

β-Galactosidase와 isoflavone의 미세캡슐화와 in vitro에서의 비배당화에 관한 연구

김남철, 전병주, 곽해수*

세종대학교 식품공학과

서 론

최근 콩을 기반으로 한 식품의 건강상의 이로움은 세계적으로 폭넓게 인식되고 있다. 콩의 유용한 성분들 중 특히 isoflavone은 식물성 에스트로겐의 기능을 하는 것으로 보고 되고 있어 이에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. Isoflavone은 플라보노이드, 항산화 작용, 혈중 콜레스테롤 저하작용, 항암작용이 있는 것으로 보고 되고 있으며 부작용이 거의 없어 안정성에서 이점을 가지고 있다¹⁾. 콩에 존재하는 isoflavone은 크게 glucoside, aglycone, acetylglucoside 그리고 malonylglucoside 4가지의 화학적 형태를 갖는데, 상대적으로 glucoside의 비율이 상당히 높은 편이다. 그러나 만성질환의 예방과 치료에는 총 isoflavone 중 약 10% 정도 존재하는 aglycone type인 genistein(0.15%), daidzein(0.007%) 이 주로 관여하는 것으로 보고 되어 있다. 이렇게 생리활성이 더욱 유리한 aglycone형태로의 전환은 주로 β-glucosidase에 의한 효소적분해와 산에 의한 가수분해에 의해 glucoside 형태인 genistin, glycitin, daidzin 등이 aglycone 형태의 genistein, glycitein, daidzein으로 전환된다²⁾. 본 연구의 전 단계 연구에서 β-galactosidase에 의한 배당형 isoflavone의 비배당형화가 긍정적으로 확인되었다. 그래서 본 연구에서는 이러한 결과를 유당불내증을 개선하고, 폐경기 여성들의 에스트로겐 분비의 감소로 인한 갱년기 질환의 예방 및 치료를 위한 기능성 우유의 개발에 적용하기위해 β-galactosidase와 isoflavone을 우유에 첨가함으로써 인해 발생할 수 있는 β-galactosidase으로 인한 유당의 분해로 우유의 단맛이 증가되는 문제와 isoflavone의 첨가로 인한 쓴맛, 콩비린내, 아린맛, 진노란 색을 방지하기 위하여 두 물질을 미세캡슐화하고, 캡슐의 in vitro에서의 안정성과 β-galactosidase에 의한 isoflavone의 비배당화를 조사하는 것에 그 목적을 두었다.

재료 및 방법

Isoflavone은 (주)태평양으로부터 구입하였으며, 수용성의 glycone 형태를 이용하였다. β

-galactosidase는 Fungal Lactase (Amano Enzyme, Inc., Japan)를 사용하였으며, 이것의 활성도는 80,000 unit/g이다. Isoflavone의 표준물질로 genistin과 daidzin은 각각 Sigma Chemical Co. 과 (주)Fujicco, Japan으로부터 구입하여 사용하였다. Coating material은 (주)일신유화에서 구입한 PGMS(polyglycerol monostearate), MCT(medium chain triglyceride)을 사용하였다. *In vitro*에서 pH와 효소에 의한 미세캡슐의 안정성을 측정하기 위해 pepsin, cholic acid, deoxycholic acid, pancreatin, lipase는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo. USA) 제품을 사용하였다. β -galactosidase와 isoflavone의 미세캡슐화를 위하여 Kwak 등의 방법을 수정 보완하여 제조하였다. 분무한 분산액에서 미세캡슐의 부용액에 존재하는 core material의 양을 측정하는 간접적 방법으로 수율을 측정하였고, *in vitro*에서 안정성조사는 인공위액의 pH(2, 3, 4, 5)와 incubation 시간(1, 2, 3시간), 인공 소장액에서의 pH(6, 7, 8, 9)와 incubation 시간(1, 2, 3시간) 따른 미세캡슐로부터 isoflavone과 β -galactosidase 방출량을 HPLC와 Spectrophotometer로 측정하였다.

결과 및 고찰

β -Galactosidase의 미세캡슐화

PGMS를 coating material로 하여 β -galactosidase를 미세캡슐화 하기위해 실온에서 거의 고체상태인 PGMS를 분무 가능한 형태로 만들어 주어야 하므로 온도를 가하고 증류수를 첨가하여 액상으로 만들어 당분해효소를 미세캡슐화하였다. β -galactosidase의 미세캡슐화를 위한 최적의 조건은 45℃에서 85.9%로 최고의 활성을 보였고, PGMS와 증류수의 비율을 5:4로 하여 coating material을 제조하고, coating material:core material의 비율을 15:1, 10:1, 5:1의 조건으로 하여 미세캡슐을 제조한 후 수율을 측정한 결과, 15:1일 때의 수율이 75.4%로 가장 높았고, 10:1일 때 63.7%, 5:1일 때 50.2%로 가장 낮았다.

Isoflavone의 미세캡슐화

Coating material인 MCT의 비율에 따른 isoflavone 미세캡슐화의 최적조건을 결정하기 위하여 Kwak 등의 방법³⁾을 수정 보완하여, 다양한 비율로 MCT와 isoflavone을 혼합한 후 미세캡슐을 제조하여 그 수율을 측정한 결과, coating material과 core material의 비율이 15:1에서 수율이 70.2%로서 가장 우수하였고 5:1일 때 57.3%, 10:1일 때 63.1%, 그리고 20:1일 때 68.6%의 수율을 보였다.

Isoflavone과 β -galactosidase 미세캡슐의 *in vitro* 안정성

pH 2, 3, 4, 5로 조정된 인공위액에서 37℃로 1시간동안 처리 후 미세캡슐화 된 β -galactosidase의 유리량은 pH 2, 3, 4, 5에서 각각 15.2, 14.7, 14.2, 12.3%로 소량 유리되었으며, 특히 pH 2, 3에서 3시간 동안 배양 후에도 16.0~17.5% 정도만 유리되어 낮은 pH 상태에서 안정성이 인정되었다. 동일한 조건에서 미세캡슐화 된 isoflavone의 유리량은 pH

2, 3, 4, 5에서 각각 9.3, 8.8, 8.4 6.3%로 β -galactosidase 보다 소량 유리되었으며, 3시간 동안 배양 후의 유리량이 12.5~15.8%로 배양시간에 따른 유리량이 β -galactosidase보다 높은 증가율을 보였다.

pH 6, 7, 8, 9로 조정된 인공 소장액에서 37°C로 1시간동안 처리 후의 미세캡슐화 된 β -galactosidase의 유리량은 pH 6, 7, 8, 9에서 각각 40.6, 78.8, 80.6, 70.6%로 많은 유리량을 나타내었으며, 3시간 동안 약간의 증가를 보였다. 특히 pH 7, 8에서 약 83%의 많은 유리량을 보여 인공소장액 상태에서 낮은 안정성을 보였다. 동일한 조건에서의 미세캡슐 isoflavone을 37°C에서 1시간 처리 후 isoflavone의 유리량은 pH 6, 7, 8, 9에서 각각 22.6, 78.3, 87.8, 73.9%로 미세캡슐 β -galactosidase와 유사한 유리량을 보였다. 3시간 동안 유리량이 약간 증가하였으며, 특히 pH 7, 8에서 배양 3시간 후에는 83~92%의 유리량을 나타내어 인공소장액 상태에서의 안정성이 매우 낮아짐이 관찰되었다(Fig. 1).

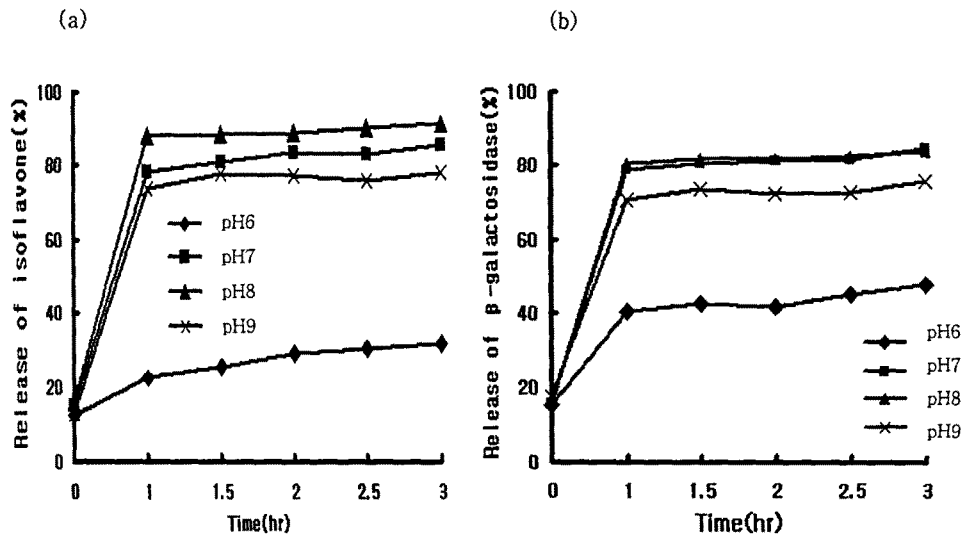


Fig. 2. Release of microencapsulated isoflavone and β -galactosidase during incubation in a simulated intestinal fluid at 37°C for 3 hrs.
 (a) microencapsulated isoflavone (b) microencapsulated β -galactosidase

인공소장에서 미세캡슐 lactase에 의한 미세캡슐 isoflavone의 가수분해 현상을 관찰하기 위하여 pH 6, 7, 8, 9로 조정된 인공소장액에서 37°C로 3시간동안 처리 시 가수분해는 반응 1시간에 control은 19.4ppm이었으며, 3시간 반응 후에도 22.6ppm으로 소폭의 증가를 보인 반면 효소반응 1시간 에서는 각각 33.6, 35.9, 36.7, 33.1ppm 으로 증가하였다. 반응 3시간에는 각각 39.2, 41.3, 48.6, 38.6ppm으로 증가를 보였으며, 특히 pH간의 차이는 비교적 차이가 없었다(Fig. 2).

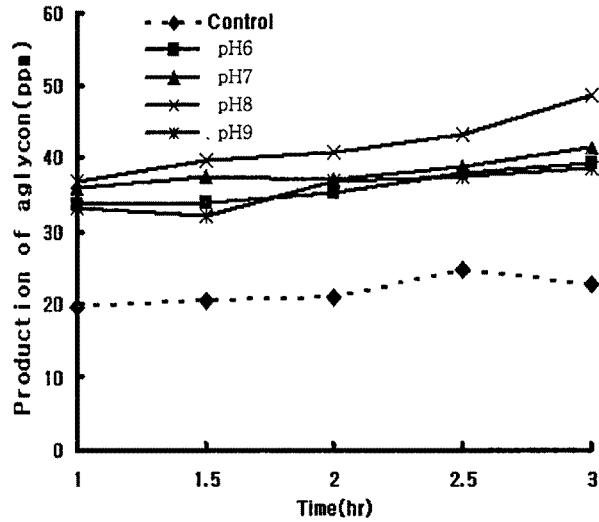


Fig. 2. Production of aglycon from hydrolysis of microencapsulated isoflavone by microencapsulated lactase in simulated intestinal fluid at 37°C for 3hrs.

요 약

본 연구는 β -galactosidase에 의한 isoflavone 배당체의 비배당화 연구를 실용화하기 위하여 바람직하지 않은 관능적 요소와 화학적 반응을 제어하기 위하여 두 물질을 미세캡슐화 하고 그것의 *in vitro* 안정성을 연구하여 기능성식품개발에 응용토록 하는데 목적을 두었다. 실험 결과, 미세캡슐화 수율이 매우 높았으며, 인공위액 상태에서의 안정성은 높은 반면에, 인공 소장액 상태에서의 안정성이 매우 낮았다. 또한 인공소장액에서 유리된 β -galactosidase에 의한 유리 isoflavone의 비배당화율이 약 75% 정도로 관찰되었다. 결과적으로 판단해 볼 때, isoflavone과 β -galactosidase의 미세캡슐화를 통한 소화기 내에서의 비배당화와 흡수율을 극대화하는데 매우 긍정적인 가능성을 보였다.

참 고 문 헌

- 1) Kim SD., et al. (1996) RDA J Crop Sci. 40(2): 102-106
- 2) Matsuta M., et al. (1993) J. Food Chem. 58: 144-147
- 3) Kwak HS., et al. (2003) Arch. Pharm. Res. 26(5): 427-432