

분무건조공정을 이용한 β -carotene의 미세캡슐화

홍주현 · 이원영* · 최용희

경북대학교 식품공학과, *상주대학교 식품공학과

Microencapsulation of β -carotene by Spray Drying Process

Joo-Heon Hong, Won-Young Lee* and Yong-Hee Choi

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

*Department of Food Engineering, Sangju National University

Abstract

β -carotene was microencapsulated in maltodextrin (MD), modified starch (MS) and gum arabic (GA) by spray drying process. The GA- β -carotene powder provided the best microencapsulation with only 17.12 % of surface β -carotene as compared to the MD- β -carotene powder at 27.71% and MS- β -carotene powder at 23.88%. The average particle size of MD, MS and GA was 11.55, 9.73 and 20.19 μ m, respectively. MS out of microencapsulated powders had the smallest bulk density and the largest compressibility. The outer topology of microencapsulated powders had a more or less spherical shape but had many indentations. Microencapsulated powder of GA- β -carotene was superior to MD and MS- β -carotene in improving retention of the β -carotene during 10 weeks storage.

Key words : β -carotene, microencapsulation, spray drying

서 론

카로테노이드(carotenoid) 화합물 중에서 비타민 A로서의 역가가 가장 높은 베타 카로틴(β -carotene)은 식품, 의약품 및 화장품 등의 착색제 및 첨가제로서 오래 전부터 사용되고 있으며 현재는 강력한 항암 효과 및 대사과정에서 레티놀(retinol)의 주 공급원으로 보고되어 건강식품으로서 그 중요성이 크게 인식되고 있다(Pierre, 1997; 홍상필 등, 1998). 또한, 역학적 연구에 의하면 매일 일정량의 베타 카로틴을 섭취하면 심장질환이나 암의 위험을 줄일 수 있다는 보고가 있다(Takashi *et al.*, 2001). 베타 카로틴은 그 이용성이 증대되고 있으나 광선, 수분활성도, 열, 산소 및 기타요인 등에 의하여 쉽게 산화 또는 분해되어 이용이 제한되어 왔다.

미세캡슐화 기술은 유용성분을 인위적으로 포장하는 기술로서 의약품, 공업재료, 농업재료, 향료 및 식품분야에 응용되고 있다. 식품분야에서는 식품 첨가물 또는 식품 유용물질을 캡슐화 함으로서 식품 소재의 산화방지 및 보존성 향상, 변화하기 쉬운 식품소재의 안정화, 불필요한 냄새의 차단, 액상식품의 고형화, 식품소재의 방출속도 조절 등을 위해 많이 이용되고 있다(조영희 등, 1992; Shahi와 Han, 1993). 미세캡슐의 제조방법으로는 분무건조, 분무냉각(spray chilling), air suspension coating, centrifugal suspension coating, 분자포점(molecular inclusion) 및 압출(extrusion) 등 다양한 방법이 보고되고 있으나, 이들 중 분무건조가 경제성과 산업적 활용면에서 유리한 장점을 제공하여 가장 많이 이용되고 있다(Mckernan, 1972; Kondo와 Wan, 1979; Graves와 Weiss, 1993). 분무건조는 생산성이 우수하고 건조온도가 130~300°C 범위로 비교적 높음에도 불구하고 원료가 열과 접촉하는 시간은 5~20초 이내가 되기 때문에 열에 의한 물질성분의 변화가 크게 일어나지 않는 것으로 알려져 있다. 분무건조 공정중 품

Corresponding author: Yong-Hee Choi, Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, 1370 Sankyukdong, Pukgu, Taegu 702-701, Korea.
Phone: +82-53-950-5777, Fax: +82-53-950-6772
E-mail: yhechoi@knu.ac.kr

질특성에 미치는 영향을 주는 인자로는 유입공기의 온도(inlet air temperature), 배출공기의 온도(outlet air temperature), 분무방식 및 속도, 원액의 공급 속도, 시료의 물성과 건조공기의 상대습도 등을 들 수 있다(Bang과 Reineccius, 1990; Huber *et al.*, 1995).

미세캡슐 제조시 유의해야 할 사항으로는 캡슐 제조방법의 선택, 내부 유용물질의 선택, 유화제의 선택 및 피복물질(wall material)의 선택 등이 있다. 미세캡슐화 공정에서는 피복물질이 유화제의 역할을 하므로 여러 고분자 화합물 중에서 기본적으로 피막형성이 우수한 물질을 캡슐화를 위한 피복물질로 선택한다. 최근 다양한 피복물질이 개발되어 있으나 현재까지도 널리 이용되고 있는 피복물질로 말토덱스트린, 변성전분, 아라비아검(gum arabic) 등이 있다. 이 중 변성전분과 아라비아검은 유화력과 유화안정성이 우수하다는 장점을 가지고 있으나(Reineccius, 1991), 아라비아검은 흡습성이 높고 노란색을 띄며 특유의 냄새를 내는 단점이 있으며 변성전분은 아라비아검 보다 산화안정성이 떨어지고 가격이 비싼 단점이 있다(Anonymous, 1993). 말토덱스트린은 사용되는 물질 중 가격이 저렴하고 흡습성이 매우 낮으나 포도당 단위로 구성되어 있어 다른 피복물질에 비해 사슬길이가 짧아 때문에 유화안정성이 떨어지는 단점이 있다(Shahi와 Han, 1993; Reineccius, 1991).

본 연구에서는 건강기능성 식품소재인 베타 카로텐의 저장안정성을 향상시키기 위해 말토덱스트린, 변성전분 및 아라비아검을 피복물질로 사용하여 미세캡슐화를 하였으며 분말의 이화학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

핵물질 및 피복물질

핵물질 소재로는 건강기능성 식품소재로 알려져 있는 베타 카로텐(Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI, USA)을 선정하였으며 미세캡슐화를 위한 피복물질은 분무건조 다당류로 많이 이용되고 있는 alkenylsuccinated modified starch(National Starch and Chemical Co., Berkeley, CA, USA)와 말토덱스트린(D.E.=15, Daesang Co., Korea), 아라비아검(TIC Gums Co., Belcamp, MD, USA)을 사용하였다.

미세캡슐화

세 종류의 피복물질을 Homomixer(PT3100, Kinematica

AG Co., Littau-Lucerne, Switzerland)를 이용하여 수화시켜 20%로 조절한 수용액 1000g에 핵물질인 베타 카로텐 0.5 g을 넣고 혼합기로 혼합하고 고압 균질기(APV-2000, APV Company, Wilmington, MA, USA)를 이용하여 유화압력 200MPa로 균질화하여 유화액을 제조하였다. 제조된 유화물은 송풍온도 170°C, 분무속도 600 l/hr, 시료공급속도 8 ml/min의 조건으로 노즐형 분무기가 장착된 분무건조기(Mini Spray Dryer B-191, Buchi Inc., Flawil, Switzerland)를 사용하여 분말화 하였다.

점도

세 종류의 피복물질 수용액의 농도를 10, 20 및 30%(w/v)로 조절하여 수용액의 온도 25, 40 및 60 °C에서 회전형점도계(Model DV-II⁺, Brookfield Co., Middleboro, MA, USA)를 사용하여 측정하였다.

입도분석

분무건조된 미세캡슐 분말의 평균 입자크기와 분포 정도는 각 시료를 에틸알코올에 분산시켜 입도분석기(LS-230, Backman Coulter Co., Fullerton, CA, USA)를 이용하여 측정하였다.

겉보기 밀도와 다짐밀도

분무건조된 미세캡슐 분말의 겉보기밀도와 다짐 밀도는 분체물성측정기(MT-1001, SEISHIN Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 즉, 부피 100 ml의 원통 용기에 10 cm 높이에서 시료를 공급하여 채운 후 무게의 비를 측정하여 겉보기밀도(bulk density)를 구하였고, 다짐밀도(compaction density)는 겉보기밀도를 측정된 원통용기에 시료를 일정 높이로 더 채운 후 2 cm 폭 및 300회의 일정한 힘과 속도로 왕복시켜 다져진 무게의 비를 측정하였다. 또한, 겉보기밀도와 다짐밀도와의 관계를 나타내는 체적감소율(volume reduction rate)은 아래 식 (1)을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Volume reduction rate (\%)} = \frac{CD - BD}{CD} \times 100 \quad (1)$$

CD : 다짐밀도 (compaction density)
BD : 겉보기밀도 (bulk density)

입자표면구조

분무건조된 미세캡슐 분말의 입자표면구조를 관찰하기 위해 각 시료에 gold ion coating한 후 주사

전자현미경(scanning electron microscope:S-4300, Hitachi, Tokyo, Japan)을 이용하여 측정하였다.

β -carotene의 분석

총 베타 카로텐: 미세캡슐 분말 50 mg을 증류수 2.5 ml와 핵산 25 ml를 함께 시험관에 넣은 후 교반기로 충분히 혼합하고 베타 카로텐을 추출하여 HPLC로 분석하였다. HPLC시스템은 Sykam510 model (Sykam Co., Eresing, Germany)로 C18 column (waters, 4.6 mm \times 250 mm), UV-VIS detector로 구성되어 있다. 검출파장은 450nm였으며 이동상은 메틸알코올:클로로포름(96:4)이며 유속은 1.0 ml/min이었다.

표면 베타 카로텐: 미세캡슐 분말의 표면에 존재하는 베타 카로텐은 Wagner와 Warthesen(1995)의 방법에 따라 미세캡슐 분말 50 mg을 핵산 25 ml와 함께 시험관에 넣은 후 교반기로 30초간 혼합하여 포접되지 않고 분말 표면에 있는 베타 카로텐을 추출하여 HPLC로 분석하였다.

미세캡슐화된 β -carotene의 저장안정성

미세캡슐화된 베타 카로텐의 저장안정성에 대한 빛의 영향을 조사하기 위하여 분말 일정량을 유리 접시에 넣고 밀봉한 다음 일부는 일광에 노출시켜 상온에 보관하였고, 나머지는 빛을 차단하기 위하여 은박지로 포장후 암소에 10주간 저장하면서 1주간격으로 베타 카로텐 함량을 HPLC로 분석하였다.

결과 및 고찰

피복물질의 점성

각각의 피복물질의 농도 및 온도에 따른 점도 분석 결과를 Table 1에 나타내었다. 농도가 증가할수록 피복물질 수용액의 점도는 급격히 증가되었으며 온도가 증가함에 따라 점도는 감소되는 경향이였다. 피복물질로 선정된 다당류들의 점도를 살펴보면 말토덱스트린(MD) 용액의 점도는 30%의 경우 25°C에서 60°C로 온도가 증가함에 따라 24.3~38.2mPa·s로 가장 낮았으며, 아라비아검(GA) 용액의 경우는 같은 조건에서 91.6~125.6mPa·s로 가장 높았다. 일반적으로 분무건조법을 이용한 미세캡슐화 제조시 피복물질은 대체로 고농도로 사용될수록 원하는 내부 핵물질을 감싸는 능력이 높다고 보고되고 있다 (Rosenberg *et al.*, 1990). Ping *et al.*(1999)은 30% 이상의 농도는 점도의 급격한 상승을 가져와 nozzle

Table 1. Viscosity of wall material depend on the concentration and temperature

Concentration (%)	Solution temp. (°C)	Viscosity (mPa·s)		
		MD ¹⁾	MS	GA
10	25	16.1	16.4	26.7
	40	13.9	14.3	16.4
	60	12.0	13.7	15.4
20	25	21.1	27.8	54.2
	40	15.6	20.3	42.3
	60	13.5	17.4	35.8
30	25	38.2	50.5	125.6
	40	29.7	36.2	102.5
	60	24.3	31.9	91.6

¹⁾MD : maltodextrin, MS : modified starch, GA : gum arabic

을 통과할 때의 액적의 크기가 증가되어 nozzle의 분산성을 떨어뜨린다고 보고하였다. 따라서 GA의 경우 25°C와 30%의 농도 조건에서는 점도가 120 mPa·s이상으로 분무건조 하기에 높은 점도로 사료 되어 각각의 피복물질의 농도와 온도를 20% 및 25°C로 선정하여 미세캡슐화를 하였다.

분무건조 미세캡슐의 특성

분무건조공정을 이용하여 피복물질의 종류에 따라 미세캡슐화된 분말의 특성을 Table 2에 나타내었다. 분무건조 동안의 손실은 분무건조 전 유화액의 고형분에 대한 회수된 분말의 무게를 측정하여 나타내었는데, MD가 13.5%로 가장 높았으며 GA가 8.3%로 가장 낮아 분무건조 수율이 높음을 알 수 있었다. 이는 GA의 경우는 유화력과 유화안정성이 뛰어나며 MD의 경우는 포도당 단위로 구성되어 있어 사슬의 길이가 짧기 때문에 유화액의 안정화가 어렵다. 평균입자크기는 MS가 9.73 μ m로 가장 작았고 GA가 20.19 μ m로 가장 컸으며 입자크기 분포(Fig. 1)는 MD의 경우 3~50 μ m정도로 입자가 균일하게 분포되어 있었으며 MS는 2~100 μ m였고 GA의 경우는 3~200 μ m로 다른 피복물질에 비해 입자크기분포가 큼을 알 수 있었다. Masters(1999)는 같은 농도에서는 점도가 높을수록 입자크기가 커진다고 하였는데, 본 연구결과와 일치하였다. 핵물질인 베타 카로텐에 대한 피복물질의 포집능을 나타내는 표면 베타 카로텐 함량은 MD가 27.71%로 가장 높았으며 GA가 17.12%로 가장 낮아 다른 피복물질에 비해 포집능이 우수함을 확인하였다. 이는 같은 베타 카로텐/피복물질의 비율에서는 입자크기

Table 2. Characteristics of microencapsulated powders by spray drying process

Powder properties	Wall material		
	MD ¹⁾	MS	GA
drying loss	13.5	9.4	8.3
surface β -carotene(%)	27.71 \pm 2.0 ²⁾	23.88 \pm 2.2	17.12 \pm 2.0
Average particle size(μ m)	11.55 \pm 0.5	9.73 \pm 0.5	20.19 \pm 1.5
Bulk density(g/cm ³)	0.2386 \pm 0.004	0.2092 \pm 0.006	0.2986 \pm 0.008
Compact density(g/cm ³)	0.4118 \pm 0.005	0.4274 \pm 0.004	0.4902 \pm 0.005
Volume reduction rate(%)	42.06	51.05	39.09

¹⁾MD : maltodextrin, MS : modified starch, GA : gum arabic

²⁾Means of triplicate \pm standard deviation.

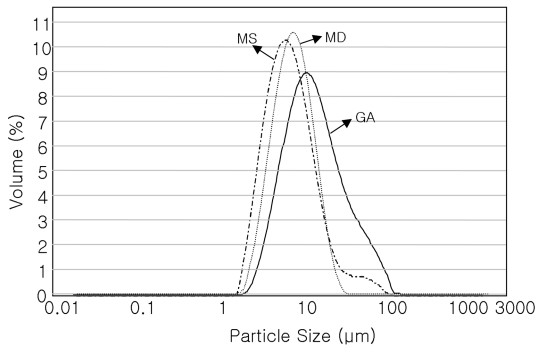


Fig. 1. Particle size distribution of microencapsulated powders by spray drying process (MD: maltodextrin, MS: modified starch, GA: gum arabic).

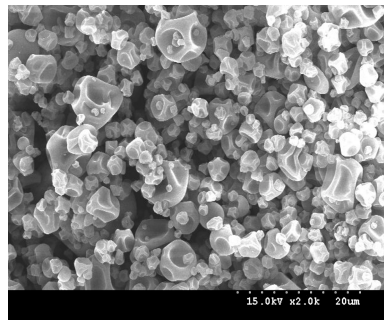
가 클수록 내부 베타 카로텐으로의 산소화산을 방해하는 성질이 강하게 작용하며 작은 입자크기의 분말은 산소와 표면 베타 카로텐 사이의 반응을 증가시키기 때문이다. Stephane *et al.*(1997)은 건조방법에 따른 베타 카로텐의 캡슐화에 관한 연구에서 구형의 입자형태와 작은 입자크기를 가지는 분무건조 분말이 드럼건조 및 동결건조 분말에 비해 베타 카로텐의 산화가 상대적으로 빨리 진행된다고 보고하였다. 미세캡슐화된 분말의 겉보기밀도는 MS가 0.2092로 가장 낮았는데, 흡습성이 다른 피복물질에 비해 높아 입자 상호간에 가교결합이 형성되어 공극이 많이 생겼으며 이러한 공극으로 인해 다짐밀도도 0.4274로 가장 높게 측정되었다. 겉보기밀도와 다짐밀도의 관계를 나타내는 체적감소율은 MS가 51.05%로 가장 높았으며 일정한 힘과 속도로 왕복시켜 다져진 까닭에 공극이 가장 많이 줄어든 것으로 판단된다.

입자표면구조

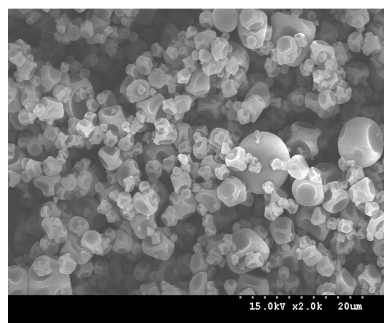
세 종류의 피복물질을 이용하여 미세캡슐화된 분말의 입자표면구조는 Fig. 2에 나타내었다. 모든 미세캡슐화된 분말은 입자표면에 굴곡이 많은 구형을 나타내었으며 GA의 경우 다른 피복물질에 비해 입자크기가 큰 것을 알 수 있었다. 분무건조 분말에서 입자표면의 굴곡형성은 성분조성과 분무의 형태, 유입액의 점성, 분무건조 조건 및 건조 초기의 액적 분산에 따른 수축정도에 기인한다(Rosenberg *et al.*, 1988). 단백질이 많이 함유된 피복물질은 분무건조 시 좋은 구형의 입자표면을 보여주지만, 다당류 함량이 상대적으로 높은 피복물질로 분무건조된 분말은 표면 굴곡이 심한 경향을 가진다고 알려져 있다. Sheu와 Rosenberg(1995)는 분무건조 입자의 표면굴곡은 입자크기가 큰 분말보다는 입자크기가 작은 분말에서 일반적으로 나타난다고 보고하였다.

미세캡슐화된 β -carotene의 저장안정성

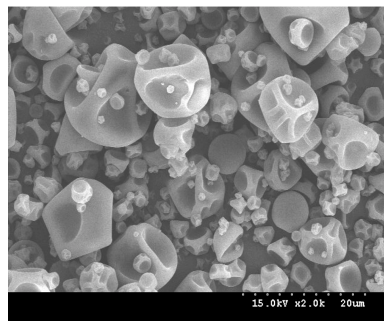
빛의 영향에 따른 미세캡슐화 베타 카로텐의 저장안정성을 Fig. 3에 나타내었다. 모든 미세캡슐화 분말에서 은박지를 사용하여 빛을 차단한 경우 베타 카로텐의 감소율이 빛에 노출되게 저장한 것보다 낮음을 알 수 있었으나 급격한 차이는 확인할 수 없었다. Kearsley와 Rodriguez(1981)는 일광조건에서 베타 카로텐의 산화가 가속화되지는 않으며 습도나 금속촉매제의 영향을 많이 받는다고 보고하였고, Pesek와 Warthesen(1987)는 알파 및 베타 카로텐의 산화는 4°C에서 빛에 노출되었을 때 가속화된다고 보고하였다. 저장기간과 피복물질에 따른 베타 카로텐의 감소율은 MD, MS의 경우 저장기간이 길어짐에 따라 각각 78%와 64%로 급격히 감소하였으며, 저장기간 6주 이상에서는 서서히 베타 카



(a) MD



(b) MS



(c) GA

Fig. 2. Scanning electron micrographs of microencapsulated powders by spray drying process (MD: maltodextrin, MS: modified starch, GA: gum arabic).

로텐의 산화가 진행됨을 확인하였다. GA의 저장기간에 따른 베타 카로텐의 감소율은 빛에 노출되었을 경우는 6주차 까지 지속적으로 감소되었으나 은박지로 포장하여 저장한 경우는 4주 이상에서 베타 카로텐의 산화가 미비하였다. GA로 미세캡슐화된 분말은 다른 피복물질에 비해 베타 카로텐의 포집능이 우수하였는데, 갈락토스가 베타-1,3 결합으로 연결되어 있으며 여기에 가지가 많이 달린 복잡한 구조인 관계로 유화안정성이 높고, 상대적으로 큰 입자크기로 인해 내부 베타 카로텐으로의 산소확산

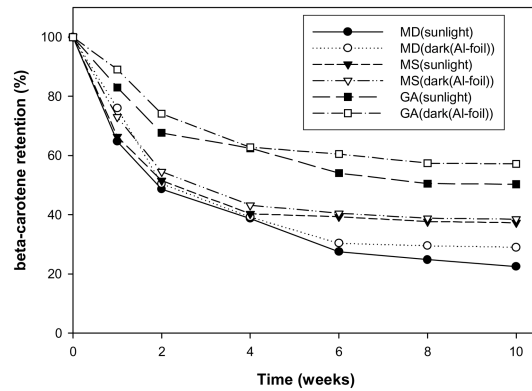


Fig. 3. Storage stability of β -carotene microencapsulated in three wall materials by spray drying process (MD: maltodextrin, MS: modified starch, GA: gum arabic).

을 방해하는 성질이 작용한 까닭이다. GA는 MD 및 MS에 비해 10 주간 저장할 경우 1.5~2배 가량 베타 카로텐의 저장안정성이 우수하여 세 종류의 피복물질 중 베타 카로텐의 미세캡슐화 소재로 활용 가능하였다.

요 약

분무건조공정을 이용하여 건강기능성 식품소재인 베타 카로텐의 저장안정성을 향상시키기 위해 미세캡슐화를 하였으며 각각의 피복물질의 다양한 특성을 조사하였다. 피복물질의 점도는 아라비아검(GA) 용액의 경우 30%, 25°C에서 125.6mPa.s로 가장 높았으며 분무건조 동안의 손실은 말토덱스트린(MD)이 13.5%로 가장 높았고 GA가 8.3%로 가장 낮아 분무건조후 회수율이 우수함을 알 수 있었다. 핵물질인 베타 카로텐에 대한 피복물질의 포집능을 나타내는 표면 베타 카로텐 함량은 MD가 27.71%로 가장 높았으며 GA가 17.12%로 가장 낮아 다른 피복물질에 비해 포집능이 우수함을 확인하였다. 평균입자크기는 변성전분(MS)이 9.73 μ m로 가장 작았고 GA가 20.19 μ m로 가장 컸으며 입자크기 분포는 GA의 경우 3~200 μ m로 다른 피복물질에 비해 입자크기분포가 큼을 알 수 있었으며, 체적감소율은 MS가 51.05%로 가장 높아 공극이 많이 형성됨을 알 수 있었다. 모든 미세캡슐화된 분말은 입자표면에 굴곡이 많은 구형을 나타내었으며, 다른 피복물질에 비해 포집능이 우수하고 입자크기가 큰 GA는 MD, MS에 비해 저장기간 10주차에서 1.5~2배 가량 β -carotene의 저장안정성이 높았으며 세 종류의

피복물질 중 β -carotene의 미세캡슐화 소재로 활용 가능성을 확인하였다.

문 헌

- Anonymous. 1993. Gum arabic protect spray-dried flavors against oxidation. *Food Technol.* **47**(2): 130-131
- Bang, W.E. and G.A. Reineccius. 1990. Characterization of selected materials for lemon oil encapsulation by spray drying. *J. Food Sci.* **55**: 1356-1358
- Graves, B. and H. Weiss. 1992. Encapsulation Techniques. In *Encyclopedia of food science and technology*, Hui, Y.H.(ED.), Wiley-Interscience, New York, USA. pp. 697-703
- Huber, K.C., O.A. Pike and C.S. Huber. 1995. Antioxidant inhibition of cholesterol oxidation in a spray-dried food system during accelerated storage. *J. Food. Sci.* **60**: 909-912
- Kearsley, M.W. and N. Rodriguez. 1981. The stability and use of natural colours in foods: anthocyanin, β -carotene and riboflavin. *J. Food Technol.* **16**: 421-428
- Kondo, A. and V.J.W. Wan. 1979. History and classification of microencapsulation. In *Microcapsule Processing and Technology*. Marcel Dekker, New York, USA. pp. 27-51
- Masters. 1999. Spray drying handbook. Longman, Sci. & Tech. New York, USA. pp. 112-125
- Mckernan, W.M. 1972. Microencapsulation in the flavor industry. *Flavor Ind.* **3**(12): 596-623
- Pesek, C.A. and J.J. Warthesen. 1987. Photodegradation of carotenoids in a vegetable juice system. *J. Food Sci.* **52**: 744-749
- Pierre, A. 1997. Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research. *Trends in Food Sci. Tech.* **8**: 406-411
- Ping, H., S.D. Stanley and I. Lisbeth. 1999. Chitosan microspheres prepared by spray drying. *International J. Pharmaceutics* **187**: 53-65
- Reineccius, G.A. 1991. Carbohydrates for flavor encapsulation. *Food Technol.* **45**(3): 144-146
- Rosenberg, M., Y. Talman and I.J. Kopelman. 1988. The microstructure of spray-dried microcapsules. *Food Microstruct.* **7**: 15-23
- Rosenberg, M., I.J. Kopelman and Y. Talman. 1990. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. *J. Agri. Food Chem.* **38**: 1288-1294
- Shahi, F.S. and X. Han. 1993. Encapsulation of food ingredients. *CRC Cri. Rev. in Food Sci. Nutr.* **33**(6): 501-547
- Sheu, T.Y. and M. Rosenberg. 1995. Microencapsulation by spray drying ethyl caprylate in whey protein and carbohydrate wall systems. *J. Food Sci.* **60**(1): 98-103
- Stephane, A.D., M.N. Flavia and P.L. Theodore. 1997. Comparison of spray-drying, drum-drying and freeze-drying for β -carotene encapsulation and preservation. *J. Food Sci.* **62**(6): 1158-1162
- Takashi, M., M. Kooich, K. Mutsuo, I. Yoshihiro, F. Yasuiro, H. Keiji, E. Fumio, O. Masakazu, N. Yoshitoshi, T. Harukuni and N. Hoyoku. 2001. Cancer chemopreventive activity of carotenoids in fruits of red paprika *Capsicum annum L.* *Cancer Letters* **172**: 103-109
- Wagner, I.A. and J.J. Warthesen. 1995. Stability of spray-dried encapsulated carrot carotene. *J. Food Sci.* **60**: 1048-1053
- 조영희, 신동석, 박지용. 1997. 식품산업에서의 미세캡슐화 기술. *식품과학과 산업* **30**(4): 98-111
- 홍상필, 김명희, 황재관. 1998. Carotenoids의 생리 기능성과 생산기술. *한국식품영양과학회지* **27**(6): 1297-1306