를 가한 후, β -amylase와 같이 처리하였다. 네째 시험관에는 pullulanase 1 unit를 가한 후, β -amylase 100 units를 가하여 앞에서와 같이 처리하였다.

위의 각시험관으로부터 각각 1 ml를 취하여 Sephadex G-50 컬럼(25×100 cm)에 넣고, 0.02% sodium azide를 함유한 10 mM 인산완충액(pH 7.0)으로 15 ml/hr의 속도로 용출시켰다. 분획은 4 ml씩 받아졌으며, void volume은 blue dextran 2000(Sigma Chemical Co.)으로 구하였다. 각 분획의 총당량¹¹⁾과 환원당¹³⁾을 구하였고, 각 분획의 사슬길이(\overline{DP})는 총당량을 환원당으로 나누어 계산하였다.

결과 및 고찰

일반성분

시료전분의 일반성분은 Table 1과 같다. 시료의 일반성분 중 수분, 조지방과 회분은 품종에 관계없이 거의 동일하며, 단백질의 경우 용문벼, 천마벼, 마하트마 순으로 많았지만 쌀전분의 일반적 범위를 벗어나지는 않았다. 아밀로오스 함량은 마하트마가 다른 두 품종보다 높았다.

Table 1. Proximate composition of rice starches

| Variety | Moisture (%) | Protein (%) | Lipid (%) | Ash (%) | Amylose (%) |
|-------------|--------------|-------------|-----------|---------|-------------|
| Chunmabyeo | 10.6 | 0.87 | 0.12 | 0.12 | 22.2 |
| Yongmunbyeo | 10.5 | 0.78 | 0.12 | 0.11 | 22.5 |
| Mahatma | 10.9 | 0.98 | 0.12 | 0.12 | 24.9 |

고유점도

아밀로펙틴의 고유점도를 30 °C에서 Ubbelode 점도계로 측정된 결과는 Fig. 1과 Table 2와 같다. Fig. 1에서와 같이 specific viscosity(η_{sp})를 농도(C)로 나눈 viscosity

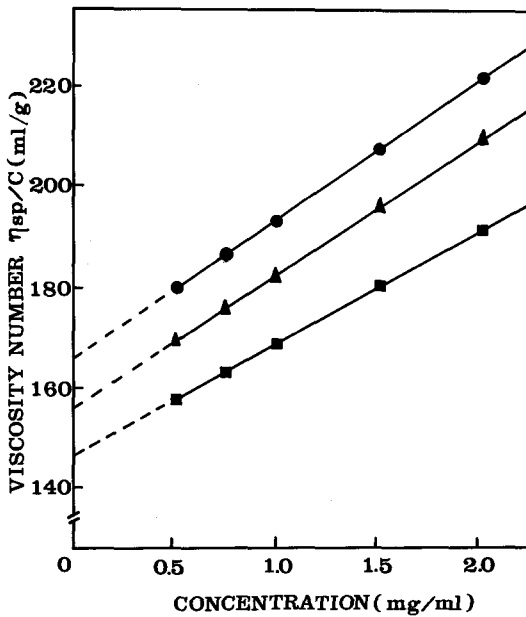


Fig. 1. Plot of viscosity number vs. concentration of rice amylopectin solutions.

Chunmabyeo(■), Yongmunbyeo(▲), and Mahatma(●).

Table 2. Rheological parameters of rice amylopectins

| Variety | Intrinsic viscosity[η](ml/g) | K |
|-------------|-------------------------------------|------|
| Chunmabyeo | 148.3 | 0.98 |
| Yongmunbyeo | 156.6 | 0.98 |
| Mahatma | 167.5 | 0.94 |

number(η sp/c)와 농도와와의 관계에 관한 Huggins식¹⁰⁾ η sp/c = $[\eta] + K[\eta]^2 \times C$ 에 잘 적용되었다. 여기서 K는 interaction coefficient로서 Huggins정수이다. 각종 쌀아밀로펙틴을 30°C에서 0.15N KOH에 용해시켜 측정된 고유점도는 172-221 ml/g으로 보고되었으며¹⁶⁾, 본 실험에서는 이 값들보다는 조금 낮은 값을 보였다. K값은 0.94-0.98로 품종간에 큰 차이가 없었다. K값은 용질입자의 형태 및 강도 또는 용매와 용질의 상호작용으로 결정되는 값이며, 용질내의 결합강도가 커질수록 그 값이 커지고, 용질입자가 구형이면 그 값은 2에 가까워진다고 하였다¹⁷⁾.

β -Amylolysis limit(%)

쌀 아밀로펙틴의 β -amylolysis limit(%) 측정 결과는 Table 3과 같다. 천마버, 용문버의 경우 각각 54.6와 55.4로 차이가 없었지만 마하트마의 경우 52.9로 다른 품종

Table 3. β -Amylolysis limit(%) and average chain length(glucose units) of rice amylopectins

| Variety | β -Amylolysis limit(%) | CL | OCL | ICL |
|-------------|------------------------------|------|------|-----|
| Chunmabyeo | 54.6 | 23.1 | 14.6 | 7.5 |
| Yongmunbyeo | 55.4 | 24.1 | 15.4 | 7.7 |
| Mahatma | 52.9 | 25.0 | 15.2 | 8.8 |

CL : Average unit chain length(glucose units)
 OCL : Average outer chain length(glucose units)
 ICL : Average inner chain length(glucose units)

보다 그 값이 낮았다. Juliano¹⁶⁾는 쌀 아밀로펙틴의 β -amylolysis limit(%)의 값이 49-58이라 하였다.

평균 사슬길이

쌀 아밀로펙틴의 평균사슬길이(\overline{CL}), 바깥사슬길이(\overline{OCL})와 안쪽사슬길이(\overline{ICL})는 Table 3과 같다. 평균사슬길이는 바깥사슬길이 보다 안쪽사슬길이에 영향받는다 고 생각된다. 이 결과는 조등¹⁷⁾과 김등¹⁸⁾이 보고한 쌀의 값과 비슷하며, 다른 전분¹⁴⁾과 보리¹⁹⁾의 값과도 비슷한 값을 보였다. 따라서 아밀로펙틴의 평균사슬길이는 각종 전분에서 큰 차이를 보이지 않음을 알 수 있다.

겔 크로마토그래피

쌀아밀로펙틴에 β -amylase를 처리하여 가수분해시킨 후 Sephadex G-50 컬럼에 의한 용출곡선은 Fig. 2와 같다. Fig.에서와 같이 void volume 부근(Peak I)과 \overline{DP} 3 부근(Peak II)에 두개의 주요 peak가 보였다. 품종 간의 용출곡선의 차이는 없었으며, Peak I의 분획분은 β -amylase에 의해서 적용받지 않는 β -limit dextrin 이고 Peak II의 분획분은 조등¹⁷⁾이 보고한 바와 같이 주로 아밀로펙틴의 바깥사슬이 β -amylase에 의해 분해된 maltotriose 와 maltose 라고 추정된다.

쌀아밀로펙틴과 탈지한 참쌀전분을 pullulanase로 처

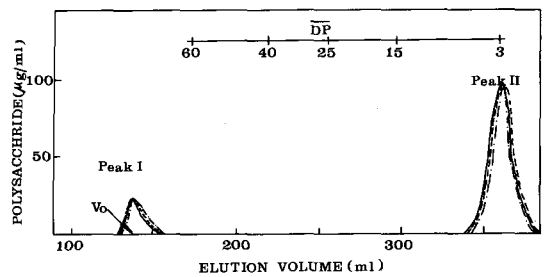


Fig. 2. Elution profiles on Sephadex G-50 of rice amylopectins hydrolyzed with β -amylase.

Chunmabyeo(—), Yongmunbyeo(.....), and Mahatma(-.-.-).

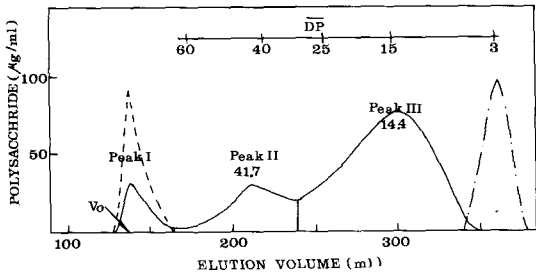


Fig. 3. Elution profiles on Sephadex G-50 of Chunmabyeo rice amylopectin.

.....Native, — Pullulanase debranched, and
 --- Pullulanase and β -amylase treated.

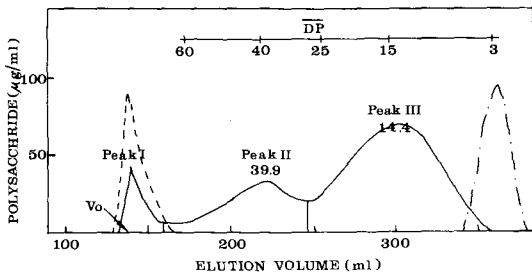


Fig. 4. Elution profiles on Sephadex G-50 of Yongmunbyeo rice amylopectin.

.....Native, — Pullulanase debranched, and
 --- Pullulanase and β -amylase treated.

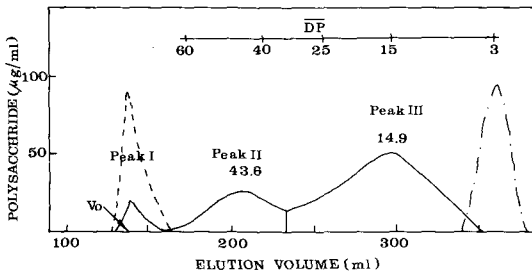


Fig. 5. Elution profiles on Sephadex G-50 of Mahatma rice amylopectin.

.....Native, — Pullulanase debranched, and
 --- Pullulanase and β -amylase treated.

리한 후 분획한 용출곡선과 pullulanase와 β -amylase를 순차적으로 처리한 후의 용출곡선은 Fig. 3, 4, 5 및 6과 같다. 또 각 peak에서의 사슬길이(DP)와, 두 peak의 경계에서 각 peak를 절단한 면적과 Peak II에 대한 Peak III의 면적비율은 Table 4, Table 5에 나타내었다. Pull-

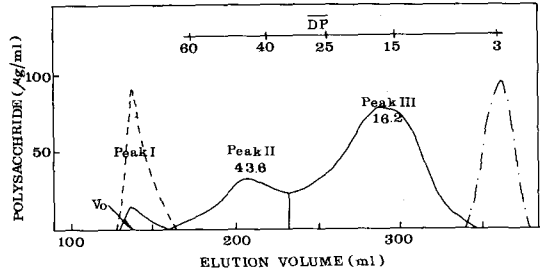


Fig. 6. Elution profiles on Sephadex G-50 of waxy rice starch.

.....Native, — Pullulanase debranched, and
 --- Pullulanase and β -amylase treated.

Table 4. Constitutive chain population of rice amylopectin after debranching with pullulanase

| Variety | Debranched material (%) | | | Ratio Peak III/Peak II |
|-------------|-------------------------|---------|----------|---------------------------|
| | Peak I | Peak II | Peak III | |
| Chunmabyeo | 6.5 | 19.1 | 74.4 | 3.9 |
| Yongmunbyeo | 8.7 | 20.6 | 70.7 | 3.4 |
| Mahatma | 4.8 | 22.1 | 73.1 | 3.3 |
| Waxy rice | 4.1 | 20.0 | 76.0 | 3.8 |

Table 5. Chain length of each peak after debranching with pullulanase

| Variety | Chain length(DP)* | |
|-------------|-------------------|----------|
| | Peak II | Peak III |
| Chunmabyeo | 41.7 | 14.4 |
| Yongmunbyeo | 39.9 | 14.4 |
| Mahatma | 43.6 | 14.9 |
| Waxy rice | 43.6 | 16.2 |

*DP; Degree of polymerization

anase로 처리한 경우, 세 품종의 쌀아밀로펙틴과 찹쌀전분은 세 개의 주요 peak, 즉 void volume부근(Peak I), DP35~45(Peak II)와 DP10~20(Peak III)을 보였다. 따라서, 쌀아밀로펙틴과 찹쌀전분은 비슷한 분자구조를 가질 것으로 생각된다. 그러나 각 peak의 사슬길이(DP)가 Peak II에서 39.9~43.6, Peak III에서 14.4~16.2로 다양하고, 각 peak의 면적비율도 다르며, Peak II에 대한 Peak III의 면적비율도 3.3~3.9로 차이가 있는 것으로 보아, 쌀아밀로펙틴간에 또는 찹쌀전분사이에선 전분과 아밀로펙틴을 구성하는 사슬의 길이와 각 사슬들간의 비율이 차이가 있다고 생각된다. Asaoka 등²⁰⁾은 벼의 성장기간 동안에 온도가 높아질수록 쌀아밀로펙틴의 긴 B사슬의 양이 증가하고, 짧은 사슬의 양이 감소한다고 하였다. 용출곡선의 Peak I은 아밀로펙틴을 분리할 때 완전히 제

거 되지 못한 아밀로오스이거나²¹⁾, pullulanase에 의해 절단 된 사슬들이 다시 영긴 것이라 생각된다. Robin등²²⁾은 아밀로펙틴이 중합도(DP)가 다른 두 가지 종류의 사슬로 구성되어 있음을 밝혔고, 본 연구에서도 void volume의 Peak I을 제외한 두개의 peak를 보임으로서 길이가 다른 두 종류의 사슬이 아밀로펙틴을 구성함을 알 수 있었다. 용문벼와 마하트마의 Peak II에 대한 Peak

III의 면적비율이 천마벼보다 낮았다. 이 사실은 용문벼와 마하트마가 다른 품종보다 아밀로펙틴의 DP 10~20의 짧은 사슬을 적게 가지고 있다는 것을 의미한다. Pullulanase와 β -amylase를 순차적으로 처리하면 Peak I이 사라지는데 이것은 아밀로펙틴이 완전히 maltotriose와 maltose로 분해되었기 때문이라고 생각되며, 이때의 용출곡선은 품종간에 차이가 없었다.

참 고 문 헌

1. Juliano, B. O. : Proceedings of the workshop on chemical aspects of rice grain quality, IRRRI, Los Banos, Philippines, p.69(1979)
2. Juliano, B. O. : Food Technology, 116(1965)
3. 김순미, 김광옥, 김성곤 : 한국식품과학회지, 18 : 393(1986)
4. 이순옥, 김성곤, 이상규 : 한국농화학회지, 26 : 1 (1983)
5. 정혜민, 안승요, 김성곤 : 한국농화학회지, 25 : 67 (1982)
6. 길복임, 임양순, 안승요 : 한국농화학회지, 31 : 249 (1988)
7. 이신영, 변유량, 조형용, 이상규 : 한국식품과학회지, 19 : 371(1987)
8. Sowbhagya, C. M. and Bhattacharya, K. R. : Staerke, 31 : 159(1979)
9. Montogmery, E. M. and Senti, F. R. : J. Polymer Sci., 28 : 1(1964)
10. Greenwood, C. T. : In "Methods in Carbohydrate Chemistry", Whistler, R. L.(ed), Academic Press, N. Y., Vol. 4, p.179(1964)
11. Dubois, M., Gilles K. A., Hamilton, J. K., Rober, P. A. and Smith, F. : Anal. Chem., 28 : 350 (1956)
12. Suzuki, A., Kayanama, M., Takeda, y. and Hizukuris, S. : J. Jpn. Soc. Starch Sci., 33 : 191 (1986)
13. Nelson, N. : J. Biol. Chem., 153 : 375(1944)
14. Potter, A. A. and Hassid, W.Z. : J. A. C. S., 70 : 3488(1948)
15. Lee, E. Y. C., Carter, J. H., Nielson, L. D. and Flscher, E. H. : Biochemistry, 9 : 2347(1970)
16. Juliano, B. O. : In "Rice : Chemistry and Technology", Juliano, B. O.(ed), AACC, St. Paul, Minnesota, USA, p.59(1985)
17. 조형용, 이신영, 양용, 변유량 : 한국식품과학회지, 19 : 371(1987)
18. 김성곤, 한태룡, 이양희, 비.엘. 다포로니아 : 한국식품과학회지, 10 : 157(1978)
19. 최준복 : 강원대학교 석사학위논문(1985)
20. Asaoka, M., Okuno, K., Hara, K., Oba, M. and Fuwa, H. : J. Jpn. Soc. Starch Sci., 36 : 1(1989)
21. Macgreger, A. W. and Morgan, J. E. : Cereal Chem., 61 : 222(1984)
22. Robin, J. P., Mercier, C., Charbonnier, R. and Guilbot, A. : Cereal Chem., 51 : 389(1974)

Molecular Structural Properties of Rice Amylopectins

Bong-Chan Kim and Seung-Yo Ahn*(Technology Research Institute, Sunill Glucose Co., Ltd., Incheon, *Dept. Food and Nutriution, Seoul National University, Seoul)

Abstract : The molecular structural properties of amylopectins of Chunmabyeo(Japonica), Yongmunbyeo(Indica x Japonica) and Mahatma(Indica) rice were investigated. The intrinsic viscosity of Chunmabyeo, Yongmunbyeo and Mahatma amylopectin were 148.3 ml/g, 156.6 ml/g and 167.5 ml/g, and β -amylolysis limit(%) were 54.6, 55.4 and 52.9 respectively. Average unit chain length(CL) and average inner chain length(ICL) of Mahatma amylopectin were longer than other varieties. Elution profiles by Sephadex G-50 chromatography of debranched amylopectins with β -amylase showed two peaks (void volume, DP3) and the elution profiles of debranched amylopectins with pullulanase showed three peaks(void volume, DP35-45, DP10-20). The ratio of Peak III(DP10-20) to Peak II(DP 35-45) of Chunmbyeo, Yongmunbyeo and Mahatma amylopectin were 3.9, 3.4 and 3.3, respectively.