

# 칡 유래 isoflavone의 미세캡슐에 관한 연구

석진석 · 김덕한  
세종대학교 생명공학부 식품공학과

## Microencapsulation of Isoflavone Derived from Pueraria

J. S. Seok · D. H. Kim  
Department of Food Science and Technology, Sejong University

### ABSTRACT

This study was carried out to investigate the addition of Pueraria derived isoflavone into milk by means of microencapsulation technique. The yield, microencapsulation sensory attributes, and capsule stability of Pueraria derived isoflavone microcapsules in milk were measured during 12 days. Coating materials used was polyglycerol monostearate (PGMS). The encapsulation yield of Pueraria derived isoflavone was 72.5 % with PGMS when the ratio of coating material to core material was 15 : 1. The rate of Pueraria derived isoflavone release was 15, 20, and 25% when stored at 4, 20, and 30°C for 12 days in milk, respectively. In sensory evaluation, beany flavor and color of microencapsulated Pueraria derived isoflavone added milk were significantly different from control and uncapsulated Pueraria derived isoflavone added milk, however, bitterness was not significantly different. *In vitro* study, microcapsules of Pueraria derived isoflavone in simulated gastric fluid with the range of 3 to 6 pHs were released 3.0 ~ 15.0%, however, the capsules in simulated intestinal fluid with pH 7 were released 95.7% for 40 min incubation time. In conclusion, this study provided that PGMS as coating materials was suitable for the microencapsulation of Pueraria derived isoflavone, and the capsule containing milk was not affected with sensory attribute.

(Keyword : Microencapsulation, PGMS, Pueraria, Sensory evaluation)

### I. 서론

천연물에 존재하는 isoflavone은 genistein, daidzein, formononetin, biochanin A, genistin, daidzin 등이 있으며, 정도에 따라서 차이는 있지만 모두 약한 estrogen 활성을 가지고 있다. 특히 대두(soybean)와 칡(pueraria)에는 genistein과 daidzein의 배당체인 genistin과 daidzin이

Corresponding author : J. S. Seok, Dept. of Food Science and Technology, Sejong University, 98 Kunja-dong, Kwangjin-ku, Seoul, 143-747, Korea

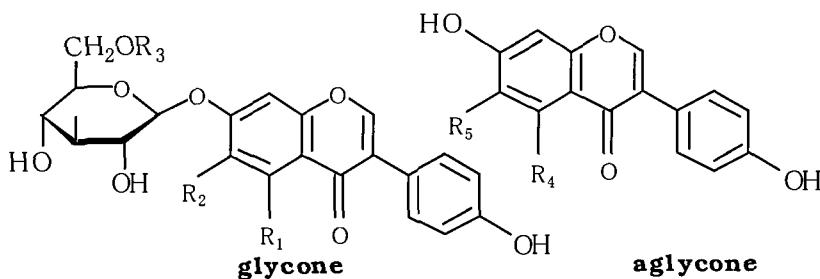
풍부한 것으로 알려져 있다.

칡은 우리나라의 전통식품으로 그 이용 유래가 깊을 뿐 아니라 당분, 섬유질, 단백질, 철분, 인, 비타민 등의 영양성분과 생리활성 물질을 함유하고 있어 영양학적 및 한방학적으로 많이 사용되고 있다. 특히, 칡에서 isoflavone, oligosaccharide, 저분자 peptide, phytate, 식이섬유, 식물성 sterols, phenol 성분, saponin 등 생리활성 물질들의 기능성이 밝혀지면서 기능성 식품으로도 주목 받는 식품이다<sup>(1-3)</sup>. 이들 생리활성 물

짙은 암, 동맥경화, 골다공증, 당뇨 등 만성질환의 예방과 일부치료 효과가 있는 것으로 증명되고 있으며, 또 한 장내의 유익한 미생물의 번식을 돋고 음주 후 혈중 알코올 농도의 조절작용을 하는 것으로도 알려져 있다. 이중 최근 항암(유방암 또는 전립선암 등), 동맥경화예방, 골다공증예방, 혈중알코올 농도조절의 효과가 있는 것으로 밝혀져 이런 만성질환 예방에 가장 주목을 받고 있는 isoflavone은 식물체에 들어있는 색소

(anthocyanin)의 한 종류인 phenol계 화합물의 배당체로써 대두와 칡 중에 많이 함유되어 있다<sup>4)</sup>.

Isoflavone은 Figure 1과 같이 daidzin과 genistin으로 대부분 존재하지만, 대두-발효식품의 경우와 가열식품의 경우에 미생물의  $\beta$ -glucosidase와 가열처리에 의해 당시 분해된 aglycone의 함량이 높은 것으로 보고되어 있다<sup>5-8)</sup>. 그러나 만성질환의 예방과 치료에는 전체 isoflavone 중 약 10% 정도의 비율로 존재하는 aglycone



compound	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Daidzin	H	H	H
Glycitin	H	OCH <sub>3</sub>	H
Genistin	OH	H	H
6"-O-acetyl daidzin	H	H	COCH <sub>3</sub>
6"-O-acetyl glycitin	H	OCH <sub>3</sub>	COCH <sub>3</sub>
6"-O-acetyl genistin	OH	H	COCH <sub>3</sub>
6"-O-malonyl daidzin	H	H	COCH <sub>2</sub> COOH <sub>2</sub>
6"-O-malonyl glycitin	H	H	COCH <sub>2</sub> COOH <sub>2</sub>
6"-O-malonyl genistin	OH	H	COCH <sub>2</sub> COOH <sub>2</sub>
6"-O-succinyldaidzin	H	H	COCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH
6"-O-succinylglycitin	H	OCH <sub>3</sub>	COCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH
6"-O-succinylgenistin	OH	H	COCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH

compound	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
Daidzein	H	H
Glycitein	OH	H
Genistein	H	OCH <sub>3</sub>

Fig. 1. Chemical structures of the isoflavone.

type인 genistein(0.15%), daidzein(0.007%)이 주로 판여하는 것으로 보고되어 있다<sup>8)</sup>. Daidzein은 골다공증 예방과 혈중 알코올 농도상승을 억제하는 효과가, genistein은 여성의 성호르몬인 estrogen과 관련된 암 즉, 유방암, 자궁암, 전립선암 등의 암세포 증식을 억제하는 것으로 알려져 있다. 또한 genistein의 골다공증과 순환기 질환의 예방 및 내출증에도 효과가 있음이 증명된 바 있으며, 암세포의 증식 신호전달에 중요한 역할을 하는 tyrosine protein kinase의 작용을 억제하고 estrogen 수용체에 약하게 결합한다고 보고되었다<sup>11-18)</sup>.

또한成年기 이후 여성에게는 genistein이 약한 estrogen 활성을 나타내므로 골다공증 예방의 한 방법으로 콩에 함유되어 있는 isoflavone의 섭취에 대한 연구가 이루어지고 있다<sup>9,11)</sup>.

일반적으로 Isoflavone의 분리정제는 Cho<sup>(5)</sup>의 보고와 같이, 단백질을 제거 시킨 후 isoflavone 분리 시 용매추출 후 ion-exchange chromatography, absorption chromatography를 이용하여 분리정제 하며, absorption chromatography에서 사용한 resin은 pinoresinol 배당체의 단리/정제에도 사용된<sup>(10)</sup> Amberlite XAD-2가 사용되고 있다.

우유는 단백질, 지질, 당질, 비타민, 미네랄 등 사람에게 꼭 필요한 영양소의 전부를 균형있게 함유하고 있기 때문에 자주 완전식품이라고도 불린다<sup>29)</sup>. 우유에는 대부분의 영양소를 끌고온 함유하고 있지만, 다른 영양소에 비해 철분의 함량(0.53mg/kg)은 비교적 낮다. 또한 칼슘이 같은 다양한 생리활성물질도 많이 함유하고 있지만, 폐경기 이후에는 이러한 칼슘이 뼈 생성에 활용되지 않는다. 그것은 폐경기 이후의 여성 호르몬인 estrogen 부족이 원인이며, 이러한 점을 극복하기 위해서 식물성 여성호르몬의 기능을 가진 isoflavone을 첨가하면 우유내의 영양성분과 더불어 폐경기 이후의 여성의 골다공증 예방과 치료에 효과가 예상된다<sup>14,15)</sup>.

Isoflavone을 식품에 직접 첨가할 경우 Isoflavone 특유의 색의 변화, 이미, 이취를 발생시키며, 식품 본래의 품질을 저하시킬 가능성이 있다. 이러한 점들을 방지하는 방법으로 예전부터 미세캡슐화(microencapsulation) 기술을 사용하여 왔다<sup>21,22)</sup>. 캡슐화 기술은 고체, 액체, 기체상의 물질인 핵물질(core material)을 특정 조건하

에서 조절된 속도로 내용물을 방출할 수 있도록 괴복물질(coating material)로 포장하는 기술이며 이 미세포장 단위를 미세캡슐이라고 하며 직경은 수  $\mu\text{m}$ 에서 수 mm로 다양하다. 미세캡슐화 방법에는 spray drying, spray chilling, spray cooling, freeze drying, extrusion, coacervation 등<sup>(22-28)</sup>이 있으며 이들 방법은 식품산업 분야에서 광범위하게 쓰인다.

폐경기 여성들의 골다공증을 예방하고 치유하기 위하여 부작용이 없는 식물성 estrogen인 isoflavone을 칼슘이 풍부한 우유에 첨가하는 것이 효과적이지만, 추출된 isoflavone 고유의 쓴맛, 콩비린내, 아린맛, 그리고 진노란 색깔 등으로 아직까지 우유에 첨가가 이루어지지 못하였다. 이러한 단점을 해결하기 위한 방법으로 본 연구는 우유에 isoflavone 강화를 위하여 isoflavone을 미세캡슐화하는데, 우선 coating material을 선정하고 캡슐을 위한 최적조건을 결정하여, 이를 우유에 첨가시 저장 안정성과 관능적 특성을 조사하고 체내에서 캡슐의 안정성을 관찰하기 위하여 *in vitro* 조건에서 조사하는 것을 목적으로 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험재료 및 시약

#### 1) Core material과 coating material

Core material인 40%의 칡 유래 isoflavone은 (주)아모레태평양으로부터 구입하여 저온에 보존 사용하였으며, 배당체를 함유한 glyccone의 형태를 이용하였다. Coating material은 (주)일신유화(Seoul, Korea)에서 구입한 PGMS(polyglyceride monostearate)를 사용하였고, 이들은 모두 식품첨가물 등급이었다.

#### 2) 시약 및 기기

칡 유래 isoflavone의 미세캡슐화 회수율을 측정하기 위하여 사용한 시약과, 표준물질로 사용한 genistin (4',5,7-tri hydroxyisoflavone-7-glucoside)과 daidzin (4'-hydroxyisoflavone-7-glucoside)은 각각 Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo. USA와 (주)Fujicco, Japan으로부터 구입하였다. 또한, 표준물질을 용해시키는데 사용한 DMSO(Dimethylsulfoxide)는 Sigma Chemical에서 구

입하였다. Pueraria derived isoflavone과 표준물질은 HPLC(High performance liquid chromatography, Shimazu, Japan)를 사용하여 Yi 등<sup>(36)</sup>의 방법을 수정 보완한 gradient solvent system으로 분석하였다. 분석 시 사용된 column은 Waters사(USA)의  $\mu$ -Bondapak C18 column(3.9 mm × 300 mm, 10  $\mu$ m)을 사용하였고, UV detector 및 pump gradient system은 Shimazu 사(Japan)에서 구입하였다. mobile phase로 사용한 methanol(HPLC grade)은 J.T. Baker(USA)에서 구입하였다.

## 2. 실험방법

### 1) PGMS로 coating한 미세캡슐의 제조

PGMS로 coating한 칡 유래 isoflavone의 미세캡슐 제조방법은 Figure 2와 같으며 그 내용은 다음과 같다. 칡 유래 isoflavone을 실온에서 점도가 높은 액상의 PGMS(polyglycerine monostearate)로 미세캡슐화 하기 위하여 우선 PGMS를 각각 5, 10, 15, 20g씩을 취하여 일정량의 중류수와 혼합하고 55°C에서 20분간 정착시킨 후 1,200rpm의 속도로 1분간 교반하여 spray가 가능하게 충분히 녹여주었다. 이 용액에 일정량의 칡

유래 isoflavone을 혼합하고 1,200rpm에서 1분간 교반한 후 이 혼합액을 W-300 spray gun(Wagner Spray Tech. Co. Markdorf, Germany)으로 0.05%의 Tween-60이 용해된 5°C의 분산액에 분무하고 이 분무액을 24,900×g에서 10분간 원심분리하여 캡슐화 되지 않은 상등액과 캡슐화 된 여액을 분리하고 다시 여액만을 취하여 동량의 Tween-60을 가해 캡슐화 되지 않고 남아있는 칡 유래 isoflavone을 제거하고 원심분리를 1회 더 실시하여 미세캡슐을 제조하였다<sup>(30)</sup>.

### 2) HPLC 분석

칡 유래 isoflavone의 HPLC에 의한 분석은 Yi<sup>(30)</sup>등의 방법을 수정 보완한 gradient solvent system으로 분석하였다. 분석 시 사용된 column은 Waters사(U.S.A.)의  $\mu$ -Bondapak C18 column, detector는 254 nm UV detector(Shimazu, Japan)를 사용하였으며, injection volume은 20  $\mu$ l로 하였다. mobile phase A, B는 20%, 60% methanol을 사용하였으며, solvent gradient는 시료주입후 mobile phase A를 100으로 시작하여 50분까지 mobile phase B가 100으로 직선적으로 상승 시켰으며, 그 후 60분까지 mobile phase A를 100%로 하였으며, 그 후 65분까지 mobile phase A를 100%로 유지하여 detector와 column을 안정화 시켰다.

### 3) 관능검사

미세캡슐한 칡 유래 isoflavone을 우유에 일정한 농도별로 첨가하여 일정기간(1, 3, 5, 8, 12일)동안 저장하면서 나타나는 이미와 이취의 정도, 기호도 등의 관능적 특성변화를 알아보기 위하여 실시하였다. 관능검사 요원은 우유의 맛을 구별할 수 있는 사람들을 선발한 후 일정 기간동안 훈련을 시켜 본 검사에 임하게 하였다. 관능적 특성의 평가는 평점법으로 하였으며 관능검사로 얻은 결과의 분석은 SAS<sup>(31)</sup>를 이용하여 분산분석과 최소 유의차 검정으로 통계처리 하였다.

### 4) 미세캡슐의 안정성

칡 유래 isoflavone의 안정성조사는 인공위액의 pH와 incubation 시간에 따른 미세캡슐로부터 칡 유래 isoflavone의 방출량을 측정하였으며 방법은 다음과

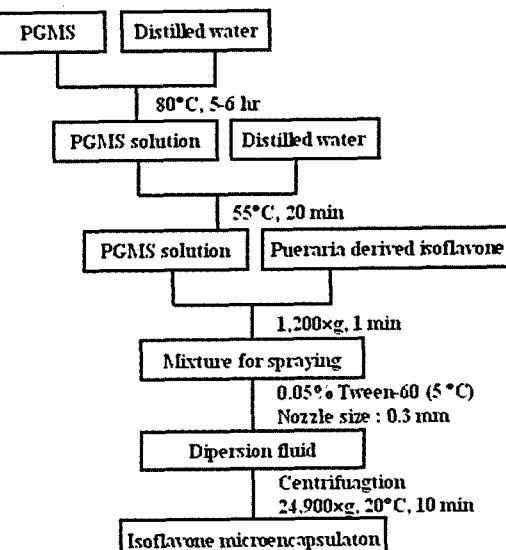


Fig. 2. Schematic diagrams of Pueraria derived isoflavone microencapsulation with polyglycerol monostearate.

같다. 우선 중류수에 미세캡슐을 첨가하고 4 ml의 pepsin 용액(pH 1.2, 1mg/ml)을 첨가한 후, 1N HCl로 각각 다른 pH 2, 3, 4, 5으로 맞춘다. 위의 용액을 각각 37°C 항온수조에서 각 시간별로(0, 20, 40, 60분) incubation<sup>(31)</sup>하면서 용액에 방출된 칡 유래 isoflavone 을 HPLC에 의해 정량한다.

인공위액으로 각각 다른 pH와 시간별로 incubation 된 용액에 0.02M cholic acid, 0.02M deoxycholic acid(bile salt), 5mg lipase를 첨가하고 pancreatin 용액(1mg/ml phosphate buffer, pH 7.4)을 첨가한다. 이 용액을 1N HCl과 NaOH로 pH를 6, 7, 8로 조정한 후 37°C에서 각 시간(0, 20, 40, 60분)별로 incubation<sup>(31)</sup>하면서 칡 유래 isoflavone을 HPLC에 의해 정량한다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 미세캡슐의 최적조건 결정

Coating material로 사용한 PGMS는 상온에서 고체이므로, Kwak 등<sup>(32)</sup>의 보고에 따라 동량의 중류수를 혼합하여 80°C에서 5시간 가온하여 녹인 후 사용하였고, Coating material의 비율에 의해서 칡 유래 isoflavone 미세캡슐화의 최적조건을 결정하기 위해 다양한 비율로 PGMS와 칡 유래 isoflavone을 혼합하여 미세캡슐화 결과를 Table 1에 나타내었다.

PGMS : 칡 유래 isoflavone의 비율이 5 : 1일 때는 미세캡슐의 수율이 51.6%, 10 : 1일 때는 58.4%, 15 : 1일 때는 70.1%, 20 : 1일 때는 52.3%로 각각의 비율에서

Table 1. Yield of microencapsulation with different ratios of PGMS and Pueraria derived isoflavone.

Ratio (w/v)		Yield (%)
PGMS <sup>1</sup>	Preraria derived isoflavone	
5	1	51.6
10	1	58.4
15	1	70.1
20	1	52.3

Means within column with different superscript letter differ( $p<0.05$ ).

Means of triplicate.

<sup>1</sup> Polyglycerine monostearate.

수율은 큰 차이가 없었으나 유의적 수준에서는 차이가 있었다. 수율이 15 : 1의 비율에서 가장 우수하였고, PGMS의 비율이 15 : 1보다 높아지거나 낮아지면 수율이 낮아지는 경향을 보였다.

#### 2. 저장기간에 의한 칡 유래 isoflavone의 유리

칡 유래 isoflavone은 우유 속에서 isoflavone 특유의 이미, 이취, 색깔의 변화를 유발하여 관능적으로 좋지 못한 척가제로 인식되어져 왔다. 본 실험에서는 칡 유래 isoflavone을 미세캡슐화하여 저장기간의 경과에 따른 칡 유래 isoflavone의 유리량을 파악하여 관능적으로 미치는 영향을 조사하였다(Figure 3). 칡 유래 isoflavone 미세캡슐의 저장을 위한 최적온도는 4°C인 것으로 판단되며, 캡슐화 isoflavone을 우유에 첨가하여 유통기간과 저장온도를 생각한다면, 캡슐화 isoflavone 을 우유에 첨가하여 유통기간 동안 이미, 이취 및 색깔의 변화문제가 발생하지 않아 안정할 것으로 사료된다.

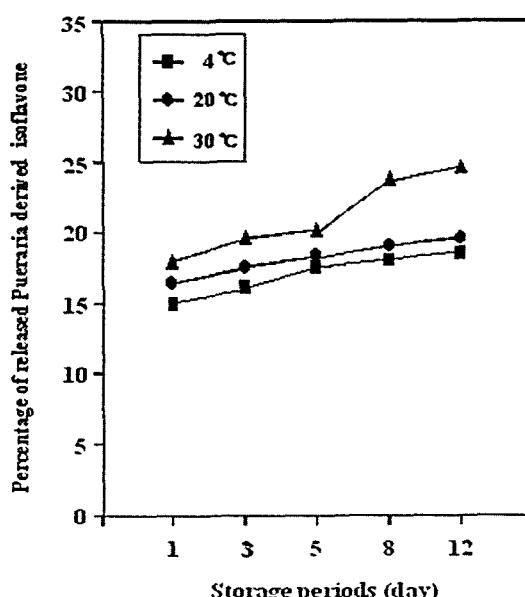


Fig. 3. Effect of different temperatures on Pueraria derived isoflavone release from microcapsules stored for 12 days.

Coating material: PGMS. Core material: Pueraria derived isoflavone. Each point represents an average of three trials. Each point indicates a standard deviation point with different are significantly different ( $p<0.05$ ).

### 3. 관능적 특성

칡 유래 isoflavone 미세캡슐을 우유에 첨가한 후 4°C에서 12일간 저장하면서 실시한 관능적 특성을 Table 2에 나타냈다. 쓴맛(bitterness)의 경우 저장기간 증가에 따른 변화는 모든 실험군에서 거의 없었다. 실험군간 차이도 저장 12일 간 크지 않았다. 이것은 칡 유래 isoflavone<sup>o</sup> coating material의 시간경과에 따른 파괴에도 다른 이취를 생성하지는 않음을 의미하며, 우유 고유의 향미에 쓴맛에 대한 관능적 변화가 없음을 의미한다.

그리고 색깔(color)의 경우 isoflavone은 고유의 갈색을 띠고 있는 특성을 지니고 있어, 저장기간 증가에 따른 캡슐화 isoflavone의 색깔변화는 관능적으로 중요한 의미를 갖는다. 비캡슐화 isoflavone은 저장기간 증가에 따라 점차적으로 갈색을 띠는 것으로 평가되었다. 특히 6일 저장 이후의 비캡슐화 isoflavone은 control에 비해 현저하게 갈색화되어 우유의 관능적 성질에 큰 유의차를 보인 반면, 캡슐화 isoflavone은 유관으로 판단하기 어려울 정도의 미묘한 유의차를 나타내었으며 9일 이후에는 관능적인 유의차를 약간 보였다. 이것은 저장기간이 길어짐에 따라 coating material의 파괴와 함께 우유 속에 녹아있던 isoflavone의 농도가 서서히 증가에 의한 것으로 사료된다.

콩비린내(beany flavor)의 경우는 비캡슐화 isoflavone

의 경우는 저장 1일부터 control과 비교하여 현저하게 유의차를 보였으며, 저장기간이 증가함에 따라 콩비린내도 증가하였다. 한편, 캡슐화 isoflavone의 경우는 control과 비교하였을 때 약간의 유의차를 보였으나, 저장기간 증가함에 따라 서서히 증가하였으며, 저장 후 3일까지는 거의 변화가 없었으며 6일이 경과하면서 서서히 증가하는 추세를 보였으나, 제품의 상태를 크게 변화시키지는 못하였으며, 미약한 콩비린내는 coating material의 파괴에 기인하는 것으로 사료되며, 기존의 isoflavone의 콩비린내가 우유 200ml에 대해 약 20mg 수준으로 첨가한 경우 관능적으로 거의 이취를 느끼지 못하는 것으로 판단된다. 캡슐화 isoflavone은 저장기간에 따라 쓴맛은 거의 변화가 없으며, 이제까지 첨가에 염려되었던 isoflavone 특유의 콩비린내와 색깔의 변화가 캡슐화 함으로써 관능적으로 거의 control과 유의차를 보이지 않아 우유에 대한 캡슐화 칡 유래 isoflavone의 첨가가 유효한 것으로 사료된다.

### 4. 미세캡슐의 안정성

미세캡슐화 isoflavone<sup>o</sup> 산성 영역의 pH와 소화효소(pepsine)의 혼합물에 의해 유리되는 isoflavone량의 조사에서는, 초기 반응시간 10분에는 모든 pH에서 유리된 isoflavone량이 3-5%로 매우 낮았으며, 반응 20분 후부터 유리되는 isoflavone량은 급격히 증가하였다

Table 2. Sensory score of different microencapsulated Pueraria derived isoflavone added milk for 12 days storage in refrigerated temperature<sup>1</sup>.

Sensory description	Condition of fortification	Storage period (day)				
		1	3	6	9	12
Beany flavor	Control	1.0 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>
	Capsulated	1.7 <sup>ab</sup>	2.0 <sup>b</sup>	2.1 <sup>b</sup>	2.4 <sup>b</sup>	2.7 <sup>b</sup>
	Uncapsulated	4.3 <sup>c</sup>	3.9 <sup>c</sup>	4.7 <sup>c</sup>	5.4 <sup>c</sup>	5.5 <sup>c</sup>
Bitter	Control	1.0 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>
	Capsulated	1.17 <sup>a</sup>	1.3 <sup>a</sup>	1.5 <sup>ab</sup>	1.7 <sup>ab</sup>	2.1 <sup>b</sup>
	Uncapsulated	1.5 <sup>b</sup>	1.4 <sup>ab</sup>	2.2 <sup>b</sup>	2.6 <sup>b</sup>	2.7 <sup>b</sup>
Color	Control	1.0 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>
	Capsulated	1.4 <sup>ab</sup>	1.6 <sup>ab</sup>	2.1 <sup>b</sup>	2.5 <sup>b</sup>	2.7 <sup>b</sup>
	Uncapsulated	4.9 <sup>c</sup>	5.3 <sup>b</sup>	5.6 <sup>a</sup>	5.45 <sup>ab</sup>	5.9 <sup>a</sup>

The scale of score: 1, none; 3, slight; 5, moderate; 7, slightly strong; 9, strong. Means of duplicate. Means in a column without the same letter are significantly different ( $p<0.05$ ).

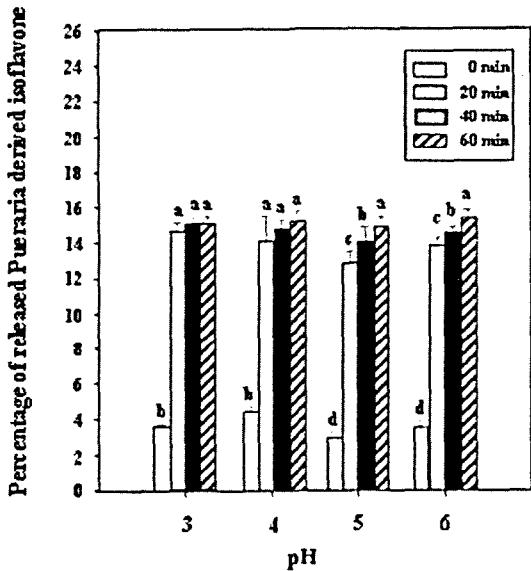


Fig. 4. Effect of different pHs on Pueraria derived isoflavone release from microcapsules incubated in simulated gastric fluid at 37°C for 60 min *in vitro*.

Each bar represents an average of three trials. Each bar indicates a standard deviation and bar with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

(Figure 4). 즉 pH 3에서는 초기 0분에 3.5%였으나, 20분 후에는 14.73%로 4배 증가하여 유의적 차이가 분명하였으나 40분과 60분 후에는 유리된 isoflavone 양이 20분 후에 유리된 양과 거의 유사하여 유의차가 없었다. pH 4에서는 방출된 isoflavone 양이 초기 0분에는 4.53%였고, 반응 20분 후에는 0분 때와 방출된 isoflavone 양이 유사하여 유의차가 없어 85%의 수율을 보였다. pH 5에서는 초기 0분에 3.03%였으나 시간이 지남에 따라 유리된 isoflavone 양이 13, 14.2, 15.3%로 증가하여 시간마다 방출된 isoflavone 양은 유의차가 있었다. pH 6에서는 초기 0분에 3.66%였으나 기간이 지남에 따라 유리양이 증가하였으며, 유의적 수준에서도 시간마다 차이가 있는 것으로 나타났다.

PGMS로 캡슐화한 isoflavone을 섭취할 경우 위의 낮은 산성에서도 80%정도의 수율을 나타내는 것은 pepsin 등 효소작용을 받지 않은 것으로 생각되며, 캡슐화된 isoflavone은 소장으로 유입 가능할 것으로 사료된다.

침 유래 isoflavone의 coating material인 지방산 에스터가 췌장에서 분비되는 lipase와 다른 활성 인자에 의해 분해되면, 소장의 상피 세포 내로 isoflavone이 쉽게 흡수되기 때문에 본 실험에서는 소화관과 유사한 환경인 시험관내에 소장 액을 제조하여 반응 60분동안(20분간격) 방출되는 철분량을 측정하였다(Figure 5). 유리된 isoflavone 양은 pH와 시간에 따라 isoflavone 방출량이 점차 증가 하였는데, pH 5에서 0분일 때는 7.72%이며, 반응 60분 후에는 22.32%로 3배 이상, pH 6일 때는 반응초기 7.62%에서 41.6%로 5배 이상, pH 7과 8에서는 반응초기 13.32, 11.0%에서 각각 95.66, 91.6%로 6배 이상으로 방출되는 isoflavone 양이 증가하였으며, 반응시간과 pH에 따라 유리된 isoflavone 양이 점차 증가하였다.

Alginate로 lipophilic drugs를 캡슐화하여 intestinal media(pH 7.5) 75ml에 9g 용해하여 1시간 동안 유리된 양이 10% 미만이었고, 2시간 후 35%만이 유리되었다는 Antonio 등<sup>(53)</sup>의 보고와 비교할 때 본 실험의 인공 소장액 조건에서 유리된 양은 3-9배나 되었다. 이렇게

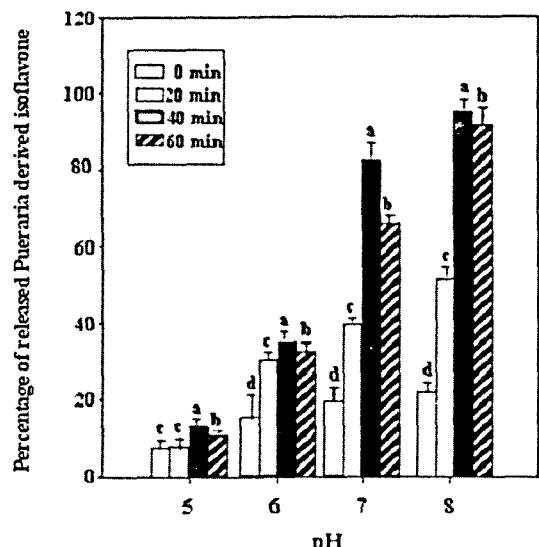


Fig. 5. Effect of different pHs on Pueraria derived isoflavone release from microcapsules incubated in simulated intestinal fluid at 37°C for 60 min *in vitro*.

Each bar represents an average of three trials. Each bar indicates a standard deviation and bar with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

증가한 이유는 소장의 pH는 보통 7-8이며 여러 종류의 소화효소가 소장에서 분비되는데 지방분해효소가 캡슐화 된 isoflavone을 유리하는데 영향을 주었을 것이라 생각된다. 캡슐화 된 isoflavone을 섭취할 경우 90% 이상 isoflavone이 유리되어 소장의 상피세포에서 효과적으로 흡수가 일어날 것으로 사료된다.

#### IV. 참고문헌

- Choo, M. K., Park, E. K., Yoon, H. K. and Kim, D. H. 2002. Antithrombotic and antiallergic activities of daidzein, a metabolite of puerarin and daidzin produced by human intestinal microflora. *Biol. Pharm. Bull.*, 25(10):1328-32.
- Zheng G, Zhang X, Meng Q, Gong W, Wen X, Xie H. 2002. Protective effect of total isoflavones from *Pueraria lobata* on secondary osteoporosis induced by dexamethasone in rats. *Zhong Yao Cai*, 25(9):643-6.
- Moon, B. K., Jeon, K. S. and Hwang, I. K. 1996. Isoflavone contents in some varieties of soybean and on processing conditions. *Kor. J. Soc. Food Sci.*, 12(4): 527.
- Murray, F. 1996. Is genistein the key to soy's success. *Let's Live*, 64: 53.
- 조성빈. 2000. Extraction and separation of isoflavone from soybean hull waste. 세종대학교 식품공학과 석사학위논문.
- Coward, L., Barnes, N. C., Setchell, K. D. R. and Barnes, S. 1993. Genistein, daidzein, and their  $\beta$ -glycoside conjugates : Antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J. Agric. Food Chem.*, 41 : 1961.
- Setchell, K. D. R., Welsh, M. B. and Lim, C. K. 1987. High-performance liquid chromatographic analysis of phytoestrogens in soy protein preparations with ultraviolet, electrochemical and thermospray mass spectrometric detection. *J. Chromatography*, 386 : 315.
- Kim, J. S. and Yoon, S. 1999. Isoflavone contents and  $\beta$ -glycosidase activities of soybeans, Meju and Doenjang. *Korean J. Food Sci.*, 31(6) : 1405.
- Agostino, M., Loredana, B. and Victoria, P. 1995. In vitro hormonal effects of soybean isoflavones. *J. Nutr.* 125 : 751S.
- Katsuzaki, H., Osawa, T. and Kawakishi, S. 1994. Food phytochemicals for cancer prevention. *American Chemical Society*, Washington D. C. : 275.
- Christenson, R. H. 1997. Biochemical markers of bone metabolism. An overview, *Clinical Biochemistry*, 30(8) : 573-593.
- Gallagher, J. C., B. L. Riggs, and J. Eisman. 1994. Diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am. J. Med.*, 90 : 646-650.
- Messina, M. and V. Messina. 1991. Increasing use of soyfoods and their potential role in cancer prevention. *J. Am. Diet. Assoc.*, 91 : 836-841.
- Messina, M. and S. Barnes. 1991. The role of soy products in reducing risk of cancer. *JNCI*, 83 : 541-546.
- Tetsu A., I. Junko, N. Suguru, O. Hiroshi, W. Shun-ichi, I. Noriki, S. Masabumi, and F. Yasuo. 1987. Genistein : a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinase. *J. Biol. Chem.*, 262 : 5592-5597.
- Messina, M., V. Persky, K. Setchell, and S. Barnes. 1994. Soy intake and cancer risk : a review of the in vitro and in vivo data. *Nutr. Cancer*, 262 : 113-117.
- Ishida, H., U. Takehiko, K. Hirai, and T. Toda. 1998. Preventive effects of the plant isoflavones, daidzein and genistin, on bone loss in ovariectomized rats fed a calcium-deficient diet. *Biol. Pharm. Bull.*, 21(1) : 62-66.
- Christine, R. D. 1997. Phytoestrogens reduce bone loss and bone resorption in ovariectomized rats. *J. Nutr.* 127(9) : 1795-1799.
- 조용희, 신동석, 박지용. 1997. 식품산업에서의 미세 캡슐화 기술. *식품과학과 산업*. 98-111.
- Leslie, L., Balassa, Gene O., Fanger, Balchem Corp., Slate Hill, N. Y. 1971. Microencapsulation in the food industry. *CRC Critical Reviews in Food Technology*. 245-264.
- Kwak, H. S., Ihm, M. R., and Ahn. J. 2001. Microencapsulation of  $\beta$ -galactosidase with fatty acid ester. *J. Dairy Sci.* 84: 1576-1582.
- Kwak, H. S. et al. 2002. Method for preparing microcapsule containing soluble iron using fatty acid ester. [미국특허]. Patent No. US 6,402,997 B1.

23. 조영희, 신동석, 박지용. 2000. 향기성분 미세캡슐화를 위한 유화 및 분무건조공정 최적화. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32 : 132-139.
24. Sean, A., Hogan, Brian F., McNamee, E., Dolores O'Riordan and Michael O'Sullivan. 2001. Microencapsulating properties of sodium caseinate. *J. Agric. Food Chem.* 49 : 1934-1938.
25. Udin, M. S., Hawlader, M. N., Zhu, H. J. 2001. Micro-encapsulation of ascorbic acid : effect of process variables on product characteristics, *Journal of Microencapsulation*, 18(2) : 199-209.
26. Raul, U., Fernando, P., Esteban, C. and Alejandro O'Donnell. 1999. bioavailability of microencapsulation ferrous sulfate in fluid cow's milk. Studies in human beings. *Nutrition Research.* 19(6) : 893-897.
27. 김윤지, 윤칠석. 1999. 미세피복 된 철분을 첨가한 요구르트의 저장 중 품질변화. *Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28(3) : 542-546.
28. 구와하라 준. 2000. 철분을 강화한 발효유 및 그의 제조방법. 대한민국 특허청. 10-1999-7007093.
29. Kaminokawa, S. and Kanno, C., Milk Science, 전국농협유업프랜트협회(일본).
30. Baldwin, E. A., Nisperoh, M. O., Hagenmaier, R. D., Baker, R. A. 1997. Use of lipids in coatings for food products. *Food Technology.* Vol. 51, N. 6 : 56-62.
31. 김윤지, 윤칠석. 1999. 미세피복 된 철분을 첨가한 요구르트의 저장 중 품질변화. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28(3) : 542-546.
32. Kwak, H. S., Ihm, M. R. and J. Ahn. 2001. Microencapsulation of  $\beta$ -galactosidase with fatty acid esters. *J. Dairy Sci.* 84 : 15746-1582.