

Bacillus coagulans CE-74에 의해 생산된 Biopolymer의 생리적 기능성

이선호 · 최희진 · 손준호 · 배두경 · 배종호¹ · 김 성 · 안봉전² · 최 청*

영남대학교 식품가공학과, ¹대구미래대 제과제빵학과, ²경산대학교 생명자원공학부

(2000년 12월 28일 접수, 2001년 8월 6일 수리)

미생물로부터 고분자 물질을 생산하여 기능성 식품보조제로 사용하기 위하여 *Bacillus coagulans* CE-74에 의해 생산된 biopolymer를 이용해 glucose, bile acid 흡수 지연 효과 및 ACE와 tyrosinase 저해 효과를 조사 검토하였다. 분리된 biopolymer의 소화관내 생리적 기능성을 알아보기 위해 반투막을 이용한 *in vitro* 실험을 수행하였다. 투석막을 이용하여 biopolymer의 glucose 흡수 지연 효과를 살펴본 결과 biopolymer를 2% 첨가한 경우 투석 30 분이 경과되었을 때 glucose retardation index가 43.5%였고 시간이 경과 할수록 그 효과는 감소 하였으며 투석 5 시간 이후에는 그 효과가 거의 없는 것으로 나타났다. Bile acid 흡수 지연 효과를 살펴본 결과 투석 30 분이 경과 되었을 때 bile acid retardation index는 biopolymer가 1%, 2% 첨가된 경우 각각 34%, 44.2%였으며 시간이 경과할수록 그 효과가 감소하였다. 분리된 biopolymer의 ACE 저해효과는 10 µg/µl의 농도에서는 97%의 저해를 보였으며, tyrosinase 저해효과를 관찰한 결과 20 µg/µl 농도에서 48.5%의 저해효과를 나타내었다.

Key words : tyrosinase, angiotensin-converting enzyme, *Bacillus coagulans*, biopolymer

서 론

과학기술이 발전함에 따라 현대인들은 고분자 물질을 공업적으로 합성하거나 동·식물이나 해조류 등으로부터 추출하여 각종 산업에 다양한 용도로 이용하고 있다. 그러나 이들 고분자들은 산업폐기물 처리의 문제나 천연자원의 유한성을 갖기 때문에 최근에는 이들 물질을 대체하는 방법으로 미생물이 생산하는 biopolymer에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 인류는 오랜 옛날부터 미생물을 이용하여 식품, 의약품 등 유용한 물질들을 생산하여 왔는데 미생물을 이용하면 균주와 생산조건 등의 발효공정을 조절함으로써 독특한 물성과 생리활성을 가진 고분자를 저렴하게 생산할 수 있다. 이렇게 생산된 생물고분자는 항종양성, 면역 증강제, 콜레스테롤 대사, 피부노화 방지, 효소 저해능 등의 기능이 밝혀지면서 생(bio)의약품 소재로서 주목되고 있으며, 이러한 부가가치를 높일 수 있는 용도 개발로 인해 그 중요성은 더욱 높아지고 있다. 그 밖에도 환경정화를 위한 폐수처리 공정에서 중금속제거제, 미생물성용집제, 연마제, 접착제, 화장품, 페인트 등의 각종 산업에도 이용되고 있다. 또한 biopolymer는 독특한 물성을 나타내는데 이런 물성을 이용하여 화학공업을 비롯한 다양한 분야에 물성개량제로 이용하거나, 식품공업에서 액체의 점성을 증가시켜 식품의 질감과 안정성을 부여하는 등 다양한 용도로 이용되고 있다. 전보에서 저자 등은 polyglutamate와 polylysine과 같은 polypeptide계의 biopolymer를 생산하는 미생물을 분리하고 생산된 고분자의 이화학적 특성¹⁾과 물성학적 특성²⁾을 보고한 바 있다. Biopolymer가 독특한 물성으로 식품을 비롯한 각종 분야에서 물성조절제

등으로 사용되는 것을 상기할 때 생리활성을 아울러 가진다면 산업적으로 큰 의미가 있는 것으로 아주 유용하게 이용할 수 있을 것이다. 그러나 cellulose, pectin, 마 점질물 등의 고분자는 장내 흡수 지연 효과와 효소저해능 등의 기능성을 가짐이 알려져 있으나 polypeptide에 대한 연구는 미진한 실정이다.

이에 본 연구에서는 polypeptide 계열인 본 biopolymer의 장내 흡수 지연 효과와 효소저해능 등의 기능성을 조사하여 식품, 의약품 및 화장품 공업에 응용할 수 있는 소재로서 검증은 물론 산업화를 위한 기초 자료를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

사용 균주 및 biopolymer 분리. 균주 및 biopolymer의 분리는 전보¹⁾에서의 방법을 사용하였다. 즉, 균주는 *Bacillus coagulans* CE-74를 실험에 사용하였으며 nutrient broth에서 예비 배양한 후 증자한 대두에 1% 되도록 접종하여 72 시간 배양하였다. Biopolymer의 분리는 전보에서의 방법에 준하여 배양물에 증류수를 가하여 진탕 추출하고 9,000×g로 원심분리하여 균체 및 불용성물질을 제거하였다. 상정액에 등량부피의 ethanol을 첨가하여 교반용으로 교반하는 조작을 수 회 반복하였다. 이후 DEAE-cellulose, Sephadex G-100 및 Sepharose CL-2B를 통과 시킨 후 최종 기능성 실험에 사용하였다. 이 때 분획물은 증류수로 투석하여 동결 건조하였다.

Bile acid의 흡수 지연 효과. Biopolymer의 장관 내 bile acid의 흡수지연 효과는 투석막(Sigma D7884: M.W. C.O.> 1,200)을 이용하여 투석 내액의 bile acid가 투석 외액으로 빠져 나오는 원리를 이용하였다.³⁾ 투석막 내부에 시료를 넣고 0.1% sodium azide 용액으로 맞춘 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0)에 15 mM taurocholic acid 용액 6 ml를 넣어 뚜껑이

*연락처

Phone : 82-54-810-2952 Fax : 82-54-815-1891

E-mail : cchoi@yu.ac.kr

있는 150 ml 용량의 실린더 용기(4.5 cm×10.5 cm)에 넣어 14 시간 동안 시료를 수화시켰다. 대조구의 경우에는 bile acid 용액만 넣고 시료는 제외시켰고, 시판용 polymer는 citrus pectin (Sigma, P9135), carboxymethyl-cellulose(Sigma, C4888)을 사용하였다. 이 용기에 0.1% sodium azide 용액으로 만든 0.05 M phosphate buffer(pH 7.0) 100 ml를 첨가한 후 37°C 수욕조에서 용기가 잠기게 하여 100 rpm으로 교반하였다. 일정한 시간 간격으로 투석 외액 1 ml씩을 취하여 taurocholic acid 함량을 분석하였다. Bile acid 흡수 억제 지수는 아래와 같이 계산하였으며 Bile acid 함량 분석은 Boyd 등⁴⁾의 방법에 따라 bile acid 용액 1 ml에 70% H₂SO₄ 용액 5 ml를 더하고 5분 후에 0.25% furfural 용액 1 ml를 각각 첨가하여 60분간 방치하여 분홍색이 최대로 발색된 후 최대 흡수 파장인 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Bile acid absorption retardation index(\%)} = 100 - \frac{\text{Total bile acid diffused from sack containing polymer(mmmole)}}{\text{Total bile acid diffused from sack without polymer(mmmole)}} \times 100$$

Glucose의 흡수 지연 효과. Biopolymer의 장관 내 흡수 지연 효과는 유리상태의 glucose는 투석막을 그대로 통과 하지만 고분자 물질에 흡착된 glucose는 투석막을 통과하지 못할 것이라는 가정 하에 투석막을 이용하여 투석 내액의 glucose가 투석 외액으로 빠져 나오는 원리를 이용하여 실시하였다.³⁾ 이 때 투석막은 생체 내 장막의 투과 조건과 유사한 것으로 molecular weight cut-off가 비교적 낮은 투석막(Sigma D7884: M.W. C.O.>1,200)을 사용하였다. 투석막 내부에 시료를 넣고 glucose 36 mg을 용해시킨 0.15 M sodium azide 용액 6 ml를 넣어 뚜껑이 있는 150 ml 용량의 실린더 용기(4.5 cm×10.5 cm)에 넣어 14 시간 동안 시료를 수화시켰다. 대조구의 경우에는 glucose 용액만 넣고 polymer 시료는 제외시켰고, 시판용 polymer는 citrus pectin(Sigma, P9135), carboxymethyl-cellulose (Sigma, C4888)을 사용하였다. 이 용기에 0.1% sodium azide 용액 10 ml를 첨가한 후 37°C 수욕조에서 용기가 잠기게 하여 100 rpm으로 교반시켰다. 일정한 시간 간격으로 투석 외액 1 ml씩을 취하여 glucose 함량을 분석하였다. Glucose 흡수 억제 지수는 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{Glucose absorption retardation index(\%)} = 100 - \frac{\text{Total glucose diffused from sack containing polymer(mg)}}{\text{Total glucose diffused from sack without polymer(mg)}} \times 100$$

ACE 저해. ACE저해 효과 측정은 Cushman과 Ondetti⁵⁾의 방법에 의하여 행하였다. 즉, 반응구는 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 기질 (Hippury-L-histidyl-L-leucine; HHL(Sigma Co.)) 2.5 mM을 녹인 액 0.15 ml, ACE(Sigma, rabbit lung acetate) 0.1 ml와 biopolymer 용액 0.1 ml를 혼합하였으며, 대조구는 증류수 0.1 ml를 첨가

하여 37°C에서 30 분간 반응시키고 1 N HCl 0.35 ml 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 3 ml의 ethylacetate(EtOAc)를 첨가하였다. EtOAc층으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 2 ml의 증류수를 첨가하여 추출된 hippuric acid를 흡광도 280 nm에서 측정 한 후 다음 식에 따라 저해율을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = 1 - \frac{\text{반응구의 hippuric acid 생성량(\mu\text{mol})}}{\text{대조구의 hippuric acid 생성량(\mu\text{mol})}} \times 100$$

Tyrosinase 저해. Tyrosinase 활성저해 측정 방법은 tyrosinase의 작용 결과 생성되는 dopachrome을 비색법에 의해 측정하는 Yagi 등⁶⁾의 방법에 따라 실시하였다. Mushroom tyrosinase(Sigma, EC 1.14.18.1; 2,000 unit/mg solid)를 90 unit/mL 0.5 ml, 기질로서 dihydroxyphenylalanine(DOPA) 0.5 ml, buffer 1 ml의 혼합액에 시료용액 1 ml를 첨가하여 25°C, 2 분간 반응시켜 475 nm에서 측정하고 dopachrome의 변화를 저해값으로 환산하였다.

결과 및 고찰

Bile acid 흡수 지연 작용. Biopolymer의 bile acid 흡수 지연 효과를 알기 위하여 실험한 결과는 Fig. 1, 2와 같다. Bile acid 흡수 지연 효과가 우수하다고 보고⁷⁾된 바 있는 citrus pectin, CM-cellulose와 흡수 지연 효과를 비교한 결과, 투석 1 시간에서는 citrus pectin이 45%로 가장 높은 억제 지수를 보였으며 biopolymer 30%, CM-cellulose 18%순이었다. 투석 5 시간 후에도 citrus pectin 30%, biopolymer 20%, CM-cellulose 6%의 억제 지수를 보여 citrus pectin과 biopolymer는 시간의 경과에 따라 억제 효과가 지속적으로 나타났다. 전반적으로 biopolymer의 흡수 지연 효과는 citrus pectin보다 낮았으나 동일농도의 CM-cellulose보다는 흡수 지연 효과가 높았으며, biopolymer의 함량을 CM-cellulose보다 1% 적게 첨가한

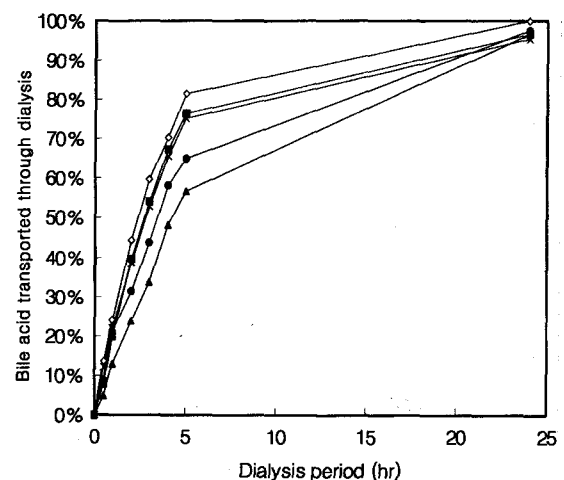


Fig. 1. *In vitro* passive transport of taurocholic acid in the presence of biopolymer. ◇-◇:Control, ■-■:CM-Cellulose 2%, ▲-▲:Citrus Pectin 2%, ×-×:Biopolymer 1%, ●-●:Biopolymer 2%.

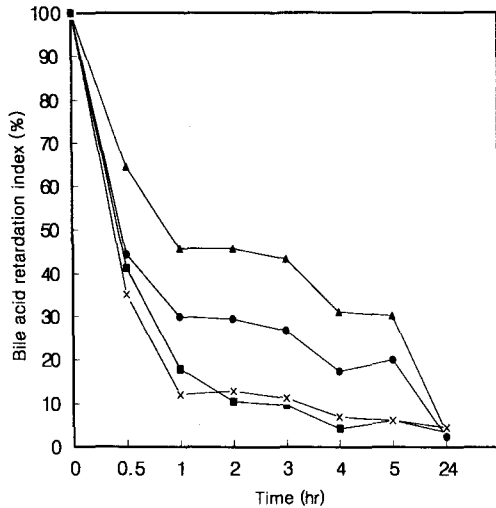


Fig. 2. Retarding effect of biopolymer on the membrane transport of bile acid. ■-■ :CM-Cellulose 2%, ▲-▲ :Citrus Pectin 2%, ×-× :Biopolymer 1%, ●-● :Biopolymer 2%.

경우에도 CM-cellulose와 비슷한 지연 효과를 보였다. 투석 시간을 24 시간까지 연장한 결과 시간이 경과함에 따라 서서히 bile acid 투과가 일어나서 24 시간에서는 억제지수가 전 실험군에서 2~3% 수준으로 나타났다. 보릿가루에서 분리 정제한 β -glucan⁸⁾의 경우에서도 투석초기에 bile acid 흡수 지연 효과가 크게 나타났으나 시간이 경과할수록 그 효과가 감소하였으며 30 분 경과시 β -glucan 농도가 1, 3% 첨가된 경우 bile acid retardation index(%)가 각각 3, 12%의 수준이었다. 계집질에서 추출한 chitin 및 이를 탈아세틸화한 chitosan⁹⁾은 투석 1 시간 후 chitin은 억제 지수가 20~30%, chitosan은 15~34%이었으며, pectin이 가장 높은 효과를 보였다고 보고되어 본 실험의 결과와 유사한 양상을 나타내었다. Bile acid 흡수 지연시 bile acid와 결합하는 것은 이온 결합과 gel matrix의 형성에 의한 bile acid를 가두는 효과(trapping effect),¹⁰⁾ 혹은 hydrophobic bonding¹¹⁾이 관여하는 것으로 알려져 있다. 이러한 bile acid 흡수 방해는 혈청 cholesterol 저하에 매우 중요한 역할을 하는데, polymer에 의해 bile acid는 체내에서 흡수되지 못하고 체외로 배설되므로 bile acid pool을 변화시키고 그만큼의 bile acid를 다시 합성하기 위해 간의 cholesterol 합성 및 이용이 증진되므로 결국 혈중 cholesterol 수준이 감소된다.¹²⁾ 그 밖에 식이섬유와 bile acid의 결합에 의해 장 내의 micelle 형성을 방해하여 지방 흡수를 감소시킴으로써 혈청 cholesterol 수준이 감소되고, 수용성 식이섬유는 그 점성이 클수록 영양소 흡수를 지연시켜 cholesterol 저하 효과가 크다고 하였다.^{7,13)} Lee⁷⁾는 *in vitro*법에 의한 bile acid 흡수 지연 효과와 인체 실험에서의 혈청 내 cholesterol 함량과의 관련성을 비교하여 polymer의 bile acid 흡수 지연 효과가 높을수록 혈청내 cholesterol 감소 효과가 크므로 *in vitro*법에 의한 bile acid 흡수 효과 지연 효과 실험법은 인체의 혈청 내 cholesterol 감소 효과를 예측하는데 도움이 될 수 있으리라 제안한 바 있는데 biopolymer의 경우도 이러한 효과를 기대할 수 있으리라 판단된다.

Glucose 흡수 지연 효과. Biopolymer의 glucose 흡수 지연

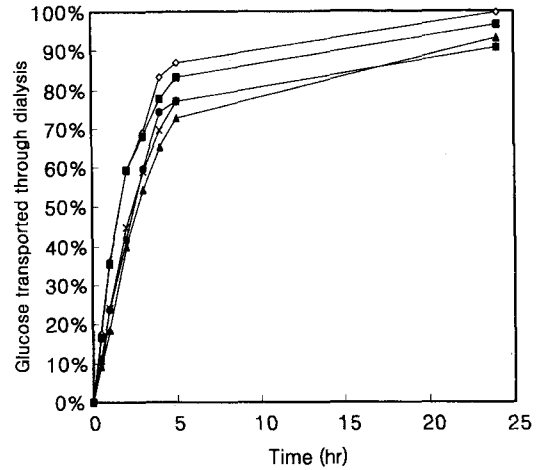


Fig. 3. *In vitro* passive transport of glucose in the presence of biopolymer. ◇-◇ :Control, ■-■ :CM-Cellulose 2%, ▲-▲ :Citrus Pectin 2%, ×-× :Biopolymer 1%, ●-● :Biopolymer 2%.

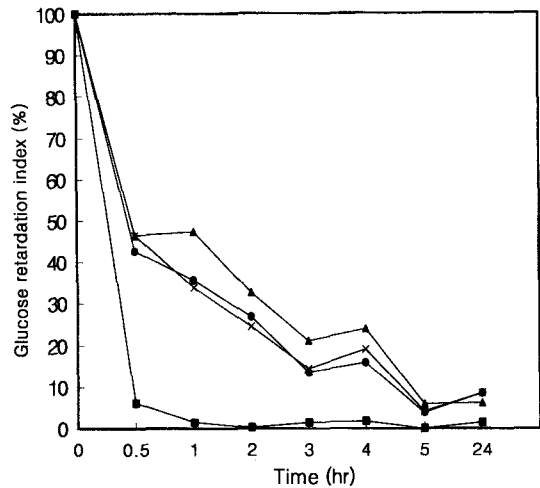


Fig. 4. Retarding effect of biopolymer on the membrane transport of glucose. ■-■ :CM-Cellulose 2%, ▲-▲ :Citrus Pectin 2%, ×-× :Biopolymer 1%, ●-● :Biopolymer 2%.

효과를 보기 위해 glucose 용액을 투석막에 넣고 biopolymer와 시판용 polymer를 첨가하여 투과율을 살펴본 결과는 Fig. 3과 같다. Glucose의 투과는 bile acid보다 비교적 빨리 이루어졌으며 그 이유는 glucose의 분자량이 bile acid보다 작기 때문으로 사료된다. Glucose 투과율은 초기에는 급속히 이루어지나 투석 시간이 경과할수록 투과율은 떨어졌으며 흡수 지연 효과가 우수하다고 보고⁷⁾된 바 있는 citrus pectin, CM-cellulose와 흡수 지연 효과를 비교하여 glucose의 흡수 지연 효과를 판단하였다. 투석 30 분 경과 후 citrus pectin 46%, biopolymer 44%, CM-cellulose는 6%의 glucose 흡수 지연 효과를 보여 biopolymer는 citrus pectin과 거의 같은 수준의 효과를 보였다 (Fig 4). 이 때 biopolymer 첨가량을 1%로 한 경우에서도 citrus pectin 2% 첨가 수준의 효과를 보여 glucose 흡수 지연 효과가 우수하였다. 투석 2 시간 후에도 citrus pectin 32%, biopolymer 26%로 억제 효과가 지속적으로 나타났고 CM-cellulose와 비교했을 때 biopolymer의 지연 효과가 우수했다.

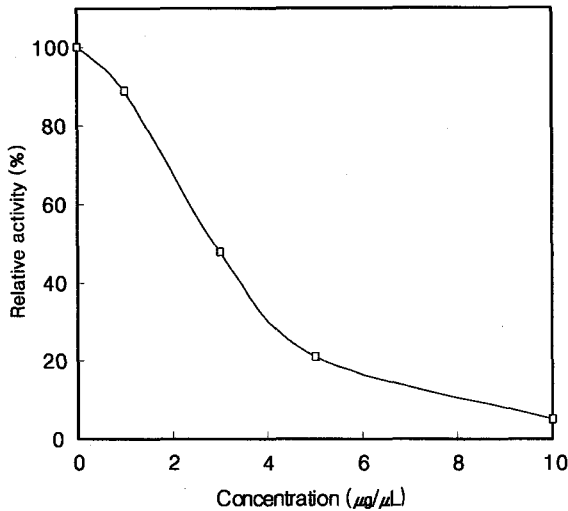


Fig. 5. Effect of biopolymer on angiotensin converting enzyme activity.

Glucose 흡수과정을 24 시간까지 연장시켜 본 결과에서는 투석막을 통한 glucose 투과는 5 시간 경과시 약 75% 수준으로 이루어졌다. Biopolymer의 glucose 흡수 지연 효과는 시간이 경과함에 따라 감소하여 24 시간까지 연장하였을 경우에 biopolymer, citrus pectin 및 CM-cellulose를 첨가한 경우 모두에서 glucose가 거의 전부 투과되는 것으로 나타났다. 그러므로 본 biopolymer의 첨가는 식품을 통한 glucose 섭취시 초기에 glucose 흡수를 지연시키므로 혈액 내 glucose 농도를 완만하게 상승시키고, 음식물 섭취시간이 길어짐에 따라 polymer에 의한 흡수지연 효과는 떨어져 전체적인 glucose 흡수량에는 큰 차이를 가져오지는 않을 것으로 예상된다.

*In vitro*법에 의한 소화관 내 생리적 기능 시험법은 기대되는 체내 생리적 효과를 예측하는데 관련성이 커서 동물 실험 또는 인체 실험 이전에 실시 할 수 있는 선행 실험으로써 크게 도움이 된다.⁷⁾ 본 연구에서 biopolymer의 glucose 흡수 지연 효과에 대한 실험 결과 우수한 흡수 지연 효과를 보여주었다. 이러한 glucose 흡수 지연 효과는 수용성 polymer의 경우 점성이 높아 gel matrix를 형성하여 glucose를 붙잡는 효과로 장내의 glucose 확산을 떨어뜨리는 것으로 설명되고 있는데⁷⁾ biopolymer 역시 높은 점성으로 인하여 우수한 glucose 흡수 지연 효과를 나타내는 것으로 생각된다. Anderson과 Chen¹⁴⁾은 이런 작용으로 영양소의 소화, 흡수를 지연시켜 당뇨병 환자에게 glucose tolerance를 증진시키는 효과를 가지는 것으로 보고한 바 있다. Biopolymer를 기존의 glucose 및 bile acid 흡수 지연 효과가 뛰어나다고 보고된 pectin, CM-cellulose와 비교했을 때 pectin과 비슷한 효과를 보였으며, CM-cellulose보다는 우수한 효과를 나타내었다. 이러한 효과를 지닌 biopolymer를 식품에 응용할 경우 발효 기술의 개발로 대량 생산할 수 있는 이점이 있다. 그리고 식품의 물성 개량제로 사용할 수 있으며 동시에 체내 glucose의 완만한 흡수에도 도움을 줄 수 있을 것이다. 그러므로 식품 산업에 이용한다면 물성 개량제의 용도뿐만 아니라, 단맛을 내기 위해 주로 사용하는 원료인 설탕, 포도당 등의 체내에서의 흡수를 지연시켜 혈액내 포도당의 완만한 상승

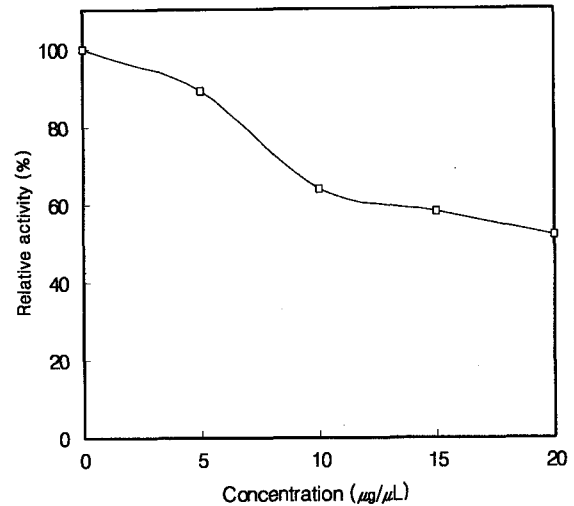


Fig. 6. Effect of biopolymer on tyrosinase activity.

에 도움을 줄 수 있는 기능성 원료로서의 응용도 기대된다. 이상에서 biopolymer는 비교적 우수한 glucose 및 bile acid 흡수 지연 효과를 나타내었다. 그러나 비록 투석막을 이용한 *in vitro*법에 의한 glucose 및 bile acid 흡수 지연 효과와 인체 실험 결과가 같은 경향으로 보고^{7,14)}되고 있으나 이러한 결과는 *in vitro* 상에서의 결과로 소화관내에서의 분해, 장내 효소에 의한 분해 등을 고려할 때 이를 증명하기 위한 연구도 필요할 것이다.

ACE 저해. 분리된 biopolymer를 이용하여 고혈압 유발에 관계하는 ACE에 대한 저해 효과를 관찰하였으며 3 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 에서 53%의 저해를 시작으로 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 의 농도에서는 97%의 저해를 보였다(Fig. 5). 각종 천연물로부터의 ACE 저해제 연구로는 단백질 가수분해 peptide, polyphenol류들이 주종을 이루고 있다. 그 밖에 chitosan 올리고당,¹⁵⁾ 마 점질물,¹⁶⁾ 고려인삼 중의 다당체 성분,¹⁷⁾ 알로에 아세칠 만난¹⁸⁾ 등이 새로운 ACE 저해 물질로서 보고되고 있는데 Ha 등¹⁶⁾은 마에서 점질물을 분리하여 ACE 저해능을 측정된 결과 각각 7.1~8.99 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 의 농도에서 50%의 저해를 보였다고 보고한 바 있다. 본 biopolymer 역시 이보다 뛰어난 ACE 저해 효과를 보여 새로운 ACE 저해물질로의 가능성을 시사하였다. 또한 Suh 등¹⁹⁾이 식품에 존재하는 ACE 저해물질은 기존 상품화된 혈압강화제와 비교했을 때 비교적 낮은 활성을 나타낸다하더라도 대량으로 섭취하는 식품에 존재한다는 점에서 그 유용성을 제안한 바 있다. 이상에서 biopolymer는 ACE 저해제의 가능성을 보였으므로 추후 체내에서의 분해, 흡수된 후의 형태 등을 고려한 연구가 증명이 된다면 식품산업에서 다용도로 사용할 수 있을 것이다.

Tyrosinase 저해. 분리된 biopolymer를 5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ~20 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 농도로 조제하여 tyrosinase 저해효과를 관찰한 결과(Fig. 6) 12.2~48.5%의 저해를 보여 비교적 저해효과가 우수하였다. Tyrosinase 활성저해에 대해서는 많은 연구 결과가 있는데 Yagi 등⁶⁾은 알로에로부터 아세톤으로 추출 silicagel fraction으로 분획한 2-O-feruloyl-aloesin과 aloesin이 0.8 μM 에서 각각 27%와 29.67%의 tyrosinase 저해효과가 있음을 발표하였다. (-)-Epigallocatechin²⁰⁾을 100 μg 첨가했을 때 약 51%의 저해효과를

보여 우수한 저해 효과를 보였다는 보고도 있다. Jung 등²¹⁾은 채소류, 과실류 및 약용식물류 등의 식용 식물체 추출물의 tyrosinase 활성 저해능을 측정하여 엽경채류의 경우 무순, 레드치커리, 냉이, 쪽파 등이 높은 저해능을 나타내었으며, 무, 마늘, 팽이버섯, 표고버섯, 녹차, 홍차, 홍고추, 모과, 오매, 계피, 복분자, 상백피, 정향, 계피, 겨자 등 천연물이 50% 이상의 저해능을 보였다고 보고한 바 있다. 본 biopolymer의 경우에서도 이들과 마찬가지로 tyrosinase에 대한 저해효과를 나타낼 수 있다. 이와 같이 동·식물 및 미생물을 원료로 하며 갈변화 현상과 관련된 식품산업 및 제약업에서 갈변화 기작의 하나인 효소적 산화반응에 대한 제어가 관심의 대상이 되고 있다. 또한 현대인의 피부미용에 대한 관심이 높아짐에 따라 기미, 주근깨 등의 피부의 색소 침착에 관여하는 것으로 알려진 tyrosinase의 활성을 감소시켜 피부의 색소 침착을 억제하고자 하는 연구가 부각되고 있다. 본 연구에서 분리한 biopolymer는 이러한 tyrosinase 저해능을 가지는 것으로 밝혀졌으며 이는 물성개량제로서의 역할과 생리적 기능성 두 가지 점을 충족시켜 줄 수 있는 것으로 새로운 피부질환 치료제, 식품 갈변 방지제로 응용이 가능하리라 사료되며, 화장품에도 응용할 수 있는 물성을 가지고 있는 점을 상기할 때 보습제, 점증제 등으로 화장품에 이용할 경우 미백효과도 지니면서 보습효과나 점증효과를 지닌 기능성 원료로도 사용할 수 있으리라 사료된다.

참고문헌

- Lee, S. H., Seung, T. S. and Choi, C. (2000) Purification and characterization of biopolymer *Bacillus coagulans* CE-74. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **43**, 81-85.
- Lee, S. H., Son, G. M. and Choi, C. (2000) Rheological properties of biopolymer produced by *Bacillus coagulans* CE-74. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 198-203.
- Adiomre, J., Eastwood, M. A., Edwards, C. A. and Brydon, W. G. (1990) Dietary fiber: *in vitro* methods that anticipate nutrition and metabolic activity in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* **52**, 128-134.
- Boyd, G. S., Eastwood, M. A. and Maclean, N. (1966) Bile acids in the rat: Studies in experimental occlusion of the bile duct. *J. Lipid Research* **7**, 83-94.
- Cushman, D. W. and Ondetti, M. A. (1980) Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem. Pharm.* **29**, 1871-1877.
- Yagi, A., Kanbara, T. and Morinobu, N. (1986) Inhibition of mushroom tyrosinase by aloe extract. *Planta Med.* **39**, 515-517.
- Lee, K. S. (1993) Constant analysis, intake estimation and physiological function of dietary fibers in Korean foods. Ph. D. Thesis. Ewha Womans Univ., Seoul, Korea.
- Oh, H. J. and Lee, S. R. (1996) Physiological function *in vitro* of β -glucan isolated from barley. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 689-695.
- Chang, H. J., Jeon, D. W. and Lee, S. R. (1994) *In vitro* study on the functionality in digestive tract of chitin and chitosan from crab shell. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 348-354.
- Ebihara, K. and Schneeman, B. O. (1989) Interaction of bile acid, phospholipids, cholesterol and triglyceride with dietary fibers in the small intestine of rats. *J. Nutr.* **119**, 1100-1106.
- Birkner, H. J. and Kern, J. F. (1974) *In vitro* adsorption of bile salts to food residues, salicylazosulphapyridine and hemicellulose. *Gastroenterol.* **67**, 237-244.
- Vahouny, G. V., Khalafi, R., Satchithanandam, S., Watkins, D. W., Stroy, J. A., Cassidy, M. M. and Kritchevsky, D. (1987) Dietary fiber supplementation and fecal bile acids, neutral steroids and divalent cations in rats. *J. Nutr.* **117**, 2009-2015.
- Morgan, L. M., Tredger, J. A., Shavila, Y., Travis, J. S. and Wright, J. (1993) The effect of non-starch polysaccharides supplementation on circulating bile acids, hormone and metabolite levels following a fat meal in human subjects. *Br. J. Nutr.* **70**, 491-501.
- Anderson, J. W. and Chen, W. J. L. (1979) Plant fiber. Carbohydrate and lipid metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* **32**, 346-360.
- Hong, S. P., Kim, M. H., Oh, S. W., Han, C. K. and Kim, Y. H. (1998) ACE inhibitory and antihypertensive effect of chitosan oligosaccharides in SHR. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 1476-1479.
- Ha, Y. D., Lee, S. P. and Kwak, Y. G. (1998) Removal of heavy metal and ACE inhibition of yam mucilage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 751-755.
- Lee, S. D., Hwang, W. I. and Okuda, H. (1996) Effect of acidic polysaccharide components of Korean ginseng on lipolytic action of toxohormone-L and on activity of angiotensin converting enzyme. *Korean J. Ginseng Sci.* **20**, 248-255.
- Ryu, I. W. and Shin, Y. S. (1997) Inhibition effect of ACE and kinetics of aloe acethylmannan. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 1269-1274.
- Suh, H. J., Cho, S. J., Whang, J. H., Lee, H. and Yang, H. C. (1997) Characterization of angiotensin converting enzyme inhibitors from squid hydrolysate. *Foods Biotechnol.* **6**, 122-124.
- Kim, J. K., Cha, W. S., Park, J. H., Oh, S. L., Cho, Y. J., Chun, S. S. and Choi, C. (1997) Inhibition effect against tyrosinase of condensed tannins from Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 173-177.
- Jung, S. W., Lee, N. K., Kim, S. J. and Han, D. S. (1995) Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 891-896.

Physiological Function *in vitro* of Biopolymer from *Bacillus coagulans* CE-74

Seon-Ho Lee, Hee-Jin Choi, Jun-Ho Son, Du-Kyung Bae, Jong-Ho Bae¹, Sung Kim, Bong-Jeon An² and Cheong Choi* (Dept. of Food Science & Technology, Yeungnam University, Kyungbook 712-749, Korea; ¹Dept. of Confectionary Decoration, Daegu Future College, Daegu 712-716, Korea; ²Faculty of Life Resources & Engineering, Kyungsan University, Kyungbook 712-759, Korea)

Abstract: In order to prove physiological function of biopolymer from *Bacillus coagulans* CE-74, *in vitro* experiments simulating the passive membrane transport of gastrointestinal tract were carried out using dialysis membrane. And inhibition effect of isolated biopolymer on tyrosinase and angiotensin converting enzyme (ACE) were observed. The glucose retardation index after 30 min dialysis was 43.5% in the presence of 2% biopolymer. As the dialysis period became longer, the retarding effect toward glucose absorption decreased and the effect was close to zero after 5 hr dialysis. The bile acid retardation index after 30 min dialysis was 34% and 44.2% in the presence of 1% and 2% biopolymer, respectively. The effect decreased as the dialysis time elapsed. It was measured by tyrosinase inhibition activity of biopolymer that inhibition effect was 48.5% in 20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. In a ACE inhibition activity, biopolymer showed inhibition activity as 97% in 10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$.

Key words: tyrosinase, angiotensin-converting enzyme, *Bacillus coagulans*, biopolymer

*Corresponding author