

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0107792 (43) 공개일자 2014년09월05일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C08B 30/12 (2006.01) C12P 19/04 (2006.01) (21) 출원번호 10-2013-0021791 (22) 출원일자 2013년02월28일 심사청구일자 2013년02월28일		(71) 출원인 고려대학교 산학협력단 서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가) (72) 발명자 임승택 서울 도봉구 해동로 32, 106동 303호 (창동, 서울가든아파트) 김희영 서울 성북구 안암로 145, 생명공학과 (안암동5가, 고려대학교) (74) 대리인 특허법인충현

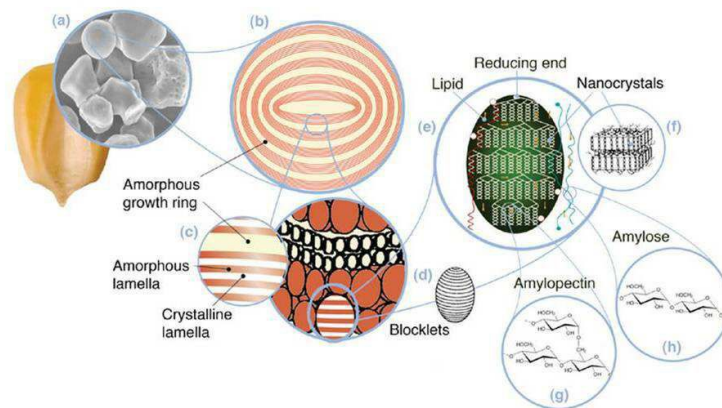
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 가수분해와 초음파 처리에 의해 제조된 고결정 전분 나노 입자 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 산 또는 효소의 가수분해와 초음파 처리를 통하여 고결정성 전분 나노 입자를 높은 수율로 제조하는 방법에 관한 것으로서, 본 발명에 따르면, 높은 수율로 고결정의 전분 나노 입자를 제조할 수 있고, 이에 의하여 제조된 전분 나노입자는 고분자 매트릭스의 보강제, 충전제 등으로 활용이 가능하고, 의약, 화장품 또는 식품 소재 등 다양한 분야에서 효과적으로 활용될 것으로 기대된다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	20120008278
부처명	한국연구재단
연구사업명	(이공)일반연구자-기본(유형1)
연구과제명	전분 나노 blocklets의 구조 및 특성 연구
기 여 율	1/1
주관기관	고려대학교 산학협력단
연구기간	2012.09.01 ~ 2013.08.31

특허청구의 범위

청구항 1

- (a) 전분 분산액을 산 또는 효소로 가수분해 반응시키는 단계;
- (b) 상기 가수분해 반응을 종료하고, 전분 가수 분해물을 수득하는 단계;
- (c) 상기 수득된 전분 가수 분해물을 세척하는 단계;
- (d) 상기 세척 후에 수득된 전분 가수 분해물을 용매에 재분산하여 재분산액을 제조하는 단계; 및
- (e) 상기 재분산액에 초음파 처리를 가하여 전분 나노 입자를 제조하는 단계;를 포함하는 고결정성 전분 나노 입자의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 (a) 단계의 전분 분산액은 전분을 산 용액에 분산시킨 후, 또는 효소 용액에 분산시킨 후, 2-60 °C에서 가수분해 반응시키는 것을 특징으로 하는 고결정성 전분 나노 입자의 제조방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 산 용액은 황산 용액 또는 염산 용액이고, 상기 산 용액의 농도는 2.2-4.8 M인 것을 특징으로 하는 고결정성 전분 나노 입자의 제조방법.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 효소 용액은 알파아밀라아제, 베타아밀라아제, 글루코아밀라아제, 아밀로글루코시다아제, 이소아밀라아제, 플루라나아제 및 알파글루코시다아제로 이루어진 군에서 선택되는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 고결정성 전분 나노 입자의 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 전분은 찹옥수수 전분, 옥수수 전분, 고아밀로즈 옥수수 전분, 쌀 전분, 찹쌀 전분, 고아밀로즈 쌀 전분, 감자 전분, 찹감자 전분, 고구마 전분, 보리 전분, 찹보리 전분, 콩 전분, 밀 전분, 찹밀 전분, 사고(sago) 전분, 아마란스 전분, 타피오카 전분, 수수(sorghum) 전분, 찹수수 전분, 바나나 전분, 녹두 전분 및 동부 전분으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 고결정성 전분 나노 입자의 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 (b) 단계의 가수분해 반응이 산 가수분해 반응인 경우에는 염기 용액을 첨가하여 가수분해 반응을 종료하거나, 또는 물에 재분산 후 원심분리하여 가수분해 반응을 종료하고,

상기 (b) 단계의 가수분해 반응이 효소 가수분해 반응인 경우에는 가수분해 반응물을 가열하여 가수분해 반응을 종료하거나, 또는 알코올을 첨가하여 가수분해 반응을 종료하는 것을 특징으로 하는 고결정성 전분 나노 입자의 제조방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 염기 용액은 수산화나트륨 용액 또는 수산화칼륨 용액이고, 상기 염기 용액의 농도는 0.5-3.16 M인 것을 특징으로 하는 고결정성 전분 나노 입자의 제조방법.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 (c) 단계는 가수분해물에 존재하는 염 및 효소를 제거하는 것을 특징으로 하고,

상기 염은 원심분리법, 역삼투압법, 증류법, 전기투석법 및 이온교환법 중에서 선택된 방법으로 제거하고, 상기 효소는 알콜로 세척하여 제거하는 것을 특징으로 하는 고결정성 전분 나노 입자의 제조방법.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 (d) 단계에서 세척 후, 전분 가수분해물을 수득하는 방법은 침전법, 원심분리법, 감압농축법 및 여과법 중에서 선택된 방법인 것을 특징으로 하는 고결정성 전분 나노 입자의 제조방법.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 (d) 단계의 재분산액의 농도는 0.1-40%인 것을 특징으로 하는 고결정성 전분 나노 입자의 제조방법.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 (e) 단계의 초음파 처리는 바-타입(Bar-type) 및 배치-타입(Batch-type)의 초음파 세척기(Ultrasonic processor)를 이용하여 10-100%의 진폭으로 2-60 °C의 온도에서 이루어지는 것을 특징으로 하는 고결정성 전분 나노 입자의 제조방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항에 따른 제조방법에 따라 제조된 고결정성 전분 나노 입자로서,

상기 (a) 단계에서 산 가수분해 반응을 수행하여 제조된 전분 나노입자는 50-90 nm 크기의 결정성 입자이고,

상기 (a) 단계에서 효소 가수분해 반응을 수행하여 제조된 전분 나노입자는 400-600 nm 크기의 결정성 입자인 것을 특징으로 하는 고결정성 전분 나노 입자.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 산 또는 효소의 가수분해와 초음파 처리를 통하여 고결정성 전분 나노 입자를 높은 수율로 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 전분(Starch)은 식물체 저장 탄수화물이며 식품 성분으로서 인체 및 동물의 에너지원으로 활용된다. 식품 외에도 전분은 의약, 제지, 화장품 등 산업 전반에서 다양하게 활용되어 왔으며, 현재는 합성 고분자를 대체 및 보완하는 친환경적 소재로 주목을 받고 있으며, 다양한 분야에서의 생분해성 신소재로서 잠재 가능성을 보이고 있다.

[0003] 하기 도 1에서 보는 바와 같이, 전분은 아밀로펙틴 사슬이 규칙적으로 배열되어 있는 클러스터(cluster)와 아밀로즈 사슬이 불규칙적으로 분산되어 있는 입자 구조를 이루고 있으며, 식물체의 종류에 따라 입자의 결정성 및 형태가 달라지는 특성을 보인다.

[0004] 이러한 전분 입자 내부는 결정형과 무정형 영역이 교차로 배열되어 형성된 구조물인 'Blocklets'으로 구성되어 있으며, 이는 전분의 출처나 입자 내부의 위치에 따라 20-500 nm의 나노 영역의 크기를 갖는다(Gallant 등,

1997). 최근 묶은 산 용액으로 전분 입자를 선택적 분해하여 판형 나노 입자를 분리한 연구가 발표되었다 (Putaux 등, 2003; Angellier 등, 2004). 이들은 높은 결정성을 가져 poly[styrene-co-(butylacrylate)]의 강화효과를 보이며 (Dufresne 등, 1998), 천연 고무에 첨가되어 강도가 수십 배 높아지는 탁월한 효과를 나타냈다 (Angellier 등, 2006). 이러한 전분 나노 입자의 대부분은 Blocklets에서 유래되었다고 볼 수 있다.

[0005] 하지만, 전분 나노 Blocklets에 대한 연구는 아직 걸음마 단계이며 산업적 활용을 위해서 이들 Blocklets의 효율적 회수 공정이 확립되어야 하며, 구조 및 다양한 특성에 대한 기초적 연구가 절실히 필요한 실정이다.

[0006] 종래 발표된 산 또는 효소 가수분해 방법은 나노 Blocklets의 회수율이 무척 낮고(20% 이하), 회수된 나노 입자의 결정성이 부분적으로 파괴되어 독립된 입자 개체로 얻기가 어려우며 공정시 수화된 상태로 존재하여 서로의 엉김 현상이 불가피한 특성을 보인다.

[0007] 이러한 한계점들은 가수분해 공정 조건의 조절 및 적절한 초음파처리를 통해 개선할 수 있다. 과도한 가수분해 예를 들어 고온에서 장시간 동안 전분의 가수분해를 진행할 경우 전분 내에 존재하는 결정형 영역(crystalline region)의 분해가 일어나며 회수율도 상당히 낮아져 식품, 화장품 등의 다양한 분야에서 소재로서 전분 나노 입자의 활용 범위가 좁아진다. 한편 초음파 에너지는 cavitation 과정을 통해 전분 사슬로 유입된다. 이러한 cavitation에 의해 제공되는 에너지는 10-100 kJ/mol로 수소 결합 에너지 범위 내에 있어(Tischer 등, 2010) 입자들의 엉김 (aggregation)을 풀어주거나 사이즈를 줄이고 다분산지수 값을 낮추는데 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(Grieser 등, 1999).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 이에 본 발명자들은 기존의 전분 나노 입자 제조 방법의 문제점으로 지적되어 왔던 가수분해 도중 결정성 파괴 및 낮은 수율을 개선하기 위하여 산 또는 효소 가수분해를 이용하여 전분 입자의 구조를 부분적으로 제거하여 물리적 처리에 의해 쉽게 나노입자를 제조할 수 있는 공정을 개발하였다.

[0009] 따라서, 본 발명은 가수분해 반응 조건을 조절함과 동시에 초음파 처리를 병행하여 입자의 결정성이 유지된 상태로 높은 수율로 전분 나노입자를 제조하는 방법으로 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은 상기 과제를 해결하기 위하여, 하기 단계를 포함하는 고결정성 전분 나노 입자의 제조방법을 제공한다.

[0011] (a) 전분 분산액을 산 또는 효소로 가수분해 반응시키는 단계,

[0012] (b) 상기 가수분해 반응을 종료하고, 전분 가수 분해물을 수득하는 단계,

[0013] (c) 상기 수득된 전분 가수 분해물을 세척하는 단계,

[0014] (d) 상기 세척 후에 수득된 전분 가수 분해물을 용매에 재분산하여 재분산액을 제조하는 단계,

[0015] (e) 상기 재분산액에 초음파 처리를 가하여 전분 나노 입자를 제조하는 단계.

[0016] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 (a) 단계의 전분 분산액은 전분을 산 용액에 분산시킨 후, 2-60 ℃에서 가수분해 반응시키거나, 또는 전분을 효소 용액에 분산시킨 후, 2-60 ℃에서 가수분해 반응시킬 수 있다.

[0017] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 산 용액은 황산 용액 또는 염산 용액일 수 있으며, 상기 산 용액의 농도는 2.2-4.8 M일 수 있다.

[0018] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 효소 용액은 알파아밀라아제, 베타아밀라아제, 글루코아밀라아제, 아밀로 글루코시다아제, 이소아밀라아제, 플루라나아제 및 알파글루코시다아제로 이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있다.

[0019] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 전분은 찹옥수수 전분, 옥수수 전분, 고아밀로즈 옥수수 전분, 쌀 전분, 찹쌀 전분, 고아밀로즈 쌀 전분, 감자 전분, 찹감자 전분, 고구마 전분, 보리 전분, 찹보리 전분, 콩 전분, 밀 전분, 찹밀 전분, 사고(sago) 전분, 아마란스 전분, 타피오카 전분, 수수(sorghum) 전분, 찹수수 전분, 바나나 전분, 녹두 전분 및 동부 전분으로 이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있다.

- [0020] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 (b) 단계의 가수분해 반응이 산 가수분해 반응인 경우에는 염기 용액을 첨가하여 가수분해 반응을 종료하거나, 또는 물에 재분산 후 원심분리하여 가수분해 반응을 종료할 수 있으며,
- [0021] 또한, 상기 (b) 단계의 가수분해 반응이 효소 가수분해 반응인 경우에는 가수분해 반응물을 가열하여 가수분해 반응을 종료하거나, 또는 알코올을 첨가하여 가수분해 반응을 종료할 수 있다.
- [0022] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 염기 용액은 수산화나트륨 용액 또는 수산화칼륨 용액일 수 있으며, 상기 염기 용액의 농도는 0.5-3.16 M일 수 있다.
- [0023] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 (c) 단계는 가수분해물에 존재하는 염 및 효소를 제거하는 것으로서, 상기 염은 원심분리법, 역삼투압법, 증류법, 전기투석법 및 이온교환법 중에서 선택된 방법으로 제거할 수 있고, 상기 효소는 알콜로 세척하여 제거할 수 있다.
- [0024] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 (d) 단계에서 세척 후, 전분 가수분해물을 수득하는 방법은 침전법, 원심분리법, 감압농축법 및 여과법 중에서 선택된 방법일 수 있다.
- [0025] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 재분산액의 농도는 0.1-40%일 수 있다.
- [0026] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 (e) 단계의 초음파 처리는 바-타입(Bar-type) 및 배치-타입(Batch-type)의 초음파 세척기(Ultrasonic processor)를 이용하여 10-100%의 진폭으로 2-60 °C의 온도에서 이루어질 수 있다.
- [0027] 또한, 본 발명은 상기 제조방법에 따라 제조된 고결정성 전분 나노 입자로서, 상기 산 가수분해 반응을 수행하여 제조된 전분 나노입자는 50-90 nm 크기의 결정성 입자이고, 상기 효소 가수분해 반응을 수행하여 제조된 전분 나노입자는 400-600 nm 크기의 결정성 입자인 것을 특징으로 하는 고결정성 전분 나노 입자를 제공한다.

발명의 효과

- [0028] 본 발명에 따르면, 높은 수율로 고결정의 전분 나노 입자를 제조할 수 있고, 이에 의하여 제조된 전분 나노입자는 고분자 매트릭스의 보강제, 충전제 등으로 활용이 가능하고, 의약, 화장품 또는 식품 신소재 등 다양한 분야에서 효과적으로 활용될 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [0029] 도 1은 전분 입자의 구조에 대한 개념도이다.
- 도 2a는 본 발명의 일 실시예에 따라 산 가수분해 후 회수된 전분 가수분해물의 열적 특성을 나타낸 그래프이다.
- 도 2b는 본 발명의 일 실시예에 따라 산 가수분해 후 회수된 전분 가수분해물의 수율을 나타낸 그래프이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따라 효소 가수분해 후 회수된 전분 가수분해물의 가수분해율을 나타낸 그래프이다.
- 도 4a는 산 가수분해로 수득된 전분 가수분해물을 재분산하여 초음파처리하여 제조한 나노입자의 입도 분포의 변화양상을 나타낸 그래프이다.
- 도 4b는 효소 가수분해로 수득된 전분 가수분해물을 재분산하여 초음파처리하여 제조한 나노입자의 입도 분포의 변화양상을 나타낸 그래프이다.
- 도 5a는 산 가수분해로 수득된 전분 가수분해물을 재분산하여 초음파처리하여 제조한 나노 입자의 SEM 이미지이다.
- 도 5b는 효소 가수분해로 수득된 전분 가수분해물을 재분산하여 초음파처리하여 제조한 나노 입자의 SEM 이미지이다.
- 도 6a는 산 가수분해로 수득된 전분 가수분해물을 재분산하여 초음파처리하여 제조한 나노 입자의 X선 회절 패턴 및 열적특성을 나타낸 그래프이다.
- 도 6b는 효소 가수분해로 수득된 전분 가수분해물을 재분산하여 초음파처리하여 제조한 나노 입자의 X선 회절 패턴 및 열적특성을 나타낸 도표이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0030] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0031] 본 발명은 고결정성 전분 나노입자를 제조하는 방법에 관한 것으로서, 가수분해 반응 과정과 초음파 처리 공정을 통하여 제조되는 것을 특징으로 하고, 하기 단계를 포함하는 것으로 특징으로 한다.
- [0032] (a) 전분 분산액을 산 또는 효소로 가수분해 반응시키는 단계,
- [0033] (b) 상기 가수분해 반응을 종료하고, 전분 가수 분해물을 수득하는 단계,
- [0034] (c) 상기 수득된 전분 가수 분해물을 세척하는 단계,
- [0035] (d) 상기 세척 후에 수득된 전분 가수 분해물을 용매에 재분산하여 재분산액을 제조하는 단계,
- [0036] (e) 상기 재분산액에 초음파 처리를 가하여 전분 나노 입자를 제조하는 단계.
- [0037] 본 발명에 따른 고결정성 전분 나노입자를 제조하는 방법을 단계별로 보다 상세하게 설명한다.
- [0038] 먼저, (a) 전분 분산액을 산 가수분해 또는 효소 가수분해시키는 단계에서는 전분을 산 용액 또는 효소 용액에 분산시킨 후, 분산액의 온도를 일정하게 유지시켜 줄 수 있는 곳에서 지속적으로 교반시켜 주는 방법으로 할 수 있다.
- [0039] 전분은 $(C_6H_{12}O_6)_n$ 의 분자식을 가지며 다수의 α -글루코오스 분자가 글리코시드 결합에 의해 중합된 천연 고분자로서, 주로 식물의 종자나 뿌리 등에 많이 포함되어 있다.
- [0040] 본 발명에서의 전분은 식물에서 직접 추출할 수 있으며, 상업적으로 판매되는 것을 구입하여 사용할 수도 있다.
- [0041] 상기 전분은 예를 들어, 찹옥수수 전분, 옥수수 전분, 고아밀로즈 옥수수 전분, 쌀 전분, 찹쌀 전분, 고아밀로즈 쌀 전분, 감자 전분, 찹감자 전분, 고구마 전분, 보리 전분, 찹보리 전분, 콩 전분, 밀 전분, 찹밀 전분, 사고 전분, 아마란스 전분, 타피오카 전분, 수수 전분, 찹수수 전분, 바나나 전분, 녹두 전분, 동부 전분 등일 수 있다.
- [0042] 본 발명의 바람직한 구현예에 의하면, 상기 전분은 산 가수분해의 경우에는 99% 이상의 아밀로펙틴 함량을 보이는 찹옥수수 전분이 바람직하고, 효소 가수분해의 경우에는 찹쌀 전분이 바람직하다.
- [0043] 상기 전분 분산액은 전분을 묽은 산 또는 효소 용액에 분산시켜 수득할 수 있다.
- [0044] 상기 전분용액의 제조에 사용되는 산은 전분 가수분해 능력이 있는 산이면 어떤 산이든 가능하나, 황산 (H_2SO_4) 또는 염산 (HCl)일 수 있으며, 다양한 농도로 희석되어 사용될 수 있다. 바람직하게는 2.2 내지 4.8M 일 수 있다.
- [0045] 상기 효소 또한 전분 가수분해 능력이 있는 효소면 어떤 효소든 가능하며 예를 들어, 알파아밀라아제, 베타아밀라아제, 글루코아밀라아제, 아밀로글루코시다아제, 이소아밀라아제, 플루라나아제, 알파글루코시다아제 등일 수 있다.
- [0046] 본 발명의 바람직한 구현예에 의하면, 산 용액은 3.16 M의 농도로 희석된 황산용액이 바람직하고, 효소 용액은 알파아밀라아제를 포함하는 효소용액(20 mM 인산나트륨 버퍼용액)이 바람직하다.
- [0047] 또한, 가수분해 반응 온도는 전분을 효과적으로 가수분해시킬 수 있으면서 동시에 호화를 억제하는 온도라면 특별히 제한되지 않으나, 바람직하게는 2 내지 60 °C이며 가장 바람직하게는 4 °C이다.
- [0048] 또한, 가수분해시에 교반 속도는 전분이 가라앉지 않을 정도의 교반속도라면 특별히 제한되지 않는다.
- [0049] 다음으로, (b) 상기 가수분해 반응을 종료하는 단계는 우선, 전분의 가수분해가 더 이상 진행되지 않도록 하는 것을 특징으로 한다.
- [0050] 이와 같은 가수분해 반응을 종료하는 방법은 상기 제조된 전분 용액의 가수분해를 유도하지 않는 것이면 특별히 제한되지 아니하며, 예를 들어 산 가수분해의 경우에는 염기성 용액을 이용하거나 물에 재분산 후 반복된 원심

분리 과정을 통해서 산성 물질을 제거하거나, 또는 투석(dialysis) 등의 방법을 이용할 수 있다.

- [0051] 본 발명의 바람직한 구현예에 의하면, 염기성 용액을 이용하여 중화하여 가수분해 반응을 종료시키는 것이다. 상기 염기는 수산화나트륨 (NaOH), 수산화칼륨 (KOH)일 수 있으며, 염기 용액의 농도는 0.5 내지 3.16 M일 수 있다.
- [0052] 본 발명의 바람직한 구현예에 의하면, 상기 염기 용액은 1.0 M의 농도로 희석된 수산화나트륨(NaOH)일 수 있다.
- [0053] 또한, 효소 가수분해의 경우에는 효소를 불활성화시킬 수 있는 가열방법 또는 알콜 첨가 등의 방법에 의할 수 있다. 바람직하게는 에탄올 용액을 첨가하여 가수분해 반응을 종료할 수 있다.
- [0054] 다음으로, (c) 전분 가수분해물을 세척하는 단계는 가수분해 반응을 종료하는 과정 중 새롭게 생성된 물질 또는 가수분해 반응 과정 중에 사용된 물질을 제거하여 순수한 전분 가수분해물을 수득하기 위한 단계이다.
- [0055] 산 가수분해 후 진행된 중화 과정으로 생성된 염을 제거하는 방법으로는 물에 용해시킨 후 원심분리하는 방법, 역삼투압법, 증류법, 전기투석법, 및 이온교환법 등으로 할 수 있으며, 바람직하게는 원심분리 과정을 통해 상등액에 용해되어 빠져 나오는 염을 제거하는 과정을 2회 반복하는 방법을 수행한다.
- [0056] 또한, 효소 가수분해 중 사용된 효소는 다양한 용매, 예를 들어 물, 에탄올 등을 통해 제거할 수 있으며 바람직하게는 50% 에탄올을 이용하여 2회 세척하는 방법으로 제거될 수 있다.
- [0057] 세척 후에, 순수한 전분 가수분해물을 회수하는 방법은 상기 제조된 전분입자들을 회수할 수 있는 방법이면 특별히 제한되지 아니하며 침전, 원심분리, 감압농축, 여과 등으로 할 수 있다.
- [0058] 본 발명의 바람직한 구현예에 의하면, 원심분리 방법을 통하여 순수한 가수분해물을 회수하고, 500-25,000 rpm에서 수행할 수 있으며, 바람직하게는 10,000 rpm에서 10분 동안 원심분리한다.
- [0059] 다음으로 (d) 회수된 전분 가수분해물을 용매에 재분산하여 재분산액을 제조하는 단계에서는 분산 용매로 물, 에탄올, 메탄올 등 다양한 용매를 사용할 수 있다.
- [0060] 회수된 전분 가수분해물은 다양한 용매에 재분산하여 초음파 처리에 사용될 수 있으며, 바람직하게는 물을 이용하여 재분산한다.
- [0061] 또한, 재분산 용액의 농도는 초음파 처리를 할 수 있는 정도의 농도라면 특별히 제한되지 아니하며, 0.1%-40% 농도인 것이 바람직하고, 15.0% 농도인 것이 가장 바람직하다.
- [0062] 다음으로, (e) 제조된 분산액에 초음파 처리를 가하여 전분 나노 입자를 제조하는 단계에서, 상기 초음파 처리의 방법은 상기 제조된 전분 용액에 존재하는 마이크로 영역대의 입자들을 나노 입자로 감소시킬 수 있는 방법으로서, Bar-type과 Batch-type의 초음파 세척기(Ultrasonic processor)를 이용하여 수행할 수 있다.
- [0063] 또한, 전분용액에 가해지는 초음파의 정도는 나노 입자의 형성이 가능하면서, 전분 고유의 결정형 영역(crystalline region)을 유지할 수 있어야 하는 것으로서, 20%부터 90%의 다양한 진폭에서 이루어질 수 있다.
- [0064] 또한, 온도는 전분의 호화를 유도하지 않는 범위이어야 하고, 4 내지 50 °C의 다양한 온도에서 초음파 처리가 가능하다.
- [0065] 본 발명의 바람직한 구현예에 의하면, 산 가수분해의 경우 Bar-type의 초음파 세척기를 이용하여 60%의 진폭으로 3분간 25 °C에서 초음파 처리할 수 있고, 효소 가수분해의 경우 Bar-type의 초음파 세척기를 이용하여 50%의 진폭으로 3분간 4 °C에서 초음파 처리할 수 있다.
- [0066] 상기와 같은 조건에서 본 발명에 따른 전분 나노 입자를 제조할 경우에, 고결정 전분 나노 입자를 높은 수율로 제조할 수 있고, 이는 이하의 후술하는 실시예에서도 확인할 수 있다.
- [0067] 또한, 본 발명은 초음파 처리 전에 조건을 다양화한 가수분해 과정을 통해서 무정형 영역을 제거하여 초기 전분의 결정성을 더욱 향상시킨 것을 특징으로 하고, 가수분해에 이은 초음파 처리 공정을 통하여 나노 입자를 형성한 것을 특징으로 한다.

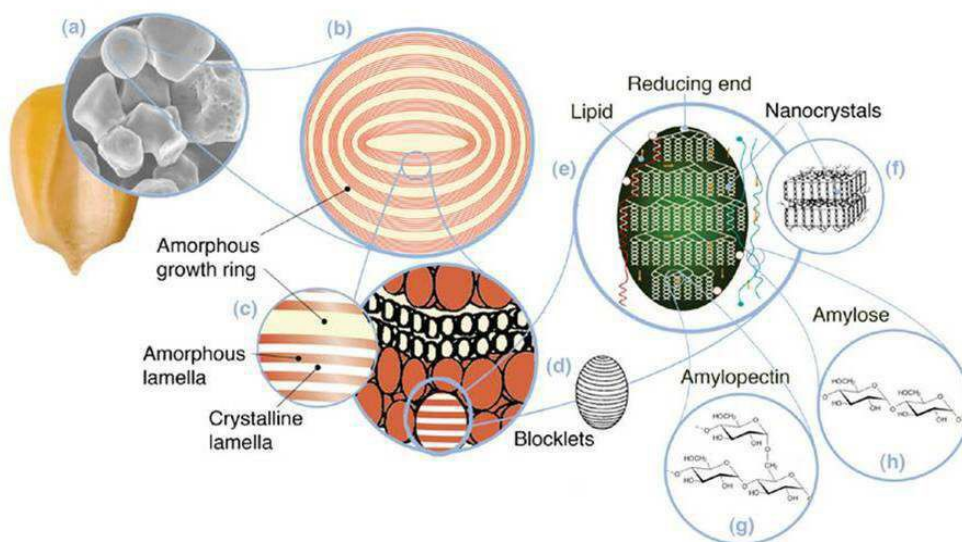
- [0068] 이러한 고결정성 나노입자는 X선 회절 패턴 분석을 통해 확인하였으며, 그 결과 본 발명에 따라 제조된 나노 전분 입자는 초음파 처리 후에도 15°, 17°, 18°, 23° 부근에서 강한 피크를 유지하는 전형적인 A-type의 결정 구조를 유지하고 있으며, 약 80%의 높은 수율을 보였다.
- [0069] 따라서, 본 발명의 제조방법에 따라 제조되는 고결정성 전분 나노입자는 고분자 매트릭스의 보강 및 대체용으로 활용이 가능하고, 또한, 단순 생분해성 고분자 충전제(filler)로서의 활용뿐 아니라 기능성 복합체, 기능성 코팅제, 화장품 소재, 식품 신소재, 지방대체제 등 다양하게 활용될 수 있다.
- [0070] 이하, 도면, 실시예 및 시험예를 들어 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예 및 시험예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이에 의하여 제한되지 않는다는 것은 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 자명할 것이다.
- [0071] 실시예 1.
- [0072] (1) 산을 이용한 가수분해 단계
- [0073] 찰 옥수수전분(Samyang Genex Inc., Seoul, Korea) 44.07 g을 3.16 M 황산(H₂SO₄)에 분산한 후 4 °C에서 200 rpm의 속도로 총 2일 내지 6일간 교반하였다. 반응을 종료하기 위해 1 M 수산화나트륨 수용액 (1,800 mL)을 첨가하였고 10,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 전분입자를 회수하였다. 회수된 전분 입자에서 중화과정 중 생성된 염을 제거하기 위하여 물로 2회 세척하였다.
- [0074] (2) 초음파 처리를 이용한 나노 전분입자 제조
- [0075] 상기 (1)에서 산 가수분해 후 회수된 전분입자(wet basis)는 15% 농도로 물에 재분산한 후에 초음파 세척기를 이용하여 60% 진폭으로 3분간 초음파 처리하였다. 초음파처리 후 원심분리(10,000 rpm, 10분)를 통해 침전물의 형태로 나노 수준의 전분 입자를 회수하였고 동결 건조하였다.
- [0076] 실시예 2.
- [0077] (1) 효소를 이용한 가수분해 단계
- [0078] 찹쌀 전분(Remyline-AX DR) 10 g을 효소 용액(20 mM 인산나트륨 버퍼용액, pH 6.9) 300 mL에 분산한 후 37 °C에서 150 rpm의 속도로 총 24 시간 동안 교반하였다. 가수분해 반응 종료를 위해 에탄올 (2,400 mL)을 첨가하였고 2,280×g로 원심 분리하여 전분입자를 회수하였다. 회수된 전분 입자에서 불활성화된 효소를 제거하기 위해 50% 에탄올을 이용하여 총 3회에 걸쳐 전분 입자를 세척하였다.
- [0079] (2) 초음파 처리를 이용한 나노 전분입자 제조
- [0080] 상기 (1)에서 효소 가수분해 후 회수된 전분입자는 35 °C 드라이 오븐에서 건조한 후 1 g(dry basis)을 50 mL 에탄올에 분산하여 50% 진폭으로 3분간 초음파 처리하였다. 그 후 3번의 50% 에탄올 세척 및 95% 에탄올 세척과정을 거쳐 40 °C 드라이 오븐에서 건조하였다.
- [0081] 실시예 3.
- [0082] 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 나노 전분입자를 제조하였고, 다만 산을 이용한 가수분해 단계에서 40 °C에서 수행한 것을 제외하고는 동일한 조건으로 수행하였다.
- [0083] 실시예 4.
- [0084] 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 나노 전분입자를 제조하였고, 다만 산을 이용한 가수분해 단계에서 4 °C와 40 °C에서 각 하루 동안 교대로 수행한 것을 제외하고는 동일한 조건으로 수행하였다.

- [0085] 실험예 1. 다양한 가수분해 온도 조건 하에서 제조된 전분 가수분해물의 열적 특성
- [0086] 하기 도 2a에서 보는 바와 같이, 다양한 가수분해 온도 (40 ℃, 4 ℃ 및 40 ℃ 교대 진행(이하, "4/40 ℃"라 한다), 40 ℃) 및 시간(2일, 4일, 6일)을 조절함으로써 초음파 처리 전 초기 전분 가수분해물의 열적 특성을 향상시킬 수 있었다.
- [0087] 시차주사열량계(DSC)를 통해 분석한 결과, 산 가수분해가 진행됨에 따라 모든 전분 가수분해물 안에 존재하는 크리스탈들의 용점이 약간씩 높아짐을 확인하였다. 이는 전분 가수분해물 안에 존재하는 더블 헬릭스들이 가수분해에 따라 더욱 견고해졌음을 나타내주는 증거이다. 나머지 온도와 달리 4 ℃에서 가수분해 한 후 얻은 가수분해물의 경우 더욱 좁은 호화 온도 범위의 피크를 나타냈으며, 이는 균일한 크기의 결정들이 존재함을 의미한다. 한편 4 ℃ 전분 가수분해물의 피크는 천연의 찹옥수수 전분의 피크와 유사한 모양이었지만 천연의 찹옥수수 전분보다 더욱 넓은 호화 온도 범위 및 더욱 높은 용점을 보였는데, 이는 산 가수분해에 기인한 결과이다. 긴 아밀로펙틴 더블 헬릭스들을 파괴하는데 요구되는 열에너지인 엔탈피 값의 경우에도 4 ℃ 전분 가수분해물의 경우 더욱 증가하였다.
- [0088] 한편 효소 가수분해를 통해 얻은 전분 가수분해물 또한 산 가수분해와 비슷한 경향을 보였으며 특히, 엔탈피의 경우 가수분해 3 시간 후 더욱 증가하였다.
- [0089] 실험예 2. 다양한 가수분해 온도 조건 하에서 제조된 가수분해물의 수율 분포도
- [0090] 하기 도 2b에서 보는 바와 같이, 회수된 가수분해물의 양은 사용된 가수분해 온도 및 시간에 따라 다양했다.
- [0091] 가수분해 온도에 따른 수율은 4 ℃ > 4/40 ℃ > 40 ℃ 순이었다. 한편 2 일 동안 가수분해 시에는 23.28%-84.01%의 수율 분포를 보였으며 6일 동안 가수분해 시에는 6.80%-77.60%로 더욱 낮은 수율을 나타냈다. 이는 더욱 극적인 조건하에서 더 많은 전분이 분해된다는 기존의 문헌 보고와 일치하는 결과이다.
- [0092] 효소 가수분해의 경우(도 3), 비교적 짧은 시간 동안 이루어졌지만 전분 내의 분해가 더욱 빠르게 진행되어 초기 6시간 이후에는 약 30%의 수율을 나타냈으며 24시간 이후에는 약 20%의 수율을 나타냈다.
- [0093] 실험예 3. 초음파 처리를 통한 나노 입자 형성유무 확인 및 특성분석
- [0094] (1) 초음파 처리에 의한 나노 입자 형성 유무 확인
- [0095] 본 발명의 나노 전분 입자의 형성은 회수된 가수분해물을 재분산하여 용액으로 제조한 후 초음파 처리를 하여 초음파 전과의 입도분포 변화양상을 통해 확인하였다.
- [0096] 그 결과 하기 도 4a에서 보는 바와 같이, 초음파 처리를 하지 않은 재분산 용액(대조군)의 경우 대부분 마이크로 영역대의 입도분포를 보이고 있었다. 특히 4 가수분해 후 얻어진 용액은 모든 입자들이 마이크로 크기로 관찰되었는데 이는 하기 도 4a에서 보는 바와 같이, 가수분해가 충분히 진행되지 못해 나타난 결과이다.
- [0097] 이와 같은 용액에 초음파 처리(60% 진폭으로 총 3분간)를 가하였을 때 마이크로 크기의 입자들이 나노 수준(약 100 nm)의 입자로 분해되었다. 초음파 처리는 전분 입자들 사이에 존재하는 강한 수소결합을 깨주는 역할과 함께 입자 자체의 사이즈를 줄여주는 역할을 하기 때문이다.
- [0098] 효소 가수분해의 경우 3시간 가수분해(하기 도 4b의 EH-3) 후 0.5 μm 와 3.6 μm 의 2가지 영역의 입도분포를 보였다.
- [0099] 이러한 결과는 하기 도 5에서 보는 바와 같이, 전자현미경을 통해서도 확인되었다. 산 가수분해와 초음파 처리를 통해 형성된 나노 입자들은 둥근 모양의 직경 50-90 nm의 분포를 보이고 있었다(도 5a).
- [0100] 한편 효소가수분해와 초음파 처리를 통해 형성된 나노 입자들은 500 nm의 비교적 큰 사이즈를 보이고 있었다(도 5b).
- [0101] (2) 나노 입자의 결정형 및 열적 특성 분석

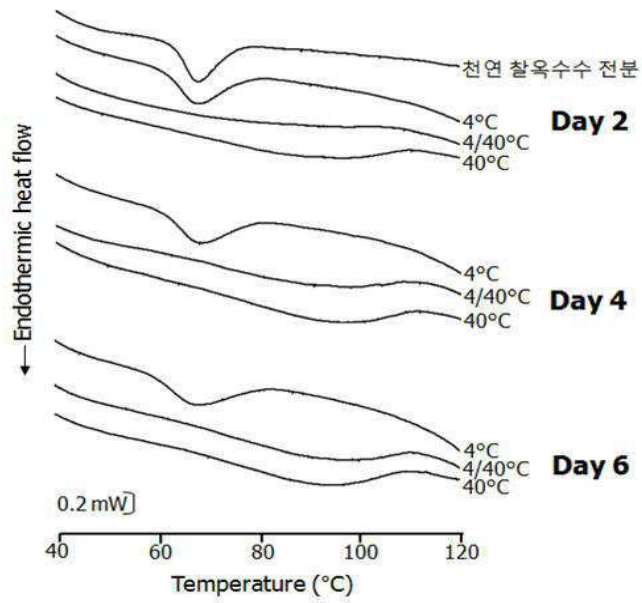
- [0102] 본 발명에 따라 제조된 나노 입자의 결정성이 초음파 처리에도 파괴되지 않고 잘 유지되고 있는지 X선 회절 패턴과 시차주사열량계 (DSC)를 통한 열적 특성을 분석하여 확인하였다.
- [0103] 그 결과 하기 도 6a에서 보는 바와 같이, 형성된 나노 입자들은 초음파 처리에도 불구하고 A-type의 결정 구조를 유지하고 있었다. 그러나 이들은 초음파 처리 전 초기 가수분해 온도에 영향을 받았다. 4/40 ℃ 및 40 ℃에 비해 4 ℃에서 가수분해가 진행된 경우 더욱 높은 결정성을 보였다. 수율 결과에 비추어 볼 때 4 ℃ 가수분해물은 다른 온도에 비해 더욱 많은 무정형영역을 가지고 있고, 따라서 초음파 처리에 의한 결정형 영역의 분해 기회를 줄여줬기 때문이다.
- [0104] 효소가수분해(3시간, EH-3) 후 초음파 처리(180초, U-180)된 나노 입자들의 경우에도 A-type의 결정 구조를 유지하고 있었다.
- [0105] 그 결과 하기 도 6b에서 보는 바와 같이, 형성된 나노 입자들은 열적 특성에 있어서도 변화를 보였다. 초음파 처리 전과 비교할 때 더욱 좁은 호화온도 범위를 가지고 있었고 크리스탈들의 용점 또한 더욱 높은 온도로 이동하였다. 이는 가수분해 도중의 전분의 구조적 변화와 함께 사슬들의 재배열을 유도하기 때문에 나타난 결과이다.

도면

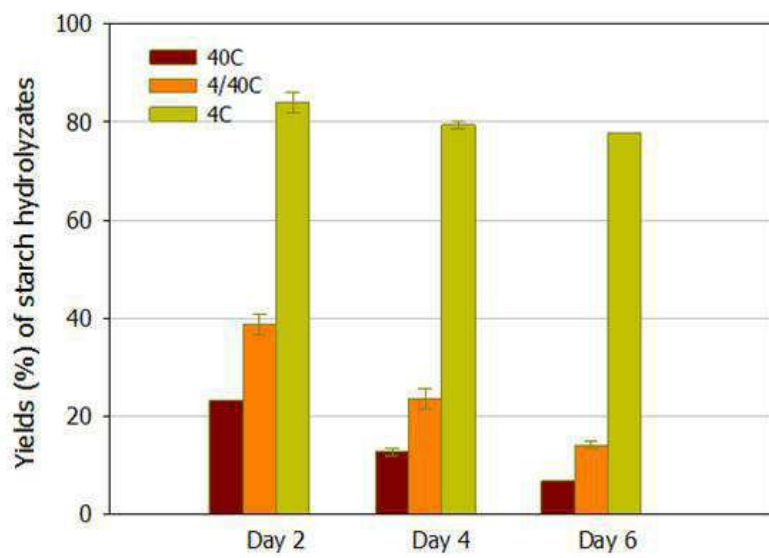
도면1



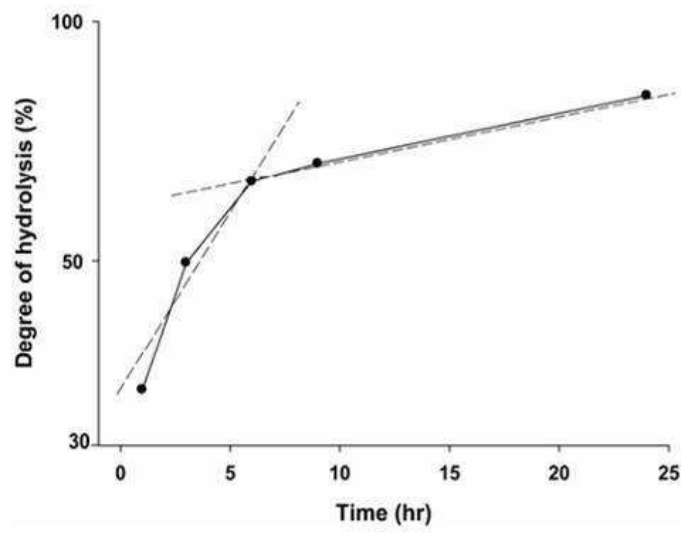
도면2a



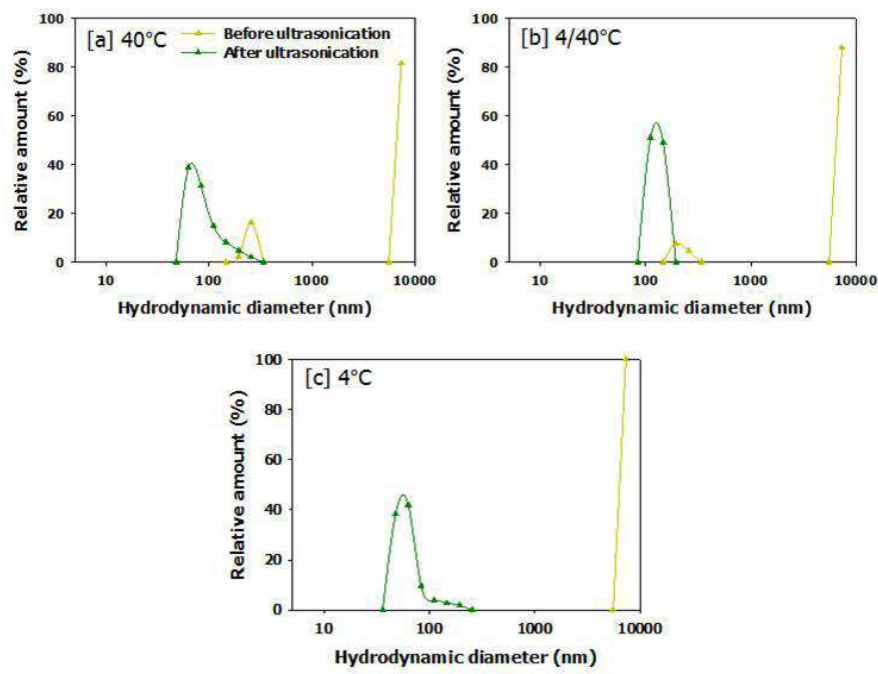
도면2b



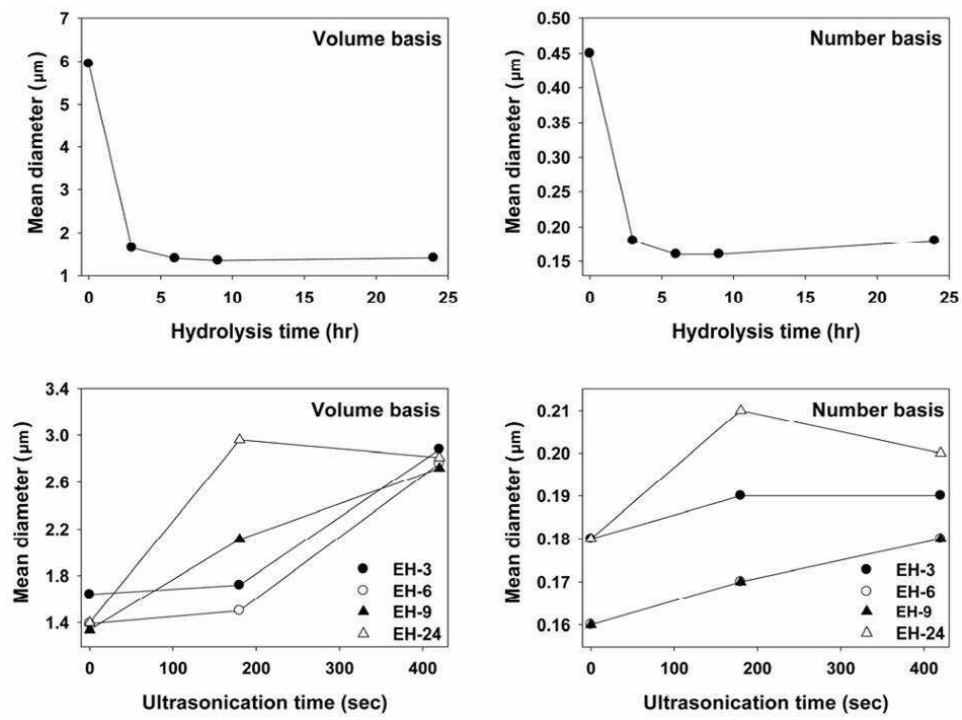
도면3



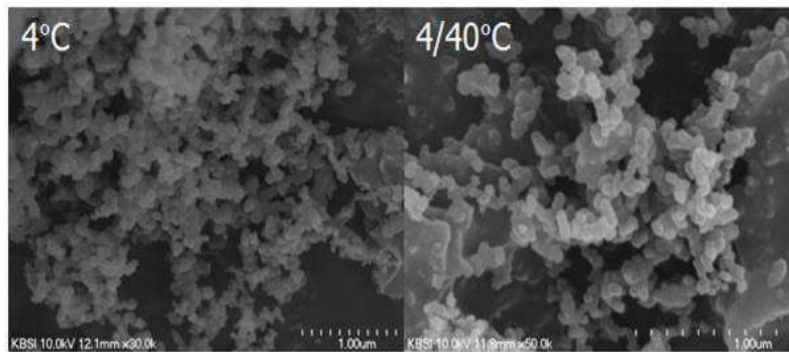
도면4a



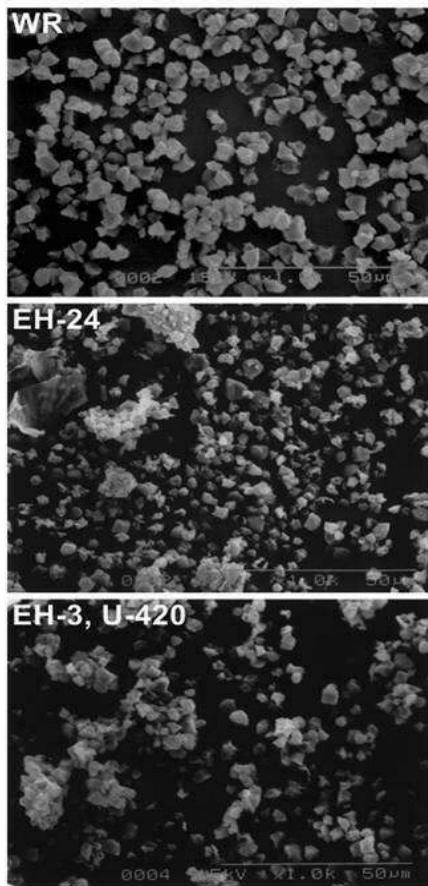
도면4b



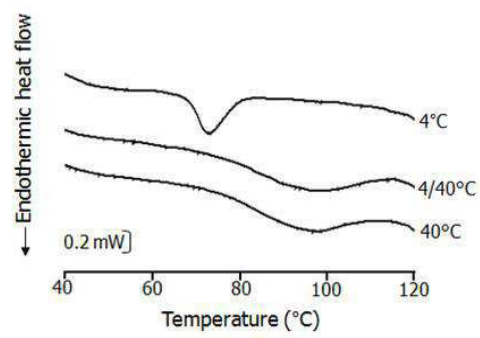
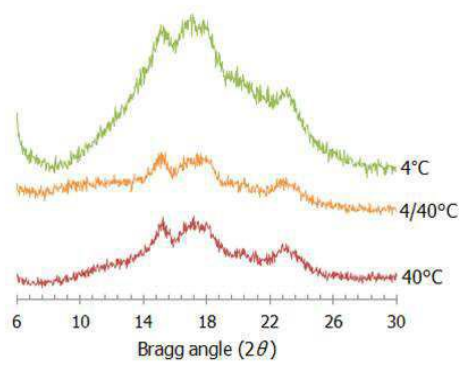
도면5a



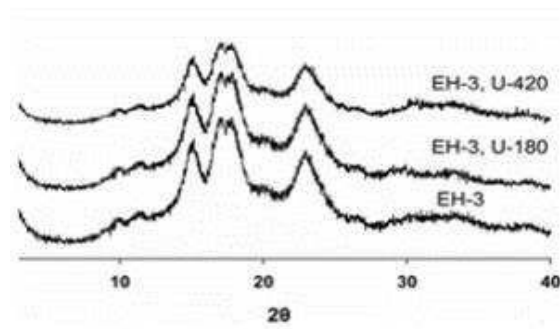
도면5b



도면6a



도면6b



Starches ^b	Melting Temperatures ^c			Melting Enthalpy ΔH (J/g)
	T_g (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	
WR	57.5e	65.8de	74.1b	14.32ed
EH-3	58.7c	65.9de	73.6be	14.80ab
EH-6	58.1d	66.5c	73.8b	14.15d
EH-9	58.8c	67.0b	73.6bc	12.48e
EH-24	55.5f	68.6a	73.5bc	6.54g
EH-3, U-60	58.3d	65.6e	73.0c	14.05d
EH-3, U-120	59.2b	67.3b	75.9a	14.56bc
EH-3, U-180	59.9a	67.2b	75.4a	15.12a
EH-3, U-420	58.2d	66.1d	72.4d	11.82f

^a Values followed by the same letter in the same column are not significantly different ($P < 0.05$).

^b Numbers of starch samples indicate time of hydrolysis (hr) and ultrasonication (sec).

^c T_g , T_p , and T_c are onset, peak, and conclusion temperatures, respectively.