



In vitro 소화 시스템을 이용한 기능성 축산식품의 개발

Development of Functional Animal Products by Using *In Vitro* Human Digestion System

허선진* · 이승연 · 이승재

Sun Jin Hur*, Seung Yuan Lee, Seung Jae Lee

중앙대학교 생명자원공학부 동물생명공학과

Department of Animal Science and Technology, Chung-Ang University

I. 서론

In vitro 소화시스템은 인위적인 조건하에서 인체의 소화조건과 유사한 환경을 만든 후 식품소재나 약재 등의 생리활성작용이나 소화/흡수 또는 구조변화에 미치는 효능 등을 측정하는 것을 말하며, cell culture를 통한 세포에서의 흡수율, bioavailability를 측정하는 것 또한 넓은 의미에서 *in vitro* 소화시스템에 포함 될 수 있다(Hur *et al.*, 2012). *In vitro* 소화 시스템의 가장 중요한 목적은 동물실험이나 인체실험에 앞서 식품소재나 약재의 효능과 흡수율 등을 신속하게 측정하기 위하여 개발되었으며, 이러한 *in vitro* 소화시스템은 동물실험이나 인체실험에 비해 적은 시간과 비용으로 선행연구를 수행할 수 있고, 또한 생명체를 이용하는데 발생하는 윤리적인 문제에서 자유로울 수 있다. 그러나 현재까지 개발된 *in vitro* 소화시스템은 대부분 일부 소화 효소만을 한정

적으로 이용하여 식품소재의 연구에 사용되고 있는 실정이므로 인체의 모든 소화조건에서 일어날 수 있는 다양한 기작들을 복합적으로 연구하기에는 한계가 있을 수 있다. 이에 본 연구팀은 지난 10여년간 인체에 가장 유사한 *in vitro* 소화 시스템을 개발하고 이를 축산 식품뿐만 아니라 다양한 식품소재와 생리활성 소재 분야에 적용하는 연구를 수행해 왔다. 뿐만 아니라 다른 많은 연구자들이 다양한 식품소재나 생리활성 물질의 *in vitro* 소화 전, 후의 bioavailability를 측정하는 실험을 대행 하기도 하였다. 그러나 *in vitro* 소화 실험은 동물실험이나 인체실험과의 일치성에 관한 논란이 있는 것 또한 사실이다. 이에 본 연구팀은 최근 한국식품연구원과 공동으로 구강, 위, 소장 단계에 대한 *in vitro* 소화시스템뿐만 아니라 장내 세균을 적용하여 대장의 소화까지 적용할 수 있는 full step *in vitro* 소화시스템을 개발하였으며, 본 글에서는 *in vitro* 소화시스템을 이용하여 기능

* Corresponding author: Sun Jin Hur

Department of Animal Science and Technology, Chung-Ang University,
4726 Seodong-daero, Daedeok-myeon, Anseong-si, Gyeonggi 456-756, Republic of Korea

Tel: 82-31-670-4673

Fax: 82-31-670-3108

E-mail: hursj@cau.ac.kr

Table 1. In vitro 소화액 조성비

	Saliva	Gastric juice	Duodenal juice	Bile juice
Organic and inorganic components	1.7 ml NaCl (175.3 g/L)	6.5 ml HCl (37 g/L)	6.3 ml KCl (89.6 g/L)	68.3 ml NaHCO ₃ (84.7 g/L)
	8 ml urea (25 g/L)	18 ml CaCl ₂ ·2H ₂ O (22.2 g/L)	9 ml CaCl ₂ · 2H ₂ O (22.2 g/L)	10 ml CaCl ₂ · 2H ₂ O (22.2 g/L)
	15 mg uric acid	1 g bovine serum albumin	1 g bovine serum albumin	1.8 g bovine serum albumin
Enzymes				30 g bile
	290 mg α-amylase	2.5 g pepsin	9 g pancreatin	
	25 mg mucin	3 g mucin	1.5 g lipase	
pH	6.8 ± 0.2	1.50±0.02	8.0 ± 0.2	7.0 ± 0.2

성 축산식품을 개발 연구를 수행한 본 연구팀의 연구결과들을 살펴보고자 한다.

II. 본론

본 연구팀은 다년간의 인공소화 실험을 수행한 경험과 선행연구를 통하여 축산식품에 가장 적합한 *in vitro* 소화액 조성비를 다음의 Table와 같이 설정하였다. *In vitro* 소화액은 무기물과 유기물 용액 및 효소로 구성하였으며, 타액, 위액, 십이지장액 및 담즙액으로 각각 구성하였고, 구강에서 소장까지 흡수되는 과정을 시뮬레이션하면서 각 소화단계별 기능성 식품소재의 소화/흡수 또는 bioavailability를 측정하였다.

1) 시약제조

타액(saliva), 위액(Gastric juice), 소장액(Duodenal juice) 및 담즙액(Bile juice)을 제조하는 절차는 아래와 같다.

1. Table 1에 나와 있는 모든 시약은 1ℓ씩 각각 제조한다(효소 제외).
2. 시약 A: inorganic solution 제조를 위해 Table 1에 표기된 시약을 함량 별로 모두 혼합한다.
3. 시약 B: organic solution 제조를 위해 Table 1에 표기된 시약을 함량 별로 모두 혼합한다.
4. 시약 C: enzyme을 Table 1에 표기된 함량으로 모두 혼합한다.

5. 시약 A, B 그리고 C를 모두 혼합한 다음 증류수를 이용하여 1ℓ로 맞춘다.
6. HCl과 NaOH를 이용하여 타액, 위액, 소장액 및 담즙액의 pH를 6.8, 1.5, 8.0 그리고 7.0으로 각각 맞춘다.

2) 실험 순서

- ① 200 ml 삼각 플라스크에 시료 5 g 또는 5 ml에 타액 6 ml를 첨가하고 마그네틱바를 넣은 후 파라핀 필름으로 플라스크 입구를 밀봉한다.
- ② 시료를 37℃로 셋팅된 shaking water bath에서 천천히 shaking 시키면서 5분간 소화시킨다.
- ③ 시료에 위액 12 ml를 넣어 잘 혼합하고 밀봉한 다음 shaking water bath에서 천천히 shaking 시키면서 2시간 소화시킨다. 이때 pH가 3 이상으로 증가하면 HCl을 이용하여 pH를 3 이하로 조절한다.
- ④ 시료에 소장액 12 ml와 담즙액 6 ml 그리고 중탄산염 2 ml를 넣어 잘 혼합하고 밀봉한 다음 shaking water bath에서 천천히 shaking 시키면서 2시간 소화시킨다. 이때 pH가 5 이하이거나 8 이상이 되면 HCl과 NaOH를 이용하여 약산성 또는 약알칼리 수준이 될 수 있게 조절한다.
- ⑤ 소화가 끝난 시료는 필요에 따라 원심분리하여 상층을 버리고 하층을 이용하여 분석한다. 소화 전과 소화 후 시료의 이화학적인

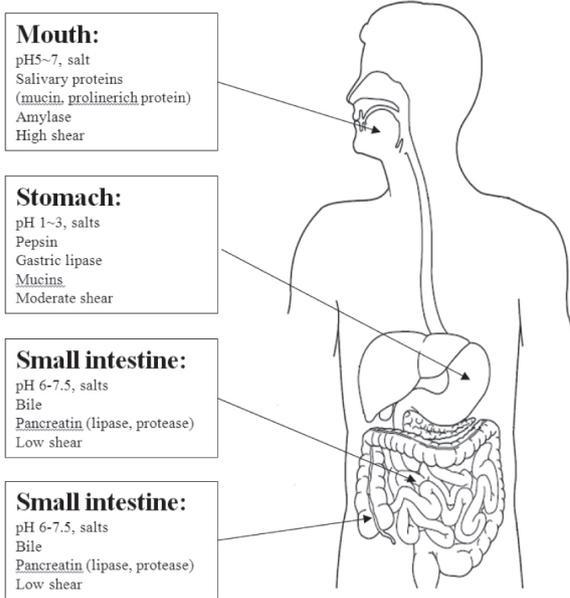


Fig. 1. *In vitro* 소화 조건

변화를 측정하였다.

Fig. 2는 다양한 biopolymer의 첨가가 우육 패티에 함유된 지방의 *in vitro* 소화를 억제시키는 효능을 측정한 결과이다. 실험을 위하여 90% 우육과 9.5%의 지방에 0.5%의 biopolymers (cellulose, chitosan 및 pectin)을 첨가한 후 혼합하여 햄버거 패티를 각각 제조한 후 *in vitro* 조건하에서 소화시키면서, 소화 전, 후 지방의 *in vitro* 소화 정도를 측정하였다. *In vitro* 조건하에서 지방의 소화 정

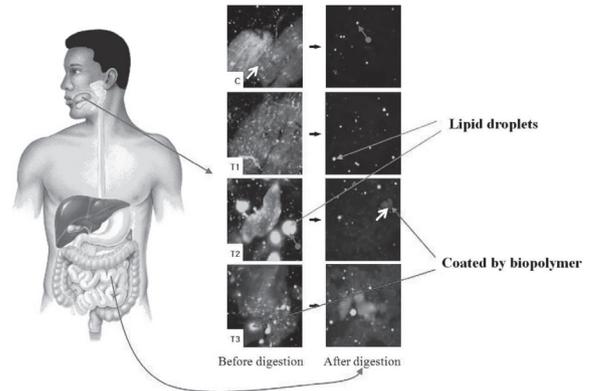


Fig. 2. 다양한 biopolymers의 첨가가 우육 패티에 함유된 지방의 *in vitro* 소화율에 미치는 효능 (Hur *et al.*, 2009)

도를 측정하기 위하여 Nile red를 이용하여 지방만을 염색한 후 confocal microscope를 이용하여 소화 전, 후 지방의 성상을 측정하였다. 다음의 Fig. 3에서 초록색은 Nile red에 염색된 지방을 나타내는 것이며, 초록색이 상대적으로 많다는 것은 지방이 소화 또는 분해되지 않았다는 것을 의미한다. 본 연구결과 셀룰로오스(T1)의 첨가는 우육 패티 지방의 소화를 억제시키는 효과가 없는 것으로 나타났다. 이에 반해 키토산(T2)과 펙틴(T3)의 첨가는 우육 패티 지방의 생체내 소화/흡수를 억제시키는 효능이 있는 것으로 나타났으며, 특히 펙틴은 *in vitro* 조건하에서 우육 지방의 소화/흡수를 억제시키는 효능이 매우 큰 것으

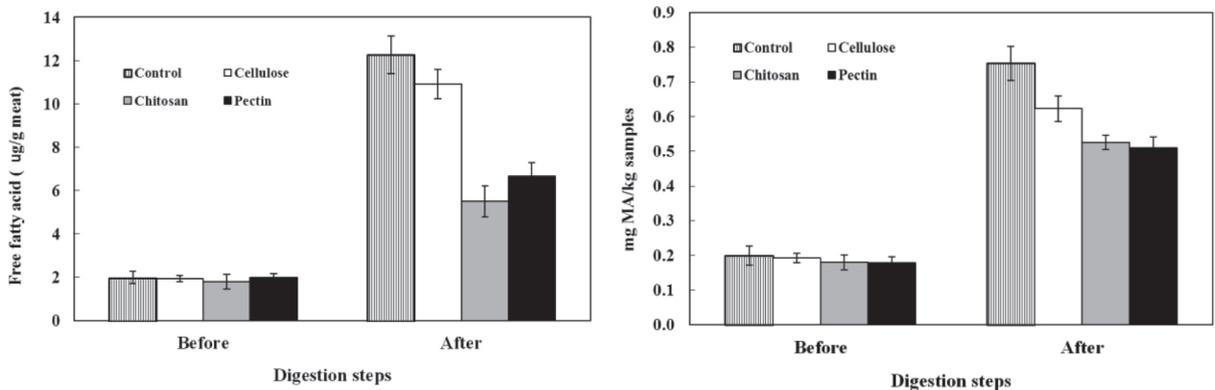


Fig. 3. 다양한 biopolymers의 첨가가 우육 패티의 유리지방산 함량과 지방산패도에 미치는 효능 (Hur *et al.*, 2009)

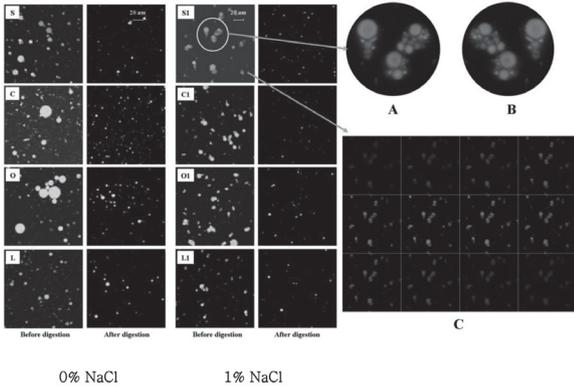


Fig. 4. NaCl의 첨가가 다양한 지방의 *in vitro* 소화율에 미치는 효능(Hur *et al.*, 2011)

로 나타났다. 뿐만 아니라 지방소화의 지표가 되는 유리지방산의 함량과 지방산패도 결과 또한 유사한 경향을 나타내었다. 이와 같이 *in vitro* 소화실험을 이용하여 biopolymers가 지방의 소화억제에 미치는 효능을 현미경학적인 방법으로 검증할 수 있다.

Fig. 4는 돼지고기 지방과 다양한 식물성 지방을 이용하여 지방유화물을 제조하는데 있어 소금(나트륨)의 첨가가 *in vitro* 조건하에서 지방의 생체내 소화율과 현미경학적 구조변화에 미치는 영향을 Confocal microscope를 이용하여 측정된 결과이다. 본 연구결과 소금의 첨가에 의해 지방구의 응집력이 증가하는 것으로 나타났으나 *in vitro* 소화에 의해 지방구의 응집력이 감소함으로써 지방의 소화가 촉진되는 것으로 나타났다. *In vitro* 소화 이후에 돼지고기 지방이 다른 식물성 지방에 비해 지방구의 사이즈가 감소할 뿐만 아니라 지방의 생체내 소화도 증가하는 것으로 나타났다. 본 연구결과 소금의 첨가는 *in vitro* 조건하에서 돼지고기 지방의 소화를 촉진시키는 것으로 나타났으며, 이러한 이유는 소금의 첨가가 지방의 사이즈를 감소시키고, 지방의 산화를 촉진시켰기 때문인 것으로 나타났다.

Fig. 5는 네 가지 품종(Bluecrop, Bluegold, Duke, Northland)의 블루베리 잎 추출물을 첨가하여 유화형 소시지를 각각 제조한 후 *in vitro* 조건 하에

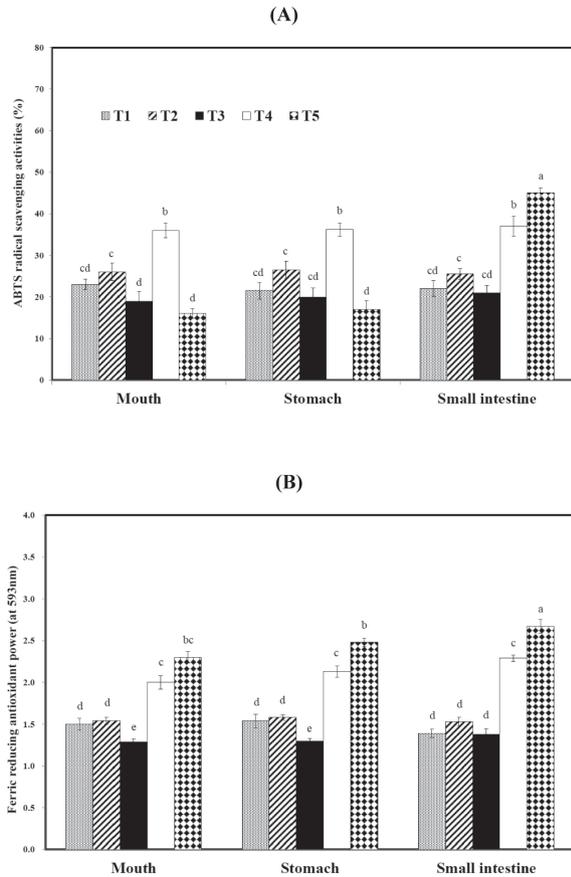


Fig. 5. *In vitro* 소화에서 블루베리 잎 추출물이 유화형 소시지의 항산화 작용 (Hur *et al.*, 2013)

서 소화시키면서 소화 전, 후 유화형 소시지에서 블루베리 잎 추출물의 항산화 효능을 측정된 결과이다. 블루베리 잎 추출물의 주요한 생리활성 물질인 chlorogenic acid 함량은 품종에 따라 큰 차이를 나타내었으며, Northland 품종에서 가장 높은 함량을 나타내었다. ABTS와 FRAP 방법을 이용한 항산화 효능 측정에서 또한 생리활성 물질인 chlorogenic acid 함량이 가장 높은 Northland 품종의 블루베리 잎 추출물을 첨가한 소시지에서 가장 높게 나타났다. *In vitro* 소화가 항산화에 미치는 효능을 측정된 결과를 보면 소장 소화 이후에 항산화 효능이 일부 증가한 것으로 나타났으나, 유의적인 차이를 나타내지는 않았다. 유화형



소시지의 항산화 효능은 *in vitro* 소화에 의한 차이보다 생리활성 물질의 함량이 높은 블루베리 잎 추출물의 첨가에 의해 더 크게 나타났다. 따라서 생리활성 물질의 함량이 높은 블루베리 잎 추출물을 이용하여 소시지를 제조했을 때 항산화 효능이 가장 높을 것으로 판단된다.

III. 결론

본 글에서는 *in vitro* 소화 시스템을 이용하여 기능성 축산물 개발을 위한 연구 결과들에 관해 살펴보았다. 이러한 연구결과들은 향후 동물실험과 인체적용 시험 등을 통하여 연구결과를 확인하고, 기능성 식품소재를 개발하는 기초자료로 이용할 수 있을 것으로 기대한다. 본 연구팀이 오랜 기간 식품소재의 *bioavailability*를 측정하기 위하여 *in vitro* 소화모델을 개발하고 적용하였지만 그 정확성과 효율성에 대한 반론이 있는 것이 사

실이다. 그러나 현재 국내에서는 다양한 식품소재 개발을 위한 *in vitro* 소화 시스템의 이용이 증가하고 실정이다. 따라서 생체 실험과 유사성이 높은 새로운 *in vitro* 소화 시스템을 개발하기 위한 연구가 추가 되어져야 할 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Hur, S. J., Lee, S. K., Kim, Y. C., and Choi, I. W. (2012) Development of *in vitro* human digestion models for health functional food research. *Food Science and industry*. **45**, 40-49.
2. Hur, S. J., Joo, S. T., Lim, B. O., Decker, E. A., and McClements, J. D. (2011) Impact of salt and lipid type on *in vitro* digestion of emulsified lipids. *Food Chem.* **126**, 1559-1564.
3. Hur, S. J., Kim, D. H., Chun, S. C., and Lee, S. K. (2013) Antioxidative changes of blueberry leaf extracts in emulsion-type sausage during *in vitro* digestion. *Korean J. Food Sci. An.* **33**, 689-695.
4. Hur, S. J., Lim, B. O., Park, G. B., and Joo, S. T. (2009) Effects of various fiber additions on lipid digestion during *in vitro* digestion of beef patties. *J. Food Sci.* **74**, C653-C657.