

알로에 베라 겔 한외여과 다당분획의 분자적 특성

권혜미 · 백진홍¹ · 차지민¹ · 이신영*
강원대학교생물공학과, ¹KJM 알로에 R&D 센터

Molecular Properties of Polysaccharide Rich Fraction from Ultra-filtration of *Aloe vera* Gel

Hye Mi Kwon, Jin Hong Beak¹, Ji Min Cha¹, and Shin Young Lee*

Department of Bioengineering and Technology, Kangwon National University
¹KJM Aloe R&D Center

Abstract

Two fractions (permeate and retentate) from fiber-free *Aloe vera* gel were separated using ultra-filtration (UF) system with tubular ceramic membrane (MWCO of 50 kDa), and their molecular properties were investigated. The retentate of UF *Aloe vera* gel was a polysaccharide-rich fraction containing about 2.3-fold higher polysaccharide content than fiber-free gel. The FT-IR and ¹H NMR spectra of this fraction showed the characteristic patterns of β -binding polysaccharide and a higher degree of acetylation indicating a higher level of bioactive polysaccharide content. The molecular weight and polydispersity of polysaccharide fraction from GPC (gel permeation chromatography) were determined to be 36.8-43.9 kDa and 1.24, respectively, indicating a kind of undispersed polysaccharide. From the SEM observation, the surface structure of polysaccharide fraction had a gel cluster-like structure with a convoluted rough surface. The molecular conformation by Congo red assay exhibited a property of helix structure confirming the existence of a higher-ordered structure as a biological activity conformation.

Key words: *Aloe vera* gel, ultra-filtration fraction, polysaccharide, molecular property

서 론

알로에 베라(*Aloe vera* Linne)는 전세계적으로 대표적인 건강기능성 식품, 제약 및 화장품 소재의 하나이며, 또 가장 널리 사용되고 있는 천연소재이다(Dagne et al., 2000; He et al., 2005; Lachenmeier et al., 2005).

그 동안 개발된 알로에 잎의 가공법은 hand filleting, whole leaf process, dehydration process, total process 등 크게 4 종류로 이들 생산공정을 거쳐 광범위한 제품이 생산되고 있다(O'Brien, 2005). 하지만 이들 가공법에 따른 품질의 변화는 매우 심하고, 최종제품의 효능 및 품질수준은 현저하게 다른 것이 현실이다(He et al., 2005; Bozzi et al., 2007). 이는 알로에 베라 겔의 주요 생리활성성분 지표인 다당체, 특히, glucomannan이 매우 불안정하여 알로에

내재성 가수분해 효소에 의해 빠르게 분해를 일으키며, pH 변화나 고온노출 및 미생물 오염에 의해서 쉽게 분해되기 때문이다(Yaron, 1993; Agarwala, 1997; Femenia et al., 2003; Bozzi et al., 2007).

따라서 부적절한 가공을 하게 되면 glucomannan은 분해되며, 다시 평균 분자크기의 감소, 다당의 탈아세틸화에 의해 용해도 및 점도의 소실을 초래한다(Femenia et al., 2003).

그러므로 최근 알로에의 일반적 품질 및 치료적 성질의 지표가 되는 이 다당체의 양과 질을 최대화할 수 있는 효율적이고 적절한 알로에 가공공정의 기술개발이 점차 이루어지고 있다. 주로 막을 이용한 막여과법이나 삼투탈수법 등이 검토되었다(Forni et al., 1987; Alzamora et al., 1997; Martinez et al., 2001; Shaw et al., 2002; Uddin et al., 2004; Baek et al., 2008; Garcia-Kim et al. 2008; Garcia-Segovia et al., 2010).

특히, Baek et al.(2008)은 알로에의 bioactive 지표가 되는 다당류의 량과 분자량 수준을 향상시키는 효율적인 알로에 농축공정 기술로서 한외여과기술을 적용하였다. 그러나 이들 분획의 각종 특성에 대한 보고는 매우 제한되어 있다.

*Corresponding author: Shin-Young Lee, Department of Bioengineering and Technology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Tel: +82-33-250-6273; Fax: +82-33-243-6350

E-mail: sylee@kangwon.ac.kr

Received September 28, 2012; revised December 10, 2012; accepted December 10, 2012

본 연구에서는 알로에 생잎의 겔로부터 원심분리하고 섬유질을 제거한 무섬유 겔 분획을 얻었다. 이 원심분리한 무섬유 겔을 한외여과하였으며, 이들 한외여과전후의 각 분획시료에 대하여 그 분자적 성질을 조사, 검토하였고, 이로부터 알로에 한외여과 분획의 산업적 응용을 위한 몇몇 기초자료를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용한 알로에는 (주) KJM사의 농장에서 재배한 국내산 알로에 베라(*Aloe vera* Linne)이며, 회사로부터 직접 제공받아 4°C의 저온실에 보존하면서 실험에 사용하였다.

Fresh Aloe gel의 제조

초기 알로에 겔은 알로에 베라 잎의 껍질을 제거하고 유조직(parenchyma tissue)을 filleting하여 얻었다. 이를 균질기(T25, IKA Labortechnik, Staufen, Germany)에서 균질화(24,000 rpm, 3 분)한 다음, 원심분리(8,000 rpm, 30 분)하고 상정액을 취하여 섬유질을 제거한 무섬유 알로에 겔(fiber free gel) 시료로 하였다.

한외여과 보유액과 투과액의 제조

알로에의 fresh gel로부터 한외여과(UF) 보유액과 투과액 분획은 실험실 규모의 Tami UF system(Tami Industries S.A., France)을 사용하여 수행하였다(Fig. 1). 막은 외부직경 10 mm, 길이 250 mm, 면적 94 cm²의 tubular membrane (Zirconium dioxide, Tami Valisette module; MWCO = 50 kDa)을 사용하였다.

각 시료분획은 Fig. 2에서와 같이 생잎을 전처리하고 알

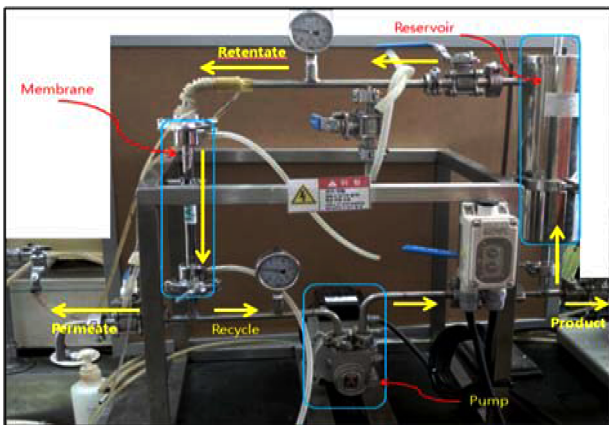


Fig. 1. Experimental apparatus of UF process (using tubular module).

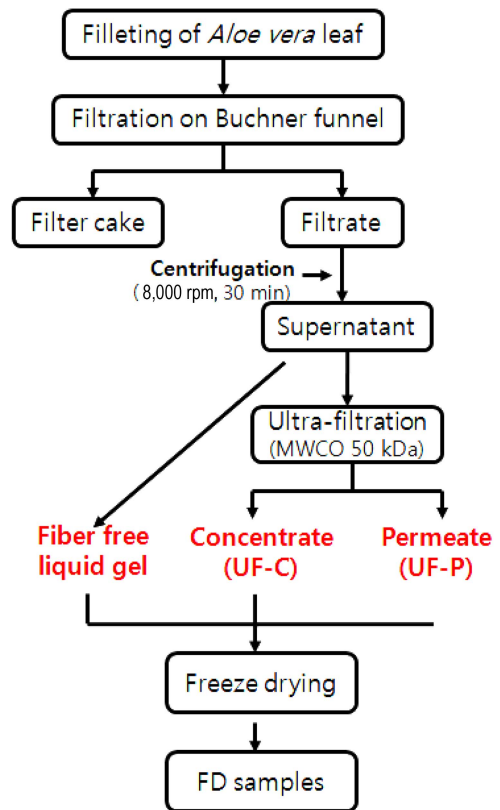


Fig. 2. Preparation of fractions using UF system from *Aloe vera* L.

로에 겔을 얻은 다음 원심분리하여 섬유질을 제거한 무섬유 원심분리 겔 분획을 얻었고, 이를 batch mode로 농축하면서 알로에 고분자(보유액, UF-C) 분획 및 알로에 저분자 분획(투과액, UF-P)를 얻어 시료로 하였다. 이 때, TMP(transmembrane pressure drop)는 0.2-2.25 bar이었고, 온도는 23°C 이하였으며, 공급액 속도는 240 L/h이었다. 한외여과 농축액과 투과액분획은 동결건조(0.5 torr, 24 시간)하였고, 분말화(80 mesh)하여 각각의 시료로 사용하였다.

Glucomannan의 농도

알로에 겔의 유효다당인 glucomannan은 Congo red와 특이적으로 비색정량되므로 glucomannan의 함량을 Eberendu et al.(2005)의 비색법에 따라 측정하였다. 즉, 400 µL의 시료를 1 회용 유리 배양관에 옮기고, 각 관에 4 mL의 Congo red(sodium 4,4'-diphenyl-2,2'-diazo-bis-1-naphthalamino-4-sulfonate; Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) 시약을 첨가하고 진탕혼합하였다. 이 혼합물을 실온에서 20분간 방치한 후, 이의 흡광도를 540 nm에서 측정하였다. 다당의 함량은 동결건조한 표준다당을 사용한 표준곡선으로부터 구하였다. 이 때, 동결건조 알로에 표준다당은 전보(Cha et al., 2007)에서와 마찬가지로 방법으로 조제하였고, 실온에서 밀폐 플라스틱 용기에 넣어 저장하면서 사용하였다.

^1H NMR

시료의 ^1H NMR(600 MHz) 스펙트럼은 실온에서 Bruker Model Advance 600(Karlsruhe, Germany) spectrometer를 사용하여 얻었다. 이 때 시료는 내부표준 없이 10 mg을 0.7 mL D_2O 로 용해하여 사용하였다.

분자량 및 분자량 분포 측정

분자량 분포는 HPGPC system(Waters Breeze, Milford, MA, USA)을 사용하여 수행하였다. Column은 Waters Ultrahydrogel linear 1000 및 250을 사용하였고 온도는 25°C , flow rate는 0.8 mL/min이었으며, 용매는 0.02 N NaNO_3 (Merck, Darmstadt, Germany)를 사용하였다. Detection은 25°C 에서 RI detector를 사용하였다. Column calibration은 고분자량 측정 시는 pullulan(Shodex standard P-82, Tokyo, Japan), 저분자량 측정 시는 PEG(Polyethylene glycol; Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA)를 사용하여 수행하였다.

FT-IR 분석

FT-IR(Fourier transformed infra red) spectra는 동결건조한 UF 전후 시료 2 mg을 함유한 KBr disc를 조제하고 3 cm^{-1} 의 해상도로 Bio-Rad Model Excaliber(Cambridge, USA) 기기를 사용하여 얻었다.

표면구조분석

표면구조는 주사형 전자현미경(Hitachi SEM model S-4300, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다. 즉, 시료를 양면접착 테이프에 얇게 분산시킨 후 Au로 진공증착(100 Å 두께)하여 전압 5 kV, 시료경사 30° 의 조건에서 1,000 배로 촬영하여 관찰하였다.

분자사슬형태(conformation)

수용액에서 알로에 UF 다당분획의 형태구조(conformational structure)는 Ogawa et al.(1972)의 방법에 따라 congo red(Sigma Chemical Co.)와 다당의 복합체 특성을 조사하여 결정하였다. 즉, 다당분획 시료 2 mL(1 mg/mL)를 2 mL Congo red($50\ \mu\text{mol/L}$) 및 1 mL의 NaOH와 혼합하였다. 이 때, NaOH의 농도는 최종농도로 0.05-1 mol/L의 일정농도 범위가 되도록 하였다. 또, 2 mL Congo red($50\ \mu\text{mol/L}$)와 1 mL NaOH 용액을 혼합한 것을 대조구로서 사용하였고, 음성 비교군으로는 dextran(Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA; 평균분자량 100-200 kDa)을 사용하였다.

실온에서 10분간 유지한 후 UV-Vis 분광광도계(Spectronic Genesis-5, Rochester, NY, USA)로 400-700 nm에서 주사하였고, 최대흡광도 λ_{max} 값을 구하였다.

AFM(Atomic force microscopy)에 의한 영상 관찰

AFM 영상은 Scanning Probe Microscope(Digital Instru-

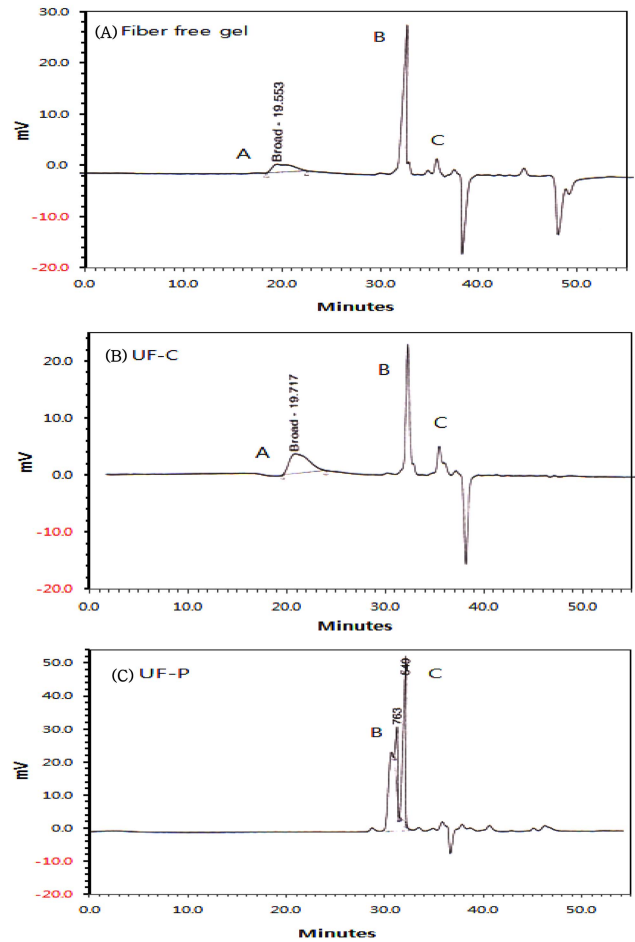


Fig. 3. Gel permeation chromatograms of the fiber free gel (A), UF-retentate (B) and UF-permeate (C) fractions from Aloe vera gel.

ment Nanoscope V, multimode, USA)을 사용하여 대기하에서 tapping mode(intermittent contact mode)로 수행하여 얻었다. 시편은 UF 다당용액(1×10^{-3} mg/mL)을 마이카(운모) 기관위에 점적하고 실온하의 desiccator에서 1.5 시간 이상 건조하여 조제하였다.

결과 및 고찰

GPC에 의한 분자량 분포 및 분자량 특성

한외여과(UF) 전후 시료의 분자량 특성을 알아보기 위하여 UF 전의 원심분리한 무섬유 겔 및 UF 후의 보유액과 투과액 분획의 분자량 분포를 HPGPC system에 의해 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 3과 같다.

UF 보유액(UF-C)의 경우는 크로마토그램 상에 2개의 서로 다른 영역이 존재하였다. 하나는 RT(retention time)=19.553-19.717 분에서의 고분자 영역(peak A)이었고, 다른 하나는 기본적으로 2개의 peak(B와 C)를 갖는 RT=

31.176-31.294 분에서의 저분자 영역이었다. 원심분리한 무섬유 겔 시료분획(fiber free gel)도 이러한 두 영역의 분포를 보였으나 peak 높이 및 면적은 UF 보유액보다 보다 낮았으며, UF 투과액(UF-P)에서는 A 영역없이 B, C 영역만이 존재하였다.

A 및 B, C의 HPGPC 분포는 fresh gel에서도 나타나는데, 그대로 방치하면 A 영역이 사라지고 B, C 영역만이 남게 된다. 따라서 A 영역의 존재는 겔로부터 고형분을 분리할 때 주요 화학적 변화가 일어나지 않았을 의미하며, 만약 이 영역이 존재하지 않는 경우는 신선한 생잎 알로에 겔에서 나타내는 것과 같은 생물학적 성질을 보장할 수 없는 것으로 알려지고 있다(www.carringtonlabs.com).

그러므로 UF의 보유액 분획과 원심분리한 무섬유겔 시료는 생물학적 성질을 보장하는 이들 A 영역성분을 함유함을 확인하였다. 그러나 두 시료에서 UF 보유액의 peak 높이(3287)나 면적(442151)은 원심분리 겔(peak = 1450, area = 189368)보다 더 높거나 커서 UF에 의해 겔이 농축(면적비로 약 2.3 배)되었음을 보였다.

한편, 분자량이 서로 다른 표준품 시료(pullulan 및 PEG)를 사용하여 표준곡선을 작성하고 분자량을 조사한 결과(data not shown), 무섬유 겔 시료 분획은 A peak에서 Mn(수평균분자량)=36.8 kDa, Mw(중량평균분자량)=43.9 kDa로 다분산성(polydispersity)=1.19이었고, B, C peak에서는 790-797 Da(polydispersity=1.01) 값 범위이었다. 반면, UF 보유액 분획은 A peak에서 Mn=34.8 kDa, Mw=43.2 kDa로 다분산성=1.24이었고, B, C peak에서 830-838 Da(다분산성=1.01)이었다. A peak 없이 B, C peak만 존재하였던 UF 투과액 분획의 분자량은 765-766 Da(다분산성=1.00)이었다.

따라서 원심분리한 무섬유 겔 시료와 UF 보유액의 분자량 특성은 서로 같은 것으로 판단되었으나, UF 보유액은 UF로 저분자영역의 투과액이 분리되어 알로에 겔의 분자량 특성을 유지하면서 고농축정된 것으로 볼 수 있었다. 또한, UF 다당분획의 분자량의 분포는 GPC에 의해 단일 피크를 보였으며, 다분산성의 지표인 Mw/Mn도 1.24이었으므로 분자량의 분포가 크게 분산되지 않은 일종의 undispersed polysaccharide임을 확인할 수 있었다.

한편, UF 다당분획의 다당함량을 정량적으로 조사하기 위해 각 시료에 대해 알로에의 유효다당 성분으로 알려진 glucomannan을 정량하였으며, 그 결과는 Fig. 4와 같다.

다당함량은 UF 보유액(1,467 mg/L) > 원심분리 겔(639 mg/L) > UF 투과액(204 mg/L)의 순으로 HPGPC 결과와 잘 일치하였다.

이 알로에의 glucomannan은 알로에 베라 겔의 표식화합물로서, 알로에 베라 겔이 불량하거나 부적절하게 조제될 경우에 분해되므로(Yaron, 1993; Femenia et al., 2003), 이의 함량수준이 높은 UF 보유액은 생잎 알로에 겔의 생물학적 성질을 잘 보유할 것으로 생각되었다.

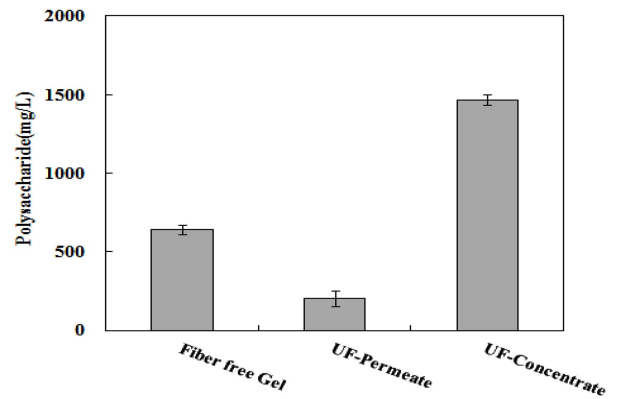


Fig. 4. Polysaccharide contents of fiber free gel, UF-retentate (UF-concentrate) and UF-permeate fractions from Aloe vera gel.

¹H NMR 스펙트럼 특성

¹H NMR은 알로에 베라 겔 제조의 동질성과 품질을 평가하는 필수도구로, 3 개의 주요 천연성분인 포도당, malic acid 및 Acemannan 다당에 대응하는 signal이 NMR 스펙트럼에서 명확하게 존재하는 것으로 보고되었다(Diehl & Teichmuller, 1998). 또, 최근 Davis & Goux(2009)도 NMR assay는 제품 중 알로에 다당을 검증하고 시간경과에 따른 어떤 화합물의 분해를 추적하는데 사용할 수 있다고 하였다.

이에 따르면, Acemannan은 2, 3 혹은 6 위치에서 부분적으로 아세틸화된 β-1,4 결합 mannan으로 ¹H NMR에서 아세틸 그룹이 알로에 베라의 fingerprint로서 고려될 수 있는 특성적 signal(2.00-2.26 ppm)을 나타낸다. 반면, 몇몇 유기산의 존재가 스펙트럼으로부터 추론되는데, 1.33 ppm에서의 signal은 젖산의 존재를 지적하며, 알로에 베라의 천연성분이 아닌 젖산은 젖산균 발효의 최종산물이므로 고농도 젖산 함량은 알로에 원료의 부정적 품질 특성이라고 하였다.

또, 발효 및 효소적 분해에 부가하여 화학적 분해가 부적절한 가공 혹은 부적합한 저장을 통해 시작될 수 있는데, 이러한 화학적 분해 중 Acemannan은 탈아세틸화되고 아세트산의 생산을 초래하며, 이 아세트 산은 1.92 ppm에서 나타난다고 하였다.

따라서 UF 전의 원심분리한 겔과 이들의 UF 보유액 및 투과액의 ¹H NMR 스펙트럼을 표준 알로에 다당과 비교, 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 5와 같다.

무섬유 겔 시료분획(Fig. 5, fiber free gel)에서는 젖산이나 아세트산의 peak 없이 3 개의 주요 천연 성분 즉, glucose(5.2 ppm, d; 4.6 ppm, d)와 신선한 생잎 알로에 겔에 함유된 유일한 유기산인 malic acid(4.35 ppm, m; 2.4-2.8 ppm, m), 그리고 알로에의 bioactive 다당인 Acemannan(2.0-2.2 ppm)의 3 개 peak가 관찰되어 신선한 생잎 겔의 특성을 잘 유지하였다.

하지만, 알로에 투과액 분획(Fig. 5, UF-P)에서는 Acemannan

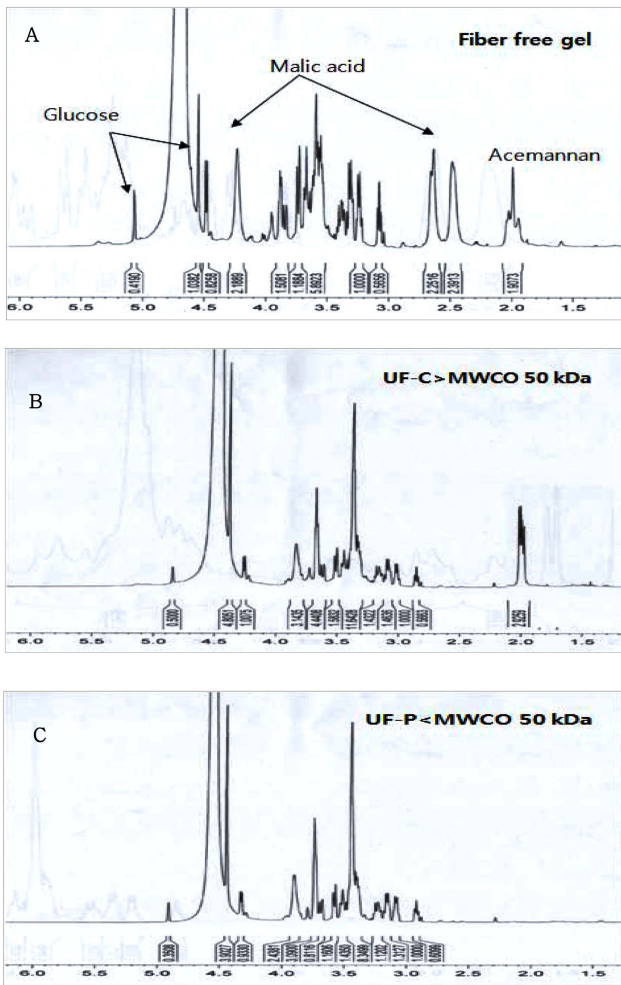


Fig. 5. ^1H NMR (600 MHz) spectra of fiber free gel (A), UF-retentate (B) and UF-permeate (C) fractions from Aloe vera gel.

의 peak가 관찰되지 않았다. 반면, UF 보유액 분획(Fig. 5, UF-C)에서는 원심분리액과 마찬가지로 약 2.1 ppm에서의 signal이 검지되었고, 앞서 언급한 Diehl & Teichmuller(1998)가 보고한 finger print의 특징적 signal과 잘 일치하였다.

따라서 UF 보유액 분획은 알로에의 유효 생리활성 성분인 Acemannan을 함유하는 것으로 판단되었고, HPGPC의 결과와도 상관성을 보임을 알 수 있었다.

FT-IR 스펙트럼 특성

IR 분광분석법은 알로에 다당(CarrisyTM)의 품질을 조사하는 유용 기술의 하나이며, 알로에 다당의 분석에 매우 중요한 것으로 알려져 있다(McAnalley & Prairie, 1988).

동결건조한 원심분리 무섬유겔 분획과 UF 보유액 분획은 다당의 특성을 나타내었으므로 이들의 FT-IR 스펙트럼을 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 6과 같다.

두 시료 모두 $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ 로 주사되었을 때, 스펙트럼으로부터 수소결합의 O-H stretching frequency에 기인한 $3600\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ 및 관련 bending vibration의 $1100\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$, $2950\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ 에서의 stretching vibration 및 대응하는 bending frequency $1470\text{-}1460\text{ cm}^{-1}$ 등 C-H기의 기능기가 발견되어 전형적인 다당의 특성을 나타내었다.

하지만 원심분리 겔의 FT-IR은 acetyl 기의 C=O 및 C-O-C stretching에 대응하는 1740 및 1250 cm^{-1} band의 주요 감소를 나타내었는데, 이는 이들 시료의 탈아세틸화 과정과 관계된다. McAnalley(1993)는 정제 Acemannan(Carrisy)에서 carbonyl 관능기 및 아세틸화 시료의 C-O-C stretch가 각각 $1748\text{-}1735$ 및 $1246\text{-}1235\text{ cm}^{-1}$ 에서 관찰된 반면, 탈아세틸화된 시료의 carboxylate와 carbonyl stretch는 $1600\text{-}1550$ 및 $1450\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ 사이에서 각각 위치하였다고 하였

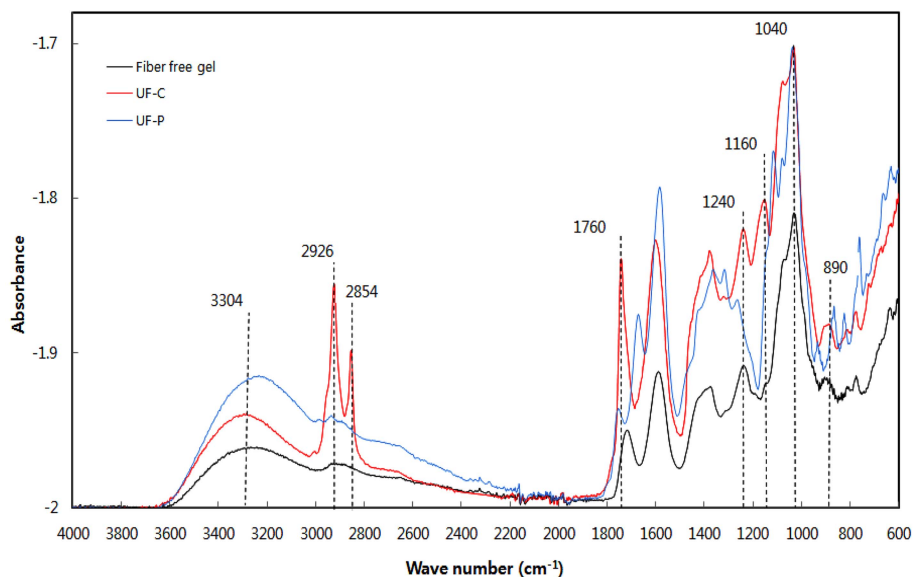


Fig. 6. FT-IR spectra of fiber free gel, UF-retentate (UF-C) and UF-permeate (UF-P) fractions from Aloe vera gel.

다. 또 Carrisyn이 탈아세틸화 되었을 때, 1248-1235 cm^{-1} 사이의 에스터 C-O-C stretch의 부재가 관찰되며, 스펙트럼의 가장 큰 peak는 1431 cm^{-1} 에서 집중된다고 하였다. 따라서 아세틸화 시료의 IR 스펙트럼은 특징적인 강한 ester carbonyl 흡수 peak를 보이는 반면, 탈아세틸화 다당은 이러한 peak가 없다고 볼 수 있다. UF 보유액 분획 시료도 1748-1735 및 1246-1235 cm^{-1} 에서 band가 관찰되어 아세틸화되었음을 보여주었다.

따라서 UF 보유액 분획시료는 아세틸화 다당의 특성을 잘 유지하는 것으로 판단되었고, 특히, UF 시료의 FT-IR 스펙트럼은 약 1160, 1040 및 899 cm^{-1} 에서의 β -결합 다당류

의 특징적인 band를 잘 나타내었다(Blafkova et al., 2004).

이상으로부터 UF 보유액분획은 아세틸화된 다당의 특성을 잘 유지하는 bioactive Acemannan을 보유하며, 따라서 이에 기인하는 각종의 생리적 성질에 중요한 영향을 미칠 수 있다고 판단되므로, 차후 이에 대한 각종 생물활성 검토의 필요성이 매우 높다고 생각되었다.

표면구조 특성

Kim et al.(2009)은 알로에 다당 표준품은 미세 섬유상 구조를 나타내지만 복합성분계로서의 건조한 알로에 시료들은 표면에 불규칙한 다공성을 갖는 모자이크 유사구조로서의 겔 유사구조를 보여 알로에 다당의 섬유상 구조를 관찰할 수 없었다고 하였다. 따라서 동결건조한 각 분획시료의 표면구조를 1,000 배로 조사하였고, 그 결과는 Fig. 7과 같다.

그림에서 볼 수 있는 바와 같이, 알로에 표준 다당에서는 섬유상의 구조가 관찰되었지만, fiber free gel은 일부 다공성과 주름이 있는 부드러운 표면의 펼쳐진 겔 유사구조를 나타내었다. 반면, UF 다당분획은 표면이 주름지고 거친 겔이 뭉쳐진 것과 같은 구조를 보였다. 이러한 유사 구조는 알로에 glucomannan과 구조적으로 비슷한 konjac glucomannan (KGM)에서도 관찰되었으며, 분자량이 작을수록 덜 compact하고 더 다공성을 가지며, 분자량이 아주 낮아지면 섬유상으로 되는 것으로 보고되었다(Chen et al., 2006).

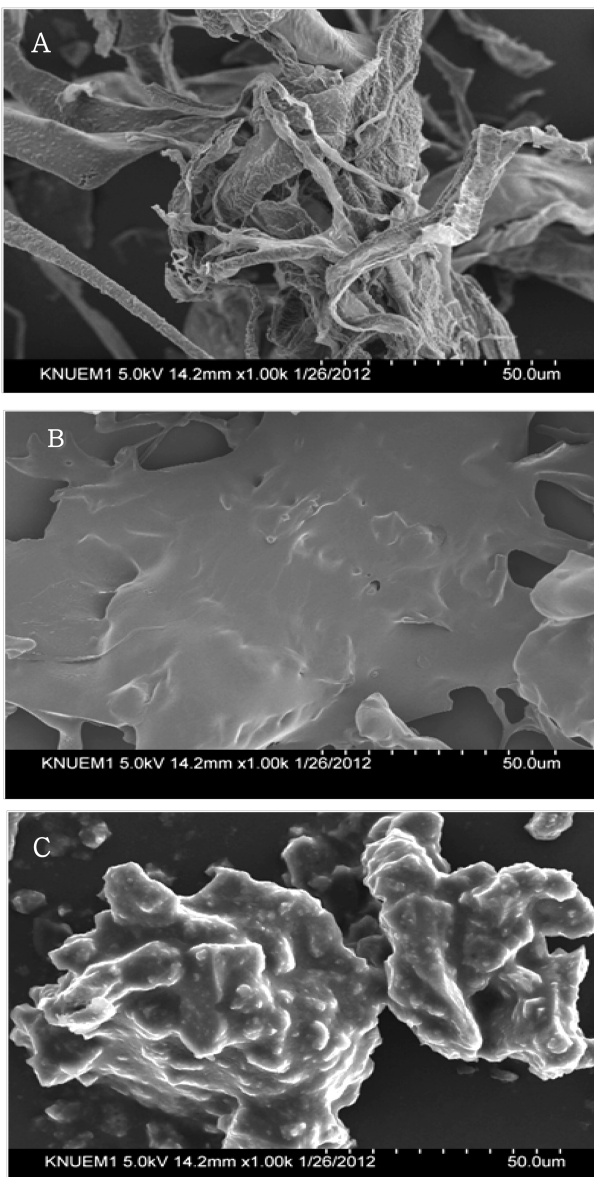


Fig. 7. Scanning electron micrographs of Aloe standard polysaccharide (A), fiber free gel (B) and UF-retentate fraction (C) from Aloe vera gel.

분자시슬형태구조의 특성

수용액에서 다당의 형태는 구상, 랜덤코일, 반유연사슬, 강성사슬, 나선사슬(single-helix, triple-helix)과 같은 여러 가지이며, 이들 형태는 기능성 혹은 생물활성에 큰 영향을 준다. 따라서 사슬 분자형태의 이해는 다당의 생물활성 연구 및 다당 기반의 기능성 식품 개발에 매우 중요하다(Wang et al., 2008; Wang et al., 2009).

특히, 생물활성과 큰 상관성을 갖는 나선사슬과 같은 다당의 질서화된 구조는 희석 NaOH 용액에서 착색제인 Congo red와 복합체를 형성할 수 있고, 결과적으로 helical 다당류-Congo red 착합체는 UV-Vis 흡수스펙트럼에서 최대흡수파장(λ_{max})의 장파장이동(red shift)을 초래한다. 반면, random coil 구조를 갖는 다당은 높은 알칼리 농도에서 이들 착합체를 형성할 수 없다. 따라서 Congo red와 다당류의 착합체 형성 및 최대흡수파장의 이동은 다당의 helical 구조를 검증하는 가장 신속한 방법으로 사용되고 있다(Ogawa et al., 1972; Farina et al., 2001).

본 실험에서도 알로에 UF 다당분획의 형태구조(conformational structure)를 알아보기 위해 0-1 M NaOH 용액에서 Congo red와 다당의 복합체 특성을 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 8과 같다.

Fig. 8에서 보는 바와 같이, Congo red의 Vis 스펙트럼의 λ_{max} 값은 NaOH 농도가 0-1 M로 증가됨에 따라

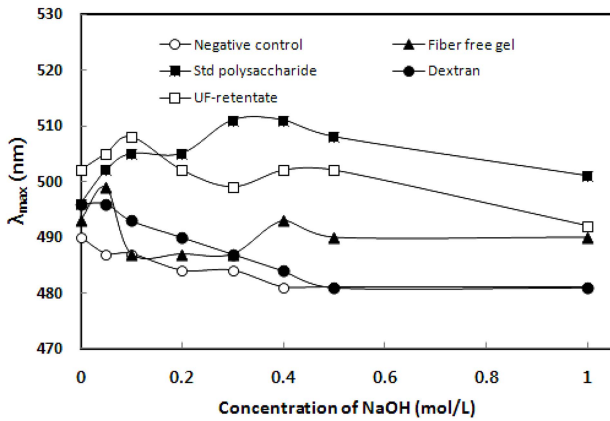


Fig. 8. Helix-coil transition analysis of fiber free gel, UF-retentate and Aloe standard polysaccharide by changes in the absorption maximum of Congo red-polysaccharide complex at different concentrations of NaOH.

489 nm에서 480 nm까지 감소하였으며 negative control로 사용한 random coil 구조의 α -dextran도 0 M NaOH 농도에서의 494 nm로부터 감소하여 480 nm까지 감소하였다. 반면, 알로에 표준다당의 경우는 NaOH 농도가 증가함에 따라 λ_{\max} 값이 더 긴 파장으로 크게 이동하여, 0.25-0.4 M NaOH 농도에서 최대값은 514 nm이었으며, 1 M 농도까지도 510 nm 수준을 유지하였다. 일반적으로 Congo red와의 복합체 최대흡수파장이 0.1 M NaOH 용액에서 약 505 nm 이상으로 이동하면 시료 다당은 수용액에서 3 중 나선구조를 함유하는 것으로 고려할 수 있으므로 이러한 알로에 표

준다당-Congo red complex의 λ_{\max} 값의 장파장 이동은 다당의 triple helix 존재를 지적한다(Farina et al., 2001; Bao et al., 2002; Dong et al., 2006).

하지만 β -1,4-glucan이나 mannan의 경우는 multiple-helix 형태가 제한되고 주로 single helix가 주 형태라 보고되었고, 이 single helix는 triple helix보다 더욱 강력한 생물활성 형태라고 보고된 바 있다(Wang et al., 2011).

따라서 β -1,4-결합의 알로에의 표준다당은 질서화된 구조의 single helix 구조를 가지고 있으며, 이러한 helix 구조는 NaOH 첨가에 의해 파괴되어 다당과 Congo red의 결합의 상호작용 소실을 빠르게 일으킴을 고려할 때, 강알칼리 하에서도 비교적 질서화된 상태를 유지함을 알 수 있었다. 주로, 나선형 구조의 파괴는 알칼리에 의한 분자간 및 분자내 수소결합의 절단에 기인한다고 알려져 있다(Dong et al., 2006).

Fresh 알로에는 아마도 낮은 다당의 함량으로 λ_{\max} 값의 이러한 장파장 이동이 없는 반면, UF 알로에 다당분획의 경우는 표준다당의 λ_{\max} 값의 장파장 이동과 비슷한 경향을 보여 helix 구조를 가짐을 알 수 있었다. 그러나 λ_{\max} 값의 이동폭이 작아서 helical 구조 함량은 낮음을 보였다. 통상 λ_{\max} 값의 효과가 클수록 helical 구조함량은 더 높은 것으로 알려져 있다(Farina et al., 2001).

Fig. 9는 0.1 및 1 M NaOH 용액에서 UF-retentate의 TM-AFM 영상으로 저농도 NaOH 용액에서는 rod-like 형태를 보였으나 고농도 NaOH 용액에서는 구상형태를 보여 알로에 다당-congo red 복합체의 가시영역 최대흡수파장변화의

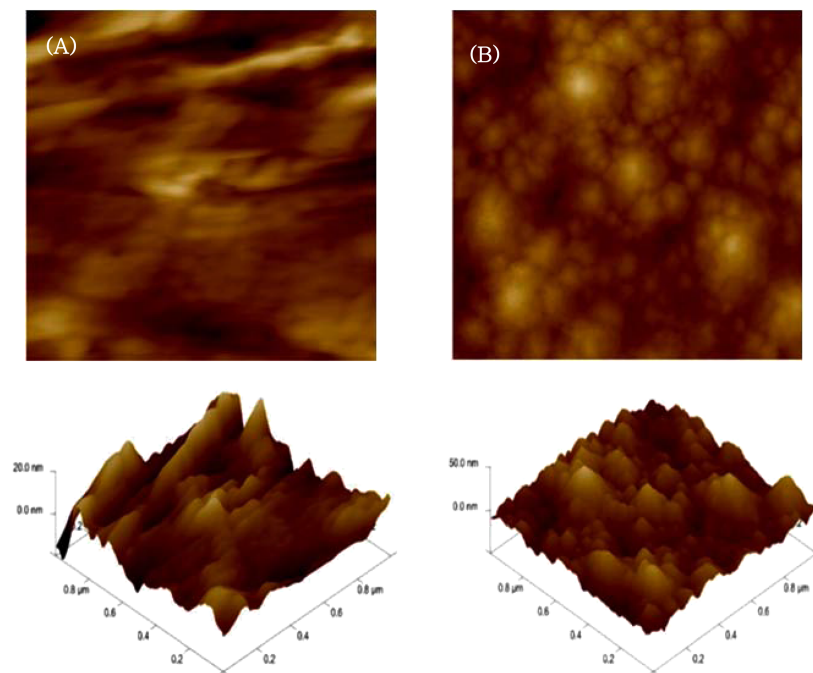


Fig. 9. AFM topographic height (top) and 3-D height (bottom) images of UF-retentate at the different NaOH concentrations of 0.1 (A) and 1.0 M (B) on mica.

양상과 잘 일치하였다.

이상으로부터 알로에 UF 다당은 수용액에서 나선형의 구조를 가지며, 이 구조는 강한 알칼리 조건하에서도 나선형구조의 변형없이 비교적 유지되는 특징을 보임을 알 수 있었다.

결 론

생잎 알로에 베라 겔을 원심분리하고 섬유질을 제거한 무섬유 알로에 겔을 다시 한외여과를 통해 알로에 보유액과 투과액의 분획을 얻었으며, 이들의 분자적 성질을 비교, 조사하였다. GPC에 의해 분자량의 분포를 살펴 본 결과, UF 보유액과 원심분리한 무섬유 겔에서는 고분자(peak A)가 존재하였으나 UF 투과액에서는 이 peak A가 존재하지 않고 저분자의 peak B 및 C 영역만이 관찰되었다. Peak A의 분자량분포는 단일하고, 다분산성의 지표값이 낮아 (1.24) 분산되지 않은 일종의 undispersed polysaccharide 특징을 보였다. 알로에의 유효 다당성분인 glucomannan을 정량한 결과, UF 보유액(1,467 mg/L) > 원심분리한 무섬유겔(639 mg/L) > UF 투과액(204 mg/L)의 순으로 GPC 결과와 잘 일치하였다. ¹H NMR 스펙트럼을 살펴본 결과, 원심분리한 무섬유 겔에서는 생잎 알로에 베라겔의 품질지표로 사용되는 glucose, malic acid 및 Acemannan 다당이 존재함으로써 생잎 겔의 특징을 잘 유지하였으나, UF 투과액에서는 Acemannan이 존재 하지 않았다. 반면, UF 보유액 분획에서는 알로에 유효성분인 Acemannan의 peak(2.0 ppm)가 존재하였으며, 이는 FT-IR의 아세틸화 다당특성과도 잘 부합하였다. 또 UF 다당분획의 표면구조는 섬유질 구조를 보이는 알로에 표준다당과는 달리 주름이 있는 거친 표면의 겔 cluster 유사 구조를 보였으며, Congo red와 결합하여 UV-Vis 흡수스펙트럼에서 최대흡수파장의 장파장 이동을 보여 다당의 기능성 및 생물활성과 밀접한 관련을 갖는 helical 구조의 존재를 추론할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부의 광역연계 협력사업비(과제번호: R000451) 지원에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

- Agarwala OP. 1997. Whole leaf Aloe gel vs. standard Aloe gel. Drug Cosmet. Ind. 160: 22-28.
- Alzamora SM, Gerschenson LN, Vidales S, Nieto A. 1997. Structural changes in the minimal processing of fruits: Some effects of blanching and sugar impregnation. In: Food Engineering 2000. Fito P, Ortega-Rodriguez E, Barbosa-Canovas GV (eds). Chapman & Hall, New York, USA, pp.117-140.
- Baek JH, Kim SA, Lee SY. 2008. Concentration of fresh gel from *Aloe vera* L. by using ultrafiltration process. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 23: 169-176.
- Bao XF, Zhen Y, Ruan L, Fang JN. 2002. Purification, characterization, and modification of T lymphocyte-stimulating polysaccharide from spores of *Ganoderma lucidum*. Chem. Pharm. Bull. 50: 623-629.
- Blafkova P, Synytsya A, Copikova J. 2004. Chitin-glucan complex from *Agaricus blazei*, a potential raw material for production of food additives. Czech J. Food Sci. 22 (special issue): 231-234.
- Bozzi A, Perrin C, Austin S, Arce F. 2007. Quality and authenticity of commercial aloe vera gel powders. Food Chem. 103: 22-30.
- Cha TY, Baek JH, Lee SY. 2007. Comparative study on chemical composition of Korean Aloes of three species according to different portions. Food Eng. Prog. 11: 175-184.
- Chen ZG, Zong MH, Li GJ. 2006. Lipase-catalyzed modification of konjac glucomannan. J. Appl. Polym. Sci. 102: 1335-1340. Volume 102, Issue 2, Article first published online: 28 JUL 2006
- Dagne E, Bisrat D, Viljoen A, Van Wyk BE. 2000. Chemistry of *Aloe* species. Curr. Org. Chem. 4: 1055-1078.
- Davis B, Goux WJ. 2009. Single-laboratory validation of an NMR method for the determination of *Aloe vera* polysaccharide in pharmaceutical formulations. J. AOAC Int. 92: 1607-1616.
- Diehl B, Teichmuller EE. 1998. Aloe vera, quality inspection and identification, Agro. Food Industry Hi-Tech 9: 14-16.
- Dong Q, Jia LM, Fang JN. 2006. A β -D-glucan isolated from the fruiting bodies of *Hericium erinaceus* and its aqueous conformation. Carbohydr. Res. 341: 791-795.
- Eberendu AR, Luta G, Edwards JA, McAnalley BH, Davis B. 2005. Quantitative colorimetric analysis of aloe polysaccharides as a measure of *Aloe vera* quality in commercial products. J. AOAC Int. 88: 684-691.
- Farina JI, Sineriz F, Molina OE, Pertti NI. 2001. Isolation and physicochemical characterization of soluble scleroglucan from *Sclerotium rolfsii*. Rheological properties, molecular weight and conformational characteristics. Carbohydr. Polym. 44: 41-50.
- Femenia A, Garcia-Pascual P, Simal S, Rossello C. 2003. Effects of heat treatment and dehydration on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from *Aloe barbadensis* Miller. Carbohydr. Polym. 51: 397-405.
- Forni E, Torreggiani D, Crevelli G, Mastrelli A, Bertolo G, Santelli F. 1987. Influence of osmosis time on the quality of dehydrofrozen kiwifruit. Acta Horticulturae 282: 425-433.
- Garcia-Martinez E, Martinez-Monzo J, Chamacho MM, Martinez-Navarrete N. 2002. Characterization of reused osmotic solution as ingredient in new product formulation. Food Res. Int. 35: 307-313.
- Garca-Segovia P, Mognetti C, Andrs-Bello A, Martnez-Monz J. 2010. Osmotic dehydration of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller). J. Food Eng. 97: 154-160.
- He Q, Changhong L, Kojo E, Tian Z. 2005. Quality and safety assurance in the processing of Aloe vera gel juice. Food Control 16: 95-104.
- Kim SA, Baek JH, Lee SY. 2008. Concentration of Aloe vera gel by DIS (dewatering & impregnation soaking) process and process kinetics of DIS concentration. Food Eng. Prog. 12: 198-208.
- Kim SA, Baek JH, Lee SY. 2009. Structural and physicochemical

- properties of dried Aloe vera gel using DIS (dewatering & impregnation soaking) process. Food Eng. Prog. 13: 24-31.
- Lachenmeier K, Kuepper U, Musshof F, Madea B, Reusch H, Lachenmeier DW. 2005. Quality control of *Aloe vera* beverages. Electron. J. Environ. Agric. Food Chem. 4: 1033-1041.
- McAnalley BH. 1993. Process for preparation of aloe products. European Patent WO89/06539.
- McAnalley, BH. & Prairie G. 1988. Process for preparation of aloe products, produced thereby and components thereof. US patent 4,735,935.
- O'Brien C. 2005. Physical and chemical characteristics of Aloe gels. Ph. D. Thesis, University of Johannesburg. Republic of South Africa.
- Ogawa K, Watanabe T, Tsurugi J, Ono S. 1972. Conformational behavior of a gel-forming (1->3)- β -D-glucan in alkaline solution. Carbohydr. Res. 23: 399-405.
- Shaw PE, Lebrun M, Ducamp MN, Jordan MJ, Goodner KL. 2002. Pineapple juice concentrated by osmotic evaporation. J. Food Quality 25: 39-49.
- Uddin MB, Ainsworth P, Ibanoglu S. 2004. Evaluation of mass exchange during osmotic dehydration of carrots using response surface methodology. J. Food Eng. 65: 473-477.
- Wang C, Zhang Y, Huang HX, Chen MB, Li DS. 2011. Solution conformation of konjac glucomannan single helix. Adv. Mater. Res. 197-198: 96-104.
- Wang X, Xu X, Zhang L. 2008. Thermally induced conformation transition of triple-helical lentina in NaCl aqueous solution. J. Phys. Chem. B 112: 10343-10351.
- Wang J, Xu X, Zheng H, Li J, Deng C, Xu Z, Chen J. 2009. Structural characterization, chain conformation, and morphology of a β -(1->3)-D-glucan isolated from the fruiting body of *Dictyophora indusiata*. J. Agric. Food Chem. 57: 5918-5924.
- Yaron A. 1993. Characterization of Aloe vera before and after autodegradation and stabilization of the natural fresh gel. Phytother. Res. 7: S11-S13.
- Internet reference
Carrington Laboratories, Inc. 26 May, 2008
<www.carringtonlabs.com>