

압출성형 고아밀로즈 옥수수전분의 결정 구조

김지용 · 이철호

고려대학교 생명공학원 식품가공핵심기술연구센터

Crystalline Structure of the Extrudate of High Amylose Corn Starch

Ji-Yong Kim and Cheri-Ho, Lee

Center for Advanced Food Science and Technology (CAFST)
Graduate School of Biotechnology, Korea University

Abstract

Crystalline structure of the extrudate of high amylose corn starch was studied by X-ray diffractometer and ^{13}C NMR. The X-ray diffraction crystal ratio of the extrudates (barrel temperature 100°C) of high amylose corn starch slightly increased from 6.08% to 8.37% by increasing feed moisture content from 25% to 45%. But extrudates of high amylose corn starch showed similar crystal ratio on various extrusion conditions. Extrudates of high amylose corn starch (feed moisture content 20%, barrel temp 140°C) showed more enlarged crystal structure than that of non-extrudates. The perpendicular distance of crystal increased by extrusion. Crystal ratio was changed from 6.3~8.3% to 4.5~5.8% during storage at 4°C . Starch configuration was examined with ^{13}C NMR. Double helical content was measured by ^{13}C NMR method. The highest double helical content (60%) was obtained from high amylose corn starch extrudate (barrel temp. : 100°C , feed moisture content 45%). Double helical contents and resistant starch (RS) yields (pancreatin) were positively correlated. However, double helical content of the extrudates was not changed by the storage at 4°C .

Key words: X-ray diffraction, high amylose corn starch, extrusion, ^{13}C NMR

서 론

식이섬유와 유사한 성질을 갖는 난소화성 전분(RS, Enzyme-resistant starch)을 식품 압출 성형기(food extruder)를 반응기로 사용하여 제조할 수 있음을 전보에 발표하였다⁽¹⁾. 고아밀로즈 전분을 비교적 높은 원료수분함량(45%)과 낮은 바렐온도(100°C)에서 압출 성형시킴으로서 기존의 방법보다 효과적으로 난소화성 전분을 생산할 수 있었다. 난소화성 전분의 구조적 특성을 조사하기 위하여는 X-ray diffraction 을 이용한 연구, DSC (Differential scanning calorimetry)를 이용한 연구, NMR에 의한 연구 등이 가능하다. X-ray diffraction 연구에서는⁽²⁾ 난소화성 전분의 long chain crystalline order에 관하여 조사하며, DSC를 이용한 연구⁽³⁾에서는 결정구조의 transition과 용융과정에서의

endothermic heat flow를 측정하여 결정구조의 존재여부를 밝힐 수 있다. 한편, high resolution solid state (CP/MAS) ^{13}C -NMR을 이용하면 X-ray diffraction 보다 더욱 확장된 전분 helicity의 구조를 관찰할 수 있으며, 고체 전분 시료의 double helix 조성의 측정에도 이용된다^(4,5).

본 실험에서는 X-ray diffraction과 high resolution solid state (CP/MAS) ^{13}C -NMR을 이용하여 고아밀로즈 옥수수 전분 압출성형물의 구조적 특성을 이해하고 이때 형성되는 난소화성 전분의 구조적 특성을 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

난소화성 전분의 제조

일반 옥수수 전분 및 고아밀로즈 옥수수 전분은 선일포도당(주)에서 구입하였다.

전보⁽¹⁾에 기술한 바와 같이, 120°C 고압솥을 이용한

Corresponding author: Cheri-Ho Lee, Center for Advanced Food Science and Technology (CAFST), Graduate School of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea

가열냉각 처리를 5회 반복하여 회분식 탄소화성 전분을 제조하였으며 압출성형에 의한 방법으로는 동방향 (co-rotating) 쌍축형(twin-screw) 압출성형기(백상기계)를 사용하여 원료의 수분함량 25, 35, 45%, 바렐온도 100, 120, 140°C의 3수준에서 압출성형된 시료를 사용하였다.

X-ray diffraction 실험

X-ray diffractometer (Rigaku Co., Model: Geiger Flex DMAX-IIA, Japan)를 이용한 회절시험에서 target은 Cu (파장: 0.154 nm)를 사용하였으며, scan speed: 4 deg/min, start angle: 5, stop angle: 50의 조건으로 회절 각도(2θ) 5~30°까지 회절시켜 분석하였다.

X-ray diffraction pattern은 직접적으로 결정구조 사이의 원자의 배열에 영향을 받는다. 회절빔과 투과빔 사이의 회절각 2θ를 측정하였다. 회절곡선의 극대치 (peaks)의 위치는 결정면의 간격을, 높이는 결정의 크기를 나타낸다⁽⁶⁾. X-ray 분석에 이용되는 Bragg 법칙⁽⁷⁾은 다음과 같다.

$$\lambda = 2d \sin \theta$$

λ: radiation의 파장
 d: successive planes간의 perpendicular distance
 θ: plan과 beam간의 각도

파장 λ를 알고있는 X-선을 이용하여 θ를 측정함으로써 결정내의 면간거리d를 결정할 수 있다.

전분의 상대적 결정화도는 Komiya 등⁽⁸⁾의 방법에 따라 Fig. 1과 같이 X-선 회절도에서 intensity가 최소가 되는 점들을 곡선으로 연결하여 윗부분의 면적 (Ac)을 결정부분으로, 아랫부분의 면적(Aa)을 비결정부분으로 하여 Ac/(Ac+Aa)를 상대적 결정화도로 계산하였다.

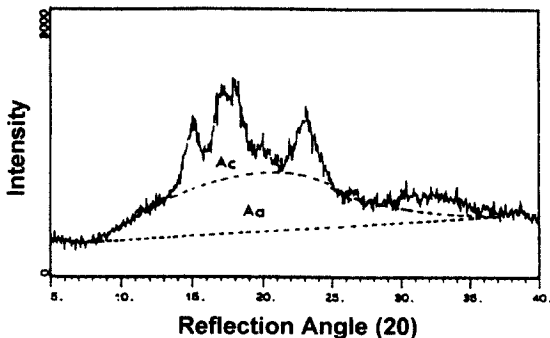


Fig. 1. Starch X-ray pattern for relative crystallity. Ac: crystal region/Aa: amorphous region.

Table 1. ¹³C CP/MAS NMR condition for molecular organization analysis in starch

¹³ C spectra of 75.495 MHz
Magic angle spinning : 3 kHz
Acquisition time : 0.05 sec
Spectrum with : 50 kHz
Recycle time : 5 sec
Contact time : 500 μs
Scanning time : 600 times

면적은 origin 4.0 program을 이용하여, 기저선으로부터 계산하였다.

¹³C CP/MAS NMR 분석

Varian Unity 500 Mhz Spectrometer를 사용하여 cross polarization/magic angle spinning (CP/MAS)를 얻었다. 7 mm diameter rotor를 사용하였고 실험조건은 Table 1과 같다.

¹³C CP/MAS NMR spectra 분석방법은 Michael⁽⁹⁾ 등의 분석방법을 사용하였다. α-1,4-glucan의 NMR 결과 이중나선, 단일나선, 무정형 물질이 각각 glucose의 1번과 4번 탄소 NMR 결과에 차이를 보이는데 특히 1번 탄소의 NMR peak의 차이가 중요하게 나타난다. α-1,4-glucan에서 glucose의 탄소 각각의 peak는 C₁: 94~106 ppm, C₆: 60~64 ppm, C₂, C₃, C₅: 70~76 ppm, C₄: 76~84 ppm로 나타나며 1번 탄소의 peak는 double helical: 99~102 ppm, single helical: 103~104 ppm, 이의 무정형 물질은 94~106 ppm의 wide range에 broader spectrum을 나타낸다. 1번 탄소 ppm spectrum range에서 peak를 보이는 ppm을 비교하여 각각 peak의 면적 비율로 double helical, single helical의 구성비율을 비교하였다.

결과 및 고찰

생전분과 가압술 가열냉각 전분의 X-ray 회절 패턴

고아밀로즈 옥수수 전분, 일반 옥수수 전분 각각의 생전분과 이들을 고압술에서가열 냉각 처리를 5회 반복한 시료의 X-ray diffraction pattern은 Fig. 2와 같다.

이는 Gidley 등⁽⁹⁾의 연구결과와 마찬가지로, 고아밀로즈 전분은 2θ값이 16~19 사이에서 한개의 peak를 나타내는 B type을, 일반 전분은 명확한 두개의 peak를 보이는 전형적인 A type X-ray diffraction pattern을 보였다. 회분식 가열 냉각 5회시의 X-ray pattern을 비교시 두 전분 모두 결정성이 줄어들어 pattern이 보다 broad해지는 경향을 보였다.

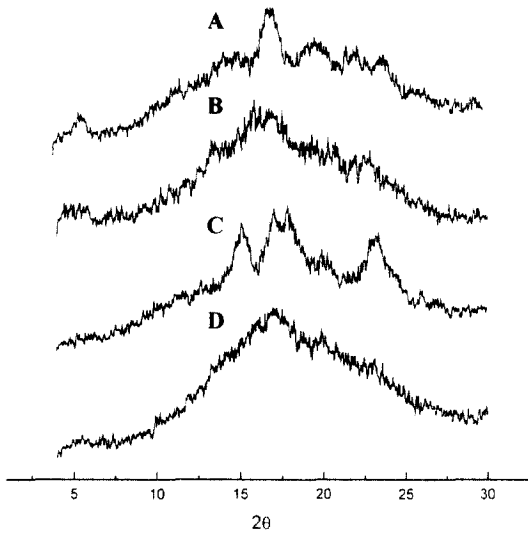


Fig. 2. X-ray diffraction patterns. (A) High amylose corn starch, (B) High amylose corn starch autoclaving/cooling 5 times, (C) Corn starch, (D) Corn starch autoclaving/cooling 5 times.

고아밀로즈인 경우는 peak값이 약해지면서 2θ값이 작은 쪽으로 약간 shift 되는 경향을 보이며, 2θ값이 작은쪽에 작은 peak가 생겼는데 이는 Gidley 등⁶⁾의 결과와 일치한다. 이러한 peak의 2θ값으로 결정격자의 면간 거리를 Bragg법칙⁶⁾을 이용하여 구할 수 있다. 이는 2θ값이 작을수록 결정 격자의 면간거리 d가 커지는 결정구조를 말하는데, 고아밀로즈 전분을 회분식 가열 냉각시의 X-ray pattern 결과에서 약간 커진 결정 격자 거리를 가지는 B-type crystalline 구조로의 변화를 말한다.

압출성형 고아밀로즈 옥수수 전분의 X-ray pattern은 Fig. 3과 같다. 일반적으로 생전분에 나타나는 17번 값(2θ) peak가 압출조리에 의하여 전체적으로 크기가 작아지는 경향을 보인다.

수분함량 45%, 바렐온도 100°C의 X-ray 회절결과 peak의 높이는 작아졌으나 Fig. 2의 생전분과 가장 유사한 pattern을 보여준다. 투입원료 수분함량 35%, 45%에서는 바렐온도 상승시 peak가 broad해지는 결과를 보이며 또한 peak를 나타내는 2θ값이 20° 이상에서는 없어지는 결과를 보인다. 이러한 결과는 고아밀로즈 압출성형물이 수분함량 35%, 45% 정도의 수분 존재시 온도 증가에 의하여 결정격자 간격 d가 작은 조밀한 결정구조가 붕괴되고, 느슨한 결정구조들이 약간 잔존하는 것으로 사료된다.

X-선 회절에서 전분의 상대적 결정화도는 Komiya

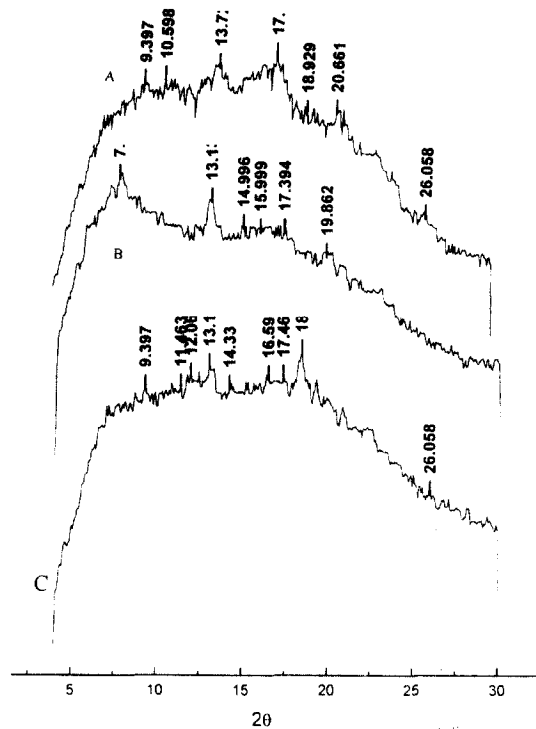


Fig. 3. X-ray diffraction patterns of high amylose corn starch extrudates. (A) barrel temperature 100°C, feed moisture content : 45%, (B) barrel temperature 120°C, feed moisture content : 35%, (C) barrel temperature 140°C, feed moisture content : 25%, *Number above peaks indicate peak 2θ.

등⁶⁾의 방법에 의하여 intensity가 최소가 되는 점들을 곡선으로 연결하여 윗부분의 면적을 (Ac) 결정부분으로 하여 상대적 결정화도로 계산한 결과는 Table 2에 나타내었다. 수분함량 25%에서는 바렐온도와 상관없이 유사한 결정화도를 가지나 원료 수분 함량 증가시

Table 2. Changes in X-ray diffraction crystal ratio of high amylose corn starch by extrusion condition

Extrusion condition		Crystal ratio (%)	Resistant starch (%)
Barrel temp. (°C)	F.M.C. ^{a)} (%)		
100	25	6.08	34.7
	35	6.65	37.4
	45	8.37	38.4
120	25	6.11	17.3
	35	7.00	20.7
	45	5.38	28.5
140	25	6.26	11.5
	35	5.58	11.2
	45	5.90	24.9

^{a)}Feed moisture content (%)

특히, 100°C인 경우 높은 결정화도를 나타내었는데 120~140°C의 고온 압출성형에서 polysaccharide chain의 dextrin화가 진행된 것에 기인하는 것으로 사료된다. 또한 X-ray 결정화도와 난소화성과는 서로 무관한 결과를 나타내었다.

고아밀로즈 생전분의 상대적 결정화도는 20.2%, 일반전분의 상대적 결정화도는 27.8%로 나타났는데, 이들의 회분식 가열 냉각 5회 가공시에는 고아밀로즈옥수수전분이 16.7%, 일반전분이 9.9%의 상대적 결정화도를 나타내었다. 이는 Pavinee 등⁽¹⁰⁾의 결과와 마찬가지로 생전분으로 존재하는 amylopectin이 주로 결정성에 영향을 주며, 가열 냉각 후에는 주로 amylose 부분이 결정성에 영향을 주기 때문이라는 주장과 일치한다. Table 3은 저장중 X-ray diffraction 결과에 따른 결정성의 변화로서 저장중에 결정성은 약간씩 감소하였다. 이는 고 등⁽¹¹⁾의 결과와 일치하는 것으로 잔존 수분에 의한 결정성 구조의 변형에 기인하는 것으로 해석되고 있다.

¹³C NMR 결과

Michael 등⁽⁶⁾의 분석방법을 사용하여 이중나선과 단일나선 구조의 구성비율을 구하였다. Fig. 4는 high amylose corn starch와 회분식 가열 냉각 처리를 5회 반복한 전분과 압출성형전분(바렐온도 100°C, 투입원료 수분함량 25%)의 NMR 결과이다. 생전분은 53% 이중나선 구조 및 33%의 단일나선 구조 비율을 나타냈으며, 회분식 가열 냉각 처리를 5회 반복한 전분은 이중나선구조 52.3% 및 단일나선구조 41.1%의 비율을 나타내었다. 이는 Gidley 등⁽¹²⁾의 연구결과에서 나타난 60~70%의 이중나선구조 구성비율 보다는 약간 낮은 비율이다.

Table 4는 바렐온도가 낮고(100°C), 원료 수분 함량이 높은(45%) 경우와 바렐온도가 중간(120°C)이고 원료 수분 함량도 중간(35%)인 경우, 그리고 바렐온도가 높고(140°C) 원료 수분 함량이 적은(25%) 3가지 고아밀로즈 압출성형물과 각각 4°C에서 4주 저장시의

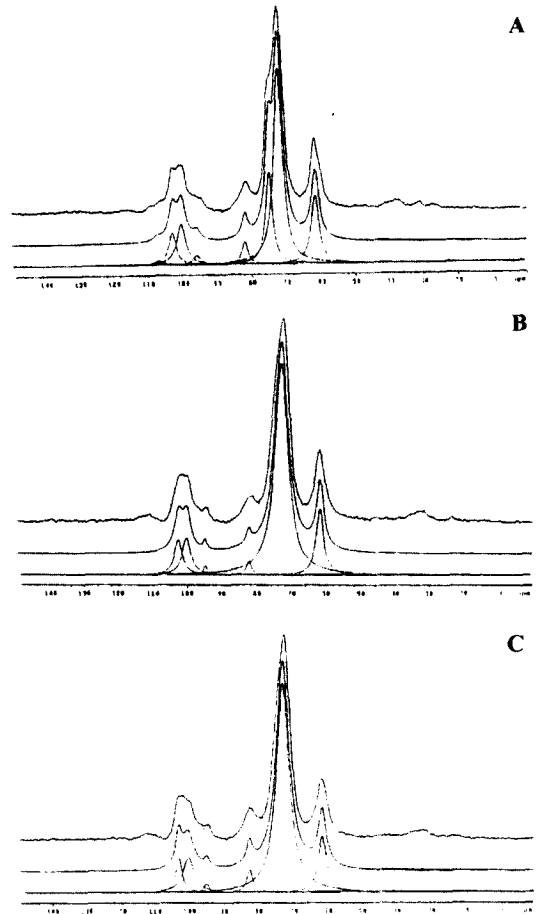


Fig. 4. ¹³C CP/MAS NMR spectra of high amylose corn starch. (A) Raw starch, (B) autoclaving/cooling 5 times, (C) extrudate (barrel temperature 100°C, feed moisture content : 45%).

NMR 결과를 통한 이중나선구조 비율을 비교한 것이다. 이중나선구조 비율은 바렐온도 상승시, 원료수분 함량이 적을수록 그 비율이 60%에서 42.5%로 감소되었고 저장 중에는 큰 변화를 보이지 않았다. 전보⁽¹⁾에서 발표한 pancreatin에 의한 난소화성 전분 수율과 비

Table 3. Changes in X-ray diffraction crystal ratio of high amylose corn starch extrudates by the storage at 4°C

Extrusion condition		Crystal ratio (%)			Resistant starch (%) after 4 weeks storage
Feed moisture content (%)	Barrel temp. (°C)	no storage	4 weeks storage		
25	140	6.3	4.5	33.8	
35	120	7.0	5.2	35.1	
45	100	8.3	5.8	60.0	

Table 4. Changes in NMR double helical content of high amylose corn starch extrudates by extrusion condition and storage time

Extrusion condition		Double helical content (%)	
Feed moisture content (%)	Barrel temp. (°C)	no storage	4 weeks storage
25	140	42.5	40.3
35	120	47.7	49.9
45	100	60.0	60.0

문 헌

교시 난소화성 전분 수율과 이중 나선구조 구성 비율은 저장전에는 서로 연관성을 가지나 저장중의 변화에는 연관성을 가지지 않는 것을 나타낸다.

이상의 결과를 종합해 볼때 저장중 난소화성 전분 수율의 변화는 이중나선구조 구성비율의 변화를 동반하지 않는 다른 형태의 구조적 변형에 의한 것이라 사료된다. 전보⁽¹⁾에서 언급한 바와 같이 저장중의 전분의 소화성 변화는 주로 전분구조의 retrogradation에 의한 것으로 설명되고 있으나, 이 현상에서 일어나는 분자구조 변화에 대한 좀더 구체적인 연구가 필요하다.

요 약

압출성형 방법에 의하여 고아밀로즈 옥수수전분으로부터 제조된 난소화성 전분의 분자구조적 특징을 규명하기 위하여 X-ray 회절 실험과 ¹³C NMR 분석을 시도하였다. X-ray를 이용한 전분구조분석에서 전분의 결정 구조 비율은 압출성형시 낮은 바렐온도(100°C)에서는 원료투입 수분함량 증가시(25~45%) 6.08%에서 8.37%로 약간 증가하는 경향을 보였으며, 시료간의 큰 차이는 보이지 않았다. X-ray pattern에서 peak 2θ 비교시 고 아밀로즈 압출성형물이 투입원료 수분함량이 감소하고(45 → 25%), 바렐온도가 상승하면(120 → 140°C) 결정격자 간격 d가 작은 조밀한 결정구조가 붕괴되고 d가 증가한 느슨한 결정구조로 변형됨을 알 수 있다. 4°C 저장중 압출성형된 고아밀로즈 옥수수 전분 결정 비율은 4주 저장 후에(6.3~8.3%)에서(4.5~5.8%)로 약간 감소되는 결과를 나타내었다. ¹³C NMR 실험을 통한 이중나선 구조 비율은 바렐온도 상승시, 투입원료 수분함량이 적을수록 그 비율이 60%에서 42.5%로 감소되었고 저장 중에는 큰 변화를 보이지 않았다. 전보에서 발표한 pancreatin에 의한 난소화성 전분 수율과 비교해 보면, 이중 나선구조 구성 비율은 저장전에는 서로 상관관계가 있어 보이나 저장중 변화에서는 서로 연관성을 나타내지 않았다. 즉, 저장중 난소화성 전분수율의 증가는 X-ray 분석에 의한 상대적 결정성화가 약간 감소하면서 이중나선구조 비율에는 변화가 없는 특징적 분자구조 변형에 의한 것이라 사료된다.

1. Kim, J.Y. and Lee, C.H.: Formation of enzyme resistant starch by extrusion cooking of high amylose corn starch (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**(5), 1128-1133 (1998)
2. Sievert, D and Czuchajowska, Z.: Enzyme-resistant starch. III. X-ray diffraction of autoclaved amylo maize VII starch and enzyme-resistant starch residues. *Cereal Chem.*, **68**(1), 86-90 (1991)
3. Gruchala, L. and Pomeranz, Y.: Enzyme-resistant starch : studies using differential scanning calorimetry. *Cereal Chem.*, **70**(2), 163-168 (1993)
4. Gidley, M.J. and Bociek, M.: Molecular organization in studies. : A ¹³C CP/MAS NMR study. *J. Am. Chem.*, **107**, 7040-7044 (1985)
5. Gidly, M.J. and Bociek, M.: ¹³C CP/MAS NMR studies of amylose inclusion complexes, cyclodextrins, and the amorphous phase of starch granules. relationships between glycosidic linkage conformation and solid-state ¹³C chemical shifts. *J. Am. Chem.*, **110**, 3820-3829 (1988)
6. Komiya, T., Nara, S. and Tsu, M.: Change in crystallinity and gelatinization phenomena of potato starch by acid treatment. *Starch*, **38**., 9-14 (1986)
7. Cullity, B.D.: Elements of X-ray diffraction, 2 nd ed., University of Notre Dame, Indiana, p. 108 (1990)
8. Michael, J., Gidley and Stephen, M., Bociek: ¹³C CP MAS NMR studies of amylose inclusion complexes, cyclodextrins, and the amorphous phase of starch granules. : relationships between glycosidic linkage conformation and solid-state ¹³C chemical shifts. *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 3820-3829 (1988)
9. Gidley, M.J. and Bulpin, P.V.: Crystallisation of malto-oligosaccharides as models of the crystalline forms of starch : minimum chain-length requirement for the formation of double helices. *Carbohydrate Research*, **161**, 291-300 (1987)
10. Pavinee, C. and Steinberg, M.D.: Crystallinity of waxy maize starch as influenced by ambient temperature absorption and desorption, sucrose content and water activity. *J. Food Sci.*, **51**(4), 997-1000 (1986)
11. Ko, J.D., Choi, O.J., Park, S. K., Ha, H.S. and Sung, N. K.: Changes in physicochemical properties of rice starch from rice stored at different conditions (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**(3), 306-312 (1995)
12. Gidley, M.J., Cooke, D., Darke, A.H., Hoffmann, R.A. and Russell, A. L.: Molecular order and structure in enzyme-resistant retrograded starch. *Carbohydrate Polymers*, **28**, 23-31 (1995)

(1998년 5월 13일 접수)