

폴리페놀계 천연 항산화제의 cyclodextrin inclusion complexation을 통한 안정화와 식품 보존제로의 활용

김태권 · 신현동 · 이용현*
경북대학교 자연과학대학 유전공학과

Stabilization of Polyphenolic Antioxidants Using Inclusion Complexation with Cyclodextrin and Their Utilization as the Fresh-food Preservative

Tae-Kwon Kim, Hyun-Dong Shin and Yong-Hyun Lee*

Department of Genetic Engineering, College of Natural Sciences, Kyungpook National University

Insoluble polyphenol antioxidants, quercetin and catechin, were stabilized through the complexation with cyclodextrin to increase heat and pH stabilities. Comparison of inclusion complex formabilities of quercetin and catechin with α -, β -, and γ -CDs revealed β -CD to be the most suitable result. Optimal molar mixing ratio of β -CD and quercetin or catechin for inclusion complex formation was found to be 1 : 1. Inclusion complexation was confirmed using differential scanning calorimetry. Solubility of β -CD-antioxidant inclusion complexes increased compared with native antioxidants. Stability against temperature and pH of β -CD-antioxidant inclusion complex analyzed revealed antioxidant activities of β -CD-quercetin and catechin inclusion complexes have higher stabilization compare to raw quercetin and catechin. Peroxide value of linoleic acid dissolved in water decreased substantially after using β -CD-quercetin inclusion complex. β -CD-antioxidant inclusion complex can be used effectively as a fresh-food preservative.

Key words: polyphenolic antioxidants, quercetin, catechin, β -cyclodextrin, inclusion complexation, stability, fresh-food preservative

서 론

식품은 다양한 성분조성으로 구성되어 있어 여러 가지 복잡한 화학적 및 생화학적 변화를 수반하며, 특히 지질 성분의 산화로 생성된 산화 생성물은 품질저하의 중요한 원인이 된다. 식품의 산패에 영향을 주는 인자로는 온도, 광선, 산소, 금속, 수분 등을 들 수 있다. 1차적으로는 온도의 조정, 광선의 차단, 산소, 금속 및 수분의 제거를 통하여 식품의 과산화를 방지하고 있다. 이러한 방법 이외에도 각종 항산화제를 첨가하여 식품의 산화와 산패 속도를 조절하거나 억제하고 있다.

항산화제는 식품의 산화에 의해서 일어나는 식품의 냄새나 풍미의 변화, 유지의 산패, 그리고 식품의 변색을 방지하거나 지연할 수 있는 기능을 가진 화합물을 총칭한다. 항산화제는 *tert*-butylhydroxytoluene, *tert*-butylhydroxyanisol 등과

같은 합성 항산화제와 tocopherol류, flavonoid류, nordihydroguaiacol, gossypol, sesamol, 그리고 oryzanol 등과 같은 천연 항산화제로 나눌 수 있다⁽¹⁻³⁾. 합성 항산화제인 BHA나 BHT 등은 효과적으로 활용되어 왔으나 여러 문제점으로 인하여, 최근에는 천연 항산화제에 대한 관심이 점차 증대되고 있다⁽⁴⁾.

대표적인 천연 항산화제인 tocopherol과 flavonoid류는 지질의 과산화반응을 억제하는 효능이 매우 강하지만 식품의 산화방지제로 이용할 경우에는 저 수용성이며 또한 열과 산소에 대한 안정성이 약하다는 단점이 있다. 따라서 식품의 장기 보존에 적용하기 어렵고, 지속성이 떨어지는 단점을 안고 있어 실제 식품, 화장품 및 의약품에 제한적으로 이용되고 있다. 따라서 이러한 천연 항산화물질의 성질을 수용성 내지는 양쪽성으로 전환시키고 또한 안정화시킬 수 있다면 그 활용도가 크게 확대될 수 있을 것이다.

Cyclodextrin(CD)은 glucopyranose 분자가 α -1,4-결합에 의해 환상형 결합으로 연결된 도우넛 형태의 구조를 갖고 있다. 분자 내 공동은 수소결합과 ether결합으로 인하여 소수성을 나타내며, 외부는 glucopyranose 분자의 C6위치의 hydroxyl group으로 인해 친수성을 나타낸다⁽⁵⁻⁹⁾. 따라서 CD 분자 내 소수성 공동에 불안정한 구조를 갖고 있는 각종 소수성 화

*Corresponding author : Yong-Hyun Lee, Department of Genetic Engineering, College of Natural Sciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea
Tel: 82-53-950-5384
Fax: 82-53-959-8314
E-mail: leeyh@knu.ac.kr

합물을 포접시켜 inclusion complex를 형성함으로써 용해도를 증가시킬 뿐만 아니라 또한 포접 화합물을 안정화시킬 수 있다^(6,9-13). 지금까지 지방산, 지용성 비타민, 휘발성 물질, flavonoid 등 각종 소수성 화합물의 inclusion complex에 관한 연구가 보고되고 있다⁽⁹⁻¹³⁾. 따라서 각종 항산화 물질의 물리적 특성 개선이 가능하여 화장품 및 식품소재로서의 활용성을 증대시킬 것으로 예상된다.

본 연구실에서는 각종 CD 및 그 유도체와 지방산과의 inclusion complex 형성조건과 특성에 관한 연구를 수행하였고, 이러한 특성을 이용하여 지방산을 ligand로 하는 α -, β -, 그리고 γ -CDs의 분획에 관한 연구를 수행한 바 있다^(14,15). 또한 소수성 기질인 triolein의 가수분해 반응에 CD를 첨가하여 inclusion complex를 형성하여 lipase의 가수분해반응을 촉진시키는 연구⁽¹⁶⁾와 또한 CD의 inclusion complex 형성능을 소수성 기질인 oleic acid와의 n-butanol간의 esterification 반응에 활용하여 특성과 반응 기작을 검토한 바 있다⁽¹⁷⁾.

본 연구에서는 CD의 inclusion complex 형성능을 이용하여 대표적인 폴리페놀계 천연 항산화제인 quercetin 및 catechin의 용해도를 증대시키고 이들의 항산화능을 증대시키는 연구를 수행하였다. 먼저 항산화제와 CD간의 inclusion complex 형성조건을 검토하였으며, 포접된 quercetin 및 catechin의 용해도 증가와 식품보존제로서의 적합성을 온도와 pH 안정성을 중심으로 관찰하였다. 또한 이들을 linoleic acid의 항산화에 적용시켜 신선식품의 보존제로의 활용 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

천연 항산화제 및 CD

천연 항산화제로는 quercetin(Sigma Co. USA)과 catechin(Sigma Co. USA)을 사용하였으며, inclusion complex 형성에 사용된 CD는 α -, β -, 그리고 γ -CD(Cyclolab. Hungary)였다.

CD inclusion complex 형성조건과 complex의 분리

CD inclusion complex는 30 mM의 천연 항산화제에 30 mM CD를 혼합하여 상온에서 6시간 교반하여 형성하였다. 경우에 따라 CD와 천연 항산화제의 혼합비를 변화시켰다. 상기 용액을 4°C에서 6시간 방치한 후 10,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 형성된 CD/천연 항산화제 inclusion complex를 분리하고, 침전물을 50%(v/v) ethanol로 처리하여 비포접 잔존물을 제거하고 진공 동결건조시켜 분석용 시료로 사용하였다.

천연 항산화제와 CD의 분석

천연 항산화제는 high performance liquid chromatography (HPLC)를 이용하여 분석하였으며, 분석 column은 Purospher® RP18(Merck KGaA, Germany), 이동상으로 70% ethanol, 유속은 0.5 mL/min였으며, UV detector를 이용하여 catechin은 280 nm에서 quercetin은 375 nm에서 검출하였다.

CD는 HPLC 및 비색법을 병용하여 분석하였으며, HPLC 분석 조건은 Cosmosil 5NH₂ column (Nacalai Co. Japan), acetonitrile/water(65 : 35), 1 mL/min, 그리고 RI detector로 분석하

였고, β -CD 분석의 비색법으로는 phenolphthalein 정색법⁽¹⁸⁾을 이용하였다.

천연 항산화제와 quercetin/catechin-CD inclusion complex의 용해도 측정

CD 첨가시 불용성 천연 항산화제와 quercetin/catechin-CD inclusion complex의 수용액상에서의 용해도 변화를 측정하기 위해서 Higuchi & Connors의 방법⁽¹⁹⁾을 변형하여 사용하였다. 천연 항산화제와 quercetin/catechin-CD inclusion complex를 sodium acetate buffer(pH 7.0)에 10 mM 되게 첨가한 후, inclusion complex의 경우에는 10 mM의 β -CD를 첨가한 후 24시간 동안 교반시킨 후 이를 0.2 μ m의 filter로 filtration 한 후 이를 HPLC로 분석하여 정량하였다.

α, α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl radical 소거법을 이용한 항산화 활성 측정

항산화 활성은 Brand 등의 방법⁽²⁰⁾에 따라 α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH)의 radical 소거 능력을 이용하여 측정하였다. 먼저 시료를 30 μ L의 methanol 용액에 용해한 후 1.5 mM의 DPPH 용액 2 mL을 첨가하였다. 이를 암실에서 30분간 방치한 후 515 nm에서 흡광도를 측정하여 항산화 활성을 다음 식에서 구하였다.

$$\text{항산화 활성(\%)} = \frac{30\text{분 후 흡광도}(A_t) - \text{초기 흡광도}(A_0)}{\text{초기 흡광도}(A_0)} \times 100$$

Differential scanning calorimeter를 이용한 inclusion complex 형성 확인

시료인, 천연 항산화제, CD, 천연 항산화제/CD 혼합물, 그리고 천연 항산화제/CD inclusion complex, 5~10 mg을 hermetic aluminum pan에 밀폐시키고 differential scanning calorimeter(DSC)(Seiko Co. Japan)에서 10°C/min의 속도로 25°C에서 250°C까지 가열하여 DSC 열주사 곡선을 얻어서 inclusion complex 형성을 확인하였다.

Catechin 및 CD inclusion complex의 과산화물가 측정

과산화물가(peroxide value)를 측정하기 위하여 linoleic acid 1 g을 ethanol 200 mL에 용해시키고 0.2 M phosphate buffer (pH 7.0) 25 mL을 첨가하였다. 상기 용액에 catechin/CD inclusion complex의 농도가 0.1%(w/v)가 되도록 첨가한 후 45°C에서 48시간 방치시켰다. 반응 linoleic acid를 chloroform으로 추출하고 acetic acid 25 mL과 수산화나트륨 용액 0.1 mL을 첨가하여 10분간 암실에 방치한 후 증류수 30 mL을 첨가한 후 0.01 N thiosulfuric acid로 적정하여 과산화물가를 측정하였다⁽²¹⁾.

결과 및 고찰

Polyphenolic 항산화제 quercetin 및 catechin의 CD와의 inclusion complex 형성능 비교

대표적인 천연 polyphenol계 항산화 물질인 quercetin과 catechin과 α -, β -, 그리고 γ -CD간의 inclusion complex 형성

Table 1. Comparison of inclusion complex formation of quercetin and catechin with cyclodextrins

Kind of antioxidant	Capacity (%) ¹⁾		
	α -CD	β -CD	γ -CD
Quercetin	20.9	23.5	24.5
Catechin	40.5	43.8	46.9

¹⁾Mole percent of antioxidants that form inclusion complex equal mole concentration of antioxidant and CDs.

능을 CD에 포접된 항산화제와 미포접 항산화제 농도를 측정하여 비교하였다. Table 1에서와 같이 quercetin은 γ -CD의 경우 24.5%가 포접되어 가장 높았으며, α -와 β -CD의 경우 각각 20.9% 및 23.5%가 포접되었다. Catechin의 경우 α -, β -, 그리고 γ -CD의 경우 각각 40.5%, 43.8%, 그리고 46.9%가 포접되었으며, 역시 γ -CD가 가장 높은 포접능을 보였다.

γ -CD의 포접능이 다른 CD에 비하여 높은 이유는 분자 구조상 공동의 크기가 가장 커 다른 CD에 비해서 천연 polyphenol계 항산화 물질을 용이하게 포접하기 때문으로 추측된다. 그러나 β -CD와 γ -CD의 inclusion complex 형성능은 큰 차이가 없었으며 본 실험에서는 현재 상업적으로 널리 시판되고 있고 가격이 γ -CD에 비하여 저렴한 β -CD를 inclusion complex 형성에 사용하였다.

Quercetin 및 catechin과 β -CD 간의 inclusion complex 형성을 위한 적정 혼합비

Quercetin 및 catechin과 β -CD 간의 inclusion complex 형성을 위한 최적 혼합비를 검토하기 위하여 위의 천연 항산화제와 β -CD 간의 몰 혼합비를 0.1:1에서 2:1로 변화시키면서 inclusion complex 형성능을 비교하였다. Quercetin의 경우 quercetin과 β -CD간의 몰 혼합비가 1:1일 때 23.5%의 inclusion complex 형성능을 보였으며 그 이후에는 더 이상 증가하지 않고 일정한 수준을 유지하였다. 또한 catechin의 경우에도 catechin과 β -CD간의 몰 혼합비가 1:1일 때 43.8%였으며 그 이후에는 일정한 수준을 유지하였다. 이는 천연 항산화제를 고농도로 첨가하여도 한 분자의 β -CD가 포접할 수 있는 천연 항산화제의 양이 한정되기 때문으로 판단된다.

위의 혼합비는 β -CD 한 분자에 quercetin 또는 catechin 한 분자가 포접되는 것으로 유추된다. 따라서 quercetin 및 catechin과 β -CD간의 inclusion complex 형성에 적합한 몰 혼합비는 1:1 전후로 판단된다.

DSC를 이용한 quercetin 및 catechin과 β -CD간의 inclusion complex 형성확인

Quercetin 및 catechin과 β -CD 간에 형성된 inclusion complex를 확인하기 위하여 β -CD, quercetin 및 catechin, β -CD와 quercetin 및 catechin의 혼합물, 그리고 β -CD와 quercetin과 catechin간의 inclusion complex의 DSC 열주사곡선을 비교하였다.

Fig. 2(A)에서 보듯이 quercetin과 β -CD의 단순 혼합물과 형성된 inclusion complex의 DSC thermogram은 서로 다른 형태를 보였다. 단순 혼합물의 경우 섞여있는 두 물질의 변

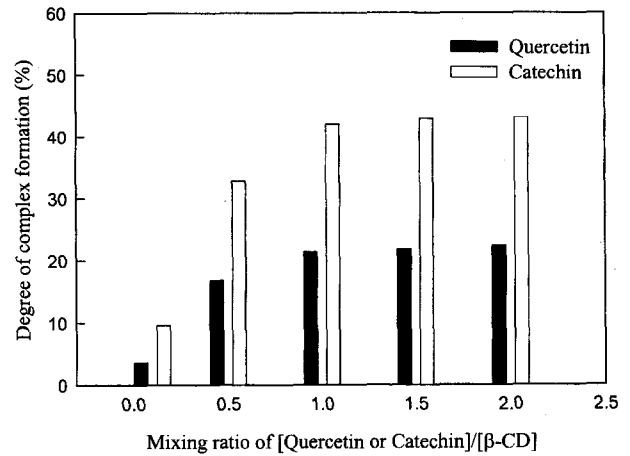


Fig. 1. Effect of molar mixing ratio of β -CD and quercetin/catechin on the capacity of the inclusion complex formation.

This reaction was carried out in sodium acetate buffer (pH 7.0) at 25°C for 12 hr varying 0.1-2.0 molar ratio of [quercetin/catechin]/[β -CD].

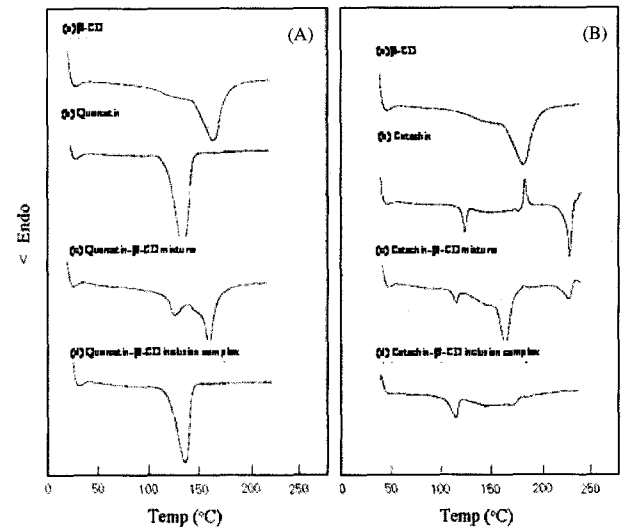


Fig. 2. DSC thermograms of β -CD, quercetin/catechin, quercetin/catechin in β -CD mixture, and quercetin/catechin β -CD inclusion complex.

곡점이 각 물질의 고유온도에서 각각 관찰된 반면 inclusion complex는 하나의 변곡점을 보였다. Fig. 2(B)의 catechin의 경우도 동일한 결과를 나타내었다.

이는 CD와의 inclusion complex에서 일반적으로 관찰되는 현상⁽²²⁻²⁴⁾으로 quercetin과 catechin이 β -CD와 성공적으로 inclusion complex를 형성하고 있음을 알 수 있다.

천연 항산화제의 inclusion complex 형성에 따른 용해도 변화

Table 2는 각각의 천연 항산화제인 quercetin과 catechin, 그리고 이들과의 inclusion complex 형성에 따른 용해도의 변화를 비교한 것이다. Quercetin의 물에 대한 용해도는 1.6%, catechin의 경우는 2.8%로 낮은 용해도를 나타내었다. 그러나 quercetin-CD inclusion complex의 경우에는 6.3%, catechin-

Table 2. Comparison of solubility of quercetin, catechin, and their inclusion complex with β -CD

Kind of antioxidant	Solubility (%)
Quercetin	1.6
Quercetin/ β -CD inclusion complex	6.5
Catechin	2.8
Catechin/ β -CD inclusion complex	16.4

CD inclusion complex의 경우에는 16.4%로 용해도가 증가하였다. 이는 일반적으로 지방산 등과 같은 각종 소수성 화합물들이 CD와 포접하여 inclusion complex를 형성할 경우 용해도가 증가하며 안정화된다는 결과와 일치하는 것이다^(7,10-14).

특히 inclusion complex의 형성할 때 catechin의 경우가 quercetin의 경우보다 더 높은 용해도를 보였는데, 이는 catechin이 quercetin보다 β -CD와 inclusion complex를 형성할 때 더 안정한 포접체를 형성하기 때문인 것으로 사료된다.

Quercetin/catechin-CD Inclusion Complex의 온도 안정성

천연 항산화제의 온도 및 pH에 대한 안정성은 식품첨가제로 사용할 경우 중요한 인자가 된다. 따라서 quercetin/catechin과 β -CD의 inclusion complex의 온도의 안정성을 저온인 4°C에서 30일간 검토하였다. Fig. 3(A)에서 보는 바와 같이 quercetin- β -CD inclusion complex는 quercetin보다 항산화능을 유지하는 것으로 나타났다. Quercetin과 β -CD의 inclusion complex는 quercetin보다 높은 항산화능이 유지되는 것을 관찰할 수 있었다. Catechin 및 catechin과 β -CD의 inclusion complex 역시 동일한 온도 및 조건에서 실험을 수행하였으며, 그 결과를 Fig. 3(B)에 나타내었다.

Catechin 및 catechin과 β -CD의 inclusion complex의 경우 전반적인 항산화능이 시간이 경과함에 따라 빨리 감소되는 경향을 보였으며, 15일이 경과될 때까지 catechin β -CD inclusion complex가 catechin보다 뚜렷하게 향상된 항산화능을 보였다.

특히 catechin-CD inclusion complex가 quercetin-CD inclusion complex보다 현저히 안정성이 증대되었다. 따라서 저온보관용 천연 항산화 식품 첨가제로서의 효과적 활용이 기대된다.

Quercetin/catechin-CD inclusion complex의 pH 안정성

Quercetin/catechin-CD inclusion complex의 pH 안정성을 중성 pH 7에서 검토한 결과는 Fig. 4와 같다. 먼저 pH 7에서 quercetin 및 quercetin과 β -CD의 inclusion complex의 항산화능 유지를 살펴본 결과 Fig. 4(A)에서 보는 바와 같이 quercetin-CD inclusion complex가 quercetin보다 전반적으로 높은 항산화능을 유지하였다.

Catechin 및 catechin과 β -CD inclusion complex 역시 동일한 조건에서 실험을 수행하였으며 역시 β -CD의 inclusion complex가 catechin보다 높은 항산화능을 지속적으로 유지함을 관찰할 수 있었다.

특히 catechin이 quercetin보다 inclusion complex를 형성함으로써 현저히 안정화 되었다. 따라서 중성 pH에서 천연 항산화 식품첨가제로 효과적으로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

Catechin-CD inclusion complex의 식품보존제로의 활용

Fig. 5는 catechin과 β -CD의 inclusion complex를 항산화용 식품보존제로 활용할 가능성을 검토하기 위하여 지방산인 linoleic acid에 포접되지 않은 catechin과 β -CD에 포접된 catechin을 처리하여 지방산의 과산화물가를 48시간 후에 측정 한 결과이다.

Catechin/CD inclusion complex와 catechin 처리군은 각각 29.2 meq/Kg와 13.8 meq/Kg의 과산화물가를 보였으며 아무 것도 첨가하지 않은 대조군의 경우 136.3 meq/Kg의 과산화물가를 보였다. 이는 catechin을 β -CD와 inclusion complex를 형성하여 항산화제로 사용하는 것이 장기간 동안 높은 항산화력을 유지할 수 있어 식품의 산패방지에 더 효과적이라는 것을 반영하는 것으로 앞으로 다양한 신선식품의 식품의 보

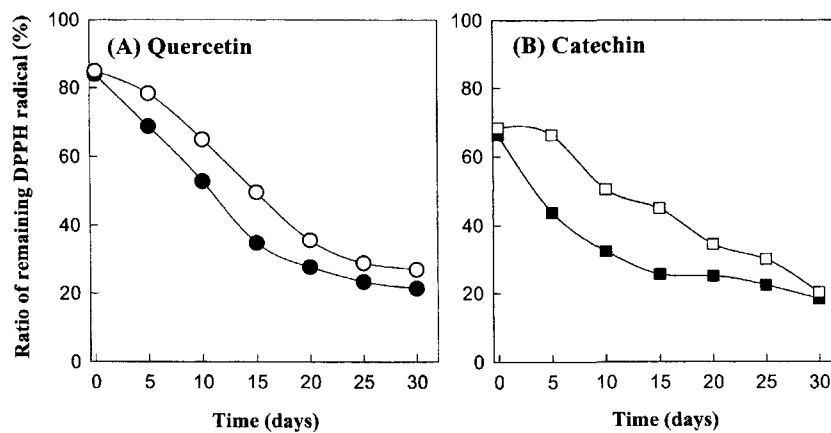


Fig. 3. Maintenance of antioxidant activity of quercetin (●) / catechin (■) and quercetin (○) / catechin inclusion complex with β -CD (□) at 4°C.

This reaction was carried out in sodium acetate buffer (pH 7.0) for 30 days with quercetin/catechin and 1 : 1 molar ratio of [quercetin/catechin]/[β -CD].

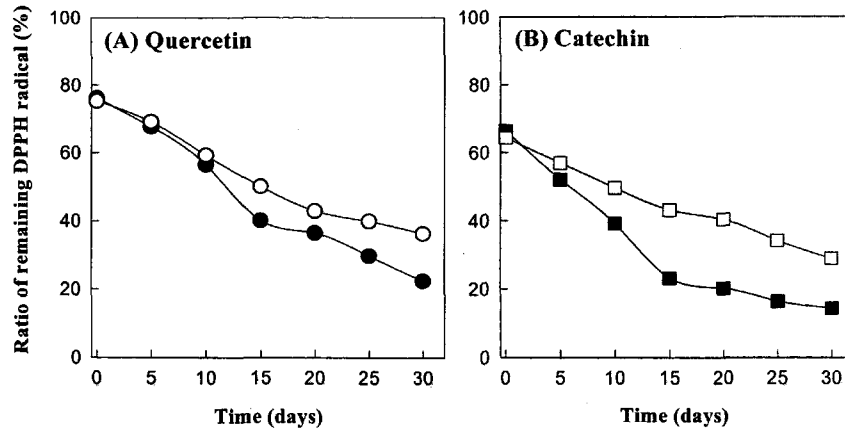


Fig. 4. Maintenance of antioxidant activity of quercetin (●) / catechin (■) and quercetin (○) / catechin inclusion complex with β -CD (□) at pH 7.

This reaction was carried out in sodium acetate buffer (pH 7.0) for 30 days with quercetin/catechin and 1 : 1 molar ratio of [quercetin/catechin]/ β -CD] at pH 7.

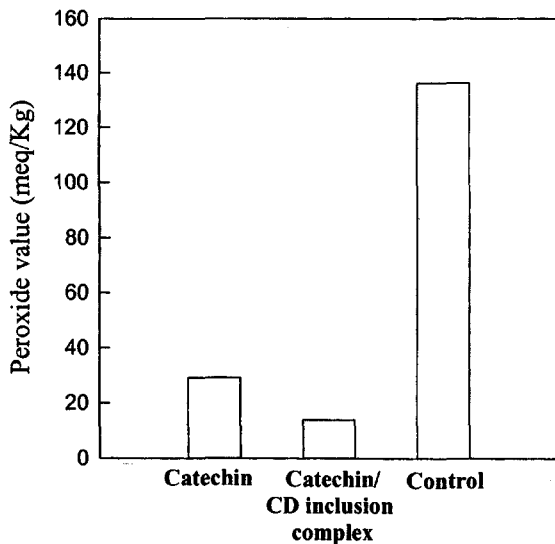


Fig. 5. Comparison of peroxide value (POV) of catechin and catechin inclusion complex with β -CD.

This reaction was carried out in sodium phosphate buffer (pH 7.0) at 45°C for 2 days.

존력을 향상시키는 산화방지제로 사용할 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

CD의 inclusion complex 형성능을 이용하여 대표적인 polyphenol계 천연 항산화 물질인 quercetin 및 catechin을 안정화시키는 분자 캡슐화 기술을 연구하였다. 먼저 α -, β -, 그리고 γ -CD의 quercetin 및 catechin의 포접능을 비교하였다. Quercetin/catechin-CD inclusion complex 형성을 DSC thermogram을 이용하여 확인하였다. 또한 β -CD와의 포접에 따른 수용해성 quercetin과 catechin의 물에 대한 용해도의 변화를 관찰한 결과 inclusion complex 형성 시 용해도가 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. Inclusion complex의 온도 및 pH에 대한 안정성을 검토한 결과 inclusion complex가 원래의

물질보다 높은 항산화능을 유지하였으며 특히 catechin의 안정성이 크게 향상되었다. Catechin-CD inclusion complex의 식품보존제로서의 적합성을 지방산인 linoleic acid를 시료로 검토하기 위하여 저장 중 과산화물가의 변화를 측정된 결과 포접된 catechin이 보다 높은 항산화능을 보였다. 이와 같은 용해도 및 항산화능의 증가로 볼 때 quercetin/catechin-CD inclusion complex는 신선식품의 보존제로 효과적으로 활용될 수 있는 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 한국과학재단 지정 대구대학교 농산물 저장가공 및 산업화 연구센터 지원에 의한 것입니다.

문 헌

- Giese, J. Antioxidants tools for preventing lipid oxidation. *Food Technol.* 5: 73-81 (1996)
- Pszczola, D.E. Antioxidants: From preserving food quality to quality of life. *Food Technol.* 55: 51-59 (2001)
- Frankel, E.N. Antioxidants in lipid foods and their on food quality. *Food Chem.* 57: 51 (1996)
- Kim, K.H. and Choi, M.H. Antioxidant activity of flavonoids in plant origin food. *Korean J. Posthavest* 5: 121-135 (1999)
- Szejtli, Z. *Cyclodextrin Technology*, pp. 1-78. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Netherland (1988)
- Szejtli, Z. Inclusion of guest molecules, selectivity and molecular recognition by cyclodextrins, Vol. 3, pp. 189-204. In: *Comprehensive Supramolecular Chemistry*. Szejtli, Z. and Osa, T. (eds.). Elsevier Science Ltd., Rugby, Netherland (1996)
- Szejtli, Z. *Cyclodextrins in Pharmacy*, pp. 1-18. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Netherland (1993)
- Pszczola, D.E. Production and potential food applications of cyclodextrins. *Food Technol.* 96-100 (1998)
- Hara, K. and Hashimoto, H. Application of cyclodextrin. *J. Japanese Soc. Starch Sci.* 3: 151-161 (1986)
- Song, S.H., Lee, H.J., Chang, S.J. and Woo, G.J. Microencapsulation of garlic oil with β -cyclodextrin. *Food Sci. Biotechnol.* 2: 132-135 (1993)
- Szente, L. and Szejtli, J. Molecular encapsulation of natural and synthetic coffee flavor with β -cyclodextrin. *J. Food Sci.* 51: 1024-

- 1027 (1986)
12. Kamihira, M., Asai, T., Yamagata, Y., Taniguchi, M. and Kobayashi, T. Formation of inclusion complexes between cyclodextrins and aromatic compounds under pressurized carbon dioxide. *J. Ferment. Bioeng.* 69: 350-353 (1990)
 13. Szejtli, Z. Preparation of cyclodextrin complexes, Vol. 3, pp. 243-252. In: *Comprehensive Supramolecular Chemistry*. Szejtli, Z. and Osa, T. (eds.). Elsevier Science Ltd., Rugby, Netherland (1990)
 14. Lee, Y.H., Jeong, S.H. and Park, D.C. Comparison of inclusion complex formation capacity of cyclodextrins with various molecules and characterization of cyclodextrin-fatty acid complex. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 10: 149-158 (1995)
 15. Jeong, S.H., Park, D.C. and Lee, Y.H. Formation of cyclodextrin adsorbent using fatty acid as a ligand and fractionation of α -, β -, and γ -cyclodextrins. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 10: 491-498 (1995)
 16. Lee, Y.H., Kim, T.K., Shin, H.D. and Park, D.C. Enzymatic hydrolysis of hydrophobic triolein by lipase in a mono-phase reaction system containing cyclodextrin; reaction characteristics. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 3: 103-108 (1998)
 17. Shin, H.D., Kim, J.H., Kim, T.K., Kim, S.H. and Lee, Y.H. Esterification of hydrophobic substrates by lipase in the cyclodextrin induced emulsion reaction system. *Enzyme Microb. Technol.* 30: 83-842 (2002)
 18. Kaneko, T., Nakamura, T. and Horikoshi, K. Spectrophotometric determination of cyclization activity of β -cyclodextrin forming cyclodextrin glucanotransferase. *J. Japanese. Soc. Starch Sci.* 24: 45-48 (1987)
 19. Higuchi, T. and Connors, K.A. Phase-solubility techniques. *Adv. Chem. Instr.* 4: 117-212 (1965)
 20. Brand, W.W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28: 25-30 (1995)
 21. American Oil Chemists' Society, Peroxide value, pp. 8-53. In: *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*. American Oil Chemists' Society (eds.). AOCS Press, IL, USA (1998)
 22. Ficarra, R., Ficarra, P., Di Bella, M.R., Raneri, D., Tommasini, S., Calabro, M.L., Gamberini, M.C. and Rustichelli, C. Study of β -blocker/ β -cyclodextrins inclusion complex by NMR, DSC, X-ray and SEM investigation. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 23: 33-40 (2000)
 23. Caccia, F., Dispenz, R., Fronza, G., Fuganti, C., Malpezzi, L. and Mele, A. Structure of neohesperidin dihydrochalcone/ β -cyclodextrin inclusion complex: NMR, MS, and X-ray spectroscopic investigation. *J. Agric. Food Chem.* 46: 1500-1505 (1998)
 24. Boudad, H., Legrand, P., Lebas, G., Cheron, M., Duchene, D. and Ponchel, G. Combined hydroxypropyl- β -cyclodextrin and poly(alkylcyanoacrylate) nanoparticles intended for oral administration of saquinavir. *Int. J. Pharm.* 218: 113-124 (2001)

(2002년 11월 5일 접수; 2003년 4월 1일 채택)