

탈지대두박에서의 Isoflavone의 분리를 위한 흡착제의 조건

여경은* · 조성빈 · 김우정

*매일유업 중앙연구소, 세종대학교 식품공학과

Separation Conditions of Isoflavone from Defatted Soybean Flour with Using Sorption Resin

Kyoung-Eun Yeo*, Sung-Bin Cho and Woo-Jung Kim

Dept. of Food Science and Technology, Sejong University

*Central Research Institute, Maeil Dairy Industry Co., Ltd.

Abstract

Conditions for sorption and elution of isoflavone with using Amberlite XAD-1180 were studied to separate Isoflavone from defatted soybean flour (DSF). Isoflavone analyzed were daidzin, genistin, glycitin, daidzein, genistein and glycitein by HPLC. The result showed that washing Amberlite XAD-1180 with 75% methanol and then elution of isoflavone with 80% ethanol resulted the highest amounts of isoflavone recovered from the absorption resin. The most proper eluent factor was 4(eluent/sample volume), the sample factor was about 2(the volume of sample/the weight of resin) and flow rate was 12 mL/min. The pH 5.0 and less than 0.25 N NaCl were also found to be proper for separation of isoflavone. The isoflavone contents after separation with absorption resin were about 40% in dry weight basis.

Key words: Isoflavone, separation, defatted soybean flour, absorption resin

서 론

콩기름 생산시 부산물로 발생되는 **탈지 대두박**의 전세계 생산량은 2000년에 약 1억 톤 이상이었으며 국내 생산량도 연간 약 100 만 톤이었다. **탈지대두박**은 **대두에서 지방만 제거되었을 뿐 대부분의 영양소가 잔존할 뿐만 아니라 최근 밝혀진 isoflavone, oligosaccharide, 저분자 peptides, phytate, saponin** 등 기능성 물질들이 함유되어 있어 **탈지대두박**은 **식품 원료로서의 가치 뿐만 아니라 기능성 물질의 분리 및 이용을 위한 중요한 원료**이다(Messina와 Barnes, 1991; Tetsu *et al.*, 1987).

대두의 기능성 물질은 항암, 동맥경화 예방, 골다공증 예방, 혈중 알콜 농도조절의 효과가 최근 밝혀져 있으며 그 중 isoflavone이 가장 중요한 기능

성 물질로 주목을 받고 있다. Isoflavone은 식물체에 들어있는 phenol계 화합물의 배당체로써 **대두** 중 약 0.1 mg/g 정도가 함유되어 있고(Eldridge, 1982), daidzin과 genistin 등 배당체(glucoside)로 **대부분** 존재하지만 품종에 따라 많은 차이가 있다고 보고되어 있다(Moon *et al.*, 1996). **대두**발효식품의 경우 발효 중 미생물의 β -glucosidase에 의해 당이 분리되어 aglycon으로 전환되며(Kim과 Yoon, 1999; Matsuura *et al.*, 1989) 만성질환의 예방과 치료에는 aglycon type인 genistein, daidzein이 주로 관여하는 것으로 보고되어 있다(Katsuzaki *et al.*, 1994). Daidzein은 골다공증 예방과 혈중 알콜 농도상승을 억제하는 효과가, genistein은 여성의 성호르몬인 estrogen과 관련된 암 즉, 유방암, 자궁암, 전립선암의 억제와 골다공증과 순환기질환 및 뇌졸중 예방에 높은 효과가 있음이 증명된 바 있다(Agostino *et al.*, 1995).

콩에는 이상 4가지(daidzin, genistin, daidzein, genistein)의 기능성 isoflavone외에 기능성이 밝혀지

Corresponding author: Woo-Jung Kim, Dept. of Food Science and Technology, Sejong University, Seoul, 143-747, Korea
Phone: 02-3408-0227 Fax: 02-497-8866
E-mail: kimwj@sejong.ac.kr

지 않은 glycitin 및 glycitein이 소량 존재하며, isoflavone 배당체에 acetyl과 malony기가 결합되어 있는 6개의 isomer의 존재가 보고되어 있다(Kim *et al.*, 1996; Yi *et al.*, 1997). 기능성 성분인 isoflavone의 추출에는 산가수분해(Wang *et al.*, 1990; Yeo *et al.*, 2002), 알코올추출(Eldridge, 1982)을 사용한다고 보고되어 있으며, 이외에 chromatography를 이용한 효과적인 추출방법으로 Cho(2000)는 isoflavone을 용매추출 후 ion exchange chromatography, absorption chromatography로 분리하였을 때 absorption chromatography가 효과적이었다고 하였다.

그리하여 본 연구에서는 여러 가지 absorption resin 중 polyaromatic 구조를 갖고 있으면서 phenol 물질이나 aroma compound의 제거 등에 사용되고 있는 Amberlite XAD-1180을 선정하여 수지의 활성화용매와 용출용매, 용매의 양, 수지의 양 등의 영향을 조사하여 isoflavone 분리를 위한 최적 조건을 찾고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에 사용한 탈지대두박(DSF)은 (주)신동방으로부터 제공받아 -20°C의 냉동고에 저장하였고, absorption resin은 polystyrene과 divinyl benzene의 중합체인 Amberlite XAD-1180(surface area 600 m²/g, pore diameter 30 nm, bead size 20-60 mesh; Supelco Inc., USA)을 냉장저장하면서 실험에 이용하였다. Isoflavone 인 genistein, genistin, daidzein(Sigma, USA), daidzin(Wako, Japan), Glycitin, Glycitein(Indofine, USA) 제품을 구입하여 사용하였다. HPLC 용 용매로 methanol(Baker, USA)의 제품을 사용하였고, 기타 추출시 사용한 용매인 ethanol, methanol과 그 외의 시약은 1급 시약을 사용하였다.

시료 추출

Isoflavone 분석을 위한 시료의 전처리는 탈지대두박에 7배의 95°C 증류수를 가하여 교반기로 교반시켜 냉각시킨 후 단백질 제거를 위해 상온에서 2 N HCl를 첨가하여 pH 4.5으로 조정하였다. 이때 침전된 단백질은 cheese cloth(40 mesh)로 여과하여 제거하고 여과액은 20분간 14000×g에서 원심분리시킨 후 상등액은 4°C에서 저장하면서 실험에 사용하였다.

HPLC를 이용한 isoflavone 분석

콩의 isoflavone은 HPLC(Waters Co. USA)를 사용하여 Wang등(Wang *et al.*, 1990)의 방법을 수정 보완한 gradient solvent system으로 분석하였다. 분석시 사용된 column은 μ -Bondapak C₁₈ column(Waters, USA), detector는 254 nm UV detector, injection volume은 20 μ L로 하였다. Mobile phase는 시작시 20% methanol 100에서 시작하여 55분 후 60% methanol이 100으로 마치며 detector와 column의 안정화를 가져오기 위하여 5분간의 여유를 주었으며, flow rate는 1 mL/min이었다. 분리한 isoflavone 함량은 genistein, genistin, daidzein, daidzin, glycitin 및 glycitein의 여섯 가지의 표준 물질의 농도에 따른 peak 면적의 표준정량곡선으로부터 계산하였다. 모든 측정은 3회 이상의 반복 시험에서 평균값을 계산하였다.

흡착제를 이용한 isoflavone의 분리

Isoflavone의 분리를 위하여 흡착제인 Amberlite XAD-1180(3 g)을 methanol과 증류수로 세척한 후 60°C의 dry oven에서 건조시킨 다음 methanol(200 mL)에 하루동안 활성화시켰다. 활성화된 resin은 증류수로 methanol을 충분히 씻어 제거한 다음 column(2.5×40 cm)에 충전시켰다. 단백질과 섬유질이 제거된 DSF용액 20 ml를 1.2 mL/min의 속도로 흡착제에 통과시킨 다음 120 mL의 증류수로 씻어내고 같은 속도로 120 mL ethanol로 흡착된 isoflavone을 용출시켰다. 이 용출액을 rotary vacuum evaporator(EYELA Co., Japan)를 사용하여 농축한 후 80% methanol로 추출하고 syringe filter(0.45 μ m, Waters Co., USA)를 통과시켜 미세물질을 제거하였다.

수지의 활성화용매의 농도

Isoflavone의 분리를 위하여 흡착제인 Amberlite XAD-1180 3 g을 methanol로 세척한 후 105°C dry oven에서 건조하고 0, 25, 50, 75, 100%의 methanol로 resin을 활성화시켰다. 활성화된 resin은 증류수로 methanol을 충분히 씻은 다음 column에 충전시켰다. 용출용매는 증류수와 ethanol 80% 두가지를 사용하여 용출되는 isoflavone 함량을 비교하였다.

용출용매의 농도

수지의 활성화용매의 선정실험에서 채택된 methanol 50, 75, 100%로 활성화시킨 흡착제를 120

mL의 ethanol을 용출용매로 하여 0, 20, 40, 60, 80, 100%의 농도로 흡착된 isoflavone을 용출시켜 용출된 isoflavone의 함량을 비교하였다.

용출용매와 추출물의 양

흡착제의 활성화 용매로 선정된 methanol 50%를 사용하여, 흡착된 isoflavone의 용출을 위해 선정된 ethanol 80%의 양을 20, 40, 80, 120, 160, 200 mL로 변화시켰으며, 흡착된 isoflavone의 용출속도를 4, 8, 12 mL/min으로, 시료의 양을 2.5-25.0 mL로 변화시키면서 용출된 isoflavone의 함량을 비교하였다.

추출물의 pH와 이온농도

단백질 제거한 탈지대두박용액의 pH를 2.0 N HCl 과 2.0 N HCl로 3.0, 5.0, 7.0, 9.0, 13.0으로 조정하였으며, 이온으로는 NaCl을 사용하여 그 농도를 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 N로 조정한 다음 methanol 50%로 활성화시킨 수지에 통과시킨 후 용출용매로 선정된 ethanol 80%로 용출시켜 흡착제에 용출된 isoflavone의 함량을 비교하였다.

결과 및 고찰

수지의 활성화용매농도의 영향

흡착제에 통과하기 전의 단백질 제거시킨 탈지대두박용액의 isoflavone의 함량은 639.3 µg/g이었으며, 흡착제의 사용전 수지의 활성화를 위하여 수지를 세척시킨 methanol의 농도효과를 조사한 결과는

Table 1과 같다. 그 결과 단백질을 제거시킨 탈지대두박용액을 수지에 흡착시킨 뒤 증류수로 용출시켰을 때의 측정된 isoflavone 양으로서, 용출되는 isoflavone은 전반적으로 methanol 농도가 0~50%까지 측정되지 않았다가 75%부터는 소량 유출됨을 보였다. 이러한 결과는 흡착제를 높은 농도의 methanol로 활성화시켰을 때 일부 isoflavone이 물에 의해 유출됨을 보여주었다.

한편 용출용매를 증류수대신 80% ethanol을 사용할 경우 용출되는 isoflavone은 증류수 경우보다 현저히 높았고 특히 수지의 활성화를 위한 methanol의 농도가 50%이상일 때 1g 탈지대두박에서 600 µg 내외의 isoflavone이 측정되었다. Methanol 50% 이상의 농도로 수지를 세척시켰을 경우 용출된 daidzin이 genistin보다 약 60:40의 비율로 많았으나 aglycone에서는 genistein이 daidzein보다 높게 측정되었다. 이경우 daidzin, genistin, glycitin 등 총 배당체는 전체 isoflavone의 약 70-90%이었다. 이러한 결과는 흡착수지를 50%이상의 methanol로 세척시킴이 isoflavone의 흡착에 효과적이었으며 흡착된 isoflavone의 80% ethanol에 의한 용출이 잘되고 있음을 보여주고있다. Isoflavone의 배당체 비율은 배당체의 비율이 76%였다는 Kim등(Kim *et al.*, 1996)의 보고와 배당체가 75%이었다는 Eldridge (1982)의 보고와 유사하였다. 이 결과 수지의 활성화를 위한 methanol의 농도는 50% 이상으로 하였다.

용출용매농도의 영향

Isoflavone의 배당체와 aglycon의 용해도는 배당체

Table 1. Effects of activation and eluting solvents for Amberlite XAD-1180 on isoflavone contents

Solvent		Daidzin (µg/g)	Genistin (µg/g)	Glycitin (µg/g)	Daidzein (µg/g)	Genistein (µg/g)	Glycitein (µg/g)	Total (µg/g)
Activation	Elution							
MeOH 0%	Water	0	0	0	0	0	0	0
	EtOH80%	52.01	85.12	5.37	9.79	32.81	0.87	185.97
MeOH 25%	Water	0	0	0	0	0	0	0
	EtOH80%	95.29	125.79	10.30	62.50	73.08	14.39	381.35
MeOH 50%	Water	0	0	0	0	0	0	0
	EtOH80%	207.07	174.40	57.11	66.42	76.30	15.17	596.47
MeOH 75%	Water	34.96	35.33	0	0	0	0	70.29
	EtOH80%	262.50	209.06	107.72	7.86	32.18	17.12	636.44
MeOH 100%	Water	36.43	36.66	0	0	0	0	73.09
	EtOH80%	186.89	147.82	43.94	81.60	87.36	18.33	565.94

가 물에 용해가 잘 되는 반면 aglycon은 알코올에 더 잘 용해되는 차이가 있다(Pratt, 1972). 그리하여 흡착된 isoflavone을 용출시킬 때 용출용매인 ethanol 농도의 영향을 조사한 결과(Table 2) 전반적으로 ethanol의 농도가 증가하면서 isoflavone의 용출량이 증가함을 보여주었다. 이러한 경향은 흡착수지의 활성화를 위한 methanol의 농도에도 영향을 받았다. 즉 50%와 75% methanol로 활성화 시켰을 때에는 용출용매가 ethanol 80% 까지, 100% methanol로 수지를 활성화 시켰을 경우에는 100% ethanol 까지 용출된 isoflavone이 증가하였다. 용출된 isoflavone의 양은 methanol 50%와 75%로 활성화시키고 ethanol 80%로 용출시킨 경우 각각 596.47과 636.44 $\mu\text{g/g}$ 이었고, 순도는 24.9%와 27.9%의 값을 나타냈다. Methanol 75%로 수지를 활성화시키고 ethanol

80%로 용출시킨 시료의 경우 isoflavone 구성 면에서는 배당체가 aglycon보다 약 6배 높았고 daidzin과 daidzein의 합은 약 270 $\mu\text{g/g}$ 이고 genistin과 genistein의 합은 약 240 $\mu\text{g/g}$ 으로 이들의 비율은 45:40으로 거의 비슷한 양이었다.

용출용매와 추출물 양의 영향

Isoflavone을 흡착시킨 후 80% ethanol로 용출시킬 때 80% ethanol의 적절한 양을 조사하기 위하여 흡착제 3g 사용시 단백질을 제거시킨 탈지대두박 용액 20 mL에 대한 ethanol 양의 영향의 결과는 Table 3과 같다. 이때 단백질이 제거된 탈지대두박 용액의 고형분 농도는 3.5%이었다. 총 isoflavone을 용출시키기 위해 사용한 80% ethanol양을 20 mL로 하였을 때 용출된 총 isoflavone의 양은 낮았으나 40

Table 2. Effects of ethanol concentration on isoflavone eluted from Amberlite XAD-1180 which were activated with 50, 75 and 100% methanol

MeOH	EtOH	Daidzin ($\mu\text{g/g}$)	Genistin ($\mu\text{g/g}$)	Glycitin ($\mu\text{g/g}$)	Daidzein ($\mu\text{g/g}$)	Genistein ($\mu\text{g/g}$)	Glycitein ($\mu\text{g/g}$)	Total ($\mu\text{g/g}$)	Purity* (%)
50%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40	226.62	156.63	63.70	18.98	51.33	2.40	519.66	18.25
	80	207.07	174.40	57.11	66.42	76.30	15.17	596.47	24.90
	100	216.33	159.88	61.31	20.41	44.48	4.59	507.00	30.32
75%	0	34.96	35.33	0	0	0	0	70.29	7.29
	40	248.94	163.07	75.24	27.95	47.53	4.27	567.00	30.03
	80	262.50	209.06	107.72	7.86	32.18	17.12	636.44	27.85
	100	240.97	184.65	74.53	41.42	62.98	6.90	611.45	32.94
100%	0	36.43	36.66	0	0	0	0	73.09	6.11
	40	233.68	169.52	70.62	33.94	51.60	5.03	564.39	22.05
	80	186.89	147.82	43.94	81.60	87.36	18.33	565.94	26.57
	100	257.52	196.07	84.41	25.92	48.63	4.35	616.90	16.62

*The purity is percentage of isoflavone in dry weight basis of extracts.

The protein and fiber removed DSF sample volume used for absorption was 20ml and total solids contents was 3.5%.

Table 3. Effects of solvent volume used for elution on isoflavone eluted from Amberlite XAD-1180

Solvent Volume (ml)	Daidzin ($\mu\text{g/g}$)	Genistin ($\mu\text{g/g}$)	Glycitin ($\mu\text{g/g}$)	Daidzein ($\mu\text{g/g}$)	Genistein ($\mu\text{g/g}$)	Glycitein ($\mu\text{g/g}$)	Total ($\mu\text{g/g}$)	Purity* (%)
20	226.72	161.68	19.56	11.27	38.66	3.80	461.69	30.62
40	269.24	190.28	29.86	28.23	41.11	8.64	567.36	22.73
80	283.68	210.79	35.82	23.58	47.98	6.72	608.57	26.00
120	265.66	205.07	29.17	20.12	51.40	8.85	580.27	37.20
160	264.52	223.10	23.34	20.52	47.91	7.04	586.43	32.22
200	280.81	229.22	37.05	19.92	44.46	7.40	618.86	49.59

*The purity is percentage of isoflavone in dry weight basis of extracts.

The protein and fiber removed DSF sample volume used for absorption was 20ml and total solids contents was 3.5%.

mL 이상에서는 600 µg/g 내외의 비교적 높은 양이 유출되면서 변화 경향이 일정치 않고 그 차이가 크지 않아 흡착된 isoflavone이 거의 다 용출 됨을 보여주고 있다. 이러한 경향은 각각의 isoflavone에서도 비슷한 결과를 보였다. 이 경우 배당체인 daidzin, genistin은 각각 약 280 µg/g, 230 µg/g까지 용출되나 aglycon인 daidzein, genistein은 여전히 낮은 값으로 각각 약 20 µg/g, 44 µg/g 정도를 보이고 있다.

흡착제 column에 용매로 용출시킬 때 적절한 용출속도와 수지무게 3g당 시료의 양을 결정하기 위하여 용출속도를 4, 8, 12 mL/min으로, 시료양을 2.5~25.0 mL의 범위로 변화시켜 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 이때 흡착수지는 methanol 75%로 활성화시킨 다음 흡착된 isoflavone을 120 mL의 80% ethanol로 용출시켰다. 그 결과 수지 3g당 시료의 양이 2.5 mL 일 때 약 300~340 µg/g에서 시작하여 5.0 mL 일 때 약 430~600 µg/g으로 증가하였지만, 그 이상 시료양이 증가하여도 용출된 isoflavone의 양은 증가하지 않았다. 이 결과는 isoflavone에 대한 수지의 sorption capacity의 한계를 보여주고 있다고 하겠다. 용출속도의 영향은 4~8 mL/min 범위에서 시료양 20 mL 까지 약간씩 증가하는 경향을 보였지만, 12 mL/min은 시료의 양이 5 mL 일 때부터 그 이상의 증가를 보이지 않았다. 결과적으로 시료는 수지의 양의 약 2배, 유출속도는 12 mL/min가 isoflavone 용출에 경제적인 조건으로 나타났다.

추출물의 pH와 이온농도의 영향

단백질을 제거시킨 탈지대두박용액의 pH를 3.0~13.0으로 조절하여 용액의 pH가 isoflavone의 흡착과 용출에 어떤 영향을 주는지 조사한 결과는 Table 4와 같다. 이때, 용출조건은 methanol 50%로 수지를 활성화시켜 flow rate 12 mL/min에서 ethanol

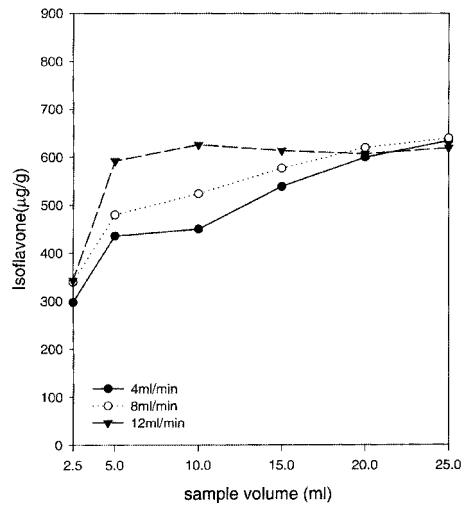


Fig. 1. Effects of flow rates of elution solvents and the ratio of sample solution/resin on isoflavone recovered with using Amberlite XAD-1180.

80%로 하였다. 탈지대두박용액에서 단백질 제거를 위하여 사용하였던 pH 4.5와 근접한 pH 5.0과 pH 7.0, 9.0 그리고 11.0 부근에서 용출된 isoflavone은 약 500~610 µg/g으로 거의 비슷하게 높은 용출량을 보였으나 pH 3.0과 pH 13.0에서는 용출되는 정도가 크게 감소함을 보여주었다.

특히 daidzein과 genistein의 용출에서는 작게는 16 µg/g에서 크게는 45~60 µg/g으로 변화하였으나 그 경향이 일정하지 않아 aglycon은 용출이 불안정함을 보여주고 있다. pH 13.0에서는 daidzein과 genistein이 거의 측정되지 않아 이들이 pH의 영향으로 인해 수지에 흡착되지 않았거나 흡착된 상태로 남아 있음을 알 수 있었다. 따라서 배당체인 daidzin, genistin보다 aglycon인 daidzein과 genistein이 pH에

Table 4. Effects of pH of protein removed DSF solution on isoflavone recovered with using Amberlite XAD-1180

PH	Daidzin (µg/g)	Genistin (µg/g)	Glycitin (µg/g)	Daidzein (µg/g)	Genistein (µg/g)	Glycitein (µg/g)	Total (µg/g)	Purity* (%)
3	163.36	116.25	28.18	16.30	39.01	1.94	365.00	24.66
5	240.97	184.65	74.53	41.42	62.98	6.90	611.45	46.32
7	218.23	177.36	54.70	24.31	47.37	9.86	531.83	26.07
9	194.44	161.60	52.35	27.80	51.40	4.97	492.56	20.52
11	238.90	188.74	71.71	22.35	45.88	3.74	571.32	30.39
13	183.14	136.99	51.65	3.54	0.00	0.00	375.32	24.69

*The purity is percentage of isoflavone in dry weight basis of extracts.

The protein and fiber removed DSF sample volume used for absorption was 20 ml and total solids contents was 3.5%.

Table 5. Effects of ion concentraion on isoflavone recovered with using Amberlite XAD-1180

NaCl (N)	Daidzin (μg/g)	Genistin (μg/g)	Glycitin (μg/g)	Daidzein (μg/g)	Genistein (μg/g)	Glycitein (μg/g)	Total (μg/g)	Purity* (%)
0.00	240.97	184.65	74.53	41.42	62.98	6.90	611.51	33.05
0.25	183.58	137.50	108.65	48.15	50.95	6.33	535.16	46.13
0.50	173.54	134.35	60.50	47.14	19.30	2.68	437.51	39.06
1.00	177.38	88.38	50.51	22.19	33.27	1.75	373.45	32.19
1.50	201.61	161.63	50.69	2.47	16.81	0.69	433.90	19.72

*The purity is percentage of isoflavone in dry weight basis of extracts.

The protein and fiber removed DSF sample volume used for absorption was 20ml and total solids contents was 3.5%.

더 민감함을 보여주었고, 단백질의 등전점과 근접한 pH 5.0이 수지의 안정성과 용출정도에 가장 적당함을 알 수 있었다. 이는 pH에 따라 수지에 흡착되는 정도가 영향을 받는다고 보고한 Kumar *et al.*(2000)과, Ferreira와 Brito(1999)의 결과와 어느 정도 일치한다.

흡착제에 isoflavone의 흡착과 용출에 미치는 NaCl 이온의 영향을 조사한 결과는 Table 5와 같으며, 이때의 용출조건 또한 pH 조절시와 동일하게 하였다. 이때 NaCl의 농도는 0.0~1.5 N 범위였다. NaCl의 농도가 0.5 N 이상으로 증가하였을 때 수지가 분산되는 것이 관찰되어 column에의 수지충전이 불안정하기 시작하였다. 또한 용출되는 isoflavone의 양에서도 0.5 N 이상 증가할 경우 535.15 μg/g에서 373.45 μg/g까지 감소하여 0.5 N 이상의 NaCl은 수지에의 isoflavone 흡착을 방해하고 있음을 알 수 있다. 특히 0.5 N NaCl 이상에서는 daidzein과 genistein의 경우 유출된 양이 2 μg/g~33 μg/g의 범위로 불안정하여 어떤 경향을 보여주지 않았다. 반면, 0.25 N NaCl에서는 수지의 충전이 안정되었을 뿐만 아니라 isoflavone의 용출양에 큰 감소가 없었다.

이상의 결과에서 isoflavone의 분리를 위한 흡착 수지의 사용시 수지의 활성화용매는 75% methanol을 사용하고 흡착된 isoflavone의 용출을 위하여는 ethanol 80%를 사용함이 적절한 조건으로 밝혀졌다. 또한 용출용매의 양은 탈지대두박 용액의 4배, 용출속도는 12 mL/min, pH는 5.0, NaCl의 농도는 0.25N이하에서 함이 효과적임을 알 수 있었다.

요 약

탈지대두박을 이용한 isoflavone의 분리 및 정제를 위한 최적 조건을 찾고자 absorption resin인

Amberlite XAD-1180를 사용하여 흡착제 활성화용매의 농도, 흡착된 isoflavone의 용출용매의 농도, 용출용매의 양과 용출속도, 시료와 흡착제의 비율 그리고 수지에 미치는 pH와 ion의 영향을 조사하였다.

수지의 활성화와 용출에는 Amberlite XAD-1180의 경우 methanol 75%로 활성화시켜 ethanol 80%로 용출시키는 경우가 가장 높은 값을 보였으며, 이때 사용하는 absorption resin은 isoflavone 흡착을 위해 사용한 단백질제거 탈지대두박용액의 약 0.5배로, ethanol의 양은 단백질제거 탈지대두박용액 양의 4배를 사용하여 flow rate 12 mL/min의 경우가 적절한 조건임이 밝혀져 흡착제 사용이 isoflavone 함량을 최고 2~3배까지 향상시키는 결과를 보였다. 이때 분리된 isoflavone의 순도는 최고 40%까지 얻을 수 있었다. pH와 ion의 영향에서는 pH는 5.0, NaCl은 0.25 N 이하에서 isoflavone의 유출량이 높았다.

감사의 글

이 논문은 한국생산성기술연구원의 청정생산기술 사업(98-2-D-1) 연구비지원에 의하여 수행된 결과의 일부이며 이에 감사하는 바입니다.

문 헌

- Agostino, M., B. Loredana and P. Victoria, 1995. In vitro hormonal effects of soybean isoflavones. *J. Nutr.* **125**: 751-756
- Cho, S. B. 2000. Extraction and separation of isoflavone from soybean hull waste. M. Sci. Thesis, Sejong Univ. Seoul, Korea
- Eldridge, A. C. 1982. Determination of isoflavones in soybean flours, protein concentrates, and isolates. *J. Agric. Food Chem.* **30**: 353-355

- Ferreira, S. L. C. and C. F. Brito, 1999. Separation and preconcentration of cobalt after sorption onto amberlite XAD-2 loaded with 2-(2-thiazolylazo)-p-cresol. *Analytical Sci.* **15**: 189-191
- Katsuzaki, H., T. Osawa and S. Kawakishi, 1994. Food phytochemicals for cancer prevention, American chemical society, Washington D.C. **1**: 275-280
- Kim, J. S., Y. J. Nam and T. W. Kwon, 1996. Induction of quinone reductase activity by genistin, soybean isoflavone. *Foods and Biotechnology* **5**: 70-75
- Kim, J. S. and S. Yoon, 1999. Isoflavone contents and β -glycosidase activities of soybeans, Meju and Doenjang. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**: 1405-1409
- Kim, Y. H., S. D. Kim, E. H. Hong and W. S. Ahn, 1996. Physiological function of isoflavones and their genetic and environmental variations in soybean. *Korean J. Crop Sci.* **41**: 25-45
- Kumar, M., D. P. S. Rathore and A. K. Singh, 2000. Amberlite XAD-2 functionalized with o-aminophenol; synthesis and applications as extractant for copper(II), cobalt(II), cadmium(II), nickel(II), zinc(II) and lead(II). *Talanta* **51**: 1187-1196
- Matsuura, M., A. Obata and D. Fukushima, 1989. Objectable flavor of soy milk developed during the soaking of soybeans and its control. *J. Food Sci.* **54**: 602-605
- Messina, M. and S. Barnes, 1991. The role of soy products in reducing risk of cancer. *JNCI*. **83**: 541-546
- Moon, B. K., K. S. Jeon and I. K. Hwang, 1996. Isoflavone contents in some varieties of soybean and on processing conditions. *Korean J. Food Sci. Technol.* **12**: 527-534
- Pratt DE. 1972. Water soluble antioxidant activity in soybeans. *J. Food Sci.* **37**: 322-327
- Tetsu, A., I. Junko, N. Suguru, O. Hisofhi, W. Shun-ichi, I. Noriki, S. Masabumi and F. Yasuo, 1987. Genisteine a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinase. *J. Biol. Chem.* **262**: 5592-5595
- Wang, G., S. S. Kuan, O. J. Francis, G. M. Ware and A. S. Carman, 1990. A simplified HPLC method for the determination of phytoestrogens in soybean and its processed products. *J. Agric. Food Chem.* **38**: 185-190
- Yeo, K. E., S. B. Cho and W. J. Kim, 2002. Effects of Acid Hydrolysis on Isoflavone of Defatted Soybean Flour. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**: 916-918
- Yi, M. A., T. W. Kwon and J. S. Kim, 1997. Changes in isoflavone contents during maturation of soybean seed. *J. Food Sci. Nutr.* **2**: 255-260