

발간등록번호

11-1543000-002088-01

국내 농산물 자원을 활용한 수입 대체 전분 소재 개발 및 산업화 최종보고서

2018. 2. 26.

주관연구기관 / 경기대학교 산학협력단

협동연구기관 / 경희대학교 산학협력단

협동연구기관 / 한국식품연구원

협동연구기관 / 원영산업(주)

협동연구기관 / 한양대학교 산학협력단

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “국내 농산물 자원을 활용한 수입 대체 전분 소재 개발 및 산업화”(개발
기간 : 2014.11.28 ~ 2017.11.27)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018.02.26.

주관연구기관명 : 경기대학교 산학협력단 (인)

협동연구기관명 : 경희대학교 산학협력단 (인)

협동연구기관명 : 한국식품연구원

협동연구기관명 : 원영산업(주)

협동연구기관명 : 한양대학교 산학협력단 (인)

주관연구책임자 : 김 현 석

협동연구책임자 : 김 병 용

박 천 석

서 동 호

고 창 현

김 현 속

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의
합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	314041-3	해당단계 연구기간	2016.11.28. ~ 2017.11.27.	단계구분	(총단계)
연구사업명	단위사업	농식품기술개발사업			
	사업명	고부가가치식품기술개발사업			
연구과제명	대과제명	(해당 없음)			
	세부과제명	국내 농산물 자원을 활용한 수입 대체 전분 소재 개발 및 산업화			
연구책임자	김현석	해당단계 참여 연구원 수	총: 27명 내부: 11명 외부: 16명	해당단계 연구개발비	정부: 300,000천원 민간: 100,000천원 계: 400,000천원
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 71명 내부: 33명 외부: 38명	총연구개발비	정부: 900,000천원 민간: 300,000천원 계: 1,200,000천원
연구기관명 및 소속부서명	경기대학교 산학협력단, 경희대학교 산학협력단, 한국식품연구원, 원영산업(주), 한양대학교 산학협력단			참여기업명 원영산업(주) 농업회사법인(주)부용농산	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	
요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)				보고서 면수	

국문 요약문

		코드번호	D-01
<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p><연구의 목적></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 식물자원 및 식물자원 가공부산물로부터 전분 추출·정제법 확립 및 전분 소재화 ▪ 물리적 기능 및 생리적 기능, 생산성 증대를 위한 전분 산업화 연구 ▪ 개발된 전분들의 물리적 및 생리적 기능탐색을 통한 용도별 소재화 및 산업화 ▪ 식품산업과 농업 간 연계 강화로 수입대체 효과 증대 및 농부산물의 부가가치 제고 <p><연구내용></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 국내 농산물 유래 전분의 추출·정제법 확립 및 전분소재 개발 <ul style="list-style-type: none"> -국내 활용 전분 산업 원료의 대부분을 차지하고 있는 식물자원(쌀, 감자, 고구마, 마)으로부터 전분생산 극대화를 위한 전분 추출·정제법 확립 및 특성평가 -농산자원 가공부산물(쇄미, 감자 가공슬러지, 밀기울)로부터 전분생산을 위한 전분 추출·정제법 확립 및 특성평가 -생 촉매 반응 등을 통한 특용자원 가공부산물의 전분성 물질의 고수율 회수 공정 및 소재화 기술 개발(홍삼박 및 마박) ▪ 물리적 기능성 및 생리활성 효능의 향상을 위한 전분변성기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> -추출·정제된 전분으로부터 무정형전분입자 소재개발 -무정형전분입자의 지소화성 향상을 위한 물리적 처리 공정 개발 및 기능 생리활성 검증(<i>in vitro</i> 및 <i>in vivo</i>) -생물전환기술 등을 활용한 지소화성 및 난소화성 전분소재 개발 ▪ 개발된 전분 소재들의 물리적 및 생리적 기능성 탐색 <ul style="list-style-type: none"> -개발된 전분 소재들과 기존 화학적 변성전분들의 물리적 기능성 비교연구 -고 탄수화물 및 고지방 식이 동물모델에 의한 개발된 전분 소재들의 <i>in vivo</i> 생리활성 효능(장 기능 개선, 항비만 등) 탐색 및 관련 효능 작용기전 규명 ▪ 물리적 및 생리적 기능성에 따른 기능성 전분 소재들의 용도별 소재화 및 산업화 		
<p>연구개발성과</p>	<p><연구개발결과></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 서류 작물인 감자와 고구마에서부터 효소적 전분을 추출공정을 수행한 결과, 감자의 경우 β-glucanase 계열의 효소가, 고구마의 경우 <i>Aspergillus oryzae</i> 유래 cellulase 계열의 효소를 이용했을 때 물리화학적 특성에 변화 없이 높은 수율로 전분이 추출되었다. 마를 0.4% (w/v) sodium bicarbonate 용액에 침지시켰을 때 안정적인 전분추출수율을 얻을 수 있었다. 쌀의 경우 sodium carbonate와 단백질분해효소의 병행처리를 통해 개발된 방법을 이용할 경우 기존의 전분과 물리화학적 차이가 없는 전분을 얻을 수 있었다. ▪ 쌀 부산물인 쇄미(broken rice)에서 단백질분해효소 처리, 가압효소 추출법 (Free-thaw infusion, FI), 그리고 알칼리 침전법을 통해 전분을 추출한 결과 이화학적 특성 차이 없이 FI에서 가장 수율로 전분이 추출되었다. 감자 sludge의 경우 감자에서 추출했을 때와 같이 β-glucanase 계열로 효율적으로 추출가능하며, 효소의 농도에 따라 추출효율에 큰 변화가 없었다. 또한 밀기울에서 전분을 추출하기 위해 단백질분해효소와 cellulase를 이용하였으며 이 때 곰팡이 (<i>Aspergillus oryzae</i>) 유래 단백질분해효소에 의하여 추출효율이 높았으나, cellulase에 따른 유의적 변화는 나타나지 않았다. ▪ 반응표면 분석법을 통하여, 감자, 고구마, 쌀 유래 전분 추출의 최적화 방법을 확립하였다. ▪ 다양한 미생물 유래의 amylosucrase (ASase)를 비교 분석한 결과 열 안정성이 떨어지지만 당전이 활성이 높은 NPAS (<i>Neisseria polysaccharea</i> 유래 ASase), 그리고 당전이 활성이 NPAS에 비하여 비교적 낮지만 열안정성이 가장 높은 DGAS (<i>Deinococcus geothermalis</i> 유래 ASase)를 선정하여 하였다. 또한, sucrose phosphorlyase (SPase)와 glucan phosphorylase (GPase) 효소의 활성을 확인하여 효소수식공정을 개발하였다. 		

- 서류 전분 (감자와 고구마 유래 전분)을 다양한 온도에서 DGAS 처리 한 결과, 감자의 경우 효소의 활성이 가장 높은 40℃, 고구마의 경우 30와 40℃에서 저항전분 함량이 가장 높게 형성되는 것을 확인하였다. 또한 각 반응 온도에 따라 amylopectin의 side-chain 길이의 차이가 나타났으며, 이에 다른 물리화학적 특성이 나타났다. 멥쌀 전분에 저항전분 함량은 0.7%에서 DGAS 처리 시 32.5%, NPAS 처리 시 저항전분 함량은 39.8%로, 찹쌀 전분의 저항전분 함량도 0.8%에서, DGAS 처리 시 23.6%, NPAS 처리 시 38.3%로 크게 증가한 것을 확인할 수 있었다. 또한 두 효소에 따라 물리화학적 특성에 차이가 나타났다.
- Dual enzyme system을 이용한 결과, sucrose와 SPase를 이용하여 값비싼 기질인 G-1-P을 생산하고, 이를 전분과 GPase를 반응하여 저항전분 함량이 크게 증가하였으며, 물리화학적 특성이 변한 기능성 전분을 합성하는 공정을 성공적으로 개발하였다.
- 마지막으로, ASase를 이용하여 농산물 가공부산물로부터 효소수식전분을 제조하였다. 전분을 추출하고 남은 마박의 경우 DGAS를 처리하였을 경우, 기존의 마박이 가지고 있는 저항전분 함량인 $27.44 \pm 3.45 \%$ 보다 더 높은 $35.21 \pm 2.32 \%$ 로 나왔다. 또한 ginsenoside를 추출하고 남은 홍삼박에 NPAS를 처리할 경우 저항전분함량이 $0.26 \pm 0.23 \%$ 에서 $17.71 \pm 0.62 \%$ 로 크게 증가하는 것을 확인하였다.
- 본 연구를 통하여 효소적으로 합성된 변성전분은 RS함량이 증가한 것뿐만 아니라 전분 자체의 물리화학적 특성이 완전히 달라진 것을 확인할 수 있었다.
- 무정형입자감자전분(AGPS)과 교차변성무정형입자감자전분(CLAGPS)을 각각 에탄올처리 및 가교화처리 후 열처리하여 제조 한 후 이들의 특성을 알아보았다. 두 전분 모두 입자모양은 유지하였으나 복굴절성이 소실되었으며 DSC 및 XRD결과에서도 완전하 호화를 나타내었다. 그러나 이들 전분의 겔보기점도, 팽윤력, 용해도 및 RVA pasting properties는 전혀 다른 특성을 나타내었다. 무정형입자감자전분은 호화감자전분에 비해 상대적으로 높은 효소저항전분을 보였으나 교차변성무정형입자감자전분은 큰 차이를 나타내지 않았다. 다양한 수분함량 및 온도에서 무정형입자감자전분에 열수처리를 하여 이들의 물리화학적 변화를 유도하였다. 무정형입자감자전분을 열수처리한 결과 DSC 및 XRD상의 변화가 나타나 이들의 분자배열이 바뀌었음을 알 수 있었다. 열수처리한 무정형입자감자전분은 온도 및 수분함량에 따라 무정형에서 A- 또는 B-type 결정형을 가지는 입자전분으로 변화하였다. Raman spectroscopy와 FT-IR 분석 결과 이들의 분자구조 변화를 확정할 수 있었다. 열수처리한 무정형입자감자전분은 상대적으로 높은 효소저항전분과 slowly digestible starch 함량을 나타냈고 상대적으로 작은 rapidly digestible starch 함량을 나타내었다.
- 다양한 유기산 (10~30%) 및 pH 3.5로 처리한 경우, citric acid 처리 시 높은 RS 함량으로 인해 현저히 낮은 소화율을 나타내었으며, malic acid, tartaric acid는 유사한 소화율을 보여 citric acid보다는 다소 높은 소화율을 유지함. 하지만, 모든 유기산 처리군은 호화 후에도 천연전분보다 현저히 낮은 소화율을 나타냄으로써 식품에 적용할 경우 가공처리에도 소화지연 효과를 유지할 것으로 기대되어짐. 이에 citric acid, malic acid, 및 tartaric acid 함량 10~30% 첨가 후 pH를 3.5로 조절하여 제조한 변성전분을 동물실험 효능검증을 위한 유용후보군으로 선정하였음.
- 유기산 첨가 없이 pH만 조절한 전분을 분석한 결과, pH level과 소화율이 경향 없이 나타나 유기산 처리 전분의 소화지연 효과는 산에 의한 가수분해에 의한 결과이기보다 유기산이 전분 사슬에 치환되어 나타나는 결과라고 추측할 수 있음.
- 동물실험 결과, CA30%, pH3.5-고농도 군에서 체중증가 억제효과 및 유의적으로 낮은 혈당수준을 보여 항비만 및 항당뇨 소재로서의 가능성을 확인하였음.

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 대표적 prebiotic 소재인 프락토올리고당(FOS)과 변성전분의 유익균 생육효과를 비교하였을 때 구연산 처리 변성전분에서도 그에 상응하는 유익균 생육효과를 나타냄을 확인하였음. ▪ 유기산(citric acid, malic acid, tartaric acid) 종류를 달리하여 제조한 변성전분과 균을 함께 장기간 배양할 경우 변성처리 전분이 glucose보다 균 수를 유지하는데 뛰어난 효과를 보였으며, 유익균의 성장을 촉진하여 프리바이오틱 소재로써의 가능성을 확인하였음. ▪ 동물실험 결과, RS함량이 가장 높았던 citric acid 균에서 단쇄지방산 증가 및 유익균의 증가를 보여 쥐의 장내 환경 개선에 가장 높은 효과가 있음을 확인하였음. <p><연구개발성과></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ SCI 논문 : 9건 / 비SCI 논문 : 6건 / 학술발표 : 41건 ▪ 특허출원 : 4건 / 특허등록 : 2건 ▪ 기술이전 : 1건 ▪ 시제품제작 : 10건 ▪ 전분제품 제품화 : 2건 ▪ 전문인력양성 : 8명 				
<p style="text-align: center;">연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 식품용 효소를 이용하여 국내산 농작물인 감자, 고구마에서 가장 효율적으로 전분 추출 공정을 개발하였으며, 마로부터 안정적으로 전분을 추출하는 방법을 개발하였다. 또한 효소처리를 통한 효율적인 전분 추출공정 개발을 통하여, 쌀 전분 생산성 향상에 큰 기여를 할 것으로 보인다. ▪ 특히 농산 가공부산물의 전분을 추출하는 공정개발은 농산 가공부산물의 새로운 부가가치를 창출 할 가능성이 있다. ▪ 기존의 화학적 방법과 달리 효소를 이용할 경우, 자연친화적이며 순환 조건에서 전분의 물리화학적 특성이 전혀 다른 변성전분을 만들 수 있다. 특히 본 연구에 사용된 효소반응 시스템은 모두 중성의 조건에서 높은 활성들을 보이며, 기질로 값이 싼 자당 (sucrose)를 이용하기 때문에 식품에 적용하기 유리하다. ▪ 더욱이 GI 수치가 낮고, 장내균총에 좋은 영향을 주기 때문에 주목을 받는 저항전분의 함량이, 효소처리를 통해 기존의 전분보다 높아지기 때문에 산업적으로 효용가치가 높다. ▪ 무정형입자감자전분 및 교차변성무정형입자감자전분은 천연전분과는 전혀 다른 물리화학적특성을 나타내어 향 후 식품산업, 제지산업, 의류산업 및 화장품산업 등에서 널리 사용될 수 있을 것이다. ▪ 무정형입자감자전분의 열수처리는 A-type 결정형태를 가지는 감자입자전분과 같은 특수한 성질을 가지는 변성전분을 만드는 데 활용될 수 있는 기술이다. ▪ 기능성 전분의 생리활성효능 평가기법 등의 기술 개발 ▪ 개발된 기능성 전분 소재들의 비만, 당뇨, 변비 등 다발성 질환용 예방식품의 주원료 및 부원료로 활용 ▪ 개발변성전분을 이용한 건강 기능성 제품생산으로 국민 건강 증진에 기여 				
<p style="text-align: center;">중심어 (5개 이내)</p>	<p style="text-align: center;">식물유래 전분</p>	<p style="text-align: center;">무정형전분입자</p>	<p style="text-align: center;">친환경적 전분변성</p>	<p style="text-align: center;">물리적 기능성</p>	<p style="text-align: center;">생리활성 강화 전분</p>

< SUMMARY >

		코드번호	D-02
Purpose & Contents	<p><Research objectives></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Development of starch extraction methods and starch materials from plant sources and plant processing by-products ▪ Study in industrialization of starch for enhancing the physical and physiological functionalities and its productivity ▪ Materialization and commercialization of developed starches by investigating their physical and physiological functionalities ▪ Enhancement of import-substituting effects and improvement of added value of agricultural products and their by-products by reinforcing the relation between food industry and agriculture <p><Research contents></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Development of starch extraction and materials from domestic agricultural products <ul style="list-style-type: none"> -Extraction method design and characterization of starches from domestic plant sources for maximizing starch production -Extraction method design and characterization of starches from agriculture processing by-products (broken rice, potato sludge, wheat bran) -Recovery process development and materialization of starchy materials from special crop processing by-products using biocatalytic reaction ▪ Development of starch modification for enhancing physical functionality and bioactivity <ul style="list-style-type: none"> -Development of amorphous granular starch from developed native starches -Development of physical modification for enhancing slowly-digestibility of amorphous granular starch and investigation of <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> functionality of developed starch -Development of slow- and non-digestion starch materials by bioconversion technology ▪ Investigation of physical and physiological functionalities of developed starch materials <ul style="list-style-type: none"> -Comparative study of physical functionality between developed and existing modified starches -Investigating of <i>in vivo</i> bioactivity of developed starch materials by mice ▪ Materialization and commercialization of functional starch materials depending on the intended uses based on their physical and physiological functionalities 		
Results	<p><R&D Results></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ When enzymatic starch extraction process was applied on the root & tuber crops (potatoes and sweet potatoes), starch was extracted at a high yield without changes to the physicochemical properties when β-glucanase enzymes were used for potatoes and cellulase from <i>Aspergillus oryzae</i> enzymes were used for sweet potatoes. Stable starch extraction yield was achieved when flax was submerged in 0.4% (w/v) sodium bicarbonate solution. Starch with no physicochemical differences with existing starch could be extracted from rice by using a developed method that involved combined treatment with sodium carbonate and protease. 		

- When starch was extracted from the broken rice, a rice byproduct, using protease treatment, free-thaw infusion (FI), and alkali precipitation method, the highest starch extraction yield was achieved without physicochemical changes when FI was used. With respect to potato sludge, efficient extraction was possible by using β -glucanase enzymes, just as in potatoes, while there were no significant differences in extraction efficiency according to enzyme concentrations. Moreover, protease and cellulase were used to extract starch from bran, and while extraction efficiency was high when fungus (*Aspergillus oryzae*) derived protease was used, but significant changes versus cellulase could not be found.
- Optimization of starch extraction from potato, yam, and rice on a semi-pilot scale was established through the response surface methodology.
- Based on the results from comparative analysis on various microorganism-derived amylosucrase (ASase), *Neisseria polysaccharea*-derived ASase (NPAS) that shows low thermal stability but high transglycosylation activity and *Deinococcus geothermalis*-derived ASase (DGAS) that has relatively lower transglycosylation activity than NPAS but has the highest thermal stability were selected. Moreover, by identifying the activities of enzymes sucrose phosphorylase (SPase) and glucan phosphorylase (GPase), an enzymatic modification process was developed.
- Starch of the root & tuber types (starch from potatoes and sweet potatoes) were treated with DGAS at varying temperatures, and the results showed that in case of potatoes, resistant starch content was highest at 40°C when enzymatic activity level was the highest, while in case of sweet potatoes, resistant starch content was highest at 30°C and 40°C. Moreover, the length differences of side-chains of amylopectin were observed according to the reaction temperature, which resulted in different physicochemical properties. Resistant starch content in normal rice starch showed significant increase from 0.7% to 32.5% and 39.8% when treated with DGAS and NPAS, respectively, while RS content in waxy rice starch also showed significant increase from 0.8% to 23.6% and 38.3% when treated with DGAS and NPAS, respectively. Moreover, differences in physicochemical properties appeared according to these two enzymes.
- When the dual enzyme system was used, G-1-P, a high-priced substrate, was produced using sucrose and SPase, and when this was reacted with starch and GPase, significant increase in RS content was found. As a result, a process of synthesizing a functional starch with altered physicochemical properties was successfully developed.
- Lastly, ASase was used to produce enzyme-modified starch from processed agricultural byproducts. When the flax marc remaining after starch extraction was treated with DGAS, RS content showed $35.21 \pm 2.32\%$, which is higher than the RS content of the existing flax, $27.44 \pm 3.45\%$. Moreover, when red ginseng marc remaining after ginsenoside extraction was treated with NPAS, RS content increased significantly from $0.26 \pm 0.23\%$ to $17.71 \pm 0.62\%$.
- The findings in this study showed that enzymatically synthesized modified starch had increased RS content, as well as the physicochemical properties of starch itself have completely altered.

- Amorphous granular potato starch (AGPS) was prepared using heat treatment at 94°C with 53% EtOH and cross-linked amorphous granular potato starch (CLAGPS) was prepared using cross-linking with STMP/STPP and heat treatment of native potato starch (NPS). Both AGPS and CLAGPS maintained granule shape and lost birefringence when observed by light and polarized microscopes. DSC and XRD of both AGPS and CLAGPS also showed complete gelatinization. However, their apparent viscosity, swelling power, solubility, and RVA pasting properties were distinctively different with each other. AGPS revealed relatively higher RS content than gelatinized potato starch, while CLAGPS did not show the increase of RS content in spite of cross-linking modification.
- Hydrothermal treatment were performed at different moisture contents (18, 29, 200% d.b) and temperatures (4, 25, 40, 60, 80°C) for 3 weeks. AGPS showed no amylopectin melting peak because it already gelatinized, while all treated AGPS revealed amylopectin melting peak suggesting rearrangement occurred during hydrothermal treatment. In XRD, AGPS showed amorphous pattern and treated AGPS revealed A- or B-type crystalline patterns depending on treated temperature and moisture content. Raman spectroscopy and FT-IR confirmed that ordered structure and crystalline region increased during hydrothermal treatment of AGPS. Resistance starch and slowly digestible starch contents of treated AGPS increased but rapidly digestible starch content decreased compared to AGPS.
- Combination of CA concentration and pH condition was found to significantly increase amount of RS in the potato starches compared to both native and hydrochloric acid treated-starches. Also, dietary treatment with citrate starch led to healthier blood glucose level and less adiposity in obese-induced mice.
- Probiotic bacteria *B. bifidum* and *L. acidophilus* grown in medium with citrate starch showed substantial viability. In brief, bacterial viability was higher when cultured in the presence of CA-modified starch (6.38-6.85 log CFU/mL) than in the presence of glucose (4.48 log CFU/mL). Moreover, CA-modified starch promoted the growth of beneficial bacteria and grew the highest number of *Lactobacillus acidophilus*.
- In animal experiments, all modified starch at a dose of 2.0 g/day was able to increase gastrointestinal transit, fecal moisture, and fecal lipid content. Overall, modified starch could promote the growth of beneficial bacteria by providing short-chain fatty acid production in the intestines and the most effective starch was modified with CA.
- pH conditions of different organic acid (e.g. citric acid, malic acid, tartaric acid) esterification significantly affect the structure, physico-chemical properties, and nutritional value of potato starch.
- *in vivo* and *in vitro* relationships was confirmed and CA-, MA-, and TA-modified starch can be used as a functional material to improve the intestinal environment.

	<R&D Outcome> <ul style="list-style-type: none"> ▪ SCI article : 9 cases / KCI article : 6 cases ▪ Patent application : 4 cases / Patent registration : 2 cases ▪ Technology transfer : 1 case ▪ Prototype production : 10 cases ▪ Starch product : 2 cases ▪ Human resource development : 8 persons 				
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> ▪ This study developed the most efficient starch extraction process for Korean domestic crops (potatoes and sweet potatoes) by using food-grade enzymes, as well as a method for stable extraction of starch from yam. Moreover by developing an efficient starch extraction process through enzymatic treatment, the findings are expected to make a significant contribution in improving the productivity of rice starch. ▪ In particular, the development of a method for extracting starch from processed agricultural byproducts has the potential of creating novel value-added features to processed agricultural byproducts. ▪ When using an enzyme unlike existing chemical methods, it is possible to produce the modified starch with completely different physicochemical properties under mild and eco-friendly conditions. In particular, the enzymatic reaction system used in this study showed high activity levels at neutral conditions, and since it uses inexpensive sucrose as a substrate, it is advantageous for food applications. Moreover, since RS content, which is drawing attention for showing lower GI values and having health functionality, becomes higher than the existing starch level by enzymatic treatment, it also offers high industrial value as well. ▪ AGPS and CLAGPS revealed distinctively different physicochemical properties compared to NPS suggesting potential application in food, textile and paper industries. ▪ Hydrothermal treatment could change the physicochemical properties of AGPS and produce an identical material, such as granular potato starch with A-type crystalline. ▪ Development of a new value-added modified starches from cereals through chemical processing and extension the use of modified starches with enhanced physiological functions. ▪ A substantial impact on science by studying new structural modification procedures as well as industry by transferring the creative technology. 				
Keywords	Plant-based starch	Amorphous granular starch	Eco-friendly starch modification	physical functionality	Bioactivity-enhanced starch

CONTENTS

Chapter 1. Overview of this research project	1
Chapter 2. Trends in domestic and worldwide technical developments	6
Chapter 3. Research results	14
Chapter 4. Objective achievements and expected contribution	381
Chapter 5. Applications of research results	383
Chapter 6. Overseas scientific information collected for the study	385
Chapter 7. Security level of this research	388
Chapter 8. Research facilities and equipments	389
Chapter 9. Laboratory safety management performance	390
Chapter 10. Representative research achievement for this research	397
Chapter 11. Other details	398
Chapter 12. References	399

〈 목 차 〉

제1장. 연구개발과제의 개요	1
제1절. 연구개발의 목적	1
제2절. 연구개발의 필요성	1
제3절. 연구개발의 범위	4
제2장. 국내외 기술개발 현황	6
제1절. 국내외 전분소재 산업 현황	6
제2절. 국내외 기술개발 현황	10
제3장. 연구수행 내용 및 결과	14
제1절. 국내산 농산물을 활용한 생전분 제조 및 특성	14
제2절. 효소적 변성방법에 의한 전분소재 개발 및 특성	84
제3절. 물리적 변성방법에 의한 전분소재 개발 및 특성	147
제4절. 화학적 변성방법에 의한 전분소재 개발 및 특성	183
제5절. 전분소재의 생리활성효능 검증 연구	306
제6절. 연구개발성과	373
제4장. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	381
제1절. 목표달성도	381
제2절. 관련분야 기여도	382
제5장. 연구결과의 활용계획	383
제1절. 연구결과 및 연구성과의 활용계획	383
제2절. 추가 연구의 필요성 및 계획	383
제6장. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	385
제7장. 연구개발결과의 보안등급	388
제8장. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	389
제9장. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	390
제10장. 연구개발과제의 대표적 연구실적	397
제11장. 기타사항	398
제12장. 참고문헌	399

〈별첨〉 자체평가의견서

제1장. 연구개발과제의 개요

코드번호

D-03

제1절. 연구개발 목적

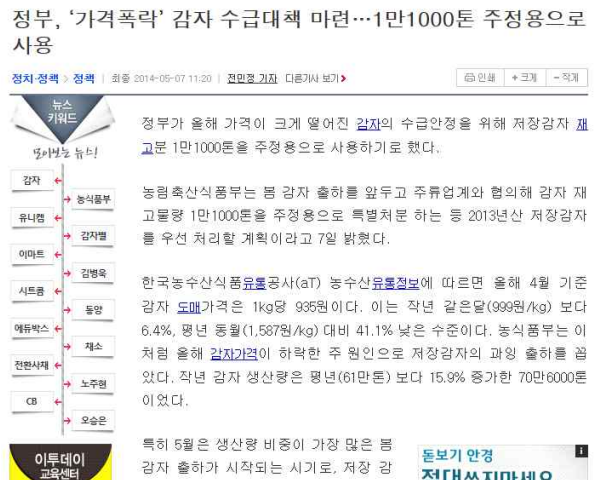
- 식물자원 및 식물자원 가공부산물로부터 전분 추출·정제법 확립 및 전분 소재화
- 물리적 기능 및 생리적 기능, 생산성 증대를 위한 전분 산업화 연구
- 개발된 전분들의 물리적 및 생리적 기능탐색을 통한 용도별 소재화 및 산업화
- 식품산업과 농업 간 연계 강화로 수입대체 효과 증대 및 농부산물의 부가가치 제고

제2절. 연구개발의 필요성

1. 국내 농산자원을 활용한 전분소재 생산의 필요성

- 옥수수전분, 카사바전분(전량 수입), 감자전분, 고구마전분, 쌀전분이 국내의 식품 및 기타 산업용으로 사용되고 있다. 옥수수전분과 카사바전분에 비해 감자전분, 고구마전분, 쌀전분의 생산량은 극히 적으며 특정 식품의 가공원료로만 제한적으로 사용되고 있다.
- 최근 카사바전분의 이용이 증가하고 있지만 낮은 가격(2014년 선물가격 \$140~200/ton)의 옥수수가 수입되어 국내의 식품 및 기타산업용 전분소재(천연전분과 변성전분)의 생산원료로 사용되고 있다(식품산업통계정보, aT한국농수산물유통공사).
- 수입산 옥수수의 대부분은 병해충 및 제초제 저항성을 부여한 GMO로 알려져 있고 이들이 식품산업에 활용되는 천연전분 및 변성전분의 원료로 사용되고 있어 이런 전분소재들을 원료로 사용한 가공식품의 안전성에 대한 소비자들의 불만 표시가 높아지고 있는 실정이다.
- 최근 12년간 친환경 농산물과 이를 활용한 농식품 시장규모의 확대에서 알 수 있듯이 농식품에 대한 소비자들의 선호 우선기준이 가격조건에서 안전성, 신선도, 품질 등 비가격적 조건으로 변하고 있다. 친환경 농산물 출하량은 1999년 27천톤에서 2011년 1,852천톤으로 연평균 42.2%씩 성장하는 추세이다(친환경인증통계정보, 국립농산물품질관리원, 2012).
- 이와 같이 식품원료 및 가공식품에 대한 안전성에 대한 소비자들의 관심증대와 안전한 농식품의 소비패턴에 부응하기 위해서는 다양한 가공식품에 주재료, 부재료, 및 식품첨가물로 활용되는 전분소재(천연전분과 변성전분)들을 GMO 이슈로부터 자유로운 국내산 농산자원으로부터 생산한 천연전분과 이로부터 가공된 변성전분에 대한 개발과 산업화가 절실히 필요하다.

- 한편 국내산 농산물의 내수시장이 적고 수출이 거의 없어 농산물의 공급량에 따라 농산물의 가격 변동이 큰 특성을 보이고 있다. 2014년 봄 감자의 공급이 전년에 비해 15.9% 증가하여 감자가격이 약 41.1%가 폭락하였다(평균 감자가격 1,587원/kg → 2014년 4월 935원/kg). 이와 같이 국내는 농산물의 공급이 과도할 때 과잉생산된 농산물의 수급을 조절하여 안정시킬 수 있는 방안이 고안되어야 하는 현실이다.



<2014년 봄 감자가격 폭락 관련 신문기사>

- 국내에서 소비되는 천연전분 중 감자전분은 중국에서 일부 수입하거나 국내생산 감자로부터 생산되고 있다. 따라서 과잉생산 전분성 농산물(감자, 고구마, 쌀 등)을 전분생산 원료로 활용하는 것은 과잉생산 농산물의 수급을 조절할 수 있어 농산물의 가격을 안정화 시키는데 기여할 수 있을 것으로 판단된다.
- 따라서 농식품의 안전성에 대한 소비자들의 불안/불만을 저감하고 과잉생산 농산물의 수급 및 가격을 조절하는데 필요한 국내 농산자원으로부터 고수율 전분 생산기술의 확립, 이들을 활용한 전분소재의 생산기술의 개발과 전분소재들의 식품 및 비식품 산업적 활용성 증대를 위한 연구개발이 시급하다.

2. 국내 농산자원을 활용한 기능성 전분 소재 개발의 필요성

- 전분소재 생산이 가능한 국내 농산자원은 쌀, 감자, 고구마, 우리밀 등이 있으나 옥수수에 비해 가격경쟁력이 낮고 국내 산업분야에서 요구하는 전분소재 사용량의 충당에는 어려움이 있다.
- 따라서 국내 농산자원으로부터 생산된 전분소재들이 현재 보편적으로 사용되는 옥수수전분 소재들에 대한 경쟁력을 가지기 위해서는 기존 옥수수전분 소재들에 비해 물리적 및 생리적 기능성에 있어 차별성을 나타내는 기능성 전분 소재로의 개발이 절실하다.

- 한편 소비자들은 가공식품 및 건강기능성 식품으로부터 항비만 및 체중조절, 면역력 증진과 아토피 증산 개선 등의 효능을 선호하고 있으며 이러한 효능들의 기능성 식품 소재로부터 기대할 수 있는 생리활성효능들의 선호도에 있어 약 80% 이상을 차지하고 있다.



*자료원: 2008, 국내 상위38개 업체 대상 조사 결과

<소비자의 기능성 선호 경향>

- 생리적 기능성을 기대할 수 있는 전분소재들로는 지소화성 및 난소화성(저항전분) 전분들이 존재한다. 지소화성 전분 소재들은 체내 소화효소의 작용을 지연시켜 전분성 물질로부터 생성된 단순당(포도당)의 체내흡수를 지연시키거나 저감하여 제2형 당뇨병 환자와 체중조절 중인 사람들을 위한 식품원료로 유용한 소재이다.
- 저항전분(resistant starch, RS)은 소화기관을 거치면서 소화효소들에 의해 분해되지 않는 전분과 전분 기반 식품의 잔류물질로 정의된다. 저항전분은식이섬유나 prebiotics로서 포만감과 대장건강을 풍부하게하고, 혈당반응 및 insulinaemic 반응을 개선하고, 체중감소 및 유지에 도움을 주고, 혈중지질 프로파일을 개선하는 등 다양한 생리적 기능성을 보유하고 있다.
- 따라서 기존의 옥수수전분 소재들과 차별화된 국내 농산자원 유래 전분소재들을 개발하여 성공적으로 산업화하기 위해서는 이들을 적절한 변성처리를 통해 지소화성 및 난소화성(저항) 전분 소재로의 개발이 절실히 필요하다.

제3절. 연구개발의 범위

1. RFP상 연구개발의 범위

- 국내 농산물 유래 전분의 추출·정제법 확립 및 전분소재 개발
 - 국내 활용 전분 산업 원료의 대부분을 차지하고 있는 식물자원(쌀, 감자, 고구마, 마)으로부터 전분생산 극대화를 위한 전분 추출·정제법 확립 및 특성평가
 - 농산자원 가공부산물(쇄미, 감자 가공슬러지, 밀기울)로부터 전분생산을 위한 전분 추출·정제법 확립 및 특성평가
 - 생 촉매 반응 등을 통한 특용자원 가공부산물의 전분성 물질의 고수율 회수 공정 및 소재화 기술 개발(홍삼박 및 마박)
- 물리적 기능성 및 생리활성 효능의 향상을 위한 전분변성기술 개발
 - 추출·정제된 전분으로부터 무정형전분입자 소재개발
 - 무정형전분입자의 지소화성 향상을 위한 물리적 처리 공정 개발 및 기능 생리활성 검증 (*in vitro* 및 *in vivo*)
 - 생물전환기술 등을 활용한 지소화성 및 난소화성 전분소재 개발
- 개발된 전분 소재들의 물리적 및 생리적 기능성 탐색
 - 개발된 전분 소재들과 기존 화학적 변성전분들의 물리적 기능성 비교연구
 - 고 탄수화물 및 고지방 식이 동물모델에 의한 개발된 전분 소재들의 *in vivo* 생리활성 효능(장 기능 개선, 항비만 등) 탐색 및 관련 효능 작용기전 규명
- 물리적 및 생리적 기능성에 따른 기능성 전분 소재들의 용도별 소재화 및 산업화

2. 연차별 연구개발의 범위

[1차년도]

- 동적건식반응공정을 이용한 지소화성 및 난소화성 유기산 수식 전분 개발 및 대량생산 기반구축
- 당전이 효소를 이용한 전분의 생물전환반응기법 개발 및 이를 활용한 기능성 전분 소재 개발
- 국내 농산작물로부터 추출·정제된 전분으로부터 무정형전분입자 개발
- 국내산 곡류 및 서류를 이용한 고효율 및 고수율 전분 추출·정제법 구축 및 소재화
- 국내산 농산물 유래 전분들의 식품용 및 산업용 전분 소재화 가능성 탐색
- 개발된 전분소재들의 항비만/혈당/장기능 개선 효능의 *in vitro* 평가

[2차년도]

- UV 및 콜드플라즈마 건식반응공정 설계 및 이를 활용한 하이드로콜로이드 수식 전분 개발
- Sucrose phosphorylase 및 기타 탄수화물 활성효소를 이용한 기능성 전분 소재 개발
- 무정형전분입자의 지소화성 향상을 위한 물리적 처리공정 개발 및 물리적 기능성 검증
- 국내 농산물(곡류 및 서류) 가공부산물을 이용한 전분 추출·정제법 구축 및 소재화
- 진공가열반응공정에 의한 지소화성/난소화성 유기산 수식 전분 대량생산 기반 구축
- 동물모델을 이용한 개발된 전분소재들의 항비만/혈당/장기능 개선 효능평가

[3차년도]

- 개발된 전분소재들과 기존 화학적 변성전분들의 물리적 기능성 비교연구
- 생물전환기술에 의한 특용작물 가공부산물(홍삼박, 마박)으로부터 전분성 물질의 소재화 기술 개발
- 무정형전분입자 및 생물전환 전분소재들과 기존 물리적 변성전분들의 물리적 기능성 비교 연구
- 개발된 천연전분 소재들의 대량생산 공정 최적화 및 시제품 생산
- 가압가열반응공정에 의한 지소화성 무정형전분입자의 대량생산 기반 구축
- 동물모델을 이용한 개발된 전분소재들의 항비만/혈당/장기능 개선 효능평가

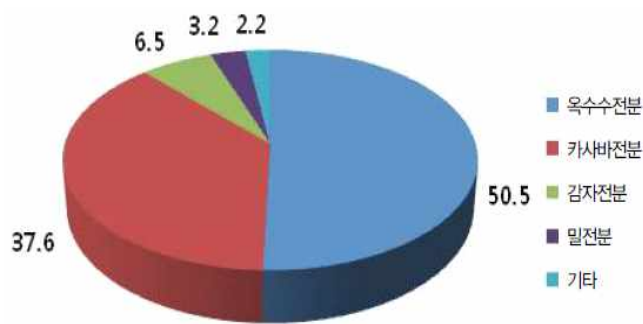
제2장. 국내외 기술개발 현황

코드번호

D-04

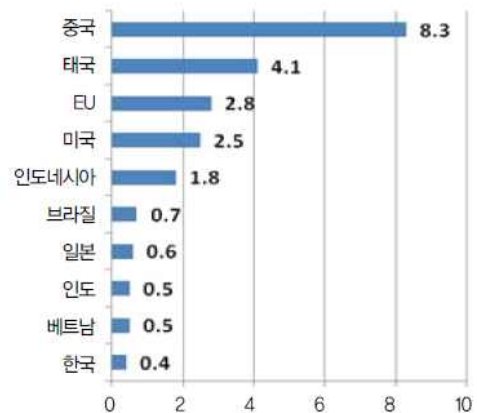
제1절. 국내외 전분소재 산업 현황

- 지구상에서 셀룰로오스 다음으로 풍부한 생물소재인 전분(starch)은 포도당을 단량체로 하는 직쇄상의 아밀로오스와 고도분지상의 아밀로펙틴들이 서로 응집하여 과립(granule) 형태로 고등식물의 곡립, 괴경, 뿌리 및 구근 등에 저장되어 있는 탄수화물 저장매체이다.
- 천연전분은 옥수수, 밀, 보리, 쌀과 같은 곡물류, 감자, 카사바, 고구마 같은 괴근/괴경류와 완두, chickpea, lentil, mung bean 같은 콩류에서 생산될 수 있으나, 상업용 천연전분의 경우 전 세계 생산량의 약 98%를 옥수수전분, 카사바전분, 감자전분, 밀전분이 차지하고 있다.



<작물별 천연전분 생산 비중(%)>

(Starch: A Global Strategic Business Report, 2012)



<국가별 천연전분 생산량(백만톤)>

(Starch: A Global Strategic Business Report, 2012)

- 천연전분의 주요 생산국은 8.3백만톤을 생산하는 중국으로 세계에서 가장 많이 생산하고 있으며, 전분소재의 최대 소비국인 미국은 2.5백만톤으로 태국과 EU에 이어 4위에 위치하고 있으며 한국은 연평균 생산량이 0.4백만톤으로 세계 10위를 차지하고 있다.
- 무미, 무취한 천연전분은 재생가능한(renewable) 원료로부터 생산되어 풍부하고, 값이 싸고, 백도가 높고, 전분과립 안에 두 종류의 고분자가 고도로 집적되어 있어 식품, 제약, 화장품, 제지, 건축 등 산업 전반에 걸쳐 증점제, 분산안정제, 코팅광택제, 보습제, 증량제, 부형제로서 널리 사용되고 있다.

- 낮은 용해도, 불투명한 페이스트/겔, 빠른 노화/겔화 현상, 통제 불가능한 점조성 등과 같은 천연전분의 특성들은 이들의 산업적 활용을 제한하기 때문에 천연전분의 산업적 활용도를 향상시키기 위해 생산된 천연전분의 약 75%는 화학적 변성처리를 통해 변성전분으로 전환 후 사용되고 있다.

<천연전분을 화학적 변성처리 하는 주요 이유>

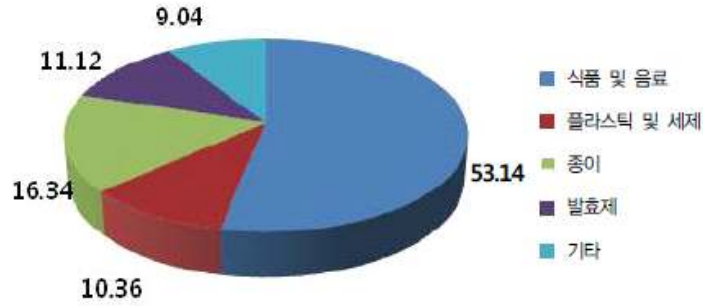
- Cooking 특성을 변형하기 위해
- 전분 페이스트의 노화와 겔화 현상을 지연시키기 위해
- 전분 페이스트의 냉·해동 안정성을 향상시키기 위해
- 전분 페이스트와 겔의 이수현상(syneresis)을 감소시키기 위해
- 전분 페이스트와 겔의 투명도와 광택도를 향상시키기 위해
- 접착력과 필름형성능을 향상시키기 위해

- 천연전분과 변성전분을 포함하는 전분소재의 연평균 전 세계 생산량은 약 7천만톤이며, 식품용 및 비식품용 전분소재의 전 세계 사용량은 2012년 기준 약 7.3천만톤으로 연평균 3.44%의 성장률을 보여 2018년에는 8.9천만톤이 소비될 것으로 전망된다(Starch: A Global Strategic Business Report, 2012).

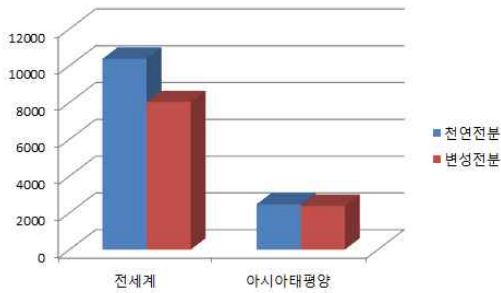
<전분소재(천연전분과 변성전분)의 용도별 사용>

식품분야	비식품분야
제빵(빵, 케이크, 페스트리, 비스킷 등)	접착제(콘크리트접착제, 종이접착제, 목제본드)
음료(술, 과일주, 기타 음료 등)	건축(페이트필러, 내열보드 등)
과자(스낵, 쿠키, 사탕, 코팅용, 팽화원료 등)	화장품(로션, 파우더 등)
유제품/디저트(푸딩, 커스터드, 아이스크림 등)	화약(성냥의 화약 바인더)
과일첨가물(과일통조림, 잼, 마말레이드 등)	채광(쿨링제, 광물부유제/침전제)
면(파스타, 소면, 라면 등)	종이(종이제품, 냅킨, 코팅제, 여성청결제 등)
유동식품(스프, 소스 등)	제약(결합제, 코팅제, 분산제, 부형제 등)
냉동식품(냉동만두, 냉동즉석조리식품 등)	플라스틱(마감제, 가소제, 생분해성 비닐 등)
육(어육)가공품(소시지, 햄, 어묵 등)	섬유(섬유의 마감, 프린팅 등 섬유의 후처리용)
기타 가공품(유아식품 등)	세제(유화안정제, 분산제)

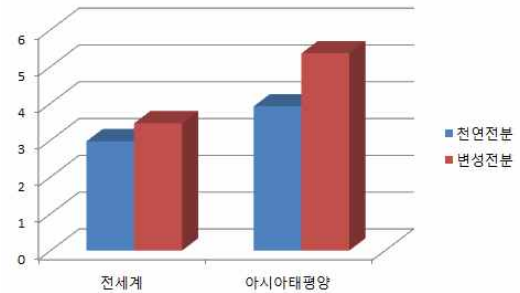
- 전분소재(천연전분과 변성전분)의 용도별 사용비중은 식품 및 음료가 53.1%로 가장 높은 비중을 차지하고 있으며 다음으로 플라스틱 및 세제, 제지, 발효제 순으로 사용되고 있다.



〈전분소재의 용도별 사용비중(%)〉



〈지역별 천연 및 변성전분 소비량(천톤)〉



〈지역별 전분 소비량 연평균 증가율(%)〉

- 반면에 지역을 불문하고 천연전분보다 변성전분 소비량의 연평균 증가율은 유의적으로 높으며, 특히 한국이 포함된 아시아태평양 지역의 변성전분 소비량에 대한 연평균 증가율은 5.4%로 전 세계 변성전분 소비량의 연평균 증가율 3.5%보다 높은 수준을 나타낸다.
- 한편 국내에서 생산되는 천연전분은 옥수수, 감자, 고구마, 밀로부터 생산되며 2011년 생산량은 0.4백만톤이고 약 89%가 국내에서 소비되고 있음(광업·제조업동향조사 보고서, 통계청, 2012). 그러나 국내에서 생산되는 천연전분의 대부분은 옥수수로부터 생산되며 옥수수는 전량 미국과 중국 등 해외에서 수입되어 국내 가공공장에서 전분으로 제조되는 실정이다. 국내에서 생산되는 전분 및 전분가공소재들의 전체 생산량의 약 90% 이상을 옥수수전분이 차지한다(2017 S사 시장조사자료).

〈국내 전분 생산 현황(2012~2016)〉

년도	2012	2013	2014	2015	2016
옥수수전분	460,000	446,000	486,000	515,000	503,000
기타(소맥, 감자, 고구마, 타피오카)	47,000	47,000	45,000	42,000	22,000
합계	507,000	493,000	531,000	557,000	525,000

- 국내에서 식품용 일반전분의 수입량은 10만톤 이상이며, 옥수수전분 이외에 주로 옥수수전분이며, 식품용으로는 감자전분과 소맥전분의 수입량이 꾸준히 증가하고 있다. 또한 최근 동남아시아 지역에서 생산되어 전량 수입되는 카사바(타피오카)전분의 수입이 증가하고 있다.

〈국내 일반전분 수입현황〉

년도	2012	2013	2014	2015	2016
소맥전분	114	326	814	2919	10,004
옥수수전분	59(식품) 2,652(공업)	57(식품) 3,384(공업)	119(식품) 2,787(공업)	121(식품) 1,271(공업)	196(식품) 9,140(공업)
감자전분	49,830	53,263	55,037	65,172	74,210
고구마전분	29,218	24,550	26,711	29,566	25,677
타피오카전분	17(식품) 44,602(공업)	3(식품) 30,832(공업)	2,006(식품) 26,401(공업)	978(식품) 25,626(공업)	1,768(식품) 27,882(공업)
기타전분	932	1,109	1,041	1,166	945
합계	127,424 식품용 80,080 공업용 47,344	113,524 식품용 79,308 공업용 34,216	114,916 식품용 85,728 공업용 29,188	126,819 식품용 99,922 공업용 26,897	149,822 식품용 112,800 공업용 37,022

- 국내 생산 식품용 변성전분들은 초산전분, 아세틸아디핀산이전분, 산화전분, 인산이전분, 옥테닐호박산나트륨전분들이 있으며 이들의 생산량은 2011년 1.2만톤이며 이들 중 초산전분과 산화전분의 일부만이 수출되고 있다(2.4백만 USD)되었음(식품 및 식품첨가물생산실적, 식품의약품안전처, 2013).
- 그러나 국내 식품가공(소재)업체들에 의해 수입되는 변성전분들은 아세틸아디핀산이전분, 인산이전분, 히드록시프로필인산이전분, 히드록시프로필전분, 산화전분, 초산전분, 옥테닐호박산나트륨전분들로 국내 생산 변성전분 품목보다 다양하였으며 2016년 수입량은 약 10.2만톤이며 국내 생산량보다 높은 수준으로 국내에서 변성전분은 수입의존품목으로 분류되고 있는 것이 현실이다(2017 S사 시장조사자료).

〈변성전분 수입현황〉

년도		2012	2013	2014	2015	2016
에테르/ 에스테르	식품	44,732	45,525	50,122	57,205	65,939
	공업	15,116	17,116	16,425	18,297	13,930
기타 변성전분	식품	2,246	2,793	4,014	3,818	4,162
	공업	24,663	31,190	16,319	7,553	9,736
알파전분	식품	1,821	1,881	2,054	2,499	2,608
	공업	3,272	2,889	4,875	6,020	6,534
합계		91,850 식품용 48,799 공업용 43,051	101,394 식품용 50,199 공업용 51,195	93,809 식품용 56,190 공업용 37,619	95,392 식품용 63,522 공업용 31,870	102,909 식품용 72,709 공업용 30,200

제2절. 국내외 기술개발 현황

1. 국내 농산자원으로부터 천연전분의 고수율 회수기법

- 옥수수전분 소재들의 산업적 사용량을 충족할 수 있고 가격경쟁력을 가진 전분소재들을 국내 농산자원으로부터 개발하기 위해서는 국내 농산자원 및 농산자원 부산물로부터 고수율로 전분을 회수할 수 있는 전분 추출·정제법의 확립이 요구된다.
- 작물별로 전분의 추출·정제법이 상이하여 작물별로 고수율 전분 회수기법의 최적화 연구와 개발된 전분 추출·정제기법의 현장실증시험을 통한 대량생산 기반구축이 필요하다.
- 국내 농산자원에서 전분의 추출·정제법 확립 시 국제 농산물 가격에 영향을 받지 않고 안정적인 국내 전분 가격을 형성할 수 있으며, 이를 이용한 전분 업체의 성장은 기존 국내 전분 시장의 투명성 확대가 가능하다.

2. 기능성 전분 소재 개발을 위한 생축매 활용기술 및 효소적 반응기법

- 생축매(효소)를 이용한 생물전환기술은 청정산업기술(clean technology)의 핵심기술로 인식되어 최근 여러 산업분야에서 연구 및 기술개발이 집중적으로 추진되고 있다.
- 기존 물리화학적 공정으로 제조가 불가능한 전분 소재를 생축매 반응기법을 통해 선택적으로 합성할 수 있는 장점이 있다. 생축매 반응기법의 반응조건에 따라 다양한 물성의 전분 소재 개발이 가능하여 식품 및 비식품 산업분야에 전반에 걸쳐 활용성이 높다.
- 기존 효소적 변성기법에 의해 지소화성 및 난소화성 전분소재 개발은 전분분자의 가수분해를 기본으로 하고 있으나 이는 전분소재의 수율감소와 그 물리화학적 특성에 큰 효과를 보이지 않아 전분산업에서 적용되지 못하고 있다.
- 최근 *Neisseria polysaccharea* 유래의 당전이 효소인 amylosucrase를 활용한 연구가 진행되고 있으나 이 효소는 열안정 및 활성이 낮아 산업화에 부적합하다.

3. 무정형전분과립 제조기술 및 이의 지소화성 향상을 위한 물리적 변성기법

- 전분은 가공되지 않은 천연상태에서 고유의 과립(granule) 형태를 가지며, 전분과립 내에는 결정형 부분과 무정형 부분이 동시에 존재하고 있는 부분결정성(semi-crystalline) 물질이다. 기존 전분 산업체에서 생산하는 무정형전분은 1차적으로 전분을 호화시킨 후 건조 또는 냉장/냉동 과정을 거쳐 건조한 후 분쇄한 상태로 제조되고 있어 최종생산품은 기존 천연전분의 과립(granule)상을 보유하지 못하고 입자(particle)상으로 존재하게 된다.

- 무정형전분입자는 수분흡수력이 높고 찬물에도 용해가 잘 되지만 팽윤력이 낮고 급격한 점도발달로 가공식품의 가공적성이 낮아지는 단점이 있으며 입자(granule)상으로 존재하는 천연전분 및 변성전분 본연의 장점들(탄수화물 고분자가 고도로 집적되어 있고 식품 제조 시 다량 사용할 수 있는 증량(bulking)효과를 잃게 된다.
- 한편 상업적인 무정형전분입자의 지소화성 향상은 습열(heat-moisture) 및 annealing 처리를 통한 물리적 변성기법에 의해 달성할 수 있지만 이 소재는 과립(granule)상이 손실되어 물리적 변성처리, 특히 annealing 하는 동안 전분분자들이 무정형전분입자(particle)로부터 유출되어 최종 생산물의 수율을 낮추고 높은 지소화 특성을 기대하기 어려운 단점이 있다.
- 그에 반해 본 연구개발의 연구팀에서 보유한 무정형전분과립(granule) 형성기술을 통해 제조된 무정형전분과립 소재는 높은 수분흡수력과 팽윤력을 보유하고 찬물에서 점도발달이 상대적으로 낮아 증량제로서 사용가능하며 기존 천연전분과 유사한 점도수준을 보유하고 있어 산업적 활용도가 매우 높은 장점들을 보유한다.
- 또한 무정형전분과립을 원료로 이의 지소화성 향상을 위한 물리적 변성반응 시 무정형전분과립 내의 전분분자들은 과립상의 외벽에 의해 보호되고 있어 최종생산물의 수율감소로부터 자유로우며 전분분자들이 과립상 안에 갇혀 있는 구조로 전분분자들 사이의 상호작용을 촉진시킬 수 있는 장점을 나타낸다.
- 따라서 변성처리 시 전분의 손실을 최소화해야 하는 전제조건을 가지고 있는 본 연구개발의 대상소재들의 지소화성 전분 소재화에 무정형전분과립 형성기술과 이를 이용한 물리적 변성기법의 구축은 기존 옥수수전분 유래 소재들에 적용되는 상업적인 물리적 처리기법과 차별화된 기술과 지소화성 전분소재들을 제공할 수 있을 것으로 기대된다.

4. 화학적 변성전분 대체소재 개발을 위한 친환경 건식반응기법

- 기존 화학적 변성전분들은 식품산업에서 지속적으로 사용량이 증가하고 있으나 화학적으로 합성된 반응물질들(propylene oxide, phosphorus oxychloride, 차아염소산나트륨 등)의 사용으로 변성전분에 대한 부정적 인식이 소비자들로부터 급속히 확대되고 있다.
- 기존의 전분변성기법은 습식반응이 주를 이루고 있으나 이는 다량의 반응폐액을 발생시켜 최근 폐기물의 해양투기금지와 관련된 전 세계적인 친환경기술육성 트렌드에 부합되지 않음으로 이를 지속적으로 활용한다면 국내 전분시장 및 전분관련 산업의 위축이 예상된다.

- 따라서 기존의 전분변성기법에 의한 폐기물을 최소화할 수 있는 전분변성기법의 개발 및 소비자들의 전분소재에 대한 저항을 최소화할 수 있는 기존의 화학적 변성전분을 대체할 수 있는 전분소재들의 개발 및 산업화가 절실하다.
- 현재까지의 상업화된 전분소재들을 고려할 때 항비만 및 혈중지질대사와 관련된 생리활성효능을 을 보유한 기능성 전분 소재는 주로 물리적 변성전분보다 화학적 변성전분들 (인산이전분, 아세틸아디핀산이전분, 옥테닐호박산나트륨전분)인 것으로 보고되고 있다.
- 본 연구개발에서 생리활성효능을 보유한 기능성 전분 소재는 효소적 및 물리적 변성전분 보다는 화학적 변성방법에 의해 개발될 것으로 예상된다. 그러나 화학적 합성 반응물질을 활용한 기존의 화학적 변성전분들의 제조방법을 본 연구개발에 적용하는 것은 소비자들에게 외면될 수 있는 가능성이 높다.
- 따라서 기존 옥수수전분 기반의 화학적 변성전분과 차별성을 가지며 소비자들의 반발을 최소화할 수 있는 기능성 전분 소재의 개발이 절실히 요구된다. 본 연구개발의 연구팀은 최근 연속순환식 가열반응공정을 개발하였으며 이를 활용하여 난소화성 구연산 수식 전분의 개발에 성공하여 특허를 출원하였다.
- 반응폐수를 최소화하거나 배출하지 않는 친환경 건식 변성반응공정을 연속순환식 가열반응기, 진공가열반응기와 가압가열반응기를 이용하여 구축하고 더불어 UV와 콜드플라즈마를 활용한 반응기법의 개발은 기존의 화학적 변성전분 소재들과 차별화할 수 있는 기술일 것으로 판단된다.

5. 기능성 전분 소재의 생리활성효능 검증 기술

- 우리나라 식습관의 특성상 곡류 즉, 탄수화물 위주의 식사를 하므로 비만 및 당뇨를 개선하기 위한 시도에는 기존의 지방질 흡수 억제 기전뿐 아니라 탄수화물의 흡수 기전 또한 견비되는 방법이 바람직할 것으로 생각된다.
- 이러한 점에서 인체 내에서 소화, 흡수되지 않는 전분으로 생리활성 물질, 기능성 물질로서 불용성 식이섬유로 분류되는 난소화성 전분 및 장내에서 서서히 소화되는 지소화성 전분에 대한 관심이 높아지고 있다.
- 난소화성 전분은 저칼로리원으로 생리적 기능이 식이 섬유소와 비슷하여 소장에서 소화 흡수되지 않고 대장에서 미생물에 의해 발효되어 butyric acid와 같은 단쇄 지방산을 생성함으로써 대장암 예방에 효과가 있다고 알려져 있다.

- 또한 지소화성 전분은 장내에서 서서히 가수 분해되면서 glucose가 유리, 흡수되므로 당뇨병 환자의 glucose 농도의 조절이 용이하고 고지혈증 환자나 건강인의 혈중 지질을 감소시키며, 운동 중 지구력을 증진시킬 수 있다는 여러 가지 잠재적인 이점이 알려져 있다.
- 따라서 지소화 및 난소화성 전분 자체의 낮은 소화, 흡수력 외에도 다른 영양분의 소화에 영향을 주어 비만이나 당뇨병 환자의 치료 예방 및 장기능 개선에 지소화 및 난소화성 전분 첨가 식이가 유의한 결과를 줄 수 있을 것으로 생각된다.
- 예방 가능한 사망원인 2위인 비만은 건강을 해칠 정도로 체내지방이 과도하게 축적된 상태로 당뇨, 고혈압, 동맥경화, 신장질환, 고지혈증 등을 유발하며, 자궁암, 신장암 등 각종 암과도 관련되어 있는 (2배 이상 위험률) 만성질환이다.
- 장 건강은 성별, 연령에 상관없이 건강을 유지하는 데 필요한 요소이며 생명을 위협할 수 있는 중한 질환은 아니지만 반복되는 증상들로 인해 삶의 질이 크게 떨어져 일상생활에 큰 어려움을 겪거나 의료비의 지출이 현저히 증가하는 문제가 발생할 수 있다. 따라서 적절한 치료와 예방을 통해 증상을 호전시키고 삶의 질을 개선시키는 것이 매우 중요하다.
- 비만과 그에 수반되는 당뇨 등과 같은 만성질환에 대한 위험증가 그리고 날씬한 체형에 대한 유행이 확산되면서 체중 조절을 위한 식품의 필요성이 급속히 증대되고 있으며, 이에 따라 많은 종류의 체중조절용 식품이 시판되고 있으나, 대부분 그 효능이 과학적으로 규명되고 있지 않으며, 오히려 소비자들에게 위해를 줄 가능성이 있음. 따라서 과학적으로 증명된 식품이나 소재의 개발이 절실히 필요하다.
- 지금까지의 전분의 기능성에 대한 연구는 주로 지소화-혈당반응과 난소화성-장기능 및 비만에 대한 단편적인 연구 위주였으며, 이들의 형성조건 및 소화·흡수력 차이에 따른 비만, 혈당 및 장기능 개선에 대한 효능 특성 차이에 대한 연구는 부족하다. 따라서 지소화전분과 난소화전분 각각에 대한 항비만, 혈당 및 장기능 개선을 포함한 복합기능에 대한 명확한 효능규명이 이루어지지 않고 있다.
- 또한 항비만, 혈당 및 장기능 개선 효능이 있을 것으로 생각되는 지소화 및 난소화 전분에 대한 관심은 대단히 높으나, 이들의 생리적 기능성을 이용하여 실제 제품화로 연결되어 상업화에 적용된 바가 없어 과학적인 검증을 거친 작용기전 규명과 함께 이의 상품화가 시급하다.

제3장. 연구수행 내용 및 결과

코드번호

D-05

제1절. 국내산 농산물을 활용한 생전분 제조 및 특성

1. 연구방법

가. 재료

(1) 전분 원료

감자는 국내에서 재배된 수미 품종(2014년 생산, 충남 당진시에서 구입)을 고구마는 국내에서 재배된 울미 품종(2014년 생산, 경기도 여주에서 구입)이 이용하였다. 쌀전분을 추출하기 위해 사용한 쌀가루는 국내산 유기농 쌀을 12분도로 도정하여 습식제분하고 기류밀로 분쇄한 것을 국내의 유기농 쌀가루 생산업체로부터 공급받아 본 연구에 사용하였다. 대조군으로는 알칼리 침지법에 의해 실험실에서 제조한 쌀전분과 Sigma-Aldrich 사에서 판매하는 상업적인 쌀전분을 사용하였다. 마 전분의 추출을 위해 경북 안동지역에서 재배되는 장마를 안동마부용농산영농조합법인으로부터 공급받아 마 전분의 원료로 사용하였다. 쌀 부산물에서 전분을 얻기 위해 도정 중에 부산물인 쇄미를 사용하여 전분의 추출을 했으며, 이 쌀은 충남 아산 지역에서 재배되는 벼를 충남 예산의 대동RPC(Rice Product Complex, 미곡종합처리장)로부터 공급받아 사용하였다. 쇄미(broken rice)란, 백미의 도정과정 중에 파쇄된 쌀로 현미에서 백미로 도정 과정 중에 평균 5% 정도가 생성된다. 백미의 도정 과정 중 28%가 부산물로 빠져나오고 각각 부산물의 비율은 다음의 Table 1-1과 같다. 감자 sludge의 경우 농심 가공공장에서 감자 가공식품을 사용하고 남은 부산물들을 모아 blending한 뒤 동결 건조하여 sludge를 만든 뒤 전분을 추출한다. 밀기울의 경우 밀가루 탈곡 과정 중에 생긴 배유부를 제외한 부산물을 말하며 대신, 신송 2곳에서 밀기울을 조달하여 전분 추출에 사용하였다.

Table 1-1. Production yield of rice polishing process

구분	조곡	정곡(백미)	왕겨	쌀겨	싸라기 / 설미	기타
비율(%)	100.00	72.00	16.00	8.00	2.30	2.70

(2) 효소 및 기타 원료

전분 자체에 영향을 주지 않으며 세포 조직을 연화시키거나 파괴시킬 수 있는 식품용으로 사용되는 cellulase 효소들을 이용하여 parenchyma cell의 손상 및 파괴를 통해 cellulase가 함유된 cereal로부터 전분을 추출하고자 하였다. 사용한 cellulase 효소들은 Table 1-2에 정리하였다.

Table 1-2. List of cellulase for starch extraction

Name	Company	Enzyme group	Physical form	Activitiy	T50°C RA	Opt. pH
LAMINEX®B G2	Danisco	β -glucanases	liquid	1500 AZO BBG U/g 6200 IU/g	58%	3.5~5.5
Plantase TCL	비전바이오	Pectinase Cellulase Hemicellulase β -glucosidase	Powder	31,000 U/g (식품공전 pectinase 1법)	95%	2.5~5.0
RAPIDASE C80MAX	DSM Food Specialties	Pectinase	Powder	100,000 AVJP/g 24,000 U/g 15,000 ECU/g	80%	4.0~5.0
ROHAMENT CL	AB Enzymes	Cellulase β -glucanase, hemicellulase	Powder	(β -glucanase) 27,000 CU/g (Cellulase)	40%	4.0~6.0
Sumizyme AC	Shin Nihon Chemical	Cellulase β -glucosidase, hemicellulase	Powder	2,000 U/g (Cellulase)	70%	4.0~6.0

쌀과 같이 전분질 물질에 단백질이 강하게 결합된 경우 단백질을 제거하기 위해 식품용 단백질 분해효소인 prozyme BPN (Bacillus amyloliquefaciens 유래 protease)과 Prozyme PSP (Aspergillus niger 유래 프롤린 특이적 endo-protease)는 Bision Biochem (Sungnam, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 모든 시약은 분석급으로 이용하였으며 Sigma-aldrich (St.Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

나. 전분 추출 및 수율 비교

(1) 감자 및 고구마로부터 전분 추출

Cellulase 계열 효소를 이용하여 서류 전분의 추출 효율을 확인하기 전에, 1) 서류식품 분쇄 후, 면포로 짜내는 방법(squeeze extraction)으로 전분을 분리하는 방법, 2) 단일 screw 장비로 전분을 추출하는 방법 (single-screw extraction), 3) 이중 screw 장비로 전분을 추출하는 방법 (twin-screw extraction) 에 따른 효율을 확인하였다. 이중 추출 효율이 가장 높은 방법을 이용하여 전분을 추출하였다. Table 1-2 에 cellulase 효소를 이용하였으며, 일부 cellulase 의 반응 최적 온도가 70~80°C 이지만, 그 온도에서는 전분의 호화가 일어날 수 있으므로 호화가 일어나지 않는 40°C 에서 3시간동안 반응을 수행하였다. cellulase 효소들의 최적 pH는 산성이지만, pH에 의한 전분의 변형과 분해를 배제하기 위하여 중성인 조건 (증류수)에서 효소 반응을 수행하였다. 사용한 효소들의 activity가 다 다르기 때문에 동일한 방법으로 효소 activity를 측정하여 맞추지 않았으며, 오로지 감자 투입량의 1%에 해당하는 효소량을 첨가하여 반응하였다.

(2) 마로부터 전분 추출

마는 철저히 세척하면서 표피의 흙 및 기타 이물질들을 제거하였고 부패된 부분들 또한 제거하였다. 마의 껍질은 제거하지 않고 사용하였다. 이어서 마는 약 5 cm 두께로 세절하고 침지용액 1 kg에 세절된 마 1 kg이 되도록 10분간 침지하였다. 침지용액은 sodium bimetasulfite, ascorbic acid, sodium bicarbonate, sodium carbonate를 0.4% (w/v) 농도가 되도록 제조하여 사용하였다 (Figure 1-1).

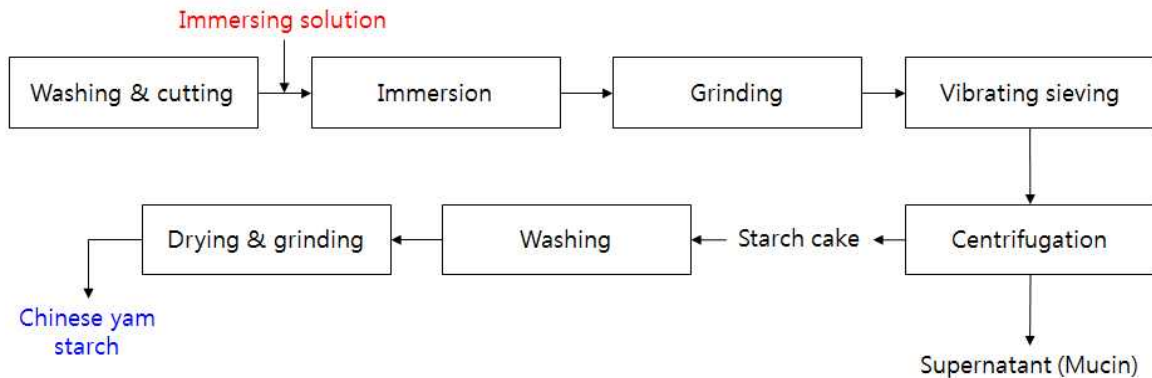


Figure 1-1. Schematic diagram of extraction of starch from Chinese yam.

10분간 침지된 마 조직들은 80 mesh 거름망이 장착된 습식분쇄기를 이용하여 조쇄하였다. 이때 침지용액 모두를 분쇄하는 도중에 가하였다. 습식분쇄기로부터 배출되는 마-침지용액 조쇄물들은 140 mesh 거름망이 설치된 원형진동체로 이동되어 1 kg의 침지용액이 가해지면서 체질되어 마 조직 잔류물과 전분유(뮤신포함)를 분리하였다. 여과된 전분유는 원심분리(1,500 g, 20 min)를 통해 전분층과 상등액을 분리한 후 전분층은 과도한 증류수를 가하여 3 회 세척한 후 45°C의 열풍건조기에서 48시간 건조하여 분쇄하여 100 mesh 표준체망을 통과시켜 마 전분을 제조하였다.

(3) 쌀로부터 전분 추출

단백질분해효소의 처리 전 쌀단백질의 가수분해를 용이하게 할 목적으로 0.4% sodium carbonate (pH 11.2)을 쌀가루와 3:1의 중량비율로 혼합하여 상온에서 3시간 교반하였다. 3시간 후 쌀가루 분산액은 믹서로 습식분쇄하고 혼합물은 단백질분해효소의 최적 pH로 조정하여 최적온도에서 교반시켰다. 여기에 단백질가수분해효소를 쌀가루의 건조중량대비 0.3, 0.6, 0.9%를 가하여 3시간 동안 교반한 후 세척하여 건조하였다. 단백질가수분해효소를 처리한 쌀가루의 단백질 함량의 감소를 위해 효소 처리된 쌀가루를 원심분리하여 전분케이크의 상층부의 tail층을 긁어내고(scraping) 다시 분산시켜 원심분리 후 tail층을 제거하는 작업을 tail층이 보이지 않을 때까지 수행하여 쌀전분을 제조하였다(RF-3h-S). 또한 효소처리 후 쌀가루 분산액을 400 mesh 거름망이 장착된 원형진동체를 여과시킨 후 원심분리하여 상등액을 제거하고 증류수를 이용하여 2번 더 세척하여 쌀전분을 제조하였다(Sieving)

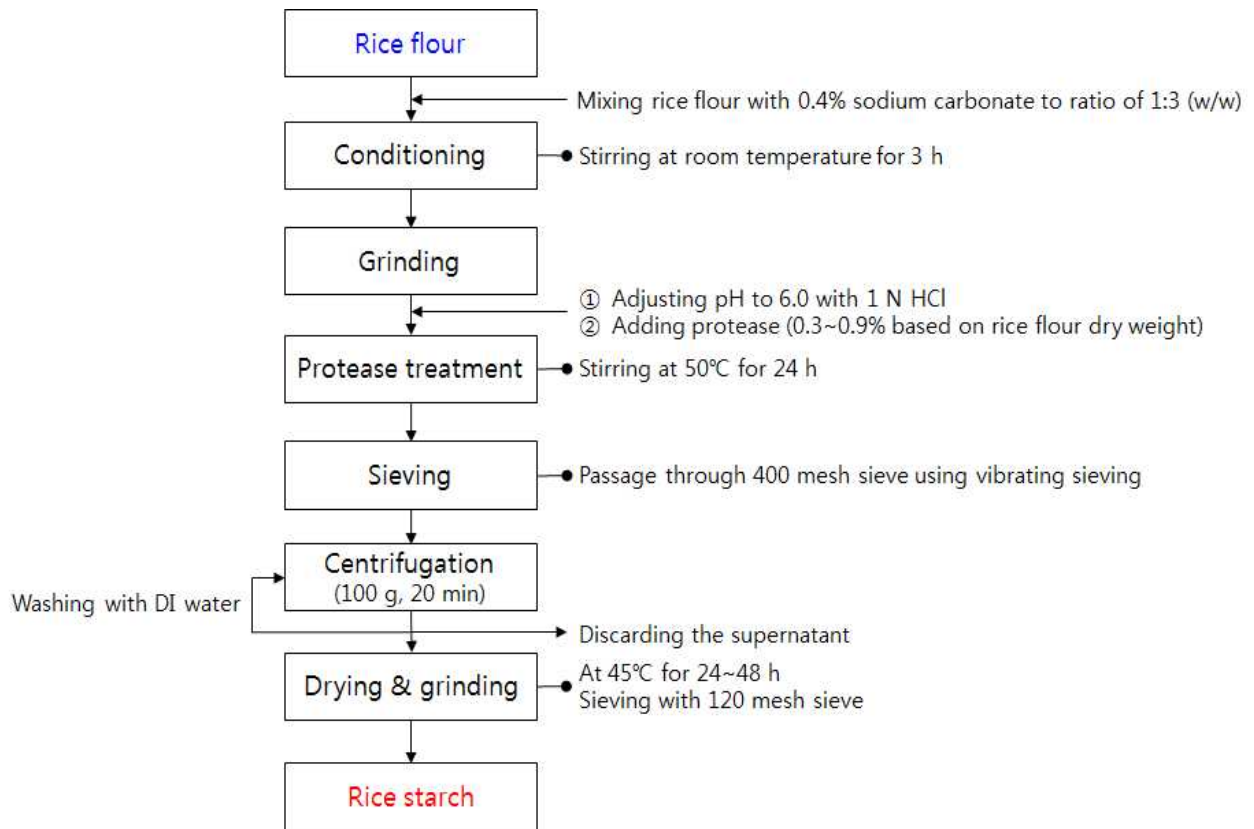


Figure 1-2. Proposed process diagram for preparation of rice starch from domestic rice flour.

(4) 쉐미로부터 다양한 전분 추출 공정 개발

(가) 알칼리 추출법에 의한 쉐미 유래 전분 추출

알칼리 추출법을 시행하기 위해, 쉐미 100g을 1L의 물에 약 1시간 침지하였다. 이어서 침지된 쉐미를 물과 함께 2분간 습식 분쇄하였다. 습식 분쇄한 쌀에 곰팡이, 박테리아 등의 미생물의 번식을 억제하기 위해 0.01%(w/v)의 sodium metabisulphite를 첨가하였다. 이 후 0.1M의 NaOH 수용액을 이용하여 pH가 8.5가 되도록 적정하였다. 이 수용액을 22시간 동안 45°C, 300rpm으로 agitation 하였다. 교반기로부터 나온 쉐미-알칼리용액 침지물은 200mesh 거름망이 설치된 원형진동체로 이동되어 쉐미 조직 잔류물과 전분유를 분리하였다. 여과된 전분유는 원심분리(2,000×g, 30min)를 통해 전분층과 상등액을 분리한 후 상등액을 버려주고 전분층의 yellow starch cake을 제거해주었다. 남아있는 전분층은 다시 300ml의 증류수를 가하여 3회 세척한 뒤 동결건조기를 이용하여 건조하여 쉐미전분을 제조하였다(Figure 1-3).

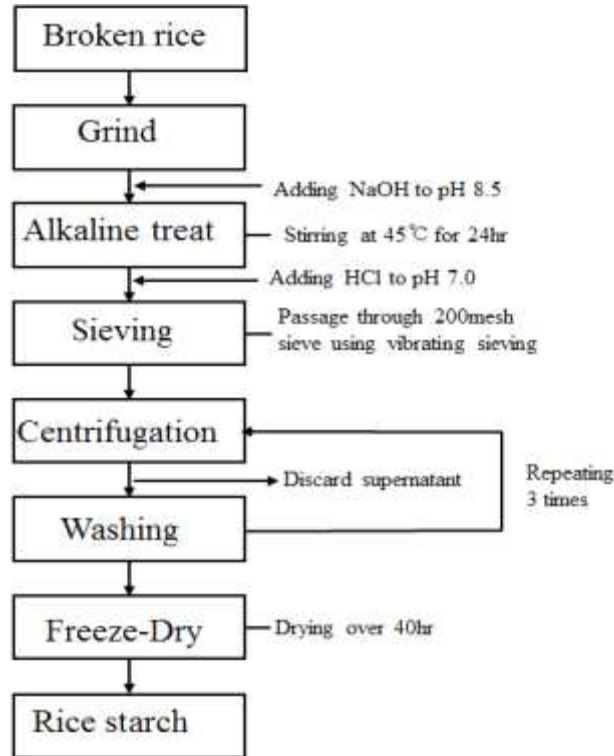


Figure 1-3. Proposed process diagram for alkaline preparation of rice starch from domestic broken rice flour.

(나) 생촉매 추출법에 의한 쉐미 유래 전분 추출

생촉매 추출법을 위해 100g의 쉐미를 400ml의 증류수에 1시간 동안 상온(25°C)에서 침지하였다. 이어서 침지된 쉐미를 증류수와 함께 2분간 습식분쇄하였다. 습식 분쇄한 쌀에 건조중량 대비 1%양의 prozyme BPN 혹은 Prozyme PSP을 각각의 시료에 첨가하였다. 이후 45°C에서 3시간동안 교반하여 반응하였다. 교반기로부터 나온 쉐미-효소반응액을 400mesh 거름망이 설치된 원형진동체로 이동되어 반응하지 못한 쉐미 조직 잔류물과 전분유를 분리하였다. 여과된 전분유는 원심분리(2,000×g, 30min)를 통해 전분층과 상등액을 분리한 후 상등액을 버려주고 전분층의 yellow starch cake을 제거해주었다. 남아있는 전분층은 다시 300ml의 증류수를 가하여 3회 세척한 뒤 동결건조기를 이용하여 건조하여 쉐미전분을 제조하여 두 효소의 효율을 비교 분석해 보았다. 이를 통해 효율이 높은 효소를 선정된 뒤 다시 45°C에서 24시간동안 교반하여 반응하였다. 이후 위의 과정을 동일하게 반복하여 쉐미 전분을 제조하였다(Figure 1-4).

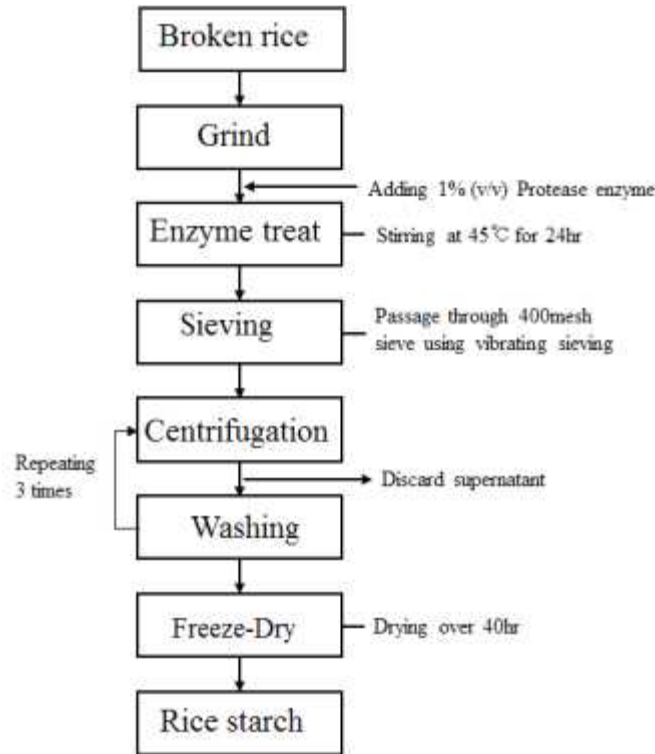


Figure 1-4. Proposed process diagram for Enzymatic isolation of rice starch from domestic broken rice flour.

(다) 가압 효소추출법 의한 쉐미 유래 전분 추출

가압 효소추출법(Freeze-infusion)이란, 기존의 식품을 저속냉각 시킬 경우 생기는 얼음결정구조에 의하여 식품이 다공성 구조로 만든 뒤 진공관에 넣어서 효소를 식품 내부로 효과적으로 침투시키는 방법이다. 식품 원료의 형태를 훼손시키지 않으며, 효소 반응 효율을 높여주기 때문에 노인식, 환자식 개발에 많이 이용한다. Freeze-infusion 방법으로 전분을 추출하기 위해, 쉐미를 증류수에 10분간 침지하여준다. 이 후 물기를 제거해 준 뒤 냉동고에 -20℃에서 동결해준다. 동결시킨 sample을 꺼내서 20℃에서 3시간 동안 녹여준다. 이 때 쉐미 내부에 있던 ice crystal이 녹으면서 전분에 다공성 구조를 형성하게 된다. 다공성 구조가 형성된 쉐미를 건조 중량 대비 1%함량의 Prozyme BPN이 함유된 효소액에 옮겨준다. 이 쉐미가 들어 있는 효소액을 가압기계에 넣고 진공계가 5kpa을 가리키게 하여 5분간 진공을 가하여준다. 이 때 쉐미에 있는 다공성 구조에 효소액이 침투하게 된다. 가압 처리를 한 쉐미를 45℃에서 24시간동안 교반하여 반응 하였다. 교반기로부터 나온 쉐미-효소반응액을 400mesh 거름망이 설치된 원형진동체로 이동되어 반응하지 못한 쉐미 조직 잔류물과 전분유를 분리하였다. 여과된 전분유는 원심분리(2,000×g, 30min)를 통해 전분층과 상등액을 분리한 후 상등액을 버려주고 전분층의 yellow starch cake을 제거해주었다. 남아있는 전분층은 다시 300ml의 증류수를 가하여 3회 세척한 뒤 동결건조기를 이용하여 건조하여 쉐미전분을 제조하였다(Figure 1-5).

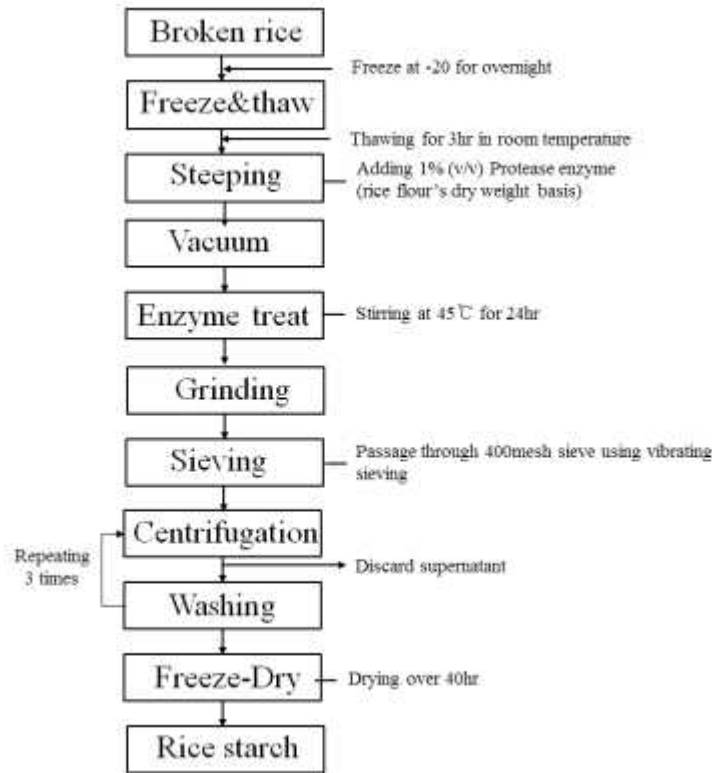


Figure 1-5. Proposed process diagram for Freeze-infusion method to isolate rice starch from domestic broken rice flour.

(5) 감자 sludge로부터 다양한 농도의 hemicellulase를 투입하여 전분 추출

Hemicellulase를 이용하여 전분을 추출하기 위해 10g의 감자 sludge를 30ml의 증류수에 녹여 vortexing하여 준다. 감자 sludge mixture에 건조중량 대비 0.50 %, 0.75 %, 1.00 %, 그리고 1.50 %양의 Laminex BG2를 시료에 첨가하였다. 이후 40°C에서 3시간동안 교반하여 반응 하였다. 반응이 끝난 전분유는 원심분리(2,000×g, 30 min)를 통해 전분층과 상등액을 분리한 후 상등액을 버려주고 남아있는 전분층에 다시 30 mL의 증류수를 가하여 3회 세척한 뒤 동결건조기를 이용하여 건조하였다.

(6) wheat bran으로부터 전분 추출

밀기울의 경우 입자 크기가 크고 거칠기 때문에 효소 반응에 부적합하다. 효소에 접촉하는 표면적을 최대한 늘리기 위해 밀기울 100g에 증류수 500ml을 첨가한 뒤 10분간 습식분쇄한 뒤 동결건조기를 이용하여 건조시킨다. 동결건조가 3g의 밀기울을 30ml의 증류수에 첨가 교반하여 준다. 밀기울 수용액에 건조중량 대비 1.00 %양의 prozyme BPN과 prozyme PSP를 각각 시료에 첨가하였다. 이후 45°C에서 3시간동안 교반하여 반응하였다.

반응이 끝난 전분유는 원심분리(2,000×g, 30min)를 통해 전분층과 상등액을 분리한 후 상등액을 버려주고 남아있는 전분층에 다시 30 mL의 증류수를 가하여 3회 세척한 뒤 열풍건조기에서 96시간 건조하여 밀기울 유래 전분을 추출하였다. 똑같이 동결건조된 밀기울 sample에 LAMINEX BG2, Plantase, TCLRAPIDASE C80MAX, ROHAMENT CL, 그리고 Sumizyme AC를 밀기울 건조중량 대비 1.00% 만큼 첨가하여 40°C에서 3시간 반응한 뒤 protease 처리 방법과 마찬가지로 3회 washing 후 96시간 건조하여 밀 전분을 추출한다.

(7) 중심합성계획법을 통한 감자 전분 추출 최적화

중심합성계획법을 시행하기 위해 감자를 2cm 두께로 세절하고, -45°C에서 45 h 동안 동결한 뒤 -20°C에서 냉동 저장하여 사용하였다. 대조군으로는 동결감자를 해동하고 마쇄, 여과, 침지, 세척, 건조를 통해 전분을 만들었다. 감자 전분 추출 조건은 중심합성계획법을 이용하여 5개의 중심점을 포함하는 20개의 효소적 추출조건들을 설계하였다. 효소적 추출의 요인들은 반응시간, 반응온도 및 효소사용량으로 각각 8-24 h, 15-40°C 및 1.0-1.5 %의 수준이었고, 반응표면분석을 위한 특성치(반응)은 추출수율과 전분회수율로 하였다. 감자 전분의 경우 추출 수율이 가장 높은 3개의 효소반응조건들을 이용하여 물리화학적 특성을 비교분석하였다.

(8) 변형된 2³ 요인설계법을 통한 고구마 전분 추출 최적화

고구마를 세척하여 2cm 두께로 세절하고, -45°C에서 45 h 동안 동결한 뒤 -20°C에서 냉동 저장하여 사용하였다. 대조군으로는 동결 고구마를 해동하고 마쇄, 여과, 침지, 세척, 건조를 통해 전분을 만들었다. 고구마 전분의 효소적 추출 조건은 효소 반응시간, 반응온도 및 사용량을 요인들로 하는 2³ 요인설계법에 의해 5개의 중심점들과 반복점들을 포함하는 21개의 실험점들을 설계하였다. 고구마의 경우 추출수율이 40 %(d.b) 이상이고 회수율이 70 % 이상인 효소반응조건들을 이용하여 물리화학적 특성을 비교분석하였다.

(9) 변형된 2³ 요인설계법을 통한 쌀 전분 추출 최적화

멥쌀은 습식 제분한 후 -20°C에서 냉동저장하면서 본 연구의 재료로 사용하였고, 단백질분해효소는 식품첨가물등급의 것을 이용하였다. 쌀전분의 효소적 추출 조건은 단백질 분해효소의 반응시간, 반응온도 및 사용량을 요인들로 하여 2³ 요인설계법에 의해 5개의 중심점들과 반복점들을 포함하는 21개의 실험점들을 설계하였다. 설계된 추출 조건에 따라 제조된 쌀전분들 중 추출수율이 50 %(d.b) 이상이며, 쌀전분의 상대적 순도가 100 % 이상인 쌀전분들을 선별하여 물리화학적 특성을 분석하였다. 또한 동일한 쌀가루로부터 알칼리침지법에 의한 추출·정제된 쌀전분을 대조군으로 하였다.

(10) 전분 추출수율, 회수율 그리고 순도 계산

각 방법으로 추출한 전분의 추출수율, 회수율 및 순도는 아래의 계산식으로 계산하였다.

$$\text{추출수율(\%)} = \frac{\text{추출된 전분의 건조중량 (g, d.b)}}{\text{초기 전분유래 조직의 건물량 (g, d.b)}} \times 100$$

$$\text{회수율(\%)} = \frac{\text{추출된 전분의 건조중량 (g, d.b)}}{\text{초기 총 전분량 (g, d.b)}} \times 100$$

$$\text{순도(\%)} = \frac{\text{추출된 전분의 총 전분 함량 (g, d.b)}}{\text{대조군의 총 전분 함량 (g, d.b)}} \times 100$$

다. 추출 전분의 물리화학적 특성 분석

(1) 전분의 형태학적 특성 확인

전분의 입도분포는 입도분석기(Laser Particle size analyzer, CILAS 1190 Liquid, CILAS, France)를 이용하여 분석하였다. 각 전분의 미세구조는 주사전자현미경(SEM, Scanning electron microscope, Japan)을 사용하여 검경하였다. 각각의 전분은 -72°C에서 동결하여 동결건조기(Freeze Dryer, Ilsin lab Co., Korea)에서 48시간 동안 건조한 것을 gold-palladium으로 ion sputter(C1010 Hitachi, Japan)를 이용하여 도금한 후, 가속전압 20 kV에서 전분의 미세구조를 각각 250, 1000, 1,250, 그리고 2000배의 배율로 관찰하였다. 전분의 X-선 회절도는 X-ray diffractometer (M18XHF, Mac Science Co., Yokohama, Japan)를 사용하여 target : Cu-K α , voltage: 40 kV, current: 40 mA의 조건으로 회절각도는 (2 θ) 3.5-40° 까지 scanning speed: 6° /min으로 회절하여 X-ray diffraction pattern을 관찰하였다.

(2) 추출 전분의 물리화학적 특성 확인

전분의 입도분포는 입도분석기(Laser Particle size analyzer, CILAS 1190 Liquid, CILAS, France)를 이용하여 분석하였다. 전분의 호화특성을 RVA (Rapid Visco Analyzer, Newport Scientific, RVA-Super 4, Warriewood, Australia)를 이용하여 측정하였다. 전체 중량을 28 g으로 만들 때, 시료의 건조 중량이 시료와 증류수의 총 중량 대비 7.50 혹은 10.00%가 되게끔 aluminum canister에 넣어 교반하여 제조하였다. 측정온도는 1분간 50°C를 유지하고 95°C까지 12°C/min의 속도로 온도를 상승시킨 후 2분 30초 동안 95°C를 유지, 12°C/min의 속도로 50°C까지 온도를 하강시킨 후 50°C에서 2분간 유지시켜 총 14 분간의 측정시간을 거쳐 점도 곡선을 얻었다. 얻어진 점도 곡선으로부터 호화개시온도 (initial pasting temperature), 최고점도 (peak viscosity), 최저점도 (minimum viscosity), 최종점도 (final viscosity)를 측정하였다.

DSC thermogram은 25°C 부터 120°C 까지 10°C/min의 속도로 가열하여 얻은 후 용융온도 (onset temperature), 피크온도 (peak temperature), 종료온도 (end temperature)와 용융엔탈피 (ΔH ; gelatinization enthalpy)를 Pyris software version 11.1.0.04.88 (PerkinElmer Inc.,Waltham, MA, USA)에 의해 계산하였다.

2. 연구결과

가. Cellulase 계열 효소를 이용한 감자 전분의 추출 효율 증대 및 특성 확인

Cellulase 계열 효소를 이용하여 감자 전분의 추출 효율을 확인하기 전에, 1) 감자를 분쇄 후, 면포로 짜내는 방법(squeeze extraction)으로 전분을 분리하는 방법, 2) 감자를 단일 screw 장비로 전분을 추출하는 방법 (single-screw extraction), 3)감자를 이중 screw 장비로 전분을 추출하는 방법 (twin-screw extraction) 에 따른 효율을 확인하였다(Figure 1-6).

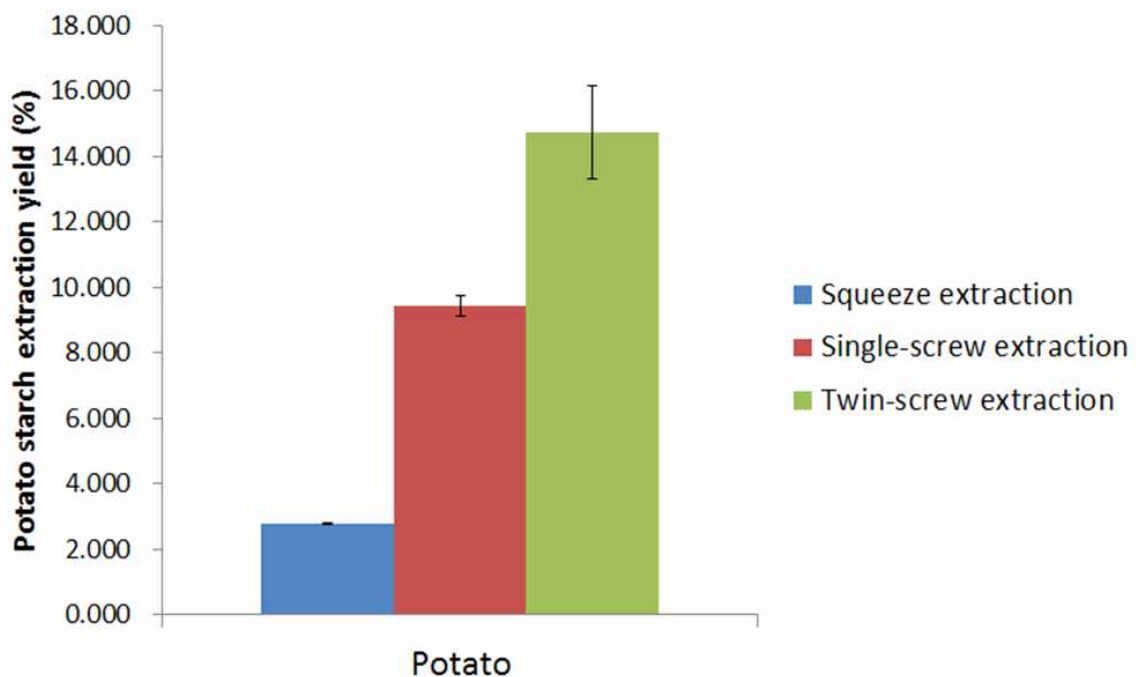


Figure 1-6. Extraction yield of potato starch via three different methods

감자 전분 추출 효율은 방법에 따라 squeeze method가 2.768 ± 0.023 %, single-screw extraction이 9.431 ± 0.318 %, twin-screw extraction이 14.733 ± 1.436 %로 나타났다. 일반적으로 감자의 수분함량은 80 %대로 그 외는 대부분 전분으로 이루어져 있다. 감자 전분의 추출 효율은 분쇄 및 추출 방법에 따라 감자의 조직에서 전분이 방출되는 정도가 다르게 나타난다. 전통적인 방법인 squeeze method는 감자 조직의 파괴가 적어 전분의 추출 효율이 낮게 나타났으며 대부분 면포에 남은 찌꺼기에 전분이 남아 있었다. 이에 반하여 screw는 감자 조직을 일반 분쇄기에 비하여 효율적으로 파쇄하여 전분의 추출 효율이 9%이상 나타났다.

특히 단일 screw보다는 이중 screw로 분쇄시 감자 전분의 추출 효율이 크게 증가됨을 확인할 수 있었다. 이에 본 연구의 감자 전분은 twin-screw extraction 방법을 이용하여 추출하였다. 감자의 유세포(parenchyma cell)에는 다양한 전분질 물질이 존재하며, parenchyma cell에서 전분질 물질을 추출하는 것이 감자 전분의 추출 효율을 증진시키는 방법 중에 하나다. 이에 전분 자체에 영향을 주지 않으며 세포 조직을 연화시키거나 파괴시킬 수 있는 식품용으로 사용되는 cellulase 효소들을 이용하여 parenchyma cell의 손상 및 파괴는 감자 추출 효율 증진 시키고자 하였다(Table 1-2).

각 각의 효소들은 cellulase, pectinase, β -glucanase, β -glucosidase가 복합적으로 구성된 복합효소물이며 각 효소들은 곰팡이와 미생물에서 유래된 것을 사용하였다. 일부 cellulase의 반응 최적 온도가 70~80°C 이지만, 그 온도에서는 전분의 호화가 일어날 수 있으므로 호화가 일어나지 않는 40°C 에서 3시간동안 반응을 수행하였다. cellulase 효소들의 최적 pH는 산성이지만, pH에 의한 전분의 변형과 분해를 배제하기 위하여 중성인 조건 (중류수)에서 효소반응을 수행하였다. 사용한 효소들의 activity가 다 다르기 때문에 동일한 방법으로 효소 activity를 측정하여 맞추지 않았으며, 오로지 감자 투입량의 1%에 해당하는 효소량을 첨가하여 반응하였다. Cellulase 계열 효소에 의한 감자 전분의 추출 효율은 Figure 1-7와 같다. 총 5종의 cellulases 계열 효소 중, LAMINEX BG2 효소가 20.85±4.35 %로 가장 높은 감자 전분 추출 효율이 나타났다. 이 효소는 cellulose 분해 능력이 뛰어난 Trichoderma reesei 유래 β -glucanases 계열의 효소이다. Endo-형태로 분해하며 cellulose와 xylan을 분해하여 glucose와 xylose를 생산하는 능력이 뛰어나 맥주발효에 사용되는 효소제이다. 감자의 cell wall부분은 대부분의 parenchyma cell로 이루어져 있으며 이는 cellulose, pectin polysaccharide, xyloglucan, heteromannans, heteroxylan으로 구성되어있다. LAMIXNEX BG2는 parenchyma cell의 cellulose, xyloglucan, heteroxylan를 분해하여 parenchyma cell의 구조 파괴하여 내부의 전분이 용출 된 것으로 확인할 수 있다. 대조구에 비하여 유의적으로 추출 효율이 상승한 Plantase TCL과 RAPIDASE C80MAX 또한 parenchyma cell의 구성 요소를 분해할 수 있는 효소제들로 구성되어 있으며, 이를 통하여 감자 전분의 추출 효율 증가는 감자의 parenchyma cell이 연화되거나 파괴되어서 작은 충격에도 쉽게 분해되어 내부의 전분이 추출 된 것으로 사료될 수 있다. 각 효소제의 가격은 LAMINEX BG2가 30,000원/kg, Plantase TCL이 56,000원/kg, RAPIDASE C80MAX는 38,000원/kg으로 감자 전분 추출 효율과 가격 경쟁력을 비교하여 볼 때, LAMINEX BG2가 감자 전분 추출에 적합한 cellulase라 할 수 있다.

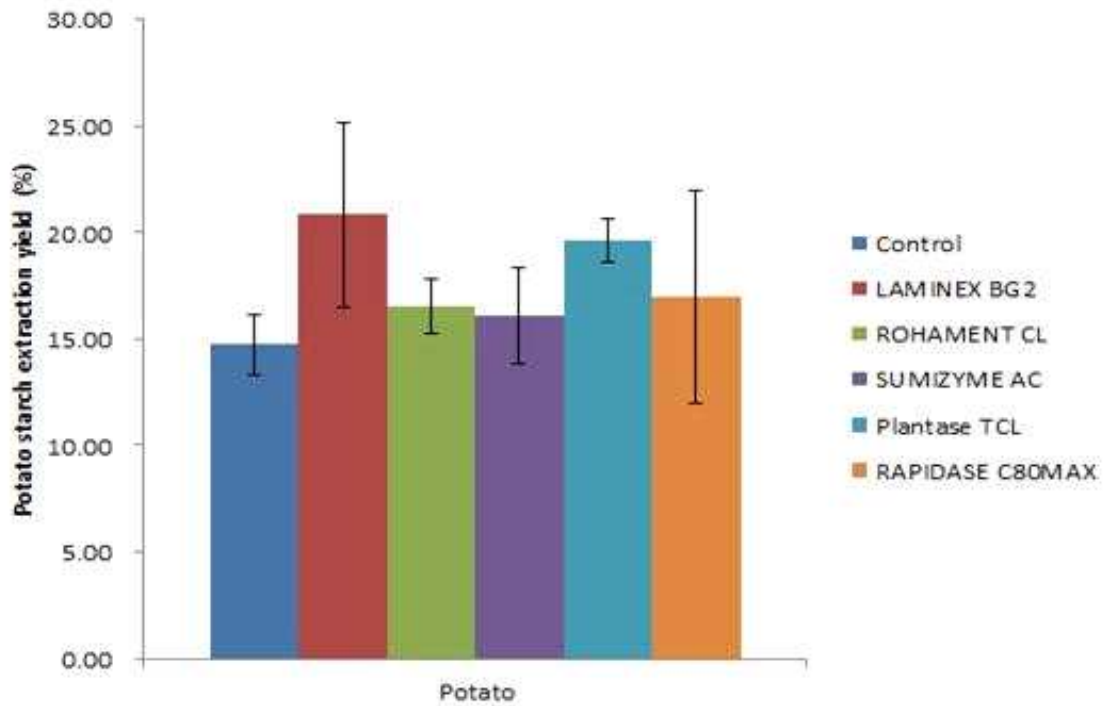


Figure 1-7. Effect of various cellulase on starch extraction from potato

LAMINEX BG2를 이용하여 추출한 감자 전분과 비 효소처리를 이용하여 추출한 전분의 이화학적 특성을 비교하였다. 주사전자현미경 (Scanning electron microscope, SEM)을 이용하여 추출된 전분의 granular 구조를 확인하였다(Figure 1-8).

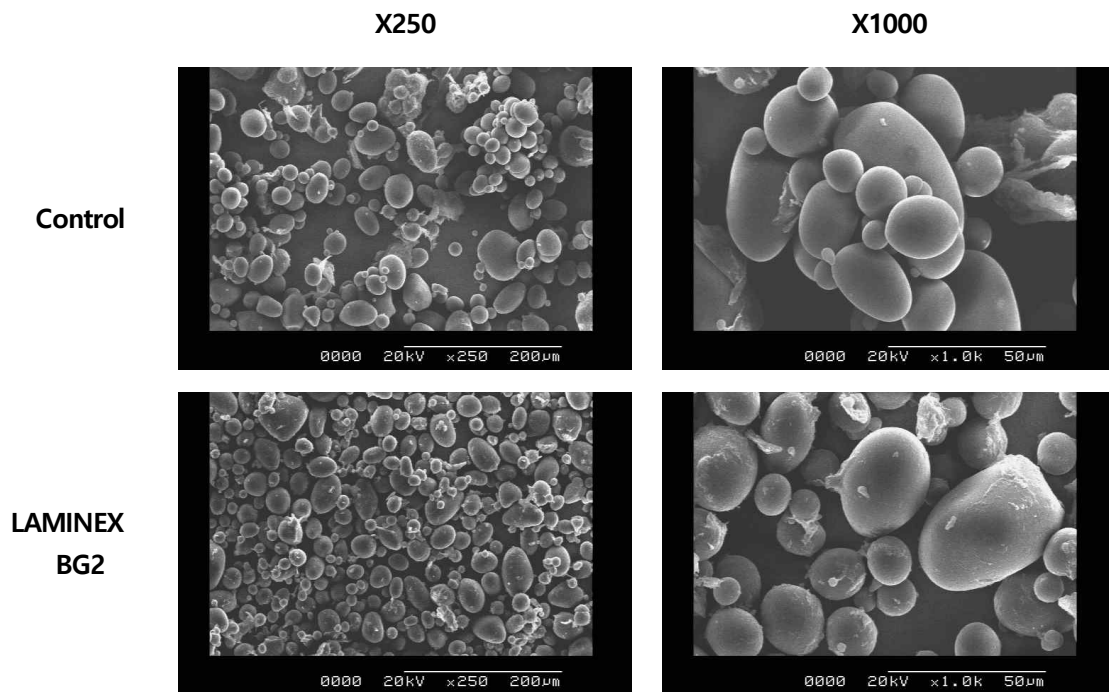


Figure 1-8. Scanning electron microscope micrographs of potato starch by non-enzyme treatment and LAMINEX BG2 treatment

추출된 감자의 granular은 비 효소처리와 LAMINEX BG2 처리 모두 타원형의 매끈한 형태 나타났으며 LAMINEX BG2 처리 샘플에서 parenchyma cell이 파괴된 형태를 대조구에 비하여 많이 확인 할 수 있었다. 또한 LAMINEX BG2 처리 샘플 전분의 크기는 다양하며 대조구보다 작은 형태의 전분 granular을 확인 할 수 있었다. 이에 비 효소처리와 LAMINEX BG2 처리 추출 감자 전분의 입도분포를 입도 분석기를 이용하여 분석하였다(Figure 1-9, Table 1-3).

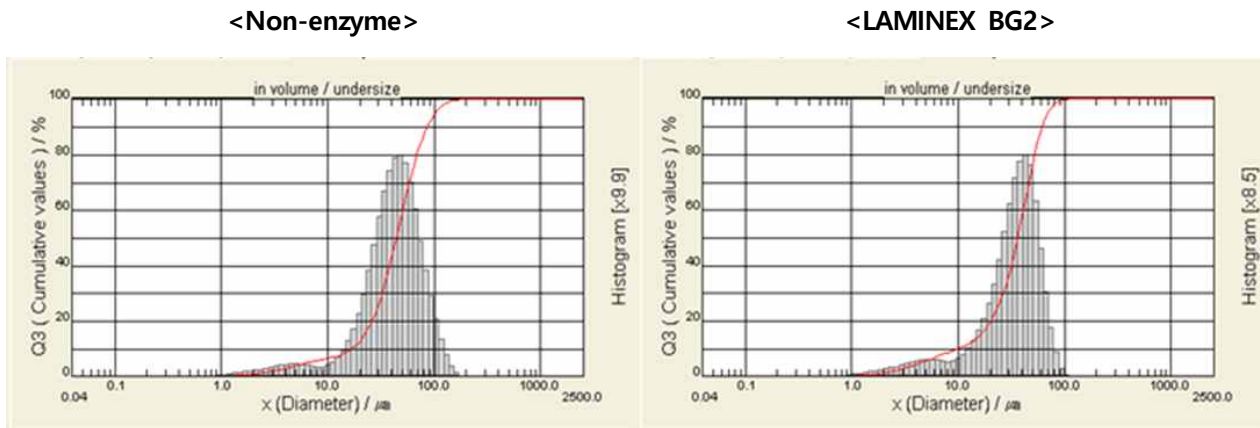


Figure 1-9. Result of particle size analyzer on starch from non-enzyme treated potato starch (left) and LAMINEX BG2 treated potato starch (right).

Table 1-3. Particle size distributions of starches with enzyme treatment

Sample	Particle size(μm)			Mean Diameter
	Diameter at 10.00 %	Diameter at 50.00 %	Diameter at 90.00 %	
Non-enzyme	16.61 ± 0.01 ¹⁾	43.98 ± 0.36	84.49 ± 1.36	47.97 ± 0.54
LAMINEX BG2	9.93 ± 0.05	36.40 ± 0.08	61.69 ± 0.21	36.79 ± 0.09

¹⁾Mean ± S.D

LAMINE BG2를 처리하여 추출한 전분의 평균입도 크기는 36.79 ± 0.09 μm로 비 효소처리 추출 전분의 평균입도 크기인 47.97 ± 0.54 μm보다 작게 나타났다. 또한 LAMINE BG2를 처리하여 추출한 전분에서는 10 μm보다 작은 입자들도 관찰되었다. 일반적으로 감자의 입자 크기는 품종, 재배조건 등의 영향을 받으며 5~100 μm로 알려져 있다. 일반적으로 비 효소적 처리에 의하여 추출된 전분의 입자 크기는 15~100 μm이다. Pectinase 및 cellulase 등의 효소 처리시 15 μm보다 작은 전분의 입자가 관찰되는데, 이는 물리적 처리에 의해서 파괴되지 않는 감자 세포내에 존재하는 작은 전분 입자로 효소처리에 의하여 감자 세포가 연화되거나 파괴되면서 내부의 작은 전분질 물질이 용출되는 것으로 사료된다.

Rapid visco analyzer (RAV)를 통하여 LAMINEX BG2를 이용하여 추출한 감자 전분과 비 효소처리를 이용하여 추출한 전분의 호화특성을 확인하였다 (Figure 1-10, Table 1-4). LAMINEX BG2를 처리하여 추출한 감자 전분의 호화개시온도 (pasting temperature)는 65.3 0℃로 비 효소처리 추출 감자 전분의 호화개시온도인 68.55℃보다 3℃ 낮게 나타났다. RVA에 의한 호화양상은 전분입자의 팽윤도와 팽윤된 입자의 배열과 결합력, amylose와 amylopectin의 구성비 및 구조차이 등에 의해 결정된다. 감자 전분의 입도별로 성질을 분류 하였을 때는 입도 크기에 의해서 호화특성이 큰 차이를 나타나지 않았다. 전분입자의 크기차이는 이화학적 성질과 호화특성에 차이를 나타나게 되는 것으로 알려져 있지만, 이는 효소처리를 통하여 parenchyma cell과 같은 감자 조직 내의 작은 전분이 포함이 되지 않은 결과이다. 같은 종류의 전분의 경우 호화특성에 차이가 나타나는지 연구가 더 필요한 것으로 사료된다. LAMINEX BG2를 이용하여 추출한 감자 전분은 비 효소처리 전분에 비하여 breakdown이 높게 나타나 팽윤된 전분입자가 shearing에 의해 급격하게 분해됨을 보이고, 비교적 낮은 setback은 전분의 재결합이 쉽게 일어나지 않는다는 것을 의미한다. LAMINEX BG2를 이용 시 감자세포 내에 유출된 입자가 작은 전분에 의하여 비 효소처리 감자 전분과 특성 차이가 나타는 것으로 사료된다. 점도의 변화로 계산된 전분페이스의 안정성 (stability ratio=through viscosity/peak viscosity)는 LAMINEX BG2를 이용하여 추출한 감자 전분이 0.5으로 일반적인 감자의 전분페이스의 안정성과 동일하게 나타났다.

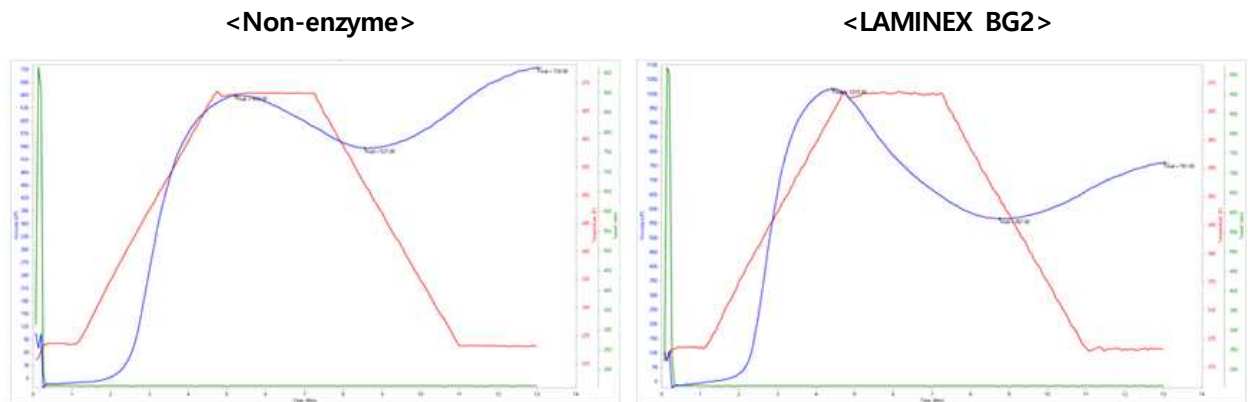


Figure 1-10. Pasting viscosity profiles of starch from non-enzyme treated potato (left) and LAMINEX BG2 treated potato (right).

Table 1-4. Pasting characteristics for starch from non-enzyme treated potato and LAMINEX BG2 treated potato

Sample	Pasting Temperature (°C)	Viscosity(cP)				
		Peak 1	Trough 1	Breakdown	Final Viscosity	Setback
Non-enzyme	68.55 ± 0.00 ¹⁾	659.00 ± 11.75	537.62 ± 19.80	122.50 ± 4.95	724.55 ± 28.99	187.55 ± 1.58
LAMINEX BG2	65.30 ± 0.04	877.33 ± 129.52	440.00 ± 111.37	437.33 ± 29.02	591.33 ± 148.50	151.33 ± 37.17

¹⁾Mean ± S.D

Differential scanning calorimetry (DSC)를 이용하여 LAMINEX BG2를 이용하여 추출한 감자 전분과 비 효소처리를 이용하여 추출한 전분의 열전이 (thermal transition)을 조사한 결과는 Figure 1-11과 Table 1-5와 같다. LAMINEX BG2를 이용하여 추출한 감자 전분과 비 효소처리를 이용하여 추출한 전분의 피크 온도 (peak temperature), 종료 온도(end temperature) 및 용융엔탈피 (gelatinization enthalpy) 값의 차이는 나타나지 않았지만, 용융 온도 (Onset temperature)는 LAMINEX BG2를 이용하여 추출한 감자 전분 3°C 낮게 나타났다. 이는 RVA를 분석을 통한 호화개시온도의 경우도 LAMINEX BG2를 이용하여 추출한 감자 전분 3°C 낮게 나타난 결과와 일치한다. DSC상에서 높은 전분 농도로 측정된 호화개시온도는 페이스트 점도 (RVA)로 측정된 호화개시온도와 일치하지 않는다. LAMINEX BG2를 이용하여 추출한 감자 전분의 용융 온도 범위는 (49~62°C)로 비 효소처리 추출 전분에 비하여 넓게 나타났다. 이는 parenchyma cell 및 감자 조직 내에 존재하는 입도가 작은 전분 입자에 의하여 나타나는 특성으로 사료된다.

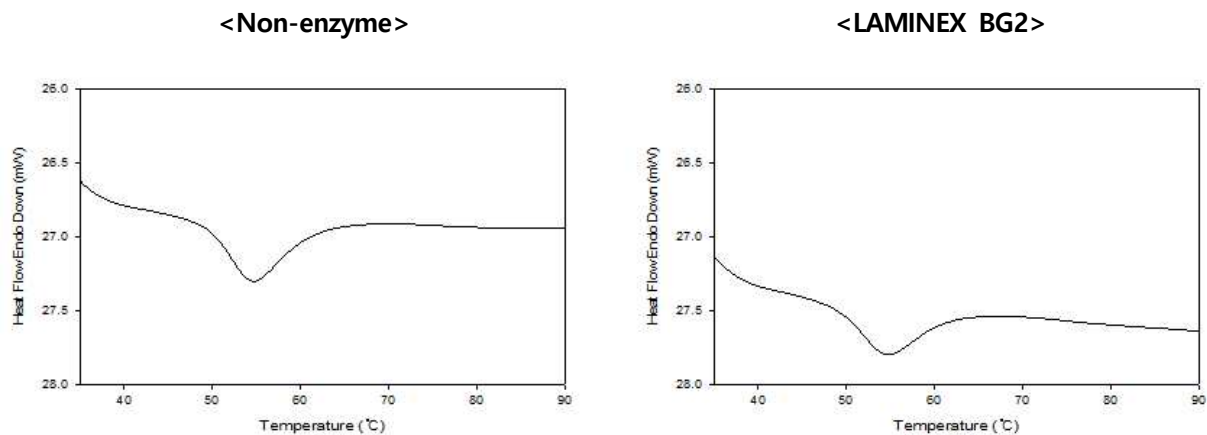


Figure 1-11. Gelatinization profiles of starch from non-enzyme treated potato (left) and LAMINEX BG2 treated potato (right).

Table 1-5. Pasting characteristics for starch from non-enzyme treated potato and LAMINEX BG2 treated potato

Sample	Onset Temperature (°C)	Peak Temperature (°C)	End Temperature (°C)	Gelatinization Enthalpy (mJ/mg)
Non-enzyme	52.51 ± 4.33 ¹⁾	55.10 ± 0.66	62.78 ± 1.70	8.99 ± 1.09
LAMINEX BG2	49.02 ± 0.24	54.68 ± 0.07	62.05 ± 0.32	7.84 ± 0.27

¹⁾Mean ± S.D

나. Cellulase 계열 효소를 이용한 고구마 전분의 추출 효율 증대 및 특성 확인

고구마 또한 감자와 같은 방법으로 먼저 1) 고구마를 분쇄 후, 면포로 짜내는 방법 (squeeze extraction)으로 전분을 분리하는 방법, 2) 고구마를 단일 screw 장비로 전분을 추출하는 방법 (single-screw extraction), 3)고구마를 이중 screw 장비로 전분을 추출하는 방법 (twin-screw extraction) 에 따른 효율을 확인하였다 (Figure 1-12).

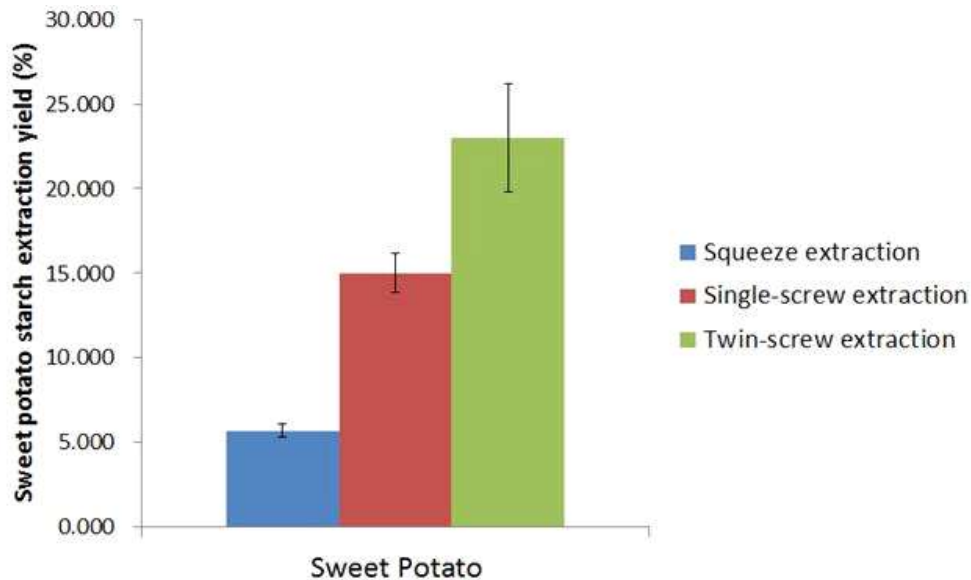


Figure 1-12. Extraction yield of sweet potato starch via three different methods

고구마 전분 추출 효율은 방법에 따라 squeeze method가 $5.712 \pm 0.370\%$, single-screw extraction이 $15.022 \pm 1.150\%$, twin-screw extraction이 $23.000 \pm 3.170\%$ 로 나타났다. 고구마는 수분이 68.5%를 함유하고 있으며 탄수화물이 남은 대부분을 차지하며, 전분은 접착력이 높아 당면 제조 시 다른 전분에 비하여 적성에 유리하여 면류 생산에 주로 이용되고 있다. 고구마의 섭취부위는 parenchyma cell의 집합체로 각각의 parenchyma cell들의 내부에는 다량의 전분입자들과 단백질을 함유하고 있다. 고구마의 박피, 성형, 절단과 같은 물리적 처리에 의하여 parenchyma cell들이 파괴되어 전분이 용출된다. 고구마의 전분 추출 효율을 높이기 위하여 식품용 cellulase 효소들을 이용하여 고구마의 전분 추출 효율을 비교하였다(Figure 1-13). Cellulase 계열 효소를 통한 고구마 전분의 추출 효율은 비 효소처리가 $23.00 \pm 3.17\%$, LAMINEX BG2가 $23.91 \pm 1.76\%$, ROHAMENT CL이 $23.89 \pm 1.73\%$, SUMIZYME AC이 $27.17 \pm 1.19\%$, Plantase TCL이 $21.92 \pm 0.99\%$, RAPIDASE C80MAX가 $22.66 \pm 2.91\%$ 이며 SUMIZYME AC효소를 제외하고 유의적 차이가 나타나지 않았다. SUMIZYME AC는 *Aspergillus niger* 유래 효소제로서 cellulase, β -glucosidase, hemicellulase, pectinase 활성을 가지는 복합 효소 제제로, 식물조직을 분해하여 과채류 가공 시 수율을 높여주는 역할을 한다. 고구마의 전분들은 대부분 parenchyma cell 내부에 포집되어 있으며, 고구마의 parenchyma cell의 구조는 cellulose, pectin, hemicellulose로 이루어져 있다.

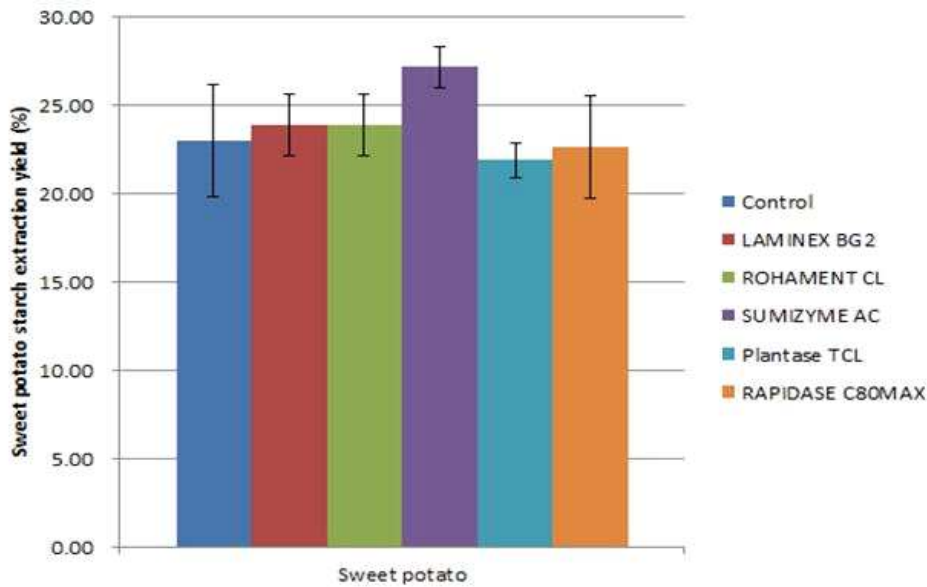


Figure 1-13. Effect of various cellulase on starch extraction from potato.

비록 Plantase TCL도 *Aspergillus niger* 유래 효소제로 cellulose, pectin, hemicellulose를 분해할 수 있는 효소제들을 함유하고 있지만, *Aspergillus niger* 종류 및 배양 조건에 따라서 다양한 형태의 효소를 생산 할 수 있다. 배양조건에 의하여 생성된 효소들은 서로 다른 특성을 나타내는 것은 알려져 있다. 즉 SUMIZYME AC를 이루고 있는 효소제들이 다른 효소제들이 이루고 있는 cellulase 보다 고구마의 parenchyma cell을 분해하는데 적합한 것으로 사료된다. SUMIZYME AC를 이용하여 추출한 고구마 전분과 비 효소처리를 이용하여 추출한 고구마 전분의 이화학적 특성을 비교하였다.

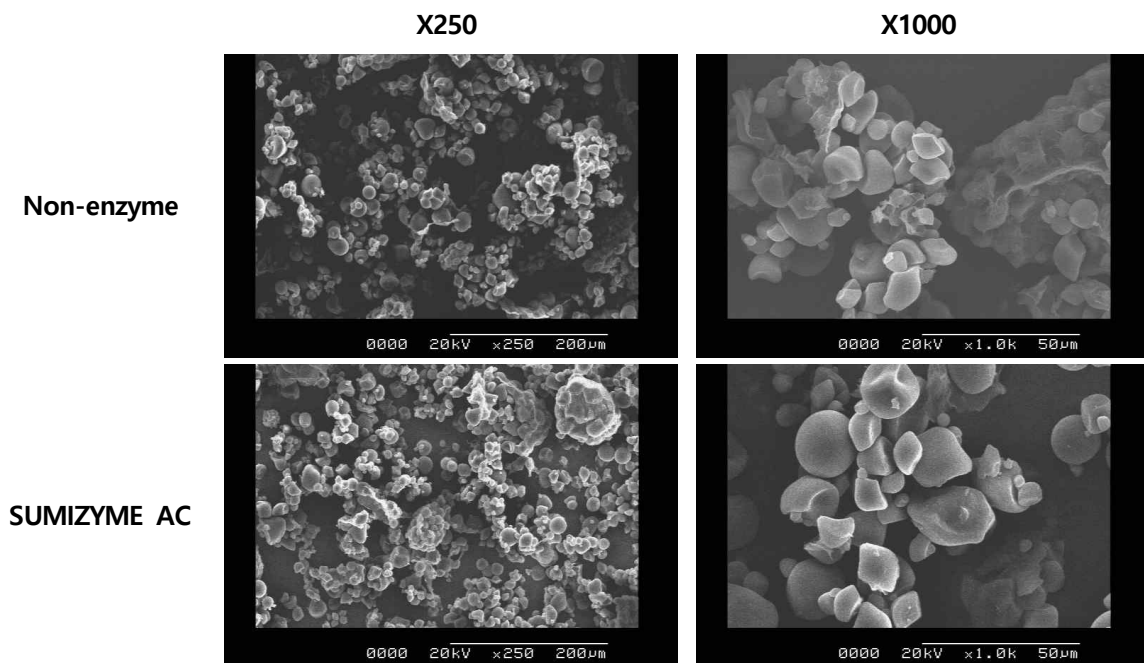


Figure 1-14. Scanning electron microscope micrographs of sweet potato starch by non-enzyme treatment and SUMIZYME AC treatment.

주사전자현미경 (Scanning electron microscope, SEM)을 이용하여 추출된 고구마 전분의 granular 구조를 확인하였다 (Figure 1-14). 고구마 전분 입자는 대부분 둥글거나 타원형, 일부는 다면체, 종 모양이 있으며 크기 및 형태가 다양하게 혼재되어 있다. 특히, 국내산 고구마 전분의 경우 부분적으로 골이 파진 종모양의 입자를 관측할 수 있다. SUMIZYME AC를 이용하여 추출한 고구마 전분과 비 효소처리를 이용하여 추출한 고구마 전분 모두 종 모양의 입자를 관찰 할 수 있으며, 입자의 크기와 모양이 다양한 것으로 관찰되었다. 또한, 대부분의 입자는 표면에 구멍이 보이지 않는 형태로 나타났으며, SUMIZYME AC를 이용하여 추출한 고구마 전분은 비 효소처리 추출 고구마 전분에 비하여 전분 입자의 수가 많이 관찰되었다.

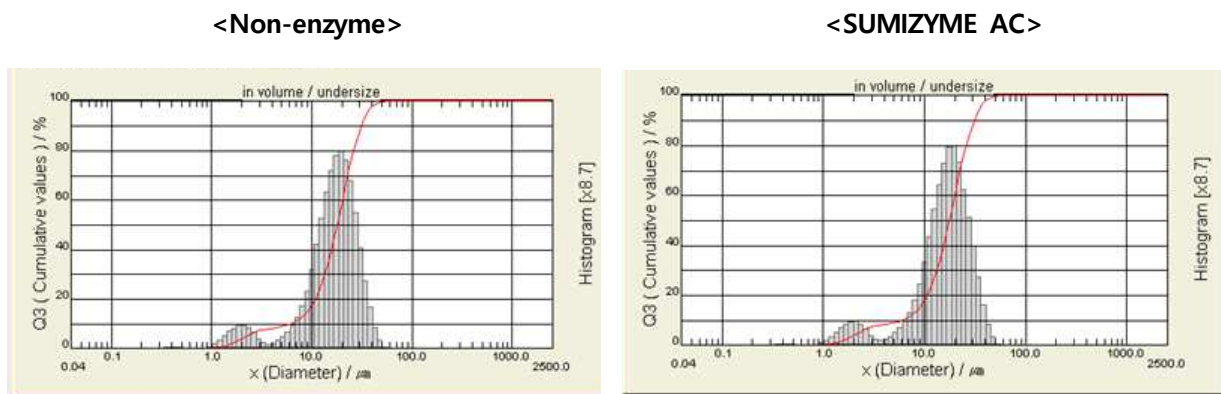


Figure 1-15. Result of particle size analyzer on starch from non-enzyme treated sweet potato and SUMIZYME AC treated potato.

Table 1-6. Particle size distributions of sweet potato starches with enzyme treatment

Sample	Particle size(μm)			Mean Diameter
	Diameter at 10.00 %	Diameter at 50.00 %	Diameter at 90.00 %	
Non-enzyme	8.01 ± 0.21 ¹⁾	19.48 ± 0.21	35.82 ± 0.02	20.00 ± 0.08
SUMIZYME AC	6.08 ± 0.12	17.72 ± 0.22	31.04 ± 0.04	18.40 ± 0.16

¹⁾Mean ± S.D

전분 입자의 크기 및 분포는 전분 입자의 특성을 결정하는 요소 중의 하나로 호화 및 노화 특성, 페이스트 특성, 효소 접근성, 결정성, 팽윤력 등에 영향을 미친다. 이에 SUMIZYME AC를 이용하여 추출한 고구마 전분과 비 효소처리를 이용하여 추출한 고구마 전분의 입도 분포를 입도분석기를 통하여 분석하였다 (Figure 1-15, Table 1-6). 고구마 전분의 입자 크기는 2~40 μm의 분포로 평균 입자 크기는 11.1~19.4 μm로 보고되어 있으며, 본 연구에서 추출된 고구마 전분과 유사한 결과로 나타났다.

국내에서 재배되는 고구마 전분의 입자크기는 3.7~37.5 μm 이며, 시판되는 7가지 고구마 전분의 평균 입자 크기는 14.23~21.08 μm 로 보고되었다. SUMIZYME AC는 비 효소적처리 고구마 전분 보다 입자가 작은 고구마 전분이 조금 더 추출 된다는 것을 입도분석기와 SEM을 통하여 확인할 수 있었다. SUMIZYME AC 추출 효율에만 영향을 주며 추출된 고구마 전분의 입도 분포 중에 크기가 작은 전분 입자들이 더 많이 존재한다.

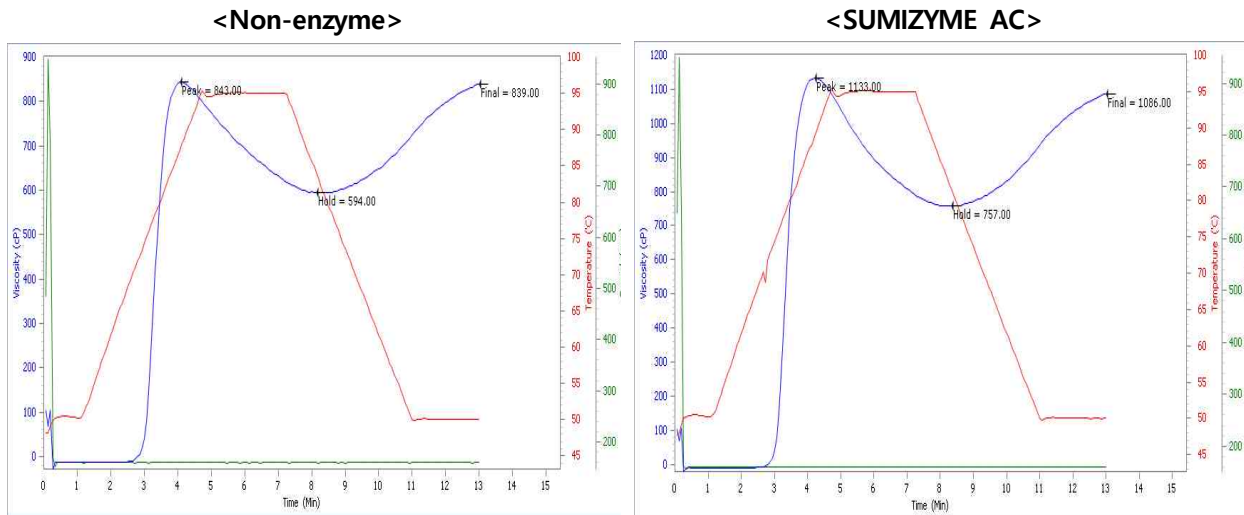


Figure 1-16. Pasting viscosity profiles of starch from non-enzyme treated sweet potato (left) and SUMIZYME AC treated potato (right)

Rapid visco analyzer (RVA)를 통하여 SUMIZYME AC를 이용하여 추출한 고구마 전분과 비 효소처리를 이용하여 추출한 고구마 전분의 호화특성을 확인하였다 (Figure 1-16, Table 1-7). 호화개시온도 (pasting temperature)는 73.45~73.60 $^{\circ}\text{C}$ 로 두 추출 고구마 전분 모두 동일하게 나타났으며, 아밀로그램의 호화 양상도 일치하는 것을 나타냈다. 최고 점도는 SUMIZYME AC를 이용하여 추출한 고구마 전분이 1133.78 \pm 12.52 cP로 비 효소처리 추출 고구마 전분의 최고 점도인 843.55 \pm 11.75 cP보다 높게 나타났다. 또한 호화 중 열, 전단에 대한 저항성을 나타내는 강하점도(Breakdown), 전분의 노화 현상에 대한 척도를 나타내는 치반 점도(Setback) 모두 SUMIZYME AC를 이용하여 추출된 고구마 전분의 점도가 높게 나타났다.

Table 1-7. Pasting characteristics for starch from non-enzyme treated potato and LAMINEX BG2 treated potato

Sample	Pasting Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Viscosity(cP)				
		Peak 1	Trough 1	Breakdown	Final Viscosity	Setback
Non-enzyme	73.45 \pm 0.07 ¹⁾	843.55 \pm 11.75	594.54 \pm 18.22	249.55 \pm 4.95	839.79 \pm 8.99	245 \pm 1.58
SUMIZYME AC	73.60 \pm 0.04	1133.78 \pm 12.52	757.78 \pm 15.44	376.44 \pm 9.02	1086.55 \pm 48.50	329 \pm 3.25

¹⁾Mean \pm S.D

점도의 변화로 계산된 전분페이스의 안정성(stability ratio=through viscosity/peak viscosity)은 추출한 고구마 전분이 0.66~0.70 으로 기존의 국내산 고구마 전분과 동일한 값이 나타났다. SUMIZYME AC를 이용하여 추출된 고구마 전분은 호화양상이 비 효소처리 추출 고구마 전분과 유사하지만, 점도의 차이는 SUMIZYME AC를 이용하여 추출된 작은 입자 크기의 전분의 영향으로 사료된다.

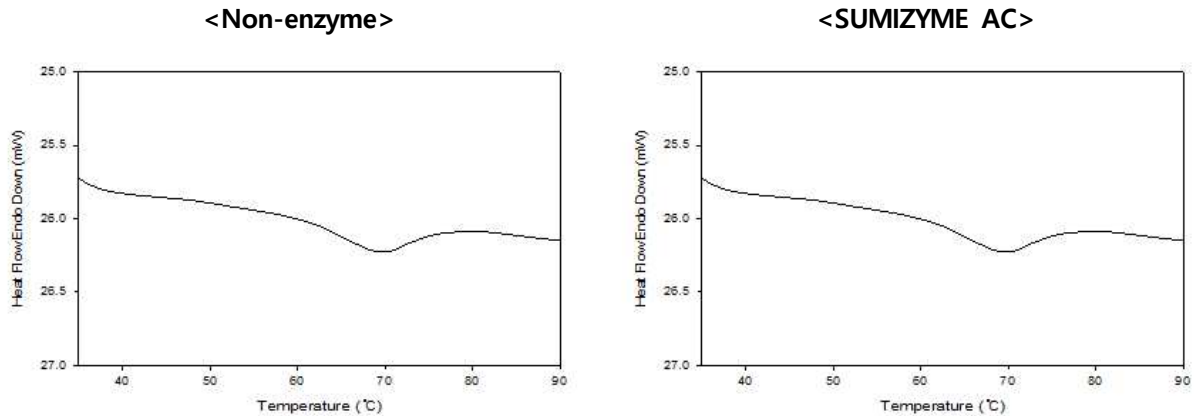


Figure 1-17. Gelatinization profiles of starch from non-enzyme treated sweet potato (left) and SUMIZYME AC treated sweet potato (right)

주사시차열량계 (DSC)를 이용하여 SUMIZYME AC를 이용하여 추출한 감자 전분과 비 효소처리를 이용하여 추출한 전분의 열전이 (thermal transition)을 측정하였다(Figure 1-17, Table 1-8). SUMIZYME AC를 이용하여 추출한 고구마 전분과 비 효소처리를 이용하여 추출한 고구마 전분의 용융 온도 (Onset temperature), 피크 온도 (peak temperature), 종료 온도 (end temperature) 및 용융엔탈피 (gelatinization enthalphy) 값의 차이는 나타나지 않았다. 이는 SUMIZYME AC에 의하여 parenchyma cell 및 고구마 조직 내에 용출된 입도가 작은 전분 입자는 열전이 특성에는 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

Table 1-8. Pasting characteristics for starch from non-enzyme treated sweet potato and SUMIZYME AC treated sweet potato

Sample	Onset Temperature (°C)	Peak Temperature (°C)	End Temperature (°C)	Gelatinization Enthalpy (mJ/mg)
Non-enzyme	60.00 ± 0.23 ¹⁾	68.38 ± 0.22	75.67 ± 0.06	5.48 ± 0.89
LAMINEX BG2	60.84 ± 0.18	69.32 ± 0.62	72.68 ± 4.53	6.06 ± 0.13

¹⁾Mean ± S.D

다. 마로부터 생전분의 추출·정제법 구축 및 이의 특성 평가

마 (*Dioscorea batatas* Decne.)는 마과의 덩굴성 다년생 식물을 말하며 덩이뿌리를 식용으로 사용하는 서류작물이다. 마 전분의 추출에 있어 본 연구에서 개발된 효소처리를 이용한 감자 및 고구마전분의 추출·정제법을 적용하기에는 마의 주성분인 뮤신 때문에 적합하지 않다. 뮤신은 끈적끈적한 점성이 강한 성분으로 마전분을 추출하기 위해 마 조직을 조쇄할 때 마 조쇄물의 점도를 상승시켜 마 조쇄물로부터 전분입자의 배출을 어렵게 한다. 따라서 본 연구에서는 마 조직으로부터 전분의 추출수율에 대한 마 조직의 침지용액 종류의 영향을 조사하였으며 마 전분 추출 공정은 Figure 1-1에 나타났다. 제분된 마의 전분의 추출 수율을 비교하였다(Figure 1-18).

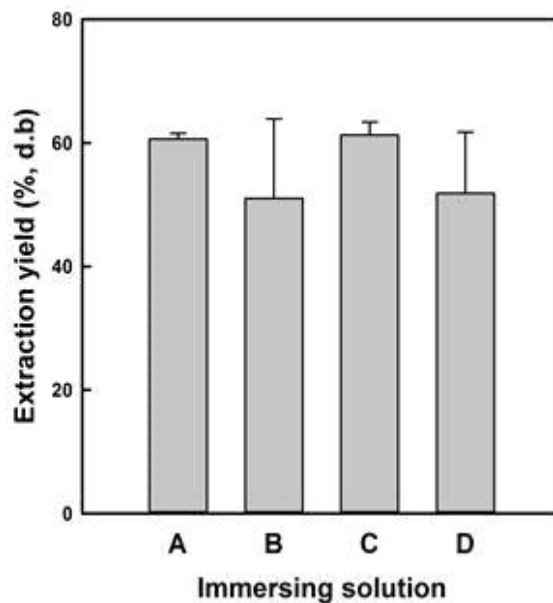


Figure 1-18. Effect of immersing solutions (A: ascorbic acid, B: sodium metabisulfite, C: sodium bicarbonate, D: sodium carbonate) on the extraction yield of Chinese yam starch from whole-tissues of Chinese yam.

마 전분의 추출수율은 침지용액에 따라 통계학적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 ascorbic acid (Figure 1-18A)와 sodium bicarbonate (Figure 1-18C)를 사용할 때 추출수율의 편차도 적으면서 60%이상의 추출수율을 나타내었다. 그러나 sodium metabisulfite와 sodium carbonate를 침지용액으로 사용할 때는 5번은 추출시험에서 추출수율의 편차가 너무 높아 추출수율의 표준편차가 큰 것으로 생각된다.

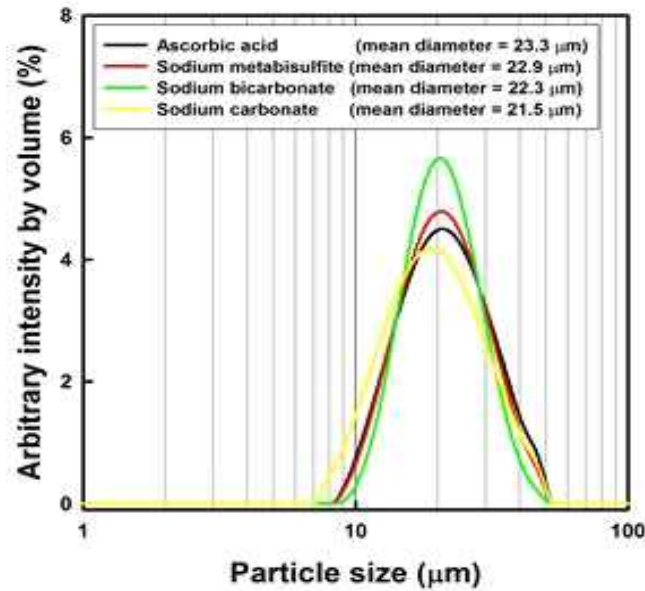


Figure 1-19. Particle size distribution of Chinese yam starch separated using four immersing solutions.

침지용액에 따라 추출된 마 전분들의 입도분포와 평균입도를 분산용액을 무수에탄올로 하여 습식입도분석기를 이용하여 분석하였다(Figure 1-19). 침지용액에 따라 추출된 마 전분의 입도분포는 일봉형 분포를 나타내었으며, 전분입자들은 7~50 μm 의 크기를 가지고 분포하였다. 마 전분들의 평균입도는 21.5~22.3 μm 의 범위에 있었으며 처리군들 사에서 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 sodium bicarbonate를 침지용액으로 할 때 전분입자의 분포는 다른 처리군들에 비해 좁아 좀 더 균일한 입도를 보유하고 있는 것으로 판단된다.

Table 1-9. Protein, total starch, and apparent amylose contents of Chinese yam starch separated using four immersing solutions.

Immersing solution	Protein content (%, d.b)	Total starch content (%, d.b)	Apparent amylose (%, d.b)
Ascorbic acid	1.6 \pm 0.0 ¹⁾	94.9 \pm 0.5	34.7 \pm 0.5
Sodium metabisulfite	1.6 \pm 0.1	93.9 \pm 0.4	35.1 \pm 0.2
Sodium bicarbonate	1.5 \pm 0.2	95.9 \pm 0.8	36.2 \pm 0.5
Sodium carbonate	1.3 \pm 0.0	92.4 \pm 1.7	36.9 \pm 0.6

¹⁾Mean \pm S.D

침지용액에 따라 추출된 마 전분의 단백질함량, 총 전분 함량, 겉보기 아밀로오스 함량을 조사하였다 (Table 1-9). 마 전분의 단백질 함량은 1.3~1.6%의 범위에 있었다. 상업적인 생 전분들의 단백질 함량은 0.5~2%의 범위에 있는 것을 고려할 때, 본 연구에서 추출한 마 전분은 상업적인 전분 소재로서 이용될 수 있을 것으로 판단된다. 또한 마 전분의 총 전분 함량은 92.4~95.9%의 범위에 있었다 총 전분 분석 kit를 이용하였으며, 여기서 제공한 전분 표준품의 총 전분 함량이 94~95%의 범위를 나타내기 때문에 마 전분들은 상업적인 전분소재로 활용이 가능할 것으로 보인다. 마 전분의 겉보기 아밀로오스 함량은 37.7~39.9%의 범위에 있었다. 식품용 및 산업용으로 광범위하게 사용되는 일반옥수수전분의 아밀로오스 함량이 약 25% 수준임을 감안할 때 마 전분은 높은 아밀로오스 함량을 나타내었으며, 고아밀로오스 함량은 전분유래 식이섬유 소재로서 활용이 가능할 것으로 판단된다.

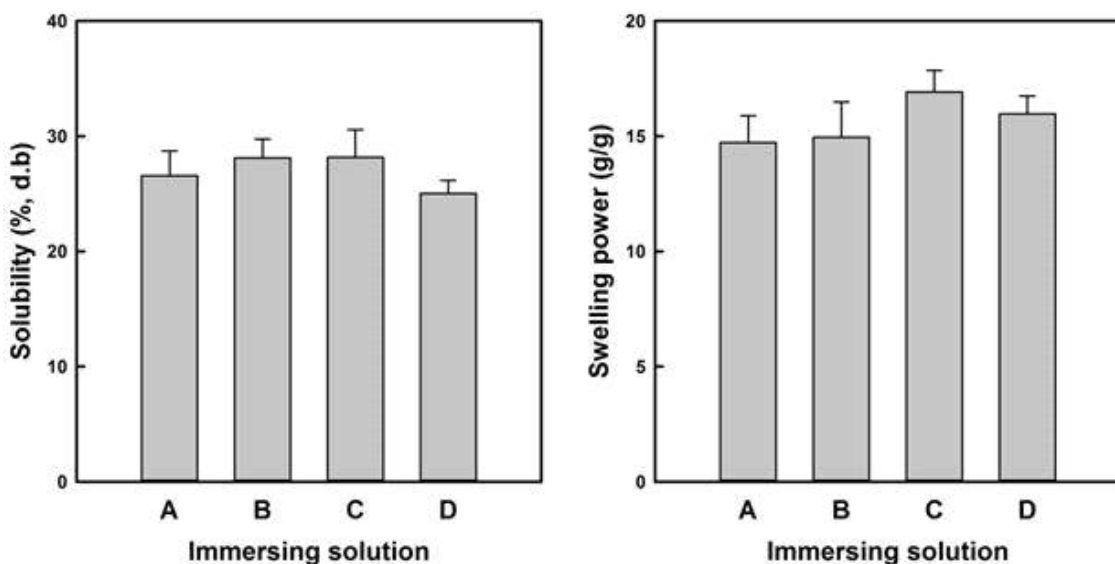


Figure 1-20. Effect of immersing solutions (A: ascorbic acid, B: sodium metabisulfite, C: sodium bicarbonate, D: sodium carbonate) on the solubility and swelling power of Chinese yam starch from whole-tissues of Chinese yam.

침지용액에 따라 추출된 마 전분들의 용해도와 팽윤력을 85℃에서 측정하였다(Figure 1-20). 마 전분의 용해도는 25.0~28.2%의 범위 있었으며 sodium bicarbonate 용액에 침지하여 추출한 마 전분이 가장 높은 용해도를 나타내었으며 이는 sodium metabisulfite 용액을 사용한 경우와 유사하였다. 팽윤력은 sodium bicarbonate 용액에 침지하여 추출한 마 전분이 가장 높았으며 sodium carbonate > sodium metabisulfite > ascorbic acid의 순으로 감소하였다.

침지용액에 따라 추출된 마 전분들의 호화특성을 조사하였다(Table 1-10). 다른 곡류기반 전분들에 비해 마 전분은 넓은 범위의 호화피크를 나타내었다. 침지용액에 따라 추출된 마 전분들의 페이스팅 점도 특성을 조사하였다(Figure 1-21, Table 1-11).

Table 1-10. Gelatinization properties of Chinese yam starch separated using four immersing solutions.

Immersing solution	Gelatinization temperature (°C)			Gelatinization enthalpy (J/g)
	Onset	Peak	Completion	
Ascorbic acid	68.4±0.2 ¹⁾	78.1±0.1	91.4±0.4	6.3±0.3
Sodium metabisulfite	69.2±1.2	77.7±1.2	88.9±1.3	6.7±0.3
Sodium bicarbonate	68.3±1.0	76.9±1.1	89.5±0.9	5.7±1.0
Sodium carbonate	66.1±0.2	78.1±0.1	90.2±0.8	5.7±0.2

¹⁾Mean±S.D

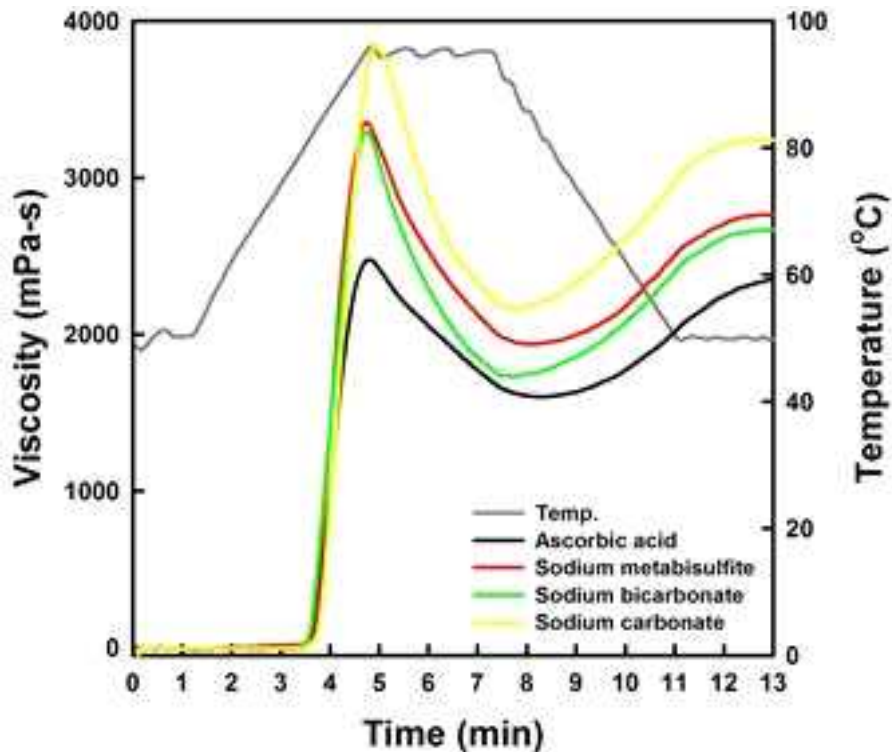


Figure 1-21. Pasting viscosity profiles of Chinese yam starches separated using four immersing solutions.

마 전분의 추출·정제법은 본 연구개발사업의 참여기업인 안동마부용농산영농조합법인에 제공하여 마 전분의 제품화를 달성할 수 있도록 지원할 것이다. 또한 생산된 마 전분을 활용한 가공제품들의 개발에 대한 기초 데이터로 사용할 수 있도록 할 것이다.

Table 1-11. Pasting viscosity characteristics of Chinese yam starch separated using four immersing solutions.

Sample	Pasting Temperature (°C)	Pasting viscosity (cP)				
		Peak	Trough	Breakdown	Final	Setback
Ascorbic acid	80.8±0.0 ¹⁾	2471.5±10.6	1596.0±33.9	875.5±23.3	2348.0±56.6	752.0±22.6
Sodium metabisulfite	80.8±0.1	3333.0±53.7	1913.5±37.5	1419.5±16.3	2743.5±6.4	830.0±31.1
Sodium bicarbonate	80.1±0.1	3274.0±66.5	1711.5±36.1	1562.5±30.4	2649.5±29.0	938.0±7.1
Sodium carbonate	81.5±0.0	3818.5±43.1	2140.5±85.6	1678.0±42.4	3219.5±51.6	1079.0±33.9

¹⁾Mean±S.D

라. 쌀가루로부터 생전분의 추출·정제법 구축 및 이의 특성 평가

국내에서 쌀이나 쌀가루로부터 전분을 추출·정제하여 시판되는 쌀전분 제품들은 찾아보기 힘든 실정이다. 또한 국내에서는 쌀전분보다 쌀가루를 다양한 식품에 예로부터 사용되어 오고 있기 때문이다. 게다가 국내산 쌀의 가격이 옥수수의 수입가격보다 높아 쌀전분을 제조하는 데 있어 경제성이 낮은 실정이다. 무엇보다도 쌀가루로부터 쌀전분을 분리하는 가장 효과적인 방법은 알칼리침지법이나 이 방법은 쌀가루로부터 쌀전분을 제조하는데 긴 시간이 필요하고 다량의 알칼리용액의 사용으로 폐수의 발생이 많은 문제점을 가지고 있다. 따라서 본 연구에서는 알칼리의 사용을 최소화할 수 있으며 단시간에 쌀전분을 쌀가루로부터 추출·정제할 수 있는 방법을 고안하였다. 단백질분해효소의 처리 전 쌀단백질의 가수분해를 용이하게 할 목적으로 0.4% sodium carbonate (pH 11.2)을 쌀가루와 3:1의 중량비율로 혼합하여 상온에서 3시간 교반하였다. 3시간 후 쌀가루 분산액은 믹서로 습식분쇄하고 혼합물은 단백질분해효소의 최적 pH로 조정하여 최적온도에서 교반시켰다. 여기에 단백질가수분해효소를 쌀가루의 건조중량대비 0.3, 0.6, 0.9%를 가하여 3시간 동안 교반한 후 세척하여 건조하였다. 처리된 쌀가루들의 단백질 함량을 측정하여 Figure 1-22에 나타내었다. 그 결과 단백질분해효소의 사용량을 증가는 쌀가루의 단백질 함량의 감소에 큰 영향을 미치지 않았다. 단백질가수분해효소를 처리한 쌀가루의 단백질 함량의 감소를 위해 효소 처리된 쌀가루를 원심분리하여 전분케이크의 상층부의 tail층을 긁어내고(scraping) 다시 분산시켜 원심분리 후 tail층을 제거하는 작업을 tail층이 보이지 않을 때까지 수행하여 쌀전분을 제조하였다(RF-3h-S). 또한 효소처리 후 쌀가루 분산액을 400 mesh 거름망이 장착된 원형진동체를 여과시킨 후 원심분리하여 상등액을 제거하고 증류수를 이용하여 2번 더 세척하여 쌀전분을 제조하였다(Sieving). 두 가지 처리의 쌀전분들과 알칼리침지법으로 실험실에서 제조된 쌀전분(LRS) 및 상업적인 쌀전분(CRS)의 단백질 함량을 비교하였다 (Figure 1-23).

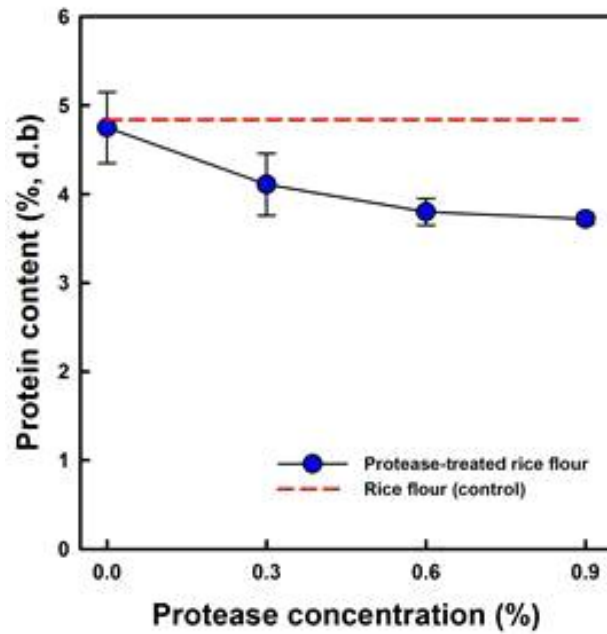


Figure 1-22. Effects of protease concentration on the protein contents of rice flour treated with commercial protease.

단백질 함량은 LRS는 0.9%와 CRS는 1.2%를 나타내었다. RF-3h는 4.1%의 단백질 함량을 나타내었지만, RF-3h와 동일하게 처리하고 400 mesh 체를 통과시킨 Sieving은 2.8%의 단백질을, 원심분리 후 전분케이크의 상층부(tail층)를 긁어낸 RF-3h-S는 1.4%를 나타내었다. RF-3h-S의 경우 상업적인 쌀전분과 유사한 단백질 함량을 나타내었지만, 수차례에 걸쳐 tail층을 긁어내야하기 때문에 실험실에서 쌀전분을 제거할 때는 적합하지만 상업적으로 사용하기에는 애로사항이 존재하였다.

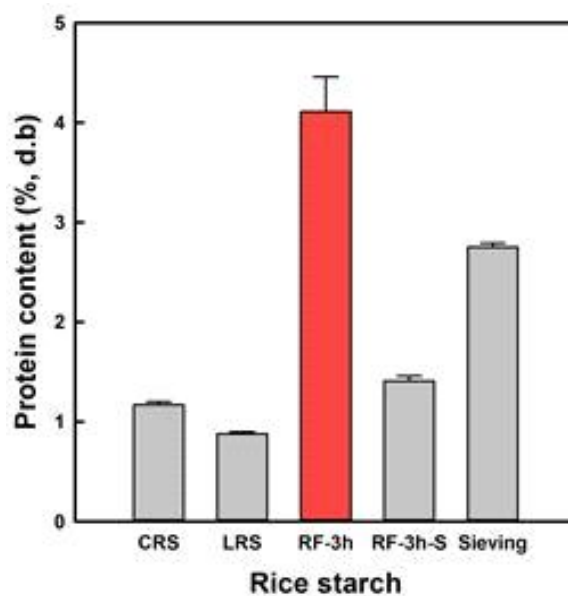


Figure 1-23. Comparison of protein content of rice starches treated with different methods.

Sieving법에 의해 얻은 쌀전분의 tail층을 연속적으로 제거하는 방법을 고안하기 위해 Sieving에 의해 생산된 쌀전분을 회수할 때 원심분리를 100~2,500 g로 변화하여 회수하여 보았다. 400 mesh를 통과한 쌀전분 분산액을 2,500 g, 1,000 g, 500 g, 100 g에서 원심분리 후 쌀전분의 단백질 함량과 쌀전분의 수율을 측정하였다(Figure 1-24). 원심분리를 2,500 g에서 100 g로 속도를 낮춰서 수행할 경우 단백질 함량은 2.7%에서 2.2%까지 감소하였으며, 이에 따른 쌀전분 수율은 74.7~78.7%의 생산수율을 나타내었다. 원심분리의 속도를 조절하여 쌀전분의 tail층을 감소시킬 수 있음을 확인하였다. 그러나 여전히 단백질 함량이 상업적인 제품으로 활용되기에는 단백질 함량이 상대적으로 높았다. 그래서 단백질가수분해효소의 처리시간을 24시간으로 증가시킨 후 100 g에서 쌀전분(1g-24h)을 회수하고 세척하여 쌀전분을 제조하였다(Figure 1-25). 그 결과 쌀전분(1.7%)의 단백질 함량은 상업적인 쌀전분(1.2%) 보다 여전히 높은 단백질 함량을 나타내었지만 상업적인 쌀전분의 단백질 함량 수준에 접근하는 것을 볼 수 있었다. 게다가 이와 같은 경우에 제조된 쌀전분의 생산수율은 76.6%로 선행된 연구에서 얻은 생산수율의 범위에 있었다. 그럼에도 쌀전분으로 사용이 가능할 것으로 판단된다. 또한 쌀전분의 단백질 함량은 효소량을 증가시켰을 때 더욱 감소될 것으로 판단된다.

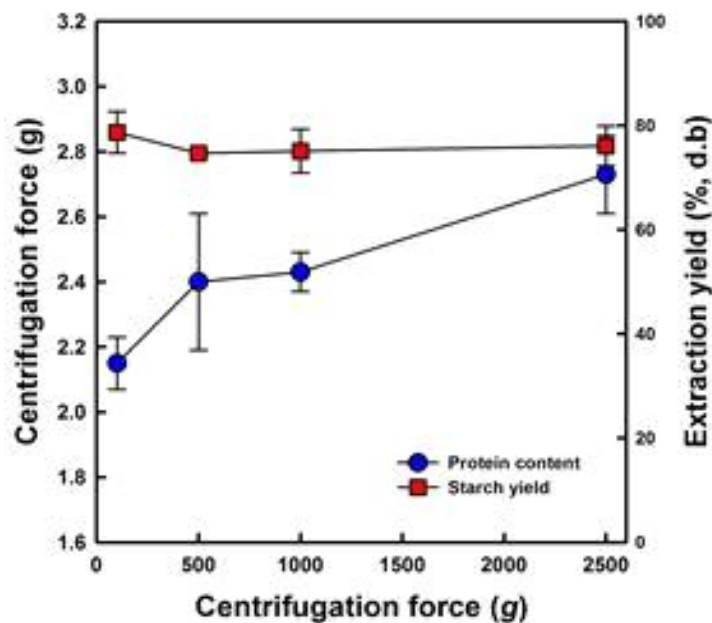


Figure 1-24. Protein content and production yield of rice starch recovered depending on centrifugation force.

실험실에서 분리한 쌀전분(LRS), 상업적인 쌀전분(CRS), 개발된 방법에 의한 쌀전분(1g-24h)의 입도분포를 조사하였다(Figure 1-26). LRS와 CRS는 평균입도가 10.5~10.8 μm 이 었지만 1g-24h는 4.9 μm 를 나타내었다. 따라서 개발된 방법에 의한 쌀전분이 쌀전분 고유의 형태학적 특성에 적합하였다. 실험실에서 분리한 쌀전분(LRS), 상업적인 쌀전분(CRS), 개발된 방법에 의한 쌀전분(1g-24h)의 총전분 함량과 아밀로오스 함량을 측정하였다(Table 1-12).

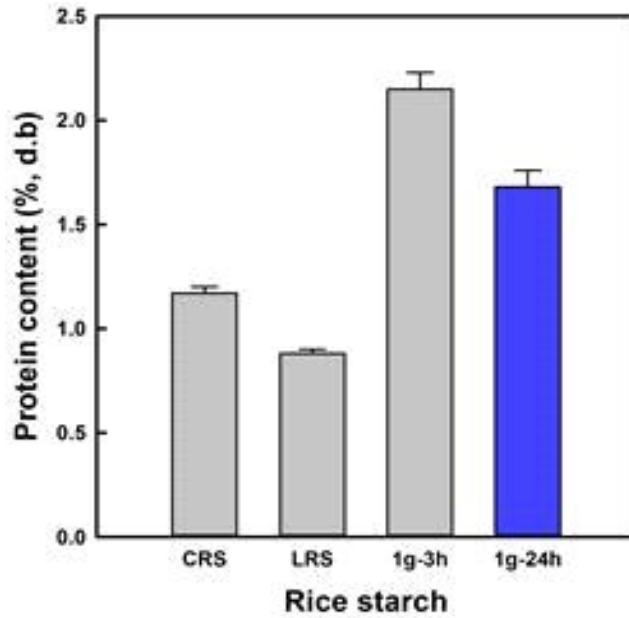


Figure 1-25. Protein content of rice starch according to protease treatment time.

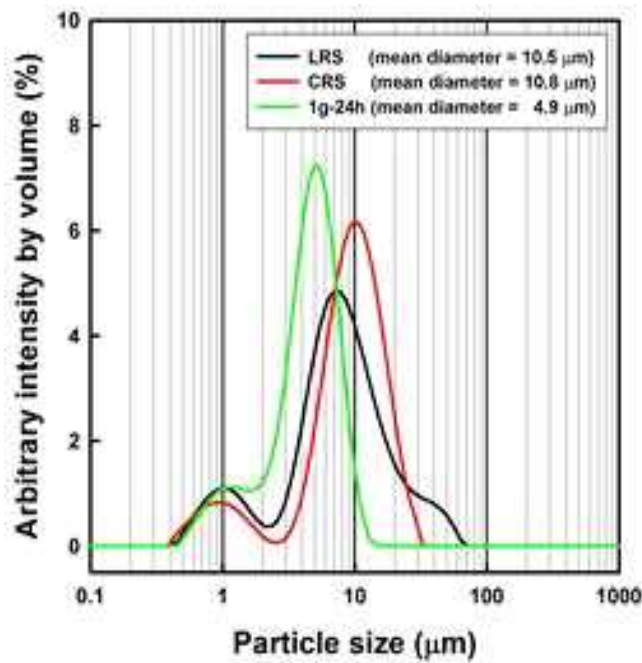


Figure 1-26. Particle size distribution of lab-isolated (LRS), commercial (CRS), and developed (1g-24h) rice starches.

개발된 방법에 의한 쌀전분의 아밀로오스 함량이 LRS와 CRS보다 낮았으나, CRS의 경우 쌀의 품종에 따른 영향으로 판단되며, LRS와 1g-24h의 경우 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 또한 총전분 함량은 상업적인 쌀전분과 개발된 쌀전분이 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않아 개발된 쌀전분이 상업용 소재로서 적합할 것으로 판단된다.

Table 1-12. Total starch and apparent amylose contents of commercial (CRS), lab-isolated (LRS), and developed (1g-24h) rice starches

Rice starch	Total starch content (%, d.b)	Apparent amylose content (%, d.b)
CRS	92.9±0.1 ¹⁾²⁾	20.1±1.5 ^a
LRS	94.7±1.1 ^a	18.2±1.3 ^{ab}
1g-24h	92.1±0.2 ^b	16.0±0.1 ^b

¹⁾Mean±S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05)

마. 쌀 부산물 (쇄미)유래 전분 추출 효율 증대 및 특성 확인

생촉매 추출법을 사용하기에 앞서 두 가지 효소의 추출 효율을 비교하였다. Bacillus amyloliquefaciens 유래 protease인 prozyme BPN의 수율은 58.12±3.82%로, Aspergillus niger 유래 endo-protease인 Prozyme PSP의 추출 수율이 47.68±3.08%에 비해서 10.44%가 높은 것을 나타냈다. Megazyme에서 나온 TOTAL STARCH ASSAY KIT(AMYLOGUCOSIDASE/a-AMYLASE METHOD)를 사용한 결과, Prozyme BPN 처리 추출 전분의 함량은 87.27% Prozyme PSP는 85.52%로 확인되었다. 이를 통하여, prozyme BPN이 Prozyme PSP보다 쇄미에서 전분 추출하는데 더 효율적인 것을 확인할 수 있다. 이를 이용하여 24시간동안 Prozyme BPN에서 교반하였을 경우 총 100g의 쇄미 중에서 61.74g의 전분이 추출됨을 확인하였다. 이 실험결과를 바탕으로 하여 prozyme BPN을 이용하여 생촉매 추출법과 가압 효소 추출법으로 쇄미에서 전분을 추출하였다(Figure 1-27).

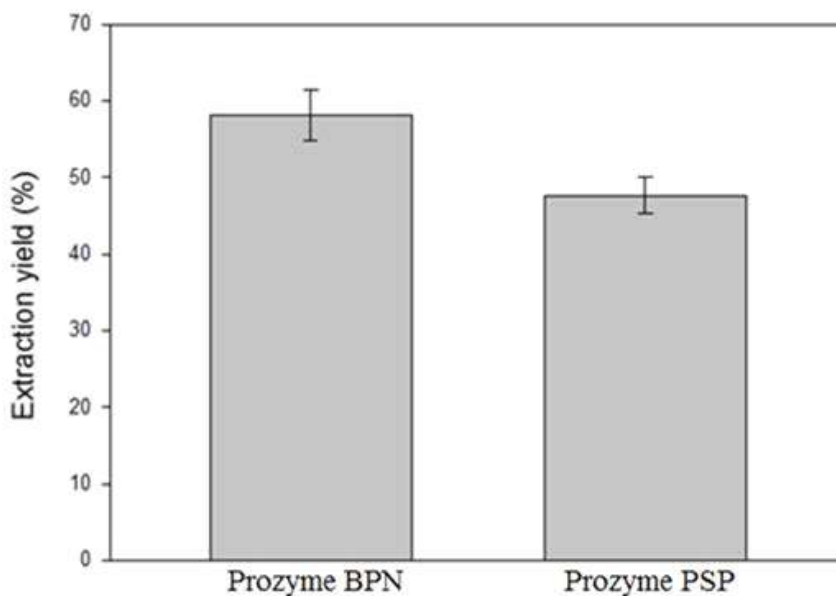


Figure 1-27. Extraction yield of starch from broken rice with two different enzyme, prozyme BPN and prozyme PSP.

Table 1-13. Extraction yield of rice starch from broken rice with alkaline, enzymatic, and freeze-infusion methods

Method	Alkaline	Enzymatic	Freeze-infusion
Yield (%)	66.81±1.53 ^{1)ab2)}	61.74±3.21 ^a	69.31±2.53 ^b

¹⁾Mean±S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05)

추출 수율을 비교한 결과 값을 다음 Table 1-13와 Figure 1-28에 표시하였다. 전분 추출 효율은 가압 효소추출법, 알칼리 추출법, 생촉매 추출법이 각각 69.31±2.53, 66.81±1.53 그리고 61.74±3.21 순으로 높게 나왔다. 이를 통해 가압 효소추출법을 이용했을 경우 외부에서만 효소가 작용하던 기존의 생촉매 추출법에 비해, 효소가 내·외부로 작용하기 때문에 전분 추출효율이 8% 정도 증가한 것을 확인 할 수 있다.

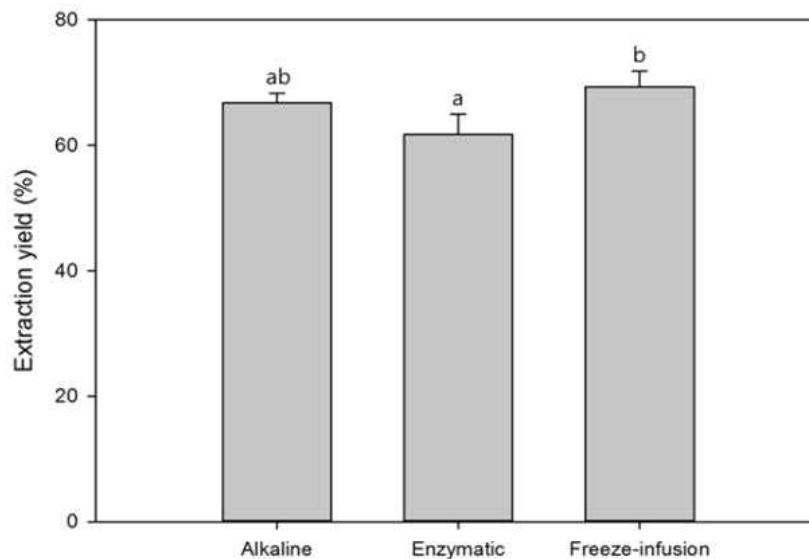


Figure 1-28. Extraction yield of rice starch from broken rice with alkaline, enzymatic, and freeze-infusion method.

알칼리 추출법, 생촉매 추출법, 가압 효소추출법으로 생성한 쉐미 전분의 팽윤력 (swelling power) 및 용해도(solubility)를 측정하였다(Figure 1-29, Table 1-14). 팽윤력(Swelling power)의 경우 알칼리 추출법에서는 8.25%, 생촉매 추출법에서는 8.75%, 그리고 가압 효소추출법의 경우 8.52%로 유의적 차이가 나지 않았다. 용해도(Solubility)의 경우 알칼리 추출법의 경우 4.75%로 생촉매 추출법 3.71%, 가압 효소추출법 3.87% 에 비해 큰 값이 나오기는 했지만 팽윤력과 마찬가지로 유의적 차이가 나타나지 않았다.

Table 1-14. Swelling power and solubility of rice starch extracted from broken rice with alkaline, enzymatic, and freeze-infusion method

Sample	Swelling power (%)	Solubility (%)
Alkaline	8.25 ± 0.26 ^{1)a2)}	4.75 ± 0.59 ^a
Enzymatic	8.75 ± 0.32 ^a	3.71 ± 0.45 ^a
Freeze-infusion	8.52 ± 0.21 ^a	3.87 ± 0.84 ^a

¹⁾Mean ± S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p < 0.05)

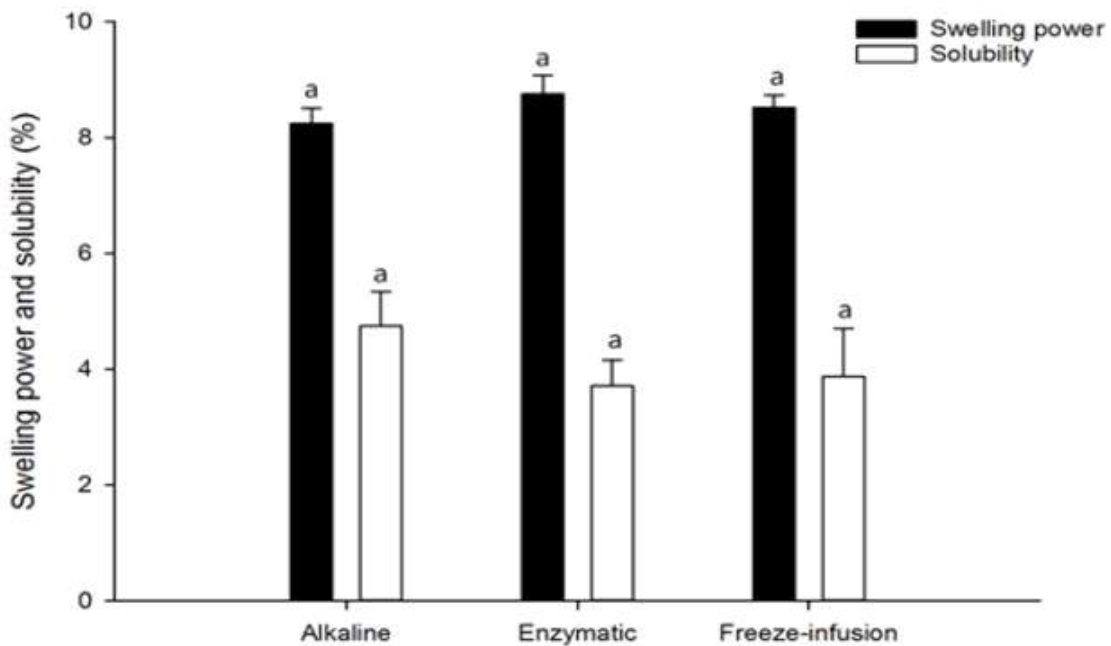


Figure 1-29. Swelling power and solubility of rice starch extracted from broken rice with alkaline, enzymatic, and freeze-infusion method.

알칼리 추출법, 생축매 추출법, 가압 효소추출법으로 분리한 쉐미 전분의 입자 크기 분포를 측정했다(Table 1-15, Figure 1-30). 가압 효소추출법을 통해 효소를 쉐미와 반응했을 때, 평균입도 크기는 $4.87 \pm 0.40 \mu\text{m}$ 로 똑같은 효소를 처리한 생축매 추출법의 전분의 평균입도 크기인 $5.51 \pm 0.01 \mu\text{m}$ 보다 큰 차이가 나지는 않지만 작게 나타났다. 또한 알칼리 추출법을 처리하여 분리한 전분의 입자는 $7.76 \pm 0.06 \mu\text{m}$ 로 다른 두 방법보다 훨씬 큰 입자들이 관찰되었다. 일반적으로 쌀 전분의 입자 크기는 품종, 재배조건 등의 영향을 받으나 매우 작은 편으로 주로 2~8 μm 로 알려져 있다.

Table 1-15. Particle size distributions of starch extracted from broken rice with Alkaline, Enzymatic, and Freeze-infusion method

Sample	Particle size(μm)			Mean Diameter
	Diameter at 10.00 %	Diameter at 50.00 %	Diameter at 90.00 %	
Alkaline	2.03 ± 0.14 ^{1)a2)}	5.70 ± 0.01 ^c	14.91 ± 0.28 ^c	7.76 ± 0.06 ^c
Enzymatic	2.06 ± 0.00 ^a	5.22 ± 0.02 ^b	9.23 ± 0.01 ^b	5.51 ± 0.01 ^b
Freeze-infusion	1.90 ± 0.13 ^a	4.66 ± 0.27 ^a	7.99 ± 0.87 ^a	4.87 ± 0.40 ^a

¹⁾Mean±S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

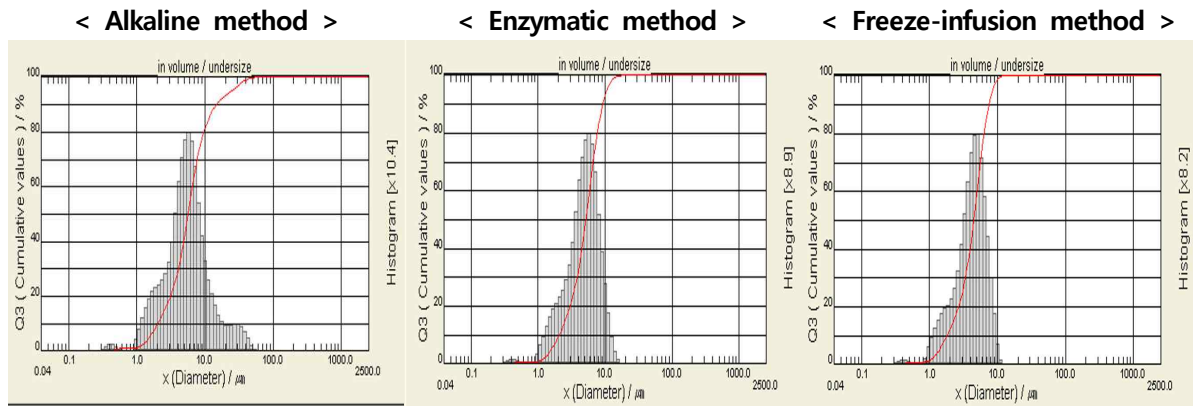


Figure 1-30. Result of particle size analyzer on starch from broken rice with alkaline, enzymatic, and freeze-infusion method.

3가지 방법으로 처리한 전분 모두 일반 쌀이 가지고 있는 전분의 입자 크기 범위로 나타났다. 단백질 분해 효소를 처리한 전분의 입자가 알칼리 추출법에 비해 입자 사이즈가 더 작게 나오는 경향을 보이는 것을 알 수 있다. 특히 가입 효소추출법법의 경우 생축매 추출법과 마찬가지로 효소를 이용하기는 하지만, 효소를 쉐미 내부로 침투시켜 효율을 높인 결과 더 작은 입자 크기의 전분을 추출하는 것을 확인 할 수 있다. 효소를 이용하여 전분을 추출하면 화학적 추출법 보다 작은 입자의 전분 입자를 추출 할 수 있는데, 이는 효소에 의해서 작은 전분입자를 가지고 있는 세포벽이 파괴되어 나타나는 현상으로 사료된다.

주사전자현미경 (Scanning electron microscope, SEM)을 이용하여 추출된 전분의 granular 구조를 확인하였다(Figure 1-31). 추출된 쉐미 전분의 granular은 모두 각진 형태로 나타났으며 이는 쌀에서 추출한 전분과 유사하다. 또한 단백질 분해 효소가 처리된 전분에서는 알칼리 추출법보다 작은 크기의 전분 입자를 발견할 수 있으며, 이는 앞선 입도크기 결과와 일치한다.

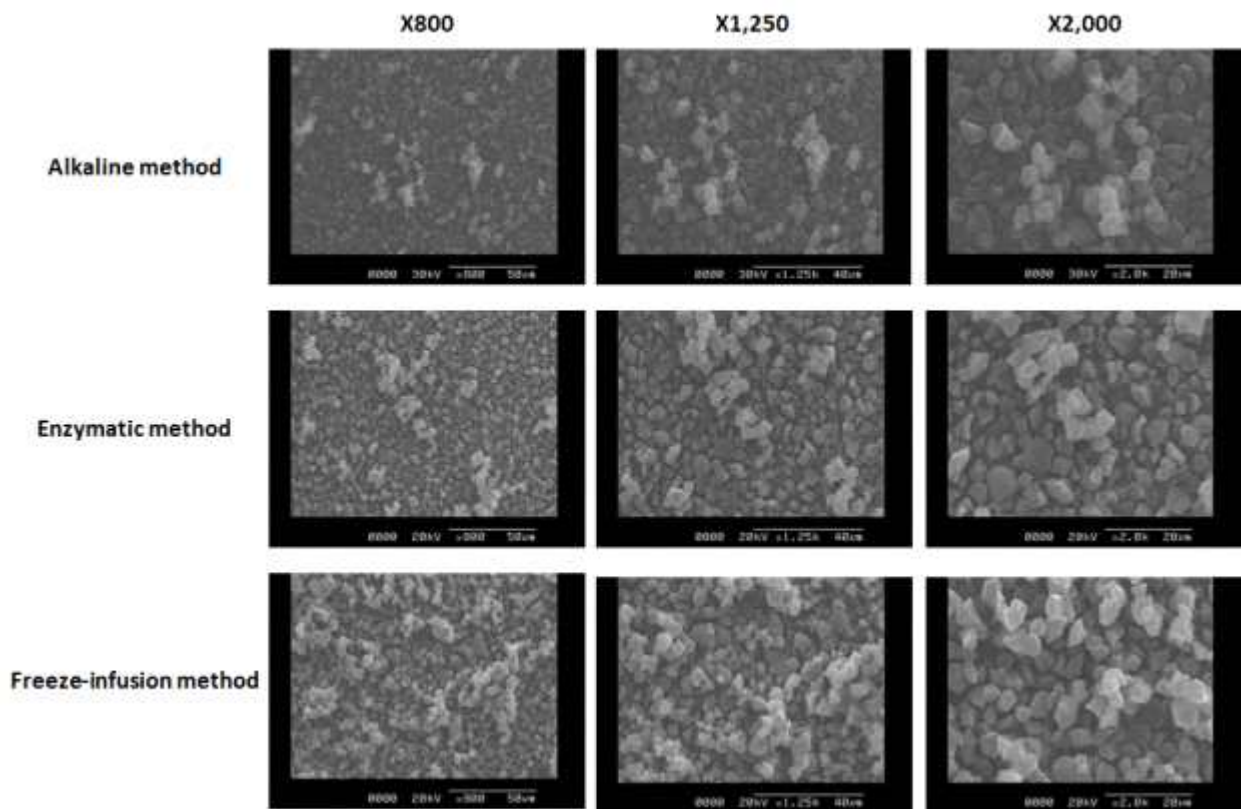


Figure 1-31. Scanning electron microscope micrographs of starch extracted from broken rice with alkaline, enzymatic, and freeze-infusion method.

Table 1-16. Pasting viscosity of rice starch extracted from broken rice with alkaline, enzymatic, and freeze-infusion method

Sample	Pasting Temperature (°C)	Pasting viscosity (cP)				
		Peak	Trough	Breakdown	Final	Setback
Alkaline	6.73±0.13 ^a	2466.00±34.65 ^{1)a2)}	2073.00±79.70 ^a	393.00±47.84 ^a	2940.00±55.75 ^a	867.00±31.04 ^a
Enzymatic	7.00±0.00 ^b	3256.50±6.36 ^c	1976.00±53.74 ^a	1280.50±47.37 ^c	3992.50±23.33 ^c	2016.50±77.07 ^c
Freeze-infusion	6.98±0.04 ^b	3043.67±16.29 ^b	1967.67±55.97 ^a	1076.00±70.51 ^b	3738.67±3.06 ^b	1771.00±54.67 ^b

¹⁾Mean±S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

Rapid visco analyzer (RVA)를 통하여 서로 다른 3가지 다른 방법으로 추출한 전분들의 호화특성을 확인하였다(Table 1-16, Figure 1-32). Prozyme BPN을 처리한 생촉매 추출법 전분의 호화개시온도(pasting temperature)는 89.83°C로 가압 효소추출법으로 추출한 쇄미 전분의 호화개시온도인 89.80°C와 유의적 차이가 나타나지 않았지만, 알칼리 추출법보다는 2°C 정도 높게 호화개시온도를 가지고 있는 것으로 나왔다.

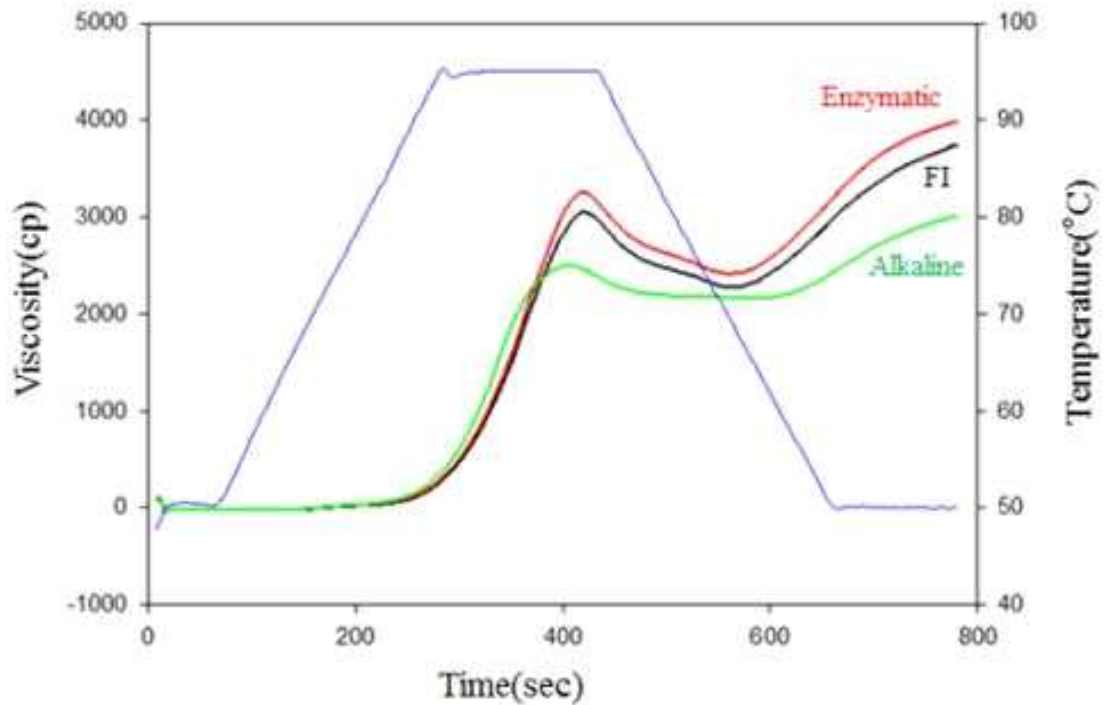


Figure 1-32. Pasting viscosity of rice starch extracted from broken rice with alkaline, enzymatic, and freeze-infusion method.

RVA에 의한 호화양상은 전분입자의 팽윤정도와 팽윤된 입자의 배열과 결합력, amylose와 amylopectin의 구성비 및 구조차이 등에 의해 결정된다. 이러한 RVA 결과의 미세한 차이는 효소 처리에 의해 생성된 크기가 작은 전분 입자에 의한 영향으로 사료된다.

Table 1-17. DSC of rice starch extracted from broken rice with Alkaline, and Freeze-infusion method

Sample	Gelatinization temperature (°C)			Gelatinization enthalpy (J/g)
	Onset	Peak	Completion	
Alkaline	57.50 ± 0.25 ¹⁾²⁾	62.02 ± 0.17 ^a	67.87 ± 0.18 ^a	13.87 ± 1.48 ^b
Enzymatic	56.71 ± 0.18 ^a	61.98 ± 0.21 ^a	67.83 ± 0.16 ^a	11.35 ± 0.77 ^a
Freeze-infusion	56.67 ± 0.20 ^a	62.44 ± 0.19 ^b	68.46 ± 0.21 ^b	9.87 ± 0.71 ^a

¹⁾Mean ± S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05)

Differential scanning calorimetry (DSC)를 이용하여 알칼리 추출법, 생축매 추출법, 그리고 가압 효소추출법을 이용하여 추출한 쉐미 전분의 열전이 (thermal transition)을 조사한 결과는 Table 1-17와 Figure 1-33과 같다.

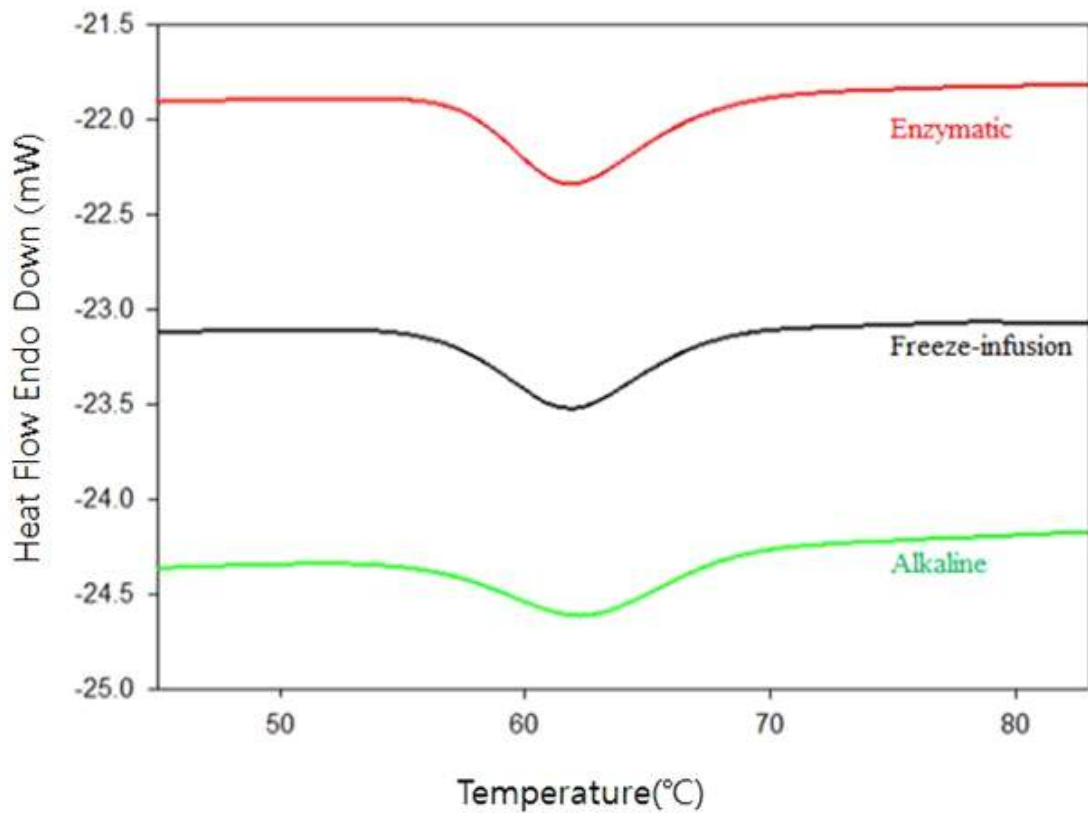


Figure 1-33. DSC result of starch extracted from broken rice with alkaline, enzymatic, and freeze-infusion method

3가지 방법을 이용하여 추출한 전분의 피크 온도 (peak temperature), 종료 온도(end temperature) 및 용융 온도 (Onset temperature)는 값의 큰 차이는 나타나지 않았다. 가압 효소추출법이 생촉매 추출법보다 용융엔탈피 (gelatinization enthalpy) 값 낮게 측정되었지만, 유의적 차이가 나타나지 않았다. 하지만 알칼리 추출법으로 추출한 전분의 용융엔탈피 값이 효소를 처리한 두 방법에 비하여 2 J/g 높게 나타났다. 전분 입도에서도 알칼리 추출법, 생촉매 추출법, 그리고 가압 효소추출법 순으로 입자 size가 큰 것으로 나타난 바와 같이 용융엔탈피 또한 알칼리 추출법, 생촉매 추출법, 그리고 가압 효소추출법 순으로 높은 것으로 보아 용융엔탈피가 입도 사이즈에 의해 영향을 받은 것으로 추측된다.

추출 방법에 따른 쉐미 전분의 결정의 변화를 알아보기 위해 X-선 회절도(X-ray diffraction)을 진행했다(Figure 1-34). 전분의 결정 형태에 따라 A, B, C, V type으로 구분 될 수 있다. A type은 곡류 전분의 결정 상태이고 회절각도(2θ)가 15° , 23° 근처에서 강하게 나타나며, 18° 부근에서도 두 개의 강한 피크를 보인다. B type은 감자와 같은 근경류, 과일 및 줄기에서 추출된 전분들이 속하고, 회절각도(2θ) 17° 부근에서 강한 피크와 6.5° , 20° , 22° 에서 작은 피크가 나타난다. A와 B의 혼합형인 C type은 고구마, 녹두, 완두 전분이 속하고, 피크는 A type과 B type가 함께 나타난다 ($2\theta = 15^\circ$, 17° , 18.1° , 23.5° 부근에서 피크가 나타남).

Amylose에 lipid가 포집된 것과 같이 전분에 포집된 형태인 V type 천연 전분에서는 나타나지 않으며 회절각도(2θ)가 13° 와 20° 에서 강한 피크가 나타나게 된다. 일반적으로 쌀전분은 곡류전분의 한 종류로 A-type의 양상이 나타난다. 추출된 쌀 전분의 경우 추출방법에 상관없이 모두 15° , 23° 에서 peak와 18° 에서 두 개의 peak를 확인 할 수 있는 전형적인 A-type으로 관찰 되었다. 추출 방법에 따라 쌀 전분의 결정형 구조가 손상되지 않은 것으로 확인 되었다.

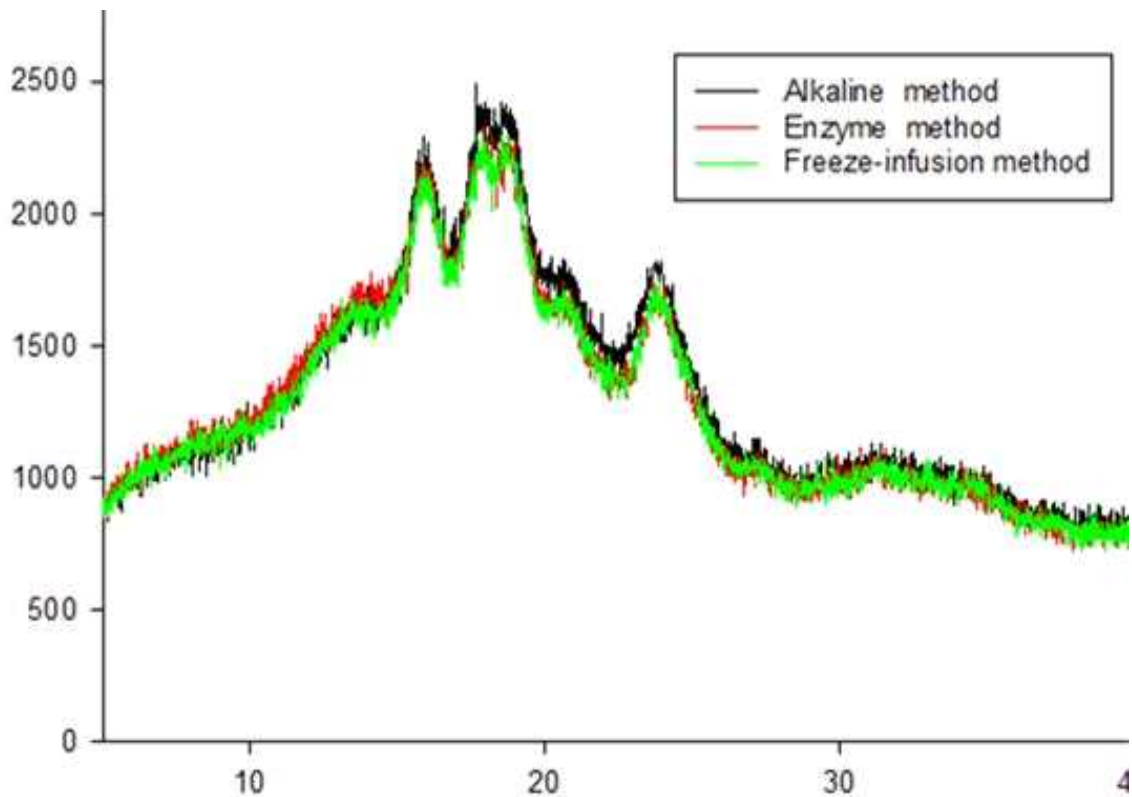


Figure 1-34. X-ray diffraction of rice starch extracted from broken rice with Alkaline, Enzymatic, and Freeze-infusion method.

바. 감자 부산물 (감자 sludge) 유래 전분 추출 및 특성 확인

감자 가공부산물의 수분함량, 조지방, 조단백, 회분은 Table 1-18에 나타냈다.

Table 1-18. properties of potato sludge

Properties	Result	Method	
Moisture	0.0g/100g	Korean Food standards codex(2015) 상압가열건조법	
Lipid	0.0g/100g	Korean Food standards codex(2015) 에테르 추출법	
Protein	0.1g/100g	Kjeldahl법 Korean Food standards	
Ash	0.4g/100g	codex(2015) 회분시험법	
Carbohydrate	Non-starch polysaccharide	16.1g/100g	Korean Food standards codex(2015)
	total starch	83.4g/100g	탄수화물계산법

감자 가공부산물의 경우 탄수화물이 99.5%를 차지하고 있지만, 그 중 16.1%가 전분이 아닌 polysaccharide계열이다. 그러므로 감자에서 높은 효율의 전분을 추출하기 위해서는 비 전분 다당류를 제거해야 된다. 감자의 전분추출 효율을 증가시키기 위해 Laminex BG2 효소가 선정되었고, 이를 감자 가공부산물의 건조중량 대비 0.50%, 0.75%, 1.00%, 그리고 1.50% (v/w) 비율로 각각의 효소액에 3시간 침지시켜 반응을 진행하였다. 효소 반응 결과, 최종 무게의 변화는 크게 관찰되지 않은 상태에서 total starch함량이 83%에서 96% 내외로 증가한 것을 확인 할 수 있다(Table 1-19).

Table 1-19. Yields and total starch concentration of extracted potato starch from potato sludge

Content	potato sludge	Enzyme treatment (v/w)			
		0.5%	0.75%	1.0%	1.5%
Total starch	83.4	95.91±3.45 ¹⁾	97.44±2.20	95.58±5.94	97.79±5.41
Starch recovery	-	99.10%	99.10%	99.09%	98.90%

¹⁾Mean±S.D

감자 가공부산물 유래 전분의 입도분포를 입도 분석기를 이용하여 분석하였다(Table 1-20, Figure 1-35). LAMINEX BG2를 처리하여 추출한 전분의 평균입도는 효소의 농도와 크게 상관없이 비슷하게 나왔으며 전체적 40.09±0.59 μm의 크기로 측정되었다. 일반적으로 감자의 입자 크기는 품종, 재배조건 등의 영향을 받으며 5~100 μm로 알려져 있다. LAMINEX BG2를 이용하여 생성된 감자 전분이 기존 상업용 감자전분과 큰 차이가 없는 것을 알 수 있다.

Table 1-20. Particle size distributions of starches extracted from potato sludge with 0.50%, 0.75%, 1.00%, and 1.50% of LAMINEX BG2 treatment

Sample	Particle size(μm)			Mean Diameter
	Diameter at 10.00 %	Diameter at 50.00 %	Diameter at 90.00 %	
0.50 %	20.45 \pm 0.10 ^{1)a2)}	39.55 \pm 0.27 ^a	60.59 \pm 0.35 ^a	36.69 \pm 0.21 ^a
0.75 %	21.73 \pm 0.20 ^a	40.36 \pm 0.05 ^a	61.13 \pm 0.02 ^a	40.47 \pm 0.07 ^a
1.00 %	22.19 \pm 0.57 ^a	40.66 \pm 0.34 ^a	61.24 \pm 0.22 ^a	40.76 \pm 0.35 ^a
1.50 %	20.18 \pm 0.08 ^a	39.15 \pm 0.28 ^a	60.06 \pm 0.31 ^a	39.31 \pm 0.21 ^a

¹⁾Mean \pm S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different ($p < 0.05$).

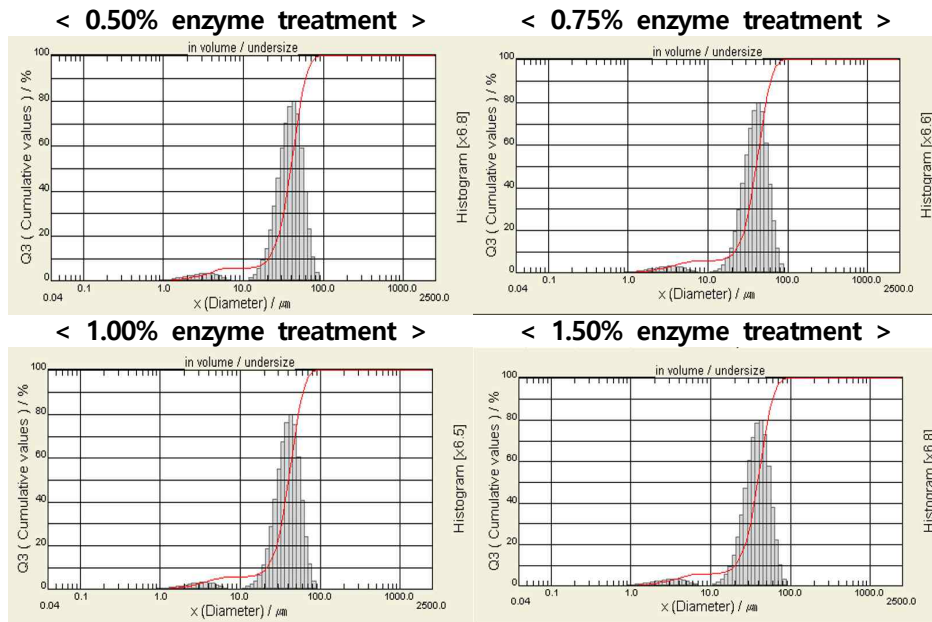


Figure 1-35. Result of particle size analyzer on starch from potato sludge with 0.50%, 0.75%, 1.00%, and 1.50% of LAMINEX BG2 treatment.

주사전자현미경 (Scanning electron microscope, SEM)을 이용하여 추출된 전분의 granular 구조를 확인하였다(Figure 1-36). 감자 가공부산물 유래 전분의 granule 구조는 천연 감자 전분과 같이 매끈한 표면의 타원형을 이루는 것으로 나타났다. 또한 효소의 농도차이에 큰 상관없이 모양이 비슷한 것을 알 수가 있으며, 이는 효소 농도에 따라 전분의 granule 구조에 영향을 받지 않음을 의미한다.

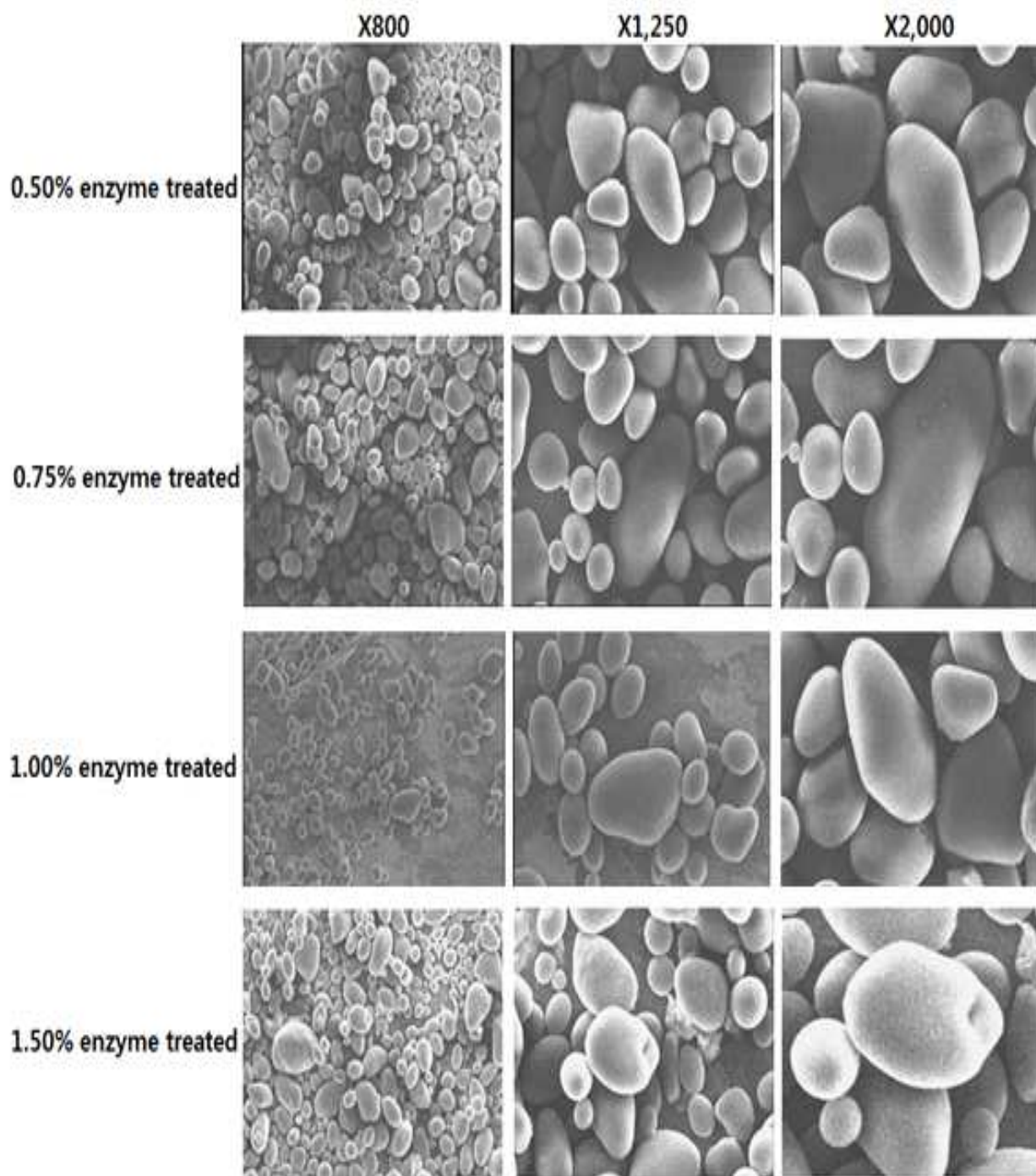


Figure 1-36. Scanning electron microscope micrographs of starches extracted from potato sludge with 0.50%, 0.75%, 1.00%, and 1.50% of LAMNEX BG2 treatment.

Rapid Visco Analyzer (RVA)를 통하여 LAMINEX BG2의 농도 구배를 주어 추출한 감자 부산물 유래 전분의 호화특성을 확인하였다(Table 1-21, Figure 1-37). Pasting viscosity 값을 측정한 결과, 추출된 전분의 pasting temperature의 경우 66°C 내외로 유의적 차이가 나타나지 않았으며, peak viscosity, through viscosity, breakdown, final viscosity, setback, 그리고 peak time 모두 효소 농도에 따른 유의적 차이가 없이 비슷한 양상을 보인다.

Table 1-21. Pasting viscosity of starch extracted from potatoes sludge with 0.50%, 0.75%, 1.00%, and 1.50% of LAMINEX BG2 treatment

Sample	Pasting Temperature (°C)	Pasting viscosity (cP)				
		Peak	Trough	Breakdown	Final	Setback
0.50%	66.03±0.12 ^{1)a2)}	8073.33±72.02 ^a	3707.67±59.37 ^a	4357.00±87.43 ^a	4427.67±208.05 ^a	699.00±21.07 ^a
0.75%	66.40±0.52 ^a	7349.00±94.75 ^a	3518.50±53.03 ^a	3830.50±41.72 ^a	4476.00±93.34 ^a	957.50±40.31 ^a
1.00%	65.85±0.48 ^a	8135.00±32.51 ^a	3682.33±54.90 ^a	4352.67±23.24 ^a	4414.00±100.64 ^a	798.33±6.42 ^a
1.50%	66.55±0.64 ^a	8435.50±91.22 ^a	3872.00±41.01 ^a	4563.50±50.20 ^a	4526.00±52.33 ^a	654.00±11.31 ^a

¹⁾Mean±S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

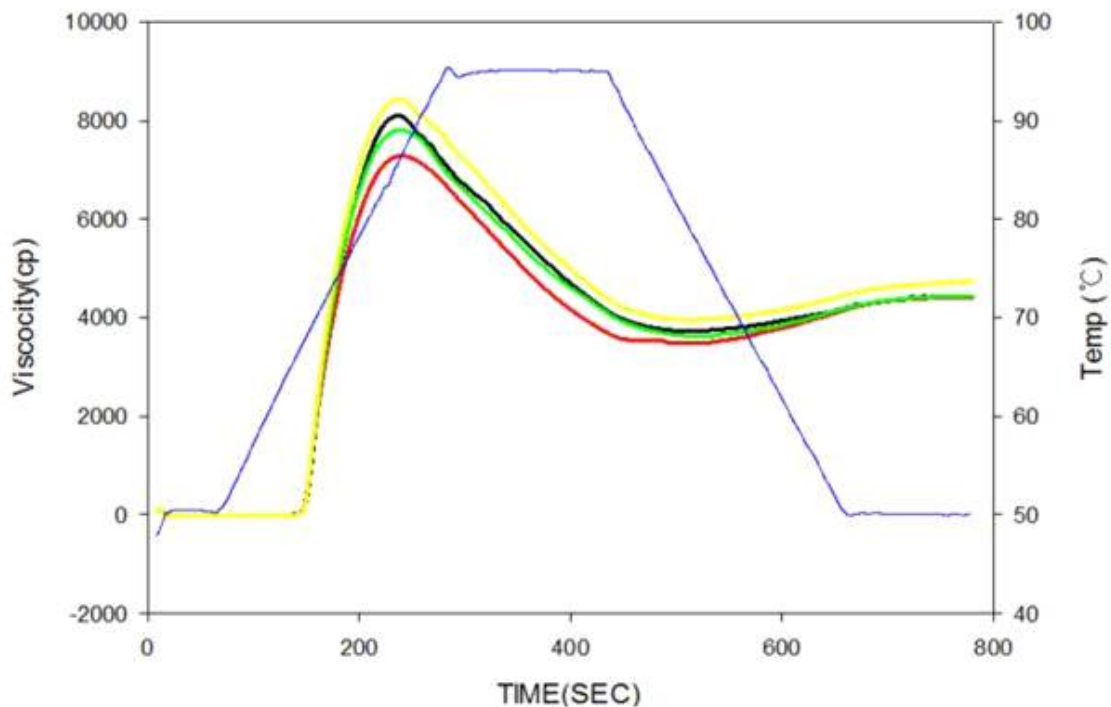


Figure 1-37. Pasting viscosity of rice starch extracted from potatoes sludge with 0.50%, 0.75%, 1.00%, and 1.50% of LAMINEX BG2 treatment.

Differential scanning calorimetry (DSC)를 이용하여 감자 가공부산물 유래 전분의 열전이 (thermal transition)을 조사한 결과는 Table 1-22와 Figure 1-38에 나타내었다. LAMINEX BG2 효소의 처리 농도가 증가하여도 전분의 피크 온도 (peak temperature), 종료 온도(end temperature) 및 용융 온도 (Onset temperature)는 값의 유의적 차이는 나타나지 않았다.

Table 1-22. DSC of starch extracted from potatoes slush with 0.50 %, 0.75 %, 1.00 %, and 1.50 % of LAMINEX BG2 treatment

Sample	Gelatinization temperature (°C)			Gelatinization enthalpy (J/g)
	Onset	Peak	Completion	
0.50 %	53.68 ± 0.17 ^{1)a2)}	58.03 ± 0.09 ^a	63.66 ± 0.17 ^a	3.14 ± 0.23 ^a
0.75 %	55.46 ± 0.50 ^b	59.21 ± 0.25 ^b	63.34 ± 0.20 ^a	2.82 ± 0.87 ^a
1.00 %	55.32 ± 0.07 ^b	59.02 ± 0.32 ^b	63.96 ± 0.72 ^a	2.62 ± 1.27 ^a
1.50 %	55.64 ± 0.06 ^b	59.22 ± 0.34 ^b	63.76 ± 0.25 ^a	3.15 ± 0.81 ^a

¹⁾Mean±S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

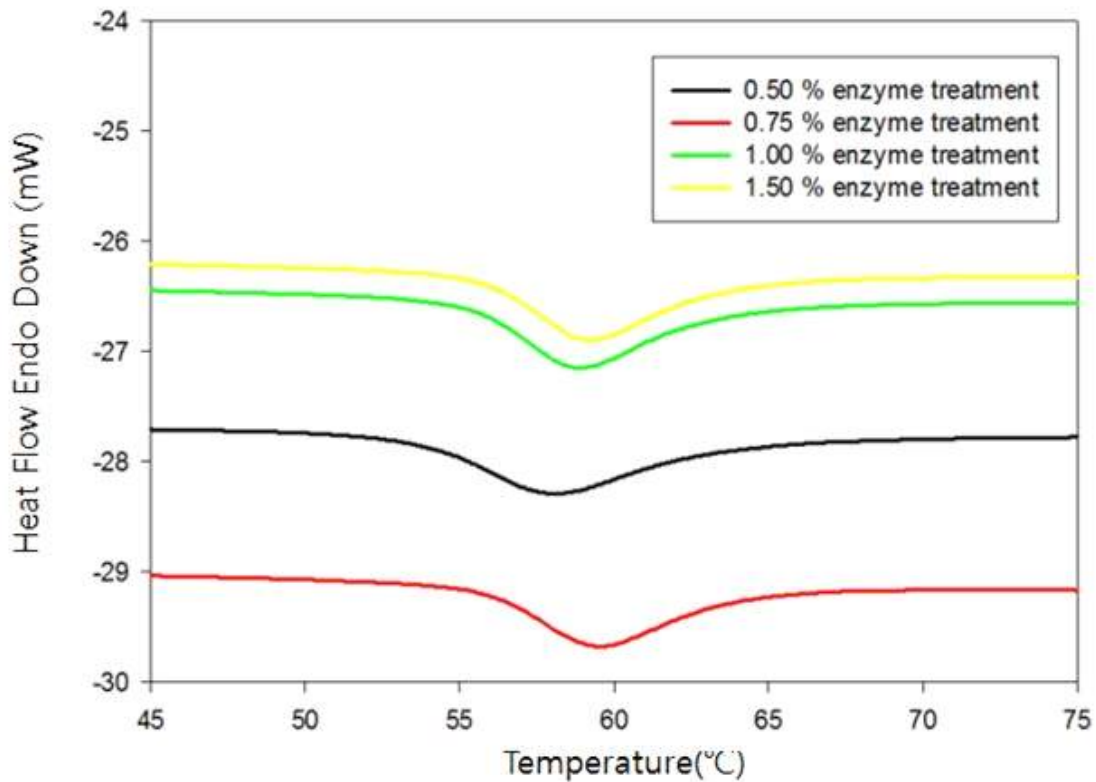


Figure 1-38. DSC of starch extracted from potatoes slush with 0.50%, 0.75%, 1.00%, and 1.50% of LAMINEX BG2 treatment.

사. 밀기울로부터 전분 추출 효율 증대 및 특성 확인

국내 밀가루 생산업체인 D사와 S사에서 밀기울을 제공받았으며, 제공받은 밀기울의 수분 함량, 조지방, 조단백, 조회분을 확인하였다(Table 1-23). 밀가루 제조업체에 따른 밀기울의 성분을 분석한 결과, D사의 밀기울에서 총 전분함량이 22.6%로 S사의 14.6%에 비해 전분함량이 더 높게 나타났다. 이는, 각 회사가 보유한 밀 제분 공정의 차이 및 기기의 차이에 의한 것으로 사료된다. 이 결과를 토대로 총 전분함량이 높은 D사의 이용하여 전분을 추출하였다.

Table 1-23. Properties of wheat bran

Properties	D사	S사	Method	
Moisture	11.5	7.5	Korean Food standards codex(2015) Drying method by heating in normal pressure	
Lipid	2.8	3.1	Korean Food standards codex(2015) Soxhlet extraction method	
Protein	14.6	14.7	Kjeldahl	
Ash	4.5	5.1	Korean Food standards codex(2015) 회분시험법	
Carbohydrate	Non-starch polysaccharide	34.3	46.7	Korean Food standards codex(2015) 탄수화물계산법
	Total starch	22.6	14.6	
	Resistant starch	9.7	8.3	

밀기울의 경우 Non-starch polysaccharide 계열과 Protein이 풍부하기 때문에, 췌미 전분 추출에 이용한 식용 Protease인 Protease BPN과 PSP 그리고 감자전분 추출에 사용한 식용 cellulase인 LAMINEX®BG2, Plantase TCL, RAPIDASE C80MAX, ROHAMENT CL, 그리고 Sumizyme AC 효소를 이용하여 부산물을 제거하고 starch yield를 비교했다. Protease 효소 처리는 다음 Table 1-24과 Figure 1-39에 나타나있다.

Table 1-24. Total starch of protease treated wheat bran

	Wheat bran	Enzyme treatment	
		Prozyme BPN	Prozyme PSP
Total starch (dry basis)	25.53	47.29 ± 8.85 ¹⁾	64.79 ± 9.14

¹⁾Mean ± S.D

수분을 제외한 건물 기준 밀기울의 총 전분함량은 25.53%이나, Protease효소를 처리했을 경우 Prozyme BPN은 $47.29 \pm 8.85\%$, Prozyme PSP는 $64.79 \pm 9.14\%$ 로 나왔다. 이를 통해 밀기울의 경우 쉐미에서 전분을 추출했을 때와는 달리 Prozyme PSP의 효율이 더 높은 것을 알 수 있다. 밀기울의 단백질 구성이 쌀과 다른 단백질 구성에 의하여 나타난 차이로 사료된다.

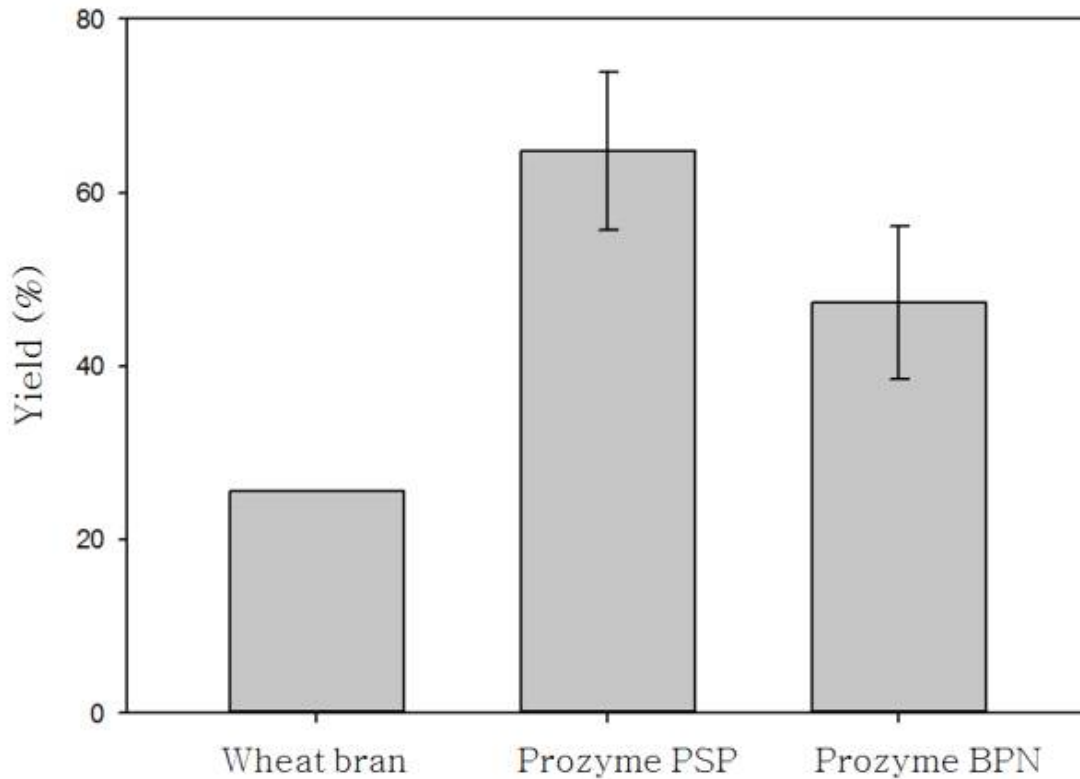


Figure 1-39. Total starch of wheat bran with proteases.

Table 1-25. Total starch of cellulase treated wheat bran

Wheat bran	Enzyme treatment					
	LAMINEX®BG2	Plantase TCL	RAPIDASE C80MAX	ROHAMENT CL	Sumizyme AC	
Total starch (dry basis)	25.53	$29.38 \pm 0.91^{1b2)}$	29.65 ± 5.48^b	23.68 ± 0.63^a	24.14 ± 1.13^a	28.41 ± 1.76^{ab}

¹⁾Mean \pm S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different ($p < 0.05$).

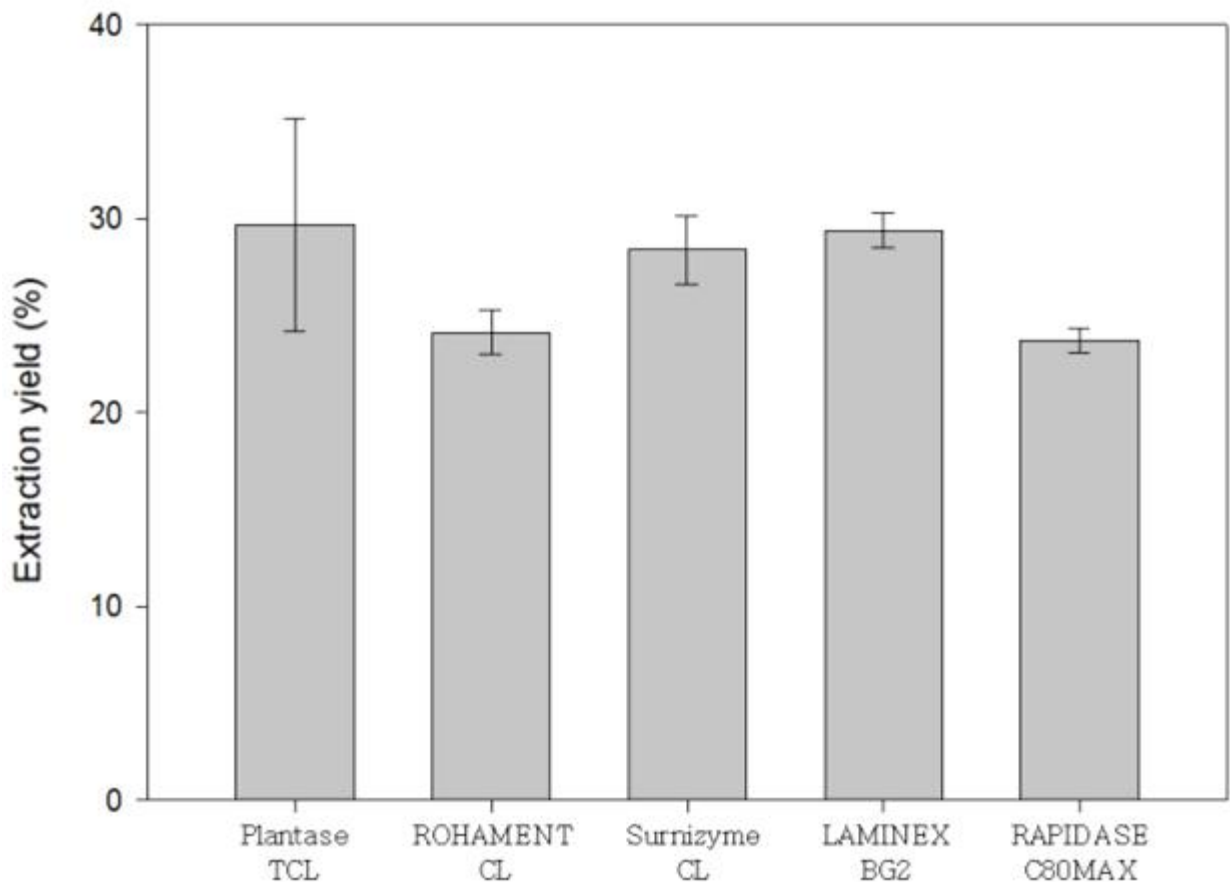


Figure 1-40. Total starch of wheat bran with cellulase.

다음으로 감자 전분 추출에 사용한 5가지 식용 cellulase를 처리할 경우 밀기울에서 총 전분함량이 어떻게 변화하는지 관찰하였다(Table 1-25, Figure 1-40). Protease 효소에 반응했을 때와는 달리 cellulase 효소를 처리했을 경우, 총 전분함량이 크게 증가 하지 않았다. 각 각의 효소들은 cellulase, pectinase, β -glucanase, β -glucosidase가 복합적으로 구성된 복합효소물이며 각 효소들은 곰팡이와 미생물에서 유래된 것을 사용하였다. 일부 cellulase의 반응 최적 온도가 70~80°C 이지만, 그 온도에서는 전분의 호화가 일어날 수 있으므로 호화가 일어나지 않는 40°C 에서 3시간동안 반응을 수행하였다. 또한 cellulase 효소들의 최적 pH는 산성이지만, pH에 의한 전분의 변형과 분해를 배제하기 위하여 중성인 조건(증류수)에서 효소반응을 수행하였다. 최적 온도와 pH에서 진행 된 protease효소들에 비해 cellulase들은 전분의 호화 및 변성 방지를 위해 최적 반응 조건에서 진행되지 않았기 때문에 protease에 비해 추출 효율이 낮은 것으로 사료된다. 총 5종의 cellulase 계열 효소 중, Plantase TCL 효소가 29.65 ± 5.48%로 가장 높은 밀기울 전분 추출 효율을 나타냈다. Plantase TCL 효소는 내산성 pectinase로서 각종 과일 주스 가공 시 청징제로 사용하는 효소이다. 다음으로 LAMINEX BG2가 29.38 ± 0.91%로 두 번째로 높게 나왔으며 이는 Plantase TCL과 유의적 차이가 없다. 이 효소는 cellulose 분해 능력이 뛰어난 *Trichoderma reesei* 유래 β -glucanases 계열의 효소이다. Endo-형태로 분해하며 cellulose와 xylan을 분해하여 glucose와 xylose를 생산하는 능력이 뛰어나 맥주발효에 사용되는 효소제이다.

아. 중심합성계획법을 통한 감자 전분 추출 최적화

감자전분은 감자를 마쇄, 여과, 침지, 세척 및 건조 등 일련의 과정에 따라 제조되며, 감자전분 특유의 특성으로 최근 식품산업에서 사용량이 증가하고 있으나, 추출수율이 낮고, 가격이 비싸 전분소재로서 활용이 제한된다. 본 연구를 통해 감자로부터 감자전분의 추출수율에 대한 효소적 추출법 요인들의 영향을 탐색하고, 효소적 추출법에 의해 제조된 감자전분의 물리화학적 특성들의 평가를 통해 상업화 가능성을 조사하였다. 감자 전분의 제조 도표는 다음과 같다(Figure 1-41). 저온당화현상에 의한 감자 내의 전분 함량의 감소를 최소화하기 위해 감자는 세척하여 2cm 두께로 세절하고 -20°C 보관한 냉동 감자를 이용하여서 위와 같은 도식대로 감자 전분을 추출하였다.

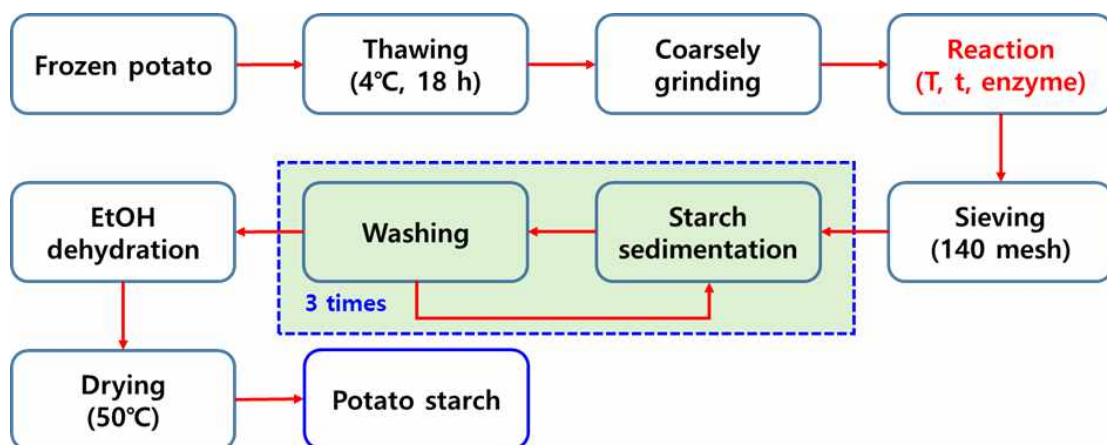


Figure 1-41. Schematic diagram for extraction of starch from frozen whole-tissues of potatoes using food-grade cellulase.

중심합성계획법을 실행하기 위해 효소적 추출의 요인들로 반응시간, 반응온도, 및 효소 사용량은 다음과 같이 설정하였다 (Table 1-26).

Table 1-26. Factors and levels for extraction of starches from frozen potatoes using food-grade cellulase

Factor	Level	
	Low actual (Low coded)	High actual (High coded)
A: Time (h)	8.0 (-1.000)	24.0 (1.000)
B: Temperature (°C)	15.0 (-1.000)	40.0 (1.000)
C: Cellulase loading (% , d.b)	0.5 (-1.000)	1.5 (1.000)

반응시간, 반응온도 및 효소사용량으로 각각 8-24 h, 15-40℃ 및 1.0-1.5 %의 범위에서 반응을 진행하였다. Table 1-26 과 같은 조건으로 중심합성계획법을 실행한 결과 총 20가지 실험 세트가 나왔으며, 각 실험세트를 진행해서 반응표면분석을 위한 특성치(반응)은 추출수율로 하였다(Table 1-27).

Table 1-27. Mean¹⁾ values for the yield of starch from frozen potato by cellulase, according to experimental points constructed by central composite rotatable design

Run	Time (h)	Temperature (°C)	Cellulase (% d.b)	Yield (% d.b)
1 (PST1)	16.0	27.5	1.0	70.4
2	16.0	27.5	1.0	83.1
3	16.0	27.5	1.0	70.9
4	16.0	27.5	0.2	45.2
5	8.0	15.0	1.5	38.7
6 (PST2)	8.0	40.0	1.5	88.9
7	24.0	40.0	1.5	63.6
8	16.0	27.5	1.0	69.0
9	8.0	40.0	0.5	53.4
10	24.0	40.0	0.5	67.4
11	16.0	27.5	1.0	71.7
12	24.0	15.0	0.5	54.6
13	29.5	27.5	1.0	67.6
14	16.0	27.5	1.0	69.8
15 (PST3)	24.0	15.0	1.5	69.4
16	16.0	6.5	1.0	28.2
17	16.0	27.5	1.8	73.1
18	16.0	48.5	1.0	68.7
19	2.5	27.5	1.0	12.6
20	8.0	15.0	0.5	23.9

¹⁾Mean value of three replicate measurements.

3가지 다른 조건하에서 감자 전분 추출 효율은 12.6 - 88.9 %의 범위에 있다 (Table 1-27). 겹치는 실험 조건들을 제외했을 경우 Run 1, Run 6, 그리고 Run 15의 전분 효율이 각각 70.4 %(d.b), 88.9 %, 그리고 69.4% 로 가장 높게 나왔다. 감자 전분 추출 수율이 가장 높은 3개의 효소반응조건들을 이용하여 특성을 비교분석 하였다. Run 1, Run 6, 그리고 Run 15를 선정하여 각각 PST1, PST2, 그리고 PST3를 명명하여 물리화학적 특성을 조사하였다. Table 1-27에 제시된 실험조건들에 따라 서로 다른 조건 처리시에 전분추출의 증감율을 이용하여 반응표면분석을 수행하였고, 분석된 ANOVA 표를 Table 1-28에 나타내었다.

Table 1-28. ANOVA (analysis of variance) for the effects of factors on the yield of starch from frozen potatoes

Source	SS ¹⁾	df ¹⁾	MS ¹⁾	F-value	Prob>F
Regression	6703.5	9	744.8	7.7	0.0019
A	1487.3	1	1487.3	15.3	0.0029
B	1757.0	1	1757.0	18.0	0.0017
C	861.5	1	861.5	8.8	0.0139
AB	661.3	1	661.3	6.8	0.0262
AC	192.0	1	192.0	2.0	0.1906
BC	0.6	1	0.6	0.0	0.9408
A ²	1276.4	1	1276.4	13.1	0.0047
B ²	602.0	1	602.0	6.2	0.0322
C ²	103.2	1	103.2	1.1	0.3276
Residual	973.6	10	97.4		
Lack of Fit	833.6	5	166.7	6.0	0.0362
Pure Error	140.0	5	28.0		
Corrected total	7677.1	19			
r ²	0.9702				

¹⁾SS, sum of squares; df, degree of freedom; MS, mean square. ²⁾The terms, A, B, and C, indicates time, temperature, and cellulase loading, respectively.

감자전분 추출수율 변동에 대한 반응표면곡선과 perturbation plot은 Figure 1-42로 나타났다. 감자 전분 추출 수율 변화율에 대한 효소의 반응시간과 반응온도의 상호작용을 고려하였을 때, 처리 온도에 상관없이 반응시간이 8 h에서 20h 로 증가할수록 추출수율이 증가하는 경향을 보인다. 다만, 반응 온도가 낮을 15°C 경우, 반응시간이 20 h에서 24 h 로 증가할수록 추출수율이 높지만, 40°C 에서는 반응시간이 20 h에서 24 h 로 증가할수록 오히려 전분 추출 수율이 줄어드는 것을 확인 할 수 있다.

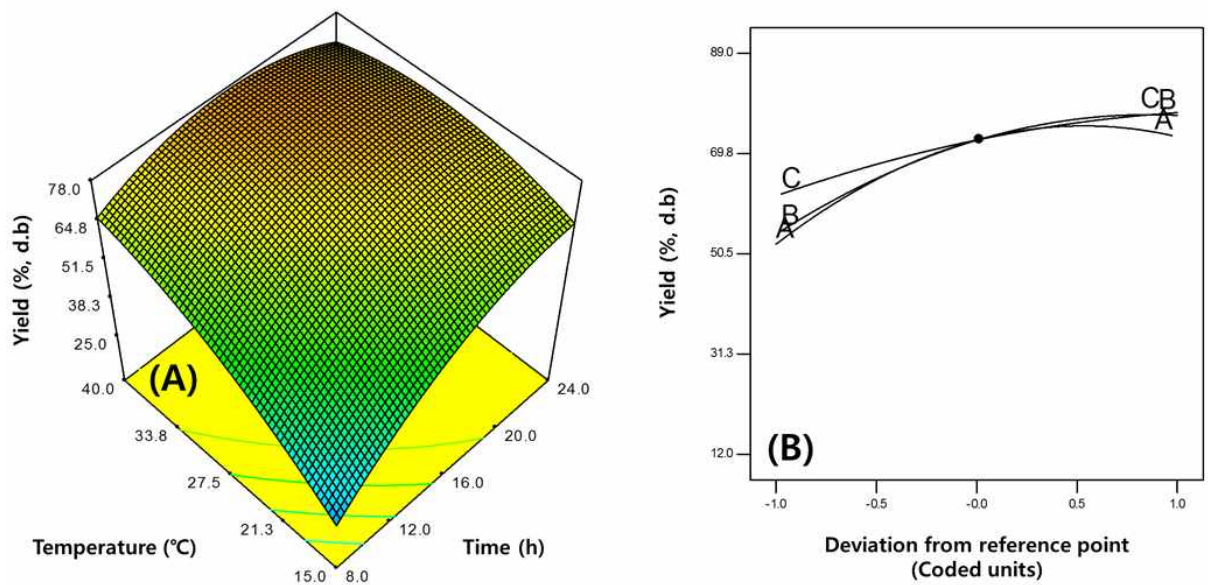


Figure 1-42. Response surface (A) and perturbation (B) plots describing the effects of the interactions between time and temperature on the yield of starches from frozen potatoes by food-grade cellulase.

추출된 감자 전분 PST1, PST2, PST3와 기존의 방법으로 추출한 감자전분 대조군(control)의 물리화학적 특성을 확인해보았다. 우선 감자전분의 표면을 SEM을 통해 확인해보았다 (Figure 1-43).

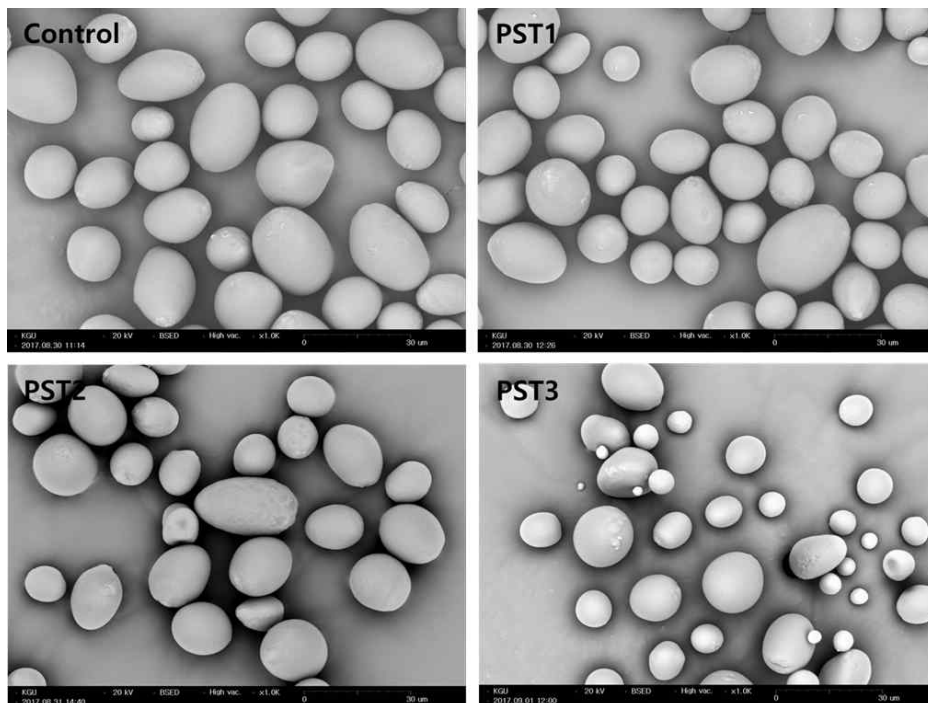


Figure 1-43. SEM images of potato starches extracted using food-grade cellulase from frozen potatoes (scale bar = 30 μ m).

추출된 감자 전분의 SEM image를 확인해 본 결과, Control 뿐만 아니라 PST1, PST2, 그리고 PST3 모두 둥근 타원형의 표면이 매끈한 전분 구조를 가지고 있는 것을 확인 할 수 있다. 감자 전분의 경우 고구마 등의 서류전분과 마찬가지로 표면이 매끈하고 타원형의 결정구조를 보이고 있다. 효소 반응시간, 반응온도 및 효소 농도에 상관없이 모두 일정한 표면 구조를 가지고 있는 것으로 보아, 위의 3 조건이 전분 구조 파괴에 큰 영향을 미치지 않는 것을 예측할 수 있었다(Figure 1-43).

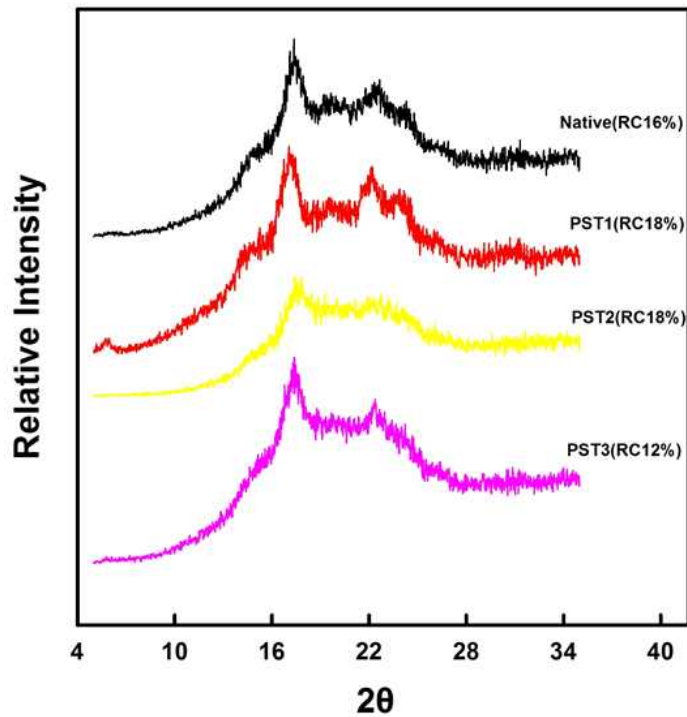


Figure 1-44. XRD patterns and relative crystallinities of potato starches extracted using food-grade cellulase from frozen potatoes.

다음으로 각각의 전분 샘플들의 결정구조를 알아보기 위해 X-선 회절패턴 (XRD)을 진행하였다(Figure 1-44). X-선 회절도는 전분의 결정 상태를 측정하기 위해 이용되는 방법으로, 전분의 결정 형태에 따라 A, B, C, V type으로 구분 될 수 있다. 감자 전분의 경우 전형적인 B type의 결정구조를 가지고 있는 전분으로써, 회절각도(2θ) 17° 부근에서 강한 피크와 6.5° , 20° , 22° 에서 작은 피크가 나타난다. Figure 1-44에서 확인 할 수 있듯이 Native 전분뿐만 아니라 PST1, PST2, PST3 모두 17° 부근에서 강한 피크를 확인할 수 있으며, 모두 비슷한 XRD 패턴을 보이는 것으로 보아, 4가지 전분 샘플 모두 전형적인 B type의 결정구조를 보이는 것을 알 수 있다. 이를 통해 효소 반응시간, 반응온도 및 효소 농도의 변화가 전분의 결정구조를 바꾸는데 영향을 미치지 못하는 것을 알 수 있다.

Table 1-29. Recovery and purity of potato starches extracted using food-grade cellulase from frozen potatoes

Potato starch	Recovery (%)	Purity (%)
Control	42.8±0.0	-
PST1	115.1±1.6	93.2±2.0
PST2	145.3±5.6	93.6±0.0
PST3	113.4±3.9	97.6±0.0

다음으로 감자 전분의 회수율과 순도를 확인해보았다(Table 1-29). 기존의 방법으로 동결 감자를 해동하고 마쇄, 여과, 침지, 세척, 건조를 통해 전분을 만들었을 경우 감자 전분의 회수율은 42.8±0.0% 로 비교적 낮게 나왔다. 하지만 효소를 이용하여 전분을 추출했을 경우 PST1, PST2, PST3 각각 115.1±1.6%, 145.3±5.6%, 113.4±3.9%로 control 보다 2~3배 이상 높게 나오는 것을 확인 할 수 있었다. 감자 전분의 순도 또한 PST1, PST2, PST3 각각 93.2±2.0%, 93.6±0.0%, 97.6±0.0%로 모두 90% 이상의 높은 순도를 가진 것을 확인할 수 있었다. 회수율을 비교했을 경우 PST2가 가장 효율적인 전분 추출법이지만, 전분의 순도의 경우 PST3가 가장 높게 나온 것을 확인 할 수 있었다.

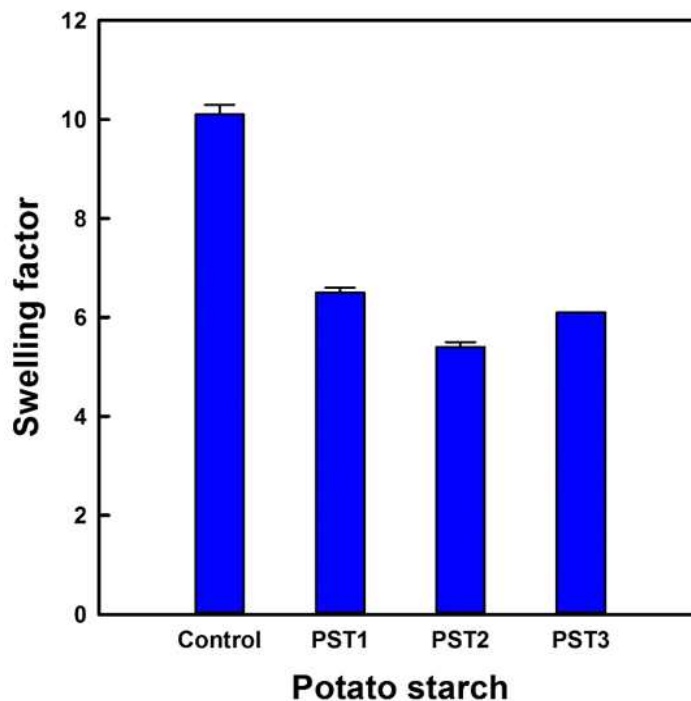


Figure 1-45. Swelling factor of potato starches extracted using food-grade cellulase from frozen potatoes.

다음으로 각각의 감자 전분들의 swelling factor를 확인해 보았다(Figure 1-45). Swelling factor를 확인해 본 결과 기존의 방법으로 추출한 감자 전분 control의 경우 swelling factor가 가장 높게 나왔으며 다음으로 PST1, PST3, PST2 순으로 나왔다. PST1, PST2, PST3 사이에는 유의적 차이가 있기는 하지만, control과 비교했을 때, 그 차이가 크지 않았다.

Table 1-30. Gelatinization properties of potato starches extracted using food-grade cellulase from frozen potatoes

Potato starch	Gelatinization temperature (°C)			Gelatinization enthalpy (J/g)
	T _o	T _p	T _c	
Control	62.9±0.1	65.6±0.2	71.2±0.4	16.9±1.5
PST1	62.6±0.1	65.8±0.1	71.5±0.0	13.9±1.2
PST2	62.8±0.3	65.8±0.2	71.1±0.1	16.9±1.0
PST3	62.3±0.4	65.3±0.3	71.7±0.5	13.3±0.2

*T_o, T_p, and T_c referred to gelatinization onset, peak, and completion temperatures, respectively.

다음으로 감자 전분들의 gelatinization 특성들을 확인하였다(Table 1-30). Gelatinization 특성을 확인했을 때 control sample과 PST2의 gelatinization enthalpy 가 16.9±1.5, 그리고 16.9±1.0로 비슷하게 나왔다. 하지만 PST1과 PST3는 13.9±1.2과 13.3±0.2로 두 값끼리는 유의적 차이가 나타나지 않았다. 이에 반해 control과 PST2 값과는 유의적 차이를 보이는 것을 확인 할 수 있었다. Control, PST1, PST2, PST3 모두 onset temperature, peak temperature, 그리고 completion temperature 간의 유의적 차이가 없이 모두 비슷한 경향을 보이는 것을 확인 할 수 있다.

다음으로 RVA를 통해 Pasting viscosity 특성을 확인해보았다(Figure 1-46, Table 1-31). RVA를 통해 viscosity 의 변화를 확인해본 결과, Pasting temperature의 경우 control은 71.6±0.5°C로 나왔으나, PST1, PST2, 그리고 PST3 모두 각각 74.7±0.4°C, 77.6±0.8°C, 그리고 75.9±0.7°C로 기존의 control보다 증가한 것을 확인 할 수 있었다. 전분의 pasting viscosity의 경우 기존의 감자전분 control과 완전히 다른 양상이 일어나는 것을 확인 할 수 있었으며 final viscosity의 경우에도 기존의 control의 경우 3039.5±34.5 mPa·s였으나, PST1, PST2, PST3은 각각 3900.5±29.5, 4007.0±66.0, 그리고 4511.5±52.5 mPa·s로 증가하는 것을 확인 할 수 있었다.

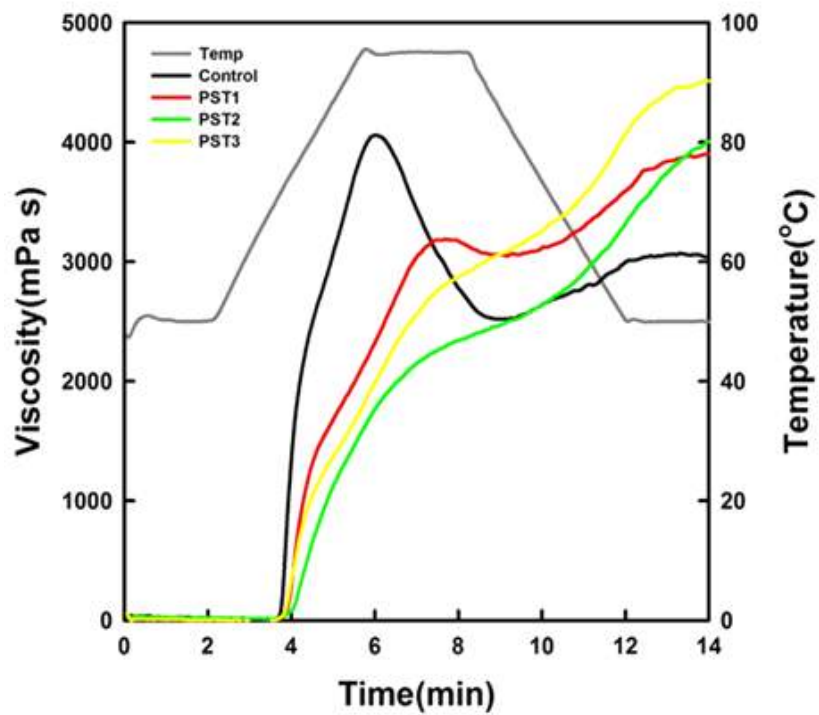


Figure 1-46. Pasting viscosity profiles of potato starches extracted using food-grade cellulase from frozen potatoes.

Table 1-31. Pasting viscosity characteristics of potato starches extracted using food-grade cellulase from frozen potatoes

Potato starch	T_p ¹⁾ (°C)	Pasting viscosity (mPa · s)				
		Peak	Trough	Breakdown	Final	Setback
Control	71.6 (0.5) ²⁾	4062.0 (9.0)	2515.5 (13.5)	1546.5 (4.5)	3039.5 (34.5)	524.0 (48.0)
PST1	74.7 (0.4)	3187.0 (20.0)	3071.0 (3.0)	116.0 (17.0)	3900.5 (29.5)	829.5 (32.5)
PST2	77.6 (0.8)	4007.0 (66.0)	- ³⁾	-	4007.0 (66.0)	-
PST3	75.9 (0.7)	4513.5 (50.5)	-	-	4511.5 (52.5)	-

¹⁾Pasting temperature, ²⁾The numbers in parentheses indicate the standard deviation, ³⁾Not detected.

자. 변형된 2³ 요인설계법을 통한 고구마 전분 추출 최적화

고구마전분은 고구마를 마쇄, 여과, 침지, 세척 및 건조 등 일련의 과정에 따라 제조되나, 추출수율이 낮고, 가격이 높아 상업적인 전분소재로서 활용이 제한된다. 본 연구를 통해 고구마로부터 고구마전분의 추출수율에 대한 효소적 추출법 요인들의 영향을 탐색하고, 효소적 추출법에 의해 제조된 고구마전분의 물리화학적 특성들의 평가를 통해 상업화 가능성을 조사했다. 고구마 전분 제조 공정은 다음과 같다(Figure 1-47). 저온당화현상에 의한 고구마 내의 전분 함량의 감소를 최소화하기 위해 고구마는 세척하여 2cm 두께로 세절하고 -20°C 보관한 냉동 고구마를 이용하여서 위와 같은 도식대로 고구마 전분을 추출하였다.

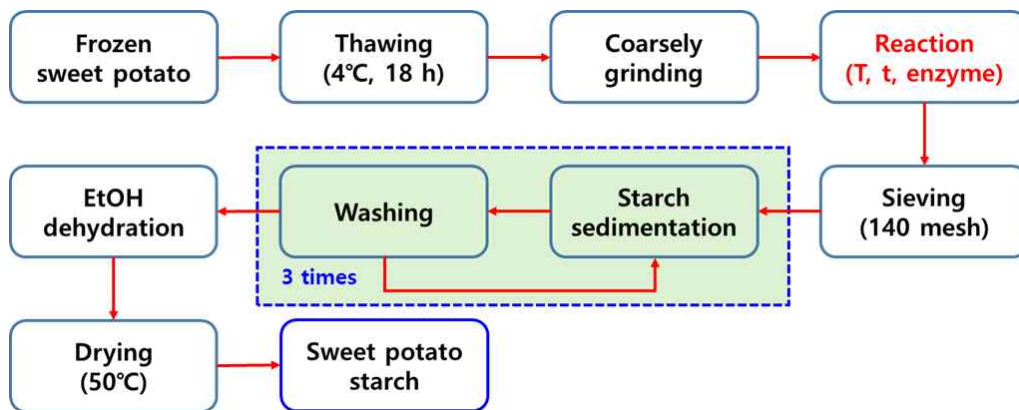


Figure 1-47. Schematic diagram for extraction of starch from frozen whole-tissues of sweet potato using food-grade cellulase.

Table 1-32. Factors and levels for extraction of starches from frozen sweet potato using food-grade cellulase

Factor	Level	
	Low actual (Low coded)	High actual (High coded)
A: Time (h)	3.0 (-1.000)	6.0 (1.000)
B: Temperature (°C)	15.0 (-1.000)	40.0 (1.000)
C: Cellulase loading (% , d.b)	1.0 (-1.000)	3.0 (1.000)

변형된 2³ 요인설계법을 실행하기 위해 효소적 추출의 요인들로 반응시간, 반응온도, 및 효소 사용량은 다음과 같이 설정하였다(Table 1-32). 반응시간, 반응온도 및 효소사용량으로 각각 3-6 h, 15-40°C 및 1.0-1.5 %의 범위에서 반응을 진행하였다. Table 1-32 와 같은 조건으로 중심합성계획법을 실행한 결과 총 21가지 실험 세트가 나왔으며, 각 실험세트를 진행해서 반응표면분석을 위한 측정치는 추출수율과 회수율로 하였다(Table 1-33).

Table 1-33. Mean¹⁾ values for the yield and recovery of starch from frozen sweet potato by cellulose, according to experimental points constructed by modified 2³ factorial design

Run	Time (h)	Temperature (°C)	Cellulase (% d.b)	Yield (% d.b)	Recovery (%)
1	3	15	3	39.2	58.3
2	3	40	1	42.7	63.5
3	3	40	3	52.0	77.5
4	3	40	1	42.3	63.3
5	6	40	1	36.4	54.2
6	6	40	1	34.7	51.7
7	6	40	3	41.1	61.2
8	6	15	3	55.3	82.4
9	3	40	3	49.1	73.1
10	6	40	3	43.5	64.8
11	6	15	1	43.2	64.3
12	6	15	1	41.5	61.9
13	3	15	1	45.6	69.2
14	4.5	27.5	2	44.7	71.8
15	4.5	27.5	2	43.3	71.8
16	6	15	3	54.3	80.9
17	4.5	27.5	2	44.0	65.6
18	4.5	27.5	2	44.2	71.7
19	3	15	3	38.5	57.4
20	4.5	27.5	2	42.3	69.7
21	3	15	1	44.7	67.9

¹⁾Mean value of three replicate measurements.

고구마로부터 전분의 추출수율이 40% (d.b) 이상이고, 회수율이 70% 이상인 효소반응조건들을 이용하여 추출된 고구마전분들을 선별하고, 이들의 용해도 및 팽윤력, 호화 특성과 페이스팅 점도 특성을 분석하였다. 또한 동일한 고구마를 이용하여 기존의 방법에 따라 추출된 고구마전분을 대조군으로 하였다. 선별된 고구마전분들은 반응시간, 반응온도, 효소 사용량이 각각 3 h, 40°C, 3.0 %(d.b)에서(SPS1), 4.5 h, 27.5°C, 2.0 %(d.b)에서(SPS2), 6 h, 15°C, 3.0 %(d.b)에서(SPS3) 추출한 것들이었다. Table 1-33에 제시된 실험조건들에 따라 서로 다른 조건 처리시에 전분추출의 증감율을 이용하여 반응표면분석을 수행하였고, ANOVA 표를 Table 1-34에 나타내었다.

Table 1-34. Significance of the regression models (F values) and the effects of factors on the yield and recovery of starch from frozen sweet potatoes

Source	F-value	
	Yield	Recovery
Regression	61.9** ¹⁾	38.0**
A ²⁾	0.8	1.1
B	21.4**	15.1**
C	89.8**	49.6**
AB	163.0**	93.9**
AC	61.2**	41.7**
BC	15.1**	10.9**
ABC	81.9**	53.8**
Curvature	0.3	16.2**
r ²	0.9730	0.9569

¹⁾*; p<0.05, **; p<0.01. ²⁾The terms, A, B, and C, indicates time, temperature, and cellulase loading, respectively.

고구마전분 추출수율 변동에 대한 반응표면곡선을 Figure 1-48에 나타내었다. 고구마 전분 추출 수율 변화율에 대한 효소의 반응시간과 반응온도의 상호작용을 고려하였을 때, 반응시간이 짧을 때 (3h)는 반응온도가 15℃에서 40℃로 증가할수록 전분추출효율이 높아지는 것으로 나타나지만, 반대로 반응시간이 긴 경우에는 (6h) 반응온도가 15℃에서 40℃로 증가할수록 전분추출효율이 낮아지는 것을 확인할 수 있다. 이는 효소의 열안정성에 의한 것으로 예상된다. 두 번째로 cellulase 투입 농도와 시간과의 상관관계를 확인하였다. cellulase 투입량이 1.0 %로 적을 경우 반응시간이 짧을수록 전분추출 효율이 높은 지만, 반대로 효소 투입량이 3.0 % 많을 경우 반응시간이 길수록 전분추출 효율이 높아지는 반대의 경향을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 마지막으로 cellulase 농도와 온도의 상호간의 영향력을 확인하였다. cellulase 농도에 상관없이 온도가 40℃에서 15℃로 낮아질수록 전분추출효율이 증가하였으며, cellulase 농도가 높아질수록 전분추출효율 증가폭은 감소하는 것을 알 수 가 있다.

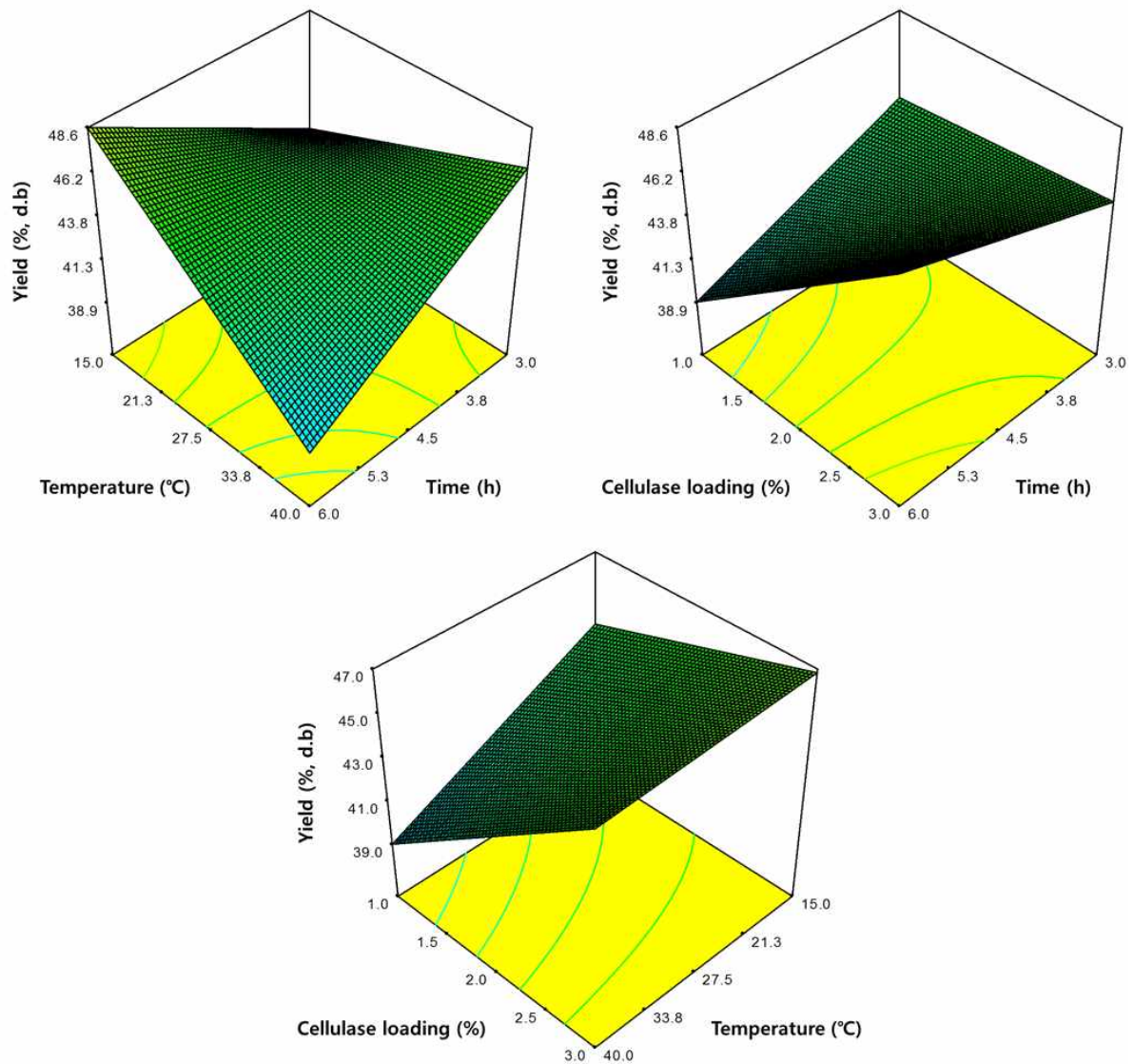


Figure 1-48. Response surface plots describing the effects of the interactions among time, temperature, and cellulose loading on the yield of starches from frozen sweet potatoes by food-grade cellulase.

고구마전분회수율 변동에 대한 반응표면곡선을 Figure 1-49에 나타내었다. Cellulase 반응 온도와 반응시간간의 상관관계를 확인해본 결과, 전분추출효율때와 비슷한 양상으로 반응시간이 짧을 때 (3h)는 반응온도가 15°C 에서 40°C 로 증가할수록 전분 회수율이 높아지는 것으로 나타나지만, 반대로 반응시간이 긴 경우에는 (6h) 반응온도가 15°C 에서 40°C 로 증가할수록 전분 회수율이 낮아지는 것을 확인할 수 있다. 마찬가지로 효소투여량과 효소반응시간의 상호작용을 알아본 결과 전분 추출효율과 비슷하게 cellulase 주입량이 1.0 %로 적을 경우 반응시간이 짧을수록 전분 회수율이 높은 지만, 반대로 효소 투입량이 3.0 % 많을 경우 반응시간이 길수록 전분 회수율이 높아지는 반대의 경향을 보였다.

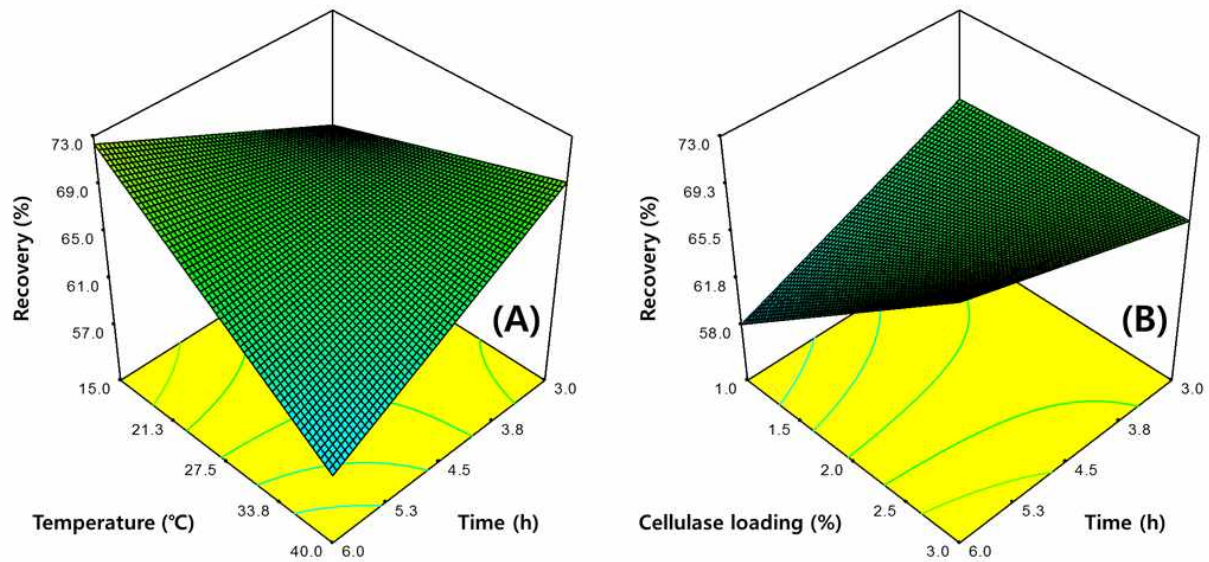


Figure 1-49. Response surface plots describing the effects of the interaction between time and temperature (A) and between time and cellulose loading (B) on the recovery of starches from frozen sweet potatoes by food-grade cellulase.

온도와 cellulase 농도에 따른 고구마전분회수율 변동에 대한 반응표면곡선을 Figure 1-50에 나타내었다. Cellulase 농도와 온도의 상호간의 영향력을 확인하였다. cellulase 농도에 상관없이 온도가 40°C에서 15°C로 낮아질수록 전분 회수율이 증가하였으며, cellulase 농도가 높아질수록 전분 회수율 증가폭은 감소하는 것을 알 수 가 있다.

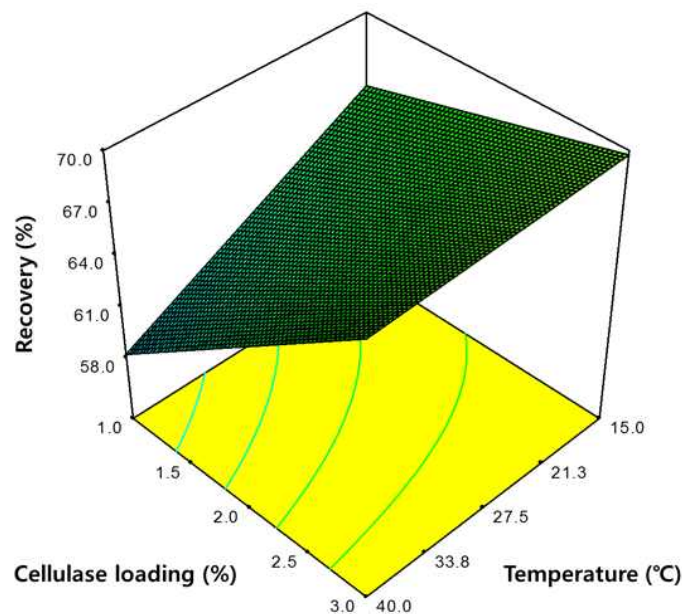


Figure 1-50. Response surface plots describing the effects of the interaction between temperature and cellulose loading on the recovery of starches from frozen sweet potatoes by food-grade cellulase.

다음으로 고구마전분 control과 SPS1, SPS2, 그리고 SPS3 샘플의 solubility와 swelling power를 측정하였다(Table 1-35). SPS2와 SPS3의 solubility는 각각 35.4 ± 0.9 와 34.1 ± 1.0 로 유의적 차이를 보이지 않았으며, 기존 고구마 control 전분의 solubility인 25.1 ± 0.7 보다 높았다. 그리고 SPS1 샘플의 solubility는 가장 낮은 24.2 ± 0.1 값을 보이는 것으로 나타났다. 마찬가지로 swelling power의 경우에도 SPS2와, SPS3는 유의적 차이를 보이지 않으며 각각 24.5 ± 0.8 와 24.5 ± 1.0 로 비교적 높게 나왔으며, Control과 SPS1의 샘플은 유의적 차이를 보이지 않으나 22.8 ± 0.1 와 22.3 ± 1.0 로 비교적 낮게 나왔다.

Table 1-35. Solubility and swelling power of sweet potato starches

Sweet potato starch	Solubility (%, d.b)	Swelling power (g/g)
Control	25.1 ± 0.7^b	22.8 ± 0.1^b
SPS1	24.2 ± 0.1^c	22.3 ± 1.0^b
SPS2	35.4 ± 0.9^a	24.5 ± 0.8^a
SPS3	34.1 ± 1.0^a	24.5 ± 1.0^a

*Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different ($p < 0.05$).

다음으로 DSC를 통해 고구마전분 control과 SPS1, SPS2, 그리고 SPS3 샘플의 gelatinization 특징을 확인하였다(Table 1-36). 용융엔탈피의 경우 Control, SPS1, SPS2, SPS3 각각 15.3 ± 0.9 , 17.8 ± 0.6 , 15.1 ± 0.1 , 14.2 ± 0.3 값으로 SPS1이 가장 높게 나타났다. Control과 SPS2 샘플간의 유의적 차이가 없고, SPS3가 가장 낮은 것을 알 수 있다.

Table 1-36. Gelatinization temperature and enthalpy of sweet potato starches

Sweet potato starch	Gelatinization temperature (°C)			Gelatinization enthalpy (J/g)
	T _o	T _p	T _c	
Control	57.8 ± 0.4^b	65.2 ± 0.2^b	75.9 ± 0.0^b	15.3 ± 0.9^b
SPS1	56.5 ± 0.6^c	65.2 ± 0.2^b	77.4 ± 0.2^a	17.8 ± 0.6^a
SPS2	55.7 ± 0.5^c	64.7 ± 0.1^c	75.4 ± 0.0^c	15.1 ± 0.1^b
SPS3	58.7 ± 0.2^a	66.1 ± 0.4^a	75.8 ± 0.2^b	14.2 ± 0.3^b

*T_o, T_p, and T_c referred to gelatinization onset, peak, and completion temperatures, respectively. *Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different ($p < 0.05$).

RVA를 통해 고구마 전분의 Pasting viscosity 특성을 확인해보았다(Figure 1-51, Table 1-37). 감자와 달리 고구마의 경우 서로 다른 조건에서 cellulase를 처리하더라도, pasting viscosity의 경향은 매우 유사한 것을 확인할 수 있었다. 다만, 전체적으로 viscosity의 값이 Control, SPS2, SPS1, SPS3 순으로 점차 작아지는 경향을 보인다.

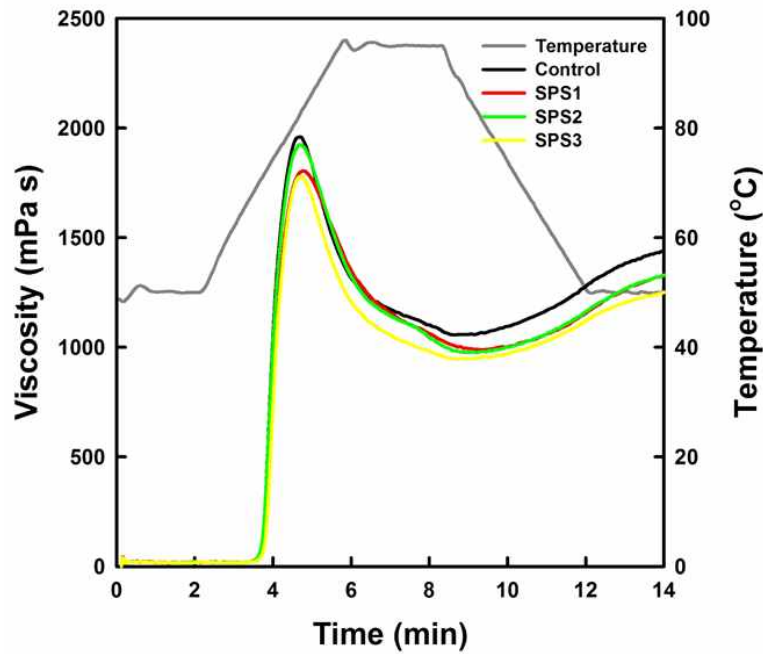


Figure 1-51. Pasting viscosity profiles of sweet potato starches.

Table 1-37. GPasting viscosity characteristics of sweet potato starches

sweet Potato starch	T_p ¹⁾ (°C)	Pasting viscosity (mPa · s)				
		Peak	Trough	Breakdown	Final	Setback
Control	69.5 ^b (0.0) ²⁾	1959.0 ^a (29.7)	1055.5 ^a (19.1)	903.5 ^b (10.6)	1436.5 ^a (20.5)	381.0 ^a (1.4)
SPS1	70.4 ^a (0.0)	1805.0 ^b (28.3)	987.0 ^b (33.9)	818.0 ^c (5.7)	1325.5 ^b (27.6)	338.5 ^c (6.4)
SPS2	69.5 ^b (0.0)	1923.0 ^a (38.2)	974.5 ^b (6.4)	948.5 ^a (31.8)	1329.5 ^b (16.3)	355.0 ^b (9.9)
SPS3	70.4 ^a (0.0)	1778.5 ^c (6.4)	943.5 ^b (50.2)	835.0 ^c (43.8)	1250.0 ^c (33.9)	306.5 ^d (16.3)

¹⁾Pasting temperature, ²⁾The numbers in parentheses indicate the standard deviation, ³⁾Not detected. *Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

감자와 달리 고구마의 경우 서로 다른 조건에서 cellulase를 처리하더라도, pasting viscosity의 경향은 매우 유사한 것을 확인할 수 있었다. Pasting temperature의 경우 Control과 SPS2가 각각 $69.5 \pm 0.0^\circ\text{C}$ 와 $69.5 \pm 0.0^\circ\text{C}$ 로 유의적 차이가 없었다. SPS1과 SPS3 샘플의 경우 둘 다 $70.4 \pm 0.0^\circ\text{C}$ 로 차이 없으며, Control과 SPS2 샘플보다 비교적 높게 나왔다. Peak에서 pasting viscosity의 경우 Control, SPS2, SPS1, SPS3 각각 1959.0 ± 29.7 , 1923.0 ± 38.2 , 1805.0 ± 28.3 , 그리고 1778.5 ± 6.4 순으로 점차 감소하는 경향을 보였다. 이와 마찬가지로 Trough viscosity, Final viscosity 모두 Control, SPS2, SPS1, SPS3 순으로 감소하는 경향을 보였으나, Breakdown에서만 유일하게 SPS2, Control, SPS1, SPS3 순으로 감소하는 다른 경향을 보였다.

차. 변형된 2³ 요인설계법을 통한 쌀 전분 추출 최적화

쌀전분은 알칼리침지법을 이용하여 쌀이나 쌀가루로부터 추출 및 정제되나, 쌀전분의 추출·정제에 장시간이 요구되고, 과량의 염을 발생시키는 문제점들이 있다. 본 연구를 통해 쌀가루로부터 쌀전분의 추출수율에 대한 효소적 추출법 요인들의 영향을 탐색하고, 효소적 추출법에 의해 제조된 쌀전분의 물리화학적 특성들의 평가를 통해 상업화 가능성을 조사하였다. 멥쌀의 전처리 공정은 Figure 1-52와 같다. 멥쌀은 전분이 받는 손상을 최소화하기 위해 습식 제분한 후 -20°C 에서 냉동저장하면서 본 연구의 재료로 사용하였고, 단백질분해효소는 식품첨가물등급의 것을 이용하였다. 전처리를 통해 만들어진 동결된 쌀의 멥쌀 전분의 제조 공정은 다음과 같다(Figure 1-53).

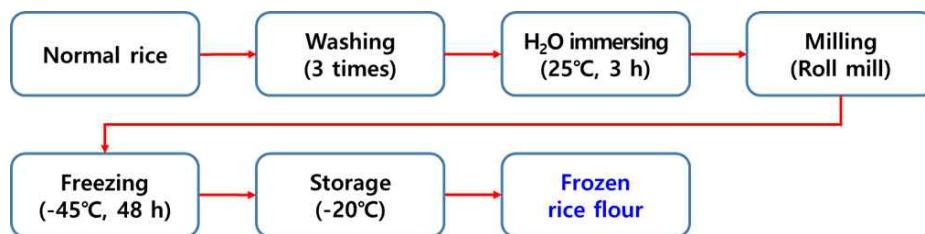


Figure 1-52. Schematic diagram for preparation of frozen rice flour from normal rice.

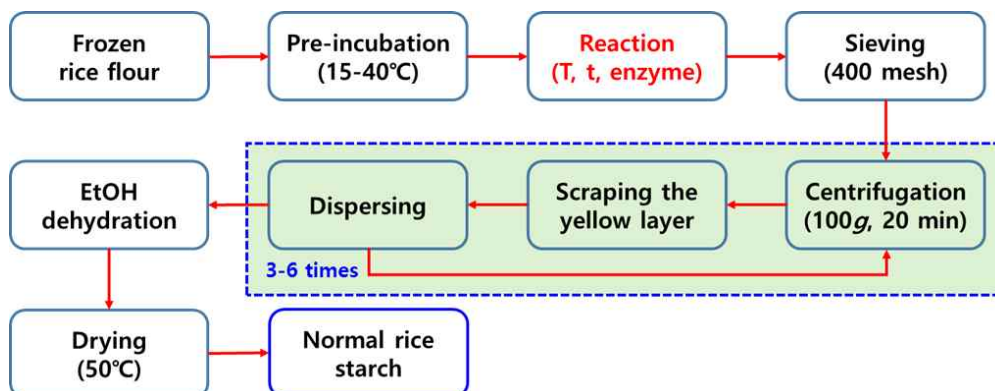


Figure 1-53. Schematic diagram for preparation of starch from frozen rice flour using food-grade protease.

중심합성계획법을 실행하기 위해 효소적 추출의 요인들로 반응시간, 반응온도, 및 효소 사용량은 다음과 같이 설정하였다(Table 1-38). 반응시간, 반응온도 및 효소사용량으로 각각 8-24 h, 15-40°C 및 0.5-1.5 %의 범위에서 반응을 진행하였다. Table 1-38 와 같은 조건으로 중심합성계획법을 실행한 결과 총 21가지 실험 세트가 나왔으며, 각 실험세트를 진행해서 반응표면분석을 위한 특성치(반응)은 추출수율로 하였다(Table 1-39).

Table 1-38. Factors and levels for extraction of starches from frozen rice flour using food-grade protease

Factor	Level	
	Low actual (Low coded)	High actual (High coded)
A: Time (h)	8.0 (-1.000)	24.0 (1.000)
B: Temperature (°C)	15.0 (-1.000)	40.0 (1.000)
C: Protease loading (% , d.b)	0.5 (-1.000)	1.5 (1.000)

설계된 추출 조건에 따라 제조된 쌀 전분들 중 추출수율이 50 %(d.b) 이상인 쌀전분들을 선별하여 아밀로오스 함량, 용해도 및 팽윤력, 호화 특성과 페이스팅 점도 특성을 분석하였다. 또한 동일한 쌀가루로부터 알칼리 침지법에 의한 추출·정제된 쌀전분을 대조군으로 하였다. 선별된 쌀전분들은 반응시간, 반응온도, 효소사용량이 각각 8 h, 15°C, 0.5 %(d.b)에서(RST1), 24 h, 15°C, 1.5 %(d.b)에서(RST2), 24 h, 15°C, 0.5 %(d.b)에서(RST3) 추출한 것들이었다. Table 1-39에 제시된 실험조건들에 따라 서로 다른 조건 처리시에 전분추출의 증감율을 이용하여 반응표면분석을 수행하였고, ANOVA 표를 Table 1-40에 나타내었다.

쌀전분 추출수율 변동에 대한 반응표면곡선과 perturbation plot을 Figure 1-48에 나타내었다. 쌀 전분 추출 수율 변화율에 대한 효소의 반응시간과 반응온도의 상호작용을 고려하였을 때, 반응온도가 15°C 낮을 경우 반응시간이 8 h에서 24 h로 증가할수록 전분 추출효율이 증가하지만, 반응온도가 40°C로 높은 경우 반응시간이 8 h에서 24 h로 증가할수록 오히려 추출효율이 감소하는 것을 알 수 있다. 두 번째로 protease 투입량과, 반응시간의 상호작용을 확인해보았다. 반응시간이 8 h 로 작을 경우 protease 양이 0.5 %에서 1.5 %로 증가할수록 점차 전분추출효율이 감소하지만, 이와 달리 반응시간이 24h로 길 경우 protease 농도가 전분추출효율변화에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 마지막으로 protease 투여량과, 반응온도간의 상관관계를 확인해보았다. 반응 온도가 15°C로 낮을 때는 protease 농도가 0.5 %에서 1.5 %로 증가할 때 오히려 전분추출 효율이 감소하는 경향을 보인다. 하지만 반응 온도가 40°C일 경우에는 protease 농도에 따라 전분추출효율에 큰 차이를 보이지 않는다. 전반적으로 반응온도가 높아질수록 전분추출효율이 감소하는데, 이는 protease의 열안정성이 낮아서 일어나는 결과로 예상된다.

Table 1-39. Mean¹⁾ values for the yield of starch from rice flour by protease, according to experimental points constructed by modified 2³ factorial design

Run	Time (h)	Temperature (°C)	Protease (% d.b)	Yield (% d.b)
1	16	27.5	1	45.2
2	24	40	0.5	42.7
3	8	40	0.5	44.3
4	24	15	0.5	51.6
5	24	40	1.5	43.3
6	16	27.5	1	47.2
7	24	40	1.5	43.5
8	8	15	0.5	52.9
9	16	27.5	1	46.5
10	8	40	1.5	45.9
11	24	15	1.5	50.8
12	24	40	0.5	41.8
13	24	15	0.5	50.2
14	16	27.5	1	46.9
15	8	15	0.5	52.5
16	8	15	1.5	46.4
17	24	15	1.5	50.5
18	8	40	1.5	44.9
19	8	15	1.5	47.3
20	8	40	0.5	44.8
21	16	27.5	1	45.2

¹⁾Mean value of three replicate measurements.

Table 1-40. Significance of the regression models (F values) and the effects of factors on the yield and recovery of starch from frozen rice flour

Source	SS ¹⁾	df ¹⁾	MS ¹⁾	F-value	Prob>F
Regression	208.7	7	29.8	55.8	<0.0001
A ²⁾	1.2	1	1.2	2.3	0.1526
B	161.8	1	161.8	302.9	<0.0001
C	4.1	1	4.1	7.6	0.0173
AB	9.8	1	9.8	18.4	0.0011
AC	8.6	1	8.6	16.1	0.0017
BC	16.3	1	16.3	30.6	0.0001
ABC	6.9	1	6.9	12.9	0.0037
Curvature	3.1	1	3.1	5.7	0.0341
Pure error	6.4	12	0.5		
Corrected total	218.2	20			
r ²	0.9702				

¹⁾SS, sum of squares; df, degree of freedom; MS, mean square. ²⁾The terms, A, B, and C, indicates time, temperature, and protease loading, respectively.

다음으로 추출 전분의 순도와 apparent amylose 함량을 측정하였다. 전분의 순도를 확인한 결과 RST1, RST2, RST3 각각 102.5 ± 0.0 , 102.9 ± 0.0 , 100.9 ± 0.0 로 기존의 알칼리 침출법으로 추출한 전분에 비해 전분의 순도가 높은 것을 확인할 수 있었다. 이를 통해 효소를 통해 전분을 추출할 경우 기존의 알칼리 침출법보다 순도 높은 전분을 얻을 수 있다는 것을 알 수 있었다. Apparent amylose 함량의 경우 Control, RST1, RST2, RST3 각각 19.8 ± 0.1 , 18.4 ± 0.1 , 20.1 ± 0.6 , 8.9 ± 0.8 g/g 으로 나오는 것을 확인 할 수가 있었다. 전분의 순도와 달리 효소 처리에 따라 전분의 amylose 함량 변화가 일정하게 나타나지는 않았다.

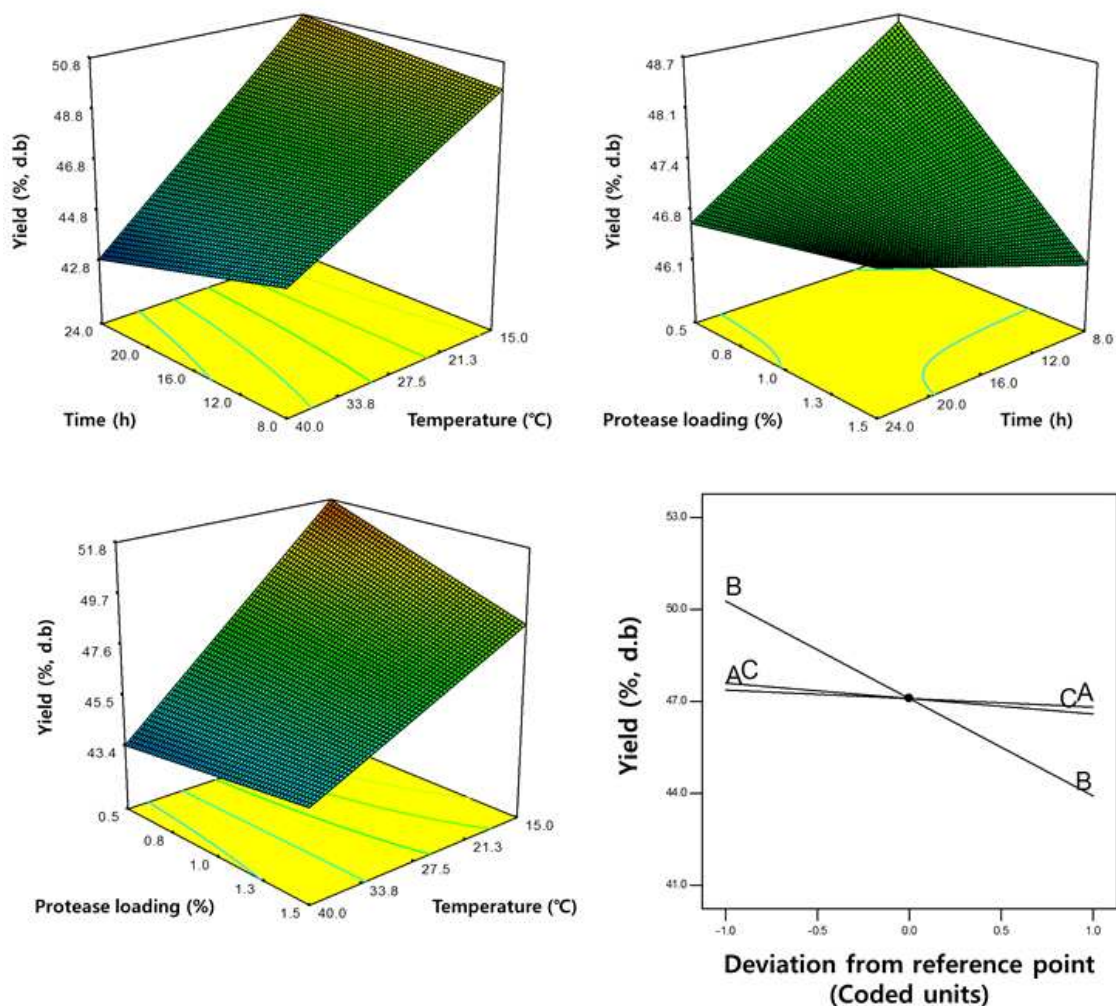


Figure 1-54. Response surface plots describing the effects of the interactions among time, temperature, and protease loading on the yield of starches from frozen rice potatoes by food-grade protease and perturbation plot describing the effects of time (A), temperature (B), and protease loading (C) on the yield of starches from frozen rice flour by food-grade protease.

Table 1-41. Purity and apparent amylose content of rise starches

Rice starch	Purity (%, d.b)	Apparent amylose (g/g)
Control	-	19.8±0.1 ^a
RST1	102.5±0.0 ^a	18.4±0.1 ^b
RST2	102.9±0.0 ^a	20.1±0.6 ^a
RST3	100.9±0.0 ^b	18.9±0.8 ^{ab}

*Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

각각의 조건으로 추출한 쌀 전분의 solubility는 Control이 4.8 ± 0.2 %로 비교적 낮으며, 효소를 처리했을 경우 약 2~4배가량 증가하여 RST1, RST2, RST3의 solubility가 각각 16.5 ± 0.8 , 9.1 ± 0.0 , 10.2 ± 1.2 %로 나타났다. 다음으로 swelling power를 확인하였다. 알칼리 침출법에 비해 효소를 이용하여 전분을 추출했을 때 solubility가 증가하는 경향을 보이는 것과 달리, RST1 샘플의 swelling power (14.7 ± 0.6)을 제외하고는 Control, RST1, RST3 각각 12.6 ± 0.0 , 12.7 ± 0.1 , 12.7 ± 0.0 으로 유의적 차이를 보이지 않는 것을 확인 할 수 있었다.

Table 1-41. Solubility and swelling power of rice starches

Rice starch	Solubility (%, d.b)	Swelling power (g/g)
Control	4.8 ± 0.2^c	12.6 ± 0.0^b
RST1	16.5 ± 0.8^a	14.7 ± 0.6^a
RST2	9.1 ± 0.0^b	12.7 ± 0.1^b
RST3	10.2 ± 1.2^b	12.7 ± 0.0^b

*Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different ($p < 0.05$).

전분의 호화 양상을 측정해본 결과(Table 1-42), 알칼리 침출법으로 추출한 control 전분의 경우 gelatinization enthalpy가 15.5 ± 0.1 J/g로 가장 높았으며, 효소 처리를 통해 추출한 전분인 RST1, RST2, RST3의 gelatinization enthalpy가 각각 13.3 ± 0.3 , 12.9 ± 1.1 , 14.5 ± 0.4 J/g으로 알칼리 침출법에 비해 비교적 낮게 나왔다. 이와는 정반대로 알칼리 침출법에 의해 추출한 전분인 control의 경우 onset, peak, 그리고, completion temperature가 효소 추출법으로 추출한 전분인 RST1, RST2, RST3에 비해 모두 낮게 나온 것을 확인 할 수 있었다.

Table 1-42. Gelatinization temperature and enthalpy of rice starches

Rice starch	Gelatinization temperature (°C)			Gelatinization enthalpy (J/g)
	T _o	T _p	T _c	
Control	53.9 ± 0.0^d	61.7 ± 0.0^c	71.7 ± 0.1^b	15.5 ± 0.1^a
RST1	54.4 ± 0.3^c	62.9 ± 0.1^b	72.8 ± 0.1^a	13.3 ± 0.3^c
RST2	55.7 ± 0.0^a	63.7 ± 0.5^a	72.6 ± 0.3^a	12.9 ± 1.1^c
RST3	55.1 ± 0.1^b	63.0 ± 0.0^b	72.4 ± 0.4^a	14.5 ± 0.4^b

*T_o, T_p, and T_c referred to gelatinization onset, peak, and completion temperatures, respectively. *Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different ($p < 0.05$).

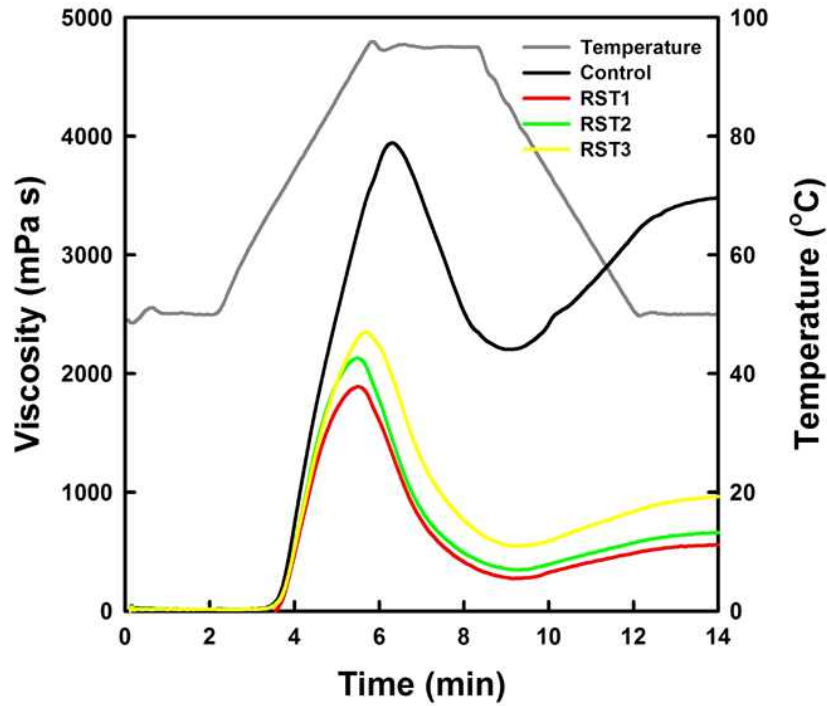


Figure 1-55. Pasting viscosity profiles of rice starches.

Table 1-43. Pasting viscosity characteristics of rice starches

Rice starch	Tp ¹⁾ (°C)	Pasting viscosity (mPa · s)				
		Peak	Trough	Breakdown	Final	Setback
Control	67.9 ^b (0.1) ²⁾	3942.0 ^a (29.7)	2204.0 ^a (22.6)	1738.0 ^b (7.1)	3480.0 ^a (17.0)	1276.0 ^a (5.7)
RST1	68.7 ^a (0.0)	1888.0 ^d (2.8)	274.0 ^d (5.7)	1614.0 ^c (2.8)	557.5 ^d (3.5)	283.5 ^d (2.1)
RST2	68.7 ^a (0.1)	2129.5 ^c (26.2)	346.0 ^c (2.8)	1783.5 ^a (29.0)	660.5 ^c (10.6)	314.5 ^c (13.4)
RST3	67.8 ^b (0.2)	2349.0 ^b (21.2)	546.0 ^b (18.4)	1803.0 ^a (39.6)	963.5 ^b (9.2)	417.5 ^b (9.2)

¹⁾Pasting temperature, ²⁾The numbers in parentheses indicate the standard deviation. *Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

쌀전분의 Pasting viscosity를 확인하기 위해 RVA 실험을 진행하였다(Figure 1-55, Table 1-43). 쌀 전분의 경우 알칼리 침출법을 통해 전분을 추출했으나, 효소처리방법을 통해 전분을 추출하였든 모두 비슷한 호화양상 경향을 보이는 것을 확인할 수 있다. 하지만, 알칼리 침출법을 통해 전분을 추출했던 control 샘플에 비해 효소적 추출법을 이용하여 전분을 추출한 RST1, RST2, RST3의 점도가 크게 줄어든 것을 확인할 수 있었다.

또한 전분 추출방법에 따라 전반적으로 RST3, RST2, RST1 순으로 점도가 낮게 나오는 것을 확인할 수 있었다. 쌀 전분의 pasting temperature의 경우 control, RST1, RST2, RST3 각각 67.9 ± 0.1 , 68.7 ± 0.0 , 68.7 ± 0.1 , $67.8 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 로 큰 차이는 없는 것으로 나왔으나, Peak, Trough, Breakdown, Final, Setback pasting viscosity 모두 효소추출법으로 추출한 전분들이 (RST1, RST2, RST3)에 control에 비해 점도가 훨씬 낮을 것을 알 수 가 있다.

3. 요약 및 결론

가. Cellulase 계열 효소를 이용한 감자 전분의 추출 효율 증대 및 특성 확인

LAMINEX BG2 가격 경쟁력이 높은 β -glucanase 계열의 효소로서 감자 세포내의 parenchyma cell등을 파괴하여 입자가 작은 전분을 용출시켜, 전분의 추출 효율이 비 효소처리 공정보다 40% 추출 효율이 증가 되었다. 추출된 전분은 용출된 작은 입자의 영향으로 호화개시온도가 낮아진 것 이외에 화학적 특성은 거의 대부분 차이가 없는 것으로 나타났다.

나. Cellulase 계열 효소를 이용한 고구마 전분의 추출 효율 증대 및 특성 확인

SUMIZYME AC는 *Aspergillus oryzae* 유래 cellulase 계열의 효소로서 고구마 세포내의 parenchyma cell을 특이적으로 파괴하여 입자가 작은 전분을 용출시켜 고구마 전분의 추출 효율이 비 효소처리 공정보다 18% 추출 효율이 증가 되었다. 추출된 전분은 입도가 작은 전분 입자가 더 많이 존재하며 이로 인하여 호화 시 점도가 비 효소처리 전분에 비하여 높게 나오지만, 호화 특성 및 열전이 특성에는 차이가 없는 것으로 나타났다.

다. 마로부터 생전분의 추출·정제법 구축 및 이의 특성 평가

마로부터 전분을 추출하기 위해서는 침지용액으로 0.4% (w/v) sodium bicarbonate 용액을 사용하는 것이 안정적인 추출수율을 얻을 수 있으며, 상업적으로 받아들여지는 수준의 단백질 함량과 총전분 함량을 보유한 마 전분을 생산할 수 있을 것으로 판단된다. 특히 마 전분은 높은 아밀로오스 함량을 나타내었으며, 고아밀로오스 함량은 전분유래 식이섬유 소재로서 활용이 가능할 것으로 판단된다. 이를 통해 생산된 마 전분을 활용한 가공제품들의 개발에 대한 기초 데이터로 사용할 수 있도록 할 것이다.

라. 쌀가루로부터 생전분의 추출·정제법 구축 및 이의 특성 평가

실험실에서 분리한 쌀전분(LRS), 상업적인 쌀전분(CRS), 그리고 sodium carbonate와 단백질분해효소의 병행처리를 통해 개발된 방법에 의한 쌀전분(1g-24h)을 비교분석하였다. 3개의 전분 샘플 모두 입도 사이즈가 비슷한 전분을 추출하였으며, 총전분 함량과 아밀로오스 함량을 측정 결과 개발된 방법에 의한 쌀전분의 아밀로오스 함량이 LRS와 CRS보다 낮았으나, CRS의 경우 쌀의 품종에 따른 영향으로 판단되며, LRS와 1g-24h의 경우 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 또한 총 전분 함량은 상업적인 쌀전분과 개발된 쌀전분이 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않아 개발된 쌀전분이 상업용 소재로서 적합할 것으로 판단된다.

마. 쌀 부산물 (쇄미)유래 전분 추출 효율 증대 및 특성 확인

쇄미에서 알칼리 추출법, 생촉매 추출법, 그리고 가압 효소추출법을 이용하여 전분을 추출한 결과 가압 효소추출법, 알칼리 추출법, 그리고 생촉매 추출법 순으로 효율이 높은 것으로 나왔다. X-ray diffraction 측정을 해본 결과 15° , 23° 에서 강한 peak가, 18° 에서 2개의 강한 peak가 나타나는 전형적인 A-type의 전분임을 알 수 있고, 추출 방법에 따른 XRD 값이 차이가 나지 않는 것으로 보아 쌀 전분의 결정형 구조가 손상되지 않는 것을 알 수 있다. 전분 추출 방법에 따라 물리화학적 특성의 차이가 조금씩은 있지만, 유의적 차이가 없이 비슷하게 나왔으며, 생촉매 추출법보다는 알칼리 추출법의 추출 효율이 높고 알칼리 추출법보다 가압 효소추출법이 전분 추출 효율이 더 높았다. 이를 통해 가압 효소추출법은 생촉매 추출법의 낮은 효율을 보완했으며, 알칼리 추출법보다 waste가 많이 생기지 않으므로 새로운 친환경적 전분 추출 방법으로 적합하다고 볼 수 있다.

바. 감자 sludge로부터 전분 추출 효율 증대 및 특성 확인

감자 가공부산물에 LAMINEX BG2를 처리하여 유세포를 파괴 및 비전분성 다당체를 제거하여 전분을 추출한 결과 효소의 농도와 상관없이 83%에서 96% 내외로 증가한 것을 확인할 수 있다. 효소 농도에 따른 감자 가공부산물 유래 전분의 물리화학적 특성을 알기위해 입도크기, RVA, DSC, 그리고 SEM을 측정한 결과 효소 농도의 변화에 따라 감자전분의 물리화학적 특성간의 유의적 차이가 없다. 이를 통해 앞으로 감자 가공부산물에서 전분을 추출할 경우 감자 가공부산물의 건조중량 대비 0.5% (v/w)의 LAMINEX BG2만 첨가하여도 고농도의 LAMINEX BG2를 첨가했을 때와 물리화학적 특성 차이가 없이 높은 효율로 감자 전분을 추출할 수 있다.

사. 밀기울로부터 전분 추출 효율 증대 및 특성 확인

밀 가공부산물인 밀기울에서 효과적으로 전분을 추출하기 위해 protease 와 cellulase 계열 효소를 적용하였다. 본 연구에 사용한 protease는 곰팡이(*Aspergillus oryzae*) 유래 효소인 Prozyme PSP와 세균 (*Bacillus amyloliquefaciens*) 유래 효소인 Prozyme PSN을 이며, 이중 곰팡이 유래 효소인 Prozyme PSP를 이용하면 전분의 추출 효율이 2.5배 증가되는 것을 확인하였다. 이에 반하여, cellulase 계열 효소는 protease 효소에 비하여 전분 추출 효율이 크게 증가하지 않았다. 비록 protease를 이용하여 전분의 추출 효율이 크게 증가하였지만, 밀기울 자체의 전분 함량이 적으며 (최대 100g당 25g) 이를 protease 효소를 이용하여 추출된 전분의 양 또한 다른 농산 가공부산물에 비하여 상당히 적은 양이다. 이에 농산 가공부산물 중 밀기울을 이용하는 것은 산업적으로 경제적 효과가 없을 것으로 사료된다.

아. 중심합성계획법을 통한 감자 전분 추출 최적화

효소적 추출법에 의한 감자 전분의 추출수율은 기존의 방법에서의 전분추출 수율인 26.2%에 비해 약 3배 정도 높은 추출수율 (69.4~88.9 %) 수준을 나타냈다. 또한 효소적 추출방법에 의해 생성된 감자전분들은 대조군에 비해 물리적 및 페이스팅 점도 특성이 상이하였지만, 산업적으로 활용 가능한 수준이었으며, 붕괴점도가 최소화 된 감자 전분을 생산할 수 있어 산업적 활용도가 높은 것으로 판단된다.

자. 변형된 2³ 요인설계법을 통한 고구마 전분 추출 최적화

효소적 추출법에 의해 고구마로부터 고구마전분을 추출할 때, 가장 높은 추출수율은 55.3%(d.b) 였으며, 이때 고구마로부터 고구마전분의 회수율도 82.4 %로 가장 높았다. 셀룰로오스분해효소를 이용하여 고구마의 냉동조직들로부터 고구마전분의 추출에 있어 1차항 요인들 중 효소반응시간은 유의적이지 않았지만, 시간과 온도, 온도와 효소량, 시간과 효소량 사이의 유의적인 교호작용이 존재하였다. 또한 고구마로부터 고구마전분의 회수율은 고구마전분의 추출수율에서 관찰된 결과들과 유사하였다. 대조군에 비해 SPS2와 SPS3는 유의적으로 높은 용해도와 팽윤력을 나타내었으며, 호화온도는 SPS3가 가장 높았고, 호화엔탈피는 SPS1이 가장 높았다. 페이스팅 점도는 대조군에 비해 효소적 추출법에 의한 고구마전분들이 미미하게 낮은 수준을 나타내었다.

차. 변형된 2³ 요인설계법을 통한 쌀 전분 추출 최적화

효소적 추출법에 의한 쌀전분의 추출수율은 알칼리 침지법을 통한 전분 추출 수율인 61.8 % 비해 낮은 수준을 나타내었으나, 효소적 추출법은 짧은 시간만을 요구하였으며, 고농도의 염 용액을 배출하지 않아 기존의 알칼리 침지법보다 더 경제적인 방법인 것으로 판단된다. 또한 알칼리 침출법에 비해 pasting viscosity가 확연히 낮기 때문에 알칼리 침지법으로 추출한 쌀 전분과 다른 물리화학적 특성을 부여할 수 있다.

다. 국내산 농산물로부터 추출·정제된 생전분소재의 시제품 제작



Figure 1-56. Prototypes of native potato, sweet potato, Chinese yam starches prepared by traditional and enzymatic extraction methods.

제2절. 효소적 변성방법에 의한 전분소재 개발 및 특성

1. 연구방법

가. 재료

(1) 전분 원료

본 연구에 사용된 전분소재들은 시중에서 판매되는 상업적인 감자전분(Tureban, Goyang, Gyeong-gi), 고구마전분(Tureban, Goyang, Gyeong-gi)을 구입하여 추가적인 정제 없이 사용하였다. 쌀전분은 상업적인 제품을 국내에서 구입할 수 없어 연구개발에서 구축된 쌀 전분 분리방법을 이용하여 쌀전분을 분리·정제하였다. 쌀 전분의 분리에 사용된 원료는 국내산 찹쌀과 멥쌀로부터 습식 제분법에 의해 생산된 찹쌀가루(Garunara, Seoul)와 멥쌀가루(Garunara, Seoul) 이었다. 쌀전분은 쌀가루를 0.4% (w/v) Na_2CO_3 용액과 중량대비 1:3의 비율로 혼합하여 상온에서 3시간 동안 교반한 후 쌀가루 분산물을 가정용 믹서로 2분 동안 분쇄하고 5 N HCl 용액을 가하여 pH 6.0으로 조정하였다. 여기에 식품첨가물 등급의 단백질분해 효소(Protamax; Apisbiochem, Daegu)를 초기 쌀가루의 건조중량 대비 0.3%가 되도록 가하고 40°C에서 100 rpm으로 3시간 동안 교반한 후 400 mesh 표준체를 장착한 진동체(Chungye, Seoul)를 이용하여 선별하였다. 선별된 전분유는 상온에서 20분간 100×g로 원심분리하여 침전물 상층부의 테일전분(tailed starch)과 단백질 층을 제거한 후 증류수를 가하여 재분산시켰다. 이와 같은 조작은 총 3회 반복하여 수행하였다. 최종 회수된 쌀전분은 무수에탄올을 가하여 탈수시켜 감압여과하여 회수하고 45°C에서 24시간 동안 건조하였다. 분리·정제된 쌀전분들의 회수율은 초기 쌀가루의 건조중량 대비 75~80%의 범위에 있었다. 홍삼박은 금산에서 나온 뿌리 근들을 구안산업에서 ethanol 침출법을 이용하여 ginsenoside를 추출하고 남은 sludge를 모아, 5분간 blending 한 뒤, 동결 건조하여 만들었다. Chinese yam sludge는 가공용 마로부터 전분을 추출하고 남은 sludge를 모아, 동결 건조하여 만들었다.

(2) 효소 및 당분석 원료

연구개발에 사용한 DGAS와 NPAS 는 본 연구실에서 보유하고 있는 *Deinococcus geothermali*s 유래 amylosucrase (ASase)와 *Neisseria polysaccharea* 유래 ASase를 이용하였다. 2차 년도 실험에서 사용한 glucan phosphorylase (GPase)와 sucrose phosphorylase (SPase)는 본 연구실에서 보유하고 있는 *Methylobacillus flagellatus* 유래 GPase와 *Bifidobacterium longum* SJ32 유래 SPaes를 이용하였다. 당분석을 위해 silica gel K5G thin-layer chromatography (TLC) plate (Whatman, Kent, UK)를 이용하였다. 모든 시약은 분석급으로 이용하였으며 Sigma-aldrich (St.Louis, MO, USA)와 Duchefa Biochemisty (Haarlem, Netherlands)에서 구입하여 사용하였다.

나. 효소수식 변성전분 제조

(1) ASase효소를 이용한 효소수식 변성전분 제조

전분소재 (감자, 고구마, 멥쌀, 그리고 찹쌀) 혹은 전분질 함유 곡물 가공 부산물 (마박, 홍삼박) 40 g을 50 mM Tris-HCl 버퍼에 호화 후 상온에서 냉각하였다. 반응기에 호화된 전분유와 300 mM sucrose, 그리고 0.01 U DGAS를 함께 첨가한 뒤 45 °C에서 48 hr 반응시켰다. NPAS의 경우 동일 조건에서 DGAS 대신 0.01 U NPAS를 함께 첨가한 뒤 35°C에서 24 hr 반응시켰다. 그 후 반응액에 EtOH을 첨가하여 반응을 종료하고, 4 °C 에서 24 hr 방치하여 변성된 전분을 침전하였다. 침전된 전분을 증류수로 3회 세척한 후, 동결건조하였다. 건조된 샘플을 분쇄 한 후, 100-mesh 체에 통과시켰다.

(2) *Bifidobacterium longum* SJ32 유래 SPase (BLSP)의 최적 반응 조건 탐색

반응 조성은 200 mM, 300 mM sodium phosphate buffer에서 각 100 mM, 200 mM, 300 mM, 400 mM sucrose로 기질의 양을 달리하여 2시간 간격으로 55°C에서 반응을 한 뒤 DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) 첨가 후 끓은 물에 10분간 방치하여 효소반응을 종결하였다. 600 nm에서 optical density를 측정하여 fructose 양을 측정하였다. 효소의 unit은 일정효소 농도와 반응시간에 따른 fructose 생산량으로 정의하였다.

(3) *Methylobacillus flagellatus* 유래 GPase (MFGP)의 최적 반응 조건 탐색

Glucan phosphorylase의 활성은 가수분해에 의한 glucose-1-phosphate (G-1-P)를 생성하는 반응을 이용하였다. G-1-P 생성 반응 (phosphorylase)은 soluble starch를 기질로 사용하여 무기인산이 포함된 버퍼를 첨가하여 최적 온도에서 5분간 예비가열을 시킨 후 효소액을 첨가하여 10분간 반응하였다. 반응이 끝난 효소액을 high performance anion exchange chromatography (HPAEC)를 이용하여 생성된 G-1-P양을 정량하여 확인하였다. 이때 사용한 column은 Carboapak PA100 columns (DionexCo., Sunnyvale,CA, USA)이며 버퍼는 Buffer A (150 mM NaOH), Buffer B (150 mM NaOH and 500 mM sodium acetate)를 이용하였다. 기질의 특이성을 확인을 위해서는 G1 (glucose), G2 (maltose), G3 (maltotriose), G4 (maltotetraose), G5 (maltopentaose), G6 (maltohexaose), G7 (maltoheptaose)를 이용하였다. 반응물은 TLC plate을 이용하여 분석하였으며, 이때 사용한 이동상은 n-butanol : acetic acid : water = 3 : 1 : 1로 하였다. TLC plate 확인은 황산을 이용하였다.

(4) Dual enzyme system을 이용한 서류 유래 기능성 변성 전분 제조

먼저 효율적인 G-1-P 생산을 위하여 400 mM sucrose 과 0.01 U sucrose phosphorylase를 교반기에 넣고 55°C에서 24h 반응하였다. 서류 전분소재(감자 / 고구마) 40 g을 300 mM sodium phosphate buffer 에 호화 후 상온에서 냉각하였다. 반응기에 호화된 전분유와 0.01 U glucan phosphorylase를 함께 첨가한 뒤 35°C에서 24h 반응시켰다. 그 후 반응액에 EtOH을 첨가하여 반응을 종료하고, 4°C에서 24시간 방치하여 변성된 전분을 침전하였다. 침전된 전분을 증류수로 세척한 후, 동결건조 하였다. 건조된 샘플을 분쇄 한 후, 100-mesh 체에 통과시켰다.

다. 효소수식 변성전분의 물리화학적 특성 분석

(1) 효소 수식 감자 전분의 형태학적 특성 확인

전분의 입도분포는 입도분석기(Laser Particle size analyzer, CILAS 1190 Liquid, CILAS, France)를 이용하여 분석하였다. 각 전분의 미세구조는 주사전자현미경(SEM, Scanning electron microscope, Japan)을 사용하여 검경하였다. 각각의 전분은 -72°C에서 동결하여 동결건조기(Freeze Dryer, Ilsin lab Co., Korea)에서 48시간 동안 건조한 것을 gold-palladium으로 ion sputter(C1010 Hitachi, Japan)를 이용하여 도금한 후, 가속전압 20 kV에서 전분의 미세구조를 100, 200, 250, 500, 1,000, 1,500 및 2,000배의 배율로 관찰하였다. 전분의 X-선 회절도는 X-ray diffractometer (M18XHF, Mac Science Co., Yokohama, Japan)를 사용하여 target : Cu-K α , voltage: 40 kV, current: 40 mA의 조건으로 회절각도는 (2θ) 3.5-40° 까지 scanning speed: 6° /min으로 회절하여 X-ray diffraction pattern을 관찰하였다.

(2) 효소 수식 변성 전분의 물리화학적 특성 확인

전분의 호화특성을 RVA (Rapid Visco Analyzer, Newport Scientific, RVA-Super 4, Warriewood, Australia)를 이용하여 측정하였다. 전체 중량을 28 g으로 만들 때, 시료의 건조중량이 시료와 증류수의 총 중량 대비 7.50 혹은 10.00%가 되게끔 aluminum canister에 넣어 교반하여 제조하였다. 측정온도는 1분간 50°C를 유지하고 95°C까지 12°C/min의 속도로 온도를 상승시킨 후 2분 30초 동안 95°C를 유지, 12°C/min의 속도로 50°C까지 온도를 하강시킨 후 50°C에서 2분간 유지시켜 총 14분간의 측정시간을 거쳐 점도곡선을 얻었다. 얻어진 점도곡선으로부터 호화개시온도 (initial pasting temperature), 최고점도 (peak viscosity), 최저점도 (minimum viscosity), 최종점도 (final viscosity)를 측정하였다. DSC thermogram은 25°C부터 120°C까지 10°C/min의 속도로 가열하여 얻은 후 용융온도 (onset temperature), 피크온도 (peak temperature), 종료온도 (end temperature)와 용융엔탈피(ΔH ; gelatinization enthalpy)를 Pyris software version 11.1.0.04.88 (PerkinElmer Inc., Waltham, MA, USA)에 의해 계산하였다.

전분의 저항전분 (resistant starch) 함량은 다음과 같이 측정하였다. 전분 100 mg을 cap tube에 측량한 뒤, pancreatic α -amylase (10 mg/mL) 와 AMG (Amyloglucosidase, 3 U/mL)가 포함된 solution을 4 mL을 넣어주었다. 그 뒤 잘 섞어준 뒤 37°C 인큐베이터에서 16시간 반응을 시켰다. 그 후 99 % ethanol 을 4 mL넣고 잘 섞어준 뒤 1,500 × g 에서 10분 동안 원심분리 하였다. 상층액을 조심스럽게 따라내고, 다시 50% ethanol 을 8 mL 넣어준 뒤 1,500 × g 에서 10분 동안 원심분리 하였다. 이 과정을 두 번 반복하였고, 조심스럽게 상층액을 따라냈다. 각 샘플에 2 M KOH를 2 mL씩 넣고 magnetic stirrer bar를 넣어주어 stirrer에서 잘 섞이도록 하였다. 그 후 1.2 M sodium acetate buffer (pH 3.8)를 8 ml넣고 즉시 0.1 mL of AMG (solution 1; 3,300 U/mL) 0.1ml을 넣고 50°C 에서 30분 동안 반응시켰다. 효소 처리된 샘플은 100 mL까지 증류수로 희석하고, 효소 처리되지 않은 샘플은 희석하지 않은 상태로 1,500 × g 에서 10분 동안 원심분리 하였다. 그 후 샘플에서 0.1 mL과 GOD-POD reagent(Glucose oxidase plus peroxidase and 4-aminoantipyrine)를 넣고 50°C 에서 20분간 반응시킨 뒤 510nm에서 흡광도를 측정하였다. Blank는 샘플대신 증류수를 0.1ml넣고 GOD-POD reagent 를 3 ml넣어 50 °C에서 20분간 반응 시킨 뒤 사용하였다.

전분의 side-chain distribution은 샘플 50 mg을 용기에 넣고, 증류수 0.5 g을 넣고 수화시킨다. DMSO 4.5 mL을 첨가한 후 전자레인지에서 35초 반응시켰다. DMSO에 녹은 샘플 2 mL과 99% ethanol 12 mL을 섞은 뒤, 1,500 × g 에서 10분 동안 원심분리 하였다. 상층액을 제거한 뒤, 99% ethanol 12 mL을 섞은 뒤, 1,500 × g 에서 10분 동안 원심분리 하였다 그 후 70°C dry oven에서 20분간 방치하였다. 건조된 샘플에 1.8 mL 증류수를 넣고 교반하며 끓는 물에서 30분간 샘플을 녹여주었다. 40 mM sodium phosphate buffer 20 μ L를 넣고 잘 섞어주었다. 1 mL을 채취하여 isoamylase 2.5 μ l과 40°C 에서 24h 반응하였다. 반응물을 High performance anion exchange chromatography (HPAEC)를 이용하여 전분의 side-chain distribution을 분석하였다. 이때 사용한 column은 Carboapak PA200 columns (DionexCo., Sunnyvale, CA, USA)이며 버퍼는 Buffer A (150 mM NaOH), Buffer B (150 mM NaOH and 500 mM sodium acetate)를 이용하였다.

용해도(solubility)와 팽윤력(swelling power)의 경우 시료 0.5 g (d.b)을 50-mL 원심분리관에 직접 칭량하고 탈이온수 25 g을 가하여 끓는 물 수욕조(~96.5°C)에서 30분간 가열하였다. 5분 간격으로 vortexing하여 침전된 전분 시료를 재분산되도록 하였다. 30분 후 20분간 냉수 욕조에서 냉각시켜 3,000×g에서 30분간 원심분리한 후 상등액을 100-mL 정용플라스크로 옮기고 탈이온수를 가하여 정용하였다. 상등액을 제거한 원심분리관은 뒤집어 상온에서 10분간 잔류용매를 제거한 후 무게를 측정하였다. 용해도 측정을 위해 동일한 희석된 상등액 내의 총당 함량을 페놀-황산법을 이용하여 정량하였다. 전분 시료의 용해도와 팽윤력은 아래 식들에 의해 계산되었다.

$$Solubility (\%) = \frac{W_s}{W_0} \times 100$$

$$Swelling\ power\ (g/g) = \frac{W_{sst}}{(W_0 - S)}$$

여기서, W_s 는 상등액 내의 총당 함량(g)을, W_0 는 초기 전분 시료의 무게(g, d.b)를, W_{sst} 는 팽윤된 전분 시료의 무게(g)이며, S는 상등액 내에 가용성 고형분의 양(g)을 나타낸다. 보수력의 경우 위와 같은 처리를 하되, 물 수욕조 (~96.5°C)에서 30분간 가열하는 대신 상온 (25°C)의 수욕조에서 30분간 반응하여서 구해준다.

전분의 iodine binding index (IBI)를 측정하기 위해. 먼저 Urea-DMSO용액 10 mL에 샘플 100 mg 넣어준 뒤 끓는 물에서 15분간 끓여주며 중간 중간 샘플이 잘 풀어지도록 교반 하였다. 그 후 100°C dry oven에서 45분간 방치하였다. 샘플 1 mL을 95 mL 증류수와 섞어준 뒤 I_2 -KI용액 2 mL을 넣고 증류수로 100 ml로 볼륨을 맞춰주었다. 15분 반응 뒤 660 nm에서 optical density를 측정하여 IBI를 측정하였다.

2. 연구결과

가. 재조합 효소 특성 비교

(1) 재조합 ASase 의 효소 특성 비교

Amylosucrase (ASase, EC. 2.4.1.4) 는 자당 (sucrose)을 기질로 하여 amylose와 같은 α -1,4-glucan을 생성하는 glycosyltransferase 계통의 효소이다. Glycosyltransferase는 UDP-glucose와 같은 고에너지 기질을 이용하여 당을 배당체나 비배당체에 전이 할 수 있지만, ASase는 UDP-glucose이 비하여 값이 저렴한 자당을 이용하여 배당체나 비배당체에 포도당을 전이할 수 있다. 특히, glycogen이나 전분 등에 당을 전이할 수 있는 능력이 뛰어나며 이는 산업적 효소 수식 전분을 제조하는데 적합한 효소라 할 수 있다. ASase를 이용한 효소 수식 전분을 제조는 현재 *Neisseria polysaccharea* 유래 ASase (NPAS)로만 연구가 활발히 진행되어 왔다. 새로운 ASase 이용 효소 수식 전분 공정을 개발하기 위하여 여러 미생물 유래 amylosucrae의 효소 특성을 확인하였다 (Table 2-1). 현재까지 발굴된 ASase는 *Arthrobacter chlorophenolics* 유래 ASase (ACAS), *Alteromonas macleodii* 유래 ASase (AMAS), *Deinococcus geothermalis* 유래 ASase (DGAS), *Deinococcus radiodurans* 유래 ASase (DRAS), *Deinococcus radiopugnans* 유래 ASase (DRpAS), *Neisseria polysaccharea* 유래 ASase (NPAS)로 총 6종의 ASase가 발굴되었다. 이중 DRAS는 열안정성과 당전이 능력이 산업적으로 활용을 할 수 없을 만큼 떨어지기 때문에 본 비교 연구에서는 제외하였다. 현재까지 발굴된 ASase 중 열안정성이 가장 높은 효소는 DGAS로 45°C에서 활성이 계속 일정하게 유지되며, melting temperature가 61.4°C로 다른 ASase에 비하여 10~20°C 높게 나타났다. 또한 일정온도에서 단위 효소량에 따른 활성을 나타내는 specific activity의 값이 가장 높게 나타났다. 이는 동일량의 효소량이 있을 때 다른 ASase보다 큰 활성을 나타내는 것을 의미하며 산업적 활용에 중요한 요소가 된다. 자당으로부터 amylose를 합성하는 양은 NPAS가 가장 높았으며 그 뒤로 ACAS, DGAS, DRpAS, AMAS순으로 나타났다. 이는 ASase의 당전이 활성을 간접적으로 나타내는 것으로 산업적 이용에 중요한 요인이 된다.

Table 2-1. Comparison of the biochemical properties of various ASase.

Enzyme	Specific activity at 37°C (μ mol/min/mg) ¹⁾	Thermostability		Content of synthesized amylose (mg/mL)
		Half-life (min) at 45°C	Melting temperature (°C)	
ACAS	1.15 \pm 0.13 ¹⁾	2.9	42.6	14.53 \pm 1.43
AMAS	0.61 \pm 0.08	33.3	48.1	2.58 \pm 0.13
DGAS	5.13 \pm 0.23	Stable	61.4	6.97 \pm 0.42
DRpAS	2.02 \pm 0.50	198	50.9	6.49 \pm 0.25
NPAS	0.72 \pm 0.02	24.9	51.5	22.81 \pm 1.94

¹⁾Mean \pm S.D.

당전이 활성이 가장 높은 ASase는 NPAS이지만 열 안정성이 떨어지고, 열 안정성이 가장 높은 ASase인 DGAS는 당전이 활성이 NPAS에 비하여 다소 떨어지는 것으로 나타났다. 기존 까지 효소 수식 전분은 NPAS로만 연구가 한정되어 있었지만, 열안정성과 효소활성이 높은 DGAS를 이용하면 산업적으로 생산이 가능하며 기존과 다른 새로운 효소 수식 전분을 생산 할 가능성이 있다.

(2) BLSP의 효소의 최적 G-1-P 생성 조건

BLSP의 특성을 확인하기 위하여 재조합 BLSP를 대장균에서 효과적으로 발현하였으며, affinity chromatography를 이용하여 순수 분리하였다(Figure 2-1).

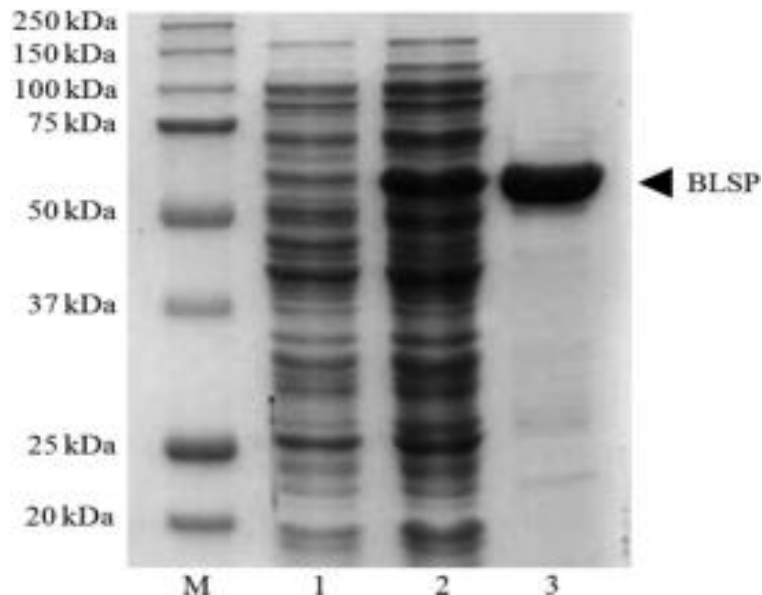


Figure 2-1. SDS-PAGE analysis of the expression level and the purity of recombinant BLSP: lane M, protein molecular weight marker; lane 1, crude extract from *E. coli* BL21 (DE3) harboring p6 \times His119 (negative control); lane 2, crude extract from *E. coli* BL21 (DE3) harboring p6 \times His119- BLSP; lane 3, the purified BLSP.

BLSP 효소활성의 최적 온도 및 pH를 규명하고 하고자 다양한 온도 및 pH에서 sucrose 반응하여 확인하였다. BLSP의 경우 55°C의 최적 온도를 가지고 pH 7.0에서 가장 높은 활성을 가지고 있다(Figure 2-2). BLSP를 phosphate 및 sucrose 농도에 따른 G-1-P 생산량을 확인한 결과, 300 mM sodium phosphate 버퍼에서 400 mM sucrose을 이용하여 가장 많은 G-1-P을 생산하였다. 이 때 생산성은 약 55%정도로 나타났다.

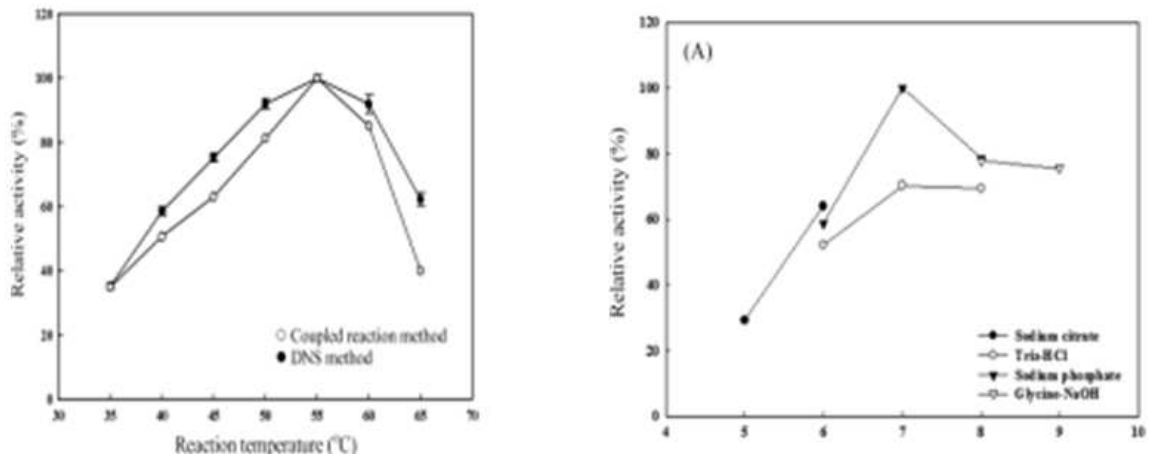


Figure 2-2. Effect of reaction temperature and pH on BLSP activity.

(3) MFGP의 효소 특성 확인

*Methylobacillus flagellatus*는 중온성 미생물로 다양한 종류의 탄수화물 효소를 가지고 있다. 이에 본 연구팀은 *Methylobacillus flagellatus*로부터 GPase 유전자를 pET vector에 cloning 하였으며, 이를 이용하여 재조합 MFGP가 성공적으로 발현됨을 확인하였다. 발현된 MFGP를 affinity chromatography를 이용하여 순수 분리하였다(Figure 2-3).

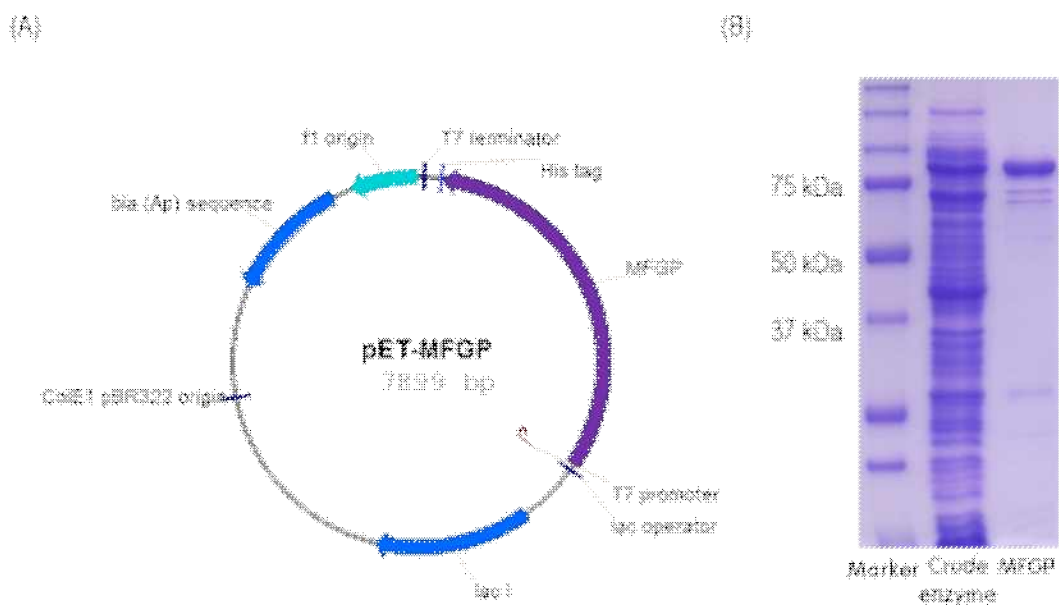


Figure 2-3. Vector map of pET-MFGP(A) and SDS-PAGE of recombinant MFGP(B).

순수 분리된 MFGP의 효소 특성을 확인하기 위하여 다양한 온도와 pH에서 반응을 수행하였다. 그 결과 MFGP는 35°C, pH 7.0에서 가장 높은 활성이 나타나는 것으로 확인하였다 (Figure 2-4).

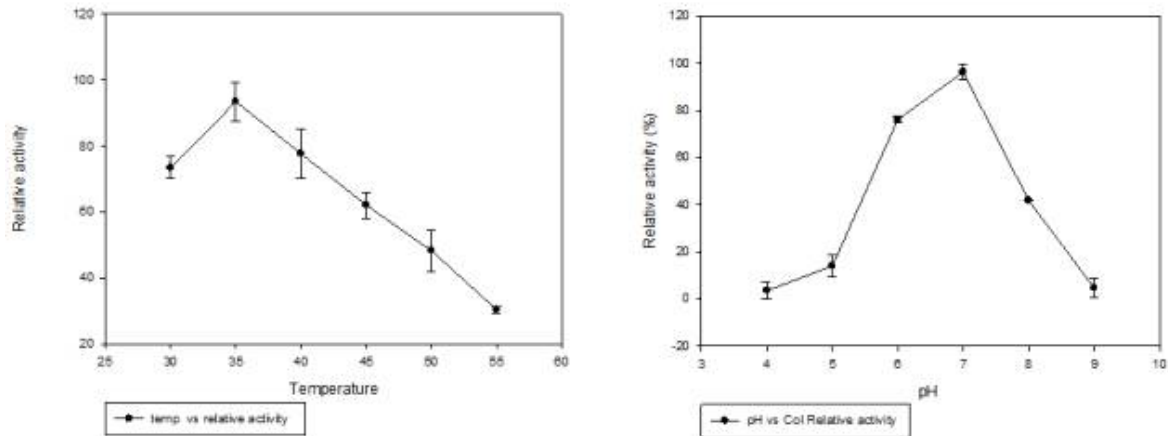


Figure 2-4. Effect of reaction temperature and pH on MFGP activity.

MFGP의 기질 특이성을 확인하기 위하여 G1~G7 기질을 이용하여 phosphorylation과 polymerization을 확인하였다. 10 mM 기질 (G1~G7)과 40 mM phosphate와 반응하여 TLC (thin-layer chromatography) 분석을 통하여 확인하였다(Figure 2-5). MFGP는 G4 (maltotetraose)이하의 maltooligosaccharide에서는 반응이 일어나지 않았으며, G5 (maltopentaose)이상의 기질을 분해하여 G-1-P을 생산하는 것을 확인하였다. 또한 G5~G7 기질 반응에서는 G4 이하의 생성물이 생성되지 않았다. 이는 MFGP가 반응하기 위해서는 기질이 G5이상의 길이를 가져야 한다는 것을 의미한다.

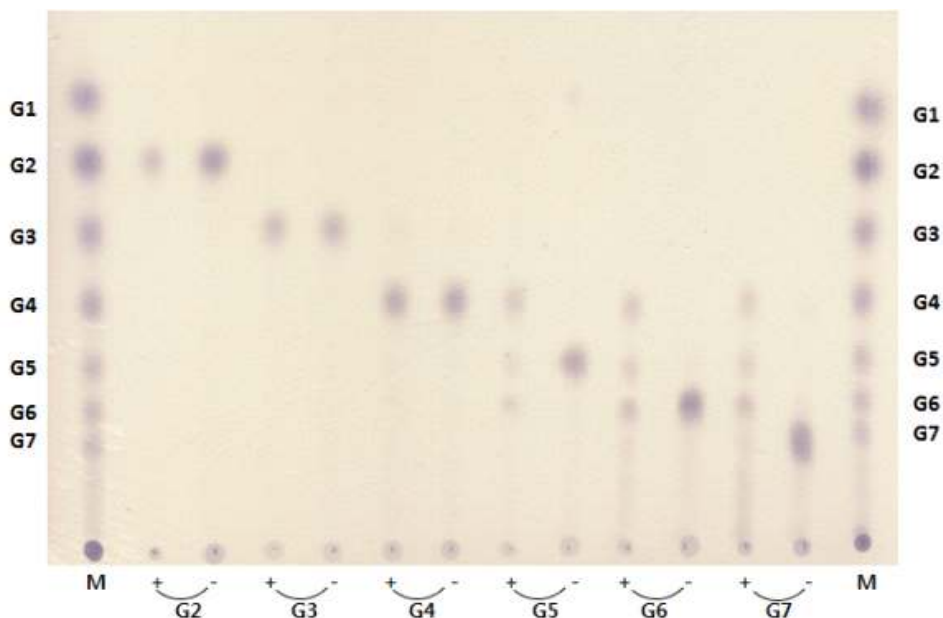


Figure 2-5. TLC analysis for phosphorylation reaction of MFGP.

MFGP의 polymerization 반응은 10 mM 기질 (G1-G7)과 10 mM G-1-P를 반응하여 TLC를 통하여 확인하였다(Figure 2-6). MFGP의 polymerization 반응은 G4 이상 길이의 기질에서 일어남을 확인하였다. MFGP가 polymerization 반응을 위해서는 기질의 길이가 G4 이상이 되어야 함을 의미한다. 또한 G5 (maltopentaose), G6 (maltohexaose), G7 (maltoheptaose)기질반응에서도 maltooligosaccharide이외에도 G4 (maltotetraose)가 형성됨을 확인할 수 있다. 이는 MFGP가 polymerization 반응만 일어나는 효소가 아닌 phosphorylation 반응이 동시에 일어나는 가역효소이기 때문이다. MFGP는 G-1-P 존재시 G4 이상의 α -1,4-glucan의 길이를 증가시킬 수 있으며, 이는 amylosucrase와 유사한 결과이다. 이러한 결과를 토대로 MFGP는 G-1-P와 전분 반응 시 amylosucrase와 같이 저항전분이 증가하는 기능성 전분을 합성할 수 있는 가능성이 큰 효소라 할 수 있다.

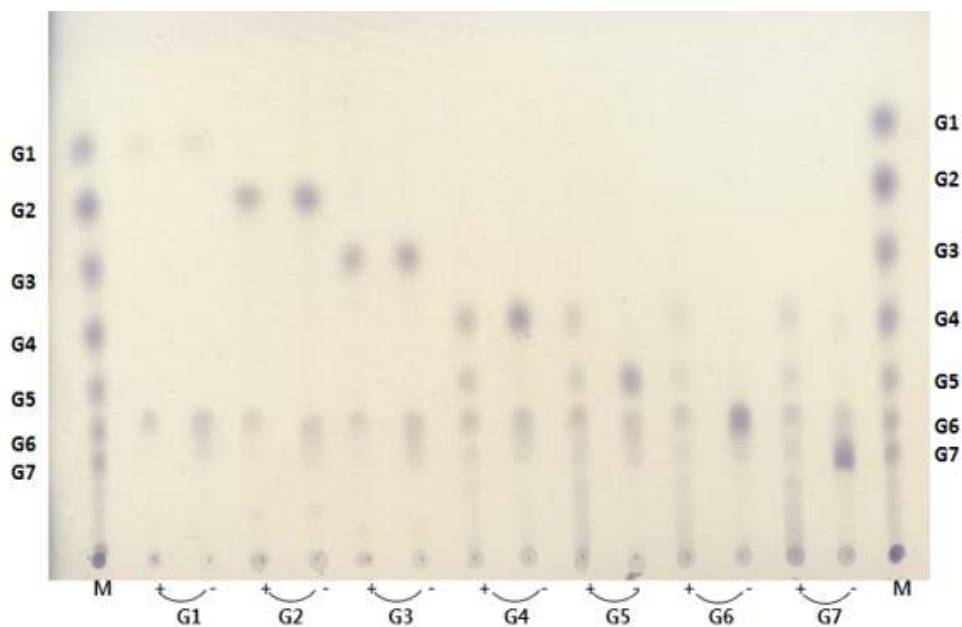


Figure 2-6. TLC analysis for polymerization reaction of MFGP.

BLSP의 최적 G-1-P 생산 조건은 300 mM sodium phosphate버퍼에 400 mM sucrose를 5°C, pH7에서 수행한 반응이다. MFGP는 G4 (maltotetraose)이상 기질에서 polymerization이 일어날 수 있으며, 이때 G-1-P의 농도가 높아야 polymerization 반응이 크게 일어날 수 있음을 확인하였다. 즉, 값이 싼 sucrose를 BLSP를 이용하여 값비싼 기질인 G-1-P을 효과적으로 생산할 수 있으며, 이렇게 생산된 G-1-P를 MFGP가 이용하여 전분과 반응하여 기능성 전분을 합성 할 수 있는 가능성을 확인하였다.

나. ASase 효소를 이용한 효소수식 변성전분 제조 및 특성 확인

(1) 반응 온도에 따른 효소수식 변성 감자전분 제조 및 특성 확인

기존에 효소 수식 전분을 생산에 이용하는 NPAS는 열 안정성도 낮고 효소반응 온도 스펙트럼도 작아 반응온도 30~35℃에서 밖에 수행할 수 없지만, DGAS는 열안정성이 높고 효소 반응온도 스펙트럼도 넓다. DGAS를 이용하여 국내산 천연 감자 전분에 30, 40, 50℃에서 반응하여 반응 온도에 따른 효소 수식 변성 감자 전분을 제조하였다. 기존연구에서는 NPAS를 이용하여 쌀과 보리 변성 전분 제조에 소량반응 (35 mL)와 대량반응 (3,500 mL)의 변성 전분 합성 효율을 비교하였으며, 대량 반응은 소량반응 보다 NPAS와 전분의 반응 효율이 1.2~1.8배 증가됨이 확인되었다. 이에 산업적 가능성을 확인하기 위하여 모든 효소 수식 반응은 5 L 반응기를 이용하여 대량반응을 수행하였다. 각 온도별 수율은 초기 감자 전분 투입량 대비로 확인하였을 때, 30℃ 반응 시 100.65%, 40℃ 반응 시 94.78%, 50℃ 반응 시 64.38%로 온도가 증가함에 따라 효소 수식 변성 감자 전분의 효율이 감소하는 것으로 나타났다. DGAS는 반응 온도에 따라 당전이 활성보다 가수분해 활성이 큰 것으로 알려져 있으며, 이 때문에 온도가 증가함에 따라 효소 수식 변성 감자 전분의 수율이 감소하는 것으로 사료된다. 하지만, 가장 낮은 반응 수율이 64.38%로 이는 DGAS가 효소 수식 변성 감자 전분 합성에 산업적으로 활용가치가 있다고 판단 할 수 있다. 반응 온도에 따라 제조된 DGAS 수식 변성 감자 전분의 입도를 입도 분석기를 통하여 분석하였다(Table 2-2).

Table 2-2. Particle size profile of native, autoclaving/cooling-treated and DGAS-treated potato starches

Sample	Particle size(μm)			Mean Diameter
	Diameter at 10.00 %	Diameter at 50.00 %	Diameter at 90.00 %	
Native	21.46	45.49	71.24	45.84 ± 0.04 ^{1)d2)}
Autoclaving/ Cooling-treated	16.96	59.19	150.56	74.08 ± 1.29 ^e
DGAS treated at 30℃	11.39	53.10	94.30	53.91 ± 2.72 ^c
DGAS treated at 40℃	12.30	54.37	113.95	59.58 ± 0.69 ^b
DGAS treated at 50℃	5.14	25.76	88.69	38.38 ± 0.51 ^e

¹⁾Mean±S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

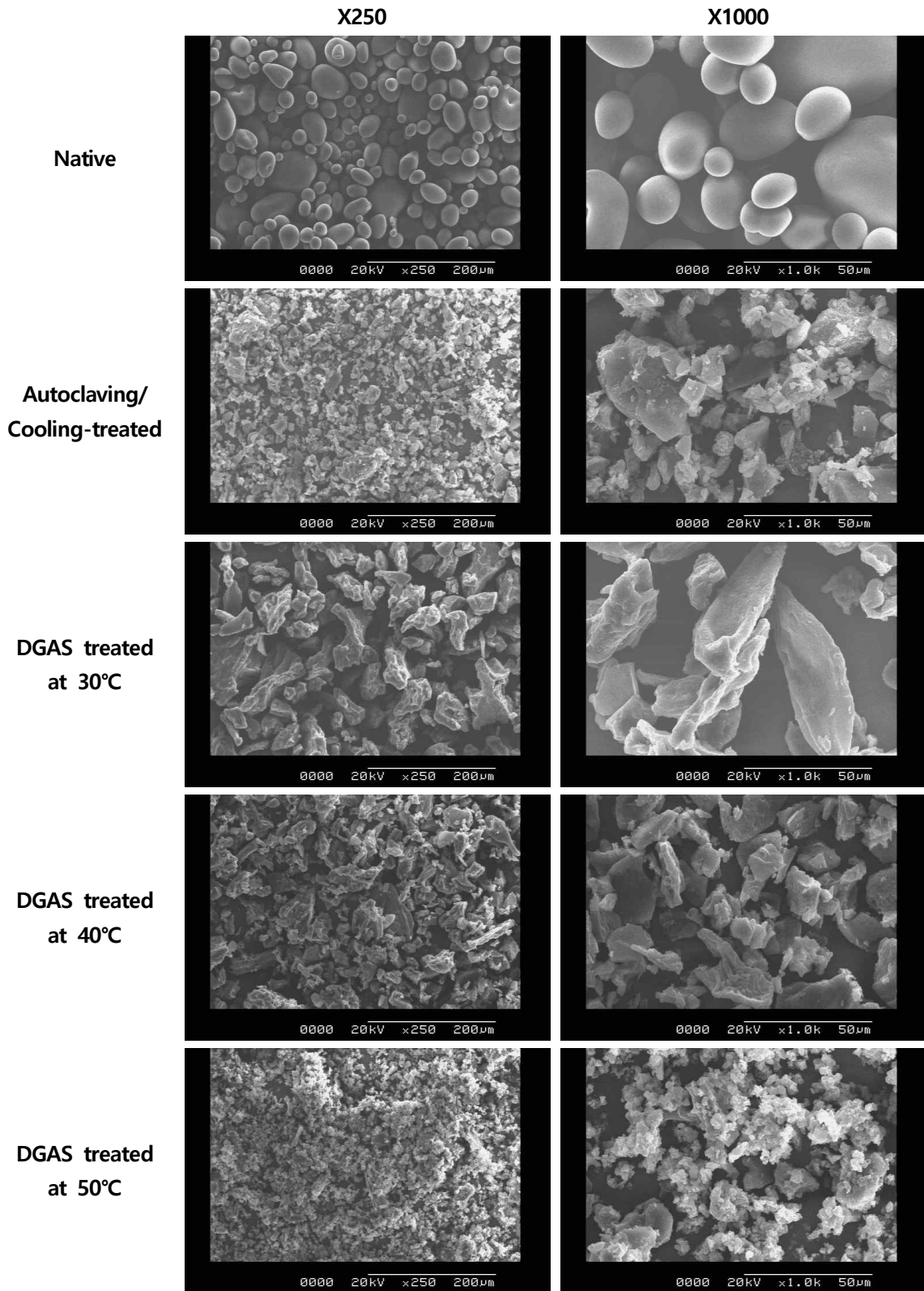


Figure 2-7. Scanning electron microscope micrographs of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated potato starches.

생전분은 ASase 효소와 반응이 일어나지 않아 호화 후 식힌 다음 반응을 하게 된다. 이때 효소를 첨가 하지 않고 감자 전분을 호화 후 식힌 샘플이 autoclaving/cooling-treated 이다. Autoclaving/cooling-treated 샘플이 천연 감자 전분에 비하여 평균 입도가 증가되었는데, 이는 호화에 의하여 전분의 granular 구조가 파괴 된 후, 식히는 과정에서 노화가 되어 재결합화가 일어나기 때문이다. DGAS를 이용하여 제조된 변성 감자 전분의 평균 입자 크기가 천연 전분 (native)에 비하여 증가하였다. 50°C 에서 반응한 변성 감자 전분의 입자는 천연 감자 전분보다 입자 크기가 작게 나타났다. DGAS 수식 변성 감자 전분이 autoclaving/cooling처리 감자 전분에 비하여 입도 크기가 감소하였는데, 이는 기존 NPAS 수식 쌀, 보리, 옥수수 전분의 결과와 일치한다.

DGAS 수식 변성 감자 전분의 granular 구조를 확인하기 위하여, 주사전자현미경 (Scanning electron microscope, SEM)을 사용하여 확인하였다(Figure 2-7). 천연 감자 전분의 granular은 타원형의 매끈한 형태로 나타났다. 이에 반해, DGAS 처리 및 Autoclaving/cooling 처리 전분의 granular 구조가 파괴 되었으며, 불규칙한 모양으로 나타났다. 이는 효소반응을 위하여 전분 granular을 파괴하는 호화과정을 거친 후, 반응 중 또는 반응 후의 전분의 재결정화가 이루어진 것으로 사료된다. 이는 기존의 NPAS를 이용하여 보리, 쌀, 옥수수 전분과 반응한 변성 전분의 SEM 결과와 동일하였다. 또한 변성 감자 전분의 재결정화 모양이 전부 다르다는 것을 확인 할 수 있는데, 이는 전분의 granular 구조가 파괴되고, DGAS가 반응하면서 노출된 amylopectin과 amylose에 포도당이 전이 되면서 구조가 변형되고, 변형된 amylopectin과 amylose가 감자 전분의 재결정에 영향을 준 것으로 사료된다.

Table 2-3. Pasting characteristics for native, autoclaving/cooling-treated and DGAS-treated potato starches

Sample	Pasting Temperature (°C)	Viscosity(cP)				
		Peak 1	Trough 1	Breakdown	Final Viscosity	Setback
Native	67.00 ± 0.07 ^{1(d2)}	7201.00 ± 82.02 ^a	2143.00 ± 63.64 ^b	5058.00 ± 18.38 ^a	2421.50 ± 72.83 ^b	278.50 ± 9.19 ^d
Autoclaving/ Cooling-treated	88.98 ± 1.10 ^a	2956.50 ± 37.48 ^b	2606.00 ± 53.74 ^a	350.50 ± 16.26 ^c	3594.50 ± 4.95 ^a	988.50 ± 48.79 ^a
DGAS treated at 30°C	64.28 ± 0.11 ^e	961.00 ± 9.90 ^e	931.00 ± 14.14 ^d	30.00 ± 4.24 ^e	1312.00 ± 4.24 ^d	381.00 ± 18.38 ^c
DGAS treated at 40°C	86.05 ± 0.49 ^b	1439.50 ± 55.86 ^c	1210.50 ± 72.83 ^c	229.00 ± 16.97 ^d	2091.00 ± 72.12 ^c	880.50 ± 0.71 ^b
DGAS treated at 50°C	73.05 ± 0.57 ^c	1123.00 ± 8.49 ^d	156.50 ± 3.54 ^e	966.50 ± 4.95 ^b	241.50 ± 4.95 ^e	85.00 ± 1.41 ^e

¹⁾Mean ± S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05)

DGAS 수식 변성 감자 전분의 호화특성을 확인하기 위하여, AACC Method 61-02에 의하여 RVA (Rapid Visco Analyzer)를 이용하여 측정하였다 (Figure 2-8, Table 2-3). DGAS 수식 변성 감자 전분이 autoclaving/cooling처리 감자 전분은 호화에 의하여 전분의 granular 구조가 파괴되어서 천연 전분의 호화 양상과는 다른 결과가 나타났다. 전분은 수분이 있는 상태에서 열을 가하게 되면 전분의 swelling이 이루어져 점도가 증가하게 되고 전분의 granular 구조가 파괴되면서 점도가 감소하게 된다. 이 후, cooling 과정에 의하여 노화가 발생하여 재결정화 되면서 점도가 다시 한 번 상승하게 된다. 하지만 DGAS 수식 변성 감자 전분이 autoclaving/cooling처리 감자 전분은 호화에 의하여 전분의 granular 구조가 파괴되고 재결정화가 이루어진 상태이기 때문에 가열시 천연 감자 전분에 비하여 점도가 상승하지 않는다. 또한 각 반응 온도에 따라 호화 양상이 다르게 나타났는데, 이는 재결정화 과정에서 DGAS 효소에 의하여 다른 형태로 재결정화가 이루어진 것으로 사료된다.

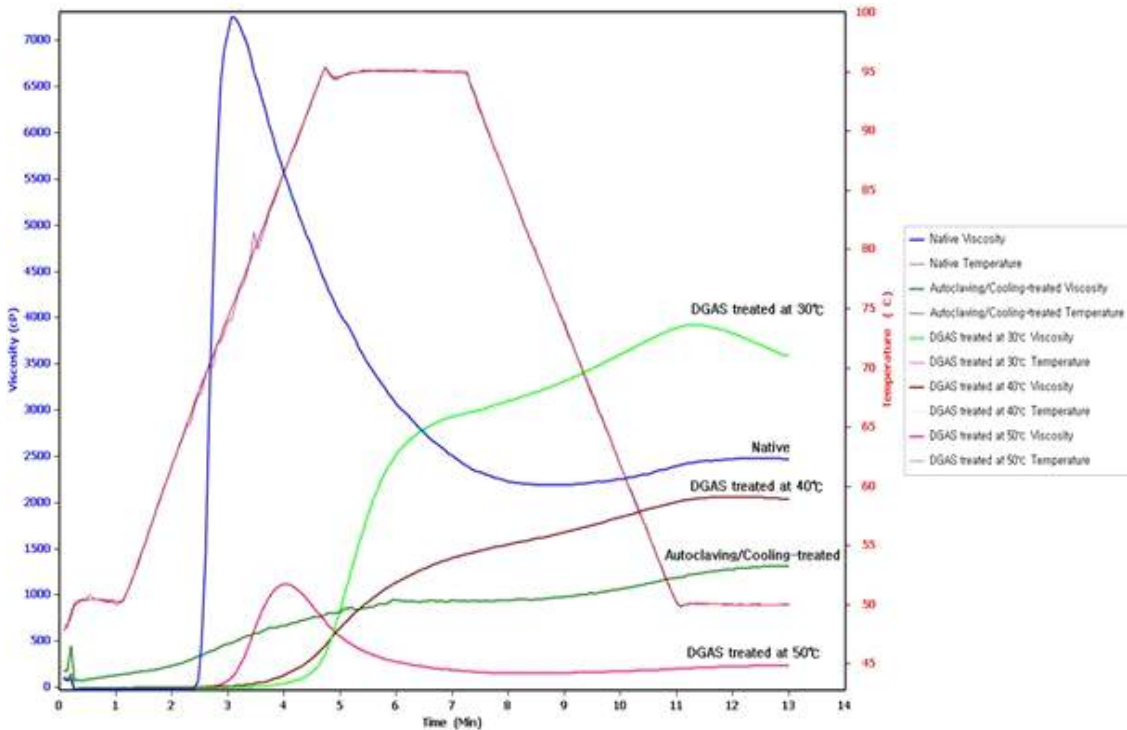


Figure 2-8. Pasting viscosity profiles of native, autoclaving/cooling-treated and DGAS-treated potato starches.

DGAS 수식 변성 감자전분의 열적 전이 (thermal transition)의 호화특성을 주사시차열량계 (DSC, Differential Scanning Calorimetry)로 측정하였다(Table 2-4). 감자 전분의 호화 후 재결정화가 이루어진 autoclaving/cooling 처리와 DGAS 반응 변성 감자 전분의 용융 온도 (onset temperature), 피크 온도 (peak temperature), 종료 온도(end temperature) 가 천연 감자 전분에 비하여 증가하였고, 용융 엔탈피 (melting enthalpy)는 감소하였다. 전이 온도 범위 (end temperature - onset temperature)는 천연 전분이 9.3°C로 autoclaving/cooling 처리와 DGAS 반응 변성 감자 전분의 전이 온도 변화 (10.2~14.1°C)보다 낮게 나타났다.

이러한 차이는 전분의 결정형 영역에 의해 영향을 받으며, 호화 후 재결정화 과정에서 DGAS의 효소 반응 영향을 받아 결정형 영역의 차이가 나타나게 된다. DGAS 처리된 변성 감자 전분의 pasting temperature는 천연 전분에 비하여 높게 나타났다. 이처럼 pasting viscosity와 pasting temperature의 변화는 변성 전분의 재결정화와 amylopectin의 길이의 변화 등에 의하여 solubility와 swelling power에 변화가 생겼기 때문이다.

Table 2-4. Thermal transition properties of native, autoclaving/cooling-treated and DGAS-treated potato starches

Sample	Onset Temperature (°C)	Peak Temperature (°C)	End Temperature (°C)	Melting Enthalpy (mJ/mg)
Native	61.62 ± 0.88 ¹⁾	66.01 ± 0.85	71.00 ± 0.95	10.48 ± 0.42
Autoclaving/ Cooling-treated	71.71 ± 0.44	81.69 ± 0.95	85.85 ± 0.33	4.50 ± 0.26
DGAS treated at 30°C	76.15 ± 0.47	82.83 ± 1.61	86.52 ± 0.40	6.03 ± 0.15
DGAS treated at 40°C	74.98 ± 0.54	82.03 ± 0.05	85.20 ± 0.21	3.87 ± 0.12
DGAS treated at 50°C	68.15 ± 0.37	77.32 ± 1.65	81.48 ± 0.93	5.46 ± 0.40

¹⁾Mean ± S.D.

이를 확인하기 위하여 반응 온도에 따라 제조한 DGAS 수식 감자전분의 solubility와 swelling power를 80°C에서 확인하였다(Figure 2-9). 용해도(solubility)는 전분의 입자 중 수용성 부분이 어느 정도 물에 용출, 용해되는 지를 알아보는 것이고 팽윤력(swelling power)은 전분입자가 팽윤하여 파괴되기 전까지 최대 수분을 흡수할 수 있는 능력을 이야기한다. 천연 감자 전분에 비하여 호화 후 재결정화가 이루어진 autoclaving/cooling 처리 감자 전분이 용해도와 팽윤력이 크게 증가 하였다. 반응온도가 증가함에 따라 DGAS 수식 변성 감자 전분의 용해도와 팽윤력이 증가하였으며, 비 효소처리인 autoclaving/cooling 처리 감자 전분에 비하여는 낮게 나타났다. 전분의 용해도 및 팽윤력은 전분의 amylose와 amylopectin의 함량, 구조에 따라 영향을 받는 것으로 알려져 있다. DGAS 반응온도에 의하여 용해도 및 팽윤력의 차이를 나타내는 것은 DGAS가 반응하는 온도에 따라 전분 구조 내부의 amylose와 amylopectin의 함량 및 구조가 다르게 변화시키는 것을 의미한다.

DGAS 수식 변성 감자 전분의 X-선 회절도 변화를 Figure 2-10에 나타내었다. X-선 회절도는 전분의 결정 상태를 측정하기 위해 이용되는 방법으로, 전분의 결정 형태에 따라 A, B, C, V type으로 구분 될 수 있다. A type은 곡류 전분의 결정 상태이고 회절각도(2θ)가 15°, 23° 근처에서 강하게 나타나며, 18° 부근에서도 두 개의 강한 피크를 보인다.

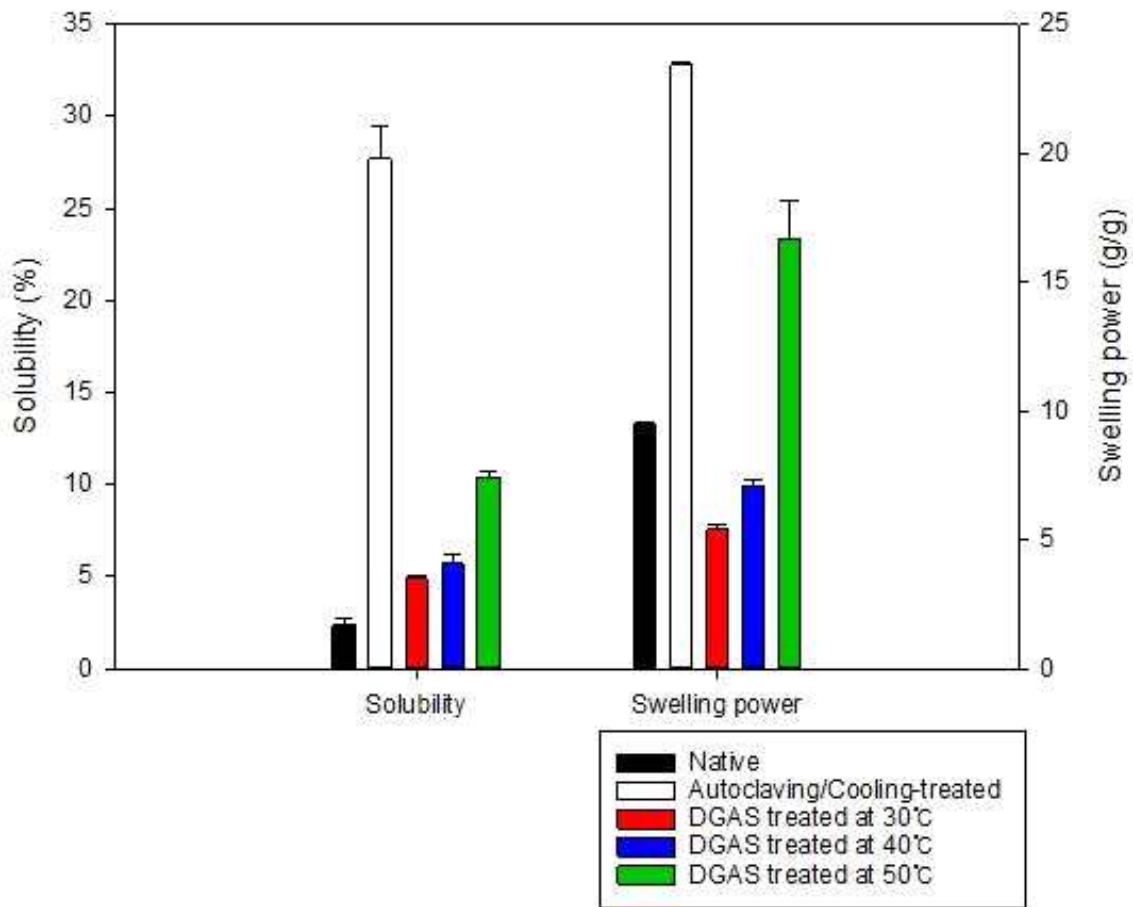


Figure 2-9. Solubility and swelling power of native, autoclaving/cooling-treated and DGAS-treated potato starches.

B type은 감자와 같은 근경류, 과일 및 줄기에서 추출된 전분들이 속하고, 회절각도(2θ) 17° 부근에서 강한 피크와 6.5° , 20° , 22° 에서 작은 피크가 나타난다. A와 B의 혼합형인 C type은 고구마, 녹두, 완두 전분이 속하고, 피크는 A type과 B type가 함께 나타난다($2\theta = 15^\circ$, 17° , 18.1° , 23.5° 부근에서 피크가 나타남). Amylose에 lipid가 포집된 것과 같이 전분에 포집된 형태인 V type천연 전분에서는 나타나지 않으며 회절각도(2θ)가 13° 와 20° 에서 강한 피크가 나타나게 된다. X-선 회절도 결과 천연 감자는 $2\theta = 5.7^\circ$, 17.2° , 19° , 22° 에서 피크가 나타나는 전형적인 B type으로 확인되었다. 호화 후 재결정이 일어난 autoclaving/cooling 처리 감자 전분과 DGAS 수식 변성 감자 전분은 유사한 X-선 회절도를 나타냈으며, $2\theta = 17^\circ$, 19° , 22° 부근에서 피크가 나타나는 B type으로 확인되었다. Amylose 함량이 높은 고아밀로스 옥수수의 경우 고유의 피크는 유지되지만, $2\theta = 6.5^\circ$ 부근의 피크가 감소하는 경향을 보인다. 이를 통하여 호화 후 재결정화 과정과 DGAS 효소 작용에 의하여 amylose관련 함량 및 구조에 영향을 받아 autoclaving/cooling 처리 감자 전분과 DGAS 수식 변성 감자 전분에서 $2\theta = 6.5^\circ$ 피크가 감소한 것으로 사료된다.

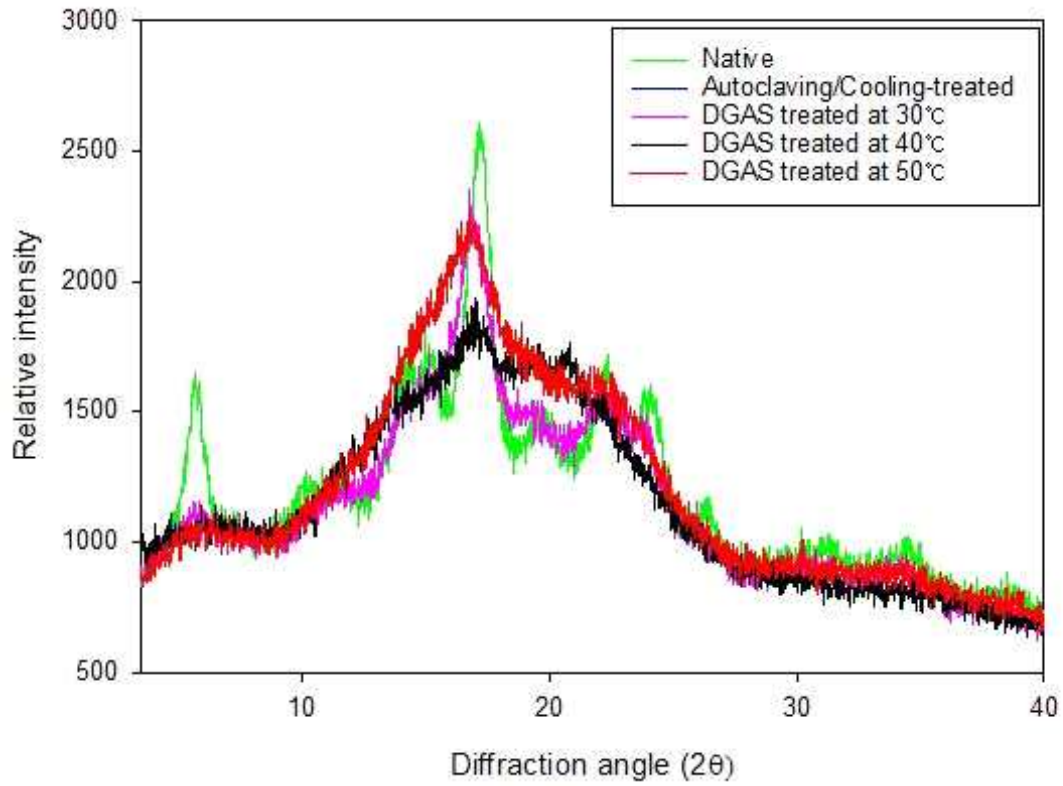


Figure 2-10. X-ray diffractogram patterns of native, autoclaving/cooling-treated and DGAS-treated potato starches.

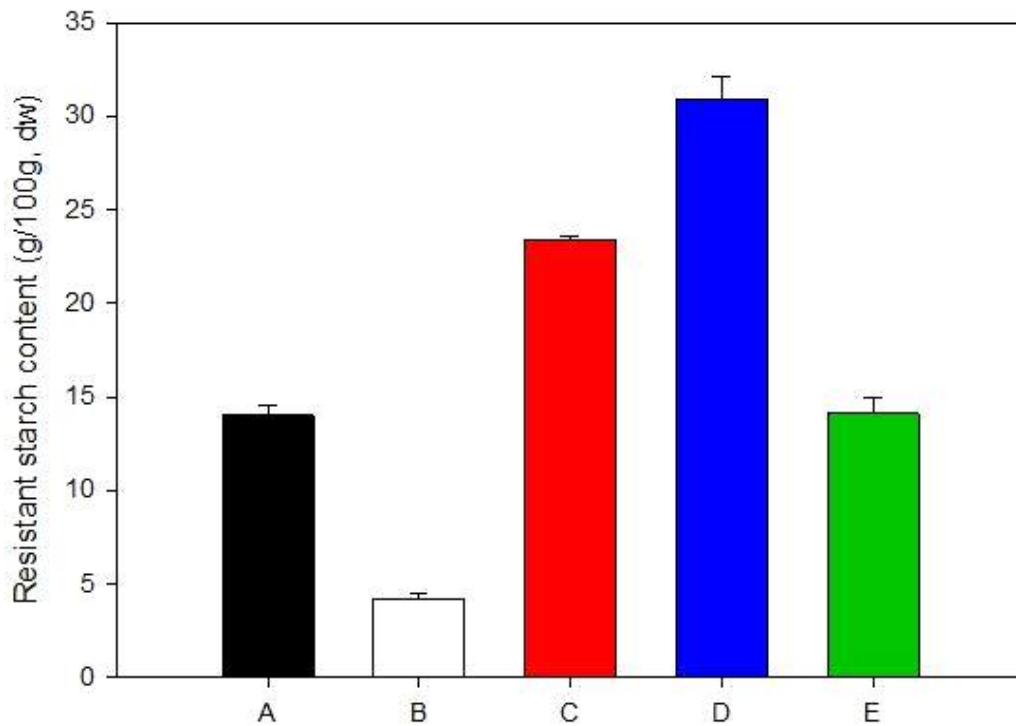


Figure 2-11. Resistant starch content of potato starch treated by DGAS; A: native starch; B: autoclaving/cooling-treated starch; C: DGAS-treated at 30°C; D: DGAS-treated at 40°C; E: DGAS-treated at 50°C.

온도에 따라 제조된 DGAS 수식 변성 감자 전분의 난소화성을 확인하기 위하여, 저항전분 (resistant starch, RS)의 함량을 확인하였다 (Figure 2-11). Autoclaving/cooling 처리 감자 전분의 저항 전분 함량은 4.2%로 천연 감자 전분 (14%) 보다 감소하였다. 이에 반하여 DGAS 수식 변성 감자 전분의 저항전분함량이 autoclaving/cooling 처리 감자전분에 비하여 크게 증가하였으며, 반응 온도에 따라서 30°C 반응 시 23.4%, 40°C 반응 시 30.9%, 50°C 반응 시 14.1%로 나타났다. 40°C 에서 반응한 DGAS 수식 변성 감자 전분의 RS함량이 가장 높은 이유는 DGAS는 40°C 부근에서 가장 높은 효소 활성을 나타나기 때문으로 사료된다. 일반적으로 호화 후 노화된 전분은 RS가 증가하는 것으로 알려져 있는데, autoclaving/cooling 처리 감자 전분은 RS값이 오히려 감소하였다. 이는 cooling 온도가 40°C로 급격한 노화가 일어나지 않았음을 의미하며 재결정화 과정에서 탄수화물 분해 효소들이 잘 작용하는 형태로 결정화 된 것으로 사료된다. 이에 반해 DGAS 수식 변성 감자 전분은 DGAS 반응에 의하여 amylose 및 amylopectin의 함량 및 구조가 변경되어 탄수화물 분해 효소들이 작용을 어려운 형태로 재결정화된 것으로 사료된다.

(2) 반응 온도에 따른 효소수식 변성 고구마전분 제조 및 특성 확인

고구마 전분은 감자 전분보다 입도크기가 작으며, 다양한 형태의 granular가 존재하는 것이 특징이다. 이에 DGAS를 이용하여 효소 반응 온도를 다르게 하여 (30, 40, 50°C) 고구마 전분과 반응하여 DGAS 수식 변성 고구마 전분을 제조하였다. 각 온도별 수율은 초기 고구마 전분 투입량 대비로 확인하였을 때, 30°C 반응 시 78.25%, 40°C 반응 시 70.03%, 50°C 반응 시 61.05%로 감자와 마찬가지로 온도가 증가함에 따라 효소 수식 변성 고구마 전분의 효율이 감소하는 것으로 나타났다. 이는 DGAS는 반응 온도에 따라 당전이 활성보다 가수분해 활성이 큰 것으로 알려져 있으며, 이 때문에 온도가 증가함에 따라 효소 수식 변성 고구마 전분의 수율이 감소하는 것으로 사료된다. 하지만, 감자와 같이 가장 낮은 반응 수율이 61.05%로 이는 DGAS가 효소 수식 변성 고구마 전분 합성에 산업적으로 활용가치가 있다고 할 수 있다.

반응 온도에 따라 제조된 DGAS 수식 변성 고구마 전분의 입도를 입도 분석기를 통하여 분석하였다(Table 2-5). 감자 전분 결과와 같이, 천연 전분 (native)에 비하여 autoclaving/cooling 처리와 DGAS 효소 처리 고구마 전분 입도의 분포가 크게 나타났다. 일반적으로 고구마 전분의 평균 입도 크기는 14~20 μm 이지만 호화와 재결정에 의하여 autoclaving/cooling 처리와 DGAS 효소 처리 고구마 전분 입도가 42~65 μm 로 재결정화 된 것으로 확인되었다. 반응 온도가 증가함에 따라 평균 입도 크기가 증가하였으며, 40와 50°C에서 반응한 DGAS 수식 고구마 전분의 입도 분포 및 평균 입도 크기는 유의적 차이가 나타나지 않았다. 30°C에서 반응한 DGAS 수식 고구마 전분의 입도는 7~84 μm 범위로 호화 후 재결정 고구마 전분 중에 가장 작은 입도 크기를 나타났다. 호화 후 재결정화의 입도 분포 및 평균 입도크기의 변화는 고구마 전분에 DGAS가 반응하여 전분 내의 amylose와 amylopectin의 구조를 변형시켜 유래된 결과로 사료된다.

Table 2-5. Particle size profile of native, autoclaving/cooling-treated and DGAS-treated sweet potato starches

Sample	Particle size(μm)			Mean Diameter
	Diameter at 10.00 %	Diameter at 50.00 %	Diameter at 90.00 %	
Native	6.56	16.43	27.64	16.86 \pm 0.05 ^{1)d2)}
Autoclaving/ Cooling-treated	9.64	40.04	117.19	53.14 \pm 4.24 ^b
DGAS treated at 30°C	7.72	36.87	83.85	42.00 \pm 0.53 ^c
DGAS treated at 40°C	14.00	56.16	123.88	64.03 \pm 1.17 ^a
DGAS treated at 50°C	8.90	63.49	124.61	65.07 \pm 0.93 ^a

¹⁾Mean \pm S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different ($p < 0.05$)

각 처리군의 granular를 주사전자현미경 (Scanning electron microscope, SEM)을 사용하여 확인하였다 (Figure 2-12). 고구마 전분의 입자 모형은 표면이 매끈하며 대부분 등글거나 타원형 이었다. 국내산 고구마의 경우 골이 파진 종 모양 입자를 관찰 할 수 있다. 하지만, 호화 후 재결화가 일어난 autoclaving/cooling 처리와 DGAS 효소 처리 고구마 전분 입자는 모양은 불규칙적이며 표면이 거칠고 일부 서로 뭉치는 현상을 확인 할 수 있었다. 40와 50°C 에서 반응한 DGAS 수식 고구마 전분의 입자는 서로 뭉치는 있는 현상이 크게 나타났으며, 30°C 에서 반응한 DGAS 수식 고구마 전분은 불규칙적인 입자가 고르게 퍼져 있는 것으로 관찰되었다.

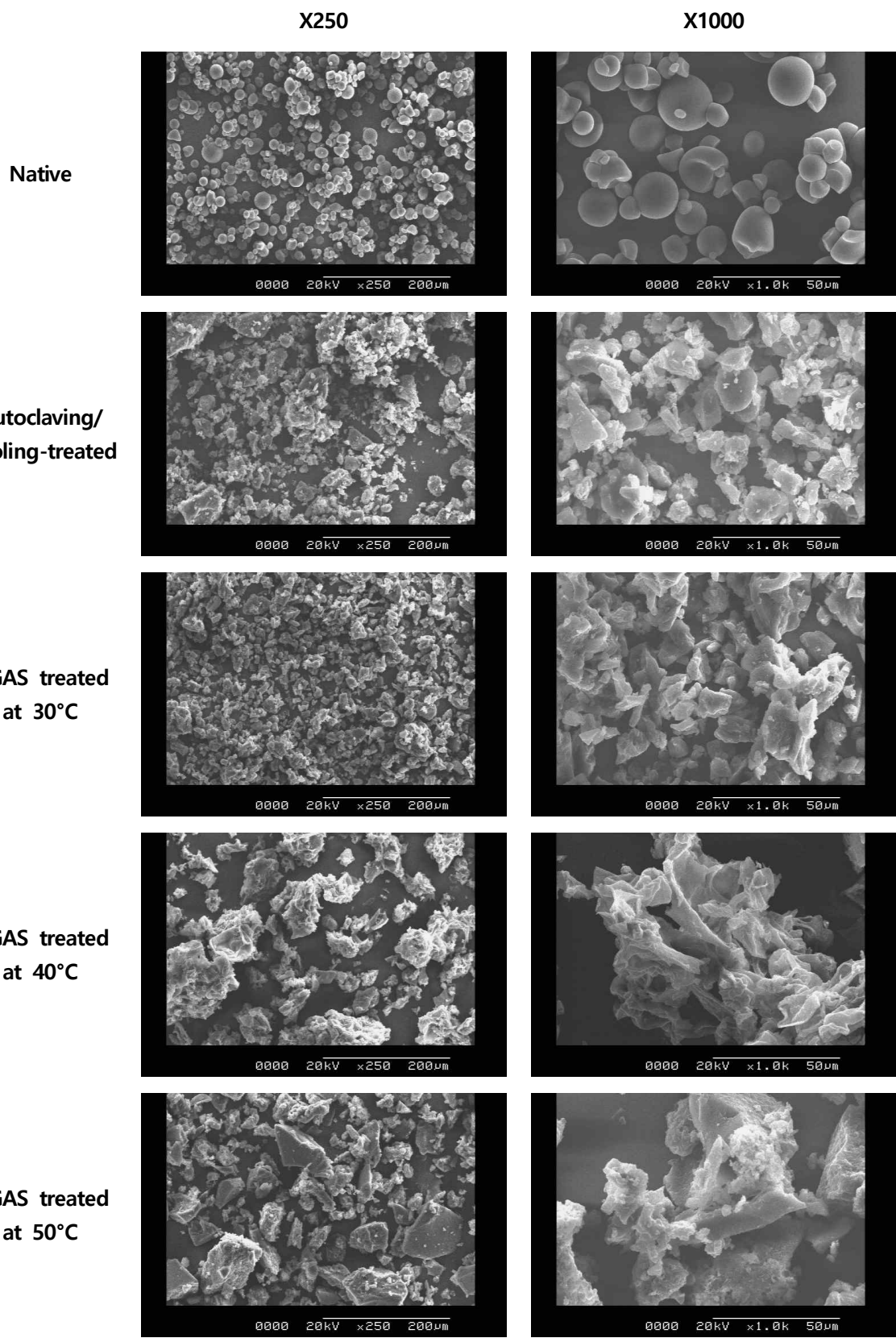


Figure 2-12. Scanning electron microscope micrographs of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated sweet potato starches.

전분 입자의 크기, 형태 및 분포는 호화 및 노화 특성, 페이스트 특성, 팽윤 특성 등에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 이에 호화에 의한 페이스트 특성을 확인해 보기 위하여 RVA (Rapid Visco Analyzer)를 이용하여 측정하였다 (Figure 2-13. Table 2-6). 일반적으로 호화 후 재결정화 된 전분은 RVA에서 열에 의하여 점도를 나타내는 페이스트 특성이 없는 것으로 알려져 있다. 흥미롭게도, 30°C 에서 반응한 DGAS 수식 변성 고구마 전분은 천연 고구마 전분과 유사한 호화 양상이 나타났다. 호화 개시 온도 (pasting temperature)가 천연 전분인 78.38°C 에 비하여, 30°C 반응 DGAS 수식 변성 고구마 전분은 87.88°C로 약 9°C 높게 나타났다. 30°C 반응 DGAS 수식 변성 고구마 전분의 최고 점도는 1678.50 cP로 천연 고구마 전분의 최고 점도인 1693.50 cP와 유사하였으며, 호화 중 열 전단에 대한 저항성을 나타내는 강하점도 (Breakdown)와 전분 노화 현상에 대한 척도를 나타내는 치반점도 (Setback) 모두 천연 고구마 전분에 비하여 낮게 나타났다. 이는 30°C 반응 DGAS 수식 변성 고구마 전분이 천연 전분에 비하여 노화양상이 다르다는 것을 이야기한다. 점도의 변화로 계산된 전분페이스트의 안정성 (stability ratio=through viscosity/peak viscosity)는 천연 고구마 전분이 0.81, 30°C 반응 DGAS 수식 변성 고구마 전분이 0.89로 30°C 에서 DGAS로 반응한 변성 고구마 전분이 높게 나타났다. Autoclaving/cooling 처리와 40°C 및 50°C 에서 반응한 변성 고구마 전분은 기존 호화 후 재결정화를 이룬 전분들과 유사한 호화 양상이 나타났다. 40°C 에서 DGAS로 반응한 변성 고구마 전분은 천연전분에 비하여 절반정도의 점도를 나타냈다.

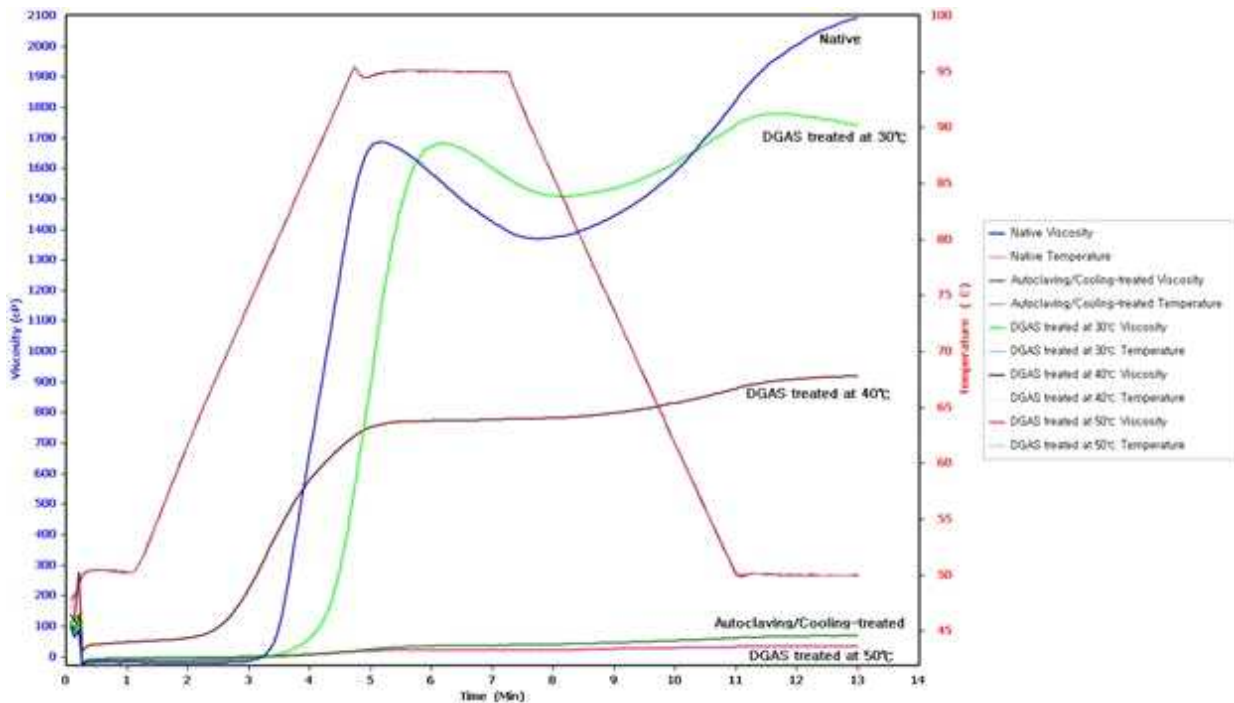


Figure 2-13. Pasting viscosity profiles of native, autoclaving/cooling-treated and DGAS-treated sweet potato starches.

Table 2-6. Pasting characteristics for native, autoclaving/cooling-treated and DGAS-treated sweet potato starches

Sample	Pasting Temperature (°C)	Viscosity(cP)				
		Peak 1	Trough 1	Breakdown	Final Viscosity	Setback
Native	78.38 ± 0.04 ^{1) b2)}	1693.50 ± 7.78 ^a	1373.50 ± 4.95 ^b	320.00 ± 2.83 ^a	2100.00 ± 12.73 ^a	726.50 ± 7.78 ^a
Autoclaving/ Cooling-treated DGAS treated at 30°C	51.80 ± 0.00 ^d	40.50 ± 3.54 ^d	38.00 ± 2.83 ^d	2.50 ± 0.71 ^c	71.00 ± 2.83 ^d	33.00 ± 0.00 ^d
DGAS treated at 40°C	87.88 ± 0.53 ^a	1678.50 ± 6.36 ^b	1507.00 ± 4.24 ^a	171.50 ± 2.12 ^b	1746.00 ± 2.83 ^b	239.00 ± 7.07 ^b
DGAS treated at 50°C	71.03 ± 0.04 ^c	777.00 ± 0.00 ^c	773.00 ± 0.00 ^c	4.00 ± 0.00 ^c	920.50 ± 2.12 ^c	147.50 ± 2.12 ^c
DGAS treated at 50°C	52.40 ± 2.90 ^d	23.00 ± 0.00 ^e	21.00 ± 1.41 ^e	2.00 ± 1.41 ^c	35.00 ± 0.00 ^e	14.00 ± 1.41 ^e

¹⁾Mean ± S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

DGAS 수식 변성 고구마 전분의 열적 전이 (thermal transition)의 소화특성을 주사시차열량계 (DSC, Differential Scanning Calorimetry)로 측정하였다(Table 2-7). 감자 전분 연구와 마찬가지로 고구마 전분도 소화 후 재결정화가 이루어진 autoclaving/cooling 처리와 DGAS 반응 변성 고구마 전분의 용융 온도 (onset temperature), 피크 온도 (peak temperature), 종료 온도(end temperature) 가 천연 감자 전분에 비하여 증가하였고, 용융 엔탈피 (melting enthalpy)의 차이가 나타났다. 전이 온도 범위 (end temperature - onset temperature)는 천연 감자 전분이 16.07°C로 autoclaving/cooling 처리와 DGAS 반응 변성 고구마 전분의 전이 온도 변화 (13.00~14.72°C)보다 높게 나타났다.

Table 2-7. Thermal transition properties of native, autoclaving/cooling-treated and DGAS-treated sweet potato starches.

Sample	Onset Temperature (°C)	Peak Temperature (°C)	End Temperature (°C)	Melting Enthalpy (mJ/mg)
Native	61.66 ± 0.25 ¹⁾	70.35 ± 1.42	77.73 ± 0.33	7.35 ± 0.16
Autoclaving/ Cooling-treated DGAS treated at 30°C	78.96 ± 0.49	89.18 ± 0.69	93.68 ± 2.07	5.87 ± 0.22
DGAS treated at 40°C	77.57 ± 1.38	85.66 ± 0.93	91.23 ± 1.39	6.41 ± 0.21
DGAS treated at 50°C	76.85 ± 1.24	84.69 ± 2.79	89.85 ± 0.96	7.45 ± 0.42
DGAS treated at 50°C	77.35 ± 0.54	84.69 ± 1.82	90.85 ± 1.62	8.65 ± 0.07

¹⁾Mean ± S.D.

이러한 차이는 전분의 결정형 영역에 의해 영향을 받으며 호화 후 재결정화 과정에서 DGAS의 효소 반응 영향을 받아 결정형 영역의 차이가 나타나게 된다. 또한 전이 온도 변화 및 용융 엔탈피는 감자 전분과 다른 차이를 나타내는데, 이는 DGAS가 고구마 전분과 반응할 때 감자 전분과는 다르게 반응하여 감자 전분과는 다른 형태의 재결정화를 발생시키는 것으로 생각할 수 있다. DGAS 처리된 변성 고구마 전분의 호화특성이 천연 전분과 다르게 나타났는데, 이는 변성 전분의 재결정화와 amylopectin의 길이의 변화 등에 의하여 solubility와 swelling power에 변화가 생겼기 때문이다.

이를 확인하기 위하여 반응 온도에 따라 제조한 DGAS 수식 고구마 전분의 solubility와 swelling power를 80°C에서 확인하였다(Figure 2-14). 천연 고구마 전분에 비하여 호화 후 재결화가 이루어진 autoclaving/cooling 처리 고구마 전분이 용해도와 팽윤력이 크게 증가하였다. 반응온도가 증가함에 따라 DGAS 수식 변성 고구마 전분의 팽윤력이 증가하였지만, 비효소처리인 autoclaving/cooling 처리 고구마 전분에 비하여는 낮게 나타났다. 흥미롭게도 30°C와 40°C에서 반응한 DGAS 수식 변성 고구마 전분의 용해도와 팽윤력이 유사한 반면 50°C에서 반응한 DGAS 수식 변성 고구마 전분의 용해도와 팽윤력이 크게 증가하였다. 전분의 용해도 및 팽윤력은 전분의 amylose와 amylopectin의 함량, 구조에 따라 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 고구마 전분을 DGAS와 50°C와 반응시 30, 40°C와 다르게 전분 구조 내부의 amylose와 amylopectin의 함량 및 구조를 크게 변화시키는 것을 의미한다.

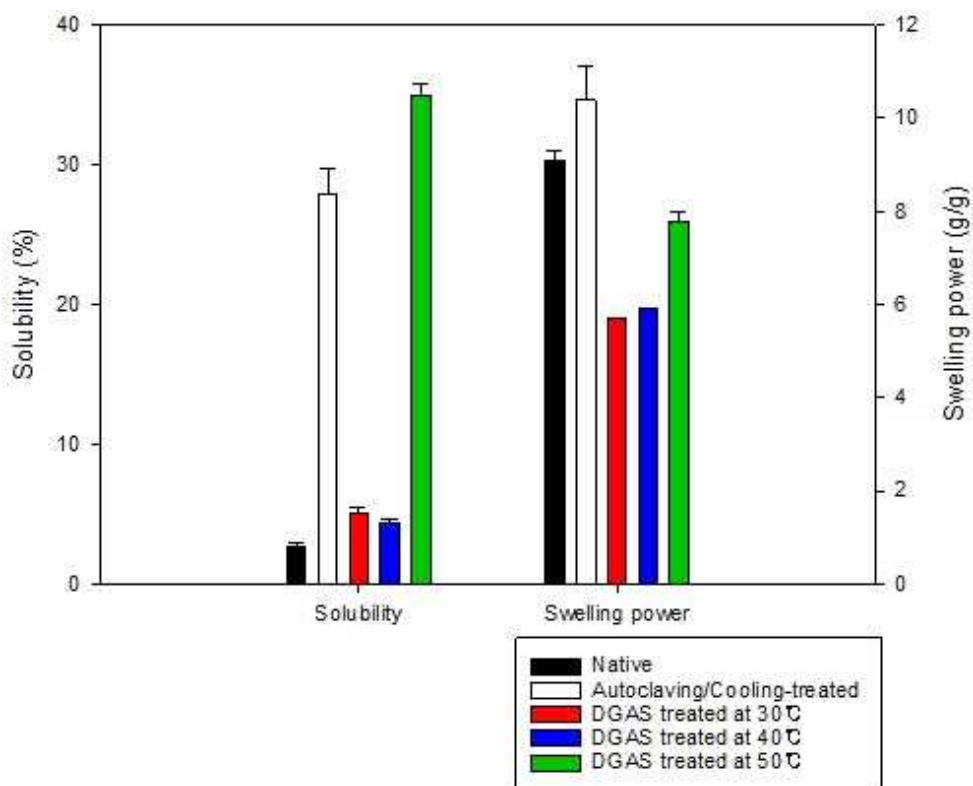


Figure 2-14. Solubility and swelling power of native, autoclaving/cooling-treated and DGAS-treated sweet potato starches.

DGAS 수식 변성 감자 전분의 X-선 회절도 변화를 Figure 2-15 에 나타내었다. 천연 고구마 전분은 X-선 회절도가 $2\theta = 15.2^\circ$, 17.2° , 18.0° , 23.1° 에서 피크가 나타났으며 A와 B type이 혼합된 C type 으로 나타났다. 이에 반하여, 호화 후 재결정이 일어난 autoclaving/cooling 처리 고구마 전분과 DGAS 수식 변성 고구마 전분은 천연 고구마 다른 X-선 회절 패턴이 나타났으며 $2\theta = 17^\circ$, 22° 에서 피크가 나타나고 일부 19° 부근에서 피크가 나타난 B type 형태로 나타났다. A type과 B type이 혼재된 고구마 전분은 호화 후 재결정화를 이루면서 B type 형태로만 존재한다는 것을 의미한다.

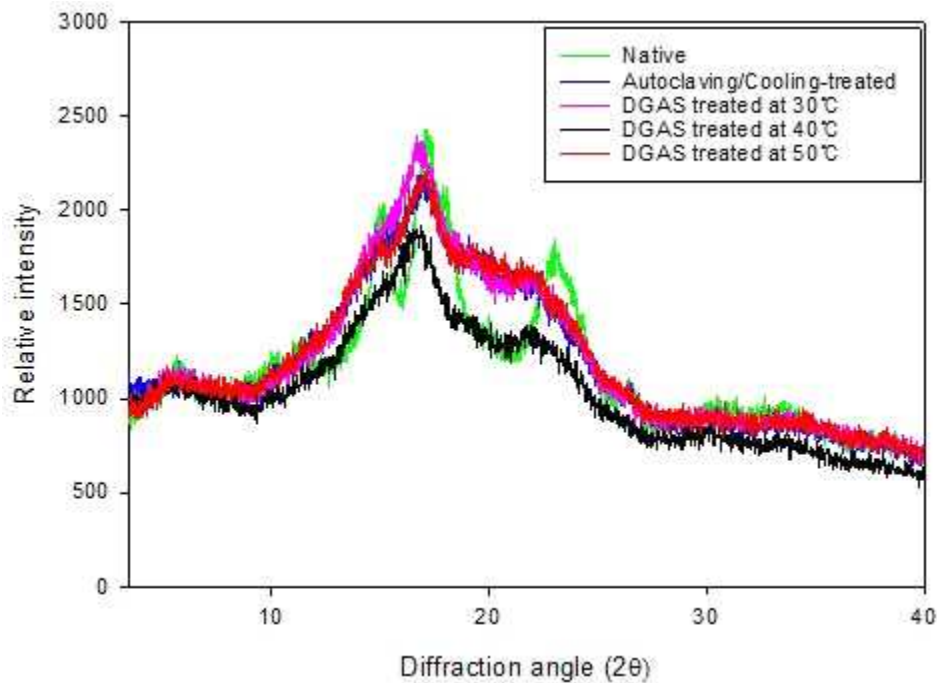


Figure 2-15. X-ray diffractogram patterns of native, autoclaving/cooling-treated and DGAS-treated potato starches.

온도에 따라 제조된 DGAS 수식 변성 고구마 전분의 난소화성을 확인하기 위하여, 저항 전분 (resistant starch)의 함량을 확인하였다(Figure 2-16). DGAS 수식 변성 고구마 전분의 저항전분 함량은 반응 온도에 따라서 30°C는 22.7%, 40°C는 25.1%, 50°C는 8.8%로 30°C와 40°C 반응한 DGAS 변성 고구마 전분의 RS값은 유의적 차이가 없이 비슷하였지만, 50°C 반응에서 급격히 감소한 것을 확인 할 수 있었다. 용해도와 팽윤력 측정에서도 50°C 반응 고구마 전분에서 큰 변화가 나타나났으며 autoclaving/cooling 처리 고구마 전분과 용해도, 팽윤력 및 RS 함량이 유사하게 나타났다. 이는 고구마 전분이 호화 후 50°C 반응에서 DGAS가 효율적으로 반응이 일어나지 않음을 의미한다.

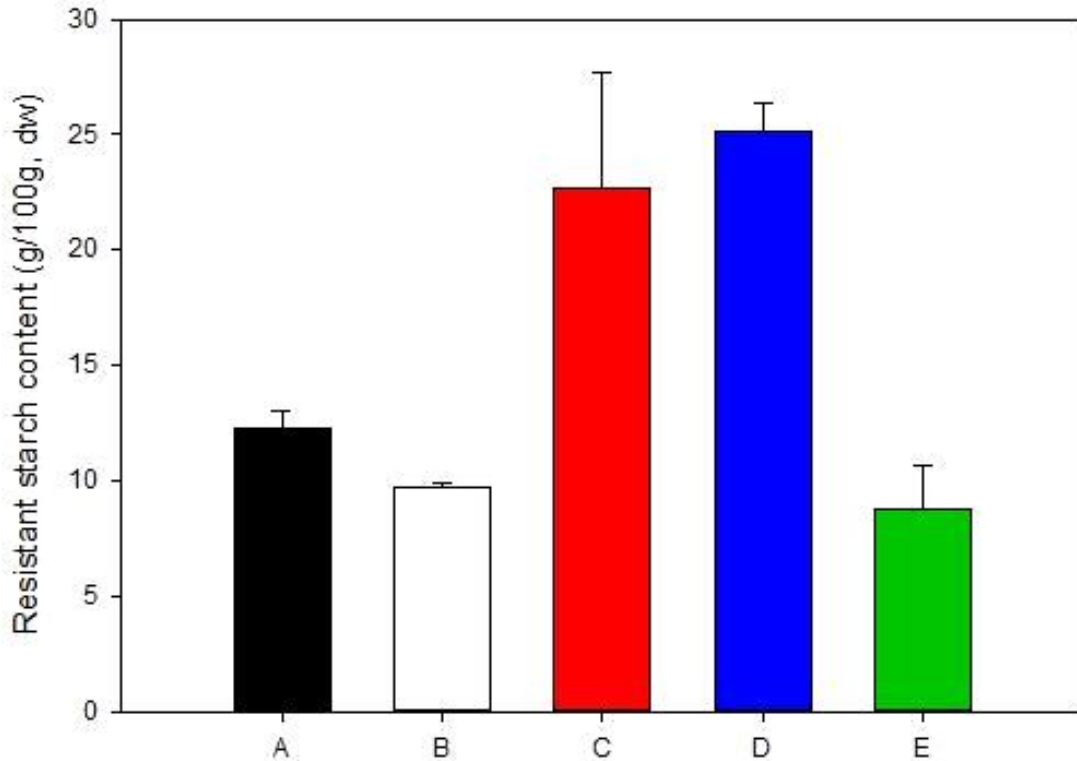


Figure 2-16. Resistant starch content of sweet potato starch treated by DGAS; A: native starch; B: autoclaving/cooling-treated starch; C: DGAS-treated at 30°C; D: DGAS-treated at 40°C; E: DGAS-treated at 50°C.

(3) ASase 종류에 따른 효소수식 변성 멥쌀전분 제조 및 특성 확인

일반적으로 ASase 수식 변성 전분 제조에는 *Neisseria polysaccharea* 유래 ASase (NPAS) 를 이용해 왔다. NPAS는 높은 polymerization activity로 amylose 합성 능력을 뛰어나며, 옥수수 및 보리 전분에 높은 변성 전분 생성 능력을 가지고 있다. 하지만 NPAS는 낮은 열안정성은 산업적으로 활용에 어려움이 있다. 이에 반해 *Deinococcus geothermalis* 유래 ASase (DGAS)는 높은 열안정성이 가지고 있어 산업적 활용성이 잠재력이 크지만, DGAS를 활용하여 변성전분 생산에 관한 연구가 전무한 상태이다. 이에 DGAS와 NPAS를 활용하여 변성 쌀 전분을 생산하고, 이의 물리화학적 특성을 비교하고자 하였다. 멥쌀 전분은 amylose 20%, amylopectin 80%로 이루어져 있으며, 입도 크기가 작은 것으로 알려져 있다. 멥쌀에서 추출한 멥쌀 전분에 DGAS와 NPAS를 35°C, 48시간 교반하여 반응하였다. 반응은 5L 반응기에서 교반하며 대량 반응을 수행하였다. 투입된 멥쌀 전분 대비 생성된 ASase 수식 멥쌀 전분 생산 효율은 DGAS는 126.10%, NPAS는 198.55%로 나타났다. 감자와 고구마 전분에 비하여 높은 생산 효율이 나타났다. 이는 멥쌀 전분은 입도 크기가 작고 모양이 다각형으로 표면적이 감자 및 고구마 전분에 비하여 커 ASase가 반응이 더 활발히 일어나는 것으로 사료된다.

ASase 종류에 따라 제조된 ASase 수식 변성 멥쌀 전분의 입도를 입도 분석기를 통하여 분석하였다(Table 2-8). 천연 멥쌀 전분의 입도 범위는 1~11 μm 로 감자 및 고구마 전분에 비하여 입도 크기가 작았다. 멥쌀 전분은 호화 후 재결정화가 일어나면서 입도의 분포 6~110 μm 로 천연 멥쌀 전분에 비하여 넓게 나타났다. 천연 멥쌀 전분의 평균 입도는 5.78 μm 에 반해, autoclaving/cooling 처리 멥쌀 전분, DGAS 처리 멥쌀 전분, NPAS 처리 멥쌀 전분은 각각 54.23 μm , 47.11 μm , 32.12 μm 로 나타났다. ASase 처리에 의하여 재결정화 입도의 크기가 작아졌으며, NPAS가 DGAS에 비하여 호화 후 재결정시 더 작은 입도크기로 나타났다. 이는 NPAS와 DGAS가 멥쌀과 반응하여 전분 내의 amylose와 amylopectin의 구조를 다르게 변형시켜 유래된 결과로 사료된다.

Table 2-8. Particle size profile of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated nonglutinous rice starches.

Sample	Particle size(μm)			Mean Diameter
	Diameter at 10.00 %	Diameter at 50.00 %	Diameter at 90.00 %	
Native	1.98	5.54	9.64	5.78 \pm 0.03 ^{1)d2)}
Autoclaving/ Cooling-treated	12.24	39.38	110.22	54.23 \pm 2.96 ^a
DGAS treated	8.47	48.08	80.99	47.11 \pm 1.22 ^b
NPAS treated	6.67	28.80	62.47	32.12 \pm 0.15 ^c

¹⁾Mean \pm S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different ($p < 0.05$)

DGAS와 NPAS 처리 멥쌀 전분의 granular를 주사전자현미경 (Scanning electron microscope, SEM)을 사용하여 확인하였다(Figure 2-17). 천연 멥쌀 전분은 표면이 매끄럽고 다각형의 입자 형태로 관찰되었다. 호화 후 재결정화 된 autoclaving/cooling 처리 멥쌀 전분, DGAS 수식 변성 멥쌀 전분, NPAS 수식 변성 멥쌀 전분은 granular형태가 깨지고 서로 불규칙적으로 결합된 형태로 나타났다. 입도의 크기는 NPAS 수식 변성 멥쌀 전분이 가장 작은 형태로 촘촘하게 분포되었고, DGAS 수식 변성 멥쌀 전분은 표면이 울퉁불퉁하고 다양한 크기 형태로 존재하였다. ASase 수식 변성 멥쌀 전분은 비 효소처리인 autoclaving/cooling 처리 멥쌀 전분에 비하여 불규칙 형태의 작은 입자가 더 많이 관찰되었다. 이는 멥쌀 전분이 호화 후 재결정화 과정에서 ASase에 의하여 구조가 변경되고 NPAS와 DGAS 두 효소 차이가 있음을 의미한다.

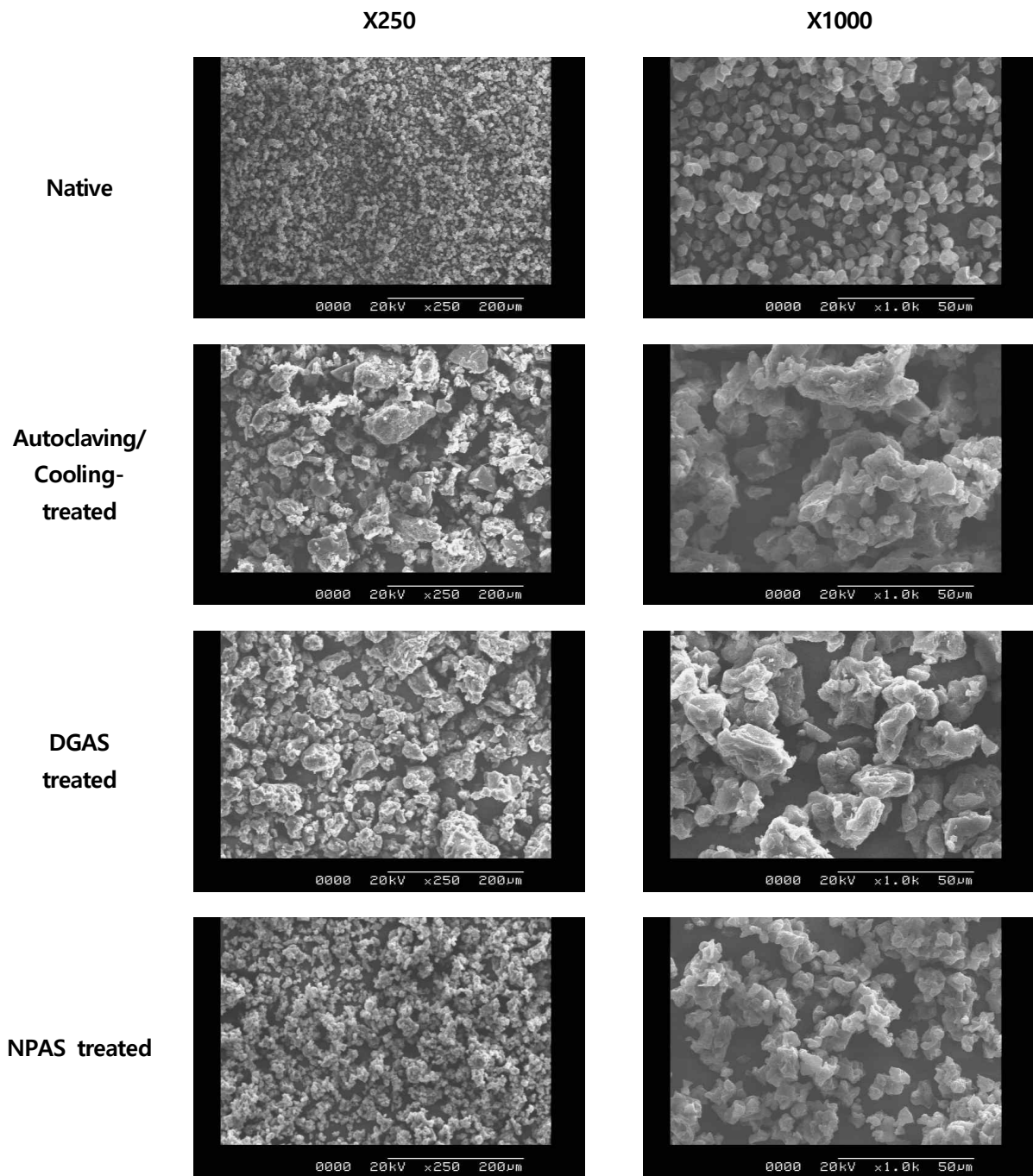


Figure 2-17. Scanning electron microscope micrographs of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated nonglutinous rice starches.

ASase 수식 멥쌀 전분의 호화에 의한 페이스트 특성을 확인해 보기 위하여 RVA (Rapid Visco Analyzer)를 이용하여 측정하였다(Figure 2-18, Table 2-9). 천연 멥쌀 전분의 호화 개시온도 (pasting temperature)는 68.68°C로 기존 연구에서 알려진 멥쌀호화개시온도 65~69°C와 유사한 호화 양상이 나타났다.

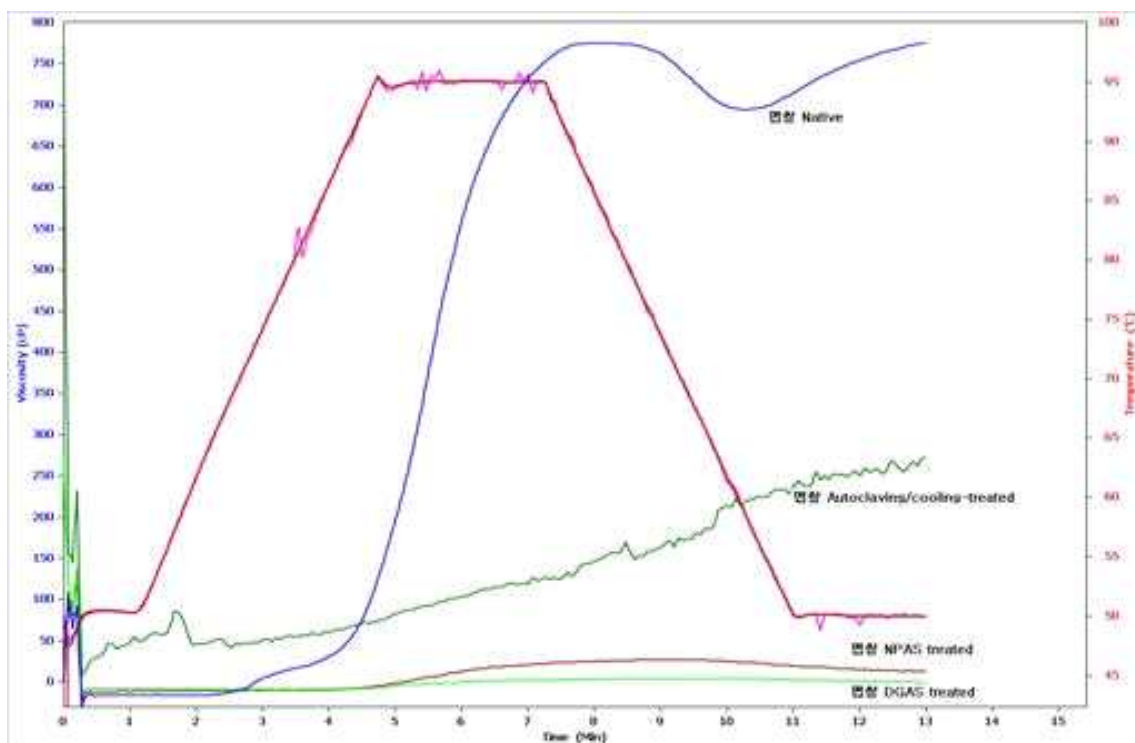


Figure 2-18. Pasting viscosity profiles of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated nonglutinous rice starches.

Table 2-9. Pasting characteristics for native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated nonglutinous rice starches

Sample	Pasting Temperature (°C)	Viscosity(cP)				
		Peak 1	Trough 1	Breakdown	Final Viscosity	Setback
Native	68.68 ± 0.04 ^{1)a2)}	726.50 ± 7.78 ^a	571.50 ± 10.61 ^a	155.00 ± 2.83 ^a	769.50 ± 7.78 ^a	198.00 ± 2.83 ^a
Autoclaving/ Cooling-treated	50.48 ± 0.04 ^b	140.00 ± 26.87 ^b	123.00 ± 25.46 ^b	17.00 ± 1.41 ^b	275.50 ± 4.95 ^b	152.50 ± 20.51 ^b
DGAS treated	50.63 ± 0.46 ^b	-1.00 ± 0.00 ^c	-2.50 ± 0.71 ^c	1.50 ± 0.71 ^d	-3.00 ± 0.00 ^d	-0.50 ± 0.71 ^c
NPAS treated	56.38 ± 8.66 ^b	20.00 ± 1.41 ^c	12.50 ± 2.12 ^c	7.50 ± 0.71 ^c	12.50 ± 0.71 ^c	0.00 ± 1.41 ^c

¹⁾Mean±S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05)

하지만 호화 후 재결정화가 이루어진 autoclaving/cooling 처리 멥쌀 전분, DGAS 수식 변성 멥쌀 전분, NPAS 수식 변성 멥쌀 전분은 호화 후 granular가 파괴되어 재배열되어 재가열시 점도를 잃어버리는 양상이 나타났다. 특히 ASase 수식 변성 멥쌀 전분은 비 호소반응인 autoclaving/cooling 처리 멥쌀 전분 보다 더 낮은 점도 값을 나타냈으며, 두 호소 간에도 차이가 발생하였다. 이 또한 멥쌀 전분이 호화 후 재결정화 과정에서 ASase에 의하여 재결정화 구조에 영향을 받으며 두 호소 간에도 차이가 있음을 의미한다.

Table 2-10. Thermal transition properties of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated nonglutinous rice starches

Sample	Onset Temperature (°C)	Peak Temperature (°C)	End Temperature (°C)	Melting Enthalpy (mJ/mg)
Native	61.68 ± 2.26 ¹⁾	68.20 ± 2.53	75.43 ± 2.84	3.00 ± 0.17
Autoclaving/ Cooling-treated	73.53 ± 0.52	81.52 ± 1.07	85.52 ± 0.49	3.79 ± 0.17
DGAS treated	88.86 ± 1.65	97.53 ± 3.44	99.20 ± 1.92	2.90 ± 0.22
NPAS treated	75.51 ± 1.99	82.51 ± 1.47	85.35 ± 1.11	3.03 ± 0.07

¹⁾Mean ± S.D.

ASase 수식 변성 멥쌀 전분의 열적 전이 (thermal transition)의 호화특성을 주사시차열량계 (DSC, Differential Scanning Calorimetry)로 측정하였다(Table 2-10). 멥쌀 전분도 호화 후 재결정화가 이루어진 autoclaving/cooling 처리와 ASase 반응 변성 멥쌀 전분의 용융 온도 (onset temperature), 피크 온도 (peak temperature), 종료 온도(end temperature) 가 천연 멥쌀 전분에 비하여 증가하였지만, 용융 엔탈피 (melting enthalpy)의 유사하게 나타났다. 호화 후 식히는 과정에서 전분의 결정형 영역에 의해 영향을 받으며 재결정화 과정에서 ASase의 호소 반응 영향을 받아 결정형 영역의 차이가 나타나게 된다. 또한 NPAS 수식 변성 멥쌀 전분과 DGAS 수식 변성 멥쌀 전분의 열적 전이 특성이 다르게 나타났는데, 이는 두 호소의 활성 차이에 의하여 전분의 결정형 영역 차이가 발생하였기 때문으로 사료된다.

ASase 수식 변성 멥쌀 전분의 solubility와 swelling power를 80°C 에서 확인하였다(Figure 2-19). 앞서 감자 및 고구마 전분의 결과와 같이, Autoclaving/cooling 처리 멥쌀 전분이 천연 멥쌀 전분에 비하여 용해성과 팽윤력이 크게 증가하였다. 하지만, ASase 처리가 되면서 용해성과 팽윤력이 크게 감소하게 되는데 이는 전분의 amylose와 amylopectin의 함량 및 구조에 영향을 주어 결정화된 전분의 용해도 및 팽윤력에 영향을 주었기 때문이다. DGAS 수식 변성 멥쌀 전분의 용해성은 NPAS 수식 변성 멥쌀 전분보다 크지만, 팽윤력은 낮게 측정되었다. 이는 호소 종류에 따라 전분 구조 내부의 amylose와 amylopectin의 함량 및 구조가 다르게 변화시키는 것을 의미한다.

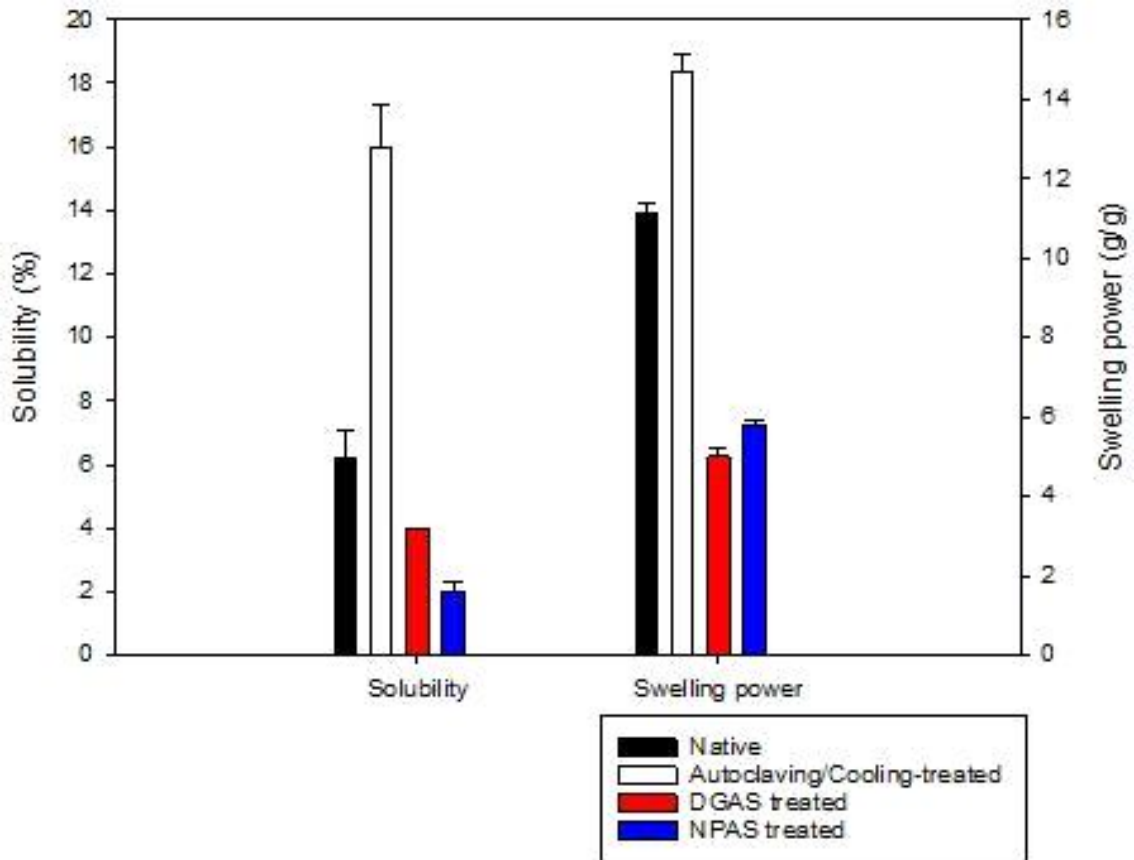


Figure 2-19. Solubility and swelling power of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated nonglutinous rice starches.

ASase 종류에 따라 생성된 변성 멥쌀 전분의 결정형을 알아보기 위하여 X-선 회절도 변화를 관찰하였다 (Figure 2-20). 일반적으로 멥쌀 전분과 같이 곡류에서 나오는 전분은 A type으로 회절각도 $2\theta = 15^\circ, 17^\circ, 18.1^\circ, 23^\circ$ 근처에서 피크가 나타나게 된다. 하지만 전분이 호화 후 재결정화를 이루면서 다른 형태의 결정이 형성되게 되는데, Autoclaving/cooling 처리 멥쌀 전분의 회절각도 $2\theta = 12.7^\circ$ 와 20.1° 에서 피크가 보이는 V type으로 나타났다. 멥쌀 전분에서 분리한 amylose의 X-선 회절이 이와 같은 V type을 나타냈으며, 이는 추출 과정에서 amylose와 알코올과 함께 single helices를 이루었기 때문으로 사료된다. 하지만, ASase 처리된 멥쌀 전분은 회절각도(2θ)가 $16.9^\circ, 19.6^\circ, 22.8^\circ$ (DGAS 수식 변성 멥쌀전분) / $17.0^\circ, 18.9^\circ, 22.1^\circ$ 에서 피크가 관찰되는 B type으로 나타났다. 이는 호화 후 재결정화 과정에서 ASase는 amylose와 amylopectin의 구조 및 함량을 변경시켜 B type으로 결정시키는 것을 의미한다. 또한, 두 효소에 의하여 결정의 차이는 없었으며, 기존 연구에서도 ASase에 의하여 생성된 전분들 대부분이 B type으로 판명된 것으로 보아, ASase를 전분을 호화 후 재결정화 할 때 B type으로 결정화 하는 것으로 사료된다.

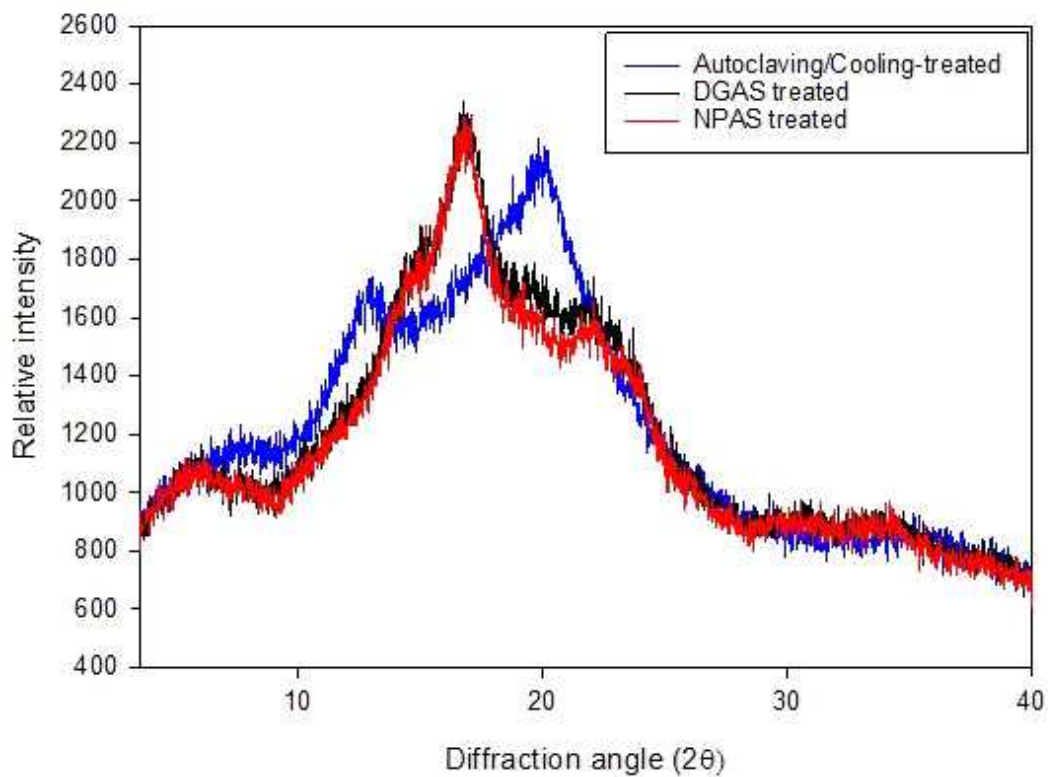


Figure 2-20. X-ray diffractogram patterns of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated nonglutinous rice starches.

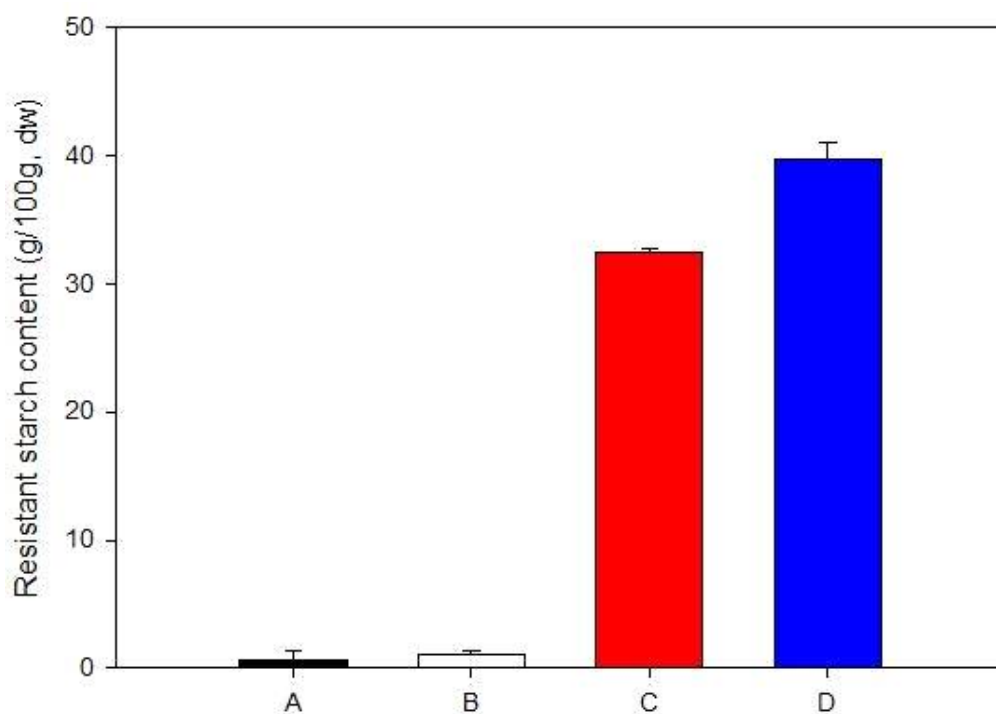


Figure 2-21. Resistant starch content of nonglutinous rice starch treated by ASase; A: native starch; B: autoclaving/cooling-treated starch; C: DGAS-treated; D: NPAS-treated.

ASase 종류에 따른 ASase 수식 변성 멥쌀 전분의 난소화성을 확인하기 위하여, 저항전분(resistant starch, RS)의 함량을 확인하였다(Figure 2-21). 천연 멥쌀 전분의 RS 함량은 0.7%이며, autoclaving/cooling 처리한 멥쌀 전분의 RS 함량이 1.1%로 ASase 비 처리 멥쌀 전분 대부분 탄수화물 분해 효소에 분해가 잘 되는 것으로 나타났다. 이에 반해, ASase 처리한 DGAS 수식 변성 멥쌀 전분의 RS 함량은 32.5%, NPAS 수식 변성 멥쌀 전분의 RS 함량은 39.8%로 나타났다. 이는 멥쌀 전분이 호화 후 재결정화 과정에서 ASase에 의하여 탄수화물 분해 효소 작용이 어려운 형태로 되었다는 것을 의미하며, 멥쌀에서 저항전분을 합성하는데 ASase는 훌륭한 효소임을 확인시켜주었다. NPAS가 DGAS보다 저항전분 합성량이 큰 이유는, 효소 반응 온도인 35°C가 NPAS의 최적 활성 온도이기 때문이다. 이는 DGAS 최적 온도에서 반응 시 NPAS와 유사한 저항전분 합성능력을 기대할 수 있다. 이처럼 두 효소가 합성한 변성 전분의 물리화학적 특성이 천연 멥쌀 전분 및 비 효소처리군인 autoclaving/cooling 처리 멥쌀 전분과 큰 차이를 나타내며, DGAS도 NPAS에 버금가는 저항전분 합성 능력을 보이는 것으로 나타났다. 이는 NPAS보다 열안정성이 월등히 뛰어난 DGAS가 변성 및 난소화성 전분 제작에 산업적 사용에 더 적합하다는 것을 의미한다.

(4) ASase 종류에 따른 효소수식 변성 찹쌀전분 제조 및 특성 확인

찹쌀의 전분 구조는 멥쌀과 다르게 대부분 amylopectin으로 이루어졌으며 특유의 물성으로 식품산업에서 다양한 형태로 사용되고 있다. 식품에서는 찹쌀을 가루로 가공한 찹쌀가루가 많이 사용되고 있지만, 최근 찹쌀 전분의 식품 소재 활용 증진 위해 다양한 연구가 진행되고 있는 실정이다. 특히 국내산 찹쌀 전분을 이용하여 효소 수식 변성 찹쌀 전분에 관한 연구가 미비하다. 이에 국내산 찹쌀에서 추출한 찹쌀 전분에 DGAS와 NPAS를 35°C, 48시간 교반하여 반응하였다. 반응은 5L 반응기에서 교반하며 대량 반응을 수행하였다. 투입된 찹쌀 전분 대비 생성된 ASase 수식 찹쌀 전분 생산 효율은 DGAS는 125.35%, NPAS는 197.68%로 멥쌀 전분과 유사한 생산 효율을 나타냈다. DGAS에 비하여 NPAS가 변성 전분의 생성 효율이 높은 이유는 NPAS가 DGAS보다 당전이 활성이 높기 때문으로 추론된다. 하지만, DGAS 이용 시 100%가 넘는 생산 효율을 나타내며, 이는 다른 감자 및 고구마 전분에 비하여 조건에 따라 1.4~2배 높은 생산 효율을 나타내므로 산업적 활용에 무리가 없을 것이라고 판단된다. 한편 ASase 종류에 따라 제조된 ASase 수식 변성 멥쌀 전분의 입도를 입도 분석기를 통하여 분석하였다(Table 2-11). 천연 찹쌀 전분의 입도 분포는 1~19 μm 로 있으며, 평균 입도 크기는 6.06 μm 으로 기존에 알려진 국내산 찹쌀 전분의 평균 입도 크기 5.0~6.1 μm 로 일치하였다. 찹쌀 전분의 호화 후 재결정화가 일어난 autoclaving/cooling 처리 찹쌀 전분, DGAS 수식 변성 찹쌀 전분, NPAS 수식 변성 찹쌀 전분의 입도 분포 및 평균 입도 크기가 크게 증가 하였다. ASase 수식 변성 전분의 경우 autoclaving/cooling 처리 전분에 비하여 평균 입도 크기가 큰 것으로 나타났지만, 찹쌀 전분의 경우 반대의 경우로 나타났다. 이는 amylopectin으로만 이루어진 찹쌀 전분에 ASase가 amylose 및 amylopectin이 혼합된 전분과는 다르게 반응하여 재결정화된 후의 입도 크기를 더 크게 만드는 것으로 사료된다.

Table 2-11. Particle size profile of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated glutinous rice starches.

Sample	Particle size(μm)			Mean Diameter
	Diameter at 10.00 %	Diameter at 50.00 %	Diameter at 90.00 %	
Native	2.62	5.25	10.45	$6.06 \pm 0.15^{1)d2}$
Autoclaving/ Cooling-treated	6.84	23.85	76.22	34.10 ± 1.59^c
DGAS treated	7.26	45.33	80.47	44.77 ± 0.62^a
NPAS treated	6.43	41.00	76.67	41.12 ± 0.17^b

¹⁾Mean \pm S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

ASase 수식 찹쌀 전분의 granular의 형태를 주사전자현미경 (Scanning electron microscope, SEM)을 사용하여 확인하였다(Figure 2-22). 천연 찹쌀 전분의 입자의 모양은 다양한 크기의 표면이 매끄러운 다면체 형태로 나타났다. 이에 반해, 호화 후 재결정이 일어난 autoclaving/cooling 처리 찹쌀 전분, DGAS 수식 변성 찹쌀 전분, NPAS 수식 변성 찹쌀 전분은 다면체의 입자구조가 존재하지 않으며, 불규칙한 입자가 서로 엉켜있는 것으로 나타났다. Autoclaving/cooling 처리 찹쌀 전분의 표면에는 다공성 구조가 생성된 반면, ASase 수식 변성 찹쌀 전분의 표면은 거칠게 나타났다. 또한 NPAS 수식 변성 찹쌀 전분이 DGAS 수식 변성 찹쌀 전분에 비하여 표면이 더 거칠게 나타났다. 이러한 현상은 두 효소 NPAS와 DGAS는 amylopectin의 구조 변화에 다르게 영향을 주어 다른 형태의 재결정화가 일어난 것으로 사료된다.

ASase 수식 찹쌀 전분의 호화에 의한 페이스트 특성을 확인해 보기 위하여 RVA (Rapid Visco Analyzer)를 이용하여 측정하였다(Figure 2-23, Table 2-12). 일반적으로 호화 후 재결정화 된 전분은 원래 가지고 있던 페이스트 특성이 사라져 다시 가열하여도 점도를 나타내지 않는다. 찹쌀 전분을 호화 후 재결정화가 일어난 autoclaving/cooling 처리 찹쌀 전분과 NPAS 수식 변성 찹쌀 전분의 경우 재가열시 점도가 나타나지 않았지만, 흥미롭게도 DGAS 수식 변성 찹쌀 전분은 천연 전분에 비하여 점도가 낮게 나타났지만, 페이스트 특성이 관찰되었다. 일반적으로 호화 후 재결정화 된 전분은 원래 가지고 있던 페이스트 특성이 사라져 다시 가열하여도 점도를 나타내지 않는다. 찹쌀 전분을 호화 후 재결정화가 일어난 autoclaving/cooling 처리 찹쌀 전분과 NPAS 수식 변성 찹쌀 전분의 경우 재가열시 점도가 나타나지 않았지만, 흥미롭게도 DGAS 수식 변성 찹쌀 전분은 천연 전분에 비하여 점도가 낮게 나타났지만, 페이스트 특성이 관찰되었다.

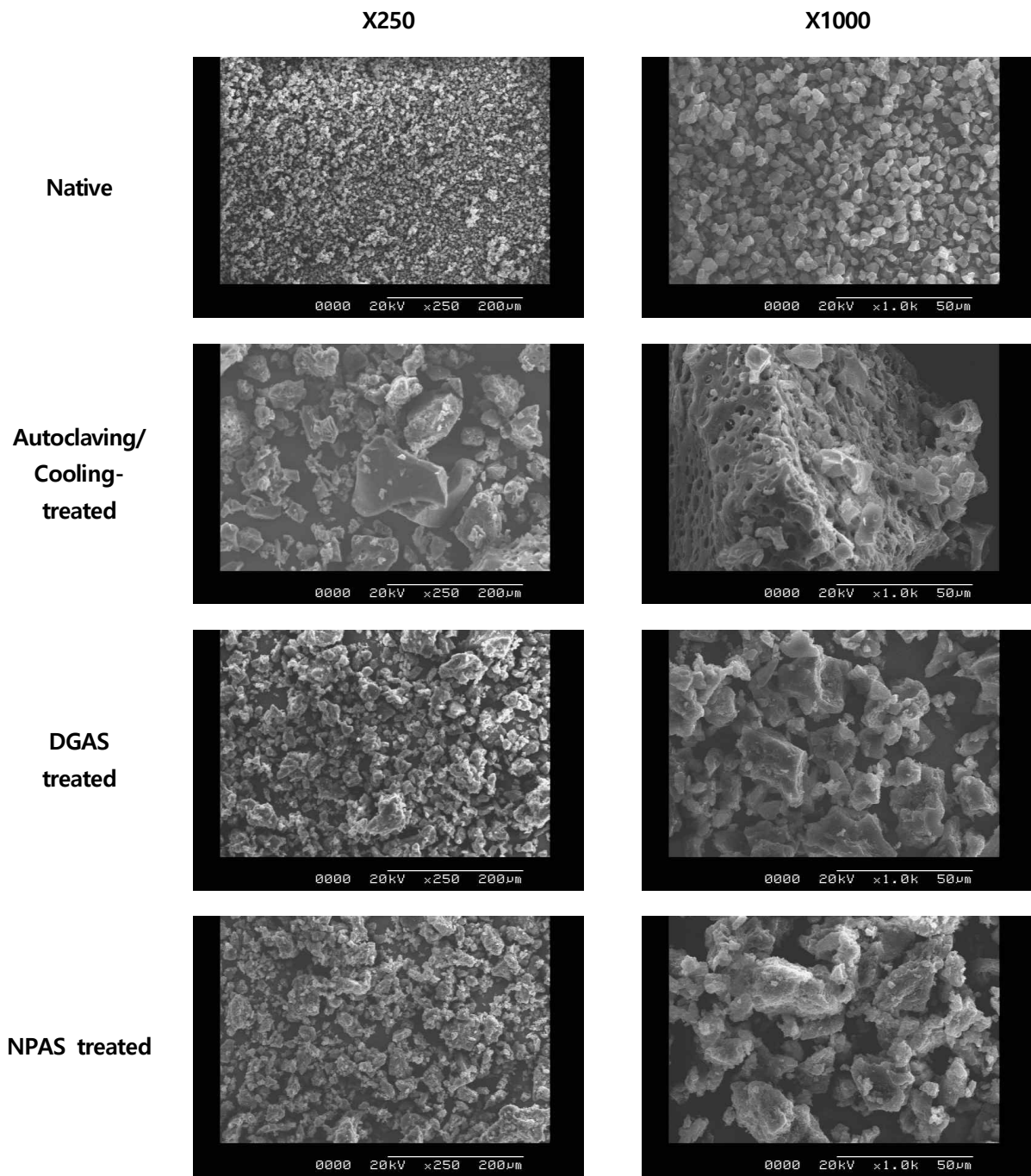


Figure 2-22. Scanning electron microscope micrographs of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated glutinous rice starches.

천연 찹쌀 전분과 DGAS 수식 변성 찹쌀 전분은 서로 다른 호화 양상을 나타냈으며, 호화 개시온도 (pasting temperature)가 천연 찹쌀 전분이 71.03°C, DGAS 수식 변성 찹쌀 전분이 67.53°C로 측정되었다. 하지만, DGAS 수식 변성 찹쌀 전분은 95°C에 이르러서야 점도가 상승하는 페이스트 특성이 나타났다. 이러한 현상은 DGAS가 찹쌀 전분의 amylopectin의 분지 길이에 영향을 준 것으로 사료된다.

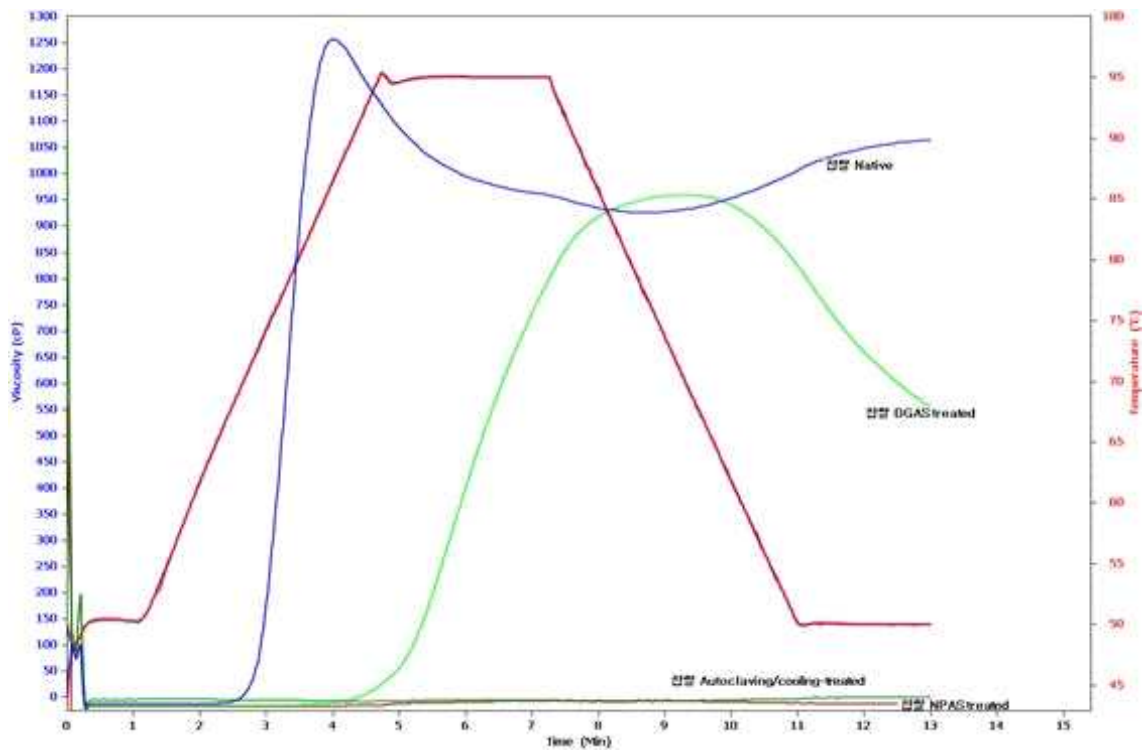


Figure 2-23. Pasting viscosity profiles of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated glutinous rice starches.

Amylopectin의 분지 사슬길이는 호화 성질에 영향을 주는데 이는 amylopectin의 긴 사슬이 이중나선형을 형성하여 결정성 부분으로 밀집하게 쌓이게 되며, 이를 완전한 분해를 위해 더 높은 온도가 요구되게 된다.

Table 2-12. Pasting characteristics for native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated glutinous rice starches

Sample	Pasting Temperature (°C)	Viscosity(cP)				
		Peak 1	Trough 1	Breakdown	Final Viscosity	Setback
Native	71.03 ± 0.04 ^{1(a2)}	1266.00 ± 11.31 ^a	930.00 ± 5.66 ^a	336.00 ± 5.66 ^a	1069.00 ± 5.66 ^a	139.00 ± 0.00 ^a
Autoclaving/ Cooling-treated	66.63 ± 21.04 ^a	-2.50 ± 0.71 ^c	-8.00 ± 1.41 ^c	5.50 ± 0.71 ^c	-0.50 ± 0.71 ^c	7.50 ± 0.71 ^b
DGAS treated	67.53 ± 10.71 ^a	727.50 ± 10.61 ^b	422.00 ± 8.49 ^b	305.50 ± 2.12 ^b	553.00 ± 8.49 ^b	131.00 ± 0.00 ^b
NPAS treated	50.30 ± 0.21 ^a	-5.00 ± 0.00 ^c	-12.00 ± 0.00 ^c	7.00 ± 0.00 ^c	-12.50 ± 0.71 ^c	-0.50 ± 0.71 ^d

¹⁾Mean ± S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

ASase 수식 변성 찹쌀 전분의 열적 전이 (thermal transition)의 호화특성을 주사시차열량계 (DSC, Differential Scanning Calorimetry)로 측정하였다(Table 2-13). 찹쌀 전분의 호화 후 재결화가 이루어진 autoclaving/cooling 처리와 ASase 반응 변성 멥쌀 전분의 용융 온도 (onset temperature), 피크 온도 (peak temperature), 종료 온도(end temperature) 가 천연 멥쌀 전분에 비하여 증가하였지만, 용융 엔탈피 (melting enthalpy)는 낮게 나타났다. 이는 앞선 결과와 마찬가지로 호화 후 식히는 과정에서 전분의 결정형 영역에 영향을 받으며 재결정화 과정에서 ASase의 효소 반응이 영향을 주어 결정형 영역에 차이가 나타나는 것으로 사료된다. 특히 NPAS와 DGAS 수식 변성 멥쌀 간의 열적 전이 특성이 상이하게 다른데, 이는 두 효소의 활성 차이에 의하여 전분의 결정형 영역 차이가 발생하였기 때문으로 RVA 결과와 일치한다.

Table 2-13. Thermal transition properties of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated glutinous rice starches

Sample	Onset Temperature (°C)	Peak Temperature (°C)	End Temperature (°C)	Melting Enthalpy (mJ/mg)
Native	61.85 ± 1.06 ¹⁾	66.55 ± 0.64	72.80 ± 1.27	7.85 ± 1.63
Autoclaving/ Cooling-treated	74.77 ± 0.25	84.04 ± 0.72	88.71 ± 0.03	3.41 ± 0.02
DGAS treated	69.91 ± 0.50	76.33 ± 0.66	80.49 ± 1.08	2.17 ± 0.23
NPAS treated	72.32 ± 0.23	80.83 ± 0.33	85.00 ± 0.85	2.60 ± 0.21

¹⁾Mean ± S.D.

ASase 수식 변성 찹쌀 전분의 solubility와 swelling power를 80°C에서 확인하였다(Figure 2-24). Autoclaving/cooling 처리 찹쌀 전분이 천연 찹쌀 전분에 비하여 용해성이 증가하였지만, 팽윤력이 크게 감소하였다. 이는 앞선 다른 전분들과 다른 패턴이다. 아마도 대부분 amylopectin으로 구성된 찹쌀 전분이 호화 후 재결화가 되면서 amylose가 함유된 전분과는 다른 형태로 재결정화를 이루기 때문으로 사료된다. ASase 처리가 되면서 용해성과 팽윤력이 크게 감소하게 되는데 이는 ASase가 amylopectin의 구조에 영향을 주어 결정화된 전분의 용해도 및 팽윤력에 영향을 주었기 때문이다. DGAS 수식 변성 멥쌀 전분의 용해성은 NPAS 수식 변성 멥쌀 전분보다 크지만, 팽윤력은 낮게 측정되었다. 이는 효소 종류에 따라 전분 구조 내부의 amylopectin의 구조를 다르게 변화시키는 것을 의미한다. 이처럼 RVA, DSC, 용해성과 팽윤력의 결과로 보아 DGAS는 NPAS와 다르게 amylopectin의 구조를 다르게 변화시켜 다른 형태로 재결정화를 이루는 것으로 추론할 수 있다.

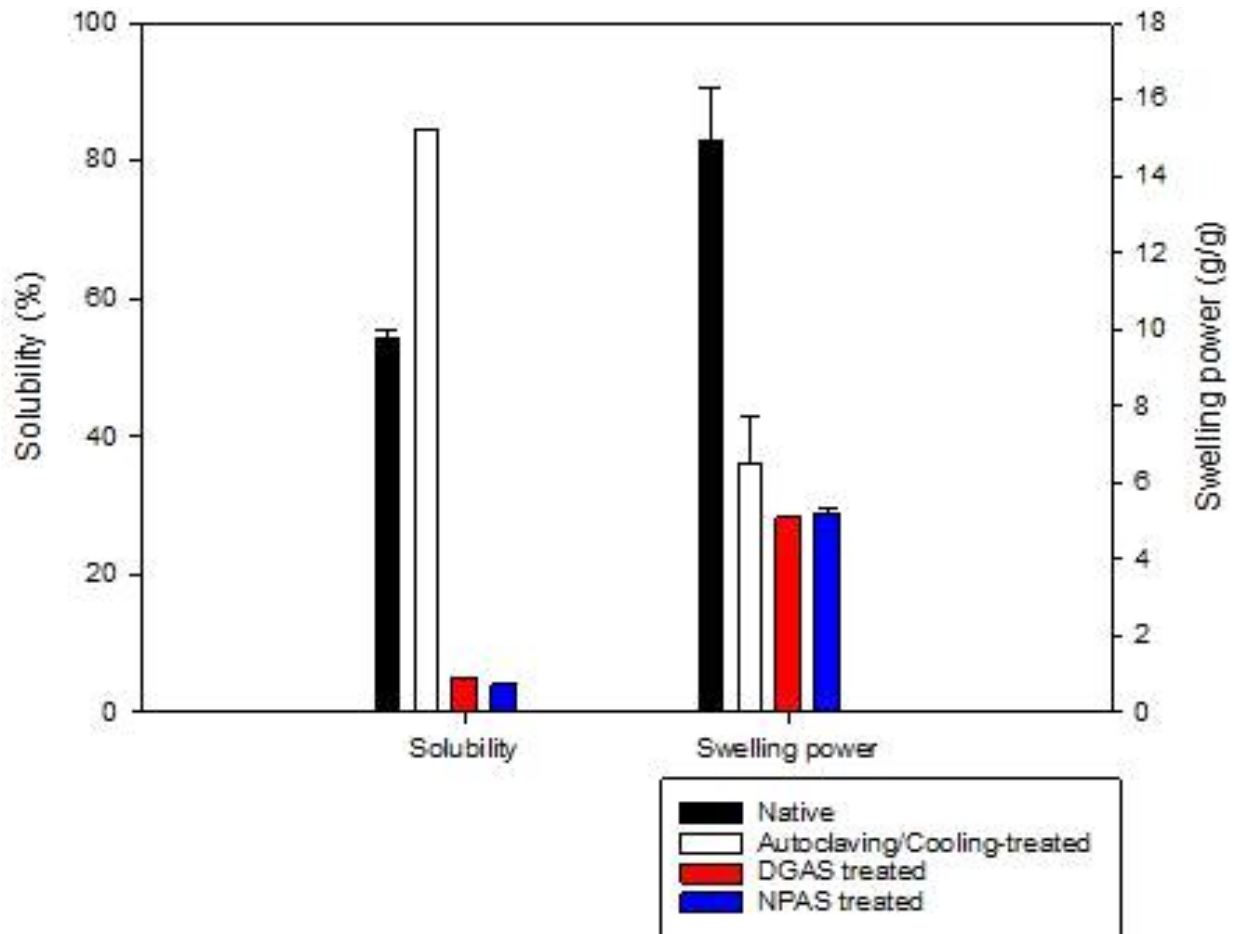


Figure 2-24. Solubility and swelling power of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated glutinous rice starches.

ASase 종류에 따라 생성된 변성 찹쌀 전분의 결정형을 알아보기 위하여 X-선 회절도 변화를 관찰하였다(Figure 2-25). 일반적으로 찹쌀 전분과 멥쌀 전분과 같이 곡류에서 나오는 전분은 A type으로 회절각도 $2\theta = 15^\circ, 17^\circ, 18.1^\circ, 23^\circ$ 근처에서 피크가 나타나게 된다. 하지만 찹쌀 전분이 호화 후 재결정화를 이루면서 다른 형태의 결정이 형성되게 된다. Autoclaving/cooling 처리 찹쌀 전분은 피크가 나타나지 않는 무정형 형태로 나타났으며, 이는 기존 연구결과와 일치한다. 하지만, ASase 처리된 찹쌀 전분은 회절각도(2θ)가 $17.0^\circ, 19.6^\circ, 22.0^\circ$ (DGAS 수식 변성 찹쌀전분) / $16.9^\circ, 19.2^\circ, 22.2^\circ$ 에서 피크가 관찰되는 B type으로 나타났다. 이는 호화 후 재결정화 과정에서 ASase는 찹쌀 전분의 amylopectin의 구조 변경시켜 B type으로 결정시키는 것을 의미한다.

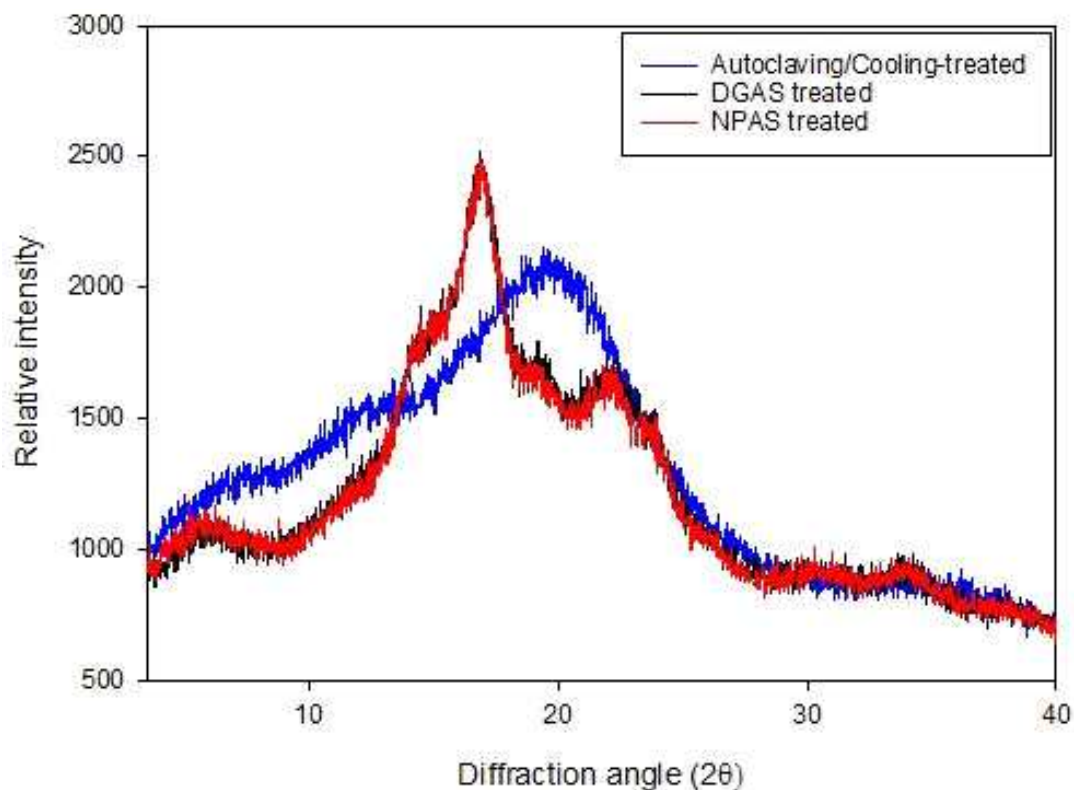


Figure 2-25. X-ray diffractogram patterns of native, autoclaving/cooling-treated, DGAS-treated and NPAS-treated glutinous rice starches.

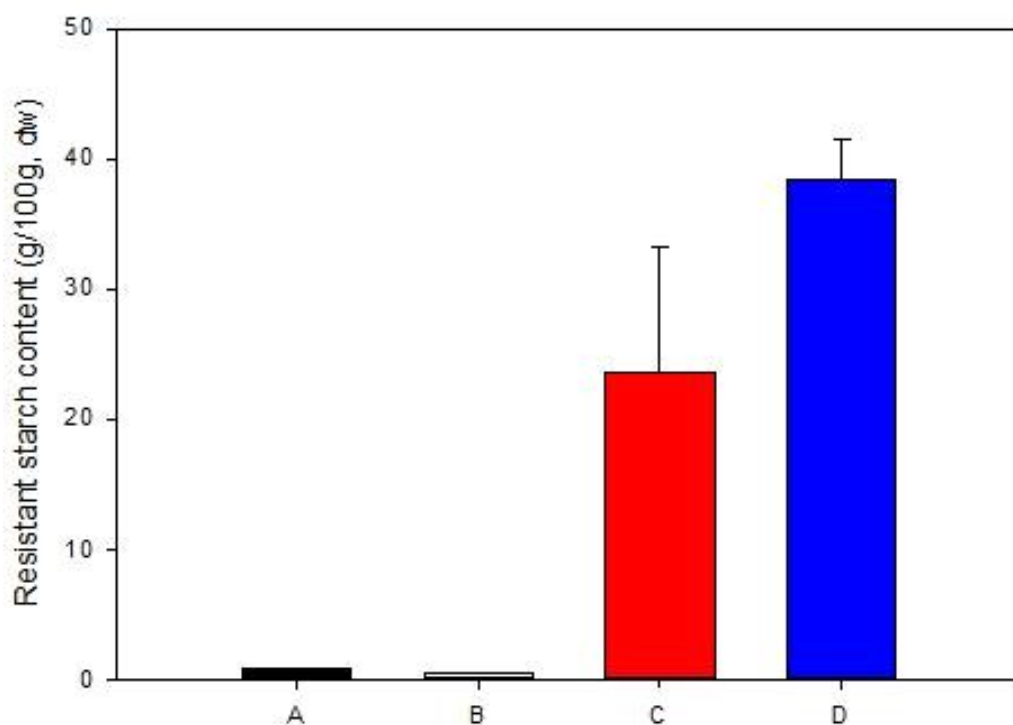


Figure 2-26. Resistant starch content of glutinous rice starch treated by ASase; A: native starch; B: autoclaving/cooling-treated starch; C: DGAS-treated; D: NPAS-treated.

ASase 종류에 따른 ASase 수식 변성 찹쌀 전분의 난소화성을 확인하기 위하여, 저항전분(resistant starch, RS)의 함량을 확인하였다(Figure 2-26). 천연 찹쌀 전분의 RS 함량은 0.8%이며, autoclaving/cooling 처리한 멥쌀 전분의 RS 함량이 0.4%로 ASase 처리 하지 않은 찹쌀 전분 대부분이 탄수화물 분해 효소에 분해가 잘 되는 것으로 나타났다. 이에 반해, ASase 처리한 DGAS 수식 변성 찹쌀 전분의 RS 함량은 23.6%, NPAS 수식 변성 찹쌀 전분의 RS 함량은 38.3%로 나타났다. 이는 ASase 수식 변성 멥쌀 전분과 유사한 결과를 나타냈다. 찹쌀 전분이 호화 후 재결정화 과정에서 ASase가 amylopectin의 분지 사슬 길이 증가시켜 이중나선형 구조를 만들고 이는 결정성 부분에 밀집하여 쌓이게 된다. 이로 인해 탄수화물 분해 효소 작용이 어려운 형태로 결정화 되어 찹쌀에서 저항전분을 합성한다. NPAS가 DGAS보다 저항전분 합성량이 큰 이유는, 효소 반응 온도인 35°C가 NPAS의 최적 활성 온도이기 때문이다. 변성 멥쌀 전분 합성과 같이 DGAS는 NPAS와 마찬가지로 높은 합성 효율을 보이며, 저항전분의 함량을 크게 늘리는 것으로 확인되었다. 또한, NPAS와 다른 물리화학적 특성을 가지는 변성 전분을 합성하는 것이 관찰되었다. 이는 열안정성이 월등히 뛰어나 산업적 활용 가치가 높은 DGAS가 기존의 NPAS와 다른 변성 및 난소화성 찹쌀 전분 합성할 수 있음을 의미한다.

다. Dual enzyme system을 이용한 효소수식 변성전분 제조 및 특성 확인

(1) SPase-GPase 수식 감자 전분 제조 및 특성 확인

용해도(solubility)는 전분의 입자 중 일정온도에서 수용성 부분이 물에 용출, 용해되는 정도를 나타내는 것이고, 팽윤력 (swelling power)은 전분입자가 팽윤하여 파괴되기 전까지 최대 수분을 흡수할 수 있는 능력을 나타내는 것이다. 전분의 용해도 및 팽윤력은 전분의 amylose와 amylopectin의 함량 및 구조에 따라 영향을 받는 것으로 알려져 있다. SPase-GPase과 GPase만 처리한 감자 전분의 용해도 및 팽윤력을 Figure 2-27과 Table 2-14에 나타내었다. 천연 감자 전분에 비하여 호화 후 재결화가 이루어진 autoclaving/cooling 처리 감자 전분이 용해도와 팽윤력이 크게 증가 하였다. 이에 반해, SPase-GPase와 GPase 처리 둘 다 의 용해도와 팽윤력은 비 효소처리인 autoclaving/cooling 처리 감자 전분에 비하여는 낮게 나타났다. 이는 전분이 호화 후 재결정화가 일어날 때 GPase에 의해 내부 구조가 팽윤력이 낮은 구조로 변형되었음을 의미한다. SPase-GPase 수식 전분이 GPase 수식 전분에 비하여 용해도가 유의적으로 큰 것으로 나타났다. 이는 전분의 재결정화시 SPase에 의해서 생성된 G-1-P를 GPase가 이용하여 전분 구조 내부의 amylose와 amylopectin의 함량 및 구조가 다르게 변화시키는 것을 의미한다. 즉, SPase-GPase 수식 감자 전분과 GPase 수식 감자 전분은 G-1-P 농도에 의하여 내부 구조의 차이가 나타났으며, 이에 따라 다르게 재결정화가 일어난 것으로 사료된다.

Table 2-14. Swelling power and solubility of native, autoclaving/cooling-treated, SPase-GPase treated and GPase treated potato starches.

Sample	Swelling power (%)	Solubility (%)
Native	12.5 ± 0.0 ¹⁾²⁾	2.5 ± 0.0 ^a
Autoclaving/Cooling-treated	13.0 ± 1.9 ^b	49.7 ± 4.1 ^d
SPase-GPase treated	7.53 ± 0.0 ^a	15.9 ± 1.3 ^c
GPase treated	8.1 ± 0.1 ^a	5.1 ± 0.2 ^b

¹⁾Mean ± S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p < 0.05)

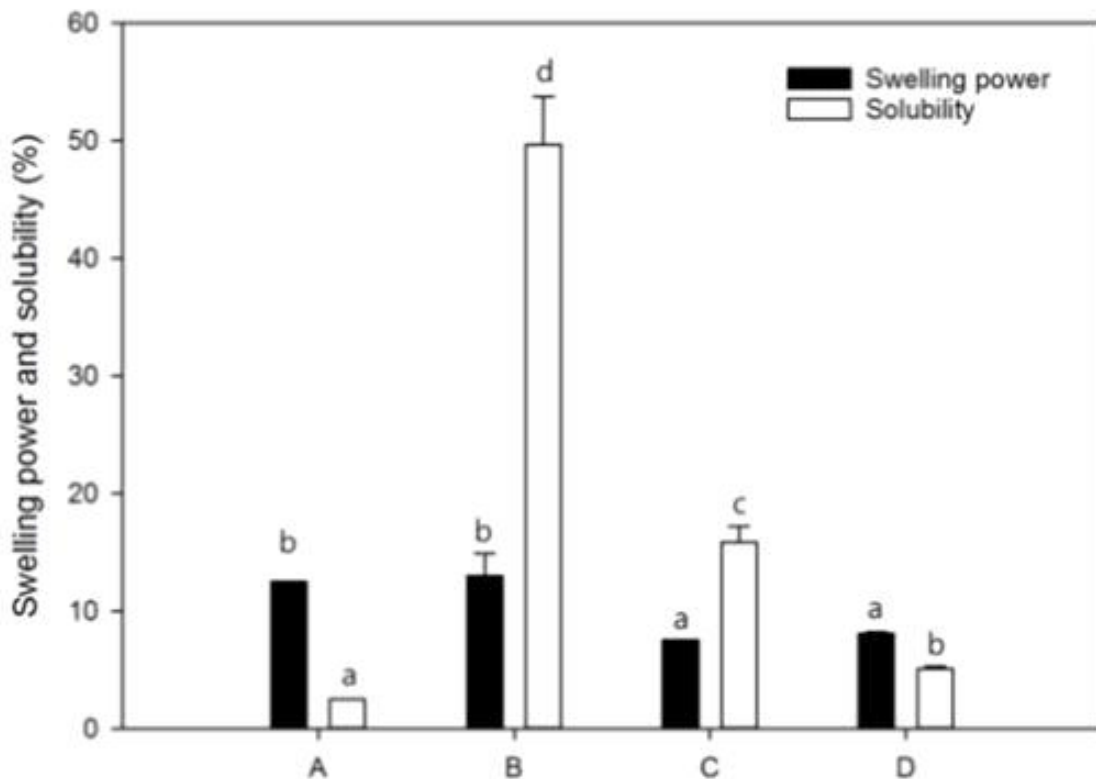


Figure 2-27. Swelling power and solubility of Native (A), Autoclaving/Cooling-treated (B), SPase-GPase treated (C), GPase treated (D) potato starches.

(2) SPase-GPase 수식 감자 전분의 결정 상태 확인

X-선 회절도는 전분의 결정 상태를 측정하기 위해 이용되는 방법으로, 전분의 결정 형태에 따라 A, B, C, V type으로 구분 될 수 있다. A type은 곡류 전분의 결정 상태이고 회절각도(2θ)가 15° , 23° 근처에서 강하게 나타나며, 18° 부근에서도 두 개의 강한 피크를 보인다.

B type은 감자와 같은 근경류, 과일 및 줄기에서 추출된 전분들이 속하고, 회절각도(2θ) 17° 부근에서 강한 피크와 6.5°, 20°, 22° 에서 작은 피크가 나타난다. A와 B의 혼합형인 C type은 고구마, 녹두, 완두 전분이 속하고, 피크는 A type과 B type가 함께 나타난다 (2θ =15°, 17°, 18.1°, 23.5° 부근에서 피크가 나타남). Amylose에 lipid가 포집된 것과 같이 전분에 포집된 형태인 V type천연 전분에서는 나타나지 않으며 회절각도(2θ)가 13° 와 20° 에서 강한 피크가 나타나게 된다. SPase-GPase 및 GPase 처리 전분의 X-선 회절도는 Figure 2-28에 나타냈다. X-선 회절도 결과 천연 감자는 2θ =5.7°, 17.2°, 19°, 22° 에서 피크가 나타나는 전형적인 B type으로 확인되었다. 호화 후 재결정이 일어난 autoclaving/cooling 처리 감자 전분과 GPase 수식 전분은 결정형 구조가 전부 파괴된 구조로 타나났다. SPase-GPase 수식 변성 감자 전분은 유사한 X-선 회절도를 나타냈으며, 2θ =17°, 19°, 22° 부근에서 피크가 나타나는 B type과 유사하게 확인되었다. 이는 SPase에 의하여 생성된 G-1-P를 GPase가 이용하여 전분의 내부 구조를 변화시켜 결정형 구조로 재결정화 된 것을 의미한다. Amylose 함량이 높은 고아밀로스 옥수수수의 경우 고유의 피크는 유지되지만, 2θ =6.5° 부근의 피크가 감소하는 경향을 보인다. 이를 통하여 호화 후 재결정화 과정과 SPase-GPase 효소 작용에 의하여 amylose관련 함량 및 구조에 영향을 받아 SPase-GPase 수식 변성 감자 전분에서 2θ =6.5° 피크가 감소한 것으로 사료된다.

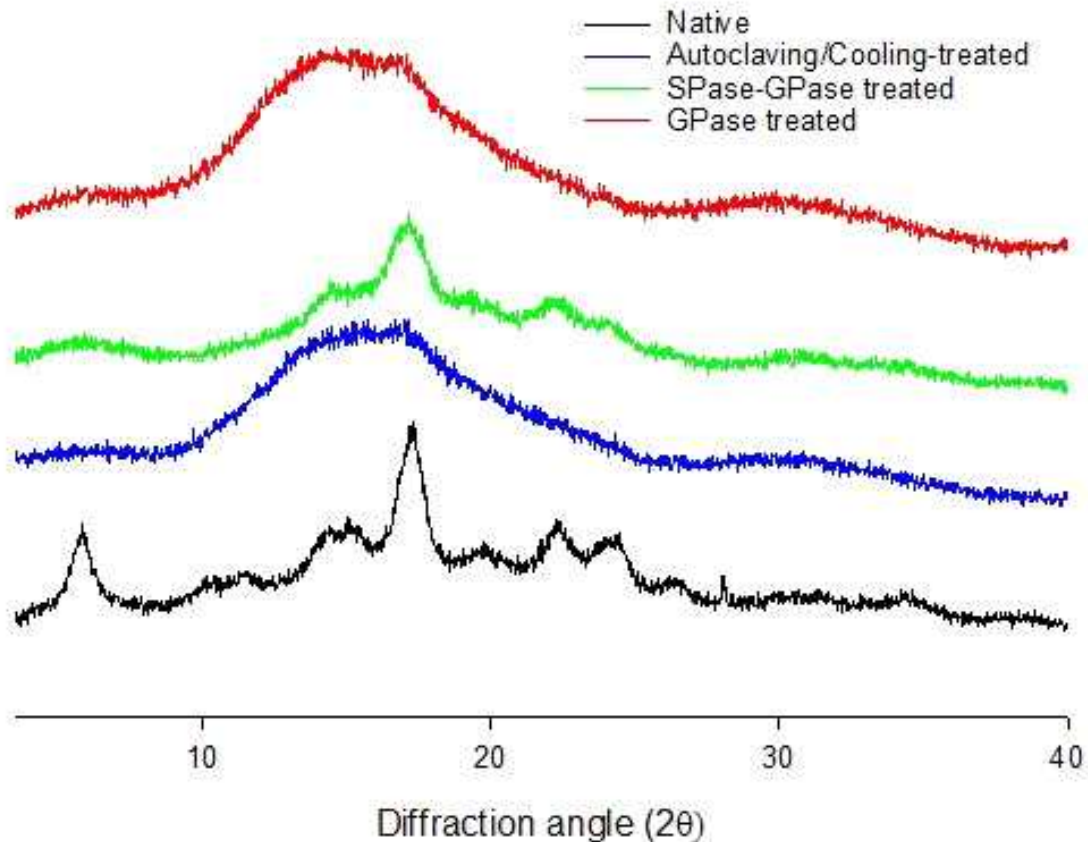


Figure 2-28. X-ray diffraction of native, autoclaving/cooling-treated, SPase-GPase and GPase treated potato starches

이를 확인하기 위하여 iodine binding index (IBI)를 확인하였다 (Figure 2-29, Table 2-15). Iodine은 전분의 α -1,4-glucan에 포집되어 blue vale을 띄게 된다. 즉 amylose의 함량이 증가되거나, amylopectin의 α -1,4-glucan의 길이가 상승하면 iodine을 더 많이 binding 할 수 있다.

Table 2-15. Iodine binding index of native, autoclaving/cooling-treated, SPase-GPase and GPase treated potato starches

Sample	Iodine binding index
Native (A)	17.2 \pm 2.0 ^{1)a2)}
Autoclaving/Cooling (B)	19.7 \pm 0.6 ^a
SPase-GPase (C)	24.4 \pm 1.1 ^b
GPase (D)	17.4 \pm 1.3 ^a

¹⁾Mean \pm S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05)

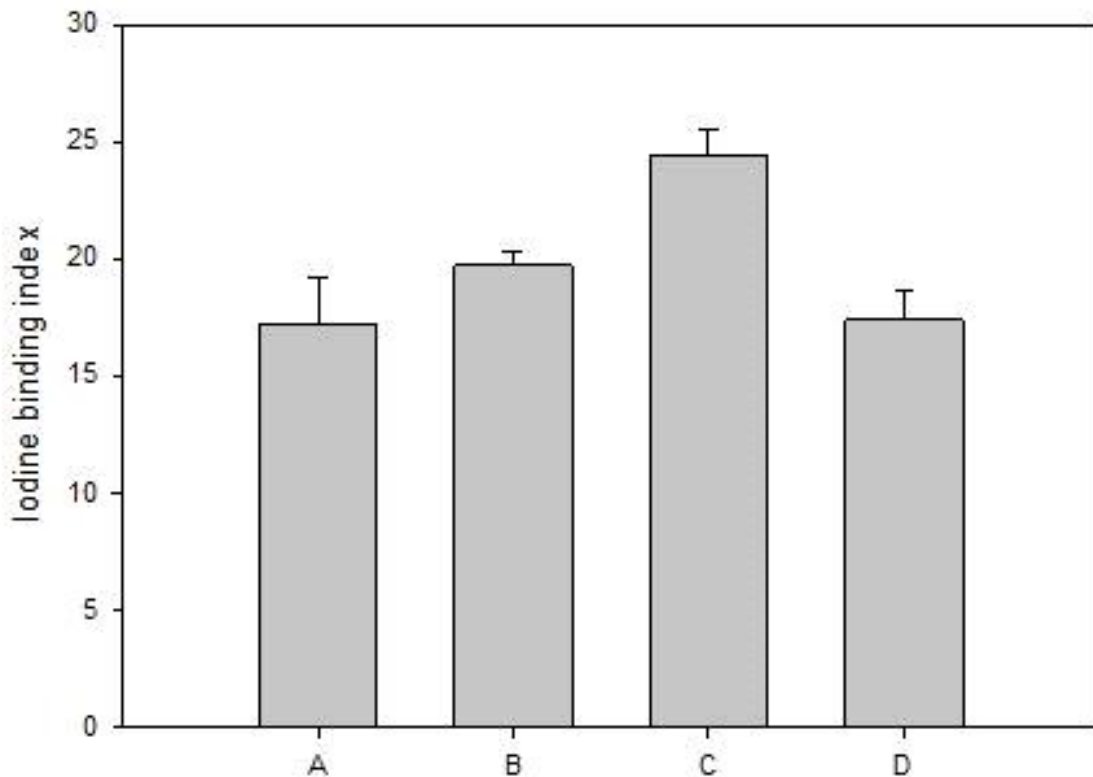


Figure 2-29. Iodine binding index of native (A), autoclaving/cooling-treated (B), SPase-GPase treated (C) and GPase treated (D) potato starches.

SPase-GPase 수식 감자 전분을 제외하고는 천연전분과 유의적 차이가 나타나지 않았다. 이는 호화 후 냉각 및 GPase 수식 감자 전분에 의하여 amylose 함량이 증가되거나 amylopectin의 α -1,4-glucan의 길이가 상승하지 않았음을 의미한다. 즉, SPase와 sucrose가 반응하여 생성된 G-1-P을 이용하여 GPase가 감자 전분의 amylopectin의 α -1,4-glucan의 길이를 상승 시키거나 amylose의 함량을 증가시켰음을 알 수 있다. 이러한 결과를 (평균력과 용해도, X-회절도, iodine binding index) 통하여 GPase 단독 반응 보다는 SPase-GPase dual enzyme 반응이 감자 전분의 내부 구조를 크게 변화 시키는 것을 확인할 수 있다.

(3) SPase-GPase 수식 감자 전분의 저항전분 비교

SPase-GPase 및 GPase에 의해서 감자 전분의 내부구조가 변화되는 것을 확인할 수 있었다. 이에 효소 수식 감자 전분의 저항전분 함량을 측정하였다(Figure 2-30, Table 2-16). 감자 생 전분은 B-type 전분으로 전형적인 resistant starch (RS) 전분이다. 하지만, 전분이 호화가 되면 RS 함량이 크게 감소하는 것으로 알려져 있다. Autoclaving/cooling 처리 감자 전분의 저항 전분 함량은 10.48%로 이는 호화 후 재결화 과정에서 RS 전분이 크게 감소했음을 의미한다. GPase 수식 감자 전분의 RS 함량이 autoclaving/cooling 처리 감자 전분과 유의적 차이가 나타나지 않았지만, SPase-GPase 수식 감자 전분은 RS 크게 증가함 (50.7%)을 확인할 수 있었다. 이는 GPase 단독 반응으로는 감자 전분의 RS 함량이 증가시키지 않음을 의미한다. 기존의 amylosucrase 수식 감자 전분의 RS 함량이 효소의 종류에 따라 30.9~45%로 알려져 있으며, SPase-GPase 반응은 amylosucrase에 비하여 RS 함량을 더 많이 생성함을 확인할 수 있다. SPase에 의하여 생성된 G-1-P를 GPase가 이용하여 감자 전분의 amylose와 amylopectin의 구조 변화를 일으키며, 이러한 변화가 전분의 재결화가 일어나는 과정에서 탄수화물 분해 효소들이 작용을 어려운 형태로 재결정화된 것으로 사료된다.

Table 2-16. Resistant starch content of autoclaving/cooling-treated (A), SPase-GPase treated (B) and GPase treated (C) potato starches

Treatment	Resistant starch content (%)
Autoclaving/Cooling-treated	10.48 \pm 0.65 ^{1a2)}
SPase-GPase treated	50.70 \pm 7.73 ^b
GPase treated	7.87 \pm 0.44 ^a

¹⁾Mean \pm S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

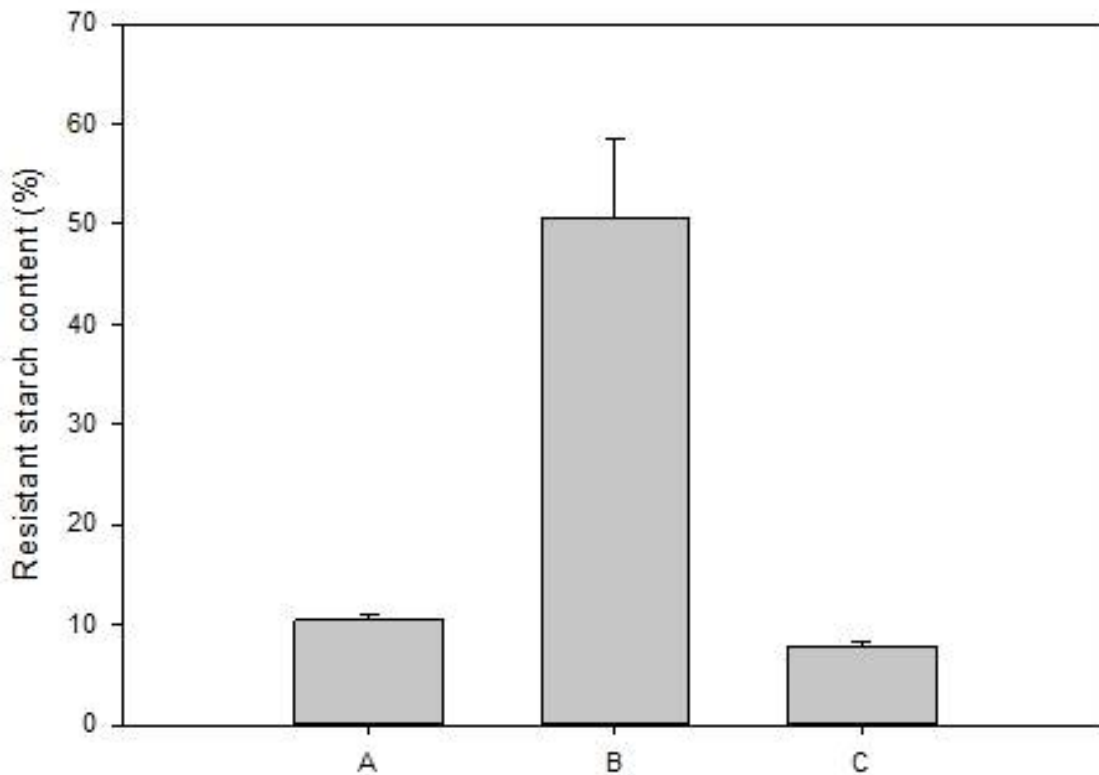


Figure 2-30. Resistant starch content of autoclaving/cooling-treated (A), SPase-GPase treated (B) and GPase treated (C) potato starches.

(4) SPase-GPase 수식 감자 전분의 모양 및 입자 크기 확인

SPase-GPase 수식 변성 감자 전분의 granular 구조를 확인하기 위하여, 주사전자현미경 (Scanning electron microscope, SEM)을 사용하여 확인하였다(Figure 2-31). 천연 감자 전분의 granular은 타원형의 매끈한 형태로 나타났다. 이에 반해, SPase-GPase 처리 및 autoclaving/cooling 처리 전분의 granular 구조가 파괴 되었으며, 불규칙한 모양으로 나타났다. 이는 효소반응을 위하여 전분 granular을 파괴하는 호화과정을 거친 후, 반응 중 또는 반응 후의 전분의 재결정화가 이루어진 것으로 사료된다. 이는 기존의 효소 수식 전분의 SEM 결과와 동일하였다.

SPase-GPase 수식 감자 전분의 입자크기는 Table 2-17 나타났다. Autoclaving/cooling-treated 샘플이 천연 감자 전분에 비하여 평균 입도가 증가되었다. 이는 호화에 의하여 전분의 granular 구조가 파괴 된 후, 식히는 과정에서 노화가 되어 재결합화가 일어나기 때문이다. SPase-GPase 수식 변성 감자 전분이 autoclaving/cooling처리 감자 전분에 비하여 입도 크기가 감소하였는데, SPase에 의하여 생성된 G-1-P를 GPase가 이용하여 감자 전분의 구조 변화를 일으켜 나타난 결과로 생각된다. 기존 RS함량이 증가하는 amylosucrase 수식 전분과 결과가 일치한다.

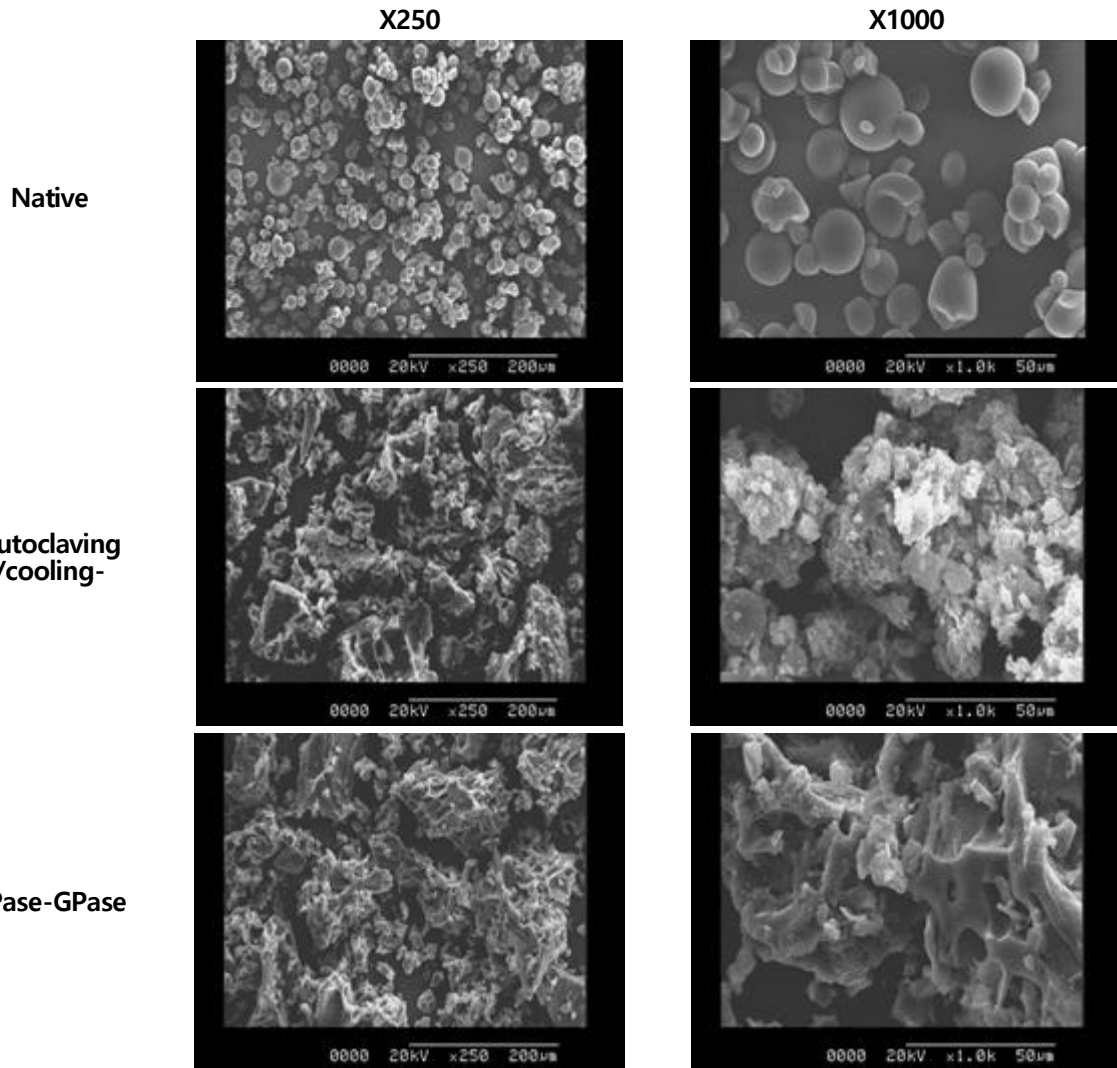


Figure 2-31. Scanning electron microscope micrographs of native, autoclaving/cooling-treated, SPase-GPase treated potato starches

Table 2-17. Particle size profile of native, autoclaving/cooling, SPase-GPase-treated potato starch.

Sample	Particle size(μm)			
	Diameter at 10.00%	Diameter at 50.00%	Diameter at 90.00%	Mean Diameter
Native	$21.46 \pm 0.13^{1)c2)}$	45.49 ± 0.45^a	71.24 ± 1.10^a	45.84 ± 0.04^a
Autoclaving/ Cooling-treated	11.66 ± 0.31^b	53.43 ± 3.12^b	166.49 ± 4.76^c	73.35 ± 2.73^c
SPase-GPase treated	10.15 ± 0.06^a	42.67 ± 0.56^a	110.94 ± 1.29^b	53.59 ± 0.52^b

¹⁾Mean \pm S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different ($p < 0.05$)

(5) SPase-GPase 수식 감자 전분의 side-chain distribution 확인

SPase에 생성된 G-1-P을 GPase가 이용하여 감자 전분의 내부 구조를 변화시키는 것을 확인 할 수 있었다. 이러한 변화가 amylopectin에 적용 되었는지를 확인하기 위하여 amylopectin의 side-chain distribution을 HPAEC를 통하여 확인하였다(Table 2-18). Autoclaving/cooling 처리 감자 전분이 천연 감자 전분에 비하여 짧은 side-chain distribution 이 나타났는데, 이는 처리 과정의 ethanol 침전 및 증류수의 세척 과정 중에 긴 사슬 부분이 제거되어 나타난 현상으로 사료된다. SPase-GPase 수식 감자 전분은 천연 전분에 비하여 side-chain이 DP (Degree of Polymerization) 6-24의 비율이 감소하고 DP >25 이상의 비율이 증가하였다. 이는 SPase에 의하여 생성된 G-1-P를 GPase가 이용하여 감자 전분의 amylopectin 사슬의 비환원성 말단으로 glucose를 결합했음을 의미한다. HPAEC 결과와 IBI값에 의하여 SPase-GPase 반응은 감자 전분의 amylopectin 사슬의 α -1,4-glucan 사슬 길이가 증가시켜, 소화 후 B-type구조로 재결정화 되어 RS 함량이 크게 증가되는 것으로 추측할 수 있다.

Table 2-18. Side-chain distributions of native, autoclaving/cooling-treated and SPase-GPase treated potato starches

Treatment	Relative peak area (%)			
	DP 6-12	DP 13-24	DP 25-36	DP > 37
Native	29.66	51.98	17.52	0.85
Autoclaving/Cooling-treated	48.73	40.14	11.14	N.D.
SPase-GPase	5.48	38.5	43.13	10.45

(N.D : not detected)

라. ASase 효소를 이용한 특용작물 가공부산물로부터 효소수식 변성전분 제조 및 특성 확인

(1) DGAS를 이용한 효소수식 마 부산물 변성 전분질 제조 및 특성 확인

(가) 화학적 성분 분석

Chinese yam sludge의 구성성분을 총 성분 분석방법을 통해 조사하였다(Table 2-19). Chinese yam sludge는 수분 3.9 %, 지질 0.3 %, 단백질 6.5 %, 회분 2.2 %, 그리고 탄수화물 함량이 87.1 %로 나왔다.

Chinese yam sludge의 경우 대부분이 탄수화물로 이루어져 있으며, 특히 전체 함량 중 62.4 %가 순수 전분으로 되어있기 때문에 추가 공정 없이 바로 DGAS 처리하여 당전이 반응을 진행해보았다. 이를 통해 만들어진 효소 수식 chinese yam sludge의 저항전분 함량을 측정하였다. Autoclave & cooling을 하고 DGAS를 처리한 Autoclave & cooling + DGAS sample 과, 마찬가지로 열처리를 하였으나, DGAS처리를 하지 않은 Autoclave & cooling sample, 호화 처리를 하지 않고 효소처리를 한 non-heat treatment + DGAS sample 그리고, 효소도 처리하지 않은 non-heat treatment sample 4개를 준비해서 이 샘플들의 저항전분 함량의 변화를 측정하였다(Table 2-20). 마 박의 경우 저항 전분 함량이 27.44 ± 3.45^c %를 가지고 있다. 하지만 전분이 호화가 되면 RS 함량이 크게 감소하는 것으로 알려져 있으며, 마 박도 Autoclave & cooling 할 경우 저항 전분 함량이 11.27 ± 0.39^a %로 줄어드는 것을 확인 할 수 있다. 이는 호화 후 재결정화 과정에서 RS 전분이 크게 감소했음을 의미한다.

Table 2-19. Properties of Chinese yam sludge.

Properties		Contents (%)	Method
Moisture		3.9	Korean Food standards codex (2015) Drying method by heating in normal pressure
Lipid		0.3	Korean Food standards codex (2015) Soxhlet extraction method
Protein		6.5	Kjeldahl
Ash		2.2	Korean Food standards codex (2015) 회분시험법
Carbohydrate	Non-starch polysaccharide	24.7	Korean Food standards codex (2015) 탄수화물계산법
	Starch	62.4	Megazyme total starch assay kit

이 때 호화 처리 된 Autoclave & cooling 샘플에 DGAS 효소를 처리한 경우 저항전분 함량이 11.27 ± 0.39^a %에서 35.21 ± 2.32^d % 로 증가하는 것을 확인 할 수 있다. 이는 DGAS 가 sucrose를 이용하여 마 박 전분질의 amylose와 amylopectin의 구조 변화를 일으키며, 이러한 변화가 전분이 호화 되었다가 재 결정화가 일어나는 과정에서 탄수화물 분해 효소들이 작용하기 어려운 형태로 재결정화 된 것으로 예상된다. 이에 비해 비 호화 처리를 한 마 박 샘플의 경우 열처리를 하지 않았음에도 불구하고 저항전분 함량이 27.44 ± 3.45^c %에서 20.22 ± 0.42^b % 로 감소하는 것을 확인하였으며, 이는 효소수식 공정 중 washing 과정에서 일부 RS 성분이 제거가 된 것으로 예상된다. 비 호화 샘플에 DGAS를 처리한 경우 저항전분 함량은 20.48 ± 0.94^b %로 기존의 비 호화 마박 전분과 유의적 차이가 나타나지 않는다. 이는 초기의 전분의 granule의 구조가 단단하여 amylosucrase가 호화되지 않은 마 박 샘플에 당전이를 하기 힘들기 때문인 것으로 사료된다.

Table 2-20. Resistant starch content of autoclave & cooling, autoclave & cooling + DGAS treatment, non-heat treatment and non-heat treatment + DGAS treatment

Treatment	Resistant starch content (%)
Chinese yam sludge	27.44 ± 3.45 ^{1)c2)}
Autoclave & cooling	11.27 ± 0.39 ^a
Autoclave & cooling + DGAS treatment	35.21 ± 2.32 ^d
Non-heat treatment	20.22 ± 0.42 ^b
Non-heat treatment + DGAS treatment	20.48 ± 0.94 ^b

¹⁾Mean ± S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p < 0.05).

(나) 효소수식 마 변성전분의 granule structure와 X-ray diffraction 확인

위에 언급한 4개의 sample과 아무것도 처리하지 않은 Raw Chinese yam sludge의 granule structure를 주사전자현미경 (Scanning electron microscope, SEM)을 이용하여 검경하였다 (Figure 2-32). Chinese yam sludge의 경우 둥근 형태의 granule 이 확인이 되었으며, 이러한 전분 granule 이 외에도 불규칙한 모양의 입자가 관측되었다. 이는 Table 2-19 에서도 알 수 있듯이 starch를 제외한 불순물로 예측된다. 다음으로 non-heat treatment sample과, non-heat treatment + DGAS treatment 전분의 경우 Chinese yam sludge의 결정구조와 마찬가지로 둥근형태의 결정구조를 보이고 있다. 이를 통해 효소를 처리해도 전분의 결정구조가 파괴되지 않는 것을 예측할 수 있다. 특히, non-heat treatment 전분 결정 구조는 raw chinese yam sludge와 달리 결정 구조 외의 다른 불순물이 적은 것을 확인할 수 있으며, 이는 변성 전분 제조 공정 중 ethanol 침전 과정 중에 변성전분을 제외한 다른 불순물이 제거된 것으로 예상된다. 이와 달리 효소 처리한 샘플의 경우 둥근 전분 결정 구조 외에도 불규칙한 모양의 granule들이 보이며, 이는 효소반응을 통해 생성된 다당체로 예측된다. SEM 분석 결과 열처리 없이 NPAS 처리를 한 샘플을 보면 다당체가 전분과 뭉쳐서 결합된 구조를 보인다. 이에 반해, Autoclave & cooling sample과, Autoclave & cooling + DGAS treatment 전분의 경우 전분의 granular 구조가 파괴되어 있으며, 불규칙한 모양으로 나타났다. 이는 효소반응을 위해 전분 granular를 파괴하는 호화과정을 거친 후, 전분의 재결정화가 다 이루어지지 않은 상태에서 에탄올 침전 과정에 들어간 것으로 보여진다.

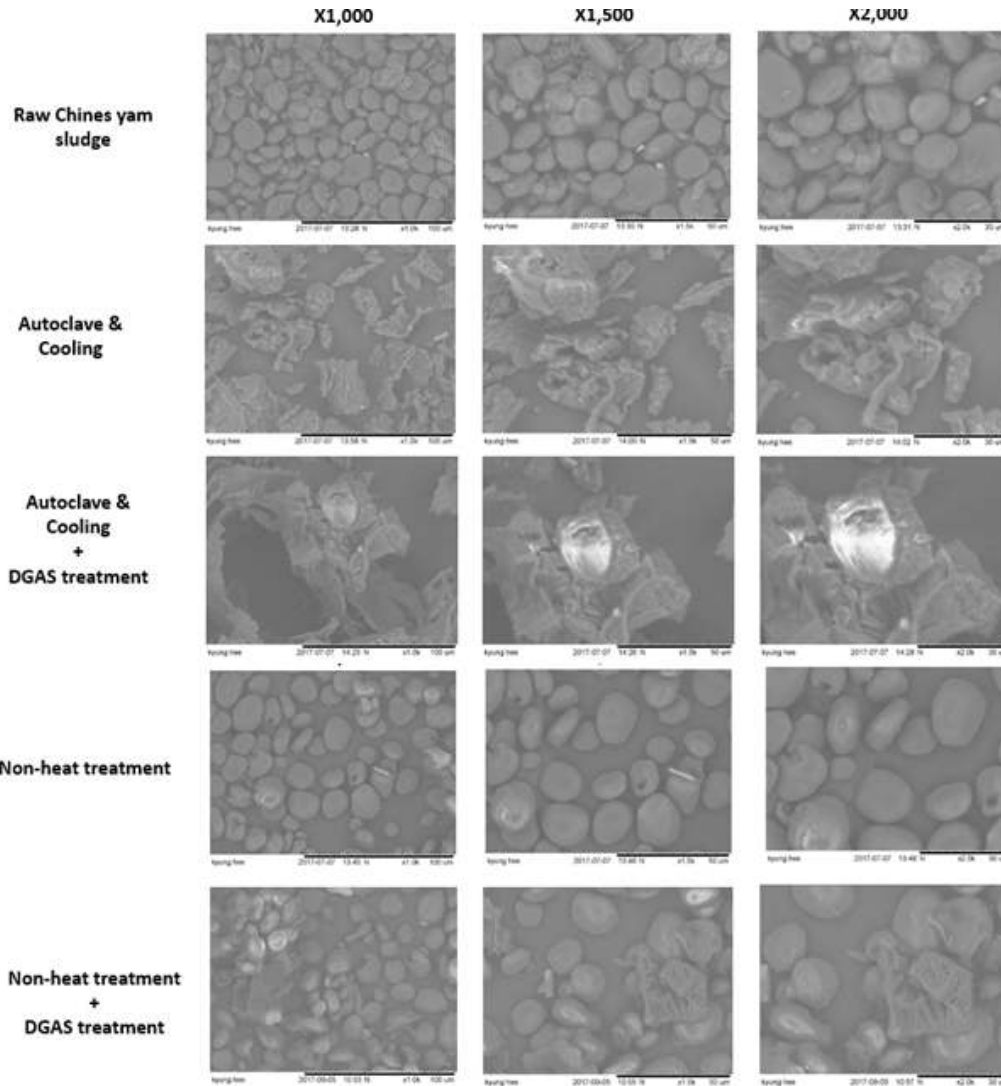


Figure 2-32. Scanning electron microscope image of Chinese yam sludge and modified chinsse yam sludge treated with autoclave & cooling, autoclave & cooling with DGAS treatment, non-heat treatment, and non-heat treatment with DGAS treatment.

다음으로 Chinese yam sludge와 변성전분들의 XRD 패턴을 분석하였다(Figure 2-33). X-선 회절도는 전분의 결정 상태를 측정하기 위해 이용되는 방법으로, 전분의 결정 형태에 따라 A, B, C, V type으로 구분 될 수 있다. A type은 곡류 전분의 결정 상태이고 회절각도(2θ)가 15° , 23° 근처에서 강하게 나타나며, 18° 부근에서도 두 개의 강한 피크를 보인다. B type은 감자와 같은 근경류, 과일 및 줄기에서 추출된 전분들이 속하고, 회절각도(2θ) 17° 부근에서 강한 피크와 6.5° , 20° , 22° 에서 작은 피크가 나타난다. A와 B의 혼합형인 C type은 고구마, 녹두, 완두 전분이 속하고, 피크는 A type과 B type가 함께 나타난다 ($2\theta = 15^\circ$, 17° , 18.1° , 23.5° 부근에서 피크가 나타남). Amylose에 lipid가 포집된 것과 같이 전분에 포집된 형태인 V type천연 전분에서는 나타나지 않으며 회절각도(2θ)가 13° 와 20° 에서 강한 피크가 나타나게 된다.

기존에 알려진 마 전분의 경우 전형적인 C-type으로 알려져 있으며 이번 실험에서 얻은 마 가공부산물의 경우에도 14.90° , 16.62° , 17.08° , 24.35° 로 기존의 C-type과 비슷한 양상을 보이는 것을 알 수 있다. 호화된 샘플의 경우 결정구조가 파괴되어 peak가 검출되지 않았지만, 효소를 처리한 경우 14.90° , 17.09° 에만 peak가 살아 있다. 이에 비해 non-heat treatment는 13.66° , 16.73° , 그리고 16.96° 에서 peak가 나왔으며, 효소 처리한 샘플의 경우 14.81° , 그리고 24.21° 에서 강한 peak가 보였다.

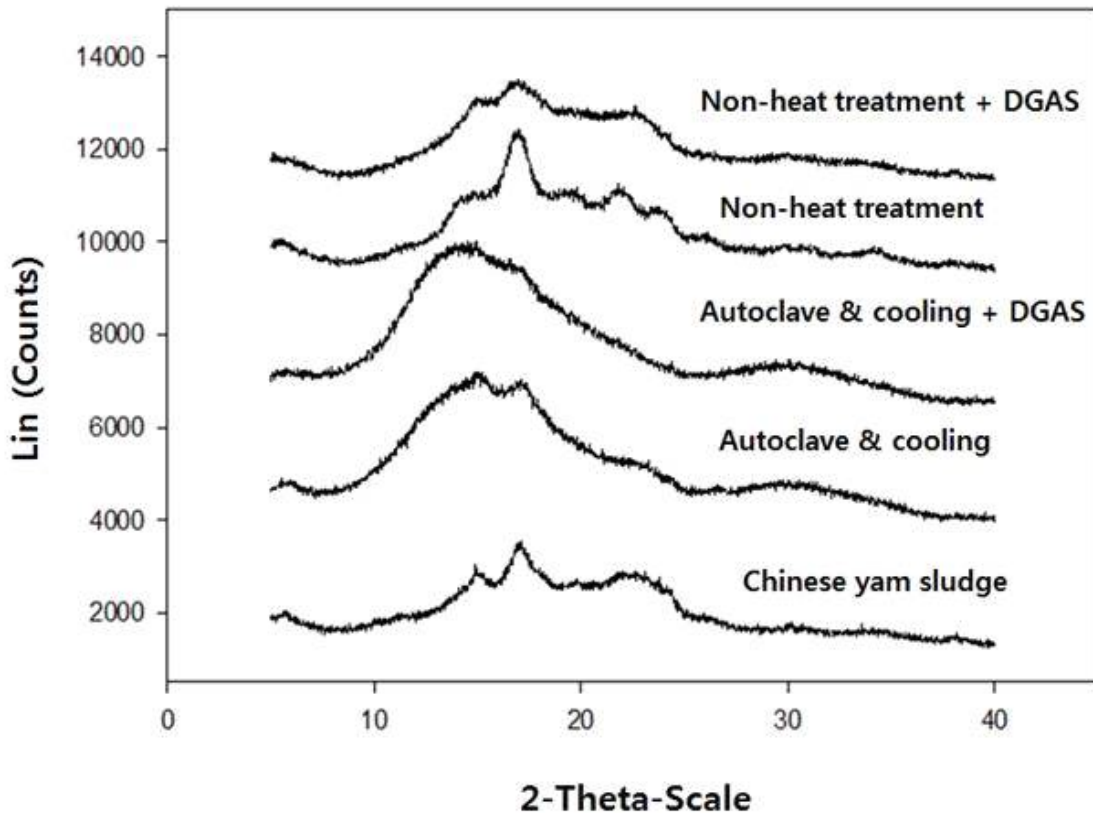


Figure 2-33. X-ray diffraction of Chinese yam sludge and modified Chinese yam sludge treated with autoclave & cooling, autoclave & cooling with DGAS treatment, non-heat treatment, and non-heat treatment with DGAS treatment.

(다) 효소수식 마 변성전분의 열 안정성 및 열처리에 의한 점도 변화 측정

Rapid visco analyzer (RVA)를 통하여 5가지 샘플들의 호화특성을 확인하였다(Figure 2-34). Non-heat treatment 샘플과 non-heat treatment + DGAS 처리한 샘플의 경우 건량이 10 %가 되게 만들어 분석 할 경우, viscosity가 기계의 capacity 한계 값인 6,000 cp를 넘어가기 때문에, 최종적으로 건량 7.50 %가 되게 물에 현탁하여 반응을 측정하였다. 그 결과 non-heat treatment sample과 non-heat treatment sample은 95°C 가 되는 순간부터 점도가 급격하게 증가되며, 이후에도 온도나 시간이 변함에 따라 점도가 감소되는 것이 아니라 계속 증가하는 경향을 보이는 것을 확인 할 수 있다.

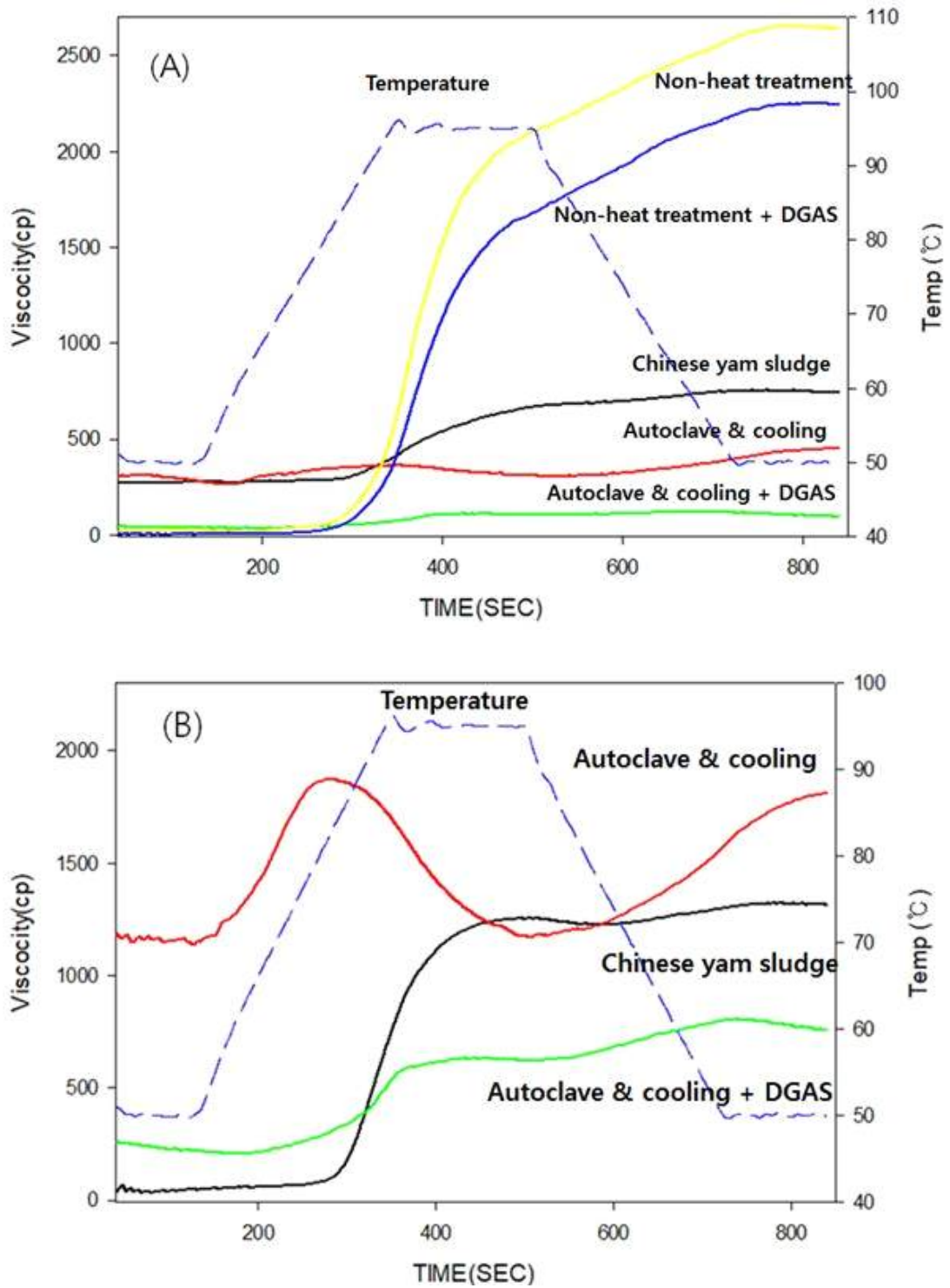


Figure 2-34. Pasting viscosity of Chinese yam sludge and modified chinsse yam sludge treated with autoclave & cooling, autoclave & cooling with DGAS treatment, non-heat treatment, and non-heat treatment with DGAS treatment as (A) sample' s dry basis 7.50 % of total mixture and (B) sample' s dry basis 10.0% of total mixture.

이에 비해 마박, 마박 호화, 마박 호화 DGAS 처리 샘플의 경우 cp값이 매우 낮게 깔리는 것을 확인할 수 있으며, 너무 낮은 cp값으로 인해 제대로 된 경향 분석이 어려워, 전체 물과 혼합물 기준 건량이 10.00 %가 되게 다시 현탁하여 측정하였다. 그 결과 마박, 마박 호화 샘플, 마박 호화 DGAS처리 샘플의 경향을 확인 할 수 있었다. 마박을 호화할 경우 대부분의 온도에서 기존의 마박에 비해 점도가 증가한 것을 확인 할 수 있다. 이에 비해 DGAS 처리를 한 샘플의 경우 점도가 완전히 줄어든 것을 확인이 가능하며 setback 값이 잠시 증가하는 경향을 보이는 것을 확인 할 수 있다.

Table 2-21. DSC analysis of Chinese yam sludge and modified chinese yam sludge treated with autoclave & cooling, autoclave & cooling with DGAS treatment, non-heat treatment, and non-heat treatment with DGAS treatment.

Sample	Onset Temperature (°C)	Peak Temperature (°C)	End Temperature (°C)	Melting Enthalpy (mJ/mg)
Raw chinese yam sludge	66.93±0.21 ^{1)c2)}	72.59 ± 0.29 ^b	78.69 ± 0.29 ^b	0.73 ± 0.02 ^b
Autoclave & cooling	-	-	-	-
Autoclave & cooling + DGAS treatment	-	-	-	-
Non-heat treatment	61.59 ± 0.30 ^b	67.92 ± 0.73 ^a	75.89± 0.18 ^a	0.47 ± 0.07 ^a
Non-heat treatment + DGAS treatment	59.97 ± 0.08 ^a	67.69 ± 0.22 ^a	75.77 ± 0.40 ^a	0.68 ± 0.07 ^b

¹⁾Mean±S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

Differential scanning calorimetry (DSC)를 이용하여 5가지 sample들의 열전이 특성을 조사한 결과는 Table 2-21 와 Figure 2-35와 같다. 마 부산물의 경우 호화개시온도 (onset temperature), 피크 온도 (peak temperature), 호화 종료온도 (conclusion temperature), 그리고 용융엔탈피 (Entahlpy)의 값은 각각 66.93 ± 0.21^c, 72.59 ± 0.29^b, 78.69 ± 0.29^b °C 그리고 0.73 ± 0.02^b J/g으로 나타났다. 이러한 chinese yam sludge를 호화할 경우 결정구조가 파괴되었기 때문에 autoclave & cooling 그리고 atuoclvae & cooling+ DGAS 처리 샘플에서는 더 이상의 호화 peak를 관측할 수가 없다. 이와 달리 호화하지 않은 마 변성 전분인 non-heat treatment, 그리고 non-heat treatment + DGAS treatment 샘플에서는 호화 피크를 확인 할 수 있다. 호화개시온도 (onset temperature), 피크 온도 (peak temperature), 호화 종료온도 (conclusion temperature), 그리고 용융엔탈피 (Entahlpy)의 값은 non-heat treatment 경우 각각 61.59 ± 0.30^b, 67.92 ± 0.73^a, 75.89± 0.18^a °C 그리고 0.47 ± 0.07^a J/g의 값을 non-heat treatment + DGAS treatment 샘플의 경우 59.97 ± 0.08^a, 67.69 ± 0.22^a, 75.77 ± 0.40^a °C, 그리고 0.68 ± 0.07^b J/g의 값을 가지는 것을 확인 할 수 있었다.

Chinese yam sludge에 비해 non-heat treatment 혹은 non-heat treatment + DGAS treatment 샘플의 경우 모두 호화개시온도, 피크온도, 호화종료온도가 낮아진 것을 확인 할 수 있었다. 이는 제조 공정에 포함 된 ethanol washing 공정에 의해 불순물들이 washing 되어 나가면서 변한 결과로 예측된다. 또한 non-heat treatment 샘플의 경우 non-heat treatment + DGAS treatment 샘플과 비교해서 피크 온도와 종료 온도가 비슷하기는 하지만 호화개시온도가 DGAS 처리한 샘플이 더 낮은 것을 확인할 수 있다. 특히 엔탈피의 경우 washing과정 중 불순물을 제거하면서 용융엔탈피가 non-heat treatment의 경우 낮아졌지만, DGAS 처리함으로써, 일부 amylose가 다시 생성되어 용융엔탈피가 다시 증가하는 것으로 예상된다.

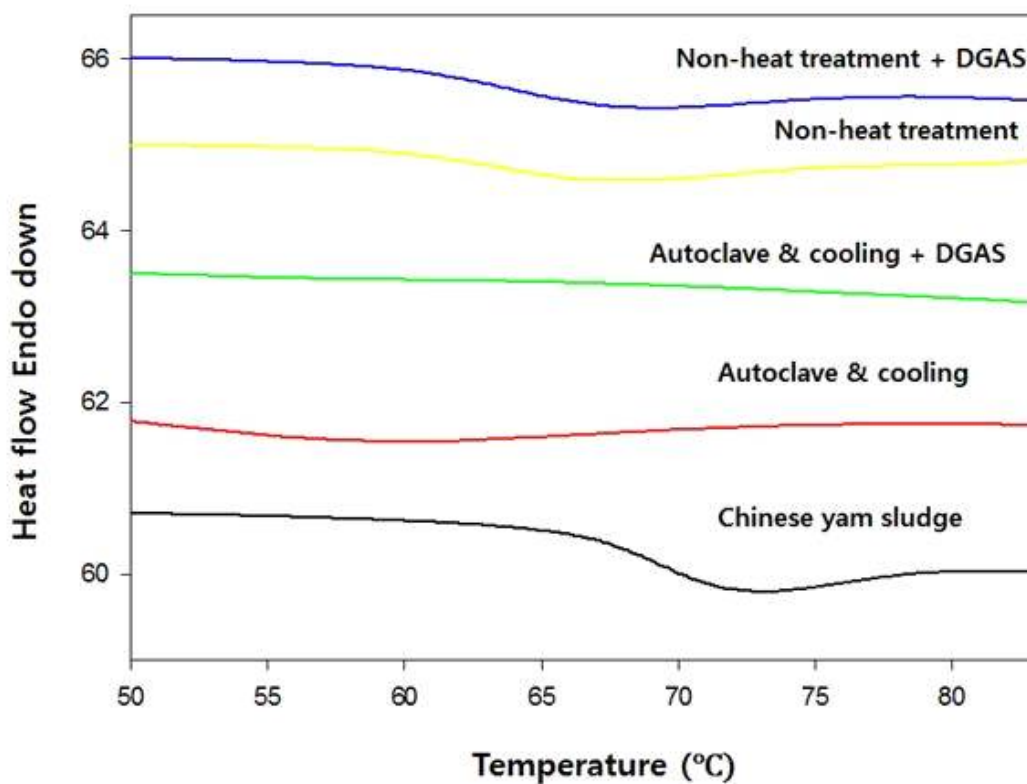


Figure 2-35. DSC analysis of Chinese yam sludge and modified Chinese yam sludge treated with autoclave & cooling, autoclave & cooling with DGAS treatment, non-heat treatment, and non-heat treatment with DGAS treatment.

(라) 효소수식 마 변성전분의 side-chain distribution 확인

마 부산물에 효소 처리를 하여 변성전분을 제작 할 시 마 변성전분의 특성이 변화하는 것을 확인 할 수 있었다. 이러한 변화가 amylopectin에 적용 되었는지를 확인하기 위해 amylopectin의 side-chain distribution을 HPAEC 분석을 통해 확인하였다(Table 2-22).

Table 2-22. Side-chain distributions of Chinese yam sludge and modified chinese yam sludge treated with autoclave & cooling, autoclave & cooling with DGAS treatment, non-heat treatment, and non-heat treatment with DGAS treatment.

Sample	Relative peak area (%)			
	DP 6-12	DP 13-24	DP 25-36	DP > 37
Raw chinese yam sludge	37.40	44.87	9.54	8.2
Autoclave & cooling	32.07	49.74	10.72	7.47
Autoclave & cooling + DGAS treatment	23.23	40.37	22.59	13.77
Non-heat treatment	31.33	48.39	11.24	9.02
Non-heat treatment + DGAS treatment	21.85	53.71	14.59	9.87

Autoclave & cooling 한 샘플에 DGAS 효소를 처리한 경우 Autoclave & cooling 처리를 한 마 박과 기존의 아무처리하지 않은 마 박에 비하여 DP (Degree of Polymerization) 6-24의 비율이 감소하고 DP >25 이상의 비율이 증가하였다. 비 호화 처리 전분의 경우 DGAS 처리를 함으로써 13 < DP <36 분포가 크게 증가하였다. 호화 처리를 한 샘플의 경우 DP >37 이상의 비율이 7.47 %에서 13.77 %로 크게 변화가 된 것에 비해 비호화 처리한 샘플의 경우 DP >37 이상의 물질의 비율은 9.02 %에서 효소를 처리했음에도 불구하고, 9.87 %로 크게 바뀌지 않았다. RS 함량의 변화, SEM, 그리고 X-ray diffraction 등의 결과와 종합하였을 때, 마박 전분을 호화한 경우 amylosucrase가 호화가 된 마 박 전분질 물질의 amylopectin 사슬의 비환원성 말단으로 glucose를 효과적으로 결합하고 재 결정화 과정에서 RS 함량이 크게 증가가 되었지만, 비호화 전분질에 amylosucrase를 처리한 경우 amylopectin의 비환원성 말단에 glucose가 결합하는 것이 아니라 glucose끼리 서로 결합하여 amylose를 형성한 것으로 보이며, 이 때문에 저항전분의 함량의 변화가 거의 없고, SEM 사진에서도 결정구조가 변한 것을 확인하기 힘든 것으로 보인다.

(마) 효소수식 마 변성전분의 solubility & swelling power와 보수력

마박과 효소수식 마박 변성전분 샘플들이 끓는 물에서의 용해력, 팽윤력을 측정하였다 (Table 2-23). 100℃ 끓는 물에서 30분간 가열 한 뒤, swelling power를 확인한 결과 마박은 11.01 ± 0.27 g/g으로 나왔다. 호화 처리 샘플에서, DGAS 처리할 경우 11.10 ± 0.11 에서 12.93 ± 0.90 g/g으로 증가하는 경향을 보였으며, 비호화 샘플의 경우에도 9.85 ± 0.29 에서 12.51 ± 0.39 g/g으로 증가하는 것을 확인할 수 있다. 이를 통해 amylosucrase 처리를 할 경우, 처리하기 전에 비해 swelling power가 증가하는 경향을 보이며, 이는 amylosucrase에 의해 새로 생성된 amylose의 영향으로 생각된다. 100℃ 끓는 물에서 30분간 반응을 한 뒤, 물에 녹은 soluble fraction의 당량을 비교한 결과 호화 sample이 $25.29 \pm 0.16^\circ$ 로 다른 4개의 샘플들에 비해 월등히 높은 당이 녹아 나온 것으로 보인다.

Table 2-23. Solubility and swelling power of Chinese yam sludge and modified chinese yam sludge treated with autoclave & cooling, autoclave & cooling with DGAS treatment, non-heat treatment, and non-heat treatment with DGAS treatment in boiling water condition

Sample	Soluble fraction			Swelling power (g/g)
	Total soluble carbohydrate (% , d.b)	Amylose contents (%)	NSP contents (%)	
Raw chinese yam sludge	5.45 ± 0.16 ^{1)a2)}	1.11 ± 0.05 ^c	4.35 ± 0.09 ^a	11.01 ± 0.27 ^b
Autoclave & cooling	25.29 ± 0.16 ^c	1.01 ± 0.06 ^{bc}	24.31 ± 0.13 ^d	11.10 ± 0.11 ^b
Autoclave & cooling + DGAS treatment	6.39 ± 0.64 ^a	0.32 ± 0.52 ^a	6.06 ± 0.68 ^b	12.93 ± 0.90 ^a
Non-heat treatment	6.71 ± 1.10 ^a	1.12 ± 0.14 ^c	5.55 ± 1.18 ^{ab}	9.85 ± 0.29 ^c
Non-heat treatment + DGAS treatment	10.23 ± 0.55 ^b	0.94 ± 0.11 ^b	9.29 ± 0.59 ^c	12.51 ± 0.39 ^c

¹⁾Mean ± S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05)

이에 비해 amylose contents의 양은 다른 샘플과 비슷하게 1.01±0.06%로 나왔다. 즉 호화한 경우 높은 양의 비전분성 다당류가 나오는 것을 확인 할 수가 있으며, 이는 호화 과정 중에 마박의 결정 구조가 깨지면서 전분과 같이 있던 비전분성 다당류들이 나온 것으로 예상된다. 마박, 마박 호화 후 DGAS 처리 샘플, 마박 비호화 샘플의 경우 총 당량이 5.45±0.16, 6.39±0.64, 그리고 6.71±1.10%로 유의적 차이가 없었으나, amylose 함량의 경우 마박, 마박 호화 후 DGAS, 마박 비호화 샘플의 경우 1.11±0.05, 0.32±0.52, 그리고 1.12±0.14%로 유의적 차이가 보인다. 특히 마박 호화 DGAS처리 샘플의 경우 amylose 함량이 낮고 비전분성 다당류 함량이 증가하는 경향을 보이는데, 이는 DGAS가 전분질 물질에 새로운 당 사슬을 만든 뒤 전분질 물질을 안정화하여 물에 잘 녹지 않게 해준 것으로 보인다.

상온 (25 °C)에서 효소수식 마박 샘플들의 보수력을 확인하였다(Table 2-24). 전분질 물질의 보수력을 측정하기 위해 상온에서 30분동안 물과 반응을 하였을 때, 마박, 마박 호화, 마박 호화 후 DGAS 처리, 마박 비호화, 그리고 마박 비호화 후 DGAS 처리한 샘플의 경우 swelling power가 각 각 3.71±0.06, 10.40±0.01, 8.34±0.04, 4.79±0.54, 그리고 5.37±0.18 g/g으로 나왔다. 100°C 끓는 물에서 반응을 한 경우에 비해 swelling power가 최소 0.70 % (호화 샘플)에서 최대 7.30 % (마박 샘플)정도 낮아지는 것을 확인 할 수 있다. 물에 녹는 가용성 물질 중 총 당 성분도 마박, 마박 호화, 마박 호화 후 DGAS 처리, 마박 비호화, 그리고 마박 비호화 후 DGAS 처리한 샘플이 각 각 1.35±0.81, 1.65±1.01, 0.11±0.28, 2.44±0.33, 그리고 1.19±0.74%로 기존의 100°C 끓는 물에서 30분간 가열 한 뒤 상등액에 녹아 있는 가용성 총 다당류들의 함량보다 낮게 나온 것을 확인할 수 있다. 특히 amylose 함량이 0.00%로 가용성 총 당류들이 모두 비전분성 다당류인 것을 확인 할 수 있다.

Table 2-24. Solubility and swelling power of Chinese yam sludge and modified chinese yam sludge treated with autoclave & cooling, autoclave & cooling with DGAS treatment, non-heat treatment, and non-heat treatment with DGAS treatment in toom temperature (25 °C).

Sample	Soluble fraction			Swelling power (g/g)
	Total soluble carbohydrate (% d.b)	Amylose contents (%)	NSP contents (%)	
Raw chinese yam sludge	1.35 ± 0.81 ^{1)ab2)}	0.00 ± 0.00 ^a	1.35 ± 0.81 ^{ab}	3.71 ± 0.06 ^a
Autoclave & cooling	1.65 ± 1.01 ^{ab}	0.01 ± 0.00 ^a	1.64 ± 1.01 ^{ab}	10.40 ± 0.01 ^d
Autoclave & cooling + DGAS treatment	0.11 ± 0.28 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	0.11 ± 0.28 ^b	8.34 ± 0.04 ^c
Non-heat treatment	2.44 ± 0.33 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	2.44 ± 0.33 ^a	4.79 ± 0.54 ^b
Non-heat treatment + DGAS treatment	1.19 ± 0.74 ^{ab}	0.00 ± 0.00 ^a	1.19 ± 0.74 ^{ab}	5.37 ± 0.18 ^b

¹⁾Mean ± S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p < 0.05)

(2) NPAS를 이용한 효소수식 홍삼 부산물 변성 전분질 제조 및 특성 확인

(가) 화학적 성분 분석

Table 2-25. Properties of red ginseng sludge.

Properties		Contents (%)	Method
Moisture		5.8	Korean Food standards codex (2015) Drying method by heating in normal pressure
Lipid		0.3	Korean Food standards codex (2015) Soxhlet extraction method
Protein		16.9	Kjeldahl
Ash		2.9	Korean Food standards codex (2015) 회분시험법
Carbohydrate	Non-starch polysaccharide	46.7	Korean Food standards codex (2015) 탄수화물계산법
	Starch	27.4	Megazyme total starch assay kit

홍삼박의 구성성분을 총 성분 분석방법을 통해 조사하였다(Table 2-25). 홍삼박은 수분 5.8%, 지질 0.3%, 단백질 16.9%, 회분 2.9%, 그리고 탄수화물 함량이 73.9%로 나왔다.

Table 2-26. Resistant starch content of red ginseng sludge.

Treatment	Resistant starch content (%)
Red ginseng sludge	0.26 ± 0.23 ^a
Red ginseng control	0.25 ± 0.11 ^a
Red ginseng + NPAS	17.71 ± 0.62 ^b

¹⁾Mean±S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05)

홍삼박의 경우 제조 공정 중 반복적으로 수증기가 있는 조건에서 열처리를 하게 되므로, 홍삼 내부에 있는 전분의 경우 호화로 인해 결정구조가 파괴가 되기 때문에 저항 전분 함량이 매우 낮게 나왔다. 이렇게 만들어진 샘플에 NPAS 효소를 처리하여 당전이를 통해 전분질의 amylose와 amylopectin의 구조가 변화하였다. 그 결과 저항전분의 함량의 변화는 기존의 홍삼박 0.26 ± 0.23%에서 18.81 ± 0.66%로 증가하였다.

(나) 효소수식 홍삼박 변성전분의 granule structure와 X-ray diffraction 확인

위에 언급한 3개의 sample의 granule structure를 주사전자현미경(Scanning electron microscope, SEM)을 이용하여 검경하였다(Figure 2-36.). 기존에 알려진 인삼의 전분 형태는 마와 비슷하게 구형 혹은 타원형의 결정구조를 보이며, 표면이 매끄럽다고 알려져 있다. 하지만 홍삼 제조 공정 중에 열처리에 의해 전분의 구조는 전부 파괴되어 더 이상 granule의 원래 모습을 알아보기 힘들다. NPAS 효소를 처리한 샘플의 경우에도 새로운 결정 구조가 형성되는 것을 관측할 수 없었다. 다음으로 X-선 회절도(X-ray diffractometer) 실험을 한 결과는 다음과 같다(Figure 2-37). 인삼 전분의 경우 전형적인 B-type의 전분으로 알려져 있으며, B type은 감자와 같은 근경류, 과일 및 줄기에서 추출된 전분들이 속하고, 회절각도(2θ) 17° 부근에서 강한 피크와 6.5°, 20°, 22° 에서 작은 피크가 나타난다. 하지만 호화 과정 중에 결정구조가 파괴되어서 더 이상 기존의 B-type의 XRD 결과를 확인할 수 없다. 대신 20.90° 부근에서 눈에 띄게 강한 피크를 확인할 수 있으며, 14.40°, 15.00°, 24.47° 그리고 30.16° 에서도 비교적 강한 피크가 나타났다. 하지만 이러한 공정은 설탕을 넣고 반응을 한 red ginseng control 샘플과 red ginseng에 NPAS 효소 처리를 한 샘플 모두에서 20.90° 에 강한 피크가 사라졌다. 이는 홍삼박에 있는 단백질 (16.9 %)을 포함한 불순물들이 에탄올 침전과정 중에서 washing되어서 제거되어진 것으로 예상된다. red ginseng에 설탕을 넣고 35°C에서 교반을 하였을 경우 15.04° 그리고 23.56° 에서 강한 피크가 관측되어 지나, 효소 처리를 했을 경우 24.47° 에서만 강한 피크가 관측되었다. 3 샘플 모두 24° 부근에서 강한 피크가 나타난 것을 확인 할 수 있었다.

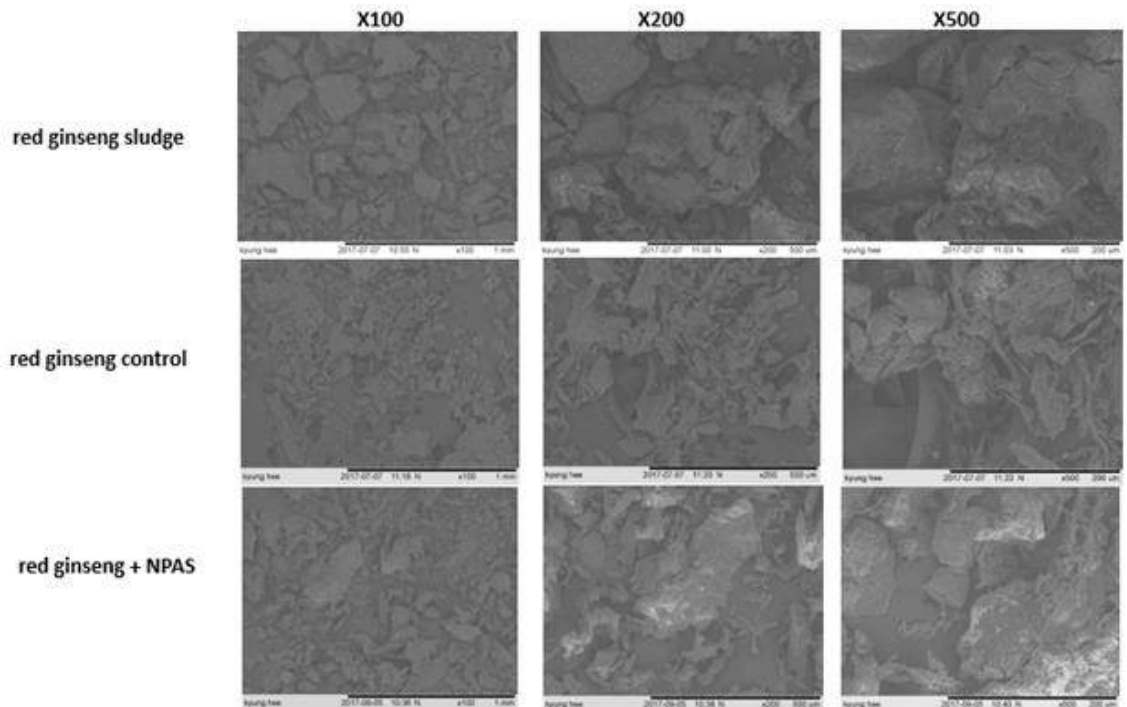


Figure 2-36. Scanning electron microscope image of red ginseng sludge and modified red ginseng sludge control and red ginseng sludge treated with NPAS.

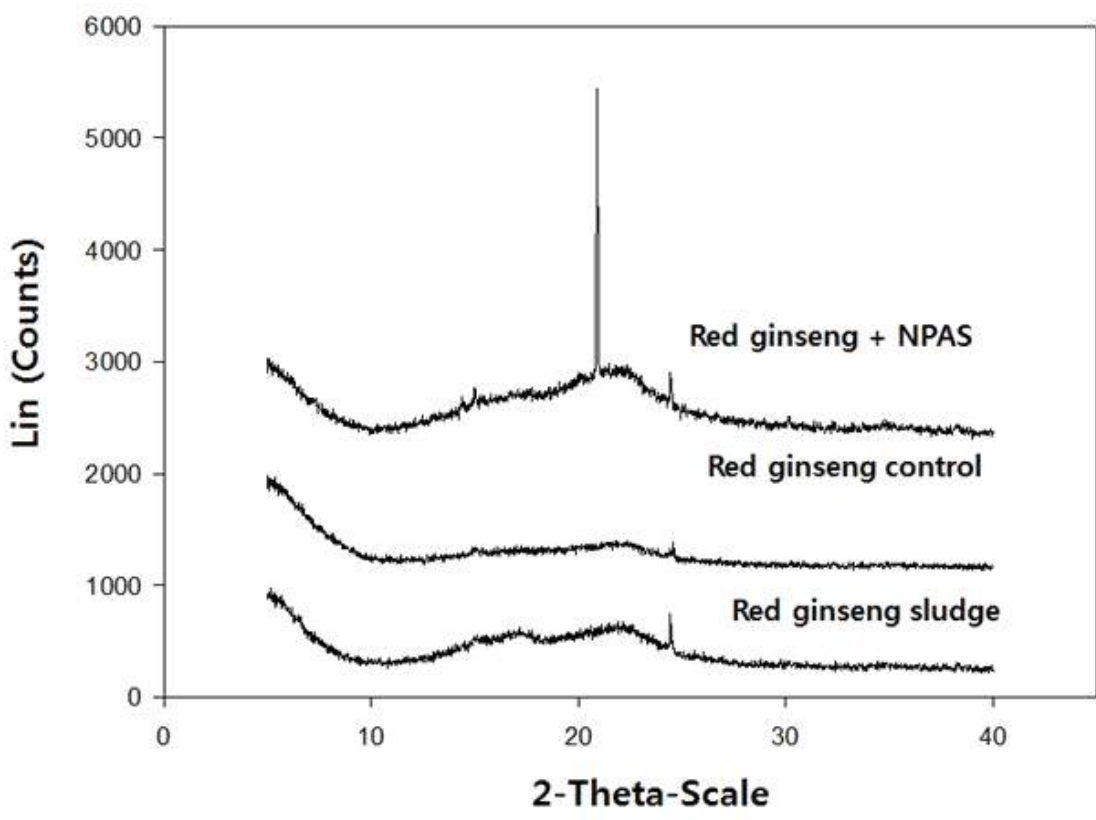


Figure 2-37. X-ray diffraction of red ginseng sludge and modified red ginseng sludge control and red ginseng sludge treated with NPAS.

(다) 효소수식 홍삼박 변성전분의 열 안정성 및 열처리에 의한 점도 변화 측정

Rapid visco analyzer (RVA)를 통하여 3가지 샘플들의 호화특성을 확인하였으며 결과는 Figure 2-38 와 같다. Figure 2-36의 SEM 사진에서 보면 알 수 있듯이, 잦은 호화 공정에서 파괴된 전분 결정구조로 인해 더 이상의 호화 피크를 찾기가 힘들며 전분의 호화양상은 위의 Figure 2-38 와 같이 시간이 지남에 따라 점도가 점차적으로 증가하는 양상을 보이는 것을 확인할 수 있다. 또한 전체 점도가 300 cp이하로 마박의 경우에 비해 점도가 전체적으로 낮은 것을 확인할 수 있다.

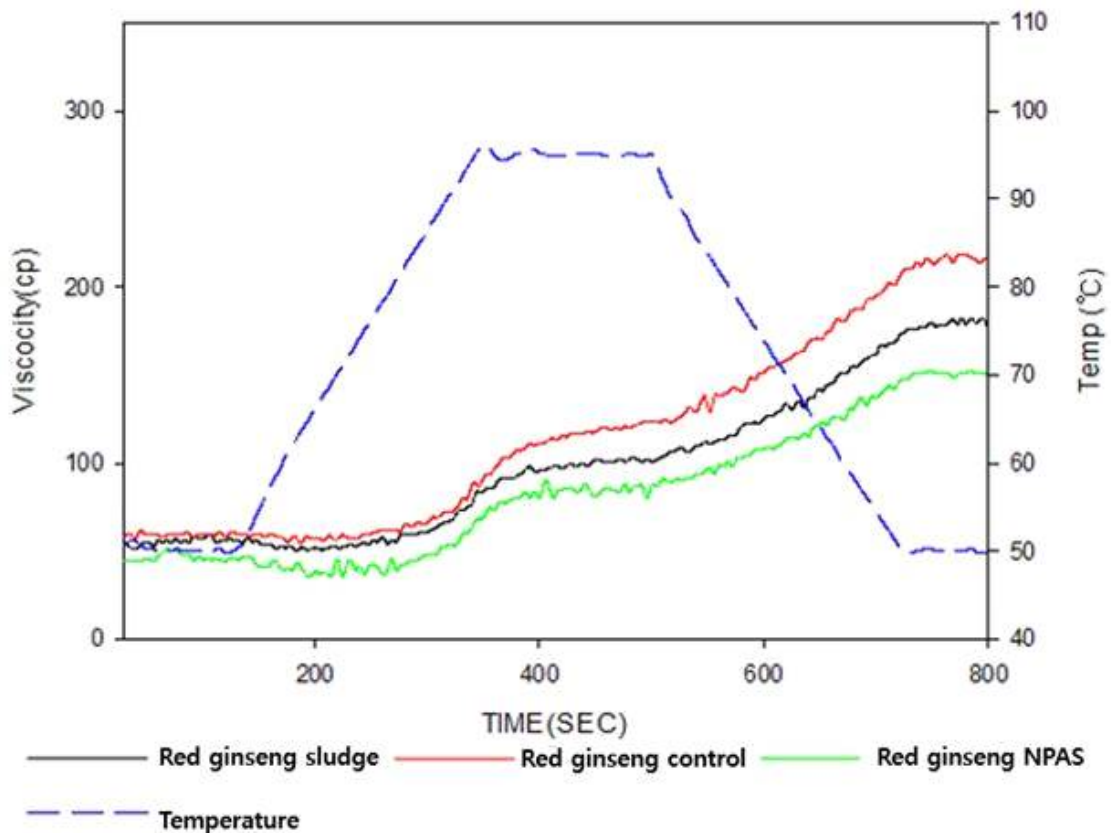


Figure 2-38. Pasting viscosity of red ginseng sludge and modified red ginseng sludge control and red ginseng sludge treated with NPAS.

Differential scanning calorimetry (DSC)를 이용하여 3가지 sample들의 열전이 특성을 조사한 결과는 Figure 2-39와 같다. 더 이상 결정구조를 관측할 수 없는 홍삼박과 홍삼박 변성 전분의 특성 때문에 DSC 분석 결과 더 이상의 호화 peak는 관측할 수 없다.

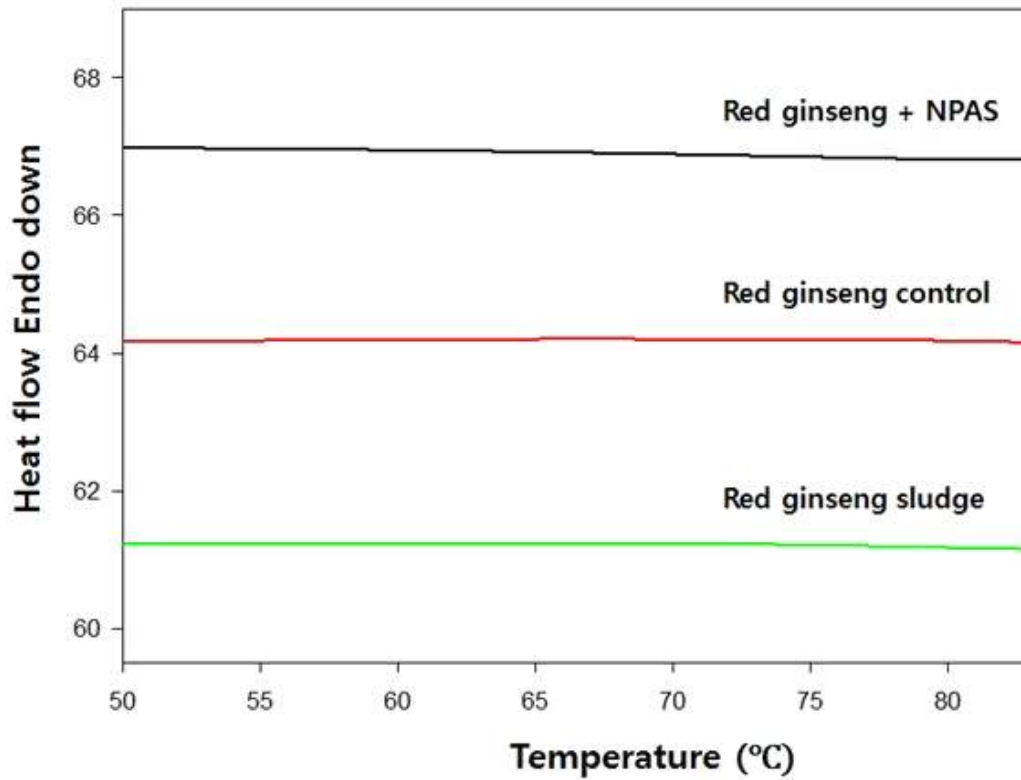


Figure 2-39. DSC analysis of red ginseng sludge and modified red ginseng sludge control and red ginseng sludge treated with NPAS.

(라) 효소수식 홍삼박 변성전분의 side-chain distribution

홍삼박 부산물에 효소 처리를 하여 변성전분을 제작 할 시 홍삼박 변성전분의 특성이 변화하는 것을 확인 할 수 있었다. 이러한 변화가 amylopectin에 적용 되었는지를 확인하기 위해 amylopectin의 side-chain distribution을 HPAEC 분석을 통해 확인하였다(Table 2-27).

Table 2-27. Side-chain distributions of red ginseng sludge and modified red ginseng sludge control and red ginseng sludge treated with NPAS.

Sample	Relative peak area (%)			
	DP 6-12	DP 13-24	DP 25-36	DP > 37
Red ginseng sludge	37.67	41.07	15.19	6.08
Red ginseng control	36.42	41.21	14.60	7.77
Red ginseng + NPAS	22.5	36.82	21.33	19.3

Red ginseng sludge와 red ginseng control은 size-chain distribution을 보았을 때 비슷하게 분포가 되어 있는 것을 확인 할 수 있다. 하지만 NPAS 효소를 처리했을 경우 DP 6-24의 짧은 당류의 경우 함량이 red ginseng sludge와 red ginseng control에 비해 줄어든 것을 확인할 수 있으며 오히려 DP 25 이상의 긴 chain들의 함량이 증가 된 것을 확인 할 수 있다. 이 결과를 통해 홍삼박에 전분질에 NPAS 효소 작용을 통해 amylose와 amylopectin의 구조 변화를 일으키며, 이러한 구조적 변화를 통해 탄수화물 분해 효소들이 작용하기 어려운 형태로 변형된 것으로 사료된다.

(마) 효소수식 마 변성전분의 solubility & swelling power와 보수력

홍삼박, 홍삼박 control, 그리고 NPAS 처리한 3가지 샘플의 swelling power는 각각 13.07 ± 0.02 , 13.11 ± 0.59 , 그리고 13.08 ± 0.05 g/g 으로 유의적 차이를 확인 할 수 없다. 이에 반해 물에 녹을 수 있는 soluble carbohydrate의 경우 홍삼박, 홍삼박 control, 그리고 NPAS 처리 샘플 3가지가 각각 4.85 ± 0.46 , 6.73 ± 0.52 , 그리고 1.54 ± 0.22 g/g으로 유의적 차이를 보인다. 홍삼박 NPAS 처리 샘플의 경우 가장 당량이 적으며, control 샘플의 경우 당량이 가장 높은 것을 확인 할 수 있다. 홍삼박 control의 경우 아직 씻겨나가지 않은 일부 자당 성분들이 있어 가장 당량이 높은 것으로 예상된다. 이에 반해 NPAS 처리 샘플의 경우 홍삼박 전분질에 side chain의 길이가 길어지면서, 안정화되어, 끓는 물에서 잘 녹아 나오지 않아 가장 당량이 낮은 것으로 생각된다. 홍삼박, 홍삼박 control, 그리고 홍삼박 NPAS 처리 샘플 모두 물에 녹은 amylose 함량이 0.04 ± 0.01 , 0.06 ± 0.01 , 그리고 $0.05 \pm 0.02\%$ 로 유의적 차이가 없으며 amylose 함량이 거의 없는 것을 알 수가 있다. 즉 물에 녹아 있는 대부분의 당류들은 비 전분성 다당류인 것으로 보인다.

Table 2-28. Solubility and swelling power of red ginseng sludge and modified red ginseng sludge control and red ginseng sludge treated with NPAS in boiling condition

Sample	Soluble fraction			Swelling power (g/g)
	Total soluble carbohydrate (% d.b)	Amylose contents (%)	NSP contents (%)	
Red ginseng sludge	4.85 ± 0.46^b	0.04 ± 0.01^a	4.82 ± 0.46^b	13.07 ± 0.02^a
Red ginseng control	6.73 ± 0.52^c	0.06 ± 0.01^a	6.68 ± 0.51^c	13.11 ± 0.59^a
Red ginseng + NPAS	1.54 ± 0.22^a	0.05 ± 0.02^a	1.50 ± 0.24^a	13.08 ± 0.05^a

¹⁾Mean \pm S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

Table 2-29. Solubility and swelling power of red ginseng sludge and modified red ginseng sludge control and red ginseng sludge treated with NPAS in room temperature

Sample	Soluble fraction			Swelling power (g/g)
	Total soluble carbohydrate (% d.b)	Amylose contents (%)	NSP contents (%)	
Red ginseng sludge	4.08 ± 0.71 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	4.08 ± 0.71 ^a	9.89 ± 0.81 ^a
Red ginseng control	8.26 ± 0.34 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	8.26 ± 0.34 ^b	13.60 ± 0.45 ^b
Red ginseng + NPAS	3.50 ± 0.64 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	3.50 ± 0.64 ^a	8.11 ± 0.58 ^a

¹⁾Mean±S.D. ²⁾Mean with different superscripts in column(a-e) are significantly different (p<0.05).

100 °C에서 반응한 경우 swelling power가 처리 과정에 상관없이 대략 13 % 정도로 나온 것에 반해, 상온에서 30분간 물에 녹인 경우 swelling이 red ginseng sludge, control 그리고 NPAS 처리 샘플이 각각 9.89±0.81, 13.60±0.45, 그리고 8.11±0.58 g/g 으로 유의적 차이를 보인다. 상층액에 녹아 있는 전체 전분의 양은 각각 4.08±0.71, 8.26±0.34, 그리고 3.50±0.64%로 나왔으며, swelling power와 마찬가지로 물에 녹아있는 당의 양 또한 red ginseng control 이 가장 높은 것을 확인 할 수 있었다. amylose 함량의 경우 처리 과정에 상관없이 하나도 나오지 않았다. 이는 홍삼 형성 과정 중에 amylose의 helical 구조가 모두 깨져, iodine이 혼입 될 구조체가 없기 때문에 값이 0인 것으로 추정된다. 다시말해 물에 녹아 있는 대부분의 당류들은 amylose가 없는 비 전분성 다당류인 것으로 보인다.

3. 요약 및 결론

가. 재조합 효소 특성 비교

현재까지 발굴된 ASase 중 열 안정성이 가장 높은 효소는 DGAS로 45°C에서 활성이 계속 일정하게 유지되며, melting temperature가 61.4°C로 다른 ASase에 비하여 10~20°C 높게 나타났다. 또한 일정온도에서 단위 효소량에 따른 활성을 나타내는 specific activity의 값이 가장 높게 나타났다. 이와 달리 자당으로부터 amylose를 합성하는 양은 NPAS가 가장 높았으며 그 뒤로 ACAS, DGAS, DRpAS, AMAS순으로 나타났다. 당전이 활성이 가장 높은 ASase는 NPAS이지만 열 안정성이 떨어지고, 열 안정성이 가장 높은 ASase인 DGAS는 당전이 활성이 NPAS에 비하여 다소 떨어지는 반대의 성향을 가지기 때문에 두 개의 효소를 선정하여 당전이 반응을 진행하였다.

BLSP의 최적 G-1-P 생산 조건은 300 mM sodium phosphate버퍼에 400 mM sucrose를 5 5°C, pH7에서 수행한 반응이다. MFGP는 G4 (maltotetraose)이상 기질에서 polymerization이 일어날 수 있으며, 이때 G-1-P의 농도가 높아야 polymerization 반응이 크게 일어날 수 있음을 확인하였다. 즉, 값이 싼 sucrose를 BLSP를 이용하여 값비싼 기질인 G-1-P을 효과적으로 생산할 수 있으며, 이렇게 생산된 G-1-P를 MFGP가 이용하여 전분과 반응하여 기능성 전분을 합성 할 수 있는 가능성을 확인하였다.

나. ASase 효소를 이용한 효소수식 변성전분 제조 및 특성 확인

생전분은 ASase 효소와 반응이 일어나지 않아 감자, 고구마, 멥쌀, 찹쌀 등의 전분을 호화 후 식힌 다음 반응을 하게 된다. 호화 후 효소 처리를 통해 전분의 물리화학적 특징이 전체적으로 변화한 것을 확인할 수 있다.

(1) 서로 다른 온도에서 DGAS 처리 시 효소수식 변성 서류전분 특성 변화 확인

일반적으로 호화 후 노화된 전분은 RS가 증가하는 것으로 알려져 있는데, autoclaving/cooling 처리 감자 전분은 RS값이 오히려 감소하였다. 이에 반해 DGAS 수식 변성 감자 전분은 DGAS 반응에 의하여 amylose 및 amylopectin의 함량 및 구조가 변경되어 탄수화물 분해 효소들이 작용을 어려운 형태로 재결정화 되어 저항전분 함량이 증가하였으며, 반응 온도에 따라서 30°C 반응 시 23.4%, 40°C 반응 시 30.9%, 50°C 반응 시 14.1%로 나타났다, 즉 효소의 활성이 가장 높은 40°C에서 가장 높은 값을 보였다. 고구마의 경우에는 30°C는 22.7%, 40°C는 25.1%, 50°C는 8.8%로 30°C와 40°C 반응한 DGAS 변성 고구마 전분의 RS값은 유의적 차이가 없이 비슷하였지만, 50°C 반응에서 효소의 활성이 떨어져 급격히 감소한 것을 확인 할 수 있었다. 즉 기존의 DGAS 효소의 최적 온도와 가까운 40°C에서 가장 큰 변화를 그리고 50°C에서는 오히려 효소의 활성이 떨어져서 큰 변화를 보이지 않는 것으로 확인하였다.

(2) 서로 다른 종류의 ASase (DGAS, NPAS) 처리 시 효소수식 변성 쌀전분 특성 변화 확인

천연 멥쌀 및 찹쌀 전분의 RS 함량은 0.7% 및 0.8% 로 매우 낮다. 하지만 멥쌀 전분에 RS 함량은 DGAS 처리 시 32.5%, NPAS 처리 시 RS 함량은 39.8%로 나타났다. 또한 찹쌀 전분의 RS 함량도 0.8%이며, DGAS 처리 시 23.6%, NPAS 처리 시 RS 함량은 38.3%로 증가했다. 그 외에도 비록 같은 ASase 효소이기는 하지만 천연 멥쌀 혹은 천연 찹쌀 전분에 DGAS와 NPAS 처리 시에 서로 다른 물리 화학적 특성을 가지고 있는 것으로 나타났다. 특히 일반적으로 찹쌀 전분과 멥쌀 전분과 같이 곡류에서 나오는 전분은 A type이지만 찹쌀 전분이 호화 후 재결정화를 이루면서 B type과 유사한 것으로 나타났다. 이는 호화 후 재결정화 과정에서 ASase는 찹쌀 전분의 amylopectin의 구조 변경시켜 B type으로 결정시키는 것으로 밝혀졌다.

다. Dual enzyme system을 이용한 효소수식 변성전분 제조 및 특성 확인

본 연구를 통하여 값이 싼 sucrose와 SPase를 이용하여 값비싼 기질인 G-1-P을 생산하고, 이를 전분과 GPase를 반응하여 저항전분 함량이 높고, 물리화학적 특성이 변한 기능성 전분을 합성하는 공정을 개발하였다. GPase 단독 반응 보다는 SPase-GPase dual enzyme 반응이 감자 전분의 내부 구조가 크게 변화가 되었을 확인할 수 있었으며 GPase만 이용한 효소 수식 전분은 저항전분 함량이 증가하지 않아 새로운 기능성 전분이라고 할 수 없다. 이 새로운 dual enzyme system을 이용하면 기존의 가수분해 효소를 이용하는 것에 비하여 높은 수율의 효소 수식 전분을 합성 할 수 있으며, amylosucrase에 비하여 높은 RS 함량을 가지는 기능성 전분을 합성할 수 있다.

라. ASase 효소를 이용한 특용작물 가공부산물로부터 효소수식 변성전분 제조 및 특성 확인

본 연구를 통하여 전분을 추출하고 남은 마박과 값이 싼 기질인 sucrose를 이용하여 저항전분 함량이 높고, 기존의 전분질 물질과는 물리화학적 특성이 다른 기능성 전분을 합성하는 공정을 개발하였다. 호화처리 하지 않고 효소처리를 한 효소수식 마박 물질보다 호화 처리를 한 뒤 효소 처리를 하여 재결정화를 한 효소수식 마박 물질이 전분 내부 구조가 크게 변화가 된 것을 확인 할 수 있으며, 이 경우 기존의 마박이 가지고 있는 저항전분 함량인 27.44 ± 3.45 % 보다 더 높은 35.21 ± 2.32 %로 나왔으며, 새로운 물리화학적 특성을 가진 전분이 생성되는 것을 확인하였다. 다음으로 ginsenoside를 추출하고 남은 홍삼박 물질에 효소 처리를 하여 저항전분 함량이 높고, 물리화학적 특성이 변한 기능성 전분을 합성하는 실험을 진행하였다. 홍삼박의 경우 홍삼박 제조 공정 중 물과 함께 삼을 찌는 과정이 반복되면서 결정구조가 완전히 파괴되어 기존의 전분질 물질과는 완전 다른 물성을 보였다. 하지만 NPAS 효소와 sucrose를 처리한 경우 특정 결정구조가 생기는 것을 확인 할 수가 없었지만, 저항전분함량이 0.26 ± 0.23 %에서 17.71 ± 0.62 %로 크게 증가하는 것을 확인하였다.

제3절. 물리적 변성방법에 의한 전분소재 개발 및 특성

1. 국내 농산작물로부터 추출·정제된 전분으로부터 무정형전분입자 개발

가. 일반 감자 및 고구마전분의 물리화학적 특성과 무정형전분과의 물성학적인 비교

(1) 연구방법

(가) NaOH를 이용한 무정형전분의 제조

국내산 원료로부터 제조된 감자전분과 고구마전분(뿌레반)을 4°C 에서 냉장보관 하면서 무정형 전분의 원료로 하였다. 무정형 전분을 제조하기 위하여 cold water-soluble starch의 제조법을 변형하여 이용하였다. 감자전분 10 g(d.b.), 에탄올과 증류수를 섞어 80 mL를 준비한다. 감자전분과 에탄올(60%) 40 mL를 10분 동안 교반 시켜준 뒤 3 N NaOH 용액을 분당 0.66 mL 속도로 넣어 15분 동안 총 10 mL를 넣어 주었다. 에탄올(60%) 40ml을 넣어주고 10분동안 교반을 시켰다. 교반이 끝난 뒤 3 N HCl 10 mL를 넣어 중화 시키고 중화된 감자전분을 무수에탄올을 사용하여 탈수 시킨 뒤 원심분리 하였다. 원심분리 조건은 4°C 에서 5분간 3000 rpm에서 수행하였으며 이러한 과정을 3번 반복하였다. 탈수된 감자전분은 40°C 드라이오븐에서 24시간 건조 하여 170 mesh에 내려 사용하였다.

(나) 전분 입자 관찰 및 전분현탁액의 안정성

전분 입자는 Microscope (CX31RTSF, Olympus corporation, Tokyo, Japan)를 이용하여 고구마, 감자 전분은 증류수로, NaOH로 처리된 전분은 에탄올로 분산시켜 40배율로 입자를 관찰하였고 편광렌즈를 이용하여 복굴절 현상을 확인하였다. 고구마 전분, 감자전분과 NaOH로 처리된 전분을 각각 2, 2.8, 3.6 g (dry basis) 씩 tube에 넣은 후 20 g이 될 때까지 증류수에 섞어 현탁액을 제조하였다. 전분현탁액의 안정성은 증류수를 넣은 직 후 사진으로 관찰하였으며 또한 현탁액을 10회 저은 후 상온에서 20분 정체 후 관찰하였다.

(다) 전분의 가열에 따른 점도측정 Rapid Visco Analysis (RVA) 실험법

고구마 전분과 감자 전분 1.5 g에 28 g이 될 때까지 증류수에 섞어 5.3%농도의 시료를 만들었고 가열에 따른 전분의 변화는 Rapid Visco Analyzer (RVA-3D, Newport Scientific, NSW, 도시, Australia)를 이용하였다. 실험온도는 50°C 에서 95°C 까지 12°C/min의 속도로 온도를 상승시킨 후 95°C 에서 2분간 유지 후 50°C까지 다시 12°C/min의 속도로 온도를 낮추는 동안 전분의 점도변화를 측정하였다.

(라) 전분류의 열안정성 및 X-Ray Diffraction (XRD) 측정

고구마 전분과 감자 전분을 각각 6, 10, 14, 18% 농도로 전분 현탁액을 제조하여 각 10 mg씩 Differential Scanning Calorimeter (DSC-4000, perkin Elmer, Waltham, Massachusetts, USA)의 aluminum pan에 넣어주었다. DSC를 이용한 온도 범위는 25°C 에서 130°C 이었고 가열 속도는 10°C/min이었다. 대조군으로는 빈 aluminum pan을 이용하였다. NaOH 처리된 무정형 전분과 감자전분을 비교하기 위해서 각각 25% 농도로 전분 현탁액을 제조하여 7 mg의 전분 현탁액을 aluminum pan에 넣어주었다. 온도 범위와 대조군은 위의 실험과 동일하였다. 일반 감자와 고구마전분, NaOH로 처리된 무정형 전분의 X-ray diffraction은 X-ray Diffractometer (D8 Advance, Bruker, Germany)를 사용하여 측정하였고, 주사각도(2θ)의 조건으로 측정하였다.

(마) 전분현탁액의 겔보기 점도(apparent viscosity) 측정

고구마와 감자 전분 현탁액을 10, 14, 18 g의 시료에 최종 무게가 100 g이 되도록 증류수를 첨가하여 10, 14, 및 18%의 농도로 현탁액을 제조 후 점도를 측정하였다. 측정 기기는 Brookfield viscometer (DV2-21AY, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Middleboro, Indiana, USA)를 이용하였고 spindle No. 7를 사용하였으며 60 rpm의 조건에서 30초가 경과한 후의 점도를 측정하였다.

(바) 전분 겔의 제조 및 강도(TPA) 측정전분

고구마와 감자 전분을 10, 14와 18%의 농도로 제조하여 교반(200 rpm) 시키면서 각각 95, 85와 75°C 의 water bath에 15분간 중탕시켰다. 그 후 플라스틱 용기에 담아 parafilm으로 밀봉한 후 4°C 에서 24 시간 동안 저장시킨 전분 겔을 지름 2 cm와 높이 2 cm의 원기둥으로 잘라서 사용하였다. 제조한 전분 겔의 texture profile analysis (TPA)는 Rheometer (CR-200D&CR-150, Sun Scientific Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였고, 300 mm/min의 crosshead speed, 300 mm/min 의 chart speed와 0.55 strain의 조건하에서 측정하였다.

(사) 전분 겔의 응력완화 및 동적 점탄성의 측정

전분 겔의 응력완화현상은 Rheometer (CR-200D & CR-150, Sun scientific Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 200 mm/min의 crosshead speed와 0.25 strain의 조건으로 15분간 측정하였다. 초기 instantaneous stress, 탄성성분 및 점성성분은 3 element Maxwell model를 이용하여 분석하였다. 전분 겔의 동적 점탄성은 Dynamic Rheometer (discovery hybrid rheometer HR-3, New Castle, Delaware, USA)를 이용하여 측정하였다. Linear viscoelastic 범위를 선정하기 위해 frequency sweep과 stress sweep를 수행하였으며, 이때 linearity를 나타내는 frequency는 10 rad/s과 10 Pa의 stress를 이용하였다.

일정한 frequency와 stress 하에서 time sweep에 따라 나타나는 점탄성 변화를 측정하였으며, 이때 사용한 시료는 10, 14와 18%의 전분 고형분 함량의 겔을 3 mm로 얇게 만들어 사용하였다. 측정은 25°C로 설정된 Dynamic tester의 plate-plate system (직경: 4 cm, gap: 3,000 μ m)을 사용하여 수행하였으며 저장탄성률(storage modulus, G')과 손실탄성률(loss modulus, G'')을 측정하였다.

(2) 연구결과

(가) 전분입자관찰

일반 감자 전분, 고구마 전분 및 NaOH로 처리한 감자전분의 입자를 사진으로 관찰 비교하였다(Figure 3-1 & 3-2). NaOH를 처리한 전분의 경우 일반 감자 전분보다 덜 둥근 모양을 하고 있지만 전분의 size에 있어서 큰 변화는 없었고 granule의 형태가 유지되어 있는 모습을 하고 있었다. 반면 편광렌즈로 관찰한 결과 NaOH 처리한 감자전분의 경우 복굴절성이 나타나지 않았다. 이는 내부의 결정구조가 파괴된 결과로 전분 입자의 결정구조가 파괴되었지만 granule을 유지하는 무정형 전분과 유사하다고 할 수 있다. NaOH로 처리한 감자 전분의 경우 에탄올에 수화시켰을 시에는 granule의 형태가 유지되어 있는 모습을 하지만 물에 수화시키면 granule이 유지되지 못하고 gel과 같은 형상을 함께 가지고 있어 완전한 무정형 구조라고 보기 어렵고 오히려 cold water soluble starch의 특성을 가지고 있다고 볼 수 있다(Figure 3-1).



Figure 3-1. Light (a & b) and polarized-light (b) microscope images of potato starch granules. (a & b) Suspension of potato starch treated with NaOH in ethanol, (b) Suspension of potato starch treated with NaOH in deionized water.

일반 감자 전분의 경우(Figure 3-2a) 복굴절성이 뚜렷하게 나타나는 것을 확인 할 수 있었다. 이는 일반 감자전분 내의 결정형 구조가 존재한다는 것을 의미한다. 또한 일반 감자전분의 경우 입자가 크고 타원형의 형태를 하고 있는 것을 알 수 있다. 고구마 전분의 경우(Figure 3-2b) 감자 전분에 비해 매우 작은 입자를 가지고 있는 것을 알 수 있으며 편광렌즈로 관찰한 결과 복굴절성이 나타난 것을 확인할 수 있었다.

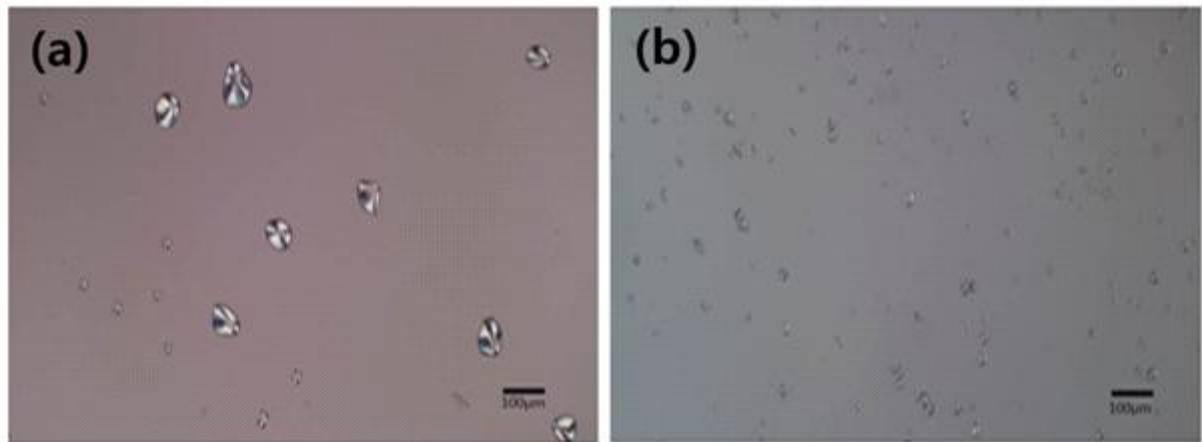


Figure 3-2. Polarized light microscope images of native starch granules from potato (a) and sweet potato (b).

(나) 전분현탁액의 안정성

일반 감자전분과 NaOH 처리된 감자전분을 증류수에 수화시킨 후와 이를 혼합시켜 20분간 상온에 방치 후를 비교하여 그 변화를 관찰하였다(Figure 3-3 & 3-4). 일반 감자전분과 NaOH 처리된 감자전분 모두 10, 14와, 18%의 농도로 비교하였다. 초기에 증류수에 전분을 섞으면 NaOH 처리된 감자전분은(Figure 3-3a) 물에 닿는 부분이 점질 형태를 나타내어 물과 닿지 않는 부분이 그대로 남아있는 것을 알 수 있었다. 이러한 특성은 NaOH 처리된 감자전분이 물에 닿으면서 granule이 유지되지 못하여 나타나는 것으로 볼 수 있다. 반면에 일반 감자전분은(Figure 3-4a) NaOH 처리된 감자전분에 비해 물에 잘 분산되는 것을 알 수 있었다. 또한 잘 혼합 한 후 20분간 상온에서 방치 후에도 NaOH 처리된 감자전분은 잘 혼합되지 않은 덩어리를 포함하며 점질 형태를 유지하였으나(Figure 3-3b), 일반 감자전분은 침전하여 증류수와 전분이 분리되는 형상을 보였다(Figure 3-4b). 농도에 따른 변화를 보면 NaOH 처리한 감자전분은 농도가 전해질수록 물에 수화되지 않은 큰 덩어리들이 많은 것을 알 수 있었다(Figure 3-3). 일반 감자전분은 농도에 따라 큰 변화가 없이 아래로 침전하는 현상을 보여주었다(Figure 3-4).

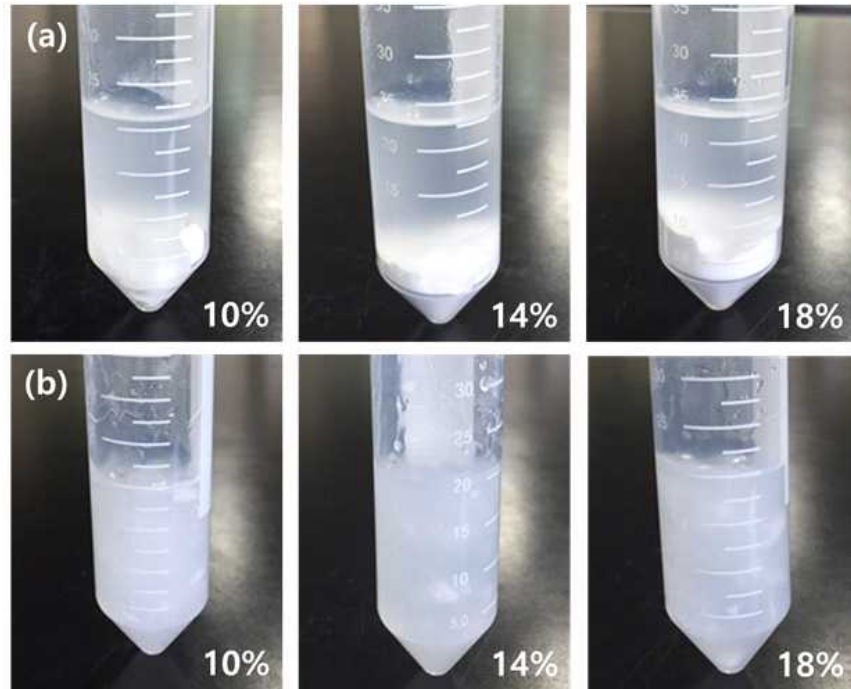


Figure 3-3. Suspensions dispersing the different concentrations (10, 14, and 18%) of potato starch granules treated with NaOH in deionized water, followed by holding at room temperature for 0 min (a) and 20 min (b).

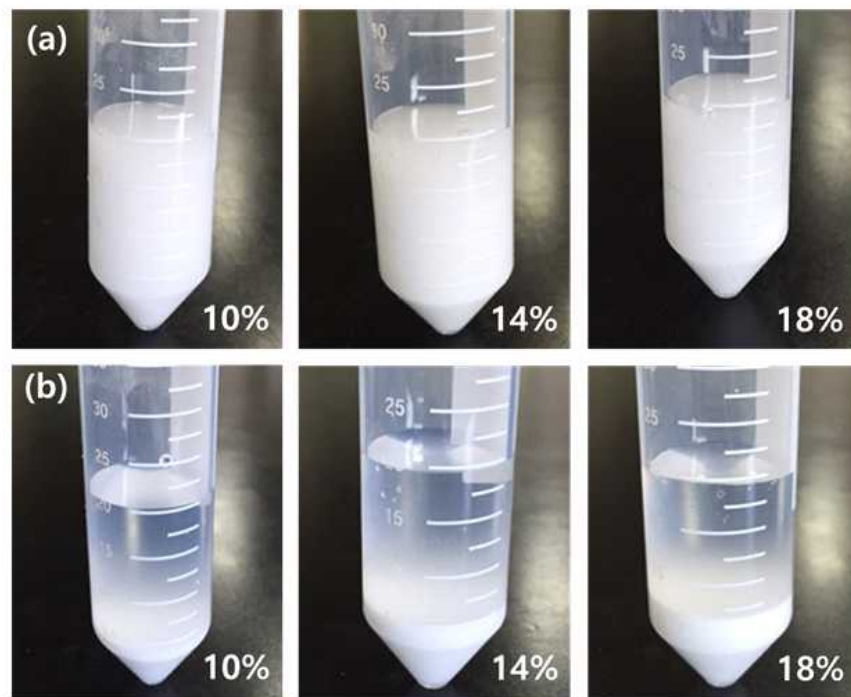


Figure 3-4. Suspensions dispersing the different concentrations (10, 14, and 18%) of native potato starch granules in deionized water, followed by holding at room temperature for 0 min (a) and 20 min (b).

(다) 전분류의 열처리에 따른 점도변화

감자 전분, 고구마 전분 및 NaOH로 처리된 전분을 95℃까지 가열하였을 때의 점도 결과는 다음의 Figure 3-5에 나타내었다. 점도는 감자 전분이 뚜렷하게 높은 경향을 보이는 것을 확인할 수 있었고 고구마 전분과 비교하였을 때 감자전분의 점도가 먼저 증가함을 확인할 수 있었다. 또한 감자 전분이 고구마 전분보다 최대 점도에 도달하는 시간이 더 적게 걸리는 것을 알 수 있었다. 또한 95℃에서 온도를 상승시켰다가 다시 냉각시키면서 점도가 다시 증가하는 구간인 holding strength 역시 감자전분이 더 뚜렷한 경향을 보여주었다. 반면, 감자 전분을 이용하여 NaOH 처리를 한 전분은 호화 peak가 나타나지 않았고 거의 일정하게 낮은 점도를 유지하고 있음을 확인할 수 있었다. 이는 NaOH 처리를 통해 이미 호화가 이루어져 더 이상의 호화가 나타나지 않는 것으로 생각된다.

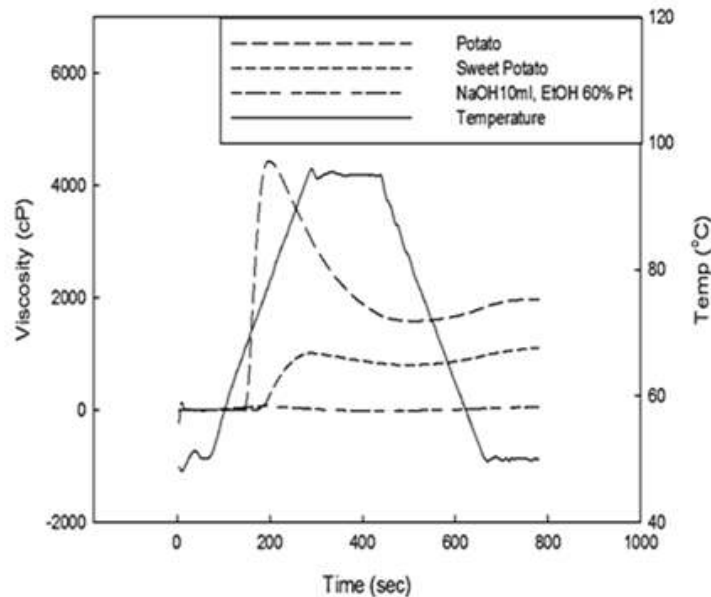


Figure 3-5. Pasting viscosity profiles of native and NaOH-treated starches from potato and sweet potato.

(라) 전분류의 열 안정성

감자 전분과 고구마 전분의 농도 별 DSC 측정 결과는 다음의 Figure 3-6에 나타내었다. 감자 전분은 고구마 전분보다 비교적 peak가 뚜렷하게 나타나는 경향을 보였고 고구마 전분은 농도 18%가 되어서야 peak가 약하게 나타났고 이때 호화 시작점은 60.21℃, 호화 종결점은 79.14℃로 나타났으며 호화 엔탈피가 1.8397 J/g 으로 매우 낮았다. 또한 감자전분의 경우 농도 10%에서는 2.2331 J/g, 14%에서는 2.6160 J/g, 18%에서는 4.7032 J/g으로 농도가 증가 할 수록 호화 엔탈피를 나타내는 면적이 증가하는 것을 볼 수 있었다. 그러나 NaOH 처리된 감자전분 경우에는 전혀 endothermic peak가 검출되지 않았다(Figure 3-7).

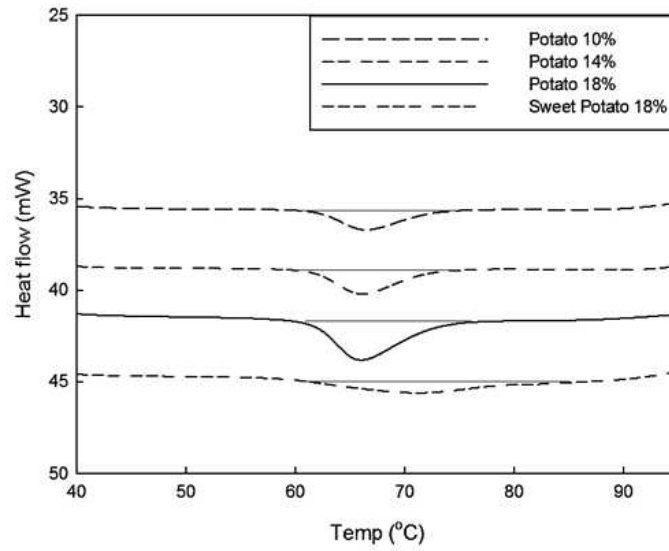


Figure 3-6. DSC thermograms of native potato starch granules (10, 14, & 18%) and sweet potato starch granule (18%).

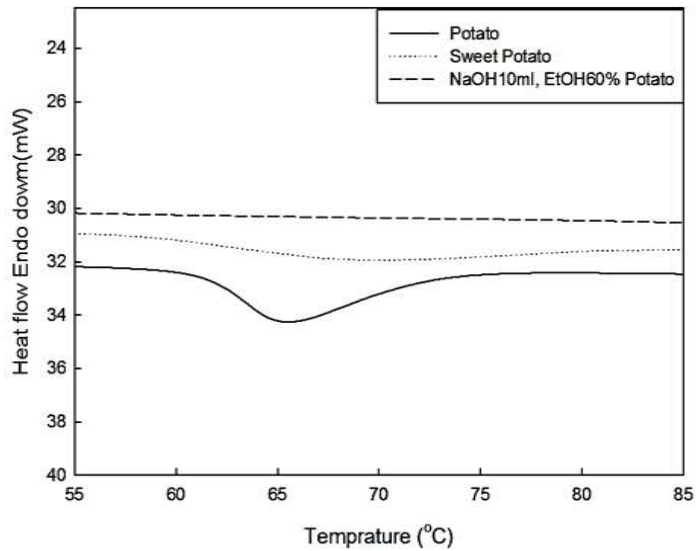


Figure 3-7. DSC thermograms of native potato and sweet potato starch granules, and NaOH-treated potato starch granule.

(마) 전분류의 X-Ray Diffraction (XRD) 특징

일반적으로 고구마 전분과 감자전분은 B-type의 양상을 띈다. 이때에는 5, 15, 18, 23-25° θ 에서 peak가 나타나게 되는데 감자전분의 경우 이와 비슷한 경향을 보여주었고 고구마의 경우에는 5° 에서의 peak는 드러나지 않았다. NaOH 10 ml를 첨가하고 60% 농도의 에탄올 처리를 한 감자전분의 경우에는 이러한 peak가 거의 드러나지 않은 것으로 보아 감자전분의 결정형 구조가 파괴되어 이러한 특성을 나타내지 않은 것으로 예상된다.

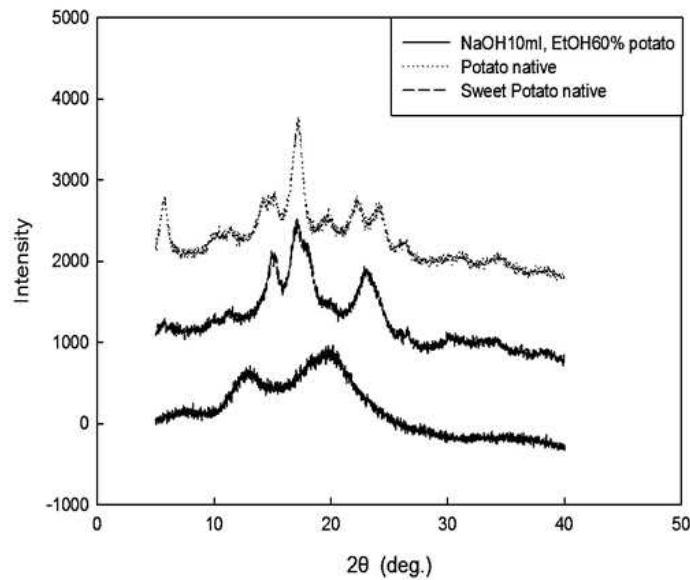


Figure 3-8. X-ray diffractograms of native potato and sweet potato starch granules, and NaOH-treated potato starch granule.

(바) 전분류의 겔보기점도

일반감자, 고구마전분 및 NaOH 처리된 감자전분의 겔보기 점도는 아래의 Table 3-1에 나타내었다. NaOH 처리한 감자전분의 점도가 너무 크게 나온 까닭에 적은 면적을 가지고 있는 spindle #7을 사용함에 따라, 감자전분과 고구마 전분은 18%의 농도까지 모두 점도 값이 나오지 않았다. 반면, NaOH 처리된 감자전분은 농도에 따라 매우 높은 점도를 나타냈다. Spindle #4를 사용한 경우에는 NaOH 처리된 감자전분의 점도가 측정 범위를 넘어서게 되어 spindle #7을 이용하게 되었다. 이는 NaOH 처리된 전분이 물에 닿으면 granule이 유지되지 못하고 겔과 유사한 조직의 형태를 띠는 현상 때문으로 생각된다.

Table 3-1. Apparent viscosities of native potato and sweet potato starch granules, and NaOH-treated potato starch granule.

Starch	Apparent viscosity (cp)		
	10%	14%	18%
Native potato	0	0	0
Native sweet potato	0	0	0
NaOH-treated potato	1151 ± 429	6667 ± 1740	25200 ± 11946

(사) 전분류의 texture profile analysis (TPA)

앞서 언급한 특성들 때문에 겔을 제조하기 힘든 NaOH 처리된 감자전분을 제외하고 감자 전분과 고구마전분 겔을 75, 85 및 95°C에서 제조 후 TPA 측정결과는 Figure 3-9와 3-10에 나타내었다. 감자전분과 고구마 전분 모두 농도가 증가할수록, 호화온도가 높을수록 hardness가 높았다(Figure 3-9). 그러나 고구마 전분의 경우 감자 전분보다 겔의 hardness가 낮게 측정되었다 또한 감자 전분 겔의 경우 cohesiveness가 농도가 증가할수록 감소하는 경향을 보였는데 고구마 전분 겔의 경우 감소하는 경향보다는 오히려 상승하였다가 감소하지만 감자전분보다는 비슷한 값을 띄는 경향을 보였다(Figure 3-10).

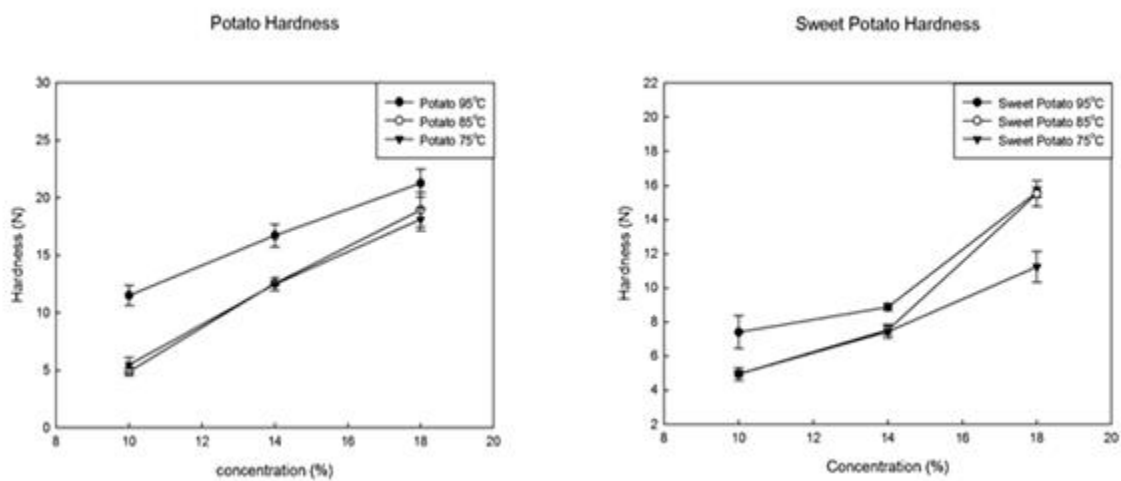


Figure 3-9. Hardness of native potato and sweet potato starch gels prepared at different temperature.

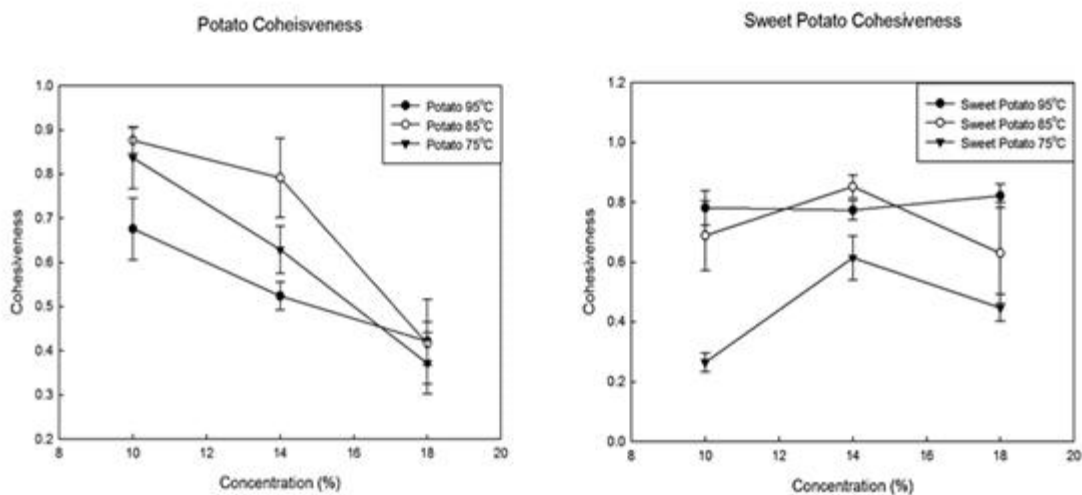


Figure 3-10. Cohesiveness of native potato and sweet potato starch gels prepared at different temperature.

(아) 일반 감자 및 고구마전분 겔의 응력완화현상

감자 전분과 고구마 전분 겔의 온도와 농도 변화에 따른 응력완화현상은 다음의 Figure 3-11에 나타내었다. Figure 3-11을 보면 앞서 실험 하였던 hardness 결과와는 반대로 75°C 에서 호화 시킨 겔이 stress가 가장 큰 것을 알 수 있다. 그 이유는 hardness는 겔이 부서질 때까지 힘을 주었고 stress relaxation test는 겔의 형태가 유지되는 정도의 힘을 주었기 때문으로 여겨진다. 따라서 75°C 에서 호화 시킨 겔이 좀 더 쉽게 부서지는 경향을 보이고 부서지기 직전까지는 좀 더 단단한 경향을 보인다고 할 수 있다. 또한 감자 전분과 고구마 전분을 비교해 보면 hardness에서도 나타났듯이 감자 전분이 고구마 전분보다 더 강한 stress를 나타내는 것을 알 수 있었다. 또한 그래프의 경향을 보았을 때, 고구마 전분은 초반에 stress가 감소하고 그 후로 서서히 감소하는 반면 감자 전분은 고구마 전분보다 서서히 stress가 감소하는 것을 알 수 있었다.

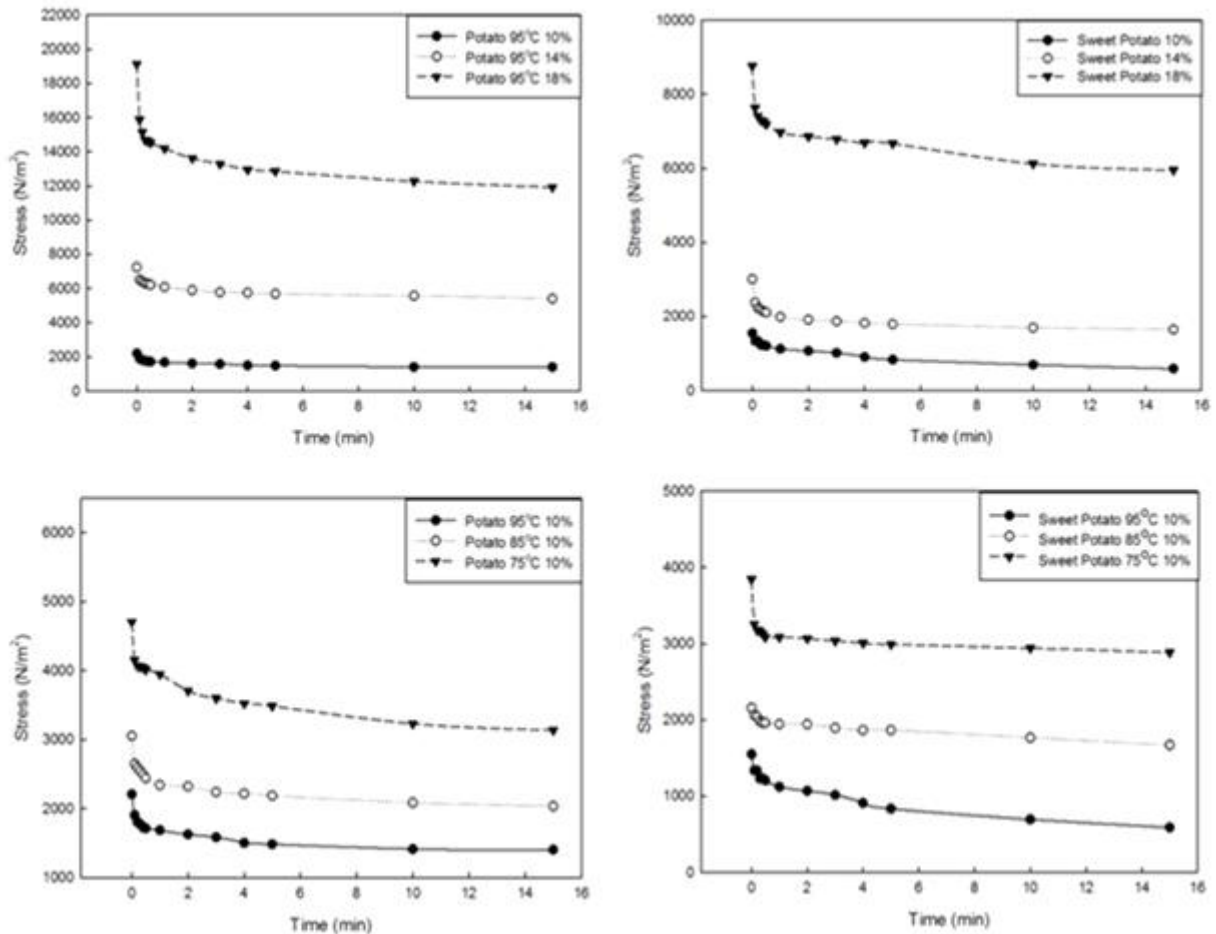


Figure 3-11. Stress relaxation of native potato and sweet potato starch gels depending on pasting temperature and starch concentrations

(자) 전분 겔의 점탄성특성

각 감자 전분과 고구마 전분 겔의 시간에 따른 저장탄성률과 손실탄성률의 변화를 아래의 Figure 3-12와 3-13에 나타내었다. 시간에 따른 각 전분의 저장탄성률의 변화는 거의 없었고 각 전분 간의 저장 탄성률의 차이가 존재하였다(Figure 3-12 & Figure 3-13). 농도가 진해질수록 저장탄성률은 높아졌고 앞선 실험에서도 보였듯이 감자 전분의 저장탄성률이 고구마 전분의 저장 탄성률보다 높은 것을 알 수 있었다(Figure 3-12 & Figure 3-13). 또한 감자 전분은 처리 온도가 낮을수록 더 높은 저장 탄성률을 보였다(Figure 3-12). 고구마 전분 역시 처리 온도가 낮을수록 미세하지만 더 높은 저장 탄성률을 보였다(Figure 3-13). 손실 탄성률 또한 이와 비슷한 양상을 보였는데 농도가 증가함에 따라 손실탄성률이 증가하는 경향을 보였다(Figure 3-12 & 3-13). 감자 전분에서는 처리 온도에 따라 손실 탄성률이 큰 차이를 보이지 않았으며(Figure 3-12) 고구마 전분에서는 처리 온도가 낮을수록 손실 탄성률 또한 증가하는 경향이 나타났다. 손실탄성률 또한 시간에 따른 변화가 거의 없었고 이를 통해 측정된 물질이 완전한 겔을 형성하였음을 알 수 있었다(Figure 3-13).

나. EtOH을 기반으로 열 및 NaOH로 처리한 무정형 전분의 물리화학적 특징

(1) 연구방법

(가) 실험 디자인 및 재료 준비

예비실험을 통하여 granule을 모양을 잘 유지하며 복굴절성이 보이지 않는 조건으로 에탄올 함량은 50-60%, 3N NaOH의 양은 6-14 mL, 온도는 90-95°C을 기준으로 하였다. Response Surface Methodology (RSM)은 central composite design (CCD)으로 granule의 형태를 가장 잘 유지하며 복굴절성이 보이지 않는 최적 조건을 목적으로 디자인을 하였다. NaOH 처리 경우 변수를 에탄올 함량과 NaOH의 양으로 하였고, 열 처리 경우 변수를 에탄올 함량과 온도로 하였다. Table 3-2과 Table 3-3와 같이 실험을 중심점인 55%, 10 mL와 55%, 92.5°C를 3 반복으로 하여 각각 총 11회에 걸쳐 실험 디자인을 하였으며, 그 결과 값들을 표기하였다. granule의 형태 유지와 복굴절의 손실 정도는 관능평가 방법을 이용하였다. 모델 적용 결과는 Table 3-3에 나타내었으며 NaOH 처리에서 granule을 제외한 나머지 종속 변수에서 quadratic 모델이 선정되었다. 모델의 적합성은 일반적으로 p -value에 의해 결정하였다. 본 연구의 결과에서는 granule과 birefringence의 p -value가 NaOH의 경우 각각 0.0001과 0.0033이고 열처리의 경우 0.0272과 0.0296 값을 나타내어 모델의 적합성 ($p < 0.05$)의 값을 보이는 것을 확인할 수 있었다. Figure 3-14, 3-15와 같은 그래프 결과값으로 Table 3-5와 같은 최적 조건을 제시 하였다. 최적 조건이 실제로도 적합한지 그림 3-16, 3-17과 같이 현미경 사진으로 비교도 하였다. 그리하여 NaOH 처리의 최적 조건은 에탄올 53.9%와 3N NaOH 9.79 mL을 사용하여 최종적인 상태는 EtOH 48.65% 3 N NaOH 1.1748 g 이고 열 처리의 경우 에탄올 53.9%와 93.87°C 이었다.

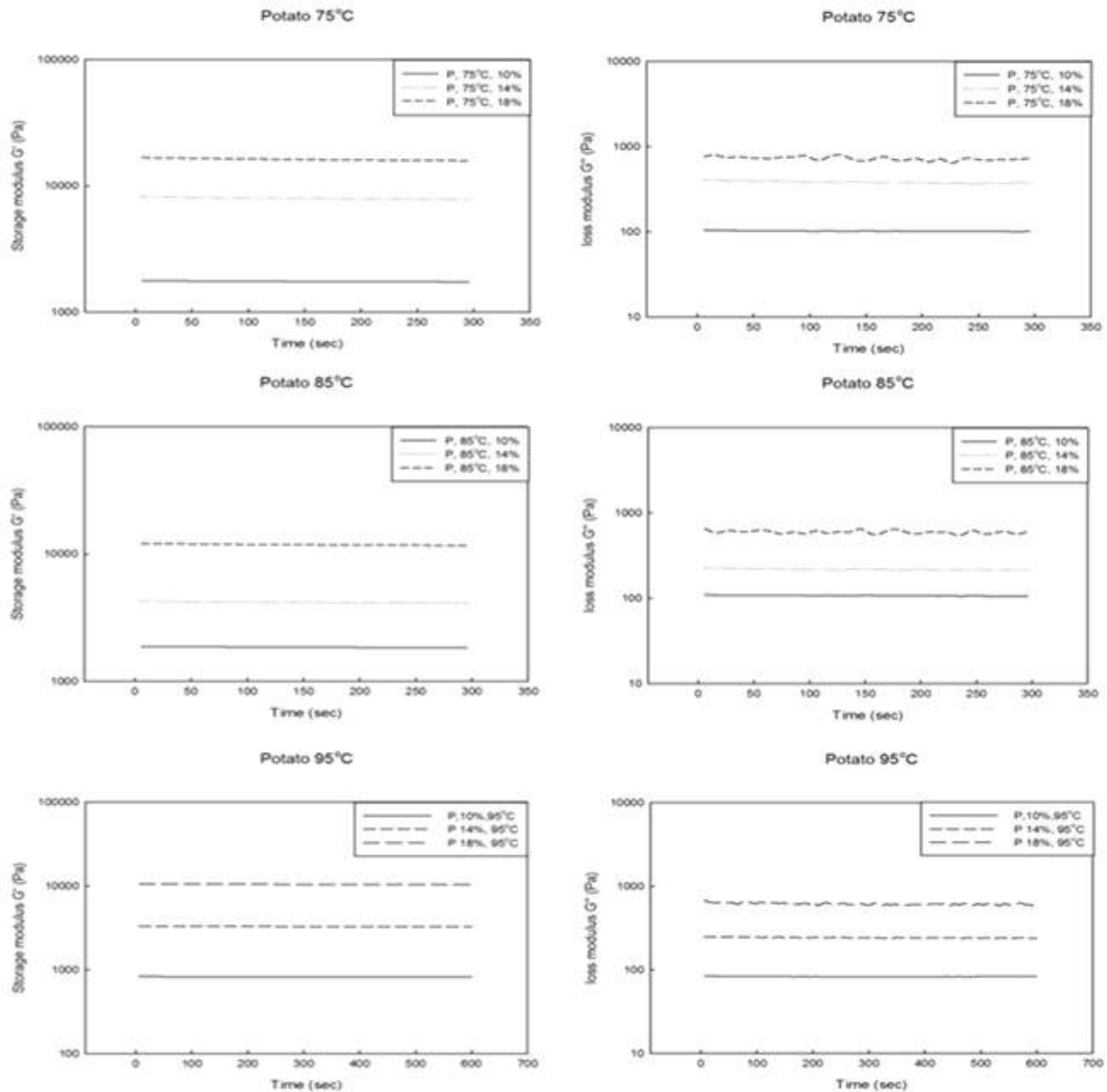


Figure 3-12. Storage and loss modulus of native potato starch gels prepared at different starch concentrations.

(나) NaOH treatment

감자전분 10 g(d.b.), 에탄올과 증류수를 섞어 80 mL를 준비한다. 감자전분과 에탄올 (53.9%) 40 mL를 10분 동안 교반 시켜준 뒤 3 N NaOH 용액을 0.65 mL/min 속도로 15분 동안 총 9.8 mL를 넣어 주었다. 에탄올(53.9%) 40 mL를 넣어주고 10분 동안 교반을 시켰다. 교반이 끝난 뒤 3 N HCl 9.8 mL를 넣어 중화 시킨다. 중화된 감자전분은 무수에탄올을 사용하여 탈수 시킨 뒤 원심분리 하였다. 원심분리 조건은 3000 rpm, 4°C에서 5분간 하였으며 이러한 과정을 3번 반복하였다. 탈수된 감자전분은 40°C 드라이오븐에서 24시간 건조 하여 170 mesh에 내려 사용하였다.

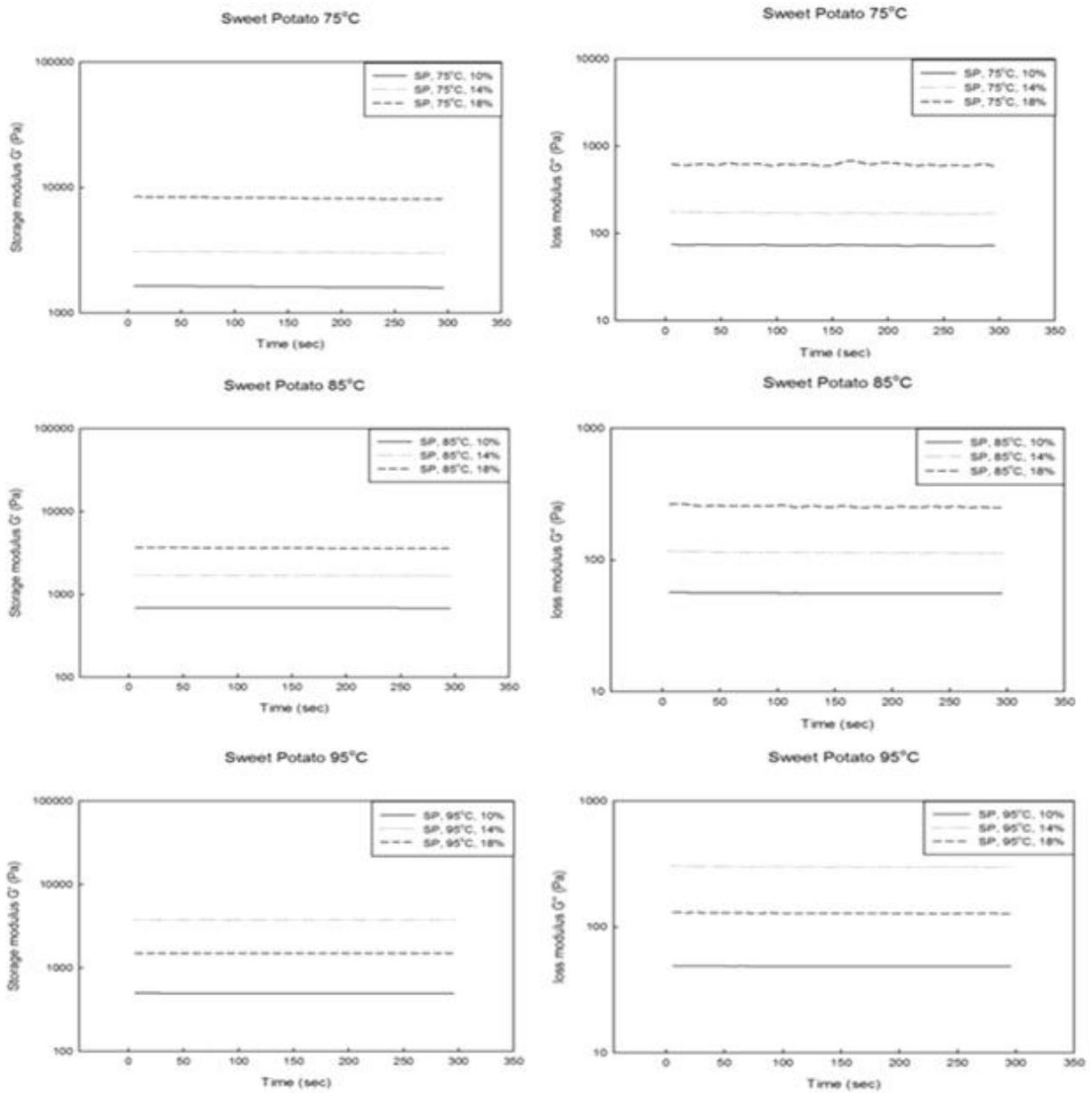


Figure 3-13. Storage and loss modulus of native sweet potato starch gels prepared at different starch concentrations.

(다) Heat treatment

감자전분 10 g(d.b.), 에탄올과 증류수를 섞어 100 mL를 준비한다. 감자전분을 에탄올 (53.37%) 100 mL에 잘 분산시켜 준 뒤, 94°C로 설정된 water bath에 넣어 20분간 교반시키며 중탕하였다. 중탕이 끝나자마자 겔 형성을 방지하기 위해 무수에탄올 50 mL를 첨가하여 탈수 시킨 뒤 원심분리 하였다. 원심분리 조건은 3000 rpm, 4°C에서 5분간 하였으며 이러한 과정을 3번 반복하였다. 탈수된 감자전분은 40°C 드라이오븐에서 24시간 건조 하여 170 mesh에 내려 사용하였다.

Table 3-2. Experimental design of NaOH treatment

Run	Coded variable		Response	
	A (EtOH, %)	B (NaOH, ml)	Granule (integrity)	Birefringence (degree)
1	47.93	10	3.3	5
2	50	14	2	5
3	50	6	4.5	2
4	55	10	4.3	4.5
5	55	15.66	1	4.3
6	55	4.34	5	1
7	55	10	4.3	4.7
8	55	10	4.3	4.5
9	60	6	5	1
10	60	14	2	3.5
11	62.07	10	4.3	4

Table 3-3. Experimental design of temperature treatment

Run	Coded variable		Response	
	A (EtOH, %)	B (Temp, °C)	Granule (integrity)	Birefringence (degree)
1	47.93	92.5	3.5	3
2	50	90	4.7	4
3	50	95	4.5	4
4	55	88.96	3.5	3
5	55	92.5	4.5	4.3
6	55	92.5	4.5	4.3
7	55	92.5	4.5	4.3
8	55	96.04	4.5	4.3
9	60	90	3	3
10	60	95	3.5	3
11	62.07	92.5	2.5	2

Table 3-4. Model fitting of NaOH and Temperature treatment

NaOH treatment					
Response	Model	Prob > F	R ²	Adj-R ²	Equation in term of coded variable levels
Granule	Linear	<0.0001	0.9942	0.9883	$Y_1 = 4.30 + 0.24 \times A - 1.39 \times B - 0.12 \times A \times B - 0.26 \times A^2 - 0.66 \times B^2$
Birefringence	Quadratic	0.0033	0.9472	0.8944	$Y_2 = 4.57 - 0.49 \times A + 1.27 \times B - 0.12 \times A \times B - 0.21 \times A^2 - 1.13 \times B^2$
Temperature treatment					
Response	Model	Prob > F	R ²	Adj-R ²	Equation in term of coded variable levels
Granule	Quadratic	0.0272	0.8727	0.7455	$Y_1 = 4.50 - 0.51 \times A + 0.21 \times B + 0.18 \times AB - 0.64 \times A^2 - 0.14 \times B^2$
Birefringence	Quadratic	0.0296	0.8681	0.7361	$Y_2 = 4.30 - 0.43 \times A + 0.23 \times B + 0 \times AB - 0.79 \times A^2 - 0.22 \times B^2$

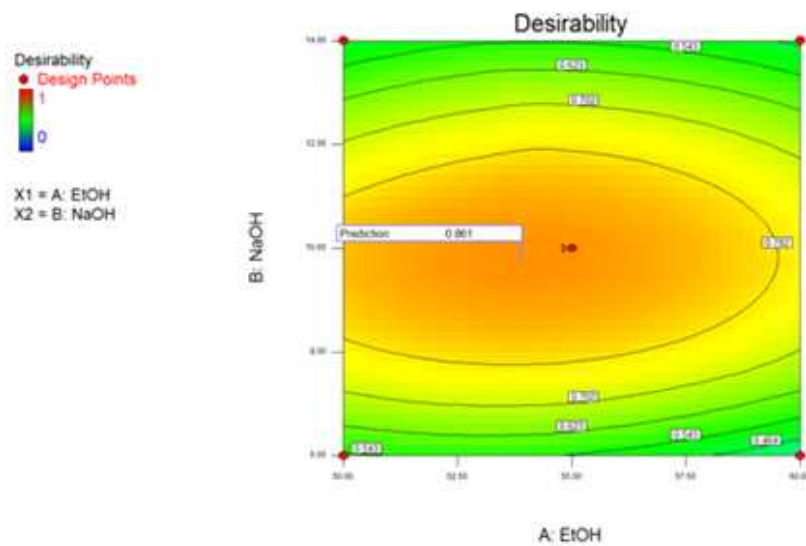


Figure 3-14. Optimization of NaOH treatment.

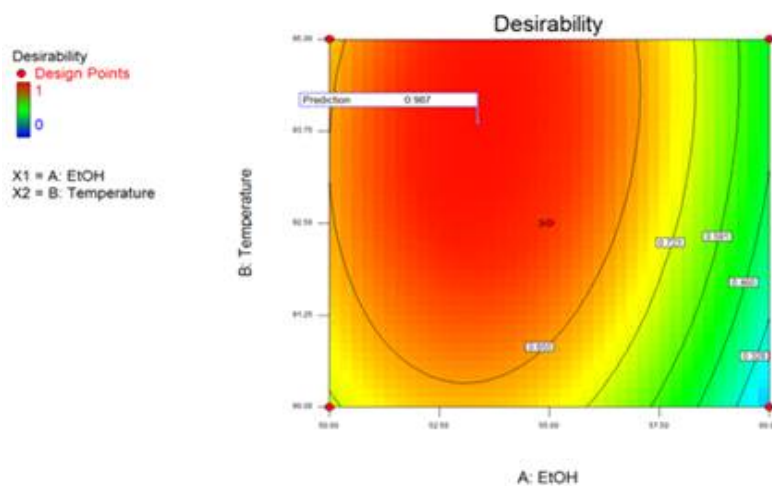


Figure 3-15. Optimization of temperature treatment.

Table 3-5. Solution of NaOH and Temperature treatment

Solutions						
Number	EtOH	NaOH	Granule Birefringence		Desirability	
1	<u>53.90</u>	<u>9.79</u>	<u>4.30349</u>	<u>4.5945</u>	<u>0.861</u>	<u>Selected</u>

Solutions						
Number	EtOH	Temperature	Granule Birefringence		Desirability	
1	<u>53.37</u>	<u>93.87</u>	<u>4.64223</u>	<u>4.41504</u>	<u>0.987</u>	<u>Selected</u>

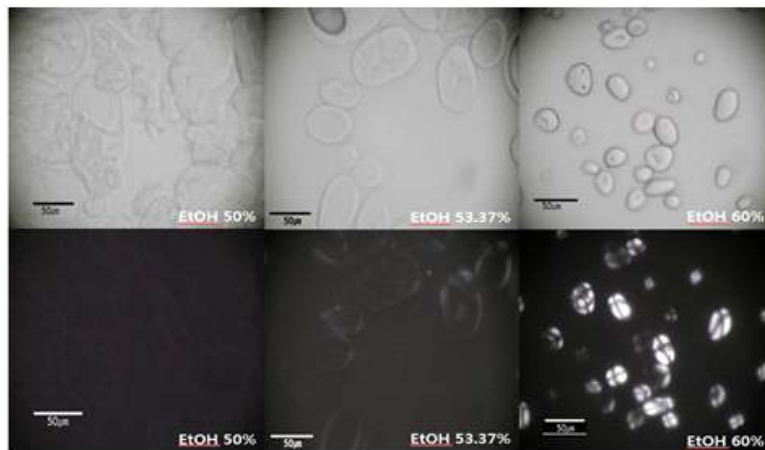


Figure 3-16. Potato starches heated in aqueous ethanol with different ethanol concentration.

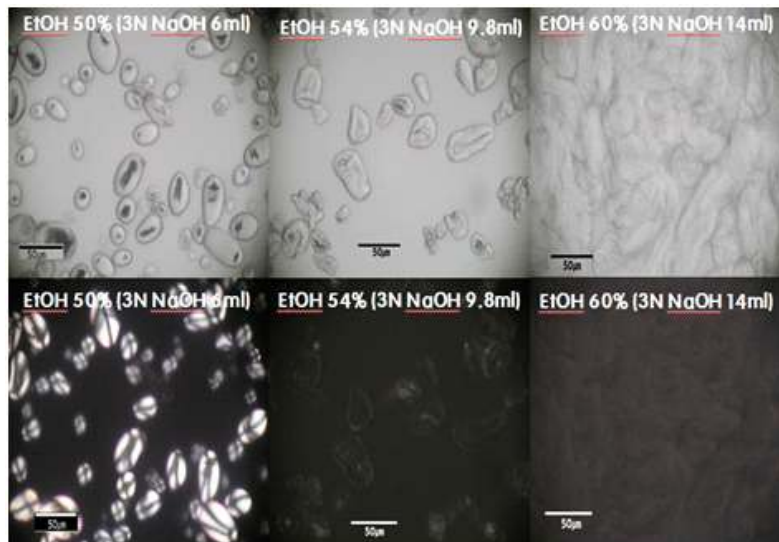


Figure 3-17. Potato starches heated in alkaline aqueous ethanol with different NaOH and ethanol concentration.

(라) 전분 입자 관찰

전분 입자는 Microscope(CX31RTSF, Olympus corporation, Tokyo, Japan)를 이용하여 일반 감자와 열 처리한 전분은 증류수로, NaOH로 처리된 전분은 에탄올로 분산시켜 40배율로 입자를 관찰하였고 편광렌즈를 이용하여 복굴절 현상을 확인하였다.

(마) Differential Scanning Calorimeter (DSC) 실험법

일반 감자와 NaOH, 열 처리된 전분을 dry basis로 수분함량 75%의 현탁액을 제조하였다. 10 mg의 전분 현탁액을 aluminum pan에 넣어주었다. 온도 범위는 25°C에서 1분간 holding 후 25°C에서 120°C까지 10°C/min으로 heating 하였다. 대조군으로는 빈 aluminum pan을 이용하였다.

(바) X-Ray Diffraction (XRD) 측정법

X-선 회절도는 X-ray Diffractometer를 사용하여 주사각도 5~40°의 조건으로 측정하였다.

(사) Apparent viscosity measurement

일반 감자와 NaOH, Temperature 처리된 전분 현탁액을 dry basis로 10 g의 시료에 최종 무게가 100 g이 되도록 증류수를 첨가하여 10%의 농도로 제조하여 측정하였다. 측정 기기는 Brookfield viscometer(DV2-21AY, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Middleboro, MA, USA)를 이용하였고 spindle No. 4를 사용하였으며 60 rpm의 조건에서 30초가 경과한 후의 점도를 측정하였다.

(2) 연구결과

(가) 전분입자관찰

일반 감자와 NaOH, 열 처리한 전분을 현미경으로 관찰한 결과는 Figure 3-18, 3-19, 3-20과 같다. 일반 감자의 경우 granule의 모양이 변하지 않고 복굴절성을 보인다. 그에 비해 NaOH 처리한 경우 granule의 크기는 크게 달라지지 않았고 모양을 유지하고 있지만 일부 granule은 모양이 변형되어 찌그러져 있고 복굴절성을 보이지 않았다. 열 처리한 전분은 granule의 모양을 유지하지만 크기가 더 커져있고 복굴절성은 보이지 않았다. 이러한 결과가 나타나는 이유는 NaOH와 열 처리를 하면서 호화 반응이 일어나 내부의 crystalline 영역이 붕괴되면서 복굴절성을 띠지 않지만 에탄올이 수분을 제한하여 호화가 일어나는 과정 동안 granule은 터지지 않고 형태를 유지시켜 준 것으로 사료된다.

이러한 결과로 열처리한 전분은 amorphous granular starch(AGS)에 적합하다 볼 수 있지만 NaOH 처리된 감자 전분의 경우 에탄올에 분산시켰을 때에는 granule의 형태가 유지되는 사진을 볼 수 있지만 물에 분산시키면 granule이 깨져 사라지는 현상을 보여 완전한 amorphous granular starch (AGS)라고 보기 어렵고 오히려 cold water soluble starch (CWS)의 특성을 가지고 있다고 볼 수 있다.

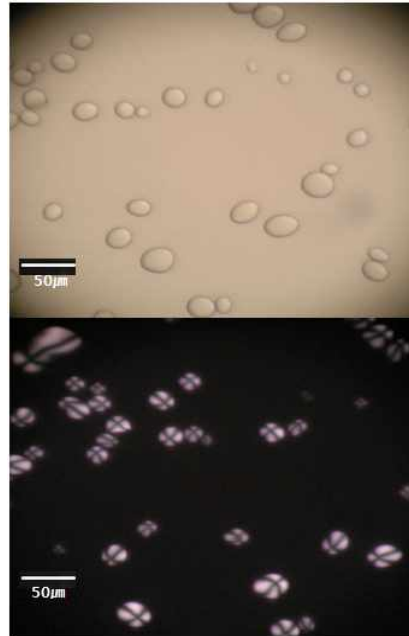


Figure 3-18. Light and polarized light microscope images of native potato starch.

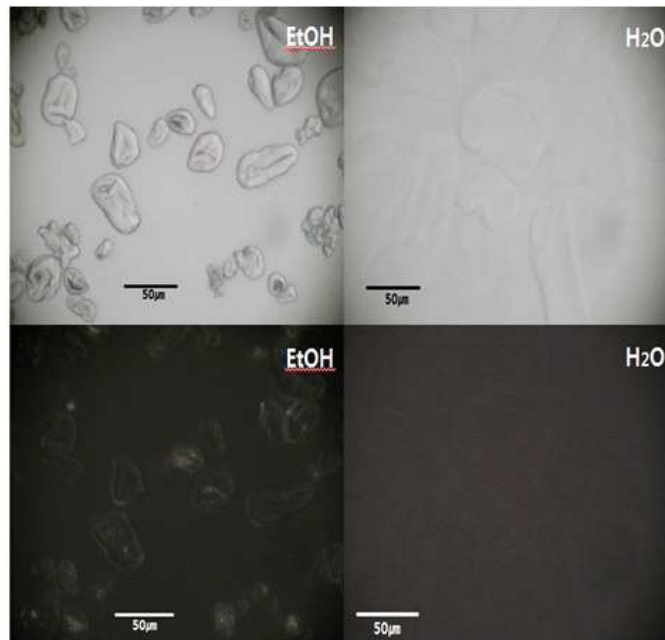


Figure 3-19. Light and polarized light microscope images of potato starches treated with ethanol and water.

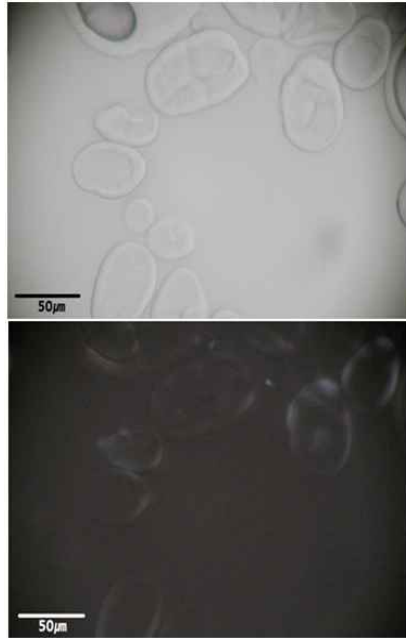


Figure 3-20. Light and polarized light microscope images of potato starches treated with ethanol and heat.

(나) Differential Scanning Calorimeter (DSC)

감자 전분과 열처리 및 NaOH 처리한 전분의 DSC 측정 결과는 Figure 3-21에 나타내었다. 일반 감자 전분은 67°C 부근에서 peak가 뚜렷하게 나타나는 경향을 보였으나 NaOH와 열처리한 전분은 일반 감자전분과 달리 이미 호화가 되어있기 때문에 67°C 부근에서 아무런 peak가 나타나지 않았고 90°C 까지도 아무런 peak를 보이지 않았다.

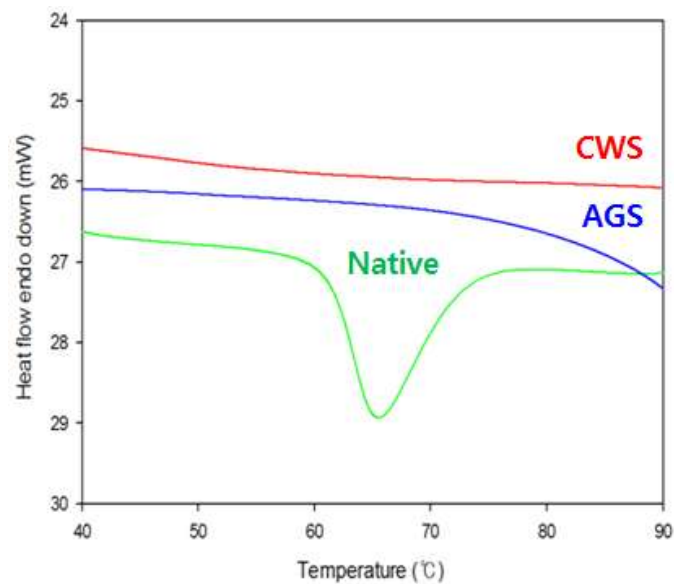


Figure 3-21. DSC thermograms of native, NaOH-treated, and EtOH-treated potato starches.

(다) X-Ray Diffraction (XRD) 측정법

감자 전분과 열처리 및 NaOH 처리한 전분의 XRD 측정 결과는 Figure 3-22에 나타내었다. 아무처리하지 않은 감자전분은 전형적인 B-type 결정형을 나타내는 반면 열처리 및 NaOH 처리한 감자전분은 B-type 결정형이 없어진 무정형의 XRD pattern을 나타내었다.

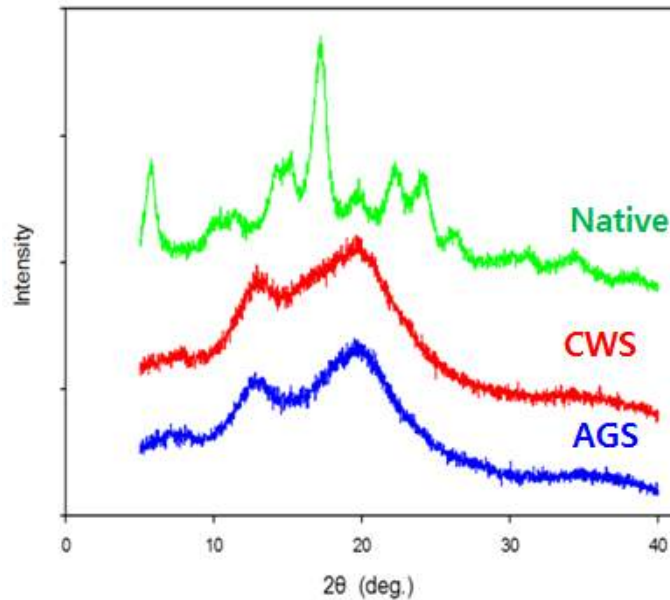


Figure 3-22. X-ray diffractograms of native, AGS, and CWS potato starches.

(라) Apparent viscosity measurement

겉보기 점도는 일반전분 또는 CWS, AGS에 증류수를 가해 10% 현탁액으로 만들었을 때 현탁액이 띄는 점도를 Brookfield viscometer로 측정 하였고 그 결과는 Table 3-6에 나타내었다. 일반 감자 전분의 겉보기 점도는 3.33 cp에서 6.67 cp 사이의 값을 나타내는 반면 열처리 전분(AGS)와 NaOH 처리 전분(CWS)일 때의 겉보기 점도는 일반 감자 전분에 비해 눈에 띄게 높은 것을 알 수 있고 이 중에서도 CWS 전분의 겉보기 점도가 가장 높게 나타났다. 이는 물과 섞었을 때 일반 전분과 달리 AGS와 CWS은 물을 흡수해 상온에서 점성을 띠는 것을 의미한다.

Table 3-6. Apparent viscosity of native, AGS, and CWS potato starches.

	Sample		
	일반 감자	AGS	CWS
Viscosity (cp)	5.56 ± 1.93 ^c	121 ± 8.54 ^b	552.20 ± 28.37 ^a

다. 요약 및 결론

국내산 감자 및 고구마로부터 추출한 전분을 원료로 에탄올과 열처리방법 및 에탄올과 NaOH를 이용하여 무정형입자전분 제조 기술을 연구하였다. 고구마전분의 경우 두가지 방법 모두 입자구조가 파괴되면서 무정형입자전분을 제조하는데 부적합하다는 것을 확인하였다. 감자전분의 경우 에탄올과 NaOH를 사용하여 무정형입자전분을 제조한 경우 에탄올용매에서는 입자형태를 유지하였지만 증류수에 현탁시켰을 경우 입자구조가 파괴되면서 냉수용해전분(cold water soluble starch, CWS)으로 변하는 특성을 나타내었다. 한편 에탄올과 열처리를 병행하여 감자전분을 처리한 결과 증류수에 현탁하여도 그 입자형태를 유지하고 전분입자의 결정성이 소실된 무정형입자전분(amorphous granular starch, AGS)을 제조할 수 있었다. 따라서 감자전분을 이용하여 에탄올과 NaOH를 사용하는 방법과 에탄올과 열처리를 병행하는 방법 등 두가지 방법에서 사용되는 에탄올 및 NaOH의 양을 최소화 하고 열처리를 최소화 할 수 있는 방안을 찾기 위하여 반응표면분석법을 사용하여 최적화 연구를 수행하였다. 에탄올과 3N NaOH를 이용하는 방법의 경우 53.90% 에탄올과 9.79 mL 3N NaOH를 사용하였을 때 최적의 결과를 얻을 수 있었고, 에탄올과 열처리를 병행하는 경우 53.37% 에탄올함량으로 93.87 °C의 온도에서 처리하였을 때 최적의 결과를 얻을 수 있었다. 최적화된 조건으로 제조한 CSW와 AGS의 물리화학적특성을 비교한 결과, 두 전분 모두 결정형이소실되어서 DSC 및 X-ray diffraction pattern은 차이가 없는 것으로 확인되었지만 apparent viscosity의 경우 CWS가 AGS에 비해 5배 정도 높은 apparent viscosity를 나타내는 것으로 확인되었다.

2. 무정형입자전분의 지소화성 향상을 위한 물리적 처리공정 개발 및 물리적 기능성 검증

가. 연구방법

(1) 재료

본 연구에 사용된 실험재료는 (주)뚜레반(Seoul, Korea)에서 생산한 감자녹말을 사용하였으며, 실험 전까지 4°C에서 냉장 보관 하면서 사용하였다

(2) Amorphous granular potato starch (AGPS) 제조

감자녹말 10g(dry basis)을 에탄올 용액(53.3%) 100ml에 각각 잘 분산시켜 준 뒤, 94°C로 설정된 water bath에 넣어 20분간 교반시키며 증탕하였다. 증탕이 끝나자마자 겔 형성을 방지하기 위해 무수에탄올 50ml을 첨가하여 탈수시킨 뒤 원심분리 하였다. 원심분리 조건은 3000rpm의 속도로 4°C에서 5분간 하였으며 이러한 과정을 3번 반복하였다. 탈수된 감자녹말은 40°C 드라이오븐에서 24시간 건조 하여 분쇄한 후 100 mesh체로 쳐서 통과한 것을 무정형입자감자녹말로 사용하였다.

(3) Amorphous granular potato starch (AGPS) 의 어닐링 처리 및 물리화학적 특성 분석

앞서 제조한 무정형입자감자전분(AGPS)을 각각의 황산암모늄, 질산칼륨의 포화염 용액이 들어있는 데시케이터 안에서 일정 시간 저장하여 수분함량이 18%(d.b)와 29%(d.b)인 시료를 제조하였다. 또한 AGPS에 증류수를 첨가하여 수분함량 200%(d.b)의 시료를 만들었다. 이 시료들을 4, 25, 40°C 각각의 온도에서 저장하면서 DSC를 이용하여 유리전이온도 및 열적특성 분석, RVA를 통해 pasting 특성, XRD를 이용하여 결정화도의 변화를 확인하였으며 최종적으로 RS함량을 측정하여 소화도를 분석하였다.

나. 연구결과

(1) 무정형입자감자전분(AGPS)의 유리전이온도

DSC 분석을 통하여 각각의 수분함량에 따른 유리전이온도를 측정하였다. Figure 3-23을 보면 수분함량이 증가함에 따라 유리전이온도는 낮아지는 것을 확인 할 수 있다. 18%(d.b) 및 29%(d.b) 수분함량을 가진 전분의 경우 각각 35°C, 0.5°C를 나타냈다. 유리전이온도에서 물질은 glassy한 상태가 rubbery한 상태로 변화되는 것을 나타내며 수분은 전분의 가소화제로서 작용한다. 그렇기에 낮은 수분함량의 전분의 경우 수분이 가소화제로서 충분한 역할을 하지 못하기에 유리전이온도는 증가하게 된다. 반면 과량의 수분은 수분의 접근성이 높아지기 때문에 가소화제로서 작용하여 분자들의 움직임이 증가하게 되며 이로 인해 유리전이온도는 낮아지게 된다.

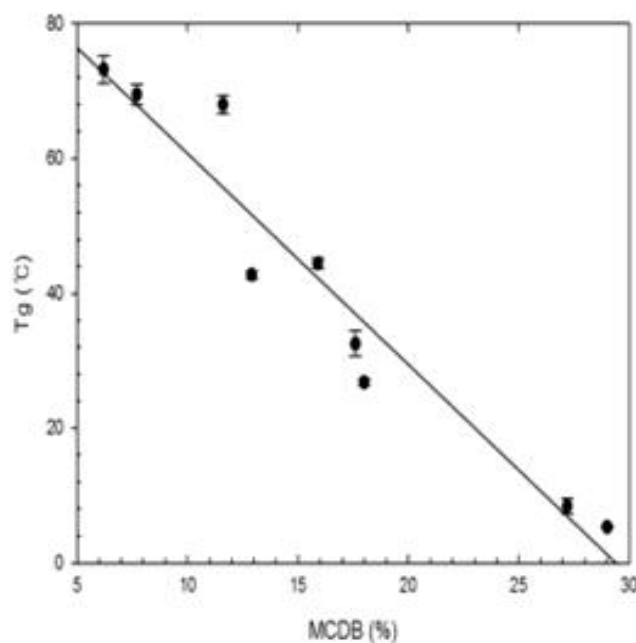


Figure 3-23. Glass transition temperatures of AGPS depending on moisture contents.

(2) 어닐링처리한 샘플의 DSC 열적특성

Figure 3-24는 어닐링 처리한 각각의 샘플의 DSC 열적특성을 나타낸 것이다. AGPS의 경우 열과 에탄올을 이용하여 호화시킨 것으로 peak가 나타나지 않았다. 하지만 3주간의 어닐링 처리한 샘플들은 Figure 3-24와 같이 각각의 온도에서 endothermic peak를 나타냈다. 이는 어닐링 처리 동안 전분 granule 내에서의 분자들의 재배열이 일어난 것을 확인할 수 있다.

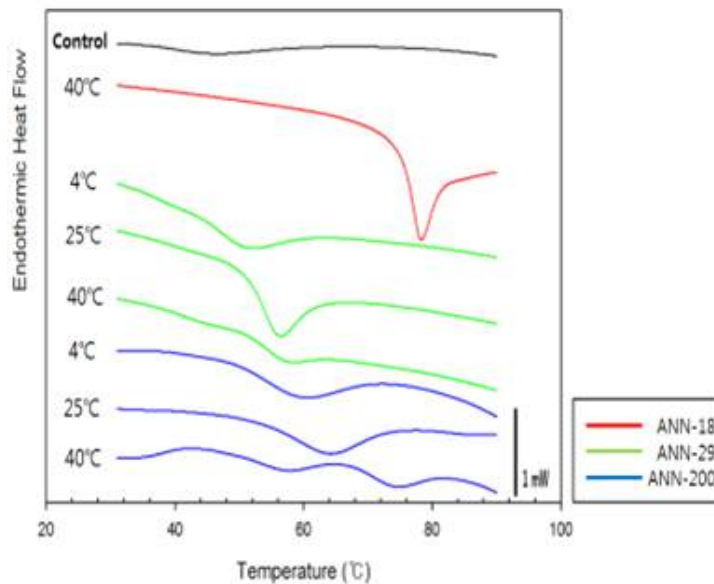


Figure 3-24. DSC thermograms of annealed AGPS.

Table 3-7. Thermal characteristics of annealed AGPS

Sample	Gelatinization temperature (°C)			ΔH (J/g dried sample)	
	To	Tp	Tc		
18%	40°C	76.1±0.3 ^a	79.1±0.3 ^a	83.4±0.4 ^a	35.1±0.4 ^a
29%	4°C	39.6±0.5 ^f	46.9±0.6 ^h	57.5±0.6 ^g	28.4±1.5 ^b
	25°C	48.3±1.5 ^e	55.2±1.2 ^g	63.8±1.2 ^e	28.7±2 ^b
	40°C	51.7±1.5 ^d	57.3±2 ^f	61.7±2 ^f	7.1±0.7 ^c
200%	4°C	50.8±0.1 ^d	59.6±0.2 ^d	68.6±0.2 ^d	2.4±0.2 ^e
	25°C	54.8±0.1 ^c	63.7±0.3 ^c	72.1±0.2 ^c	6.2±0.1 ^d
	40°C	50.7±0.1 ^d	57.4±0.1 ^e	63.8±0.1 ^e	2.2±0.5 ^e
		68.4±0.4 ^b	74.5±0.3 ^b	79.6±0.2 ^b	2.0±1.4 ^e

(3) XRD

전분의 경우 총 A, B, C, V 4가지의 타입을 가지고 있다. 곡물전분의 경우 A타입, 감자, 고구마와 같은 덩이줄기의 경우 B타입, 콩과 식물의 경우 C 타입을 나타낸다. 전형적인 감자 전분의 경우 5.6° , 17° , 20° , 22° , 24° 부근에서 peak를 나타내며 B 타입을 나타낸다. AGPS의 경우 열과 에탄올을 이용하여 가열하였기에 감자전분이 가지는 peak를 나타내지 않았다. 하지만 어닐링 처리한 AGPS의 경우 40°C 에서 저장한 전분이 5.6° , 17° 에서 peak를 가지며 이를 통해 어닐링 처리동안 결정이 형성된 것을 알 수 있다(Figure 3-25).

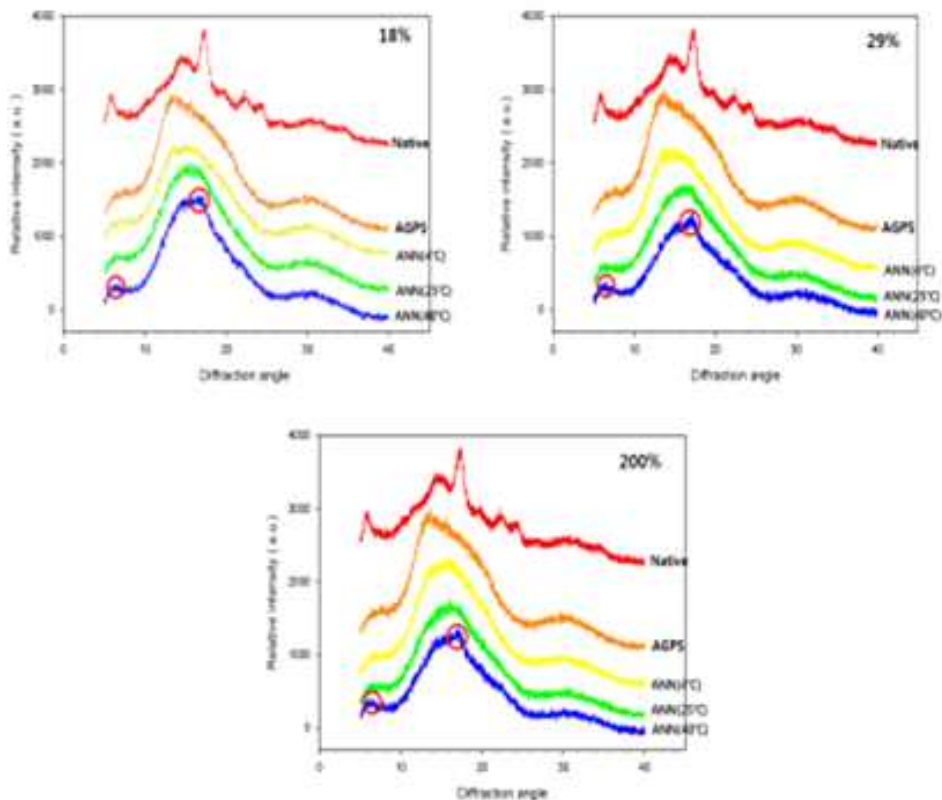


Figure 3-25. X-ray diffractograms of annealed AGPS.

(4) Pasting 특성

Figure 3-26는 RVA pasting 특성의 결과이다. AGPS의 경우 Native 감자와는 다른 pasting 특성을 가지는 것을 확인할 수 있다. 보통 전분의 경우 온도가 증가하면 팽윤이 일어나게 되고 95°C 부근에서 가장 큰 팽윤이 나타나는 것을 확인할 수 있다. 그 뒤 granule의 붕괴가 나타나며 cooling 동안 점도는 감소하는 경향을 보였다. 하지만 AGPS의 경우 95°C 에서 pasting curve가 나타나며 cooling 동안 점도가 증가하는 경향을 나타냈다. 어닐링 처리한 AGPS 또한 비슷한 현상을 나타내지만 상대적으로 낮은 점도를 나타내었다.

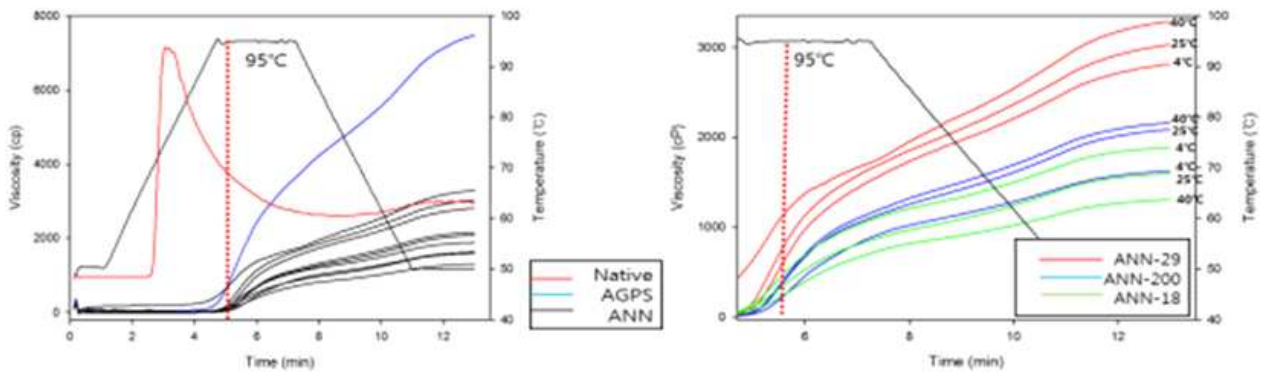


Figure 3-26. Pasting viscosity profiles of annealed AGPS.

(5) Resistant starch (RS) 함량

다음 Table 3-8는 효소저항전분 함량에 대한 결과이다. Native 감자의 경우 대략 82.3%의 높은 함량을 가지면 호화된 감자전분의 경우 2.4%로 낮은 RS함량을 가졌다. AGPS의 경우 5.2%의 함량을 나타내었다. 어닐링 처리한 전분의 경우 RS 함량이 모두 증가한 것을 확인할 수 있었다. 특히 고수분함량에서 어닐링 처리한 시료의 경우 RS의 증가율이 큰 것을 확인하였다. Native 전분을 어닐링 처리하였을 시 소화도를 알아보는 연구에서도 RS의 함량이 증가한다고 보고되고 있으며 이러한 결과는 어닐링 처리 시 전분 granule 내의 분자들의 결합이 증가하였기 때문이라고 하였다. 이의 결과를 통해 AGPS 또한 어닐링 처리 동안 분자들의 상호작용이 증가하여 RS함량이 증가하였음을 알 수 있다.

Table 3-8. Total resistant starch contents of annealed AGPS

Sample		RS (%)
Native	-	82.8±0.9 ^a
Gelatinized	-	2.4±0.2 ^j
AGPS	-	5.2±0.2 ^g
ANN-18	4°C	4.8±0.8 ^e
	25°C	5.4±0.4 ^e
	40°C	5.7±0.2 ^e
ANN-29	4°C	5.8±0.5 ^e
	25°C	5.4±0.5 ^e
	40°C	7.4±0.8 ^d
ANN-200	4°C	9.0±0.1 ^c
	25°C	10.2±0.5 ^c
	40°C	13.2±0.1 ^b

다. 요약 및 결론

열과 에탄올을 이용하여 제조한 무정형입자감자전분(AGPS)에 어닐링처리를 통한 물리화학적 특성 및 지소화성에 대해 연구하였다. AGPS에 어닐링 처리 후 열적특성 결과 peak가 형성된 것을 확인 하였으며 XRD 결과 40°C에서 어닐링 처리한 전분들에서 5°C, 17°C에서 peak가 생긴 것을 확인하였다. 또한 RVA 분석을 통해 Native 감자전분의 일반적인 전분과는 달리 95°C 부근에서 점도가 점점 증가하는 것을 확인하였으며, 어닐링 처리한 전분의 경우 점도는 낮지만 비슷한 양상의 curve를 나타냈다. RS 함량 측정결과로 Native 감자전분은 82.8%의 높은 RS 함량을 가지는 반면 호화시킨 감자 전분 및 AGPS는 각각 2.4%, 5.2%로 낮은 RS 함량을 가졌다. 어닐링 처리 후 18% 수분함량의 4°C에서 저장한 샘플을 제외한 RS의 함량이 증가하는 것을 확인하였다. 특히 수분이 증가함에 따라 RS 함량의 변화가 크게 나타나는 것을 확인하였다.

3. 유리전이 온도 조절기술을 이용한 무정형전분입자의 지소화성 향상 기술 개발

가. 연구방법

(1) 재료

본 연구에 사용된 실험재료는 (주)뚜레반(Seoul, Korea)에서 생산한 감자녹말을 사용하였으며, 실험 전까지 40°C에서 냉장 보관 하면서 사용하였다

(2) 무정형 감자전분 제조방법

무정형 감자 전분의 제조는 이전의 방법[3]을 참고하여 제조하였다. 감자전분 10g (d.b.)과 에탄올 용액 (53.3%, w/w) 100ml를 섞어주고 이들을 94°C 워터배스에서 20분간 교반하여 반응시켜 주었다. 반응이 끝나면 무수에탄올을 첨가하여 겔 형성을 방지하였고 이들을 3000 rpm, 5 min 의 조건으로 원심 분리하여 수세하였다. 수세는 3번 반복하였고 얻어진 침전물은 24시간동안 40°C 에서 건조하였다. 건조가 끝난 뒤 100 mesh의 체를 이용하여 amorphous granular potato starch (AGPS)를 제조하였다.

(3) 유리전이온도 (Tg) 측정

7가지의 포화염 용액 (LiCl; KCH₃; MgCl₂; Mg(NO₃)₂; NaBr; NaCl; (NH₄)₂SO₄; KNO₃)이 있는 데시케이터 내에 AGPS를 저장하였다. 시료의 무게 변화가 없는 것을 확인 후 각각의 수분함량을 아래의 식을 이용하여 계산하였다. 그 뒤, 15mg의 샘플을 DSC pan에 넣어 밀봉하였다. 샘플은 -20°C에서 150°C까지 5°C/min의 속도로 가열하였으며 다시 같은 조건으로 재가열하였다.

$$\text{MCDB (Moisture Content Dry Basis)} = \frac{\text{시료의 총 무게(g)} - \text{시료의 Solid양(g)}}{\text{시료의 Solid양(g)}}$$

(4) 열수처리

AGPS의 열수처리는 저수분과 고수분 두가지 조건하에서 시행하였다. 저수분 함량의 AGPS를 제조하기 위해 AGPS는 Ammonium sulfate (0.810)과 Potassium nitrate (0.936)의 포화 염 용액이 있는 데시케이터 내에 AGPS를 저장하였다. 시료의 무게 변화가 없는 것을 확인 후 각각의 수분함량을 계산하여 18%, 29% (d.b)의 시료를 제조하였다. 고수분 함량의 AGPS는 AGPS와 증류수의 비율을 1:2로 섞어 주어 200% (d.b)를 맞추었다. 세 가지의 AGPS는 유리전이온도 이상에서 3주간 처리하였다.

(5) Differential scanning calorimetry (DSC)

AGPS의 열적특성은 Perkin Elmer사의 DSC 4000을 이용하여 측정하였으며 인덱스와 아연으로 평형시켰다. 빈 pan은 reference로 사용하였다. 샘플에 증류수를 첨가하여 1:2 (w/w)의 비율로 맞추었다. DSC pan에 10mg을 넣은 후 밀봉하여 -20°C에서 120°C까지 10°C/min의 속도로 가열하였다.

(6) X-ray diffraction (XRD)

AGPS의 결정화도를 측정하기 위해 Bruker D8 X-ray diffractometer를 이용하였다. 샘플은 40 kV, 40 mA의 조건하에 5°에서 40°의 범위 내에서 6 deg/min의 속도로 스캔하였다.

(7) HR Raman spectroscopy

AGPS의 분자구조 변화를 측정하기 위해 Leica DM250 현미경 및 514 nm 아르곤 레이저 장비가 갖추어진 A Renishaw Invia Raman microscope system (Renishaw, Gloucestershire, United Kingdom)을 이용하였다. 스펙트럼은 3200-100 cm⁻¹ 범위 내의 같은 크기에서 얻었으며 480 cm⁻¹ band 내의 The full width at half maximum (FWHM)의 값을 계산하였다.

(8) Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy

듀테로화한 황산 트리글리신 탐지기장비가 갖추어진 Spectrum One System (Perkin Elmer)를 이용하여 AGPS의 분자구조를 확인하였다. 전분 granule의 짧은 범위 분자의 정돈 정도를 나타내기 위해 1047/1022 cm⁻¹의 흡광도 비율을 계산하였다.

(9) Rapidly visco analysis (RVA)

AGPS의 pasting 특성은 Rapid visco analyzer (RVA Super 4, Perten, Kungens, Kurva, Sweden)을 이용하였다. 샘플과 증류수를 첨가하여 총 28 g으로 맞추어 준 뒤 50°C에서 1분간 저어주었다. 그 뒤 95°C까지 12°C/min의 속도로 가열시켜주어 2.5분간 holding 시켜주었다. 그 뒤 이전과 같은 속도로 50°C까지 cooling 시켜주었다.

(10) Apparent viscosity

Brookfield viscometer를 이용하여 AGPS의 겔보기점도를 측정하였다. 샘플에 증류수를 첨가하여 10% (w/v)의 현탁액을 제조 후 2분간 교반시켜주었다. 100 rpm의 속도로 1번 spindle을 이용하여 1분간 측정하였다.

(11) In vitro digestibility starch

AGPS의 소화도를 측정하기 위해 Megazyme International Ireland Ltd사의 것을 이용하였으며 측정방법은 다음의 논문방법[6]을 이용하였다. 100±5 mg의 무게를 쟀 샘플은 screw cap tube에 넣어주었다. 4 ml의 혼합물 (pancreatic α -amylase, 10 mg/ml, and amyloglucosidase, 3 U/ml)를 넣어준 뒤 37°C의 shaking water bath (200 strokes/min)에서 16시간 동안 incubation 시켜주었다. 그 뒤, 4 ml의 99%(v/v)의 에탄올을 첨가해 주었으며 현탁액은 vortexing을 시켜주었으며 3000 rpm의 원심분리기를 이용하여 10분간 처리해 주었다. 상청액은 제거 후 50% (v/v)의 에탄올을 첨가하여 저어준 뒤 원심분리기를 이용하여 분리해 주었다. 이 과정을 한 번 더 반복해주었다. 2 M KOH를 2 ml과 마그네틱바를 잔여물에 넣어 20분간 ice water bath 안에서 저어주었다. 그 뒤 1.2 M sodium acetate buffer (8 ml, pH 3.8) 그리고 amyloglucosidase (0.1 ml, 3300 U/ml)를 첨가해주었다. 샘플은 50°C의 water bath 안에서 30분간 incubation 시켜주었으며 원심분리기를 이용하여 분리해주었다. 분리된 샘플의 상청액을 0.1 ml 취한 후, 3 ml의 glucose oxidase peroxidase-aminoantipyrine (GOPOD, >12,000 U/l glucose oxidase; >650 U/l peroxidase; 0.4 mM 4-aminoantipyrine)을 첨가 한 뒤, 혼합물은 50°C의 water bath 안에서 20분간 incubation 시켜주었다. 흡광도는 510 nm의 spectrophotometer를 이용하여 측정하였으며 Sodium acetate buffer (0.1 M, pH 4.5)와 glucose (1 mg/ml in 0.2% benzoic acid)는 blank 및 glucose standard로 이용하였다. 측정된 흡광도는 Kit 설명서에 기재된 식을 이용하여 계산하였다. 분석은 3반복 진행하였다.

(12) 통계분석

모든 실험은 3회 이상 반복하였다. SAS(Statistical analysis system) 통계 프로그램을 이용하여 95% 유의수준에서 Duncan's multiple range test로 평균 간의 다중비교를 실시하였다.

나. 연구결과

(1) The glass transition temperature (Tg) of AGPS

다음은 Figure 3-27은 AGPS의 수분함량에 따른 유리전이온도 (Tg)를 나타낸다. 수분함량이 증가함에 따라 유리전이온도는 감소하였다. 수분함량이 6.2%인 경우 Tg는 73°C에서 나타났으며 18%의 경우 26°C, 29%는 5°C 부근에서 관찰되었다. 이는 이전의 논문에서 유사한 결과를 확인할 수 있다. 낮은 수분함량에서 가소화제로서 역할을 하는 물은 부분적인 crystalline 영역의 유리전이온도에 영향을 주는 인자로 알려져 있다. Amorphous 영역 내의 수분의 감소는 체인 간의 결합 증가 및 수소결합의 형성을 유도한다. 이러한 결합은 체인 간의 운동성을 제한하여 따라서 유리전이온도를 증가시킨다. 위의 결과를 토대로 18%의 AGPS는 상온 이상의 온도로 열을 가해주어야지만 분자의 운동성을 유발할 수 있는 것을 확인하였으며, 29% 및 200%의 AGPS는 냉장 및 상온 그 이상의 모든 온도에서 분자의 운동성을 유발할 수 있는 것을 확인하였다. 이를 통해 각각의 AGPS의 열수처리할 온도를 설정하였으며 18%의 AGPS (40, 60, 80°C), 29% AGPS (4, 25, 40, 60, 80°C) 그리고 200% AGPS (4, 25, 40°C)에서 열수처리하였다.

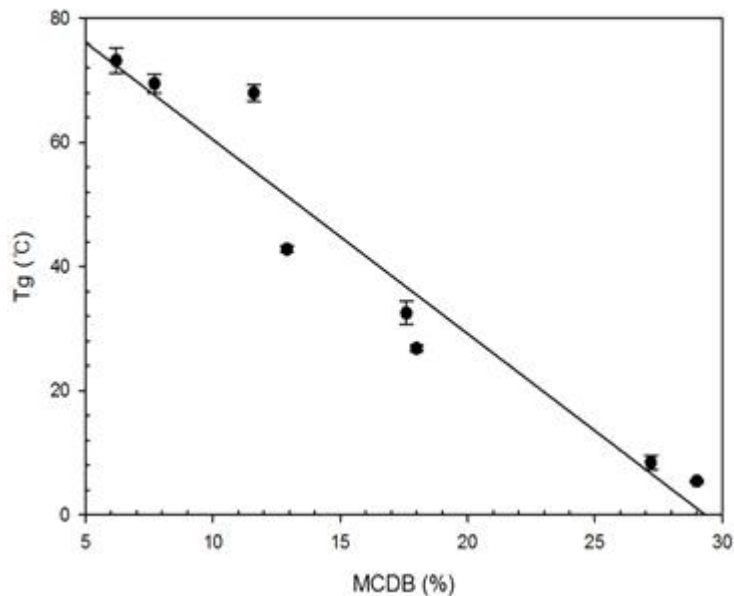


Figure 3-27. Glass transition temperature (Tg) of AGPS

(2) Thermal properties

Figure 3-28은 AGPS 및 열수처리한 AGPS의 열적특성을 나타낸다. AGPS는 열과 에탄올로 처리된 전분으로 호화의 melting peak가 나타나지 않았다. 하지만 열수처리한 AGPS는 모두 endotherm의 peak가 형성되었다. 이를 Table 3-9에 정리하였다. 열수처리한 AGPS 모두 처리하는 온도가 증가함에 따라 호화개시온도 (To) 값이 증가하였다.

반면 호화온도범위 (ΔT) 값은 감소하여 peak의 폭이 좁아지는 경향을 보였다. 이러한 결과는 이전의 논문과 일치하였다. Annealing 처리하는 온도가 증가함에 따라 Normal 및 Waxy 옥수수 모두 T_o 및 T_c 값 모두 증가하였다. 또 다른 논문에서 T_o , T_p 그리고 T_c 값의 증가는 amylose-amylose 결합 및 amylose-amylopectin 결합으로 형성된 crystalline의 melting을 나타내는 것이라고 설명하였다. 이것은 전분의 granule의 팽윤을 억제하여 호화를 지연시키며 또한 높은 T_o , T_p 그리고 T_c 값을 증가시켜준다. 또한 Annealing 처리 후 호화온도범위의 감소는 crystalline의 melting 과정동안 전분 granule 내의 구조가 homogeneous해지며 또한 granule의 수화 및 팽윤을 의미한다.

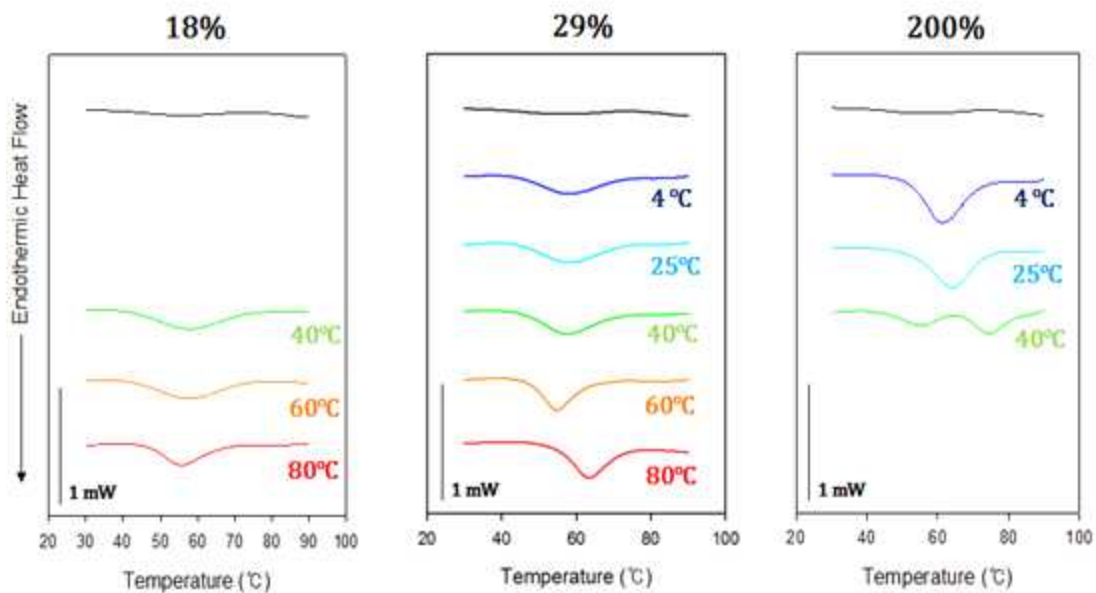


Figure 3-28. DSC thermograms of AGPS and treated AGPS.

Table 3-9. Thermal properties of AGPS and treated AGPS

M.C.	Sample	T_o (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	ΔT (°C)	ΔH (J/g)
	AGPS	-	-	-	-	-
18%	40°C	42.30 ± 1.99 ^f	57.16 ± 1.16 ^{de}	71.34 ± 2.14 ^{cd}	29.05 ± 0.35 ^b	0.50 ± 0.17 ^{bc}
	60°C	41.93 ± 2.38 ^f	57.86 ± 0.55 ^d	73.13 ± 0.18 ^b	31.20 ± 2.46 ^{a*}	0.55 ± 0.16 ^{ab}
	80°C	46.52 ± 0.19 ^{de}	55.61 ± 0.09 ^f	66.72 ± 0.36 ^f	20.21 ± 0.41 ^d	0.56 ± 0.02 ^{ab}
29%	4 °C	42.16 ± 1.45 ^f	56.81 ± 0.69 ^{de}	71.11 ± 1.29 ^{cd}	28.95 ± 1.00 ^b	0.36 ± 0.16 ^{cd}
	25°C	42.35 ± 1.64 ^f	56.82 ± 0.73 ^{de}	72.47 ± 0.56 ^{bc}	30.12 ± 2.17 ^{ab}	0.47 ± 0.09 ^{bc}
	40°C	44.71 ± 1.90 ^e	56.57 ± 1.78 ^{de}	70.83 ± 0.14 ^d	26.12 ± 1.79 ^c	0.63 ± 0.13 ^{ab}
	60°C	47.05 ± 0.65 ^d	54.44 ± 0.49 ^g	64.19 ± 0.92 ^g	17.14 ± 1.31 ^e	0.63 ± 0.06 ^{ab}
	80°C	55.15 ± 0.41 ^b	63.53 ± 0.39 ^b	73.33 ± 1.60 ^b	18.16 ± 1.67 ^e	0.71 ± 1.67 ^{a*}
200%	4 °C	50.69 ± 0.38 ^c	59.58 ± 0.16 ^c	68.65 ± 0.25 ^e	17.96 ± 0.58 ^e	0.54 ± 0.05 ^{ab}
	25°C	54.50 ± 0.59 ^b	64.03 ± 0.31 ^b	72.19 ± 0.41 ^{bcd}	17.69 ± 0.97 ^e	0.64 ± 0.08 ^{ab}
	40°C	50.17 ± 0.70 ^c	57.33 ± 0.09 ^{de}	63.85 ± 0.08 ^g	13.66 ± 0.71 ^f	0.21 ± 0.04 ^d
		68.24 ± 0.37 ^{a*}	74.49 ± 0.17 ^{a*}	80.02 ± 0.41 ^{a*}	11.78 ± 0.63 ^f	0.24 ± 0.05 ^d

* Values with the same letter in the same column are not significantly different ($p < 0.05$)

(3) X-ray diffraction pattern

일반적인 전분의 granule은 15%와 45%의 crystalline 영역을 포함하고 있으며 이는 A type 또는 B type의 제한된 2가지의 다형체 또는 그의 중간 형태인 C type의 X-ray diffraction patterns를 나타낸다. 전분의 crystal 다형체는 구조적 모양과 물의 함량 및 double helices의 packing 구성으로부터의 다양성을 근거로하고 있다. 전분 granule 내의 double helice는 집합을 이루고 있으며 수소 및 van der Waals 결합을 통해 안정화되어있다. 이러한 결합을 통해 'A' 또는 'B' type의 crystal 구조를 형성하게 된다. 이 원자모델은 계속 발전되고 있으며 광범위하게 검토되어진다. XRD 결과는 Figure 3-29에 나타내었다. AGP는 일반적인 Native 감자전분이 가지는 peak를 소실하였다. 이는 이전의 논문에서도 열과 물을 이용하여 호화시킨 non-waxy 쌀 전분의 X-ray pattern 측정 결과 amorphous pattern이 관찰되었으며 이는 raw 전분의 pattern과는 다르게 나타났다. 열수처리 후 각각 처리한 온도 및 수분함량에 따라 다른 형태의 결과를 나타내었다. 18% 샘플의 경우 40, 60°C에서 큰 변화를 나타내지 않았다. 하지만 80°C에서 15, 17°의 double peaks 및 23°에서 peak가 형성되었다. 이러한 변화는 29% 샘플에서 더 크게 나타났다. 이 샘플의 경우 60°C에서부터 15°, 17°의 double peaks와 23°에서 peak가 형성되었으며 처리하는 온도가 증가함에 따라 이 peak의 크기는 더욱 선명해지며 커졌다. 감자전분의 경우 전형적인 B type 전분으로 대표적으로 17°에서 가장 큰 peak를 나타내며 22°, 24°에서 작은 peak를 나타낸다. 하지만 이번 결과에서 높은 온도에서 처리한 18%와 29%의 샘플에서 나타나는 peak는 A type에서 나타나는 peak를 나타내고 있다. 일반적으로 A type의 경우 15°, 17°, 18° 그리고 23°에서 peak를 나타낸다. 이를 통해 높은 온도에서 처리된 18%, 29% 샘플의 경우 granule 내의 구조적인 변화가 나타난 것으로 볼 수 있다. 이러한 비슷한 결과는 이전의 연구에서도 보고되고 있다. 낮은 수분함량의 감자전분에 Heat/moisture treatment 처리 시 A type의 옥수수가 가지는 전형적인 23°이 생긴 것 확인하였다. 저자는 이 처리는 B type의 구조가 A type으로의 변화를 유도하였다고 설명하였다. 그렇기에 처리된 전분은 A type과 B type이 혼재되어 있는 C type으로 나타나며 처리동안의 수분의 손실은 구조의 변화를 유도시킨다고 설명하였다. 이러한 구조의 변화는 구조 내에 존재하는 물의 비편재화를 통해 설명되어진다. B type을 가지는 전분의 경우 일반적으로 36개의 물 분자를 가지고 있는 반면 A type 전분의 경우 구조 내에 8개의 분자를 가지고 있다[18]. 이번 결과를 통해 낮은 수분함량의 AGPS는 높은 온도에서 처리 시 구조의 변화를 유도할 수 있다고 볼 수 있다. 다음 높은 수분함량의 APGS는 이전의 샘플과는 다른 경향의 결과를 나타냈다. 이 샘플은 모든 온도에서 17°에서 강한 peak를 나타내며 22° 작은 peak를 나타낸다. 이는 전형적인 B type의 구조를 나타냈다.

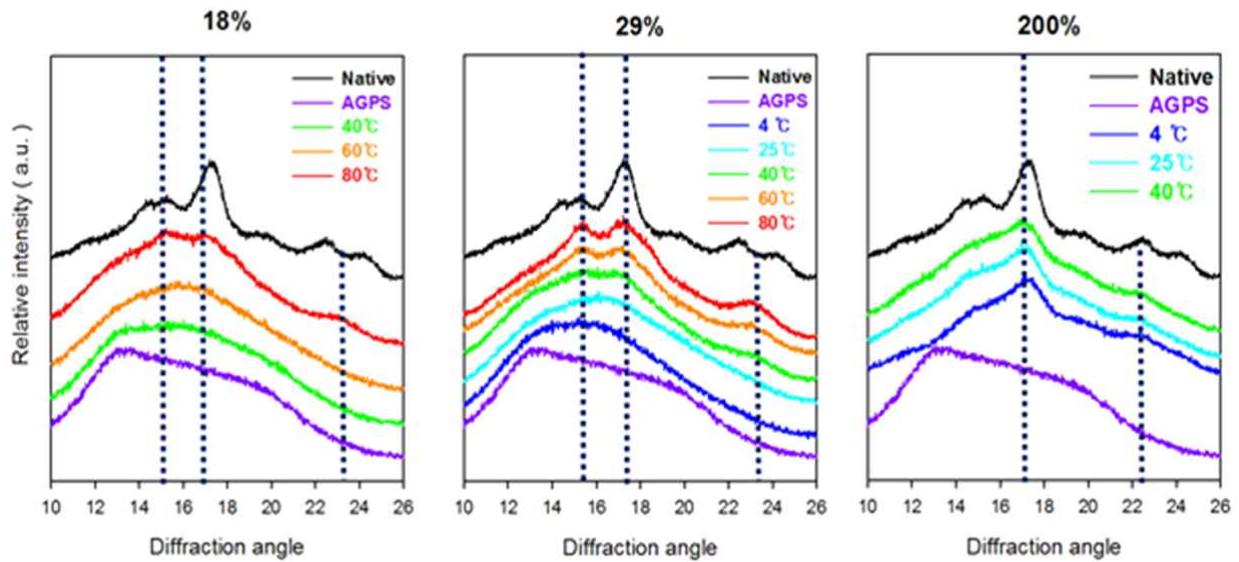


Figure 3-29. X-ray diffractograms of native, AGPS and treated AGPS

XRD 결과를 바탕으로, 각각의 열수처리한 AGPS의 상대적 결정화도를 구하였으며 이는 Table 3-10에 나타내었다. Native 감자전분의 경우 10.56%의 상대적 결정화도를 나타냈으며 그에 비해 AGPS는 4.03%의 값을 나타냈다. 이는 열과 에탄올로 인해 전분 granule의 구조가 파괴되었기에 그에 따라 상대적결정화도 값도 낮아진 것 확인할 수 있다. 열수처리된 AGPS의 경우 각각 처리된 온도에 따라 상대적 결정화도는 달라졌다. 18% 샘플의 경우 40°C, 60°C의 온도에서 처리하였을 시 각각 4.28, 4.42%로 AGPS와 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 29% 샘플의 경우 4°C, 25°C에서 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 40°C, 60°C, 80°C에서 처리한 경우 상대적 결정화도는 각각 5.59, 7.22, 7.72%로 온도처리가 증가함에 따라 증가하는 결과를 보였다.

Table 3-10. Relative crystallinity of native, AGPS and treated AGPS

	Sample	Relative crystallinity (%)
	Native	10.56 ± 0.67 ^{a*}
	AGPS	4.03 ± 0.11 ^e
18%	40°C	4.28 ± 0.26 ^e
	60°C	4.42 ± 0.55 ^e
	80°C	6.70 ± 0.85 ^c
29%	4 °C	4.15 ± 0.33 ^e
	25°C	4.17 ± 0.30 ^e
	40°C	5.59 ± 0.19 ^d
	60°C	7.22 ± 0.62 ^{bc}
200%	80°C	7.72 ± 0.18 ^b
	4 °C	6.95 ± 0.08 ^{bc}
	25°C	7.42 ± 0.08 ^{bc}
	40°C	7.70 ± 0.23 ^b

* Values with the same letter in the same column are not significantly different (p<0.05)

200% 샘플의 경우 세 가지 온도 모두에서 상대적 결정화도가 6.95, 7.42, 7.70%로 증가한 것 확인하였다. 이전의 논문의 결과와 비슷하게 나타났다. 일반적인 전분의 경우 23.71%의 낮은 crystallinity를 가지는 반면, annealing 처리된 전분은 29.43%로 crystallinity가 증가하였다고 보고했다. 저자는 Annealing 처리는 전분 granule 내의 non-crystalline과 crystalline 영역의 polymer chains의 재배열로 인해 끊임없이 granule 패턴이 변하기 때문에 crystallinity가 증가한 것으로 보았다.

(4) Molecular structure by Raman spectroscopy and FTIR

Raman 및 FT-IR 측정 결과를 Table 3-11에 정리하였다. IR band 주변의 1047 cm⁻¹과 1022 cm⁻¹은 전분 내의 crystalline 및 amorphous 영역의 변화를 알 수 있으며 1047/1022 cm⁻¹의 흡광도의 비율을 통해 전분 내의 ordered한 구조를 확인할 수 있다. Native 감자전분에 비해 AGPS의 1047/1022 cm⁻¹의 비율 값이 감소한 것을 확인하였다. 이를 통해 AGPS의 Amorphous한 영역이 증가된 것을 알 수 있다. 열수처리한 AGPS의 비율 값이 AGPS에 비해 모두 증가하였다. 이는 열수처리동안 샘플 내의 crystalline 영역이 증가한 것을 알 수 있다. 이러한 결과는 이전의 열수처리한 AGPS의 상대적결정화도 증가와 일치하였다.

Table 3-11. Molecular structure by Raman spectroscopy and FTIR

	Sample	RAMAN The full width at half maximum	FTIR Ratio of 1047/1022 cm ⁻¹
	Native	14.68±0.43 ^e	1.05±0.01 ^a
	AGPS	21.10±0.41 ^{a*}	0.98±0.08 ^b
18%	40°C	19.00±0.46 ^b	1.05±0.01 ^a
	60°C	19.68±0.21 ^b	1.03±0.01 ^{ab}
	80°C	15.69±0.21 ^{de}	1.04±0.02 ^a
29%	4 °C	19.03±0.13 ^b	1.03±0.01 ^{ab}
	25°C	19.67±0.08 ^b	1.03±0.02 ^{ab}
	40°C	17.02±0.83 ^c	1.02±0.02 ^{ab}
	60°C	16.58±0.37 ^{cd}	1.02±0.02 ^{ab}
	80°C	16.18±0.91 ^{cd}	1.02±0.03 ^{ab}
200%	4 °C	17.20±0.86 ^c	1.04±0.02 ^a
	25°C	16.23±0.91 ^{cd}	1.03±0.02 ^{ab}
	40°C	16.82±0.03 ^{cd}	1.03±0.01 ^{ab}

* Values with the same letter in the same column are not significantly different (p<0.05)

480 cm⁻¹부근의 Raman의 The full width at half maximum (FWHM)은 전분의 구조 변화를 측정하며 좁아진 band는 ordered한 영역내의 결합 에너지의 분포가 좁아지는 것을 나타낸다. 이 매개변수는 crystallinity와 관련되어 있으며 이와 관련된 band는 2910 cm⁻¹,1264 cm⁻¹,943 cm⁻¹,865 cm⁻¹그리고 480 cm⁻¹등이 있다. 전분의 crystallinity가 증가 시 FWHM은 이 band에서 감소하게 된다. 480 cm⁻¹부근의 FWHM은 열수처리한 AGPS와 유의적인 차이를 나타냈다.

Native 감자전분과 비교하여 AGPS의 FWHM의 값은 증가하였다. 이는 열과 에탄올 처리를 통한 전분 granule 내의 crystalline 영역의 붕괴와 관련 있다. 열수처리한 AGPS는 AGPS에 비해 FWHM의 값은 모두 감소하였다. 또한 처리하는 온도가 증가함에 따라 감소율은 크게 나타났다. 이를 통해 열수처리는 granule 내의 결합 및 체인 간의 상호작용을 증가시키며 그로 인해 crystalline 영역이 증가하였다고 볼 수 있다.

(5) Pasting properties

Native, AGPS 그리고 열수처리한 APGS의 RVA pasting 특성은 Figure 3-30에 나타났다. AGPS 및 열수처리한 AGPS는 Native 감자전분과는 다른 pasting 특성을 나타내었다. Native 감자전분은 처리하는 온도가 증가함에 따라 점도가 증가하면 90°C에서 가장 큰 peak viscosity를 나타내었다. 또한 cooling 하는 동안 점도는 감소하였다. 하지만 AGPS 및 열수처리한 AGPS는 가열 및 cooling 과정동안 점도는 증가하는 경향성을 보였다. Pasting 온도는 전분 현탁액을 가열하는데 필요로 하는 최소한의 온도를 나타내며 전분이 점도를 가지기 시작하는 온도이다. 변성 이후 pasting 온도의 증가는 변성과정에서 전분 granule의 재배열을 통해 crystalline 영역을 증가시키기 때문이다. 처리한 AGPS는 pasting 시간 및 curve는 비슷하나 Final viscosity (FV)는 감소하였다. 이 결과는 이전 논문에서 유사하게 나타났다. 고구마 전분에 Heat-moisture treatment한 샘플은 pasting peak가 나타나지 않았으며 cooling 과정 동안 점도는 증가하였다. 저자는 이를 통해 고구마 전분이 C type의 profile로 변한 것을 확인하였다. 이전의 논문에서의 분류법에 따르면 전형적인 뿌리 및 서류 전분은 자유팽창 및 주요한 breakdown을 가지며 이를 A type으로 분류하였다. B type은 곡물 전분에서 나타나며 이는 보통의 peak를 나타내며 cooling 과정 동안 높은 점도를 나타낸다. C type은 콩과 식물 및 cross-linked된 전분과 같이 팽윤이 제한된 전분을 나타낸다. 이러한 C type은 pasting peak를 나타내지 않으며 cooling 과정동안 높은 점도가 유지되거나 증가하는 경향성을 나타낸다. 이러한 변화는 granule 내의 재배열의 결과와 관련되어 있을 것으로 확인된다. 또한 Final viscosity (FV)의 감소는 변형된 전분 granule 내의 재배열의 결과와 관련 있을 것으로 확인된다. 이러한 결과는 팽윤력을 제한하며 또한 오직 작은 양의 아밀로오스 침출을 유도하여 중간 정도의 점도를 가지게 한다. 팽윤된 전분의 단단한 packing된 구조의 형성 및 변형된 granule 그리고 아밀로오스의 침출은 가열동안의 전분 pastes의 점도의 향상에 기여할 수 있다. Granule의 견고성은 결과적으로 증가하며 이는 전단에 저항성을 가지므로 불충분한 호화가 일어나게 되고 이로 인해 높은 paste의 점도를 가지기 때문에 나타난다. 높은 점도 및 낮은 breakdown은 바람직한 전분의 특성을 가질 수 있게 해준다. 이들은 paste의 비응집력 및 texture를 형성하여 많은 식품 및 산업 활용에 적용될 수 있다.

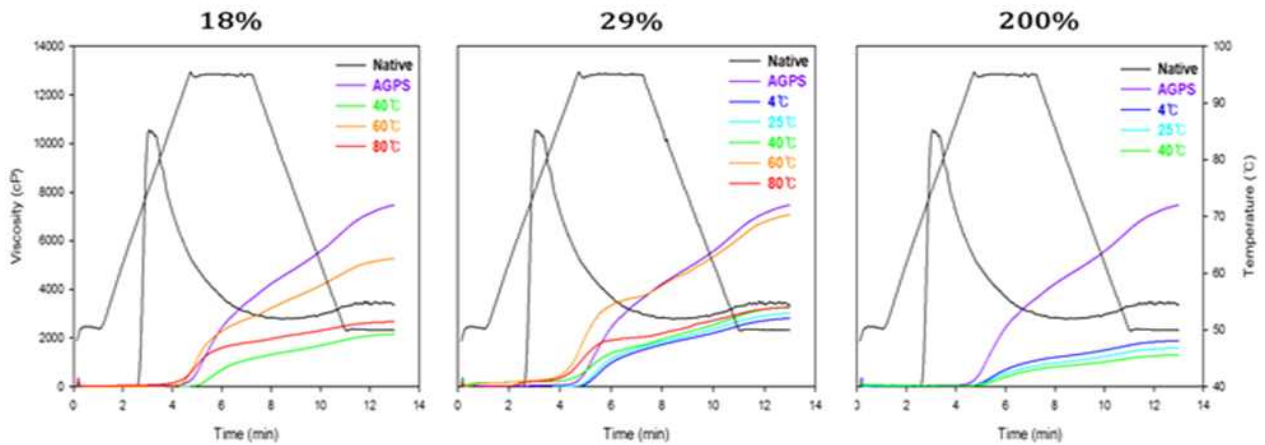


Figure 3-30. Pasting properties of native, AGPS and treated AGPS

(6) Apparent viscosity

Table 3-12는 Native, APGS 그리고 열수처리한 AGPS의 겔보기점도를 측정된 결과를 정리한 것이다. 상온에서 측정된 겔보기 점도의 경우 Native 감자전분이 11.7로서 가장 낮은 값을 가지며 AGPS가 42.5로 가장 높은 값을 나타내었다. 열수처리한 AGPS는 AGPS와 비교하여 겔보기점도 값은 감소하였다. 이러한 결과는 이전의 RVA 측정결과와 유사하였다. 이는 열수처리 시 granule 내의 chain들 간의 상호결합이 증가하여 좀 더 견고한 구조를 형성하고 그 결과 granule이 팽윤되는 것을 제한하기 때문이다. 온도 증가에 따른 겔보기점도의 감소는 높은 온도에서 granule 내의 운동성을 증가시켜 granule이 좀 더 안정적이며 견고한 구조를 형성할 수 있도록 하였다.

Table 3-12. Apparent viscosity of native, AGPS and treated AGPS

	Sample	Apparent viscosity (cP)
18%	Native	11.73 ± 0.15 ^f
	AGPS	42.50 ± 0.20 ^{a*}
	40°C	23.45 ± 0.50 ^d
	60°C	35.45 ± 0.21 ^b
	80°C	19.10 ± 1.27 ^e
29%	4 °C	26.27 ± 0.21 ^c
	25°C	23.35 ± 0.21 ^d
	40°C	20.25 ± 1.06 ^e
	60°C	34.75 ± 2.47 ^b
	80°C	19.65 ± 2.19 ^e
200%	4 °C	23.75 ± 1.06 ^d
	25°C	20.85 ± 0.92 ^e
	40°C	20.35 ± 0.21 ^e

* Values with the same letter in the same column are not significantly different (p<0.05)

(7) In vitro starch digestibility

Figure 3-31는 전분의 소화도를 측정한 것을 나타내었다. 먼저 Native 감자전분의 경우 RS, SDS, RDS 함량이 각각 51.6, 16.8, 29.5%로 난용성의 저항전분이 높을 것을 알 수 있다. 하지만 호화시킨 감자전분의 경우 RS, SDS의 함량이 급격하게 감소되어 각각 1.9%, 0.6%의 함량을 나타내었다. AGPS의 경우 RS, SDS, RDS의 값은 각각 6.2%, 0.4% 그리고 93.6%로 나타났다. 열수처리한 AGPS의 경우 각각의 온도에서 모두 RS, SDS 함량이 증가된 것을 확인하였다. 수분 함량이 증가함에 RS 및 SDS 함량 또한 증가하였다. 이전의 논문에 따르면 ANN과 HMT 처리가 전분의 소화도에 미치는 영향에 대해 공통적인 의견을 찾기는 어렵다. 이는 효소의 차이 및 농도, 가수분해 시간, annealing의 환경 및 HMT 처리의 시간, 전분 재료 및 종류가 다르기 때문이다. Annealing처리는 효소의 접근성을 증가 또는 감소시킨다. ANN 처리 시의 소화도 감소는 다음 요소의 상호작용에 기인한다. (1) AM-AM 또는 AM-AMP 체인 간의 상호결합 (2) Crystalline의 견고성 (3) Amylose-lipid complex의 형성하지만 다른 논문은 annealing 처리한 전분의 소화도의 증가는 granule 내의 다공성의 증가로 인해 나타났다고 설명하였다. 여기서 RDS의 증가 및 RS, SDS의 감소는 granule의 다공성이 증가로 인해 효소가 granule 내로 침투하기 용이해지고 이는 crystalline의 견고성에 중요한 역할을 하였다고 설명하였다.

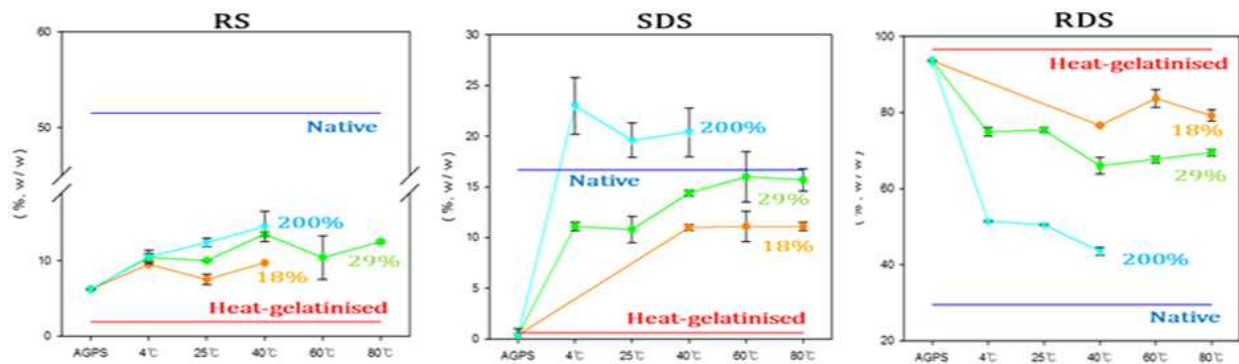


Figure 3-31. In vitro digestibility of native, AGPS and treated AGPS

다. 요약 및 결론

본 연구에서 열수처리에 의해 AGPS의 구조가 크게 변화되었다. 처리된 AGPS의 열적특성은 열수처리에 의해 열 안정성과 강직도가 향상되었다. XRD 결과는 수분함량이 낮을 때는 A형 결정이 형성되었으나, 수분함량이 높았을 때는 B형 결정이 형성되었다. 결과적으로 고·저수분함량일 때 열수처리에 따라 A형과 B형 결정이 모두 형성될 수 있다. 이러한 결과들은 분자구조 level과 관련이 있었는데, FWHM과 1047/1022 cm^{-1} 비율의 변화는 구조형성이 보다 안정된다는 것을 의미한다. 페이스팅 특성에서는, 처리된 AGPS는 AGPS에 비해 낮은 HPV 값을 가졌다. 본 연구는 AGPS의 열수처리가 AGPS의 구조변화에 영향을 미친다는 것을 입증할 수 있었으며, 다양한 산업분야에서 중요한 소재로 사용될 수 있다는 것을 밝혔다.

제4절. 화학적 변성방법에 의한 전분소재 개발 및 특성

1. 연구방법

가. 재료

(1) 전분 및 전분원료

옥수수전분과 찰옥수수전분은 삼양사(Daejeon, Korea), 감자전분과 고구마전분은 뚜레방(Goyang, Gyeonggi, Korea), 타피오카전분은 Tate & Lyle (London, UK), 완두전분은 Roquette (Lestrem, France)로부터 각각 구입하여 추가적인 정제 없이 본 연구의 전분원료로 사용하였다. 또한 멥쌀과 찰쌀은 경북 안동의 시중 마트에서 구입하였고, 밀가루는 백설(CJ Cheiljedang, Seoul, Korea)의 것을 시중에서 구입하여 각각 멥쌀전분, 찰쌀전분 및 소맥전분의 제조를 위한 원료로 하였다.

(가) 쌀가루의 제조

멥쌀과 찰쌀은 각각 정제수로 3회 세척한 후 쌀 무게의 3배에 해당하는 정제수에 침지하여 상온(~24℃)에서 3시간 동안 수화시킨 후 체반에 받쳐 30분간 탈수하였다. 탈수된 쌀은 롤밀(roll mill)을 이용하여 롤 간격을 5, 3, 1, 0.5 mm로 순차적으로 좁히면서 분쇄하고, 50℃의 열풍건조기에서 24시간 동안 건조하여 쌀가루로 제조하였다. 제조된 쌀가루는 polypropylene 지퍼백에 넣어 상온에서 저장하면서 쌀전분 제조를 위한 원료로 사용하였다.

(나) 쌀전분의 제조

① 효소적 추출·정제법에 의한 쌀전분

쌀가루를 0.4% (w/v) Na_2CO_3 용액과 중량대비 1:3의 비율로 혼합하여 상온에서 3시간 동안 교반한 후 쌀가루 분산물을 가정용 믹서로 2분 동안 분쇄하고 5 N HCl 용액을 가하여 pH 6.0으로 조정하였다. 여기에 식품첨가물 등급의 단백질분해효소(Protamax; Apisbiochem, Daegu, Korea)를 초기 쌀가루의 건조중량 대비 0.3%가 되도록 가하고 40℃에서 100 rpm으로 3시간 동안 교반한 후 400 mesh 표준체(No. 400; Chunggye Co., Seoul, Korea)를 장착한 진동체를 이용하여 여과하였다. 여과된 전분유는 상온에서 20분간 100×g로 원심분리하여 침전물 상층부의 테일전분(tailed starch)과 단백질 층을 제거한 후 증류수를 가하여 다시 분산시켰다. 이와 같은 조작은 총 3회 반복하여 수행하였다. 최종 회수된 쌀전분은 무수에탄올을 가하여 탈수시켜 감압여과하여 회수하고 45℃에서 24시간 동안 건조하였다.

② 알칼리침지법에 의한 쌀전분

멥쌀전분과 찰쌀전분은 멥쌀가루와 찰쌀가루로부터 알칼리침지법(alkaline steeping method)을 이용하여 제조하였다(Wang & Wang, 2004). 이때 NaOH 용액의 농도는 0.2%(w/v)로 하였다. 쌀가루 100 g(d.b)은 200 mL의 0.2%(w/v) NaOH 수용액에 상온에서 18시간 동안 침지한 후 가정용 믹서기(HMF-3450S, Hanil Electric, Seoul)를 이용하여 2분간 분쇄하여 400 mesh 표준체망(No. 400; Chunggye, Seoul, Korea)을 통과시켜 전분유를 얻었다. 전분유는 원심분리(2,500g, 25°C, 20 min)를 통해 상등액을 제거하고, 침전물의 부드럽고 노란색(또는 회색)을 띠는 단백질층 또는 tailed 전분층을 시약스푼을 이용하여 조심스럽게 긁어 제거한 후 신선한 0.2%(w/v) NaOH 용액에 10분간 분산시켜 원심분리하였다. 이와 같은 조작은 침전물(전분층)의 상층에 단백질층 등이 더 이상 관찰되지 않을 때까지 반복하였다. 최종조작에서 회수된 침전물은 과량의 증류수에 분산시킨 후 1 N HCl을 이용하여 pH 6.5로 중화시켜 원심분리하고 상등액을 제거하여 쌀전분을 얻었다. 중화된 쌀전분은 과량의 정제수를 이용하여 3회 세척하고, 300 mL의 무수에탄올을 이용하여 탈수하여 감압여과한 후 45°C의 열풍건조기에서 24시간 동안 건조하였다. 건조된 쌀전분은 Teflon 재질의 시료병에 넣어 상온에서 보관하면서 분석 및 구연산전분 제조에 사용하였다.

(다) 소맥전분의 제조

소맥전분은 반죽형성법(dough development method)을 이용하여 밀가루로부터 제조되었다(Kim & Huber, 2008). 밀가루 100 g(d.b)은 정제수 70 mL와 KitchenAid 반죽기(Model KSM 90, St. Joseph, MI, USA)를 이용하여 저속도(setting 2)에서 3분 동안 혼합하여 반죽을 형성하였다. 형성된 반죽에 130 mL의 정제수를 가하고 3분 동안 혼합하여 반죽슬러리를 제조하고 가정용 믹서기(HMF-3450S, Hanil Electric, Seoul)에 넣어 고속으로 1분간 분쇄한 후 여과포(두유 제조 시 사용되는 것)를 이용하여 전분유와 반죽덩어리들을 분리하였다. 분리된 전분유는 원심분리(2,500g, 25°C, 20 min)하여 상등액을 제거하고 침전물 상층부의 단백질층 및 tailed 전분층을 시약스푼을 이용하여 조심스럽게 긁어 제거한 후 정제수를 가하고 분산시켜 원심분리하였다. 이 조작은 침전물의 상층에 단백질층 및 tailed 전분층이 더 이상 관찰되지 않을 때까지 반복하였다. 최종적으로 회수된 침전물은 정제수에 다시 분산시킨 후 150 mesh 표준체망(No. 150; Chunggye, Seoul, Korea)을 통과시켜 잔존하는 세포벽 물질들과 불용성 섬유소들을 제거하고, 표준체망을 통과한 전분유는 원심분리하여 상등액으로부터 전분층을 분리하였다. 분리된 전분층은 100 mL의 무수에탄올에 분산시켜 탈수한 후 감압여과하고 45°C에서 24시간 동안 건조하였다. 건조된 소맥전분은 Teflon 재질의 시료병에 넣어 분석 및 구연산전분 제조에 사용하였다.

(2) 탄수화물 기반 하이드로콜로이드

본 연구에 사용된 탄수화물 기반 하이드로콜로이드는 guar gum, carboxymethylcellulose, xanthan, pectin, sodium alginate, carrageenan 이었으며, 하이드로콜로이드의 특성과 공급처는 Table 4-1에 제시하였다.

Table 4-1. Carbohydrate-based hydrocolloids used in this study

Hydrocolloids	Grade	Characteristics	Supplier
Guar gum	-	<ul style="list-style-type: none"> • Neutral heteropolysaccharide • Linear structure with regular, short branches of galactose 	ESFoods Korea
Xanthan	-	<ul style="list-style-type: none"> • Slightly anionic heteropolysaccharide • Linear structure with short branches of trisaccharides substituted with acetate and pyvurate 	Jupiter International Co., Korea
Carboxymethylcellulose	DS 0.7	<ul style="list-style-type: none"> • Homopolymer of α-D-glucose mediated by β-(1,4) glycosidic linkage • Linear structure 	CPKelco, USA
Pectin	LM	<ul style="list-style-type: none"> • Anionic homopolysaccharide • Linear structure with low degrees of methoxyl groups 	Jupiter International Co., Korea
Sodium alginate	-	<ul style="list-style-type: none"> • Anionic heteropolysaccharide • Linear structure 	CPKelco Co. USA
Carrageenan	κ -type λ -type	<ul style="list-style-type: none"> • Anionic heteropolysaccharide • Linear structure substituted with sulfate 	MSC Korea

(3) 기타 원료 및 시약

무수구연산(anhydrous citric acid)는 식품첨가물등급의 것을 ES식품원료(Gunpo, Gyeonggi, Korea)로부터 구입하였으며, 구연산 이외의 유기산들(succinic acid, malic acid, tartaric acid)은 덕산화학(Duksan Co., Ltd., Seoul, Korea)에서 구입하였다. 포도당분석키트(D-glucose assay kit; GPOPD), 총전분분석키트(total starch assay kit)와 총저항전분분석키트(total resistant starch assay kit)는 Megazyme (Wicklow, Ireland)로부터 구입하였다. 이외 분석을 위한 용매와 시약들은 ACS 등급의 것을 사용하였다.

나. 반응혼합물의 제조

(1) 전분-유기산 반응혼합물

탈이온수에 유기산을 용해시키고 1 N NaOH를 가해 미리 결정된 pH로 조정하여 유기산 용액을 제조하였다. 제조된 유기산 용액 내의 유기산의 양은 전분의 건조중량 대비 1~40%가 되도록 하였다. 유기산 용액과 전분을 건조중량 대비 동량이 되도록 혼합하여 상온에서 1시간 동안 교반한 후 스테인리스강 쟁반으로 옮겨 50℃의 강제순환 열풍건조기(LDO-150F, Daehan labtech, Namyangju, Gyeonggi, Korea)에서 수분함량이 7.5% 미만이 될 때까지 건조하였다. 건조된 전분-유기산 혼합물은 가정용 믹서기(HMF3450S, Hanil Electric, Incheon, Korea)를 이용하여 분쇄하고, 50 mesh 표준체망을 통과시켜 전분-유기산 반응혼합물을 제조하였다.

(2) 전분-하이드로콜로이드 반응혼합물

반응혼합물은 음이온성 하이드로콜로이드를 1% (w/w) 농도로 용해시킨 후 0.1 N HCl을 가하여 pH 5.5로 조정하였다. 이때 sodium alginate의 경우에는 pH를 조정하기 위해 0.1 N HCl을 가할었을 때 sodium alginate가 겔을 형성하였기 때문에 pH 조정 단계를 생략하였다. 음이온성 하이드로콜로이드 용액에 전분소재 99 g (d.b)을 가하여 상온에서 30분간 혼합한 후 스테인레스강 쟁반에 부어 50℃에서 수분함량이 10% 미만이 될 때까지 건조하였다. 전분과 음이온성 하이드로콜로이드의 혼합비율은 건조중량 대비 99:1 이었다. 건조된 반응혼합물을 분쇄하여 50 mesh 표준체망을 통과시켜 폴리프로필렌 샘플병에 넣어 보관하면서 사용하였다.

(3) 전분-인산염 및 전분-황산염 반응혼합물

인산염은 NaH_2PO_4 와 Na_2HPO_4 를 중량대비 2.84:1의 비율로 혼합하였고, 황산염은 NaHSO_4 와 Na_2SO_4 를 중량대비 2.84:1의 비율로 혼합하여 반응물질들로 사용하였다. 제조된 반응물질은 증류수에 용해시킨 후 1 N HCl과 1 N NaOH를 가하여 pH를 조정한 후 전분을 가하여 상온에서 20분간 교반하였다. 전분과 인산염 및 전분과 황산염의 몰비율은 1:1이었다. 전분-인산염 및 전분-황산염 분산물은 스테인레스강 쟁반에 부어 50℃에서 수분함량이 10% 미만이 될 때까지 건조하였다. 건조된 반응혼합물을 분쇄하여 50 mesh 표준체망을 통과시켜 폴리프로필렌 샘플병에 넣어 보관하면서 사용하였다.

다. 건식반응

(1) 컨벡션오븐을 이용한 건열처리

제조된 반응혼합물들은 컨벡션오븐(FO-600M, JEIO TECH Co., Ltd., Daejeon, Korea)을 이용하여 설계된 반응온도에서 반응시간 동안 가열반응을 수행한 후 상온(~24°C)으로 냉각하였다. 처리된 전분소재 반응혼합물들은 사용된 반응물질의 종류에 따라 세척공정을 거치거나 세척공정 없이 분석에 사용되었다.

(2) 동적건식가열반응

제조된 반응혼합물은 성형노즐(die)이 제거된 쌍축압출성형기(Incheon Machinery Co., Incheon, Korea)를 이용하였다. 쌍축압출성형기의 스크류의 직경은 3 cm이고 스크류의 길이와 직경비(L/D ratio)는 25:1이었다. 반응혼합물의 주입구로부터 배출구 사이의 배럴온도(반응온도)는 전열기와 냉각수 순환장치를 사용하여 일정하게 유지되었으며 반응혼합물은 50 g/min의 속도로 쌍축압출성형기에 투입하였다. 반응온도(130~190°C), 스크류 회전속도(10~50 rpm)와 반응혼합물의 쌍축압출성형기 통과회수(1~7 pass)를 동적건식가열반응기법의 공정변수로 하였다. 동적건식가열반응을 위해 사용한 쌍축압출성형기와 동적건식가열반응에 의한 유기산전분의 제조에 대한 모식도는 Figure 4-1에 나타내었다. 제조된 유기산전분들은 상온(~24°C)으로 냉각한 후 과량의 50% 에탄올 수용액을 가하여 10분간 교반한 후 감압여과하고 여과지 위의 전분 케이크는 과량의 50% 에탄올 수용액에 다시 분산시켰다. 이 세척조작은 총 3회 반복하였으며 마지막 세척과정에서 회수한 전분 케이크는 무수에탄올에 분산시켜 10분간 교반하고 감압여과한 후 45°C에서 24시간 동안 건조하여 분석시료로 하였다.

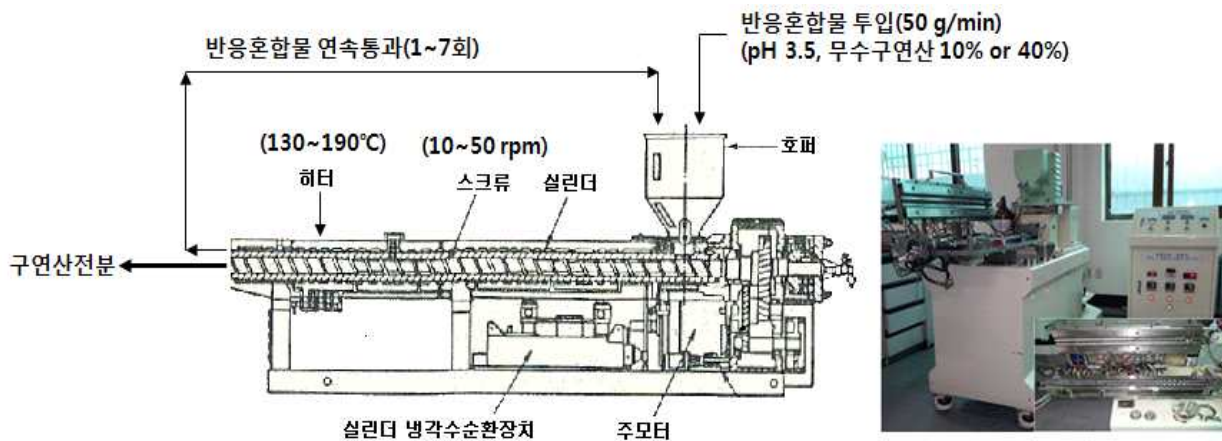


Figure 4-1. Schematic diagram of dynamic dry heating reaction for preparation of organic acid-substituted starch.

(3) 저온플라즈마에 의한 건식반응

(가) 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마(microwave-discharged low-temperature plasma) 처리

반응혼합물들은 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 장치를 이용하여 처리하였다(Figure 4-2). 전분소재 반응혼합물 5 g을 테플론플레이트에 균일한 두께로 깔고 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 장치에 수용한 후 N_2 와 N_2-O_2 혼합가스를 플라즈마 형성가스로 하여 저온플라즈마 처리를 수행하였다. 처리된 전분소재 반응혼합물들은 사용된 반응물질의 종류에 따라 세척공정을 거치거나 세척공정 없이 분석에 사용되었다.

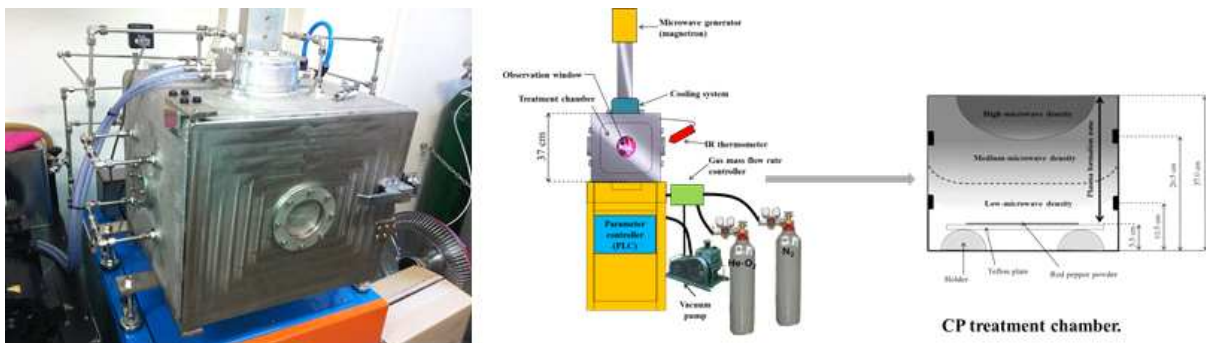


Figure 4-2. Equipment for microwave-discharged low-temperature plasma treatment.

(나) 유전체 장벽 방전(dielectric barrier discharge, DBD) 저온플라즈마 처리

반응혼합물들은 유전체 장벽 방전 저온플라즈마 장치를 이용하여 처리하였다(Figure 4-3). 전분소재 반응혼합물 5 g은 석영페트리디쉬(지름 150 mm, 높이 3 mm, 페트리쉬 바닥 두께 3 mm)에 놓고 유전체 장벽 방전 저온플라즈마 장치에 수용한 후 반응가스를 10분간 주입하여 저온플라즈마를 형성하였다. 저온플라즈마 처리 동안 플라즈마 형성가스(Ar , $Ar-O_2$)는 지속적으로 주입되었다. 전분소재 반응혼합물은 입력전압 100~140 V에서 10~30분 동안 처리되었다. 처리된 전분소재 반응혼합물들은 사용된 반응물질의 종류에 따라 세척공정을 거치거나 세척공정 없이 분석에 사용되었다.

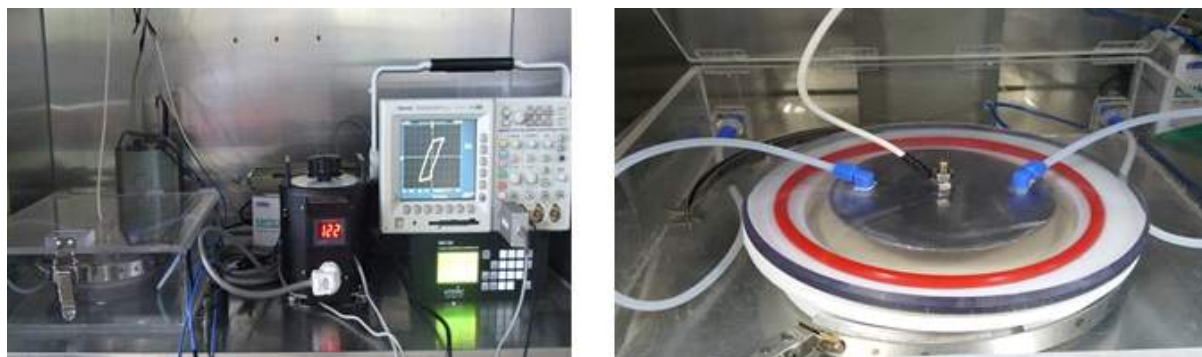


Figure 4-3. Equipment for dielectric barrier discharge low-temperature plasma treatment.

(4) 자외선조사에 의한 반응

(가) 건식반응

전분소재 반응혼합물들은 Figure 4-4의 자외선살균기를 이용하여 건식방법으로 8시간 동안 처리되었다. 이때 사용된 자외선램프의 UV-C 램프로 4 W의 에너지를 방출하였다. 처리된 전분소재 반응혼합물들은 사용된 반응물질의 종류에 따라 세척공정을 거치거나 세척공정 없이 분석에 사용되었다.

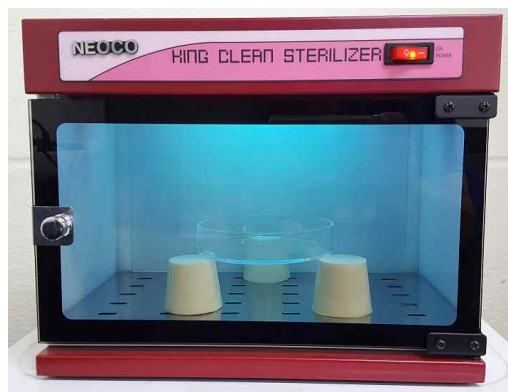


Figure 4-4. UV sterilization equipment for dry UV irradiation.

(나) 습식반응

전분소재 반응혼합물의 페이스트들은 자체적으로 제작된 습식 UV 조사 처리 시스템을 이용하여 50°C 에서 2시간 동안 처리되었다. 습식 UV 조사 처리 시스템은 3-4개의 UVC 침수형 램프, 기계적 교반기, 순환항온기로 구성되어 있었다(Figure 4-5). 처리된 전분소재 반응혼합물들은 -48°C 에서 48시간 동안 동결한 후 동결건조하여 분쇄하였다. 최종적으로 얻은 전분소재들은 감광제의 사용여부에 따라 세척공정을 수행하였다.

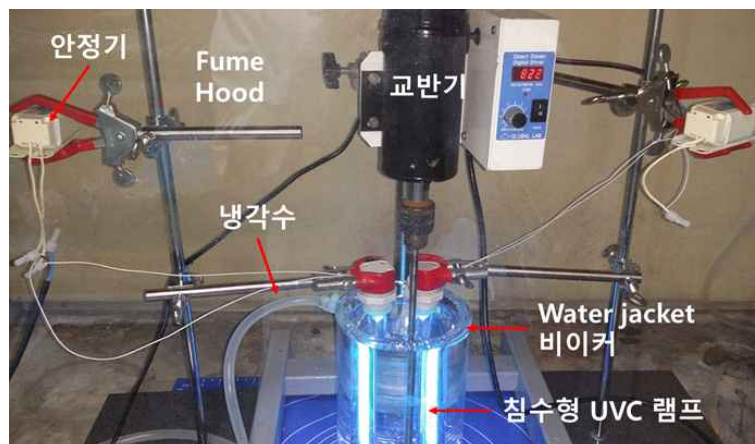


Figure 4-5. Immersing UV-C irradiation equipment.

라. 전분소재의 특성 평가

(1) 푸리에 변환 적외선 분광광도스펙트럼(FT-IR) 분석

생전분과 유기산전분의 FT-IR 스펙트럼은 Spectrum One System (Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA)을 이용하여 조사하였다. 브롬화칼륨(FT-IR grade, >99%; Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)과 전분 시료를 9:1의 중량비율로 혼합하고 타정하여 FT-IR 분석용 펠릿을 제조하였다. FT-IR 스펙트럼은 400-4,000 cm^{-1} 의 파장범위에서 4 cm^{-1} 의 해상도로 분석하였다.

(2) 전계방출전자현미경

전분시료는 양면탄소테이프를 이용하여 알루미늄 stub에 고정시키고 20 nm 두께로 gold:palladium (60:40)을 증착시킨 후 전계방출전자현미경(JSM-6700F, Jeol Ltd., Tokyo, Japan)을 이용하여 가속전압 5 kV에서 600배의 배율로 관찰하였다.

(3) 입도분포

생전분들의 평균입자크기와 입도분포는 입도분석기(Laser Particle Size Analyzer, CILAS 1190 Liquid, Cilas, Madaon, France)를 이용하여 분석하였다. 생전분 100 mg은 500 mL의 95% 에탄올에서 20분간 교반하여 분산시킨 후 분산액 1 mL를 취하여 500 mL의 95% 에탄올에 2차 분산시켜 입도분석을 위한 시료로 하였다. 분석시료들은 입도분석기로 주입하여 주입관을 흐르는 분산액에 레이저를 조사하여 회절되는 산란각을 측정하여 0.01-1,000 μm 범위에서 전분시료의 입자크기 분포를 얻었다.

(4) X선 회절 패턴

천연전분과 유기산 및 구연산 가교화 전분의 X선 회절 패턴은 Powder X-ray diffractometer(Ultima IV, Rigaku, Tokyo, Japan)를 사용하여 조사하였다. Powder X-ray diffractometer는 40 kV와 30 mA에서 조작되었으며 X선 회절도는 0.05° 회절간격과 2°/min 회절속도로 4~40° 회절각도(2θ) 범위에서 X선 회절 패턴을 얻었다. 상대적 결정화도(Relative crystallinity)는 Cheetham과 Tao (1998)의 방법에 따라 총 diffractogram 면적에 대한 결정 피크 면적의 비율(%)로 나타내었다.

(5) 아밀로펙틴 분지사슬분포

생전분 50 mg을 50 mL 원심분리관에 넣고 증류수 0.5 mL를 가하여 수화시킨 후 DMSO (dimethyl sulfoxide) 4.5 mL을 첨가하여 마이크로웨이브 오븐에서 35초 동안 가열하여 용해시켰다. 전분용액 2 mL를 취하여 99% ethanol 12 mL와 혼합하여 vortexing한 후 2,500g에서 10분 동안 원심분리 하고, 상등액을 제거하였다. 침전물에 다시 99% ethanol 12 mL을 가하여 분산시킨 후 1,500g에서 10분 동안 원심분리 하였다. 회수된 침전물은 70° C의 건조기에서 30분 동안 방치하여 여분의 에탄올을 제거하였다. 건조된 침전물에 1.8 mL 증류수를 가하여 교반하면서 끓는 물에서 30분 동안 용해시킨 후 40 mM sodium phosphate buffer 20 μ L를 첨가하여 혼합하였다. 채용해된 전분용액 1 mL을 채취하여 isoamylase (0.6 U/mg starch, Hayashibara Biochemical Laboratories, Inc., Okayama, Japan) 2.5 μ L와 혼합하고 40° C에서 24시간 동안 효소반응하였다. 효소반응이 완료된 후 효소반응물은 끓는 물 수욕조를 이용하여 10분 동안 가열하여 효소를 불활성화시켰다. 분지된 전분 용액은 0.45 μ m 시린지 필터를 통과시킨 후 여액을 high performance anion exchange chromatography (HPAEC; DX-600 series, Dionex, USA)에 주입하였다. HPAEC는 pulse amperometric detector (PAD, Dionex, Sunnyvale, CA, USA)와 Carboapak PA-200 column (Dionex, Sunnyvale, CA, USA)을 검출기와 분리관으로 사용하였다. 생전분의 아밀로펙틴 분지사슬들은 Buffer A (150 mM NaOH)와 Buffer B (150 mM NaOH and 500 mM sodium acetate)의 선형분배모드(linear gradient mode)에서 1 mL/min의 유속으로 분리되었다(Kim et al., 2013).

(6) 겔보기 아밀로오스 함량

생전분 및 구연산전분의 겔보기 아밀로오스 함량은 Chrastil (1987)의 방법에 따라 분석하였다. 전분 시료 100 mg (d.b)은 vortexing 하면서 1 mL의 증류수를 가하고 계속해서 9 mL의 DMSO를 가하여 분산시킨 후 끓는물 수욕조에서 1시간 동안 가열하였다. 가열초기 10분 동안 1분 간격으로 전분 분산물을 vortexing하여 팽윤된 전분입자들의 침전을 제어하였다. 전분 시료의 용해가 완료된 후 상온(24°C)으로 냉각하고 전분용액 0.1 mL를 취하여 0.5% trichloroacetic acid 5 mL와 혼합하고, 0.01 N I₂-KI 용액(1.27 g I₂와 3 g KI를 증류수에 용해하여 1 L로 정용) 0.05 mL를 가하여 vortexing한 후 상온에서 30분간 방치하였다. 발색된 전분용액은 620 nm에서 흡광도를 측정하고, 검정곡선(Figure 4-6)을 이용하여 아밀로오스 함량을 계산하였다. 검정곡선을 위한 표준품은 감자전분으로 추출·정제된 아밀로오스를 사용하였다.

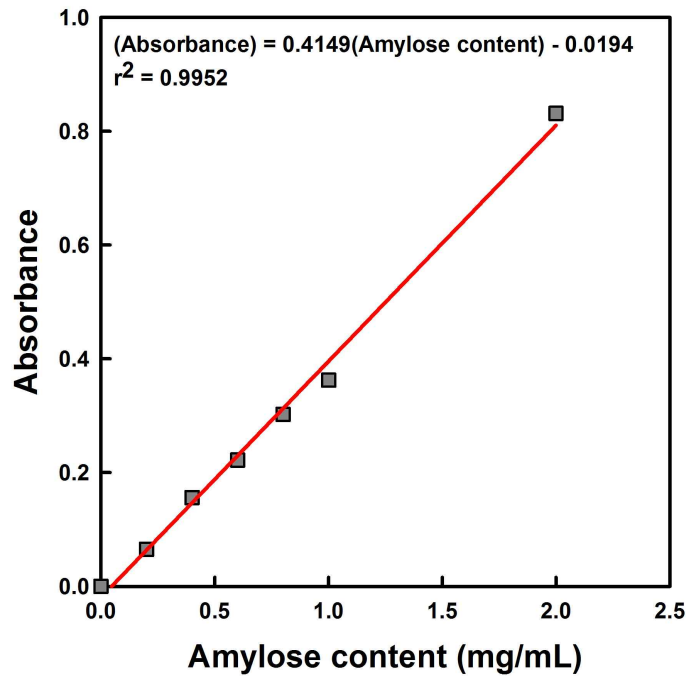


Figure 4-6. Standard curve for measuring the apparent amylose content.

(7) 반응효율

세척 전의 구연산 가교화 전분으로부터 다중 에스테르화(esterification) 반응에 참여하지 않은 구연산의 함량을 정량하여 반응효율을 결정하였다. 전분 시료 0.5 g(d.b)은 50-mL 원심분리관에 직접 칭량하고 증류수 10 mL을 가한 후 50°C의 진탕항온수욕조에서 200 rpm으로 진탕하면서 15분간 가온하였다. 15분 후 전분 시료와 물 혼합물은 원심분리(4,000 rpm, 15 min)하고 상등액을 취하여 100-mL 정용플라스크로 옮기고 무수에탄올 90 mL을 가한 후 15분간 상온에서 진탕하고 30분간 방치하였다. 여기서 30 mL을 취하여 50-mL 원심분리관에 넣고 12,000 rpm에서 30분간 원심분리하여, 상등액 25 mL를 취하여 250-mL 삼각플라스크로 옮겨 페놀프탈레인 지시약 2~3방울을 가하고 0.1 N NaOH 용액(F=1.002)을 이용하여 적정하고 아래 식에 의해 구연산 함량과 반응효율을 계산하였다. 또한 반응시키지 않은 반응혼합물을 전술한 바와 동일한 방법으로 처리하여 구연산을 추출하고 정량하여 반응효율 계산을 위한 구연산 기준함량으로 사용하였다.

$$\text{Citric acid (\%)} = \frac{V \times F \times 0.0064 \text{ g} \times 4}{\text{Initial sample weight (g, d. b)}} \times 100$$

여기서 V는 0.1 N NaOH 소비량(mL), F는 0.1 N NaOH 역가, 0.0064 g은 0.1 N NaOH 1 mL에 대응하는 무수구연산의 양, 4는 회석배수를 나타낸다.

$$\text{Reaction efficiency (RE, \%)} = \frac{W_{\text{control}} - W_{\text{sample}}}{W_{\text{control}}} \times 100$$

여기서 W_{control} 은 반응 전 반응혼합물 내의 구연산 함량이며 W_{sample} 은 구연산 가교화 전분 내의 반응에 참여하지 않은 구연산 함량이다.

(7) 몰 치환도(molar degree of substitution, MS)

(가) 유기산전분의 몰 치환도

무수에탄올 150 mL는 5 N HCl 15mL와 혼합하여 에탄올-HCl 혼합용액을 제조하였다. Starch citrate에 이온결합된 나트륨염을 제거하기 위해 유기산전분(2 g, d.b)은 에탄올-HCl 혼합용액(50 mL)에 분산시켜 30분간 상온에서 교반한 후 유리필터 부크너 깔때기 (FN1160-011G/G4, Joylab, Seoul, Korea) 위에서 감압여과하여 전분시료를 회수하였다. 회수된 전분시료는 80% 에탄올 수용액(100 mL)을 가하여 10분간 상온에서 교반하고 감압여과하였다. 이러한 세척과정은 여액의 pH가 7-7.5가 될 때까지 반복하였다(총 500 mL의 80% 에탄올 수용액이 사용되었다). 마지막 세척과정에서 회수된 전분시료는 무수에탄올(50 mL)에 분산시켜 상온에서 10분간 교반하고 감압여과하여 45°C에서 건조하여 몰치환도 측정을 위한 시료로 하였다. 동일한 절차를 거친 생전분을 공시험을 위한 시료로 하였다(Liu et al., 2012). 제조된 분석시료(1 g, d.b)는 250 mL 삼각플라스크에서 75% 에탄올 수용액(30 mL)과 혼합하여 50°C에서 30분 동안 진탕하고 상온으로 냉각한 후 0.5 N NaOH (10 mL)을 가하여 상온에서 24시간 동안 교반하였다. 24시간 후 페놀프탈레인용액을 3방울 가하고 0.1 N HCl 표준용액 (F=1.002, Duksan Co., Ansan, Gyeonggi, Korea)을 이용하여 역적정(back-titration)하고 2시간 동안 상온에서 방치한 후 추가로 적정하였다. 2차에 걸쳐 소비된 0.1 N HCl의 양으로부터 유기산전분에서 유리된 유기산 함량을 결정하였다.

$$\text{Citric acid content (\%, d. b)} = \frac{(V_0 - V_s) \times F \times 0.0064 \text{ g}}{\text{Initial starch weight (g, d. b)}} \times 100$$

여기서 V_0 는 공시험의 0.1 M HCl 소비량, V_s 는 구연산전분 분산물의 0.1 M HCl 소비량, F는 0.1 M HCl의 역가, 0.0064 g은 0.1 M HCl (또는 NaOH) 1 mL에 대응하는 무수구연산의 양이었다. 유기산전분의 무수포도당에 대한 구연산의 몰수의 비율로 유기산전분의 몰치환도(molar degree of substitution)를 계산하였다(Ma et al., 2008).

$$\text{Molar substitution (MS)} = \frac{\text{Citrate starch weight (g, d. b)} \times \frac{\text{Citric acid content (\%)}}{100}}{192.124 \text{ g/mol}} \div \frac{\text{Native starch weight (g, d. b)}}{162 \text{ g/mol}}$$

여기서 192.124 g/mole은 무수구연산의 물질량이며, 162 g/mole은 전분의 물질량이다.

(나) 인(phosphorus) 및 황(sulfur) 함량 정량

인산염 및 황산염을 이용하여 제조된 전분소재들의 반응성은 세척된 전분소재들 내의 인(phosphorus) 및 황(sulfur) 함량을 유도결합 플라즈마 원자 방출 분광기(inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry; ICP-AES)를 이용하여 분석하였다(Anderson, 1996). 전분소재들은 초단파 용해장치(microwave digestion system)를 이용하여 습식법으로 용해하여 ICP-AES에 주입하여 분석하였다. 물 치환도는 인산전분 및 황산전분 내의 인 및 황의 몰수에 대한 전분의 몰수의 비율로서 계산하였다.

(8) 총 저항전분(total resistant starch, TRS) 함량

생전분과 구연산전분의 저항전분 함량은 AACC법 (Approved Method 32-40)에 따라 총 저항전분 분석 kit (total resistant starch assay kit, Megazyme Int., Wicklow, Ireland)를 이용하여 분석하였다(AACC, 2000). 전분시료 100 mg(d.b)을 50 mL 원심분리관에 직접 칭량하고 탈이온수 4.0 mL를 가하여 30분 동안 끓는 물 수욕조에서 가열하고 37°C로 냉각시켰다. 전분분산액은 효소용액(pancreatic α -amylase 10 mg/mL과 amyloglucosidase 3 U/mL) 4.0 mL과 혼합하여 37°C의 진탕항온배양기에서 200 stroke/min으로 진탕하면서 20시간 동안 효소반응을 하였다. 20시간 후 무수에탄올 4.0 mL을 가해 vortexing하여 효소반응을 중지시키고 원심분리(1500g, 10 min)한 후 상등액을 100 mL 정용플라스크로 옮겨 보관하였다. 침전물은 다시 50%(v/v) 에탄올 수용액 8 mL을 가해 원심분리하고 상등액은 동일한 100 mL 정용플라스크로 옮겨 보관하였다. 침전물에 대해서는 전술한 바와 같은 절차를 추가로 1회 반복 수행하였다.

원심분리관에 잔류한 침전물에 2 M KOH 수용액 2 mL와 magnetic bar를 넣고 얼음물 안에서 20분간 교반하여 침전물을 용해시킨 후 sodium acetate buffer (1.2 M, pH 3.8) 8 mL와 amyloglucosidase (3,300 U/mL) 0.1 mL을 순차적으로 가한 다음 50°C의 항온수욕조에서 30분 동안 효소반응을 시키면서 5분 간격으로 vortexing 해주었다. 30분 후 원심분리관 내의 전분 가수분해물 용액은 또 다른 100 mL 정용플라스크로 옮기고 탈이온수를 가해 정용하였다. 여기서 0.1 mL을 취하여 GOPOD 용액 3 mL과 혼합하여 50°C의 항온수욕조에서 30분간 발색시키고 분광광도계를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하고 D-glucose를 이용하여 미리 작성된 표준곡선을 이용하여 불용성 저항전분(non-soluble RS, NS-RS) 함량을 구하였다. 상등액들이 취합된 100 mL 정용플라스크에 sodium acetate buffer (100 mM, pH 4.5)를 가해 정용하고 0.1 mL을 취하여 amyloglucosidase 용액(300 U/mL) 10 μ L와 혼합한 후 50°C 항온수욕조에서 20분간 효소반응하였다. 여기에 GOPOD 용액 3 mL을 가하여 50°C 항온수욕조에서 20분간 발색시킨 후 510 nm파장의 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정하고 미리 작성된 표준곡선에 의해 신속소화전분(rapidly-digestible starch; RDS)을 결정하였다. 총 저항전분 함량은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\begin{aligned} \text{Total resistant starch (TRS, \%)} &= \text{Soluble RS} + \text{NS} - \text{RS} \\ &= [100 - (\text{RDS} + \text{NS} - \text{RS})] + \text{NS} - \text{RS} \end{aligned}$$

(9) 보수력(water holding capacity; WHC)

생전분과 유기산전분의 보수력 측정을 위해 전분 시료 0.5 g(d.b)을 50-mL 원심분리관에 직접 칭량하고 증류수 15 g을 가하여 혼합한 후 30분간 상온(~24°C)에서 방치하였다. 5분 간격으로 vortexing하여 침전된 전분 시료들을 재분산시켰다. 20분 후 3,000g에서 15분간 원심분리하여 상등액을 제거하고 원심분리관을 뒤집어 10분 동안 잔류용매를 제거한 후 무게를 측정하여 전분의 수분함량이 14%로 보정된 아래 식에 의해 계산하였다.

$$\text{WHC (\%)} = \left[\frac{\text{Hydrated sample weight (g)}}{\text{Initial sample weight (g)}} \right] \times \left[\frac{100 - 14}{100 - \text{moisture content (\% of sample)}} \right] \times 100$$

(10) 용해도와 팽윤력

용해도와 팽윤력은 Kim (2017)의 방법에 따라 측정하였다. 전분시료들(생전분 및 변성전분) 0.5 g (d.b)을 50 mL 원심분리관에 직접 칭량하고 25 g의 탈이온수를 가한 후 vortexing 하였다. 전분-물 분산물은 항온수욕조에서 5분 간격으로 vortexing 하면서 30분 동안 가열하였다. 30분 후 냉수욕조에서 20분간 냉각하여 원심분리(2,500g, 20 min)하고 상등액은 100 mL 정용플라스크로 옮기고, 원심분리관은 뒤집어 10분간 잔류용매를 제거하여 팽윤된 전분 시료의 무게를 측정하였다. 또한 100 mL 정용플라스크의 상등액은 탈이온수를 가하여 100 mL로 희석하고 상등액의 총당 함량을 페놀-황산법 (Dubois et al., 1956)으로 정량하여 용해도를 결정하였다.

$$\text{Solubility (\%, d. b)} = \frac{\text{Total carbohydrate content (g) in the supernatant} \times 0.9}{\text{Dry weight of starch sample (g, d. b)}} \times 100$$

$$\text{Swelling power} \left(\frac{\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{W_{\text{swollen}}}{W_{\text{initial}} \times \left(1 - \frac{\text{Solubility (\%)}}{100} \right)}$$

여기서 0.9는 포도당의 물질량(180 g/mol)에 대한 무수포도당의 물질량(162 g/mol)의 비율, W_{initial} 은 초기 전분시료의 건조중량, W_{swollen} 은 팽윤된 전분시료의 중량이다.

(11) 시차주사열량계(differential scanning calorimetry, DSC)

전분시료들의 열 특성은 시차주사열량계(DSC 4000, PerkinElmer, Waltham, MA, USA)를 이용하여 분석하였다(Kim et al., 2013). 전분시료들 5.0 mg (d.b)은 스테인레스강 팬에 직접 칭량하고 탈이온수를 가하여 총 20.0 mg(전분과 탈이온수의 비율은 1:3, w/w)으로 맞춰 기계적으로 밀봉한 후 상온에서 18시간 동안 방치하였다. 제조된 팬은 5°C/min의 가열속도로 20°C에서 100°C까지 스캔하였다. 대조군은 빈 팬을 사용하였다.

(12) 페이스팅 점도 특성

전분소재들의 페이스팅 점도 특성은 신속점도분석기(rapid visco analyzer; RVA-3D, Newport Scientific, New South Wales, Australia)를 이용하여 분석하였다. 전분시료 2.0 g (d.b)을 알루미늄 용기에 직접 칭량하고 총 28 g이 되도록 탈이온수를 가한 후 스파툴라와 플라스틱 회전축을 이용하여 전분시료를 완전하게 분산시켜 분석시료로 하였다. 신속점도분석기는 1분간 50°C로 유지, 12°C/min으로 95°C까지 가열, 95°C에서 2.5분간 유지, 12°C/min으로 50°C까지 냉각하고 50°C에서 2분간 유지시켜 페이스팅 점도 프로파일을 얻었다. 플라스틱 회전축은 신속점도분석기가 조작되는 동안 160 rpm으로 일정하게 회전시켰다.

(13) 점탄특성

전분소재들은 탈이온수에 분산시켜 끓는 물 수욕조에 넣어 교반하면서 30분간 열처리하여 10% (w/v) 농도의 페이스트로 제조하였다. 제조된 전분소재 페이스트들은 상온(~22°C)에서 1시간 동안 방냉한 후 일정량의 페이스트를 DHR1 dynamic rheometer (TA Instruments, New Castle, DE, USA)의 peltier 위에 놓고 25°C가 되도록 5분간 방치하였다. Frequency sweep test는 plate-plate geometry system (40 mm diameter and 1,000 μ m gap)을 이용하여 1% strain (선행된 strain sweep test에서 선행 점탄 영역) angular frequency 0.1-100 rad/s의 범위에서 수행하였다. 또한 Steady flow test는 25°C에서 전단속도 1-300 s^{-1} 의 범위에서 수행하였다.

마. 통계처리

반응조건에 따른 전분소재들은 적어도 2회 반복하여 제조하였으며, 이들의 특성분석은 3회 측정하여 평균±표준편차로 나타내었다. 측정된 특성치들은 ANOVA 분석을 수행하였고, 특성치 평균값들 사이의 통계적 유의성은 95% 신뢰수준에서 Tukey's HSD test를 이용하여 분석하였다. 반응표면분석을 제외한 모든 통계적 계산과 분석은 Minitab 16 (Minitab Inc., State College, PA, USA)를 사용하였으며, Central composite face-centered design 및 Box-Behnken design에 의한 실험설계들과 반응표면분석은 Design-Expert 7 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA)을 이용하여 수행하였다.

2. 연구결과

가. 전분-카르복시산 에스테르화 및 카르복시산 전분들의 특성에 대한 반건조가열반응 공정 요인들의 영향 탐색

(1) 실험디자인

옥수수전분들의 구연산 반응유도체 내의 저항전분 함량에 대한 반건조가열 반응조건들 (pH, 반응온도, 반응시간)의 영향을 조사하기 위해 반응표면분석법(response surface methodology; RSM)이 적용되었다.

Table 4-2. Box-Behnken design matrix for preparation of citrate derivatives of normal and waxy corn starches by semi-dry heating reaction

Starch	Run	Coded values			Actual values		
		A	B	C	pH	T (°C)	t (h)
Normal corn	1	0	0	0	4.5	135	3
	2	-1	1	0	3.5	150	3
	3	1	0	-1	5.5	135	1
	4	1	-1	0	5.5	120	3
	5	0	-1	1	4.5	120	5
	6	-1	0	-1	3.5	135	1
	7	-1	-1	0	3.5	120	3
	8	0	1	-1	4.5	150	1
	9	-1	0	1	3.5	135	5
	10	0	1	1	4.5	150	5
	11	0	0	0	4.5	135	3
	12	1	0	1	5.5	135	5
	13	0	0	0	4.5	135	3
	14	1	1	0	5.5	150	3
	15	0	-1	-1	4.5	120	1
Waxy corn	1	0	0	0	4.5	135	3
	2	-1	1	0	3.5	150	3
	3	1	0	-1	5.5	135	1
	4	1	-1	0	5.5	120	3
	5	0	-1	1	4.5	120	5
	6	-1	0	-1	3.5	135	1
	7	-1	-1	0	3.5	120	3
	8	0	1	-1	4.5	150	1
	9	-1	0	1	3.5	135	5
	10	0	1	1	4.5	150	5
	11	0	0	0	4.5	135	3
	12	1	0	1	5.5	135	5
	13	0	0	0	4.5	135	3
	14	1	1	0	5.5	150	3
	15	0	-1	-1	4.5	120	1

일반옥수수전분과 찹옥수수전분 각각에 대해서 3개의 중심점을 포함하며 3개의 요인들과 각 요인당 3개의 수준들로 구성된 Box-Behnken design에 의해 15개의 실험점들이 고안되었다. 코드(code)와 실제적인 값으로 표현된 3개의 요인들, 3개의 수준들과 15개의 실험점들은 Table 4-2에 나타내었다. 반응표면분석을 거친 각 요인들은 아래 제시된 second-order polynomial equation에 피팅(fitting)되었다.

$$\hat{y} = b_0 + b_1A + b_2B + b_3C + b_{11}A^2 + b_{22}B^2 + b_{33}C^2 + b_{12}AB + b_{13}AC + b_{23}BC$$

여기서 \hat{y} 는 추정된 반응 함수(estimated response equation)이며, b_0 , b_i 와 b_{ij} 는 추정된 모델 계수들이고, X_i 는 코드화된 변수들을 나타낸다. 반건조가열반응 처리된 구연산 가교화 전분 내의 저항전분 함량에 대한 3개의 반응조건들의 유의성과 second-order polynomial function의 적합성을 결정하기 위해 각 요인들의 분산은 1차항(linear), 2차항(quadratic), 상호작용(interactive), 적합성결여(lack-of-fit)와 오차항(error)으로 분할되었다.

(2) 전분-카르복시산 유도체에 대한 반건조가열반응 공정요인들의 영향

Table 4-3. Mean¹⁾ values for reaction efficiency (RE), molar degree of substitution (MS), and resistant starch (RS) content (in uncooked and cooked states) of citrate derivative of normal corn starches prepared depending on reaction conditions constructed by Box-Behnken design.

Sample code	Reaction conditions			Responses			
	pH	T (°C)	t (h)	RE (%)	MS	RS content (% , d.b)	
						Uncooked	Cooked
N01	4.5	135	3	64.3	0.016	21.9	20.2
N02	3.5	150	3	91.2	0.036	40.6	38.4
N03	5.5	135	1	33.3	0.004	15.1	10.1
N04	5.5	120	3	33.3	0.004	15.1	12.3
N05	4.5	120	5	53.5	0.013	23.0	20.2
N06	3.5	135	1	39.6	0.016	22.7	19.6
N07	3.5	120	3	61.6	0.024	28.2	27.5
N08	4.5	150	1	50.0	0.012	18.2	18.0
N09	3.5	135	5	86.8	0.034	36.8	36.7
N10	4.5	150	5	89.3	0.022	29.2	28.5
N11	4.5	135	3	60.7	0.015	21.4	20.4
N12	5.5	135	5	58.3	0.006	17.2	15.6
N13	4.5	135	3	62.5	0.015	20.4	19.1
N14	5.5	150	3	70.8	0.007	17.0	15.4
N15	4.5	120	1	3.5	0.001	17.6	14.1

¹⁾Mean values of three replicate measurements.

설계된 실험점들에 따라 일반옥수수전분과 찰옥수수전분들을 이용하여 제조된 구연산전분의 반응효율, 몰치환도와 호화전후의 저항전분 함량을 전술한 방법에 따라 분석하여 각각 Table 4-3와 Table 4-4에 나타내었다. 일반옥수수전분과 찰옥수수의 반응효율들은 각각 3.5~91.2%와 7.8~90.9%의 범위에 있었으며 일반옥수수전분의 경우 pH 3.5, 150°C, 3 h의 조건에서, 찰옥수수전분의 경우 pH 3.5, 135°C, 5 h에서 가장 높은 반응효율을 나타내었다. 몰치환도는 일반옥수수전분의 경우 0.001~0.036, 찰옥수수전분의 경우 0.001~0.039의 범위에 있었으며, 반응효율과 유사한 경향을 나타내었다. 호화 전 저항전분 함량은 일반옥수수전분은 15.1~40.9%, 찰옥수수전분은 13.9~41.7%의 범위에 있었으며, 호화 후 저항전분 함량을 분석하였을 때 일반옥수수전분과 찰옥수수전분의 모든 처리군들에서 각각 1.7~5.0%와 1.7~6.3% 정도의 저항전분 함량의 감소가 관찰되었다. 이는 기존의 문헌에서 보고한 결과와 유사하였다.

Table 4-4. Mean¹⁾ values for reaction efficiency (RE), molar degree of substitution (MS), and resistant starch (RS) content (in uncooked and cooked states) of citrate derivative of waxy corn starches prepared depending on reaction conditions constructed by Box-Behnken design.

Sample code	Reaction conditions			Responses			
	pH	T (°C)	t (h)	RE (%)	MS	RS content (% , d.b)	
						Uncooked	Cooked
W01	4.5	135	3	65.4	0.014	21.9	20.2
W02	3.5	150	3	88.5	0.039	41.7	37.7
W03	5.5	135	1	10.8	0.001	14.4	12.3
W04	5.5	120	3	10.8	0.001	13.9	10.2
W05	4.5	120	5	50.1	0.011	20.0	19.5
W06	3.5	135	1	55.6	0.024	24.7	20.5
W07	3.5	120	3	67.7	0.029	27.5	25.8
W08	4.5	150	1	57.7	0.013	20.4	17.7
W09	3.5	135	5	90.9	0.039	38.0	36.7
W10	4.5	150	5	88.5	0.020	27.9	27.0
W11	4.5	135	3	65.4	0.015	22.5	21.8
W12	5.5	135	5	33.1	0.003	14.2	13.3
W13	4.5	135	3	61.6	0.014	21.4	19.3
W14	5.5	150	3	55.4	0.004	15.1	12.2
W15	4.5	120	1	7.8	0.002	14.7	8.4

¹⁾Mean values of three replicate measurements.

구연산전분의 반응효율, 몰치환도, 호화전후의 저항전분 함량에 옥수수전분의 유전자형 (아밀로오스 함량의 존재유무)에 대한 영향을 알아보기 위해 일반옥수수전분과 찰옥수수전분을 기준으로 각각의 특성치들을 통합하여 ANOVA 분석을 수행하여 Table 4-5에 나타내었다.

Table 4-5. ANOVA analysis for the pooled values of reaction efficiency (RE), molar degree of substitution (MS), and resistant starch contents in uncooked (RS) and cooked (CRS) states of citrate derivatives of normal and waxy corn starches.

Source	RE		MS		RS		CRS	
	$F^{1)}$	$p^{2)}$	F	p	F	p	F	p
Regression	0.12	0.7276	0.05	0.9228	0.02	0.8913	0.08	0.7752
Genotype	0.12	0.7276	0.05	0.9228	0.02	0.8913	0.08	0.7752
Residual								
Lack of fit	190.93	<0.001	510.56	<0.001	171.55	<0.001	81.28	0.0003
r^2	0.0044		0.0017		0.0007		0.0030	

¹⁾F-value; ²⁾p-value.

구연산전분의 반응효율, 몰치환도, 호화전후의 저항전분 함량들은 옥수전분의 유전자형, 즉 아밀로오스 분자의 존재유무에 따라 유의적인 차이를 나타내지 않았다($p>0.05$). 따라서 저항전분의 생산을 목적으로 할 때 전분의 아밀로오스 함량은 중요한 요인은 아닌 것으로 판단된다.

Table 4-6. ANOVA analysis for reaction efficiency (RE), molar degree of substitution (MS), and resistant starch contents in uncooked (RS) and cooked (CRS) states of citrate derivatives of normal corn starches.

Source	RE		MS		RS		CRS	
	$F^{1)}$	$p^{2)}$	F	p	F	p	F	p
Regression	44.72	0.0003	65.83	0.0001	22.91	0.0015	40.42	0.0004
<i>A</i>	45.72	0.0011	386.07	<0.0001	130.98	<0.0001	225.75	<0.0001
<i>B</i>	146.42	<0.0001	60.26	0.0006	14.28	0.0129	32.74	0.0023
<i>C</i>	171.38	<0.0001	88.09	0.0002	34.09	0.0021	73.29	0.0004
<i>AB</i>	0.82	0.4074	6.00	0.0579	7.07	0.0449	5.80	0.0609
<i>AC</i>	6.47	0.0517	24.93	0.0041	9.24	0.0288	12.83	0.0158
<i>BC</i>	1.51	0.2740	0.70	0.4406	2.01	0.2153	1.85	0.2323
A^2	2.49	0.1752	10.91	0.0214	5.78	0.0612	5.09	0.0738
B^2	0.66	0.4536	0.05	0.8393	2.19	0.1988	3.61	0.1160
C^2	25.90	0.0038	13.47	0.0144	0.54	0.4958	2.38	0.1835
Residual								
Lack of fit	9.29	0.0987	20.64	0.0466	10.47	0.0885	8.25	0.1100
r^2	0.9877		0.9916		0.9763		0.9864	

¹⁾F-value; ²⁾p-value.

일반옥수수전분을 이용하여 제조된 구연산전분의 반응효율, 물치환도, 호화전후의 저항전분 함량에 대한 반응요인들의 영향을 조사하기 위해 Table 4-3에 제시된 특성치들을 이용하여 반응표면분석을 수행하여 Table 4-6에 나타내었다. 반응효율은 직선성의 1차 항인 pH (A), 반응온도(B) 및 반응시간(C)에 대해서만 95% 신뢰수준에서 유의적인 차이를 나타내었으며 반응요인들 사이에서 유의적인 교호작용은 존재하지 않았다. 반응효율에 대한 1차 항들의 영향은 pH가 증가하면서 반응효율은 감소한 반면에, 반응온도와 반응시간이 증가하면서 반응효율은 증가하였다(Figure 4-7).

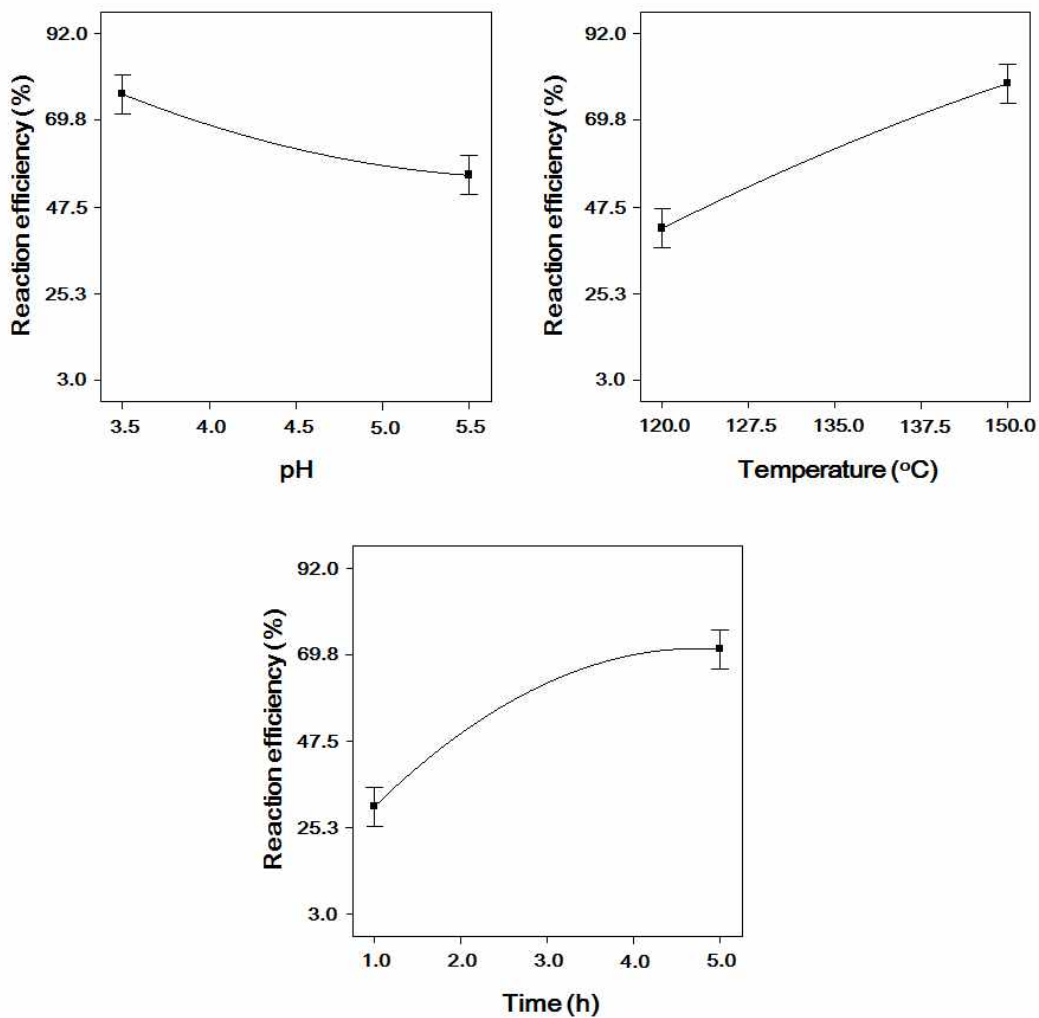


Figure 4-7. One-factor plots showing the effects of pH, reaction temperature, and reaction time on reaction efficiency of citrate starch from normal corn starch.

물치환도와 관련하여 직선성의 1차 항인 pH (A), 반응온도(B) 및 반응시간(C)이 95% 신뢰수준에서 유의적이었으며, pH와 반응시간 사이에는 유의적인 교호작용이 존재하였다. 그러나 pH와 반응온도, 반응온도와 반응시간 사이에는 교호작용이 존재하지 않았다(Table 4-6). 물치환도는 pH가 증가할수록 감소하였으며, 반응온도와 반응시간은 증가할수록 증가하였다.

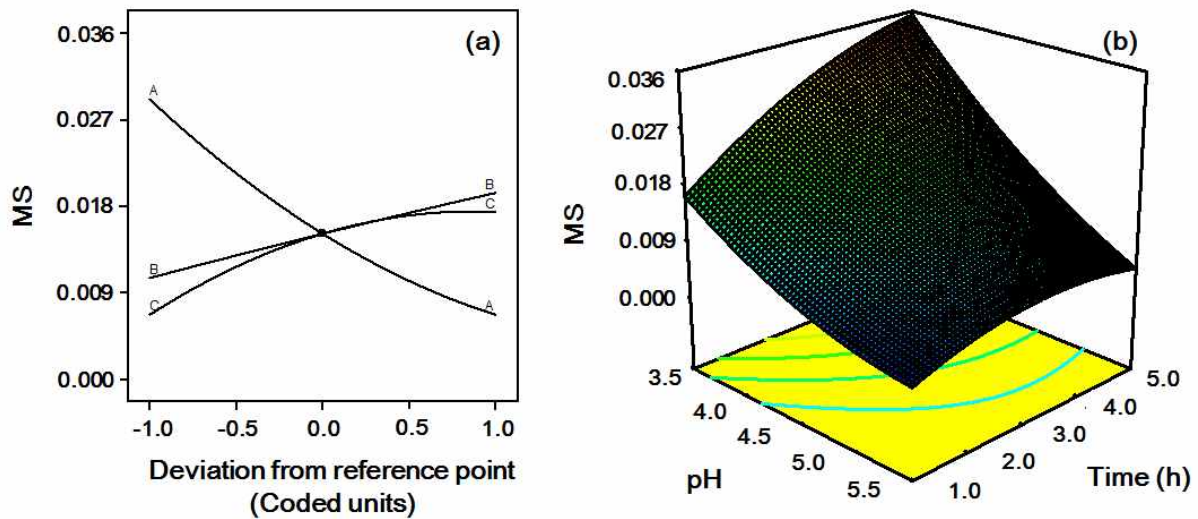


Figure 4-8. Perturbation plot (a) describing the effects of pH (A), reaction temperature (B), and reaction time (C) and response surface plot (b) describing the interaction between pH and reaction time on molar degree of substitution (MS) of citrate starch from normal corn starch.

또한 pH와 반응시간 사이의 교호관계에 있어 시간이 증가하더라도 pH가 감소하면 몰치 환도는 감소하는 것으로 나타났으나, pH와 반응시간 중 한 요인을 특정 수준에서 일정하게 유지할 경우에는 1차 항에서 관찰된 몰치 환도와 1차 항 요인들 사이의 관계가 나타났다 (Figure 4-8).

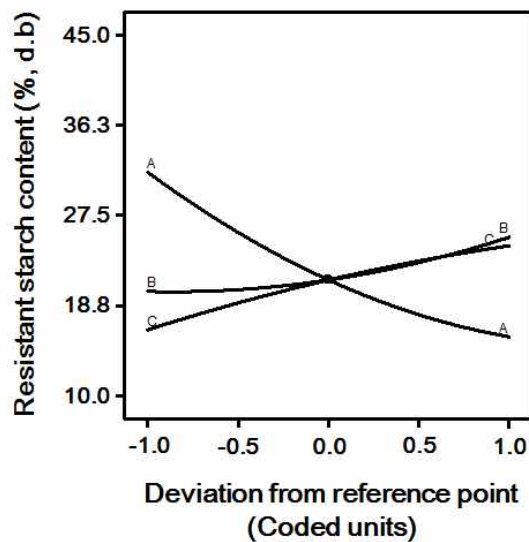


Figure 4-9. Perturbation plot describing the effects of pH (A), reaction temperature (B), and reaction time (C) on resistant starch content in the uncooked state of citrate starch from normal corn starch.

호화되지 않은 상태에서 구연산전분의 저항전분 함량은 직선성의 1차 항인 pH (A), 반응 온도(B), 반응시간(C)들에 의해 95% 신뢰수준에서 유의적인 영향을 받았다(Table 4-6). pH는 증가하는 저항전분 함량을 감소시켰으며, 반응온도와 반응시간은 증가하면서 저항전분 함량을 증가시켰다(Figure 4-9). 호화되지 않은 상태의 구연산전분의 저항전분 함량에 있어 pH와 반응 온도, pH와 반응시간에 있어 유의적인 교호작용이 존재하였으나, 반응온도와 반응시간 사이에는 교호작용이 관찰되지 않았다(Table 4-6). pH가 감소하고 반응온도가 증가하면서(Figure 4-10a) 또는 반응시간이 증가하면서(Figure 4-10b) 저항전분 함량은 증가하였다. 그러나 모든 경우에 있어 pH가 5.5에서는 반응온도와 반응시간의 증가는 저항전분 함량의 증가에 큰 영향을 미치지 않은 것으로 보인다(Figure 4-10).

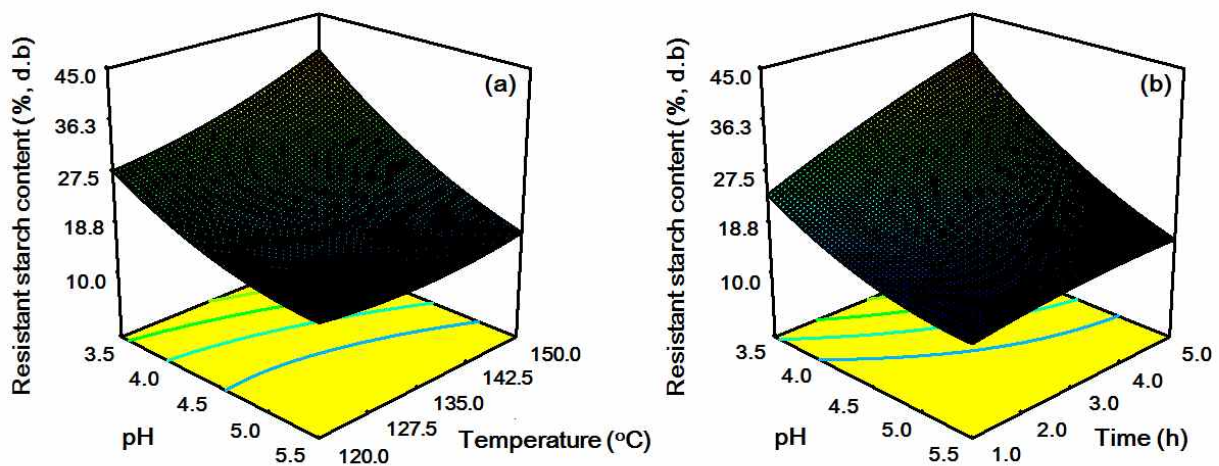


Figure 4-10. Response surface plots describing the interaction between pH and temperature and pH and time on resistant starch content in the uncooked state of citrate starch from normal corn starch.

호화된(열처리한) 구연산전분의 저항전분 함량은 직선성의 1차 항인 pH(A), 반응온도(B), 반응시간(C)에 의해 95% 신뢰수준에서 유의적인 영향을 받았다(Table 4-6). 호화되지 않은 구연산전분과 유사하게 pH의 증가는 저항전분 함량을 감소시켰으며, 반응온도와 반응시간의 증가는 저항전분 함량을 증가시켰다(Figure 4-11a). 한편 호화된 구연산전분의 저항전분 함량에 대한 pH와 반응시간 사이의 유의적인 교호작용이 존재하였으나, pH와 반응 온도 및 반응 온도와 반응시간 사이의 교호작용은 관찰되지 않았다(Table 4-6). pH가 감소하면서 반응시간이 증가할수록 저항전분 함량은 증가하였으나, 호화되지 않은 구연산전분과 마찬가지로 pH 5.5에서는 반응시간 증가에 따른 저항전분 함량의 증가율은 적은 수준을 나타내었다(Figure 4-11b).

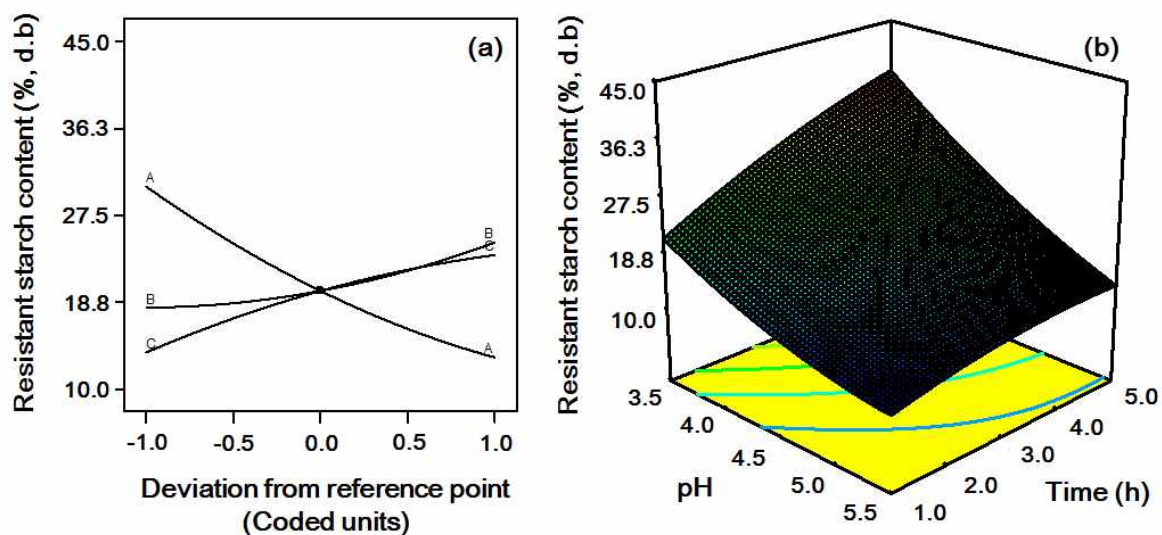


Figure 4-11. Perturbation plot (a) describing the effects of pH (A), reaction temperature (B), and reaction time (C) and response surface plot (b) describing the interaction between pH and reaction time on resistant starch content in the cooked state of citrate starch from normal corn starch.

Table 4-7. ANOVA analysis for reaction efficiency (RE), molar degree of substitution (MS), and resistant starch contents in uncooked (RS) and cooked (CRS) states of citrate derivatives of waxy corn starches.

Source	RE		MS		RS		CRS	
	F^1	p^2	F	p	F	p	F	p
Regression	46.47	0.0003	148.34	<0.0001	97.76	<0.0001	35.10	0.0005
<i>A</i>	185.39	<0.0001	1081.66	<0.0001	608.07	<0.0001	196.40	<0.0001
<i>B</i>	118.07	0.0001	80.54	0.0003	92.63	0.0002	35.02	0.0020
<i>C</i>	85.38	0.0002	78.62	0.0003	73.89	0.0004	52.54	0.0008
<i>AB</i>	5.66	0.0632	7.91	0.0375	37.23	0.0017	7.28	0.0428
<i>AC</i>	1.69	0.2504	24.40	0.0043	40.15	0.0014	17.17	0.0090
<i>BC</i>	1.32	0.3023	0.58	0.4815	1.07	0.3491	0.24	0.6444
<i>A</i> ²	5.28	0.0700	45.78	0.0011	17.90	0.0082	3.54	0.1187
<i>B</i> ²	0.96	0.3715	0.81	0.4091	0.24	0.6459	0.62	0.4653
<i>C</i> ²	16.44	0.0098	10.48	0.0230	6.88	0.0469	2.57	0.1700
Residual								
Lack of fit	7.99	0.1132	7.99	0.1133	5.57	0.1560	2.83	0.2719
r^2	0.9882		0.9963		0.9943		0.9844	

¹⁾ F -value; ²⁾ p -value.

찰옥수수전분을 이용하여 제조된 구연산전분의 반응효율, 물치환도, 호화전후의 저항전분 함량에 대한 반응요인들의 영향을 조사하기 위해 Table 4-4에 제시된 특성치들을 이용하여 반응표면분석을 수행하여 Table 4-7에 나타내었다. 일반옥수수전분에서와 마찬가지로 반응효율은 직선성의 1차 항인 pH (A), 반응온도(B) 및 반응시간(C)에 대해서만 95% 신뢰수준에서 유의적인 차이를 나타내었으며 반응요인들 사이에서 유의적인 교호작용은 존재하지 않았다. 일반옥수수전분의 것들과는 정도의 차이는 있지만 반응효율에 대한 1차 항들의 영향은 pH가 증가하면서 반응효율은 감소한 반면에, 반응온도와 반응시간이 증가하면서 반응효율은 증가하였다.

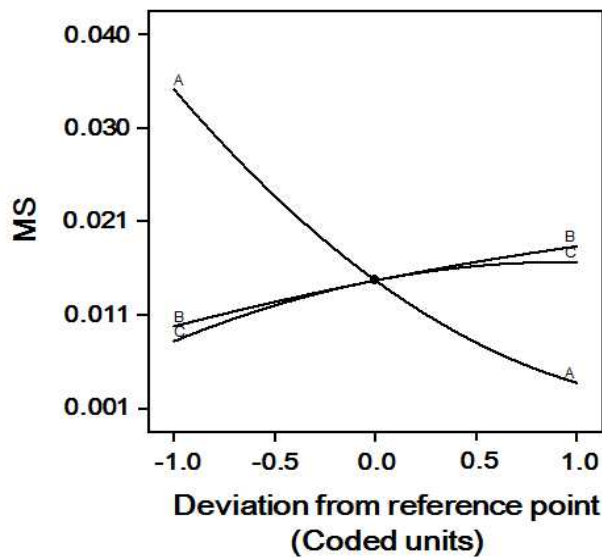


Figure 4-12. Perturbation plot describing the effects of pH (A), reaction temperature (B), and reaction time (C) on molar degree of substitution (MS) of citrate starch from waxy corn starch.

물치환도와 관련하여 직선성의 1차 항인 pH (A), 반응온도(B) 및 반응시간(C)이 95% 신뢰수준에서 유의적이었다(Table 4-7). pH의 증가는 구연산전분의 물치환도를 감소시켰으며, 반응온도와 반응시간의 증가는 물치환도를 증가시켰다(Figure 4-12). 직선성의 1차 항들 중 pH에 대한 물치환도의 감소폭(기울기)이 반응온도와 반응시간에 비해 월등히 높은 것으로 분석되었다(Figure 4-12). 이는 물치환도는 다른 반응요인들보다는 pH에 의해 더욱 영향 받는 것으로 생각된다. 찰옥수수전분으로부터 제조된 구연산전분의 물치환도는 pH와 반응온도 및 pH와 반응시간 사이에는 유의적인 교호작용이 존재하였다. 그러나 pH와 반응온도, 반응온도와 반응시간 사이에는 교호작용이 존재하지 않았다(Table 4-7). 물치환도는 pH가 증가하면서, 반응온도와 반응시간이 증가할수록 증가하였다(Figure 4-13). 그러나 교호관계에 있어서도 Fig. 6에서 분석된 것처럼 반응온도와 반응시간이 증가하더라도 pH가 낮은 수준을 유지한다면 구연산전분의 물치환도의 증가폭은 낮은 수준을 유지하였다(Figure 4-13).

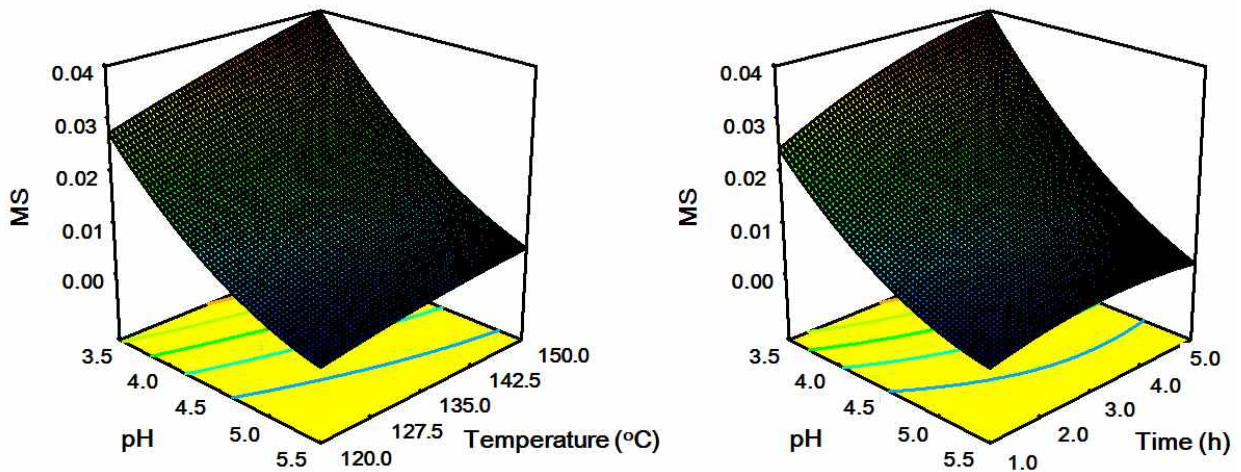


Figure 4-13. Response surface plots describing the interaction between pH and temperature and pH and time on molar degree of substitution (MS) of citrate starch from waxy corn starch.

찰옥수수전분으로부터 제조된 구연산전분의 호화전후의 저항전분 함량은 직선성의 1차 항의 pH(A), 반응온도(B), 반응시간(C)에 의해 95% 신뢰수준에서 유의적으로 영향을 받았다 (Table 4-7). 또한 호화전후의 구연산전분의 저항전분 함량은 pH가 감소할수록, 반응온도와 반응시간이 증가할수록 증가하였으며, pH의 증감에 따른 저항전분 함량의 편차는 반응온도와 반응시간의 증감의 것에 비해 월등이 높아 일반옥수수전분의 경우와 마찬가지로 찰옥수수전분의 구연산전분의 저항전분 함량도 pH의 변화에 민감한 것을 알 수 있었다(Figure 4-14).

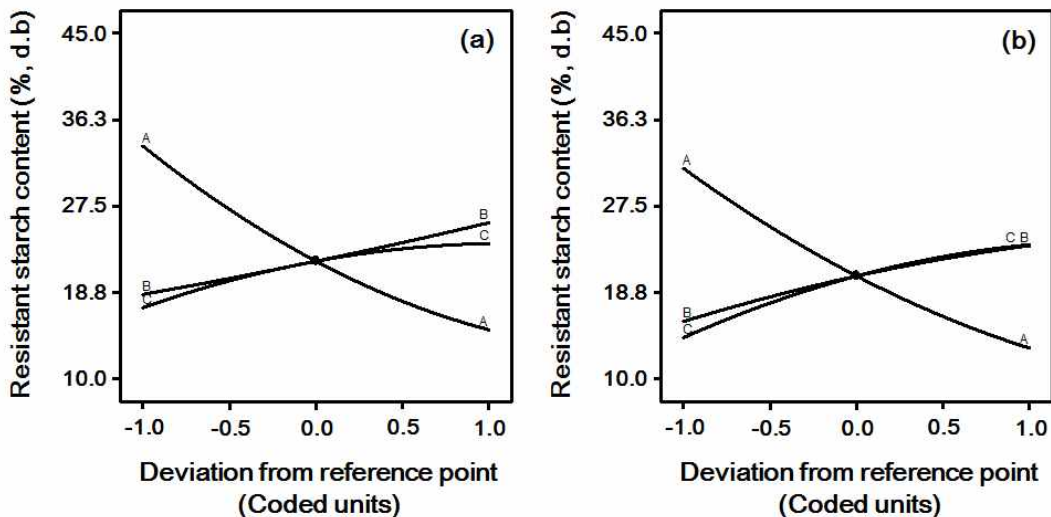


Figure 4-14. Perturbation plot describing the effects of pH (A), reaction temperature (B), and reaction time (C) on resistant starch contents in uncooked (a) and cooked (b) states of citrate starch from waxy corn starch.

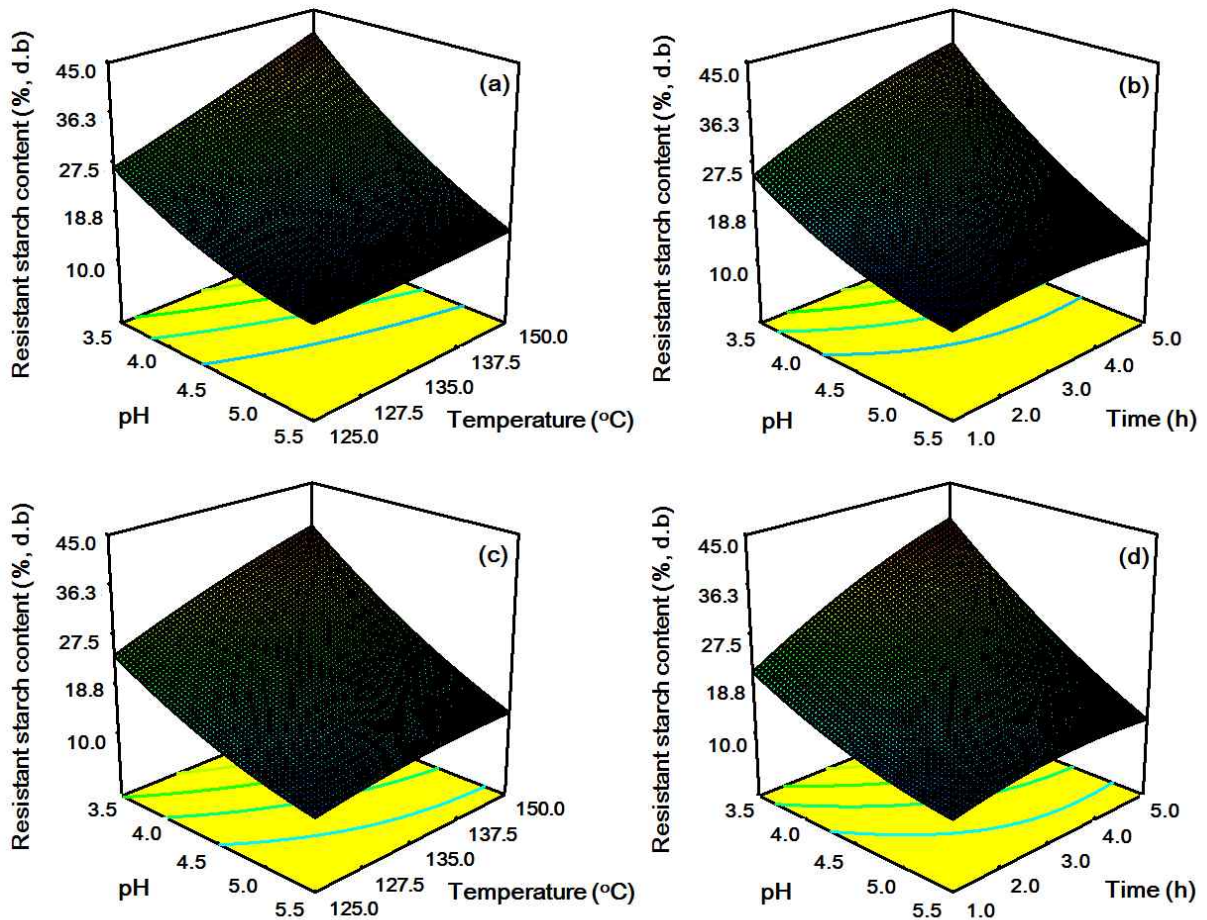


Figure 4-15. Response surface plots describing the interaction between pH and temperature and pH and time on resistant starch contents in uncooked (a & b) and cooked (c & d) states of citrate starch from waxy corn starch.

호화전후의 구연산전분의 저항전분 함량의 변화에 대한 pH와 반응온도 및 pH와 반응시간 사이의 유의적인 교호작용이 발견되었지만, 반응온도와 반응시간 사이에서는 교호작용이 존재하지 않았다(Table 4-7). 호화처리에 따른 구연산전분 내의 저항전분 함량의 차이는 있지만 pH가 감소하고 반응온도가 또는 반응시간이 증가하면서 저항전분 함량은 증가하였다(Figure 4-15). 일반옥수수전분에 있어서는 호화처리 후 교호작용이 pH와 반응시간 사이에서만 발견된 점이 상이하다(Table 4-6). 따라서 구연산전분의 제조를 통해 저항전분을 생산하기 위해서는 찰옥수수전분, 즉 아밀로오스가 없거나 가능한 적은 찰전분을 원료로 사용하는 것이 생산공정의 통제나 좀더 온화한 조건에서의 반응이 가능할 것으로 판단된다.

(3) 전분-카르복시산 유도체의 물리적, 열적 및 유변학적 특성

반건조가열반응에 의해 합성된 구연산전분의 반응성과 저항전분 함량에 대한 반응조건의 영향을 조사하였다. 이어서 일반옥수수전분과 찰옥수수전분으로부터 제조된 구연산전분의 물리적, 열적 및 유변학적 특성들을 조사하였다.

또한 온화한 반응조건과 기존의 화학적 변성전분들(히드록시프로필전분, 초산전분, 인산화 가교전분, 아세틸 아디핀산전분)을 대체할 수 있는 구연산전분을 제조할 수 있는 반응조건들을 탐색하기 위해 호화 전 저항전분 함량에 있어 유의적인 차이를 보이지 않는 구연산전분들과 반응조건들을 Tukey법에 따라 grouping하였다.

Table 4-8. Categorization of citrate derivatives of waxy and normal corn starch, based on their resistant starch contents in the uncooked state.

Category	Sample code	Reaction condition			Resistant starch content (%, d.b)
		pH	Temperature (°C)	Time (h)	
A	W02	3.5	150	3	41.7±0.1 ^a
	N02	3.5	150	3	40.6±0.4 ^a
B	W09	3.5	135	5	38.0±0.5 ^b
	N09	3.5	135	5	36.8±0.5 ^b
C	N10	4.5	150	5	29.2±0.8 ^c
	W10	4.5	150	5	27.9±0.1 ^c
	N07	3.5	120	3	28.2±0.6 ^c
	W07	3.5	120	3	27.5±0.6 ^c
	N06	3.5	135	1	22.7±0.4 ^{de}
D	W06	3.5	135	1	23.5±0.5 ^d
	N05	4.5	120	5	23.0±0.8 ^d
	W05	4.5	120	5	20.0±0.5 ^g
	N01,11,13	4.5	135	3	21.2±0.7 ^{efg}
	W01,11,13	4.5	135	3	22.0±0.5 ^{def}
	W08	4.5	150	1	20.4±0.3 ^{fg}
E	N08	4.5	150	1	18.2±0.2 ^h
	N15	4.5	120	1	17.6±0.3 ^h
	N12	5.5	135	5	17.2±0.2 ^h
	N14	5.5	150	3	17.0±0.4 ^h
F	N03	5.5	135	1	15.1±0.1 ⁱ
	W03	5.5	135	1	14.4±0.3 ⁱ
	N04	5.5	120	3	15.1±0.1 ⁱ
	W04	5.5	120	3	13.9±0.1 ⁱ
	W12	5.5	135	5	14.2±0.2 ⁱ
	W14	5.5	150	3	15.1±0.1 ⁱ
	W15	4.5	120	1	14.7±0.1 ⁱ

먼저 Table 4-3와 Table 4-4에 제시된 일반옥수수전분과 찰옥수수전분의 구연산전분들의 호화 전 저항전분 함량을 통합하여 Tukey법에 따라 95% 신뢰수준에서 저항전분 함량들의 유의성 검증을 통해 유의적인 차이가 없는 처리군들을 한 그룹으로 분류하여 반응조건과 함께 Table 4-8에 나타내었다. Table 4-8에 나타낸 것처럼 호화 전 구연산전분의 저항전분 함량을 기준으로 grouping을 하였을 때 일반옥수수전분과 찰옥수수전분을 원료로 제조한 구연산전분은 6개의 그룹으로 분류될 수 있다. 저항전분함량이 그룹 A는 40.6~41.7%(평균 41.2%), 그룹 B는 36.8~38.0%(평균 37.4%), 그룹 C는 27.5~29.2%(평균 28.2%), 그룹 D는 20.0~23.5%(평균 21.8%), 그룹 E는 17.0~18.2%(평균 17.5%), 그룹 F는 13.9~15.1%(평균 14.6%)이었다.

Table 4-9. Water holding capacity (WHC), solubility, and swelling power (SP) of citrate derivatives of waxy and normal corn starch, categorized based on their resistant starch (RS) contents in the uncooked state.

Category	Mean RS content (%, d.b)	Sample code	WHC _{25°C} (g/g)	Solubility _{95°C} (%)	SP _{95°C} (g/g)
Native	4.8	Waxy	2.2±0.1	87.1±2.5	N/D ¹⁾
	5.6	Normal	2.4±0.0	39.9±0.8	17.2±0.2
A	41.2	W02	2.9±0.1	4.5±0.1	6.8±0.2
		N02	2.3±0.0	5.0±0.1	5.2±0.2
B	37.4	W09	2.7±0.0	5.2±0.1	8.2±0.1
		N09	2.2±0.0	7.1±0.3	5.7±0.1
		N10	3.0±0.1	5.8±0.2	6.9±0.1
C	28.2	W10	3.8±0.1	4.9±0.1	10.6±0.1
		N07	2.7±0.0	15.0±0.9	8.2±0.0
		W07	3.1±0.0	9.0±0.4	12.4±0.2
		N06	2.4±0.0	18.7±0.1	11.1±0.1
D	21.8	W06	3.0±0.0	13.2±0.2	13.3±0.2
		N05	2.9±0.0	14.7±0.1	12.1±0.1
		W05	3.7±0.0	5.8±0.1	15.2±0.3
		N01,11,13	3.3±0.1	11.1±0.5	10.9±0.5
		W01,11,13	3.7±0.1	6.9±0.2	15.6±0.4
		W08	3.8±0.3	7.6±0.1	14.5±0.7
E	17.5	N08	2.7±0.0	13.5±0.2	12.4±0.8
		N15	2.0±0.0	21.1±0.6	16.2±1.4
		N12	2.1±0.0	20.0±0.4	13.4±0.1
		N14	2.7±0.1	17.7±0.2	11.2±0.0
F	14.6	N03	2.1±0.1	17.9±0.2	12.7±0.7
		W03	2.2±0.0	39.8±1.4	22.4±0.5
		N04	2.1±0.0	14.6±0.3	13.2±0.6
		W04	2.1±0.1	44.2±2.6	26.7±0.7
		W12	2.4±0.0	8.8±0.0	14.7±0.0
		W14	2.9±0.0	10.6±0.3	16.1±0.0
		W15	2.2±0.0	13.5±0.2	16.1±0.6

¹⁾Not detected.

6개의 그룹에 속해있는 구연산전분들의 보수력, 용해도와 팽윤력을 전술한 방법에 따라 측정하여 Table 4-9에 나타내었다. 보수력은 2.0~3.8 g/g의 범위를 나타내었으며, 찰옥수수 전분으로부터 제조된 구연산전분들은 그룹 F의 W03, W04, W15를 제외하고 생전분 시료보다 높은 보수력을 나타내었다. 유사하게 일반옥수수전분으로부터 제조된 구연산전분들은 그룹 E의 N12와 N15, 그룹 F의 N03와 N04를 제외하고 생전분 시료보다 높은 보수력을 보였다(Table 4-9). 생전분보다 낮은 보수력을 보인 구연산전분들은 저항전분 함량이 20% 미만(몰치환도가 0.002 이하)인 처리군들에서 주로 발견되어, 구연산과 전분분자 사이의 에스테르 결합의 형성정도가 구연산전분의 보수력 증가에 공헌하는 것으로 판단된다.

구연산전분의 용해도는 4.5~44.2%의 범위를 나타내었으며, 주어진 전분원료에서 제조된 구연산전분들은 생전분의 용해도를 초과하지 못했다(Table 4-9). 이러한 결과는 본 연구에서 처리된 반건조가열반응의 조건들은 전분분자들과 구연산 사이에 단일 에스테르 결합보다는 이중 에스테르 결합, 즉 전분분자들을 가교화하는 결합들을 주로 형성하여 구연산 전분의 용해도를 낮추는 것으로 판단된다. 한편 반응조건과 전분원료에 따라 구연산전분의 용해도는 상이하지만 보편적으로 저항전분 함량이 감소하면서(몰치환도가 감소하면서) 용해도는 증가하는 경향을 나타내었다(Table 4-9). 또한 유사한 저항전분 함량을 보유하고 있다하더라도 구연산전분의 용해도는 서로 상이하였다. 예를 들어, 그룹 D에서 찰옥수수전분을 이용하여 제조된 W01, W05, W06, W08들을 비교할 때(Table 4-9), 이들의 저항전분 함량은 평균적으로 21.8%로 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 용해도는 각각 6.9%, 5.8%, 13.2%, 7.6%로 상이하였다. 게다가 용해도는 이들의 몰치환도(각각 0.014, 0.011, 0.024, 0.013)의 수준과 연계되어 있는 것으로 보인다(Table 4-4).

한편 구연산전분의 팽윤력은 찰옥수수전분(95°C에서 열처리 시 찰옥수수전분의 페이스트는 하나의 균일한 상으로 전환되어 팽윤력을 측정할 수 없었다)보다는 모두 낮은 수준을 나타내었으며, W03과 W04를 제외하고는 일반옥수수전분보다는 낮은 수준을 보였다(Table 4-9). 이러한 결과는 구연산이 전분분자들 사이에서 가교제로서 역할을 하였기 때문으로 보인다. 게다가 그룹 D에 속하는 구연산전분들 중 일반옥수수전분으로부터 제조된 것들은 유사한 팽윤력을 보였으나 찰옥수수전분으로부터 제조된 것들보다는 낮은 수준을 나타내었다. 이들의 저항전분 함량은 평균적으로 21.8%를 보였지만 모두 상이한 몰치환도를 보유하고 있었다. 따라서 저항전분 소재의 생산을 목적으로 구연산과 생전분의 에스테르 결합을 형성시킬 때 구연산전분의 물리적 기능성을 감소시키는 정도의 높은 반응성을 유도할 필요는 없는 것으로 판단된다. 다시 말해서 목표로하는 저항전분 함량을 보유한 구연산전분을 생산할 수 있는 최소한의 반응성을 유도하도록 온화한 반응조건을 적용하는 것이 적절한 것으로 판단된다.

Table 4-10. Thermal properties of citrate derivatives of waxy and normal corn starch, categorized based on their resistant starch (RS) contents in the uncooked state.

Category	Mean RS content (%, d.b)	Sample code	Gelatinization temperature (°C)			Gelatinization enthalpy (J/g)
			Onset	Peak	Completion	
Native	4.8	Waxy	66.0±0.8	73.5±0.0	86.0±1.4	15.0±0.8
	5.6	Normal	67.3±1.2	73.0±0.3	85.4±1.0	12.5±1.1
A	41.2	W02	N/D ¹⁾	N/D	N/D	N/D
		N02	N/D	N/D	N/D	N/D
B	37.4	W09	N/D	N/D	N/D	N/D
		N09	N/D	N/D	N/D	N/D
C	28.2	N10	N/D	N/D	N/D	N/D
		W10	N/D	N/D	N/D	N/D
		N07	63.8±0.4	68.9±0.4	78.6±2.7	10.7±0.4
		W07	63.8±1.5	70.2±1.0	78.2±1.8	11.0±0.2
D	21.8	N06	65.7±0.0	72.5±0.7	84.2±4.1	10.9±0.2
		W06	64.4±1.4	71.5±0.1	80.8±3.1	11.0±0.3
		N05	62.7±1.6	69.5±1.1	82.5±0.7	11.2±0.2
		W05	60.9±0.0	71.7±0.4	83.1±3.3	11.9±1.4
		N01,11,13	N/D	N/D	N/D	N/D
		W01,11,13	62.8±1.8	70.3±0.5	78.2±2.2	10.9±0.2
E	17.5	W08	62.9±3.6	71.9±1.0	85.9±0.9	11.6±0.9
		N08	61.8±2.7	70.6±2.1	80.6±6.6	11.0±0.4
		N15	65.2±1.1	73.2±0.7	86.2±1.9	12.4±0.5
		N12	60.7±6.1	71.1±0.5	84.1±4.0	12.1±1.5
F	14.6	N14	63.1±0.3	70.3±0.0	82.4±0.0	11.3±0.0
		N03	69.1±0.0	74.6±0.0	87.4±1.6	11.9±0.2
		W03	72.1±0.1	78.1±0.0	91.7±4.5	12.1±0.5
		N04	68.1±0.7	74.1±0.4	87.5±2.3	11.9±0.2
		W04	71.0±0.2	77.2±0.1	88.8±1.6	11.8±0.2
		W12	63.7±2.7	75.1±0.1	88.4±1.8	13.3±1.5
		W14	66.5±0.0	73.5±0.5	85.1±0.8	11.8±0.2
W15	68.6±0.8	75.8±0.1	87.0±0.3	11.8±0.5		

¹⁾Not detected.

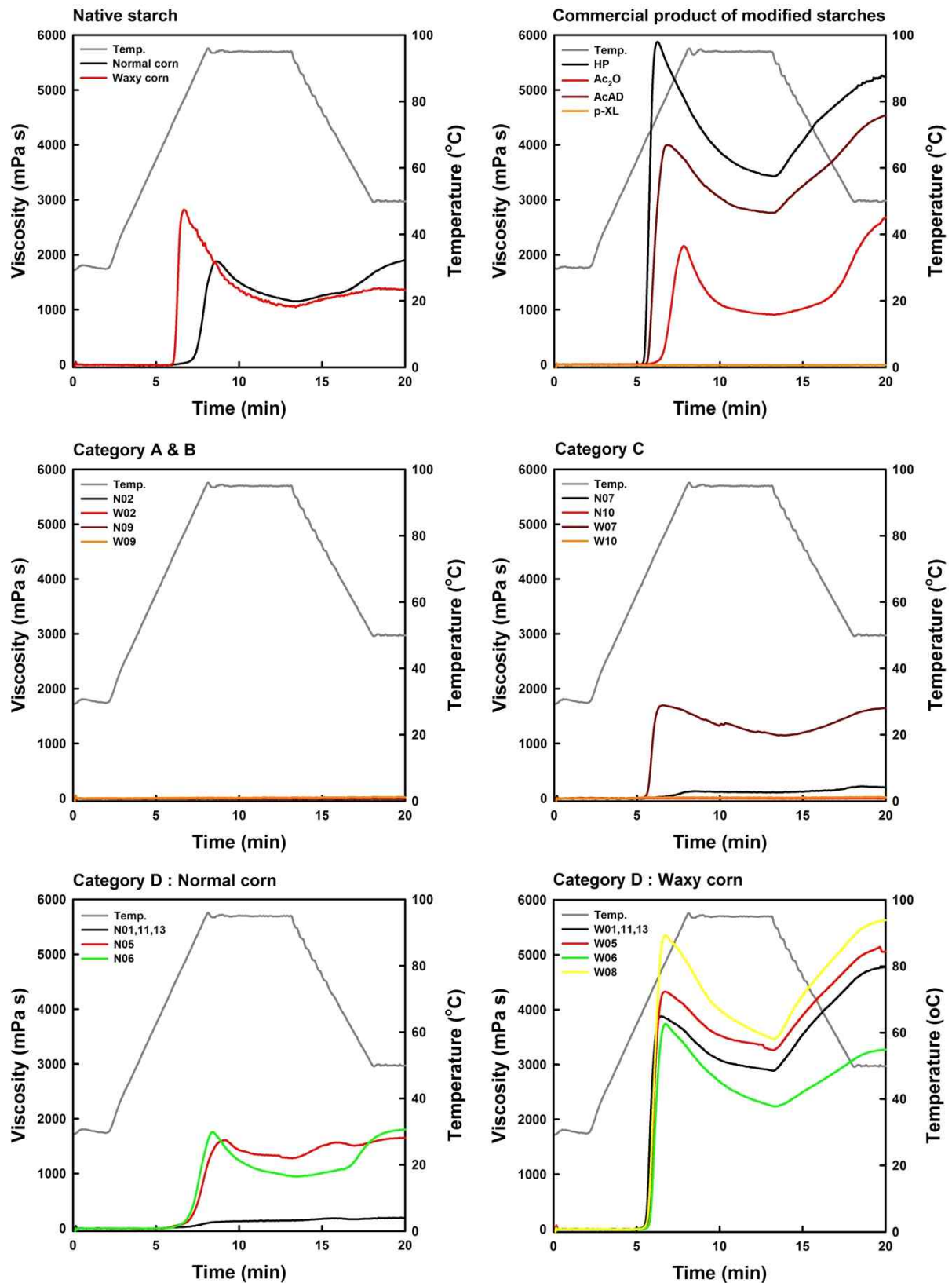


Figure 4-15. Pasting viscosity profiles of citrate starches categorized, based on their resistant starch contents in the uncooked state (HP: hydroxypropyl starch, Ac₂O: starch acetate, AcAD: Acetyl starch adipate, p-XL: phosphorylated crosslinked starch).

구연산전분의 호화특성을 시차주사열량계를 이용하여 분석하여 Table 4-10에 나타내었다. 구연산전분들의 호화특성들은 반응조건과 생전분 원료에 따라 상이하였다. 게다가 유사한 저항전분 함량으로 분류된 그룹들 내의 구연산전분들조차도 상이한 호화특성을 나타내었다. 한편 본 연구에서 조사된 온도범위에서 호화온도와 호화엔탈피가 발견되지 않은 구연산전분들의 반응조건들은 pH 4.5에서 135°C, 5 h과 150°C, 3 h, pH 3.5에서 150°C, 3 h과 135°C, 5 h이었다. 이러한 반응조건에서 처리된 구연산전분은 높은 저항전분 함량을 보유하고 있었지만 높은 온도에서 장시간의 열처리는 일반옥수수전분과 찹옥수수전분 원료들의 결정구조를 붕괴시키는 것으로 판단된다. 그러나 이러한 호화피크의 부재는 구연산전분의 신속한 용해 및 팽윤을 유발시킬 수 있을 것으로 생각된다.

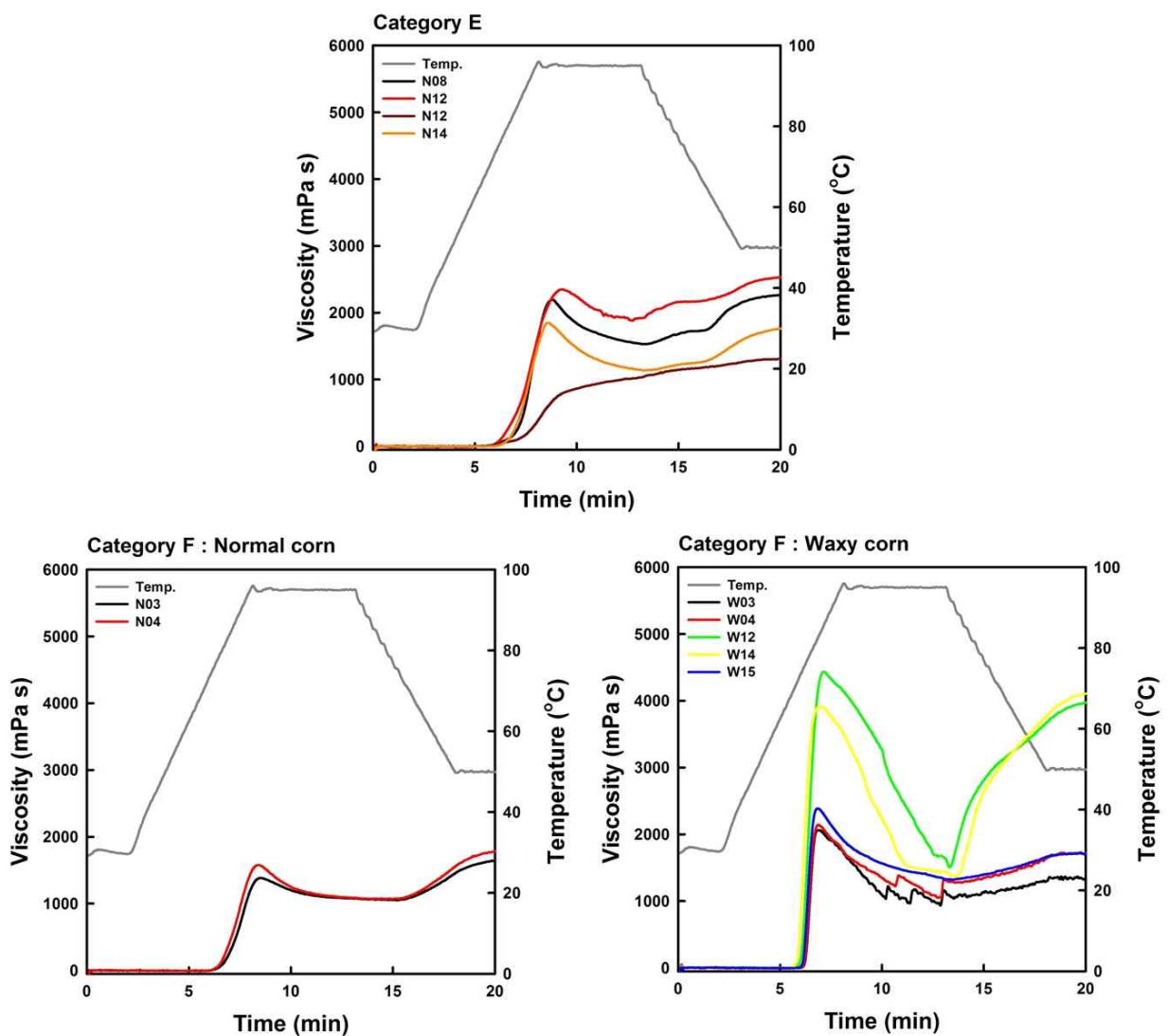


Figure 4-16. Pasting viscosity profiles of citrate starches categorized, based on their resistant starch contents in the uncooked state.

저항전분 함량에 따라 분류된 구연산전분들의 페이스팅 점도 특성을 조사하여 Figure 4-15와 Figure 4-16에 나타내었고, 상업적인 변성전분 제품들과 페이스팅 점도 특성을 비교하여 기존의 제품들을 대체할 수 있는 구연산전분의 합성조건을 제시하였다. 구연산전분의 페이스팅 점도 특성과 비교를 위해 사용한 상업적인 변성전분들은 히드록시프로필전분과 초산전분은 국내 S사 제품들이었으며, 아세틸아디핀산전분과 인산화가교전분은 국내 D사의 제품들이었다. 구연산전분의 페이스팅 점도는 저항전분 함량이 적어질수록, 몰치환도가 작아질수록 높은 수준의 점도를 발달시켰다(Figure 4-15 & 4-16). 특히 일반옥수수전분보다는 찰옥수수전분을 원료로 제조된 구연산전분에서 페이스팅 점도의 발달이 높았다.

Table 4-11. Reaction conditions preparing citrate starches to replace commercial products of the modified starches.

Commercial product	Citrate starch						
	Sample code	Starch		Citric acid anhydrous (% , s.b)	pH	T (°C)	t (h)
		Source	Genotype				
Hydroxypropyl starch (S Company)	W08	Corn	Waxy	10	4.5	150	1
Starch acetate (S Company)	N08	Corn	Normal	10	4.5	150	1
	N12	Corn	Normal	10	5.5	135	5
Acetyl starch adipate (D Company)	W01	Corn	Waxy	10	4.5	135	3
	W05	Corn	Waxy	10	4.5	120	5
	W06	Corn	Waxy	10	3.5	135	1
Phosphorylated crosslinked starch (D Company)	N02	Corn	Normal	10	3.5	150	3
	W02	Corn	Waxy	10			

유사한 저항전분을 함유하고 있는 구연산전분의 소화효소에 대한 가수분해정도를 Englyst 법에 따라 분석하여 Figure 4-17과 Table 4-12에 나타내었다. 사용된 구연산전분은 평균적으로 21.8%의 저항전분 함량을 보유하고 있는 그룹 D의 구연산전분들(N01, N05, N06, W01, W05, W06, W08)로 하였다. 전반적인 가수분해율은 43~58%의 범위 내에 존재하였다. 특이한 점은 가수분해 20분까지 가수분해율이 급격히 증가한 후 추가적인 180분에 걸쳐 가수분해율의 유의적인 상승 없이 일정한 수준으로 유지되었다(Figure 4-17).

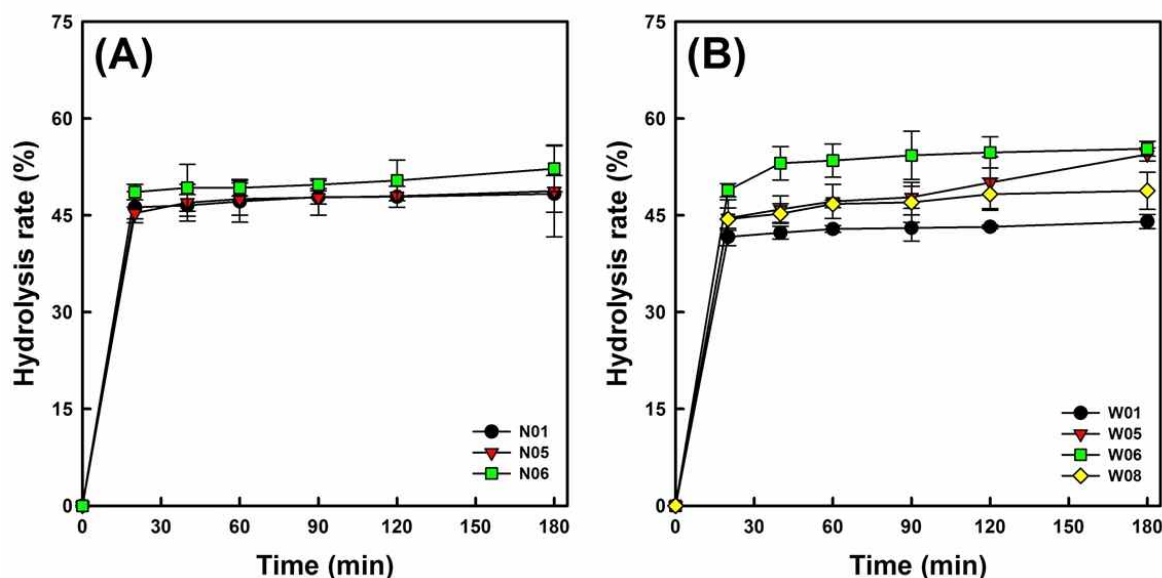


Figure 4-17. Hydrolysis rates of citrate starches belonging to Category D(A: based on normal corn starch, B: based on waxy corn starch).

가장 높은 가수분해율을 나타낸 것은 찰옥수수전분을 원료로 제조된 W06이었으며, W01이 가장 낮은 가수분해율을 나타내었다(Figure 4-17). 구연산전분의 가수분해율에 기초하여 신속소화성, 지소화성 및 난소화성 전분들의 분획 비율을 계산하였다(Table 4-12). 신속소화성 전분분획 함량은 41.6~48.9%의 범위에 있었다. 그러나 지소화성 전분분획은 1.6~5.9%의 범위로 극히 낮은 수준을 나타내었다. 반면에 난소화성 전분분획(저항전분)은 44.7~56.0%의 범위를 나타내었으며, 이들의 수치는 Table 4-3와 Table 4-4에서 제시된 저항전분 함량 보다 높은 2배 이상 높은 수준을 나타내었다. 결과적으로 구연산전분은 지소화성 전분분획은 극히 적으며 주로 신속소화성과 난소화성 전분들로 구성되는 것으로 판단된다.

Table 4-12. Rapidly-digestible (RDS), slowly-digestible (SDS), and non-digestion (NDS) starch fractions of citrate starches belonging to Category D.

Category D	Starch fraction (% , s.b)		
	RDS ¹⁾	SDS ²⁾	NDS ³⁾
N01	46.3±2.4	1.6±0.2	51.7±2.8
N05	45.4±0.9	2.6±0.0	51.2±6.2
N06	48.6±1.2	1.8±0.1	47.8±3.2
W01	41.6±1.3	1.6±0.2	56.0±1.1
W05	44.6±2.9	5.5±0.3	45.6±1.0
W06	48.9±1.0	5.9±0.1	44.7±1.2
W08	44.1±1.7	3.9±0.2	51.2±2.9

¹⁾Hydrolysis rate at 20 min.

²⁾Difference in hydrolysis rate between at 120 min and at 20 min.

³⁾100 - hydrolysis rate at 180 min

한편 가수분해율 분석에서 얻은 결과는 pancreatin과 amyloglucosidase의 혼합효소를 최대 3시간 동안 효소반응하면서 가수분해패턴을 조사하였으나, 저항전분 함량을 결정할 때는 혼합효소를 18시간 처리하였기 때문에 판단된다. 그러나 사람이 식이를 섭취하고 식이가 소화기관에 머무는 시간이 대략 3~4시간으로 볼 때 구연산전분의 저항전분 함량은 난소화성 전분분획의 함량으로 하는 것도 타당할 것으로 판단된다.

나. 동적건식가열반응기법의 구축 및 이를 활용한 구연산전분의 특성

(1) 동적건식가열반응기법의 구축

컨백션오븐을 반응기로 반건조가열반응에 의한 구연산전분의 합성을 위한 반응조건의 영향을 조사한 연구결과에 기초하여 동적건식가열반응기법을 설계하여 반응조건들을 구축하였다. 전분원료로는 일반옥수수전분을, 카르복시산은 구연산으로 하였다. 반응혼합물은 전술한 방법에 따라 제조하였는데, 이때 반응혼합물의 pH는 선행된 연구의 결과에서 가장 높은 저항전분 함량을 생산할 수 있는 3.5로 고정하였으며, 반응혼합물 내의 구연산 농도는 생전분의 건조중량 대비 10%와 40%로 하였다. 대조군으로써 10%와 40% 구연산의 반응혼합물을 150°C의 컨백션오븐에서 1시간 동안 처리하여 제조한 구연산전분으로 하였다.

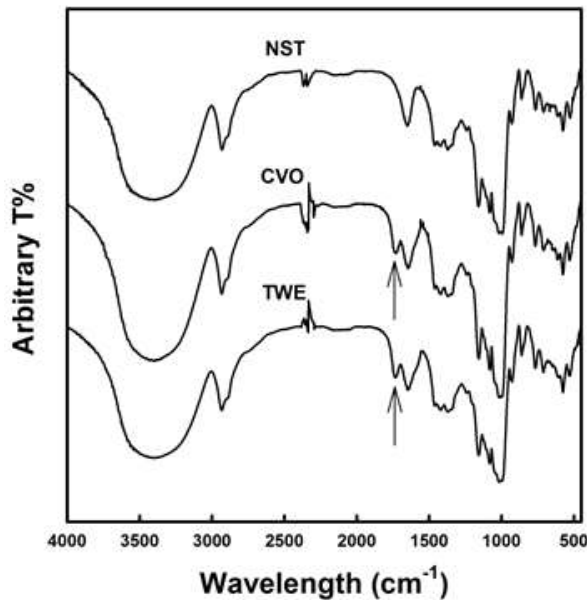


Figure 4-18. FT-IR spectra of native starch (NST) and citrate starches (CVO & TWE). CVO indicates citrate starch treated at 150°C for 1 h in a convection oven. TWE indicates citrate starch treated with a twin-screw extruder operated at 150°C, 50rpm, and 5 passes.

동적건식가열반응의 반응기로서 쌍축압출성형기를 이용하여 구연산전분을 합성하였을 때 전분분자들과 구연산 사이의 에스테르 결합의 형성여부를 확인하기 위해 전분-구연산 반응 혼합물은 배럴(반응)온도 150°C, 스크류 속도 50 rpm의 쌍축압출성형기를 5회 통과시켜 구연산전분(TWE)을 제조하고 FT-IR 스펙트럼을 조사하였다(Figure 4-18). 대조군으로는 동일한 반응혼합물을 150°C의 컨백션오븐에서 1시간 동안 처리하여 제조한 구연산전분(CVO)을 사용하였다. 생전분은 전형적인 전분의 FT-IR 스펙트럼들을 나타내었다(Figure 4-18 NST). 반면에 컨백션오븐(Figure 4-18 CVO)과 쌍축압출성형기(Figure 4-18 TWE)를 이용하여 제조한 구연산전분들은 에스테르 결합의 carbonyl 작용기에 의한 stretching vibration으로부터 형성되는 1720~1750 cm⁻¹의 새로운 피크가 형성되었다(Figure 4-18 arrow). 따라서 쌍축압출성형기를 반응기로 사용하는 동적건식가열반응의 경우에도 전분분자와 구연산 사이의 에스테르화 반응이 일어나는 것을 확인할 수 있었다.

동적건식가열반응의 공정조건에 따른 구연산전분의 저항전분 함량 변화를 조사하였다(Figure 4-17). 대조군으로써 10%와 40% 구연산의 반응혼합물을 150°C의 컨백션오븐에서 1시간 동안 처리하여 제조한 구연산전분으로 하였다. 문헌상에 최대 저항전분 함량을 얻기 위해 40% 구연산 농도의 반응혼합물을 140~150°C의 컨백션오븐에서 7시간 동안 반응시켜 구연산전분을 제조하였다고 보고되었다. 이에 반해 본 연구에서는 대조군의 반응시간을 1시간으로 하였는데, 이는 동적건식가열반응에 의한 구연산전분의 제조 시 스크류 회전속도 10 rpm에서 운전되는 쌍축압출성형기로 반응혼합물을 7회 통과시킬 때(반응혼합물이 쌍축압출성형기 내에 가장 오랫동안 체류하는 경우) 54~56분이 소요되었다. 따라서 동적건식가열반응에 의한 구연산전분의 반응시간과 대조군의 반응시간을 유사하게 하기 위해 1시간으로 하였다. 10%와 40% 구연산 농도에서 컨백션오븐을 이용하여 제조한 구연산전분의 저항전분 함량은 각각 29.3%와 79.5%이었다(Figure 4-17).

반응온도 150°C와 쌍축압출성형기 통과회수를 5회로 할 때, 스크류 회전속도(10~50 rpm)에 대한 구연산전분의 저항전분 함량 변화를 조사하였다(Figure 4-19A). 10% 구연산 농도에서 제조된 구연산전분의 저항전분 함량은 스크류 회전속도가 빨라질수록 32.1%에서 19.4%로 감소하였다. 40% 구연산 농도에서는 스크류 회전속도가 10 rpm에서 30 rpm으로 빨라지면서 저항전분 함량이 90.0%에서 58.2%로 감소하였으나 50 rpm에서는 58.0%로 30 rpm의 경우와 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 또한 스크류 회전속도 10 rpm에서 구연산전분을 합성하였을 때 모든 구연산 농도에서 대조군의 저항전분 함량을 초과하였다. 따라서 스크류 회전속도가 빨라지면서 구연산전분의 저항전분 함량이 감소하는 일반적인 경향은 반응혼합물이 쌍축압출성형기 내에 체류하는 시간(반응시간)이 짧기 때문으로 판단된다. 반응온도 150°C와 스크류 회전속도 10 rpm에서 반응혼합물의 쌍축압출성형기 통과회수에 대한 구연산전분의 저항전분 함량 변화를 조사하였다(Figure 4-19B). 10% 구연산 농도의 반응혼합물은 통과회수가 5회까지 구연산전분의 저항전분 함량은 지속적으로 증가하여 30.6%에 도달하였으며 7회 통과한 경우와는 저항전분 함량(29.9%)이 유의적으로 다르지 않았다(Figure 4-19B).

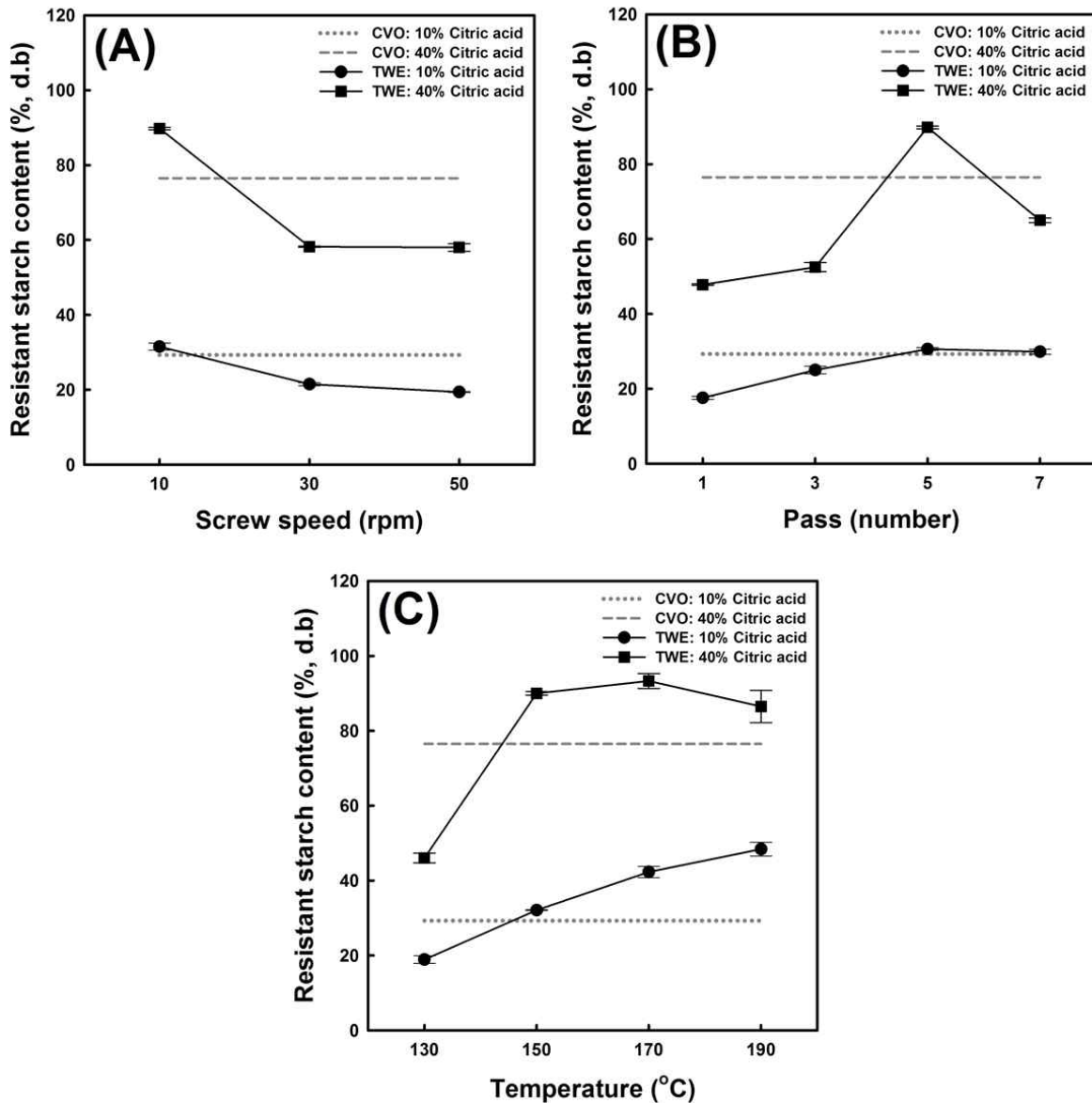


Figure 4-19. Effects of screw speed (A), passage (B), and temperature (C) on resistant starch contents of starch citrates prepared with different concentrations (10 and 40%) of anhydrous citric acid using a convection oven (CVO) and twin-screw extruder (TWE). Except for the mentioned parameter, other conditions were identical: (A) 150°C, and 5 passes, (B) 150°C, and 10 rpm, and (C) 10 rpm and 5 passes.

반면에 40% 구연산 농도의 반응혼합물은 통과회수가 3회에서 5회로 증가하면서 저항전분 함량은 급격히 증가하여 90.0%에 도달하였고 7회까지 통과시켰을 때는 65.0%로 감소하였다 (Figure 4-19B). 이와 같은 현상은 40% 구연산 농도의 반응혼합물을 7회까지 통과시킬 때 쌍축압출성형기의 체류시간의 연장으로 스크류들의 맞물림 현상에 의해 전분입자들이 손상되어 세척과정에서 치환된 전분분자들의 부분적인 손실 때문으로 생각된다. 따라서 쌍축압출성형기를 반응기로 활용하여 구연산전분을 합성할 때 반응혼합물을 5회까지 통과시키는 것이 저항전분 함량을 최대로 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

스크류 회전속도 10 rpm와 쌍축압출성형기 통과횟수 5회로 할 때, 구연산전분의 저항전분 함량에 대한 배럴(반응)온도의 영향을 조사하였다(Figure 4-19C). 10% 구연산 농도의 반응 혼합물에 있어서 130°C에서 190°C로 반응온도의 상승과 함께 구연산전분의 저항전분 함량은 18.9%에서 48.4%까지 지속적으로 상승하였다. 그러나 40% 구연산 농도의 반응 혼합물에 있어서는 130°C에서 150°C로 상승하면서 저항전분 함량은 46.0%에서 90.0%로 급격히 상승하였으며 170~190°C에서는 150°C에서의 저항전분 함량과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 배럴온도 150°C와 스크류 회전속도 10 rpm의 쌍축압출성형기로 반응혼합물을 5회 통과시키는 것이 가장 높은 함량의 저항전분을 함유한 구연산전분을 빠른 시간 내(구연산전분 2 kg 제조 시 약 45~46분 소요)에 제조할 수 있는 동적건식가열반응의 최적조건이었다.

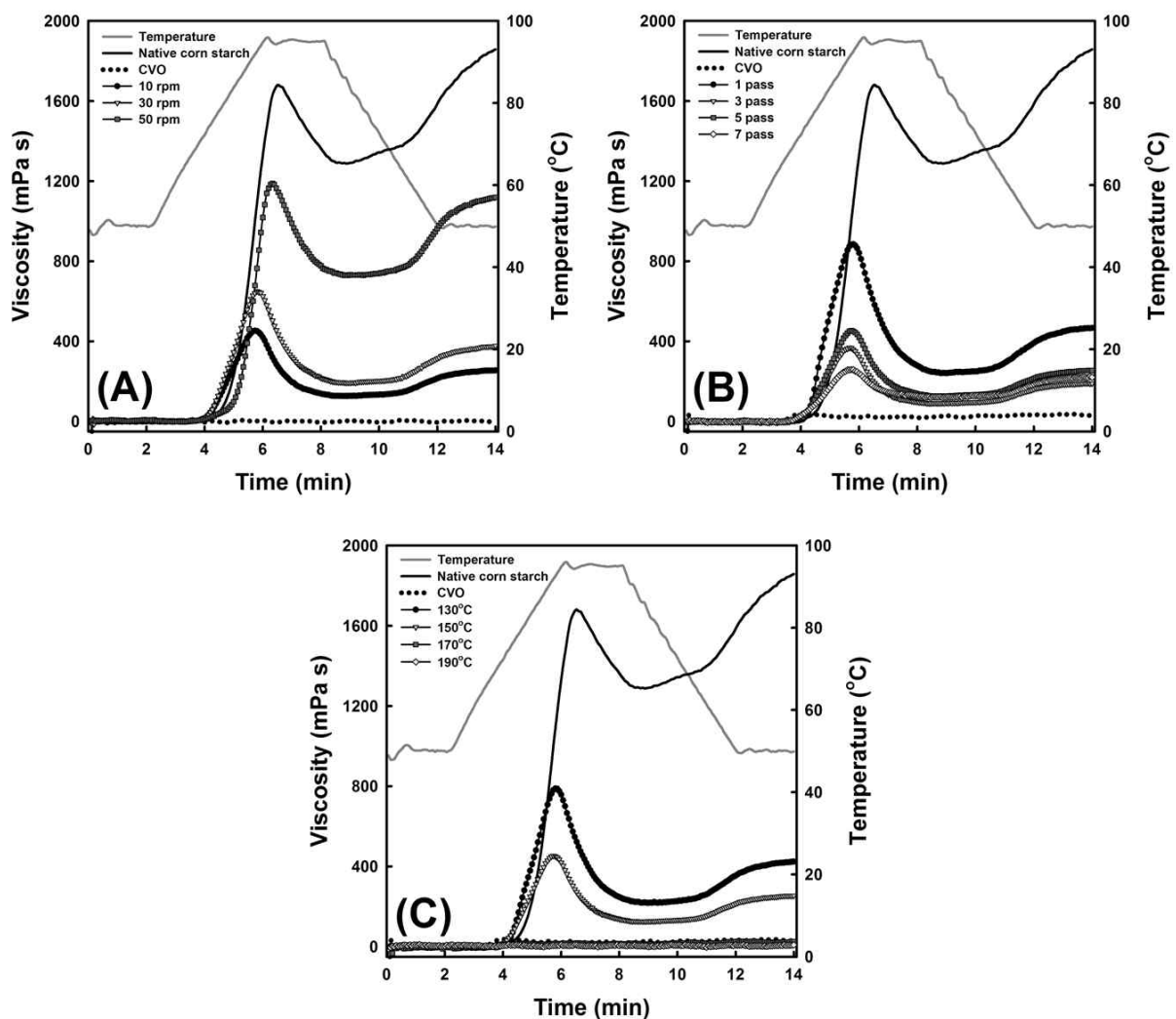


Figure 4-20. Pasting viscosity profiles of native starch and citrate starches prepared with different concentrations (10 and 40%) of anhydrous citric acid using a convection oven (CVO) and twin-screw extruder (TWE). Except for the mentioned parameter, other conditions were identical: (A) 150°C, and 5 passes, (B) 150°C, and 10rpm, and (C) 10 rpm and 5 passes.

동적건식가열반응에 의해 형성된 구연산전분들의 페이스팅 점도 프로파일들은 고형분 함량 8.0%(w/w)에서 신속점도분석기를 이용하여 조사하였다(Figure 4-20). 구연산 농도와 관계 없이 컨백션오븐에서 합성된 구연산전분들은 신속점도분석기에 의해 페이스팅 점도가 발달하지 않았다(Figure 4-20 dotted line). 그래서 컨백션오븐에서 형성된 구연산전분들의 페이스팅 점도가 발달하지 않는 것은 구연산과 전분분자들 사이의 가교화 결합에 의한 전분입자의 용해도와 팽윤력이 감소되었거나 결정구조가 손실되었기 때문인 것 같다. 반면에 동적건식가열반응에 의한 구연산전분들은 반응조건에 따라 상이한 점도 수준을 나타내지만 신속점도분석기에 의해 페이스팅 점도가 유의적인 수준으로 발달되었다. 10% 구연산 농도의 반응혼합물을 이용할 때, 스크류 회전속도가 감소하면서 페이스팅 점도는 증가하였으며(Figure 4-20A), 쌍축압출성형기 통과회수의 증가는 페이스팅 점도를 감소시켰다(Figure 4-20B). 또한 130°C에서 150°C로 반응온도의 상승은 페이스팅 점도를 감소시켰으며, 170°C와 190°C에서 반응한 구연산전분들은 컨백션오븐을 이용한 구연산전분들과 동일하게 페이스팅 점도가 발달하지 않았다(Figure 4-20C). 40% 구연산 농도의 반응혼합물을 이용할 때, 반응온도 150°C, 스크류 회전속도 50 rpm, 쌍축압출성형기 통과회수 5회에서 제조된 구연산전분만이 유의적인 수준의 페이스팅 점도가 발달되었으며(Figure 4-20B), 이외의 다른 조건들에서는 페이스팅 점도가 발달되지 않았다. 조사된 모든 경우에 있어 열처리 시간과 정도가 증가할수록 구연산전분의 페이스팅 점도는 감소하거나 발달하지 않았다. 그럼에도 쌍축압출성형기를 사용하는 것이 컨백션오븐에 의한 구연산전분에 비해 페이스팅 점도를 유의적으로 발달시키는 것은 반응혼합물이 쌍축압출성형기 내에서 스크류의 회전운동에 의해 지속적으로 이동하면서 가열되기 때문에 전분입자의 열에 의한 손상도가 컨백션 오븐에 비해 적기 때문으로 생각된다.

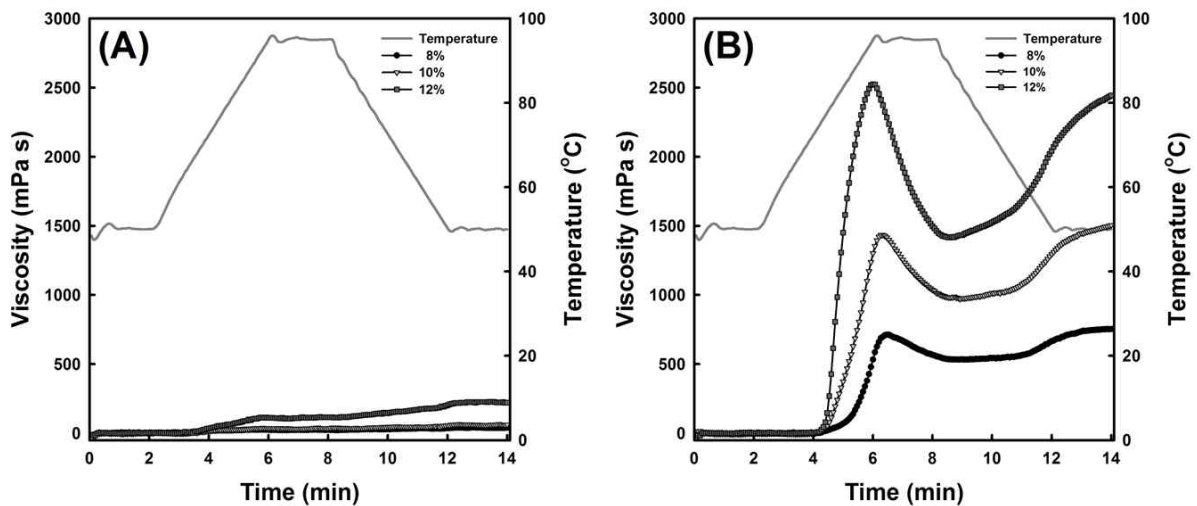


Figure 4-21. Effects of starch citrate concentration on the pasting viscosity profiles of citrate starches with similar resistant starch contents. Citrate starches were prepared with the twin-screw extruder operated with different screw speeds of 30 (A) and 50 (B) rpm at 150°C and 5 passes.

유사한 저항전분 함량을 보유하는 구연산전분들의 페이스팅 점도 특성에 대한 반응조건의 영향을 조사하였다. 또한 동적건식가열반응에 의한 구연산전분들은 여전히 생전분의 페이스팅 점도에 비해 낮은 수준을 나타내기 때문에 생전분의 페이스팅 점도와 유사한 수준의 페이스팅 점도를 구연산전분이 발달시킬 수 있는 농도 범위를 조사하였다. 40% 구연산 농도의 반응혼합물을 150°C에서 스크류 회전속도가 30 rpm (TWE-30)과 50 rpm (TWE-50)으로 달리하여 쌍축압출성형기를 5회 통과시킨 구연산전분들이 사용되었다(Figure 4-21 & Table 4-13). TWE-30과 TWE-50의 몰치환도는 각각 0.032와 0.027이었으며, TWE-30이 유의적으로 높은 수준을 나타내었으나 두 구연산전분들의 몰치환도 차이($\Delta MS=0.005$)가 크지 않았다(Table 4-13). 그 결과 TWE-30과 TWE-50의 저항전분 함량은 각각 58.2%와 58.0%로 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 4-13). TWE-30의 경우 신속점도분석시료의 고형분 함량이 8.0에서 12.0%로 상승하여도 페이스팅 점도의 발달은 극히 적었으나(Figure 4-21A), TWE-50은 고형분 함량의 증가와 함께 페이스팅 점도가 급격히 발달하였다(Figure 4-21B). 또한 TWE-50에 있어 최고점도(peak viscosity), 최저점도(trough viscosity), 붕괴점도(breakdown viscosity), 최종점도(final viscosity)와 노화점도(setback viscosity)등 페이스팅 점도 특성치들은 신속점도분석시료의 고형분 함량 증가비율보다 급격히 증가하는 현상을 나타내었다(Table 4-13). 유사한 저항전분 함량에도 불구하고 TWE-30과 TWE-50의 페이스팅 점도의 차이는 이들의 몰치환도의 차이 때문인 것 같다. 따라서 구연산에 의해 가교화된 구연산전분의 경우에 있어 적절한 가공적성을 보유하기 위해서는 최소한의 열처리가 수반되어야 할 것으로 생각된다.

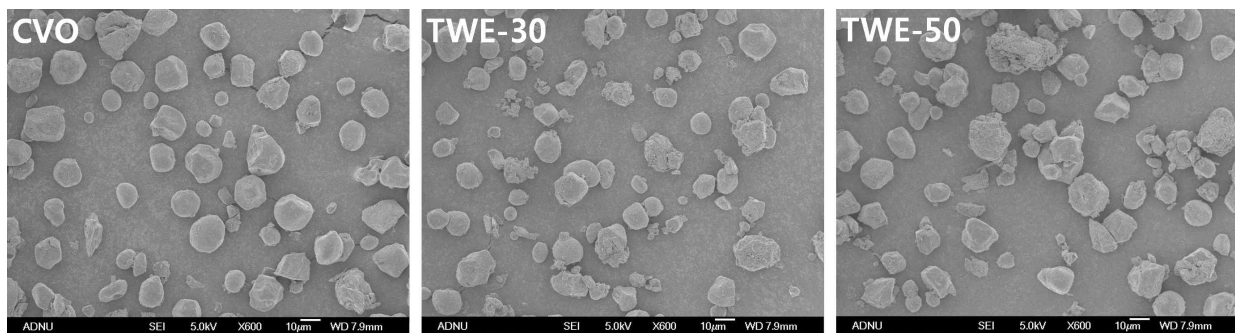


Figure 4-22. FE-SEM images of citrate starches prepared at pH 3.5 and 40% (s.b) anhydrous citric acid using a convection oven (CVO) and twin-screw extruder (TWE) (scale bar = 10 μ m). TWE-30 and TWE-50 treated at different screw speeds of 30 and 50 rpm, respectively, under identical REX conditions (150°C and 5 passes).

한편 TWE-30의 페이스팅 점도가 발달하지 않는 것이 반응혼합물이 쌍축압출성형기를 통과하면서 전분의 입자구조의 붕괴로 인한 것인지를 조사하기 위해 컨백션오븐에 의해 제조된 구연산전분(CVO), TWE-30와 TWE-50의 형태학적 특성을 전계방출전자현미경을 이용하여 관찰하였다(Figure 4-22). CVO의 경우에 있어 전분의 입자구조가 붕괴된 조각들과 입자표면이 변형된 전분입자들이 관찰되었으나 대부분 입자구조를 유지하고 있었다.

이에 비해 TWE-30과 TWE-50의 전분입자의 구조적 손상 정도는 유사하였지만 CVO의 것보다 심하였다(Figure 4-22). 이는 전분입자들이 이축 스크류들의 완전맞물림 회전에 의해 발생하는 전단력에 의해 손상된 것으로 생각된다. 그럼에도 TWE-30과 TWE-50들은 대부분 전분입자 형태를 유지하고 있는 구연산전분들로 구성되어 있었다(Figure 4-22). 따라서 TWE-30의 페이스팅 점도가 발달하지 않는 것은 전분입자 구조의 손상에 의한 부분적인 영향일 수 있지만 TWE-30의 물치환도가 TWE-50보다 유의적으로 높은 것을 고려할 때(Table 4-13) 구연산에 의한 전분분자들 사이의 빈번한 가교화 반응이 주요 원인인 것으로 생각된다. 한편 8% 농도의 생전분의 페이스팅 점도와 유사한 수준의 페이스트를 제조하기 위해서는 구연산전분은 10~12%의 농도로 사용하여야 할 것으로 판단된다.

Table 4-13. Mean¹⁾ values for the molar degree of substitution and the pasting viscosity characteristics of citrate starches with similar resistant starch contents.

Citric acid (%)	Starch citrate	MS ²⁾ ($\times 10^{-2}$)	RS ²⁾ (%)	TS ²⁾ (%)	T _p ²⁾ (°C)	Pasting viscosity (mPa•s)				
						Peak	Trough	Breakdown	Final	Setback
40	TWE-30 ³⁾	3.2±0.3 ^a	58.2±0.2 ^a	8	- ⁴⁾	-	-	-	-	-
				10	-	41.5±2.1 ^e	31.5±0.7 ^e	10.0±2.8 ^e	62.5±2.1 ^e	31.0±2.8 ^e
	TWE-50 ³⁾	2.7±0.1 ^b	58.0±1.0 ^a	12	-	120.0±4.2 ^d	107.5±2.1 ^d	12.5±2.1 ^d	224.0±4.2 ^d	116.5±2.1 ^d
				8	88.1±0.9 ^a	708.0±5.7 ^c	535.0±4.2 ^c	173.0±9.9 ^c	750.5±3.5 ^c	215.5±7.8 ^c
	TWE-50 ³⁾	2.7±0.1 ^b	58.0±1.0 ^a	10	77.6±0.2 ^b	1441.5±9.2 ^b	977.0±7.1 ^b	464.5±2.1 ^b	1503.0±2.8 ^b	526.0±9.9 ^b
				12	76.5±0.5 ^c	2521.0±4.2 ^a	1410.5±6.4 ^a	1110.5±2.1 ^a	2440.0±4.2 ^a	1029.5±2.1 ^a
CVO ⁵⁾	2.8±0.1 ^a	29.3±0.2 ^a	12	-	-	-	-	-	-	
10	TWE-5P ⁶⁾	1.1±0.0 ^c	30.6±0.4 ^b	12	75.4±0.0 ^a	2338.0±2.8 ^a	1790.0±2.8 ^a	548.0±0.0 ^a	3218.0±4.2 ^a	1428.0±7.1 ^a
	TWE-7P ⁶⁾	1.4±0.1 ^b	29.9±0.7 ^{ab}	12	75.5±0.1 ^a	635.0±1.4 ^b	302.5±3.5 ^b	350.5±2.1 ^b	613.0±7.1 ^b	310.5±3.5 ^b

1) Mean value of two measurement; values within a column sharing the same lowercase letter are not significantly different in a given concentration of citric acid (p<0.05).

2) MS; molar degree of substitution, RS; resistant starch content, TS; total solid content, T_p; Pasting temperature.

3) TWE-30 and TWE-50 treated at different screw speeds of 30 and 50 rpm, respectively, under identical REX conditions (150°C and 5 passes).

4) Not detected.

5) Treated in a convection oven at 150°C for 1h.

6) TWE-5P and TWE-7P treated at different extruder passages of 5 and 7 passes, respectively, under identical REX conditions (150°C and 10 rpm).

구연산전분의 저항전분 함량에 따른 반응방법의 영향을 조사하기 위해 저항전분 함량은 유사하면서 컨백션오븐(CVO)과 쌍축압출성형기(TWE-5P, TWE-7P)를 이용하여 제조된 구연산전분들에 대하여 12% (w/w) 고품분 함량에서 페이스팅 점도 특성치들을 조사하였다(Table 4-13). CVO, TWE-5P와 TWE-7P의 물치환도는 각각 0.028, 0.011과 0.014로 유의적인 차이를 나타내었으나 이들의 저항전분 함량은 29.3~30.6%의 범위로 통계적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 4-13). CVO는 12% 고품분 함량에서 페이스팅 점도를 발달시키지 못했으나 TWE-5P와 TWE-7P는 유의적인 페이스팅 점도를 발달시켰고 TWE-5P가 TWE-7P보다 높은 수준의 점도특성을 나타내었다(Table 4-13). 이러한 결과는 구연산과 전분분자들 사이의 가교화 반응의 정도의 차이 때문인 것으로 판단된다. 게다가 쌍축압출성형기를 5회 통과 시킨 TWE-5P의 경우 생전분을 대체하여 사용할 수 있을 만큼 충분한 페이스팅 점도를 발달시켰다(Table 4-13). 따라서 구연산전분을 제조할 때 반응혼합물이 정지된 상태에서 열처리 하는 것 보다는 열처리하는 동안 반응혼합물을 지속적으로 이동시키는 것이 전분분자와 구연산 사이의 반응성은 낮지만 유사한 저항전분을 함유하면서 페이스팅 점도를 성공적으로 발달시킬 수 있는 구연산전분을 제조하는데 적합한 것으로 보인다.

(2) 동적건식가열반응기법에 의한 구연산전분의 물리화학적 특성

구축된 동적건식가열반응기법을 이용하여 제조된 구연산전분의 물리화학적 특성을 조사하였다. 반응혼합물의 제조와 동적건식가열반응에 의한 구연산전분의 제조는 전술한 바와 같으며, 구체적인 반응조건은 Table 4-14에 제시하였다. 제조된 구연산전분의 반응효율, 물치환도, 호화전후의 저항전분 함량, 보수력, 용해도, 팽윤력, 호화특성과 페이스팅 점도 특성은 전술한 방법에 따라 분석되었다. 일반옥수수전분 및 찰옥수수전분을 원료로 하여 컨백션오븐과 쌍축압출성형기를 반응기로 하여 제조한 구연산전분의 반응효율은 Table 4-15에 나타내었다. 반응효율은 일반옥수수전분의 경우 1.7~72.0%의 범위에 있었으며 컨백션오븐을 반응기로 10% 구연산을 반응물질로 하였을 때가 72.0%로 가장 높았다. 쌍축압출성형기를 10 rpm으로 운전할 때가 50 rpm으로 할 때보다 높은 반응효율을 나타내었으며, 쌍축압출성형기를 반응기로 이용한 동적건식가열반응은 컨백션오븐을 반응기로 한 정적건식가열반응의 경우보다 모든 구연산 농도에서 낮은 반응효율을 나타내었다. 찰옥수수전분을 원료로 하여 구연산전분을 제조하였을 때 반응효율은 9.1~81.1%의 범위에 있었으며, 일반옥수수전분의 경우에서 관찰된 현상들이 찰옥수수전분에서 동일하게 관찰되었다. 구연산전분의 물치환도는 찰전분을 원료로 하였을 때 0.004~0.110의 범위에 있었으며, 반응효율에서 관찰된 것과 같은 경향들이 관찰되었다(Table 4-15). 동일한 구연산 농도에서 반응기를 달리하였을 때 물치환도는 컨백션오븐을 사용한 경우가 더 높았다. 일반전분을 원료로 사용한 경우 물치환도는 0.001~0.079의 범위에 있었으며, 반응효율과 상호연계성을 나타내었으며, 찰전분의 경우와 동일한 현상이 관찰되었다. 특이한 것은 찰전분을 이용하였을 때가 일반전분을 사용한 경우보다 모든 처리군에서 높은 물치환도를 나타내었다. 앞에서 보고한 반응표면분석의 결과와 상이하였다.

Table 4-14. Reaction conditions for preparation of citrate starches by dynamic dry heating reaction.

Starch citrate	Reaction mixture		Reaction conditions				
	CA (%)	pH	Reactor	T (°C)	t (h)	S (rpm)	P (times)
DN0	-	-	-	-	-	-	-
DN1	10	3.5	CVO	150	1	-	-
DN2	40	3.5	CVO	150	1	-	-
DN3	10	3.5	TWE	150	-	50	5
DN4	10	3.5	TWE	150	-	10	5
DN5	40	3.5	TWE	150	-	50	5
DN6	40	3.5	TWE	150	-	10	5
DW0	-	-	-	-	-	-	-
DW1	10	3.5	CVO	150	1	-	-
DW2	40	3.5	CVO	150	1	-	-
DW3	10	3.5	TWE	150	-	50	5
DW4	10	3.5	TWE	150	-	10	5
DW5	40	3.5	TWE	150	-	50	5
DW6	40	3.5	TWE	150	-	10	5

Abbreviation: DN: normal starch, DW: waxy starch, CA: anhydrous citric acid, CVO: convection oven, TWE: twin-screw extruder, T: reaction temperature, t: reaction time, S: screw speed, P: pass.

이와 같은 결과는 반응혼합물의 제조방법상의 차이 때문으로 생각된다. 현 연구에서 반응혼합물은 대규모로 제작하여 구연산전분을 제조하였다. 따라서 소규모로 반응혼합물을 제조할 때보다 생전분 안으로 구연산이 침투하는 정도가 전분의 아밀로오스 함량에 따라 차이가 발생하였기 때문인 것으로 생각된다. 한편 호화 전의 구연산전분의 저항전분 함량은 일반옥수수전분을 사용하였을 때 22.2~89.9%, 찰옥수수전분일 때 20.5~85.3%의 범위에 있었다. 일반옥수수전분으로부터 제조된 구연산전분의 경우 주어진 구연산 농도에서 컨백션오븐에서보다 쌍축압출성형기를 이용하는 경우가 저항전분 함량이 높았다(Table 4-15). DN2 (컨백션오븐, 40% 구연산, 반응시간 1 h)와 DN6 (쌍축압출성형기, 40% 구연산, 반응시간 0.85 h)의 경우를 볼 때, DN2가 DN6보다 물치환도는 1.5배 이상 높았으나 저항전분 함량은 DN6가 DN2보다 높은 수준을 나타내었다(Table 4-15). 이는 구연산이 전분분자와 반응한 위치가 주로 전분입자의 외부에 분포하고 있을 것으로 예상된다. 한편 찰옥수수전분을 이용한 경우에 있어 주어진 구연산 농도에서 컨백션오븐을 반응기로 사용하였을 때가 쌍축압출성형기를 이용한 경우보다 더 높은 저항전분 함량을 나타내었다.

Table 4-15. Mean¹⁾ values for reaction efficiency (RE), molar degree of substitution (MS), and resistant starch (RS) contents of citrate starches.

Treatment	RE (%)	MS	RS content (% s.b)		RS loss
			Uncooked	Cooked	
DN0	-	-	6.4±0.2	-	6.4
DN1	72.0±0.8	0.028±0.000	29.7±0.5	27.6±0.6	2.1
DN2	51.9±4.0	0.079±0.006	77.2±0.9	65.9±0.1	11.3
DN3	1.7±0.8	0.001±0.000	20.2±1.1	18.0±0.6	2.2
DN4	28.6±1.6	0.011±0.001	31.4±1.1	23.5±0.0	7.9
DN5	17.9±0.0	0.027±0.000	58.2±0.2	38.6±0.7	19.6
DN6	30.7±2.0	0.047±0.003	89.9±0.2	84.8±0.3	5.1
DW0	-	-	5.1±0.2	-	5.1
DW1	81.3±0.7	0.035±0.000	32.7±1.1	29.1±0.4	3.6
DW2	45.6±0.2	0.110±0.001	85.3±0.3	79.7±0.6	5.6
DW3	9.1±1.4	0.004±0.001	20.5±0.3	17.0±0.4	3.5
DW4	39.4±1.4	0.017±0.001	29.9±0.1	21.8±1.0	8.1
DW5	11.5±0.2	0.028±0.001	52.5±0.8	38.2±1.1	14.3
DW6	24.1±0.2	0.058±0.001	66.9±0.0	48.2±0.5	18.7

¹⁾Mean values of three replicate measurements.

호화 처리 후 구연산전분의 저항전분 함량은 호화 전의 것보다 모든 경우에 있어 낮은 수준을 나타내었다(Table 4-15). 호화전후의 구연산전분의 저항전분 함량에 있어 차이는 관찰되지만 호화 전 구연산전분에서 관찰된 현상들은 호화 후의 구연산전분에서도 여전히 관찰되었다. 또한 구연산전분의 열 안정성 측면을 보면 40% 구연산을 사용한 경우가 10% 구연산을 사용할 때보다 저항전분의 감소폭이 컸다. 따라서 낮은 농도의 구연산을 사용하여 구연산전분을 제조하는 것이 호화 후에도 저항전분 함량의 손실을 최소화시킬 수 있을 것으로 생각된다.

일반옥수수전분으로부터 제조된 구연산전분의 보수력은 1.5~3.1 g/g의 범위에 있었으며, 구연산이 전분분자에 수식되면서 보수력이 감소하나 DN6의 경우 가장 높은 보수력을 나타내었다(Table 4-16). 찹옥수수전분의 구연산전분은 1.4~2.7 g/g 범위의 보수력을 나타내었다. 10% 구연산을 이용한 경우 생전분의 보수력보다 높거나 유사한 수준을 나타내었으나 40% 구연산을 이용한 경우에는 모든 경우에 생전분 보다 낮은 보수력을 나타내었다.

Table 4-16. Mean¹⁾ values for water holding capacity, solubility, and swelling power of citrate starches.

Treatment	Water holding capacity (g/g)	Solubility ²⁾ (%)	Swelling power ²⁾ (g/g)
DN0	2.1±0.1	37.7±2.0	16.5±0.2
DN1	2.3±0.1	3.5±0.1	6.2±0.0
DN2	1.8±0.0	2.1±0.2	3.6±0.1
DN3	1.8±0.4	11.1±0.5	17.6±0.4
DN4	2.0±0.0	6.3±0.4	10.2±0.3
DN5	1.5±0.1	25.9±1.4	10.7±0.0
DN6	3.1±0.0	2.1±0.1	4.0±0.0
DW0	2.4±0.1	52.2±2.5	N/D ³⁾
DW1	2.6±0.2	2.2±0.0	9.1±0.2
DW2	2.7±0.1	1.7±0.1	4.2±0.1
DW3	2.2±0.1	6.6±0.3	15.8±0.4
DW4	2.3±0.0	4.5±0.1	14.8±0.3
DW5	1.4±0.1	19.9±0.4	N/D ³⁾
DW6	1.8±0.0	5.3±0.2	9.1±0.0

¹⁾Mean values of three replicate measurements.

²⁾Determined at 95°C.

³⁾Not determined because clear separation between the supernatant and the precipitate after centrifugation was not achieved.

또한 쌍축압출성형기를 반응기로 하는 동적건식가열반응에 의한 구연산전분들은 컨백션 오븐을 반응기로 사용하였을 때보다 모두 낮은 수준의 보수력을 나타내었다(Table 4-16). 이와 같은 결과는 컨백션오븐에서보다 계속적으로 유동이 있는 쌍축압출성형기에서 전분분자와 구연산 사이의 에스테르화반응이 좀 더 균일하게 일어나기 때문으로 생각된다. 또 다른 가능한 설명은 쌍축압출성형기에 의한 구연산전분의 반응위치가 주로 전분입자의 외부에 존재하기 때문일 수 있다.

구연산전분의 용해도와 팽윤력은 Table 4-16에 나타내었다. 찹옥수수전분의 용해도가 52.2%로 일반옥수수전분 37.7%보다 높았다. 아밀로오스와 아밀로펙틴의 비율 때문에 차이가 있는 것으로 보인다. 일반옥수수전분의 팽윤력은 16.5 g/g이며, 찹옥수수전분은 팽윤력 측정을 위해 95℃에서 반응시키자 lump gel이 되어 팽윤력을 측정할 수 없었다. 구연산전분은 생전분에 비해 용해도(1.5~26.0%)와 팽윤력(3.6~17.6 g/g)이 비슷하거나 대부분 낮은 경향을 나타내었다(Table 4-16). 일반옥수수전분이 구연산전분에 비해 팽윤력이 높은 것은 전분 입자 내의 결합력이 약하다는 것을 나타낸다. 또한 구연산전분과 생전분과의 용해도와 팽윤력의 차이는 전분입자의 구조적 차이를 나타내며, 용해도와 팽윤력이 낮은 경향을 나타내는 것은 구연산전분 내의 전분분자들 사이의 결합력이 강하다는 것을 나타낸다. 게다가 구연산의 농도가 높을수록 전분표면에서 구연산과 전분분자들 사이에 다중 에스테르화 반응이 증가하여 전분 입자의 팽윤을 억제하므로 낮은 농도의 구연산 조건에 비해 낮은 용해도와 팽윤력을 나타내는 것으로 판단된다. 한편 저항전분의 함량이 증가함에 따라 용해도와 팽윤력은 감소하는 경향을 나타내었다(Table 4-15 & 4-16). 저항전분의 함량이 증가할수록 용해도가 감소하는 것은 저항전분 함량이 증가하면서 불용성 물질의 양이 증가하기 때문이며, 팽윤력이 감소하는 것은 저항전분의 함량이 증가할수록 낮은 수분 보수력을 갖기 때문인 것으로 생각된다.

Table 4-17. Mean¹⁾ values for gelatinization properties of citrate starches.

Treatment	Gelatinization temperature (°C)			Geltinization enthalpy (J/g)
	Onset	Peak	Completion	
DN0	67.9±0.3	73.1±0.6	84.2±2.6	13.3±0.0
DN1	61.1±0.4	68.5±0.5	77.4±3.3	8.9±0.3
DN2	-	-	-	-
DN3	66.8±0.1	72.8±0.5	84.1±1.5	12.8±0.1
DN4	57.6±0.7	67.3±0.8	76.6±0.1	12.7±3.0
DN5	70.7±0.8	78.9±0.4	88.9±0.3	16.4±1.4
DN6	-	-	-	-
DW0	66.1±0.8	73.5±0.0	86.0±1.4	15.0±0.9
DW1	-	-	-	-
DW2	-	-	-	-
DW3	67.0±1.7	75.3±1.0	86.4±5.2	13.5±0.4
DW4	64.2±1.1	71.9±0.2	83.8±4.1	12.2±1.8
DW5	74.0±1.3	79.3±0.2	88.7±0.7	20.7±2.1
DW6	-	-	-	-

¹⁾Mean values of three replicate measurements.

구연산전분의 호화특성은 Table 4-17에 나타내었다. 컨백션오븐을 반응기로 사용하였을 때 모든 구연산 농도에서 생전분의 호화온도와 호화엔탈피 보다 낮거나 endothermic 피크를 생성하지 못했다. 그러나 쌍축압출성형기를 반응기로 한 동적건식가열반응의 경우 DN6과 DW6을 제외하고 호화온도와 호화엔탈피를 측정할 수 있었다. 특히 쌍축압출성형기의 스크류 회전속도를 50 rpm으로 하여 구연산전분을 제조할 경우 모든 구연산 농도에서 호화온도와 호화엔탈피는 생전분의 것과 유사하거나 높은 수준을 나타내었다. 그러나 스크류 회전속도를 10 rpm으로 할 경우에는 생전분의 호화온도와 호화엔탈피보다 낮거나 endothermic 피크를 생성하지 못했다. 이러한 결과는 생전분에 대한 열처리의 정도의 차이에서 기인하는 것 같다.

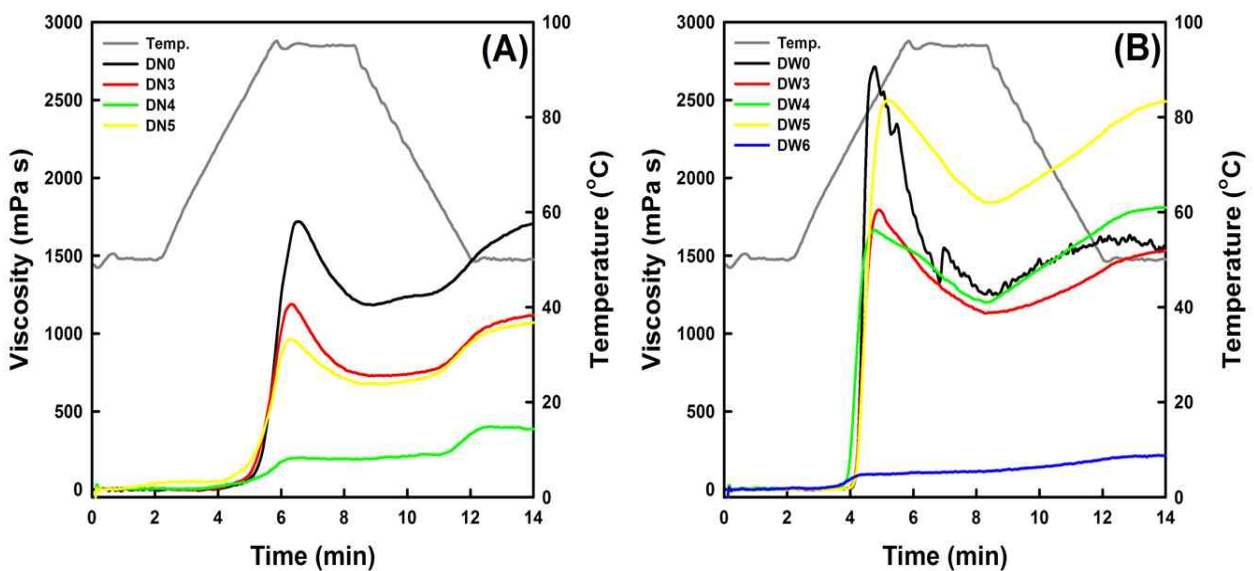


Figure 4-23. Pasting viscosity profiles of citrate starches subjected to dynamic dry heating reaction using a twin-screw extruder (A: citrate derivatives of normal corn starch, B: citrate derivatives of waxy corn starch).

구연산전분의 페이스팅 점도를 분석하여 Figure 4-23에 페이스팅 점도 프로파일을, Table 4-18에 페이스팅 점도 특성을 나타내었다. 컨백션오븐을 반응기로 합성한 구연산전분들은 신속점도분석기에 의해 페이스팅 점도가 발달하지 못했다. 그러나 쌍축압출성형기를 반응기로 한 동적건식가열반응으로 제조된 구연산전분들은 정도의 차이는 존재하지만 페이스팅 점도가 성공적으로 발달하였다. 특히 찰옥수수전분을 원료로 동적건식가열반응에 의해 제조된 구연산전분들은 선행된 연구에서 제안한 생전분의 사용량보다 약 20% 정도 증량하여 사용할 경우 생전분의 페이스팅 점도와 유사하거나 초과할 것으로 예상된다.

Table 4-18. Mean^{D)} values for pasting viscosity characteristics of citrate starches subjected to dynamic dry heating reaction using a twin-screw extruder

Treatment	Pasting viscosity (mPa · s)				
	Peak	Trough	Breakdown	Final	Setback
DN0	1712.5±9.2	1172.0±17.0	540.5±7.8	1691.5±21.9	158.5±12.0
DN3	1184.5±4.9	729.0±0.0	455.5±4.9	1124.5±7.8	153.0±0.0
DN4	201.5±4.9	181.5±14.8	20.0±9.9	376.5±16.3	173.0±0.0
DN5	941.5±29.0	653.5±27.6	288.0±1.4	1051.5±26.2	239.0±2.8
DW0	2661.0±65.1	1240.5±13.4	1420.5±51.6	1558.5±13.4	62.5±38.9
DW3	1820.0±36.8	1142.5±16.3	677.5±20.5	1543.0±14.1	267.5±0.7
DW4	1658.0±7.1	1203.5±3.5	454.5±10.6	1807.0±2.8	398.0±4.2
DW5	2476.5±26.2	1781.5±82.7	695.0±56.6	2445.0±63.6	435.5±3.5
DW6	102.0±9.9	97.0±18.4	5.0±8.5	201.5±21.9	68.0±8.5

^{D)}Mean values of three replicate measurements.

(3) 동적건식가열반응기법에 의한 구연산전분의 물리화학적 특성에 대한 전분종류의 영향

선행된 연구에서 쌍축압출성형기를 반응기로 사용하여 구연산전분을 제조하는 동적건식가열반응기법을 구축하고 최적 반응조건을 설정하였다. 동적건식가열반응기법을 이용하여 제조된 구연산전분의 특성에 대한 전분종류의 효과를 조사하였다. 동적건식가열반응기법을 위한 반응혼합물의 제조와 이를 활용하여 구연산전분을 제조하는 방법은 전술한 방법에 준하였으며, 구체적인 반응조건들은 Table 4-19에 나타내었다.

Table 4-19. Reaction parameters for preparation of citrate starches by dynamic dry heating reaction

Reaction method	Reaction mixture		Reaction condition			
	Anhydrous citric acid (% , s.b)	pH	Reactor	T (°C)	S (rpm)	P (times)
RX(I)	10	4.5	TWE	150	10	5
RX(II)	10	4.5	TWE	150	50	5

Abbreviation: TWE: twin-screw extruder, T: reaction temperature, S: screw speed, P: passage.

연구결과에 의하면 pH 3.5는 저항전분 함량을 최대로 얻을 수 있는 반응조건이지만 생전분에 비해 구연산전분의 물리적 및 유변학적 특성이 낮다. 그래서 이러한 문제점들에 대한 개선된 조건을 탐색하고자 pH 4.5에서 반응혼합물을 제조하여 구연산전분을 합성하였다. 제조된 구연산전분들의 물치환도, 호화 후 저항전분 함량, 용해도, 팽윤력, 호화특성 및 페이스팅 점도 특성은 전술한 방법에 따라 분석되었다. 또한 제조된 구연산전분들의 물리화학적 특성을 조사하기 전에 본 연구에서 원료로 사용된 생전분들의 형태학적 및 구조적 특성을 조사하였다. 이는 생전분들을 구연산전분으로 제조하여 물리화학적 특성들을 조사하였을 때, 생전분의 손상 여부 및 정도에 따라 구연산전분의 물리화학적 특성이 영향을 받을 수 있기 때문이다. 따라서 본 연구에서 원료로 사용된 생전분들의 구연산전분을 위한 원료 적합성을 평가하였다.

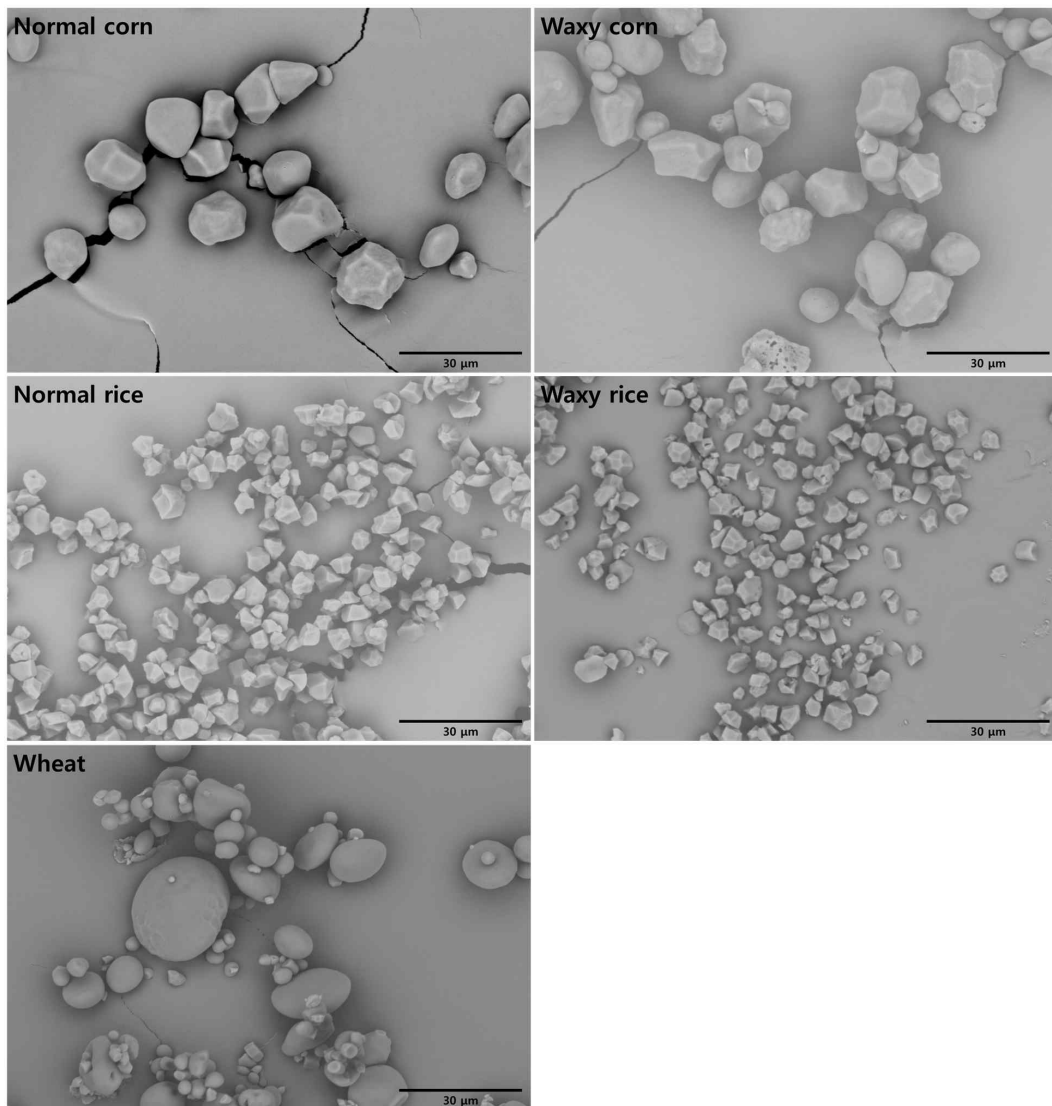


Figure 4-24. SEM images of native starches obtained from cereals (normal and waxy corn, normal and waxy rice, and wheat) (scale bar = 30 μ m).

생전분 및 화학적 변성전분의 물리화학적 특성은 손상전분(damaged starch)의 존재 및 함량에 유의적으로 영향을 받는다(BeMiller, 1997). 그래서 구연산전분의 합성 및 물리화학적 특성들의 조사하기 전에 본 연구에 사용된 생전분들을 주사전자현미경(scanning electron microscopy; SEM)을 이용하여 관찰하여 전분입자의 형태학적 손상정도를 조사하였다. 상업적 및 실험실에서 추출·정제된 곡류전분들(옥수수, 찰옥수수, 멥쌀, 찹쌀 및 소맥)의 SEM 이미지들은 Figure 4-24에 나타내었다. 옥수수전분과 찰옥수수전분들은 문헌상에서 보고되는 것처럼 고르지 못한 다각형의 입자들로 구성되어 있었으며, 전분입자 표면에 다양한 분포 및 크기의 표면공극(surface pore)들을 보유하고 있었다(Kim, 2014). 알칼리침지법에 의해 제조된 멥쌀전분과 찹쌀전분들은 선행된 연구에서 관찰된 것과 같이 날카로운 모서리를 보유한 다각형의 입자상으로 전분입자들의 모양이 고르지 못하였다(Kim et al., 2013). 반죽형성법으로부터 제조된 소맥전분은 렌즈(lens) 또는 디스크(disc) 형태의 A형 입자(입자직경 10 μm 이상)와 A형 입자에 비해 상대적으로 작으면서 원형의 B형 입자(입자직경 10 μm 미만)로 구성되어 있었다(Kim & Huber, 2008). 전반적으로 본 연구를 위해 선택된 곡류전분들은 형태학적으로 손상된 전분입자들을 포함하지 않은 것으로 판단되어 곡류전분들로부터 제조된 구연산전분들의 반응성 및 물리화학적 특성들은 건열처리를 통한 전분입자와 구연산 사이의 에스테르화 반응의 결과로서 해석될 수 있을 것으로 기대된다.

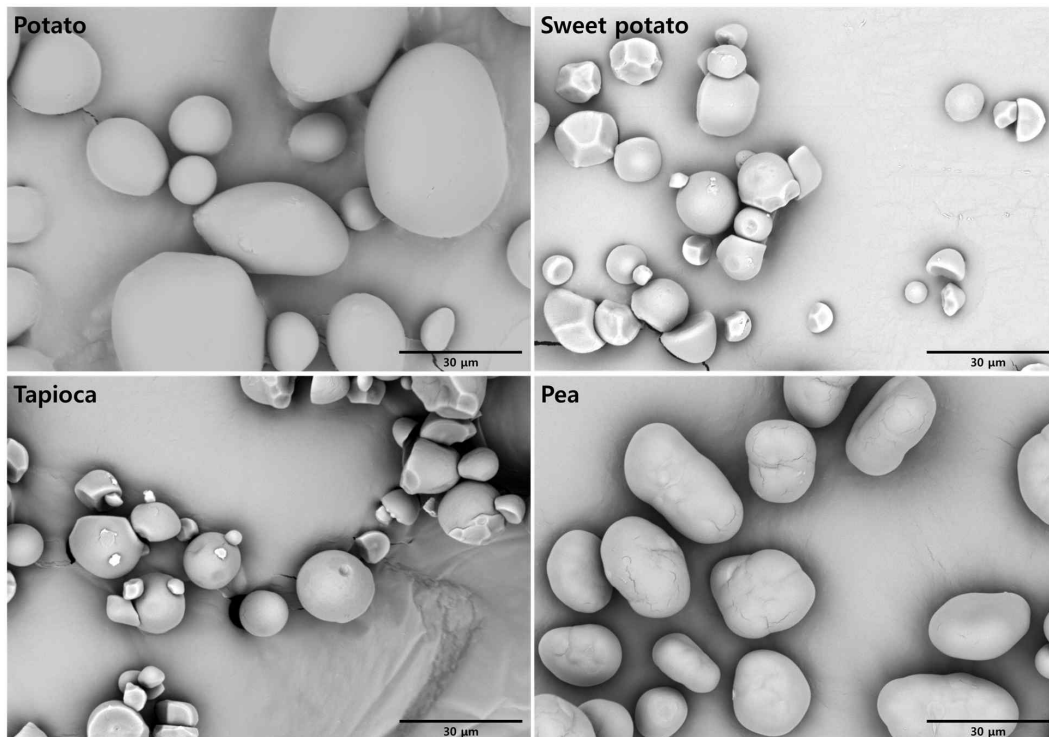


Figure 4-25. SEM images of native starches obtained from root/tuber (potato, sweet potato, & tapioca) and pulse (pea) crops (scale bar = 30 μm).

감자, 고구마, 타피오카의 서류전분들과 완두로부터 제조된 두류전분의 형태학적 특성은 Figure 4-25에 나타내었다. 감자전분은 문헌상에서 보고되는 것과 같이 매끄러운 표면을 보유한 원형부터 타원형의 입자상을 나타내었다(Kim & Kim, 2015). 고구마전분과 타피오카전분들은 둥글고, 다각형이며 truncated 형태의 입자들로 구성되어 있었으며(Noda et al., 2009; Chang et al., 2014), 전분입자 표면에서 손상된 부분은 관찰되지 않았다. 완두전분은 불규칙적인 굴곡을 보유한 타원형 형태의 입자들이 존재하였으나 대부분 둥글며 타원형의 입자형태를 나타내었다(Liu et al., 2015). 그러나 완두전분 입자들의 표면에서 균열이 관찰되었는데, 이는 주사전자현미경의 관찰을 위한 시편 제조 시 과도한 에너지 하에서의 gold 코팅에 의한 손상이거나 주사전자현미경에 의해 형태학적 특성을 관찰하는 동안 현미경으로부터 조사되는 전자빔에 의한 손상일 수 있다. 또한 완두전분에서 관찰된 표면균열의 가능한 원인으로서는 완두전분 제조공정 중의 손상에 의한 것일 수 있다. 본 연구에서 사용된 완두전분은 분리완두단백(pea protein isolate; PPI)의 생산 공정 중 부산물로부터 회수하여 정제한 것으로 PPI를 제조하기 위해 기계적인 충격(조쇄 및 마쇄), 알칼리용액 침지 등의 과정 중에 완두전분 입자들이 부분적으로 손상되었을 수 있다. 전반적으로 감자, 고구마, 타피오카 전분들은 형태학적 손상이 없어 이들을 활용한 구연산전분의 합성 및 물리화학적 특성은 가열반응과 구연산의 수식에 의한 영향으로 판단할 수 있을 것 같으나, 완두전분의 연구결과를 해석할 때는 완두전분의 형태학적 손상을 고려하여야 할 것이다.

전분입자들의 입도분포와 평균입도가 다른 연구들에서 사용된 것들과 상이한지를 조사하기 위해 본 연구에서 채택된 생전분입자들의 입도분포(Figure 4-26 & 4-27)와 평균입도(Table 4-20)를 입도분석기를 이용하여 조사하였다. 곡류 유래 전분들에 대해서(Figure 4-26), 일반옥수수과 찰옥수수전분들은 1.0~10.0 μm 크기의 입자들이 약 10% 정도였고, 10.0~30.0 μm 크기의 입자들이 ~90%를 차지했으며(Figure 4-26), 평균입도는 일반옥수수전분이 14.7 μm , 찰옥수수전분이 15.3 μm 를 나타내어 기존의 연구들에서 보고한 것과 큰 차이를 나타내지 않았다(Kim et al., 2012). 가장 작은 입도를 나타내는 것으로 알려진 멥쌀 및 찹쌀 전분들은 10 μm 미만의 입도분포를 나타내었으며, 평균입도는 멥쌀전분이 6.2 μm , 찹쌀전분이 4.9 μm 이었고, 문헌상에서 보고된 크기와 유사하였다(Kim et al., 2013). 밀전분은 10 μm 를 기준으로 미만의 B형 입자와 이상의 A형 입자들의 분포로 구성된 전형적인 쌍봉(bimodal) 입도분포를 나타내었으며, 평균입도는 15.5 μm 로 선행된 연구에서 보고된 것과 유사한 수준이었다(Kim & Huber, 2010a). 서류 및 두류 유래 전분들의 입도분포와 관련하여(Figure 4-27), 감자전분은 1~100 μm (Kim & Kim, 2015), 고구마전분은 1~50 μm (Noda et al., 2009), 타피오카전분은 1~35 μm (Chang et al., 2014), 완두전분은 1~50 μm (Liu et al., 2015)의 범위에 있었으며, 타피오카전분을 제외한 감자전분, 고구마전분 및 완두전분들은 10 μm 미만의 입자들이 약 10% 미만을 차지하고 있었다. 서류 및 두류 유래 전분들의 평균입도는 감자전분(42.6 μm), 완두전분(24.8 μm), 고구마전분(18.3 μm), 타피오카전분(14.3 μm)의 순서로 증가하였다(Table 4-20). 조사된 입도분석 결과에 의하면 본 연구에서 채택한 곡류, 서류 및 두류 유래 전분들은 기존의 다른 연구들에서 사용된 것들과 유의적으로 다르지 않아 구연산전분의 원료로서 유효한 것으로 생각된다.

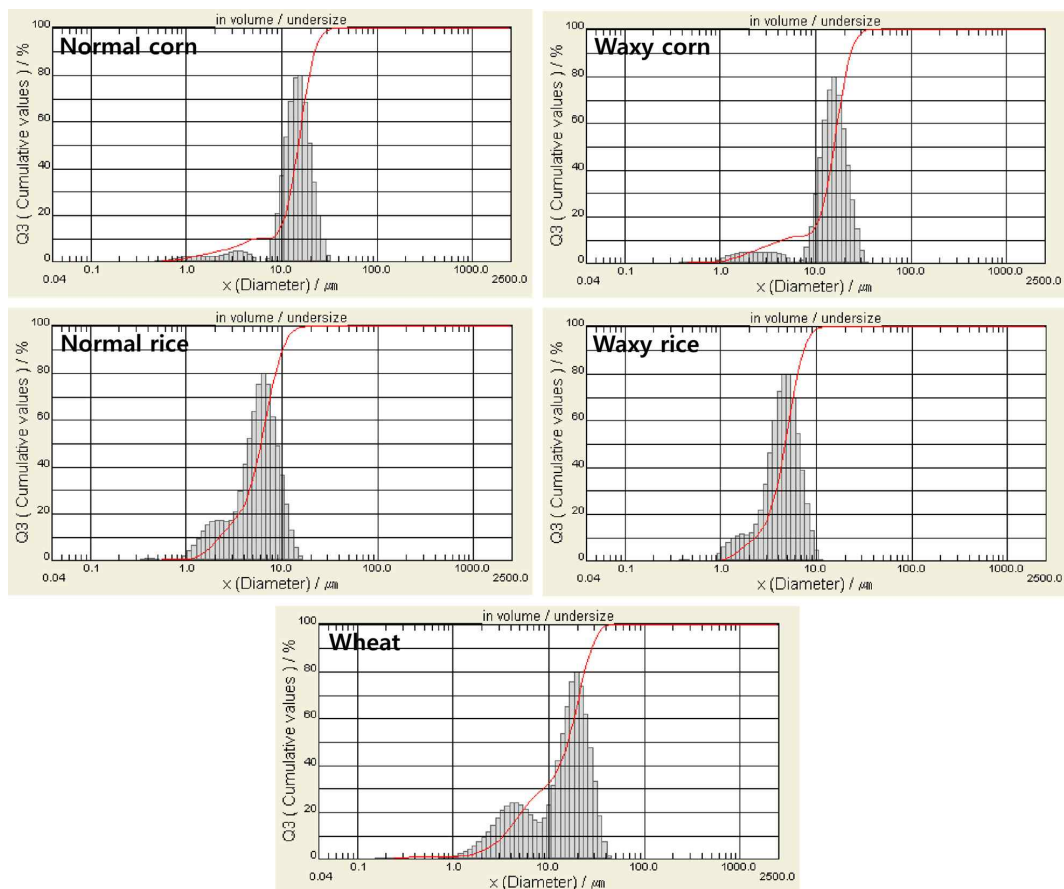


Figure 4-26. Granule size distributions of native starches obtained from cereals (normal and waxy corn, normal and waxy rice, and wheat).

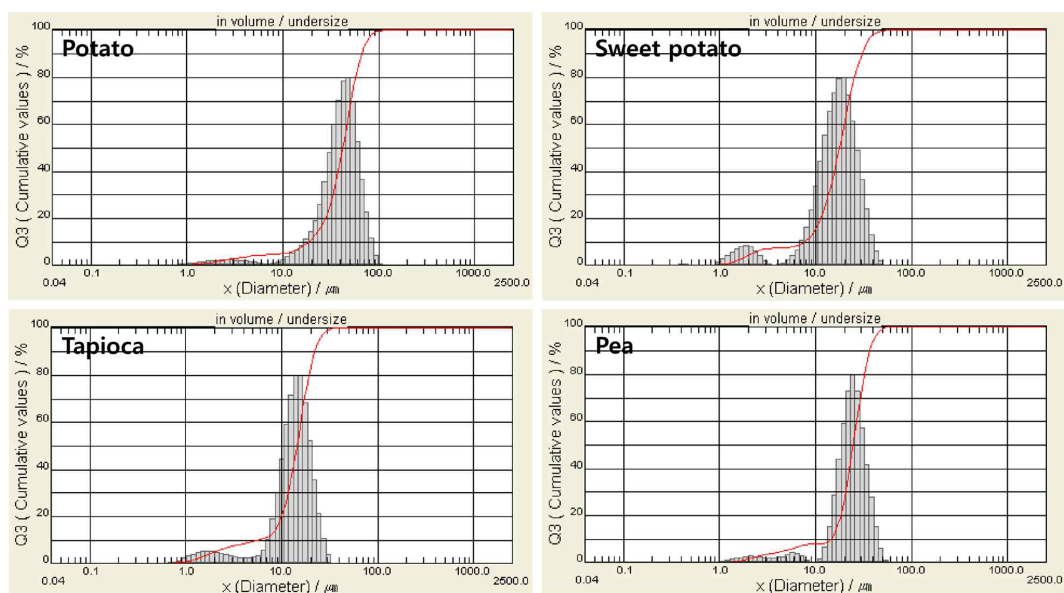


Figure 4-27. Granule size distributions of native starches obtained from root/tuber (potato, sweet potato, and tapioca) and pulse (pea) crops.

Table 4-20. Average granule size of native starches

Crop	Starch source	Average granule size* (μm)
Cereal	Normal corn	14.7 \pm 0.1 ^e
	Waxy corn	15.3 \pm 0.0 ^d
	Normal rice	6.2 \pm 0.0 ^f
	Waxy rice	4.9 \pm 0.0 ^g
	Wheat	15.5 \pm 0.1 ^d
Root and tuber	Potato	42.6 \pm 0.2 ^a
	Sweet potato	18.3 \pm 0.0 ^c
	Tapioca	14.3 \pm 0.0 ^e
Pulse	Pea	24.8 \pm 0.0 ^b

*Mean values of duplicate measurements; values sharing the same lowercase letters within a column are not significantly different at $p < 0.05$.

생전분의 결정성을 X선 회절분석기(X-ray diffraction, XRD)를 이용하여 조사하였다(Figure 4-28 & 4-29). 전분의 결정성은 아밀로펙틴 분자들의 상호작용을 통해 결정되며, 아밀로오스는 결정구조 내의 무정형 층(amorphous lamella)이나 전분의 무정형 성장환(amorphous growth ring)에 분포하고 있어, 전분 입자에서 아밀로펙틴의 비율이 높을수록 결정성은 높아지게 된다(Cheetham & Tao, 1998). 생전분 입자들의 결정형은 아밀로펙틴 이중 나선 구조체들과 물분자들의 배열에 따라 결정되며, A형, B형 및 C형으로 구분할 수 있다(Hizukuri & French, 1971). 곡류전분들은 회절각(2θ) 15°, 18°, 및 23° 부근에서 강한 피크들을 나타내고, 회절각(2θ) 18° 부근의 피크는 두 개로 분열(splitting)되어 있는 A형 결정구조를 가지고 있다(Cheetham & Tao, 1998). 따라서 본 연구에서 구연산전분의 원료로 사용된 곡류전분들(옥수수전분, 찰옥수수전분, 멥쌀전분, 찰쌀전분 및 소맥전분)의 X선 회절도들은 모두 A형 결정구조를 나타내고 있다(Figure 4-28). 또한 찰옥수수전분과 찰쌀전분들은 옥수수전분과 멥쌀전분에 비해 X선 회절도의 강도가 낮으나 이는 결정구조가 무정형구조보다 많이 존재하기 때문이며, 문헌들의 보고와 일치하였다(Cheetham & Tao, 1998; Kim et al., 2013; Kim & Huber, 2010a). 서류전분 중 감자전분은 회절각(2θ) 5° 부근의 피크, 17° 에서 강한 피크와 22~24° 부근에서 분열된 피크들을 특징으로 하는 B형 결정구조를 보유하고 있고(Cheetham & Tao, 1998), 본 연구에서 사용된 감자전분도 유사한 X선 회절양상을 나타내어 B형 결정구조를 나타내고 있다(Figure 4-29). 한편 본 연구에서 사용된 고구마전분, 타피오카전분 및 완두전분은 A형과 B형의 결정구조들의 X선 회절양상이 혼합되어 있는 C형 결정구조를 가리키고 있었다(Figure 4-29). 따라서 전분들의 X선 회절양상을 고려할 때, 생전분들은 부분적 호화나 결정구조의 손상이 없는 것을 생각된다.

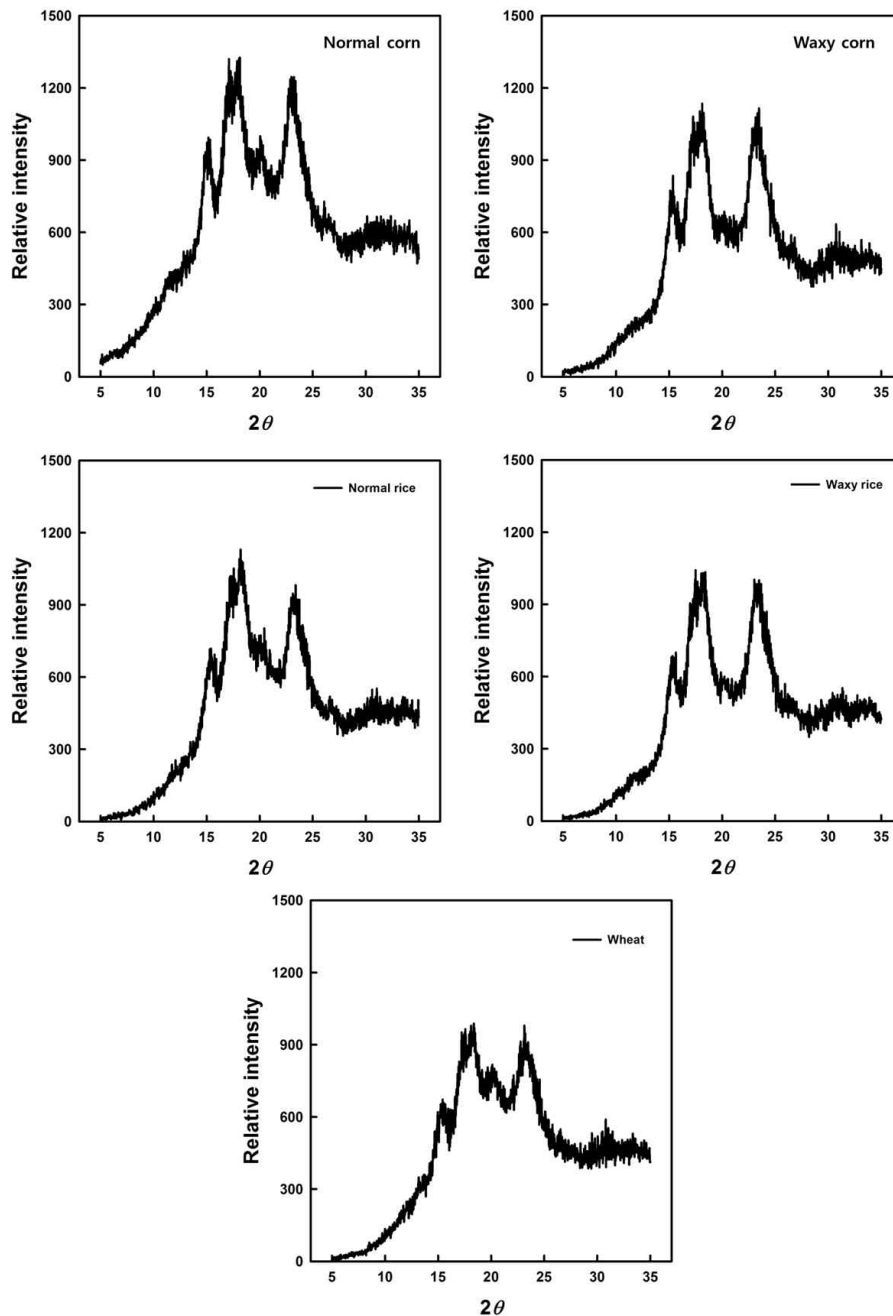


Figure 4-28. XRD patterns of native starches obtained from cereals (normal and waxy corn, normal and waxy rice, and wheat).

생전분의 아밀로펙틴의 분지사슬 분포는 isoamylase를 이용하여 탈분지한 후 고성능 음이온 교환 크로마토그래피(high-performance anion-exchange chromatography, HPAEC)를 이용하여 분석하였고, 생전분들의 아밀로펙틴 분지사슬들의 피크면적들의 상대적인 비율은 표준화된 크로마토그래프로부터 얻었다(Table 4-21). Hanashiro et al. (1996)의 분류에 따르면 아밀로펙틴은 A (DP 6-12), B1 (DP 13-24), B2 (DP 23-36) 및 B3 (>DP 37) 분지사슬들로 분류할 수 있다.

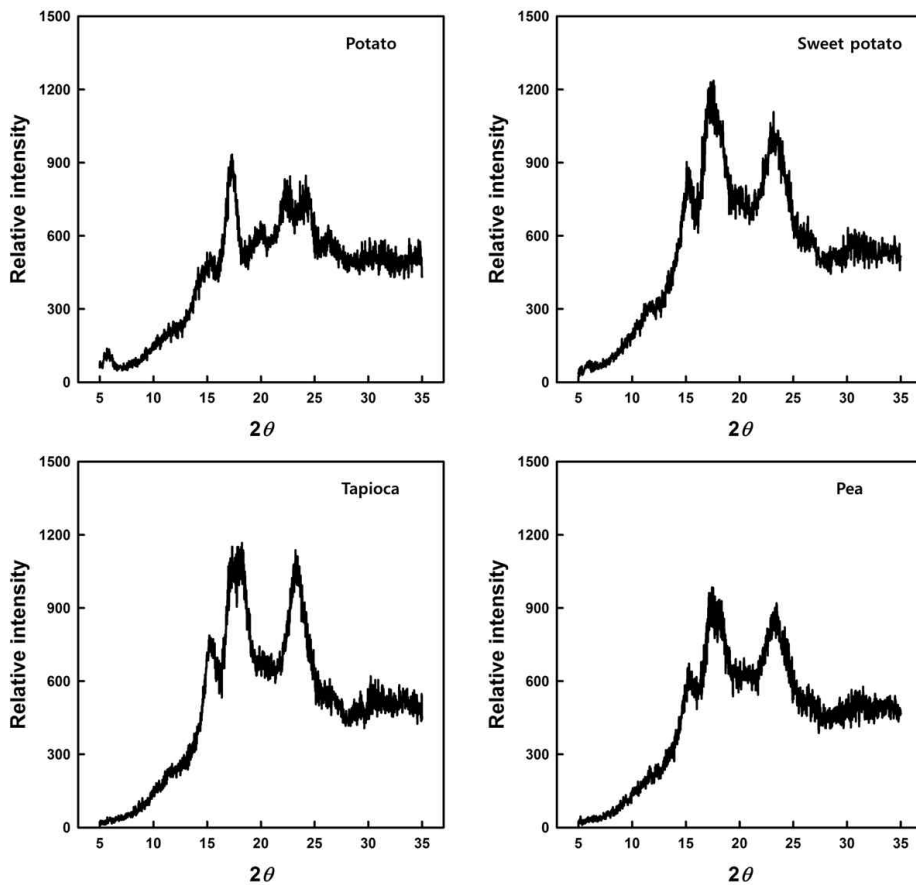


Figure 4-29. XRD patterns of native starches obtained from root/tuber (potato, sweet potato, & tapioca) and pulse (pea) crops.

본 연구의 전분원료들의 아밀로펙틴 분지사슬 분포들은 문헌들에서 보고된 것들과 유사한 수준을 나타내었다(Hanashiro et al., 1996; Kim & Huber, 2010a; Noda et al., 2009; Kim et al., 2013; Le et al., 2009; Warkentin et al., 2017). 조사된 생전분들 사이에서 아밀로펙틴 분지사슬의 함량은 A 분지사슬의 경우 멥쌀전분 = 찹쌀전분 > 소맥전분 > 타피오카전분 = 고구마전분 > 찰옥수수전분 > 감자전분 = 완두전분 = 일반옥수수전분의 순서로 높았고, B1 분지사슬은 일반옥수수전분 > 감자전분 = 완두전분 > 찰옥수수전분 > 고구마전분 = 타피오카전분 = 소맥전분 = 찹쌀전분 = 멥쌀전분의 순서로 높았고, B2 분지사슬은 완두전분 > 일반옥수수전분 = 찰옥수수전분 = 감자전분 > 소맥전분 = 고구마전분 > 멥쌀전분 = 찹쌀전분의 순서로 높았고, B3 분지사슬은 감자전분 = 완두전분 > 옥수수전분 = 찰옥수수전분 = 감자전분 > 소맥전분 = 고구마전분 > 멥쌀전분 = 찹쌀전분의 순서로 높았다(Table 4). 이러한 생전분들 사이에서 상이한 아밀로펙틴 분지사슬 분포들은 생전분들의 물리적 특성에 영향을 미쳐 구연산전분의 반응효율과 물리적 특성에 영향을 끼칠 것으로 예상되었다.

Table 4-21. Amylopectin branch-chain distributions of native starches

Crop	Native starch	Amylopectin branch-chain distribution ¹⁾				DP _n ²⁾
		(%)				
		DP 6-12	DP 13-24	DP 25-36	DP ≥37	
Cereal	Normal corn	23.2±0.2 ^a	59.8±0.5 ^e	12.7±0.3 ^{cd}	4.3±0.4 ^{bc}	18.3±0.2 ^{ef}
	Waxy corn	29.2±0.1 ^c	53.2±0.2 ^c	12.7±0.2 ^{cd}	4.9±0.1 ^{cd}	18.0±0.1 ^{de}
	Normal rice	37.7±0.8 ^f	49.7±0.3 ^a	8.5±0.3 ^a	4.1±0.2 ^{abc}	16.4±0.2 ^a
	Waxy rice	37.8±0.6 ^f	50.8±0.6 ^{ab}	8.2±0.4 ^a	3.2±0.9 ^{ab}	16.1±0.3 ^a
	Wheat	35.8±0.4 ^{ef}	49.8±0.5 ^a	11.4±0.1 ^{bc}	3.0±0.2 ^a	16.8±0.0 ^b
Root and tuber	Potato	26.0±1.0 ^b	55.8±0.3 ^d	12.6±0.9 ^{cd}	5.6±0.4 ^d	18.5±0.3 ^{ef}
	Sweet potato	32.0±0.5 ^d	52.0±0.1 ^{bc}	11.2±0.3 ^b	4.8±0.1 ^{cd}	17.6±0.1 ^{cd}
	Tapioca	33.8±3.0 ^{de}	51.0±1.5 ^{ab}	10.6±1.2 ^b	4.6±0.3 ^{cd}	17.3±0.4 ^{bc}
Pulse	Pea	24.7±0.0 ^{ab}	55.9±1.7 ^d	13.7±0.4 ^d	5.6±1.1 ^d	18.8±0.5 ^f

¹⁾Mean values of duplicate measurements; values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at $p < 0.05$.

²⁾Number-averaged degree of polymerization.

Table 4-19의 RX(I)과 RX(II)의 반응조건들 하에서 각각의 전분-구연산 반응혼합물들을 반응시켜 제조된 구연산전분들의 몰 치환도를 분석하여 Table 4-22에 제시하였다. 몰 치환도는 RX(I)에 의한 구연산전분들에 있어 0.022~0.036, RX(II)에 의한 구연산전분들에서는 0.020~0.035의 범위에 있었다. 주어진 반응조건에서 고구마전분을 원료로 한 구연산전분이 가장 높은 몰 치환도를 나타내었으며, 소맥전분을 원료로 한 구연산전분이 가장 낮은 몰 치환도를 나타내었다. 또한 찰옥수수전분과 찹쌀전분의 구연산전분들이 일반옥수수전분과 멥쌀전분의 것들보다 낮은 몰 치환도를 나타내었다. BeMiller (1997)는 화학적 변성전분의 반응성은 생전분의 구조적 및 화학적 특성에 따라 달라진다고 하였다. 또한 화학적 변성전분의 치환도가 동일하다 하더라도 원료전분들의 본원적 특성의 차이로부터 기인하는 물리적 특성들의 차이는 화학적 변성반응으로부터 극복될 수 없다고 보고하였다(BeMiller, 1997).

따라서 본 연구에서 주어진 반응조건 하에서 구연산전분들의 몰 치환도에 있어 차이를 나타내는 것은 구연산전분들의 원료인 생전분의 본원적 특성들(입자크기, 결정성, 아밀로펙틴 분지사슬 분포 및 겔보기 아밀로오스 함량 등)이 생전분들 사이에서 상이하기 때문인 것으로 생각된다. 한편 주어진 생전분 원료들에서 RX(I)에 의한 구연산전분이 RX(II)에 의한 것보다 몰 치환도가 높았다(Table 4-22). Kim과 Kim (2015a)은 구연산전분의 반응성에 대한 반응조건의 영향을 조사하였는데, 주어진 온도와 pH에서 스크류 회전속도는 전분과 구연산 사이의 에스테르반응의 효율에 유의적으로 영향을 미친다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서 관찰된 현상은 스크류 회전속도가 RX(I) (10 rpm)이 RX(II) (50 rpm) 보다 늦어, 150°C의 배럴 내에 오래 머물러 있었기 때문에 RX(I) 반응조건이 RX(II) 보다 구연산전분의 합성에 대한 높은 반응효율을 나타낸 결과인 것으로 생각된다.

Table 4-22. Molar substitution (MS) of citrate starches

Crop	Starch source	MS ¹⁾	
		RX(I) ²⁾	RX(II) ²⁾
Cereal	Normal corn	0.027 ± 0.001 ^c	0.027 ± 0.000 ^b
	Waxy corn	0.029 ± 0.000 ^c	0.023 ± 0.000 ^c
	Normal rice	0.032 ± 0.001 ^{ab}	0.022 ± 0.000 ^c
	Waxy rice	0.036 ± 0.003 ^a	0.026 ± 0.002 ^b
	Wheat	0.022 ± 0.005 ^d	0.020 ± 0.001 ^c
Root and tuber	Potato	0.034 ± 0.001 ^{ab}	0.027 ± 0.002 ^b
	Sweet potato	0.038 ± 0.001 ^a	0.035 ± 0.002 ^a
	Tapioca	0.028 ± 0.000 ^c	0.021 ± 0.002 ^c
Pulse	Pea	0.032 ± 0.002 ^{ab}	0.024 ± 0.001 ^{bc}

¹⁾Mean values of three replicate measurements; values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at $p < 0.05$.

²⁾Citrate starches subjected to dry-heat treatment according to conditions in Table 4-19.

생전분과 구연산전분의 겔보기 아밀로오스 함량은 Chrastil (1987)의 방법에 따라 정량하였고 그 결과를 Table 4-23에 제시하였다. 생전분의 겔보기 아밀로오스 함량은 0.7~33.4%의 범위에 있었고, 찹쌀전분과 찰옥수수전분은 각각 0.7%와 2.0%로 초자질(waxy) 전분으로, 완두전분이 33.4%로 고 아밀로오스 전분(high-amylose starch)으로 분류되었다(Vandeputte & Delcour, 2004).

또한 일반옥수수전분, 소맥전분, 감자전분, 고구마전분, 타피오카전분의 겉보기 아밀로오스 함량이 24.9~29.5%로 일반전분으로 분류되었지만, 멧쌀전분은 겉보기 아밀로오스 함량이 15.4%로 저 아밀로오스 전분(low-amylose starch)으로 분류되었다(Vandeputte & Delcour, 2004). 한편 Table 4-19에 제시된 RX(I)과 RX(II)의 반응조건들로 합성된 구연산전분들의 아밀로오스 함량은 각각 0.7~14.9%와 1.5~16.0%의 범위에 있었으며, 구연산참쌀전분과 RX(II)에 의한 구연산찰옥수수전분을 제외하고 구연산전분들 각각의 생전분들의 겉보기 아밀로오스 함량에 비해 낮은 수준을 나타내었다(Table 4-23). Biliaderis (1982)는 초산전분의 iodine affinity value가 대조군(생전분)의 것보다 낮았다고 보고하였으며, 이는 아밀로오스 분자에 치환된 초산기가 아밀로오스와 요오드 사이의 나선형 복합체(helical complex)를 형성하는 것을 방해하였기 때문일 것이라고 설명하였다. 따라서 겉보기 아밀로오스 함량이 생전분들 보다 구연산전분들이 낮은 것은 반응물질인 구연산이 전분 내의 아밀로오스 분자에 치환 또는 가교되었기 때문인 것 같다. 구연산참쌀전분들과 RX(II)에 의한 찰옥수수전분들의 겉보기 아밀로오스가 이들 각각의 생전분들 보다 높은 것은 아마도 반응혼합물 제조 및 건열반응 동안 구연산에 의한 아밀로펙틴 분자들의 부분적인 가수분해에 의한 것으로 판단된다.

Table 4-23. Apparent amylose content of native and citrate starches

Crop	Starch source	Apparent amylose content (% , d.b) ¹⁾		
		Native	RX(I) ²⁾	RX(II) ²⁾
Cereal	Normal corn	24.9±0.1 ^e	8.8±0.0 ^f	10.4±0.1 ^f
	Waxy corn	2.0±0.0 ^g	0.7±0.1 ^h	7.7±0.0 ^g
	Normal rice	15.4±0.1 ^f	9.8±0.1 ^e	10.4±0.1 ^f
	Waxy rice	0.7±0.0 ^h	1.4±0.0 ^g	1.5±0.0 ^h
	Wheat	27.7±0.2 ^c	10.8±0.0 ^d	14.0±0.1 ^d
Root and tuber	Potato	29.5±0.1 ^b	13.0±0.2 ^b	13.4±0.1 ^e
	Sweet potato	27.0±0.0 ^d	11.8±0.0 ^c	15.1±0.1 ^c
	Tapioca	27.6±0.0 ^c	14.9±0.0 ^a	16.0±0.2 ^b
Pulse	Pea	33.4±0.2 ^a	15.1±0.0 ^a	21.2±0.1 ^a

¹⁾Mean values of three replicate measurements; values sharing the same lowercase letters within a column are not significantly different at $p < 0.05$.

²⁾Citrate starches subjected to dry-heat treatment according to conditions in Table 4-19.

구연산전분의 겉보기 아밀로오스 함량에 대한 반응조건의 영향과 관련하여 주어진 전분 원료 내에서 RX(I)에서 합성된 구연산전분들이 RX(II)에서 합성된 것들보다 보편적으로 낮은 아밀로오스 함량들은 나타내었다(Table 4-23). 관찰된 현상들은 구연산전분의 합성을 위한 스크류 회전속도가 RX(I)이 10 rpm, RX(II)가 50 rpm으로 RX(I)의 반응조건이 전분-구연산 반응혼합물을 쌍축압출성형기 내에 RX(II)의 반응조건에서 보다 오랜 시간 머물게 하였기 때문에 구연산과 전분분자들 사이의 에스테르결합을 빈번히 형성시킨 결과인 것으로 판단된다(Kim & Kim, 2015a). 이러한 설명은 Table 4-22에 제시된 반응조건에 따른 구연산전분들의 몰 치환도들의 결과에 의해 입증될 수 있다.

Table 4-24. Total resistant starch (TRS) contents of native and citrate starches

Crop	Starch source	TRS content (% d.b) ¹⁾		
		Native	RX(I) ²⁾	RX(II) ²⁾
Cereal	Normal corn	8.4±0.1 ^c	44.4±1.5 ^c	22.9±0.6 ^d
	Waxy corn	6.9±0.1 ^d	44.9±0.1 ^c	24.1±0.1 ^d
	Normal rice	7.0±0.6 ^d	45.1±0.0 ^c	26.0±0.8 ^c
	Waxy rice	6.1±0.1 ^e	46.9±0.1 ^c	27.1±0.8 ^c
	Wheat	4.1±0.3 ^f	44.7±1.5 ^c	21.7±3.9 ^d
Root and tuber	Potato	14.5±0.5 ^a	74.9±0.3 ^a	55.3±2.2 ^a
	Sweet potato	15.4±0.8 ^a	51.1±0.1 ^b	30.9±0.4 ^b
	Tapioca	9.7±0.4 ^b	43.3±0.8 ^c	21.7±0.4 ^d
Pulse	Pea	14.2±1.5 ^a	44.9±0.4 ^c	24.8±1.2 ^d

¹⁾Mean values of three replicate measurements; values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at $p < 0.05$.

²⁾Citrate starches subjected to dry-heat treatment according to conditions in Table 4-19.

구연산전분은 안정성이 담보되며 반응폐액의 배출을 저감할 수 있고 상업적인 인산화 가교전분(phosphorylated cross-linked starch)을 대체할 초기 목적을 가지고 개발되었다(Xie & Liu, 2004). 그래서 본 연구에서 채택된 반응조건들 하에서 합성된 구연산전분들의 총 저항전분 함량을 정량하여 제조된 구연산전분들의 저항전분 소재로서의 활용성을 조사하였다. Table 4-24는 생전분들과 구연산전분들을 끓는 물에 호화시켜 제조된 전분페이스트들의 총 저항전분 함량을 나타낸다. 총 저항전분 함량은 구연산전분들(21.7~74.9%)이 생전분들(4.1~15.4%) 보다 높은 수준을 나타내었다(Table 4-24).

구연산전분은 전분분자와 구연산 사이의 단일 에스테르 결합에 의한 치환반응보다는 다중 에스테르 결합에 의한 가교결합에 의해 전분가수분해 효소들에 대한 저항성이 증가한다고 보고되었다(Jyothi et al., 2007; Xie & Liu, 2004). 또한 구연산전분의 치환도가 높아질수록 구연산전분 내의 저항전분 함량이 증가하는 것으로 알려져 있다(Kim, 2014; Kim & Kim, 2015a, 2015b; Wepner et al., 1999; Xie & Liu, 2004). 따라서 본 연구는 상업적인 안정화전분들을 대체할 수 있는 단일 에스테르 결합에 의한 구연산전분을 합성하고자 하였지만, 본 연구에서 채택된 반응조건들(Table 4-19)은 전분분자들과 구연산 사이에 상당량의 가교결합을 형성하는 것으로 판단된다. 주어진 반응조건에서 구연산전분의 총 저항전분 함량은 감자전분을 사용하였을 때 가장 높았으며, 다음으로 고구마전분을 사용하였을 때였다(Table 4-24). 그러나 구연산감자전분의 물 치환도는 구연산고구마전분 보다 낮은 수준이었다(Table 4-22). 구연산전분의 치환도가 증가하면서 저항전분 함량도 증가한다는 선행된 연구결과들(Wepner et al., 1999; Xie & Liu, 2004)과는 달리 감자전분과 고구마전분에서 총 저항전분 함량과 물 치환도가 상반되는 것은 아마도 감자전분의 아밀로펙틴에 천연적으로 인산화된 인산기들(Kim & Kim, 2015) 때문에 전분분해효소들의 작용이 전분-구연산 가교결합에 의한 제한 이외에 추가적으로 억제되었기 때문인 것으로 생각된다. 주어진 반응조건 하에서 구연산전분들은 원료전분들에 따라 상이한 물 치환도를 나타내었지만(Table 4-22), 총 저항전분 함량에 있어 감자전분과 고구마전분으로부터 합성된 것 이외의 구연산전분들은 주어진 반응조건 하에서 유사한 총 저항전분 함량을 나타내었다(Table 4-24). 이러한 현상들은 전분-구연산 반응혼합물을 주어진 반응조건 하에서 처리할 경우 원료전분의 종류에 관계없이 일정량의 구연산만이 전분분자들의 가교결합에 수반되고 가교결합에 참여하지 않은 구연산들은 단일 에스테르 결합에 의한 치환반응에 수반되었다는 것을 암시하는 것 같다. 한편 주어진 원료 전분들 내에서 RX(I)에 의한 구연산전분들이 RX(II)의 것보다 예외 없이 높은 총 저항전분 함량을 나타내었다(Table 4-24). 이와 같은 결과는 주어진 반응혼합물의 pH 조건과 반응 온도에서 스크류 회전속도가 구연산전분의 반응효율 및 물 치환도에 있어 주도적인 영향을 미친다는 Kim과 Kim (2015a, 2015b)의 연구결과와 유사하였다. 따라서 본 연구에서 RX(I)의 스크류 회전속도가 RX(II)의 것보다 늦기 때문에 RX(I)의 구연산전분들의 물 치환도가 RX(II)의 것들보다 높은 결과를 나타내었고(Table 4-22), 이로부터 전자의 구연산전분들이 후자보다 총 저항전분 함량이 높은 것으로 판단된다.

생전분과 구연산전분을 탈이온수와 혼합하여 85°C에서 가열한 후 용해도와 팽윤력을 측정하여 각각 Table 4-25와 Table 4-26에 나타내었다. 용해도는 생전분들이 23.0~89.9%의 범위를, RX(I)의 구연산전분들이 5.4~12.6%의 범위를, RX(II)의 구연산전분들은 5.6~16.4%의 범위를 나타내었다(Table 4-25). 전반적으로 구연산전분들의 용해도가 생전분의 용해도보다 유의적으로 낮았다(Table 4-25). 전분분자가 과량의 물과 함께 가열되면 전분입자의 반결정성 구조가 붕괴되고 물 분자들은 아밀로오스와 아밀로펙틴 분자들의 노출된 수산기들과 수소결합을 형성하면서 전분입자들이 팽윤되기 시작하며 수소결합의 증가는 전분입자의 비가역적 팽윤을 유발시키고 전분분자들은 팽윤된 전분입자로부터 유출(leaching)되어 전분의 용해도가 증가한다(Singh et al., 2003).

한편 구연산과 전분분자들 사이의 다중 에스테르결합의 형성을 통해 구연산가교전분으로 합성되면 상업적인 인산화 가교전분들(Singh et al., 2007)과 같이 구연산전분의 용해도가 감소하는 것으로 보고되고 있다(Kim, 2014). 또한 본 연구에서 구연산전분들의 총 저항전분 함량의 분석결과(Table 4-24)에 의하면 구연산전분들은 단일 및 다중 에스테르결합들을 보유하고 있는 것으로 예측되었다. 따라서 생전분에 비해 구연산전분들의 용해도가 낮은 것은 본 연구에서 채택된 반응조건들 하에서 전분분자들과 구연산 사이의 다중 에스테르결합들에 의한 부분적인 가교결합이 형성된 결과인 것으로 판단된다. 게다가 주어진 원료전분들 내에서 RX(I)의 구연산전분들이 RX(II)의 것들보다 낮은 용해도를 나타내었는데(Table 4-25), 이는 RX(I)의 반응조건이 RX(II)보다 전분분자들과 구연산 사이의 다중 에스테르결합의 형성을 용이하게 하였기 때문으로 판단된다. 이와 같은 설명은 본 연구의 구연산전분들의 물 치환도(Table 4-22)와 총 저항전분들(Table 4-24)의 결과에 의해 입증된다.

Table 4-25. Solubility of native and citrate starches

Crop	Starch source	Solubility (% , d.b) ¹⁾		
		Native	RX(I) ²⁾	RX(II) ²⁾
Cereal	Normal corn	32.1±2.2 ^e	5.4±0.2 ^e	5.6±0.1 ^d
	Waxy corn	65.2±8.2 ^b	10.5±2.8 ^a	10.8±0.5 ^{bcd}
	Normal rice	73.6±6.0 ^b	6.5±0.3 ^d	8.6±0.2 ^e
	Waxy rice	89.9±4.0 ^a	12.6±0.6 ^a	16.4±0.4 ^a
	Wheat	46.7±1.0 ^d	10.3±0.2 ^{ab}	12.7±1.7 ^{bc}
Root and tuber	Potato	67.2±0.9 ^b	5.8±0.4 ^e	8.1±0.7 ^e
	Sweet potato	64.5±1.7 ^{bc}	7.3±0.4 ^c	8.5±0.4 ^e
	Tapioca	85.5±3.0 ^a	10.8±0.4 ^{ab}	15.0±0.6 ^b
Pulse	Pea	23.0±0.5 ^f	9.6±0.7 ^b	13.6±0.4 ^c

¹⁾Mean values of three replicate measurements; values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at $p < 0.05$.

²⁾Citrate starches subjected to dry-heat treatment according to conditions in Table 4-19.

생전분과 구연산전분의 팽윤력은 Table 9에 나타내었다. 팽윤력은 생전분들이 6.4~20.3 g/g, RX(I)의 구연산전분들이 8.7~15.9 g/g, RX(II)의 구연산전분들이 10.6~17.6 g/g의 범위를 나타내었다(Table 4-26).

선행된 연구에 의하면 전분분자와 구연산 사이의 다중 에스테르 결합들에 의한 가교결합이 주도적일 때는 구연산전분의 팽윤력이 생전분 보다 월등히 낮은 수준(3.0~5.0 g/g)을 나타내는 것으로 보고되었다(Kim, 2014). 그럼에도 본 연구의 구연산전분들은 생전분의 팽윤력에 비해 약간 낮거나, 유사하거나 높은 수준들을 나타내었다(Table 4-26). 이와 같은 결과들은 본 연구에서 채택된 반응조건들 하에서는 전분분자들과 구연산 사이의 다중 및 단일 에스테르결합들이 동시에 형성되는 것을 암시한다. 게다가 다중 에스테르결합이 단일 에스테르결합보다 빈번히 형성되었을 때는 생전분에 비해 구연산전분의 팽윤력이 감소하는 결과를, 단일 에스테르결합이 다중 에스테르결합보다 빈번할 때는 구연산전분의 팽윤력이 생전분의 것을 초과하는 결과를 나타내는 것으로 생각된다. Table 4-26에 제시된 팽윤력들에 기초할 때, 생전분보다 높은 팽윤력을 보유한 구연산전분들은 RX(I)의 반응조건하에서 멍쌀전분, 감자전분, 타피오카전분이었으며, RX(II)의 반응조건하에서는 일반옥수수전분, 멍쌀전분, 감자전분, 타피오카전분 및 완두전분들이었다. 따라서 생전분보다 높은 팽윤력을 나타내는 제시된 구연산전분들은 다중 에스테르결합보다 단일 에스테르결합이 빈번히 형성된 것으로 생각된다.

Table 4-26. Swelling power of native and citrate starches

Crop	Starch source	Swelling power (g/g) ¹⁾		
		Native	RX(I) ²⁾	RX(II) ²⁾
Cereal	Normal corn	11.7±1.2 ^d	11.7±0.0 ^c	12.6±0.1 ^d
	Waxy corn	20.3±0.2 ^a	15.9±0.0 ^a	17.3±0.1 ^a
	Normal rice	6.4±0.3 ^e	8.7±1.2 ^f	12.0±0.0 ^e
	Waxy rice	15.7±1.4 ^b	12.6±0.0 ^b	15.2±0.1 ^b
	Wheat	13.4±0.3 ^c	8.9±0.1 ^f	10.6±0.0 ^f
Root and tuber	Potato	9.7±0.8 ^d	15.4±0.5 ^a	17.6±0.3 ^a
	Sweet potato	14.9±1.1 ^b	9.6±0.1 ^e	10.3±0.1 ^f
	Tapioca	8.2±1.7 ^{de}	10.9±0.1 ^d	13.6±0.1 ^c
Pulse	Pea	13.2±0.2 ^c	11.5±0.3 ^c	15.1±0.0 ^b

¹⁾Mean values of three replicate measurements; values sharing the same lowercase letters within columns are not significantly different at $p < 0.05$.

²⁾Citrate starches subjected to dry-heat treatment according to conditions in Table 4-19.

한편 구연산전분들 내에서 RX(II)의 구연산전분들이 RX(I)의 것들 보다 모든 원료전분들에 대해서 높은 팽윤력을 나타내었다(Table 4-26). 이와 같은 결과들은 주어진 반응조건 하에서 전분분자들과 구연산 사이의 반응성의 차이 때문인 것으로 생각된다. 150°C에서 10 rpm의 스크류 회전속도로 합성된 구연산전분들(RX(I))은 50 rpm에서 합성된 구연산전분들(RX(II)) 보다 물 치환도(Table 4-22) 및 총 저항전분 함량(Table 4-24)은 높았으며, 용해도(Table 4-25)는 낮았다. 이와 같은 결과들은 본 연구에서 RX(I)의 조건이 전분분자들과 구연산 사이의 다중 에스테르결합을 높은 빈도로 형성하였기 때문이라고 설명하였다. 그래서 선행된 설명들의 연속선상에서 RX(I)의 구연산전분들이 RX(II)의 것들보다 높은 반응성(빈번한 다중 에스테르결합들의 형성)을 나타내었으며, 그 결과로 구연산전분들의 팽윤력에도 영향을 미친 것으로 판단된다.

Table 4-27. Gelatinization property¹⁾ of native and citrate starches from cereals (normal and waxy corn, normal and waxy rice, and wheat)

Starch	Reaction	Gelatinization temperature (°C)			Gelatinization enthalpy (J/g)
		Onset	Peak	Completion	
Normal corn	Native	69.1±0.5 ^a	74.1±0.6 ^a	81.0±0.7 ^a	12.0±0.8 ^a
	RX(I) ²⁾	60.1±0.4 ^c	69.6±0.3 ^c	78.5±0.1 ^a	7.4±0.4 ^c
	RX(II) ²⁾	61.3±0.3 ^b	70.5±0.2 ^b	79.3±1.2 ^a	8.9±0.2 ^b
Waxy corn	Native	70.0±0.2 ^a	74.6±0.0 ^a	81.3±0.6 ^a	14.6±0.5 ^a
	RX(I) ²⁾	64.6±0.2 ^d	72.4±0.1 ^c	79.1±0.1 ^b	9.3±0.0 ^b
	RX(II) ²⁾	66.5±0.0 ^b	73.2±0.0 ^b	79.1±0.2 ^b	7.2±0.2 ^c
Normal rice	Native	59.3±0.6 ^a	68.2±0.7 ^a	76.9±0.6 ^a	10.2±0.1 ^a
	RX(I) ²⁾	50.1±0.4 ^b	60.6±0.4 ^c	75.8±3.1 ^a	6.9±0.1 ^c
	RX(II) ²⁾	48.0±0.7 ^c	63.2±0.1 ^b	74.2±0.1 ^a	8.4±0.1 ^b
Waxy rice	Native	61.5±0.2 ^a	70.7±0.2 ^a	79.8±1.0 ^a	10.7±3.3 ^a
	RX(I) ²⁾	49.5±0.6 ^c	62.2±0.2 ^c	73.9±1.0 ^b	8.0±0.1 ^a
	RX(II) ²⁾	52.0±0.9 ^b	66.1±1.1 ^b	77.9±1.6 ^a	10.4±1.3 ^a
Wheat	Native	57.5±0.2 ^a	63.5±0.0 ^a	70.3±0.3 ^a	10.4±0.9 ^a
	RX(I) ²⁾	50.0±0.7 ^b	59.6±0.6 ^c	67.4±0.3 ^b	4.7±0.5 ^c
	RX(II) ²⁾	47.7±0.0 ^c	60.0±0.0 ^b	69.6±0.5 ^a	6.1±1.5 ^b

¹⁾Mean values of three replicate measurements; values sharing the same lowercase letters within columns of a given starch are not significantly different at $p < 0.05$.

²⁾Citrate starches subjected to dry-heat treatment according to conditions in Table 4-19.

시차주사열량계(differential scanning calorimetry, DSC)를 이용하여 생전분들과 구연산전분들의 호화특성을 분석하여 곡류전분들의 경우 Table 4-27에, 서류 및 두류 전분들의 경우 Table 4-28에 나타냈다. 호화개시온도, 호화최고온도, 호화종결온도 및 호화엔탈피는 생전분에 비해 구연산전분들이 예외 없이 모든 원료전분들에 있어 낮은 수준을 나타내었다. 일반적으로 치환반응에 의한 안정화전분들(히드록시프로필전분, 초산전분 등)의 호화온도와 호화엔탈피는 그들의 생전분에 비해 낮은 수준을 나타내는 것으로 보고되고 있다(Kim & Huber, 2010b; Singh et al., 2007). 반면에 구연산가교반응을 통해 총 저항전분 함량을 증대시킨 구연산전분들은 생전분들 보다 낮은 호화엔탈피를 나타내었지만 호화온도가 유의적으로 상승한다고 알려져 있다(Kim, 2014). 따라서 본 연구에서 합성된 구연산전분들의 호화온도와 호화엔탈피가 그들 각각의 생전분에 비해 낮은 것은 본 연구에서 채택된 반응조건들 하에서 제조된 구연산전분들은 다중 에스테르결합에 의한 가교반응보다는 단일 에스테르결합의 치환반응이 더욱 빈번히 일어난 것으로 생각된다.

Table 4-28. Gelatinization property¹⁾ of native and citrate starches from tubers and roots (potato, sweet potato, and tapioca), and pulse (pea)

Starch	Reaction	Gelatinization temperature (°C)			Gelatinization enthalpy (J/g)
		Onset	Peak	Completion	
Potato	Native	61.2±0.2 ^a	66.2±0.2 ^a	74.0±0.5 ^a	15.0±2.1 ^a
	RX(I)	50.6±0.6 ^b	58.5±0.3 ^b	67.6±2.0 ^b	8.8±0.3 ^c
	RX(II)	48.9±0.8 ^c	58.5±0.7 ^b	68.2±0.1 ^b	10.2±0.7 ^b
Sweet potato	Native	58.0±0.2 ^a	70.7±0.7 ^a	83.4±0.8 ^a	13.7±0.7 ^a
	RX(I)	50.0±0.1 ^b	61.0±1.0 ^c	80.9±0.2 ^c	8.3±0.3 ^c
	RX(II)	45.8±0.3 ^c	63.3±0.3 ^b	81.9±0.0 ^b	9.0±0.2 ^b
Tapioca	Native	65.1±0.0 ^a	71.0±0.3 ^a	81.9±0.1 ^a	12.8±0.7 ^a
	RX(I)	56.3±0.2 ^c	61.6±0.1 ^c	68.5±0.2 ^c	11.2±1.0 ^a
	RX(II)	58.4±0.6 ^b	69.1±0.4 ^b	78.6±0.4 ^b	11.1±0.8 ^a
Pea	Native	62.4±0.7 ^a	70.4±0.5 ^a	78.9±0.5 ^b	11.5±0.4 ^b
	RX(I)	52.8±0.1 ^b	60.8±0.5 ^c	75.1±1.1 ^c	6.8±0.4 ^c
	RX(II)	46.6±0.7 ^c	63.2±0.2 ^b	86.3±0.5 ^a	9.1±1.0 ^a

¹⁾Mean values of three replicate measurements; values sharing the same lowercase letters within columns of a given starch are not significantly different at $p < 0.05$.

²⁾Citrate starches subjected to dry-heat treatment according to conditions in Table 4-19.

한편 구연산전분들 내에서 호화개시온도와 호화엔탈피는 RX(I)의 구연산전분들이 RX(II)의 것들에 비해 낮거나 높은 등 일관된 패턴을 나타내지 않았다(Table 4-27 & 4-28). 그러나 호화최고온도와 호화종결온도는 주어진 원료전분들 내에서 RX(II)의 구연산전분들이 RX(I)의 것들보다 유의적으로 높은 온도를 나타내었다. Kim (2014)은 150°C에서 1시간 및 5시간 동안 반응혼합물을 가열반응 시켰을 때, 원료전분의 결정패턴이 변형되면서 상대적 결정도가 감소하는 것을 관찰하였고, 이러한 현상은 고온의 가열반응으로 인해 전분입자와 전분입자 내의 결정구조들에 있어 부분적인 용융이 발생하였기 때문이라고 제안하였다. 또한 고온에서 장시간의 가열반응으로 인해 전분입자의 구조적 변형이 발생하는 현상은 Xie et al. (2006)에 의해서도 보고되었다. 따라서 본 연구에서 관찰된 RX(I)과 RX(II)에 의한 구연산전분들의 호화온도의 변화양상은 전분-구연산 반응혼합물을 RX(I) (150°C, 10 rpm)에서 반응시키는 동안 RX(II) (150°C, 50 rpm)에서 반응시킬 때보다 상대적으로 많은 양의 열이 투입되어 전분-구연산 반응혼합물 내의 결정들의 용융(melting)이 빈번하였기 때문으로 생각된다.

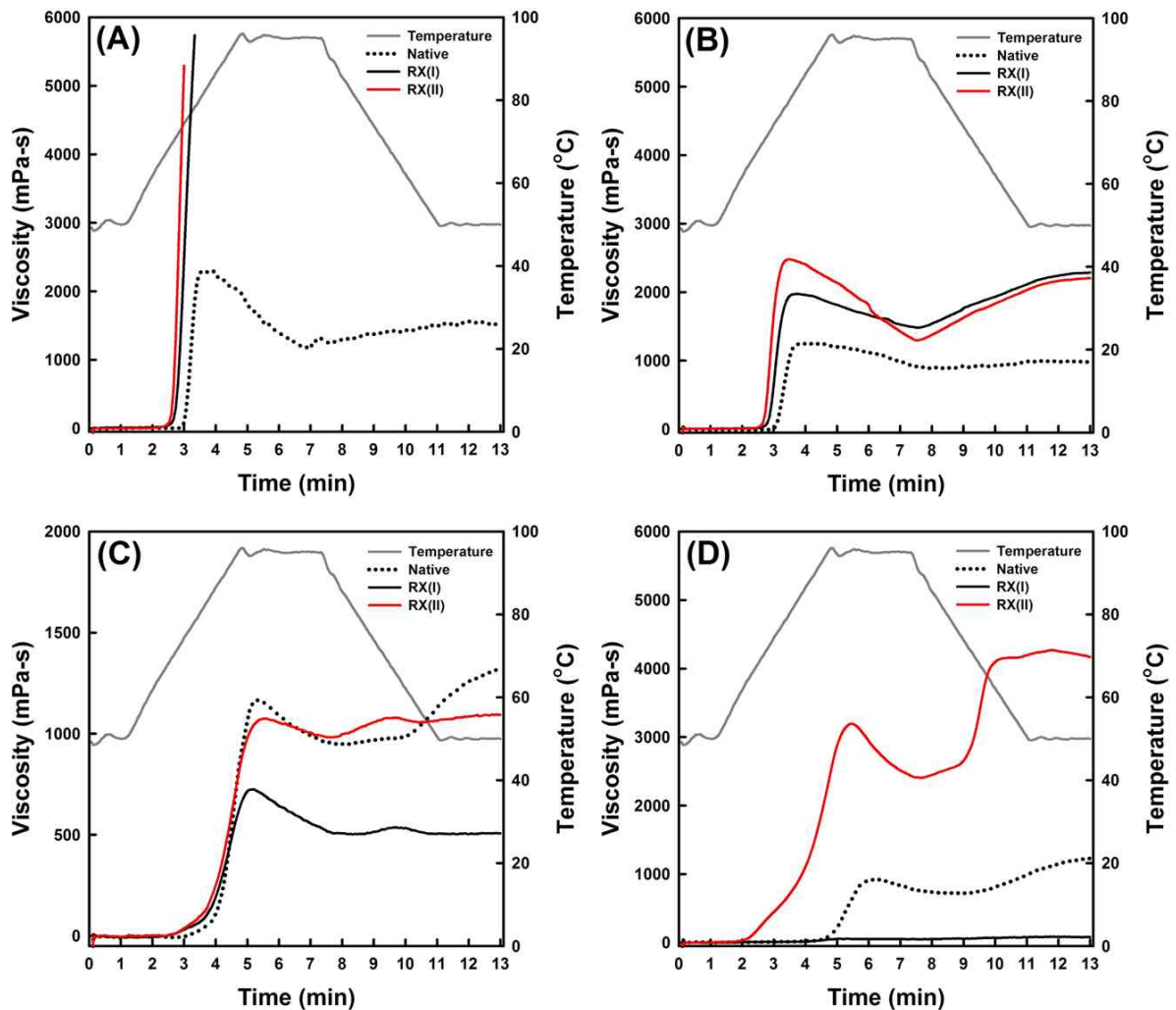


Figure 4-30. Pasting viscosity profiles of native and citrate starches from waxy corn (A & B), normal corn (C), and wheat (D) (A: 7.1% solid content, B: 5.4% solid content).

생전분들과 구연산전분들의 페이스팅 점도 특성을 신속점도기를 이용하여 하여 조사하여 그들의 페이스팅 점도 프로파일들을 Figure 4-30 ~ 4-33에 제시하였다. 찰옥수수전분을 원료로 RX(I)과 RX(II)의 반응조건들 하에서 합성된 구연산전분들의 페이스팅 점도 특성을 Figure 4-30A와 B에 나타내었다. 찰옥수수를 원료로 한 구연산전분을 7.1%의 고형분 함량이 되도록 제조하여 페이스팅 점도 특성을 조사하였을 때(Figure 4-30A), 구연산전분들의 페이스팅 점도는 생전분에 비해 급격히 증가하기 시작하여 본 연구에서 사용된 신속점도분석기의 최대 측정 점도구간(6,000 mPa·s)을 초과하여 더 이상 페이스팅 점도를 분석하는 것이 어려웠다. 그래서 고형분 함량을 5.4%로 낮춰 페이스팅 점도 특성을 조사하였을 때(Figure 4-30B), RX(I)과 RX(II) 반응조건들 하에서 합성된 구연산전분들 모두 생전분 보다 높은 페이스팅 점도를 나타내었다. 일반적으로 알려진 구연산전분의 페이스팅 점도특성은 다중 에스테르결합이 빈번히 일어난 경우 신속점도분석기에 의한 점도가 발달되지 않는 것으로 알려져 있으며(Xie & Liu, 2004; Kim, 2014; Kim & Kim, 2015a, 2015b), 낮은 물 치환도에서 단일 에스테르결합에 의한 치환반응이 일어날 경우에는 페이스팅 점도가 발달하며 물 치환도에 따라 다양한 수준의 페이스팅 점도를 나타내는 것으로 알려져 있다(Kim & Kim, 2015a, 2015b; Jyothi et al., 2007). 따라서 현재까지 다양한 특성치들의 분석결과에서 제안되었던 것처럼 찰옥수수를 원료로 한 구연산전분은 단일 에스테르결합에 의한 치환반응이 주도적으로 일어난 것으로 생각된다. 결과적으로 찰옥수수전분을 원료로 RX(I)과 RX(II)의 조건들에서 제조된 구연산전분들은 상업적인 히드록시프로필전분, 초산전분 및 아세틸아디핀산전분을 대체할 수 있는 전분소재(Figure 4-34) 인 것으로 생각된다.

일반옥수수전분을 원료로 하여 RX(I)과 RX(II)의 반응조건들로 합성된 페이스팅 점도특성을 Figure 4-30C에 나타내었다. RX(I)에 의한 구연산전분은 생전분의 페이스팅 점도보다 모든 지점에서 낮은 수준을 나타내었지만, RX(II)에 의한 것은 생전분의 페이스팅 점도와 유사한 수준을 나타내었고, 최고점도에 도달한 이후에는 페이스팅 점도 수준에서 증감이 관찰되었으나 큰 변화를 나타내지 않고 일정 수준을 유지하였다(Figure 4-30C). 특히 RX(II)의 구연산전분은 최고점도 이후 최저점도가 상대적으로 높고 최종점도도 최고점도와 큰 차이를 나타내지 않는 등 붕괴점도(breakdown viscosity)와 치반점도(setback viscosity)가 생전분보다 낮은 것을 알 수 있었다. 이러한 현상은 낮은 정도로 가교된 상업적인 인산화 가교전분에서 관찰되는 것과 유사하였다(Kim et al., 2012).

소맥전분을 원료로 하여 RX(I)과 RX(II)의 반응조건들로 합성된 구연산전분의 페이스팅 점도특성은 Figure 4-30D에 나타내었다. RX(I)에 의한 구연산소맥전분은 페이스팅 점도를 발달시키지 못하였지만, RX(II)에 의한 것은 60°C 미만에서 점도를 발달시키기 시작하여 생전분에 비해 월등히 높은 페이스팅 점도를 나타내었다(Figure 4-30D). 이와 같은 현상은 찰옥수수전분을 원료로 하였을 때의 구연산전분들의 페이스팅 점도특성에 대한 설명과 유사하게 구연산에 의한 가교반응보다 치환반응이 빈번히 일어난 결과인 것으로 보인다. 또한 RX(II)에 의한 구연산소맥전분은 상업적인 안정화전분들(Figure 4-34)을 대체할 수 있는 전분소재로서 잠재력을 가지고 있는 것으로 보인다.

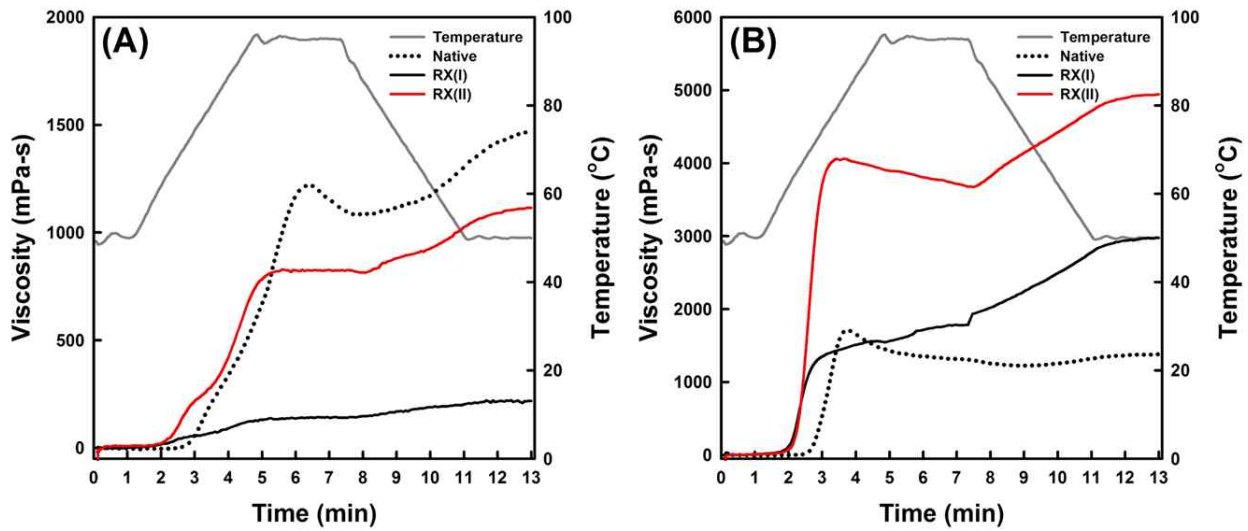


Figure 4-31. Pasting viscosity profiles of native and citrate starches from normal rice (A) and waxy rice (B).

멥쌀전분과 찹쌀전분을 원료로 RX(I)과 RX(II)의 반응조건들로 합성된 구연산전분들의 페이스팅 점도특성을 Figure 4-31에 나타내었다. 멥쌀전분을 원료로 하였을 때 RX(I)과 RX(II)의 반응조건은 생전분의 페이스팅 점도특성보다 낮은 수준의 페이스팅 점도를 나타내는 구연산전분들을 생산하였다(Figure 4-31A). 또한 반응온도가 높은 RX(I)의 조건에서 합성된 구연산전분은 RX(II)에 의한 것보다 낮은 수준의 페이스팅 점도를 나타내었다. 이와 같은 결과는 반응온도가 높을수록 전분분자와 구연산 사이의 에스테르결합의 형성이 용이하고, 단일 에스테르결합보다는 다중 에스테르결합이 빈번히 일어날 수 있다는 선행된 연구들의 결과와 유사하였다(Kim & Kim, 2015a, 2015b; Jyothi et al., 2007). 한편 찹쌀전분을 원료로한 구연산전분들의 경우(Figure 4-31B), RX(II)에 의한 것은 생전분에 비해 낮은 온도에서 페이스팅 점도가 발달하기 시작하여 생전분 보다 월등히 높은 페이스팅 점도 수준을 나타내었다. 반면 RX(I)에 의한 것은 RX(II)에 의한 것과 동일한 온도에서 페이스팅 점도를 발달하기 시작하였으나, 점도발달이 완만하게 증가하는 양상을 나타내었다. 게다가 생전분의 최고점도 발생지점까지는 RX(I)의 구연산전분의 페이스팅 점도가 낮았지만 그 이후에는 생전분의 것보다 높은 수준을 나타내었다. 이와 같이 찹쌀전분에서 구연산전분들 사이의 페이스팅 점도에 있어 다른 양상을 보이는 것은 아마도 반응조건에 따른 다중 에스테르결합의 형성 정도의 차이 때문인 것으로 생각된다.

서류전분들인 감자전분, 고구마전분 및 타피오카전분들을 원료로 하여 RX(I)과 RX(II)의 반응조건들에서 합성된 구연산전분들의 페이스팅 점도특성을 Figure 4-32에 나타내었다. 페이스팅 점도가 생전분들에 비해 모든 구연산전분들이 낮은 수준을 나타내었다. 감자전분과 타피오카전분으로부터 RX(I)에 의한 구연산전분들은 페이스팅 점도가 발달하지 않았으나, RX(II)에 의한 구연산전분들은 어느 정도의 페이스팅 점도가 발달하였다(Figure 4-32A & C).

특히 고구마전분들에 의한 구연산전분은 모든 반응조건에서 페이스팅 점도의 발달에 실패하였다(Figure 4-32B). 따라서 본 연구에서 개발하고자 하는 상업적인 안정화전분을 대체할 수 있는 구연산전분의 생산에는 서류전분들은 원료로서 적합하지 않은 것으로 생각된다.

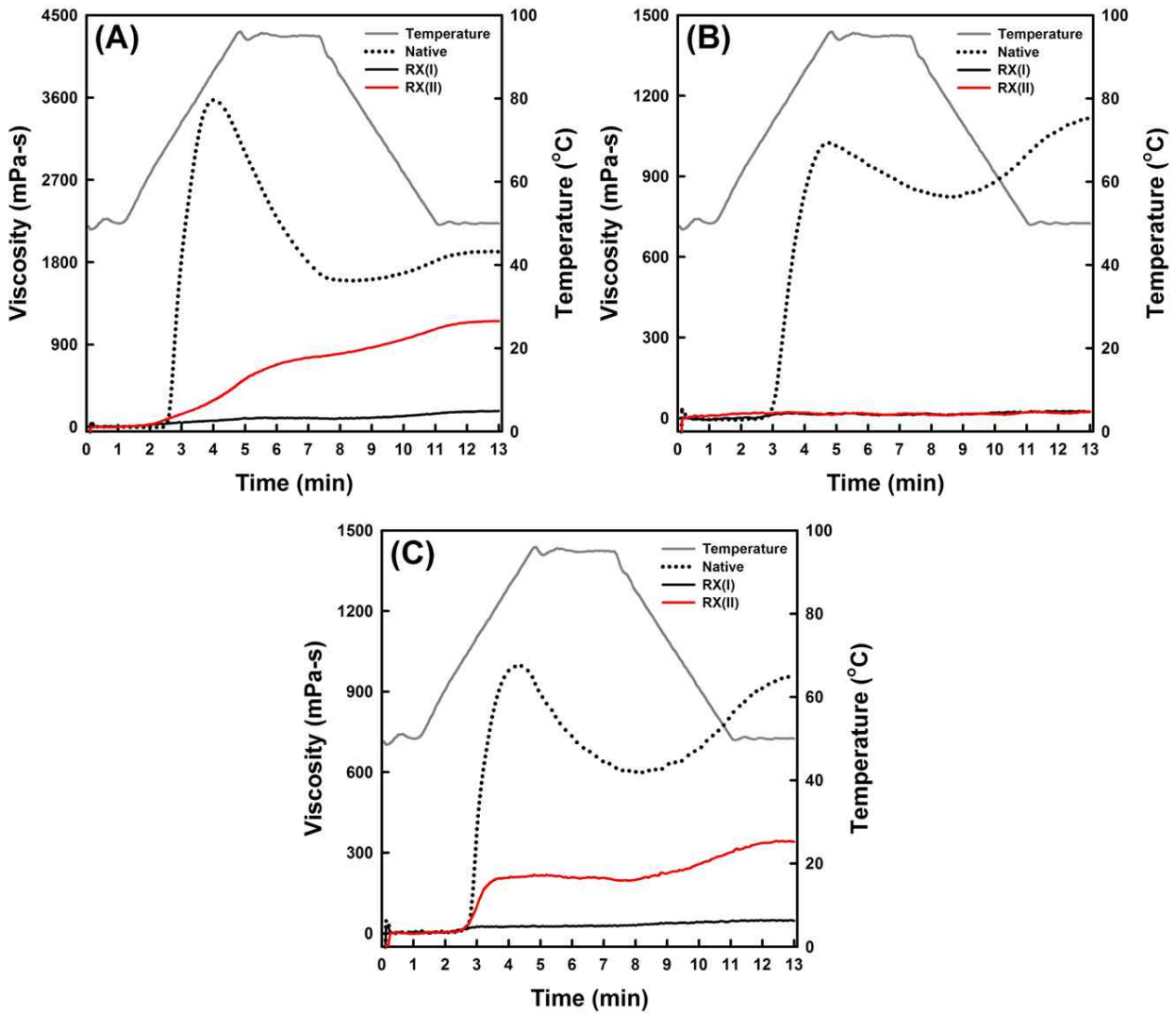


Figure 4-32. Pasting viscosity profiles of native and citrate starches from potato (A), sweet potato (B), and tapioca (C).

한편 완두전분을 원료로 RX(I)과 RX(II)의 반응조건들에서 합성된 구연산전분들의 페이스팅 점도특성을 Figure 4-33에 나타내었다. RX(I)에 의한 구연산전분은 페이스팅 점도가 발달하지 않았다. 그러나 RX(II)에 의한 것은 생전분보다 높은 수준의 페이스팅 점도를 나타내었으며, 생전분에서는 관찰되지 않았던 최저점도(trough viscosity)와 붕괴점도(breakdown viscosity)가 관찰되었다. 이와 같이 생전분에 비해 상당한 크기의 붕괴점도는 치환반응에 의한 안정화전분에서 주로 관찰되는 특성이다(Kim & Huber, 2010b). 따라서 RX(II)의 반응조건들은 완두전분에 있어 주로 단일 에스테르결합을 형성하는 치환반응을 발생시키는 것으로 판단된다.

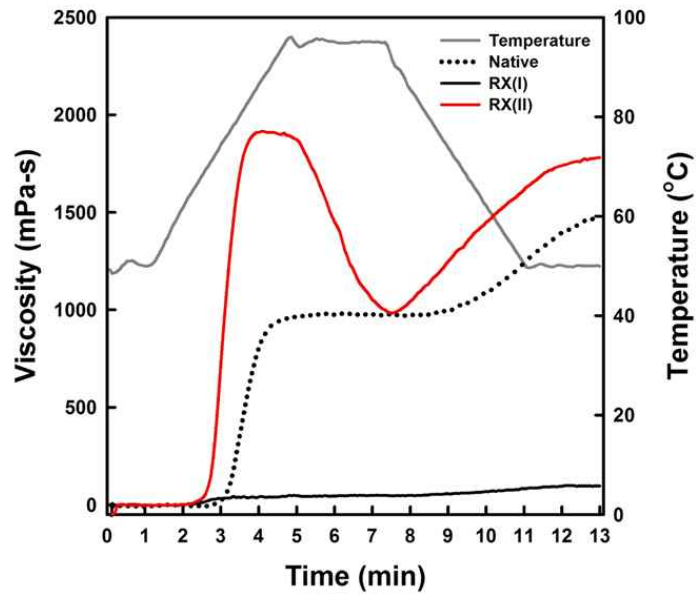


Figure 4-33. Pasting viscosity profiles of native and citrate starches from pea.

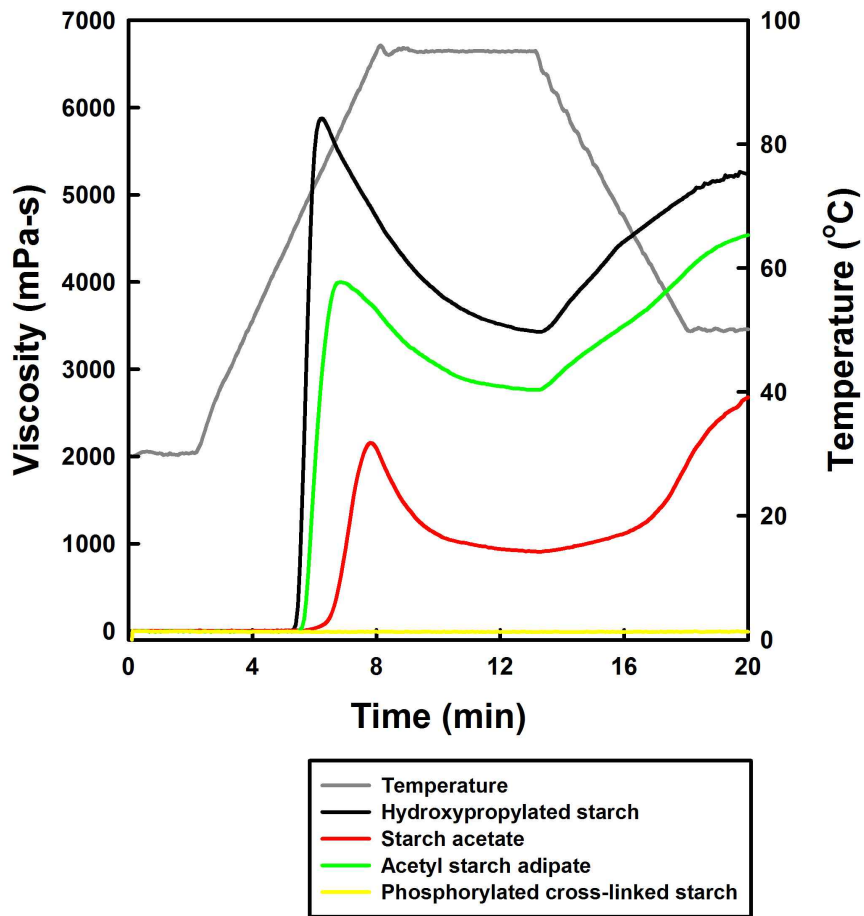


Figure 4-34. Pasting viscosity profiles of commercial products of chemically modified starches.

(4) 카르복시산 감자전분의 물리적 기능성에 대한 카르복시산 종류의 영향

본 사업의 선행된 연구개발에서 구축된 동적건식가열반응기법을 이용하여 서류전분들(감자, 고구마, 타피오카)의 구연산전분을 제조하고 그 특성이 조사되었다. 그 결과 서류전분들, 특히 감자전분과 고구마전분은 지소화성 전분 및 저항전분의 원료로 적합한 것으로 조사되었지만, 물리적 기능성이 생분 보다 현저히 낮아 기존의 상업적 변성전분들을 대체하기 어려운 문제점을 가지고 있었다. 따라서 이러한 서류전분들의 물리적 기능성을 향상시킬 수 있는 카르복시산전분을 개발하기 위해 다양한 카르복시산들(호박산, 말산, 구연산, 아디핀산)을 반응물질로 한 반응조건의 재설정에 대한 연구를 수행하고 있다. 서류전분을 이용하여 카르복시산전분을 제조하기 위해 구연산전분과 관련된 선행연구에서 가장 낮은 페이스팅 점도 특성을 보인 감자전분을 전분원료로 하였으며, 호박산(succinic acid), 사과산(malic acid), 구연산(citric acid), 아이핀산(adipic acid)를 반응물질로 하였다. 감자전분과 카르복시산의 반응혼합물을 전술된 방법에 따라 제조하였으며 사용된 카르복시산의 농도는 감자전분의 건조중량 대비 10%로 고정하였다. 또한 제조된 반응혼합물은 컨백션오븐을 반응기로 하여 정적인 반건조가열반응기법에 의해 카르복시산전분을 제조하였다. 제조된 카르복시산전분의 물리적 기능성은 카르복시산전분의 페이스팅 점도 특성을 조사하여 판단하였다.

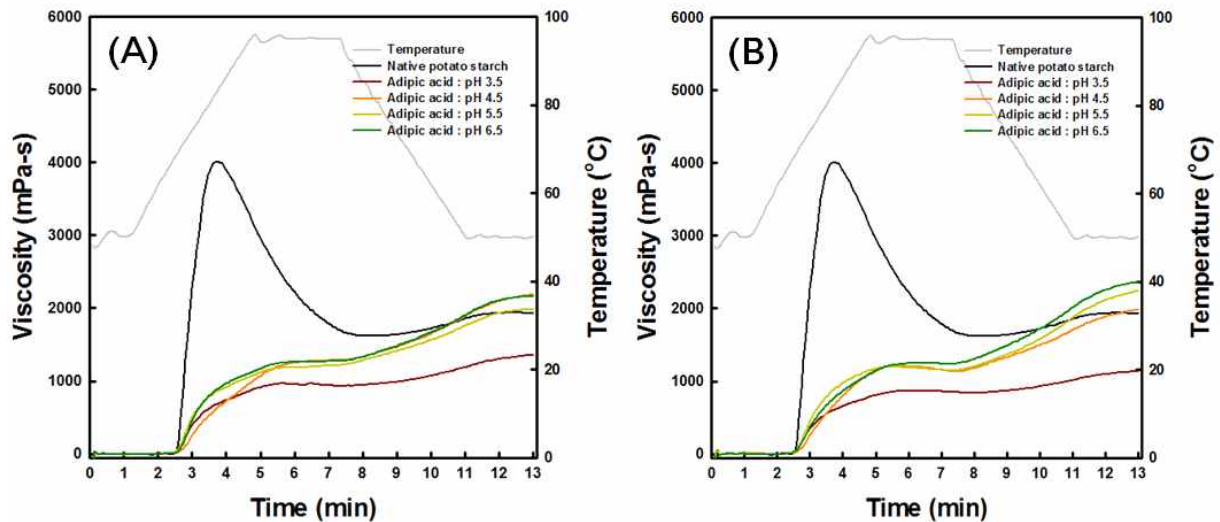


Figure 4-35. Pasting viscosity profiles of adipate potato starches prepared by semi-dry heating reaction (A: 1 h reaction, B: 2 h reaction).

전분원료로 감자전분을, 반응물질로 아디핀산을 사용하여 pH 3.5, 4.5, 5.5, 6.5의 반응혼합물을 제조하고 120°C의 컨백션오븐에 1 h 및 2 h 동안 가열반응 처리하여 아디핀산전분을 제조하였다. 아디핀산의 낮은 용해도로 인해 감자전분과 아디핀산 용액 분산액을 제조할 때 50°C에서 수행하였다. 반응혼합물의 pH에 따라, 반응시간에 따라 제조된 모든 아디핀산전분들은 생감자전분에 비해 여전히 낮은 페이스팅 점도 수준을 나타내었다(Figure 4-35).

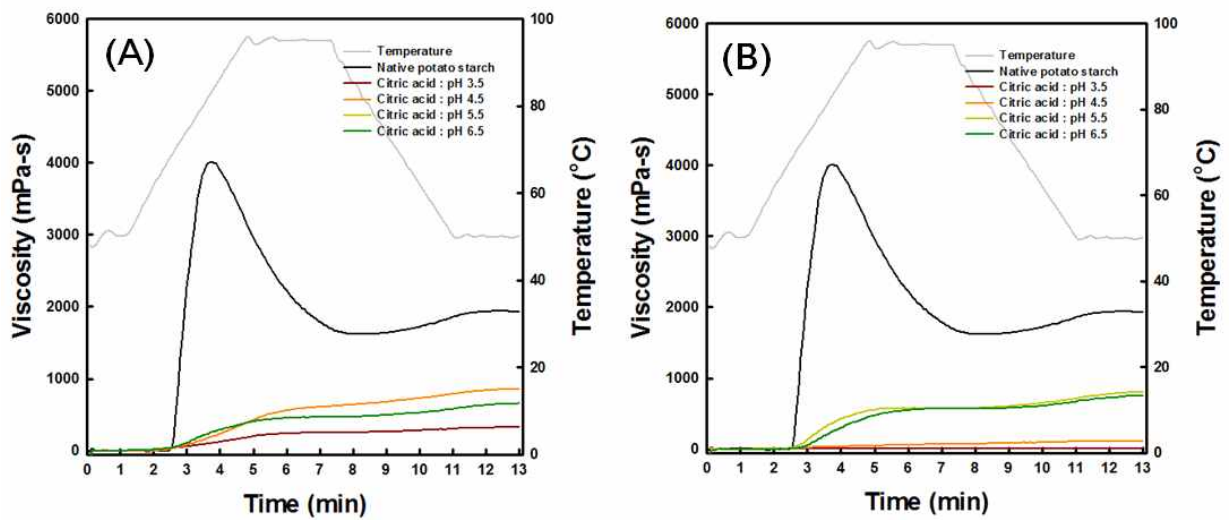


Figure 4-36. Pasting viscosity profiles of citrate potato starches prepared by semi-dry heating reaction (A: 1 h reaction, B: 2 h reaction).

전분원료로 감자전분을, 반응물질로 구연산을 사용하여 pH 3.5, 4.5, 5.5, 6.5의 반응혼합물을 제조하고 120°C의 컨백션오븐에 1 h 및 2 h 동안 가열반응 처리하여 구연산전분을 제조하였다. 반응혼합물의 pH에 따라, 반응시간에 따라 제조된 모든 구연산전분들은 생감자전분에 비해 여전히 낮은 페이스팅 점도 수준을 나타내었다(Figure 4-36).

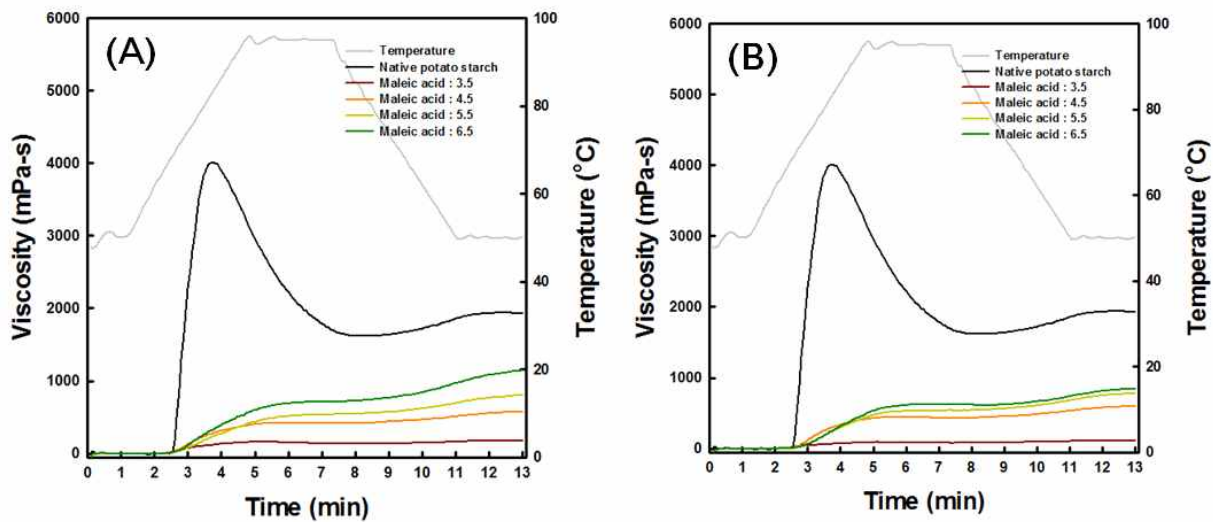


Figure 4-37. Pasting viscosity profiles of malate potato starches prepared by semi-dry heating reaction (A: 1 h reaction, B: 2 h reaction).

전분원료로 감자전분을, 반응물질로 사과산을 사용하여 pH 3.5, 4.5, 5.5, 6.5의 반응혼합물을 제조하고 120°C의 컨백션오븐에 1 h 및 2 h 동안 가열반응 처리하여 사과산전분을 제조하였다. 반응혼합물의 pH에 따라, 반응시간에 따라 제조된 모든 사과산전분들은 생감자전분에 비해 여전히 낮은 페이스팅 점도 수준을 나타내었다(Figure 4-37).

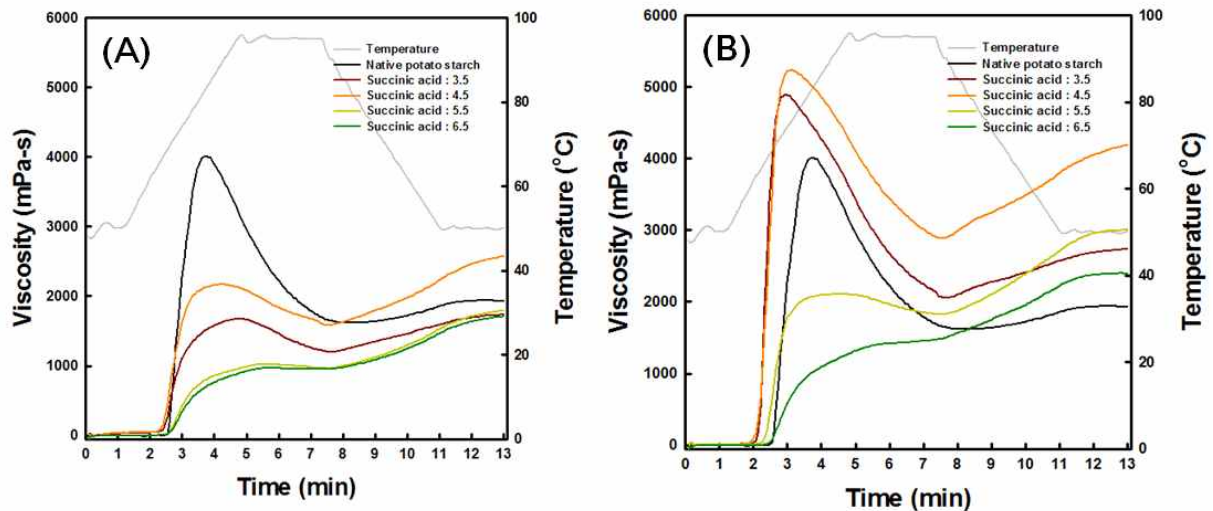


Figure 4-38. Pasting viscosity profiles of succinate potato starches prepared by semi-dry heating reaction (A: 1 h reaction, B: 2 h reaction).

전분원료로 감자전분을, 반응물질로 호박산을 사용하여 pH 3.5, 4.5, 5.5, 6.5의 반응혼합물을 제조하고 120°C의 컨백션오븐에 1 h 및 2 h 동안 가열반응 처리하여 사과산전분을 제조하였다. 120°C에서 1시간 반응시켰을 때 호박산전분들은 다른 카르복시산에 비해 유의적인 페이스팅 점도들이 발달하였으나, pH 4.5의 반응혼합물을 이용한 호박산전분의 최종점도가 생전분을 초과하는 것 이외에는 여전히 pH에 따라 제조된 모든 호박산전분들이 생감자전분에 비해 여전히 낮은 페이스팅 점도 수준을 나타내었다(Figure 4-38A). 그러나 2 h 반응시간으로 제조된 호박산전분들에 있어, pH 5.5와 pH 6.5에서 제조된 호박산전분들은 최종점도가 생감자전분의 것을 초과하였으며, pH 3.5와 pH 4.5에서 제조된 호박산전분들은 생감자전분의 페이스팅 점도 수준을 온도프로파일에 걸쳐 초과하였다.

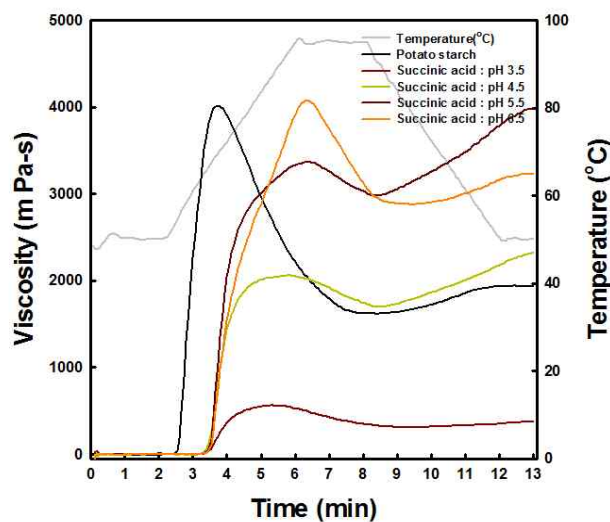


Figure 4-39. Pasting viscosity profiles of succinate potato starches prepared by semi-dry heating reaction for 3 h.

게다가 pH 4.5에서 제조된 호박산전분들이 pH 3.5에서 제조된 것보다 높은 수준의 페이스팅 점도 수준을 나타내었다(Figure 4-38B). 추가로 동일한 조건으로 감자전분-호박산 반응 혼합물을 제조하여 120°C의 컨백션오븐에서 3 h 동안 반응시킨 페이스팅 점도특성을 조사하였다(Figure 4-39). Figure 4-38B의 2시간 반응하였을 때와는 상이한 결과가 나타났다. 2시간 반응하였을 때는 pH 4.5와 pH 3.5에서 제조된 호박산전분의 순서로 페이스팅 점도가 감소하였지만(생감자전분 보다는 높은 수준에서)(Figure 4-38B), 3시간 반응하였을 때는 pH 3.5와 pH 4.5에서 제조된 호박산전분의 페이스팅 점도가 생감자전분보다 감소하였고, pH 5.5와 pH 6.5에서 제조된 호박산전분의 페이스팅 점도가 증가하였다. 따라서 호박산전분을 제조하기 위해서는 2시간의 반응시간이 요구되는 것으로 생각된다.

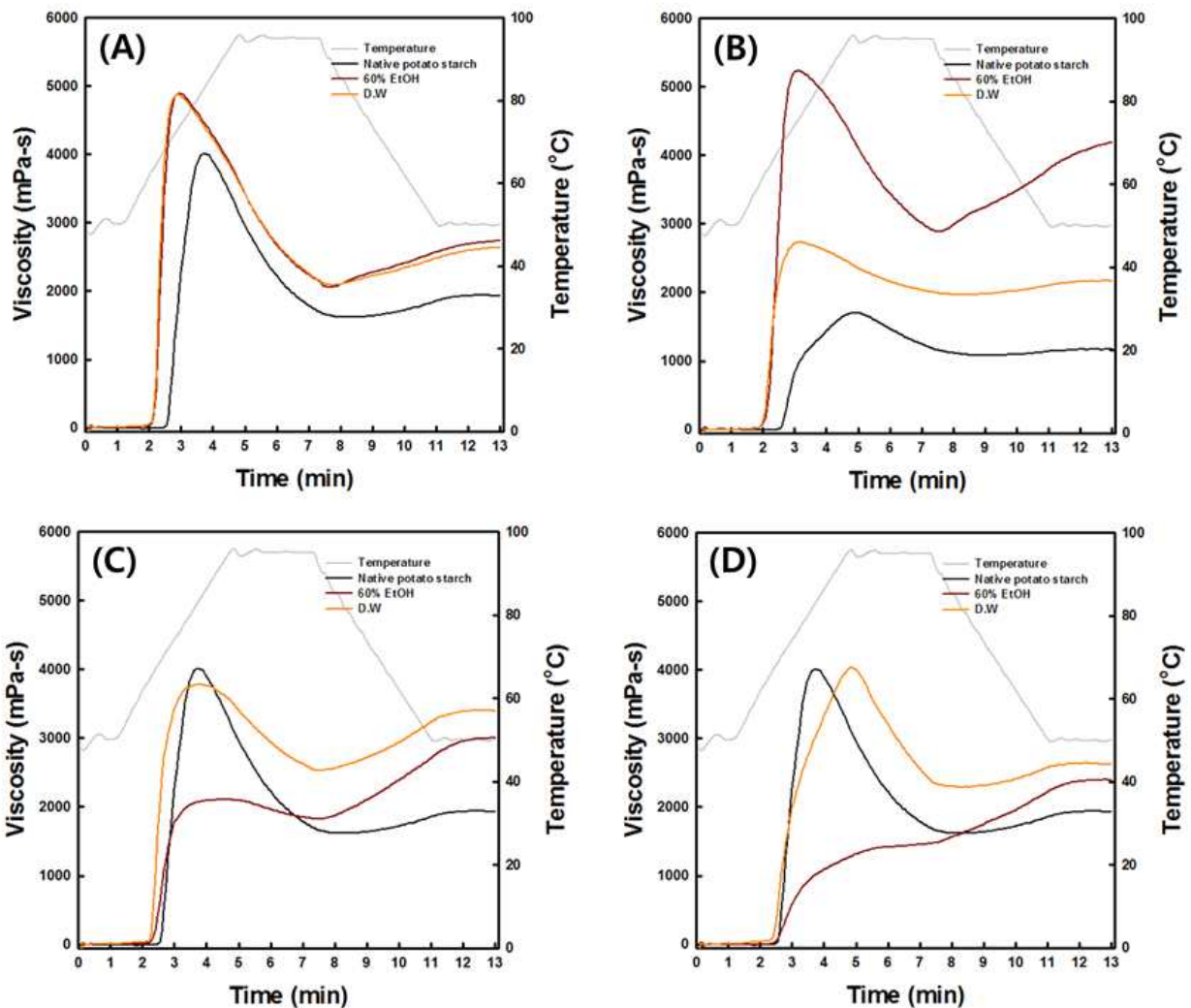


Figure 4-40. Pasting viscosity profiles of succinate potato starches washed with 60% aqueous ethanol and deionized water (A: pH 3.5, B: pH 4.5, C: pH 5.5, D: pH 6.5).

전분-호박산 반응혼합물을 pH를 달리하여 제조한 후 120°C에서 2시간 동안 반응하여 세척하였을 때, 세척용액이 호박산전분의 페이스팅 점도에 미치는 영향을 조사하였다. 이때 사용된 세척용액은 60% 에탄올 수용액과 탈이온수로 하였다.

pH 3.5의 전분-호박산 반응혼합물로부터 제조된 호박산전분들은 생전분에 비해 유의적으로 높은 수준의 페이스팅 점도를 나타내었으며, 세척용액의 종류에 대한 영향은 나타내지 않았다(Figure 4-40A). pH 4.5의 전분-호박산 반응혼합물로부터 제조된 호박산전분의 경우에는 60% 에탄올 수용액으로 세척한 것이 탈이온수로 세척한 것보다 높은 페이스팅 점도를 나타내었으며, 두 경우 모두 생전분의 페이스팅 점도보다 높은 수준을 나타내었다(Figure 4-40B). pH 5.5와 pH 6.5의 전분-호박산 반응혼합물들로부터 제조된 호박산 전분들을 탈이온수로 세척하였을 때, 생전분의 페이스팅 점도보다 낮은 수준을 나타내었으나, 60% 에탄올 수용액으로 세척한 호박산전분들은 생전분의 페이스팅 점도의 최고점도와 유사한 수준을 나타내었으나 최고점도 이후의 페이스팅 점도들은 높은 수준을 유지하였다. 게다가 생전분의 붕괴점도에 비해 현저히 낮은 수준을 나타내었다(Figure 4-40C & B). 결과적으로 구연산 이외의 유기산들 중에서 상업적인 화학적 변성전분들을 대체할 수 있는 반응물질은 호박산이 적합한 것으로 판단되며, 반응조건은 전분-호박산 반응혼합물의 pH가 3.5와 4.5이면서 120°C에서 2시간 가열반응 처리하는 것이었다.

다. 저온플라즈마(low-temperature plasma) 처리에 의한 화학적 변성전분의 제조 및 특성

(1) 유전체 장벽 방전 저온플라즈마 처리에 의한 전분의 에스테르 유도체 제조 및 특성

전분과 음이온성 작용기들 사이의 에스테르 반응에 대한 유전체 장벽 방전(dielectric barrier discharge, DBD) 저온플라즈마 처리요인들의 영향을 탐색하기 위해 전분원료는 일반옥수수전분으로, 음이온성 작용기는 인산염으로 하였다. 일반옥수수전분과 인산염 혼합물을 제조하기 위해 15.27 g Na_2HPO_4 와 43.36 g NaH_2PO_4 를 200 mL의 탈이온수에 용해시킨 후 5 N NaOH와 5 N HCl을 가하여 pH를 조정하여 인산염 용액을 제조하였다. 제조된 인산염 용액에 100 g의 일반옥수수전분을 가하여 상온에서 20분간 교반하고 이를 스테인레스강 쟁반에 넣어 50°C에서 수분함량이 10% 미만일 때까지 건조하였다. 건조된 일반옥수수전분-인산염 혼합물들은 분쇄하여 상온에서 보관하면서 DBD 저온플라즈마의 처리의 반응혼합물로 사용하였다. 이때 전분과 phosphorus의 몰비는 1:1 이었다. DBD 저온플라즈마의 형성을 위한 플라즈마형성 가스는 Ar 가스로 하였다.

Table 4-29. Factors and levels for phosphate esterification between normal corn starch and phosphate groups by DBD low-temperature plasma treatment

Factors	Actual levels		
	-1	0	+1
A: Voltage (V)	100	120	140
B: pH	4	5	6
C: Time (min)	10	20	30

일반옥수수전분과 인산염 사이의 인산-에스테르화 반응에 대한 DBD 저온플라즈마 처리 조건의 영향을 조사하기 위해 처리요인을 입력전압(voltage, V), 반응혼합물의 pH, 처리시간으로 하여 Box-Benhken design에 의해 실험조건들을 설계하였다. 처리요인들과 요인들의 처리수준은 Table 4-29에, 설계된 실험조건들은 Table 4-30에 나타내었다. 설계된 실험조건에 따라 DBD 저온플라즈마 처리된 일반옥수수전분-인산염 반응혼합물의 반응정도는 DBD 저온플라즈마 처리 후 세척된 일반옥수수전분-인산염 반응혼합물의 페이스팅 점도의 변화량을 이용하여 간접적으로 평가하였다. 실험조건에 따라 처리된 일반옥수수전분-인산염 반응혼합물의 페이스팅 점도 프로파일을 Figure 4-41에, 각 pH 별 무처리 반응혼합물의 페이스팅 점도에 대한 DBD 저온플라즈마 처리된 반응혼합물의 페이스팅 점도의 증감비율은 Table 4-30에 나타내었다.

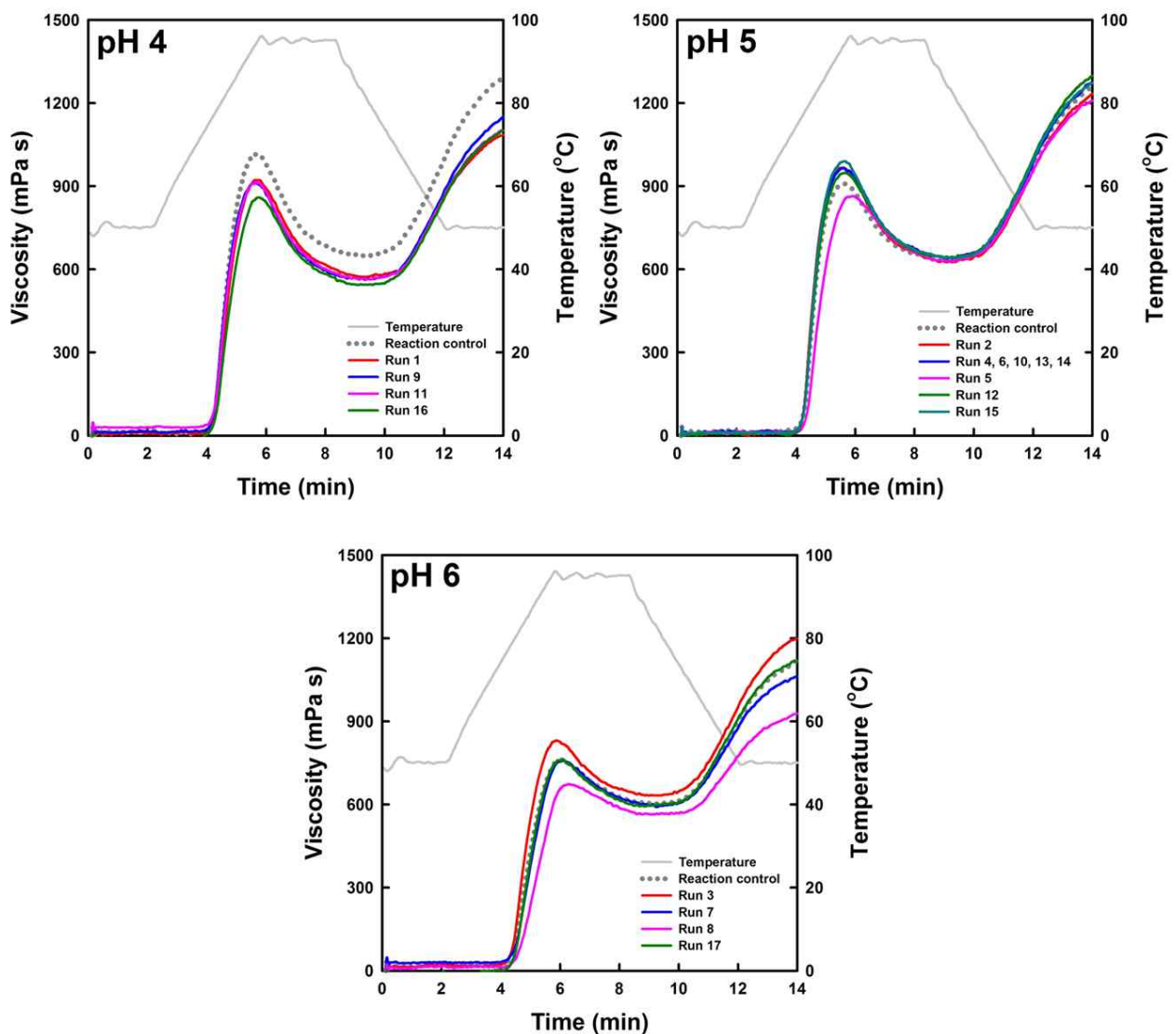


Figure 4-41. Pasting viscosity profiles of reaction mixtures of normal corn starch and phosphate salt treated with DBD low-temperature plasma.

Table 4-30. Experimental conditions and pasting viscosity deviation of normal corn starch-phosphate salt mixtures treated by DBD low-temperature plasma

Run	Voltage (V)	pH	Time (min)	Pasting viscosity deviation* (%)
1	120	4	30	-12.7
2	140	5	30	0.4
3	120	6	30	7.0
4	120	5	20	2.5
5	100	5	10	-3.6
6	120	5	20	2.7
7	140	6	20	-2.0
8	120	6	10	-13.8
9	120	4	10	-11.3
10	120	5	20	2.6
11	140	4	20	-11.6
12	140	5	10	2.6
13	120	5	20	2.7
14	120	5	20	2.9
15	100	5	30	3.1
16	100	4	20	-16.5
17	100	6	20	-2.2

*Mean values of three replicate measurements

일반옥수수전분-인산염 반응혼합물의 페이스팅 점도의 증감율은 -16.7% - 7.0%의 범위에 있었다(Table 4-30). 여기서 “-” 값은 일반옥수수전분-인산염 반응혼합물 내의 인산기들이 DBD 쿨드플라즈마에 의해 전분분자들과 부분적인 가교반응을 통해 인산화 가교전분(phosphorylated cross-linked starch)을, “+” 값은 단일전분분자들에 있어 인산기가 수식된 일인산전분(starch monophosphate)를 나타내는 것 같다. Table 4-30에 제시된 실험조건들에 따라 DBD 저온플라즈마 처리된 일반옥수수전분-인산염 반응혼합물의 페이스팅 점도 증감율을 이용하여 반응표면분석을 수행하였고, ANOVA 분석결과를 Table 4-31에 나타내었다. 일반옥수수전분-인산염 반응혼합물의 페이스팅 점도 증감율은 입력전압(A)에 대해 유의적이지 않았으나 반응혼합물의 pH와 처리시간은 유의적이었다($p < 0.01$). 또한 입력전압과 반응혼합물 pH ($p > 0.05$), 입력전압과 처리시간($p > 0.05$) 사이에는 유의적인 상호작용이 존재하지 않았으나, 반응혼합물 pH와 처리시간 사이에는 일반옥수수전분-인산염 반응혼합물의 페이스팅 점도 증감율에 대한 유의적인 상호작용($p < 0.01$)이 존재하였다.

Table 4-31. Analysis of variance (ANOVA) analysis for pasting viscosity deviations of normal corn starch-phosphate mixture treated with DBD low-temperature plasma depending on experimental conditions constructed by Box-Benhken design

Source	Sum of square	DF	Mean square	F-value	<i>p</i> -value
Regression	843.7	9	93.7	19.1	0.0004
A	9.6	1	9.6	2.0	0.2050
B	210.3	1	210.3	42.8	0.0003
C	71.7	1	71.7	14.6	0.0065
AB	5.5	1	5.5	1.1	0.3254
AC	19.7	1	19.7	4.0	0.0854
BC	123.3	1	123.3	25.1	0.0015
A ²	6.2	1	6.2	1.3	0.2990
B ²	382.4	1	382.4	77.9	< 0.0001
C ²	3.0	1	3.0	0.6	0.4587
Residual	34.4	7	4.9		
Lack of fit	34.3	3	11.4	522.1	< 0.0001
Pure error	0.1	4	0.0		
Corrected total	878.1	16			
(R ² =0.9609)					

일반옥수수전분-인산염 반응혼합물의 페이스팅 점도 증감율에 대한 perturbation plot과 반응표면곡선을 Figure 4-42에 나타내었다. 페이스팅 점도 변화율에 대한 반응혼합물의 pH와 처리시간의 상호작용을 고려하였을 때, 처리시간이 적을 때는 점도변화율이 pH 4에서 pH 5 부근으로 상승하면서 증가하여 pH 5 부근에서 가장 높은 변화율을 나타내었고, pH를 높이는 경우 인산전분의 페이스팅 점도 변화율이 감소하는 경향을 나타내었다. 게다가 처리시간이 10분에서 30분으로 증가하면서 인산전분의 페이스팅 점도 변화율을 최고치에 도달하는 pH는 pH 5에서 pH 6부근으로 상승하였다. 한편 반응표면분석 결과에 기초하여 DBD 저온플라즈마 처리에 의한 일반옥수수전분-인산염 반응혼합물의 페이스팅 점도 증감율에 대한 최적조건을 수치해석법에 의해 설정하였다. 제약조건은 유의성을 나타내지 않은 입력전압은 120 V로 고정하고 반응혼합물의 pH와 처리시간은 본 연구에서 설정된 범위 안으로 설정하였고, 페이스팅 점도 변화율은 최대일 때로 하였다. 이때 입력전압 120 V, pH 5.47, 처리시간 28.54 min 이 desirability 1.000으로 최적 처리조건으로 설정되었다. 입력전압을 120 V로 고정한 것은 이 입력전압에서 DBD 저온플라즈마 처리장치에 과부하를 주지 않으며 안정적인 플라즈마를 형성할 수 있기 때문이었다.

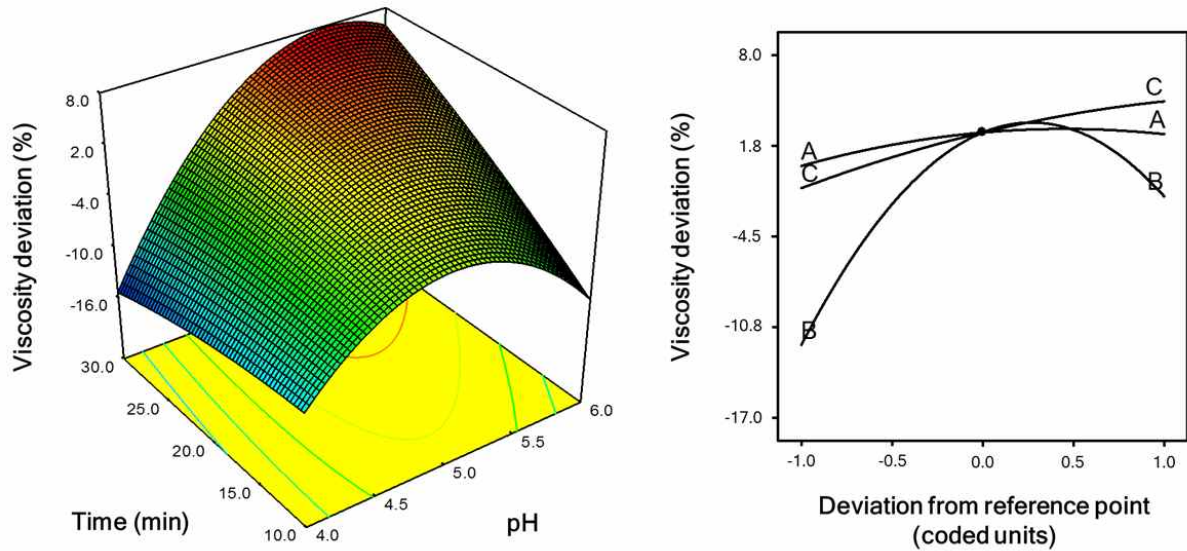


Figure 4-42. Response surface and perturbation plot describing the interaction between reaction mixture pH and time on pasting viscosity deviation of normal corn starch-phosphate mixtures treated with DBD low-temperature plasma.

상기 연구를 통해 DBD 저온플라즈마의 처리조건(입력전압, 반응혼합물의 pH, 처리시간)에 대해 알아보았다. 이 조건들 이외에 DBD 콜드플라즈마 처리에 있어 플라즈마 형성 가스는 중요한 요인인 것으로 알려져 있다. 그래서 플라즈마 형성 가스의 조성(산소 첨가 유무)에 대한 연구를 수행하였다. 본 연구에 사용된 DBD 저온플라즈마 장치에 있어 입력전압은 전분분자와 인산염 사이에 유의적인 영향을 미치지 않는다는 결과에 기초하여 DBD 저온플라즈마 처리의 입력전압은 DBD 저온플라즈마 장치에 부하를 주지 않으면서 안정적으로 플라즈마를 형성할 수 있는 120 V로 하였으며, 처리시간은 증가할수록 반응성이 증가한다는 결과에 기초하여 30분으로 고정하였다. 반응물질로 무수구연산, 인산염, 황산염으로 하고 pH (4, 5, 6)를 달리하여 반응혼합물을 제조하고 반응가스를 Ar 가스와 Ar-O₂ 혼합가스(80:20, v/v)로 하였다. 반응혼합물들은 무수구연산과 일반옥수수전분은 1:11.8의 물 비율로, 인산염과 일반옥수수전분은 1:1의 물 비율로, 황산염과 일반옥수수전분은 1:1의 물 비율로 제조하여 DBD 저온플라즈마 처리하였다. 각 조건에 따라 처리된 반응혼합물들은 세척하여 반응에 참여하지 않은 구연산, 인산염, 황산염들을 제거하여 구연산전분, 인산전분, 황산전분으로 하였고, 이들의 물리화학적 특성을 조사하였다. 한편 물 치환도(molar degree of substitution)는 DBD 저온플라즈마 처리에 의해 제조된 구연산전분, 인산전분과 황산전분 내의 무수구연산, 인과 황 함량은 역적정법(구연산전분)과 ICP-AES (인산전분 및 황산전분)을 이용하여 분석하여 Table 4-32에 나타내었다. 구연산전분은 Ar 가스만을 사용한 경우 0.040~0.044, Ar-O₂ 혼합가스의 경우 0.038~0.042의 물 치환도를 나타내었다. 또한 주어진 반응혼합물 pH 조건에서 Ar 가스를 이용한 것들이 Ar-O₂ 혼합가스의 경우보다 미미하지만 높은 수준을 나타내었다. 처리군들의 물 치환도가 큰 차이를 나타내지 않는 것은 DBD 저온플라즈마 처리조건들이 전분과 구연산 사이의 반응의 정도에 큰 영향을 미치지 않았거나 본 연구에서 사용한 역적정법의 민감성이 낮아 처리군들에 있어 유의적인 차이를 식별하지 못했을 것으로 생각된다.

인산전분의 몰 치환도(Table 4-32)는 Ar 가스만을 사용한 경우 0.004~0.032의 범위를, Ar-O₂ 혼합가스를 사용한 경우 0.004~0.044의 범위를 나타내었으며, 반응혼합물의 pH가 증가할수록 몰 치환도가 증가하는 양상을 나타내었다. 반응혼합물 pH 6에서 주어진 플라즈마 형성가스에서 가장 높은 반응성을 나타내었다. 주어진 반응혼합물 pH에서 pH 4와 pH 5의 경우에는 플라즈마 형성가스에 관계없이 유사한 몰치환도를 나타내었지만, pH 6에서는 Ar-O₂ 혼합가스를 이용하여 저온플라즈마 처리한 처리군이 Ar 가스만을 사용한 처리군보다 높은 반응성을 나타내었다. 한편 황산전분의 몰 치환도는 Ar 가스만을 사용한 경우 0.004~0.006의 범위를, Ar-O₂ 혼합가스를 사용한 경우 0.004~0.042의 범위를 나타내었다. 인산전분의 경우와는 달리 Ar 가스만을 사용한 처리군들의 몰 치환도는 반응혼합물 pH에 따라 상이하지 않았으나 Ar-O₂ 혼합가스를 처리군들은 반응혼합물 pH가 증가하면서 증가하는 양상을 나타내었다. 결과적으로 구연산(carboxylic acid group)을 반응물질로 사용할 때는 플라즈마 형성 가스는 큰 영향을 미치지 않았고, 인산염을 반응물질로 사용할 때는 반응혼합물 pH가 중요요인이었으며, 황산염을 반응물질로 사용할 때는 반응혼합물 pH가 5와 6에서 Ar-O₂ 혼합가스를 플라즈마 형성 가스로 사용하여야 전분과 음이온성 작용기들 사이에서 반응이 일어날 수 있는 것으로 판단된다.

Table 4-32. Mean¹⁾ values of molar degree of substitution (MS) of citrate starch, phosphate starch, and sulfate starches

Starch	pH	Molar degree of substitution	
		Ar	Ar-O ₂
Citrate	4	0.044±0.002	0.042±0.000
	5	0.040±0.000	0.039±0.001
	6	0.041±0.000	0.038±0.000
Phosphate	4	0.004±0.000	0.004±0.000
	5	0.010±0.001	0.009±0.001
	6	0.032±0.001	0.044±0.000
Sulfate	4	0.006±0.000	0.004±0.001
	5	0.006±0.001	0.040±0.000
	6	0.004±0.001	0.042±0.000

¹⁾Mean values of three replicate measurements; values sharing the same lowercase letters are not significantly different at $p < 0.05$.

FT-IR 분석을 통해 DBD 저온플라즈마 처리에 의해 전분과 음이온성 작용기들 사이에서 에스테르 결합이 성공적으로 형성되었는지를 조사하였고, FT-IR 스펙트럼들은 Figure 4-43에 나타내었다.

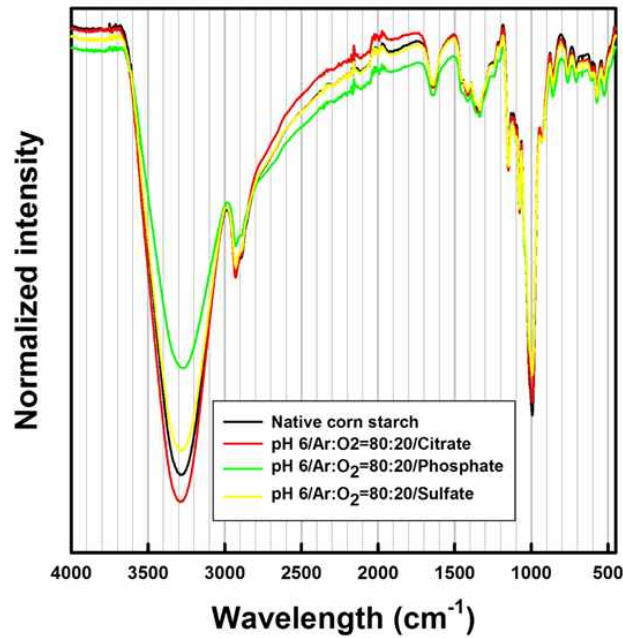


Figure 4-43. FT-IR spectra of citrate starch, phosphate starch, and sulfate starch treated at pH 6.0 with DBD low-temperature plasma under the plasma forming gas of Ar-O₂.

물 치환도(Table 4-32)가 가장 높은 조건에서 처리된 구연산전분, 인산전분 및 황산전분의 FT-IR 스펙트럼을 얻었을 때, 에스테르결합을 나타내는 특정 피크는 관찰되지 않았다(Figure 4-43). 그러나 전분의 hydroxyl group (-OH)을 나타내는 3100~3200 cm⁻¹에서 생전분의 것에 비해 증감이 관찰되었으며, carbonyl group (C=O)을 나타내는 1650 cm⁻¹에서도 증감이 관찰되었다. 이러한 FT-IR 스펙트럼의 패턴 변화는 음이온성 작용기들이 전분과 화학반응을 하였다는 것을 암시하는 것 같다. 다른 조건들에서 제조된 구연산전분, 인산전분 및 황산전분의 FT-IR 스펙트럼들도 피크의 강도에 있어 차이를 나타내었지만 Figure 4-43에 제시된 FT-IR 스펙트럼들에서 관찰된 피크들의 변화와 유사한 양상을 나타내었다(data not shown).

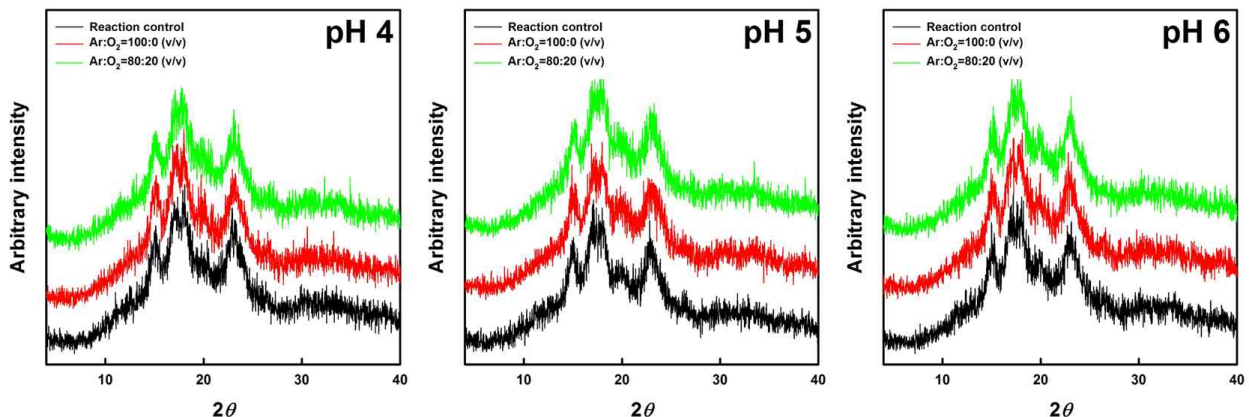


Figure 4-44. X-ray diffraction patterns of citrate starches by DBD low-temperature plasma treatment.

DBD 저온플라즈마 처리에 의해 형성된 구연산전분, 인산전분, 황산전분의 X선 회절 패턴을 조사하여 각각 Figure 4-44, 4-45와 4-46에 나타내었다. 구연산전분들은 모든 경우에 있어 A형 결정구조를 나타내었다(Figure 4-44). 반응혼합물의 pH에 관계없이 무처리 반응혼합물(reaction control)에 비해 Ar 가스만을 사용하였을 때는 결정피크가 높아졌지만, Ar-O₂ 혼합가스를 사용한 경우에는 X-ray diffractogram은 전반적으로 낮아졌으며, 특히 결정피크가 유의적으로 감소한 것을 알 수 있었다.

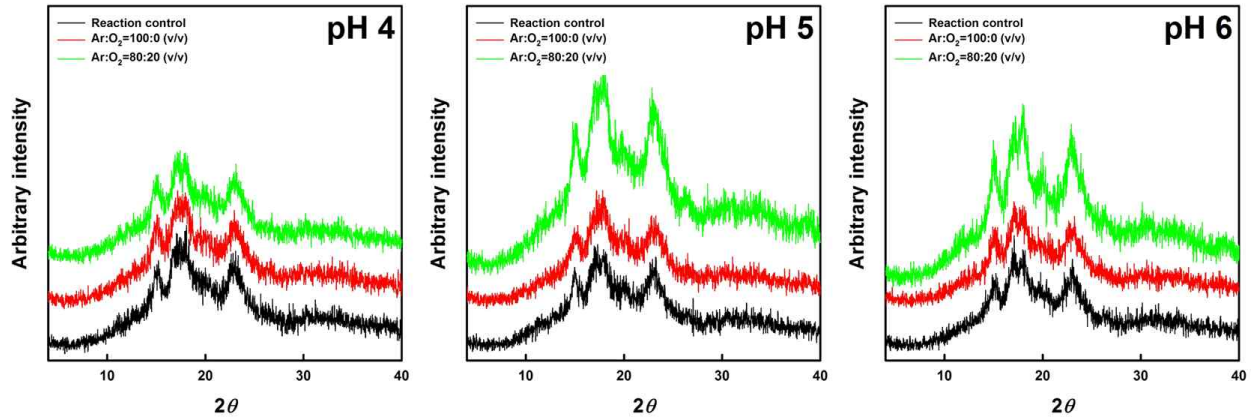


Figure 4-45. X-ray diffraction patterns of phosphate starches by DBD low-temperature plasma treatment.

인산전분도 모든 경우에 있어 A형 결정구조를 나타내었다(Figure 4-45). 모든 반응혼합물 pH 조건에 있어 Ar 가스만을 사용한 경우에는 구연산전분에서와 같이 X-ray diffractogram이 전반적으로 감소하였으며 결정 피크도 역시 약화되거나 약간 변형이 일어났다. 그러나 Ar-O₂ 혼합가스를 사용한 경우에는 반응혼합물 pH 5와 6에서 무정형 피크의 감소와 더불어 결정피크가 유의적을 강화된 것을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 전분분자와 인산염 사이에 가교 결합이 형성되었기 때문으로 예상된다.

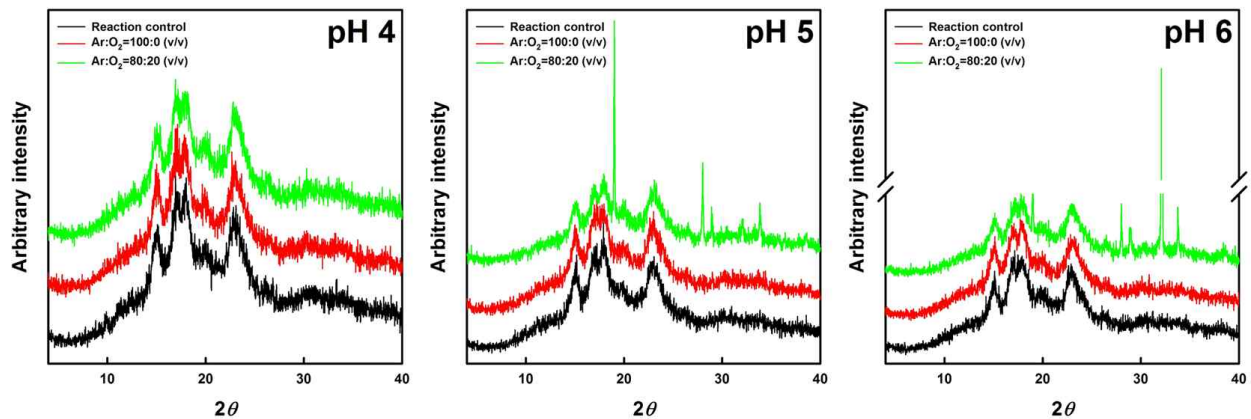


Figure 4-46. X-ray diffraction patterns of sulfate starches by DBD low-temperature plasma treatment.

반응혼합물 pH 4의 황산전분의 X선 회절패턴은 A형 결정구조를 나타내었으며(Figure 4-46), 구연산전분에서 관찰된 것과 유사한 양상(Figure 4-44)을 나타내었다. 그러나 반응혼합물 pH 5와 6에서 Ar 가스만을 사용한 경우에는 무처리 반응혼합물들의 X선 회절패턴과 유사하였으나 Ar-O₂ 혼합가스를 사용한 경우들은 특이한 피크들이 검출되었다(Figure 4-46). pH 5 및 6의 반응혼합물들로부터 Ar-O₂ 혼합가스를 이용한 경우 관찰된 특정 피크들은 회절강도가 극히 높은 수준을 나타내었다. 이와 같은 X선 회절양상은 황산염과 전분분자들 사이의 가교결합을 통해 새로운 결정구조가 형성된 것으로 예상된다.

Table 4-33. Mean¹⁾ values of solubility and swelling power of citrate starch, phosphate starch, and sulfate starch

Starch	pH	Solubility (%, s.b)		Swelling power (g/g)	
		Ar	Ar-O ₂	Ar	Ar-O ₂
Citrate	4	9.2±0.1	8.3±0.8	10.5±0.1	10.1±0.0
	5	11.9±0.3	12.3±1.0	12.2±0.1	11.6±0.2
	6	13.7±0.7	15.0±0.6	13.3±0.0	12.9±0.0
Phosphate	4	N/D ²⁾	N/D	N/D	N/D
	5	N/D	N/D	N/D	N/D
	6	N/D	N/D	N/D	N/D
Sulfate	4	8.8±0.0	9.6±0.2	10.0±0.1	9.8±0.1
	5	9.9±0.1	9.4±0.1	10.2±0.2	8.6±0.1
	6	11.4±1.7	9.7±0.5	10.8±0.4	8.7±0.2

¹⁾Mean values of three replicate measurements; values sharing the same lowercase letters are not significantly different at $p < 0.05$.

²⁾Not detected because the gelatinized (at 85°C) phosphate starches can not be clearly separated into the supernatant and precipitate (swollen phosphate starch).

DBD 저온플라즈마에 의해 가스조성을 달리하여 제조된 구연산전분, 인산전분 및 황산전분의 용해도와 팽윤력은 측정하여 Table 4-33에 나타내었다. 인산전분들의 경우 모든 처리군들이 본 연구에서 채택한 용해도와 팽윤력 측정법에 의할 때 호화 후 원심분리에 의해 상등액과 침전물이 명확하게 구분되지 않아 용해도와 팽윤력을 측정할 수 없었다. 한편 구연산전분에 있어 가스조성에 관계없이 pH가 증가하면서 용해도와 팽윤력이 증가하는 양상을 나타내었다. 게다가 용해도는 주어진 pH 조건에서 Ar 가스에 산소가 첨가되면서 증가하는 경향을 나타내었으나 팽윤력은 감소하였다.

황산전분에 있어 Ar 가스만을 사용할 경우 용해도는 pH가 증가하면서 증가하였지만 Ar 가스에 산소가 첨가될 때 pH에 관계없이 유사한 수준을 나타내었다. 팽윤력은 Ar 가스를 사용하였을 때 pH와 관계없이 일정하였으나, Ar 가스에 산소가 첨가될 때 pH가 증가하면서 감소하는 경향을 나타내었다.

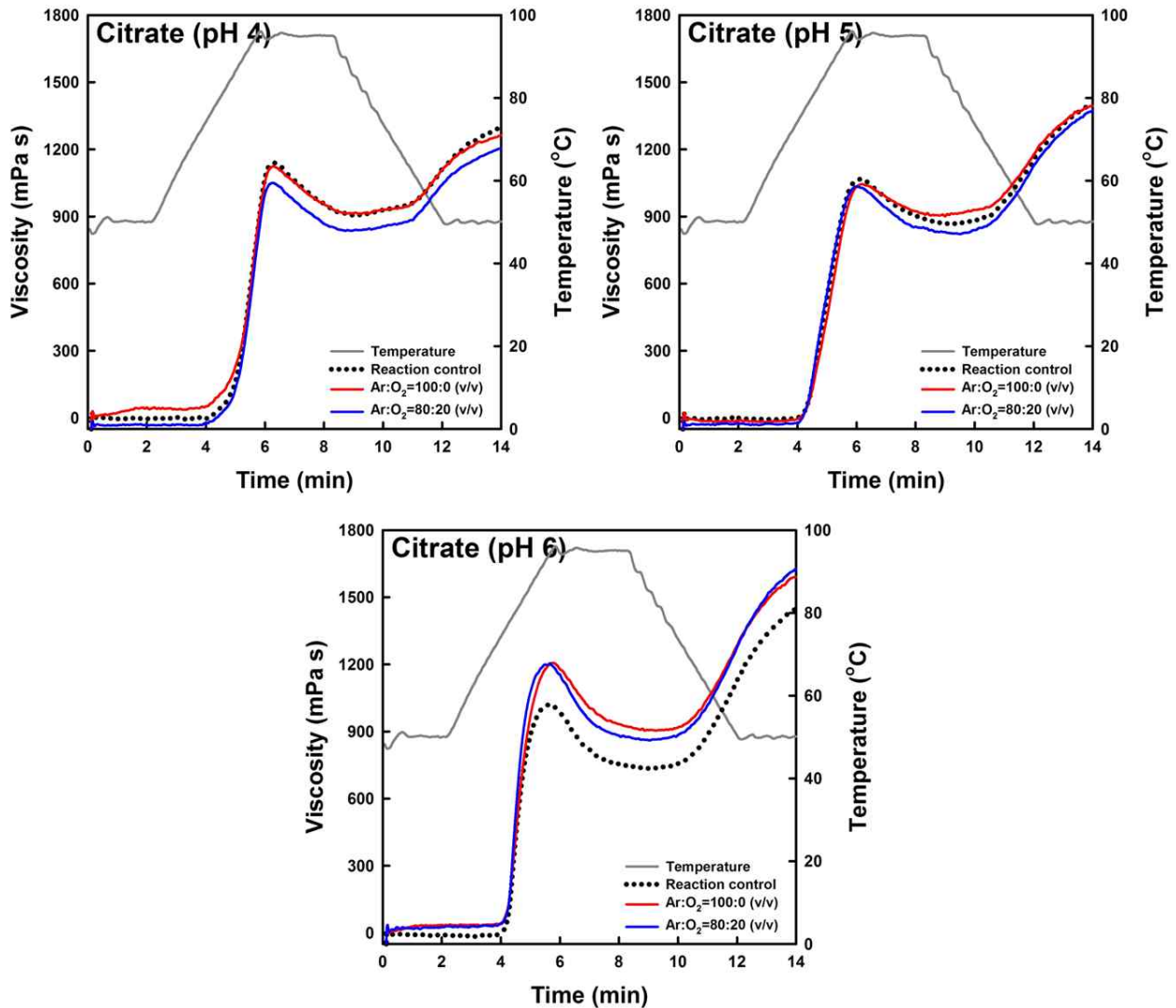


Figure 4-47. Pasting viscosity profiles of citrate starches treated with DBD low-temperature plasma.

구연산전분, 인산전분, 황산전분의 페이스팅 점도 프로파일은 각각 Figure 4-47, 4-48와 4-49에 나타내었다. 구연산전분과 관련하여(Figure 4-47), pH 4의 구연산전분은 Ar 가스를 반응가스로 사용하였을 때 무처리 반응혼합물의 페이스팅 점도와 거의 유사하였으며, Ar-O₂ 혼합가스를 사용하였을 경우에는 무처리 반응혼합물의 페이스팅 점도보다 낮은 수준을 나타내었다. pH 5의 구연산전분은 Ar 가스와 Ar-O₂ 혼합가스를 반응가스로 사용하였을 때 무처리 반응혼합물의 페이스팅 점도 프로파일과 거의 유사한 수준을 나타내었다.

그러나 Ar 가스 처리군이 Ar-O₂ 혼합가스 처리군보다 최고점도 이후부터 전반적으로 높은 수준을 나타내었다. 한편 pH 6의 구연산전분은 Ar 가스와 Ar-O₂ 혼합가스 처리군들 모두 무처리 반응혼합물보다 높은 수준의 페이스팅 점도 특성을 나타내었다(Figure 4-47).

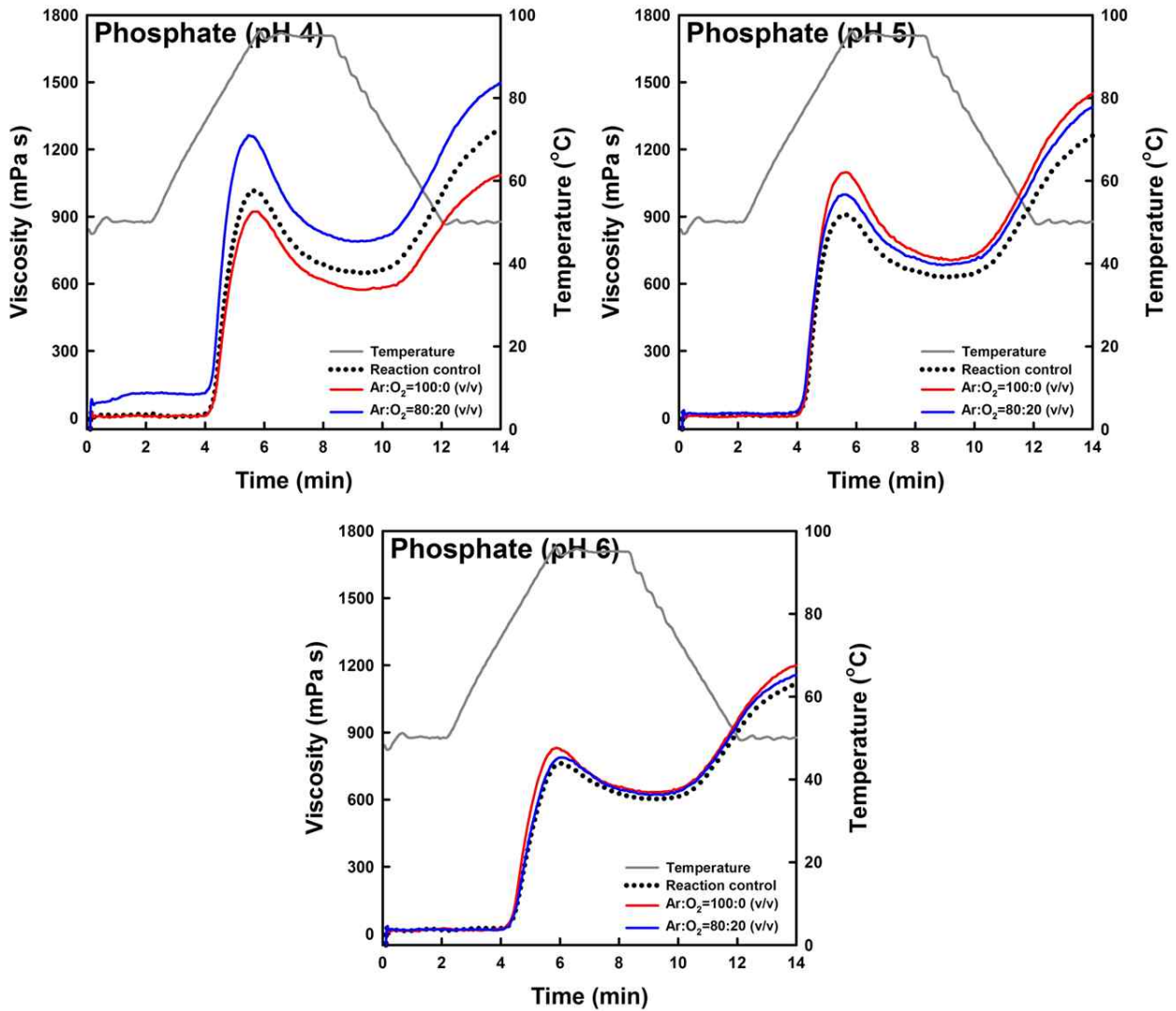


Figure 4-48. Pasting viscosity profiles of phosphate starches treated with DBD low-temperature plasma.

인산전분과 관련하여(Figure 4-48), pH 4의 인산전분은 Ar 가스만으로 처리된 경우 무처리 반응혼합물에 비해 낮은 수준의 페이스팅 점도를 나타내었으나, Ar-O₂ 혼합가스의 경우에는 무처리 반응혼합물보다 유의적으로 높은 수준의 페이스팅 점도를 나타내었다. pH 5의 인산전분은 Ar 가스와 Ar-O₂ 혼합가스 처리군들 모두 무처리 반응혼합물의 페이스팅 점도보다 높은 수준을 나타내었으며, Ar 가스 처리군이 Ar-O₂ 혼합가스 처리군보다 높은 수준의 페이스팅 점도를 보였다. pH 6의 인산전분은 Ar 가스와 Ar-O₂ 혼합가스 처리군들이 무처리 반응혼합물보다 미미하게 높은 수준의 페이스팅 점도를 나타내었다.

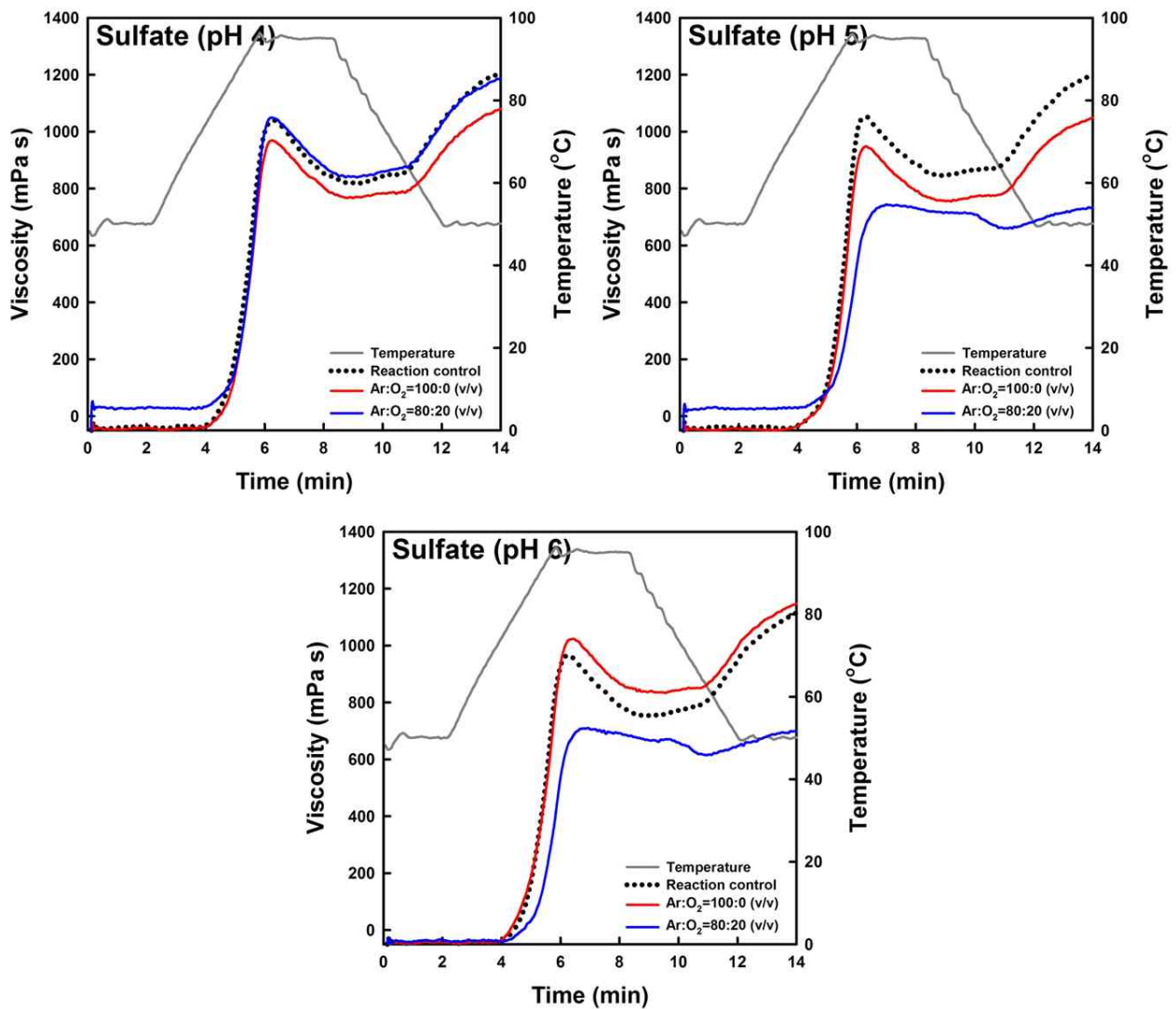


Figure 4-49. Pasting viscosity profiles of sulfate starches treated with DBD low-temperature plasma.

황산전분과 관련하여(Figure 4-49), pH 4의 황산전분은 Ar 가스만으로 처리된 경우 무처리 반응혼합물에 비해 낮은 수준의 페이스팅 점도를 나타내었으나, Ar-O₂ 혼합가스의 경우에는 무처리 반응혼합물보다 극히 작은 차이로 페이스팅 점도가 높았다. pH 5의 황산전분은 Ar 가스와 Ar-O₂ 혼합가스 처리군들 모두 무처리 반응혼합물의 페이스팅 점도보다 낮은 수준을 나타내었으며, Ar 가스 처리군이 Ar-O₂ 혼합가스 처리군보다 높은 수준의 페이스팅 점도를 보였다. pH 6의 황산전분은 Ar 가스 처리군이 무처리 반응혼합물 보다 높은 수준의 페이스팅 점도를 나타내었으나 Ar-O₂ 혼합가스 처리군은 무처리 반응혼합물에 비해 유의적으로 낮은 수준의 페이스팅 점도를 나타내었다. 특히 pH 5와 6의 반응혼합물들을 Ar-O₂ 혼합가스로 처리한 것들은 상업적인 인산화 가교전분과 유사한 경향의 페이스팅 점도를 나타내었다.

(2) 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리에 의한 전분의 에스테르 유도체 제조 및 특성

선행된 연구에서 DBD 저온플라즈마 처리가 전분과 음이온성 작용기들 사이의 에스테르 화합물들의 합성에 영향을 미친다는 것을 확인하였다. 그래서 또 다른 저온플라즈마 방식인 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마(microwave-discharged cold plasma, MWCP)를 이용하여 전분과 음이온성 작용기들 사이의 에스테르 유도체 형성시킬 수 있는지를 조사하였다. 전분과 구연산, 인산염, 황산염의 반응혼합물은 선행된 DBD 저온플라즈마 처리의 연구에서 사용된 것들과 동일한 것을 사용하였다. 문헌상(Kim & Min, 2017)에서 전분과 구연산 사이의 반응성에 대한 N_2 가스와 N_2-O_2 혼합가스(80:20, v/v)가 유의적인 차이를 나타내지 않는다는 결과에 기초하여 본 연구개발의 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마의 형성을 위한 플라즈마 형성 가스는 N_2 가스만을 사용하였다. 또한 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마는 플라즈마를 안정적으로 형성할 수 있는 출력전압 900 W에서 장치에 부하를 주지 않는 20분 동안 처리하였다.

마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리를 통해 얻어진 구연산전분, 인산전분, 황산전분의 FT-IR 스펙트럼은 DBD 저온플라즈마 처리에 의한 것들과 다르지 않았으나 이들 각각의 무처리 반응혼합물들의 피크의 강도 차이는 DBD 저온플라즈마 처리된 것에서 관찰되는 것처럼 큰 차이를 나타내지는 않았다.(data not shown). 또한 XRD 패턴은 구연산전분, 인산전분, 황산전분의 반응혼합물들과 상이하지 않은 양상을 나타내었다(data not shown). 이러한 결과들은 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리가 DBD 저온플라즈마 처리보다는 전분과 음이온성 작용기들 사이의 에스테르화반응에 미미하게 영향을 미친다는 것을 가리키는 것 같다. 그럼에도 물리적 및 열적 특성에 대한 영향을 조사하여 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리의 유효성을 조사하였다.

마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리에 의한 구연산전분, 인산전분, 황산전분의 용해도를 Table 4-34에 나타내었다. 구연산전분의 용해도와 관련하여 무처리 반응혼합물은 pH가 증가하면서 증가하는 양상을 나타내었다. 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리된 구연산전분들은 각각의 무처리 반응혼합물에 비해 pH 4에서는 증가하였으며, pH 5에서는 변화가 없었으며, pH 6에서는 감소하는 경향을 나타내었다. 인산전분의 용해도와 관련하여 무처리 반응혼합물에서는 pH 5에서 가장 낮았으며, pH 6에서 가장 높은 수준을 나타내었다. 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리된 인산전분들은 각각의 무처리 반응혼합물에 비해 pH 4, 5 및 6의 모든 반응혼합물 pH에서 유의적인 변화를 나타내지 않았다. 황산전분의 용해도와 관련하여 무처리 반응혼합물에서는 pH 5에서 가장 낮았으며, pH 4에서 가장 높은 수준을 나타내었다. 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리된 황산전분들은 인산전분에서 관찰된 것과 같이 각각의 무처리 반응혼합물의 용해도와 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 전반적으로 용해도에 있어 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마는 미미하지만 전분과 구연산 사이의 에스테르화 반응에 영향을 미치는 것으로 보이며, 인산염과 황산염에는 영향을 미치지 않는 것으로 보인다.

Table 4-34. Mean¹⁾ values of solubility and swelling power of citrate starches, phosphate starches, and sulfate starches treated with microwave-discharged cold plasma (MWCP)

Condition		Solubility ²⁾ (%)		Swelling power ²⁾ (g/g)	
Type	pH	Untreated	MWCP-treated	Untreated	MWCP-treated
Citrate	4	9.5±0.2	10.6±0.0	14.2±0.2	15.8±0.1
	5	12.3±0.6	12.6±0.7	13.5±0.2	14.1±0.1
	6	12.4±0.1	11.5±0.1	13.8±0.4	14.1±0.1
Phosphate	4	6.0±0.4	6.4±0.2	7.0±0.3	7.2±0.1
	5	5.1±0.0	5.6±0.1	7.1±0.7	7.0±0.0
	6	7.3±0.4	6.8±0.0	7.0±0.2	7.6±0.1
Sulfate	4	9.8±0.2	9.3±0.5	10.9±0.1	10.7±0.4
	5	7.7±0.5	8.2±0.0	10.9±0.9	10.8±0.5
	6	8.2±0.2	8.7±0.4	10.6±0.7	12.2±0.9

¹⁾Mean values of three replicate measurements; values sharing the same lowercase letters are not significantly different at $p < 0.05$.

²⁾Determined at 85°C.

마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리에 의한 구연산전분, 인산전분 및 황산전분의 팽윤력을 Table 4-34에 나타내었다. 인산전분과 황산전분의 무처리 반응혼합물은 반응혼합물 pH에 따른 팽윤력의 변화는 관찰되지 않았다. 게다가 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리된 처리군들은 이들 각각의 무처리 반응혼합물의 팽윤력과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 구연산전분에 있어 무처리 반응혼합물은 팽윤력의 평균값에 있어 pH 4에서 가장 높았으나 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 또한 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리된 처리군들에서 pH 4와 5의 것들이 이들의 무처리 반응혼합물보다 유의적으로 높은 팽윤력을 나타내었으나, pH 6의 것은 무처리 반응혼합물과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 전반적으로 팽윤력에 있어 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마는 미미하지만 전분과 구연산 사이의 에스테르화 반응에 영향을 미치는 것으로 보이며, 인산염과 황산염에는 영향을 미치지 않는 것으로 보인다. 한편 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리에 의한 구연산전분, 인산전분 및 황산전분의 소화특성을 조사하여 Table 4-35에 나타내었다. 조사된 처리군들 대부분의 소화온도와 소화엔탈피는 무처리 반응혼합물과 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리군들과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 다만 pH 4의 전분-인산 반응혼합물의 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리군은 이의 무처리 반응혼합물보다 높은 소화온도를 나타내었으며, pH 5의 전분-인산 반응혼합물의 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리군은 이의 무처리 반응혼합물보다 낮은 소화온도를 나타내었다.

Table 4-35. Mean¹⁾ values of gelatinization property of citrate starches, phosphate starches, and sulfate starches treated with microwave-discharged cold plasma (MWCP)

Condition	Treatment	Gelatinization temperature(°C)			Gelatinization enthalpy (J/g)	
		Onset	Peak	Completion		
Type	pH					
Citrate	4	Untreated	66.1±0.1	70.6±0.2	79.7±0.5	13.9±0.6
		MWCP-treated	66.0±0.0	70.3±0.1	78.7±0.5	13.7±0.1
	5	Untreated	67.3±0.1	71.7±0.1	80.2±0.4	12.9±0.7
		MWCP-treated	67.2±0.0	71.7±0.2	79.9±0.1	13.0±0.7
	6	Untreated	68.7±0.0	73.0±0.0	81.3±0.3	12.9±0.7
		MWCP-treated	68.4±0.1	72.8±0.2	80.6±0.9	12.4±2.4
Phosphate	4	Untreated	82.8±0.3	86.9±0.6	93.3±0.5	8.4±0.1
		MWCP-treated	84.6±0.4	88.5±0.4	94.1±0.2	6.9±0.3
	5	Untreated	83.9±0.5	88.1±0.1	93.9±0.4	7.2±0.8
		MWCP-treated	82.6±0.2	87.0±0.2	93.3±0.2	7.7±0.2
	6	Untreated	83.3±0.3	88.9±0.4	94.5±0.5	6.0±0.5
		MWCP-treated	83.3±0.2	88.3±0.0	94.6±0.1	6.6±0.4
Sulfate	4	Untreated	65.0±0.0	69.5±0.1	77.8±0.3	11.6±1.0
		MWCP-treated	65.2±0.3	69.6±0.1	77.8±0.5	12.1±2.6
	5	Untreated	64.8±0.5	69.5±0.6	78.2±0.1	13.7±2.2
		MWCP-treated	65.1±0.3	69.5±0.0	77.7±0.4	11.6±2.4
	6	Untreated	65.2±0.1	69.7±0.0	78.2±0.0	12.1±0.7
		MWCP-treated	65.2±0.2	69.7±0.1	77.6±0.4	11.4±0.9

¹⁾Mean values of three replicate measurements; values sharing the same lowercase letters are not significantly different at $p < 0.05$.

마이크로웨이브 방전 저온플라즈마에 의해 제조된 구연산전분, 인산전분 및 황산전분의 용해도, 팽윤력 및 호화특성에서 유의적인 차이를 발견할 수 없었다. 그럼에도 페이스팅 점도에 있어 차이가 나는 경우가 있기 때문에 이를 확인하기 위해 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마에 의해 제조된 구연산전분, 인산전분 및 황산전분과 이들 각각의 무처리 반응혼합물들에 대한 페이스팅 점도 특성을 조사하여 Figure 4-50, Figure 4-51과 Figure 4-52에 나타내었다.

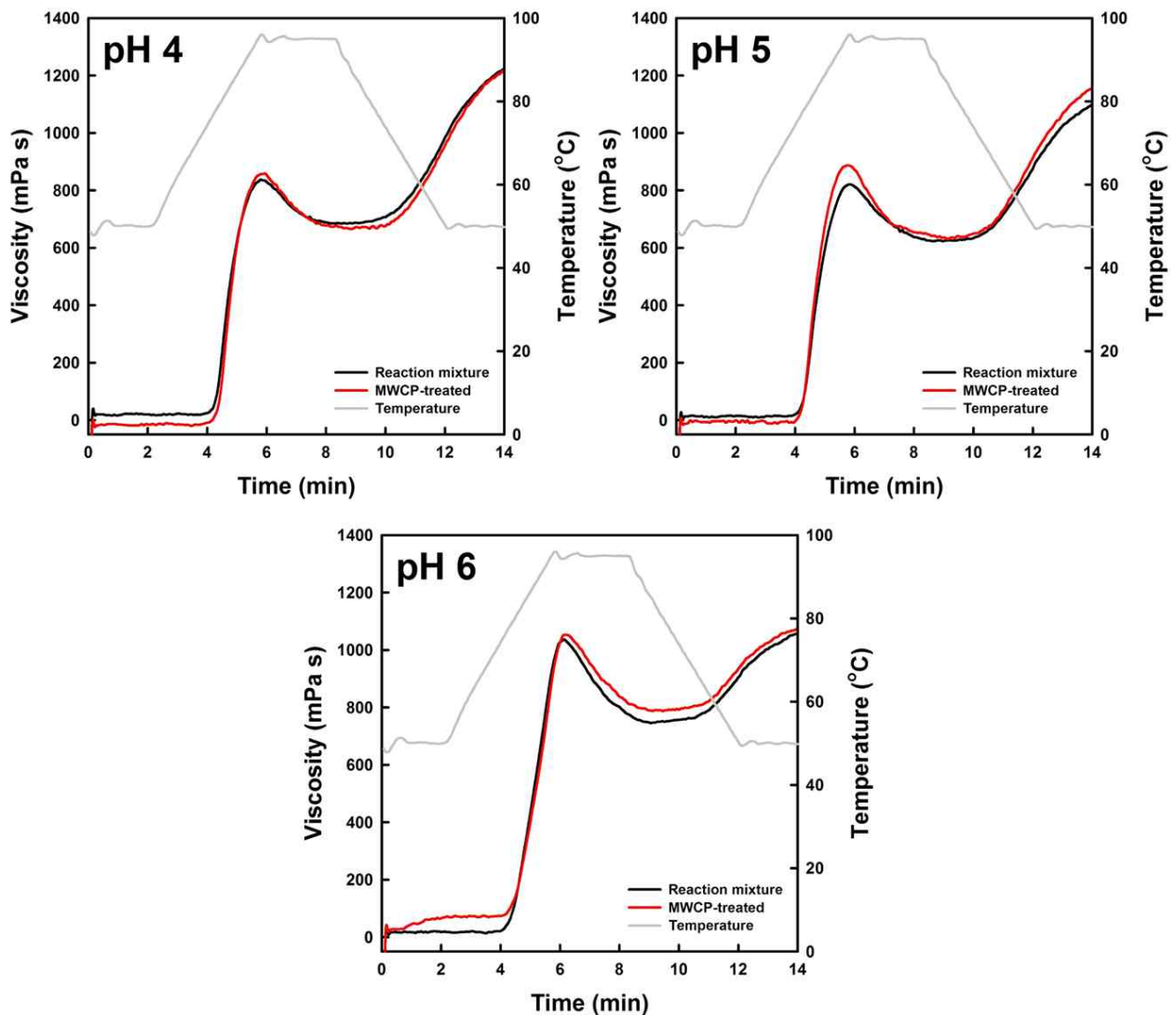


Figure 4-50. Pasting viscosity profiles of citrate starches treated with microwave-discharged cold plasma (MWCP).

마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리에 의한 구연산전분의 페이스팅 점도 특성과 관련하여(Figure 4-50), pH 4의 전분-구연산 반응혼합물의 구연산전분은 이의 무처리 반응혼합물의 페이스팅 점도 프로파일과 거의 유사하였다. pH 5의 전분-구연산 반응혼합물의 구연산전분은 이의 무처리 반응혼합물에 비해 최고점도와 최종점도가 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리에 의해 미미하게 상승하였고, 전반적으로 미미한 수준이지만 높은 페이스팅 점도를 나타내었다. pH 6의 전분-구연산 반응혼합물의 구연산전분은 최고점도 형성 시부터 최종점도까지 무처리 반응혼합물의 페이스팅 점도에 비해 높은 수준을 나타내었다. 그러나 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리군들은 이들 각각의 무처리 반응혼합물들에 비해 유사하거나 높은 페이스팅 점도를 나타내었지만 페이스팅 점도의 증가 수준은 매우 미약하여 거의 효과가 없는 것으로 판단되며, 최종적으로는 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마는 전분과 구연산 사이의 에스테르화 반응에 영향을 미치지 않거나 매우 미약한 수준으로 미치는 것으로 판단된다.

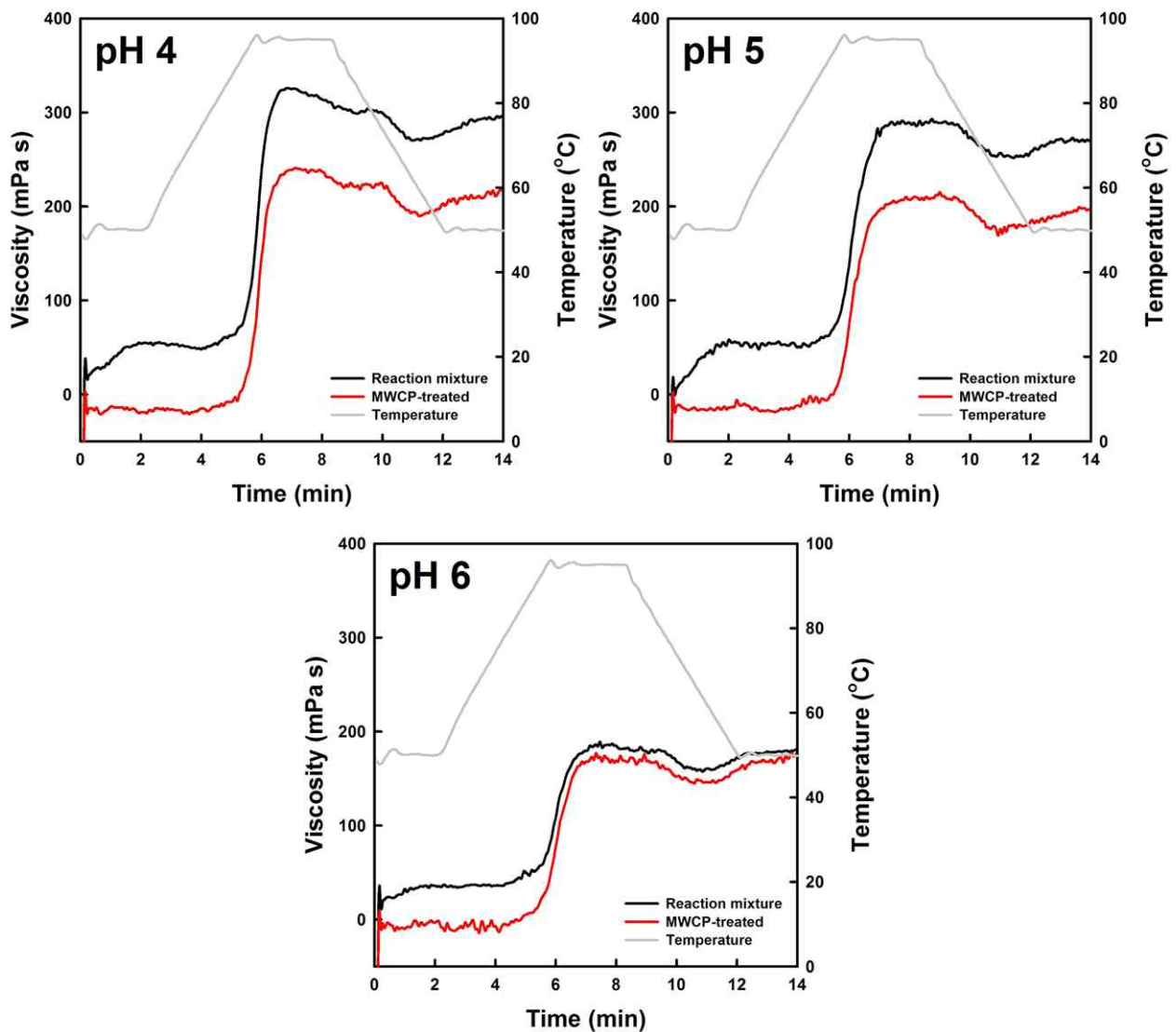


Figure 4-51. Pasting viscosity profiles of phosphate starches treated with microwave-discharged cold plasma (MWCP).

마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리에 의한 인산전분의 페이스팅 점도 특성과 관련하여(Figure 4-51), pH 4, 5, 6의 전분-인산염 반응혼합물들의 인산전분들은 이들 각각의 무처리 반응혼합물의 페이스팅 점도보다 유의적으로 낮은 수준을 나타내었다. pH 6에서 합성된 인산전분은 이의 무처리 반응혼합물의 페이스팅 점도와 차이가 pH 4와 5에서의 인산전분들에 비해 가장 낮은 수준이었다. 한편 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리에 의한 황산전분의 페이스팅 점도 특성도 인산전분에서 관찰된 양상과 유사하였다(Figure 4-52). 다만 인산전분에서는 pH 6에서 무처리 반응혼합물의 페이스팅 점도와 차이가 가장 적었지만, 황산전분에서는 이러한 현상은 pH 4에서 관찰되었다. 이와 같은 무처리 반응혼합물에 비해 인산전분과 황산전분이 낮은 수준의 페이스팅 점도를 나타내는 것은 아마도 인산염 및 황산염이 마이크로웨이브 방전 플라즈마 하에서 전분 분자들과 다중 에스테르화 반응을 통해 가교전분을 형성하는 것으로 생각된다.

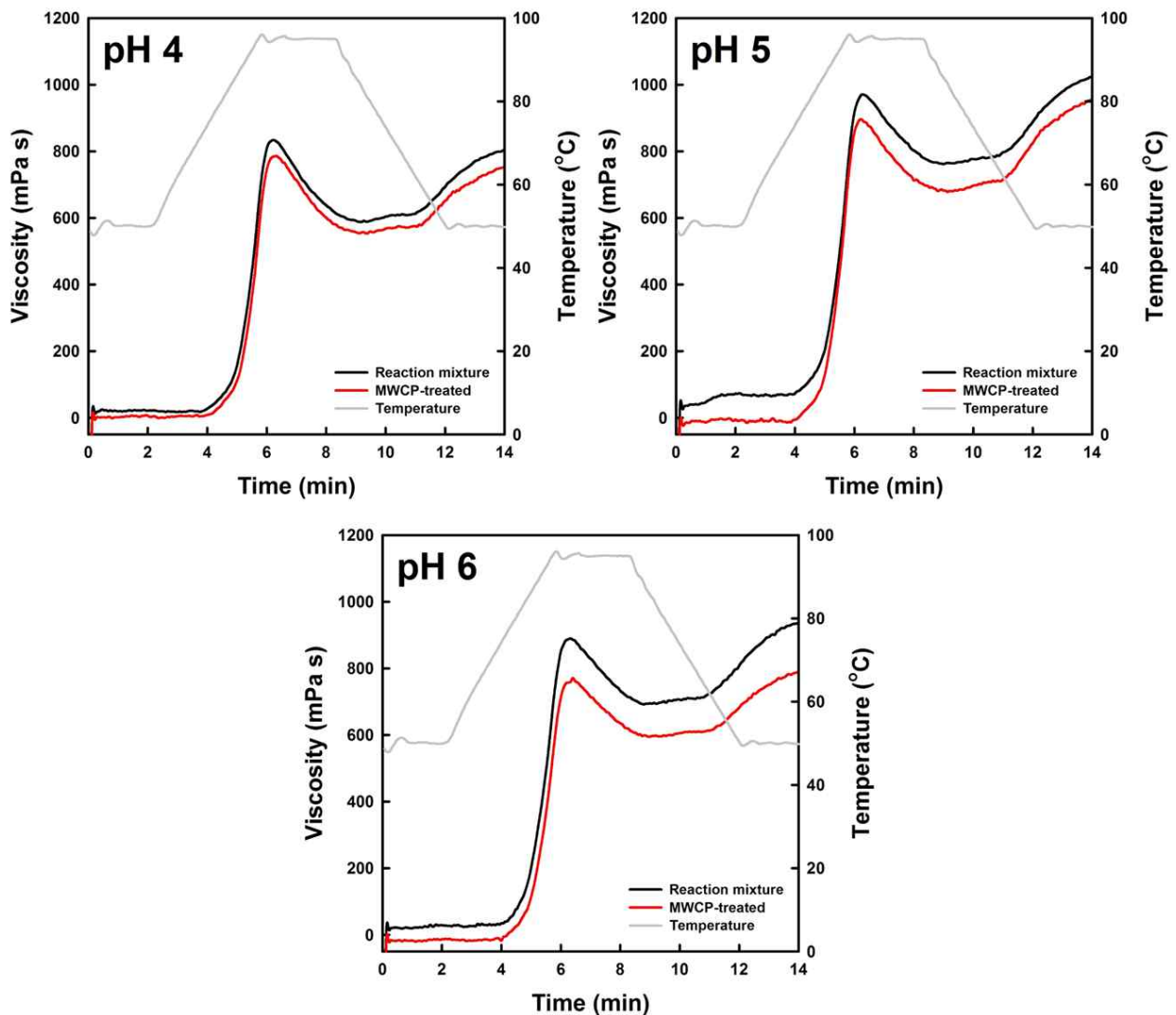


Figure 4-52. Pasting viscosity profiles of sulfate starches treated with microwave-discharged cold plasma (MWCP).

인산전분과 황산전분에서 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마에 의한 다중 에스테르화 반응에 의한 가교전분의 형성은 Table 4-34의 인산전분과 황산전분의 용해도 차이에 의해 증명될 수 있다. 인산전분과 황산전분의 용해도는 이들 각각의 무처리 반응혼합물들의 것과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 만약 인산전분과 황산전분의 페이스팅 점도들의 감소가 마이크로웨이브 방전 플라즈마의 처리 동안 전분분자들의 부분적 가수분해에 의한 것이라면 인산전분과 황산전분의 용해도는 이들 각각의 무처리 반응혼합물들의 것들에 비해 증가된 수준이어야 함에도 그렇지 않았기 때문이다. 따라서 모든 결과들을 종합할 때, 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마는 구연산전분 제조에는 적합하지 않으며, 인산전분과 황산전분에 있어서도 가교반응에 의한 저항전분의 생산을 목적으로 할 경우에만 적용될 수 있을 것이다. 그럼에도 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마 처리를 저항전분 생산에 사용한다하더라도 기존에 개발된 반건조가열반응이나 본 연구에서 개발된 동적순환식가열반응기법에 의한 것보다 반응효율이 극히 낮을 것으로 판단되어 효용성이 극히 적을 것으로 생각된다.

(3) 유전체 장벽 방전 저온플라즈마에 의한 전분과 음이온성 하이드로콜로이드 중합체 개발

선행된 마이크로웨이브 및 유전체 장벽 방전(DBD) 저온플라즈마를 이용한 전분과 음이온성 작용기들 사이의 반응에 대한 저온플라즈마 처리조건의 영향을 조사하였다. 선행된 연구의 결과에 의하면 유전체 장벽 방전(DBD) 저온플라즈마 처리가 전분과 음이온성 작용기들 사이의 반응을 촉매하는 것이 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마보다 더욱 용이한 것으로 판단되었다. 따라서 전분과 음이온성 하이드로콜로이드 중합체를 형성하기 위해 DBD 저온플라즈마 처리공정을 채택하였다. 본 연구를 수행하기 위해 감자전분, 고구마전분, 멍쌀전분 및 찹쌀전분을 전분소재들로, carboxymethylcellulose, λ -carrageenan, sodium alginate (Na-alginate), low-methoxyl (LM)-pectin과 xanthan을 음이온성 하이드로콜로이드로 하였다. 반응혼합물은 음이온성 하이드로콜로이드를 1% (w/w) 농도로 용해시킨 후 0.1 N HCl을 가하여 pH 5.5로 조정하였다. 이때 sodium alginate의 경우에는 pH를 조정하기 위해 0.1 N HCl를 가할 때 sodium alginate가 겔을 형성하였기 때문에 pH 조정 단계를 생략하였다. 음이온성 하이드로콜로이드 용액에 전분소재 99 g (d.b)을 가하여 상온에서 30분간 혼합한 후 스테인레스강 쟁반에 부어 50°C에서 수분함량이 10% 미만이 될 때까지 건조하였다. 전분과 음이온성 하이드로콜로이드의 혼합비율은 건조중량 대비 99:1 이었다. 건조된 반응혼합물을 분쇄하여 50 mesh 표준체망을 통과시켜 폴리프로필렌 샘플병에 넣어 보관하면서 사용하였다. 제조된 반응혼합물은 자체 제작된 석영페트리디쉬에 넣고 DBD 저온플라즈마 장치에 넣고 5분 동안 Ar-O₂ 혼합가스(80:20, v/v)를 주입한 후 전력(입력전압 120 V)을 공급하여 플라즈마를 형성시켰다. 저온플라즈마 처리는 Ar-O₂ 혼합가스를 지속적으로 공급하면서 30분 동안 처리하였다. 처리된 전분-하이드로콜로이드 소재들은 세척 없이 분석에 사용하였다.

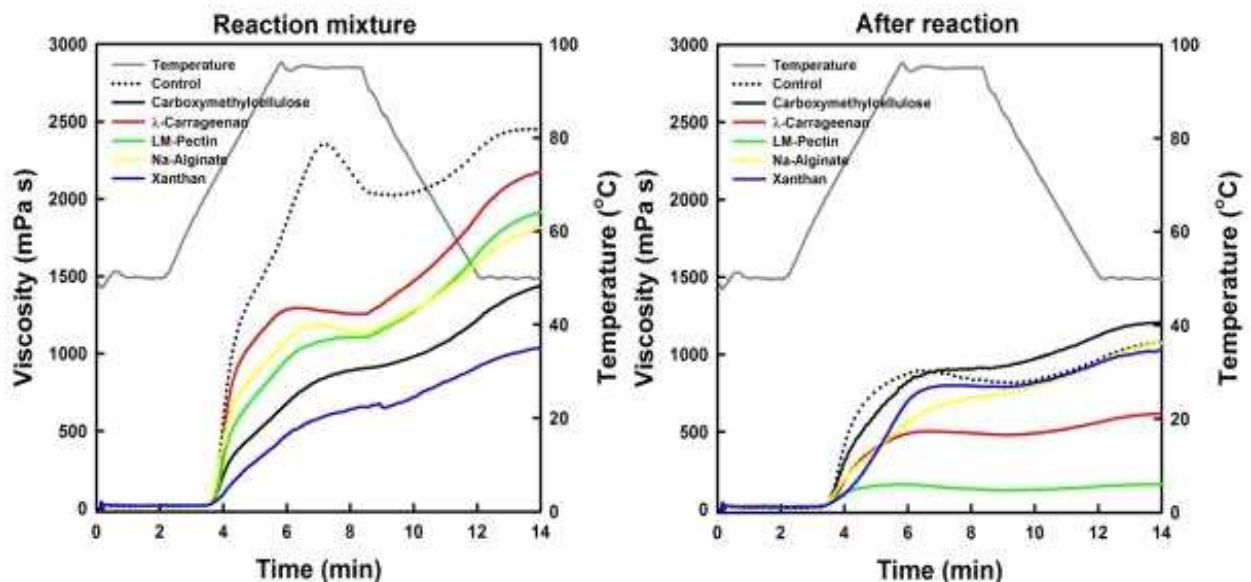


Figure 4-53. Pasting viscosity profiles of untreated (reaction mixture) and DBD low-temperature plasma-treated (after reaction) potato starch-anionic hydrocolloid mixtures.

감자전분과 음이온성 하이드로콜로이드를 혼합하여 제조한 반응혼합물과 DBD 저온플라즈마 처리 혼합물의 페이스팅 점도 프로파일을 조사하여 Figure 4-53에 나타내었다. 반응혼합물들에 있어(Figure 4-53 Reaction mixture) 감자전분이 감자전분-음이온성 하이드로콜로이드 혼합물보다 높은 수준의 페이스팅 점도를 나타내었다. 감자전분-음이온성 하이드로콜로이드 혼합물에 있어(Figure 4-53 Reaction mixture) 감자전분에서 관찰되는 최고점도는 관찰되지 않았으며, 최종점도는 λ -carrageenan > LM-pectin > Na-Alginate > CMC > Xanthan 순으로 증가하였다. 반면 DBD 저온플라즈마 처리된 혼합물들에서는 모든 처리군들이 이들의 반응혼합물들 각각의 페이스팅 점도보다 전반적으로 감소하였고, 최종점도는 CMC > 감자전분(Control) \approx Na-alginate > xanthan > λ -carrageenan > LM-pectin 순으로 증가하였다.

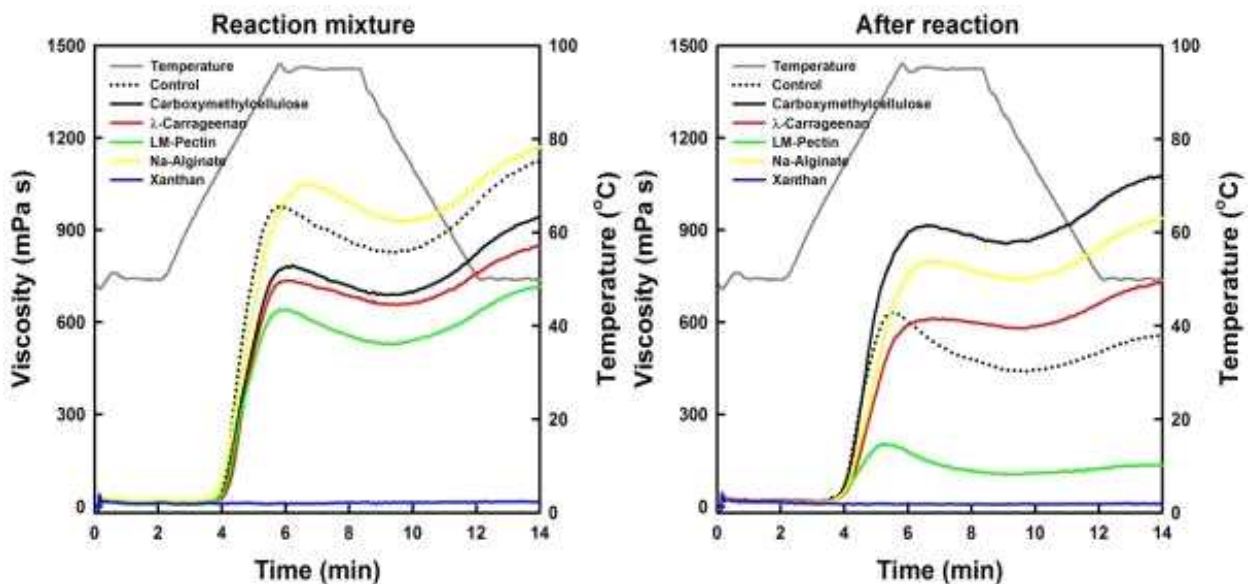


Figure 4-54. Pasting viscosity profiles of untreated (reaction mixture) and DBD low-temperature plasma-treated (after reaction) sweet potato starch-anionic hydrocolloid mixtures.

고구마전분과 음이온성 하이드로콜로이드를 혼합하여 제조한 반응혼합물과 DBD 저온플라즈마 처리된 혼합물들의 페이스팅 점도 프로파일을 조사하여 Figure 4-54에 나타내었다. 반응혼합물들에 있어(Figure 4-54 Reaction mixture), 고구마전분-Na-alginate 반응혼합물이 가장 높은 수준의 페이스팅 점도 프로파일을 나타내었으며 이외 다른 고구마전분-음이온성 하이드로콜로이드 반응혼합물들은 고구마전분보다 낮은 수준의 페이스팅 점도를 나타내었다. 특히 고구마전분-xanthan 반응혼합물의 경우 신속점도분석기에 의해 페이스팅 점도가 발달하지 않았다. DBD 콜드플라즈마 처리된 고구마전분-음이온성 하이드로콜로이드 혼합물에 있어(Figure 4-54 Reaction mixture) 붕괴점도는 고구마-음이온성 하이드로콜로이드 반응혼합물에 비해 감소하였으며 페이스팅 점도 수준은 CMC > Na-alginate > λ -carrageenan > 고구마전분 > LM-pectin > Na-Alginate > Xanthan 순으로 증가하였다.

한편 DBD 콜드플라즈마 처리전후의 페이스팅 점도를 비교할 때, 고구마전분, 고구마전분-Na-alginate, 고구마전분-LM-pectin은 DBD 저온플라즈마 처리 후 페이스팅 점도가 감소하였지만 고구마전분-CMC는 증가하는 양상을 나타내었으며, 고구마전분- λ -carrageenan과 고구마전분-xanthan은 거의 유사한 수준의 페이스팅 점도 특성을 나타내었다. 특히 고구마전분- λ -carrageenan의 경우에 있어 DBD 저온플라즈마 처리에 의해 이의 페이스팅 점도의 변화량이 극히 미미 하였다.

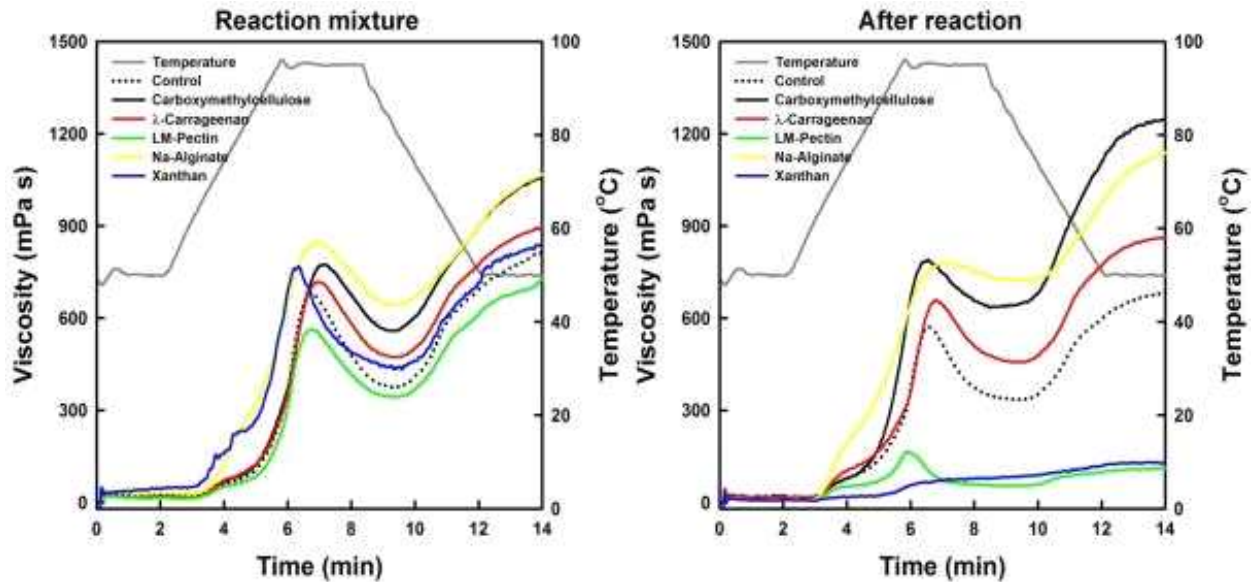


Figure 4-55. Pasting viscosity profiles of untreated (reaction mixture) and DBD low-temperature plasma-treated (after reaction) normal rice starch-anionic hydrocolloid mixtures.

멤쌀전분과 음이온성 하이드로콜로이드를 혼합하여 제조한 반응혼합물과 DBD 저온플라즈마 처리 혼합물의 페이스팅 점도 프로파일을 조사하여 Figure 4-55에 나타내었다. 반응혼합물들에 있어(Figure 4-55 Reaction mixture) 최종점도는 Na-alginate \approx CMC $>$ λ -carrageenan $>$ xanthan $>$ 멤쌀전분(control) $>$ LM-pectin 순으로 증가하였다. DBD 저온플라즈마 처리된 멤쌀전분-음이온성 하이드로콜로이드 혼합물에 있어(Figure 4-55 Reaction mixture) 최종점도는 CMC $>$ Na-alginate $>$ λ -carrageenan $>$ 멤쌀전분 $>$ LM-pectin \approx Xanthan 순으로 증가하였다. 한편 DBD 저온플라즈마 처리전후의 페이스팅 점도를 비교할 때, 멤쌀전분, 멤쌀전분-LM-pectin과 멤쌀전분-xanthan은 DBD 저온플라즈마 처리 후 페이스팅 점도가 감소하였지만 멤쌀전분-CMC와 멤쌀전분-Na-alginate는 증가하는 양상을 나타내었고, 멤쌀전분- λ -carrageenan은 DBD 저온플라즈마 처리 전과 비교할 때 처리 후에 페이스팅 점도의 미미한 감소가 관찰되었지만 그 차이는 극히 적은 수준이었다.

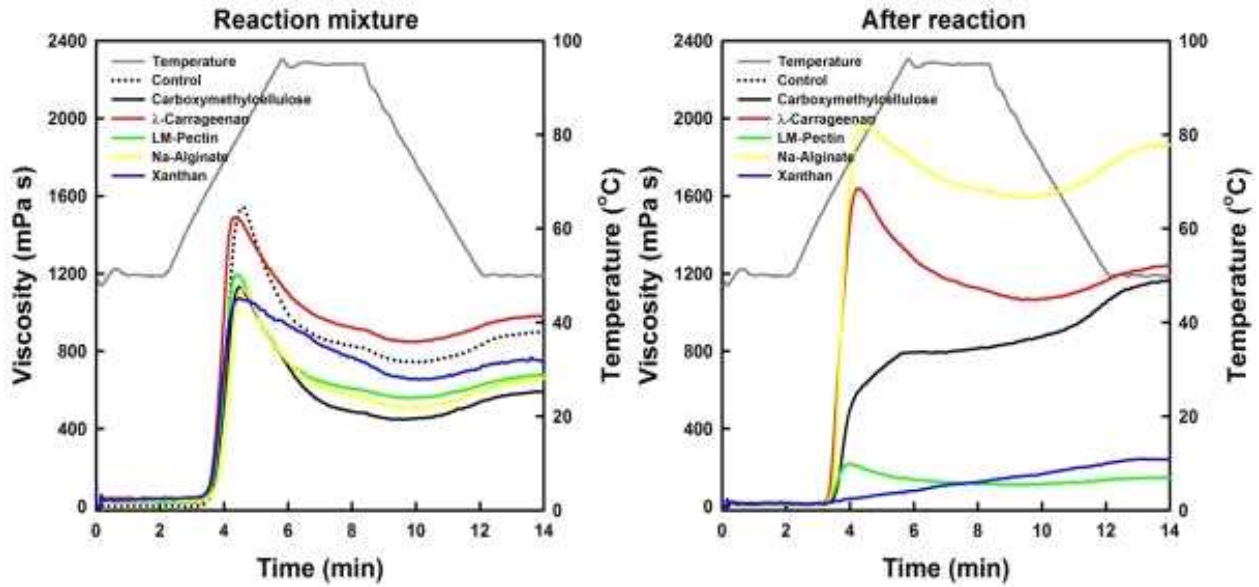


Figure 4-56. Pasting viscosity profiles of untreated (reaction mixture) and DBD low-temperature plasma-treated (after reaction) waxy rice starch-anionic hydrocolloid mixtures.

참쌀전분과 음이온성 하이드로콜로이드를 혼합하여 제조한 반응혼합물과 DBD 저온플라즈마 처리 혼합물의 페이스팅 점도 프로파일을 조사하여 Figure 4-56에 나타내었다. 반응혼합물들에 있어(Figure 4-56 Reaction mixture) 참쌀전분에 비해 참쌀전분- λ -carrageenan 반응혼합물을 제외하고 모든 참쌀전분-음이온성 하이드로콜로이드 반응혼합물들은 낮은 수준의 페이스팅 점도를 나타내었다. 그러나 참쌀전분- λ -carrageenan의 경우 최고점도는 참쌀전분에 비해 약간 낮은 수준이었으나, 최고점도 이후의 모든 범위에서 참쌀전분보다 높은 수준을 나타내었다. 최종점도는 λ -carrageenan > 참쌀전분 > xanthan > LM-pectin > Na-alginate > CMC 순으로 증가하였다. DBD 저온플라즈마 처리된 참쌀전분-음이온성 하이드로콜로이드 혼합물에 있어(Figure 4-56 Reaction mixture) 최종점도는 Na-alginate > λ -carrageenan > CMC > 참쌀전분 > xanthan > LM-pectin의 순서로 증가하였다. 한편 DBD 저온플라즈마 처리전후의 페이스팅 점도를 비교할 때, 참쌀전분-Na-alginate, 참쌀전분- λ -carrageenan과 참쌀전분-CMC는 DBD 저온플라즈마 처리 후에 페이스팅 점도가 상승하였지만, 이외의 참쌀전분, 참쌀전분-LM-pectin, 참쌀전분-xanthan은 페이스팅 점도가 감소하였다.

본 연구에서 DBD 저온플라즈마 처리전후의 전분-음이온성 하이드로콜로이드 혼합물들을 10% 농도의 페이스트로 제조하고 1시간 동안 상온에서 방치한 전분-음이온성 하이드로콜로이드 페이스트들의 점탄특성을 조사하였다. 감자전분-음이온성 하이드로콜로이드, 고구마전분-음이온성 하이드로콜로이드, 멥쌀전분-음이온성 하이드로콜로이드 및 참쌀전분-음이온성 하이드로콜로이드 혼합물들의 DBD 저온플라즈마 처리 전후의 점탄특성의 결과는 각각 Figure 4-57, 4-58, 4-59 및 4-60에 나타내었다.

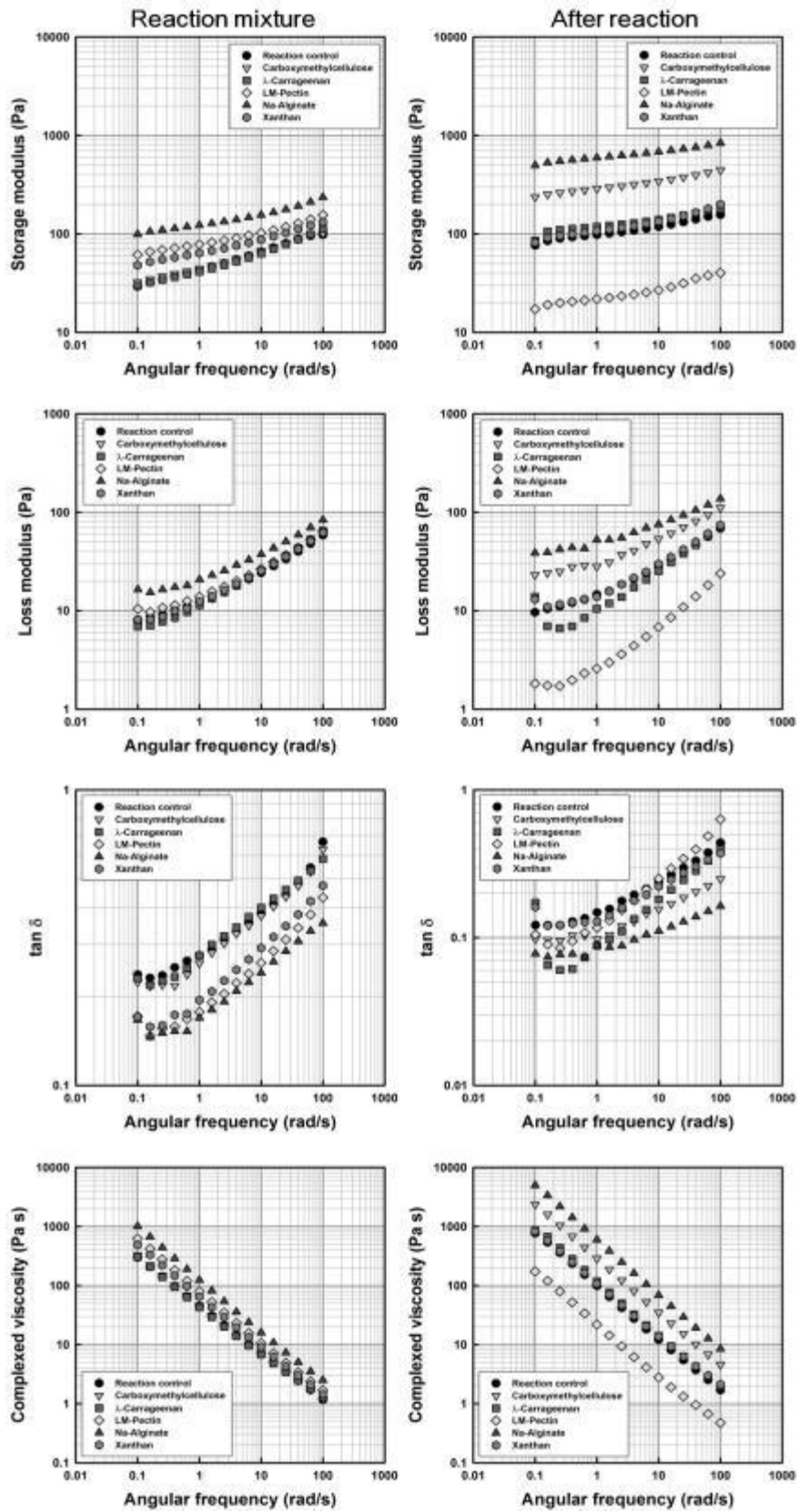


Figure 4-57. Viscoelastic characteristics of untreated (reaction mixture) and DBD low-temperature plasma-treated (after reaction) potato starch-anionic hydrocolloid mixtures.

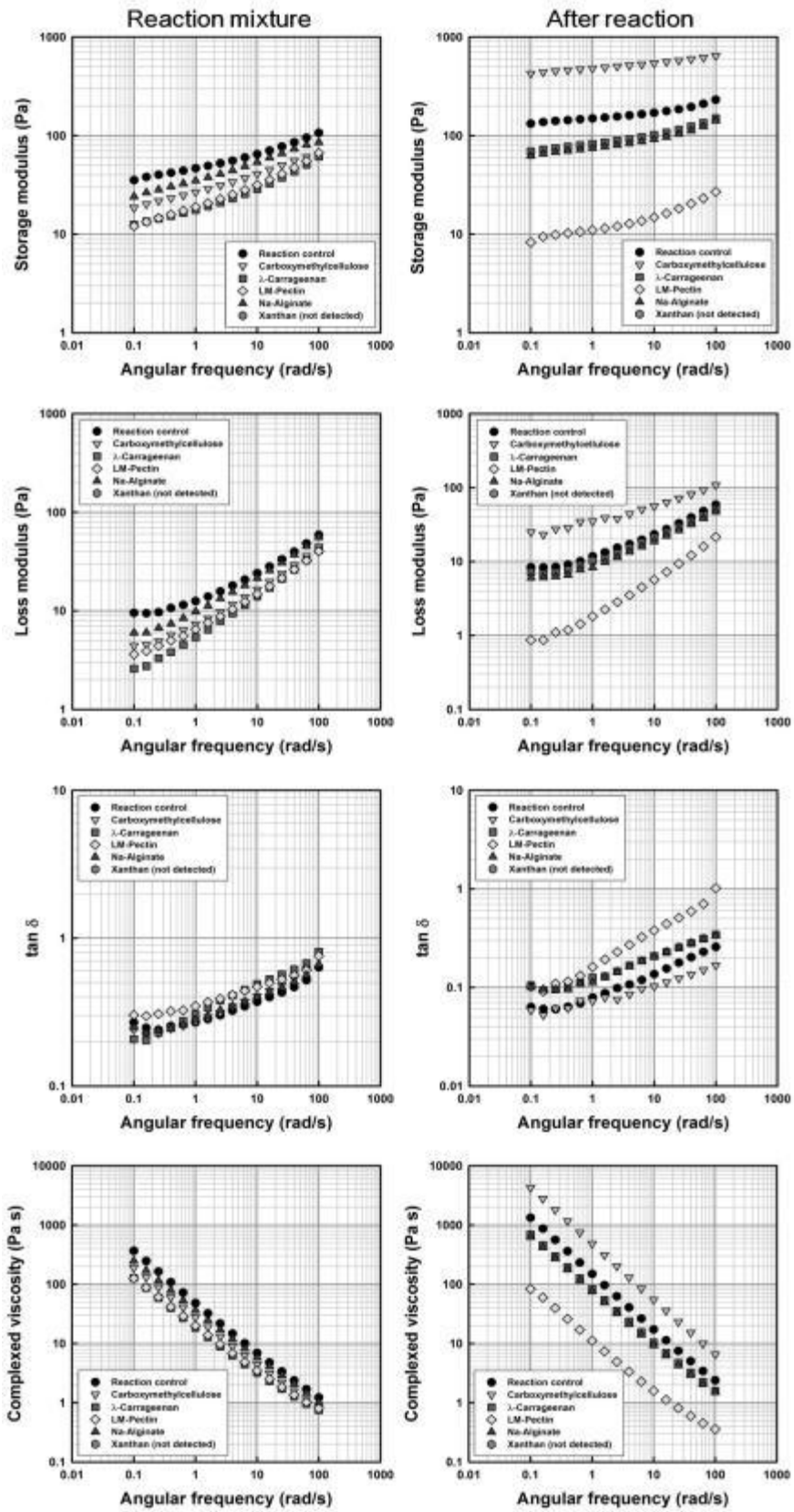


Figure 4-58. Viscoelastic characteristics of untreated (reaction mixture) and DBD low-temperature plasma-treated (after reaction) sweet potato starch-anionic hydrocolloid mixtures.

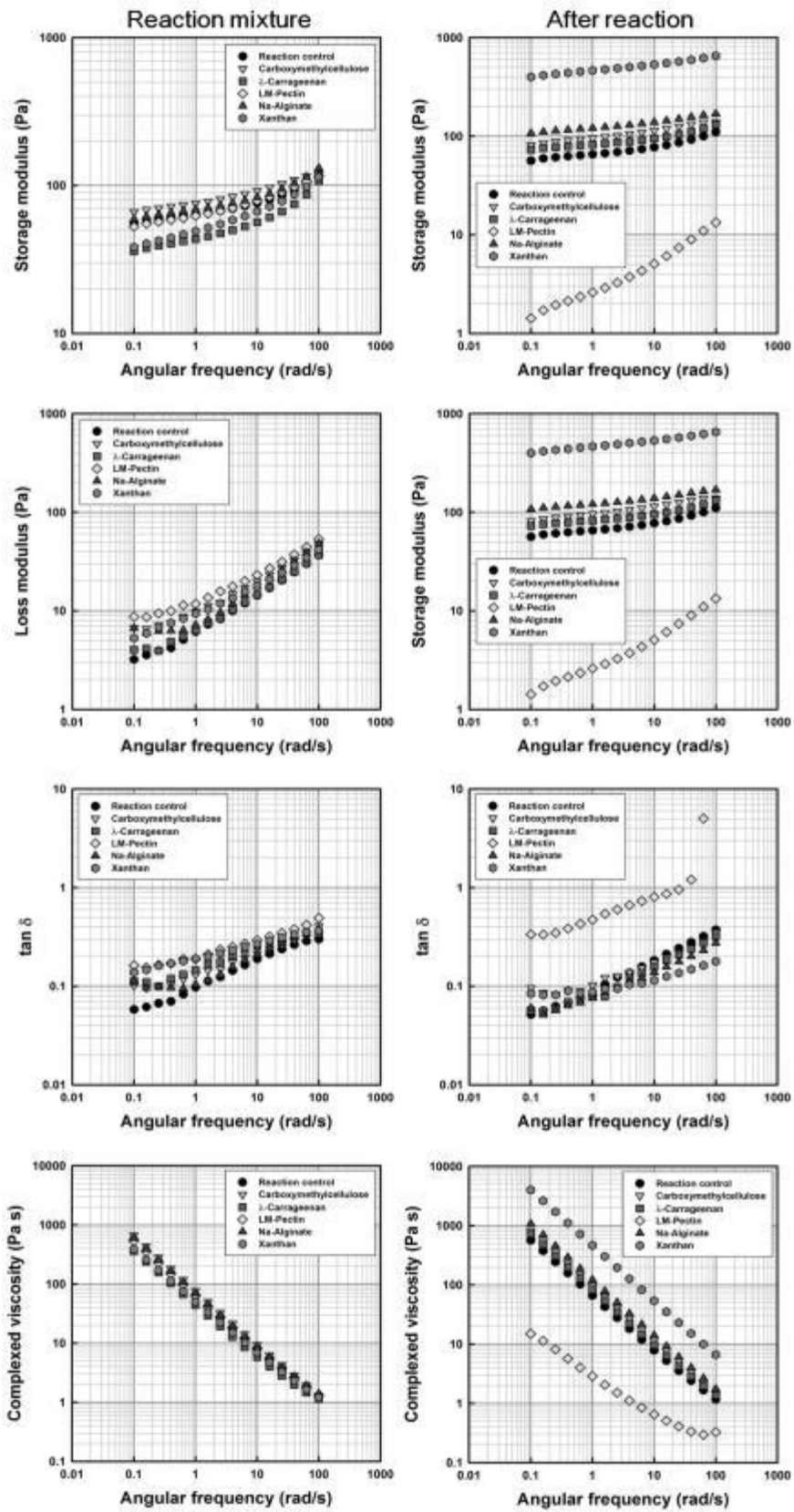


Figure 4-59. Viscoelastic characteristics of untreated (reaction mixture) and DBD low-temperature plasma-treated (after reaction) normal rice starch-anionic hydrocolloid mixtures.

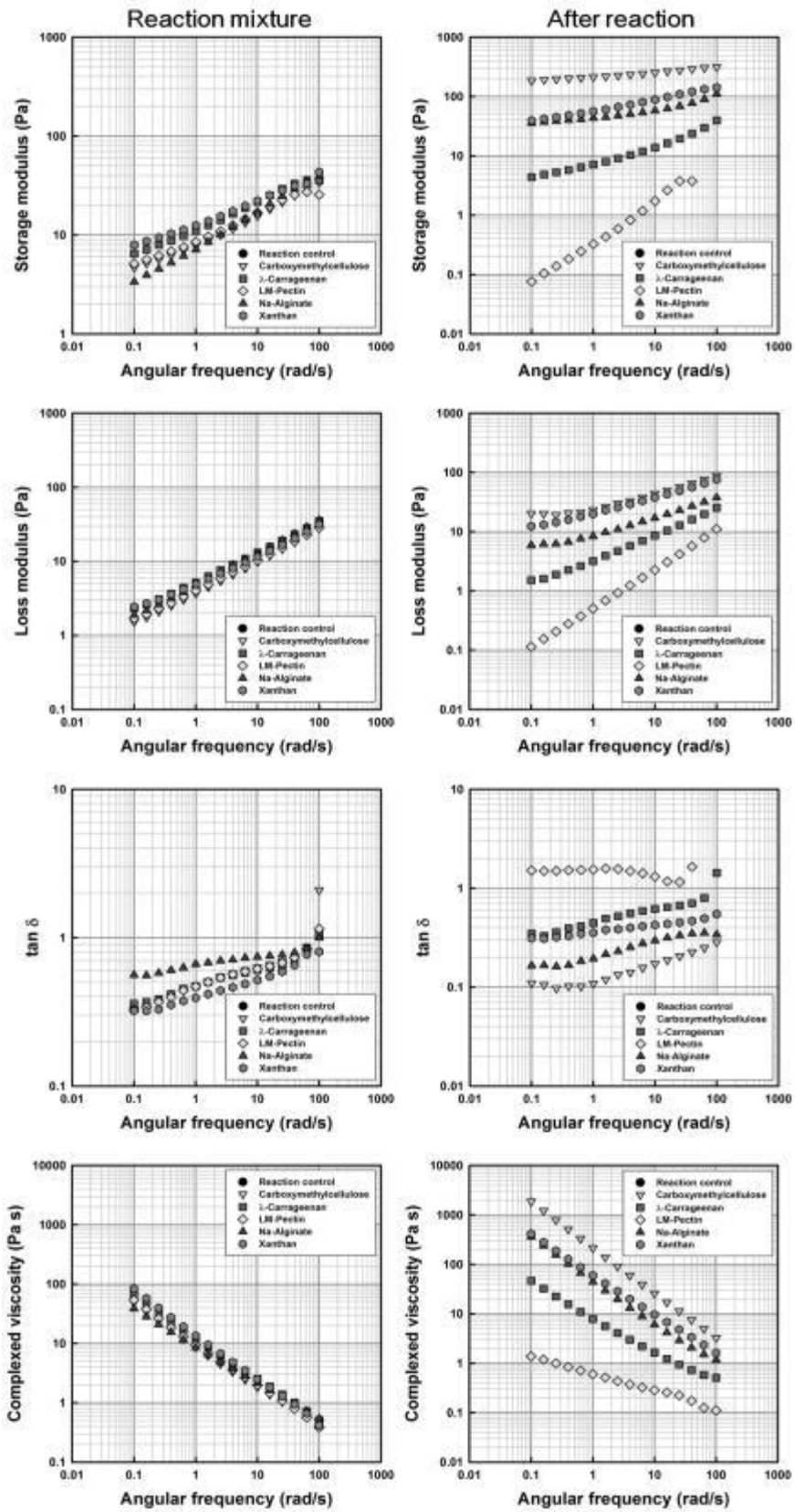


Figure 4-60. Viscoelastic characteristics of untreated (reaction mixture) and DBD low-temperature plasma-treated (after reaction) waxy rice starch-anionic hydrocolloid mixtures.

4종의 전분소재들에 있어 LM-pectin은 DBD 저온플라즈마 처리 후 탄성 및 점성 특성이 처리 전에 비해 전분-LM-pectin 페이스트들의 탄성 및 점성 특성들을 낮추었다. 감자전분-음이온성 하이드로콜로이드 조합에 있어 Na-alginate와 CMC는 DBD 저온플라즈마 처리 후 이들의 반응혼합물의 점탄특성 보다 상승하였다. 이러한 현상들은 고구마전분-CMC, 멧쌀전분-xanthan 조합들에서 공통적으로 관찰되었다. 찹쌀전분-음이온성 하이드로콜로이드 조합들에 있어서는 CMC > xanthan > Na-alginate > λ -carrageenan 의 순서로 점성 및 탄성 특성이 상승하는 경향을 나타내었다.

라. UV 조사처리에 의한 화학적 변성전분의 제조 및 특성

UV 조사는 상업적으로 습식 및 건식 살균을 위해 사용되고 있고, UV 조사 기술은 친환경 기술로서 알려져 있다. 그래서 UV 조사가 감자전분-하이드로콜로이드 혼합물의 특성에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 본 연구에서 감자전분-음이온성 하이드로콜로이드 혼합물에 대한 UV 조사는 습식법과 건식법을 적용하여 감광제의 유무에 대한 영향을 조사하였다.

(1) 감자전분-음이온성 하이드로콜로이드 혼합물에 대한 습식 UV 조사 공정 개발

본 연구에서 전분소재는 국내산 감자전분을, 음이온성 하이드로콜로이드는 λ -carrageenan을 사용하였다. 4 g (d.b) λ -carrageenan을 탈이온수 800 g에 용해시킨 후 감자전분 36 g (d.b)을 분산시켰다. 감자전분- λ -carrageenan 분산물은 80°C의 항온수욕조로 옮겨 overhead stirrer로 교반하면서 30분간 가열하였다. 이때 감광제로서 sodium benzoate를 감자전분- λ -carrageenan 분산물 총 중량의 5%가 되도록 가하여 용해시켰다. 30분 후에 UVC 침수형 램프(11 W)를 감자전분- λ -carrageenan 페이스트에 삽입하여 UV 조사처리를 2시간 동안 하였다. 2시간 후 페이스트의 최종온도는 51.5°C 였다. UV 조사가 완료된 후 감자전분- λ -carrageenan 페이스트들은 진공동결건조하고 분쇄하여 폴리프로필렌 샘플병에 담아 상온에서 저장하면서 분석에 사용하였다. 여기서 감광제가 첨가된 시료는 75% 에탄올 수용액으로 3회 세척하여 무수에탄올로 탈수하여 상온에서 72시간 동안 건조하여 분쇄하였다. 습식 UV 처리 처리군들에 대한 내용은 Table 4-37에 제시하였다.

Table 4-37의 조건에 따라 처리된 전분소재들의 페이스팅 점도 특성을 조사하여 Figure 4-61에 제시하였다. 80°C에서 30분간 열처리한 감자전분(WUV-C0)은 생전분의 전형적인 페이스팅 점도 프로파일을 나타내었다. 그러나 감자전분- λ -carrageenan 혼합물을 동일하게 열처리한 것(WUV-C1)은 점진적으로 온도가 증가하는 양상을 나타내었다. 반면 감자전분- λ -carrageenan 혼합물을 80°C에서 열처리 한 후 UV 조사한 경우(WUV-No) WUV-C1에 비해 낮은 점도수준을 나타내었으며, 감광제인 sodium benzoate가 첨가되어 UV 처리한 경우는 WUV-No 보다 더욱 낮은 점도수준을 나타내었다.

Table 4-37. Reaction conditions for immersing UV irradiation of potato starch- λ -carrageenan mixture

Sample	Potato starch (g, d.b)	λ -carrageenan (g, d.b)	Deionized water (g)	Sodium benzoate (g)	UVC irradiation (h)
WUV-C0 ¹⁾	40	-	800	-	-
WUV-C1 ¹⁾	36	4	800	-	-
WUV-No	36	4	800	-	2
WUV-SB	36	4	800	4	2

¹⁾Instead of UV irradiation, it is held at ambient temperature for 2 h of UV irradiation.

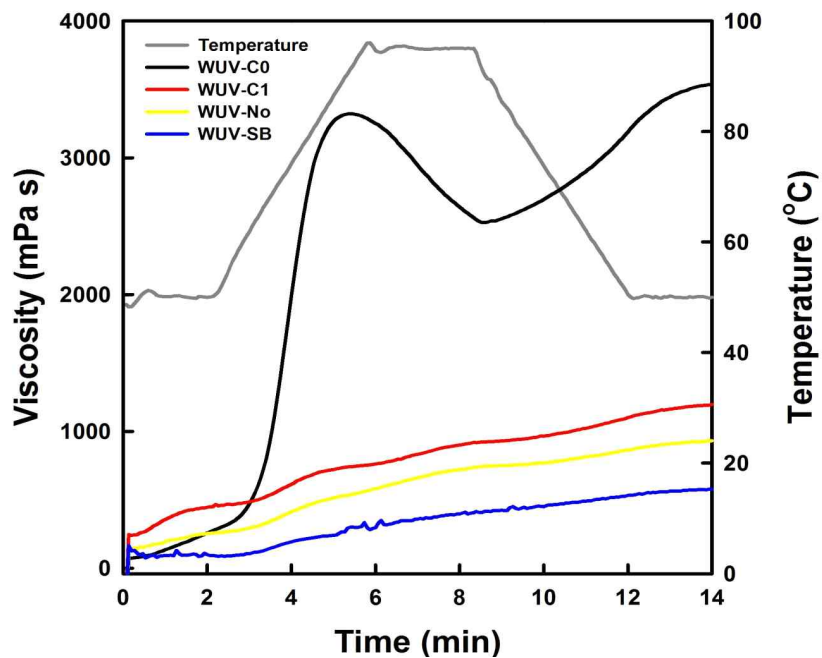


Figure 4-61. Effects of UV irradiation on pasting viscosity profiles of heated potato starch and potato starch- λ -carrageenan mixture.

Table 4-37의 조건에 따라 처리된 전분소재들의 용해도와 팽윤력을 Table 4-38에 제시하였다. Figure 4-61의 페이스팅 점도 특성의 조사에 있어 습식 UV 처리군들은 낮은 페이스팅 점도를 나타내었다. 이것이 UV 조사와 감광제에 의한 감자전분과 λ -carrageenan의 가수분해에 의한 것인지를 판단하고자 하였다. 감광제인 sodium benzoate을 첨가하여 습식 UV 처리하였을 때(WUV-SB), 감자전분- λ -carrageenan 단순 혼합물(WUV-C1)과 이에 UV 조사만 한 것(WUV-No)에 비해 낮은 용해도를 나타내었다. 따라서 감광제인 sodium benzoate를 첨가하여 습식 UV 조사하는 것은 감자전분분자들과 λ -carrageenan 분자들 사이의 화학반응을 유도하여 용해도가 감소하는 것으로 판단된다.

Table 4-38. Mean¹⁾ values for solubility and swelling power of potato starch- λ -carrageenan irradiated with immersing UV

Sample	Solubility (%, d.b)	Swelling power (g/g)
WUV-C0 ²⁾	9.3±0.1 ^d	25.3±0.1 ^a
WUV-C1 ²⁾	15.8±0.0 ^b	18.8±1.0 ^b
WUV-No	16.0±0.0 ^a	17.4±0.3 ^b
WUV-SB	13.4±0.3 ^c	17.5±0.5 ^b

¹⁾Mean values of three replicate measurements; values sharing the same lowercase letters are not significantly different at $p < 0.05$.

²⁾Instead of UV irradiation, it is held at ambient temperature for 2 h of UV irradiation.

(2) 감자전분-음이온성 하이드로콜로이드 혼합물에 대한 건식 UV 조사 공정 개발

감자전분-음이온성 하이드로콜로이드 및 감자전분-구연산 혼합물들의 특성에 대한 건식 UV 조사의 영향을 조사하였다. 본 연구에 사용된 반응혼합물들은 선행연구에서 제조된 반응혼합물들을 사용하였다. 반응혼합물들의 제조방법은 선행된 연구결과에서 확인할 수 있다. 반응혼합물들의 구체적인 내용은 Table 4-39에 나타내었다. 반응혼합물 10 g (d.b)을 석영페트리디쉬에 놓고 10% (w/v) sodium benzoate (50% 에탄올 수용액으로 용해) 20 mL를 가하였다. 대조군으로 50% 에탄올 수용액 20 mL를 가한 것을 사용하였다. 석영페트리디쉬를 50°C에서 18시간 동안 건조한 후 UV 살균기(Figure 4-4)에 수용하여 8시간 동안 UV를 조사하였다. UV 조사가 완료된 후 sodium benzoate 처리군들은 50% 에탄올 수용액으로 3회 세척하고 무수에탄올로 탈수하여 감압여과하고 50°C에서 18시간 동안 건조하였다. 건조된 시료들은 분쇄하여 분석에 사용하였다.

Table 4-39. Reaction conditions for dry UV irradiation of potato starch- λ -carrageenan mixture

Sample	Starch ^d	Anionic hydrocolloid		Citric acid (%, s.b)	pH	Sodium benzoate ²⁾ (mL)	Dry UVC irradiation (h)
		Type	Concentration (%, s.b)				
N-Control	Potato	-	-	-	-	-	8
C-Control	Potato	-	-	10	3.0-3.2 ³⁾	-	-
DUV1	Potato	-	-	-	-	20	8
DUV2	Potato	Sodium alginate	1	-	- ⁴⁾	-	8
DUV3	Potato	Sodium alginate	1	-	-	20	8
DUV4	Potato	λ -Carrageenan	1	-	5.5	-	8
DUV5	Potato	λ -Carrageenan	1	-	5.5	20	8
DUV6	Potato	-	-	10	3.0~3.2	-	8
DUV7	Potato	-	-	10	3.0~3.2	20	8

¹⁾Starch:hydrocolloid mixing ratio = 99:1 (w/w)

²⁾10% (w/v) sodium benzoate in 50% (v/v) aqueous ethanol.

³⁾The pH of 10% citric acid solution ranges from 3.0 to 3.2.

⁴⁾It is not able to adjust the pH of sodium alginate solution to 5.5, because the addition of 0.1 N HCl to sodium alginate solution induced its gelling.

Table 4-39의 처리조건에 따라 처리된 감자전분 및 감자전분-음이온성 하이드로콜로이드 혼합물의 페이스팅 점도 특성을 조사하여 Figure 4-26에 나타내었다. 감자전분만 건식 UV 처리하였을 때(N-Contol) 페이스팅 점도는 생감자전분(native potato starch)에 비해 최고점도는 감소하였으나 최저점도와 최종점도는 상승하였다. 그러나 감광제로 sodium benzoate를 첨가하여 건식 UV 처리하였을 때(DUV1) 페이스팅 점도는 급격한 감소를 나타내었다. 이와 같은 현상은 감자전분-Na-alginate (DUV2 vs. DUV3)와 감자전분- λ -carrageenan (DUV4 vs. DUV5) 혼합물들에서도 유사한 경향을 나타내었다. 한편 구연산을 처리한 감자전분 혼합물(감자전분과 구연산 용액을 익반죽으로 제조)의 경우 감자전분-구연산 혼합물(C-Control)과 감자전분-구연산 혼합물에 건식 UV 처리한 것(DUV6)들은 거의 유사한 페이스팅 점도 특성을 나타내었다. 반면 감자전분-구연산 혼합물에 감광제인 sodium benzoate를 첨가하여 건식 UV 처리하였을 경우(DUV7)에는 다른 경우들 보다 페이스팅 점도가 상승하는 경향을 나타내었다.

Table 4-40. Mean values of solubility and swelling power of potato starch and potato starch-anionic hydrocolloid mixtures treated with dry UV irradiation

Sample	Solubility (%, d.b)	Swelling power (g/g)
N-Control	11.6±0.1 ^d	31.4±0.3 ^a
C-Control	52.8±2.0 ^a	15.2±0.3 ^e
DUV1	9.0±0.0 ^f	11.3±0.3 ^g
DUV2	12.2±0.3 ^c	22.0±0.1 ^b
DUV3	10.5±0.4 ^{cd}	11.5±0.2 ^g
DUV4	11.2±0.8 ^d	21.0±0.2 ^c
DUV5	9.9±0.0 ^e	8.5±0.3 ^h
DUV6	51.3±2.5 ^a	14.6±0.2 ^f
DUV7	36.9±0.8 ^b	19.1±0.5 ^d

¹⁾Mean values of three replicate measurements; values sharing the same lowercase letters are not significantly different at $p < 0.05$.

선행된 연구에서 UV 처리나 감광제(sodium benzoate)하에서 UV 처리할 경우 감자전분 및 감자전분-음이온성 하이드로콜로이드 혼합물들의 페이스팅 점도 특성이 감소하였다. 이와 같은 현상이 UV 조사에 의한 전분분자 및 음이온성 하이드로콜로이드 분자들의 가수분해로부터 기인한 것인 지를 조사하기 위해 처리된 전분소재들의 용해도와 팽윤력을 조사하였다 (Figure 4-40). 감자전분의 경우 감광제를 사용하여 UV 조사처리한 경우 용해도가 그렇지 않은 경우보다 용해도와 팽윤력이 감소하는 것을 알 수 있었으며, 감자전분-Na-Alginate와 감자전분- λ -carrageenan 혼합물들에서도 동일한 경향을 나타내었다. 따라서 선행된 연구에서 관찰된 감광제 처리 하에서 UV 조사된 전분소재들의 페이스팅 점도의 감소는 전분 및 하이드로콜로이드 분자들의 가수분해보다는 전분분자들, 전분분자와 하이드로콜로이드 분자 및 하이드로콜로이드 분자들 사이의 가교화가 진행되었기 때문으로 판단된다. 한편 전분-구연산 혼합물에 있어 용해도는 감광제 처리 하에서 UV 조사된 경우에서 그렇지 않은 경우보다 감소하였으나 팽윤력은 증가하였다. 이러한 결과는 구연산과 전분분자들 사이의 가교결합 및 단일 ester 결합을 형성하였기 때문으로 판단된다.

마. 기존 화학적 변성기법에 의한 국내산 농산물 유래 전분들을 활용한 식품용 및 산업용 변성전분의 개발

(1) 국내산 감자전분과 고구마전분을 이용한 산업용 히드록시프로필전분과 카르복시메틸전분 개발 및 특성

국내산 감자와 고구마를 100% 이용하여 생산된 감자전분과 고구마전분을 “뚜레반” (경기도 고양시)에서 구입하여 산업용 히드록시프로필전분과 카르복시메틸전분의 제조원료로 사용하였다(Table 4-41). 쌀전분은 국내에서 유통되는 상업적 제품이 없으며, 전분의 생산 및 판매 업체들도 변성전분 형태의 것만 수입하여 판매하고 있으며 생전분 형태의 쌀전분을 대량으로 생산·판매하지 않아 현재의 단계에서는 연구의 원료로 사용하지 않았다. 대조군 샘플은 국내에서 찹옥수수전분과 일반옥수수전분으로부터 생산되는 히드록시프로필전분과 카르복시메틸전분을 구입하여 사용하였다. 히드록시프로필전분은 원영산업(주)에서 현재 생산돼 시판하고 있는 “레오검 GS-A” 를, 카르복시메틸전분은 (주)삼양제넥스에서 생산하여 시판하는 “젠택” 제품들이었다(Table 4-42). 반응물질인 프로필렌옥시드는 (주)SKC에서, 가성소다(98%)는 영진화학(주)에서 소듐클로로아세테이트(100%)는 화남상사로부터 구입하여 사용하였다.

Table 4-41. Specification of domestic potato starch and sweet potato starch

품질특성		감자전분	고구마전분
수분(%)		17.6	14.5
pH		6.3	7.4
점도(6%), cps (80°C, 30분)		13,800	3,800
색상	Whiteness	76.5	62.6
	Yellowness	4.2	5.6
	Brightness	84.4	73.6

히드록시프로필전분과 카르복시메틸전분은 밀폐형 건식고압반응기(30 L 규모)를 이용하여 건식반응을 통해 제조되었다. 감자전분과 고구마전분의 변성전분들의 제조에 사용한 밀폐형 건식고압반응기는 Figure 4-63에 나타내었다. 연구개발 용 카르복시메틸전분과 카르복시메틸셀룰로오스(CMC)를 제조할 때 소듐클로로아세테이트(sodium chloroacetate)를 단독으로 반응물질로 사용한다. 그러나 본 연구에서는 옥수수전분 기반의 카르복시메틸전분의 상업적 제품의 생산 시와 유사하게 반응물질로 프로필렌옥시드와 소듐클로로아세테이트를 반응물질로 사용하여 카르복시메틸감자전분과 카르복시메틸고구마전분을 제조하여 옥수수전분에 대한 감자전분과 고구마전분의 대체가능성을 판단하였다.

Table 4-42. Specification of commercial products of chemically-modified starches

분석항목 / 샘플명	레오검 GS-A	젠택
원료전분	일반옥수수전분	찰옥수수전분
변성방법	Hydroxypropylation	Hydroxypropylation & Carboxymethylation
수분(%)	7%	9%
pH	9.0	11.5
점도(5%), cps	-	1,000
점도(20%), cps	7,000	-



Figure 4-63. High pressure reactor for dry reaction.

Table 4-43. Process and conditions for preparing chemically modified starches using high pressure reactor

제조공정	제조 조건	
	히드록시프로필전분	카르복시메틸전분
① 원료전분 투입	감자전분, 고구마전분 각 4,300 g	
② 알카리 투입	50% 가성소다용액 300 g	
③ 질소 치환	질소가스로 산소 배기	
④ 반응 약품투입	프로필렌옥사이드 1,150 g	프로필렌옥사이드 840 g 소듐클로로아세테이트 280g
⑤ 건식 밀폐반응	50~80℃, 10시간	
⑥ 중화	아디핀산으로 중화	-

히드록시프로필전분과 카르복시메틸전분의 제조공정과 제조조건은 Table 4-43에 나타내었다. Table 4-43의 제조공정 중 반응온도는 초기온도를 50℃로 설정하여 반응을 시작하지만 프로필렌옥시드와 전분의 치환반응은 발열반응으로 반응이 진행되면서 반응기의 온도가 지속적으로 상승한다. 따라서 10시간 동안의 반응이 종료되는 시점의 반응기 내부의 온도는 약 80℃에 도달한다.

(가) 히드록시프로필전분 분석

상업적인 레오검 GS-A와 개발된 히드록시프로필 감자전분(감자HP)과 고구마전분(고구마HP)의 치환도를 조사하였다(Table 4-44). 치환도의 분석방법은 식품공전의 히드록시프로필정량법에 준하였으며, 변성전분들의 원료인 생전분들(일반옥수수전분, 감자전분, 고구마전분)을 대조군으로 사용하였으며 치환도는 생전분의 치환도를 변성전분의 치환도에서 차감하여 순 치환도로 나타내었다. 상업적인 제품은 0.404, 감자HP는 0.352, 고구마HP는 0.545였으며, 이러한 차이는 전분들의 구조적인 차이로부터 발생하는 것 같다.

Table 4-44. Degree of substitution of hydroxypropylated starches

히드록시프로필전분	치환도*
레오검 GS-A	0.404
감자HP	0.352
고구마HP	0.545

*3반복측정의 평균값

히드록시프로필전분들의 물리적 특성들을 분석하여 Table 4-45에 나타내었다. 히드록시프로필전분들의 보수력, 용해도, 팽윤력은 주어진 조건 하에서 처리한 후 원심분리하여 상등액과 침전분을 분리하여 측정하는데 시험된 히드록시프로필전분들은 원심분리하여 상등액과 침전분을 분리할 수 없어 측정할 수 없었다. 분석결과 감자전분과 고구마전분으로부터 제조된 히드록시프로필전분들은 상업적인 산업용 히드록시프로필전분을 대체할 수 있는 특성들을 보유하고 있었다. 그러나 원료전분의 가격적인 측면과 공급량의 확보가 담보되어야 할 것이다.

Table 4-45. Physical properties of hydroxypropylated starches

특 성*		레오겔 GS-A	감자HP	고구마HP	비고
수분 (%)		7.2	9.3	10.3	적외선수분측정기 (130℃)
pH		8.6	8.5	9.1	pH meter (5% 용액-30분 교반)
겉보기점도 (cp)		7,000	8,000	6,700	회전점도계 (20% 분산액, 상온)
최종점도 (cp)		35	187	252	신속점도분석기 (10% 분산액, 50℃)
투과도(25℃, %T)		44.1	24.8	29.8	2.5% 분산액을 25℃에 30분 가열 후 4℃에서 24시간 저장 후 640 nm에서 측정
투과도(25℃, %T)		88.5	81.9	80.2	2.5% 분산액을 95℃에 30분 가열 후 4℃에서 24시간 저장 후 640 nm에서 측정
보수력 (g/g)		N/D ¹⁾	N/D	N/D	2.5% 분산액을 25℃에서 30분간 방치 후 원심분리하고 상등액을 제거하여 침전물 무게 측정
용해도 (%)		N/D	N/D	N/D	2.5% 분산액을 25℃에서 30분간 방치 후 원심분리하고 상등액을 제거하여 침전물 무게 측정
팽윤력 (g/g)		N/D	N/D	N/D	2.5% 분산액을 95℃에서 30분간 방치 후 원심분리하고 상등액을 제거하여 침전물 무게 측정
색상	Whiteness Index	67.6	39.9	61.2	
	Yellowness index	7.8	16.0	9.3	
	Brightness	83.0	70.7	78.6	

*3반복측정의 평균값

¹⁾측정불가능

(나) 카르복시메틸전분의 분석

상업적인 젤택과 개발된 카르복시메틸 감자전분(감자CM)과 고구마전분(고구마CM)의 치환도를 조사하였다(Table 4-46). 치환도의 분석방법은 식품공전의 히드록시프로필 정량법에, 카르복시산 정량법에 준하였으며, 변성전분들의 원료인 생전분들(일반옥수수전분, 감자전분, 고구마전분)을 대조군으로 사용하였고, 치환도는 생전분의 치환도를 변성전분의 것에서 차감하여 순 치환도로 나타내었다.

Table 4-46. Degree of substitution of carboxymethylated starches

카르복시메틸전분	치환도*	
	카르복실메틸화 ¹⁾	히드록시프로필화
젠택	0.460	0.558
감자CM	0.600	0.415
고구마CM	0.680	0.545

*3반복측정의 평균값. ¹⁾초산을 기준으로 할 때.

Table 4-47. Physical properties of carboxymethyl starches

특 성*	레오검 GS-A	감자CM	고구마CM	비고
수분 (%)	9.9	10.5	11.0	적외선수분측정기 (130℃)
pH	11.8	11.5	11.6	pH meter (5% 용액-30분 교반)
겉보기점도 (cp)	65	3,095	3,690	회전점도계 (2.5% 용액, 상온)
최종점도 (cp)	247	1,433	1,243	신속점도분석기 (4.0% 분산액, 50℃)
투과도(25℃, %T)	18.3	63.0	48.1	2.5% 분산액을 25℃에 30분 가열 후 4℃에서 24시간 저장 후 640 nm에서 측정
투과도(25℃, %T)	5.6	72.5	51.0	2.5% 분산액을 95℃에 30분 가열 후 4℃에서 24시간 저장 후 640 nm에서 측정
보수력 (g/g)	N/D ¹⁾	N/D	N/D	2.5% 분산액을 25℃에서 30분간 방치 후 원심분리하고 상등액을 제거하여 침전물 무게 측정
용해도 (%)	N/D	N/D	N/D	2.5% 분산액을 25℃에서 30분간 방치 후 원심분리하고 상등액을 제거하여 침전물 무게 측정
팽윤력 (g/g)	N/D	N/D	N/D	2.5% 분산액을 95℃에서 30분간 방치 후 원심분리하고 상등액을 제거하여 침전물 무게 측정
색상	Whieness Index	67.5	8.6	83.3
	Yellowness index	58.6	10.4	77.9
	Brightness	50.9	12.0	72.9

*3반복측정의 평균값. ¹⁾측정불가능

카르복시메틸전분들의 물리적 특성들을 분석하여 Table 4-47에 나타내었다. 카르복시메틸전분들의 보수력, 용해도, 팽윤력은 주어진 조건 하에서 처리한 후 원심분리하여 상등액과 침전분을 분리하여 측정하는데 시험된 카르복시메틸전분들은 원심분리하여 상등액과 침전분을 분리할 수 없어 측정할 수 없었다. 카르복시메틸전분들의 용해특성을 나타내는 사진을 Figure 4-64에 나타내었다. 젬택의 경우 냉수에서 용해되는 것과 같은 형상을 나타내었지만 원심분리하였을 때 침전물이 발생하였다. 반면에 감자CM과 고구마CM의 경우 냉수에서 용해되고 원심분리하여도 침전이 발생하지 않았다. 따라서 젬택보다는 본 연구사업에서 개발한 감자CM과 고구마CM의 냉수 용해성이 더욱 좋은 것으로 판단된다. 분석결과 감자전분과 고구마전분으로부터 제조된 카르복시메틸전분들은 상업적인 산업용 카르복시메틸전분 보다 뛰어난 특성을 보유하고 있어 찰옥수수전분을 기반으로 한 제품들을 대체할 수 있는 것으로 생각된다. 그러나 원료전분의 가격적인 측면과 공급량의 확보가 담보되어야 할 것이다.

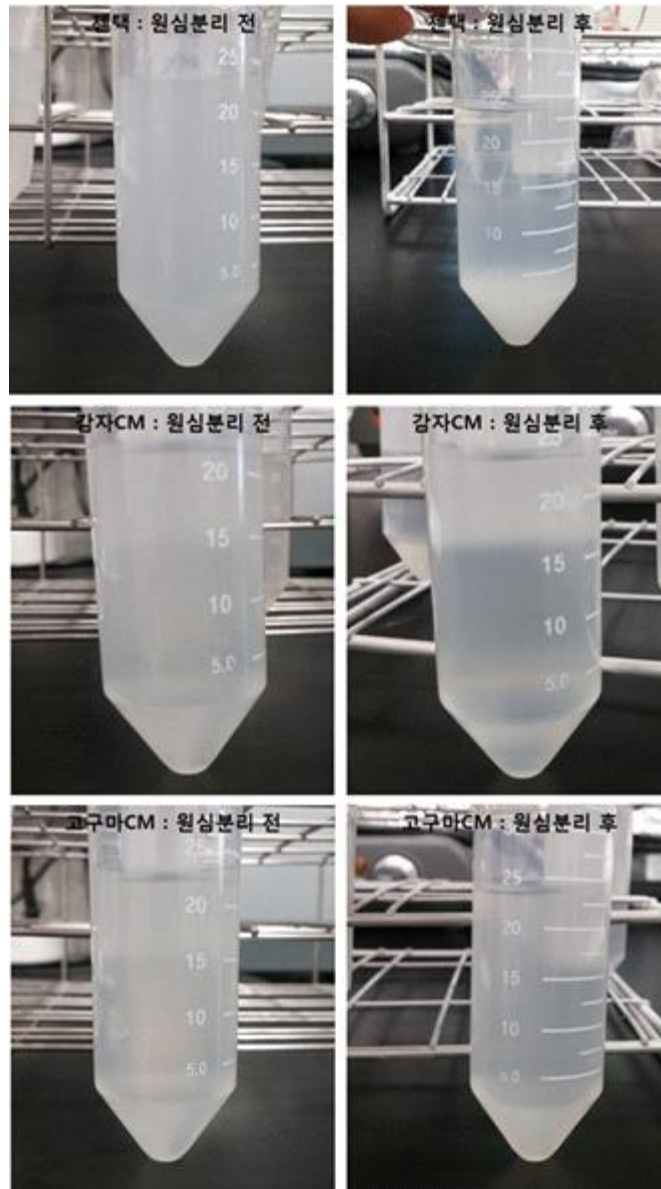


Figure 4-64. Solubilization of carboxymethylated starches

(2) 국내산 감자전분과 고구마전분을 이용한 식품용 히드록시프로필전분 개발 및 특성

국내산 감자와 고구마를 100% 이용하여 생산된 감자전분과 고구마전분을 “뚜레반” (경기도 고양시)에서 구입하여 산업용 히드록시프로필전분의 제조원료로 사용하였다(Table 4-41). 쌀전분은 국내에서 유통되는 찹쌀가루와 멥쌀가루를 구입하여 알칼리침지법을 이용하여 쌀전분을 실험실 상에서 제조하여 히드록시프로필전분의 제조 사용하였다. 상업적인 식품용 변성전분들 중 찹옥수수전분을 이용하여 히드록시프로필화와 인산화가교화된 교차변성전분(네오HP, (주)삼양제넥스)과 초산전분(썬에이스H, (주)삼양제넥스)를 산업용 대조군들로 하였다. 반응물질인 프로필렌옥시드는 (주)SKC에서, 가성소다(98%)는 영진화학(주)에서 구입하여 사용하였다.

Table 4-48. Process and condition of preparing hydroxypropylated starches using a high pressure reactor

제조과정	제조 조건
	히드록시프로필전분
① 원료전분 투입	일반옥수수전분, 찹옥수수전분, 찹쌀전분, 멥쌀전분, 감자전분, 고구마전분 각 1,000 g
② 반응용액 투입	95% 에탄올 1,700 g → 정제수 1,100 g → 50% 가성소다용액 35 g
③ 질소 치환	질소가스로 산소 배기
④ 반응 약품투입	프로필렌옥사이드 1,150 g
⑤ 밀폐반응	40℃, 24시간
⑥ 중화	염산으로 중화
⑦ 세척	정제수로 세척(3회)
⑧ 건조 및 분쇄	45℃ 열풍건조기에서 24시간 → 핀밀로 분쇄
⑨ 선별	원형진동체(100 mesh)

국내산 원료로부터 제조된 전분들 중 옥수수전분을 대체할 수 있는 전분을 선별하기 위해 동일한 조건에서 유사한 치환도를 보유하도록 제조하기 위해 문헌상의 제조조건을 사용하였다.

히드록시프로필전분 제조를 위한 반응기는 밀폐형 습식고압반응기를 사용하였으며 제조 공정과 제조조건은 Table 4-48에 나타내었다. 찹쌀전분과 멥쌀전분을 제외한 다른 전분들은 3회 반복하여 히드록시프로필전분을 제조하였지만 찹쌀전분과 멥쌀전분은 대량으로 실험실에서 분리하기 어려운 점 때문에 히드록시프로필전분을 1회만 제조하였다. 유사한 치환도에서 국내산 전분 소재들의 옥수수전분 대체가능성을 판단하기 위해 일반옥수수전분과 찰옥수수전분을 실험대조군으로 하여 동일한 방법으로 히드록시프로필전분을 제조하였다.

Table 4-49. Degree of substitution of hydroxypropylated starches

히드록시프로필전분	순 치환도*
네오HP	0.047
옥수수HP	0.054
찰옥수수HP	0.057
찹쌀HP	0.055
멥쌀HP	0.052
감자HP	0.056
고구가HP	0.056

*3반복측정의 평균값

상업적인 네오HP와 개발된 히드록시프로필화 일반옥수수전분(옥수수HP), 찰옥수수전분(찰옥수수HP), 찹쌀전분(찹쌀HP), 멥쌀전분(멥쌀HP), 감자전분(감자HP)과 고구마전분(고구마HP)의 치환도를 조사하였다(Table 4-49). 치환도의 분석방법은 식품공전의 히드록시프로필 정량법에 준하였으며, 변성전분들의 원료인 생전분들을 대조군으로 사용하였으며 치환도는 생전분의 치환도를 변성전분의 치환도에서 차감하여 순 치환도로 나타내었다. 또한 제조된 히드록시프로필전분들의 보수력, 팽윤력, 용해도를 측정하였다(Table 4-50). 보수력은 25℃에서, 용해도와 팽윤력은 55℃에서 측정하였다. 55℃를 초과할 경우 히드록시프로필화전분 페이스트들은 상등액과 침전물로 분리할 수 없어 용해도와 팽윤력을 측정이 불가능하다. 따라서 상대적으로 낮은 온도이지만 55℃를 적용하였다.

Table 4-50. Water holding capacity, swelling power and solubility of hydroxypropylated starches

반응방법	전분종류	보수력* (g/g)	용해도* (%)	팽윤력* (g/g)
-	일반옥수수	1.87	2.57	2.05
	찰옥수수	1.95	1.72	2.33
	멥쌀	1.89	9.84	2.22
	찰쌀	1.96	22.21	2.32
	감자	1.80	9.30	2.15
	고구마	1.74	2.90	2.16
아세틸화	일반옥수수	1.68	6.51	2.51
히드록시프로필 화 인산화가교화	찰옥수수	1.93	14.54	6.86
히드록시프로필 화	일반옥수수	1.99	10.51	2.30
	찰옥수수	2.88	15.69	2.44
	멥쌀	1.94	60.15	4.45
	찰쌀	2.00	64.57	6.86
	감자	2.03	84.68	7.87
	고구마	1.92	36.83	3.62

*3반복측정의 평균값

(3) 국내산 감자 및 고구마 전분들을 활용한 산업용 변성전분 시제품 제작 및 기존 제품과의 비교

(가) 히드록시프로필전분

선행된 연구결과를 토대로 국내산 감자와 고구마로부터 추출·정제된 감자전분과 고구마 전분을 이용하여 히드록시프로필전분(HP감자전분과 HP고구마전분)의 시제품을 제작하였다 (Figure 4-65).



Figure 4-65. Prototype products of hydroxypropylated starches from domestic potato and sweet potato starches.

(나) 카르복시메틸전분

선행된 연구결과를 토대로 국내산 감자와 고구마로부터 추출·정제된 감자전분과 고구마 전분을 이용하여 카르복시메틸전분(CM감자전분과 CM고구마전분)의 시제품을 제작하였다 (Figure 4-66).



Figure 4-66. Prototype products of carboxymethylated starches from domestic potato and sweet potato starches.

제작된 시제품들은 현재 찹옥수수전분을 이용한 상업적으로 시판되는 S사의 카르복시메틸전분과 특성을 비교분석하였다(Table 4-51).

Table 4-51. Comparison of characteristics of commercial product and prototypes of carboxymethylated starches

특성		S사	CM감자전분	CM고구마전분
점도(cp; 5%, 25°C, 100 s ⁻¹)		2,926.9±58.4	2,327.5±418.5	881.9±102.1
투과도		58.2±0.9	26.1±0.7	1.9±0.1
전분용액의 색도	명도	16.9±0.2	21.2±0.2	21.2±0.2
	적색도	-0.4±0.1	-0.7±0.0	-0.7±0.0
	황색도	-1.6±0.1	-1.6±0.0	-1.6±0.2

(다) 카르복시메틸전분소재의 상품화를 위한 원료의 영향 탐색

Table 4-52. Process by-products of rice and potato for manufacturing carboxymethylated starches

No.	작물	전분성 소재	상세설명
1	쌀	쇄미(쌀)가루	- 경북 안동시 남후면에 위치한 한국라이스텍의 미곡처리시설에서 배출되는 쇄미를 활용 - 공급받은 쇄미는 습식제분법에 따라 제분 - 주관연구기관(안동대학교 산학협력단)에서 공급
2		효소처리 쇄미(쌀)가루	- 1차년도에 쌀전분 분리·정제 연구에서 적용된 방법으로 쇄미(쌀)가루를 단백질분해효소처리하여 제조 - 주관연구기관(안동대학교 산학협력단)에서 공급
3		쇄미(쌀)전분	- 1차년도에 쌀전분 분리·정제 연구에서 적용된 방법으로 쇄미(쌀)가루로부터 쌀전분 분리 - 주관연구기관(안동대학교 산학협력단)에서 공급
4	감자	감자박	- 주관연구기관(안동대학교 산학협력단과 안동마부용농산영농조합법인)에서 감자전분 시제품 제조 시 발생한 감자박을 회수하여 건조한 것을 공급받음
5		감자박전분	- 주관연구기관(안동대학교 산학협력단과 안동마부용농산영농조합법인)에서 감자전분 시제품 제조 시 발생한 감자박으로부터 추출한 감자전분을 공급받음
6		상업적인 감자박	- 시중에서 판매되는 감자박 - 드럼건조기를 이용하여 건조하여 분쇄

국내산 감자전분을 이용하여 제작한 시제품인 CM감자전분은 점도측면에서 S사의 상업적인 CM 전분에 근접하는 특성을 나타내었다(Figure 4-51). 그러나 국내산 감자의 가격이 지속적으로 하락하고 있지만 여전히 제작된 시제품(CM감자전분)의 원가에서 원료가 차지하는 비중이 찹옥수수전분을 이용하였을 때보다 여전히 높은 실정이다. 그래서 CM전분 제작 시 원료에 대한 원가 비중을 낮출 수 있는 방안을 찾기 위해 Table 4-52에 제시된 원료들을 이용하여 본 연구기관에서 구축된 제조방법(Table 4-53)으로 CM전분소재들을 제조하였다.

Table 4-53. Process and conditions for preparing carboxymethylated starches using a high pressure reactor

제조공정	카르복시메틸전분 제조 조건
① 원료전분 투입	감자전분, 고구마전분 각 4,300 g
② 알카리 투입	50% 가성소다용액 300 g
③ 질소 치환	질소가스로 산소 배기
④ 반응 약품투입	프로필렌옥사이드 840 g, 소듐클로로아세테이트 280g
⑤ 건식 밀폐반응	50~80℃, 10시간

Table 4-54. Characteristics of carboxymethylated starches prepared with products from broken rice

특성		쇄미(쌀)가루	효소처리 쇄미(쌀)가루	쇄미(쌀)전분
점도(cp; 5%, 25℃, 100 s ⁻¹)		498.9±41.6	1,210.2±33.0	843.1±7.7
투과도		27.9±0.4	6.3±0.4	7.4±0.3
전분용액의 색도	명도	18.4±0.1	40.3±0.1	33.7±0.3
	적색도	-0.9±0.0	-0.4±0.0	-0.6±0.0
	황색도	-0.4±0.0	-1.1±0.1	0.2±0.0

쇄미로부터 제조된 쇄미(쌀)가루, 효소처리 쇄미(쌀)가루, 쇄미(쌀)전분을 이용하여 Table 4-53의 방법에 따라 carboxymethylation 반응을 수행하여 특성을 평가하였고, 그 결과는 Table 4-54에 나타내었다. 카르복시메틸 쇄미(쌀)가루의 투과도가 가장 높은 수준을 나타내었고, 쇄미(쌀)전분, 효소처리 쇄미(쌀)가루의 순이었다.

겉보기점도는 효소처리 쉐미(쌀)가루 > 쉐미(쌀)전분 > 쉐미(쌀)가루의 순으로 증가하였으며, 상업적인 카르복시메틸전분에 비해 동일 농도에서 효소처리 쉐미(쌀)가루를 이용한 카르복시메틸전분소재가 약 2.5배 낮은 점도를 나타내었다(Table 4-54).

Table 4-55. Characteristics of carboxymethylated starches prepared with processing by-products from potatoes

특성		감자박	감자박전분	상업적인 감자박
점도(cp; 5%, 25°C, 100 s ⁻¹)		240.0±12.8	304.3±0.4	403.3±17.4
투과도		84.5±0.7	95.0±0.3	34.3±0.14
전분용액의 색도	명도	9.8±0.0	7.8±0.2	7.8±0.2
	적색도	-1.3±0.0	-0.3±0.1	-0.3±0.1
	황색도	1.1±0.0	-1.0±0.0	-2.5±0.1

카르복시메틸감자소재들의 겉보기 점도는 상업적인 감자박 > 감자박전분 > 감자박의 순서로 증가하였으며, 카르복시메틸감자소재들의 투과도는 감자박전분 > 감자박 > 상업적인 감자박의 순서로 증가하는 양상을 나타내었다(Table 4-55). 경제성을 분석할 때 상업적인 감자박은 20 kg 당 20,000원 이었으며, 쉐미는 30 kg 당 7,500원에 구입하였다. 한국라이스텍에서 쉐미는 판매한 경험이 없어 적당한 가격으로 산정하였기 때문에 쉐미를 활용하는 것이 좋을 것으로 판단된다.

















(4) Semi-pilot scale 반응시설을 이용한 in situ 유기산 수식 전분의 생산공정 최적화

선행된 연구결과에 기초할 때 구연산으로 전분을 수식하여 구연산전분을 제조한 경우 난소화성 전분분획의 증가에 효과적인 것을 알 수 있었다. 따라서 실험실에서 최적화된 구연산 전분의 제조공정과 반응조건에 기초하여 건식고압반응기를 이용하여 구연산전분을 제조할 수 있는 공정을 구축하고자하였다. 전분시료의 전처리는 Table 4-56과 같다. 전분소재는 감자전분, 고구마전분, 멥쌀전분, 찹쌀전분으로 하였고, 감자전분과 고구마전분은 국내산 감자와 고구마로부터 제조되어 시판되는 것을 구입하여 사용하였으며, 멥쌀전분과 찹쌀전분은 효소적 추출·정제법에 의해 생산된 것을 사용하였다.

Table 4-56. Pre-treatment process for preparing citrate starches using semi-pilot scale reactor



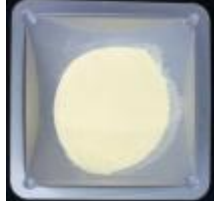
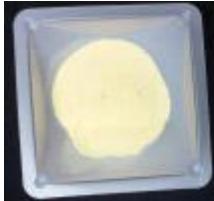




제조공정	전처리 공정
① 구연산 용액 제조	무수구연산을 10%, 20%, 30%, 40% 농도로 용해
② 전분과 구연산용액 혼합	전분:구연산용액 혼합비율 = 1:2 (중량기준) 60분 동안 300 rpm으로 교반
③ 전분 회수	감압여과를 통해 전분-구연산용액 혼합물로부터 전분 회수
④ 반응기 투입	구연산용액을 함유한 전분을 그대로 반응기에 투입

Table 4-57. Appearance of citrate starches prepared depending on citric acid concentrations and starch sources

구분	<u>10%구연산용액</u> 120℃, 5h	<u>20%구연산용액</u> 120℃, 5h	<u>30%구연산용액</u> 120℃, 5h	<u>40%구연산용액</u> 120℃, 5h
감자전분				
고구마 전분				
멥쌀전분				
참쌀전분				

전처리된 전분시료들은 반응기에 투입하여 진공 하에서 건조공정과 반응공정을 순차적으로 수행하여 반응종료 시 갈변 및 탄화정도를 기준으로 반응조건을 설정하였다. 각 구연산 용액에서 회수된 전분들을 반응기에 투입하고 선 건조공정 없이 반응온도인 120℃까지 상승시켜 120℃에 도달하였을 때부터 5시간 동안 반응기의 온도를 120℃로 유지한 후 회수한 전분들을 Table 4-57에 제시하였다. Table 4-57에서 보는 바와 같이 감자전분을 제외하고 고구마전분, 멥쌀전분, 찹쌀전분들은 모든 구연산 농도에서 갈변이 심하게 진행되었다. 특히 멥쌀과 찹쌀 전분의 경우 탄화현상이 발생하는 것을 알 수 있었다. 따라서 갈변과 탄화현상이 발생하지 않은 10-40% 농도의 구연산용액을 활용하여 제조된 구연산전분들을 추가 분석을 위한 시료로 선정하였다.





Table 4-58. Appearance of citrate starches prepared depending on citric acid concentrations and starch sources

	10%구연산용액 80℃ 2h 건조후 120℃ 3h	20%구연산용액 80℃ 2h 건조후 120℃ 3h	30%구연산용액 80℃ 2h 건조후 120℃ 3h	40%구연산용액 80℃ 2h 건조후 120℃ 3h
감자전분				
고구마 전분				

선행된 시험에서 고구마전분, 멥쌀전분, 찹쌀전분들이 심한 갈변 및 탄화현상이 발생한 것이 구연산용액에서 회수된 전분들의 수분함량이 높고, 120℃의 반응온도에서 장시간 유지되었기 때문으로 판단하였다. 그래서 전분소재들과 구연산용액들을 이용하여 Table 4-56과 같이 전처리한 후 반응기에 넣고 진공하에서 80℃로 2시간 유지시켜 수분을 제거한 후 반응기의 온도를 반응온도 120℃ 상승시켜 120℃에 도달했을 때부터 3시간 동안 반응을 하였다. 80℃에서 선 건조 후 반응시킨 경우에 있어(Table 4-58) 멥쌀전분과 찹쌀전분은 건조하는 동안 마치 사탕과 같이 반투명한 덩어리로 변하면서 반응온도까지 상승시키면 진한 갈색으로 변색되었다. 또한 이들은 분쇄하기 어려울 정도로 경도가 높았음. 그래서 Table 4-58에 제시하지 않았다. 한편 선 건조공정 없이 직접 반응시켰을 경우 감자전분은 갈변이나 탄화현상이 발생하지 않았으나 Table 4-58에 나타난 것과 같이 선 건조공정을 수반할 경우 구연산감자전분은 밝은 노란색으로 변색되었으며, 구연산용액의 농도가 증가할수록 밝은 노란색의 강도는 증가하였다.

그러나 고구마전분의 경우에는 선 건조공정을 수반할 경우 구연산용액 농도 40%까지도 변색이 되지 않았다. 따라서 고구마전분을 위해서는 선 건조공정을 수반하는 반응공정이 적합할 것으로 판단된다.

Table 4-59. Appearance of citrate starches prepared depending on citric acid concentrations and starch sources

	<u>10%구연산용액</u> 50% EtOH 용매 60°C 4h 건조 후 120°C 3h	<u>20%구연산용액</u> 50% EtOH 용매 60°C 4h 건조 후 120°C 3h	<u>30%구연산용액</u> 50% EtOH 용매 60°C 4h 건조 후 120°C 3h	<u>40%구연산용액</u> 50% EtOH 용매 60°C 4h 건조 후 120°C 3h
멧쌀전분			탄화	탄화
참쌀전분			탄화	탄화

선행된 연구에서 멧쌀과 참쌀전분은 여전히 갈변 및 탄화현상이 발생하여 상품성이 없는 구연산제품이 제조되었다. 이와 같은 결과는 멧쌀전분과 참쌀전분들로부터 수분을 제거하는데 80°C, 2시간의 선 건조공정이 부족하며, 건조온도가 높기 때문으로 판단된다. 따라서 무수구연산을 농도별로 50% 에탄올 수용액에 용해시켜 Table 4-56의 전처리 공정에 따라 처리하여 반응기에 넣고 60°C에서 4시간 동안 건조한 후 반응온도 120°C로 상승시켜 3시간 동안 반응하여 구연산전분을 제조하였고, 그 결과를 Table 4-59에 나타내었다. Table 4-59에 나타낸 것과 같이 구연산용액의 농도가 30%와 40%일 때는 여전히 탄화현상이 발생하여 진한 갈색의 사탕과 같은 외관을 나타내었다. 그러나 10%와 20% 구연산용액을 사용하였을 경우에는 멧쌀전분의 경우 10% 구연산용액의 경우 탄화현상이 기존 처리조건에 비해 극히 적었으며, 20% 구연산용액의 경우 10% 구연산용액을 사용했을 경우보다 상대적으로 갈변이 진행되었지만 상업적인 제품으로 하기에 적절하였음. 참쌀전분의 경우도 멧쌀전분의 경우 유사하였다. 이와 같이 제조된 구연산전분들, 4종 구연산감자전분, 4종 구연산고구마전분, 2종 구연산 멧쌀전분, 2종 구연산참쌀전분에 대해서 페이스팅 점도 특성을 조사하였다. 본 연구에서 선정된 12종의 구연산전분들의 페이스팅 점도를 Figure 4-67과 같이 나타내었다. 모든 경우에 있어 페이스팅 점도가 발달하지 않았다. 선행된 연구결과에 의하면 구연산전분의 저항전분 함량이 높을수록 페이스팅 점도가 낮아지는 현상을 나타내었다. 결과적으로 본 연구에서 구축된 공정으로 제조된 구연산전분들은 높은 저항전분 함량을 보유하고 있다.

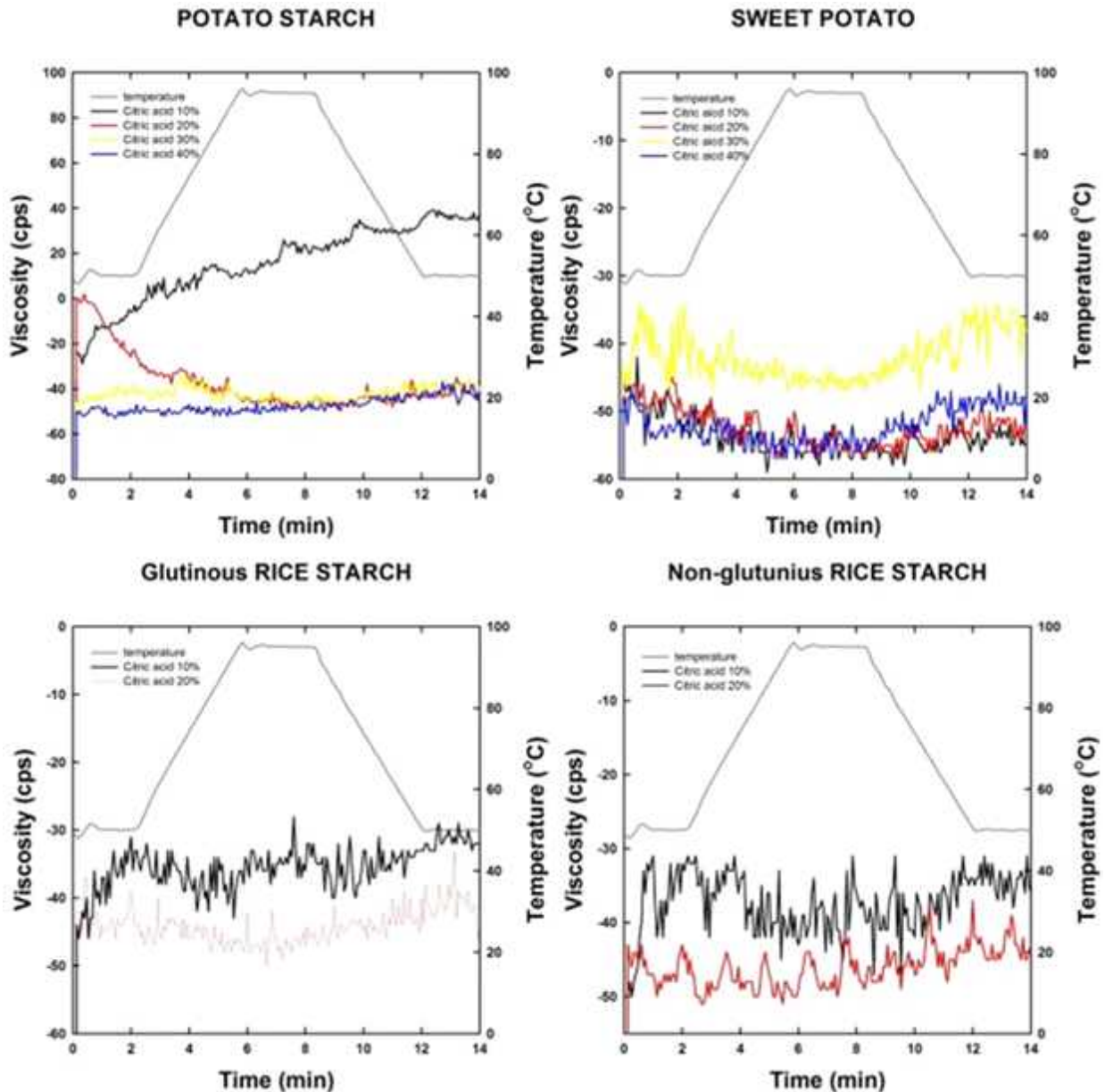


Figure 4-67. Pasting viscosity profiles of citrate starches prepared by constructed process and conditions.

(5) 구축된 생산공정에 의한 구연산전분의 시제품 제작

구축된 구연산전분의 생산공정 및 생산조건을 활용하여 난소화성 구연산전분과 고점도 구연산전분의 시제품을 제작하였다(Figure 4-68). 한편 식품첨가물공전 상 변성전분의 분류 내에 구연산 수식 전분에 대해 허가가 되어 있지 않다. 이를 회피하기 위해 구연산과 전분 사이의 반응혼합물 제조 및 반응사이에 가수분해가 부분적으로 진행되고 이는 덱스트린의 정의에 부합한다. 따라서 시제품들은 식품원료로 분류되며 규제가 거의 없는 덱스트린으로 하여 각각 난소화성 덱스트린과 덱스트린으로 명명하였다.



Figure 4-68. Prototypes of indigestible dextrin and dextrin.

3. 요약 및 결론

가. 전분-카르복시산 에스테르화 및 카르복시산 전분들의 특성에 대한 반건조가열반응 공정 요인들의 영향 탐색

반건조가열반응 공정을 통해 전분과 카르복시산 사이의 에스테르 결합을 형성시킬 수 있었다. 반응온도 및 반응시간이 증가할수록, 반응혼합물의 pH가 낮아질수록 전분의 수산기와 유기산의 카르복실기 사이의 에스테르화반응은 촉진되었다. 반건조가열반응 공정요인들은 복합적으로 상호작용을 일으키며, 이와 같은 상호작용을 조정하여 기존 화학적 변성전분들 중 안정화전분을 대체할 수 있거나, 가교전분을 대체할 수 있는 유기산 수식 전분을 제조할 수 있었다. 조사된 유기산들 중 구연산이 전분과 에스테르반응이 용이하였으며, 그 다음으로 호박산이었다. 구연산을 반응물질로 할 때 찹쌀전분은 기존의 안정화전분의 특성을 보유한 것을 제조할 수 있었으며 멥쌀전분은 찹쌀전분보다 효과는 적지만 기존의 안정화전분에 유사한 것을 제조할 수 있었다. 감자전분과 고구마전분의 경우에는 대부분의 반응조건하에서 기존의 인산화 가교전분과 같이 저항전분 함량이 높은 구연산가교전분을 제조할 수 있었다. 호박산을 반응물질로 할 때, 감자전분과 고구마전분 모두 가교전분 형태로 제조되며, 감자전분의 경우 반응혼합물의 pH 조절을 통해 안정화전분의 특성을 보유한 변성전분을 제조할 수 있었다. 모든 결과를 고려할 때, 반건조가열반응 공정은 기존의 화학적 변성전분을 대체할 수 있는 유기산 수식 전분의 제조에 적합한 반응인 것으로 판단된다.

나. 동적건식가열반응기법의 구축 및 이를 활용한 유기산 수식 전분의 특성

반건조가열반응의 공정요인의 변화를 통해 다양한 기능성의 유기산 수식 전분을 성공적으로 생산할 수 있으나, 반응시간이 장시간이며 연속공적으로 적용이 어려워 대량생산이 어려우며, 생산제품의 갈변현상이 발생하는 등의 애로사항이 있다. 그러나 본 연구개발에서 구축된 동적건식가열반응기법은 최종제품의 갈변현상을 최소화하면서, 전분과 유기산 사이의 에스테르화 반응을 효율적으로 형성시키고, 연속공정이 가능하여 대량생산에 적합하였다. 동적건식가열반응의 공정요인 중 반응온도와 반응혼합물 pH에 대한 효과는 반건조가열반응과 동일하였으나, 스크류 회전속도는 낮을수록(반응기 내의 체류시간이 연장될수록) 전분과 유기산 사이의 에스테르화반응을 용이하게 하였다. 그럼에도 기존의 반건조가열반응공정의 단점들을 대부분 개선할 수 있는 장점을 가지고 있어 유기산 수식 전분 제조 시 산업적 활용도가 높을 것으로 생각된다. 찹쌀전분, 멥쌀전분, 소맥전분들은 기존의 안정화전분들의 대체품을 생산에 적합하였으며, 감자전분, 고구마전분들은 기존의 인산화 가교전분의 대체품의 생산에 적합한 것으로 판단된다.

<개발된 전분소재들의 기존 상업적 전분소재들의 대체품 선정>

Commercial product	DS	Citrate starch				
		Starch		Citric acid anhydrous (% s.b)	pH	Reaction method
		Source	Type			
Hydroxypropyl starch (S Company)	-	Rice	Waxy	10	4.5	RX(III)
		Pea	Normal	10	4.5	RX(III)
Starch acetate (S Company)	-	Rice	Waxy	10	4.5	RX(III)
Acetyl starch adipate (D Company)		Rice	Waxy	10	4.5	RX(III)
		Wheat	Normal	10	4.5	RX(III)
Phosphorylated crosslinked starch (D Company)	High	Potato	Normal	10	4.5	RX(I)
		Sweet potato	Normal	10	4.5	RX(I)
	Low	Rice	Normal	10	4.5	RX(III)

다. 저온플라즈마(low-temperature plasma) 처리에 의한 화학적 변성전분의 제조 및 특성

DBD 저온플라즈마 처리에 의한 전분과 음이온성 작용기들 사이의 반응에 대한 반응가스 조성과 반응물질의 영향을 조사하였다. DBD 저온플라즈마는 전분과 음이온성 작용기들 사이의 반응을 촉매할 수 있는 것으로 판단되며, DBD 저온플라즈마의 경우 산소를 반응가스에 첨가하여 사용하는 것이 전분과 음이온성 작용기들 사이의 반응을 용이하게 하는 것으로 판단된다. 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마를 이용하여 전분분자와 carboxylic acid 사이의 ester 결합의 형성여부를 조사하였다. 마이크로웨이브 방전 저온플라즈마도 역시 전분과 음이온성 작용기들 사이에 에스테르화 결합을 촉매할 수 있는 것으로 보인다. 그러나 DBD 저온플라즈마에 비해 반응효율이 급격히 떨어져 상업적인 활용성은 DBD 저온플라즈마에 비해 낮을 것으로 보인다. 따라서 DBD 저온플라즈마를 이용하여 전분과 음이온성 하이드로콜로이드(carboxylic acid를 보유한 것) 사이의 결합할 수 있는 건식반응공정 구축이 가능하였다. 전분-음이온성 하이드로콜로이드 중합체들은 음이온성 하이드로콜로이드의 종류에 주로 영향을 받았다. 결과적으로 적용하려는 목적에 맞는 음이온성 하이드로콜로이드를 사용하는 것이 적합한 것으로 보인다.

라. UV 조사처리에 의한 화학적 변성전분의 제조 및 특성

습식 및 건식 UV 처리는 전분분자와 음이온성 하이드로콜로이드 사이의 반응을 촉진할 수 있는 것으로 판단된다. 또한 감광제의 처가를 통해 전분-음이온성 하이드로콜로이드 중합체의 물리적 및 유변학적 특성을 변화시킬 수 있는 것으로 보인다. UV 조사처리 장치는 선행된 저온플라즈마 처리장치에 비해 값이 싸고 시판되는 UV 램프를 이용할 수 있어 상업화가 용이한 장점을 가진다.

마. 기존 화학적 변성기법에 의한 국내산 농산물 유래 전분들을 활용한 식품용 및 산업용 변성전분의 개발

국내산 감자전분, 고구마전분, 찹쌀전분, 멥쌀전분 및 이들의 가공부산물을 원료로 하여 기존의 산업용 히드록시프로필전분 및 카르복시메틸전분을 대체할 수 있는 대체 소재와 제조공정을 개발 하였다. 그러나 국내산 전분원료들의 가격이 본 연구개발에서 개발된 전분소재들의 상업화에 가장 문제가 될 것으로 보인다. 따라서 국내산 전분원료들의 가격이 낮아져 해외에서 수입되는 찰옥수수전분 및 일반옥수수전분들에 대한 가격경쟁력이 확보된다면 다양한 물성의 산업용 화학적 변성전분의 상업화가 더욱 빨라질 수 있을 것으로 예상된다.

제5절. 전분소재의 생리활성효능 검증 연구

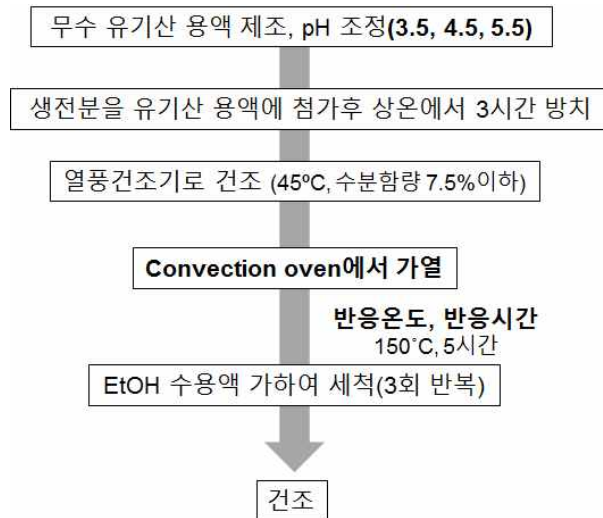
1. 연구방법

(1) 재료

천연 감자전분 (뚜레반), Citric acid anhydrous (DAEJUNG), DL-malic acid (DAEJUNG) and DL-tartaric acid (DUKSAN), Sodium hydroxide (DAEJUNG)

(2) 시료제조

개발 변성전분은 감자전분을 원료로 아래와 같은 조건으로 제조함(실험변수: 구연산(citric acid), 주석산(Tartaric acid), 말산(Malic acid) - 10%, 30% 및 pH level (3.5, 5.0 및 6.5)



(3) 문헌조사를 통한 지소화성 및 난소화성 전분들의 효능 분석

(가) 전분변형 조건에 따른 지소화/난소화전분 함량 및 *in vitro* 소화율 분석

(나) 전분변형 조건에 따른 단쇄지방산(SCFA) 생성능 및 유익균의 *in vitro* 생육효과 분석

(4) 변성전분의 이화학적, 물성학적 및 구조적 특성분석

(가) 구조적 특성

① Citric acid 치환도

Citric acid 치환도는 Kweon et al. (2001)의 방법을 참고하여 측정하였음. 구연산 치환 전분 (5.0g)을 칭량하여 50 mL의 증류수에 분산시킴. phenolphthalein 용액 (1%, w/w)을 지시약으로 첨가하여 적색이 되도록 조정함. NaOH (2.5M) 25 mL를 첨가하여 60 분간 교반함. 전분 용액을 0.5 M HCl 용액으로 적정함. 천연전분을 대조군으로 하여 치환도를 다음과 같이 계산함.

$$A\% = \frac{(V_o - V_1) \times M \times 0.158 \times 100}{W}$$

$$DS = \frac{162 \times A}{15800 - 156 \times A}$$

- A: CA substitutions (%), M: the standard molarity of HCl solution, W: the weight of starch, 158: the molecular weight of CA, 162: the relative molecular mass of starch, DS: the degree of substitution

② FT-IR

FT-IR은 Li, Ward, and Gao (2011)의 방법으로 Nicolet iS50 spectrometer (Thermo Electric Corporation, Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정하였음. KBr과 전분 시료를 9:1의 중량 비율로 혼합하고 타정하여 FT-IR 분석용 펠릿을 제조함. FT-IR 스펙트럼은 400-4,000cm⁻¹의 파장범위에서 4cm⁻¹의 해상도로 분석하였음.

③ XRD

X-ray diffraction pattern은 X-ray diffractometer (Smartlab, Rigaku, Tokyo, Japan)을 이용해 측정함. 전분 샘플은 항온항습기에서 24 h 동안 25±2° C로 안정화시킴. Target: Cu-radiation, Voltage: 40 kV, Corrent: 40 mA의 조건으로 주사각도는 (2θ) 4-40° 까지 5° /min으로 회전하여 X-ray diffraction pattern을 관찰함.

④ NMR

Solid 13C CP/MAS NMR 실험은 Bruker Avance II (Bruker, German)을 사용하여 측정하였음.

⑤ SEM

SEM은 Field Emission Scanning Electro Microscope (HITACHI S-4700, JAPAN)을 이용해 측정함.

(나) 이화학적 특성

① 열적 특성 (DSC)

열적 특성은 전분시료 5 mg을 aluminum pan에 취하고 증류수 20 μ l를 가하여 밀봉한 다음 24 h 방치하여 differential scanning calorimeter (DSC 200 F3, NETZSCH, Germany)를 이용해 측정하였음. 20 $^{\circ}$ C부터 120 $^{\circ}$ C 까지 10 $^{\circ}$ C/min의 속도로 가열하여 흡열 peak를 얻음. 이 흡열 곡선으로부터 호화개시온도 (T_o), 호화정점온도 (T_p), 호화종료온도 (T_c) 및 호화엔탈피(ΔH)를 계산함.

② Pasting 특성 (RVA)

Pasting 특성은 12% (w/w) 농도로 시료를 제조하여 Rapid Visco Analyser (TA instrument)를 이용하여 측정함. 측정 조건은 2분간 50 $^{\circ}$ C로 유지하고 95 $^{\circ}$ C까지 4분에 걸쳐 가열하여 95 $^{\circ}$ C에서 2분간 유지시킨 후 50 $^{\circ}$ C까지 4분에 걸쳐 냉각하고 50 $^{\circ}$ C에서 2분간 유지시켜 pasting 점도를 분석하였음. 회전축은 조작되는 동안 160 rpm으로 일정하게 회전시킴.

③ 용해도&팽윤력 (Solubility & Swelling power)

용해도와 팽윤력은 55-85 $^{\circ}$ C 범위에서 10 $^{\circ}$ C 간격으로 진탕수욕조의 각 온도에서 30분간 진탕한 후 2000xg에서 15분간 원심분리 하였고 상등액을 조심스럽게 칭량접시에 옮겨 105 $^{\circ}$ C에서 2h 건조하였음. 건조된 칭량접시와 원심분리 후 가라앉은 전분의 무게를 측정하여 팽윤력과 용해도를 계산하였음.

(나) 물성학적 특성

① Rheological measurement

전단 특성은 5% (w/w) 농도로 시료를 제조하여 95 $^{\circ}$ C에서 30분간 가열한 뒤 rheometer (RheoStress RS1, Thermo Haake, Karlsruhe, Germany)를 이용하여 측정되었음. 측정 조건은 25 $^{\circ}$ C의 온도를 유지하며, 전단속도 0.4에서 1000 s^{-1} 까지의 전단응력을 분석하였음. 데이터의 분석은 power-law model 식을 이용하였음.

② Gel texture

겔은 RVA를 사용해 전분 페이스트를 제조한 뒤 바닥이 평평한 둥근 틀에 부어 4° C에서 24 시간 보관하여 제조하였음. Texture analyzer (TAXT2i, Stable Micro Systems, UK)로 직경 35 mm 플런저를 사용하여 1mm/s의 속도로 25% 압축시켜 분석하였음. 경도, 탄력성, 응집력을 포함한 텍스처 속성은 힘-시간 곡선으로부터 계산되었음.

③ 냉-해동 안정성(Freeze-thaw stability)

동결 용해 안정성은 Srichuwong, Isono, Jiang, Mishima, & Hisamatsu (2012)의 방법으로 수행되었음. 5%의 현탁액 15 g을 95° C의 진탕 수욕조에서 30분간 가열하여 냉각시킨 후 -18° C에서 24h 보관하였음. 샘플은 냉동 후 30°C에서 1.5 h 해동시키고 1500g에서 30분 원심분리하여 제거된 상등액을 칭량해 샘플의 총 중량에 대한 분리된 액체의 백분율로 나타내었음.

(5) *in vitro* 소화모델 확립을 통한 소화율 및 혈당반응(pGI) 분석

(가) 표준화된 *in vitro* 소화흡수율 검정시스템 조건 확립

① 체내 소화환경을 표준화한 *In vitro* 소화모델 시스템 조건 구축

- 표준화된 *In vitro* 소화모델 시스템 조건은 A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food (2014-5-113, Food Funct.) 논문을 참고하여 구축하였음.

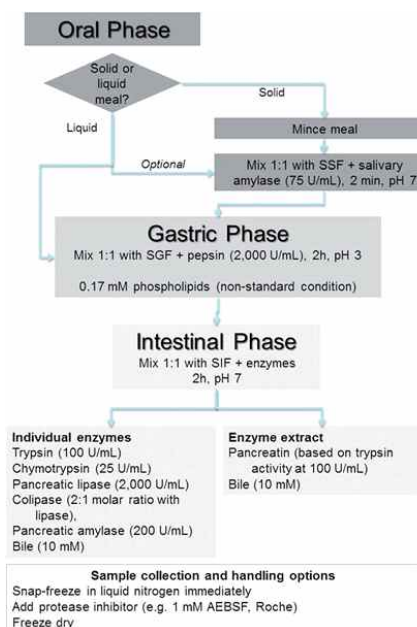


Fig. 5-1. Overview and flow diagram of a simulated *in vitro* digestion method. [Ref. Food & Function, 2014, 5: 1113-1124]

• 소화액(Simulated digestion fluids) 조성

- 사람의 *in vivo* data를 토대로 전해질을 이용하여 타액(Simulated salivary fluid), 위액(Simulated gastric fluid), 소장액(Simulated Intestinal fluid) 제조함(Table 1). Stock solution 제조 후 SSF, SIF, SGF에 따라 정해진 양을 첨가 후 증류수를 가하여 400 mL 까지 채움. CaCl₂(H₂O)₂는 소화액 제조 시 첨가하면 침전이 발생하므로 *in vitro* 소화 실험 중에 따로 첨가함. 각 소화액의 pH는 1M NaOH와 6M HCl을 첨가하여 조정 (Table 1).

Table 5-1. Preparation of stock solutions of stimulation digestion fluids.

Constituent	Stock concentration	SSF (pH 7.0)	SGF (pH 3.0)	SIF (pH 7.0)
	g/L	mL	mL	mL
KCl	37.3	15.1	6.9	6.8
KH ₂ PO ₄	68	3.7	0.9	0.8
NaHCO ₃	84	6.8	2.5	42.5
NaCl	117	-	11.8	9.6
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	30.5	0.5	0.4	1.1
(NH ₄) ₂ CO ₃	48	0.06	0.5	-
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂ *	44.1	0.025	0.005	0.04

• Pancreatin의 효소활성 측정

- Pancreatin from porcine pancreas(P7545, Sigma)의 첨가량을 결정하기 위해 효소 분석을 통해 전분분해 활성을 측정함. pancreatin의 α -amylase enzymatic Assay(EC 3.2.1.1)를 참고하여 amylase activity를 측정함.
- 기질(1.0% w/v Soluble starch solution) 1 mL를 20° C에서 4분간 incubation시킨 후 Pancreatin 용액(20% w/v)을 500 μ L - 1 mL 첨가하여 혼합한 후 20° C의 water bath에서 정확히 3분간 반응시킴. 이 용액에 발색시약(5.3 M Sodium Potassium Tartrate Solution + 96 mM 3,5-dinitrosalicylic acid solution) 1 mL를 첨가하여 효소반응을 정지시킴. 첨가한 효소의 양이 총 1 mL가 되도록 남은 효소를 첨가하여 끓는 항온수조에서 정확히 15 분간 반응시킨 액을 즉시 얼음에 넣어 냉각한 후 9 mL의 증류수를 가하여 혼합 후 540 nm에서 흡광도를 측정함. Maltose solution(0.2% w/v)로 standard curve를 작성한 식에 대입하여 pancreatin 1 mg 당 효소활성을 나타냄.

$$\frac{\text{Units}}{\text{mg Powder}} = \frac{[(A_{450} \text{ Test} - A_{540} \text{ Test blank}) - b]}{(a \times X)}$$

* a: slope of the linear regression established for $\Delta A_{540\text{nm}}$ of the Standards vs. quantity of Maltose [mg]

* b: intercept of the linear regression established for $\Delta A_{540\text{nm}}$ of the Standards vs. quantity of Maltose [mg]

* X: quantity of amylase powder [mg] added before stopping the reaction

• Bile 농도 측정

- Bile extract porcine(B8631, Sigma)의 첨가량을 설정하기 위해 total bile acids assay kit (colorimetric, BQ 092A-EALD)를 사용하여 bile의 농도를 측정하여 산출함.

$$\text{Sample Bile Acids } (\mu \text{ mole/L}) = \frac{\Delta A450 \text{ sample}}{\Delta A450 \text{ standard}} \times \text{standard}(35 \mu \text{ mole/L})$$

• Pancreatin-Bile Solution의 제조방법

- 소장 소화단계에서 사용되는 효소인 Pancreatin-Bile Solution은 측정된 pancreatin의 활성 및 bile 농도를 기준으로 제조함. pancreatin 1 g당 SIF를 5 mL를 혼합하여 37° C에서 15분간 incubation 후 원심분리(1952 g, 20 min)함. 상등액 5 mL 취하여 800 U/mL의 pancreatin solution을 제조함. 이 용액에 0.435 g bile에 2 mL SIF를 혼합한 bile solution을 가해 혼합하여 Pancreatin-Bile Solution을 제조함.

• 구강, 위장, 소장의 단계별 소화조건

- 실험에 사용하는 구강, 위장, 소장의 단계별 소화 효소인 Human salivary α-amylase(A0521, Sigma), Pepsin from porcine gastric mucosa(S6887, Sigma), Pancreatin from porcine pancreas(P7545, Sigma), Bile extract porcine(B8631, Sigma)는 단계별로 각각 SSF, SGF, SIF에 용해시켜 사용하며, 효소용액은 37° C에서 pre-warming 하여 사용함. 각각의 소화 조건에 맞게 pH를 1M HCl, NaOH를 가하여 조정함.

Step	Procedure of individual digestion steps
Oral phase	<ul style="list-style-type: none"> • 5 g의 sample에 3.5 mL의 SSF를 첨가하여 혼합함 • 25 μL의 0.3 M CaCl₂를 첨가함. • 1500 U/mL α-amylase(A0521, Sigma) solution을 첨가 후 975 μL 증류수를 가하여 완전히 섞이도록 하여, 37° C에서 2분간 반응함.
Gastric phase	<ul style="list-style-type: none"> • 이전의 구강 소화 단계에서 소화된 액체 또는 덩어리 상태의 시료에 7.5 mL SGF, 5 μL 0.3 M CaCl₂, 0.2 mL 1 M HCl, 0.695 mL 증류수를 첨가하여 혼합함. • 25,000 U/mL의 Porcine pepsin(S6887, Sigma) stock solution을 첨가 후 pH 3.0으로 조정함. 37° C에서 2시간 반응함.
Intestinal phase	<ul style="list-style-type: none"> • 위장 소화를 거치고 미즙상태가 된 상태의 소화물에 11 mL SIF, 40 μL 0.3 M CaCl₂, 0.15 mL 1M NaOH, 1.31 mL의 증류수를 첨가하여 혼합함. • Amyloglucosidase solution from <i>Aspergillus niger</i>(A9913, Sigma)을 sample의 Total starch양에 따라 0.2 mL/g 첨가함. • 제조한 Pancreatin-Bile solution 7.5 mL 가하여 혼합 후 pH 6.0으로 조정함.
Collection and assay of digestive mixture	<ul style="list-style-type: none"> • 소장소화단계에서 각 0, 30, 60, 90, 120, 180분에서 얻어진 소화물에 에탄올을 가하여 효소를 불활성화 함 • 원심분리 후 상등액에 대해 glucose-oxidase peroxidase(GOPOD) 방법을 이용하여 방출된 glucose 함량을 정량함

- 탄수화물 소재의 경우 amylase나 pancreatin만을 이용하여 실험하는 경우 좀 더 간소화 시킬 수 있으므로 대부분의 전분 소화 관련 연구들은 소장단계에서의 소화율 분석을 진행함. 따라서 구강, 위장, 소장 전 단계의 소화율과 소장 단계에서의 소화율 분석을 진행하여 비교하였고, 이 두 방법의 유의적 차이가 없으므로 소장단계에서의 소화율 분석을 진행함.

② 체내 소화환경에 따른 standard 물질 측정 분석

- White bread를 표준물질로 Total starch, *in vitro* 소화율 분석을 진행함. White bread를 100 mesh 체에 통과시켜 가루로 제조함. white bread의 total starch 측정엔 total starch kit(K-TSTA 07/11, Megazyme)을 이용하여 측정함(Figure 5-3).

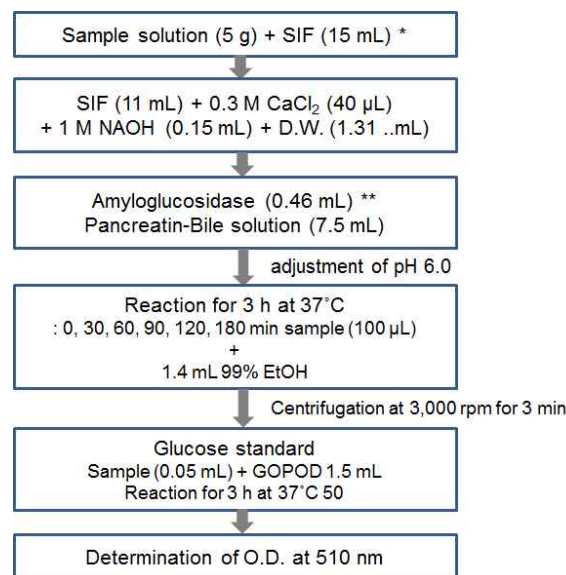


Figure 5-3. Procedure of a standardised *n vitro* digestion method.

(나) *in vitro* starch digestibility

- 천연 감자전분과 개발 변성전분 sample을 100 mesh 체에 통과시킴. 각 시료의 total starch를 total starch kit (K-TSTA 07/11, Megazyme)을 이용하여 측정한 후 세팅된 표준화 방법으로 소화율 분석을 진행함. 소화율 분석에서는 각 시료를 호화 전인 native 상태와 10분간 heating 처리하여 호화시킨 상태에서 소화율 분석을 진행함. 효소반응 30분에 분해된 전분의 양을 rapidly digestible starch(RDS), 30분에서 120분 동안 분해된 전분의 양을 slowly digestible starch(SDS), 180분 이후 분해되지 않은 전분의 양을 resistant starch(RS)으로 산출함.

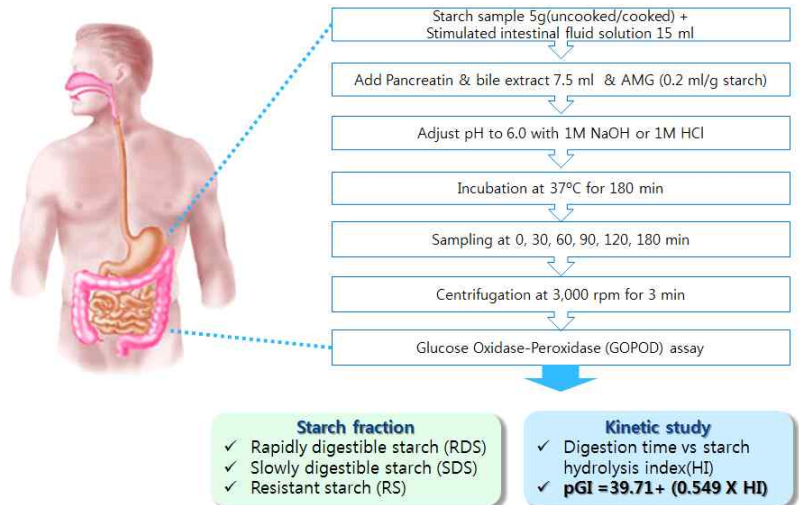


Figure 5-4. Procedure of a standardised *in vitro* digestion method.

① Kinetic 분석법

- Native 상태의 전분과 호화시킨 겔 상태 전분의 pGI(predicted GI)는 Goni 등(1997)이 제안한 방법을 이용하여 산출함. 시간에 따른 전분소화율을 이용하여 수식을 사용하여 산출함.

$$[C = C^{\infty}(1-e^{-kt})]$$

C: 각 시간의 전분소화율 C^{∞} : 최대 전분소화율, k: kinetic 상수

- 가수분해지수(Hydrolysis index HI)는 각 샘플의 시간에 따른 전분소화율 그래프 curve의 면적을 standard 물질(white bread)의 면적과 비교하여 산출함.

$$HI = \frac{\text{sample area}}{\text{white bread area}} \times 100$$

- HI값으로 부터 predicted glyceimic index(pGI = 39.71 + 0.549 HI)를 구함.

② RS fraction 추출

- *in vitro* starch digestibility 180분까지 진행 후 95% EtOH을 1:1로 가해 다운시킨 뒤 상층액 버리고 2000 rpm, 10 min 원심분리를 진행함. 95% EtOH으로 3회 이상 세척 (EtOH 가해 교반 후 다운시켜 상층액 버리고 다시 반복)한 후 칭량접시에 옮겨 40° C dry oven에 overnight 건조 후 150 μm seive로 걸러 사용함.

(6) *in vitro* 장내세균 생육효과(prebiotic effect) 분석

(가) *in vitro* 장내세균 생육효과 분석을 위한 변성전분 제조

- 변성전분 소재를 장내 환경을 표준화한 *in vitro* 소화 시스템으로 3 h 효소처리 하는 과정을 거쳐 최종 소화액을 얻음. 소화액에 과량의 95% EtOH를 가해 교반하여 효소활성을 중단시키고 불순물이 EtOH 중에 용해되도록 함. 교반한 소화액을 2-30 min 방치해 소화액 중의 전분을 침전시키고 불순물이 함유된 상등액을 제거하는 세척과정을 3-4회 반복한 후, 2000 rpm에서 10 min 원심분리 해 침전된 전분을 회수함. 회수한 전분을 stainless steel tray에 옮겨 공기순환형 dry oven에서 45° C에서 24-30 h 동안 건조시켜 잔여 EtOH를 제거한 후, 100 mesh 체에 통과시켜 RS sample을 제조함.

(나) 장내 유익균 선정

- 분변에서 장내 균을 분리하여 배양해 사용한 연구 (Renata et al. 2012) 를 참고하여, 사람의 분변 및 장에서 얻어진 미생물의 구입을 통해 장에서의 활성이 높은 장내지표 미생물을 선정함.
- 장내 지표미생물로 유익균 *Lactobacillus acidophilus* (JCM 1034), *Bifidobacterium bifidum* (JCM 1254) 2종과 유해균 *Enterococcus faecalis* (JCM 5803), *Escherichia coli* (ATCC 1553) 2종을 각각 선정하여 미생물 자원센터(Korean collection for type culture. 대전)에서 총 4종을 구입함. *Lactobacillus acidophilus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*는 통성혐기성으로 일반 호기적 조건에서 배양이 가능하나 *Bifidobacterium bifidum*은 편성혐기성으로 anaerobic jar(Anaerobic rectangular jar, Mitshubishi gas chemical)와 anaerobic gas pack(Mitshubishi gas chemical)을 이용하여 혐기적 조건에서 실험을 진행함.

Table 5-2. Selection of beneficial bacteria

	Strain No.	Source	Oxygen condition	Temperature	Growth medium	
Beneficial bacteria	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	KCTC[3151] JCM [1034]	Human feces	Facultative anaerobic	37° C	MRS Medium
	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	KCTC[3440]	Adult intestine	anaerobic	37° C	MRS medium + 0.05% cysteine
	<i>Enterococcus faecalis</i>	JCM [5803]		Facultative Anaerobic	37° C	Nutrient Medium
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC [1553]	From clinical source	anaerobic	37° C	Nutrient Medium

(다) *in vitro* 장내 유익균 생육증진 효과

- 변성전분 소재를 배지 중의 유일한 carbon source로 하여 배지를 제조함. 변성전분이 유익균 생육을 증진시킬 수 있는지 생균수를 측정하여 확인함. 본 연구에서 이용하는 배지는 분변에서 장내 균을 분리하여 배양해 사용한 연구(Renata et al. 2012)를 참고하여 아래의 표와 같이 제조함.

Table 5-3. Constituent of culture medium.

Constituent	Concentration (g/L)	Constituent	Concentration (g/L)
Bile salts	0.5	Tween#20	2
NaCl (Sodium chloride)	0.1	Hemin	0.05
K ₂ HPO ₄	0.04	Peptone	10
KH ₂ PO ₄	0.04	MnSO ₄ *4H ₂ O	0.01
L-cysteine 97%	0.5	Vitamin K	0.01
MgSO ₄ *7H ₂ O (Magnesium Sulfate)	0.01	Starch or glucose	0.01
NaHCO ₃ (Sodiumbicarbonate)	0.39		

① 구연산(citric acid, CA) 함량별에 따른 변성감자전분의 유익균 생육효과

- 글루코오스(glucose) 및 변성전분은 배지 조성 중 1%를 차지하며, 변성전분은 CA를 함량별 (10, 20, 30%)첨가해 pH 3.5로 조절하여 제조한 전분을 첨가하여 CA 함량별 유익균 생육 효과를 분석하였으며, 각 샘플별 저항전분함량은 아래와 같음.

	CA-10%	CA-20%	CA-30%
Contents of RS (%)	49.45	62.22	88.57

② 유기산 종류별 변성감자전분의 유익균 생육효과

- Glucose 및 변성전분은 배지 조성 중 1%를 차지하며, 변성전분은 유기산을 종류별(citric acid, tartaric acid, malic acid)로 20% 혹은 30% 첨가해 pH 3.5로 조절하여 유익균 생육 효과를 단일배양으로는 Figure 5-5, 혼합배양으로는 Fig. 5-6과 같이 분석하였으며, 각 샘플별 저항전분함량은 아래와 같음.

	Citric acid starch		Tartaric acid starch		Malic acid starch		A-starch (Commercial starch)
	20%	30%	20%	30%	20%	30%	
RS (%)	62.22	96.73	63.29	69.42	53.58	92.56	40.42

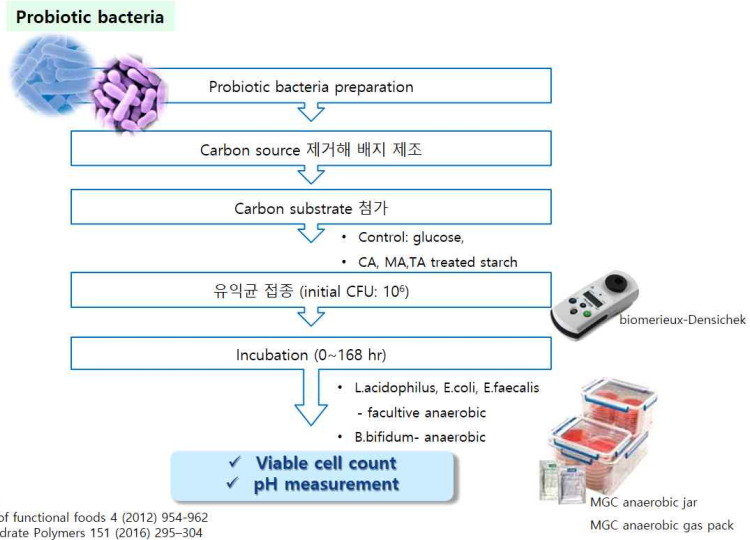


Figure 5-5. Procedure of viable cell count.

③ 프락토올리고당(fructooligosaccharide, FOS)과 변성감자전분의 유익균 생육효과

-Fructooligosaccharide 및 변성전분은 배지조성 중 농도를 달리하여 (0.5, 1, 2%) 첨가하였으며, 변성전분은 in vitro 소화율 분석 시 가장 저항전분 함량이 높았던 CA 30%를 첨가해 pH 3.5로 조절하여 제조한 전분을 첨가하여 양성대조군인 FOS와 citric acid 처리 전분의 유익균 생육효과를 분석하였음.

-장내 유익균의 생육정도는 각 시간별(0, 16, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192 h) 배양액을 *B. bifidum*와 *L. acidophilus*의 선택배지인 MRS agar에 평판배양 후 viable count를 측정함.

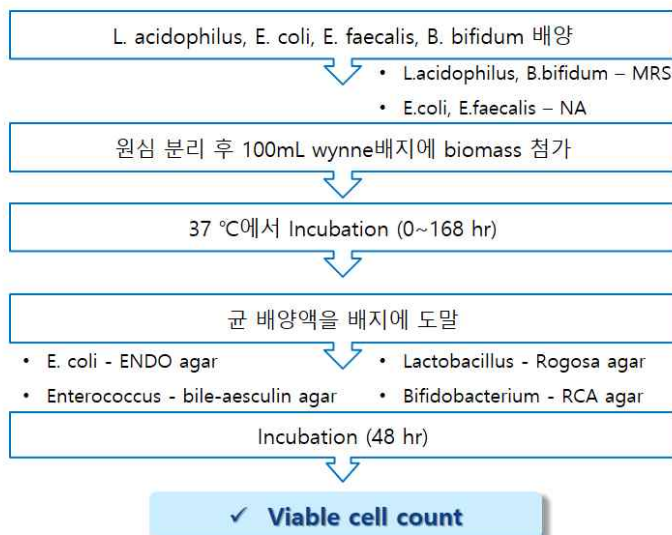


Figure 5-6. Mixed culture method.

(7) 동물모델에서 혈당/비만 개선 효능 검증

변성감자전분의 *in vitro* 전분 소화특성을 통해 유용후보군 선정 후 동물모델에서 생리적 효능을 검증하기 위해 C57BL/6 mice를 대상으로 식이에 구연산(CA) 처리농도, 유기산 종류 및 변성전분함량을 달리한 식이를 6주간 공급한 후 항비만/항당뇨/장기능 효능 실험을 진행함.

(가) 재료 및 실험조건

- 음성 대조군: 실험동물용 쥐 사료 1314 IRR
- 고지방 사료: Rodent Diet with 60% kcal% fat
- 실험군:
 - Set 1: Citric acid 10%-pH 3.5 처리전분, citric acid 30%-pH 3.5 처리전분
 - Set 2: Citric acid, malic acid, tartaric 30%-pH 3.5 처리전분
- 실험변수:
 - Set 1: 구연산(Citric acid, CA) 함량 및 변성전분 첨가량
 - Set 2: 유기산(citric acid, malic acid, tartaric acid)의 종류
- 실험동물
 - Set 1: 4주령의 C57BL/6 mice · Set 2: 4주령의 SD rat
- 시험군
 - Set 1:

		Constituent	Corn starch 대체량 (%)
Control	Normal diet	corn starch	-
Experimental group	CA10-low	CA10% pH3.5 starch	50
	CA10-high		100
	CA3- low	CA30% pH3.5 starch	50
	CA30-high		100

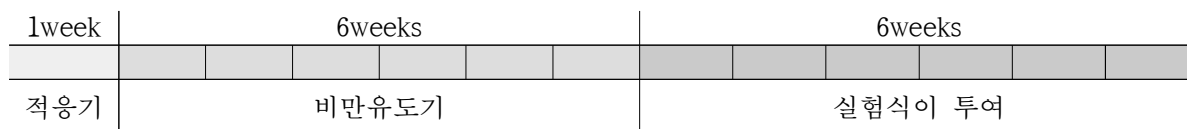
· Set 2:

시험물질	군	투여량	투여액량
Starch	G1(일반사료)	0	10
	G2(HFD)	0	10
	G3(HFD+CA)	2g/day	10
	G4(HFD+MA)	2g/day	10
	G5(HFD+CA)	2g/day	10

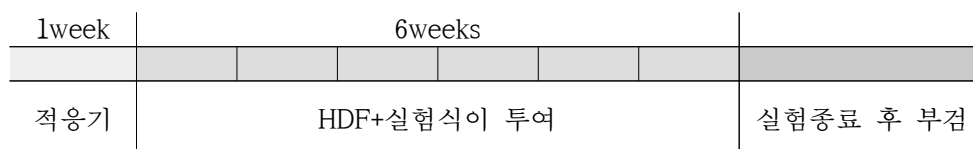
* HFD: Product #D12492

- 실험 일정

· Set 1:



· Set 2:



(나) 분석 항목

① 비만개선 효능

- 체중, 식이섭취량: 모든 동물에 대하여 군분리 시점과 시험 물질 투여 후 주 1회씩 측정함.
- 혈액 생화학적 검사: 모든 동물에 대하여 채혈한 혈액을 실온에서 응고 시킨 다음 원심분리(3000 rpm, 10 분)하여 혈청을 취한 후 생화학분석기를 이용하여 다음 항목들의 검사를 실시함.
 - 트리글리세라이드(Triglyceride : TG, mg/dL)
 - 총콜레스테롤 (total cholesterol : T-Chol, mg/dL)
 - 저밀도 지단백 콜레스테롤(LDL . Cholesterol, mg/dL)
 - 고밀도 지단백 콜레스테롤(HDL . Cholesterol, mg/dL)

② 혈당개선 효능

- Glucose tolerance test: 실험 종료전 그룹당 6마리를 선별 후 후 6시간 동안 절식시킨 후 glucose(2 g/kg)를 복강 주사하여 실시함. 혈당치는 포도당 주사 후 0, 15, 30, 60, 120 min 후 꼬리정맥에서 채혈하여 측정함.
- Insulin tolerance test: 실험 종료전 그룹당 6마리를 선별 후 후 6시간 동안 절식시킨 후 insulin을 주사하여 실시함. 혈당치는 insulin 주사 후 0, 30, 60 min 후 꼬리정맥에서 채혈하여 측정함.

- 혈액 생화학적 검사: 생화학자동분석기(7020, HITACHI, JAPAN)를 이용하여 다음 항목들의 검사를 실시함.
 - 트리글리세라이드(Triglyceride : TG, mg/dL)
 - 총콜레스테롤 (total cholesterol : T-Chol, mg/dL)
 - 총단백질(total protein : TP, mg/dL)
 - 저밀도 지단백 콜레스테롤(LDL . Cholesterol, mg/dL)
 - 고밀도 지단백 콜레스테롤(HDL . Cholesterol, mg/dL)
 - 알라닌 아미노기전이효소(alanine aminotransferase : ALT(GPT), U/L)
 - 아스파테이트 아미노기전이효소(aspartate aminotransferase : AST(GOT), U/L)
 - 혈액요소질소(blood urea nitrogen : BUN, mg/dL)
 - 락산탈수소효소(Lactate dehydrogenase: LDH, U/L)
 - 알부민(Albumin: Alb, mg/dL)
 - 크레아틴인 (Creatinine: Crea, mg/dL)
- 부검: 시험기간 종료 후, 모든 생존동물에 대해서 육안으로 주요 장기(폐, 간, 심장, 신장, fat부위별(Subcutaneous, Peritoneal, Mesentric, Epididymal))를 검사하며, 각 주요장기의 중량을 측정하며, 간과 WAT (epididymal fat and subcutaneous fat) 조직의 일부는 조직검사를 위해 적출하고 남은 간과 WAT 모두와 BAT(Brown Adipose Tissue), Intenstine(1/3), 을 질소액에 급속 동결하며 동결보관하며, Cecum내 내용물을 EP tube에 담아 -70도씨 냉동고에 보관함.
- 조직병리학적 검사: 간과 지방(부고환지방) 조직을 적출하고 10% 포르말린에 고정시킨 후 H&E 및 Oil red O stain을 실시

③ 장기능개선 효능

- SCFA(short chain fatty acids): 가스 크로마토그래피-질량분석기(GC-MS)를 사용하여 분석함
- 장내세균총 분석(q-PCR): 총 3종, 유익균 2종(*Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium spp*) 유해균 1종(*Clostridium spp*)의 세균을 동정함.
- 분변수분함량측정(무게측정법): 수분함량 백분율은 건조 전 무게에서 건조 후 무게를 빼서 수분 함량을 계산하고 전체 변의 무게에 대한 백분율로 나타냄.
- 분변 total lipid 분석: 분변의 지질 함량은 Folch 등(1)의 방법에 따라 분석함.
- 부검: 시험기간 종료 후, 모든 생존동물에 대해서 CO₂가스를 흡입시켜 후대정맥/복대동맥에서 방혈하여 안락사 시키고 부검함.

2. 연구결과

(1) 문헌조사를 통한 지소화성 및 난소화성 전분들의 효능분석

(가) 물리적, 화학적 및 효소적 변형 조건에 따른 *in vitro* 소화특성 변화

Source	Method	Treatment condition	Result	SDS	RS	Reference
Rice	Physical	Dual-retrogradation treatment -gelatinization(boiling water 20 min) -retrogradation(4°C 24/36/48 h)	SDS content ↑ (39.3(single)→ 56.7%(dual))	17.5% ↑	-	Food hydrocolloids (2013) 31: 1-4
waxy maize	physical	temperature-cycled storage - gelatinization: autoclaved at 121°C for 15 min - store for 16 days at 4°C / 4°C for 2 days and 30°C for 2days	RS content ↑ 4/30°C(48.2)>4°C(10.3)%	↓	37.9% ↑	Journal of Cereal Science (2009) 50: 43-48
Rice (normal/waxy)	physical	temperature-cycled retrogradation - gelatinization: boiled for 30 min - store for 21 days at 4°C, 25°C, 4/25°C for 24h cycle	SDS content ↑ 4/25(51.21)>4(21)>25(9%)°C at 7 days (waxy) Starch hydrolysis ↓ 4/25<4<25°C			Carbohydrate Polymers (2011) 84: 970-974
Waxy rice	Physical	- ANN: moisture 80%, 50°C, 24h - HMT: moisture 25%, 110°C, 8h - ANN-HMT, HMT-ANN	SDS content ↑ 45.5→54.6% (HMT) 45.5→ 49.3% (ANN-HMT) SDS content ↓ 45.5→43.6% (ANN) 45.5→40.5% (HMT-ANN) RS content ↓ 4.0~8.4%	9.1% ↑(HMT) 3.8% ↑(ANN-HMT)	4.0~8.4% ↓	Food Chemistry (2015) 172: 92-98
Corn, (normal, high-amylose)	Chemical	- Octenyl succinylation - 2-Octen-1-ylsuccinic anhydride(OSA) 3, 10%	RS content ↑ 36.9→50.5%(OS 3% normal) 36.9→68.1%(OS 10% normal) 71.7→74.6%(OS 3% High AM) 71.7→79.8%(OS 3% High AM)	1.5~19.4% ↓	13.6~31.2% ↑ (normal) 2.9~8.1% ↑ (high AM)	Carbohydrate Polymers (2013) 98: 1245- 1255
Maize	Enzymatic	Partial branching enzyme treatment : α-amylase from porcine pancreas	*SDS content ↑ (13.97(native)→ 23.90% (4 h max.)	9.93% ↑	-	Food Chemistry (2014) 164: 502-509

(나) 물리적, 화학적 및 효소적 변형 조건에 따른 *in vitro* 소화특성 변화

Source	Treatment condition	Moisture (%)	Temp(°C)	Time(h)	Result	Teference
Potato starch	HMT+acid (pH 5, 6, 6.5, 1.0 N HCl)	15, 20, 25	120	3	cooked, pH 6에서 RS ↑ (15.47→22.42%)	Carbohydrate Polymers 98 (2013) 1245- 1255
waxy rice starch	HMT	25	110	8	SDS ↑, RS ↓	Food Chemistry 172 (2015) 92-98
	ANN	80	50	24	SDS ↓, RS ↓	
	ANN-HMT, HMT-ANN				SDS ↑, RS ↓, SDS ↓, RS ↓	
Rice starch (normal, high-AM, waxy)	HMT+acid (0.2 M lactic, acetic, citric acid)	30	110	8	SDS ↓, RS ↑	Food Chemistry (2015) article in press
germinated brown rice	HMT	30	100	1	SDS ↑ (39.5→46.3%), RS ↑ (3.2→7.8%)	Journal of Cereal Science 56 (2012) 451-456
	ANN	150g/1000ml	50	24	RS ↑ (3.2→8.6%)	
wheat starch/ flour	HMT	15, 25, 35	120	24	RDS ↓, RS ↑	Journal of Cereal Science 63 (2015) 109-115
corn, pea, lentil starch	HMT	30	100, 120	2	온도 높아질수록 SDS ↓, RS ↑	Carbohydrate Polymers 75 (2009) 436-447
	ANN	70	10, 15	24	온도 낮아질수록 SDS ↓, RS ↑	
faba bean, black bean, pinto bean starch	HMT	23	80, 100, 120	12	온도 높아질수록 SDS ↑, RS ↓	Food chemistry 143 (2014) 175-184
sweet potato starch	HMT+debranching (pullulanase)	30	100	2	효소단일처리에 비해 SDS ↑ (31.60%)	Food Chemistry 187 (2015) 218-224
normal maize starch	HMT+acid (0.1, 0.5, 1M citric acid)	2.3	140	30	RS ↑ (18.34→36.55%)	Food Chemistry 159 (2014) 222-229
oat starch	HMT (ethanol boil, steam, covered/uncovered autoclaved)				SDS ↑ (21.88→26.55(Steamed), 32.89(Uncovered autoclaved), 29.43% (Covered autoclaved)	Food Research International 52 (2013) 17-25

(다) 복합변형에 따른 *in vitro* 소화특성 변화

Source	Method	Treatment condition	Result	SDS	RS	Reference
Maize	Chemical + Physical	Chemical - citric acid solution(0.1, 0.5, 1 M) Physical - heat at 140°C for 30 min	Native→acid con. 0.1→1M RS ↑ (5.02→22.6→35.62%) SDS ↓ (6.98→8.72→3.71%) RDS ↓ (88→68.68→60.67%) after cooked	3.27% ↓ (cooked)	30.6% ↑ (cooked)	Food Chemistry (2014) 159: 222-229
Canna	Chemical + Physical	Chemical - Acetylation (AC) - Hydroxypropylation (HP) - Octenyl succinylation (OSA) - Cross-linking (CL) Physical - HMT: heat at 100°C for 16 h	*RS contents Uncooked: CL(94.1)>HP(93.4)>OSA(92.2)>AC(91.4)>native(88.2)% Cooked: OSA(54.2)>HP(45.5)>CL(36.6)>AC(35.9)>native(22.9)%	-	5.9~3.2% ↑ (Uncooked) 31.3~13% ↑ (Cooked)	Food Chemistry (2012) 131: 500-507
Rice	Physical + Enzymatic	Physical -HMT: heat at 80°C for 30 min Enzymatic -α-amylase, pullulanase	RS contents ↑ dual(47)>single(35.2)>HMT(15.3)>native(2.52)%	-	44.48% ↑ (cooked)	carbohydrate polymers (2014) 103: 81~86
Barley grain	Physical + Chemical	Physical - Citric acid, Lactic acid Chemical - thermal cycle: 50/22°C for 24 h, cooled at 4°C	RS content ↑ approx. 43→90%	-	approx. 47% ↑	Starch/Stärke (2015) 67: 654-662
Sweet potato, yam	Physical + Chemical	Chemical - Citric acid, Lactic acid, Acetic acid (0.2M) Physical - HMT: heat at 110°C for 8h	SDS content ↑ LA(13.2)>CA(11.5)>AA(8.7)>HMT(6.7)>native(6.6)% -sweet potato AA(11.6)>CA(11.3)>LA(10.0)>HMT(4.9)>native(4.7)% -yam RS content ↑ CA(42.1)>LA(40.1)>AA(37.5)>HMT(27.2)>native(14.7)% -sweet potato CA(46.4)>LA(41.0)>AA(39.0)>HMT(31.0)>native(21.6)% -yam	2.1~6.6% ↑ (sweet potato) 5.3~6.9% ↑ (yam)	22.8~28% ↑ (sweet potato) 9.4~24.8% ↑ (yam)	Starch/Stärke (2014) 66: 1013-1021
Potato	Physical + Chemical	Chemical - HCl (1.0 N), pH 5, 6, 6.5, moisture level 15, 20, 25% Physical - HMT: heat at 120°C for 3h		3.7~7.1% ↑ (cooked)	8.2~17.9% ↑ (cooked)	Carbohydrate Polymers (2013) 98: 1245- 1255

(라) 물리적, 화학적 및 효소적 변형 조건에 따른 장기능 효능분석

Source	Method	Treatment condition	Added bacteria	Result	Reference
high-amylose maize starch	Physical	Retrogradation (autoclaving-cooling + 2cycles)	4 strains <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> (<i>L. bulgaricus</i>), <i>L. casei</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. lactis</i> , and <i>B. Longum</i>	① Propionic acid, butyric acid 시간에 따라 ↑ (24 h,max) (특히 <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. Longum</i>) ② <i>B. infantis</i> & <i>B. longum</i> / <i>E. faecalis</i> & <i>E. faecium</i> / <i>E. faecalis</i> & <i>B. infantis</i> 조합에서 시너지효과 ↑	Starch/Stärke 2013 (65) 660-665
high-amylose maize starch	Physical	Retrogradation (autoclaving-cooling + 2cycles)	4 strains <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> (<i>L. bulgaricus</i>), <i>L. casei</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. lactis</i> , and <i>B. Longum</i>	효화 starch에 비해 노화 starch가 acetic, propionic, butyric acid ↑	Starch/Stärke 2013 (65) 330-337
Maize starch	Enzymatic	α-amylase pullulanase	Feces	RS 함량에 따라 Formic acid, Acetic acid, Propionic acid, Butyric acid, Total acid ↑	International Journal of Biological Macromolecules 51 (2012) 1185-1188
potato starch	Chemical	Acid treatment (tartaric acid, HCl)	<i>Lactobacillus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Clostridium</i>	① 모든 종류의 박테리아 ↑ (resistant dextrine을 carbon source로 이용함) ② Probiotic & intestinal bacteria 함께 배양 시 probiotic 균 (<i>Bifidobacterium</i> and <i>Lactobacillus</i>)이 우세하게 됨 ③ Prebiotic index 시간에 따라 ↑	journal of functional foods 4 (2012) 954-962
Maize starch (normal/high amylose)	Physical	HMT 1. Oven (135 C for 3.5 h) 2. Auto clave - moisture cont. (25, 60%), - cycles (1~3)	Feces	① pH: HMT NS<HAS (lactic acid bacteria의 source) ② SCFA: Lactic acid: NS>HAS butyric acid: HAS>NS	Anaerobe 24 (2013) 71-78

(2) 표준화된 *in vitro* 소화흡수율 검정시스템 조건 확립

(가) 체내 소화환경을 표준화한 *In vitro* 소화모델 시스템 조건 구축

- Pancreatin의 효소활성 측정
 - Pancreatin의 효소활성을 수식에 대입하여 값을 산출한 결과 pancreatin의 amylase activity는 8 ± 0.23 U/mg powder로 측정됨. 따라서 총 소화액 40 mL에 amylase activity 기준으로 200 U/mL 첨가함.

- Bile 농도 측정
 - Bile 의 농도는 $918,750 \pm 30,625$ μ mole/L로 측정됨. 따라서 총 소화액 40 mL에 160 mM 농도가 되도록 첨가함.

- 구강, 위장, 소장의 단계별 소화조건은 아래와 같음
 - A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food - an international consensus(2014-5-113, Food Funct.) 논문을 중심으로 기존의 goni 등(1997)의 방법을 참고하여 표준화 조건을 설정함.
 - Salivary amylase는 고가시약으로 논문을 참고하여 pancreatic α -amylase로 대체하여 동일한 효소활성으로 첨가함. 또한 pancreatin 효소가 free glucose 단위까지 적절하지 분해하지 못하기 때문에 brush border등에서 분비되는 전분분해효소인 amyloglucosidase를 추가하여 첨가함.
 - Amyloglucosidase에 의한 가수분해는 pH 3.0이하나 6.5 이상에서 활성이 50%이하로 저해되므로 이를 고려하여 소장 소화단계에서 pH 6.0으로 조정함.

Table 5-4. Conditions for a standardised verification system of *in vitro* digestion method.

Step		Genreal <i>in vitro</i> digestion (Goni et al.)	A Standardised <i>in vitro</i> digestion (2014-5-1113, Foo & Function)	A standardised verification system of <i>in vitro</i> digestion method
Sample		Sampe 5 g + 50 mL D.W. + 12.5 mL paction solution + 1 mL AMG	Sampe 5 g + 50 mL D.W. (Oral step) + 10 mL SGF (Gastric step) + 20 mL SIF (intestinal step)	Sampe 5 g + 50 mL D.W. (Oral step) + 10 mL SGF (Gastric step) + 20 mL SIF (intestinal step)
Assay		Determiation of released glucose (GOPOD)	-	Determiation of released glucose (GOPOD)
Oral	Solution	1 mM CaCl ₂	SSF +CaCl ₂ +D.W.	SSF +CaCl ₂ +D.W.
	Enzyme	Pancreatic α -amylase (1.3 mg/mL)	Salivary amylase (A0521-sigma) (75 U /mL)	Pancreatic α -amylase (75 U/mL)
	Reaction condition	30 min, pH 7.0	2 min, pH 7.0	2 min, pH 7.0
Gastric	Solution	0.1 M HCl	SSF +CaCl ₂ +D.W.	SSF +CaCl ₂ +D.W.
	Enzyme	Pepsin 50 mg/g sample (P7000-Saigma, 250 Units/mg)	Porcine pepsin 2000 U/mL (P6887-Sigma)	Porcine pepsin 2000 U/mL (P6887-Sigma)
	Reaction condition	For 2 h and pH 2.0 (by 0.1 M HCl)	For 2 h and pH 3.0 (by 1 M HCl)	For 2 h and pH 3.0 (by 1 M HCl)
Intestinal	Solution	0.1 M NaHCO ₃	SIF + CaCl ₂ + D.W.	SIF + CaCl ₂ + D.W.
	Enzyme	Pancreatin 0.235 g/g starch + AMG 0.2 mL/g starch	200 U/mL based on pancreatin(P7545) amylase activity + Bile 10 mM	200 U/mL based on pancreatin(P7545) amylase activity + Bile 10 mM
	Reaction condition	For 3 h and pH 6.0	For 2 h and pH 7.0	For 3 h and pH 6.0

(나) 체내 소화환경에 따른 standard 물질 측정 분석

- White bread의 total starch 값은 $46.52 \pm 2.12\%$ 로 나타났으며, 제품의 영양성분표에 나타난 값을 환산한 46.96% 유사한 값을 나타냄(Figure 5-7).



Figure 5-7. Total starch content of white bread.

- White bread의 total starch hydrolysis(%)는 A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index(Goni, 1997)의 논문과 비교하였을 때 표준화 방법으로 실험한 areas (12122.04)와 논문(Goni, 1997)의 areas(12120.90)와 유사 값을 나타내어 *in vitro* 소화흡수를 검정시스템 조건이 잘 설정된 것으로 볼 수 있음(Figure 5-8).

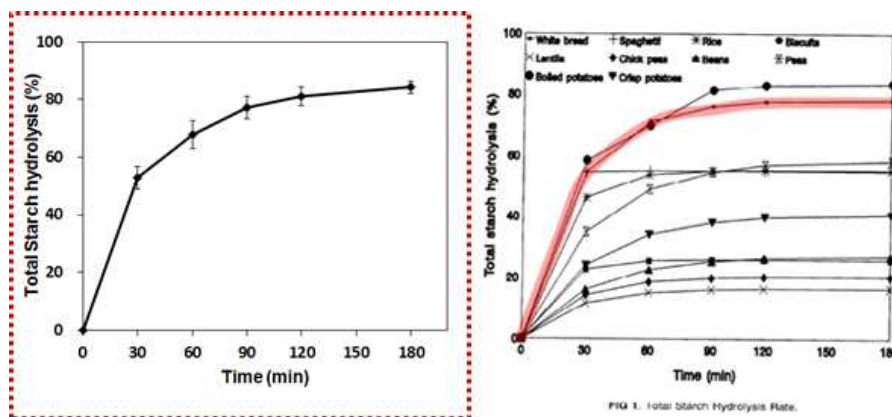


Figure 5-8. Total starch hydrolysis rate of white bread. (Left: our result; Right: reference).

(3) 천연, 상업용 및 개발 변성전분 소재들의 *in vitro* 소화율 및 혈당반응(pGI) 분석

소화율 분석에 사용된 상업용 변성전분은 모두 식품용이며, 다음과 같은 제품을 이용하여 소화율을 분석함.

제품명	원료 및 변성방법	특징
S-starch (S사)	옥수수 (Acetylation)	
D-starch (D사)	옥수수 (Phosphorylated cross-linking)	<ul style="list-style-type: none"> • 총식이섬유함량 80% 이상 • 인함량 0.4% 이하
AD-starch (D사)	옥수수 (acetic anhydride & adipic acid)	<ul style="list-style-type: none"> • 저항전분 타입

(가) Total starch 측정

① 천연 감자전분 및 상업용 전분

천연 감자전분과 상업용 전분인 D-starch, S-starch, AD-starch의 total starch 값은 각각 78.87, 70.97, 79.52 및 80.45%로 측정됨.

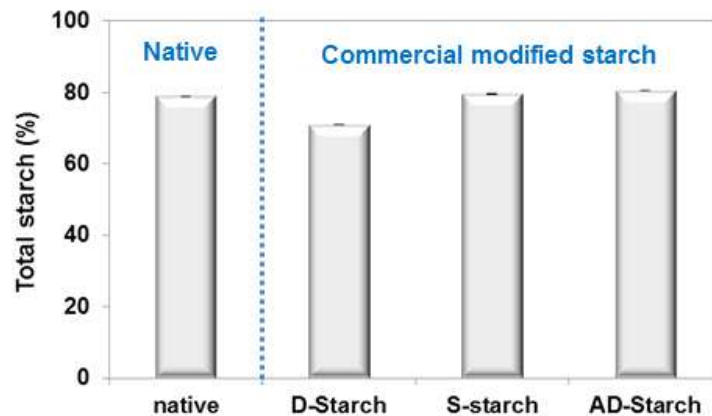


Figure 5-9. Total starch content of native and commercial modified potato starches.

② 개발 변성전분

개발 변성전분 중 반응물로 citric acid를 이용해 150° C-3h, 120° C-2h, 120° C-1h 반응시킨 전분의 total starch 값은 각각 77.79, 78.37, 77.71%로 측정되었고 citric acid 농도를 10%로 하여 pH 3.5, 4.5, 5.5 조건으로 제조한 전분의 total starch는 각각 78.88, 79.94, 79.70%로 측정되었고 citric acid의 농도를 20%로 하여 pH 3.5, 4.5, 5.5 조건으로 제조한 전분의 total starch는 각각 78.39, 79.55, 79.42%로 측정됨.

또한 반응물로 succinic acid를 이용해 150° C-3h, 150° C-2h, 120° C-2h, 120° C-1h, 135° C-2h 반응시킨 전분의 total starch 값은 각각 80.32, 79.58, 81.37, 78.12, 80.36% 로 측정됨.

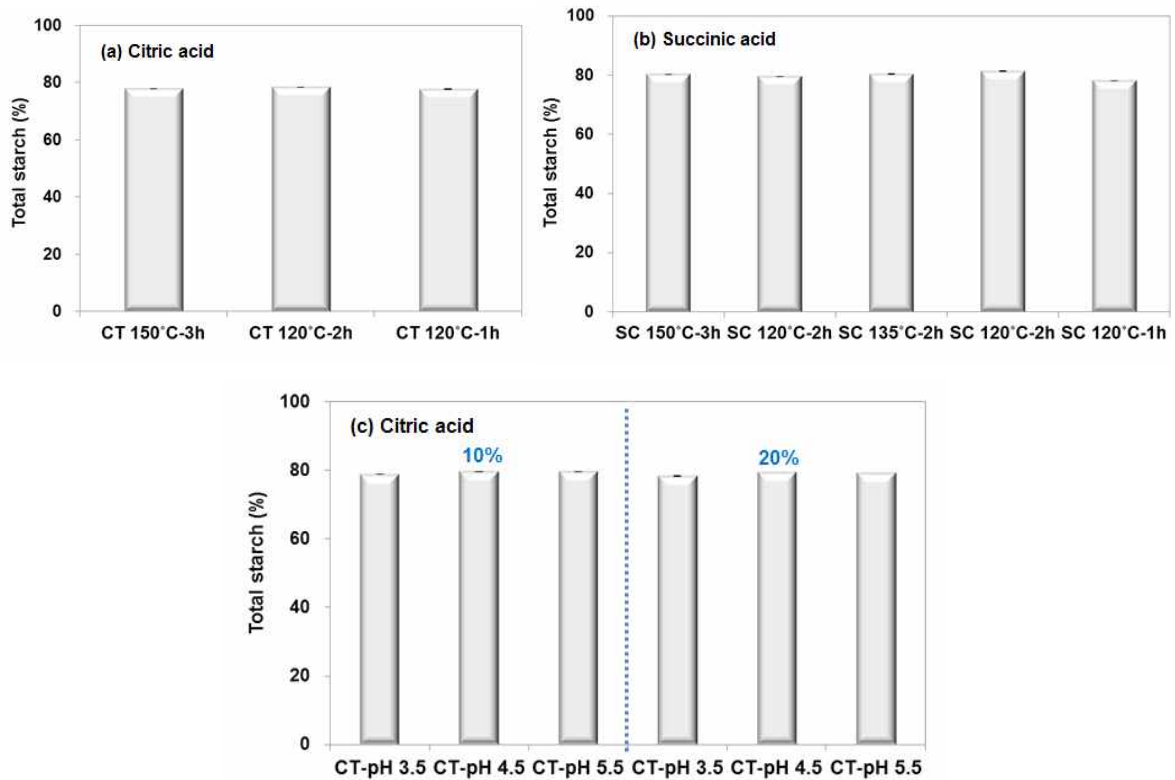


Figure 5-10. Total starch content of developed modified potato starches.

(나) *in vitro* 소화율 분석

- 천연 감자전분, 상업용 전분인 S-starch, D-starch, AD-starch의 호화 전후 전분 소화율을 glucose 방출량으로 분석한 결과, 호화 전에는 천연 감자전분 > D-starch > S-starch > AD-starch이 순으로 방출되는 glucose 함량이 낮게 나타남. 그러나 호화 후의 전분 소화율에서는 천연 감자전분의 glucose 방출량이 가장 높으며, 각 상업용 전분 간의 방출되는 glucose 함량에서 유의적 차이가 나타나지 않아 전반적인 소화과정에서 차이가 나타나지 않았음(Figure 8).

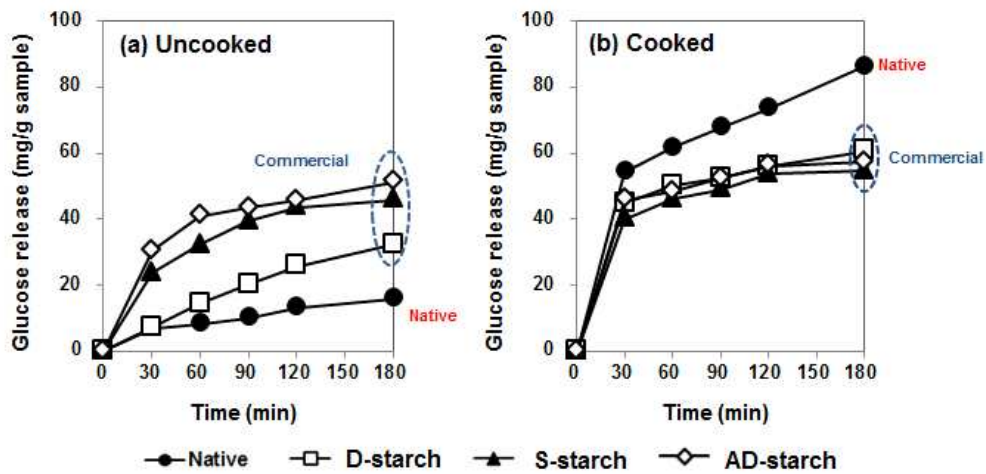


Figure 5-11. Glucose release of native and commercial potato starches.

- 또한 방출된 glucose 함량을 정량하여 RDS(rapidly digestible starch), SDS(slowly digestible starch), RS(resistant starch) 함량을 구하였음. 소화 전 RDS 함량은 천연 감자전분(7.52%)이 가장 낮고 D-starch(7.66%) > S-starch(25.35%) > AD-starch (32.45%)의 순으로 나타남. RS 함량도 이와 마찬가지로 천연 감자전분(85.90%)이 가장 높으며 D-starch(72.56%), S-starch(53.44%), AD-starch (51.28%) 순으로 나타남(Figure 9). SDS 함량의 경우 D-starch(19.78%)가 천연 감자전분(6.58%)보다 더 높게 나타나, 혈당지연 및 대장도달 기능을 가지는 SDS와 RS fraction을 합한 함량을 구하였을 때 D-starch(92.34%)와 천연 감자전분(92.48%)이 유사한 결과를 보임.
- 본 분석 결과를 통해 소화 전 상태에서는 D-starch가 천연 감자전분과 유사한 혈당지연 효과를 갖는다고 볼 수 있음. 반면 소화 후에는 천연 감자전분의 RDS가 크게 증가하고 RS는 감소하였으나, 상업용 전분의 경우 천연 감자전분보다 RDS는 더 낮고 RS는 증가한 결과가 나타남. 또한 소화 전에 나타났던 D-starch의 RS, SDS 함량은 다른 상업용 전분들과 유의적 차이가 나타나지 않았음.

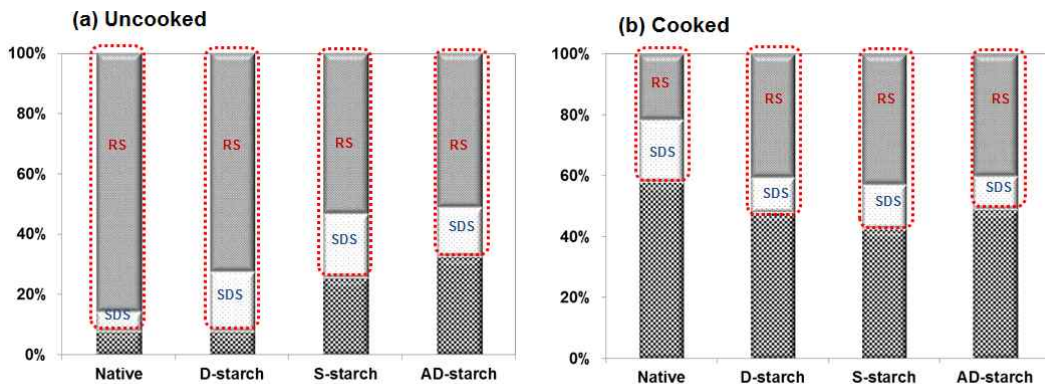


Figure 5-12. Starch fraction (%) of native and commercial potato starches.

- 반응물로 citric acid를 이용한 변성전분의 분석 결과, 호화 전에는 미처리군인 천연 감자전분의 glucose 방출량이 가장 낮았으며 120° C-2h, 120° C-1h 반응시킨 전분의 glucose 방출패턴은 천연 전분보다 높으며 서로 유사하였고, 150° C-3h 반응시킨 전분의 glucose 방출량이 전 sampling time에서 가장 높게 나타남(Figure 10). 그러나 호화시킨 상태의 전분 소화율에서는 천연 전분이 가장 glucose 방출량이 높았으며, 나머지 150° C-3h, 120° C-2h, 120° C-1h 반응시킨 전분의 소화패턴은 서로 유의적 차이가 나타나지 않음.

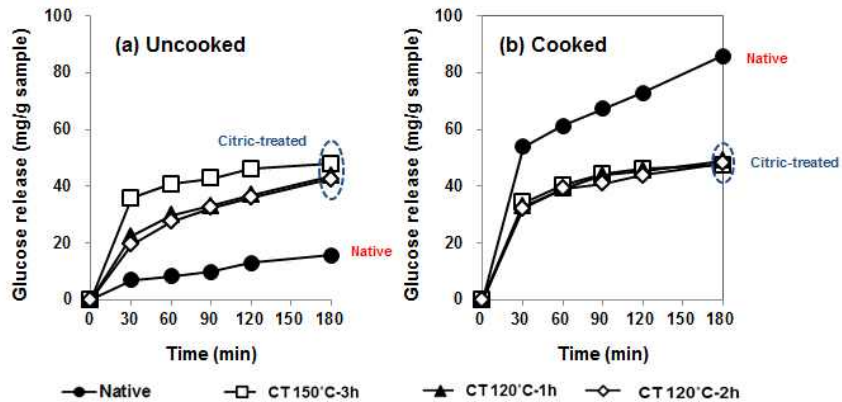


Figure 5-13. Glucose release of developed potato starches modified with citric acid.

- 개발 citric acid 수식 변성전분의 전분소화율 측정에서 방출된 glucose 함량을 정량하여 RDS, SDS, RS 함량을 구한 결과, 호화 전 RDS 함량은 천연 감자전분(7.52%)이 가장 낮았으며 120° C-2h 반응시킨 전분(20.99%), 120° C-1h 반응시킨 전분(24.12%)은 서로 유사하게 나타났고 150° C-3h 반응시킨 전분(38.75%)이 가장 높게 나타남. RS함량은 RDS함량에 반비례하는 경향을 나타내며 천연 감자전분(86.10%)이 가장 높고, 120° C-2h 반응시킨 전분(60.93%), 120° C-1h 반응시킨 전분(60.29%)은 서로 유사하며 150° C-3h 반응시킨 전분(50.28%)이 가장 낮게 나타남(Figure 5-14).
- 반면 호화 후에는 천연 감자전분의 RDS가 크게 증가하고 RS는 감소하였으며 citric acid 처리군들은 천연 전분보다 RS 함량이 더 높게 나타나 호화 전의 RS 함량을 대부분 유지하는 경향을 나타냄. 특히 150° C-3h 반응시킨 전분의 경우 호화 전(50.28%)과 호화 후(50.13%) RS 함량이 유사하게 나타남(Figure 5-14).
- 본 분석 결과를 종합하였을 때 citric acid 처리를 통해 호화 후 RS 함량이 증진되었으며, 120° C-2h, 120° C-1h 반응시킨 전분은 호화 후에 RS 함량이 감소되었으나 150° C-3h 반응시킨 전분의 경우 호화 시에도 유지되는 특성의 RS가 생성되었다는 결론을 내릴 수 있음.

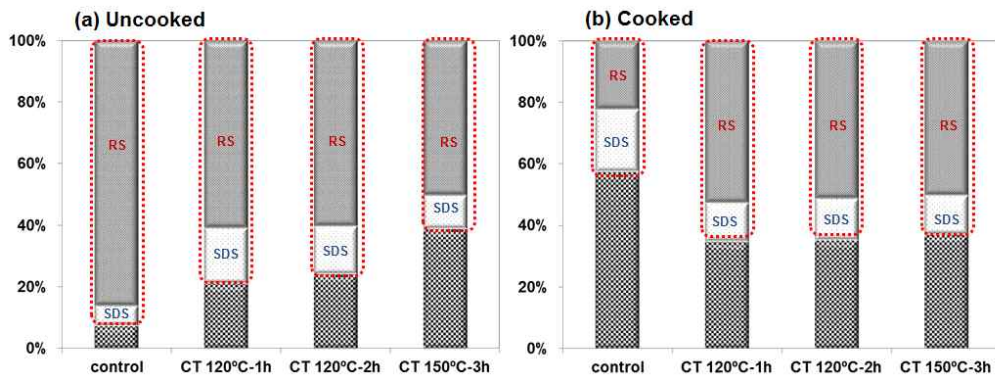


Figure 5-14 Starch fraction (%) of developed potato starches modified with citric acid

- 개발 변성전분 중 반응물로 succinic acid를 이용한 변성전분의 소화율을 glucose 방출량으로 분석한 결과, 호화 전에는 120° C-2h 반응 전분의 소화율이 유의적으로 낮아 천연전분에 가까운 결과가 나타났으며, 150° C-2h, 135° C-2h 반응전분은 그보다 높게 나타났음(Figure 5-15). 반면 호화 후에는 모든 변성처리 전분이 천연전분보다 소화율이 낮게 나타났으며 그 중 호화 전에는 유의적으로 소화율이 낮았던 120° C-2h 반응 전분의 소화율이 가장 높았고, 이외의 변성전분들은 서로 유의적 차이를 보이지 않음.

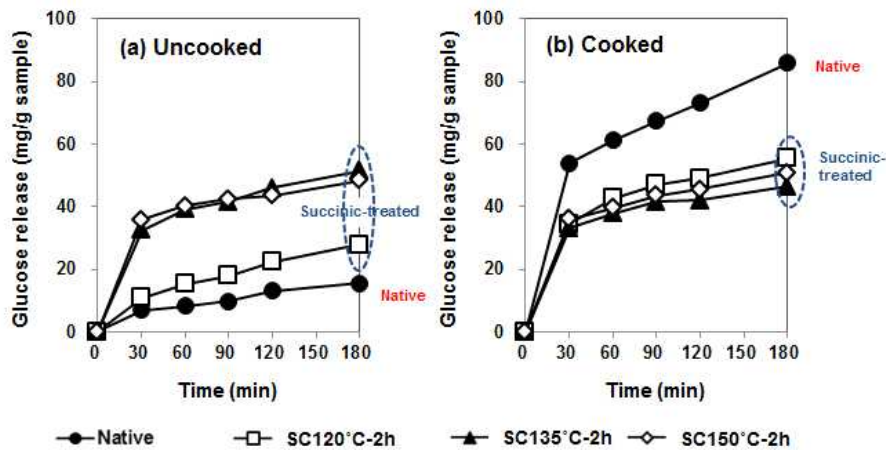


Figure 5-15. Glucose release of developed potato starches modified with succinic acid.

- 개발 변성전분 중 succinic acid를 이용한 변성전분의 소화율 측정에서 방출된 glucose 함량을 정량하여 RDS, SDS, RS 함량을 구한 결과 glucose 방출량 패턴과 RDS, SDS, RS 함량의 경향이 유사하게 나타남(Figure 5-16). 호화 전 상태에서 120° C-2h 반응전분의 RS 함량은 천연전분과 유사하게 나타났으나 호화 후에는 RS함량이 크게 감소하고 RDS함량이 증가해 150° C-2h, 135° C-2h 반응전분의 starch fractions 함량과 유사한 결과로 나타남. 150° C-2h, 135° C-2h 반응전분은 호화 전후의 fractions 함량 경향에 큰 변화가 없게 나타남. 본 결과를 통해 호화 전에는 120° C-2h 반응전분이 천연전분과 유사하게 난소화성을 지니는 혈당지연 소재의 가능성을 보였으며, 150° C-2h과 35° C-2h 반응전분은 호화 전후 fraction 함량 변화가 크지 않아 호화로 인한 변화가 적을 것으로 사료됨.

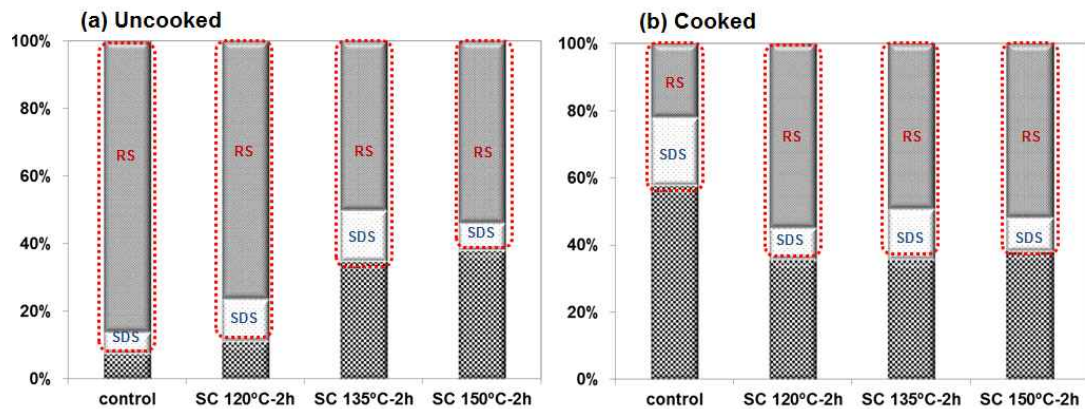


Figure 5-16. Starch fraction (%) of developed potato starches modified with succinic acid.

- 개발 변성전분 중 citric acid의 농도를 10%로 하여 pH 3.5, 4.5, 5.5 조건으로 제조한 전분의 소화전후 소화율을 glucose 방출량으로 분석한 결과, 소화 전에는 pH 5.5 전분의 소화율이 천연전분과 가까이 유의적으로 낮았으며 pH 3.5, 4.5 전분은 서로 유의차를 보이지 않음(Figure 5-17). 그러나 소화 120 min부터는 pH 3.5, 4.5 전분의 glucose 방출량에 유사하게 접근하며 최종 측정 시간인 180 min에서는 유사해지는 경향을 나타냄. 반면 소화 후의 glucose 방출 패턴에서는 pH 3.5, 4.5, 5.5 처리 전분의 소화량이 모두 천연전분보다 낮으며 처리군 간에는 서로 유의적 차이를 보이지 않음.

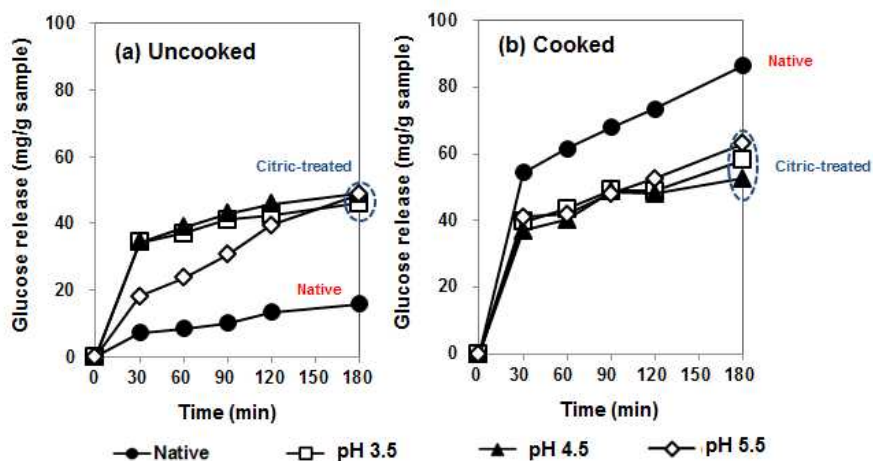


Figure 5-17. Glucose release of developed potato starches modified with 10% citric acid.

- Citric acid 농도를 10%로 처리한 변성전분의 소화율 측정에서 방출된 glucose 함량을 정량하여 RDS, SDS, RS 함량을 구한 결과, 소화 전에는 pH 3.5, 4.5, 5.5 처리 전분의 RS 함량은 서로 큰 차이를 보이지 않으나 pH 5.5 처리군의 SDS 함량이 매우 크게 나타남(Figure 5-18). 반면 소화 후에는 pH 3.5, 4.5, 5.5 처리군 모두 천연전분보다 RS가 증가했으며 각 처리군 간의 RS, SDS 함량에서는 유의차가 나타나지 않음. 본 결과를 통해 citric acid 10%, 150°C-5h 처리로 천연 감자 전분의 소화 후 RS 함량을 일부 유지시킬 수 있음을 알 수 있음.

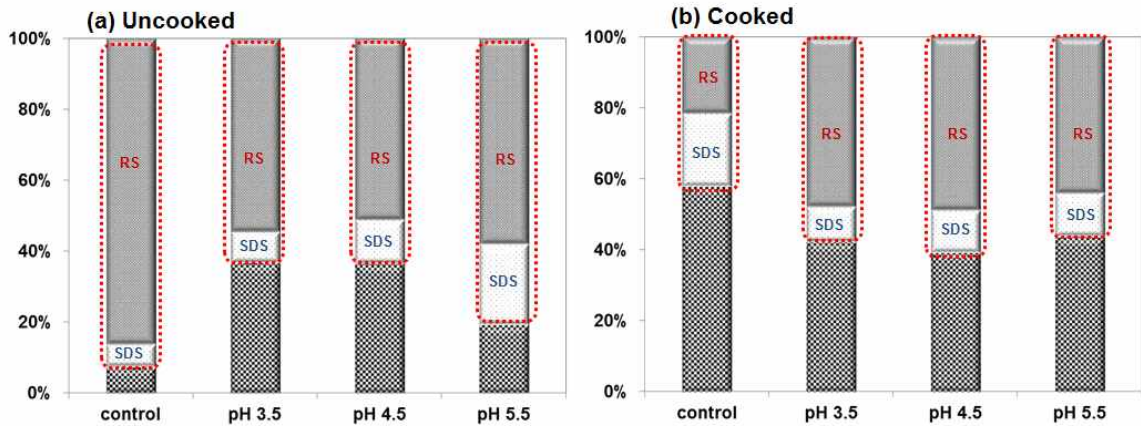


Figure 5-18. Starch fraction (%) of developed potato starches modified with 10% citric acid.

- 개발 변성전분 중 citric acid의 농도를 20%로 하여 pH 3.5, 4.5, 5.5 조건으로 제조한 전분의 호화전후 소화율을 glucose 방출량으로 분석한 결과, 호화 전 pH 3.5 처리군의 소화율이 천연전분과 거의 유사한 정도로 낮게 나타났고 pH 4.5, 5.5 처리군은 그보다 높으며 서로 유사함. 호화 후에도 pH 3.5군의 소화율이 유의적으로 낮게 나타나 강한 혈당지연효과를 가지는 것을 확인할 수 있었고, pH 4.5와 5.5군은 천연전분보다 낮은 소화율을 보였으며 서로 유의차는 없었음(Figure 5-19).

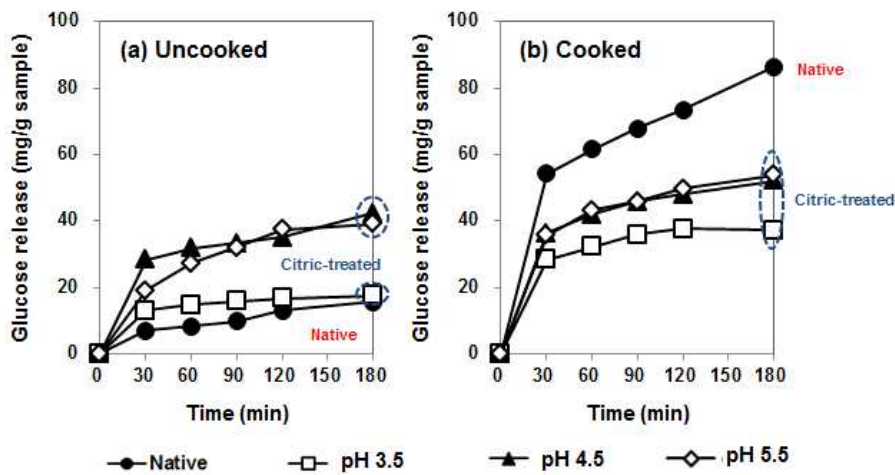


Figure 5-19. Starch fraction (%) of developed potato starches modified with 20% citric acid.

- 개발한 변성전분 중 citric acid 농도를 20%로 하여 pH 3.5, 4.5 및 5.5 조건으로 제조한 변성전분의 RDS, SDS, RS 함량을 구한 결과, 호화 전에는 pH 3.5 처리 전분의 RS함량이 천연 전분과 거의 유사한 정도로 높았으며 (각각 86.25, 86.10 %), 4.5와 5.5 처리 전분은 그보다 RS 함량이 적게 나타나며 서로 큰 차이를 보이지 않음(Fig. 5-20). pH 5.5 처리 전분의 경우 SDS 함량이 유의적으로 크게 나타나 citric acid 10% 전분의 pH 5.5 처리 전분과 유사한 경향을 보임. 호화 후에는 pH 3.5, 4.5, 5.5 처리군 모두 천연전분보다 RS가 증가했으며 pH 3.5 처리 전분은 RS가 유의적으로 낮아 가장 강한 혈당지연효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었고 pH 4.5, 5.5 처리 전분은 서로 유사한 함량 패턴을 보여 pH 5.5 전분은 호화 전에는 상당한 SDS 함량을 지니나 호화 후 많은 부분이 유실되는 citric acid 10% 전분의 pH 5.5 처리 전분과 유사한 특성을 나타내는 것을 알 수 있음.

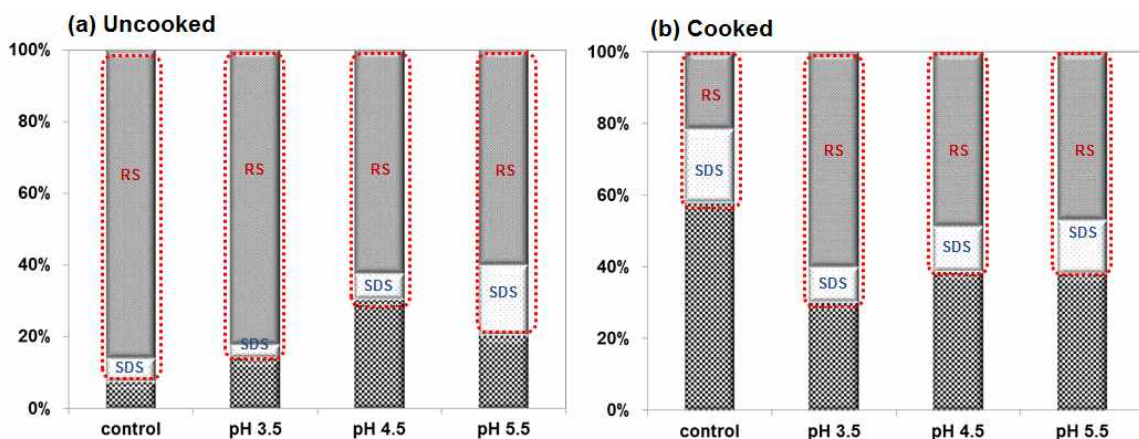


Figure 5-20. Starch fraction (%) of developed potato starches modified with 20% citric acid.

(다) Kinetic 분석

- *in vitro* 소화율 분석에서 glucose 방출량 패턴을 통해 얻은 결과값을 $[C = C_{\infty}(1-e^{-kt})]$ 식에 적용하여 pGI를 계산하였음. 천연 감자전분과 상업용 전분의 호화 전후 pGI를 분석한 결과 호화 전 천연 감자전분의 pGI값이 47.42로 가장 낮으며 D-starch가 55.54로 상업용 전분 중 가장 낮았고 S-starch(69.68)와 AD-starch(72.69)는 서로 유사한 결과를 나타냄. 반면 호화 후에는 천연전분의 값이 크게 증가(91.52)하여 상업용 전분보다 높은 값을 나타내었으나 상업용 전분 간에는 D-starch, S-starch, AD-starch가 각각 79.40, 76.87, 79.42로 유의차를 보이지 않음(Figure 5-21).

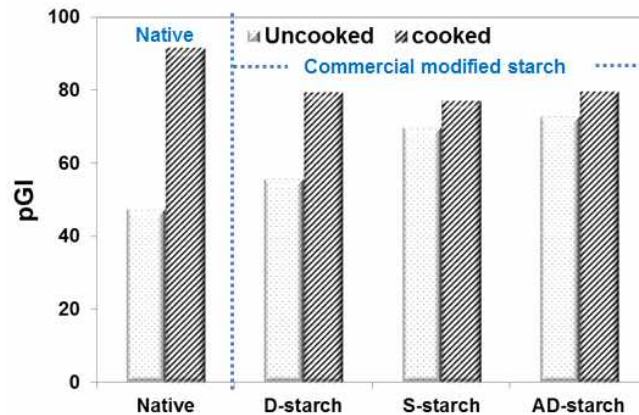


Figure 5-21. Predicted glycemic index (pGI) of native and commercial potato starches, under *in vitro* starch digestion.

- 개발한 변성전분 중 온도, 시간을 달리한 citric acid 수식전분의 호화 전후 pGI를 분석한 결과, 호화 전 천연 감자전분의 pGI값이 가장 낮고 150° C-3h 반응전분이 가장 높았으며 120° C-1h, 120° C-2h 반응전분은 서로 유사한 값을 보임. 호화 후 pGI값은 천연전분이 가장 높으며 120° C-1h, 120° C-2h 반응전분의 pGI값이 호화 전에 비해 증가했으나 150° C-3h 반응 전분의 경우 호화 전과 거의 유사한 결과(72.56→73.84)를 나타냄. 이는 starch fractions 분석 결과 150° C-3h 반응 전분의 RS 함량이 호화전후 유사했던 것과 일치하는 결과임(Figure 5-22).

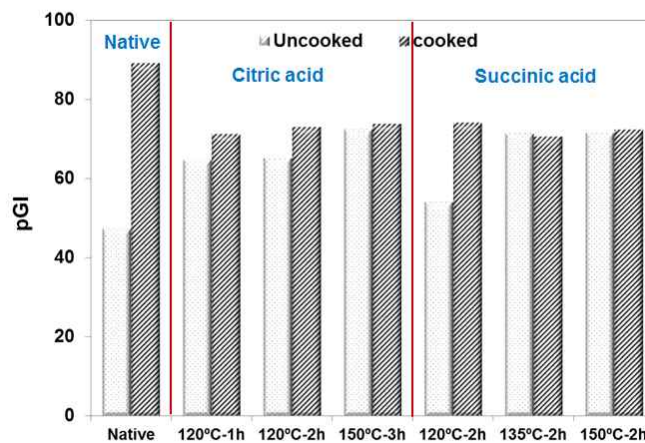


Figure 5-22. Predicted glycemic index (pGI) of developed potato starches with citric and succinic acid, under *in vitro* starch digestion.

- 개발한 변성전분 중 citric acid의 농도를 10%로 하여 pH 3.5, 4.5, 5.5 조건으로 제조한 전분의 호화 전후 pGI를 분석한 결과, 호화 전 pH 5.5 전분의 pGI 값이 다른 조건의 전분에 비해 유의적으로 낮으나 호화 후 다른 조건의 전분들과 유사한 값을 나타냈고 모든 변형처리 전분은 천연전분에 비교해 pGI 값이 감소함(Figure 5-23).

- 개발한 변성전분 중 citric acid의 농도를 20%로 하여 pH 3.5, 4.5, 5.5 조건으로 제조한 전분의 호화 전후 pGI를 분석한 결과, 호화 전 pH 3.5 전분의 pGI값이 천연 감자전분과 유사한 정도로 낮게 나타났고 (각각 51.75, 47.42) pH 4.5, 5.5 전분은 그보다 높으며 서로 유사하게 나타남. 호화 후에도 pH 3.5 전분이 유의적으로 낮은 pGI값을 보였고, 호화 전과 마찬가지로 pH 4.5, 5.5 전분은 서로 유사하게 나타남. 본 변성처리 조건에서 pH 3.5 처리군이 호화 전후 모두 상당한 혈당지연효과를 가지는 것을 확인하였음.

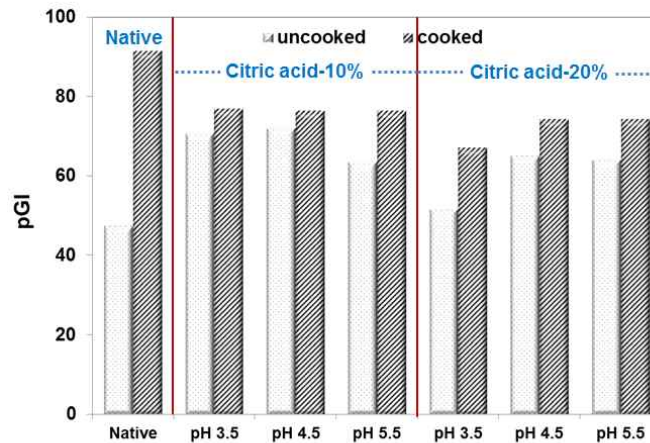


Figure 5-23. Predicted glycemic index (pGI) of developed potato starches with 10% and 20% citric acid, under *in vitro* starch digestion.

(4) 구연산(Citric acid) 첨가 변성감자전분의 *in vitro* 소화율

(가) 10%-구연산(CA) 처리 변성감자전분

천연 감자전분, 구연산 (CA) 10% 처리 후 pH를 달리하여 제조한 변성감자전분에 대한 호화 전후의 전분 소화율을 분석한 결과(Figure 5-24 및 Table 5-5), 호화 전에는 pH 5.5 처리군의 glucose 방출량이 낮으며 SDS 함량이 높았으나 호화과정 중 다량 소실되었음(20.75 → 13.40%). 구연산 처리로 인해 전분의 결정성 구조가 파괴되어 호화 전 천연 감자전분에 비해 소화율이 높게 나타나나, 호화처리 후 천연 감자전분처럼 소화지연구조가 모두 파괴되어 소화율이 증가하지 않았고 호화 전 상태와 유사한 소화율을 나타내었음. 또한 호화처리 후에는 pH에 따른 차이가 보이지 않고 모두 유사한 수치를 나타냄. 호화 전후 pGI를 분석한 결과, 호화 전 pH 5.5 처리군의 pGI가 변성전분들 중 가장 낮았으나 호화 후 크게 증가하였음(pGI 65.17 → 75.62). 위 결과로 보아 호화 전 변성전분 처리군들 중 가장 낮은 소화율을 보인 pH 5.5 처리군은 호화 후 소화율이 크게 증가하였으므로 구연산 (CA) 치환으로 인한 소화지연이 아니며 천연감자 전분에 함유된 RS2의 효과인 것으로 사료됨.

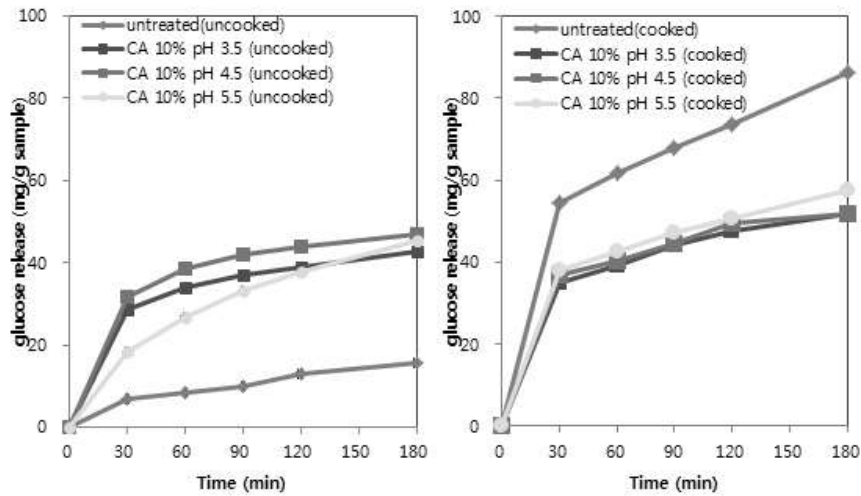


Figure 5-24. Glucose release (mg/g sample) of native- and 10% citric acid treated-potato starch during in vitro starch digestion.

Table 5-5. Starch fractions and pGI of native- and 10% citric acid treated-potato starch

		RDS	SDS	RS	pGI
Uncooked	Control	7.52 ± 0.71 ^e	6.58 ± 0.68 ^d	85.9 ± 0.79 ^a	47.54 ± 0.32 ^e
	CA10% pH3.5	30.75 ± 4.64 ^c	10.64 ± 1.20 ^{cd}	58.61 ± 4.53 ^b	67.91 ± 4.83 ^{cd}
	CA10% pH4.5	33.83 ± 3.77 ^c	13.12 ± 2.05 ^{bc}	53.05 ± 3.54 ^b	71.55 ± 2.73 ^{bc}
	CA10% pH5.5	19.67 ± 2.48 ^d	20.75 ± 1.44 ^a	59.58 ± 2.51 ^b	65.17 ± 3.56 ^d
Cooked	Control	57.91 ± 0.98 ^a	20.48 ± 2.62 ^a	21.62 ± 3.60 ^d	91.53 ± 2.08 ^a
	CA10% pH3.5	37.15 ± 2.16 ^b	13.4 ± 3.41 ^b	49.45 ± 1.70 ^c	73.17 ± 1.93 ^{bc}
	CA10% pH4.5	39.26 ± 2.93 ^b	13.38 ± 1.03 ^b	47.36 ± 2.56 ^c	73.57 ± 2.08 ^{bc}
	CA10% pH5.5	40.40 ± 0.36 ^b	13.73 ± 1.71 ^b	45.87 ± 1.96 ^c	75.62 ± 2.47 ^b

Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

(나) 20%-구연산(CA) 처리 변성감자전분

천연 감자전분, 구연산 (CA) 10% 처리 후 pH를 달리하여 제조한 변성감자전분의 소화처리 전과 후 모두 pH 3.5 처리군이 소화율 현저히 낮게 나타났고, RS함량은 높게 나타남 (Figure 5-25 및 Table 5-6). 특히 소화 전에는 천연전분에 가까운 소화율 보였으며, 소화 후에도 RS를 다량 유지하였음(81.40 → 62.22%). Citric acid 10% 처리군과 마찬가지로 소화 전 pH 5.5 처리군이 SDS 함량이 높으나 소화과정 중 다량 소실되며 pGI는 증가한 결과를 나타냄(SDS 18.31→13.97%, pGI 63.92→ 74.68). 위 결과로 보아 citric acid 20% 및 pH 3.5 처리군에서 소화 전 후 현저히 낮은 소화율을 나타내어 식품에 적용 시 가공처리에도 소화지연 효과를 유지할 수 있는 후보군으로 가능성을 보임.

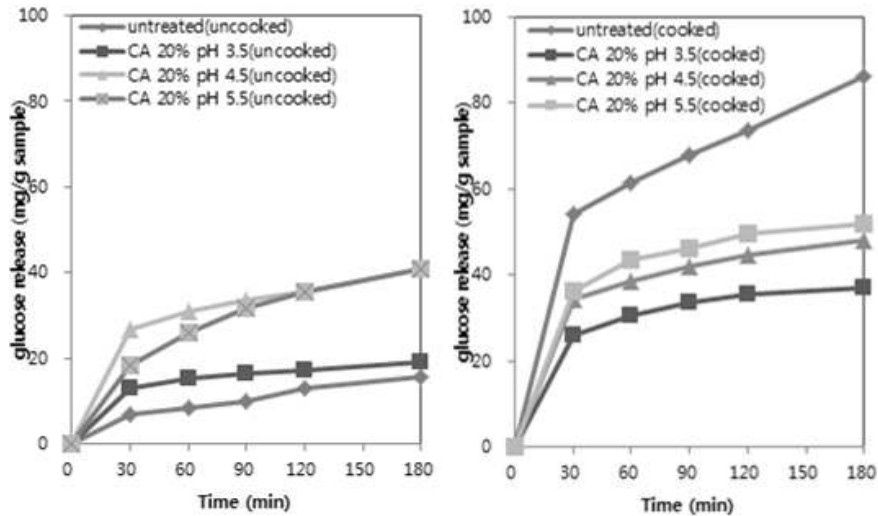


Figure 5-25. Glucose release (mg/g sample) of native- and 20% citric acid treated-potato starch during in vitro starch digestion.

Table 5-6. Starch fractions and pGI of native- and 20% citric acid treated-potato starch

		RDS	SDS	RS	pGI
Uncooked	Control	7.52 ± 0.71 ^g	6.58 ± 0.68 ^{cd}	85.9 ± 0.79 ^a	47.54 ± 0.32 ^f
	CA20% pH3.5	14.11 ± 0.52 ^f	4.48 ± 1.07 ^d	81.4 ± 0.83 ^a	52.21 ± 0.58 ^e
	CA20% pH4.5	28.59 ± 0.78 ^d	9.28 ± 1.25 ^c	62.14 ± 0.71 ^b	65.41 ± 0.71 ^d
	CA20% pH5.5	19.72 ± 0.99 ^e	18.31 ± 1.27 ^a	61.97 ± 2.10 ^b	63.92 ± 0.16 ^d
Cooked	Control	57.91 ± 0.98 ^a	20.48 ± 2.62 ^a	21.62 ± 3.60 ^e	91.53 ± 2.08 ^a
	CA20% pH3.5	27.56 ± 2.06 ^d	10.21 ± 3.51 ^{bc}	62.22 ± 3.59 ^b	65.3 ± 2.19 ^d
	CA20% pH4.5	36.61 ± 1.94 ^c	11.14 ± 1.53 ^b	52.25 ± 3.47 ^c	71.54 ± 2.69 ^c
	CA20% pH5.5	38.87 ± 3.70 ^b	13.97 ± 1.52 ^b	47.16 ± 2.35 ^d	74.68 ± 1.88 ^b

Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

(다) 30%-구연산(CA) 처리 변성감자전분

천연 감자전분, citric acid 30% pH별 변성전분의 호화 전후 전분 소화율을 분석한 결과, 호화처리 전과 후 모두 pH 3.5 처리군이 소화율 현저히 낮게 나타났고, RS함량은 높게 나타남(Figure 5-26 및 Table 5-7). 특히 호화 전에는 천연전분보다 더 낮은 소화율을 보였으며, 호화 후에도 RS를 다량 유지하였음 (95.83 → 89.19%). Citric acid 10%, 20% 처리군과 마찬가지로 호화 전 pH 5.5 처리군이 SDS 함량이 높으나 호화과정 중 다량 소실되며 pGI는 증가한 결과를 나타냄 (SDS 27.61 → 19.61%, pGI 76.2 → 86.85). 변성전분 처리군들 간에는 pH가 낮아질수록 소화율이 감소하는 경향이 변성전분 처리군들 중 가장 뚜렷하게 나타남. 위 결과로 보아 citric acid 30% pH 3.5 처리군에서 호화 전 후 현저히 낮은 소화율을 나타내며 호화 전 천연 감자전분의 RS2보다도 더 강력한 소화지연 효과를 보이므로, 식품에 적용 시 가공처리에도 소화지연 효과를 유지할 수 있는 후보군으로 가능성을 보임.

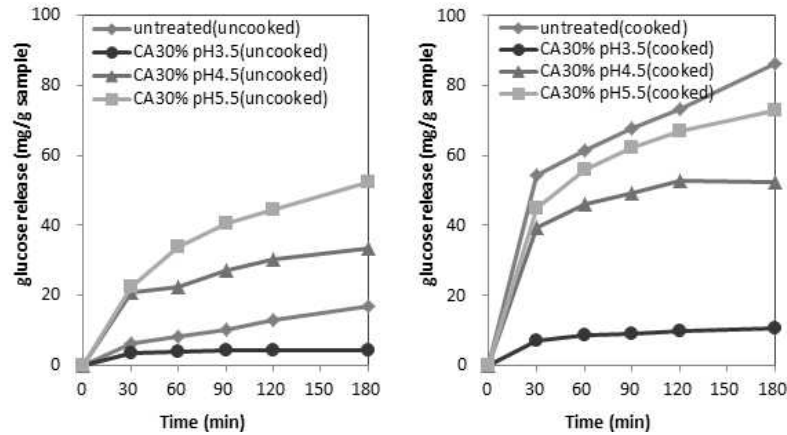


Figure 5-26. Glucose release (mg/g sample) of native- and 30% citric acid treated-potato starch during in vitro starch digestion.

Table 5-7. Starch fractions and pGI of native- and 30% citric acid treated-potato starch

		RDS	SDS	RS	pGI
Uncooked	Control	7.52 ± 0.71 ^g	6.58 ± 0.68 ^{cd}	85.9 ± 0.79 ^a	47.54 ± 0.32 ^f
	CA30% pH3.5	3.64 ± 1.14 ^{ef}	0.52 ± 1.58 ^f	95.83 ± 0.44 ^a	-
	CA30% pH4.5	29.18 ± 1.35 ^c	11.46 ± 1.06 ^c	59.35 ± 0.30 ^d	67.49 ± 1.28 ^c
	CA30% pH5.5	26.73 ± 0.97 ^b	27.61 ± 2.21 ^a	45.65 ± 2.68 ^e	76.2 ± 6.28 ^b
Cooked	Control	57.91 ± 0.98 ^a	20.48 ± 2.62 ^a	21.62 ± 3.60 ^e	91.53 ± 2.08 ^a
	CA30% pH3.5	7.58 ± 0.47 ^e	2.61 ± 0.06 ^f	89.19 ± 0.52 ^{ab}	46.56 ± 0.40 ^d
	CA30% pH4.5	41.82 ± 0.88 ^d	12.97 ± 1.17 ^d	48.06 ± 0.29 ^c	77.35 ± 0.83 ^b
	CA30% pH5.5	47.86 ± 1.00 ^d	19.61 ± 0.47 ^d	36.91 ± 0.52 ^c	86.85 ± 2.01 ^a

(라) 유기산 무첨가 전분

천연 감자전분, 유기산 무첨가 pH별 변성전분의 소화 전후 전분 소화율을 분석한 결과 (Figure 5-27 및 Table 5-8), 소화처리 전과 후 pH level에 따른 경향이 없이 모두 유사하였으며, 소화 후 천연 감자전분에 비교하여 소화지연 효과를 보였음. 위 결과로 보아 유기산 처리 전분의 소화지연 효과는 산에 의한 가수분해에 의한 결과이기보다 유기산이 전분 사슬에 치환되어 나타나는 결과라고 추측할 수 있음.

Table 5-8. Starch fractions and pGI of native- and potato starch without organic acid

		RDS	SDS	RS	pGI
Uncooked	Control	7.52 ± 0.71 ^g	6.58 ± 0.68 ^{cd}	85.9 ± 0.79 ^a	47.54 ± 0.32 ^f
	pH 3.5	16.72 ± 0.31 ^c	22.81 ± 0.29 ^{ab}	60.47 ± 0.61 ^b	64.65 ± 0.33 ^c
	pH 4.5	16.65 ± 0.57 ^c	23.41 ± 0.77 ^a	59.94 ± 1.34 ^b	65.41 ± 0.25 ^c
	pH 5.5	16.26 ± 0.81 ^c	21.14 ± 1.14 ^{bc}	62.6 ± 0.32 ^b	63.04 ± 0.06 ^c
Cooked	Control	57.91 ± 0.98 ^a	20.48 ± 2.62 ^a	21.62 ± 3.60 ^e	91.53 ± 2.08 ^a
	pH 3.5	40.17 ± 0.67 ^b	13.28 ± 0.24 ^d	46.55 ± 0.43 ^{cd}	75.37 ± 1.91 ^b
	pH 4.5	39.51 ± 1.18 ^b	12.9 ± 0.15 ^d	47.59 ± 1.34 ^c	75.33 ± 2.80 ^b
	pH 5.5	41.35 ± 2.07 ^b	14.16 ± 0.08 ^d	44.49 ± 1.98 ^d	77.25 ± 1.04 ^b

Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

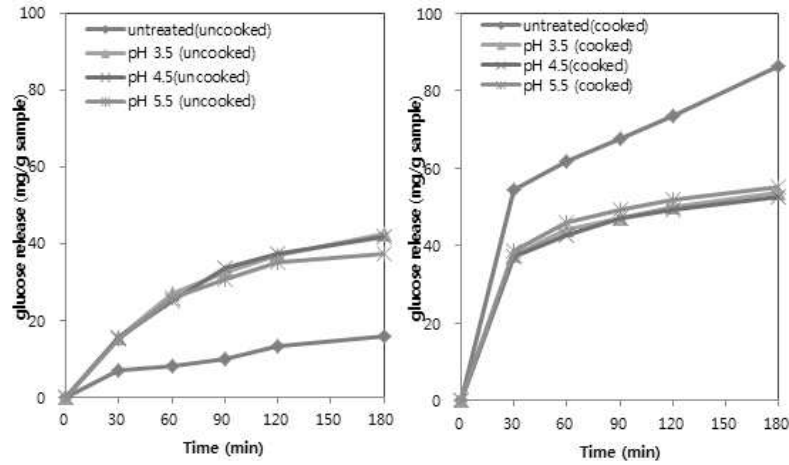


Figure 5-27. Glucose release (mg/g sample) of native- and potato starch without organic acid.

(5) 유기산(CA, MA, TA) 종류별에 따른 변성감자전분의 *in vitro* 전분 소화율

(가) 구연산(citric acid, CA) 처리 변성감자

천연 감자전분, 구연산 (CA) 10% 처리 후 pH를 달리하여 제조한 변성감자전분에 대한 호화 전후의 전분 소화율을 분석한 결과(Table 5-9), 산 처리로 인해 전분 입자가 작아지고 파괴되어 호화 전에는 천연 감자전분에 비하여 구연산 처리 전분의 소화율이 다소 높게 나타나나, 호화 처리 후 구연산 처리 감자 전분은 호화 전 상태와 유사한 소화율을 나타내었음. 반면에, 천연 감자 전분은 pGI가 호화 후 크게 상승하였음(pGI 47.25 → 85.52). 호화 전 pH 3.5, 5.0에 비해 pH 6.5의 RDS함량이 낮으며, SDS 함량이 높았으나 호화과정 중 SDS가 다량 소실되고 RDS가 급격히 증가하였음 (16.85 → 23.42%). 호화처리 후에는 pH가 증가함에 따라 RDS 증가, SDS 증가, RS 감소, pGI 증가를 나타냄으로써 pH가 낮을수록 소화지연 효능에 효과적임을 나타냄. 위 결과를 토대로 구연산 처리 전분은 산에 의해 치환됨으로써 호화 후에도 소화율을 유지하며, pH가 증가할수록 치환정도가 다소 낮기 때문에 pH 6.5의 호화 전 낮은 RDS함량은 RS2의 효과로 인해 호화 후 RDS함량이 크게 증가하는 것으로 생각되어짐.

Table 5-9. Starch fractions and pGI of native- and 10% citric acid treated-potato starch.

Samples		RDS	SDS	RS	pGI
Uncooked starch	Native	6.55±0.65 ^c	6.14±0.50 ^a	87.31±0.34 ^a	47.25±0.27 ^c
	CA pH 3.5	22.46±0.9 ^{bc}	8.37±2.15 ^{bc}	69.17±1.24 ^b	60.20±0.77 ^u
	CA pH 5.0	20.27±1.21 ^{bc}	15.44±2.63 ^c	64.28±2.26 ^c	61.97±1.22 ^{bc}
	CA pH 6.5	16.85±0.70 ^c	23.42±1.00 ^d	59.73±1.06 ^{bc}	65.44±2.37 ^d
Cooked starch	Native	46.81±0.67 ^a	23.38±0.94 ^c	29.81±1.21 ^b	85.52±1.33 ^b
	CA pH 3.5	28.81±1.94 ^c	10.38±1.92 ^c	60.80±2.74 ^a	65.82±1.38 ^u
	CA pH 5.0	34.32±1.85 ^{bc}	14.29±2.42 ^{bc}	51.39±0.88 ^{bc}	73.03±1.07 ^u
	CA pH 6.5	37.66±2.43 ^{bc}	16.66±1.36 ^{bc}	45.68±2.08 ^{cd}	76.21±1.90 ^{bc}

Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

(나) 말산(malic acid, MA) 처리 변성감자전분

천연 감자전분, 말산 (MA) 10% 처리 후 pH를 달리하여 제조한 변성감자전분에 대한 호화 전후의 전분 소화율을 분석한 결과(Table 5-10), citric acid 10% 처리 군과 마찬가지로 호화 전 pH 3.5, 5.0에 비해 pH 6.5의 RDS함량이 낮고, SDS 함량이 높았으나 호화과정 중 SDS가 다량 소실되고 RDS가 급격히 증가하는 것으로 나타났음 (16.73 → 38.5%). 또한, malic acid 10% 처리 시에도 호화 전에는 천연 감자전분보다 다소 높은 RDS 함량, pGI값과 낮은 RS 함량을 가지는 것으로 나타났으나, 호화 후에는 호화 전 상태와 유사한 소화율을 나타내었음. malic acid 처리군은 호화 후에도 높은 RS함량을 유지하였으나, citric acid 처리 군보다는 다소 낮은 값을 보임(pH3.5 CA 69.17 → 60.80%, MA 65.43 → 54.66%). 위 결과로 보아 malic acid 10% 처리 군은 citric acid 처리 군보다 소화율을 유지하는 능력이 다소 떨어지긴 하나 pH 3.5처리 군에서 호화 전 후 현저히 낮은 소화율을 나타내어 소화지연 효능에 효과적임을 나타냄.

Table 5-10. Starch fractions and pGI of native-and 10% malic acid treated-potato starch

Samples		RDS	SDS	RS	pGI
Uncooked starch	Native	6.55±0.65e	6.14±0.50a	87.31±0.34a	47.25±0.27e
	MA pH 3.5	26.10±0.31a	8.46±1.10cd	65.43±0.93c	63.09±1.21bc
	MA pH 5.0	24.62±0.63ab	15.64±1.49b	59.75±1.00de	65.23±1.31a
	MA pH 6.5	16.73±0.85e	24.64±0.30a	58.64±1.07e	64.52±0.68ab
Cooked starch	Native	46.81±0.67a	23.38±0.94a	29.81±1.21g	85.52±1.33a
	MA pH 3.5	33.86±0.59d	11.48±0.65de	54.66±0.56b	70.48±1.03g
	MA pH 5.0	37.86±0.90bc	15.73±1.15bc	46.41±0.49e	74.85±0.43cde
	MA pH 6.5	38.55±1.67b	18.14±1.40b	43.30±1.23f	78.16±1.25b

Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

(다) 주석산(tartaric acid, TA) 처리 변성감자전분

천연 감자전분, 주석산 (TA) 10% 처리 후 pH를 달리하여 제조한 변성감자전분에 대한 호화 전후의 전분 소화율을 분석한 결과(Table 5-11), citric acid 10%, malic acid 10% 처리 군과 마찬가지로 호화 전 pH 3.5, 5.0에 비해 pH 6.5의 RDS함량이 낮고, SDS 함량이 높았으나 호화과정 중 SDS가 다량 소실되고 RDS가 급격히 증가하는 것으로 나타났음 (16.50 → 38.96%). tartaric acid 10% 처리 군은 malic acid 10% 처리 군과 거의 유사한 RS, RDS, SDS, pGI 값을 가지는 것으로 나타나 10% 처리 시 두 유기산의 소화 효능에 대한 효과는 비슷할 것이라고 생각되어짐. 위 결과로 보아 tartaric acid 처리 군은 malic acid 처리 군과 유사한 소화지연 효과를 가지며, 식품에 적용 시 가공처리에도 소화지연 효과를 유지할 수 있는 후보군으로 가능성을 보여줌.

Table 5-11. Starch fractions and pGI of native- and 10% tartaric acid treated-potato starch

Samples		RDS	SDS	RS	pGI
Uncooked starch	Native	6.55±0.65e	6.14±0.50a	87.31±0.34a	47.25±0.27e
	TA pH 3.5	24.65±1.47ab	10.03±1.87c	65.32±0.46c	62.48±0.69bc
	TA pH 5.0	19.76±0.60d	18.97±0.75a	61.27±1.35d	62.90±0.48bc
	TA pH 6.5	16.50±1.40e	25.03±0.95a	58.47±0.47e	66.01±0.56a
Cooked starch	Native	46.81±0.67a	23.38±0.94a	29.81±1.21g	85.52±1.33a
	TA pH 3.5	34.22±1.80d	13.70±0.14cd	52.08±1.89c	71.65±1.26fg
	TA pH 5.0	35.47±1.72cd	15.55±2.00bc	48.98±0.76d	74.10±0.39de
	TA pH 6.5	38.96±1.54b	15.88±2.95bc	45.16±1.42ef	76.62±1.25bc

Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

(라) 유기산(CA,MA,TA) 30% 처리 전분의 *in vitro* 전분 소화율

천연 감자전분, citric acid, tartaric acid, malic acid 30% 처리 후 pH 3.5로 조절하여 제조한 변성감자전분의 호화 전후 전분 소화율을 분석한 결과(Table 5-12), 호화처리 전과 후 모두 citric acid, malic acid 처리 군이 소화율 현저히 낮게 나타났고, RS함량은 높게 나타남. 반면, tartaric acid 처리 군은 호화 전 천연 감자 전분 보다 낮은 RS함량, 높은 pGI값을 가지는 것으로 나타남. 호화 전 후를 비교해보았을 때, citric acid, tartaric acid, malic acid 처리 군 모두 10% 처리 했을 때 보다 높은 소화지연 효과를 나타냄. 하지만 그 중에서도 citric acid 처리 군이 가장 높은 소화 지연 효과를 가졌으며, (RS: 96.73 → 96.03, pGI: 41.86 → 42.02) tartaric acid 처리 군은 가장 낮은 소화 지연 효과를 가짐(RS: 69.42 → 69.26, pGI: 60.39 → 62.08). 위 결과로 보아 citric acid, malic acid, tartaric acid 처리 군 모두 호화 후 현저히 낮은 소화율을 나타내어 식품에 적용 시 가공처리에도 소화지연 효과를 유지할 수 있는 후보군으로 가능성을 보였으며, 유기산 함량이 증가할수록 그 효과가 뚜렷하게 나타남.

Table 5-12. Starch fractions and pGI of native- and organic acid treated-potato starch

Samples		RDS	SDS	RS	pGI
Uncooked starch	Native	6.55±0.65e	6.14±0.50a	87.31±0.34a	47.25±0.27e
	CA pH 3.5	1.80±0.46f	1.46±0.90d	96.73±0.59a	41.86±0.28e
	MA pH 3.5	4.06±0.71e	3.63±0.95d	92.56±1.38b	44.50±1.45d
	TA pH 3.5	19.20±1.85b	11.36±1.82b	69.42±1.29d	60.39±1.44b
Cooked starch	Native	46.81±0.67a	23.38±0.94a	29.81±1.21g	85.52±1.33a
	CA pH 3.5	2.87±0.48e	1.10±0.76f	96.03±1.24a	42.02±0.60e
	MA pH 3.5	5.37±0.20e	7.11±0.73e	87.52±0.93b	45.91±0.87d
	TA pH 3.5	18.69±1.48d	12.05±0.53d	69.26±0.95c	62.08±1.41c

Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

(6) 변성감자전분의 구조적 특성

(가) 구연산 (Citric acid, CA) 변형 조건에 따른 구조적 특성

① 구연산 (CA) 치환도

구연산 (CA) 함량과 pH 정도를 달리하여 제조한 변성감자전분의 구연산 치환 정도를 분석한 결과(Figure 5-28), 구연산 함량이 증가할수록 치환도가 높은 반면에 pH level이 낮은 순으로 치환도가 증가하였음. 동일한 pH level일 때 구연산(CA) 함량에 따른 경향은 pH 3.5 처리 전분에서 가장 뚜렷하게 나타났으며, pH 5.5 처리전분의 경우, 구연산(CA) 함량에 관계없이 치환도가 낮게 나타났음.

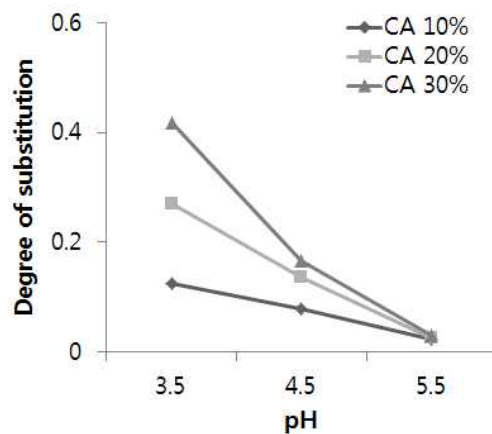


Figure 5-28. Degree of substitution of potato starch modified with different level of citric acid(CA) and pH.

② FT-IR 스펙트럼

천연 감자전분과 pH를 30% 구연산(CA)를 처리하여 제조한 변성감자전분을 FT-IR 스펙트럼으로 분석한 결과, 1740cm^{-1} 에서 변성전분에서 천연 감자전분에 없었던 새로운 peak가 출현하였으며, pH level이 낮아질수록 peak가 더 강하게 나타남. 1740cm^{-1} 의 peak는 citric acid 치환-구조의 C=O 결합을 나타낸다고 알려져 있으며, 위 결과로 보아 pH level이 낮을수록 구연산(CA) 치환이 증가한 것을 알 수 있음.

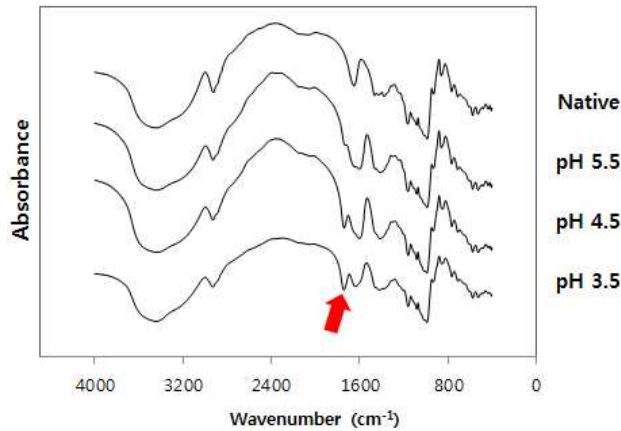


Figure 5-29. FT-IR spectrum of native and 30% citric acid-treated potato starches.

③ 결정 구조적 특성

구연산(CA)함량과 pH 정도를 달리하여 제조한 변성감자전분을 X-선 회절도를 이용하여 분석한 결과(Figure 5-30), 동일한 구연산(CA) 함량일 때 pH level이 낮아질수록 결정성을 나타내는 peak의 강도가 전반적으로 약하게 나타남. 전분에 유기산 처리를 할 때 유기산이 전분 사슬을 통과하며 결정성 구조가 파괴된다고 알려져 있는데, 위 결과는 pH level이 낮을수록 유기산이 더 효과적으로 작용하여 전분사슬의 결정성 구조 파괴가 증가하였음을 나타냄. 일반적으로 전분의 결정성 구조가 강할수록 소화지연을 나타낸다고 알려져 있으나 유기산 수식 전분의 경우는 전분의 결정성 구조가 아닌 유기산 치환구조가 소화지연 효과를 나타내며, 유기산 치환이 증가할수록 결정성 구조는 더 파괴됨. 반면, 같은 pH level일 때 구연산(CA) 함량에 따라서는 결정성 구조에 큰 경향이 보이지 않았음. 이는 구연산전분의 결정성 파괴는 구연산 함량보다 pH에 의해 더 크게 영향을 받는 것으로 판단할 수 있음.

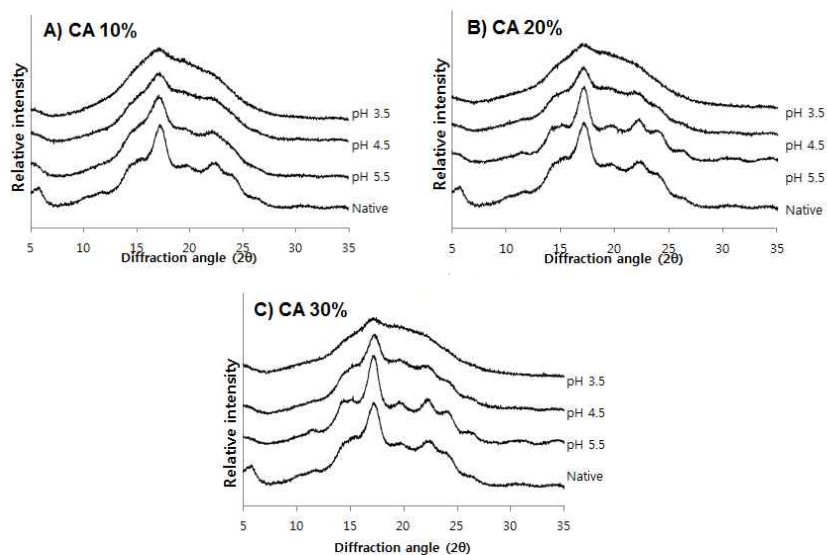


Figure 5-30. XRD diffractograms of potato starch modified with different level of citric acid (CA) and pH.

(나) 유기산(CA, MA, TA) 종류별에 따른 변성감자전분의 구조적 특성

① FT-IR 스펙트럼

CA, MA, TA 10%로 처리한 샘플 모두 pH 3.5에서 1724 cm^{-1} 부근에 새로운 피크가 출현하였으며, 이 새로운 흡수 밴드는 CA, MA, TA와 반응하여 전분이 에스테르화되었음을 나타냄. pH 5.0 샘플에서 1724 cm^{-1} 부근의 피크는 pH 3.5보다 약했고, TA의 경우 피크는 거의 사라졌으며, 1597 cm^{-1} 부근에서 새로운 피크가 출현함. pH 6.5에서는 native전분과 거의 동일한 스펙트럼을 갖는 것으로 나타남. 1724 cm^{-1} 의 밴드는 아세틸 그룹으로부터의 $\text{C} = \text{O}$ 결합의 신축 진동과 관련이 있으며, 1597 cm^{-1} 밴드는 카르복실기의 $\text{C} = \text{O}$ 신축 진동과 관련되어 있다고 알려져 있음. 따라서 pH가 낮을수록 유기산의 치환이 증가한 것을 알 수 있으며, TA보다 CA와 MA에서 치환반응이 더 우수하다는 것을 알 수 있음.

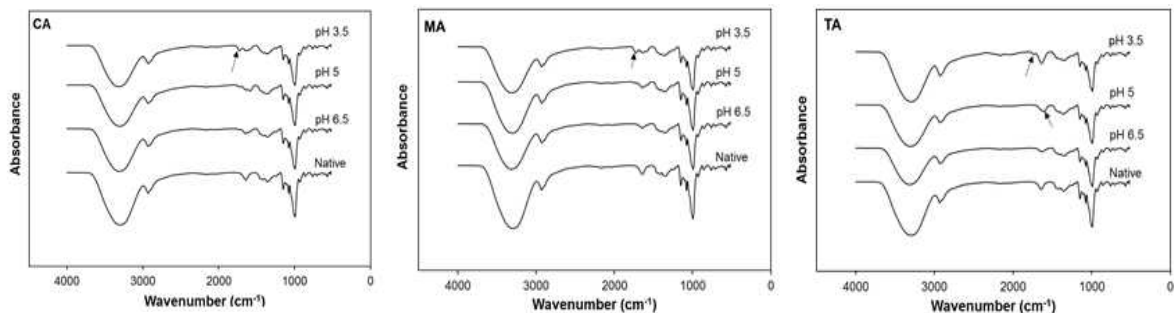


Figure 5-31. FT-IR spectra of potato starch modified by 10% CA, MA and TA treatment.

구연산, 말산, 주석산(CA, MA, TA)을 30% 처리 후 pH 3.5로 조정된 변성감자전분의 FT-IR 결과(Figure 5-32), 유기산 처리한 샘플 모두 1724 cm^{-1} 부근에 새로운 피크가 출현하였으며, 이 새로운 흡수 밴드는 CA, MA, TA와 반응하여 전분이 에스테르화되었음을 나타냄. 1724 cm^{-1} 의 밴드는 아세틸 그룹으로부터의 $\text{C} = \text{O}$ 결합의 신축 진동과 관련이 있다고 알려져 있음. 따라서 citric acid와 malic acid 30% 처리군이 tartaric acid 처리 군보다 치환 정도가 강하다는 것을 알 수 있으며, citric acid, malic acid, tartaric acid를 10% 처리 했을 때 보다 치환 정도가 강하여 유기산의 함량이 높아질수록 치환이 증가하였음(Figure 5-32).

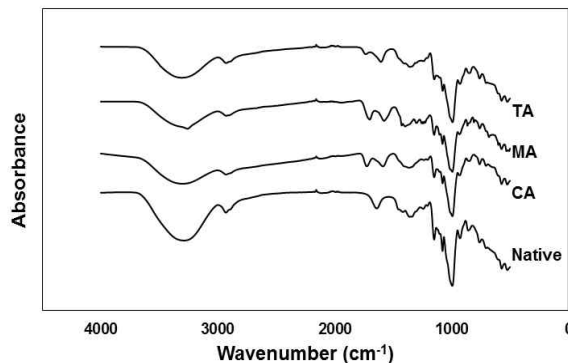


Figure 5-32. FT-IR spectra of potato starch modified by 30% CA, MA and TA treatment.

② 결정 구조적 특성

천연감자전분 및 10% 유기산 처리 변성전분은 5.5° , 14.8° , 17° , 19.3° , 22° 및 24° 2θ 각에서 강한 회절 피크를 보이며 전형적인 B형 패턴으로 나타남. citric acid와 malic acid의 경우 피크 강도는 pH가 낮아짐에 따라 peak의 세기가 점점 감소하여 pH 3.5에서는 거의 사라졌으며, tartaric acid는 천연 전분의 피크보다는 약간 낮은 peak를 유지하였으나 pH가 감소함에 따라 결정질 피크를 유지하였으며, pH 3.5에서도 다른 두 유기산에 비해 peak를 유지하는 것으로 나타남. 그러나 citric acid, malic acid 및 tartaric acid 처리는 감자전분 샘플의 X-선 회절 패턴을 변화시키지는 못하였음. 따라서 citric acid와 malic acid는 전분의 결정질 영역에서 치환되었기 때문에 결정영역의 감소가 일어나고, tartaric acid는 전분의 비결정질 영역에서 치환되었기 때문에 결정질 영역을 유지하는 것이라고 추측되어짐.

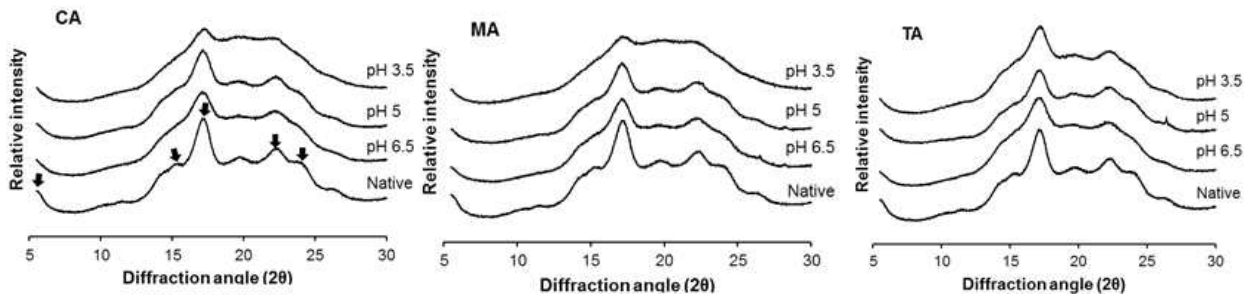


Figure 5-33. X-ray diffraction pattern of potato starch modified by 10% CA, MA and TA treatment according to pH condition.

천연 감자 전분 및 30% 유기산 처리 변성 감자전분과 전분을 소화시켜 RS fraction을 얻어 XRD를 측정된 결과(Figure 5-34) 천연 감자 전분은 5.5° , 14.8° , 17° , 19.3° , 22° 및 24° 2θ 각에서 강한 회절 피크를 보이며 전형적인 B형 패턴으로 나타남. citric acid, malic acid 처리 군은 결정성이 거의 파괴되었으며, tartaric acid는 결정형 영역을 유지하는 것으로 나타나, 이는 citric acid, malic acid, tartaric acid 10% 처리군 결과와 동일함(Figure 5-34).

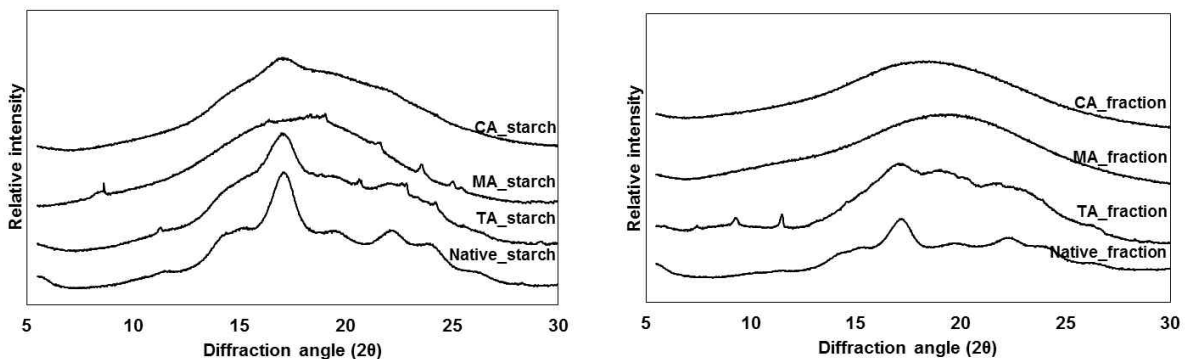


Figure 5-34. XRD spectra of potato starch modified by 30% CA, MA and TA treatment.

③ NMR

천연 감자 전분 및 변성 감자 전분과 전분을 소화시켜 RS fraction을 얻어 NMR를 측정한 결과(Figure 5-35), 천연 감자 전분에 비해 citric acid, malic acid, tartaric acid 처리 전분은 낮은 peak를 보이며, citric acid, malic acid의 경우 무정형 영역의 비율이 다소 높고, tartaric acid의 경우 이중나선 영역 즉, 결정영역이 더 높은 것으로 측정되어 이러한 결과는 XRD 결과와 일치함(무정형 영역: 80-87, 103-104 ppm, 이중나선 영역: 99-102 ppm). RS fraction의 경우 Native에서는 결정 영역이 크게 손실이 일어났으며, citric acid, malic acid, tartaric acid 처리 군에서 peak는 다소 낮아지긴 하였으나, 크게 패턴이 바뀌진 않았음.

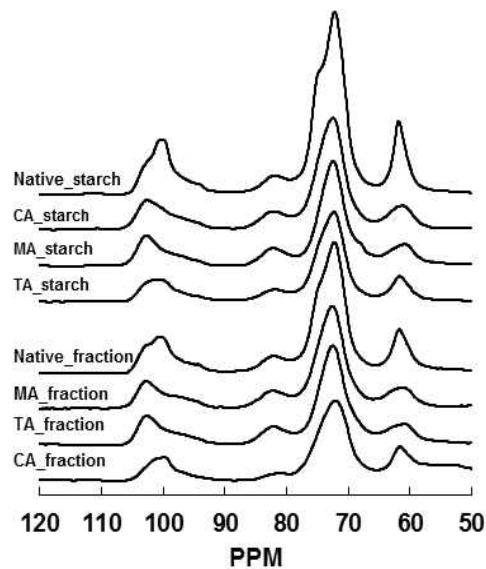


Figure 5-35. NMR spectra of potato starch modified by 30% CA, MA and TA treatment.

④ SEM

천연 감자 전분 및 변성 감자 전분과 전분을 소화시켜 RS fraction을 얻어 SEM을 측정한 결과(Figure 5-36), citric acid 처리 시 전분은 형태는 크게 변하지 않았으며, malic acid, tartaric acid 처리 시 전분의 표면에 구멍이 생겼음. malic acid보다 tartaric acid로 처리하였을 때 표면의 구멍이 다소 큰 것으로 보여지고, RS fraction의 경우 천연 감자전분과 citric acid, malic acid는 소화 과정을 거치기 전 상태와 거의 유사한 것으로 나타나 표면에 큰 손상을 입지 않은 것으로 보여짐. 반면, tartaric acid의 경우 fraction을 추출하는 과정에서 다른 전분보다 큰 구멍으로 인해 효소감수성이 높아져 구조자체가 붕괴되어진 것으로 사료됨.

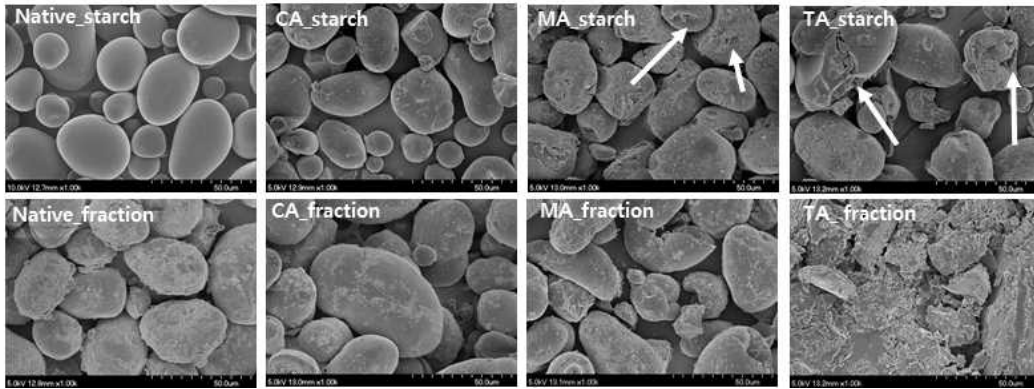


Figure 5-36. SEM spectra of potato starch modified by 30% CA, MA and TA treatment.

(7) 변성감자전분의 이화학적 특성

(가) 구연산 (Citric acid, CA) 변형 조건에 따른 이화학적 특성

① 열적 특성 (DSC)

천연 감자전분과 citric acid 함량과 pH 정도를 달리하여 개발한 변성전분, 구연산 첨가 없이 pH만 조절한 전분을 DSC로 분석한 결과(Table 5-13), 천연 감자전분과 비교하며 onset temperature, peak temperature, conclusion temperature, enthalpy of gelatinisation 지표가 모두 감소하였음. pH control 전분의 경우 pH에 따라 열적 특성 지표의 유의적 차가 거의 없게 나타남. 구연산 변성전분의 경우 모든 전분의 pH 3.5 처리 전분에서 열적특성 지표가 관찰되지 않았음. 이는 pH 3.5 변성전분에서 호화현상이 일어나지 않는다는 것을 의미함. pH 4.5 및 5.5 조절 변성전분의 경우 onset temperature는 구연산 함량이 증가할수록 증가하였으며, 이외의 지표들은 구연산 함량에 따른 경향이 보이지 않았음. pH control 전분과 구연산첨가 변성전분을 비교하였을 때, pH control이 열적 특성 지표가 모두 높게 나타남. 이는 전분에 citric acid 처리를 하였을 때 더 낮은 온도에서 호화현상이 일어난다는 것을 의미하나, pH 3.5 전분에서는 호화가 전혀 되지 않았음.

② Pasting 특성 (RVA)

천연 감자전분과 구연산(CA) 함량과 pH 정도를 달리하여 개발한 감자변성전분을 Rapid Visco Analyser (RVA)로 분석한 결과(Figure 5-37), 천연 감자전분은 온도가 증가하면서 점도 peak를 보이는 것과 달리, 구연산(CA) 변성전분에서는 peak가 관찰되지 않고 점도발달이 극히 미미하게 나타남(좌). pH 3.5, 4.5 전분에서는 점도가 전혀 없었으나, pH 5.5 전분에서는 온도가 떨어진 뒤 미미하게 굴곡이 관찰됨. 이를 자세히 관찰하기 위해 천연 감자전분을 제외하고 점도 범위를 좁혀보았을 때, pH 5.5 전분에서 citric acid 함량이 낮을수록 점도가 더 높게 나타남(우).

Table. 5-13. Thermal characteristics of native and potato starch modified with different level of citric acid (CA) and pH

Sample	To(° C)	Tp(° C)	Tc(° C)	ΔH(J/g)
Native	64.60 ± 0.20 ^a	70.27 ± 0.37 ^a	77.80 ± 0.72 ^a	17.10 ± 1.17 ^{ab}
Control _{pH3.5}	58.77 ± 0.85 ^b	64.47 ± 0.75 ^{bc}	71.77 ± 0.77 ^{cd}	15.88 ± 2.28 ^{ab}
Control _{pH4.5}	58.73 ± 0.28 ^b	63.93 ± 0.11 ^{cd}	71.53 ± 0.20 ^{cd}	14.49 ± 2.48 ^{abc}
Control _{pH5.5}	58.57 ± 0.35 ^b	65.70 ± 0.00 ^b	74.93 ± 0.25 ^b	19.69 ± 2.65 ^a
CA10% _{pH3.5}	-	-	-	-
CA10% _{pH4.5}	51.43 ± 1.06 ^g	56.43 ± 1.32 ^f	62.30 ± 1.10 ^e	3.93 ± 1.47 ^e
CA10% _{pH5.5}	54.63 ± 0.65 ^{de}	62.83 ± 1.10 ^{de}	71.50 ± 3.51 ^{cd}	12.25 ± 4.29 ^{bc}
CA20% _{pH3.5}	-	-	-	-
CA20% _{pH4.5}	53.67 ± 1.17 ^{ef}	53.60 ± 0.17 ^g	64.13 ± 0.81 ^e	5.73 ± 0.65 ^{de}
CA20% _{pH5.5}	55.73 ± 0.37 ^{cd}	64.43 ± 1.50 ^{bc}	72.63 ± 2.25 ^{bc}	9.78 ± 0.74 ^{cd}
CA30% _{pH3.5}	-	-	-	-
CA30% _{pH4.5}	56.83 ± 0.20 ^c	63.00 ± 0.00 ^{cde}	69.73 ± 0.05 ^d	12.96 ± 1.11 ^{bc}
CA30% _{pH5.5}	52.93 ± 1.72 ^f	62.10 ± 0.79 ^e	70.10 ± 0.85 ^{cd}	11.73 ± 6.40 ^{bc}

Average of triplicate measurements, n=3, ± means standard deviation.

Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

^m To,Tp,Tc indicate the temperature of the onset, peak, conclusion of gelatinization, respectively.

ⁿ ΔH indicates enthalpy of gelatinization.

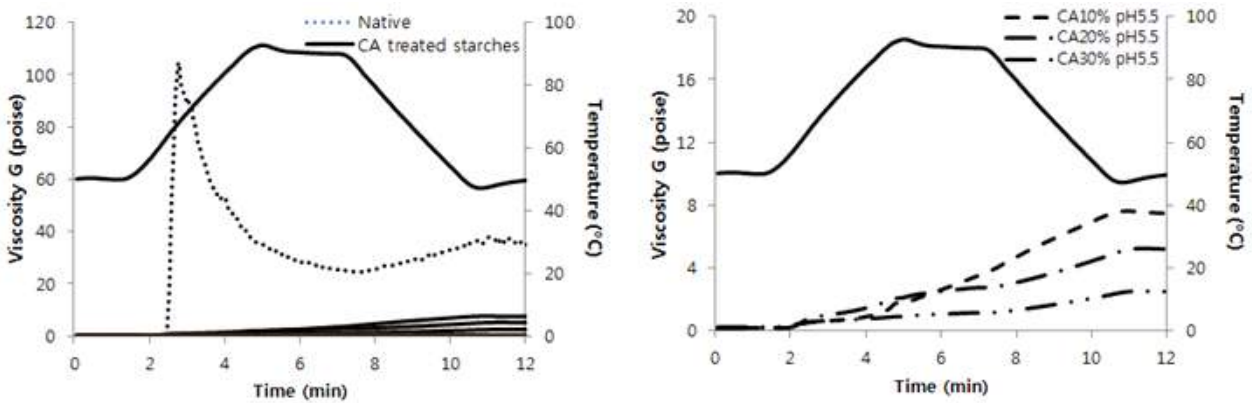


Figure 5-37. Pasting curves of potato starch modified with different level of citric acid (CA) and pH.

③ 팽윤력 (Swelling power)

천연 감자전분과 구연산 (CA) 함량과 pH 정도를 달리하여 제조한 변성감자전분의 팽윤력을 측정한 결과(Figure 5-38), 천연 감자전분은 온도가 증가하면서 호화 현상으로 인해 팽윤력이 증가하는 전형적인 특성을 나타내었음. 한편 동일 구연산(CA) 함량에서는 pH level이 낮을수록 팽윤력이 감소하였으며, pH별에 따른 특성을 보면 pH 3.5와 4.5 제조조건에서는 온도가 증가해도 팽윤이 일어나지 않고 유지되나 pH 5.5에서는 천연 감자전분과 비슷한 수준으로 팽윤이 일어난 반면에 구연산 (CA) 함량은 팽윤력에 큰 영향을 주지 않았음.

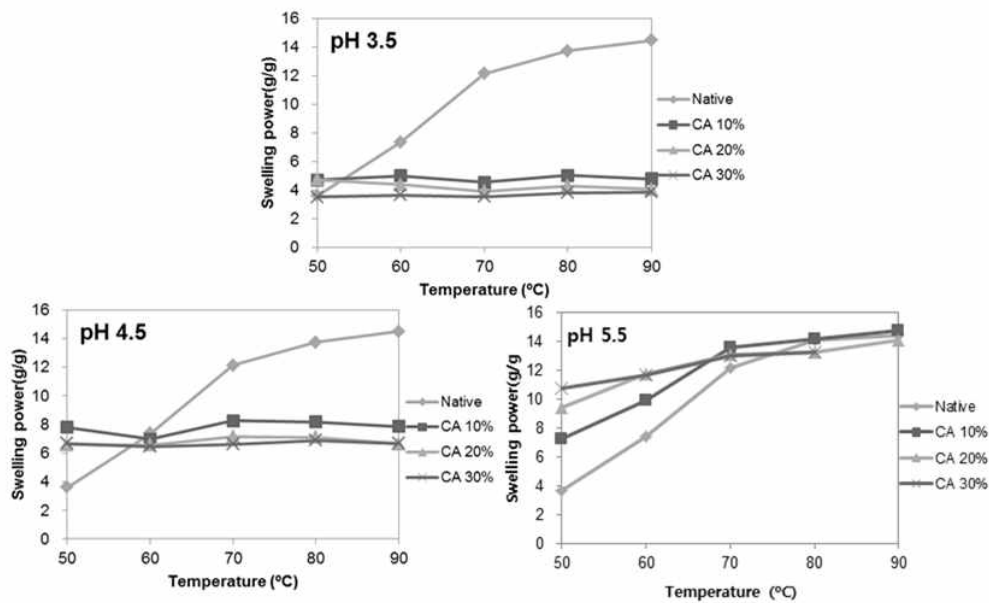


Figure 5-38. Swelling power (g/g) potato starch modified with different level of citric acid (CA) and pH.

(나) 유기산(CA, MA, TA) 종류별에 따른 변성감자전분의 이화학적 특성

① 열적 특성 (DSC)

천연 감자전분과 변성 감자 전분 샘플을 DSC로 분석한 결과(Table 5-14), 천연 전분에 비해 모든 변성 전분 샘플은 pH가 감소함에 따라 흡열 피크가 감소하고 onset temperature, peak temperature, conclusion temperature, enthalpy of gelatinisation 지표가 모두 감소하였음. pH 3.5에서는 열적 특성 지표가 측정되지 않았는데, 이러한 결과는 전분의 비정질 영역이 pH 3.5에서 크게 증가함을 나타내며, 호화현상이 일어나지 않는 것을 의미함. citric acid, tartaric acid 및 malic acid 처리 된 전분은 pH가 감소함에 따라 엔탈피가 감소하였고 citric acid가 가장 낮은 엔탈피를 보임. 이는 citric acid가 다른 유기산보다 많은 비정질 영역을 생성함을 의미함. 따라서 감자전분에 유기산 처리를 하였을 때 천연감자 전분보다 더 낮은 온도에서 호화 현상이 일어난 것을 의미하나, pH 3.5 전분에서는 호화가 전혀 되지 않았음. pH level이 낮을수록 산 가수분해의 정도가 강해져 pH 3.5에서 생성된 작은 전분 입자로 인해 호화가 일어나지 않은 것으로 추측되어짐.

Table 5-14. Gelatinization parameters of potato starch modified by 10% CA, MA and TA treatment according to pH condition.

Samples		T_o (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	ΔH (J/g)
Native		64.17±1.18 ^u	69.33±1.87 ^u	76.23±2.37 ^u	14.21±0.78 ^u
	pH 3.5	ND ¹⁾	ND	ND	ND
CA	pH 5.0	51.50±0.69 ^t	56.87±0.12 ^c	63.47±0.15 ^c	5.11±0.50 ^u
	pH 6.5	59.67±0.59 ^c	64.20±0.69 ^v	70.33±1.08 ^{uv}	10.69±0.25 ^c
MA	pH 3.5	ND	ND	ND	ND
	pH 5.0	55.30±0.20 ^c	61.33±0.23 ^{uv}	67.63±0.38 ^u	10.17±0.73 ^c
	pH 6.5	54.63±0.29 ^c	60.10±0.78 ^u	67.13±0.55 ^u	12.53±0.47 ^v
TA	pH 3.5	ND	ND	ND	ND
	pH 5.0	61.37±0.50 ^u	65.60±0.36 ^v	71.87±0.40 ^v	10.28±1.44 ^c
	pH 6.5	56.53±0.25 ^u	61.67±0.50 ^c	68.83±0.25 ^{uv}	13.29±0.12 ^{uv}

Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

¹⁾ND: not detected.

T_o , T_p , and T_c indicate the temperature of the onset, peak, and conclusion of gelatinization, ΔH indicates enthalpy of gelatinization.

② Pasting 특성 (RVA)

천연 감자전분과 유기산 종류, pH 정도를 달리하여 개발한 감자변성전분을 Rapid Visco Analyser (RVA)로 분석한 결과(Table 5-15), 천연 감자전분과 달리 변성전분은 peak 점도, break down 값이 낮게 나타났으며, citric acid, malic acid의 pH 3.5 전분은 측정되지 않는 것으로 나타남. 이는 전분이 산에 의해 가수분해 되어 점도를 생성 할 수 없기 때문임. 모든 변성 전분은 천연 전분보다 낮은 break down 값을 가짐으로써 천연전분보다 우수한 열 안정성을 가진다는 것을 알 수 있음. 또한, 유기산에 따라 peak 점도는 citric acid < tartaric acid < malic acid 순서로 나타났으며, pH가 증가 할수록 점도가 증가하는 것으로 관찰되었음. 이러한 결과는 산의 유형에 따라 다른 효과가 나타남을 알 수 있으며, 변성 전분이 천연전분보다 우수한 열 안정성을 가진다는 것을 나타내며, 그 중에서도 citric acid가 가장 안정하다는 것을 보여줌.

Table 5-15. Pasting profiles of potato starch modified by 10% CA, MA and TA treatment according to pH condition.

Samples	Temperature (°C)	Peak Viscosity (RVU)	Final Viscosity (RVU)	Set back (RVU)	Break Down (RVU)	
Native	62.64±0.23 ^{ab}	1117.79±16.58 ^a	383.75±6.17 ^c	169.73±10.06 ^c	903.76±17.01 ^a	
CA	pH 3.5	ND ¹⁾	ND	ND	ND	
	pH 5.0	ND	ND	ND	ND	
	pH 6.5	61.95±0.80 ^u	701.18±5.84 ^u	660.37±3.04 ^u	432.68±15.12 ^u	473.49±11.26 ^u
MA	pH 3.5	ND	ND	ND	ND	
	pH 5.0	60.52±0.27 ^c	606.42±2.94 ^c	762.59±8.52 ^u	355.36±11.95 ^c	199.19±22.36 ^c
	pH 6.5	60.44±0.50 ^c	1106.41±43.21 ^a	1581.27±14.64 ^a	821.69±8.32 ^u	346.83±26.42 ^c
TA	pH 3.5	56.39±0.48 ^u	340.75±1.76 ^c	169.37±4.38 ^b	61.86±1.16 ^b	179.84±3.64 ^c
	pH 5.0	63.44±0.62 ^u	377.78±5.98 ^u	303.38±7.29 ⁱ	142.47±4.61 ⁱ	270.26±2.46 ^u
	pH 6.5	61.78±0.30 ^u	721.45±14.67 ^u	709.87±14.58 ^c	281.36±8.64 ^u	292.94±14.07 ^c

Native, potato starches; CA, citric acid; MA, malic acid; TA, tartaric acid.

Values in the same column with different letters are significantly different ($p<0.05$).

¹⁾ND: not detected.

③ Rheological measurement

천연 감자전분과 유기산 (CA, MA, TA)종류와 pH 정도를 달리하여 제조한 변성감자전분의 전단속도에 대한 전단 응력을 측정된 결과(Table 5-16), 모든 시료는 높은 상관 계수를 보였으며 전단 속도가 증가함에 따라 전단 응력이 감소하는 가소성 특성을 가짐. 또한, 천연 감자전분과 달리 pH가 낮아질수록 n값인 유동 거동 지수가 증가하였으며, K값인 점도 지수가 감소하는 것으로 나타나 이는 RVA 점도 결과와 일치함. 유기산에 종류에 따라서는 크게 영향을 주지 못했으며, pH가 낮을수록 전분의 가수 분해에 의해 생성된 작은 전분입자에 의해 점도가 감소되고 농도 지수가 감소하는 것으로 나타나 pH 3.5에서 가장 높은 유동 지수 값과 낮은 점도도 지수를 갖는 것으로 측정됨.

Table 5-16. Rheological properties of potato starch modified by 10% CA, MA and TA treatment according to pH condition at 5 g/100 g concentration, 25 °C.

Samples	K (Pa s)	n	Minimum R ²	
Native	9.20±0.74 ^a	0.56±0.01 ^e	0.9976	
CA	pH 3.5	0.01±0.10 ^e	0.82±0.43 ^a	0.9225
	pH 5.0	0.12±0.56 ^{de}	0.64±0.01 ^{cde}	0.9998
	pH 6.5	3.14±0.84 ^b	0.58±0.13 ^{de}	0.9996
MA	pH 3.5	0.02±0.01 ^e	0.83±0.04 ^a	0.9618
	pH 5.0	0.71±0.01 ^c	0.77±0.02 ^{ab}	0.9990
	pH 6.5	3.16±0.15 ^b	0.69±0.02 ^{bc}	0.9957
TA	pH 3.5	0.89±0.01 ^{cde}	0.70±0.03 ^{bc}	0.9995
	pH 5.0	0.55±0.07 ^{cd}	0.66±0.01 ^{cd}	0.9991
	pH 6.5	3.16±0.12 ^b	0.60±0.01 ^{de}	0.9997

Native, potato starches; CA, citric acid; MA, malic acid; TA, tartaric acid.

Values in the same column with different letters are significantly different ($p<0.05$).

④ 용해도&팽윤력

변성 전분의 팽윤력은 천연 감자 전분에 비해 현저하게 감소되었으며, pH가 낮을수록 산 가수 분해의 정도가 강해져 팽윤력이 약해지기 때문에 pH 3.5 전분은 온도가 증가할수록 팽윤력이 거의 유지되고 pH가 증가할수록 온도가 증가함에 따라 팽윤력 값이 증가하는 것으로 측정되어짐. CA, MA와 달리 TA는 pH 3.5에서 팽윤력이 약간 증가한 것으로 나타났으며, pH 6.5에서는 MA에서 유의하게 높은 팽윤 지수를 가지는 것으로 나타남. 변성 전분과 천연감자 전분의 용해도는 팽윤력 결과와 유사하게 나타났으며, 팽윤력과 마찬가지로, 65 ° C에서 75° C로 증가 할 때 급격히 증가하였고, 모든 변성전분은 천연 감자전분의 용해도 값보다 낮은 용해도 값을 가짐. pH가 증가함에 따라 용해도가 증가하는 것으로 측정되었으며, pH 6.5에서 천연 감자 전분과 가까운 용해도 값을 가지는 것으로 나타남.

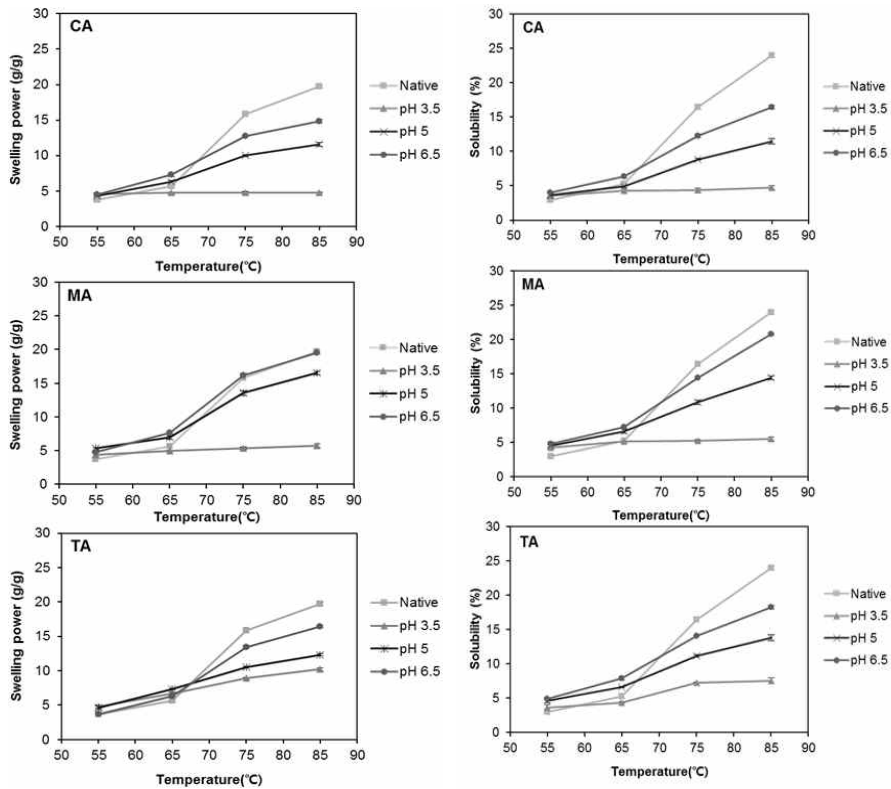


Figure 5-39. Swelling power (g/g) & solubility (%) of potato starch modified by 10% CA, MA and TA treatment according to pH condition.

⑤ Gel texture

전분의 유기산(CA, MA, TA)처리는 겔의 경도를 증가시키고 pH 3.5에서 겔 형성은 이루어 지지 않음. 모든 변성전분은 천연 전분보다 증가 된 경도를 보였으며, pH 5.0에서의 겔 경도는 유기산의 종류에 따라 유의 한 차이가 없었고, pH 6.5는 유기산의 종류에 따라 유의 한 차이를 보이는 것으로 나타남. 탄력성은 유의 한 차이가 없었으며 응집력은 모든 가공 전분 샘플이 천연보다 높은 값을 보였으며 샘플 간의 차이는 유의하지 않았음.

따라서 겔 경도는 MA가 가장 높은 것으로 나타났으며, TA, CA 순서대로 높은 겔 경도를 가지는 것으로 측정되어짐.

Table 5-17. Textural properties of potato starch modified by CA, MA and TA treatment

Samples		Cohesiveness	Springiness	Hardness (g)
Native		0.546±0.01 ^d	0.960±0.02 ^a	170.767±6.60 ^e
CA	pH 3.5	-	-	-
	pH 5.0	-	-	-
	pH 6.5	0.618±0.12 ^{ab}	0.917±0.16 ^c	627.306±18.69 ^d
MA	pH 3.5	-	-	-
	pH 5.0	0.624±0.01 ^a	0.940±0.18 ^b	669.097±31.79 ^c
	pH 6.5	0.609±0.01 ^b	0.946±0.10 ^{ab}	838.102±23.81 ^a
TA	pH 3.5	-	-	-
	pH 5.0	0.580±0.02 ^c	0.947±0.13 ^{ab}	673.617±26.07 ^c
	pH 6.5	0.618±0.02 ^{ab}	0.944±0.18 ^{ab}	723.829±46.21 ^b

Native, potato starches; CA, citric acid; MA, malic acid; TA, tartaric acid.

Values in the same column with different letters are significantly different ($p<0.05$).

⑥ 냉-해동 안정성

모든 변성전분은 pH 3.5에서 전분 과립의 팽창 또는 호화를 억제하여 겔을 형성할 수 없었으며. CA의 pH 5.0에서도 겔을 제조할 수 없었음. MA를 제외한 CA 및 TA 처리 샘플은 pH 6.5, pH 5.0에서 동결 용해 안정성이 천연 전분보다 유의적으로 우수함을 보여주었으며, MA는 pH 6.5에서 천연 전분과 유사한 결과 값을 나타냄. 결과적으로 산의 종류에 따라 냉-해동 안정성에 차이가 있고, CA와 TA에서 우수한 냉-해동 안정성을 가지며, pH가 낮을수록 냉-해동 안정성이 우수한 것으로 나타났음.

Table 5-18. Textural properties of potato starch modified by 10% CA, MA, and TA treatment according to pH condition.

Samples		Syneresis (%)			
		1 cycle	2 cycle	3 cycle	4 cycle
Native		21.19±0.37 ^c	40.43 ± 0.46 ^v	58.95±0.95 ^u	66.16±1.37 ^u
CA	pH 3.5	-	-	-	-
	pH 5.0	-	-	-	-
	pH 6.5	17.99±0.56 ^u	27.23±2.89 ^u	43.55±0.23 ^v	53.10±2.88 ^v
MA	pH 3.5	-	-	-	-
	pH 5.0	22.10±0.82 ^c	35.37±0.72 ^c	48.02±0.56 ^v	53.34±1.47 ^v
	pH 6.5	35.33±0.81 ^u	49.56±1.01 ^u	58.77±1.05 ^u	66.85±1.61 ^u
TA	pH 3.5	-	-	-	-
	pH 5.0	24.83±1.14 ^v	39.24±1.72 ^v	56.84±3.31 ^u	58.26±0.10 ^v
	pH 6.5	18.38±0.22 ^u	32.78±1.43 ^v	46.67±0.43 ^v	56.50±0.35 ^u

Native, potato starches; CA, citric acid; MA, malic acid; TA, tartaric acid.

Values in the same column with different letters are significantly different ($p<0.05$).

(8) 변성감자전분의 *in vitro* 장내세균 생육효과 분석을 통한 장기능 개선효과

(가) 구연산 (Citric acid, CA) 함량별에 따른 장기능 개선효과

① *B. bifidum*

Glucose와 citric acid 함량별 변성처리 전분을 첨가하여 *B. bifidum*을 배양하여 균수를 분석하였음. 초반 (16, 24 h) 시간대에는 glucose 첨가군이 현저히 균수가 높으나, 48 h부터 변성전분 첨가군이 균수를 따라잡아 유사해지며 120h 이후는 glucose 첨가군은 균수가 급격히 감소하는 것과 달리 변성전분 첨가군은 균수를 유지하는 결과를 보임. 반면 변성전분의 citric acid 처리 함량과 균수에는 경향을 보이지 않고 모두 유사하게 나타남(Figure 5-40).

② *L. acidophilus*

Glucose와 citric acid 함량별 변성처리 전분을 첨가하여 *B. bifidum*을 배양하여 균수를 분석하였음. 초반 (16, 24h) 시간대에는 *B. bifidum* 실험과 마찬가지로 변성전분 첨가군보다 glucose 첨가군이 균수가 더 높으며, 변성전분 중 citric acid 처리함량 적은 순으로 균수가 높게 나타남. *B. bifidum*과 달리, glucose 소진이 72h부터 더 빠르게 나타나며 변성전분 첨가군이 균수를 유지하는 결과를 나타냄. 변성전분 첨가군들 중 citric acid 10% 전분이 가장 균수 유지효과 높은 경향이 있었으나, 유의적 차이는 없게 나타남(Figure 5-40).

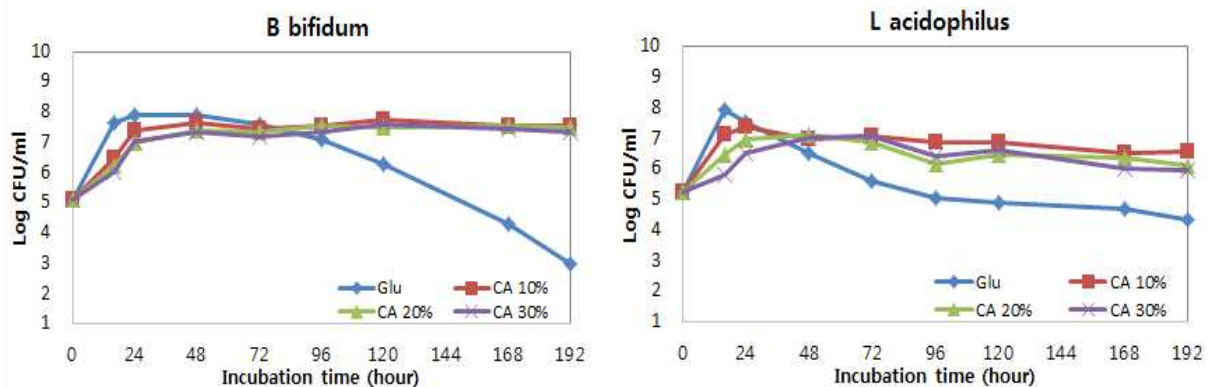


Figure 5-40. Effect of citric acid concentration of potato starch on growth curve of *B. bifidum* and *L. acidophilus*.

(나) 프락토올리고당(FOS)와 변성전분의 유익균 생육효과

구연산 (CA) 30% 처리 후 pH 3.5로 조절하여 제조한 변성감자전분과 양성 대조균인 FOS를 0.5, 1, 및 2% 첨가하여 *B. bifidum*와 *L. acidophilus*의 생육 효과를 균수로 분석하였음(Figure 5-41).

① *B. bifidum*

초반 (48h) 시간대까지는 FOS 군에서 생육이 약간 더 우세하나, 72 h 이후 변성전분 군에서 생육이 더 증가하여 서로 유사해지며 장기간 배양 시 (144 h) 이후 FOS 첨가군에서 균수가 점점 감소하는 반면 변성전분 첨가군에서는 감소폭이 더 작게 나타남. FOS와 변성전분 첨가군 모두 투여 농도와 균수는 큰 경향이 없게 나타남.

② *L. acidophilus*

초반 (16, 24h) 시간대에 *B. bifidum* 실험과 달리 변성전분군과 FOS군과의 균수 차이가 매우 뚜렷하며, 48h부터 두 실험군 간의 균수가 유사해짐. 이후 장기간 배양시 변성전분 첨가군 모두 균수가 점점 감소하였으며, 144 h 이후 지속적으로 균수를 유지하는 CA 2% 첨가군을 제외하고는 변성전분 첨가군이 FOS군보다 균수가 더 낮아짐. *B. bifidum*과 마찬가지로 FOS와 변성전분 첨가군 모두 투여 농도와 균수가 큰 경향이 없게 나타남. 위 결과를 종합하여 볼 때, 대표적 prebiotic 소재인 FOS와 변성전분의 *in vitro* 유익균 생육효과를 비교하였을 때 구연산 처리 변성감자전분에서도 유익균 생육효과를 나타냄을 확인하였음.

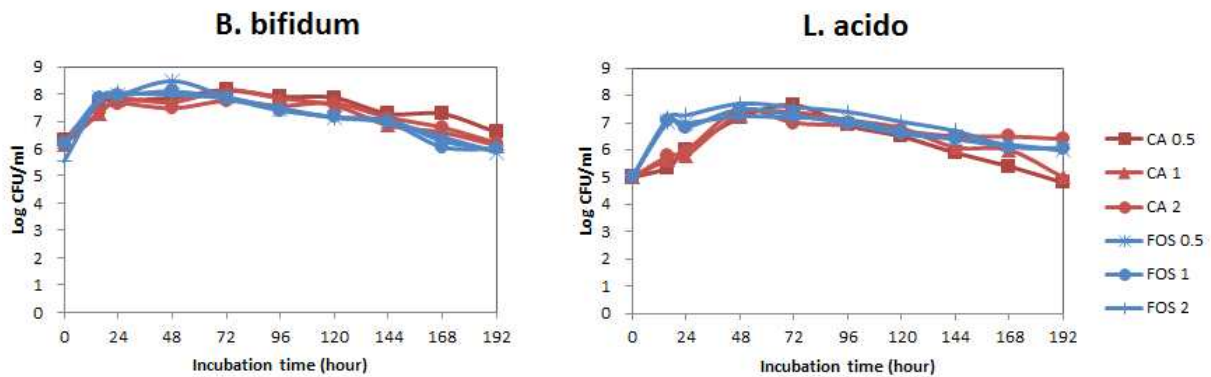


Figure 5-41. Effect of concentration of treated starch on growth curve of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus*.

(다) 유기산(CA,MA,TA) 종류별에 따른 변성감자전분의 *in vitro* 장기능 개선효과

① 단일배양에서 변성전분의 균 생육효과

○ *L. acidophilus*

Glucose와 전분함량 대비 30% citric acid, malic acid, tartaric acid 변성처리 전분을 첨가하여 *L. acidophilus*를 배양하여 균수를 분석하였음. 초반 (16, 24 h) 시간대에는 glucose 첨가군과 tartaric acid 첨가군이 현저하게 균수가 높으며, malic acid, citric acid 첨가군 순서대로 초반 균수가 유지되어짐.

48h-72h부터 glucose 첨가균과 tartaric acid 첨가균은 균수가 급격히 감소하며 malic acid 처리균은 균수가 약간 감소하여 citric acid보다 낮은 균수를 유지하였음. 반면, citric acid 처리균은 일정하게 균수를 유지하며, 72h 시간대에서 가장 높은 균수를 가지는 것으로 나타남. 96h 이후 glucose 첨가균은 균수가 계속 감소하여 168h에서 가장 낮은 균수를 유지하였으며, tartaric acid는 glucose와 유사한 경향으로 malic acid, citric acid와 달리 균수가 감소하긴 하였으나, 120h-168h 시간대에서 균수를 유지하며 glucose 첨가균 보다는 높은 균수 유지율을 보였음. citric acid, malic acid 처리균은 168h까지 균수를 유지하며 높은 균수 유지효과를 보였고, 그 중에서도 citric acid가 가장 효과가 있었음(Figure 5-42).

○ *E. coli*

Glucose와 전분함량 대비 30% citric acid, malic acid, tartaric acid 변성처리 전분을 첨가하여 *E. coli*를 배양하여 균수를 분석하였음. 초반 (16, 24h) 시간대에는 *L. acidophilus* 실험과 마찬가지로 citric acid, malic acid 첨가균보다 glucose 첨가균과 tartaric acid 첨가균이 균수가 더 높으며, malic acid, citric acid 순으로 균수가 높게 나타남. *L. acidophilus*은 48h 시간대에서 glucose와 tartaric acid 첨가균이 citric acid, malic acid 첨가균보다 약간 높은 균수를 유지하다가 72h에서 경향이 바뀌었는데, *E. coli*는 48h에서 모든 샘플이 유사한 균수를 유지하다가 72h에서 경향이 바뀌는 것으로 나타남. 변성전분 첨가균들 중 citric acid 전분이 가장 균수 유지효과 높은 경향이 있었으며, tartaric acid 전분은 glucose보다 높은 균수를 유지하긴 하나 변성전분 첨가균 중에서는 다소 낮은 균수를 유지하였음(Figure 5-42).

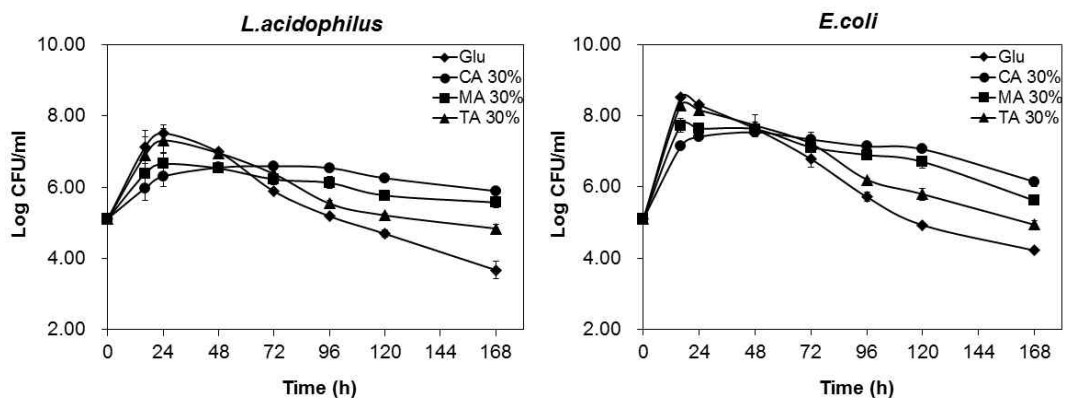


Figure 5-42. Monoculture growth curve of *L. acidophilus* and *E. coli* on modified starch by types of organic acid.

② 단일배양에서 변성전분 fraction의 균 생육효과

○ *L. acidophilus*

Glucose와 전분함량 대비 30% citric acid, malic acid, tartaric acid 변성전분의 fraction을 첨가하여 *L. acidophilus*를 배양하여 균수를 분석하였음. Starch를 첨가하였을 때에는 초반 (16, 24 h) 시간대에서 glucose 첨가군과 tartaric acid 첨가군이 현저하게 균수가 높으며, malic acid, citric acid 첨가군은 다소 낮은 균수를 유지하였지만, malic acid, tartaric acid fraction 첨가군의 경우 초반 (16, 24 h) 시간대에서 glucose 및 tartaric acid 첨가군과 유사한 균수를 보였음. 이는 구조적 결과에서 알 수 있듯이, fraction을 얻으면서 효소에 의해 전분의 치밀한 구조가 손상되었기 때문에 균이 전분을 이용하기 다소 쉬워졌기 때문이라고 사료됨. 48h시간대까지는 뚜렷한 차이를 보이지 않았으나, 72h 시간대 이후로 glucose와 변성전분 첨가군 간의 균수 차이가 벌어지면서 starch 첨가 군과 동일한 결과로 나타남. starch 첨가군 결과와 마찬가지로 tartaric acid는 malic acid, citric acid와 달리 균수가 감소하긴 하였으나, glucose 첨가군 보다는 높은 균수 유지율을 보였으며, citric acid → malic acid → tartaric acid 순서대로 균수 유지에 있어서 가장 효과가 있었음(Figure 5-43).

○ *E. coli*

Glucose와 전분함량 대비 30% citric acid, malic acid, tartaric acid 변성전분의 fraction을 첨가하여 *E. coli*를 배양하여 균수를 분석하였음. 초반 (16h) 시간대에는 *L. acidophilus* 실험과 마찬가지로 citric acid, malic acid 첨가군이 glucose 첨가군과 tartaric acid 첨가군과 유사한 균수를 보였으나, 24h-48h에서는 glucose 첨가군 균수의 급격한 감소, 변성전분 fraction 첨가군의 높은 균수 유지효과로 인해 glucose 군보다 변성전분 첨가군이 더 높은 균수를 유지하였음. 72h 시간대 이후에서는 *L. acidophilus* 결과와 마찬가지로 glucose와 변성전분 첨가군 간의 균수 차이가 벌어지면서 starch 첨가 군과 동일한 결과로 나타남. citric acid → malic acid → tartaric acid 순서대로 균수 유지에 있어서 가장 효과가 있었음(Figure 5-43).

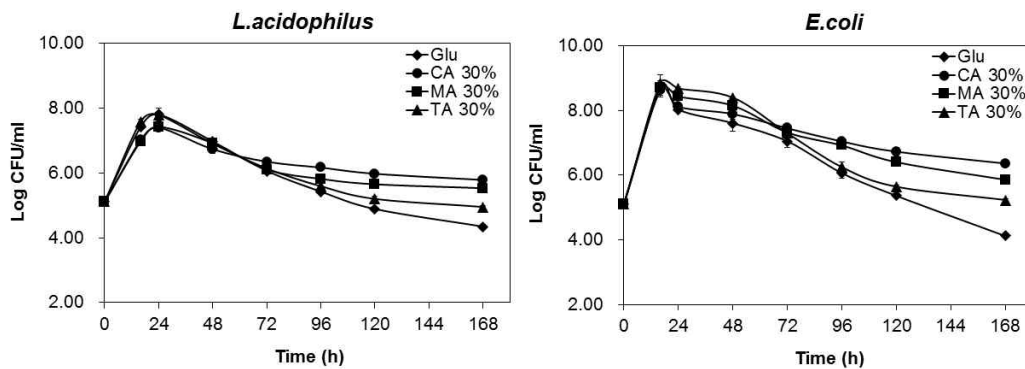


Figure 5-43. Monoculture growth curve of *L. acidophilus* and *E. coli* on modified starch fraction by types of organic acid.

③ 혼합배양에서 변성전분의 장기능 개선효과

유익균 *L. acidophilus*, *B. bifidum* 2종, 유해균 *E. faecalis*, *E. coli* 2종, 총 4가지 균을 혼합하여 glucose와 citric acid, malic acid, tartaric acid 변성처리 전분을 첨가한 후 혼합 배양하여 각 해당균의 생육효과를 분석하였음(Figure 5-44).

○ *L. acidophilus*, *B. bifidum*

24h-48h 시간대에서 *L. acidophilus*는 변성전분 첨가균이 glucose 첨가균과 유사한 균수를 유지하는 것으로 나타났으며, 72h 이후로 glucose가 급격하게 감소하였음. 변성전분 첨가균은 24h 시간대부터 168h 시간대까지 거의 일정하게 균수를 유지하였으며, malic acid, tartaric acid 첨가균은 균수가 citric acid 균보다 다소 감소하여 citric acid가 가장 높은 균수 유지효과를 보였음. 168h 시간대에서 변성 전분 첨가균은 citric acid → malic acid → tartaric acid 순으로 균수 유지 효과가 감소하였음 (CFU: CA-7.59, MA-7.02, TA-6.70). *B. bifidum*은 단일배양에서 결과와는 다르게 변성전분 첨가균이 24h-48h에서 glucose 첨가균보다 다소 낮은 균수를 유지하기는 하였으나, malic acid가 tartaric acid 첨가균과 비슷한 균수를 유지하였음. 또한, *L. acidophilus*와는 다르게 *B. bifidum*의 경우 72h시간대 이후로 변성전분 첨가균 간의 뚜렷한 차이를 보이진 않았지만 168h 시간대에서 CA → MA → TA 순으로 균수 유지 효과의 감소를 보이며 citric acid 첨가균이 가장 효과적임을 나타냄(CFU: CA-6.57, MA-6.40, TA-6.32).

○ *E. coli*, *E. faecalis*

유해균 결과는 유익균 결과와 비슷한 결과로 나타났으며, 24h-48h 시간대에서 *E. coli*는 변성전분 첨가균이 glucose 첨가균보다 낮았으나, 변성전분 첨가균간의 차이는 없었음. 24h-120h 시간대까지 tartaric acid 첨가균이 다소 낮았으며 citric acid, malic acid는 거의 차이가 없다가 168h에서 변성전분 간의 차이가 나타남. 변성전분 첨가균 중에서 citric acid 첨가균이 가장 높은 균수를 유지하였고, tartaric acid에서 가장 낮았음(CFU: CA-6.30, MA-6.01, TA-5.73). *E. faecalis*는 *E. coli*와는 다르게 변성전분 첨가균 중에서 24-72h 시간대에서 malic acid 첨가균이 가장 낮은 균수를 유지하는 것으로 나타남. 하지만, 96h 시간대부터는 *E. coli* 결과와 동일하게 tartaric acid, malic acid가 감소하여 CA→MA→TA 순서를 유지하였음(CFU: CA-6.20, MA-5.93, TA-5.65).

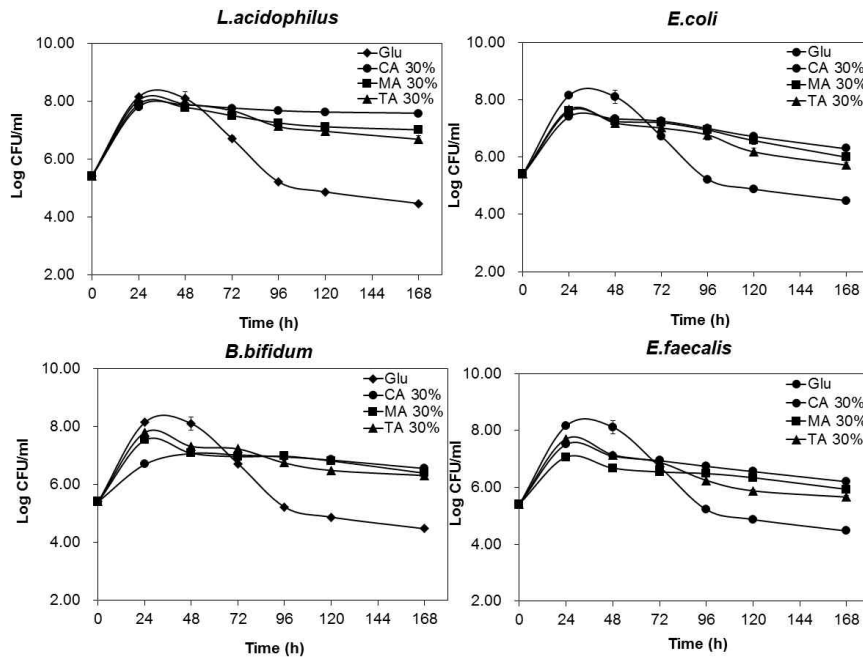


Figure 5-44. Growth curve of *L. acidophilus*, *B. bifidum*, *E. faecalis* and *E. coli* on modified starch by types of organic acid.

④ 혼합배양에서 변성전분 fraction의 장기능 개선효과

○ *L. acidophilus*, *B. bifidum*

Glucose와 citric acid, malic acid, tartaric acid 변성처리 전분을 첨가하여 혼합배양을 진행 하였음(Figure 5-45). 24h-48h 시간대에서 *L. acidophilus*는 starch를 첨가하였을 때 균수와 비슷하였으며, 72h 까지 높은 균수를 유지하였음. 96h 이후로 변성전분 fraction 첨가군 중 tartaric acid가 다소 감소하였고, citric acid는 균수를 유지하여 citric acid에서 가장 높은 균수를 보였으며, malic acid, tartaric acid 순서대로 균수를 유지하였음(CFU: CA-6.85, MA-6.53, TA-6.16). *B. bifidum*의 경우 malic acid, tartaric acid 첨가군은 starch를 첨가하였을 때 다소 높은 초기균수를 유지하였고, citric acid의 경우 낮은 초기균수를 유지하였으나 fraction을 첨가하였을 세 가지 첨가군 모두 높은 초기 균수를 유지하였음. 120h 시간대 까지 변성전분 fraction 첨가군 간의 차이는 크게 없는 것으로 나타났으나 168h 시간대에서 tartaric acid fraction 첨가군이 다소 감소하여 제일 낮은 균수를 유지하는 것으로 나타남. citric acid, malic acid는 비슷한 균수를 나타내고, tartaric acid가 가장 균수 유지 효과가 적었음(CFU: CA-6.38, MA-6.24, TA-5.86).

○ *E. coli*, *E. faecalis*

Glucose와 citric acid, malic acid, tartaric acid 변성처리 전분을 첨가하여 혼합배양을 진행하였음(Figure 5-45). *E. coli*, *E. faecalis* 생육곡선의 경우 starch를 이용한 혼합배양 결과와 비슷한 결과로 나타났으며, 24h-48h 시간대에서 *E. coli*는 변성전분 첨가군이 glucose 첨가군과 유사한 균수를 가졌으며, 변성전분 첨가군간의 차이는 없었음. 48h 시간대에서 glucose와 달리 변성전분 첨가군은 균수가 유의적으로 감소하였으며, citric acid 첨가군이 다른 두가지 변성전분 첨가군에 비해 다소 높은 균수를 유지하였음. 120h 시간대 까지 malic acid, tartaric acid 첨가군의 차이는 보이지 않았으며, 168h 시간대에서 균수 차이가 벌어지면서 tartaric acid가 가장 낮은 균수를 유지하였음(CFU: CA-6.63, MA-6.29, TA-6.04). *E. faecalis*는 citric acid 첨가군이 다소 낮은 균수를 유지했던 starch 첨가군과 다르게 다른 변성전분 fraction 첨가군과 유사한 초기균수를 유지하였음. 48h-96h 시간대까지 경향이 보이지 않다가 120h 시간대에서 tartaric acid 첨가군의 균수가 다른 첨가군에 비해 유의적으로 감소하였으며, citric acid 첨가군에서 제일 높은 균수를 유지하는 것으로 나타났음. 변성전분 fraction 첨가군의 유해균 결과는 유익균 결과와 동일하게 citric acid → malic acid → tartaric acid 순서대로 높은 균수를 유지하였음. (CFU: CA-6.69, MA-6.34, TA-5.75). 위 결과를 종합하여 보았을 때, 유익균과 유해균을 혼합배양할 경우 *E. coli*, *E. faecalis*보다 *L. acidophilus*, *B. bifidum*에서 높은 균수를 유지함으로써 변성전분이 유익균의 성장을 촉진하고 프로바이오틱 균주가 변성 전분을 더 잘 활용할 수 있다고 사료됨. 또한, fraction 첨가군에서 starch첨가군보다 다소 높은 초기균수(24-48h)를 유지하는 결과는 구조적으로 소화과정을 거치면서 전분 입자의 표면에 손상이 생겨 초반에 균이 보다 쉽게 이용하는 것이라고 추측되어짐.

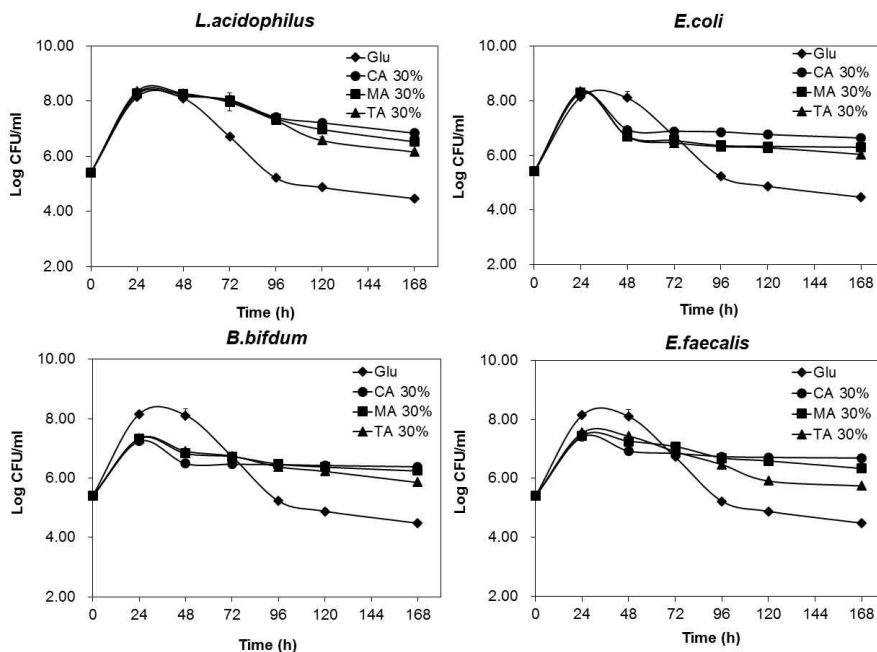


Figure 5-45. Growth curve of *L. acidophilus*, *B. bifidum*, *E. faecalis* and *E. coli* on modified starch fraction by types of organic acid.

(9) 동물모델에서 혈당/비만 및 장기능 개선 효능검증

(가) 구연산 (Citric acid, CA) 함량별에 따른 비만개선효능

① 체중증가량 및 식이섭취량

초기 체중은 모든 군에서 유의적인 차이를 보이지 않았고, 식이섭취 5주 후 체중 증가량은 Control군이 20%로 가장 높은 것으로 나타남. 모든 CA군은 대조군보다 체중 증가량이 낮았으며, 특히 CA30%_high군에서 유의적으로 낮았음. 이는 *in vitro* 소화율 결과와 일치하는 것으로, 소화율이 가장 낮았던 CA30%군이 장내에서 전분의 소화를 억제하여 대조군 및 CA10%군 보다 체중증가율이 낮게 나타난 것으로 보임(Figure 5-46). 식이 섭취량은 서로 간 유의적인 차이를 보이지는 않았음. 때문에 체중증가의 요인은 서로 다른 식이 섭취량보다는 각 전분의 영향에 의한 것으로 볼 수 있음. 이러한 결과는 CA 전분이 식이 섭취량에 크게 영향을 주지 않으며, 체중 증가 또한 억제하는 효과가 큼을 암시함.

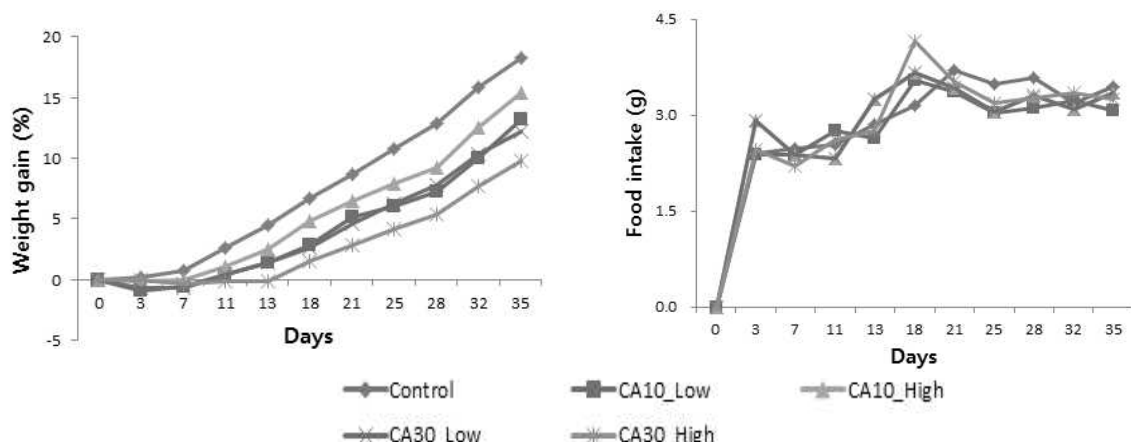


Figure 5-46. Effect of citric acid treated starch on weight and food intake in mice.

② 장기 중량

대조군 대비 심장을 비롯해 간 등 대부분의 장기에서 무게차이를 보였으며 특히 CA30 고농도군에서 월등히 차이가 나는 상태였음. 결과물 중 비만과 관련된 지방부위(Subcutaneous, Peritoneal, Mesentric, Epididymal) 모든 부위에서 유의성 있는 차이를 보였음(Figure 5-47). 주요장기 중 간, 심장, 및 신장조직에서도 차이를 보였는데 이는 비만형 심장비대증과 관련된 장기로, 유의적인 비대증 유발된 상태에서 모든 투여 군에서 유의적인 억제 효능을 보였음(Figure 5-48).

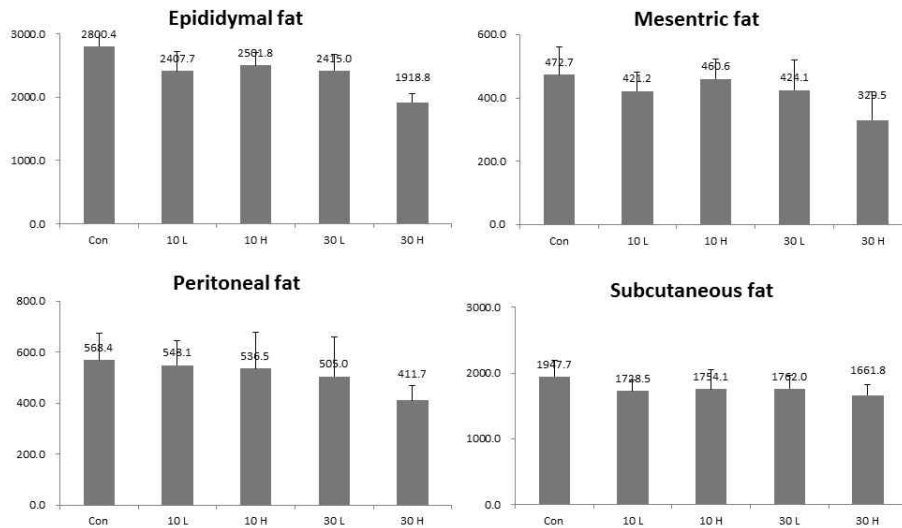


Figure 5-47. Fat pad weight for high-fat induced mice fed with citric acid treated-potato starch.

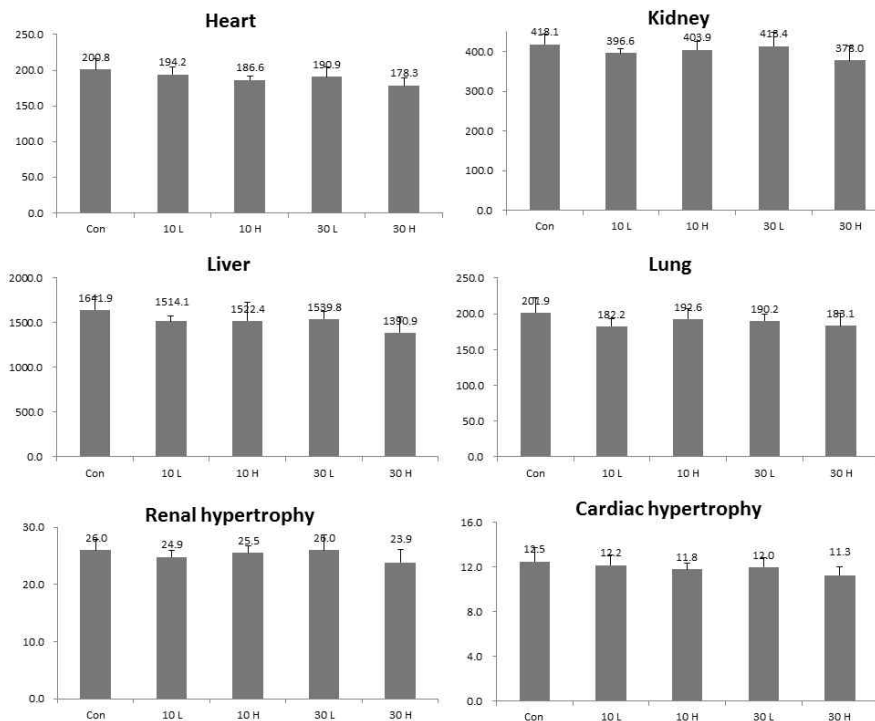


Figure 5-48. Tissue weight for high-fat induced mice fed with citric acid treated-potato starch.

③ 혈액 생화학적 검사

혈중 GOT, GPT 활성은 간세포의 변성과 괴사를 반영하는 효소로서 간 조직 손상 시 혈중으로 다량 유출됨. 변성전분 투여군의 GOT, GPT 활성은 대조군에 비해 유의적 차가 없게 나타나 변성전분 투여로 인해 간 조직 손상이 일어나지 않음을 확인함(Figure 5-49).

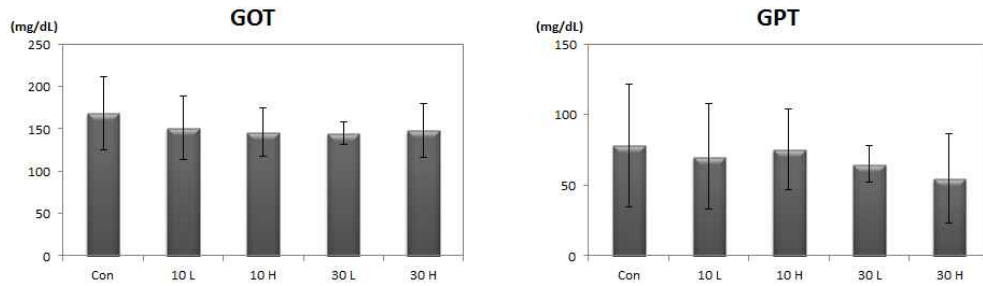


Figure 5-49. GOT and GPT for high-fat induced mice fed with citric acid treated-starch.

혈중 콜레스테롤 수치에서 대조군 대비 유의적인 감소, 억제된 결과를 보였음(Figure 5-50). 총 콜레스테롤에서 CA10-high, CA30-high군이 대조군 대비 유의적으로 낮았으며, LDL 콜레스테롤에서 CA10-low, CA30-low, CA30-high 군이 대조군 대비 유의적으로 낮은 수치를 나타냄. 또한 혈중 중성지방이 Control 대비 CA30 high군에서 유의적 차이를 보였음. 그 외의 지표들에서는 유의적 차이를 보이지 않음(Figure 5-51).

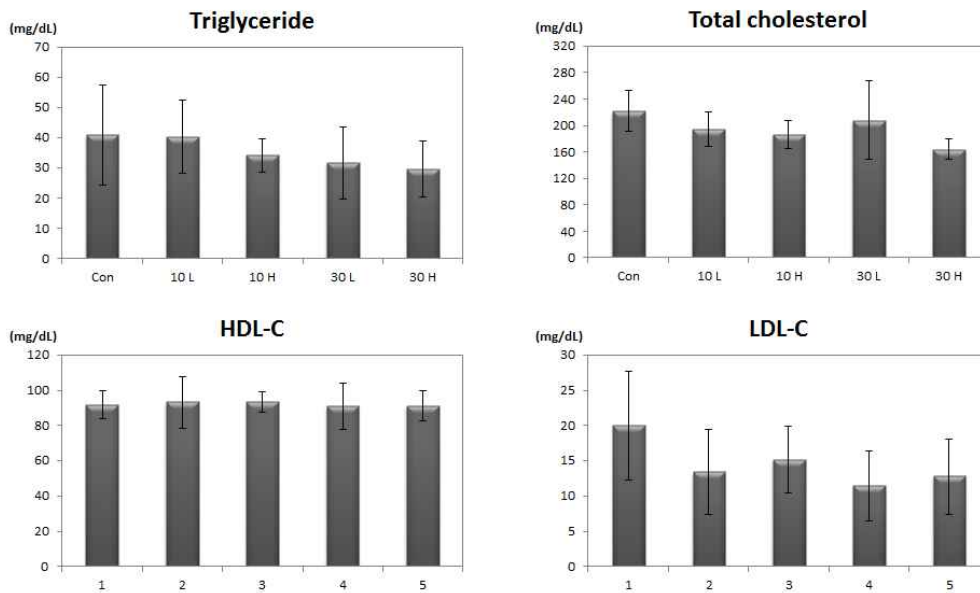


Figure 5-50. Serum parameters for high-fat induced mice fed with citric acid treated-starch.

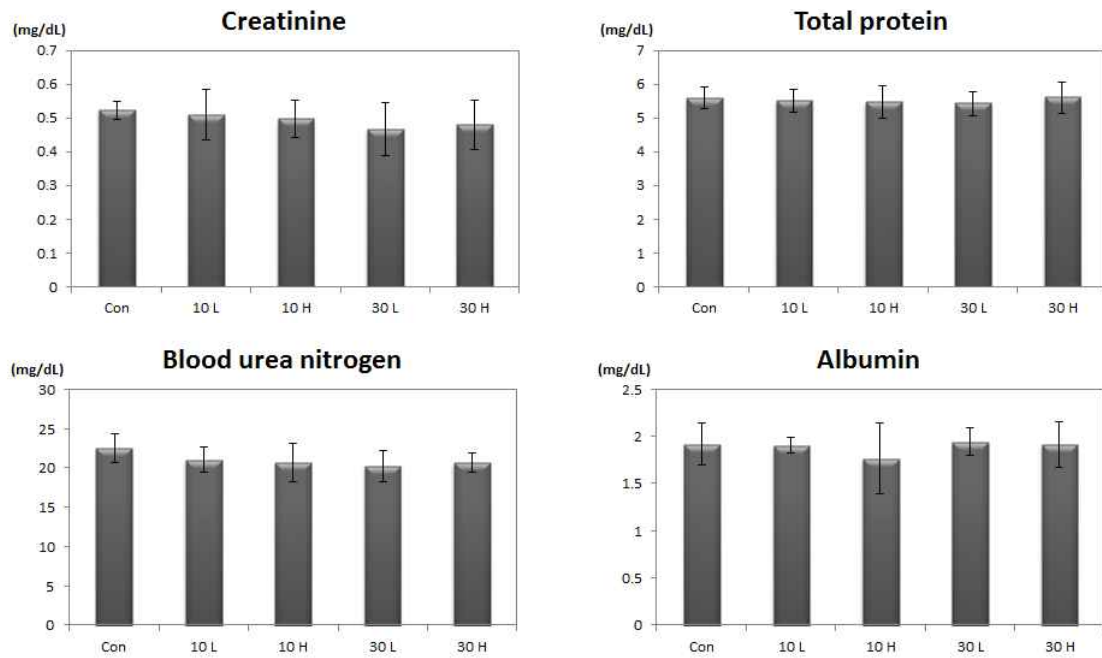
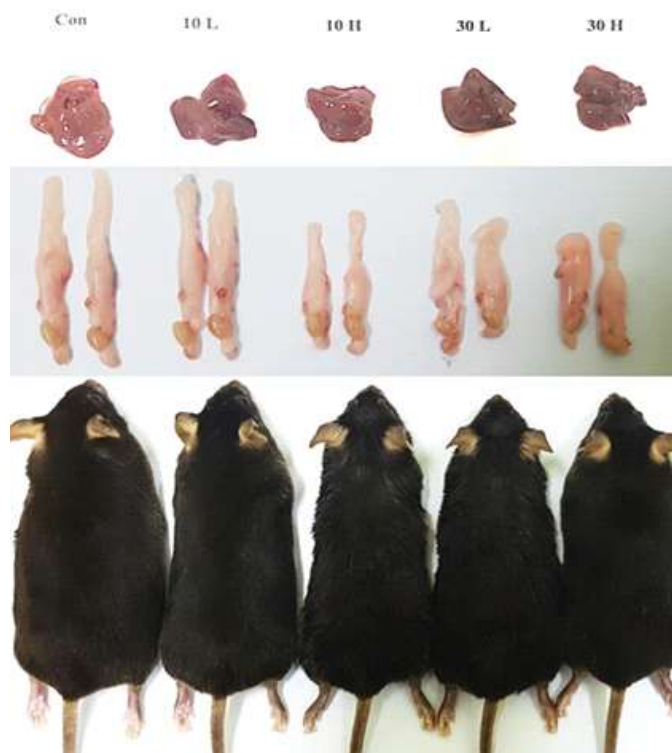


Figure 5-51. Biochemical markers for high-fat induced mice with citric acid treated-starch.

④ 조직학 검사 및 이미지 관찰

비만유도식으로 인해 전체적으로 비만이 유발된 것으로 보이며, 변성전분 투여로 인해 개선되어지는 것으로 나타남. 실험동물을 무작위 선별하여 간조직과 부고환지방을 적출하여 이미지화 하였으며, 장기의 크기와 간조직의 색에서 확연한 차이를 보였음.



(나) 유기산(CA, MA, TA) 종류별에 따른 비만개선효능

① 체중증가량 및 식이섭취량

체중 증가량은 Control 군에서 유의적으로 낮은 것으로 나타났으며, HF 군에서 가장 높은 것으로 나타남. CA 투여군의 경우 유의적인 차이를 보이지 않았지만 HF군에 비하여 10% 정도 낮은 값을 보이는 것으로 나타남. 반면에, TA의 경우 다소 증가한 값을 보였지만 유의적인 차이는 보이지 않았음. 이는 CA 투여 시 비만의 개선에는 효과를 보이지 않았으나 예방에 도움을 줄 수 있음을 나타낼 수 있는 것으로 보임. 식이 섭취량은 Control에서 가장 낮았으며, HF 군과 변성 전분 투여군 간의 유의적인 차이를 보이지 않았음. 때문에 체중 증가 및 감소는 서로 다른 식이 섭취량 보다는 각 전분의 영향에 의한 것으로 볼 수 있음.

② 혈액 생화학적 검사

혈청 지질 수치에서 총 콜레스테롤은 모두 유의적인 차이를 보이지는 않았으며, 중성 지질의 경우 모든 변성 전분 투여군에서 감소하는 것으로 나타나 유의적인 감소를 나타냈다. 또한, CA 군의 경우 HDL 콜레스테롤에서 유의적으로 높은 값을 가지며 효과적으로 HDL을 증가시키는데 도움을 주었음. 반면, LDL 콜레스테롤의 경우는 모든 샘플간의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 변성전분 투여 시 HDL 수준을 증가시키고 중성 지질 감소에 도움을 줄 수 있음을 나타냄.

③ 소장 이동능

소장 이동능의 경우 CA는 유의적인 증가를 나타냈으며, MA와 TA의 경우 Control과 HF군에 비해 유의적인 차이를 나타내진 않았지만 값의 증가를 보였다. 이러한 소장 이동능의 증가는 배변 활동을 촉진할 수 있으며, 분변의 수분함량 증가시키게 된다. 따라서, 모든 변성 전분 샘플은 소장 이동능의 증가를 나타낼 수 있으며, CA에서 가장 효과적임.

④ 분변지질함량 및 수분함량

분변 지질은 체내 지질 수준 감소에 영향을 주는 지표로써 변성전분 샘플 모두에서 지질 함량이 증가하는 것으로 나타남. 또한, 분변 수분함량의 경우 Control에서 가장 높은 값을 가졌으며, HF에서 가장 낮은 값을 가지는 것으로 나타남. 변성전분 투여군의 경우 HF군보다 분변 수분함량의 유의적인 증가를 보였음. 이러한 결과는 장운동 촉진에 의해 배변시간이 짧아짐에 따라 수분함량이 증가한 것으로 볼 수 있으며, 지질 배설의 증가로 인해 중성 지질 수준 감소에 영향을 줄 수 있음을 확인하였음.

Table 5-19. Effect of modified starch on the food intake, weight gain, blood lipid level, GI transit, fecal lipids, and fecal moisture

	Control	HF	HF+CA	HF+MA	HF+TA
Food intake (g/d)	25.78 ± 2.02 ^b	17.53 ± 1.81 ^a	15.73 ± 7.63 ^a	18.58 ± 8.10 ^a	17.09 ± 12.69 ^a
Weight gain (%)	167.46 ± 11.36 ^b	205.82 ± 10.65 ^a	195.81 ± 12.72 ^a	204.34 ± 18.11 ^a	214.96 ± 15.20 ^a
Total cholesterol (mg/dL)	95.48 ± 10.13 ^a	107.54 ± 11.53 ^a	102.48 ± 12.08 ^a	103.94 ± 11.36 ^a	108.06 ± 10.19 ^a
Triglyceride (mg/dL)	66.34 ± 5.75 ^b	87.06 ± 10.77 ^a	77.68 ± 9.74 ^{ab}	75.02 ± 8.79 ^b	73.08 ± 6.01 ^b
HDL-cholesterol	21.26 ± 1.04 ^a	17.58 ± 0.71 ^b	20.26 ± 2.09 ^a	17.88 ± 1.59 ^b	17.42 ± 0.82 ^b
LDL-cholesterol	53.3 ± 8.68 ^b	67.78 ± 7.32 ^a	63.44 ± 5.85 ^{ab}	62.98 ± 8.87 ^{ab}	60.14 ± 6.64 ^{ab}
Gastrointestinal transit (%)	59.12 ± 4.13 ^b	66.94 ± 3.54 ^{ab}	74.43 ± 5.01 ^a	72.80 ± 6.51 ^a	71.34 ± 6.59 ^a
Fecal lipids (mg/100mg fecal)	1.09 ± 0.42 ^c	2.62 ± 0.94 ^b	3.30 ± 0.70 ^{ab}	3.49 ± 0.62 ^{ab}	3.80 ± 1.16 ^a
Fecal moisture (%)	58.54 ± 3.71 ^a	37.76 ± 0.62 ^c	41.10 ± 1.40 ^b	40.88 ± 0.72 ^b	39.60 ± 1.44 ^{bc}

Data are expressed as means ± SEM, n=5.

Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

(10) 동물모델에서 혈당개선 효능검증

(가) 구연산 (Citric acid, CA) 함량별에 따른 혈당개선능

① 포도당 내성 검사 (Glucose tolerance test, GTT)

모든 실험군에서 포도당 투여 후 15 분에 정점을 보인 후 점진적으로 감소하였으며, 포도당 투여 후 120 분에는 포도당 투여 전 공복 혈당 수치와 거의 유사한 수준을 나타냄. 포도당 투여 후 15 분에는 CA30%군이 Control군에 비해 유의적으로 낮은 공복 혈당을 나타냄 (Figure 5-52). CA30%군은 control에 비해 낮은 혈당 수준을 보였고, 15분 후부터 유의적으로 감소함. CA 10%군의 경우 포도당 투여 직후부터 control과 유사한 혈당 수준을 보였으며, CA 전분의 대체 함량에 의한 혈당 수준에는 영향이 없는 것으로 보임. 이러한 결과는 CA30%군이 Control보다 혈당 저하에 유의적으로 효과가 있음을 나타내며, 시간의 흐름에 따라 혈당이 일정하게 유지될 수 있음을 알 수 있음.

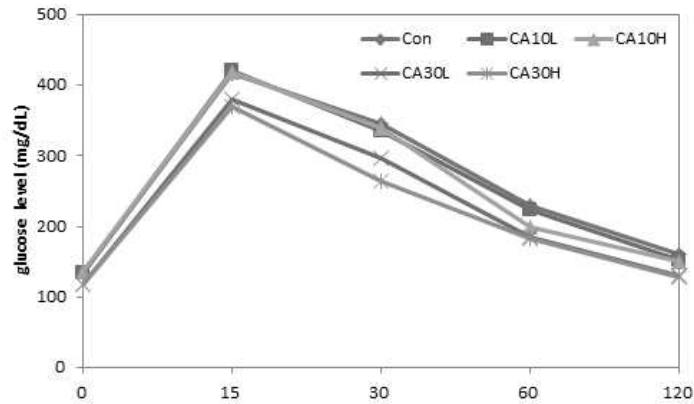


Figure 5-52. Effect of citric acid treated-starch on GTT in high-fat induced mice.

② 인슐린 내성 검사

인슐린 내성 시험 결과, 인슐린 투여 후 60분 까지 CA30%군이 대조군보다 혈당이 낮게 유지되었음을 알 수 있음(Figure 5-53). CA10%군은 대조군과 거의 유사한 것으로 나타나 효과는 없는 것으로 생각되어지며, 이는 포도당 내성 결과와 일치함. 이와 같은 결과는 CA30%가 마우스에서 인슐린 저항성을 감소시키고 혈당 강하의 효과가 있는 것으로 보임.

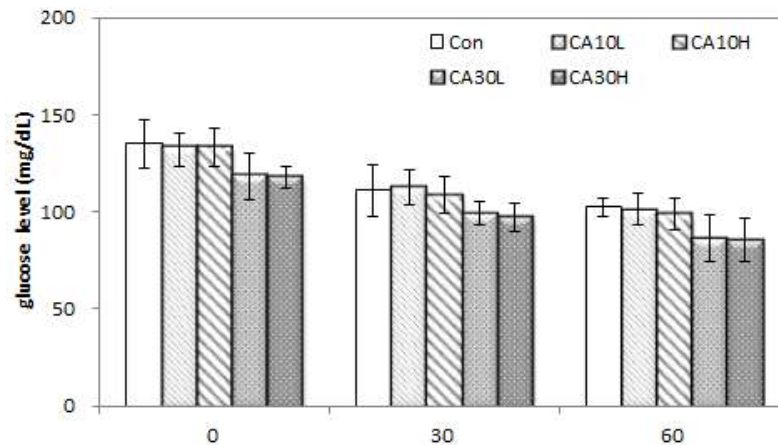


Figure 5-53. Effect of citric acid treated-starch on ITT of high-fat induced mice.

(11) 동물모델에서 장기능개선 효능검증

(가) 구연산 (Citric acid, CA) 함량별에 따른 장기능 개선효능

① 변의 수분함량

각 식이를 투여한 mice의 변을 채취하여 수분함량을 분석한 결과(Figure 5-54), 대조군과 CA10-low (24군 간의 수분함량의 유의적인 차이는 없었음. 변성전분 투여군들 간에서는 CA10-low 군을 제외하고는 대조군보다 수분함량이 증가하였으며 CA30-high 군에서 가장 수분함량이 높게 나타남. *In vitro* 소화율 분석 결과 저항전분 함량이 가장 높았던 CA30 전분의 고용량 투여로 장에 소화되지 않은 전분 잔여량이 증가하였고, 유의군의 먹이로 작용해 유의군의 활성을 증가시켰을 것으로 생각됨.

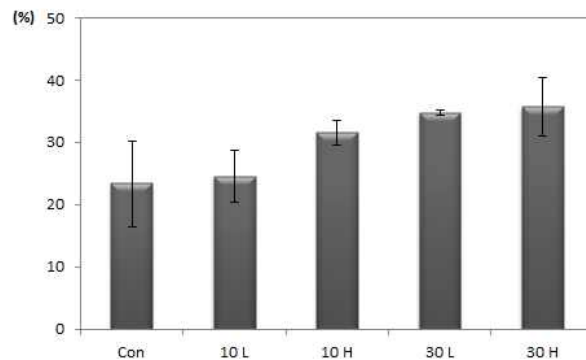


Figure 5-54. Stool water weight for high-fat induced mice fed with citric acid treated-starch.

(나) 유기산(CA,MA,TA) 종류별에 따른 장기능 개선효능

① 단쇄지방산 함량 (SCFAs)

프로피온산과 부티르산은 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 분변 내용물의 아세트산 함량은 대조군 및 HF 군에 비하여 CA, MA 그리고 TA 군에서 유의적으로 증가하였음(Figure 5-55). 총 단쇄지방산 함량은 CA>MA>TA 순서로 나타나 이는 소화율 결과에서 각 전분이 가지는 RS함량 결과와 일치하였음. 이러한 결과는 RS는 장내에서 발효되면서 단쇄지방산을 형성 할 수 있다고 알려져 있으며, 변성전분에 다량으로 포함된RS가 장내에서 발효되어 장에서의 단쇄지방산 생성을 증가시킬 수 있기 때문이다. 또한, 아세트산은 포도당을 탄소원으로 유산균에 의해 발효되어 나타나는 발효산물로, 장내 가장 주된 단쇄지방산이며, 장내 환경을 조절하는 매우 중요한 인자로 인식되어짐. 따라서, 변성전분의 섭취는 아세트산의 함량을 효과적으로 증가시키는데 도움을 줄 수 있음을 확인하였음.

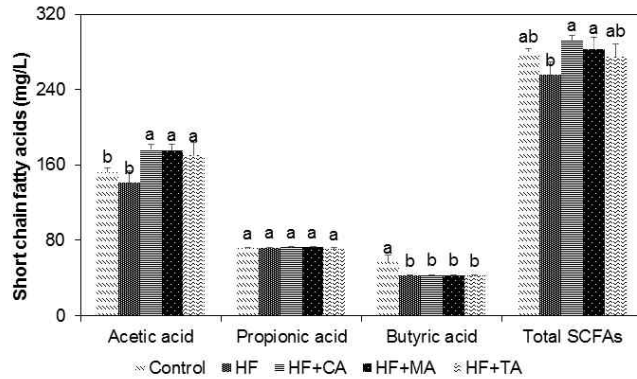


Figure 5-55. Short chain fatty acids of high-fat diet induced obese rat with modified starch.

② 장내 미생물 균총(q-PCR)

장내 유익균으로 알려져있는 *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*의 균 수는 HF군에서 거의 관찰되지 않았으며, *Lactobacillus*의 경우 MA와 TA는 대조군과 유사한 균 수를 가지는 것으로 나타났음(Figure 5-56). 그 중 CA는 유의적으로 높은 균 수를 가짐. *Bifidobacterium*에서는 대조군과 HF군 모두 거의 관찰되지 않았으며, 마찬가지로 CA에서 가장 높은 균 수를 가지는 것으로 나타남. 이는 변성전분의 RS가 장내에서 발효되며 생성된 단쇄지방산이 장내 pH를 산성으로 만들어 줌으로써, 유익균이 산성환경에서 성장이 촉진되고, 유해균의 성장을 억제해주기 때문이다. 반면에, 유해균으로 알려져 있는 *Clostridium*은 대조군과 HF군에서 높은 균 수를 보임. CA, TA 군에서 *Clostridium*은 유의적으로 감소하는 경향을 보였지만, MA의 경우 대조군과 HF군과 유사한 값을 가지는 것으로 나타남. 결과적으로 변성전분 투여 시 모든 변성전분 샘플은 유익균의 성장을 촉진할 수 있으며, 유해균 감소의 가능성을 보임.

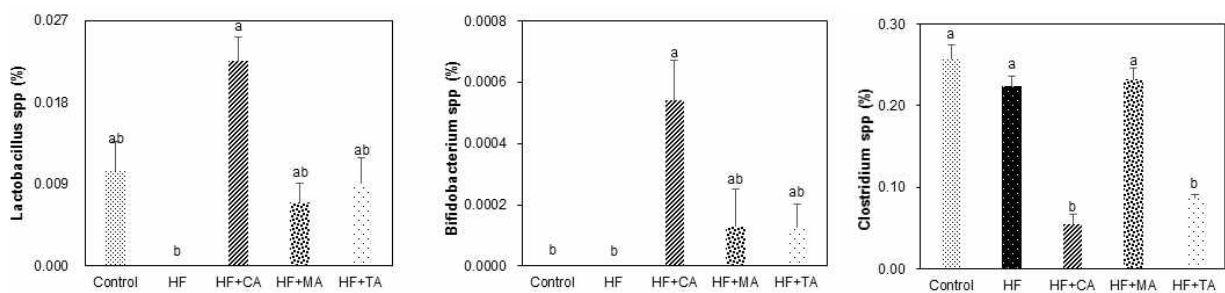


Figure 5-56. Result of the short chain fatty acids of high-fat diet induced obese rat fed with modified starch

3. 요약 및 결론

(1) 표준화된 *in vitro* 소화흡수율 검정시스템 조건 확립

표준화된 *in vitro* 소화흡수율 검정시스템 조건을 설정하여 standard 물질인 white bread의 측정된 결과 areas 값(12122.04)과 논문(Goni, 1997)의 areas 값(12120.90)와 유사 값을 나타냄.

(2) 천연, 상업용 및 개발 변성전분 소재들의 *in vitro* 소화율 및 혈당반응(pGI) 분석

		Uncooked (before gelatinization)				Cooked (after gelatinization)			
		RDS	SDS	RS	pGI	RDS	SDS	RS	pGI
Control	Native potato starch	7.52	6.58	85.90	47.53	57.91	20.48	21.62	91.52
Commerical	D-Starch	7.66	19.78	72.56	55.54	47.84	11.74	40.42	79.40
	S-Starch	25.35	21.21	53.44	69.68	42.63	14.63	42.74	76.87
	AD-Starch	32.45	16.27	51.28	72.69	49.00	10.89	40.11	79.42
Acid conc. 10% pH 4.5	CT 150°C-3h	38.75	10.98	50.28	72.56	37.11	12.76	50.13	73.84
	CT 120°C-2h	24.12	15.58	60.29	65.27	35.25	13.57	51.18	73.12
	CT 120°C-1h	20.99	18.09	60.93	64.89	34.89	12.52	52.59	71.21
	SC 150°C-2h	37.72	8.28	54.00	71.63	38.10	9.99	51.91	72.37
	SC 135°C-2h	33.94	14.09	51.97	70.76	34.72	9.28	56.00	70.67
	SC 120°C-2h	11.16	11.83	77.01	54.15	35.56	15.12	49.31	74.26
Temp.: 150°C Time: 3 h	CT 10% pH 3.5	36.52	8.87	54.61	70.76	42.21	9.91	47.88	76.93
	CT 10% pH 4.5	36.46	12.33	51.20	72.19	39.28	12.00	48.72	76.57
	CT 10% pH 5.5	19.24	22.73	58.03	63.57	43.73	12.29	43.97	76.54
	CT 20% pH 3.5	13.95	3.81	82.25	51.75	30.18	9.87	59.95	67.25
	CT 20% pH 4.5	30.23	7.17	62.60	65.07	38.67	12.60	48.73	74.39
	CT 20% pH 5.5	20.32	19.54	60.14	64.11	38.09	14.96	46.95	74.44



천연전분 대비 상업용전분과 제조전분의 호화 전/후 SDS, RS 함량 및 pGI 변화값

	Uncooked (before gelatinization)			Cooked (after gelatinization)		
	SDS	RS	pGI	SDS	RS	pGI
Native	6.58%	85.90%	47.53	20.48%	21.62%	91.52
D-Starch	13.20% ↑	13.34% ↓	8.01 ↑	8.73% ↓	18.80% ↑	12.12 ↓
S-Starch	14.63% ↑	32.46% ↓	22.15 ↑	5.85% ↓	21.12% ↑	14.65 ↓
AD-Starch	9.69% ↑	34.62% ↓	25.16 ↑	9.59% ↓	18.49% ↑	12.10 ↓
CT 20%-pH 3.5	2.77% ↑	3.65% ↓	4.22 ↑	10.60% ↓	38.33% ↑	24.77 ↓

- ① 천연 감자전분은 호화 전 RS 함량이 상당히 높고 pGI 값이 감소했으나, 호화 후에 RS가 RDS로 대부분 전환되며 pGI가 크게 감소하는 경향을 나타냄.
- ② 상업용 전분(D-starch, S-starch, AD-starch) 중 D-starch는 호화 전 RDS 함량이 천연전분과 유사한 정도로 낮고 SDS와 RS 함량은 높게 나타났으나, 호화 후에는 모든 상업용 전분의 소화율 및 pGI값이 천연전분보다는 낮았으나 상업용 전분 간의 유의차는 보이지 않았음.

- ③ 유기산 종류 및 농도, 반응조건(반응온도, 반응시간 및 pH)을 달리하여 제조한 유기산수식변성전분(개발전분)의 *in vitro* 소화율을 분석한 결과, 호화 전에는 모든 유기산수식 전분의 glucose 방출량이 천연 전분에 비해 현저히 낮고 RS 함량이 증가하였으며, pGI값 또한 감소해 본 변성처리 조건이 혈당지연효과를 가지는 것을 확인하였으나, 각 제조조건간의 유의적 차이는 보이지 않았음.
- ④ 상업용 전분과 개발한 변성전분의 호화 후 glucose 방출량을 비교하였을 때 모든 제조조건에서 상업용 전분과 비교해 소화율이 낮게 나타남. 특히 citric acid 농도 20%로 하여 pH 3.5조건으로 제조한 전분의 경우 현저히 낮은 소화율을 나타냄.
- ⑤ 본 개발전분들에서 적용된 변성처리 조건들이 상업용 전분과 비교하여도 상당히 큰 소화지연 효과를 보이는 것을 확인함.

(3) 개발 변성전분 소재들의 *in vitro* 소화율 및 혈당반응(pGI) 분석

(가) 구연산(Citric acid, CA) 변형 조건에 따른 감자전분의 *in vitro* 소화율

- ① Citric acid 변성전분 중 pH 5.5 처리군은 호화 전 SDS 함량이 높게 나타났으나 이는 호화 후 소화율이 크게 증가하였으므로 citric acid 치환으로 인한 소화지연이 아님을 추측할 수 있음.
- ② Citric acid 20%, 30% pH 3.5 처리군에서 호화 전 후 현저히 낮은 소화율을 나타내어 식품에 적용 시 가공처리에도 소화지연 효과를 유지할 수 있는 후보군으로 가능성을 보였음. 특히 citric acid 30% pH 3.5 처리군은 호화 전 천연 감자전분의 RS2보다도 더 강력한 소화지연을 보였음.
- ③ 유기산 첨가 없이 pH만 조절한 전분을 분석한 결과, pH level과 소화율이 경향 없이 나타나 유기산 처리 전분의 소화지연 효과는 산에 의한 가수분해에 의한 결과이기보다 유기산이 전분 사슬에 치환되어 나타나는 결과라고 추측할 수 있음.

(나) 유기산(CA,MA, 및 TA) 종류별에 따른 감자전분의 *in vitro* 소화율

- ① Citric acid, malic acid, 및 tartaric acid 변성전분에서 모든 pH 6.5 처리군은 호화 전 낮은 RDS, 높은 SDS 함량을 가지고 있었으나 호화 후 SDS의 다량 소실, RDS의 급격한 증가로 인해 소화율이 크게 증가함. 이는 pH 6.5처리 시 유기산에 의한 소화지연이 아닌 천연 전분에 존재하는 RS2의 효과로 추측할 수 있음.
- ② 유기산 종류에 따라 citric acid 처리 시 높은 RS함량으로 인해 현저히 낮은 소화율을 나타내었으며, malic acid, tartaric acid는 유사한 소화율을 보이며 citric acid보다는 다소 높은 소화율을 유지함. 하지만, 모든 유기산 처리군은 호화 후에도 천연전분보다 현저히 낮은 소화율을 나타냄으로써 식품에 적용할 경우 가공처리에도 소화지연 효과를 유지할 것으로 기대되어짐.

③ 유기산 농도가 10%에서 30%로 증가하였을 때, citric acid, malic acid, tartaric acid의 RS함량이 현저히 높게 증가하였으며, tartaric acid의 경우 citric acid, malic acid보다 다소 낮은 RS 함량을 가지는 것으로 나타남. 이는 tartaric acid가 전분 사슬에 치환되는 능력이 다른 두 유기산에 비해 떨어진다고 추측할 수 있음. 30% 처리군은 호화 전에도 천연감자전분과 거의 유사하거나 높은 RS, 낮은 소화율을 유지하기 때문에 우수한 소화 억제 효과를 가질 것이라고 예상됨.

(4) 개발 변성전분 소재들의 이화학적 및 구조적 특성

(가) 구연산(Citric acid, CA) 변형 조건에 따른 이화학적 및 구조적 특성

감자전분에 citric acid 함량과 pH level을 달리하여 처리하였을 때, citric acid 함량이 높은 순으로 치환도가 높았으며 또한 pH level이 낮은 순으로 citric acid 치환도가 증가하였음. 또한 pH level이 낮아질수록 결정성을 나타내는 peak의 강도가 전반적으로 약하게 나타남. 열적 특성을 분석한 결과 citric acid 변성전분의 경우 모든 전분의 pH 3.5 전분에서 열적 특성 지표가 관찰되지 않았아 호화현상이 일어나지 않는다는 것을 추측하였음. Pasting 특성 분석 결과 citric acid 변성전분에서는 peak가 관찰되지 않고 점도발달이 극히 미미하게 나타나 호화현상이 거의 일어나지 않는 것을 확인함. 팽윤력을 분석한 결과 같은 citric acid 함량일 때 pH level이 낮을수록 팽윤력이 낮게 나타남.

(나) 유기산(CA,MA, 및 TA) 종류별에 따른 이화학적 및 구조적 특성

감자전분에 유기산 종류(citric acid, malic acid, tartaric acid)와 pH를 달리하여 처리하였을 때, citric acid→malic acid→tartaric acid 순서대로 치환정도가 증가하였으며, pH level이 낮을수록 치환정도가 증가하였음. 또한, pH level이 낮아질수록 결정성을 나타내는 영역의 peak가 약해지며, 치환정도가 높을수록 결정성이 낮아지게 됨. 전분구조의 경우 citric acid와 malic acid는 표면에 큰 손상을 입히지 않았으며, tartaric acid는 다른 두 유기산에 비해 손상이 있었음. 열적특성 결과 모든 pH 3.5 전분에서 열적특성 지표가 관찰되지 않아 호화현상이 일어나지 않는 것이라고 추측하였음. 용해도와 팽윤력에서도 pH 3.5 전분은 용해도와 팽윤력이 낮게 나타났으며, 유기산 치환 정도와 같은 순서로 값이 증가하였음. 또한, 점도에서는 citric acid 변성전분에서 유의적으로 점도 값이 낮게 나왔으며, pH level이 낮을수록 점도발달이 미미하게 나타남. 따라서 pH 3.5에서는 gel 형성이 어려웠으며, pH 3.5를 제외한 gel이 형성된 모든 변성전분 샘플은 천연감자전분보다 높은 겔 경도를 가지며, 그중에서 malic acid에서 유의적으로 높은 gel 경도를 가졌음. 냉-해동 안정성 측정 결과 치환정도가 높았던 citric acid 변성전분이 우수한 동결 용해 안정성을 가지는 것으로 측정되었고, malic acid는 천연감자전분과 유사한 동결 용해 안정성을 가지는 것으로 측정됨.

(5) 변성감자전분의 *in vitro* 장내세균 생육효과 분석을 통한 장기능 개선효과

(가) 구연산 (Citric acid, CA) 함량별에 따른 장기능 개선효과

- ① CA 함량별 전분의 유익균 생육효과를 분석하였을 때 장기간 배양 시 glucose 첨가균은 균수가 급격히 감소하는 것과 달리 변성전분 첨가균은 균수를 유지하는 결과를 보였으며, 변성전분의 citric acid 처리 함량과 균수에는 경향을 보이지 않고 모두 유사하게 나타남.
- ② 유기산 종류별 변성전분의 유익균 생육효과를 분석하였을 때 마찬가지로 장기간 배양 시 glucose와 비교하여 변성전분의 균수 유지효과를 확인하였으며, 이는 전분의 구조가 더 복잡하여 더 천천히 분해되며 균의 먹이로써 오랫동안 작용할 수 있는 것으로 추측됨.
- ③ 대표적 prebiotic 소재인 FOS와 변성전분의 유익균 생육효과를 비교하였을 때 citric acid 처리 변성전분에서도 그와 상당하는 유익균 생육효과를 나타냄을 확인하였음.

(나) 유기산(CA,MA, 및 TA) 종류별에 따른 장기능 개선효과

- ① 유기산 종류에 따라 처리한 변성전분의 유익균 생육효과를 분석하였을 때 장기간 배양 시 glucose 첨가균은 균수가 급격히 감소하는 것과 달리 변성전분 첨가균은 균수를 유지하는 결과를 보였으며, 유기산 처리 변성전분의 종류에 따라 균수를 유지하는 효과가 약간 차이가 있었음. citric acid 첨가균에서 균수 유지에 가장 효과적이었으며, malic acid, tartaric acid 순서로 균수 유지에 효과를 보임. Glucose와 비교하여 변성전분의 구조가 더 복잡하여 더 천천히 분해되기 때문에 균의 먹이로써 오랫동안 작용할 수 있어 균 수 유지에 효과적인 것으로 추측되어지며, citric acid, malic acid, tartaric acid 순서대로 치환 정도가 강하여 균수 유지 효과 또한 치환이 강한 순서와 동일하게 나타난 것으로 사료됨.
- ② Fraction 결과에서도 경향은 동일하였으며, 초기 균수(24h-48h)에서 glucose 균수와 동일하거나 유사한 균수를 가지는 것으로 나타났음. 이는 fraction을 얻는 과정을 거치면서 효소에 의해 전분 입자 표면에 손상이 생겨 균이 starch보다 이용하기 쉬워졌기 때문에 starch 첨가균 결과보다 높은 초기균수를 나타내는 것이라고 추측되어짐.

(6) 동물모델에서 비만/혈당 및 장기능개선 효능검증

- ① 결과적으로 변성전분은 식이섭취량에 영향을 주지 않으며, 체중증가 억제효과가 있는 것으로 나타남. 또한, 체중증가 억제뿐만 아니라 옥수수전분 대조군에 비해 낮은 혈당 수준을 보이며, 시간이 지남에 따라 혈당이 일정하게 유지됨을 알 수 있음. CA30% 전분이 가장 뛰어난 효과를 가지며, 대체량에 따른 차이는 없는 것으로 보임. 따라서 CA30% 전분이 혈당 강하 및 체중 증가 억제에 큰 효과가 있는 것으로 판단됨.

- ② 대조군과 비교하여 CA10-low 군을 제외한 변성전분 투여군에서 변의 수분함량이 증가하였으며, 그 중 CA30 high 군에서 가장 수분함량이 높게 나타남(34.85%). 이는 장에 소화되지 않은 전분 잔여량이 증가해 유익균의 활성을 증가시켜, 장내 수분과 전해질용액의 분비가 자극되어 변의 수분함량이 증가한 것으로 보여짐.
- ③ 변성전분 투여 시 비만 유도군에 비해 분변의 지질 배설량 및 수분함량을 증가시켰으며, 중성 지질함량의 감소를 보였음. 또한, 단쇄지방산의 증가, 유익균의 증가를 확인하였으며, 유해균의 감소를 나타내었음. 그 중에서도 RS함량이 가장 높았던 CA에서 효과적이었으며, 변성전분의 높은 RS함량이 쥐의 장내 환경을 개선하는데 효과가 있음을 명확하게 확인함.

(7) 최종결론

- ① 구연산 (Citric acid, CA) 처리 변성감자전분의 경우, **호화 전 후 현저히 낮은 소화율**을 나타내어 식품에 적용 시 가공처리에 도 소화지연 효과를 유지할 수 있는 후보군으로 가능성을 보였음.
- ② 대표적 prebiotic 소재인 프락토올리고당(FOS)와 변성전분의 유익균 생육효과를 비교하였을 때 구연산 처리 변성전분에서도 그와 상당하는 유익균 생육효과를 나타냄을 확인하였음. 이에 구연산 함량 10~30% 첨가 후 pH를 3.5로 조절하여 제조한 변성전분을 동물실험 효능검증을 위한 유용후보군으로 선정하였음.
- ③ 동물실험 결과, CA30%-고농도 군에서 체중증가 억제효과 및 유의적으로 낮은 혈당수준을 보여 **항비만 및 항당뇨 소재로서의 가능성을 확인**하였음.
- ④ 유기산(Citric acid, Malic acid, Tartaric acid) 종류를 달리하여 제조한 변성전분의 경우, 천연감자전분에 비해 **호화 전 후 현저히 낮은 소화율**을 나타내었으며, Gel 안정성을 보임으로써, 기능이 향상된 고품질 식품의 잠재적인 성분으로 다양하게 사용가능함을 보였음.
- ⑤ 유기산(Citric acid, Malic acid, Tartaric acid) 종류를 달리하여 제조한 변성전분과 균을 함께 장기간 배양할 경우 변성처리 전분이 glucose보다 균 수를 유지하는데 뛰어남을 보였으며, **유익균의 성장을 촉진하여 프리바이오틱 소재로서의 가능성을 확인**하였음.
- ⑥ 동물실험 결과, RS함량이 가장 높았던 CA 군에서 단쇄지방산 증가 및 유익균의 증가를 보여 쥐의 장내 환경 개선에 **가장 높은 효과가 있음을 확인**하였음.

제6절. 연구개발성과

1. 논문게재 성과

번호	논문명	저자명	학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	논문게재일	SCI여부
1	Effect of modified dietary fiber extracted from wholegrain wheat on the physicochemical and cake properties	이광연, 박가화, 이현규	Food Science and Biotechnology	25(2)	국내	2016년 4월	SCI
2	Comparative effects of slowly digestible and resistant starch from rice in high-fat diet-induced obese mice	이광연, 이현규	Food Science and Biotechnology	25(5)	국내	2016년 10월	SCI
3	Broad substrate specificity of a hyperthermophilic α -glucosidase from <i>Pyrobaculum arsenaticum</i>	정중현, 서동호, James F. Holden, 김현석, 백무열, 박천석	Food Science and Biotechnology	25(6)	국내	2016년 12월	SCI
4	Predicting Buckwheat Flavonoids Bioavailability in Different Food Matrices Under In Vitro Simulated Human Digestion	최아사, 배인영, 이현규	Cereal Chemistry	94(2)	국외	2017년 3월	SCI
5	Characterization of amorphous granular starches prepared by high hydrostatic pressure (HHP)	송미라, 최승현, 오선민, 김희윤, 배지은, 박천석, 김병용, 백무열	Food Science and Biotechnology	26(3)	국내	2017년 6월	SCI
6	Characteristics of granular cold-water-soluble potato starch treated with alcohol and alkali	최예진, 백무열, 김병용	Food Science and Biotechnology	26(5)	국내	2017년 10월	SCI
7	Preparation and characterization of amorphous granular potato starches (AGPS) and cross-linked amorphous granular potato starches (CLAGPS)	김희윤, 오선민, 배지은, 염진화, 김병용, 김현석, 백무열	Carbohydrate Polymers	178	국외	2017년 12월	SCI

8	Enzymatin extraction of starch from broken rice using freeze-thaw infusion with food-grade protease	최정민, 박천석, 백무열, 김현석, 최운상, 최현욱, 서동호	Starch-Stärke	70(1-2)	국외	2018년 1월	SCI
9	Effect of different pH conditions on the in vitro digestibility and physicochemical properties of citric acid-treated potato starch	이수윤, 이광연, 이현규	International Journal of Biological Macromolecules	107, Part A	국외	2018년 2월	SCI
10	Starch citrate의 저항전분 함량과 페이스팅 특성에 대한 반응압출성형조건의 영향	김승현, 김현석	산업식품공학	19(3)	국내	2015년 8월	비SCI
11	Starch citrate의 반응성, 저항전분 함량과 페이스팅 점도 특성에 대한 반건조가열 반응조건의 영향	김승현, 김현석	산업식품공학	19(4)	국내	2015년 11월	비SCI
12	Cellulase 계열 효소를 이용한 감자의 전분 추출 효율 증진	서동호, 김미선, 최현욱, 성정민, 최운상, 박천석, 백무열, 김현석	산업식품공학	20(1)	국내	2016년 2월	비SCI
13	에탄올을 활용한 무정형입자감자녹말(amorphous granular potato starch) 제조방법 최적화	김희윤, 김창남, 최성원, 김병용, 백무열	산업식품공학	20(3)	국내	2016년 8월	비SCI
14	식품용 Hemicellulase 계열 효소를 이용한 국내산 감자 가공 부산물의 전분 추출 및 이화학적 특성	최정민, 박천석, 백무열, 김현석, 서동호	산업식품공학	21(3)	국내	2017년 8월	비SCI
15	마(Dioscorea batatas) 전분 추출 및 물리화학적 특성에 대한 전분추출용액의 영향	이현정, 서동호, 김현석	한국 식품과학회지	Accepted	국내	2018년 4월 (게재예정)	비SCI

2. 특허성과

가. 출원특허

번호	특허명	출원인	출원번호	출원일	출원국
1	저온플라즈마를 이용한 다중 카르복시산 에스테르화 전분 이종화합물의 제조방법	안동대학교 산학협력단	10-2015-0134187	2015년 9월 22일	대한민국
2	자외선조사와 유기산의 병행처리를 이용한 고분산성 마 가루 제조방법	안동대학교 산학협력단, 안동마부용 농산영농조합법인	10-2015-0134188	2015년 9월 22일	대한민국
3	에탄올을 이용한 무정형 입자 전분의 제조방법	경희대학교 산학협력단	10-2016-0119452	2016년 9월 19일	대한민국
4	무정형 입자 양성화 전분의 제조방법	경희대학교 산학협력단	10-2017-0141302	2017년 10월 27일	대한민국

나. 등록특허

번호	특허명	등록인	등록번호	등록일	등록국
1	자외선조사와 유기산의 병행처리를 이용한 고분산성 마 가루 제조방법	안동대학교 산학협력단, 안동마부용 농산영농조합법인	10-1578040	2015년 12월 10일	대한민국
2	저온플라즈마를 이용한 다중 카르복시산 에스테르화 전분 이종화합물의 제조방법	안동대학교 산학협력단	10-1697636	2017년 1월 12일	대한민국

3. 기술거래(이전) 성과

번호	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (2017)
1	Know-how 이전	식품첨가물 등급의 효소를 이용한 전분추출 기술	영농조합법인 마을기업 들마실	2017년 2월 15일	2,200천원

4. 사업화성과 및 매출실적

○ 사업화 성과 : 전분제품 2건 사업화(Rheogum GS-P와 Rheogum GS-SP)

항목	세부항목			성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	2,101,000원	
			향후 3년간 매출	-	
		관련제품	개발후 현재까지	-	
			향후 3년간 매출	-	
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %	
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %	
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %	
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %	
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위			위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위			위

5. 학술발표

번호	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	2015년 한국식품과학회 국제학술대회 및 정기총회(Effect of heat-moisture treatment and annealing on the physicochemical characteristics of cereal flours)	이광연, 이현규	2015.06.04.	부산 BEXCO	대한민국
2	2015년 한국식품과학회 국제학술대회 및 정기총회(Heat-moisture treatment of rice flour for the texture-modification of Tofu)	이광연, 이현규	2015.06.04.	부산 BEXCO	대한민국
3	2015 KFN International Symposium and Annual Meeting(Impact of reaction conditions on reactivity, resistant starch content, and pasting viscosity of citrate derivatives of normal and waxy corn starch)	김현석, 백무열	2015.08.24.	알펜시아 컨벤션센터	대한민국
4	2015 KFN International Symposium and Annual Meeting(Impact of particle size distribution on physicochemical properties of citrate derivatives of extruded corn starch)	김현석, 고은솔, 김은정	2015.08.24.	알펜시아 컨벤션센터	대한민국
5	2015 KFN International Symposium and Annual Meeting(쌀가루의 물리화학적 특성에 대한 단백질 함량의 영향)	서주희, 김병용, 김현석	2015.08.24.	알펜시아 컨벤션센터	대한민국
6	2015 KFN International Symposium and Annual Meeting(Impact of the sequence of semi-dry heating reaction and extrusion on reactivity, resistant starch content, and physical property of starch citrate)	김현석, 이현정, 고은솔, 김은정	2015.08.24.	알펜시아 컨벤션센터	대한민국

7	2015 KFN International Symposium and Annual Meeting(Cellulase 계열 효소를 이용한 국내산 감자와 고구마의 전분 추출효율 증진)	최현욱, 김미선, 성정민, 최윤상, 박종대, 금준석, 서동호	2015.08.25.	알펜시아 컨벤션센터	대한민국
8	2015 KFN International Symposium and Annual Meeting(Neisseria polysaccharea 유래 amylosucrase를 이용한 변성전분 제조 및 이의 특성)	서동호, 이예지, 백무열, 최현욱, 금준석, 박천석	2015.08.25.	알펜시아 컨벤션센터	대한민국
9	2015 KFN International Symposium and Annual Meeting(Deinococcus geothermalis 유래 amylosucrase를 이용한 변성 밤 전분 제조 및 이의 특성)	서동호, 김미선, 이예지, 백무열, 최현욱, 금준석, 박천석	2015.08.25.	알펜시아 컨벤션센터	대한민국
10	2015 International symposium for fall meeting of Korean society for food engineering & 20th anniversary of ILSI Korea(Retrogradation kinetics of chestnut starches cultivated in three regions of Korea)	오선민, 김창남, 최성원, 김병용, 백무열	2015.11.12.	제주도	대한민국
11	2015 International symposium for fall meeting of Korean society for food engineering & 20th anniversary of ILSI Korea(Physicochemical properties of NaOH treated potato starch)	최예진, 백무열, 김현석, 김병용	2015.11.12.	제주도	대한민국
12	2015 International symposium for fall meeting of Korean society for food engineering & 20th anniversary of ILSI Korea(감자녹말을 이용하여 제조한 냉수용해녹말과 무정형입자녹말의 물리화학적 특성)	김희윤, 최성원, 김창남, 김병용, 백무열	2015.11.12.	제주도	대한민국
13	The 6th International Conference on Food Factors (ICoFF 2015) (Effect of hydrothermal treatment of cereal flour on the physicochemical characteristics of Tofu)	이광연, 이현규	2015.11.23.	서울 COEX	대한민국
14	2016 (사)한국산업식품공학회 춘계 학술대회 및 심포지엄(Annealing 처리한 무정형전분의 물리화학적 특성)	염진화, 최성원, 김창남, 김병용, 백무열	2016.04.29.	경희대학교 국제캠퍼스	대한민국
15	2016 (사)한국산업식품공학회 춘계 학술대회 및 심포지엄(에탄올을 활용한 무정형입자 감자녹말제조방법 최적화)	김희윤, 최성원, 김창남, 김병용, 백무열	2016.04.29.	경희대학교 국제캠퍼스	대한민국
16	2016 (사)한국산업식품공학회 춘계 학술대회 및 심포지엄(안동마로부터 전분 추출 및 특성 규명)	정길영, 유화성, 정구민, 김현석	2016.04.29.	경희대학교 국제캠퍼스	대한민국
17	2016 European Congress on Biotechnology (Reaction temperature effect of enzymatically modified starches with amylosucrase from <i>Deinococcus geothermalis</i>)	서동호, 김현석, 백무열, 박천석	2016.07.05.	Krakow	Poland
18	2016 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting (Characterization of untreated and baked mixtures of potato starch and anionic gum by dough mixing with hot water)	김현석, 박윤문, 정구민, 고은솔	2016.08.17.	대구EXCO	대한민국
19	2016 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting (Effect of dielectric barrier discharge (DBD) low-temperature plasma on the sulfation of corn starch with sulfate salts)	김현석, 정길영, 정구민, 고은솔	2016.08.17.	대구EXCO	대한민국
20	2016 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting (Enzymatic extraction of starch in broken rice by freeze-thaw infusion)	최정민, 박천석, 백무열, 김현석, 서동호	2016.08.18.	대구EXCO	대한민국

21	2016 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting (Enzymatic modification and characterization of potato starches by dual enzyme system)	이예지, 박천석, 서동호, 정종현, 정동현	2016.08.18.	대구EXCO	대한민국
22	2016 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting (Physicochemical properties of amorphous granular potato starch (AGPS) prepared by alcohol and heat treatments)	김희윤, 김창남, 최성원, 김병용, 백무열	2016.08.17.	대구EXCO	대한민국
23	2016 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting (Effect of annealing on physicochemical properties of amorphous granular potato starch (AGPS))	염진화, 김창남, 최성원, 김병용, 백무열	2016.08.17.	대구EXCO	대한민국
24	2016 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting (Effect of different pH conditions on the physicochemical properties and in vitro digestibility of citric acid treated potato starch)	이광연, 이수윤, 이현규	2016.08.18.	대구EXCO	대한민국
25	2016 IUFoST Meeting (Physicochemical properties of enzymatically modified waxy rice starch treated by with amylosucrase from <i>Deinococcus geothermalis</i>)	서동호, 김현석, 박천석	2016.08.23.	Dublin	Ireland
26	한국산업식품공학회 2016년도 창립 20주년 기념 추계 학술대회 및 심포지엄(전분-음이온성 검 혼합물의 유변학적 특성에 대한 건열처리의 효과)	정길영, 고은솔, 김현석	2016.10.06.	강릉 라카이 샌드파인리조트	대한민국
27	한국산업식품공학회 2016년도 창립 20주년 기념 추계 학술대회 및 심포지엄(Rheological behavior of cold water soluble potato starch treated with alcohol-alkali)	최예진, 김현석, 백무열, 김병용	2016.10.06.	강릉 라카이 샌드파인리조트	대한민국
28	2017 (사)한국산업식품공학회 춘계 학술대회 및 심포지엄 (열수처리 무정형감자입자전분의 물리화학적 특성)	염진화, 김희윤, 최성원, 김창남, 김병용, 백무열	2017.04.21.	서울대학교	대한민국
29	2017 KoSFoST The role of food scientists & food industries for food security (Preparation and characterization of new granular potato starch with A-type crystalline structure)	염진화, 김희윤, 최성원, 김창남, 김병용, 백무열	2017.06.22.	제주 ICC	대한민국
30	2017 KoSFoST The role of food scientists & food industries for food security (Study on amorphous granular potato starches and cross-linked amorphous granular potato starches)	김희윤, 예상진, 김창남, 최성원, 백무열	2017.06.22.	제주 ICC	대한민국
31	2017 KoSFoST The role of food scientists & food industries for food security (Dietary citrate starch reduces blood glucose and adiposity in obese-induced mice)	이광연, 이수윤, 이현규	2017.06.22	제주 ICC	대한민국
32	2017 KoSFoST The role of food scientists & food industries for food security (Influence of citrate potato starch on <i>in vitro</i> digestibility and physicochemical properties of cookies)	이광연, 이수윤, 이현규	2017.06.22	제주 ICC	대한민국
33	2017 KoSFoST The role of food scientists & food industries for food security (Comparative effects of citric acid, malic acid, and tartaric acid on the <i>in vitro</i> digestibility and physicochemical properties of potato starch at different pH)	이광연, 유수진, 이현규	2017.06.22	제주 ICC	대한민국

34	2017 KoSFoST The role of food scientists & food industries for food security (Enzymatic extraction of starch from frozen whole-tissue of sweet potato)	김현석, 이현정, 김재현, 서동호	2017.06.22	제주 ICC	대한민국
35	2017 IFT17 (Physicochemical properties of amorphous granular potato starch (AGPS))	김희운, 최성원, 백무열	2017.06.26.	라스베가스	미국
36	2017 IFT17 (Annealing of amorphous granular potato starch (AGPS))	염진화, 김우기, 백무열, 김병용	2017.06.28.	라스베가스	미국
37	2017 KoSFoST The role of food scientists & food industries for food security (Effects of food-grade protease on the extraction of starch from rice flour)	김현석, 오지원, 서동호	2017.06.22	제주 ICC	대한민국
38	한국산업식품공학회 2017년도 추계 학술대회 및 심포지엄(셀룰로오스분해효소 처리를 통해 제조된 고구마전분의 물리화학적 특성)	오지원, 이현정, 서동호, 김현석	2017.11.02.	강릉 라카이 샌드파인리조트	대한민국
39	한국산업식품공학회 2017년도 추계 학술대회 및 심포지엄(단백질분해효소 처리를 통해 제조된 쌀전분의 물리화학적 특성)	오지원, 이현정, 서동호, 김현석	2017.11.02.	강릉 라카이 샌드파인리조트	대한민국
40	한국산업식품공학회 2017년도 추계 학술대회 및 심포지엄(셀룰로오스분해효소 처리를 통해 제조된 감자전분의 물리화학적 특성)	김재현, 서동호, 김현석	2017.11.02.	강릉 라카이 샌드파인리조트	대한민국
41	2017 KFN International Symposium and Annual Meeting (Development and characterization of macrogranular, dehydrated potato materials through isolating individual parenchyma cells from potato whole-tissues)	김현석	2017.11.09.	경주화백 컨벤션센터	대한민국

6. 연구인력양성 성과

번호	분류	기준 년도	현 황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1	전문연구인력 (배지은)	2016		1				1	1					
2	전문연구인력 (최종현)	2016		1			1		1					
3	전문연구인력 (현주환)	2016		1			1		1					
4	전문연구인력 (정길영)	2017		1			1				1			
5	전문연구인력 (오선민)	2017		1				1	1					
6	전문연구인력 (이수윤)	2017		1				1	1					
7	전문연구인력 (최예진)	2017		1				1	1					
8	전문연구인력 (김희운)	2017		1			1		1					

7. 기타(시제품 제작) 성과

번호	시제품명	시제품 유형	제작일	제작업체명	시제품원료	제작방식
1	안동산마전분	생전분	2016.09.	안동마부용농산 영농조합법인	안동산마 (가공용)	외주가공 (들마실)
2	안동감자전분	생전분	2016.09.	안동마부용농산 영농조합법인	안동감자 (비상품용)	외주가공 (들마실)
3	HP감자전분	변성전분	2016.04.	원영산업(주)	생감자전분 (국내산 감자 100%)	자체제작
4	HP고구마전분	변성전분	2016.04.	원영산업(주)	생고구마전분 (국내산 고구마 100%)	자체제작
5	CM감자전분	변성전분	2016.08.	원영산업(주)	생감자전분 (국내산 감자 100%)	자체제작
6	CM고구마전분	변성전분	2016.08.	원영산업(주)	생고구마전분 (국내산 고구마 100%)	자체제작
7	텍스트린	변성전분	2017.08.	원영산업(주)	참살전분	자체제작
8	난소화성 텍스트린	변성전분	2017.09.	원영산업(주)	감자전분	자체제작
9	효소처리 감자전분	생전분	2017.10.	농업회사법인(주)부용농산	비상품성 감자	외주가공 (들마실)
10	효소처리 고구마전분	생전분	2017.11.	농업회사법인(주)부용농산	비상품성 고구마	외주가공 (들마실)

제4장. 목표달성도 및 관련분야 기여도

		코드번호	D-06
제1절. 목표달성도			
구분	세부연구개발 목표	달성도	
1차년도 (2014년)	▪ 동적건식반응공정을 이용한 지소화성 및 난소화성 유기산 수식 전분 개발 및 대량생산 기반 구축	100%	
	▪ 당전이 효소를 이용한 전분의 생물전환반응기법 개발 및 이를 활용한 기능성 전분 소재 개발	100%	
	▪ 국내 농산작물로부터 추출·정제된 전분으로부터 무정형전분 입자 개발	100%	
	▪ 국내산 곡류 및 서류를 이용한 고효율 및 고수율 전분 추출·정제법 구축 및 소재화	100%	
	▪ 국내산 농산물 유래 전분들의 식품용 및 산업용 전분 소재화 가능성 탐색	100%	
	▪ 개발된 전분소재들의 항비만/혈당/장기능 개선 효능의 in vitro 평가	100%	
2차년도 (2015년)	▪ UV 및 콜드플라즈마 건식반응공정 설계 및 이를 활용한 하이드로콜로이드 수식 전분 개발	100%	
	▪ Sucrose phosphorylase 및 기타 탄수화물 활성효소를 이용한 기능성 전분 소재 개발	100%	
	▪ 무정형전분입자의 지소화성 향상을 위한 물리적 처리공정 개발 및 물리적 기능성 검증	100%	
	▪ 국내 농산물(곡류 및 서류) 가공부산물을 이용한 전분 추출·정제법 구축 및 소재화	100%	
	▪ 진공가열반응공정에 의한 지소화성/난소화성 유기산 수식 전분 대량생산 기반 구축	100%	
	▪ 동물모델을 이용한 개발된 전분소재들의 항비만/혈당/장기능 개선 효능평가	100%	
3차년도 (2016년)	▪ 개발된 전분소재들과 기존 화학적 변성전분들의 물리적 기능성 비교연구	100%	
	▪ 생물전환기술에 의한 특용작물 가공부산물(홍삼박, 마박)으로부터 전분성 물질의 소재화 기술 개발	100%	
	▪ 무정형전분입자 및 생물전환 전분소재들과 기존 물리적 변성전분들의 물리적 기능성 비교 연구	100%	
	▪ 개발된 천연전분 소재들의 대량생산 공정 최적화 및 시제품 생산	100%	
	▪ 가압가열반응공정에 의한 지소화성 무정형전분입자의 대량생산 기반 구축	100%	
	▪ 동물모델을 이용한 개발된 전분소재들의 항비만/혈당/장기능 개선 효능평가	100%	

제2절. 관련분야 기여도

- 곡류 및 서류 가공 부산물에서의 전분 추출·정제 기술을 통하여 다양한 국내 전분질 식물 자원 가공 부산물에서의 전분 추출 기술을 창출에 기여
- 효소 및 미생물을 이용한 생물전환 기술을 이용한 기능성 전분소재 생산 신기술을 창출에 기여
- 전분이 사용되는 다양한 산업(식품, 제지, 화장품, 의약품등)에서 생물전환 전분소재 응용 기술이 창출에 기여
- 다양한 탄수화물 활성 효소 및 미생물 활용을 통한 국내 생물전환 기술의 발전에 기여
- 체내에서의 효율을 검증하는 방법을 *in vitro* 상에서 재현할 수 있는 연구방법론적 접근법의 확립으로 인한 관련 분야 연구의 활성화에 기여
- 국내 농산물 유래 소재들의 유래 기능성 소재로서의 생리적 효능 평가를 위한 기술의 확립에 기여
- 국내 농산물 및 농산 가공부산물에서의 전분 추출·정제 기술은 국내 전분 산업 발전 및 전분 가격 안정에 기여하며, 이는 국내 물가 안정에 크게 기여
- 국내 농산물 및 특용자원의 생물전환 공정을 개발을 통하여 국내 농산물 및 특용작물의 부가가치 상승 및 수입대체 효과로 인한 경제적, 산업적 경쟁력 증진 및 발전에 기여
- 생물전환 전분의 식, 의약품용 기능성 소재 개발을 통하여 국내 전분 소재산업의 국제경쟁력 향상에 기여
- 유기산 및 하이드로콜로이드 전분 소재들의 기존의 화학적 변성전분 소재들의 대체로 이들의 수입에 따르는 국부유출을 저감에 기여
- 국내 농산물 유래 건강기능성식품 소재의 산업화에 의한 최근 발생하고 있는 항비만/혈당/장기능 질환발생의 의료비용 감소에 기여
- 전분소재의 항비만/혈당/장기능 효능 증대 기술을 확보하여 세계시장 진출에 기여

제5장. 연구결과의 활용계획

코드번호

D-07

제1절. 연구결과 및 연구성과의 활용계획

- 본 연구개발을 통해 얻은 연구결과들은 SCI급 및 비SCI급 논문들의 게재에 활용할 것이다.
- 본 연구개발을 통해 얻은 연구결과들과 특허성과는 Know-how 이전 및 특허이전 등의 추가적인 기술이전을 위해 활용할 계획이다.
- 본 연구개발의 참여기업들의 개발한 제품에 대한 과학적인 근거의 제공, 제품의 품질규격서 작성, 개발제품의 특성 개선에 대한 근거로 활용될 것이다.
- 본 연구개발 수행으로부터 얻어진 전분소재 추출·정제기술, 효소적, 물리적, 화학적 변성전분 제조기술 및 이를 통해 얻어진 전분소재들을 신규 제품화 및 산업화 연구과제들의 수주에 활용할 계획이다.

제2절. 추가 연구의 필요성 및 계획

1. 추가 연구의 필요성

- 본 연구개발에서 국내 농산물로부터 제조된 생전분들을 활용하여 다양한 식품용 및 산업용 전분소재들의 제조기술을 개발하였다. 또한 이들을 활용한 다양한 전분소재들을 제조하고 특성평가를 통해 기존의 상업적인 식품용 및 산업용 전분소재들을 대체할 수 있는 전분소재들을 개발하였다.
- 전분소재를 원료 및 첨가물로 사용하고 있는 식품관련 업체들은 새로운 전분소재들을 그들이 생산하고 있는 제품들에 적용할 때 발생할 수 있는 공정상의 문제점 및 제품의 최종품질 변화로 인한 손실에 민감하여 기존에 사용하고 있는 전분소재 이외의 생전분 및 변성전분을 사용하려하지 않으려 한다.
- 또한 변성전분을 활용하는 비식품산업체들에서는 대부분 옥수수전분에 기반한 변성전분을 사용하고 있으며, 이 변성전분의 사용에 따라 생산공정을 최적화하고 있다. 그래서 기존에 사용하고 있는 변성전분 이외의 전분소재를 사용하려 할 경우에는 생산공정 적합성에 대한 조사를 수행하여야 하며, 심지어는 기존 생산공정을 조정하거나 변형시켜야 하기 때문에 특성이 우수하여도 새로운 형태의 변성전분의 사용을 꺼리고 있다.

- 결과적으로 본 연구개발을 통해 개발된 다양한 생전분과 변성전분 소재들의 산업적 활용도를 높이기 위해서는 기존에 식품 및 비식품 산업체에서 사용하고 있는 전분소재들과 개발된 전분소재들이 차이를 보이지 않으며, 기존 생산제품들에 적용하여도 공정을 변형하거나 생산제품의 최종제품에 영향을 미치지 않는다는 연구결과를 함께 제공할 필요가 있다.
- 한편 본 연구개발을 수행하는 동안 전분산업에 있어 “클린라벨(clean label)” 전분소재가 대두되어 국외의 다국적 식품원료업체들인 Tate & Lyle, Ingredion, Cargill 등에서 이를 개발하여 지속적으로 상업화되었다. 클린라벨 전분소재는 증점제 및 안정제로 사용되는 기존의 화학적 변성전분들을 빠르게 대체하고 있는 실정이다. 그러나 국내에서는 지금까지도 클린라벨 전분소재에 대한 대책이 없는 상황이며, 2017년 중반에서야 국내의 주요 전분소재 제조업체들에서 클린라벨 전분소재에 대한 대응책을 모색하기 시작하였다.
- 따라서 본 연구개발에서 개발된 전분소재 관련 제조기술 및 소재들의 수입대체 효과 및 산업적 활용도 극대화를 위해서는 전 세계적인 전분산업 동향에 맞춰 클린라벨 전분소재를 개발 및 특성평가에 대한 연구개발이 시급한 실정이다.

2. 추가 연구 계획

- 전분소재를 원료 및 첨가물로 활용하여 제조되는 기존 제품들에 대한 본 연구개발로부터 얻어진 전분소재들의 적용가능성 및 활용가능성에 대한 연구
- 기존의 산업용 전분소재들을 대체하기 위해 산업용 제품에 대한 적용가능성 및 공정적합성에 대한 연구 및 데이터 확보 연구
- 클린라벨 전분소재 개발 및 활용에 대한 전 세계적인 식품산업 트렌드에 맞는 전분소재의 개발 및 기존 화학적 변성전분의 대체가능성에 대한 연구

제6장. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

코드번호

D-08

○ 클린라벨 전분소재에 대한 정보 수집

- 클린라벨 식품원료의 연구개발 및 산업화 동향에 대한 정보를 수집하였음.

Clean Label: A Shifting Global Trend

According to Innova Market Insights, the “clean label” trend definition has officially shifted to “clear label.” However, Innova’s Head of Research, Lu Ann Williams, wonders if it has evolved even further. “Maybe it’s ‘clean conscience’ or ‘clear conscience.’ It’s about wanting to feel good about what we eat,” she said during her presentation, “The Global Clean Label Phenomena: Trends, Insights & Implications.”

Innova’s latest data shows that consumers believe clean label means no preservatives (49%), no artificial flavors (47%), no artificial colors (39%) and no artificial sweeteners (35%). But this is only a narrow part of the consumer mindset, Williams said.

Consumers are demanding more clarity, in general. Looking around the globe, it’s easy to see what’s to come. As of April 2015, meat providers in Europe have to indicate the animal’s country of rearing and slaughter. In Australia, there’s a proposal to clear confusion on labels that would require a product with more than 50% imported ingredients to be labeled “made in Australia with mostly imported ingredients.”

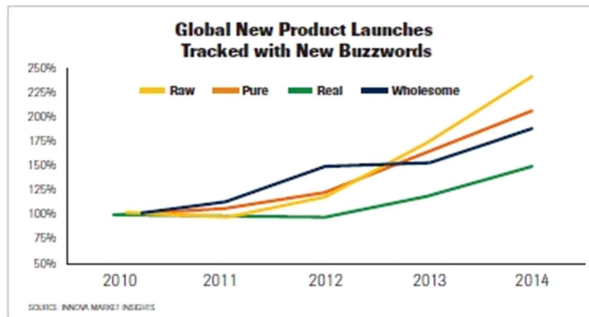
“This isn’t happening here [in the U.S.] yet,” Williams noted, “but it is coming.”

Though not a new trend, brevity and understandability of ingredient labels are still paramount. A growing number of consumers find it important to recognize most of the names on ingredient lists, with Australia (71%), UK and France (68%), and China (65%) leading the charge, and the U.S. (37%) catching up.

In terms of verbiage, a few buzzwords in particular have made big gains in recent years. Innova tracked global new product launches (NPL) that used the terms “real,” “wholesome,” “pure” and “raw” from 2010-2014. Instances of “real” and “wholesome” have risen 52 and 88%, while “pure” and “raw” went up 106 and 141%, respectively.

“Naturally sweet” and “naturally occurring sugars” are growing, as well, with global NPLs in this arena increasing by 145% from 2010-2014. Examples include candy products using “real fruit” claims and soft drinks like Pepsi—which re-launched in June 2014 using prominent “made with real sugar” labels.

Similarly, the “superfood” label claim continues to grow, especially in cereals, where NPL instances saw 372% growth since 2009. A few other terms of interest are paleo, for unprocessed foods; and cold-pressed, for juices and veggie drinks. “Paleo” was mentioned five times more on NPLs in 2014 than 2013, and “cold-pressed” appeared four times as often in 2014 compared to 2010.



A growing number of consumers are interested in animal welfare and additives. More than half of Europeans reported the claims “GMO-free” and “grown without pesticides” as very important when they shop. Natural coloring is another area that’s of increasing interest, and it will become a new standard, Williams said.

The penetration of all food products with natural colors has gone from 14.5% in 2010 to 17% in 2014 globally, while artificially colored products slid to just 3.9% in 2014. Preservative- and additive-free labels are likewise becoming an industry standard, Williams added, with many new products placing the claim on the front of the label. This is especially popular in baby foods and soups, as more than a third of them had “no additives/preservatives” claims on their labels in 2014 (39 and 33%, respectively).

“The rules are shifting, so it’s a very interesting time—but also very challenging for the industry to adapt to changing consumer demands,” she said.

Lu Ann Williams, Head of Research, Innova Market Insights, luann@innovami.com, +31.26.319.2000, innovadatabase.com

Defining a Trend, Then Regulating and Enforcing It

Catherine Adams Hutt, Ph.D., RD, CFS, Principal at RdR Solutions, and Chief Science & Regulatory Officer at Sloan Trends, sorted through the current state of various industry terminology in her presentation “Coming Clean: What Clean Label Means for Consumers and Industry.”

Starting with “clean label,” Adams Hutt stated simply that there currently is no regulatory or legal definition, nor are there enforcement concerns.

“The term is defined by the consumers and stakeholders,” she said, citing retailers, like Whole Foods, Safeway, Trader Joe’s and Kroger, which all have concrete definitions. Groups like

- 현재 식품산업의 전 세계적인 트렌드인 “클린라벨(Clean Label)” 식품원료 및 이를 활용한 가공식품에 대한 정보들 중 클린라벨 전분소재들에 대한 정보를 수집하였다. 수집된 자료는 다국적 식품원료 기업이면서 전 세계 전분소재 시장을 대부분 점유하고 있는 Ingredion사와 Tate & Lyle사들이 “2015 Clean Label Conference”에서 보고한 것들이다.

TATE & LYLE

2015 Clean Label Conference
CLARIA® Functional Clean-Label Starches

Wednesday April 1, 2015

Frank Truong
 Sales Manager - New Business Development
 Specialty Food Ingredients, North America
frank.truong@tateandlyle.com
 Cell (217) 521 – 7958
www.clariastarch.com

claria
 Functional Clean-Label Starches

© Tate & Lyle 2015

〈Tate & Lyle사에서 개발하여 출시한 클린라벨 전분소재(claria) 자료〉

NOVATION®

A range of **functional native** starches



<p>Functional:</p> <p>Thicken & stabilize foods</p> <p>Processing tolerance & shelf-life stability comparable to chemically modified starches</p> <p>No compromise for the manufacturer</p>	<p>Native:</p> <p>Clean labelling, according to base description (e.g., corn starch, potato starch, rice starch, tapioca starch)</p> <p>Classified as ingredients not additives. Carry no E number in Europe</p> <p>Enable clean label front of pack claims such as “additive-free”, “simple”, “non-GMO” and “organic”</p>
--	---

Ingredion

Copyright © 2015 Ingredion Incorporated

〈Ingredion사에서 개발하여 출시한 클린라벨 전분소재(NOVIATION) 자료〉

- 클린라벨 전분소재 개발과 관련된 특허정보를 수집하였다.

<p>(19) </p>	
<p>(11) EP 1 664 126 B2</p>	
<p>(12) NEW EUROPEAN PATENT SPECIFICATION After opposition procedure</p>	
<p>(45) Date of publication and mention of the opposition decision: 18.09.2013 Bulletin 2013/38</p>	<p>(51) Int Cl.: C08B 31/18^(2006.01) A23L 1/0522^(2006.01)</p>
<p>(45) Mention of the grant of the patent: 13.01.2010 Bulletin 2010/02</p>	<p>(86) International application number: PCT/EP2004/010264</p>
<p>(21) Application number: 04765178.1</p>	<p>(87) International publication number: WO 2005/026212 (24.03.2005 Gazette 2005/12)</p>
<p>(22) Date of filing: 14.09.2004</p>	
<p>(54) CLEAN LABEL STABILISED STARCH WITH IMPROVED ORGANOLEPTIC PROPERTIES STABILISIERTE CLEAN-LABEL-STÄRKE MIT VERBESSERTEN ORGANOLEPTISCHEN EIGENSCHAFTEN AMIDON A VISCOSITE STABLE AYANT DES PROPRIETES ORGANOLEPTIQUES AMELIOREES</p>	
<p>(84) Designated Contracting States: AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LI LU MC NL PL PT RO SE SI SK TR</p>	<p>(74) Representative: Wilkinson, Stephen John Stevens, Hewlett & Perkins 1 St. Augustine's Place Bristol BS1 4UD (GB)</p>
<p>(30) Priority: 15.09.2003 EP 03255749</p>	<p>(56) References cited: EP-A- 0 823 439 WO-A-99/00425 JP-A- H11 115 US-A- 3 463 668 US-A- 3 607 393 US-A- 4 072 535 US-A- 4 368 212 US-A- 4 369 308 US-A- 5 342 932 US-A- 5 385 608 US-4- 5 192 576</p>
<p>(43) Date of publication of application: 07.06.2006 Bulletin 2006/23</p>	<ul style="list-style-type: none"> • SEGUCHIM: "OIL BINDING CAPACITY OF PRIME STARCH FROM CHLORINATED WHEAT FLOUR" CEREAL CHEMISTRY, vol. 61, no. 3, 1984, pages 241-244, XP009025938 ISSN: 0009-0352 • RUSSELL P LET AL: "A STUDY BY ESCA OF THE SURFACE OF NATIVE AND CHLORINE-TREATED WHEAT STARCH GRANULES THE EFFECTS OF VARIOUS SURFACE TREATMENTS" JOURNAL OF CEREAL SCIENCE, vol. 5, no. 1, 1987, pages 83-100, XP009025922 ISSN: 0733-5210
<p>(73) Proprietor: Cargill, Incorporated Wayzata, Minnesota 55391 (US)</p>	
<p>(72) Inventors: • VEELAERT, Sarah NL-4617 GA Bergen op Zoom (NL) • VANHEMELRIJCK, Jozef, Guido, Roza B-1860 Meise (BE) • FONTEYN, Dirk B-22820 Bonheiden (BE) • VEESAERT, Roger, Kamiel, Casimir B-9981 Sint Laureins (BE) • WALHOUT, Elizabeth, Adriana NL-4542 NS Hoek (NL)</p>	
<p>EP 1 664 126 B2</p>	
<p>Printed by Jouve, 75001 PARIS (FR)</p>	

<클린라벨 전분소재 개발과 관련된 해외 특허자료>

제7장. 연구개발결과의 보안등급

코드번호

D-09

○ 보안등급 : 일반

제8장. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	코드번호		D-10	
					구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호
해당없음								

제9장. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

코드번호	D-11
------	------

□ 경기대학교 산학협력단(주관연구기관)

1. 연구실 안전 점검 체계 및 실시(2017년 완료)

가. 실험실 안전 점검 체계

- 위험등급별로 환경안전점검을 단계별로 체계화하여 관리
- 관리위험등급의 지정
 - A등급 : 가연성가스, 인화성 시약, 유해화학물질, 다량의 폐액배출, 독극물, 생물 및 동물, 방사성 동위원소, 위험성이 높은 기계장비가 설치된 실험실
 - B등급 : 일반시약, 소규모 인화성 시약, 불연성가스, 소량의 폐수발생실험(본 과제 실험실)
 - C등급 : 이화학실험을 수행하지 않는 전기, 설계, 컴퓨터 관련 실험실

나. 실험실 정밀안전진단 실시

- 대상 : 연구개발활동에 유해화학물질 관리법 제2조 7호에 따른 유해화학물질을 취급하는 연구실, 산업안전보건법 제39조에 따른 유해인자를 취급하는 연구실, 과학기술부령이 정하는 독성가스를 취급하는 연구실
- 실시 : 2년마다 1회 실시하여 교육과학기술부에 보고

2. 교육 훈련(2017년 완료)

- 개요 : 실험실의 안전을 확보하고 종사자의 건강을 보호하여 실험 및 연구활동에 기여하고, 또한 연구실 안전환경조성에 관한 법률에 의거하여 실험실의 환경안전교육이 의무됨에 따라 이공계열 대학원생 및 관련자 전원은 환경안전교육을 의무적으로 수강
- 교육대상 : 교수, 대학원생, 실험조교, 전문직원, 소속연구원, 실험참여 학부생 및 업체직원 등
- 단계별 교육 이수과정 :
 - 1단계 : 공통이수과목(등록실험실전체)
 - 2단계 : 특수실험실
- 교육구분
 - 정기교육 : 방학기간 중 2회 출석 수업 실시
 - 비정기 임시교육 :

- 대상 : 새로운 실험과정의 신설시, 연구소의 신설시, 교육 미 이수자(신입 대학원생, 전담직원, 연구원, 업체직원, 유해물질 취급자 등)
- 방법 : 사이버 교육 환경안전교육 등(홈페이지 개설 동영상교육), 자료/유인물, 외부 온라인상, 외부강사, 전문교육기관의뢰 등
- 특별교육: 해당기관에서 자체 또는 외부의 전문기관에 의뢰하여 위탁교육 실시

3. 추가 이행 사항

1) 실험종사자 건강검진 및 보험 추가가입	1. 건강검진(특수실험실) (완료) 2. 상해보험추가가입검토(특수실험실) (완료)
2) 실험실 공기질 관리, 환기	유해물질농도 측정관리, 환기대책수립(완료)
3) 실험실 환경개선공사	노후 실험실 개선공사 시행(대학에 개선 건의 중)
4) 특수위험 실험실에 별도의 소화설비 설치	위험성이 큰 실험실에 별도의 특수소화 설비를 설치하여 사고 확산을 예방(완료)
5) 유기용매 보관시설 설치 및 액체질소 통합관리	1. 보관창고를 설치 통합관리(대체 cabinet 설치) 완료 2. 액체질소를 시약센터에서 통합관리 완료
6) 실험실 환경안전지침 작성	보완작성(완료)
7) 고압가스 안전관리	안전시설 설치(완료)
8) 안전보호장비 시설 보완	안전보호장비와 안전표지 설치(완료)

□ 경희대학교 산학협력단(제1협동연구기관 및 제2협동연구기관)

1. 안전

가. 실험실 안전 점검 체계

단 계	1단계	2단계	3단계
기 관	본 연구실	경희대학교 생명과학대학	경희대학교 국제캠퍼스 사무처 관리팀
점검기준	매일 1회	분기 1회	분기 1회

나. 실험실 정밀안전진단 실시(2017년 완료)

- 연구개발활동에 유해화학물질 관리법 제2조 7호, 산업안전보건법 제39조, 과학기술부령에 의해서 본 극한 미생물 및 유전자 은행이 설치되는 경희대학교에서는 교내 연구실 전체를 대상으로 매년 정밀안전진단을 수행하여 이를 교육과학기술부에 보고
 - 1) 연구활동종사자 안전교육 실시
 - 2) 점검결과 제작 배포
 - 3) 정밀안전진단 지적사항 보수 - 지속사업
 - 4) 가스, 화공, 소방, 전기, 기계, 산업위생 등 6개 안전점검 실시
 - 5) 대형사고(폭발 및 화재 등) 발생위험 인자 점검
 - 6) 각 연구실의 안전시설 의 관리상태 점검
 - 7) 첨단 장비 및 프로그램을 활용하여 연구실 환경 측정
 - 8) 각 연구실별 안전등급 부여 및 비교 평가
 - 9) 연구실 가스시설에 대한 차별화된 진단으로 안전성 확보
 - 10) 기타 안전상 필요한 사항

2. 교육 훈련(2017년 완료)

가. 개요

- 경희대학교에서는 연구실 안전환경 조성에 관한 법률 제18조, 동법 시행령 제17조 및 동법 시행규칙 제9조에 의거하여 이공계열 대학원생 및 관련자 전원은 환경안전교육을 의무적으로 수강

나. 교육대상

- 대학-연구기관 등에서 과학기술분야 연구개발활동에 종사하는 연구원/대학생/대학원생 및 연구보조원 등 연구활동종사자

다. 안전교육 실시방법 :

- 사이버안전교육 : 연구실안전관리시스템에서 제공하는 사이버안전교육
- 자체안전교육 : 연구실실험실에서 자체적으로 실시하는 교육으로, 실시 후 『안전교육일지』를 연구실안전관리시스템에 등록 후 수행

라. 안전교육·훈련의 시간 및 교육인정기간

• 안전교육시간

교육과정	교육대상	교육시간
정기 교육·훈련	연구활동 종사자	반기별 6시간 이상
신규채용 등에 따른 교육·훈련	신규채용 된 연구활동 종사자(계약직 포함)	8시간 이상
	대학·연구기관 등에서 채용된 자 외의 자로서 신규로 연구개발활동에 참여하는 연구활동종사자(대학생·대학원생 등)	2시간 이상
특별안전교육	중대 연구실 사고 발생 및 연구내용 변경 등의 경우 연구주체의 창이 필요하다고 인정하는 연구활동 종사자	2시간 이상

- 교육인정기간 : 이수증의 유효기간 동안 (전반기 3~8월, 하반기 9~2월)

라. 교육인정 요건제시

- 정기 교육-훈련은 사이버안전교육과 자체안전교육을 병행할 수 있으며, 총 교육시간이 반기별 6시간 이상이어야 함.
 - 교육인정 예시1) 사이버안전교육 4시간, 자체안전교육 2시간
 - 교육인정 예시2) 사이버안전교육 2시간, 자체안전교육 4시간
- ※ 자체안전교육 수강 시 평가과정이 생략될 수 있습니다.

3. 보험 가입 현황(매년 가입하고 있음)

보험명	보상내용	대상	주관부서
연구활동종사자 상해보험	연구실에서 발행한 사고로 연구활동종사자가 부상·질병·신체장애·사망 등 생명 및 신체상의 손해발생시 보상 ※자기 또는 다른 대학·연구기관 등에서의 사고와 관계없이 보상(무과실책임법리) - 사망 : 1억원보상 - 후유장애 : 1억원을 한도로 후유장애등급별 정액 보상 - 부상 : 1천만원을 한도로 1인당 상해등급별 정액 및 실손보상	연구활동종사자	경희대학교 국제캠퍼스 사무처

라. 추가 이행 사항

(1) 연구활동종사자 건강검진 실시(2017년 완료)

- 1) 연구(실험)실 유해·위험요인으로부터 연구활동종사자 보호
- 2) 안전사고 방지 및 안전한 연구 환경 조성
- 3) 건강검진 인원 파악 후 진행

(2) 기타 안전환경 개선사업

- 소방/안전시설 보수(완료)
 - 1) 소방 종합정밀점검 실시 후 보완공사 시행
 - 2) 월별 소방점검에 따른 보완공사 시행
 - 가) 유도등 선로보수 및 교체
 - 나) 감지기 선로보수 및 교체
 - 다) 소화기 구입 및 노후 교체
 - 라) 노후 수신기 교체
 - 마) 옥내·외 소화전 호스 구입 및 교체
 - 바) 비상방송설비 보완공사
 - 3) 비상사위기 추가 설치
 - 4) 가스전도방지장치 추가 설치
 - 5) 민관합동소방훈련 실시
 - 6) 기타 안전시설 설치
- 가스전도방지장치 설치
- 사이버 안전교육 시스템 운영(완료)
- 안전교육자료 배포(완료)
- 기타 안전관리용품 구입 및 설치(완료)
- 흡후드 풍속 점검(완료)
- 위험물저장소 조성(완료)
- 위험기계기구 방호장치 설치(진행 중)
- 신규채용 등에 따른 교육·훈련은 자체안전교육 또는 집체식 교육으로 병행할 수 있음
- 특별안전 교육·훈련은 자체안전교육 또는 집체식 교육으로 병행할 수 있음

(3) 사이버안전교육 절차(완료)

- 선행과목선택 → 안전교육수강 → 평가문제풀이 → 이수증 출력

□ 한국식품연구원(제3협동연구기관)

○ 당 연구원에서는 아래와 같이 연구실 안전을 위해 노력하고 있음.

- 실험 윤리 및 실험 방법 준수하도록 책임 및 지도(완료)
- 실험실 안전수칙 준수(완료)
- 실험실 안전 관리를 위한 분기별 안전점검 실시(진행 중 : 신규연구원 이전으로 지연)
- 화학물질 및 가스 사용에 따른 분기별 소방점검 실시(완료)
- 매년 유해인자 확인에 따른 건강검진 실시(완료)
- 연구활동 종사자 보험가입(완료)

□ 원영산업(주)(제4협동연구기관)

1. 연구소 안전 점검 체계

단 계	1단계	2단계	3단계
기 관	연구소 안전관리 담당자	소방 안전 관리자 안전 관리 감독자	유관 소방서 한강유역 환경청 및 기타 화학물질 관련 기관
점검기준	매일 2회 (일과 시작전, 일과 종료 시)	분기 1회	불시점검
연구원 건강 검진	매년 1회		
연구원 교육	년 12시간 이상 (유해화학물질 취급 및 안전교육)		

※안전 점검내용: 약품 누설 여부, 후드 작동여부, 실험시약 관리, 개인 보호구 점검, 소화기 정상 작동 여부 등

2. 개요

- 원영산업에서는 관련 법규에 따라 교육 및 안전관리, 유독물 관리, 소방 설비 관리를 시행하고 있음.

3. 교육대상

- 연구소에서 연구개발활동에 종사하는 연구원 등 연구활동종사자

4. 안전교육 실시(완료)

- 사이버안전교육 : 중소기업 지원 교육기관에서 시행
- 자체안전교육 : 연구실험실에서 자체적으로 실시하는 교육

□ 한양대학교 산학협력단(제5협동연구기관)

1. 실험실 안전점검 체계

구분		1단계	2단계	3단계
점검기준		매일 1회	분기 1회(불시점검 수시)	반기 1회(불시점검 수시)
관리자	정	연구책임자	한양대학교 관재팀	지역 소방기관
	부	실험실내 안전점검 담당자		

- 안전 점검내용: 비상사위시설, 화학폐기물 현황, 흡후드 작동여부, 위험시약 관리, 연구자 안전장비 등
- 위험물 시약 관리: 가연성 및 폭발위험 시약은 건물 내 별도 저장소 설치하여 관리

2. 안전교육 훈련(완료)

- 교육대상: 교수, 대학원생 및 실험에 참여하는 학부생 전원
- 교육구분
 - 정기교육: 한양대학교 안전정보망(<http://safetyedu.hanyang.ac.kr/>)을 이용한 분기 1회 안전교육
 - 비정기 교육: 신입 대학원생 및 교육 미 이수자에 대한 안전교육
 - 특별교육: 연구책임자(담당교수) 및 안전관리책임자를 대상으로 한 지역 소방기관 위탁교육

3. 보험가입현황(매년 가입하고 있음)

- 보험가입대상: 교수, 연구교수, 대학원생 및 실험에 참여하는 학부생 전원

보험가입 대상	보험가입 내용
학부생, 석박사과정	연구활동 종사자 상해보험(법정보험)
교수, 연구교수	교직원 단체 상해보험

제10장. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	특허	저온플라즈마를 이 용한 다중카르복시 산 에스테르화 전분 이종화합물의 제조 방법	안동 대학교	-	대한민국	-	2017.01.12	단독사사	10-1697636
2	논문	Broad substrate specificity of a hyperthermophilic α -glucosidase from <i>Pyrobaculum</i> <i>arsenaticum</i>	경희 대학교	교신 저자	Food Science and Biotechnology	0.699	2016.12.31	단독사사	SCI
3	논문	Preparation and characterization of amorphous granular potato starches (AGPS) and cross-linked amorphous granular potato starches (CLAGPS)	경희 대학교	교신 저자	Carbohydrate Polymers	4.811	2017.12.15	단독사사	SCI
4	논문	Enzymatin extraction of starch from broken rice using freeze-thaw infusion with food-grade protease	한국식품 연구원	교신 저자	Starch/Stär ke	1.837	2018.01.05	단독사사	SCI
5	논문	Effect of different pH conditions on the in vitro digestibility and physicochemical properties of citric acid-treated potato starch	한양 대학교	교신 저자	Internation al Journal of Biological Macromole cules	3.671	2018.02.28	단독사사	SCI

제11장. 기타사항

코드번호

D-13

해당없음

제12장. 참고문헌

	코드번호	D-14
AACC. Approved methods of the AACC International. 10 th ed: American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, USA.		
Alexander RJ. Carbohydrate used as fat replacers. pp. 343-370. In: Developments in Carbohydrate Chemistry. Alexander RJ & Zobel HF(Eds.). AACC Press, St. Paul, MN, USA (1992)		
Anderson KA. Micro-digestion and ICP-AES analysis for the determination of macro and micro elements in plant tissues. <i>Atom. Spec.</i> 17: 30-33 (1996)		
Achayuthakan P, Suphantharika M, BeMiller JN. Confocal laser scanning microscopy of dextran-rice starch mixtures. <i>Carbohydr. Polym.</i> 87: 557-563 (2012)		
Asp NG. Resistant. Proceedings of the 2nd plenary meeting of EURESTA: European Fair Concerted Action No.11 (COST911). Physiological implications of the consumption of resistant starch in Man. <i>Eur. J. Clin. Nutr.</i> 46(Su2): 148 (1992)		
Barczynska R, Jochym K, Slizewska K, Kapusniak J, Libudzisz Z. The effect of citric acid-modified enzyme-resistant dextrin on growth and metabolism of selected strains of probiotic and other intestinal bacteria. <i>J. Funct. Food.</i> 2: 126-133 (2010)		
Barczynska R, Slizewska K, Jochym K, Kapusniak J, Libudzisz Z. The tartaric acid-modified enzyme-resistant dextrin from potato starch as potential prebiotic. <i>J. Funct. Food.</i> 4: 954-962 (2012)		
BeMiller JN. Starch modification: Challenges and prospects. <i>Starch-Stärke</i> 49: Nr. 4. S. 127-131 (1997)		
Biliaderis CG. Physical characteristics, enzymatic digestibility, and structure of chemically modified smooth pea and waxy maize starches. <i>J. Agr. Food Chem.</i> 30: 925-930 (1982)		
Bizot H et. al. Calorimetric evaluation of the glass transition in hydrated, linear and branched polyanhydroglucose compounds. <i>Carbohydr. Polym.</i> 32: 33-50 (1997)		
Bulkin BJ, Kwak Y, Dea IC. Retrogradation kinetics of waxy-corn and potato starches; a rapid, Raman-spectroscopic study. <i>Carbohydr. Res.</i> 160: 95-112 (1987)		
Castanys-Munoz E, Martin MJ, Prieto PA. 2'-fucosyllactose: An abundant genetically determined soluble glycan present in human milk. <i>Nutr. Rev.</i> 71: 773-789 (2013)		
Chrastil J. Improved colorimetric determination of amylose in starches or flours. <i>Carbohydr. Res.</i> 159: 154-158 (1987)		
Chang YJ, Choi HW, Kim HS, Lee H, Kim W, Kim DO, Kim BY, Baik MY. Physicochemical properties of granular and non-granular cationic starches prepared under ultra high pressure. <i>Carbohydr. Polym.</i> 99: 385-393 (2014)		

- Chung HJ, Hoover R, Liu Q. The impact of single and dual hydrothermal modifications on the molecular structure and physicochemical properties of normal corn starch. *Int. J. Biol. Macromol.* 44: 203-210 (2009)
- Choi HW, Kim HS, Park CS, Kim BY, Baik MY. Ultra high pressure (UHP)-assisted acetylation of corn starch. *Carbohydr. Polym.* 78: 862-868 (2009)
- Choi YM, Oh SH, Yu KW, Shin KS, Ra KS, Park CS, Kim KM, Suh HJ. Physiological characteristics of resistant starch(hi-maize diet) fortified with other dietary fiber components. *J. Med. Food* 34: 351-355 (2005)
- Cheetham NWH, Tao L. Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. *Carbohydr. Polym.* 36: 277-284 (1998)
- Correia P, Cruz-Lopes L, Beirão-da-Costa L. Morphology and structure of chestnut starch isolated by alkali and enzymatic methods. *Food Hydrocolloid.* 28: 313-319 (2012)
- Dubois M, Gilles DA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356 (1956)
- Eerlingen RC, Deceuninck M, Delcour JA. Enzyme resistant starch. II. Influence of amylose chain length on resistant starch formation. *Cereal Chem.* 70: 345 (1993)
- Englyst HN, Kingman SM, Cummings JH. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur. J. Clin. Nutr.* 46: 33-50 (1992)
- Englyst HN, Wiggens HS, Cummings JH. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst.* 107: 307-318 (1982)
- Ernst HA, Lo Leggio L, Willemoes M, Leonard G, Blum P, Larsen S. Structure of the *Sulfolobus solfataricus* α -glucosidase: Implications for domain conservation and substrate recognition in GH31. *J. Mol. Biol.* 358: 1106-1124 (2006)
- Feinberg LF, Srikanth R, Vachet RW, Holden JF. Constraints on anaerobic respiration in the hyperthermophilic archaea *Pyrobaculum islandicum* and *Pyrobaculum aerophilum*. *Appl. Environ. Microb.* 74: 396-402 (2008)
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509 (1957)
- French D. Organization of starch granules. *Starch: Chemistry and technology*, 2: 183-247 (1984)
- Gao H, Cai J, Han W, Huai H, Chen Y, Wei C. Comparison of starches isolated from three different *Trapa* species. *Food Hydrocolloid.* 37: 174-181 (2014)
- Gidley MJ, Bociek SM. Molecular organization in starches: a carbon 13 CP/MAS NMR study. *J. Am. Chem. Soc.* 107: 7040-7044 (1985)

- Gidley MJ, Bulpin PV. Aggregation of amylose in aqueous systems: The effect of chain length on phase behavior and aggregation kinetics. *Macromolecul.* 22: 341-346 (1989)
- Gidley MJ, Bociek SM. 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)
- Hanashiro I, Abe J, Hizukuri S. A periodic distribution of the chain length of amylopectin as revealed by high-performance anion-exchange chromatography. *Carbohyd. Res.* 283: 151-159 (1996)
- Hizukuri S, French D. X-ray diffractometric studies on starches. *Agr. Boil. Chem.* 25: 45-52 (1971)
- Horndok R, Noomhorm A. Hydrothermal treatments of rice starch for improvement of rice noodle quality. *LWT-Food Sci. Technol.* 40: 1723-1731 (2007)
- Hoover R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohyd. Polym.* 45: 253-267 (2001)
- Hoover R, Vasanthan T. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of cereal, legume, and tuber starches. *Carbohyd. Res.* 252: 33-53 (1994)
- Hoover R, Ratnayake WS. Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. *Food Chem.* 78: 489-498 (2002)
- Huang DP. New perspectives on starch and starch derivatives for snack applications. *Cereal Food World* 40: 528 (1995)
- Huber R, Sacher M, Vollmann A, Huber H, Rose D. Respiration of arsenate and selenate by hyperthermophilic archaea. *Syst. Appl. Microbiol.* 23: 305-314 (2000)
- Huber KC, BeMiller JN. Visualization of channels and cavities of corn and sorghum starch granules. *Cereal Chem.* 74: 537-541 (1997)
- Huber KC, BeMiller JN. Channels of maize and sorghum starch granules. *Carbohyd. Polym.* 41: 269-276 (2000)
- Hung PV, Vien NL, Lan Phi NT. Resistant starch improvement of rice starches under a combination of acid and heat-moisture treatments. *Food Chem.* 191: 67-73 (2016)
- Jacobs H. et. al. Impact of annealing on the susceptibility of wheat, potato and pea starches to hydrolysis with pancreatin. *Carbohyd. Res.* 305: 193-207 (1997)
- Jacobs H, Delcour JA. Hydrothermal modifications of granular starch, with retention of the granular structure: A review. *J. Agr. Food Chem.* 46: 2895-2905 (1998)

- Jeon H, Lee H, Byun D, Choi H, Shim JH. Molecular cloning, characterization, and application of a novel thermostable α -glucosidase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrobaculum aerophilum* strain IM2. *Food Sci. Biotechnol.* 24: 175–182 (2015)
- Jeon EJ, Jung JH, Seo DH, Jung DH, Holden JF, Park CS. Bioinformatic and biochemical analysis of a novel maltose-forming α -amylase of the GH57 family in the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus* sp. CL1. *Enzyme Microb. Tech.* 60: 9–15 (2014)
- Jung JH, Seo DH, Holden JF, Park CS. Identification and characterization of an archaeal kojibiose catabolic pathway in the hyperthermophilic *Pyrococcus* sp. strain ST04. *J. Bacteriol.* 196: 1122–1131 (2014)
- Jung JH, Seo DH, Holden JF, Park CS. Maltose-forming α -amylase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus* sp. ST04. *Appl. Microbiol. Biot.* 98: 2121–2131 (2014)
- Jyothi AN, Moorthy SN, Sreekumar JN, Rajasekharan KN. Studies on the properties of citrate derivatives of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch synthesized by microwave technique. *J. Sci. Food Agr.* 87: 871–879 (2007)
- Kang MS, Okuyama M, Mori H, Kimura A. The first α -1,3-glucosidase from bacterial origin belonging to glycoside hydrolase family 31. *Biochimie* 91: 1434–1442 (2009)
- Klaushofer H, Berghofer E, Pieber R. Quantitative bestimmung von citronensaure in citratstärken. *Starch-Stärke* 31: 259–261 (1979)
- Kawakami S, Han KH, Araki T, Ohba K, Wakabayashi T, Shimada K, Fukushima M. Potato powders prepared by successive cooking-process depending on resistant starch content affect the intestinal fermentation in rats. *Biosci. Biotech. Bioch.* 81: 359–364 (2017)
- Kartha KPR, Srivastava HC. Reaction of epichlorohydrin with carbohydrate polymer II. Starch reaction mechanism and physicochemical properties of modified starch. *Starch-Stärke* 37: 297–306 (1985)
- Kaur L, Singh J, Singh N. Effect of cross-linking on some properties of potato starches. *J. Sci. Food Agr.* 86: 1945–1954 (2006)
- Kumar V, Sinha AK, Makkar HP, de Boeck G, Becker K. Dietary roles of non-starch polysaccharides in human nutrition. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 52:899–935 (2012)
- Kacurakova M, Wilson R. Developments in mid-infrared FT-IR spectroscopy of selected carbohydrates. *Carbohydr. Polym.* 44: 291–303 (2001)
- Kim HS. Wheat starch A- and B-type granule microstructure and reactivity. Ph.D dissertation, University of Idaho (2009)

- Kim HS, Huber KC. Channels within soft wheat starch A-and B-type granules. *J. Cereal Sci.* 48: 159–172 (2008)
- Kim JO, Kim WS, Shin MS. A comparative study on retrogradation of rice starch gels by DSC, X-Ray and α -amylase methods. *Starch-Stärke* 49: 71–75 (1997)
- Kim J, Tanhehco E, Ng P. Effect of extrusion conditions on resistant starch formation from pastry wheat flour. *Food Chem.* 99: 718–723 (2006)
- Kim HS, Hwang DK, Kim BY, Baik MY. Cross-linking of corn starch with phosphorus oxychloride under ultra high pressure. *Food Chem.* 130: 977–980 (2012)
- Kim HS, Huber KC. Channels within soft wheat starch A- and B-type granules. *J. Cereal Sci.* 48: 159–172 (2008)
- Kim HS, Huber KC. Physicochemical properties and amylopectin fine structures of A- and B-type granules of waxy and normal soft wheat starch. *J. Cereal Sci.* 51: 256–264 (2010a)
- Kim HS, Huber KC. Impact of A/B-type granule ratio on reactivity, swelling, gelatinization, and pasting properties of modified wheat starch. Part I: Hydroxypropylation. *Carbohydr. Polym.* 80: 94–104 (2010b)
- Kim BS, Kim HS, Hong JS, Huber KC, Shim JH, Yoo SH. Effects of amylosucrase treatment on molecular structure and digestion resistance of pre-gelatinised rice and barley starches. *Food Chem.* 138: 966–975 (2013)
- Kim EJ, Kim HS. Physicochemical properties of dehydrated potato parenchyma cells with ungelatinized and gelatinized starches. *Carbohydr. Polym.* 117: 845–852 (2015)
- Kim HS, Kim BY, Baik MY. Application of ultra high pressure (UHP) in starch chemistry. *Crit. Rev. Food Sci.* 52:123–141 (2012)
- Kim SH. Development of digestion-resistant citric acid cross-linked starch by continuous-circulating heating reactor. MS thesis, Andong National University, Andong, Korea (2014)
- Kim SH, Kim HS. Influence of semi-dry heating reaction conditions on resistant starch contents and pasting viscosities of starch citrates. *Food Eng. Prog.* 19: 313–319 (2015a)
- Kim SH, Kim HS. Impact of reactive extrusion parameters on the resistant contents and pasting properties of starch citrates. *Food Eng. Prog.* 19: 193–200 (2015b)
- Kim HS, Patel B, BeMiller JN. Effects of the amylose-amylopectin ratio on starch-hydrocolloid interactions. *Carbohydr. Polym.* 98: 1438–1448 (2013)
- Kim S, Lee SB. Soluble expression of archaeal proteins in *Escherichia coli* by using fusion-partners. *Protein Expres. Purif.* 62: 116–119 (2008)

- Knutson C. Annealing of maize starches at elevated temperatures. *Cereal Chem.* 67: 376-384 (1990)
- Koma D, Sawai T, Harayama S, Kino K. Overexpression of the genes from thermophiles in *Escherichia coli* by high-temperature cultivation. *Appl. Microbiol. Biot.* 73: 172-180 (2006)
- Koo HJ, Park SH, Jo JS, Kim BY, Hur NY, Baik MY. Physicochemical characteristics of 6-year-old Korean ginseng starches. *LWT-Food Sci. Technol.* 38: 801-807 (2005)
- Lee SK, Hong YH, Shin MS. The effect of mild-acid treated waxy starches on the yield of resistant starch. *Korean J. Soc. Food Sci.* 15: 418-425 (1999)
- Leach HW, Mccowen LD, Schoch TJ. Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. *Cereal Chem.* 36: 534-544 (1959)
- Li X, Li D, Park KH. An extremely thermostable amylopullulanase from *Staphylothermus marinus* displays both pullulan- and cyclodextrin-degrading activities. *Appl. Microbiol. Biot.* 97: 5359-5369 (2013)
- Li D, Park JT, Li X, Kim S, Lee S, Shim JH, Park SH, Cha J, Lee BH, Kim JW, Park KH. Overexpression and characterization of an extremely thermostable maltogenic amylase, with an optimal temperature of 100°C, from the hyperthermophilic archaeon *Staphylothermus marinus*. *New Biotechnol.* 27: 300-307 (2010)
- Liu L, Gao W, Wang J, Jiang Q, Huang L. Comparison of the morphological, crystalline and thermal properties of different crystalline types of starches after acid hydrolysis. *Starch-Stärke* 62: 686-696 (2010)
- Lee CJ, Shin SI, Kim Y, Choi HJ, Moon TW. Structural characteristics and glucose response in mice of potato starch modified by hydrothermal treatments. *Carbohydr. Polym.* 83: 1879-1886 (2011)
- Liu C, Wang S, Copeland L, Wang S. Physicochemical properties and in vitro digestibility of starches from field peas grown in China. *LWT-Food Sci Technol.* 64: 829-836 (2015)
- Li S, Ward R, Gao Q. Effect of heat-moisture treatment on the formation and physicochemical properties of resistant starch from mung bean (*Phaseolus radiatus*) starch. *Food Hydrocolloid.* 25: 1702-1709 (2011)
- Liu H, Ramsden L, Corke H. Physical properties of crosslinked and acetylated normal and waxy rice starch. *Starch-Stärke* 51: 249-252 (1999)
- Liu H, Liang R, Antoniou J, Liu F, Shoemaker CF, Li Y, Zhong F. The effect of high moisture heat-acid treatment on the structure and digestion property of normal maize starch. *Food Chem.* 159: 222-229 (2014)

- Manoi K, Rizvi SSH. Physicochemical characteristics of phosphorylated cross-linked starch produced by reactive supercritical fluid extrusion. *Carbohydr. Polym.* 81: 687-694 (2010)
- Ma X, Jian R, Chang PR, Yu J. Fabrication and characterization of citric acid-modified starch nanoparticles/plasticized-starch composites. *Biomacromolecul.* 9: 3314-3320 (2008)
- Maywald EC, Leach HW, Schoch TJ. Expansion and contraction of starch molecules in solution I. Effects of temperature, pH, and alkali. *Starch-Stärke* 20: 189-197 (1968)
- Martinez-Puig D, Mourot J, Ferchaud-Roucher V, Anguita M, Garcia F, Krempf M, Pérez JF. Consumption of resistant starch decreases lipogenesis in adipose tissues but not in muscular tissues of growing pigs. *Livestock Sci.* 99: 237-247 (2006)
- Mei JQ, Zhou DN, Jin ZY, Xu XM, Chen HQ. Effects of citric acid esterification on digestibility, structural and physicochemical properties of cassava starch. *Food Chem.* 187: 378-384 (2015)
- Minekus M, Alminger M, Alvito P, Ballance S, Bohn T, Bourlieu C, Carrière F, Boutrou R, Corredig M, Dupont D. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food –an international consensus. *Food Funct.* 5: 1113-1124 (2014)
- Majzoobi M. et. al. Physicochemical properties of cross-linked-annealed wheat starch. *Iranian Polym. J.* 21: 513-522 (2012)
- Miladinov VD, Hanna MA. Starch esterification by reactive extrusion. *Ind. Crop. Prod.* 11: 51-57 (2000)
- Moad G. Chemical modification of starch by reactive extrusion. *Prog. Polym. Sci.* 36: 218-237 (2011)
- Mun SH, Shin MS. Effect of degree of removing protein from wheat starch on RS4 type starch preparation. *Home Econ. Res. J.* 10 (2000)
- Mun SH, Shin MS. The effects of annealing on resistant starch contents of cross-linked maize starches. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 431-436 (2002)
- Noda T, Isono N, Krivandin AV, Shatalova OV, Blaszczyk W, Yuryev VP. Origin of defects in assembled supramolecular structures of sweet potato starches with different amylopectin chain-length distribution. *Carbohydr. Polym.* 76: 400-409 (2009)
- Nugent AP. Health properties of resistant starch. *Nutr. Bull.* 30: 27-54 (2005)
- Okuyama M, Saburi W, Mori H, Kimura A. α -Glucosidases and α -1,4-glucanlyases: Structures, functions, and physiological actions. *Cell Mol. Life Sci.* 73: 2727-2751 (2016)
- O' Brien S, Wang YJ. Susceptibility of annealed starches to hydrolysis by α -amylase and glucoamylase. *Carbohydr. Polym.* 72: 597-607 (2008)
- O' Brien S, Wang YJ, Vervaet C, Remon JP. Starch phosphates prepared by reactive extrusion as a sustained released agent. *Carbohydr. Polym.* 76: 557-566 (2009)

- Park JE, Park SH, Woo JY, Hwang HS, Cha J, Lee H. Enzymatic properties of a thermostable α -glucosidase from acidothermophilic crenarchaeon *Sulfolobus tokodaii* strain 7. *J. Microbiol. Biotechnol.* 23: 56-63 (2013)
- Park I, Lee H, Cha J. Glycoconjugates synthesized via transglycosylation by a thermostable α -glucosidase from *Thermoplasma acidophilum* and its glycosynthase mutant. *Biotechnol. Lett.* 36: 789-796 (2014)
- Pravisan CL, Califano AN, Calvedo A. Kinetics of starch gelatinization in potato. *J. Food Sci.* 50: 657-660 (1985)
- Perera C, Hoover R, Martin A. The effect of hydroxypropylation on the structure and physicochemical properties of native, defatted and heat-moisture treated potato starches. *Food Res. Int.* 30: 235-247 (1997)
- Ratnayake WS, Hoover R, Warkentin T. Pea starch: composition, structure and properties-A review. *Starch-Stärke*, 54: 217-234 (2002)
- Rudnik E, Matuschek G, Milanov N, Kettrup A. Thermal properties of starch succinates. *Thermochim. Acta.* 427: 163-166 (2005)
- Sarko A, Wu HC. The crystal structures of A-, B- and C-polymorphs of amylose and starch. *Starch-Stärke* 30: 73-78 (1978)
- Saburi W, Okuyama M, Kumagai Y, Kimura A, Mori H. Biochemical properties and substrate recognition mechanism of GH31 α -glucosidase from *Bacillus* sp. AHU 2001 with broad substrate specificity. *Biochimie* 108: 140-148 (2015)
- Sagar L, Sehgal R, Ojha S. Evaluation of antimotility effect of Lantana camara L. var. acuelata constituents on neostigmine induced gastrointestinal transit in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 5: 18-23 (2005)
- Seo SH, Choi KH, Hwang S, Kim J, Park CS, Rho JR, Cha J. Characterization of the catalytic and kinetic properties of a thermostable *Thermoplasma acidophilum* α -glucosidase and its transglycosylation reaction with arbutin. *J.Mol. Catal. B-Enzym.* 72: 305-312 (2011)
- Shin MS, Lee FZ, Song JY. Water uptakes and resistant starch levels of various starches with preparation conditions of cross-linked starch. *J. Hum. Ecol.* 14: 36-44 (2004)
- Shin MS, Mun SH, Woo KS. Effects of cross-linked RS4 starches on pasting profiles of wheat starch using RVA. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 157-160 (2001)
- Shin MS, Song JY, Seib PA. In vitro digestibility of cross-linked starches-RS4. *Starch-Stärke* 56: 478-483 (2004)
- Shin MS, Woo KS, Seib PA. Hot-water solubilities and water absorptions of resistant starches at 25°C. *Cereal Chem.* 80: 564-566 (2003)

- Shin SI, Lee CJ, Kim MJ, Choi SJ, Choi HJ, Kim Y, Moon TW. Structural characteristics of low-glycemic response rice starch produced by citric acid treatment. *Carbohydr. Polym.* 78: 588-595 (2009)
- Singh N, Singh J, Kaur L, Sodhi NS, Gill BS. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chem.* 81: 219-231 (2003)
- Singh J, Kaur L, McCarthy OJ. Factors influencing the Physicochemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-A review. *Food Hydrocolloid.* 21: 1-22 (2007)
- Song JM, An YJ, Kang MH, Lee YH, Cha SS. Cultivation at 6-10°C is an effective strategy to overcome the insolubility of recombinant proteins in *Escherichia coli*. *Protein Expres. Purif.* 82: 297-301 (2012)
- Song JY, Kim JS, Shin MS. Screening of modification methods for increasing RS level of resistant starches. *J. Hum. Ecol.* 16: 86-94 (2006)
- Song MR et. al. Efficiency of high hydrostatic pressure in preparing amorphous granular starches. *Starch-Stärke* 67: 790-801 (2015)
- Stute R. Hydrothermal Modification of Starches: The Difference between Annealing and Heat/Moisture-Treatment. *Starch-Stärke* 44: 205-214 (1992)
- Stute R et. al. Effects of high pressures treatment on starches. *Starch-Stärke* 48: 399-408 (1996)
- Shen RL, Zhang WL, Dong JL, Ren GX, Chen M. Sorghum resistant starch reduces adiposity in high-fat diet-induced overweight and obese rats via mechanisms involving adipokines and intestinal flora. *Food Agr. Immunol.* 26: 120-130 (2015)
- Stam MR, Danchin EG, Rancurel C, Coutinho PM, Henrissat B. Dividing the large glycoside hydrolase family 13 into subfamilies: Towards improved functional annotations of α -amylase-related proteins. *Protein Eng. Des. Sel.* 19: 555-562 (2006)
- Tan K, Tesar C, Wilton R, Keigher L, Babnigg G, Joachimiak A. Novel α -glucosidase from human gut microbiome: Substrate specificities and their switch. *FASEB J.* 24: 3939-3949 (2010)
- Thompson DB. Strategies for the manufacture of resistant starch. *Trends Food Sci. Tech.* 11: 245-253 (2000)
- Tie J, Lee ES, Hong ST, Ryu GH. Manufacturing of Goami flakes by using extrusion process. *Korean J. Food Sci. Technol.* 39: 146-151 (2007)
- Tsakama M. et. al. Effect of heat moisture treatment on physicochemical and pasting properties of starch extracted from eleven sweet potato varieties. *Int. Res. J. Agr. Sci. Soil Sci.* 1: 254-260 (2011)

- Yu L, Dean K, Li L. Polymer blends and composites from renewable resources. *Prog. Polym. Sci.* 31: 576-602 (2006)
- Wang L, Wang YJ, Rice starch isolation by neutral protease and high-intensity ultrasound. *J. Cereal Sci.* 39: 291-296 (2004)
- Wang L, Wang YJ. Rice starch isolation by neutral protease and high-intensity ultrasound. *J. Cereal Sci.* 39: 291-296 (2004)
- Wiesenborn DP, Orr PH, Casper HH, Tacke BK. Potato starch paste behavior as related to some physical/chemical properties. *J. Food Sci.* 59: 644-648 (1994)
- Wing RE, Willet JL. Water soluble oxidized starches by peroxide reactive extrusion. *Ind. Crop. Prod.* 7: 45-52 (1997)
- Wepner B, Berghofer E, Miesenberger E, Tiefenbacher K, Ng PNK. Citrate starch-Application as resistant starch in different food systems. *Starch-Stärke* 51: 354-361 (1999)
- Wolkers WF. A fourier transform infrared microspectroscopy study of sugar glasses: application to anhydrobiotic higher plant cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1379: 83-96 (1998)
- Wolkers WF, Oliver AE, Tablin F, Crowe JH. A fourier-transform infrared spectroscopy study of sugar glasses. *Carbohydr. Res.* 339: 1077-1085 (2004)
- Wong RBK, Lelievre J. Comparison of the crystallinities of wheat starches with different swelling capacities. *Starch-Stärke* 34: 159 (1982)
- Vandeputte GE, Delcour JA. From sucrose to starch granule to starch physical behaviour: a focus on rice starch. *Carbohydr. Polym.* 58: 245-266 (2004)
- Xie L, Yu L, Liu H, Chen L. Starch modification using reactive extrusion. *Starch-Stärke* 58: 131-139 (2006)
- Xie X, Liu Q. Development and physicochemical characterization of new resistant citrate starch from different corn starches. *Starch-Stärke* 56: 364-370 (2004)
- Xie X, Liu Q, Cui SW. Studies on the granular structure of resistant starches (type 4) from normal, high amylose and waxy corn starch citrates. *Food Res. Int.* 39: 332-341 (2006)
- Zhang P, Whistler RL, BeMiller JN, Hamaker BR. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility-A review. *Carbohydr. Polym.* 59: 443-458. (2005).
- ZeleznaK K, HoseneY R. The glass transition in starch. *Cereal Chem.* 64: 121-124 (1987)
- Zhao Y, Hasjim J, Li L, Jane JL, Hendrich S, Birt DF. Inhibition of azoxymethane-induced preneoplastic lesions in the rat colon by a cooked stearic acid complexed high-amylose cornstarch. *J. Agr. Food Chem.* 59: 9700-9708 (2011)

자체평가의견서

1. 과제현황

		코드번호	D-15		
	과제번호		314041-3		
사업구분	고부가가치식품기술개발사업				
연구분야	식품		과제구분	단위	
사업명	고부가가치식품기술개발사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	국내 농산물 자원을 활용한 수입 대체 진분 소재 개발 및 산업화		과제유형	개발	
연구기관	경기대학교 산학협력단		연구책임자	김현석	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2014.11~2015.11 (12개월)	300,000	100,000	400,000
	2차년도	2015.11~2016.11 (12개월)	300,000	100,000	400,000
	3차년도	2016.11~2017.11 (12개월)	300,000	100,000	400,000
	4차년도				
	5차년도				
	계		900,000	300,000	1,200,000
참여기업	원영산업(주), 농업회사법인(주)부용농산				
상대국		상대국연구기관			

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 :

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
경기대학교 산학협력단	부교수	김현석

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	김현석
----	-----

1. 연구개발실적

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (**아주우수**, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구개발은 고수율 및 시간절약형 효소적 전분 추출법 개발, 생촉매반응에 의한 효소적 전분변성방법, 지소화성 및 난소화성 무정형전분입자소재 개발, 유기산과 음이온성 하이드로콜로이드 수식 전분개발을 위한 건식반응기법들의 개발, 건식반응에 의한 산업용 전분소재 개발기법들과 같이 기존에 학문적 및 산업적 기술들과는 차별화되며, 환경적 요인과 소비자 구매패턴을 고려한 전분소재를 제조공정과 소재들을 개발하였고, 전분소재의 생리활성효능을 검증하는 등 기존의 전분소재 관련 소재들과 기술들과 차별화되는 높은 가치를 나타냄.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (**아주우수**, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구개발에서 구축된 전분소재 추출방법 및 변성기법들과 기능성 평가로부터 얻은 결과들과 전분소재들은 기존의 전분소재 제조에서 나타나는 환경오염적 측면, 소비자들의 화학적 변성에 대한 거부감들을 해결할 수 있는 대체방법과 대체소재를 제공하며, 국내산 농산물 및 농산부산물의 활용성을 높일 수 있다는 점과 전분소재의 생리적 기능성에 대한 효과를 제공한다는 점에서 학문적 및 산업적 파급효과가 매우 높을 것으로 평가됨.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, **우수**, 보통, 미흡, 불량)

본 연구개발에서 개발된 전분소재들은 기존의 화학적 변성전분들에 비해 안전한 반응물질을 사용하여 제조하여 안전성이 담보되면서도, 기존 화학적 변성전분들과 유사하거나 향상된 물리적 특성들을 나타내며, 항비반, 항당뇨, 및 장기능 개선과 같은 생리활성효과들을 검증하였기 때문에 산업적 활용가능성이 높을 것으로 기대됨. 다만 국내산 전분원료(쌀, 감자, 고구마)들로부터 고수율 전분 추출법을 구축하였음에도 전분원료들의 가격이 너무 높게 형성되어 개발된 전분소재들의 가격경쟁력이 낮은 애로사항이 있으며, 전분원료의 가격적 문제점을 해결할 수 있으면, 본 연구개발의 전분소재들은 활용가능성이 매우 높을 것으로 예상됨.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (**아주우수**, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구개발계획서에 준하여 각 연구기관들은 연구개발을 성실히 수행하였으며, 정량적 및 정성적 연구성과들을 충실히 달성하였음. 다만 본 연구개발을 통해 제품을 출시하였지만 기존 업체들의 새로운 전분원료의 사용에 대한 공정적합성 평가 및 공정변환에 대한 부담감으로 아직 매출이 발생하지 않았으며, 이를 위해서는 시간이 필요한 실정임.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (**아주우수**, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구개발을 통해 SCI 논문 9건, 비SCI 논문 6건, 학술발표 41건, 특허출원 4건, 특허등록 2건, 기술이전 1건, 시제품제작 10건, 전분제품 2건 출시(현재까지 매출 2,101,000원), 전문인력양성 8명으로 성과가 매우 우수하다.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
동적건식반응공정을 이용한 지소화성 및 난소화성 유기산 수식 전분 개발 및 대량생산 기반 구축	10	100	반건조가열반응공정 요인을 조사하여 동적건식반응공정을 구축하였으며, 지소화성 및 난소화성 구연산전분을 개발하였음.
당전이 효소를 이용한 전분의 생물전환반응기법 개발 및 이를 활용한 기능성 전분 소재 개발	5	100	NpAS와 DGAS 당전이효소 생산 균주 2종을 선별하였고, 이들 효소를 이용하여 효소적 변성전분을 개발하였음.
국내 농산작물로부터 추출·정제된 전분으로부터 무정형전분입자 개발	5	100	국내산 고구마 및 감자전분을 활용하여 무정형전분입자를 제조하는 공정 및 조건을 구축하였고, 특성평가를 완료함.
국내산 곡류 및 서류를 이용한 고효율 및 고수율 전분 추출·정제법 구축 및 소재화	10	100	국내산 쌀, 감자, 고구마, 마로부터 생전분 생산을 위한 효소적 추출·정제방법을 구축하였고, 생산된 생전분들의 특성조사를 완료함.
국내산 농산물 유래 전분들의 식품용 및 산업용 전분 소재화 가능성 탐색	5	100	건식고압반응기를 활용하여 국내산 전분으로부터 히드록시프로필화전분(식품용, 산업용), 카르복시메틸전분(산업용) 전분을 제조 및 평가 완료함.
개발된 전분소재들의 항비만/혈당/장기능 개선 효능의 in vitro 평가	5	100	유기산 종류, 유기산 농도별 제조된 유기산 전분들에 대한 소화성 및 장내균총 변화에 대해 in vitro상에서 조사하였음.
UV 및 콜드플라즈마 건식반응공정 설계 및 이를 활용한 하이드로콜로이드 수식 전분 개발	5	100	UV조사와 유전체장벽방전 저온플라즈마 처리 공정을 구축하였고, 이를 활용하여 음이온성 하이드로콜로이드 및 구연산수식 전분을 개발함.
Sucrose phosphorylase 및 기타 탄수화물 활성효소를 이용한 기능성 전분 소재 개발	5	100	Sucrose phosphorylase와 glucan phosphorylase의 복합처리에 의한 난소화성 감자전분과 고구마전분을 개발하였음.
무정형전분입자의 지소화성 향상을 위한 물리적 처리공정 개발 및 물리적 기능성 검증	5	100	개발된 무정형전분입자의 annealing과 습열처리를 통해 지소화성 및 난소화성 증진에 대한 공정을 구축하고 물리적 특성을 조사하였음.
국내 농산물(곡류 및 서류) 가공부산물을 이용한 전분 추출·정제법 구축 및 소재화	5	100	농산가공부산물(쇄미, 감자슬러지, 밀기울)로부터 개발된 효소적 전분 추출·정제법을 적용하여 생전분 소재를 개발하였음.

진공가열반응공정에 의한 지소화성/난소화성 유기산 수식 전분 대량생산 기반 구축	5	100	건식고압가열반응기를 이용하여 진공유무에 따라 국내산 멥쌀, 찹쌀, 감자, 및 고구마 전분들에 대해 유기산 전분의 대량생산 기반을 구축함.
동물모델을 이용한 개발된 전분소재들의 항비만/혈당/장기능 개선 효능평가	5	100	동물모델을 이용하여 유기산 종류, 유기산 농도별 제조된 유기산 전분들에 대한 소화성 및 장내균총 변화에 대해 in vivo상에서 조사하였음.
개발된 전분소재들과 기존 화학적 변성전분들의 물리적 기능성 비교연구	5	100	구연산 및 음이온성 하이드로콜로이드 수식 전분들이 기존 히드록시프로필, 초산, 아세틸아디핀산, 인산화 가교 전분들을 대체할 수 있음을 확인함.
생물전환기술에 의한 특용작물 가공부산물(홍삼박, 마박)으로부터 전분성 물질의 소재화 기술 개발	5	100	특용작물 가공부산물(홍삼박, 마박)에서 NpAS와 DGAS를 이용하여 전분성 물질을 제조하고 이들의 지소화성/난소화성의 증진효과를 검증함.
무정형전분입자 및 생물전환 전분소재들과 기존 물리적 변성전분들의 물리적 기능성 비교 연구	5	100	물리적처리를 통해 제조된 지소화성/난소화성 무정형전분입자들의 물리 화학적 및 소화특성을 기존 전분들과 비교분석을 완료하였음.
개발된 천연전분 소재들의 대량생산 공정 최적화 및 시제품 생산	5	100	반응표면분석에 의해 개발된 효소적 전분 추출·정제법의 최적조건을 도출하고 이를 활용하여 효소처리 감자 전분 및 고구마전분 시제품을 생산함.
가압가열반응공정에 의한 지소화성 무정형전분입자의 대량생산 기반 구축	5	100	국내산 전분을 활용하여 히드록시프로필전분, 카르복시메틸전분, 고점도 및 난소화성 구연산전분의 시제품을 제작하였음.
동물모델을 이용한 개발된 전분소재들의 항비만/혈당/장기능 개선 효능평가	5	100	동물모델을 이용하여 유기산 종류, 유기산 농도별 제조된 유기산 전분들에 대한 소화성 및 장내균총 변화에 대해 in vivo상에서 조사하였음.
합계	100점		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 본 연구개발은 국내산 농산자원 및 농산가공부산물을 활용한 전분소재 개발 및 개발된 전분소재를 이용하여 산업적 활용도가 높은 효소적, 물리적 및 화학적 전분소재들의 개발을 통해 국내산 농산물 기반 전분소재들의 산업적 활용도 증대를 위한 산업화 기반을 구축하였음. 또한 기존에 고려되지 않고 있던 전분소재들의 동물모델을 활용한 생리활성효능에 대한 연구를 수행하여 개발된 전분소재들의 항비만, 항당뇨 및 장기능 개선에 대한 생리활성 효능에 대한 과학적 근거를 도출하였음.
- 본 연구개발로부터 고수율 및 시간절약형 효소적 전분 추출·정제법, 무정형감자전분입자 및 이의 지소화성/난소화성 향상 기법, 생촉매들(NpAS, DGAS, Sucrose/glucan phosphrylase)을 이용한 지소화성/난소화성 효소적 반응기법, 유기산 및 음이온성 하이드로콜로이드 수식 전분 제조를 위한 동적연속식 가열 반응기법, 유전체장벽 저온플라즈마 및 UV 조사 기법들을 개발하였음. 또한 건식반응기법과 국내산 전분 및 가공부산물을 이용하여 산업용 화학적 변성전분들의 제조공정을 구축하고 전분 소재들을 개발하였음.
- 이상의 연구개발결과들을 통해 기존의 화학적 변성전분들을 대체할 수 있는 전분소재들을 개발하였으며, 현재 전 세계적인 전분소재 트렌드인 클리라벨 전분소재에 대해 대응할 수 있는 전분소재 제조기술과 소재들을 확보하여 국내외 전분산업에서 활용도가 높을 것으로 기대됨.
- 다만 본 연구개발에서 개발된 생전분 및 변성전분들의 원료가 되는 국내산 쌀, 감자, 고구마 등의 전분 원료에 대한 높은 가격이 본 연구개발에서 개발된 전분소재들의 제품화에 걸림돌이 되고 있고, 장치산업인 전분산업이 새롭게 개발된 전분생산 공정을 적용할 수 있는 지원이 있어야 본 연구개발의 취지를 충실히 달성할 수 있을 것이며, 이러한 애로사항들이 해결된다면 본 연구개발의 성과물들의 산업적 활용도는 극대화될 수 있을 것으로 기대됨.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 본 연구개발의 주요 원료인 국내산 쌀, 감자, 고구마의 가격이 본 과제를 시작할 때는 폭락하여 가격경쟁력을 확보할 수 있었지만, 본 과제를 수행하면서 다시 국내산 전분원료들의 가격이 급등하여 본 연구개발에서 개발된 전분소재들의 가격경쟁력 저하로 이들의 산업화에 애로 사항이 있는 점을 평가에 고려하여 주심을 요청드립니다.
- 또한 산업용 전분소재의 경우 기존에 화학적 변성전분을 사용하는 업체들에서 새로운 화학적 변성전분의 사용 시 발생할 수 있는 생산공정상 문제점 및 최종제품에 대한 품질변화에 대한 사항들에 대한 개선에 대한 것을 꺼려하여 제품화된 2종의 산업용 전분들의 산업화가 되었지만 현재까지 매출이 크지 않은 점을 평가에 고려하여 주심을 요청드립니다.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 본 연구개발로부터 얻은 연구결과들은 추가로 SCI급 논문 게재, 비SCI급 논문 게재 및 학술발표에 활용할 계획임.
- 본 연구개발에서 개발된 구연산전분 및 유기산수식전분과 관련된 사항들은 고점도 텍스트린 및 난소화성 텍스트린의 식품원료 제조법에 대한 추가적인 기술이전을 통해 산업화를 위한 추진할 계획임.
- 본 연구개발에서 개발된 전분소재들과 전분소재 제조 기술들에 대한 정보를 활용하여 국각연구개발사업 및 산학연구개발사업의 수주에 활용할 계획임.
- 본 연구개발의 결과들은 제품화된 전분소재들의 품질규격서 및 소비자 클레임에 대한 근거자료로 활용할 계획임.
- 개발된 전분소재들에 대해 식품전시회 등에 참석하여 전분소재 업체들에게 홍보 및 소개의 자료로 사용할 계획임

IV. 보안성 검토

1. 연구책임자의 의견

보안성은 일반으로 적합함.

2. 연구기관 자체의 검토결과

보안성은 일반으로 적합함.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.