

# 녹말 나노 입자의 연구 현황

Current research trends on starch nanoparticles (SNPs)

오선민<sup>1</sup> · 백무열<sup>1\*</sup>

Seon-Min Oh<sup>1</sup>, Moo-Yeol Baik<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>경희대학교 생명자원과학연구원 식품생명공학과 및 생명공학원  
<sup>1</sup>Department of Food Science and Biotechnology, Institute of Life Science and Resources,  
Graduate School of Biotechnology, Kyung Hee University

## Abstract

In recent years, starch nanoparticles (SNPs) have been received much attention due to their unique characteristics different from native starch. Also, SNPs have economic and environmental advantages because they are prepared from starch, a cheap and safe natural polymer. It can be used in various industrial applications such as food additives, drug carriers, etc. SNPs have been prepared using different methods and their physicochemical, functional properties and possible industrial applications have been reported. Based on these studies, SNPs are expected to be the promising food materials and expand their utilization in many industries in the future. This review covered the overall researches on SNPs, including prepara-

tion, physicochemical and functional properties, and discussed their current and future applications including resistant starch materials.

Keywords: starch; starch nanoparticle (SNP); physicochemical properties; functional properties; resistant starch

## 서론

식품가공, 기능성 식품 개발 및 식품 안전성과 같은 다양한 식품 산업에서 나노 기술을 이용한 다양한 응용방법들이 많은 주목을 받고 있다. 나노 기술은 물질의 입자 크기를 감소시킴으로써 bulk한 물질과는 다른 독특한 물리화학적 및 기능적 특성을

\*Corresponding author: Moo-Yeol Baik,  
Department of Food Science and Biotechnology Institute of Life Science and Resources  
Graduate School of Biotechnology Kyung Hee University, Yongin, 17104, South Korea  
Tel: +82-31-201-2625  
Fax: +82-31-204-8116  
Email: mooyeol@khu.ac.kr  
Received October 15, 2019; revised November 18, 2019; accepted November 19, 2019



갖게 한다. 이렇게 얻어진 나노 입자는 10-1000 nm 범위의 분산액, 콜로이드, 고체 입자로 정의된다. 일반적으로 나노 입자는 구성 성분에 따라 무기 및 무기 나노 입자로 나뉘며, 무기 나노 입자는 산화철, 은, 이산화 티탄 등과 같은 무기질 입자로, 유기 나노 입자는 단백질, 지질 및 탄수화물 등으로 구성된다. 유기 나노 입자가 무기 나노 입자보다 독성이 낮으며 그 중, 천연 유기 나노 입자가 식품 산업에서의 응용에 더 적합하지만, 이들 입자는 순도가 낮고 분리가 어렵다는 문제점이 있다(Kim 등, 2015; Kaur 등, 2018). 따라서, 유기 물질로 이루어진 나노 입자의 개발, 특히 천연 물질을 이용한 나노 입자 개발에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 여러 천연 재료 중, 녹말은 재생성과 비독성, 생체 적합성 및 생분해성을 지닌 다당류 중합체로서 천연 나노 입자를 제조하는데 적합하다. 녹말로부터 생산된 나노 입자는 지질 미셀 유사체, 식품 포장재, 약물 전달체, 생분해 식용 필름 등 광범위하게 사용될 수 있다. 이처럼 녹말 나노 입자는 천연 녹말의 물리적인 한계 특성을 개선하여 응용범위가 넓다는 점과 더불어 대량 생산이 가능하다는 장점이 있다. 따라서, 녹말을 기반으로 한 나노 기술은 새로운 식품소재의 연구 및 개발에 효과적이고 유망한 녹말 변형 기술로 그 영역이 더 넓어질 것으로 예상된다. 따라서 본 고에서는 현재까지 보고된 녹말 나노 입자의 제조 방법들과 이들의 물리화학적 및 기능적 특성에 대해 살펴보고 향후 응용분야에 대해 논의하고자 하였다.

## 본론

### 1. 녹말의 구조

녹말은 아밀로스(amylose)와 아밀로펙틴(amylopectin)으로 구성되어 있다. 아밀로스와 아밀로펙틴은 그 구조가 다르며 물리적, 화학적 성질도 현저

하게 다르다. 아밀로스는 포도당( $\alpha$ -D-glucose)이  $\alpha$ -1,4 결합하여  $\alpha$ -나선형을 가진 선형의 중합체로, 아밀로스를 구성하고 있는  $\alpha$ -glucose는 6-8분자마다 한번씩 회전하는 나선형 구조(helical form)를 갖고 있다. 아밀로스 나선 내부에는 약 10Å의 공간이 있어 요오드 분자나 지방산 분자가 들어가 포접화합물(inclusion compound)을 형성할 수 있다. 반면, 아밀로펙틴의 결합양식은 아밀로스의 경우와 마찬가지로 주로  $\alpha$ -1,4 결합이나, 가지(branch)는  $\alpha$ -1,6 결합에 의해서 형성된다(Le Corre 등, 2010; Kim 등, 2015; Kaur 등, 2018). 아밀로펙틴의 사슬은  $\alpha$ -1,6 결합을 포함하지 않는 A chain 및  $\alpha$ -1,6 결합을 포함하는 B chain과 같은 상대적으로 짧은 사슬, 그리고 환원성 말단을 포함하는 C chain과 같은 긴 사슬 등 세 가지 유형으로 나뉜다. 긴 사슬(C chain)의 평균 중합도는 45-55의 범위이고, 단쇄사슬(A 및 B chains)의 평균 중합도는 14-18의 범위이다.

녹말의 구조는 아밀로펙틴의 결정성영역(crystalline region)과 아밀로스의 무정형 영역(amorphous region)이 중간 중간 섞여서 짜여 있는 형태로 알려져 있다(Kim 등, 2015). 아밀로스와 아밀로펙틴이 녹말에서 차지하는 상대적 함량에 의해 녹말의 특성이 대체로 결정되며, 이에 따라 여러 식물체에서 유래된 녹말의 기능성 및 고유한 성질은 상이하게 된다. 광학 현미경을 통해 녹말 과립을 이루는 150-500 nm 두께의 특징적인 층인 “growth ring”을 관찰할 수 있으며, 이 층은 hilum이라는 중심부에서 시작된다고 알려져 있다. 이것은 무정형과 결정형이 교대로 존재하는 양과와 비슷한 구조로 대략 9-10 nm의 주기로 나타난다. 이러한 주기성은 반결정성인 shell 내에서 발견되는 결정형 및 무정형 lamella에 기인한 것으로 해석된다. 최근 연구에 따르면, 반결정 lamella는 식물 녹말의 공급원 및 과립에서의 위치에 따라 직경이 20-50 nm인 크고 구형의 blocklet으로 조밀하게 밀집되어 있는 것으로 밝혀졌다(Goren 등, 2018) (그림 1).

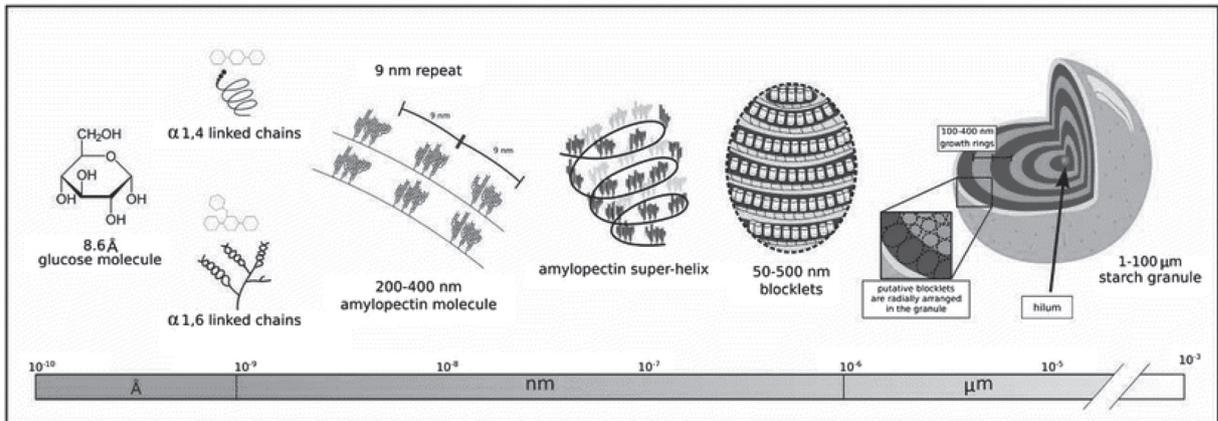


그림 1. 녹말과립의 계층 구조(Goren 등, 2018)

## 2. 녹말 나노 입자(SNPs, starch nanoparticles)의 제조 방법 및 특성

녹말을 재료로 하여 제조된 나노 입자는 제조 방법에 따라 많은 연구에서 ‘녹말 나노 입자(SNPs, starch nanoparticles)’ 또는 ‘녹말 나노 결정(SNCs, starch nanocrystals)’으로 명명되어왔다. Le Corre 와 Angellier (2014) 그리고 Le Corre 등(2010)은 SNPs가 무정형 매트릭스를 포함 할 수 있기 때문에 SNPs와 SNCs를 구별하여 설명하였다. 하지만, 두 용어는 제조 과정에서 화학적 또는 물리적 처리 후 얻은 입자의 결정영역에 따라 지칭되기 때문에 Kim 등(2015)은 SNPs와 SNCs라는 용어를 명확히 구분하는 것은 거의 불가능하다고 보고하였다. 본 고에서는 나노 크기 입자 일체를 통틀어 일반적인 용어인 SNPs로 명명하여 사용하였다.

SNPs의 제조는 크게 ‘하향식(top-down)’ 및 ‘상향식(bottom-up)’ 공정으로 분류 할 수 있다. 하향식 공정은 가수분해(hydrolysis), 균질화(homogenization) 또는 절삭(milling)과 같은 방법으로 큰 입자를 분해하여 구조와 크기를 감소시키는 반면, 상향식 공정은 자가 조립(self-assembly) 또는 나노 침전(nano-precipitation)에 의해 원자, 분자 또는 입자들이 축

적이 되어 SNPs를 제조 하는 방법이다. 최근 SNPs에 대한 과학적, 산업적 관심이 증가하고 있으며, 이로 인해 다양한 제조 방법의 개발로 이어지고 있다(Kim 등, 2015; Kaur 등, 2018).

### 1) 화학적 방법

#### ① 산 가수분해

산 가수분해는 SNPs를 제조하기 위한 방법 중 고전적이고 가장 많이 실시된 방법이다. 녹말의 결정 영역은 무정형 영역보다 산에 내성이 있으며, 따라서 산에 의해 무정형 부분이 분해되어 높은 결정성을 가진 SNPs를 얻을 수 있다. 사용되는 산은 일반적으로 HCl 또는 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액이 이용되며, 간단하고 쉽게 제어할 수 있다는 점에서 다당류로부터 SNPs를 제조하는데 널리 사용되는 방법이다.

Putaux 등(2003)은 찹 옥수수 녹말을 2.2 N HCl 용액으로 2주간 가수분해하였으며 현미경으로 관찰한 결과 200-500 nm 너비의 platelet과 유사한 fragment를 형성하는 것을 발견하였고, 이를 세로 방향(longitudinal axis)로 관찰했을 때 5-7 nm 너비의 lamella 구조가 있는 것을 확인하였다(그림 2A와 2B). Angellier 등(2004)은 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액을 이용한



가수분해의 최적화 조건을 반응표면법으로 알아본 결과,  $H_2SO_4$  용액의 농도 3.16 M로  $40^\circ C$ 에서 100 rpm의 교반 속도로 5일간 가수분해 했을 때, 40일간 HCl 용액으로 가수분해 했을 때와 동일한 형태의 SNPs를 얻을 수 있다고 하였다. Kim 등(2012)은 아밀로펙틴 함량이 다른 녹말(옥수수, 감자, 녹두)을 3.16 M  $H_2SO_4$  용액으로 7일간 산분해를 진행하여 가수분해 속도를 조사하였으며, 이를 통해 얻은 SNPs는 앞서 보고된 연구 결과와는 다르게 크기가 40-70 nm의 둥글거나 타원형의 입자가 관찰되었다고 하였다(그림 2C).

한편, Kim 등(2012)은 X선 회절 분석 시 15, 17, 18,  $23^\circ$ 에서 회절 피크를 띠는 A형 결정구조인 찰옥수수 및 옥수수 녹말을  $H_2SO_4$ 로 가수분해 하여 얻은 SNPs 역시 A형 결정구조를 나타내었으며, 약간의 회절강도만이 변한 것을 확인하였다. 또한, 동일한 조건에서 A형 결정구조 녹말과 달리, B형 결정구조 녹말은 피크 강도의 감소가 관찰되어 B형 결정구조 녹말이 산 가수분해에 취약해 일부 결정 배열이 파괴되었음을 시사하였다. 이와는 다르게 2.2 N HCl을 이용하여 옥수수, 쌀, 귀리녹말을 가수분해 하였을 때 X선 분석에 의한 결정화도가 증가한 결과가 보고된 바 있으며, 이는 무정형 lamella의 우선적인 가수분해에 기인한 것으로 보고 있다(Jayakody와 Hoover, 2002).

Kim 등(2012)은 SNPs의 열적 특성을 시차주사열량기(DSC, differential scanning calorimetry)로 분석한 결과, 이중나선 구조의 용융 개시 온도( $T_o$ )는 감소했지만 용융 피크 온도( $T_p$ ), 용융 종결 온도( $T_c$ ) 및 용융 엔탈피( $\Delta H$ )는 증가하였다고 보고하였다. 이는 산 가수분해에 의해 무정형 부분이 우선적으로 분해되고 무정형 영역으로부터 분리된 결정 영역은 불안정화되어  $T_o$ 가 감소할 수 있다고 설명하였다. 산 가수분해법은 간단하고 제어가 용이한 방법이지만 일반적으로 긴 시간을 필요로 하고 회수율이 비교적 낮다는 단점이 있다. 대표적인 하향식

방법인 산 가수분해 법으로 제조된 SNPs는 녹말의 무정형 영역을 주로 분해하기 때문에 SNPs 결정에 대해 현저한 구조변화는 수반되지 않을 것이라 생각된다. 따라서, 마이크로 크기인 녹말의 결정특성을 지니고 있으면서 크기는 축소된 SNPs는 기존 녹말 특성에 표면적 및 분산성이 개선된 소재로 활용될 수 있다. 최근에는 산 가수분해와 물리적 처리를 병용하는 연구들이 보고된 바 있어 기존의 산 가수분해의 단점이었던 낮은 회수율 및 긴 소요시간을 극복하는 방법들이 계속적으로 제시될 것으로 보인다.

## ② 나노 침전법(nano-precipitation)

나노 침전법은 SNPs를 제조하는 간단하고 빠르고 재현성이 높은 방법 중 하나로 물에 혼화성을 가진 비극성 용매를 희석된 녹말 용액에 또는 역으로 연속적으로 첨가하여 중합체의 침전을 유발하는 방법이다. 나노 침전법의 경우, 다량의 핵산/아세톤 및 추가적인 외부 에너지가 필요 없다는 장점이 있다(Chin 등, 2011; Wu 등, 2016). 이 방법은 마이크로 이하의 입자 크기를 얻을 수 있지만 생성된 SNPs의 크기가 불규칙하다는 한계가 있다. Tan 등(2009)은 아세틸화 찰옥수수 녹말과 아세톤 용액을 사용하여 SNPs를 제조하였으며, 그 결과 아세톤 용액의 농도가 낮을수록 더 작은 크기의 SNPs가 생성되어 입자의 크기가 아세톤의 농도에 의존적임을 알 수 있었다. Chin 등(2011)은 무수에탄올을 이용하여 비교적 간단하고 크기가 300-400 nm로 조절된 SNPs를 제조하는 방법을 제시하였다. SNPs의 크기는 용매와 비용매의 부피 비에도 영향을 받는다고 보고되었으며(Wu 등, 2016), 용매와 비용매의 부피비가 1:5에서 1:30으로 변화했을 때 크기가 약간 감소하였으며 1:20에서는 불규칙한 구형이 관찰되었다고 하였다(그림 2D). 이 외에도 나노 침전 공정 중 온도, 용매 조성, 아밀로스의 농도 및 교반 조건이 SNPs의 크기와 형태 미치는 영향에 대한 연구

가 진행되었다(Dong 등, 2015).

나노 침전법으로 제조된 아밀로스 나노 입자의 결정특성에 대한 건조 조건의 영향이 보고되었는데(Yan 등, 2017), 건조된 모든 아밀로스 나노 입자는 X선 회절 분석 시 7.7, 13.5 및 20.8°에서 명확한 회절 피크를 갖는 전형적인 V형 결정구조를 나타내었다. 하지만, 건조하지 않은 아밀로스 나노 입자는 회절 피크를 나타내지 않아 건조에 의해 아밀로스 나노 입자의 V형 결정구조가 영향을 받는 것으로 확인되었다. Dong 등(2015)은 아밀로스 나노 입자 및 일부 건조된 아밀로스 나노 입자의 젤라틴화 특성을 DSC를 이용하여 분석하였다. 아밀로스의 흡열 피크는 64.93~78.58°C에서 나타났으며, 이를 이용하여 제조된 아밀로스 나노 입자의 흡열 피크는 40.18~73.90°C로 나타나 상당히 낮은 온도에서 이중나선 구조의 용융이 진행되는 것을 확인 할 수 있었다. 또한, 아밀로스 나노 입자의  $\Delta H$ 는 원재료 물질인 아밀로스보다 낮은 결과를 나타내어 아밀로스로부터 제조된 아밀로스 나노 입자의 결정구조는 원재료 물질인 아밀로스의 결정구조보다 파괴되기 쉬운 구조라는 것을 확인하였다. 침전을 유도하는 단계인 용매를 첨가할 때, SNPs의 크기는 중합체의 침전 시 사용하는 용매 또는 녹말용액의 droplet 크기에 의존적이라고 할 수 있다. 따라서 나노 침전법의 단점인 입자의 불균일성을 줄이기 위해서는 침전 과정에서 droplet의 크기를 일정하게 유지하는 것이 균일한 SNPs를 얻을 수 있는 중요한 요소로 작용할 것이다.

### ③ Emulsion-crosslinking

Emulsion-crosslinking 기술은 유상(oil phase)에 수용액을 분산시켜 SNPs를 제조하는 기술을 의미한다. 이들 입자의 크기를 감소시키기 위해서 나노 크기의 droplet을 함유한 emulsion이 사용되며 일반적으로 이러한 emulsion을 mini emulsion, submicron emulsion 또는 nano-emulsion으로 지칭되고 이

들은 동일한 시스템을 의미한다. 이 방법은 또한 유화제를 포함하는데, 유화제는 수상과 유상 사이의 계면 장력을 감소시킨다(Wurm과 Weiss, 2014). Emulsion 내의 droplet들은 crosslinking 반응을 통해 inter- 및 intra- 결합을 하게 되고 네트워크 구조를 형성하여 나노 또는 마이크로 입자의 모양과 크기가 유지될 수 있다. 이 방법은 비교적 반응 조건이 온화하고 간단하며, 비용의 효율성과 작은 입자들을 제조할 수 있기 때문에 효율적인 방법 중 하나로 알려져 있다(Chin 등, 2014).

전통적인 유중수적형(w/o) emulsion-crosslinking으로 얻은 입자는 비교적 큰 크기를 가지고 있는 것으로 알려져 있다. Fang 등(2008)은 평균 직경이 19  $\mu\text{m}$ 의 starch microparticles (SMPs)를 제조하였다. Zhou 등(2014)은 ionic liquid-in-oil microemulsion 시스템을 이용하여 SNPs를 제조하였으며 주사 전자 현미경 상에서 평균 직경이 96.9 nm인 SNPs의 응집과 클러스터를 확인하였다(그림 2E). Zhou 등(2014)이 제조한 SNPs는 천연 옥수수 녹말보다 비교적 매끄러운 표면을 갖는 구형의 과립이었으며, 강한 반데르 발스 및 정전기적인 인력에 기인한 응집 또는 클러스터가 형성된 것으로 보고 있다.

Ding 등(2016)의 연구에서, 고아밀로스 옥수수 녹말로부터 얻은 저항녹말(RSIII)은 B형 결정구조 패턴을 가졌지만, 이로부터 emulsion-crosslinking 과정을 거쳐 제조한 SNPs는 X선 회절피크가 발견되지 않아 무정형 구조를 가지는 것을 확인하였다. DSC 열적 특성에서도 이중나선 구조의  $\Delta H$ 는 감소하여 X선 회절 패턴과 일치하는 결과를 나타냈으며 이를 통해 RS3-SNPs내의 결정영역이 제거된 것임을 확인하였다. 이러한 이유로는 emulsion-crosslinking 과정에서 가교화 된 중합체 사슬들이 네트워크 구조를 구성하지만 가교화로 형성된 네트워크는 오히려 분자들의 이동과 정렬에 방해를 하여 packing 되지 못한 채 무정형 구조가 된 것으로 보고 있다. 이 방법은 친수성 및 친유성 혼합 용



액상에서 제조하기 때문에 SNPs 자체가 emulsion에 안정된 특성을 가지고 있을 것이라 생각된다. 따라서, emulsion-crosslinking형 SNPs는 emulsion의 상분리를 억제시키는 안정제로 사용될 수 있을 것이다.

## 2) 효소적 방법

### ① 효소 처리

작은 녹말 입자들을 제조하기 위한 방법으로 효소 가수분해를 이용하는 방법도 있으나, 나노입자를 얻기 힘들고 효율적인 면이 떨어지는 것으로 보고되어(Kim 등, 2008), 순수하게 효소만을 사용하여 SNPs를 제조한 연구는 그리 많이 보고되어 있지 않다. Kim 등(2008)의 연구에서는  $\alpha$ -amylase를 사용하여 찹쌀녹말을 24시간 동안 37°C에서 가수분해하였고, 찹쌀녹말 중의 무정형 영역이 효소에 의해 선택적으로 분해된다는 것을 확인하였다. 또한 효소 가수분해 3시간 동안 입자들의 크기 분포가 0.45에서 0.18  $\mu\text{m}$ 로 급격히 감소했으며, 표면에 약간의 균열과 기공이 관찰되었고, 24시간 이후 원래의 녹말 입자 형태를 잃어버렸지만 일부 나노 크기의 입자들이 발견되었다고 보고하였다(그림 2F).

A형 결정구조인 찹쌀 녹말을 최대 9시간 동안  $\alpha$ -amylase에 의한 가수 분해 하였을 때, 생성된 SNPs의 결정패턴은 변화하지 않았지만 24시간 처리 후에는 X선 회절 강도가 감소하였다고 하였는데, 이를 통해 가수 분해의 초기 단계 동안 주로 무정형 영역에서 효소에 의한 가수 분해가 발생하였으며, 이후 결정영역에서 동시 침식이 발생했음을 알 수 있었다(Kim 등, 2008). 또한, 찹쌀을  $\alpha$ -amylase로 가수 분해하였을 때, 3시간 후에 형성된 SNPs의 DSC 분석의  $\Delta H$ 는 증가하였지만, 9시간 후에 형성된 SNPs의  $\Delta H$ 는 감소하였다고 하였는데, 이러한  $\Delta H$ 의 감소에 대하여 Kim 등(2008)은 결정영역에서의 침식 시작에 기인한 것으로 보

고하였다.

효소 가수분해는 산 가수분해의 전처리 단계로 사용되기도 하였다. Le Corre 등(2011)은 작용 기작이 다른 효소( $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase와 glucoamylase)로 가수분해 속도와 결정성을 조사하여 전처리에 사용할 효소를 결정하였다. 선택된 효소로 2시간 동안 전처리 한 후 다시 6시간 동안 산 가수분해를 했을 때 산 가수분해만을 24시간 한 경우와 동일한 가수분해 정도를 나타내었다. 이와 유사하게, 산 가수분해 전 효소처리가 찹감자 녹말 SNPs 제조에 효율적이라는 연구가 보고되었다(Hao 등, 2018). 이러한 결과는 효소 전처리에 의해 생성된 균열과 기공이  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 의 침투를 향상시켜 제조 시간을 감소시킬 수 있는 것으로 확인되었다. 이와 같이 효소 처리는 녹말 나노 입자를 제조하기 위한 주요 방법이 아닌 전처리 단계로써 효용성이 있을 것이며, 다양한 효소를 사용함으로써 선택적 가수분해의 차이에 따라 다양한 특성을 가진 최종 산물들을 얻을 수 있을 것이다.

### ② 효소 가수분해 및 자가 결합(self-assembly)

효소 가수분해 및 자가 결합 방법은 원료 녹말을 호화 시킨 후 pullulanase와 isoamylase와 같이 아밀로펙틴의 가치를 제거하는 효소를 사용하여 절단된 가지 부분들의 자가 결합(self-assembly)를 통해 SNPs를 제조한다는 점에서 앞서 언급한 효소처리와는 상이하다. 찹옥수수로부터 제조한 SNPs는 85%의 수율로 60-120 nm의 크기와 구형을 나타내었으며, 저온에서 자가 결합을 하여 SNPs를 얻었을 때, B형 또는 B+V형 결정 패턴을 나타낸다고 하였다(Sun 등, 2014b). 또 다른 Sun 등(2014a)의 연구에 따르면, 수수 녹말을 이용하여 효소 가수분해 및 재결정화 방법으로 SNPs를 제조하였을 때, 입자끼리의 응집 없이 약 30-100 nm의 크기를 보이며, SNPs의 크기는 재결정화 시간과 온도에 영향을 받는다는 것을 확인하였다. 또한, A형 결정구조를 가졌던 수수 녹말의 SNPs는 가수분해와 재

결정 과정을 거쳐 5.6, 17.1, 22.5 및 24.3°에서 주요 X선 회절 피크를 갖는 B형 결정 구조를 나타내었다. 이 X선 회절 피크는 재결정화 시간에 따라 강도가 달라졌으며 이것은 재결정화로 인한 녹말 사슬의 재구성에 기인한 것으로 보고 있다. 효소 가수분해 및 재결정화 방법으로 제조한 수수 녹말의 이중나선 구조의 용융 온도 범위( $\Delta T$ ,  $T_c$ - $T_o$ )는 12.2°C였고, 이들의 SNPs의  $\Delta T$ 는 천연 수수 녹말보다 훨씬 더 넓은 범위를 나타내었다(Sun 등, 2014a). 더 넓은  $\Delta T$ 는 debranching을 통해 생성된 단쇄 글루칸의 재결정화로 무정형 영역이 감소하거나 구조에 영향을 주었으며, 이중나선 구조의  $\Delta H$ 는 천연 녹말과 비교할 때 SNPs에서 유의적인 감소가 있는 것으로 확인되었다. 이는 SNPs내의 수소 결합 및 다른 분자간 힘을 통해 규칙적인 배열이 잘 이루어 지지 않았거나 천연 녹말과 비교하여 상대적으로 비교적 안정하지 않은 이중나선 구조의 특성으로 설명 될 수 있다.

최근에 효소 가수분해 및 재결정화법으로 제조된 SNPs가 제조과정에서 구조적 변화를 수반하면서 난소화성을 가질 것이라는 기대와 더불어 그와 관련된 많은 연구들이 보고가 되고 있다. Suriya 등(2018)은 12 또는 24시간 동안 재결정하여 얻은 elephant foot yam (*amorphophallus paeoniifolius*) SNPs의 소화도를 조사하였다. 24시간 동안 결정화한 SNPs가 12시간 결정화한 SNPs보다 낮은 소화성을 나타내어 소화율과 결정화 시간이 비례하다고 하였다. 따라서, 12시간 결정화하여 얻은 SNPs가 24시간 결정화하여 얻은 SNPs보다 입자 크기가 작았으며 따라서 표면적이 증가하였기 때문에 소화율이 증가한 것으로 보고하였다. 한편 효소 가수분해 시 pullulanase의 양이 SNPs의 소화도에 영향을 미칠 수 있다는 보고도 있다(Shi 등, 2013). Shi 등(2013)은 다양한 농도의 pullulanase로 제조한 SNPs를 240분간 소화시켰을 때, 소화된 녹말의 양이 다르며 pullulanase의 첨가량이 증가할 수록 RS 함량이 증가하였음을 발견하였다.

Jiang 등(2018)은  $\alpha$ -amylase 활성 억제에 대한

SNPs의 효과를 알아보기 위하여 효소 가수분해 및 결정화로 구형의 SNPs를, 나노 침전법으로 다각형의 SNPs를 각각 제조하여  $\alpha$ -amylase에 대한 억제 효과를 조사하였다.  $\alpha$ -Amylase에 대한 상대적 효소 억제 능력은 다각형 SNPs가 구형 SNPs보다 더 효율적이었으며, 이는 다각형 SNP의 비교적 느슨한 구조에 기인한 것으로 보고 있다. 이 결과를 통해 SNPs가 녹말의 분해에 관여하는 가장 중요한 효소인  $\alpha$ -amylase의 강력한 억제제가 될 수 있다는 가능성을 보여주었고, 녹말의 소화를 지연시키는 역할을 할 수 있다는 것을 시사하였다. 이 결과를 바탕으로 SNPs는 amylase 기반 효소 활동 제어를 가진 소재로서 제 2형 당뇨병 환자를 도울 수 있으며, 식품 및 의료 응용 분야에서 잠재력이 있음을 알 수 있었다.

결과적으로 효소 가수분해 및 자가 결합 방법은 제조 공정 동안 화학 시약을 사용하지 않아 친환경적인 방법이며, 산 가수분해와 비교했을 때 소요시간이 비교적 짧고 높은 수율의 SNPs를 얻을 수 있다는 장점이 있다. 또한, 가수분해 및 self-assembly로 제조된 SNPs의 저항 녹말 또는 완만 소화 녹말의 함량의 증가는 지소화성 또는 난소화성 소재로서의 SNPs의 가능성도 암시한다. 이 방법은 외부 에너지가 아닌 분자들 간의 상호작용으로 형성되어 열역학적 안정성이 있기 때문에 열에 대한 가역성을 관찰 할 수 있으며 이는 지속 가능한 소재(sustainable material)로 광범위하게 사용될 수 있을 것이다. 또한, 입자 내부에 약물이 주입된 wall material 역할로서 약물 전달 시스템에서도 다양하게 응용 될 것이라 기대한다.

### 3) 물리적 방법

#### ① Ultrasonication

초음파는 사람의 청각 범위를 초과하는 소리로 일반적으로 18kHz 이상 주파수 범위를 가지며 초



음파 처리는 다당류를 변형시키는 비전통적이고 친환경적인 방법이다(Zhu, 2015). 초음파 방법은 일반적인 산 가수분해와 비교했을 때 화학물질이 사용되지 않기 때문에 반복적인 세척 과정이 필요 없어서 빠르고 쉽게 구현할 수 있는 장점이 있다. 녹말에 초음파 처리를 한 경우, 초음파는 녹말 입자의 붕괴 및 결정구조의 수분에 대한 파괴를 유도하여 녹말의 변형을 일으키며, 이러한 효과는 초음파 에너지의 전력, 주파수, 처리시간에 따라 달라진다(Jambrak 등, 2010). Haaj 등(2013)은 화학 첨가물 없이 물리적으로 고강도 초음파 처리 방법을 사용하여 SNPs를 제조하였으며, 초음파 처리 시간이 증가함에 따라, 입자의 표면은 약 20-200 nm 크기의 SNPs의 방출과 함께 점차적으로 분해되었고, 파편이 나온 200-400 nm 두께의 방사상 성장 고리가 명확하게 발견되었다(그림 2H).

Huang 등(2007)은 3분까지의 초음파 처리(500W)는 결정화도를 증가 시켰지만 15분 처리한 경우 결정화도가 감소하였다고 보고하여 초음파 조건에 따라 결정화도가 증가 또는 감소한다고 하였다. 이러한 영향은 무정형 부분의 파괴에 기인 할 수 있으며, 추가적인 초음파 처리는 녹말 입자에서 결정의 침식을 유도 한 것으로 보고 있다. Boufi 등(2018)은 전형적인 A형 결정패턴을 나타내는 찹옥수수 녹말을 30분 동안 초음파 처리했을 때, 결정구조의 변화는 없었지만 X선 회절 강도가 감소하였으며 90분 동안 초음파 처리한 경우, X선 회절 피크는 완전히 손실되었다고 하였다. 이로 보아 초음파 처리는 녹말의 결정구조를 강하게 파괴하고 높은 무정형 특성을 갖는 SNPs를 만들 수 있음을 의미한다. Haaj 등(2013)의 연구에서도 A형 결정패턴이었던 일반 및 찹옥수수 녹말은 30분의 초음파 처리 후 모든 X선 회절 피크는 강도가 감소하였으며, 75분 처리를 하였을 경우 10, 15, 18 및 23°에서의 X선 회절 피크가 완전히 사라졌고, 17.5°에서의 X선 피크는 현저하게 감소하였다.

초음파 처리된 옥수수 녹말의 DSC 열적 특성 분석 결과 이중나선 구조의 용융 온도 및  $\Delta H$ 는 초기에 증가하는 경향을 보이지만 초음파 처리가 진행됨에 따라  $\Delta H$ 는 감소하는 결과를 보였는데, 이는 X선 회절 특성 결과와 유사하며 초기단계에서는 무정형 영역이 침식 및 파괴되지만 긴 시간 처리할 경우 결정형 영역이 점차 파괴된 결과로 보고하였다(Jambrak 등, 2010). Boufi 등(2018)은 찹옥수수에 초음파 처리를 하여 이들의 DSC 열적 특성을 알아 보았는데, 75°C 부근에서 나타났던  $T_p$ 가 75분의 초음파 처리에 의해 70-80°C의 범위에서 이동하였으며, 초음파 처리시간이 길어짐에 따라 DSC상의 용융 피크가 사라지는 것을 확인하여 초음파 처리가 녹말을 결정성 영역을 파괴하여 더 많은 무정형 영역을 갖도록 하였음을 발견하였다.

초음파 처리를 통하여 제조된 SNPs는 분산성과 투과율을 개선한다는 연구결과도 보고되었다. 초음파 처리로 제조된 찹옥수수 SNPs의 현탁액은 80%를 초과하는 투과율을 보이고 있어 투명도가 증가하였으며, 초음파 처리 시간이 증가함에 따라 녹말 현탁액의 투명도가 향상되고 침전의 비율이 감소하였다고 하였다(Boufi 등, 2018). Zhu(2015)는 이러한 투과성의 증가가 초음파 처리에 의해 물에 대한 녹말의 용해도 증가로 녹말 사슬의 수화가 개선되어 광 투과성 증가한 것으로 보고하였다. 75분의 초음파 처리 후 녹말 현탁액은 용액의 유동성 변화 없이 완전히 투명하게 되었으며 8~10°C에서 1개월을 초과하는 기간 동안 저장한 후에도 침전의 흔적이 관찰되지 않았다(Boufi 등, 2018). 초음파 처리 시 초음파 주파수, 온도 및 처리 시간의 특성과 같은 많은 변수에 의존하고 그에 따라 크기나 결정특성이 달라지게 된다. 따라서 처리 조건에 따라 크기나 결정 파괴 간의 경향성을 조사하여 mapping 한다면 다양한 결정성을 가진 소재 개발 조건을 구축할 수 있을 것이다.

### ② Reactive extrusion

녹말이 압출되는 과정에서 고압, 고온 및 전단력에 의해 녹말의 물리화학적 변화가 일어나게 된다. 압출 조건은 제한된 수분 함량으로 인해 완전한 호화가 일어나지는 않지만 녹말 과립이 연화되어 이동성이 증가하게 된다. 동시에 전단력에 의해 물리적으로 분리되고 녹말 내부의 분자로 수분이 이동하게 된다. Giezen 등(2004)은 이러한 반응 압출을 통해 400 nm 미만의 크기를 갖는 SNPs를 생성할 수 있다고 보고하였다. 이렇게 제조된 SNPs는 점도가 낮고 안정성이 6개월 이상 지속된다고 하였다.

그림2I는 가교제 없이 85°C에서 압출공정을 실시하였을 때, 제조된 SNPs의 현미경 사진으로 입자의 평균 크기는 1-2  $\mu\text{m}$ 로 감소하였다. 동일한 조건에서 압출하는 동안 가교제인 글리옥살이 2% 첨가된 경우, 약 160 nm 크기의 SNPs가 생성되었다는 보고도 있다(Song 등, 2011). 또한 A형 결정성을 가진 옥수수 녹말은 압출에 의해 SNPs가 고온 및 높은 전단력에 노출되어 X선 회절분석기로 분석하였을 때 회절도 15, 18 및 23°의 피크가 완전히 사라졌으며 17°에서 작은 피크만이 발견되어 열과 전단력의 조합이 SNPs의 결정구조에 변화를 일으킨다는 것을 시사하였다(Song 등, 2011). 열과 전단력에 의해 결정성은 파괴되면서 입자의 크기를 축소시킬 수 있는 방법으로 압출성형기의 면적 및 크기를 조절할 수 있다면 SNPs 제조와 동시에 나노 필름을 제조할 수 있으며, 이를 나노 포장재 또는 filler로 활용할 수 있을 것이다.

### ③ High-pressure homogenization

고압 균질화는 미세하게 가공된 채널을 통해 액체를 연속적으로 흐르게 하여 진행된다. 비결정고 결정형이 혼재되어있는 녹말에 고압 균질화를 적용할 때 화학적 및 물리적 전처리가 필요하지 않기 때문에 SNPs 제조에 있어 간단하고 실용적인 방법으로 알려져 있다. Liu 등(2009)은 고압 균질기를 이

용하여 녹말 입자의 전이 특성에 대해 연구하였다. 5% 옥수수 녹말 현탁액을 제조하여 207 MPa의 압력 하에서 미세 유동화 챔버에 6회 통과시켰을 때 직경이 약 2-6  $\mu\text{m}$ 인 옥수수 녹말 입자는 불균일한 크기 분포로 200 nm까지 감소하였다. 이러한 크기 감소는 기계적 전단력에 의해 입자 내부의 수소 결합이 파손된 결과에 기인한 것이며, 더불어 결정 구조의 부분적 또는 완전한 파괴가 관찰되었다(그림 2J). 또한, 고아밀로스 옥수수 녹말이 B형 결정 구조를 가지지만 고압 균질기를 10회 통과시켜 얻은 SNPs의 X선 회절 패턴은 무정형 구조를 나타낸다는 것을 확인하였다. 이에 대한 열적 특성을 DTG(differential thermal gravimetry)를 이용해 조사한 결과, 천연 녹말과 SNPs 모두 260~330°C의 범위에서 질량손실이 발생하였고 시료 간의 유의적인 차이가 없었다고 하였다. 이는 녹말 입자가 미세 유체 챔버를 통과하는 동안 SNPs 또는 녹말 거대 분자 사이의 수소 결합, 반데르발스 힘 및 정전기적 상호 작용 등을 포함한 결합 상호 작용은 매우 강한 기계적 전단력에 의해 파괴되었으며, 이러한 비열 처리 방식은 녹말 자체의 특성을 변화시키지 않기 때문에 SNPs 역시 천연 녹말 특성을 그대로 따르는 것으로 보고되었다(Liu 등, 2009).

입자가 나노 크기로 줄어들어 따라 현탁액의 분산성과 탁도에도 변화를 찾아 볼 수 있는 것으로 보고되었다. 고압 균질 처리를 4회 통과하여 제조한 옥수수 SNPs 현탁액은 투명한 상부층, 현탁액 중의 깨진 녹말 입자로 구성된 중간층 및 온전한 모양으로 침전된 녹말이 주요 구성 성분인 하부층, 이렇게 3개의 층으로 구분될 수 있으며, 균질화 횟수가 증가함에 따라 하부층이 차지하는 비율이 감소하였다(Liu 등, 2009). 고압 균질 처리를 10회 이상 진행하였을 때, 녹말 현탁액은 줄에서 겔로 변경되었으며, 이에 대해 Liu 등(2009)은 네트워크의 일부로서 정렬된 공간에서 SNPs의 크기 감소 및 물 배열로 인한 것에 기인한다고 하였다. 한편, 고압 균질 처리



를 20회 진행하여 제조한 SNPs의 경우 0.5 중량 %의 농도로 희석하였을 때 분산성이 1개월 이상 안정하게 유지되었다고 하였다(Liu 등, 2009). 고압 균질화 SNPs 현탁액은 유동이 쉽고 분산성이 높기 때문에 포장재 또는 제지 산업에서 응용을 할 수 있을 것이다. 또한, 기계적 전단력에 의해 입자 내부의 수소 결합이 파손을 유도하기 때문에 제조과정에서 polysaccharide, gum, fatty acid 및 plasticizer를 첨가한다면 초고압 균질 처리만으로도 이들과 새롭게 결합된 물질을 만들 수 있을 것이다.

#### ④ 감마선 조사(Gamma-irradiation)

감마선 조사는 cross-linking, grafting 및 분해 기술을 통한 중합체를 변형시키는데 편리한 방법이다. 또한 큰 분자들을 더 작게 분해하고 글리코시드 결합을 절단할 수 있는 빠르고 편리한 변형 기술로 제안되었다. 녹말을 기반으로 한 시스템에서, 감마선 조사는 다양한 자유 라디칼을 생성한다(Yu와 Wang, 2007). 이러한 자유 라디칼은 녹말 및 물과 상호 작용할 수 있으며, 방사선 분해로 인해 텍스트린 산물이 변경된다고 알려져 있다. 감마선 조사를 이용하여 카사바 및 찹옥수수로부터 SNPs가 제조되었으며, SNPs의 크기는 녹말 종류 및 계면활성제에 따라 15 내지 40 nm의 범위로 입자 크기가 감소하였다고 보고하였다(Akhavan과 Ataevarjovi, 2012; Lamanna 등, 2013) (그림 2K). 또한 감마선 조사처리를 하였을 때 역시 카사바와 찹옥수수로부터 제조된 SNPs 모두 X선 회절 분석 결과 무정형 패턴을 나타내었으며(Lamanna 등, 2013), DTA(differential thermal analysis) 결과에서도 감마선 조사 전 천연 찹옥수수 녹말과 카사바 녹말의 이중나선 구조의 용융  $T_p$ 는 각각 70과 55°C에서 관찰된 것에 반해 감마선 조사를 하여 얻은 찹옥수수 및 카사바 SNPs의 경우 이중나선 구조의 용융 특성을 찾아볼 수 없어 감마선 처리가 의해 녹말의 호화를 유발한 것을 뒷받침해 주었다.

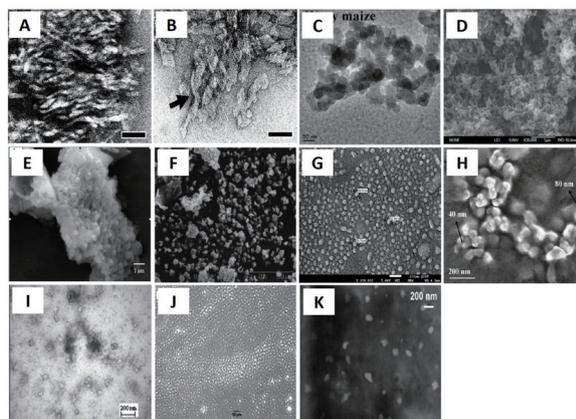


그림 2. 다양한 방법으로 제조된 SNPs의 형태학적 특성; A, B (acid hydrolysis, Putaux 등, 2003); C (acid hydrolysis, Kim 등, 2012); D (nano precipitation, Wu 등, 2016), E (emulsion-crosslinking, Zhou 등, 2014); F (enzyme hydrolysis, Kim 등, 2008); G (enzymatic hydrolysis and self-assembly, Sun 등, 2014a); H (ultra-sonication, Haaj 등, 2013); I (reactive extrusion, Song 등, 2011); J (high-pressure homogenization, Liu 등, 2009), K (gamma-irradiation, Lamanna 등, 2013).

Lamanna 등(2013)의 연구에서 천연 카사바 녹말과 찹옥수수 녹말 현탁액(1 mg/ml)은 15분 후 완전히 침전된 반면, 감마선 조사로 제조된 카사바 및 찹옥수수 SNPs는 높은 농도의 현탁액(15 mg/ml)에서도 안정적으로 분산이 유지되었다고 하였다. 이는 입자의 질량 및 크기가 충분히 작기 때문에 브라운 운동에서도 안정되고 균일한 분산을 형성한 것으로 생각된다. 이 방법은 재료의 손실 없이 많은 양의 수율을 얻을 수 있을 것이며 감마선 처리에 의해 호화가 되었지만 분산성에 있어서 안정화된 특성을 가지고 있기 때문에 기존의 녹말보다 수확에 있어서 개선된 소재로 이용될 수 있을 것이다.

#### 결론

본 고에서는 다양한 방법을 이용한 SNP 제조와 그에 따른 물리화학적 특성들을 다루었다. 자연에

서 풍부하며 환경적, 경제적이라는 점에서 SNPs에 대한 관심은 앞으로도 계속 될 것으로 기대할 수 있다. 앞서 언급한 방법 외에도 다양한 방법으로 SNPs가 개발되고 있으며 많은 특허와 연구들이 보고되고 있다. SNPs의 특성은 그 제조법에 따라 상이하며 이는 결국 다양한 특성을 갖는 SNPs가 계속적으로 개발되고 여러 산업에서 이용될 수 있음을 의미한다. 현재, SNPs가 제품화 된 경우는 BioTRED와 Eco-sphere TM의 경우만이 보고되었지만 여러 연구들은 포장재, 충전제, 약물 전달체 및 안정제와 같이 다양한 분야에서 SNPs의 잠재적인 가능성을 언급하고 있다. 또한 SNPs를 다른 소재들과 혼용함으로써 물리적 성질뿐 만 아니라 합성물의 생분해성을 향상 시킬 수 있다고 알려지면서 식품, 화장품 및 의약품 산업에서 그 쓰임이 더 활발해 질 것으로 생각된다. 넓은 표면적, 높은 열안정성, 분산성과 투과도가 향상된 일부 SNPs는 천연 녹말이 가진 한계성을 극복하고 식품첨가제처럼 직접 식품에 적용하는 것뿐만 아니라 포장재와 같이 식품 외부 소재로서 사용될 잠재성이 충분하다. 또한 SNPs의 난소화성은 최근 건강 문제와 난소화성 또는 지소화성 소재에 대한 관심의 증가에 발맞춰 비만, 당뇨와 같은 질병의 위험을 낮추는 소재로 사용될 수 있을 것으로 보인다. 끝으로, 새로운 유형의 변성 녹말인 SNPs에 대한 지속적인 연구는 이들의 응용 범위를 넓게 하고 더 세분화 된 이용을 가능하게 할 것이다.

### 참고문헌

- Akhavan A, Ataeevarjovi E. The effect of gamma irradiation and surfactants on the size distribution of nanoparticles based on soluble starch. *Radiat. Phys. Chem.* 81: 913-914 (2012)
- Angellier H, Choisnard L, Molina-Boisseau S, Ozil P, Dufresne A. Optimization of the preparation of aqueous suspensions of waxy maize starch nanocrystals using a response surface methodology. *Biomacromolecules*. 5: 1545-1551 (2004)
- Boufi S, Haaj SB, Magnin A, Pignon F, Impéror-Clerc M, Mortha G. Ultrasonic assisted production of starch nanoparticles: Structural characterization and mechanism of disintegration. *Ultrason. Sonochem.* 41: 327-336 (2018)
- Chin SF, Azman A, Pang SC. Size controlled synthesis of starch nanoparticles by microemulsion method. *J. Nanomater.* 2014: 9 (2014)
- Chin SF, Pang SC, Tay SH. Size controlled synthesis of starch nanoparticles by a simple nanoprecipitation method. *Carbohydr. Polym.* 86: 1817-1819 (2011)
- Ding Y, Zheng J, Zhang F, Kan J. Synthesis and characterization of retrograded starch nanoparticles through homogenization and miniemulsion cross-linking. *Carbohydr. Polym.* 151: 656-665 (2016)
- Dong Y, Chang Y, Wang Q, Tong J, Zhou J. Effect of operating conditions on size and morphology of amylose nanoparticles prepared by precipitation. *Starch-Stärke.* 67: 365-372 (2015)
- Fang YY, Wang LJ, Li D, Li BZ, Bhandari B, Chen XD, Mao ZH. Preparation of crosslinked starch microspheres and their drug loading and releasing properties. *Carbohydr. Polym.* 74: 379-384 (2008)
- Giezen FE, Jongboom ROJ, Feil H, Gotlieb KF, Boersma A. Biopolymer nanoparticles. *Google Patents* (2004)
- Goren A, Ashlock D, Tetlow IJ. Starch formation inside plastids of higher plants. *Protoplasma.* 255: 1855-1876 (2018)
- Haaj SB, Magnin A, Pétrier C, Boufi S. Starch nanoparticles formation via high power ultrasonication. *Carbohydr. Polym.* 92: 1625-1632 (2013)
- Hao Y, Chen Y, Li Q, Gao Q. Preparation of starch nanocrystals through enzymatic pretreatment from waxy potato starch. *Carbohydr. Polym.* 184: 171-177 (2018)
- Huang Q, Li L, Fu X. Ultrasound effects on the structure and chemical reactivity of cornstarch granules. *Starch-Stärke.* 59: 371-378 (2007)
- Jambrak AR, Herceg Z, Šubarić D, Babić J, Brnčić M, Brnčić SR, Bosiljkov T, Čvek D, Tripalo B, Gelo J. Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydr. Polym.* 79: 91-100 (2010)
- Jayakody L, Hoover R. The effect of lintnerization on cereal starch granules. *Food. Res. Int.* 35: 665-680 (2002)
- Jiang S, Li M, Chang R, Xiong L, Sun Q. In vitro inhibition of pancreatic  $\alpha$ -amylase by spherical and polygonal starch nanoparticles. *Food Funct.* 9: 355-363 (2018)
- Kaur J, Kaur G, Sharma S, Jeet K. Cereal starch nanoparticles-A prospective food additive: A review. *Crit. Rev. Food. Sci.* 58: 1097-1107 (2018)
- Kim HY, Park SS, Lim ST. Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. *Colloid. Surface. B.* 126: 607-620 (2015)
- Kim HY, Lee JH, Kim JY, Lim WJ, Lim ST. Characterization of



- nanoparticles prepared by acid hydrolysis of various starches. *Starch-Stärke*. 64: 367–373 (2012)
- Kim JY, Park DJ, Lim ST. Fragmentation of waxy rice starch granules by enzymatic hydrolysis. *Cereal. Chem.* 85: 182–187 (2008)
- Lamanna M, Morales NJ, García NL, Goyanes S. Development and characterization of starch nanoparticles by gamma radiation: Potential application as starch matrix filler. *Carbohydr. Polym.* 97: 90–97 (2013)
- Le Corre D, Angellier-Coussy H. Preparation and application of starch nanoparticles for nanocomposites: A review. *React. Funct. Polym.* 85: 97–120 (2014)
- Le Corre D, Bras J, Dufresne A. Starch nanoparticles: a review. *Biomacromolecules*. 11: 1139–1153 (2010)
- Le Corre D, Vahanian E, Dufresne A, Bras J. Enzymatic pretreatment for preparing starch nanocrystals. *Biomacromolecules*. 13: 132–137 (2011)
- Liu D, Wu Q, Chen H, Chang PR. Transitional properties of starch colloid with particle size reduction from micro-to nanometer. *J. Colloid. Interf. Sci.* 339: 117–124 (2009)
- Putaux JL, Molina-Boisseau S, Momaour T, Dufresne A. Platelet nanocrystals resulting from the disruption of waxy maize starch granules by acid hydrolysis. *Biomacromolecules*. 4: 1198–1202 (2003)
- Shi M, Chen Y, Yu S, Gao Q. Preparation and properties of RS III from waxy maize starch with pullulanase. *Food. Hydrocolloid*. 33: 19–25 (2013)
- Song D, Thio YS, Deng Y. Starch nanoparticle formation via reactive extrusion and related mechanism study. *Carbohydr. Polym.* 85: 208–214 (2011)
- Sun Q, Gong M, Li Y, Xiong L. Effect of retrogradation time on preparation and characterization of proso millet starch nanoparticles. *Carbohydr. Polym.* 111: 133–138 (2014a)
- Sun Q, Li G, Dai L, Ji N, Xiong L. Green preparation and characterisation of waxy maize starch nanoparticles through enzymolysis and recrystallisation. *Food. Chem.* 162: 223–228 (2014b)
- Suriya M, Reddy CK, HariPriya S, Harsha N. Influence of debranching and retrogradation time on behavior changes of *Amorphophallus paeoniifolius* nanostarch. *Int. J. Biol. Macromol.* 120: 230–236 (2018)
- Tan Y, Xu K, Li L, Liu C, Song C, Wang P. Fabrication of size-controlled starch-based nanospheres by nanoprecipitation. *ACS. Appl. Mater. Inter.* 1: 956–959 (2009)
- Wu X, Chang Y, Fu Y, Ren L, Tong J, Zhou J. Effects of non-solvent and starch solution on formation of starch nanoparticles by nanoprecipitation. *Starch-Stärke*. 68: 258–263 (2016)
- Wurm FR, Weiss CK. Nanoparticles from renewable polymers. *Front. Chem.* 2: 49 (2014)
- Yan X, Chang Y, Wang Q, Fu Y, Zhou J. Effect of drying conditions on crystallinity of amylose nanoparticles prepared by nanoprecipitation. *Int. J. Biol. Macromol.* 97: 481–488 (2017)
- Yu Y, Wang J. Effect of  $\gamma$ -ray irradiation on starch granule structure and physicochemical properties of rice. *Food. Res. Int.* 40: 297–303 (2007)
- Zhou G, Luo Z, Fu X. Preparation and characterization of starch nanoparticles in ionic liquid-in-oil microemulsions system. *Ind. Crop. PROD.* 52: 105–110 (2014)
- Zhu F. Impact of ultrasound on structure, physicochemical properties, modifications, and applications of starch. *Trends. Food. Sci. Tech.* 43: 1–17 (2015)