

최 종 보 고 서

발간등록번호

11-1543000-000828-01

전기공압출성형을 이용한 액상 조미성분 인캡슐레이션 기술 개발

(Development of liquid seasoning encapsulation
technology by electro-coextrusion)

강릉원주대학교

농 립 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “전기공압출성형을 이용한 액상 조미성분 인캡슐레이션 기술 개발에 관한 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2015년 03월 02일

주관연구기관명 : 강릉원주대학교

주관연구책임자 : 정 동 화

연 구 원 : 김 무 중

연 구 원 : 피라봉 남니콤

연 구 원 : 샤브남 베흐남

연 구 원 : 나티야 파와프타논

연 구 원 : 황 하 진

요 약 문

I. 제 목

전기공압출성형을 이용한 액상 조미성분 인캡슐레이션 기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

본 연구의 최종목표는, 전기공압출성형에 의한 액상 조미성분 인캡슐레이션 기술의 상용화에 필요한 기반기술을 확보하고, 소비자 기호에 절대적 영향을 미치는 액상 조미성분을 보다 용이하고 효과적으로 식품에 첨가할 수 있도록 하여, 소비자의 기호에 부응하는 차별화된 고품질 식품개발을 이루고자 함.

III. 연구개발 내용 및 범위

- 1차년도 연구내용 : 전기공압출성형에 의한 코어-셸 캡슐 형성 기반조건 확립
- 2차년도 연구내용 : 액상 조미성분 인캡슐레이션 공정 최적화
- 3차년도 연구내용 : 캡슐 함유 식품의 특성 및 차별성 구명

IV. 연구개발결과

- 1차년도 연구결과
 - 전기공압출성형을 이용하여 Ca-alginate의 ionotropic gelation 및 agar의 cold-set gelation에 의한 캡슐 형성 조건의 기본조건을 확립하였으며, alginate 및 agar에 의한 셸 형성 메커니즘의 차이에 의한 캡슐 특성을 비교 분석하였고, 유속/유속비율/전압/노즐크기/셸형성온도/건조조건과 캡슐 특성의 상관관계를 분석함.
- 2차년도 연구결과
 - 전기공압출을 이용한 Ca-alginate 매크로캡슐 제조공정 흐름도를 결정하고 매크로캡슐의 형태 및 조직감을 통계학적 방법으로 최적화함.
 - 전기공압출을 이용한 agar-based 혼합 매크로캡슐 제조공정 흐름도를 결정하고 최적 냉각경화 가역성 하이드로콜로이드 타입, 매크로캡슐의 형태 및 integrity와 handling에 필요한 최소강도 등을 결정하여 제품화의 기준을 설정하였으며, 즉석식품 응용을 위해 열수처리에 의한 코어 방출유발 특성을 분석함.
- 3차년도 연구결과
 - 민트유 캡슐 함유 검을 제조하여 제품의 조직감 및 관능에서의 차별성을 분석하였으며, 식품 제조공정 및 저장 중 함유된 캡슐의 integrity를 공정 및 시간에 따라 관찰하여 안정성을 분석하였고, pilot-scale로 output을 증가하였을 때 발생하는 기계적 및 공정상 문제점을 분석하고 이에 대한 해결책을 제시함.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

- 특허 출원 1건, 시제품 2건/완제품 1건, SIC 논문 2편, 교육지도 10건, 국내외 학술발표 9건의 연구성과를 얻음.
- SCI 1편과 국내논문 1편 투고 준비 중.
- 참여기업의 파일럿 설비 구축 이후 상품 판매가 시작되는 시점에 상표등록과 기술이전 계획.

SUMMARY

(영문요약문)

I. Title

Development of liquid seasoning encapsulation technology by electro-coextrusion

II. Objectives

This research was aimed to establish fundamental technology required for the industrialization of liquid seasoning encapsulation technology in order to effectively deliver liquid seasonings to food products for developing high value-added food products.

III. Contents

- First year : Establishment of electro-coextrusion process for the production of core-shell macrocapsules
- Second year : Optimization of encapsulation process by electro-coextrusion
- Third year : Characterization of food products containing macrocapsules

IV. Results

- First year
 - The electro-coextrusion process for the production of macrocapsules via the ionotropic gelation of Ca-alginate and the cold-set gelation of agar was established, and the effects of flow rate, applied voltage, nozzle size, hardening temperature, drying condition on the physicochemical characteristics of the macrocapsules were evaluated.
- Second year
 - The morphology and textural properties of Ca-alginate core-shell macrocapsules prepared by electro-coextrusion were optimized against the preparation conditions.
 - The thermo-reversible cold-set food hydrocolloids that can effectively mixed with agar for the production of macrocapsules and the minimum macrocapsule hardness required for the acceptable morphology and handling process were determined in order to standardize the quality of macrocapsules.
 - The hot water-triggered release of core fluid from the macrocapsules were investigated.
- Third year
 - The texture and sensorial properties of chewing gum containing peppermint oil-loaded macrocapsules were analyzed.
 - The storage stability of macrocapsules was evaluated at 25 °C and 0% RH.
 - The pilot-scale encapsulation process by electro-coextrusion was successfully designed and tested for the mass production of macrocapsules.

CONTENTS

(영 문 목 차)

Chapter 1. Introduction	1
1. Significance of research	1
2. Objectives	4
Chapter 2. Current status of domestic and international technology development	5
1. Domestic technology status	5
2. International technology status	5
Chapter 3. Results	8
1. First year	8
2. Second year	27
3. Third year	40
Chapter 4. Achievements and technological contribution	50
1. Achievements	50
2. Technological contribution	51
Chapter 5. Research outcomes and usage plan	52
Chapter 6. International scientific and technological information	53
1. Current status of international technology and market	53
Chapter 7. Status of research facilities and instruments	55
Chapter 8. References	55

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	1
제 1 절	연구개발의 필요성	1
제 2 절	연구개발의 목표	4
제 2 장	국내외 기술개발 현황	5
제 1 절	국내 기술개발 현황	5
제 2 절	국외 기술개발 현황	5
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	8
제 1 절	1차년도 연구개발 내용	8
제 2 절	2차년도 연구개발 내용	27
제 3 절	3차년도 연구개발 내용	40
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	50
제 1 절	평가의 착안점에 의한 목표 달성도	50
제 2 절	관련분야 기술 기여도	51
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	52
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	53
제 1 절	해외기술 및 시장 동향	53
제 7 장	연구시설·장비 현황	55
제 8 장	참고문헌	55

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 인캡슐레이션(encapsulation)

- 인캡슐레이션은 기능성 물질을 폴리머로 이루어진 작은 구조체에 포집하여 이의 (1) 물리화학적 안정성, (2) 휘발성 및 냄새 억제, (3) 분산성 향상 및 고형화를 통한 적용범위 확대, (4) 방출제어로 인한 독성 감소 및 기능성 효과 증대 등을 성취하고자하는 기술로 정의됨(Quan et al., 2013).
- 인캡슐레이션 구조체는 보통 코어-셸(core-shell)로 구성된 캡슐형태 혹은 코어-매트릭스(core-matrix)로 구성된 입자형태를 가짐.
- 약학 분야에서 개발이 시작되었으며 소비자의 요구로 식품산업을 비롯한 바이오분야(e.g. 화장품, 농업제제)로 적용범위가 확장되는 추세임.

2. 식품산업에서 인캡슐레이션의 중요성 및 동향

- 2010년 기능성 식품시장의 규모는 약 1,670억 달러로 추산되며, 이는 선진국 전체식품시장의 약 5%에 해당함 (Smith and Charter, 2010).
- 즉석 및 가공식품(e.g. 냉동식품, 건조식품, 빵, 시리얼, 유제품)의 세계시장 규모는 현재 약 1조 8천억 달러에 이룸 (한국보건산업진흥원, 2010).
- 많은 식품성분들(영양, 기능성, 조미성분 등)이 제품화 공정 및 저장 중 파괴되거나 휘발되므로, 이를 극복하기 위한 한 방법으로 인캡슐레이션 기술이 도입되었음.
- 식품산업의 강한 안전성 규제와 낮은 이윤으로 인하여 제한적으로 인캡슐레이션이 사용되어져 왔는데, 그럼에도 불구하고 현재까지 다음과 같은 여러 식품성분들이 탄수화물, 단백질 등의 바이오폴리머로 구성된 구조체에 다양한 방법으로 인캡슐레이션되어 식품에 사용되어옴 (Table 1).
- 국외의 경우(유럽, 미국, 일본), 식품 인캡슐레이션의 상용화가 계속 증가되는 추세인데, 이는 즉석/기능성/가공식품 시장의 확장, 보다 효과적이고 혁신적인 식품 개발에 대한 소비자 요구 등 뿐 만 아니라, 경제적이고 효과적인 구조체 구성 물질 및 인캡슐레이션 공정이 연구·개발되어 상업적 경쟁력을 갖추기 시작하였기 때문임.
- MarketsandMarkets (2009)의 분석에 의하면 2014년까지 식품 인캡슐레이션 시장규모는 354억 달러 규모에 달할 것으로 예상.
- 국내의 경우, 식물 추출물 및 오일, 동물성 오일, 항산화 물질 등의 인캡슐레이션에 대한 연구가 꾸준히 진행되어 왔으나, 자체 인캡슐레이션 기술을 상용화한 사례는 휴잉검, 유산균 입자 함유 음료, 등으로 극히 제한적이며, 기초수준 이상의 인캡슐레이션 기술은 국외에서 도입하여 식품에 적용해 왔음.
- 따라서 식품 인캡슐레이션 상용화에 필요한 국내 자체 기반기술의 확보는 현재 거의 이루어져 있지 않은 것으로 사료됨.

Table 1. 식품산업의 인캡슐레이션

식품성분	구조체 구성 바이오폴리머	인캡슐레이션 기술
-향미/조미성분 -유기산/염기 (e.g. citric and lactic acids, sodium bicarbonate) -지질 (e.g. 어유, 식물유, 유지방) -효소(e.g. protease) -Probiotics -아미노산 및 펩타이드 -비타민과 미네랄 -항산화 물질(e.g. 폴리페놀) -식이섬유 -Phytonutrients	-탄수화물 (e.g. starches, maltodextrins, gum arabic, alginate, pectin, carrageenan, chitosan, cellulosic polymer, sugars) -단백질 (e.g. sodium caseinate, whey proteins, wheat proteins, soy proteins, gelatins, zein, albumin) -지질/왁스 (e.g. 식물성 지방 및 오일, hydrogenated fats, palm stearin, carnauba wax, bees wax, shellac, polyethylene glycol)	-기계적 방법 (e.g. emulsification, spray-drying, fluidised-bed coating, extrusion (hot-melt, pressure, centrifugal), spinning disk) -화학적 방법 (e.g. ionotropic gelation, coacervation (simple and complex), liposomes, solvent evaporation, cyclodextrin complexation)

3. 액상 조미성분 인캡슐레이션의 중요성

- 조미성분은 식품을 제조, 가공, 조리함에 있어 풍미를 돋우기 위한 목적으로 사용되는 제품으로서, 장류, 소스류, 향신료가공품, 복합조미식품, 향미유 등을 포함하며, 식품에 대한 소비자 기호에 이들의 영향은 절대적임.
- 조미성분이 액상인 경우 최종 형태가 고형인 즉석/기능성/가공식품에 첨가하기 어려워 이를 건조하여 첨가하는 경우가 많은데, 보통 건조 과정 중 풍미의 상당부분이 소실됨.
- 특히 현대 소비패턴에서는 고형의 즉석식품 (e.g. 김밥, 햄버거, 밥, 면, 스프, 프레이크) 수요가 급속히 늘어나 조미성분의 효과를 극대화 하고자 하는 산업계 요구가 강함.
- 액상 조미성분의 고형식품(즉석(섭취, 조리, 편의), 기능성, 일반가공) 적용에 대한 산업계의 구체적 요구는 다음과 같음.

- (1) 풍미의 손실을 최소화 하면서 식품에 첨가 가능해야하며, 저장 중에도 풍미가 효과적으로 보존되어야 함.
- (2) 조미성분의 안정성이 식품 유통기간에 영향을 주지 않아야 함.
- (3) 섭취 및 조리행위(저작, 열수첨가 등) 중 풍미의 효과가 극대화 되어야 함.
- (4) 풍미의 첨가를 시각적으로 광고할 수 있어야 함.

- 인캡슐레이션은 이러한 액상 조미성분 적용에 대한 요구를 효과적으로 해결할 수 있는 방법 중의 하나로 사료되며, 생성되는 구조체의 크기는 나노-마이크로 범위보다는 Fig 1.의 예처럼 첨가된 성분에 대한 시각적 광고효과를 확실히 줄 수 있는 매크로 범위이어야 할 것으로 판단됨.

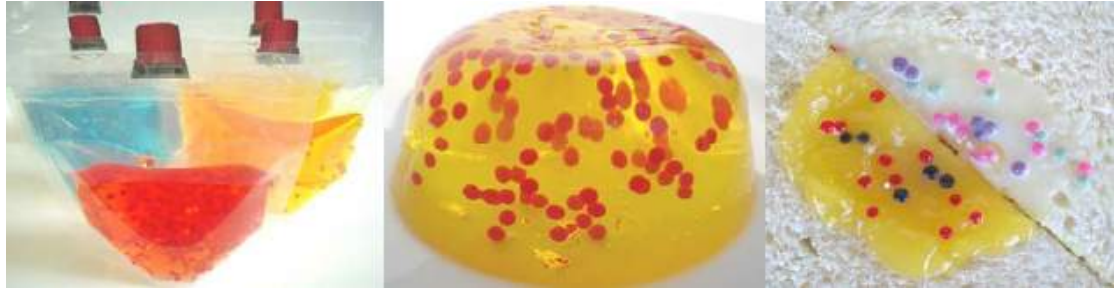


Figure 1. 매크로 크기 캡슐이 첨가된 식품 (www.lipofoods.com)

4. 전기공압출성형(electro-coextrusion)에 의한 인캡슐레이션

- 전기공압출성형 인캡슐레이션 기술은 전기장 하에서 서로 다른 두 액체를 두 개의 동축 모세관으로부터 유출하여 코어-셸(core-shell)로 구성된 캡슐을 형성하는 것임 (Fig. 2).
- 이 기술의 장점은 (1) 설비가 간단하고 운용이 쉬우며, (2) 매크로-나노 범위의 다양한 크기의 캡슐을 형성할 수 있으며, (3) 포집하고자 하는 중심물질(코어) 특성에 의한 영향이 작아 다양한 기능성 물질 및 이들의 혼합물 포집에 수월히 적용 가능하며, (4) 포집효율이 매우 뛰어나다는 것임.
- 상용화에 가장 큰 문제는 낮은 생산효율인데, 이는 멀티노즐 사용 등으로 해결이 모색되고 있음.
- 국외의 경우, 효과적으로 상용화 될 수 있는 기술로서 약학 및 바이오 분야에서 최근 이에 대한 활발한 연구가 진행되고 있으나 아직 식품 분야에서의 연구·개발은 거의 시도되지 않고 있음.
- 국내의 경우에도 일부 약학 연구기관에서 연구가 진행되고 있는 것으로 알려져 있으나 식품 분야에서의 연구·개발은 거의 없음.

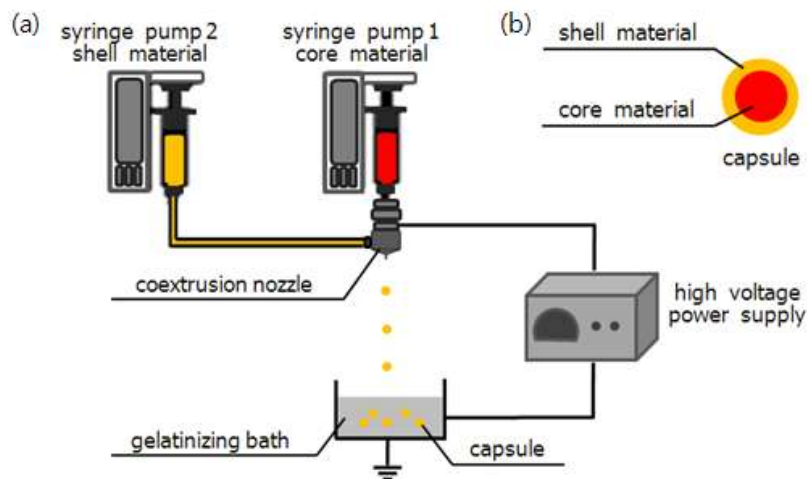


Figure 2. 전기공압출성형 인캡슐레이션의 (a) 공정 개요도 및 (b) 코어-셸 캡슐 개요도

5. 캡슐의 목표 특징

- 본 연구에서 개발하고자하는 캡슐의 주요 특징은 다음과 같음.
 - (1) 고품질 캡슐
 - (2) 매크로 사이즈 (지름 0.5 mm 이상)
 - (3) 매끈한 표면의 구형
 - (4) 높은 포집효율 (90% 이상)
 - (5) 뛰어난 산소 차단성 (산화방지 효과)
 - (6) 저장 중 안정성 (온도 및 습도 변수)
 - (7) 저작 및 열수침가로 순간적 코어 방출유발.

제 2 절 연구개발의 목표

1. 연구목표

- 본 연구의 최종목표는, 전기공압출성형에 의한 액상 조미성분 인캡슐레이션 기술의 상용화에 필요한 기반기술을 확보하고, 소비자 기호에 절대적 영향을 미치는 액상 조미성분을 보다 용이하고 효과적으로 식품에 첨가할 수 있도록 하여, 소비자의 기호에 부응하는 차별화된 고품질 식품개발을 이루고자 함.

2. 연구내용

가. 1차년도 목표 : 전기공압출성형에 의한 코어-셸 캡슐 형성 기반조건 확립

- 코어 및 셸 물질특성의 영향 분석-바이오폴리머 타입/농도/비율
- 셸 형성 메커니즘의 영향 분석-셸 네트워크 형성 방법
- 공정변수의 영향 분석-유속/유속비율/전압/노즐크기/셸형성온도

나. 2차년도 목표: 액상 조미성분 인캡슐레이션 공정 최적화

- 민트유 및 쇠고기 추출물 인캡슐레이션 공정 흐름도 확립-Ca-alginate 및 agar-based 매크로캡슐
- 중심 공정변수 최적화-제품화를 위한 캡슐 integrity 및 조직감 최적화
- 최적화 캡슐의 안정성 및 방출유발(triggering) 특성 분석-즉석조리식품에의 응용기준 설정

다. 3차년도 목표: 캡슐 함유 식품의 특성 및 차별성 구명

- 캡슐 함유 식품 제조 및 차별성 분석-조직감과 관능의 차별성
- 식품 제조 및 저장 중 캡슐 안정성 분석-검 및 스프류 제조와 저장에 최적인 매크로캡슐
- 캡슐 제조공정 pilot scale-up-대량생산 기반기술 확립

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내 기술개발 현황

- 액상 조미성분을 포집한 매크로 사이즈 범위의 식용 캡슐제품은 국내에서 생산되지 않음 ((주)일신나퓨 자체조사).
- 식물 추출물, 식물/동물성 오일, 항산화 물질, 프로바이오틱스 등에 대한 인캡슐레이션 연구는 국내에서 꾸준히 진행되어 왔으나 (한국과학기술인용색인서비스, KSCI), 자체 인캡슐레이션 기술을 상용화한 사례는 츄잉검, 유산균 입자 함유 음료 등으로 극히 제한적이며, 이 경우에도 기초수준 이상의 기술이 요구되는 캡슐은 국외에서 수입하여 사용해 왔음 ((주)일신나퓨 자체조사).
- 따라서 국내 식품산업체의 경우 현재 인캡슐레이션에 필요한 자체기반기술을 충분히 확보하지 못한 것으로 판단됨.
- 식품분야에서는 검류, 사탕, 아이스크림, 라면, 기능성 음료, 건강기능식품 등의 제조업체에서 조미성분 캡슐에 대한 요구 강하나, 수입 캡슐의 높은 단가 등으로 인하여 캡슐함유 식품 시장이 제대로 형성되어있지 못함 ((주)일신나퓨 자체조사).
- 식품이외의 분야에서는 치약, 화장품 분야에서 매크로 사이즈 캡슐에 대한 강한요구 있으나 역시 수입 캡슐 단가 등의 이유로 아직 큰 규모의 시장은 형성되어있지 않음 ((주)일신나퓨 자체조사).
- 전기공압출 기술은 일부 약학 연구기관에서 연구가 진행되고 있는 것으로 알려져 있으나 식품분야에서의 연구·개발은 거의 없음.

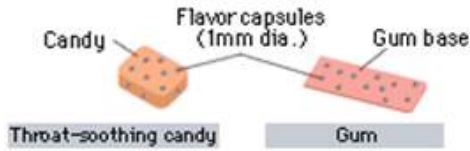
제 2 절 국외 기술개발 현황

- 국외의 경우 식품, 의약품, 바이오분야에 필요한 캡슐제품을 공급하는 전문 캡슐 제조기업이 활동함 (Table 2)
- 현재 상용화되고 있는 제품동향의 일부를 Figure. 3에 나타냄.
- 기능성/조미/즉석식품 시장의 확대와 더불어 식품 인캡슐레이션 시장규모가 계속 증가되는 추세인데, 이는 보다 효과적이고 혁신적인 식품 개발에 대한 소비자의 요구가 강해지고 있기 때문이며, 경제적이고 효과적인 구조체 구성 물질 및 인캡슐레이션 공정이 연구·개발되어 상업적 경쟁력을 갖추기 시작하였기 때문임.
- 전기공압출 기술은 효과적으로 상용화 될 수 있는 기술로서 약학 및 바이오 분야에서 최근 이에 대한 활발한 연구가 진행되고 있으나 아직 식품 분야에서의 연구·개발은 거의 시도되지 않고 있음.

Table 2. 국외 전문 캡슐 제조기업 리스트 (Lakkis, 2007; (주)일신나퓨 자체조사)

회 사 명	국 가	홈페이지
Lipofoods S. L.	스페인	www.lipofoods.com/home.html
Taste Tech	영국	www.tastetech.co.uk
Cerbios-Pharma SA	스위스	www.cerbios.ch/
Lallemand Inc.	캐나다	www.lallemand.com/
Morishita Jintan Co.,Ltd	일본	www.jintanworld.com
Tagra Biotechnologies, Ltd.	이스라엘	www.tagra.com/list.asp?categoryId=94
Advanced BioNutrition Co.	미국	secure1.voloper.net/advancedbionutrition/default.aspx
Maxx Performance Inc.	미국	www.maxxperform.com/Manufacturers/index.htm
Southwest Research Institute	미국	www.swri.org/4org/d01/microenc/microen/
Aveka Group	미국	www.aveka.com
Balchem Co.	미국	www.balchem.com
Particle Dynamics, Inc.	미국	www.particledynamics.com
Ronald T. Dodge Co.	미국	www.rtdodge.com
Sono-Tek Co.	미국	www.sono-tek.com
Thies Technology	미국	www.thiestechnology.com
3M	미국	www.3m.com

Morishita Jintan Co., Ltd. (일본)



캔디



껌



음료



기능성식품

Aveka Group (미국)



Clearly Canadian Beverage Co. (캐나다)



Figure 3. 국외 식품인캡슐레이션 상용화 동향

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 1차년도 연구개발 내용

1. 연구개발의 목표 및 연구개발 수행내용

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
1차 년도 (2012)	전기공압출 성형에 의한 코어-셸 캡 슐 형성 기반 조건 확립	코어 및 셸 물질특성 영향 분석	○ 바이오폴리머의 타입/농도/비율과 캡슐 특성의 상관관계 분석 - 전기공압출성형을 이용하여 alginate의 ionotropic gelation 및 agar의 cold-set gelation에 의한 캡슐 형성 조건의 기본 range 확립
		셸 형성 메커니즘의 영향 분석	○ 셸 네트워크 형성 방법과 캡슐 특성의 상관관계 분석 자료 확보 - Alginate 및 agar에 의한 셸 형성 메커니즘의 차이에 의한 캡슐 특성을 비교 분석.
		공정변수의 영향 분석	○ 유속/유속비율/전압/노즐크기/셸형성 온도/건조조건과 캡슐 특성의 상관관계 분석

2. 연구범위 및 연구수행 방법

연구 범위 (1차년도)	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
코어 및 셸 물질특성 영향 분석	<ul style="list-style-type: none"> 전기공압출을 이용한 Ca-alginate 코어-셸 매크로캡슐 형성 전기공압출을 이용한 alginate 코어-셸 매크로캡슐 형성 매크로캡슐 형성에 영향 미치는 주요 공정인자 결정 	<ul style="list-style-type: none"> Ca-alginate 젤로 형성된 셸과 지용성 색소를 함유한 올리브유를 코어로하여 구성된 코어-셸 매크로캡슐형성 Agar 젤로 형성된 셸과 지용성 색소를 함유한 올리브유를 코어로하여 구성된 코어-셸 매크로캡슐 형성 코어-셸 매크로캡슐이 형성됨을 확인하고, 전기공압출에 의한 캡슐 형성에 가장 큰 영향을 주는 인자를 선별
셸 형성 메커니즘의 영향 분석	<ul style="list-style-type: none"> 셸 형성 메커니즘에 따른 바이오폴리머 스크리닝 셸 형성 메커니즘이 서로 다른 두 캡슐의 기본특성 비교 	<ul style="list-style-type: none"> 식품용 하이드로콜로이드의 젤화 메커니즘 및 젤 특성을 정리하여 이온젤을 형성하는 alginate와 냉각경화젤을 형성하는 agar를 기본 셸 물질로 선택 기본조건에서 Ca-alginate와 agar 매크로캡슐의 형태, 이심률, 지름, 셸 두께, 및 강도를 비교
공정변수의 영향 분석	<ul style="list-style-type: none"> 공정변수가 매크로캡슐 기본특성에 미치는 영향의 분석 	<ul style="list-style-type: none"> 하이드로콜로이드의 농도, 셸/코어 유속비, 공정 전압이 매크로캡슐의 형태, 이심률, 지름, 셸 두께, 및 강도에 미치는 영향을 분석

3. 연구결과

가. 젤 형성 메커니즘에 따른 바이오폴리머 스크리닝

- 젤 바이오폴리머 선택을 위하여 식품용 하이드로콜로이드(hydrocolloid)의 젤화 메커니즘 및 젤 특성을 정리하였다 (Table 3). 서로 다른 젤화 메커니즘을 가지나 전기공압출로 가장 효과적이고 경제적으로 코어-젤 매크로캡슐을 형성할 수 있는 하이드로콜로이드로서 alginate 와 agar를 연구 기본물질로 선택하였다.
- Alginate는 칼슘이온과의 이온젤화(ionotropic gelation)을 통하여 매우 쉽고 경제적으로 견고한 구조의 Ca-alginate 젤을 형성한다. 그러나 형성된 젤은 건조 후 너무 단단해 질 수 있고 깨지는 성질을 갖게 되며, 열비가역성(thermo-irreversible) 특성으로 인하여 조리 중 열수를 첨가하였을 때 완전히 녹지 않는다는 단점이 있다.
- Agar는 냉각경화(cold-set)에 의해 쉽고 경제적으로 젤을 형성하며, 형성된 젤은 열가역성(thermoreversible) 특성을 지니므로 조리 중 열수를 첨가하였을 때 완전히 녹아 내용물 전체를 빠르게 식품으로 방출할 수 있다. 또한 온도 hysteresis가 크므로 식품조리, 공정에 그 응용범위가 넓다. 그러나 건조 후 젤이 너무 단단해져 쉽게 깨어질 수 있다는 단점이 있다.

Table 3. 식품용 하이드로콜로이드의 젤화 특성

Type		Mechanism	Gelation conditions	Gel reversibility	Gel texture
Gelatin		-Cold-set	-Set: 20°C -Melt: 30°C	Thermoreversible	Soft to strong, cohesive, gummy, elastic, no syneresis
Carrageenan	k	-Cold-set -Ionotropic	-Cooled to 40-60°C in the presence of K ⁺ -Melt: 5-20°C above the Tg	Thermoreversible	Strong, brittle, syneresis, strong elastic gels with low syneresis when combined with LBG
	i		-Cooled to 40-60°C in the presence of Ca ²⁺ -Melt: 5-20°C above the Tg		Soft, elastic, no syneresis
Agar		-Cold-set	-Cooled to 32-39°C	Thermoreversible	Strong, brittle, syneresis
Alginate		-Ionotropic	-pH 4 in the presence of Ca ²⁺	Thermo-irreversible	Strong, brittle, some syneresis
Methylcellulose (MC)		-Heat-set	-Clear gel at over 35°C -Turbid gel at over 60°C	Thermoreversible	Soft to strong
Pectin	High methoxyl	-Cold-set	-pH < 4 and soluble solids 55 - 80% -Set: 50-99°C -Melt: 70-100°C	Thermo-irreversible	Brittle, elastic, syneresis
	Low methoxyl	-Ionotropic	-In the presence of Ca ²⁺ -At a fixed temperature depending on system	Thermoreversible	Brittle, syneresis
Gellan gum	High acyl	-Cold-set -Ionotropic	-Cooled to 65°C in the presence of Ca ²⁺	Thermoreversible	Soft, elastic
	Low acyl		-Cooled to 25°C in the presence of Ca ²⁺	Thermo-irreversible	Strong, brittle
Xanthan gum		-With other gums	With LBG, Tara gum, Cassia gum	Thermoreversible	Cohesive, gummy
Lucust bean gum (LBG)		-With other hydrocolloids	In combination with xanthan gum and/or k-carrageenan	Non-gelling	Elastic, no syneresis

- 젤라틴 역시 냉각경화에 의하여 쉽고 경제적으로 열가역성 젤을 형성할 수 있으며, 형성된 젤은 다당류 젤에 비하여 탄성이 뛰어난 조직감을 가진다. 그러나 agar에 비하여 젤 형성에 시간이 오래 걸리며 온도 hysteresis가 작아 응용범위가 작아 본 연구의 기본물질로 선택치 않았다.

나. 전기공압출공정의 주요 요인 결정

- 예비실험을 통하여 전기공압출에 의한 Ca-alginate 및 agar 코어-셸 매크로캡슐 형성에 영향을 주는 주요 인자를 결정하였다.
- Ca-alginate 매크로캡슐에 주요 영향을 주는 인자로서, 셸 용액의 alginate 농도, 셸/코어 유속비, 전압, CaCl₂ 용액의 농도, 경화시간, 노즐크기, 노즐과 경화용액 표면과의 거리, 건조방법 등 8개 요인을 확인하였다(data not shown).
- Agar 매크로캡슐에 주요 영향을 주는 인자로서, 셸 용액의 agar 농도, 셸/코어 유속비, 전압, 셸 용액의 온도, 경화유체의 종류, 경화시간, 경화온도, 경화유체의 교반속도, 경화유체의 높이, 노즐크기, 노즐과 경화유체 표면과의 거리, 건조방법 등 12개 요인을 확인하였다(data not shown).
- 공정을 단순화하고 두 종류의 코어-셸 매크로캡슐을 비교하기 위하여, 공정변수로서 셸 용액의 하이드로콜로이드의 농도, 셸/코어 유속비, 전압 등 세 가지를 선택하고 나머지 주요요인들은 예비실험에서 최상의 효과를 나타낸 값으로 고정하였다.
- 특히 건조의 경우, 공기건조(air-drying, 대기압, 실온), 진공건조(vacuum drying), 냉동건조(freeze-drying) 등 상용화 된 세 가지 방법을 사용해 테스트하였는데, 조건에 따라 차이는 있으나 공기건조만이 코어가 표면으로 스며나오지 않는 매끄럽고 투명한 건조캡슐을 형성하였다.
- Figure 4는 agar 매크로캡슐을 셸 용액의 agar 농도를 1-3%로 달리하며 형성한 후 위 세 가지 방법으로 건조하여 얻은 건조캡슐의 형태를 나타낸다. 그림에서 보듯 공기건조와 진공건조는 매끄러운 투명한 건조캡슐을 형성하였으나 진공건조는 불투명한 캡슐을 형성하였다. 사진에는 나타나있지 않으나, 진공건조의 경우 코어가 캡슐표면으로 상당히 빠져나오는 것이 관찰되었다. Ca-alginate 캡슐을 테스트하였을 때에도 이와 동일한 결과를 획득하였다(data not shown).

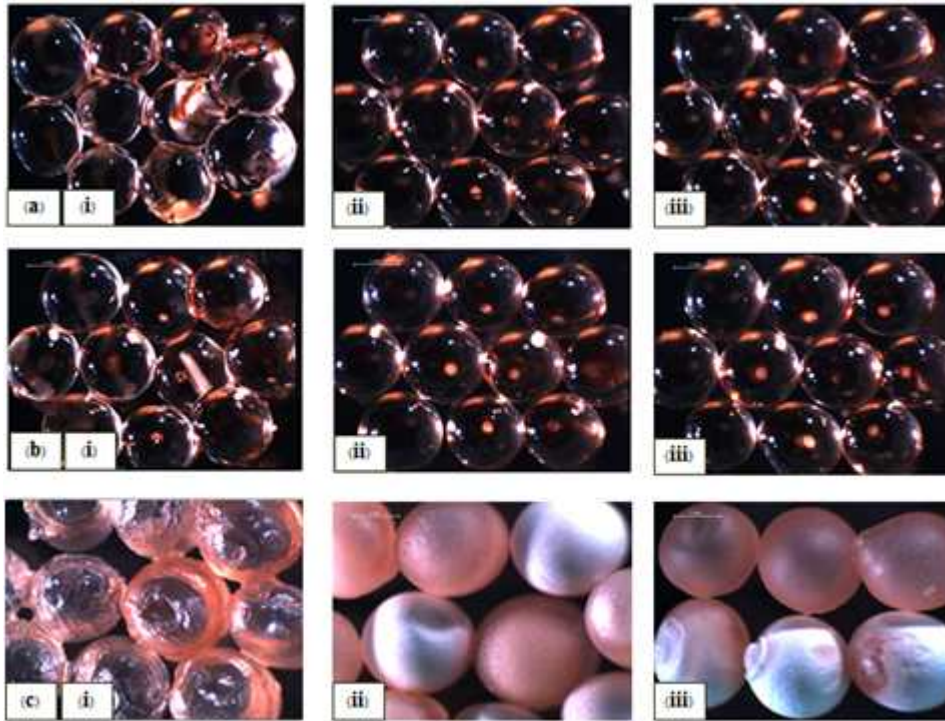


Figure 4. 건조방법에 따른 agar 매크로캡슐의 광학현미경(16배율) 사진: (a) 공기건조(대기압, 실온), (b) 진공건조, (c) 냉동건조, (i) 1% agar, (ii) 2% agar, (iii) 3% agar. 셸/코어 유속비=400:200 $\mu\text{l}/\text{min}$, 전압=6 kV.

다. 셸 하이드로콜로이드 농도가 캡슐 특성에 미치는 영향

(1) Ca-alginate 매크로캡슐

- 전기공압출로 Ca-alginate를 형성하는 과정은 Figure 5에 나타내었다. 사용한 이중동축노즐(dual coaxial nozzle; NNC-DN-1725, NanoNC Co., Ltd., Seoul, Korea)의 dimension은 다음과 같다: 안쪽 노즐의 내외부 지름=각각 0.26과 0.50 mm, 바깥쪽 노즐의 내외부 지름=각각 1.07과 1.47 mm. 셸 용액과 코어 용액을 각각 400 및 50 $\mu\text{l}/\text{min}$ 의 속도로 10 min간 흘려보내며 5 kV 전기장 하에서 전기공압출을 실시하였다(eS-robot ESR200B, NanoNC Co., Ltd., Seoul, Korea). CaCl_2 용액 표면과 노즐의 끝은 10 cm간격을 유지하였으며, CaCl_2 용액으로 낙하한 액적을 30 min동안 stirring하며 셸의 ionotropic gelation을 진행하였다. 형성된 습식 캡슐(wet capsules)은 필터(Advantec Toyo No.2, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 감압필터하여 회수한 후 대기압, 실온에서 공기건조(air-drying)를 실시하여 건조캡슐(dried capsules)을 제조하였다.
- 셸용액의 alginate 농도를 0.5, 2.25, 4.0% (w/w)로 달리하면서 매크로캡슐을 제조하였고 습식 및 건조캡슐의 형태(morphology), 캡슐지름(장축과 단축 길이의 평균), 캡슐이심률(capsule eccentricity=캡슐 장축 길이/캡슐 단축 길이), 셸 두께, 강도(hardness)를 측정하였다. 캡슐의 형태, 지름, 및 이심률은 광학현미경(Leica MZ12.5, Leica Microsystems, Inc., Wetzlar, Germany)을 사용하여 16배율에서 관찰하여 측정하였으며, 셸 두께는 200 배율에서 측정하였다. 캡슐 강도는 texture analyzer (TA.XT Plus, Stable Micro Systems, Surrey, UK)을 사용하여 10 mm 지름의 실린더 probe를 0.2 mm/s 속도로 압축하며 최대 압축력을 측정하여 구하

였다.



Figure 5. Ca-alginate 매크로캡슐 제조과정 개요도

◦ 캡슐의 형태

- 젤 용액의 alginate 농도를 달리하였을 때 제조된 Ca-alginate 매크로 캡슐의 광학현미경 사진을 Figure 6에 나타내었다. 사진에서 나타난 바와 같이 형성된 캡슐의 형태는 농도에 상당한 영향을 받았다.
- 습식 캡슐의 경우, 0.5% 농도에서는 캡슐 중심에 코어가 위치하지 못하였으나 2.25%로 농도를 증가시킨 경우 코어가 제대로 중심에서 형성되었다. 그러나 4%로 농도를 증가하였을 때는 단일 코어가 아니라 여러개의 코어가 형성됨이 관찰되었다.
- 건조 캡슐의 경우, 0.5% 농도에서 표면이 거칠고 코어가 밖으로 새어나온 것이 관찰되었다. 농도를 2.25% 증가시켰을 때 매끈한 구형의 캡슐이 형성되었으며, 4%로 증가시킨 경우 구형 외부에 작은 돌기들이 붙은 형태의 캡슐이 형성되었다.

◦ 캡슐의 지름

- 형성된 Ca-alginate 매크로캡슐의 지름은 농도가 증가함에 따라 습식캡슐의 경우 1.84에서 2.28 mm로, 건조캡슐의 경우 1.24에서 1.51 mm로 증가하였다(Figure 7).
- 농도에 따라 캡슐의 크기가 증가한 이유는, 농도가 높아질수록 젤 용액의 점성이 올라가 노즐에서 더 큰 액적이 형성되었기 때문이다. 건조 후 캡슐의 크기가 작아진 것은 수분증발로 인한 젤 구조의 rearrangement가 발생했기 때문으로 판단된다.

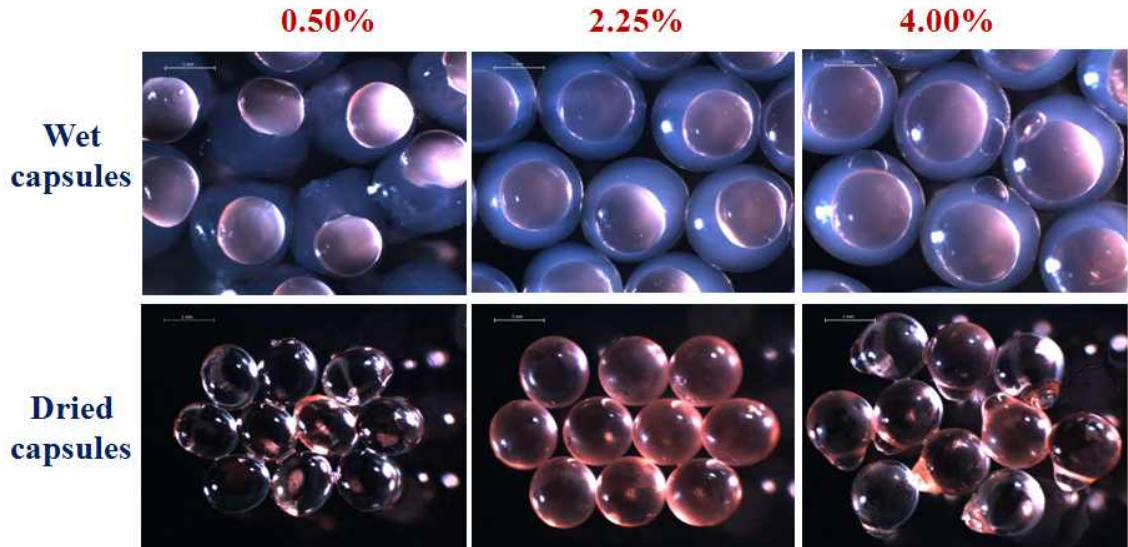


Figure 6. Alginate 농도에 따른 습식 및 건조 Ca-alginate 매크로캡슐의 광학현미경(16×) 사진

◦ 캡슐의 이심률

- 농도를 0.5에서 2.25%로 증가시키기에 따라 습식캡슐의 이심률은 1.25에서 1.08으로 감소, 건조캡슐의 이심률은 1.21에서 1.04로 감소하였으나, 농도를 4%로 증가시키기에 따라 이심률은 습식캡슐의 경우 1.21로, 건조캡슐의 경우 1.07로 다시 증가하였다(Figure 7).
- 농도가 2.25%이었을 때 이심률이 가장 1에 가까웠고, 이는 이 농도에서 가장 구형에 가깝다는 것을 의미한다. 이 결과는 Figure 6에 나타난 캡슐의 형태의 결과와 일치한다.

◦ 셸 두께

- 농도를 0.5, 2.25, 4%로 증가시키기에 따라 습식캡슐의 셸 두께는 0.32에서 0.36 mm으로 두꺼워 졌다가 다시 0.31 mm로 감소하였으며, 건조캡슐의 두께는 0.019에서 0.070 mm으로 점차적으로 증가하였다(Figure 7).
- 농도가 증가하면서 셸 두께가 증가하는 경향은 캡슐의 지름이 증가하는 것과 같은 이유 때문이라 판단된다. 다만 습식캡슐의 경우 농도를 2.25에서 4%로 증가시키기에 따라 셸 두께가 감소한 것은, 여러 개의 코어가 형성되어 상대적으로 셸 두께가 작아질 수밖에 없었기 때문인 것으로 판단된다.

◦ 캡슐 강도

- 농도를 증가시키기에 따라 습식캡슐의 경우 1.35에서 21.76 N으로, 건조캡슐의 경우 1.12에서 12.08 N으로 강도가 증가하였다(Figure 7).
- 농도가 증가함에 따라 강도가 증가한 것은 당연한 현상이며, 건조캡슐의 강도가 습식캡슐의 강도보다 낮게 측정된 이유는 건조캡슐의 깨지기 쉬운 특성(brittleness) 때문인 것으로 판단된다.

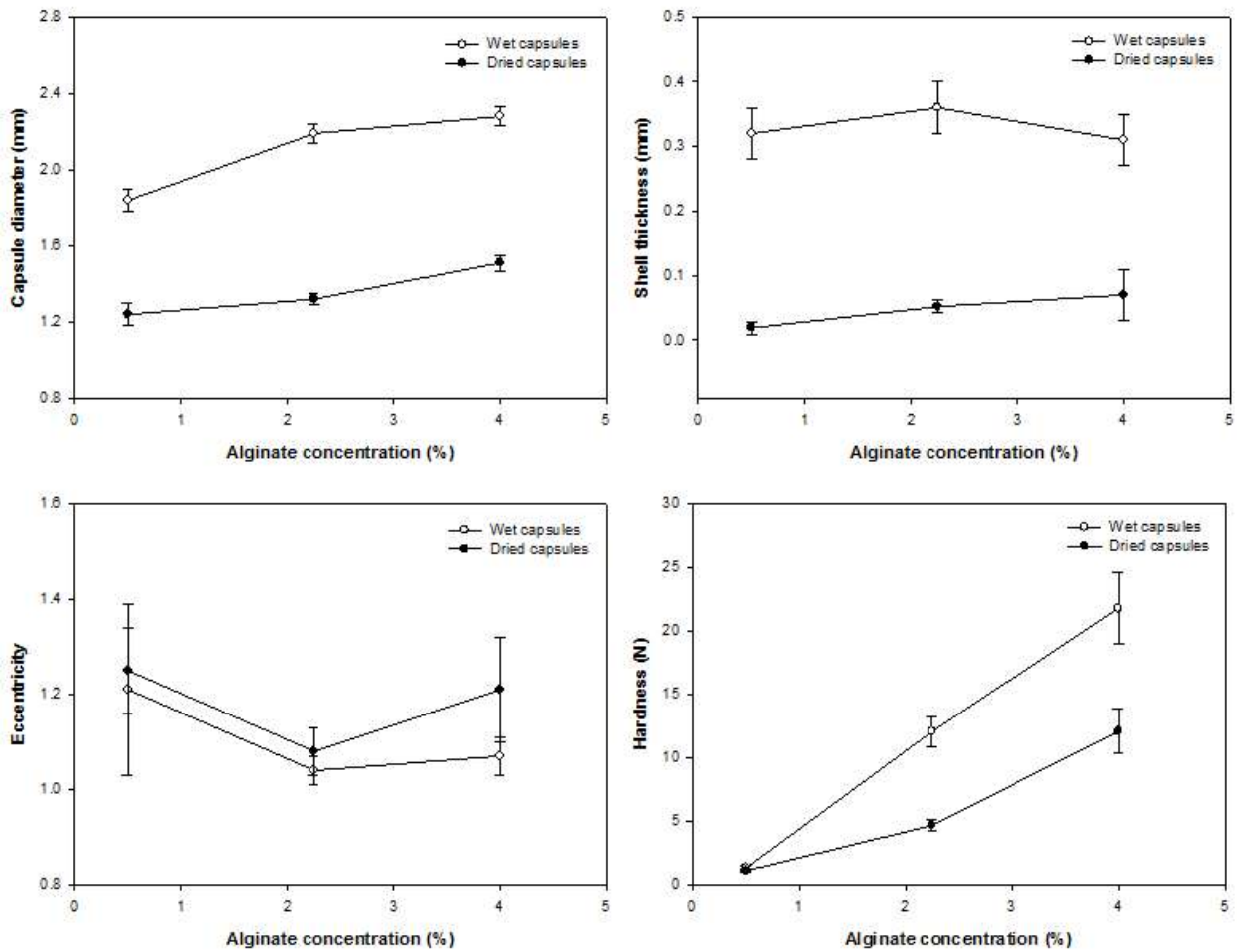


Figure 7. Alginate 농도에 따른 습식 및 건조 Ca-alginate 매크로캡슐의 지름, 이심률, 셸 두께, 및 강도의 변화

(2) Agar 매크로캡슐

- 전기공압출로 agar 매크로캡슐을 형성하는 공정의 개요는 Figure 5에 나타난 바와 같다. 셸 용액과 코어 용액을 각각 400 및 100 $\mu\text{l}/\text{min}$ 의 속도로 5 min간 흘러보내며 4 kV 전기장 하에서 전기공압출을 실시하였다. 경화용액으로 사용한 파라핀유 표면과 노즐의 끝은 10 cm 간격을 유지하였으며, 5°C로 유지된 파라핀유로 낙하한 액적을 5 min간 stirring하며 경화를 진행하였다. 형성된 습식캡슐은 colander를 이용해 회수한 후 대기압, 실온에서 공기건조를 실시하여 건조캡슐을 제조하였다.
- 셸용액의 alginate 농도를 1.0, 2.0, 3.0% (w/w)로 달리하면서 매크로캡슐을 제조하였고 습식 및 건조캡슐의 형태, 지름, 이심률, 셸 두께, 강도를 3.2.1에서 설명한 바와 같은 방법으로 측정하였다.
- 캡슐의 형태
 - 셸 용액의 agar 농도를 달리하였을 때 제조된 agar 매크로 캡슐의 광학현미경 사진을 Figure 8에 나타내었다. 사진에서 나타난 바와 같이 형성된 캡슐의 형태는 농도에 상당한 영향을 받았다.

- 습식 캡슐의 경우, 1.0% 농도에서는 캡슐이 제대로 형성되지 못하였으나 2.0%로 농도를 증가시킨 경우 코어가 중심에 있는 코어-셸 캡슐이 형성되었다. 그러나 4.0%로 농도를 증가하였을 때는 단일 코어가 아니라 중심 코어에 작은 여러개의 코어가 같이 붙어있는 형태의 캡슐이 형성되었다.
- 건조 캡슐의 경우, 2.0% 농도에서 표면이 매끈한 구형의 캡슐이 형성되었으며, 4.0%로 증가시킨 경우 구형외부에 작은 돌기들이 붙은 형태의 캡슐이 형성되었으며 오일이 밖으로 스며나온 것이 관찰되었다.

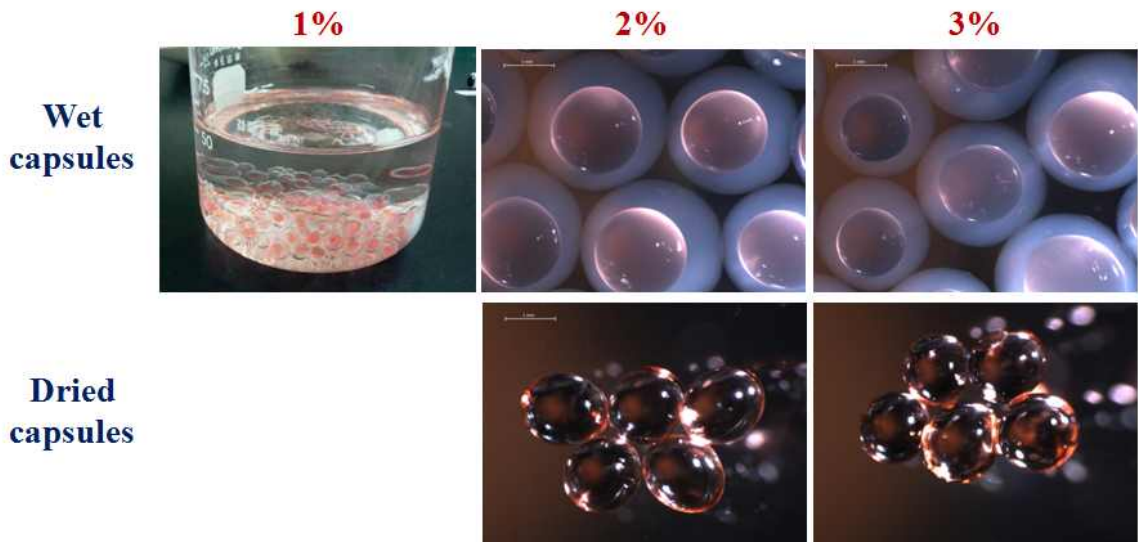


Figure 8. Agar 농도에 따른 습식 및 건조 agar 매크로캡슐의 광학현미경(16×) 사진

- 캡슐의 지름
 - 형성된 agar 매크로캡슐의 지름은 농도가 2.0에서 3.0%로 증가함에 따라 습식캡슐의 경우 2.75에서 2.56 mm로, 건조캡슐의 경우 1.57에서 1.49 mm로 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다(Figure 9).
 - 농도에 따라 캡슐의 크기가 다소 감소한 이유는 농도가 높아질수록 셸 경화 시 더 compact한 구조의 agar 젤이 형성되었기 때문으로 판단되며, 건조 후 캡슐의 크기가 작아진 것은 Ca-alginate 캡슐의 경우가 같이 수분증발로 인한 셸 구조의 rearrangement가 발생했기 때문으로 판단된다.
- 캡슐의 이심률
 - 농도를 2.0에서 3.0%로 증가시킴에 따라 습식캡슐의 이심률은 1.15에서 1.03으로 다소 감소하였으나, 건조캡슐의 이심률은 1.02에서 1.03으로 유의적 변화가 없었다(Figure 9).
 - 습식캡슐의 경우 농도가 증가할수록 이심률이 다소 감소한 것은 agar 젤이 더 compact한 젤 구조를 형성하면서 보다 원형에 가까워졌기 때문이라 판단된다. 농도와 건조 유무에 상관없이 모든 캡슐의 이심률이 1과 가까웠는데 이는 형성된 agar 캡슐이 매우 구형에 가깝다는 것을 의미한다.
- 셸 두께
 - 농도를 2.0에서 3.0%로 증가시킴에 따라 습식캡슐의 셸 두께는 0.50에서 0.48 mm로 측정되어 유의적 변화가 없었으며, 건조캡슐의 두께 역시 0.02 mm로 일정하였다(Figure 9).

- 쉘 용액의 농도가 증가하였는데도 쉘 두께의 변화가 없었다는 것은 농도가 증가하면서 쉘 구조가 보다 compact해 졌다는 것을 의미한다.
- 캡슐 강도
 - 농도를 증가시키기에 따라 습식캡슐의 경우 0.09에서 0.13 N으로, 건조캡슐의 경우 1.05에서 5.86 N으로 강도가 증가하였다(Figure 9).
 - 습식 및 건조 Ca-alginate 캡슐의 경우에 비하여 강도가 매우 낮게 측정되었는데, 이는 냉각 경화시 형성된 agar 젤의 double helix 구조보다 egg-box 모델로 대변되는 Ca-alginate의 이온결합 구조가 더 단단하기 때문인 것으로 판단된다. Ca-alginate 캡슐의 경우와는 달리, 건조캡슐의 강도가 습식캡슐의 강도보다 높게 나타났는데, 이는 건조되면서 쉘을 형성하는 젤 구조가 보다 compact해 지면서 강도가 향상되었기 때문인 것으로 판단된다.

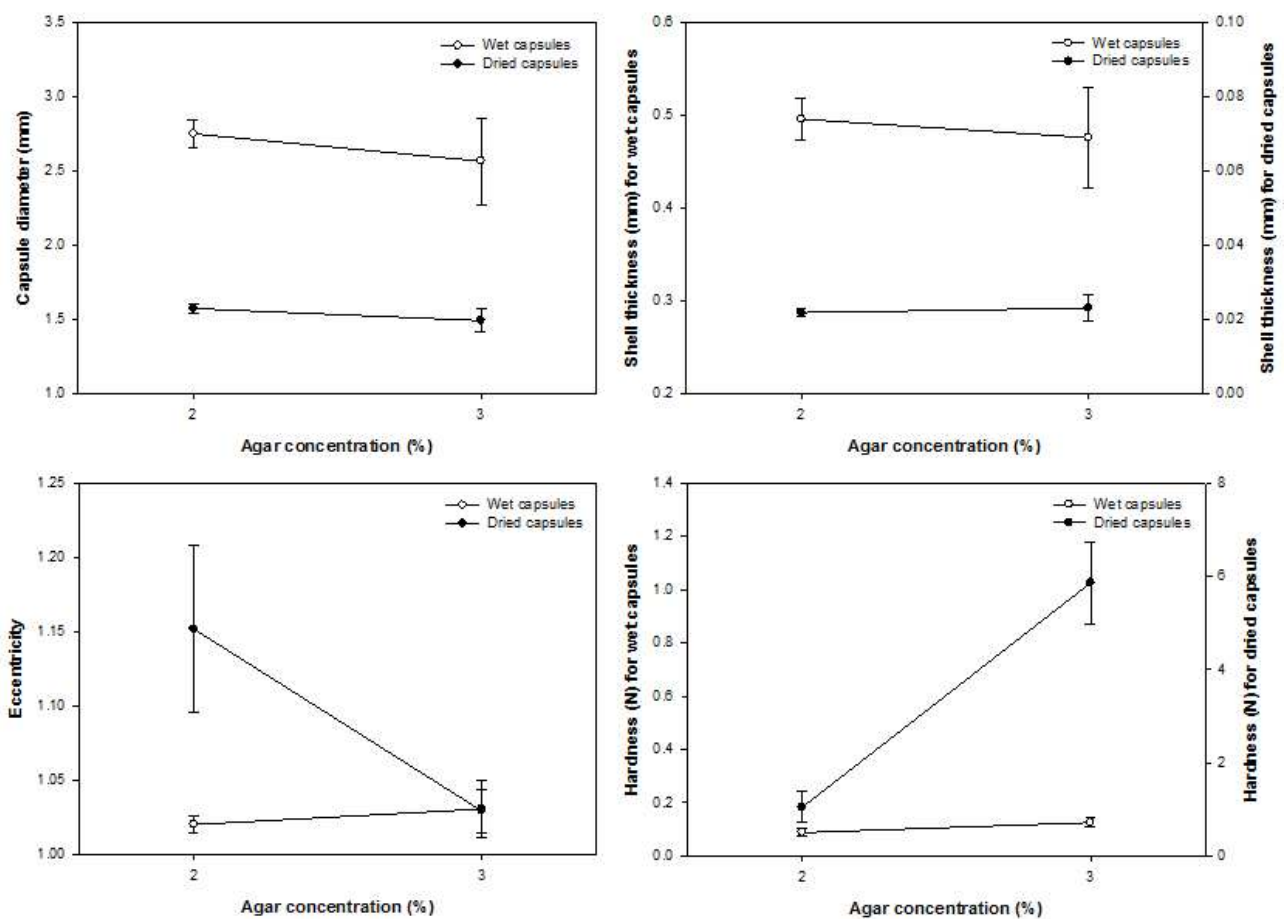


Figure 9. Agar 농도에 따른 습식 및 건조 Ca-alginate 매크로캡슐의 지름, 이심률, 쉘 두께, 및 강도의 변화

라. 쉘/코어 유속이 캡슐 특성에 미치는 영향

(1) Ca-alginate 매크로캡슐

- 쉘/코어 유속비를 200:50 400:50, 600:50 $\mu\text{l}/\text{min}$ 로 달리하면서 매크로캡슐을 제조하였다. 이 때 쉘 용액의 alginate 농도는 2.25%, 전압은 5 kV로 고정하였다.

◦ 캡슐의 형태

- 셸/코어 유속비를 달리하였을 때 제조된 Ca-alginate 매크로 캡슐의 광학현미경 사진을 Figure 10에 나타내었다. 사진에서 나타난 바와 같이 형성된 캡슐의 형태는 유속에 상당한 영향을 받았다.
- 습식 캡슐의 경우, 유속비 200:50 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서 코어가 중심에 위치한 원형 캡슐이 형성되었으나 유속비가 400:50 $\mu\text{l}/\text{min}$ 로 증가하면 코어가 제대로 중심에 위치하지 못하였으며, 특히 600:50 $\mu\text{l}/\text{min}$ 로 유속비가 증가한 경우 다른 경우에 비하여 상당히 작은 코어가 관찰되었으며 코어가 중심에 위치하지도 못하였다.
- 건조 캡슐의 경우, 유속비 200:50 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서 매우 매끄러운 표면을 가진 구형 캡슐이 형성되었다. 이보다 유속비를 높였을 경우, 역시 표면이 매끄러운 구형 캡슐이 형성되었으나, 코어가 표면으로 스며나온 것이 관찰되었다.

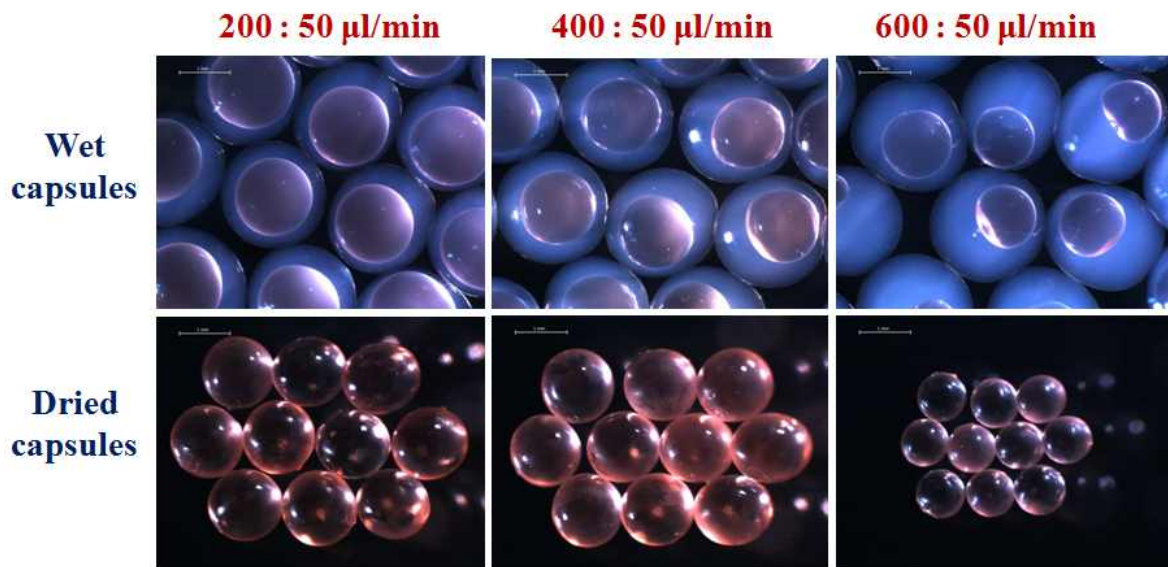


Figure 10. 셸/코어 유속에 따른 습식 및 건조 Ca-alginate 매크로캡슐의 광학현미경(16 \times) 사진

◦ 캡슐의 지름

- 형성된 Ca-alginate 매크로캡슐의 셸/코어 유속비가 200:50 400:50, 600:50 $\mu\text{l}/\text{min}$ 로 증가함에 따라 습식캡슐의 경우 2.09, 2.19, 2.01 mm로 변화하였으며, 건조캡슐의 경우 1.55, 1.32, 1.27 mm로 조금씩 감소하였다(Figure 11).
- 습식캡슐의 경우 400:50 $\mu\text{l}/\text{min}$ 로 셸/코어 유속비를 증가시켰을 때는 더 많은 양의 셸 용액이 노즐로 유출되어 캡슐지름이 증가하였으나, 600:50 $\mu\text{l}/\text{min}$ 로 더 증가시켰을 때는 높은 유속으로 인하여 노즐에서 형성된 액적이 빠르게 낙하하게 되므로 오히려 캡슐 지름이 작아진 것으로 판단된다.
- 건조캡슐의 경우 유속비에 따라 크기가 전반적으로 감소한 이유는, 유속비가 증가하면서 코어에 대한 셸의 비율이 상대적으로 증가하여 셸로부터의 수분을 제거하였을 때 크기가 더 작아지기 때문인 것으로 판단된다.

◦ 캡슐의 이심률

- 유속비를 증가시켰을 때 습식 및 건조캡슐의 이심률은 각각 1.05에서 1.08로, 1.03에서 1.07로 증가하는 추세를 보였으나 유의적인 차이는 없었으며 모든 값은 1에 근사하였다(Figure 11).
- 이는 Figure 10에서 보듯 유속비와 상관없이 일그러짐이 심하지 않은 구형 캡슐이 형성되었다는 것을 의미한다.
- 셸 두께
 - 유속비를 증가시켰을 때 습식캡슐의 셸 두께는 0.26에서 0.43 mm로 증가하였으며, 건조캡슐의 두께는 0.03에서 0.05 mm로 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다(Figure 11).
 - 농도가 증가하면서 습식캡슐의 셸 두께가 증가한 것은 Figure 10에서 관찰되듯 코어에 비하여 상대적으로 많은 양의 셸 용액이 유출되어 캡슐을 형성하였기 때문이다. 그러나 건조 후 셸 두께에 큰 차이가 없는 것은, 유속비 증가로 셸 용액은 많이 유입되었으나 건조 중 Ca-alginate 젤이 보다 compact한 구조로 변하면서 유의적인 증가가 관찰되지 않은 것으로 판단된다.
- 캡슐 강도
 - 유속비를 증가시켰을 때 습식캡슐의 경우 10.31, 12.08, 11.65 N으로 측정되었으나 유의적인 차이는 없었으며, 건조캡슐의 경우 3.57, 4.69, 8.16 N으로 강도가 증가하였다(Figure 11).
 - 유속비의 증가가 습식캡슐의 강도에 큰 영향을 주지 못한 이유는 셸 용액이 많이 유입되었으나 셸 용액 내의 alginate 농도는 같았기 때문인 것으로 판단되며, 건조캡슐의 강도가 증가한 것은 많은 양의 셸 용액이 경화를 거쳐 셸을 형성하였으므로 비록 두께에서는 큰 증가가 관찰되지 않았으나 compact한 결합으로 강도는 상당히 향상된 것으로 판단된다.

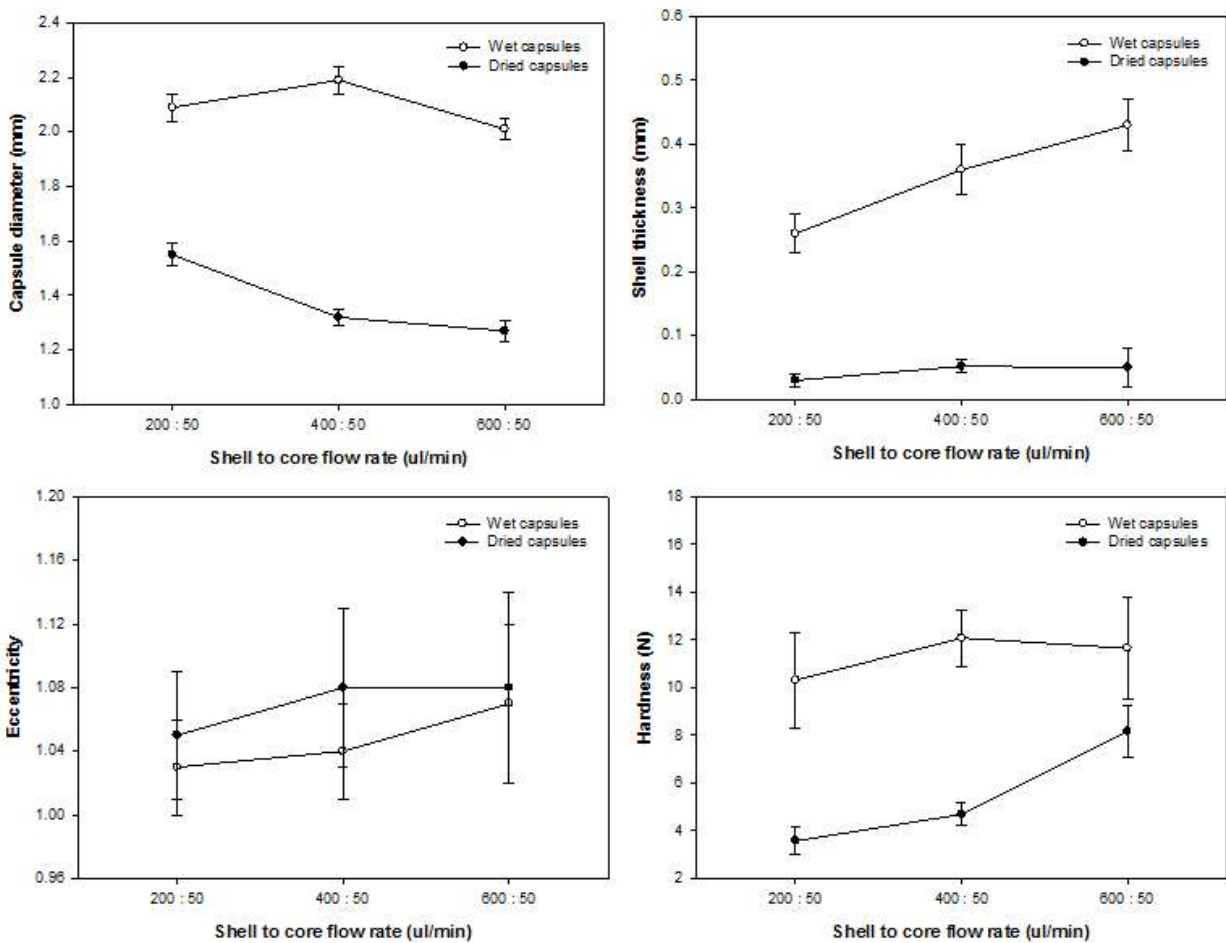


Figure 11. 셸/코어 유속비에 따른 습식 및 건조 Ca-alginate 매크로캡슐의 지름, 이심률, 셸 두께, 및 강도의 변화

(2) Agar 매크로캡슐

- 셸/코어 유속비를 200:100 400:100, 600:100 $\mu\text{l}/\text{min}$ 로 달리하면서 매크로캡슐을 제조하였다. 이때 셸 용액의 agar 농도는 2.0%, 전압은 4 kV로 고정하였다.
- 캡슐의 형태
 - 셸/코어 유속비를 달리하였을 때 제조된 agar 매크로 캡슐의 광학현미경 사진을 Figure 12에 나타내었다. 사진에서 나타난 바와 같이 형성된 캡슐의 형태는 유속비에 상당한 영향을 받았다.
 - 유속비 200:100 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서는 코어-셸 캡슐이 형성되지 못하였는데, 이는 충분치 못한 셸 용액이 유입되었기 때문인 것으로 판단된다.
 - 습식캡슐의 경우, 유속비 400:100 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서 코어가 중심에 가까이 위치한 캡슐이 형성됨이 관찰되었고, 유속비 600:100 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서는 캡슐이 형성되기는 하였으나 셸에 비해 코어가 상대적으로 작았고 코어가 중심에 위치하지 못한 것이 관찰되었다.
 - 건조 캡슐의 경우, 유속비 400:100 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서 매끄러운 표면을 가진 구형 캡슐이 형성되었다. 유속비 600:100 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서 형성된 캡슐은 상대적으로 거친 표면을 갖고 있었으며 코어가 표면으로 스며나온 것이 관찰되었다.

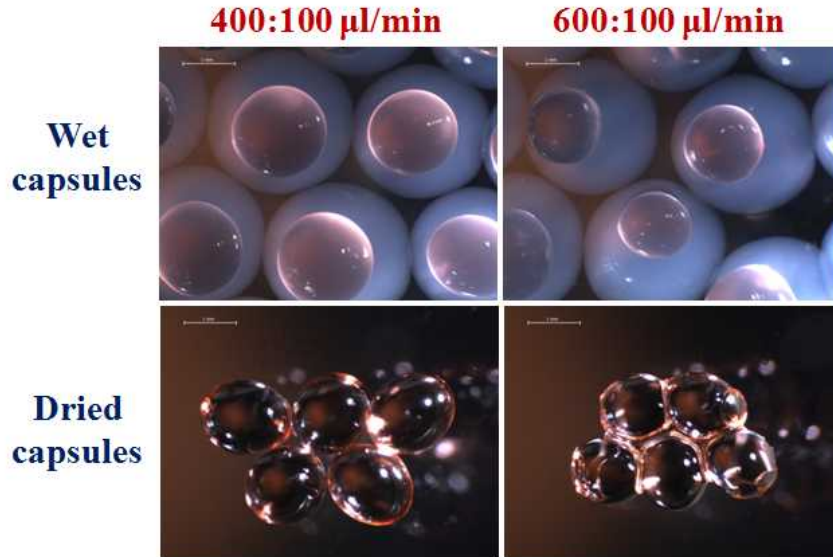


Figure 12. 셸/코어 유속에 따른 습식 및 건조 agar 매크로캡슐의 광학현미경(16배율) 사진

- 캡슐의 지름
 - 앞에서 언급하였듯이 유속비 200:100 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서는 코어-셸 캡슐이 형성되지 않았다. 습식 캡슐의 경우 유속비가 400:100에서 600:100 $\mu\text{l}/\text{min}$ 로 증가하면서 평균 캡슐 지름이 2.75 및 2.71 mm로 측정되어 유의적 차이를 보이지 않았으나, 건조캡슐의 경우 1.57에서 1.32 mm로 감소되는 것이 관찰되었다(Figure 13).
 - 건조캡슐의 경우 유속비에 따라 크기가 전반적으로 감소한 이유는, Ca-alginate 캡슐의 경우와 마찬가지로 유속비가 증가하면서 코어에 대한 셸의 비율이 상대적으로 증가하여 셸로부터의 수분을 제거하였을 때 크기가 더 작아지기 때문인 것으로 판단된다.
- 캡슐의 이심률
 - 유속비를 증가시켰을 때 습식 및 건조캡슐의 이심률은 각각 1.15-1.10 및 1.02로 측정되어 유의적 차이를 보이지 않았다(Figure 13).
- 셸 두께
 - 유속비를 증가시켰을 때 습식캡슐의 셸 두께는 0.50에서 0.66 mm로 증가하였으나, 건조캡슐의 두께는 0.03에서 0.02 mm로 오히려 다소 감소하는 경향을 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다(Figure 13).
 - 농도가 증가하면서 습식캡슐의 셸 두께가 증가한 것은 Figure 12에서 관찰되듯 코어에 비하여 상대적으로 많은 양의 셸 용액이 유출되어 캡슐을 형성하였기 때문이다. 그러나 건조 후 셸 두께에 차이가 없는 것은, 유속비 증가로 셸 용액은 많이 유입되었으나 건조 중 agar 젤이 보다 compact한 구조로 변하면서 유의적인 증가가 관찰되지 않은 것으로 판단된다.
- 캡슐 강도
 - 유속비를 증가시켰을 때 습식캡슐의 경우 0.09에서 0.17 N으로 강도가 증가하였으며, 건조캡슐의 경우 1.05에서 1.81 N으로 강도가 증가됨이 관찰되었으나 유의적 차이는 없었다(Figure 13).

- 습식캡슐의 경우, 유속비의 증가하면서 많은 양의 셸 용액이 유입되어 두꺼운 셸이 되었으므로 강도가 증가한 것으로 보이며, 건조캡슐의 강도가 증가한 것은 많은 양의 셸 용액이 경화를 거쳐 셸을 형성하였으므로 비록 두께에서는 큰 증가가 관찰되지 않았으나 compact한 결합으로 강도가 증가한 것으로 판단된다.

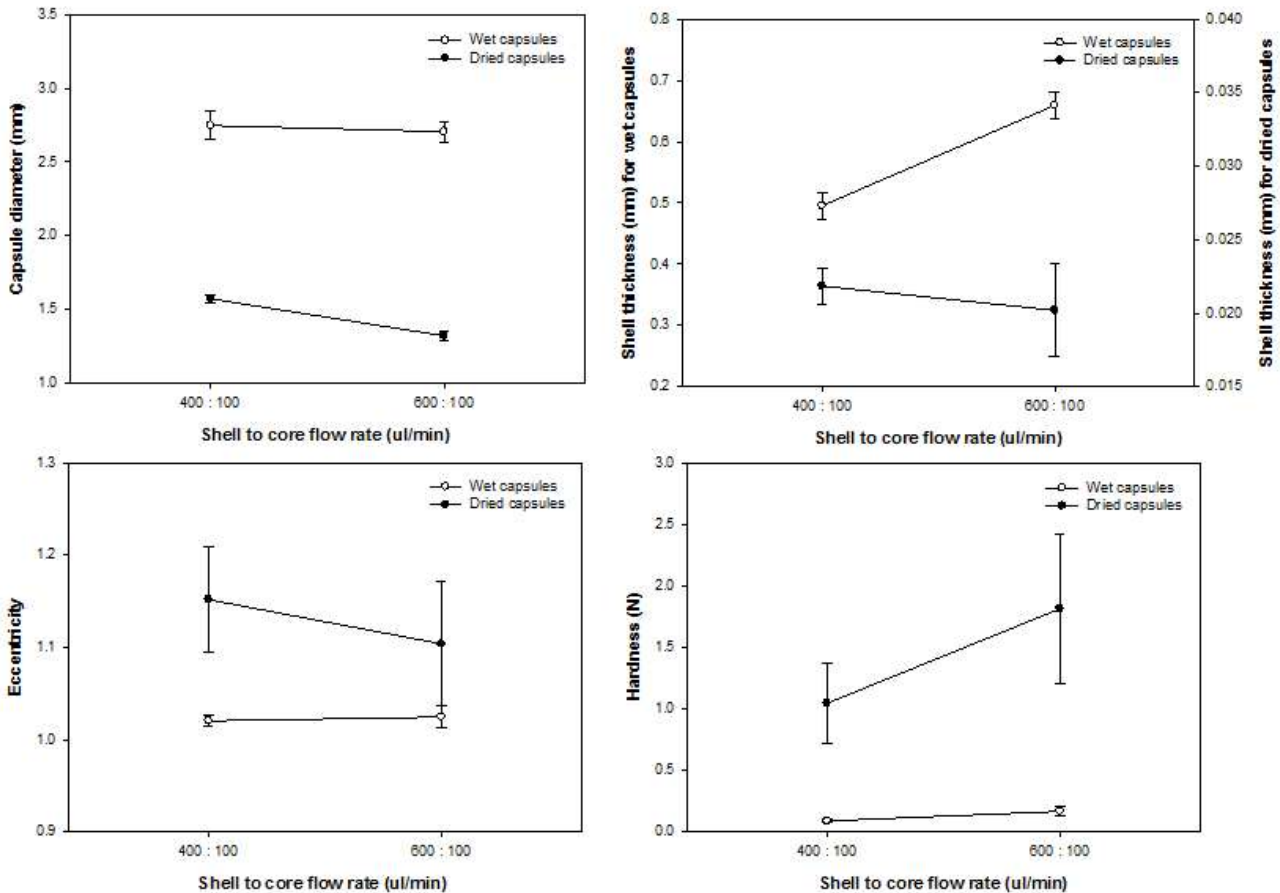


Figure 13. 셸/코어 유속비에 따른 습식 및 건조 agar 매크로캡슐의 지름, 이심률, 셸 두께, 및 강도의 변화

라. 전기장이 캡슐 특성에 미치는 영향

(1) Ca-alginate 매크로캡슐

- 전압을 0, 5, 10 kV로 달리하면서 매크로캡슐을 제조하였다. 이때 셸 용액의 alginate 농도는 2.25%, 셸/코어 유속비는 400:50 μ l/min으로 고정하였다.
- 캡슐의 형태
 - 전압을 달리하였을 때 제조된 Ca-alginate 매크로 캡슐의 광학현미경 사진을 Figure 14에 나타내었다. 사진에서 나타난 바와 같이 형성된 캡슐의 형태는 전압에 큰 영향을 받지 않았다.
 - 전압에 관계없이 비슷한 형태의 습식 및 건조캡슐이 형성되었으며, 건조캡슐의 경우 이 실험 조건에서 코어가 표면으로 스며나오는 것이 관찰되었다.

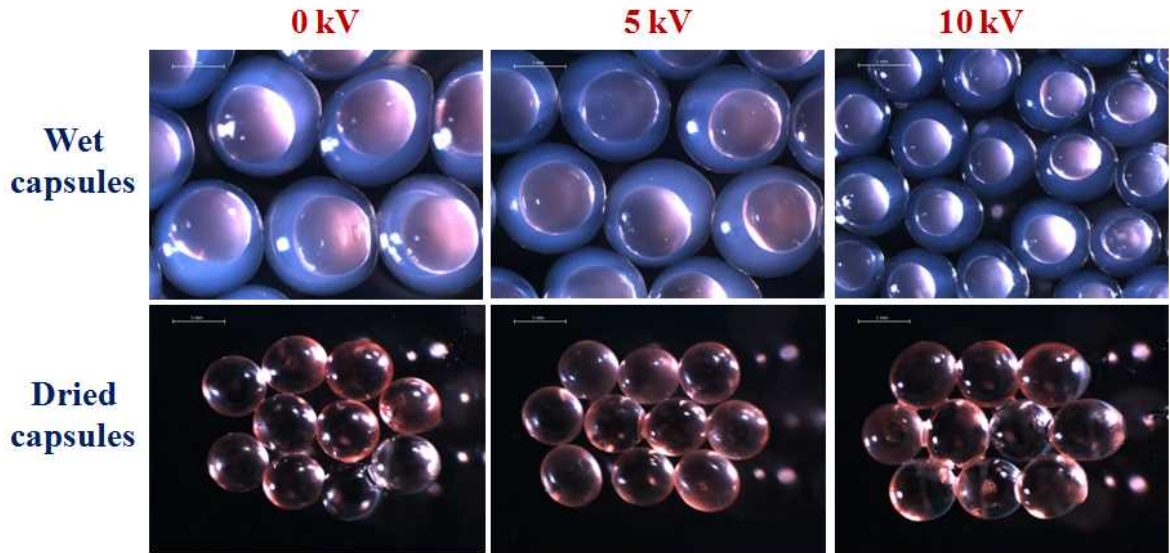


Figure 14. 전압에 따른 습식 및 건조 Ca-alginate 매크로캡슐의 광학현미경(16×) 사진

◦ 캡슐의 지름

- 전압이 증가할수록 습식캡슐의 경우 2.36, 2.19, 1.45 mm로 캡슐 지름이 감소하였으며, 건조 캡슐의 경우 1.48, 1.32, 0.94 mm로 캡슐의 크기가 감소하였다(Figure 15).
- 습식캡슐의 지름이 전압을 증가시키에 따라 감소한 것은 전압이 높을수록 형성된 액적의 표면장력을 감소시켜 낙하하는 액적의 지름이 더 작아졌기 때문으로 판단된다.
- 건조캡슐의 경우 습식캡슐의 크기가 전압에 따라 전반적으로 감소하였으므로 이에 따라 지름이 작아진 것으로 판단된다.

◦ 캡슐의 이심률

- 전압을 0, 5, 10 kV로 증가시켰을 때 습식캡슐의 이심률은 1.13, 1.04, 1.07로 측정되었으나 유의적 차이가 없었으며, 건조캡슐의 이심률은 1.05, 1.04, 1.07로 측정되었고 역시 유의적 차이는 없었다(Figure 15).
- 이는 전압이 캡슐의 이심률에는 큰 영향을 미치지 않은 것을 의미한다.

◦ 셸 두께

- 전압을 증가시키에 따라 습식캡슐의 셸 두께는 0.41에서 0.28 mm로 감소하였으며, 건조캡슐의 두께는 0.050에서 0.029 mm로 감소하였다(Figure 15).
- 전압에 따라 셸 두께의 감소가 발생한 것은 캡슐을 형성하는 셸 용액의 농도나 양이 변한 것이 아니라 액적 표면장력 감소로 인하여 셸/코어 비율은 같지만 전체 크기는 작은 액적이 만들어졌기 때문인 것으로 판단된다.

◦ 캡슐 강도

- 습식캡슐의 경우 0에서 5 kV 전압 조건에서 10.48 및 12.08 N의 강도가 측정되었는데 유의적인 차이는 없었으며 전압을 10 kV로 증가하였을 때 4.93 N으로 급격한 강도의 감소가 관찰되었다. 건조캡슐의 경우 6.44, 4.69, 2.19 N으로 측정되어 강도는 감소 경향을 나타내었다(Figure 15).

- 전압에 따라 강도가 감소한 주 원인은 얇아진 셸 두께 때문인 것으로 판단된다.

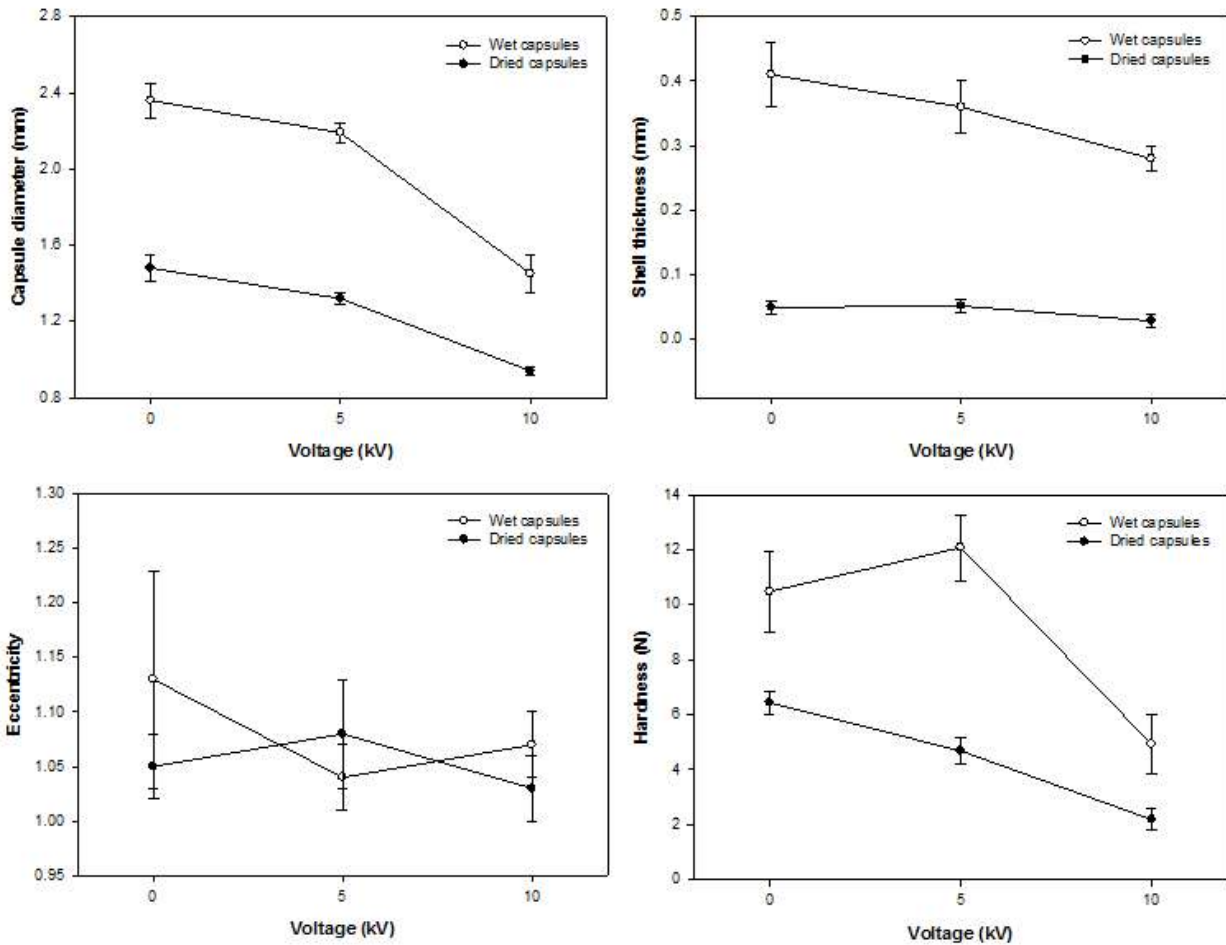


Figure 15. 전압에 따른 습식 및 건조 Ca-alginate 매크로캡슐의 지름, 이심률, 셸 두께, 및 강도의 변화

(2) Agar 매크로캡슐

- 전압을 0, 4, 6 kV로 달리하면서 매크로캡슐을 제조하였다. 이때 셸 용액의 agar 농도는 2.0%, 셸/코어 유속비는 400:100 $\mu\text{l}/\text{min}$ 으로 고정하였다.
- 캡슐의 형태
 - 전압을 달리하였을 때 제조된 agar 매크로 캡슐의 광학현미경 사진을 Figure 16에 나타내었다. 사진에서 나타난 바와 같이 형성된 캡슐의 형태는 전압에 큰 영향을 받지 않았다.
 - 전압에 관계없이 비슷한 형태의 습식 및 건조캡슐이 형성되었다. 다만 건조캡슐의 경우 6 kV에서 캡슐 표면이 상대적으로 거칠었고 코어가 표면으로 스며나오는 것이 관찰되었는데, 이는 전압이 높을수록 작고 약한 캡슐이 형성되기 때문인 것으로 판단된다.

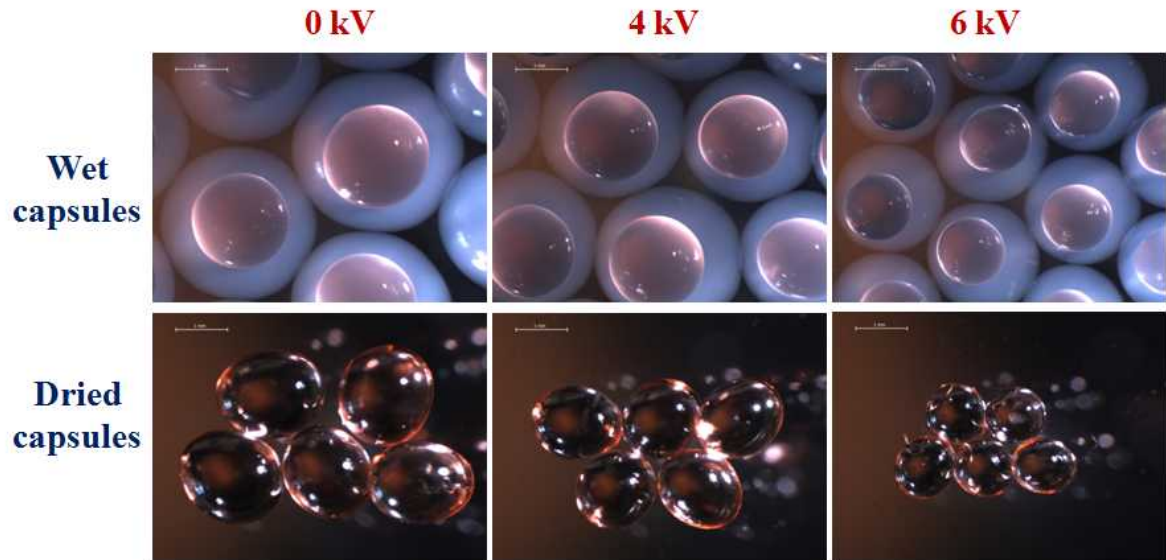


Figure 16. 전압에 따른 습식 및 건조 agar 매크로캡슐의 광학현미경(16×) 사진

- 캡슐의 지름
 - 전압이 증가할수록 습식캡슐의 경우 3.10, 2.75, 2.13 mm로 캡슐 지름이 감소하였으며, 건조캡슐의 경우 1.85, 1.57, 1.17 mm로 캡슐의 크기가 감소하였다(Figure 17).
 - 습식캡슐의 지름이 전압을 증가시키기에 따라 감소한 것은 Ca-alginate 캡슐의 경우와 마찬가지로 전압이 높을수록 형성된 액적의 표면장력을 감소시켜 낙하하는 액적의 지름이 더 작아졌기 때문으로 판단된다.
 - 건조캡슐의 경우 습식캡슐의 크기가 전압에 따라 전반적으로 감소하였으므로 이에 따라 지름이 작아진 것으로 판단된다.
- 캡슐의 이심률
 - 전압을 증가할수록 습식캡슐의 이심률은 1.18, 1.15, 1.10로 측정되어 감소하는 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 없었으며, 건조캡슐의 이심률은 1.07, 1.02, 1.03으로 측정되어 역시 유의적 차이를 나타내지 않았다(Figure 17).
 - 이는 Ca-alginate 캡슐과 마찬가지로 전압이 캡슐의 이심률에는 큰 영향을 미치지 않은 것을 의미한다.
- 셸 두께
 - 전압을 증가시키기에 따라 습식캡슐의 셸 두께는 0.56, 0.50, 0.28 mm로 감소하였으며, 건조캡슐의 두께는 0.03, 0.02, 0.02 mm로 측정되어 유의적 차이를 나타내지 않았다(Figure 17).
 - 전압에 따라 습식캡슐의 셸 두께의 감소가 발생한 것은 캡슐을 형성하는 셸 용액의 농도나 양이 변한 것이 아니라 액적 표면장력 감소로 인하여 셸/코어 비율은 같지만 전체 크기는 작은 액적이 만들어졌기 때문인 것으로 판단된다. 그러나 건조 후에 생성된 셸은 아주 얇고 비슷한 두께를 가지는 것으로 나타났다.
- 캡슐 강도
 - 전압을 증가시키기에 따라 습식캡슐의 강도는 0.11, 0.09, 0.09 N으로 측정되었고 유의적 변

화를 보이지 않았으나, 건조캡슐의 강도는 2.35, 1.05, 0.78 N으로 급격히 감소하였다(Figure 17).

- 전압에 따라 강도가 감소한 주 원인은 Ca-alginate 캡슐의 경우와 마찬가지로 얇아진 셸 두께 때문인 것으로 판단된다.

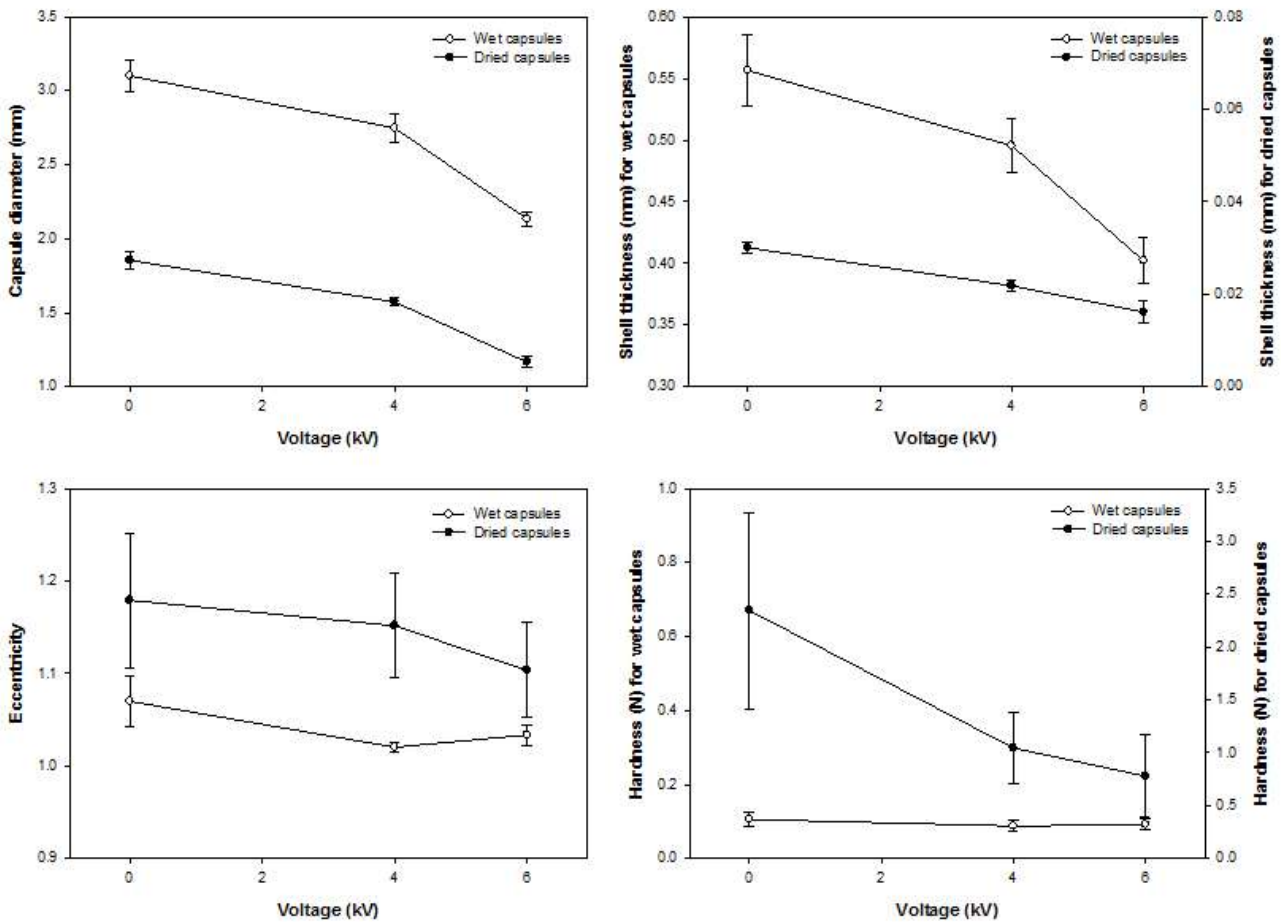


Figure 17. 전압에 따른 습식 및 건조 agar 매크로캡슐의 지름, 이심률, 셸 두께, 및 강도 변화

마. 결론

- 전기공압출을 이용하여 성공적으로 표면이 매끄럽고 투명한 코어-셸 타입의 Ca-alginate 및 agar 매크로캡슐을 형성할 수 있었으며, 셸 용액의 바이오폴리머 농도, 셸/코어 유속비, 및 전기장에 대한 캡슐의 특성(형태, 지름, 이심률, 셸 두께, 강도)을 분석하여 이러한 매크로캡슐 상용화 기반기술 확보에 필수적인 공정조건을 찾았다.
- 본 실험조건에서 Ca-alginate 및 agar 매크로캡슐은 건조 후 각각 1.0-1.5 mm 및 1.2-1.8 mm 지름의 크기로 형성되었다.
- 본 실험에서 형성된 매크로캡슐은 형성 조건에 따라 정도의 차이가 조금 있지만 대부분 완전구형에 가까운 형태를 가졌다.
- 본 실험조건에서 Ca-alginate 및 agar 매크로캡슐은 건조 후 각각 20-70 μm 및 20-30 μm 두께의 셸을 형성하였다.

- 본 실험조건에서 Ca-alginate 및 agar 매크로캡슐은 건조 후 각각 1-12 N 및 0.09-0.17 N의 압축 강도를 나타내었으며 Ca-alginate가 몇 십 배 이상 단단하였다.
- 공압출 시 형성된 전기장은 액적 표면장력을 감소시켜 캡슐의 크기를 작게 컨트롤하기에 효과적이었으나 Ca-alginate 건조캡슐의 경우 강도를 상당히 감소시키는 효과를 가져왔다.
- 본 실험조건에서 Ca-alginate 및 agar 매크로캡슐은 대부분의 특성에서 비슷한 범위의 값을 나타내었으나, 캡슐 강도에서는 매우 큰 차이의 값을 나타냈다. 이는 젤 형성 메커니즘에 의한 차이로서, 이온젤화에 의해 형성된 열비가역성 Ca-alginate 젤이 냉각경화에 의해 double helix 구조로 형성된 열가역성 agar 젤에 비해 훨씬 단단한 구조로 결합되어 있기 때문인 것으로 판단된다.
- Ca-alginate 캡슐의 경우 습식캡슐이 건조캡슐보다 강도가 강하였으나, agar 캡슐의 경우 건조캡슐이 습식캡슐보다 더 강도가 높았다. 이 역시 젤을 구성하는 젤의 형성 메커니즘에 의한 차이로서, Ca-alginate 캡슐의 경우는 건조되면서 깨지는 성질은 커지지만 젤 구조자체의 결합은 그리 향상되지 않는 것으로 보이며, agar 캡슐의 경우는 건조되면서 젤 구조가 더 compact해 지면서 젤의 강도가 증가한 것으로 판단된다.

제 2 절 2차년도 연구개발 내용

1. 연구개발의 목표 및 연구개발 수행내용

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
2차 년도 (2013)	액상 조미성 분 인캡슐레 이션 공정 최 적화	민트유 및 쇠고기 추출물 인캡 슐레이션 공정 흐름도 확립	<ul style="list-style-type: none"> ○ 전기공압출을 이용한 Ca-alginate 매크로캡슐 제조공정 흐름도 결정 ○ 전기공압출을 이용한 agar-based 혼합 매크로캡슐 제조공정 흐름도 결정 -냉각경화 열가역성 하이드로콜로이드를 사용하여 즉석조리에 응용가능한 캡슐
		중심 공정변수 최적화	<ul style="list-style-type: none"> ○ Ca-alginate 매크로캡슐의 형태 및 조직감의 통계학적 최적화 ○ Agar-based 혼합 매크로캡슐 형성을 위한 최적 냉각경화 가역성 하이드로콜로이드 결정
		최적화 캡슐의 안정성 및 방출 유발(triggering) 특성 분석	<ul style="list-style-type: none"> ○ 매크로캡슐의 형태 및 integrity와 handling에 필요한 최소강도 결정하여 제품화 기준 설정 ○ 열수처리에 의한 코어 방출유발 특성 분석

2. 연구범위 및 연구수행 방법

연구범위 (2차년도)	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
<p>민트유 및 쇠고기 추출물 인캡슐레이션 공정 흐름도 확립</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪전기공압출을 이용한 Ca-alginate 코어-셸 매크로캡슐 공정 확립 ▪전기공압출을 이용한 agar-based 코어-셸 매크로캡슐 공정 확립 	<ul style="list-style-type: none"> ◦강도가 강한 이온경화성 Ca-alginate 젤로 형성된 셸과 지용성 코어로 구성된 코어-셸 매크로캡슐 공정흐름도 및 공정변수의 조건 결정 ◦즉석조리에 적용 가능한 냉각경화 열가역성 하이드로콜로이드인 agar를 베이스로한 혼합젤로 형성된 셸과 지용성 코어로 구성된 코어-셸 매크로캡슐 공정흐름도 및 공정변수의 조건 결정
<p>중심 공정변수 최적화</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪Ca-alginate 매크로캡슐의 형태 및 조직감 최적화 ▪Agar-based 매크로캡슐을 위한 최적 하이드로콜로이드 결정 	<ul style="list-style-type: none"> ◦Ca-alginate 매크로캡슐의 형태(표면형태, 지름, 셸두께, 이심률) 및 조직감(강도, 파쇄에너지)에 대한 중심공정변수의 통계학적 최적화를 반응표면분석법(response surface methodology)를 사용하여 수행 ◦Agar-based 혼합 매크로캡슐을 제품화에 최적화하기 위하여 냉각경화 가역성 하이드로콜로이드인 gelatin (fish, bovine, porcine), k-carrageenan, locust bean gum, xanthan gum, low-methyl pectin, methyl cellulose 등과 혼합
<p>최적화 캡슐의 안정성 및 방출유발(triggering) 특성 분석</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪제품화에 필요한 형태 및 조직감 수준 결정 ▪즉석조리 적용 매크로캡슐 분해특성 분석 	<ul style="list-style-type: none"> ◦형성된 매크로캡슐의 형태 및 integrity와 handling에 필요한 최소 강도를 결정하여 제품화의 기준을 설정 ◦열수처리에 의한 매크로캡슐 분해속도를 측정하여 즉석조리 적용시 분해특성을 분석하여 제품화의 기준을 설정

3. 연구결과

가. Ca-alginate 매크로캡슐

(1) Ca-alginate 매크로캡슐 공정흐름도 확립

- 다음 세 과정으로 구성된 전기공압출 Ca-alginate 매크로캡슐 제조공정을 확립하였다: (1) 전기공압출, (2) 경화, (3) 건조. 제조된 매크로캡슐 시제품의 사진은 Figure 18에 나타내었다.
- 전기공압출 과정은 Figure 19A에 나타난 개요도를 바탕으로 다음과 같은 조건으로 확립되었다. 사용한 전기공압출기(eS-robot ESR200B, NanoNC Co., Ltd., Seoul, Korea)는 고압 생성기와 이중동축노즐(dual coaxial nozzle; 안쪽 노즐의 내외부 지름=각각 0.26과 0.50 mm, 바깥쪽 노즐의 내외부 지름=각각 1.07과 1.47 mm)에 연결된 두 개의 시린지 펌프로 구성하였다. 코어 오일(20 mL)은 10분간 초음파 처리하여 기체를 제거하였으며 셸용액(20 mL)은 0.5-4.0%(w/v) 범위의 alginate 수용액을 사용하였다. 두 유체는 20 mL 용량의 플라스틱 주사기를 통하여 노즐로 보내져 코어-셸 구조의 액적을 형성하였으며 이때 코어유체의 유속은 0.05 mL/min으로 고정하였고 셸유체의 유속을 변화하여 셸-코어 유속비를 4-12 범위에서 액적을 형성하였다.
- 경화과정은 형성된 코어-셸 구조의 액적을 5%(w/w) CaCl₂ 용액으로 0-10 kV의 전압범위에서 낙하시킨 후 20분간 교반하며 셸이 Ca-alginate ionotropic gel을 형성하도록 하여 실시하였다. CaCl₂ 용액 표면과 노즐의 끝은 10 cm간격을 유지하였다.



Figure 18. Ca-alginate 매크로캡슐 시제품

- 건조과정은 셸이 경화되어 형성된 습윤(wet) 매크로캡슐은 진공여과로 회수한 후 이를 증류수로 세척한 후 실온(23±2°C)에서 12 h 공기건조(air-drying)하여 실시하였다. 제조된 건조 매크로캡슐은 질소로 채워진 vial에 보관하였으며, 이때 60일간 형태와 조직감에서 어떠한

한 유의적인 변화도 발생하지 않았다. 건조 매크로캡슐의 코어-셸 구조의 광학현미경 사진을 Figure 19B에 나타내었다.

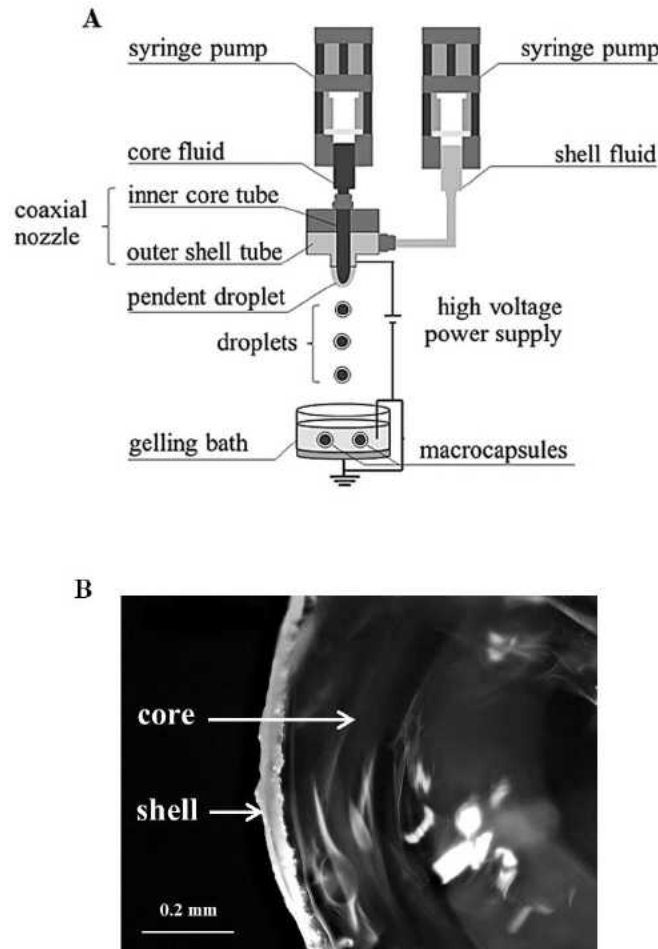


Figure 19. Ca-alginate 매크로캡슐의 공정도(A) 및 매크로캡슐의 코어-셸 구조(B)

(2) 매크로캡슐 최적화

- 17개의 실험구로 구성된 three-factor, five-level central composite design을 이용하여 세 가지 주요 공정변수가 형성된 Ca-alginate 매크로캡슐의 형태 및 조직감에 대한 다섯 가지 특성에 미치는 영향을 분석하여 최적화 하였다. 최적화에 사용한 세 가지 주요 공정변수와 이의 코드값 및 실제값은 Table 4에 나타내었다.
- 최적화를 위해 분석된 매크로캡슐의 특성은 다음과 같다: Y_1 =표면형태, Y_2 =지름, Y_3 =셸두께, Y_4 =강도, Y_5 =파쇄 에너지. 최적화를 위한 X와 Y의 관계는 다음 이차함수를 사용하여 분석하였다.

$$Y_i = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j>i}^3 \beta_{ij} X_i X_j$$

여기서 β_0 , β_i , β_{ii} , and β_{ij} 는 각각 model intercept, linear, quadratic, and interactive

regression coefficients이며, Design-Expert 7.0.0 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA)를 사용하여 실시하였다. 최적화 분석을 위한 17개 실험조건과 측정된 Ca-alginate 매크로캡슐의 특성은 Table 5에 나타내었으며, 계산된 regression coefficients의 부호와 p-value는 Table 6에 나타내었다. Table 6의 모델 p-value에서 알 수 있듯 공정변수와 캡슐 특성의 상관관계는 위 이차함수로서 매우 효과적으로 분석할 수 있었다.

Table 4. 최적화에 사용한 세 가지 주요 공정변수와 이들의 코드값 및 실제값.

기호	공정변수	단위	Coded levels				
			-2	-1	0	1	2
X ₁	Alginate 농도	%	0.50	1.38	2.25	3.13	4.00
X ₂	셸-코어 유속비	-	4	6	8	10	12
X ₃	전압	kV	0	2.5	5.0	7.5	10.0

Table 5. 최적화 분석에 사용된 17개 실험구간에서의 얻어진 Ca-alginate 매크로캡슐의 특성

Run	공정변수			매크로캡슐의 특성						
	X ₁	X ₂	X ₃	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	이심률	수분함량(%)
1	1.38	10	7.5	2	1.04±0.05	25.75±3.59	2.52±0.82	0.53±0.19	1.09±0.02	3.77±0.22
2	3.13	10	7.5	3	1.14±0.03	55.32±6.88	6.16±0.38	2.93±0.83	1.06±0.01	5.37±0.47
3	2.25	8	0.0	2	1.46±0.05	45.50±4.49	5.71±0.80	2.27±0.79	1.06±0.03	3.66±0.55
4	2.25	8	10.0	2	0.89±0.02	25.20±3.04	2.25±0.15	0.50±0.18	1.05±0.02	5.11±0.22
5	1.38	6	7.5	2	1.18±0.08	28.01±1.34	2.21±0.38	0.52±0.17	1.07±0.01	2.32±0.17
6	3.13	10	2.5	3	1.46±0.03	66.41±4.62	7.72±0.39	4.97±0.24	1.18±0.05	5.34±0.06
7	2.25	4	5.0	0	1.53±0.04	27.51±2.72	3.57±0.44	1.05±0.23	1.07±0.03	2.40±0.13
8	2.25	12	5.0	2	1.22±0.05	40.59±5.04	7.13±0.98	2.95±0.30	1.06±0.01	5.27±0.12
9	2.25	8	5.0	3	1.36±0.04	47.31±4.21	4.21±0.77	1.68±0.51	1.07±0.02	4.71±0.66
10	4.00	8	5.0	3	1.47±0.05	66.36±2.09	11.01±0.97	6.90±0.70	1.18±0.03	5.17±0.09
11	1.38	10	2.5	2	1.27±0.04	40.96±5.20	3.04±0.50	1.06±0.16	1.05±0.01	4.31±0.73
12	2.25	8	5.0	3	1.31±0.01	47.49±5.95	3.92±0.26	1.61±0.22	1.05±0.01	4.45±0.73
13	1.38	6	2.5	2	1.50±0.02	37.63±5.42	1.95±0.22	0.66±0.20	1.07±0.03	2.55±0.37
14	0.50	8	5.0	3	1.24±0.01	17.35±5.16	1.37±0.22	0.34±0.02	1.21±0.04	2.19±0.12
15	3.13	6	2.5	3	1.61±0.03	50.13±4.99	5.77±0.12	3.44±0.12	1.19±0.02	4.90±0.28
16	3.13	6	7.5	1	1.30±0.02	32.91±5.35	4.36±0.10	2.29±0.13	1.05±0.00	4.28±1.88
17	2.25	8	5.0	3	1.32±0.03	47.15±6.13	3.80±0.37	1.41±0.10	1.06±0.02	5.26±0.73

◦ 매크로캡슐의 형태 분석

표면형태(Y_1), 지름(Y_2), 셸두께(Y_3) 및 이심률은 stereomicroscope (Leica MZ12.5 with DFC290 digital camera, Leica Microsystems Inc., Wetzlar, Germany)을 사용하여 최소 30개 이상의 매크로캡슐을 측정하여 측정하였다. 표면형태는 형태에 따라 다음과 같은 네 개의 구간으로 나누었다: 0=non-oily and smooth surface, 1=non-oily and rough surface, 2=oily and smooth surface, 3=oily and rough surface. 실험에서 관찰된 전형적인 표면형태의 현미경 사진을 Figure 20에 나타내었다. 캡슐의 이심률은 1.05-1.21 범위에 있었고 대부분 1.09이하의 값을 보여 형성된 캡슐은 구형에 가까움을 확인하였다.

◦ 세 가지의 공정변수(X_1, X_2, X_3)가 Ca-alginate 매크로캡슐의 세 가지 형태학적 특성인 표면형태(Y_1), 지름(Y_2), 셸두께 (Y_3)에 미치는 영향을 분석한 결과는 Figure 21에 나타내었다. Figure 21과 Table 6에서 보여지듯 표면형태는 셸-코어 유속비에 가장 큰 영향을 받았으며, 캡슐의 지름과 셸두께는 모든 공정변수가 선형적 혹은 이차적인 유의적인 영향을 주었다.

Table 6. 최적화 분석에 사용된 17개 실험구간에서의 얻어진 Ca-alginate 매크로캡슐의 다섯 특성에 대한 regression coefficients의 부호와 p-value.

	Y_1		Y_2		Y_3		Y_4		Y_5	
		p-value		p-value		p-value		p-value		p-value
IC	3.0	-	1.33	-	48.19	-	3.75	-	1.54	-
X_1	+	0.2753	+	<0.0001**	+	<0.0001**	+	<0.0001**	+	<0.0001**
X_2	+	0.0093**	-	<0.0001**	+	0.0038**	+	0.0069**	+	0.0007**
X_3	-	0.2753	-	<0.0001**	-	0.0005**	-	0.0165*	-	0.0003**
X_1^2	+	1.0000	+	0.1727	-	0.1974	+	0.0246*	+	<0.0001**
X_2^2	-	0.0012**	+	0.0403*	-	0.0083**	+	0.1312	+	0.1378
X_3^2	-	0.0532	-	<0.0001**	-	0.0137*	-	0.8830	-	0.4503
X_1X_2	+	0.1382	+	0.2639	+	0.0111*	+	0.3412	+	0.0579
X_1X_3	-	0.1382	-	0.3053	-	0.7607	-	0.2757	-	0.0137*
X_2X_3	+	0.1382	+	0.1696	+	0.9622	-	0.7001	-	0.1383
모델		0.0115*		<0.0001**		0.0002**		0.0007**		<0.0001**
R^2		0.8916		0.9945		0.9668		0.9540		0.9896

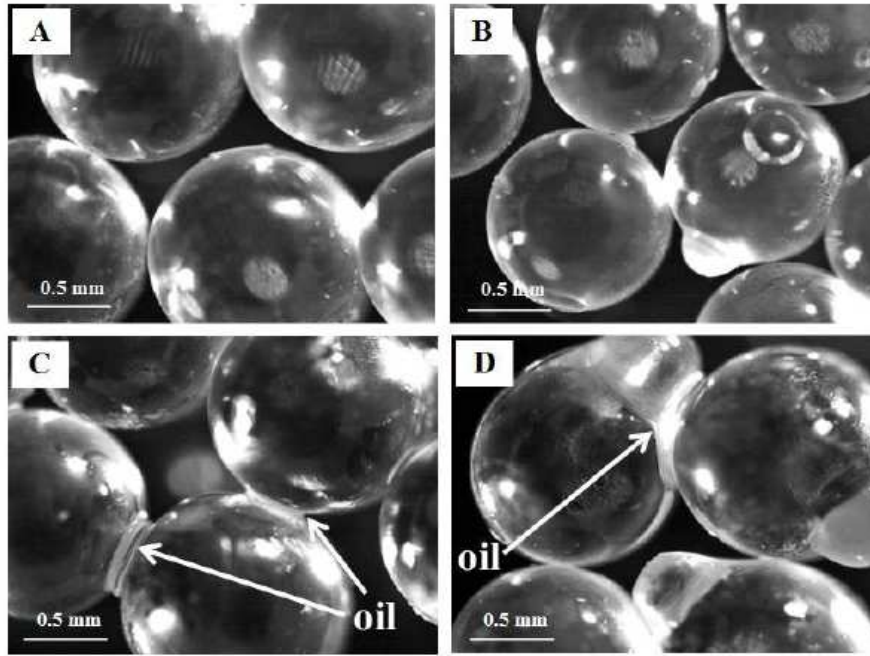


Figure 20. Ca-alginate 매크로캡슐의 표면 형태 $Y_1=0$ (Run7; A), 1 (Run 16; B), 2 (Run 3; C), 3 (Run 15; D)

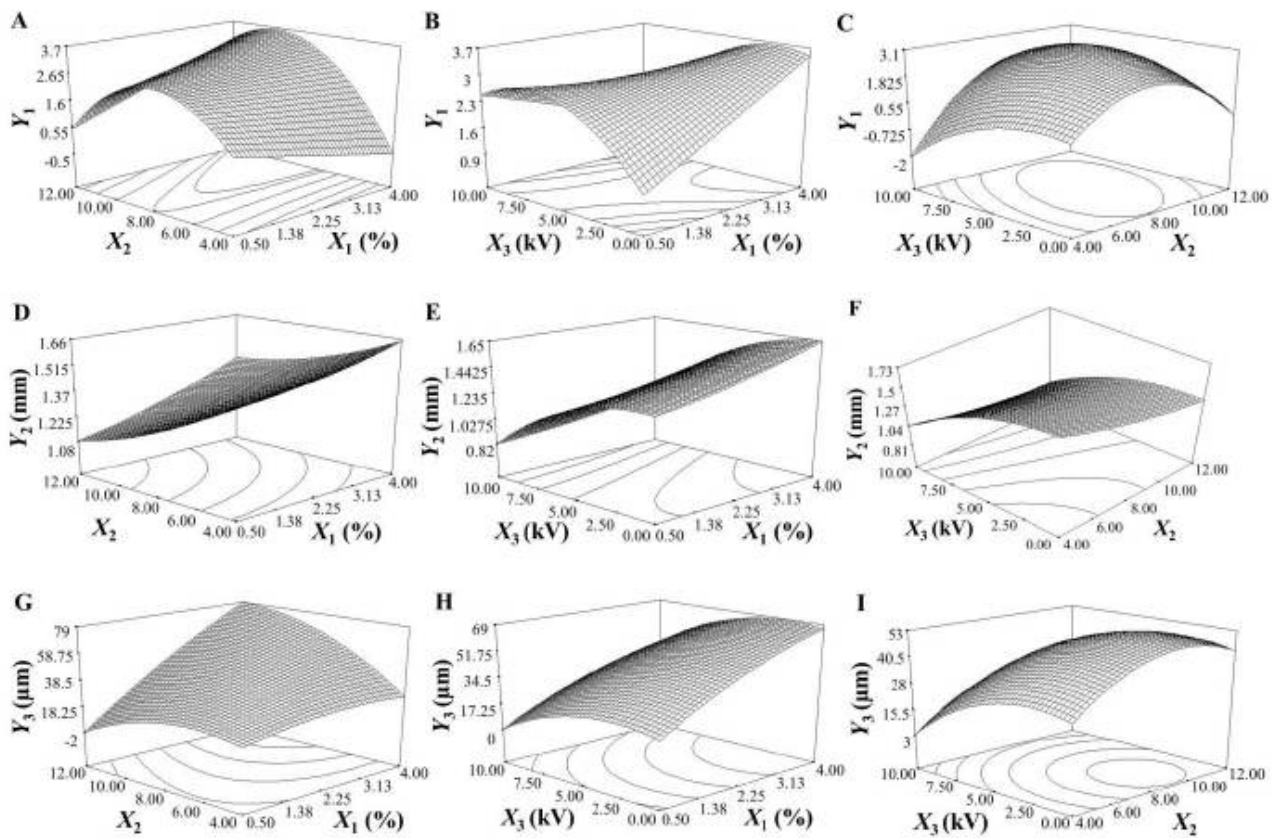


Figure 21. 세 가지의 공정변수(X_1 , X_2 , X_3)가 Ca-alginate 매크로캡슐의 세 가지 형태학적 특성 (Y_1 , Y_2 , Y_3)에 미치는 영향을 분석한 response surface plot 및 contour plot.

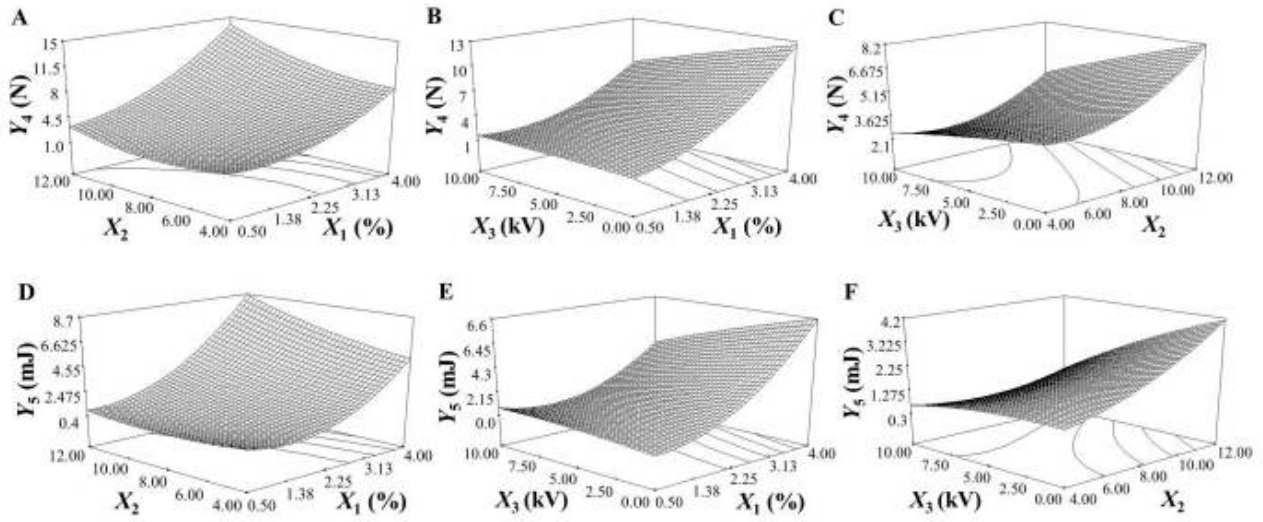


Figure 22. 세 가지의 공정변수(X_1 , X_2 , X_3)가 Ca-alginate 매크로캡슐의 두 가지 조직감 특성 (Y_4 , Y_5)에 미치는 영향을 분석한 response surface plot 및 contour plot.

◦ 매크로캡슐의 조직감 분석

매크로캡슐의 강도(Y_4)와 파쇄 에너지(Y_5)는 조직감 분석기(COMPAC-100, Sun Scientific Co. Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 최소 30개 이상의 매크로캡슐의 값을 측정하였다. 세 가지의 공정변수(X_1 , X_2 , X_3)가 Ca-alginate 매크로캡슐의 두 가지 형태학적 특성인 강도(Y_4), 파쇄 에너지(Y_5)에 미치는 영향을 분석한 결과는 Figure 22에 나타내었다. Figure 22와 Table 6에서 보여지듯 캡슐의 강도와 파쇄 에너지 역시 세 가지 모든 공정변수에 선형적 혹은 이차적인 유의적인 영향을 주었다.

- 측정된 강도와 파쇄 에너지는 Figure 23A에서 보여지듯 서로 비례하는 관계를 갖고있어, 형성된 매크로캡슐은 강도가 강해질수록 깨지기 쉬운 성질(brittleness)이 강해지는 것이 아니라 쉘을 형성하는 젤의 네트워크가 수준이 올라가 파쇄에도 많은 에너지가 소모됨을 보여준다. Figure 23B의 결과는 이러한 예상을 뒷받침해 주는데, 강도와 파쇄 에너지는 캡슐의 지름 등 다른 특성과는 유의적인 연관성이 없으며 오직 쉘의 두께와 비례적 연관성을 나타낸다.

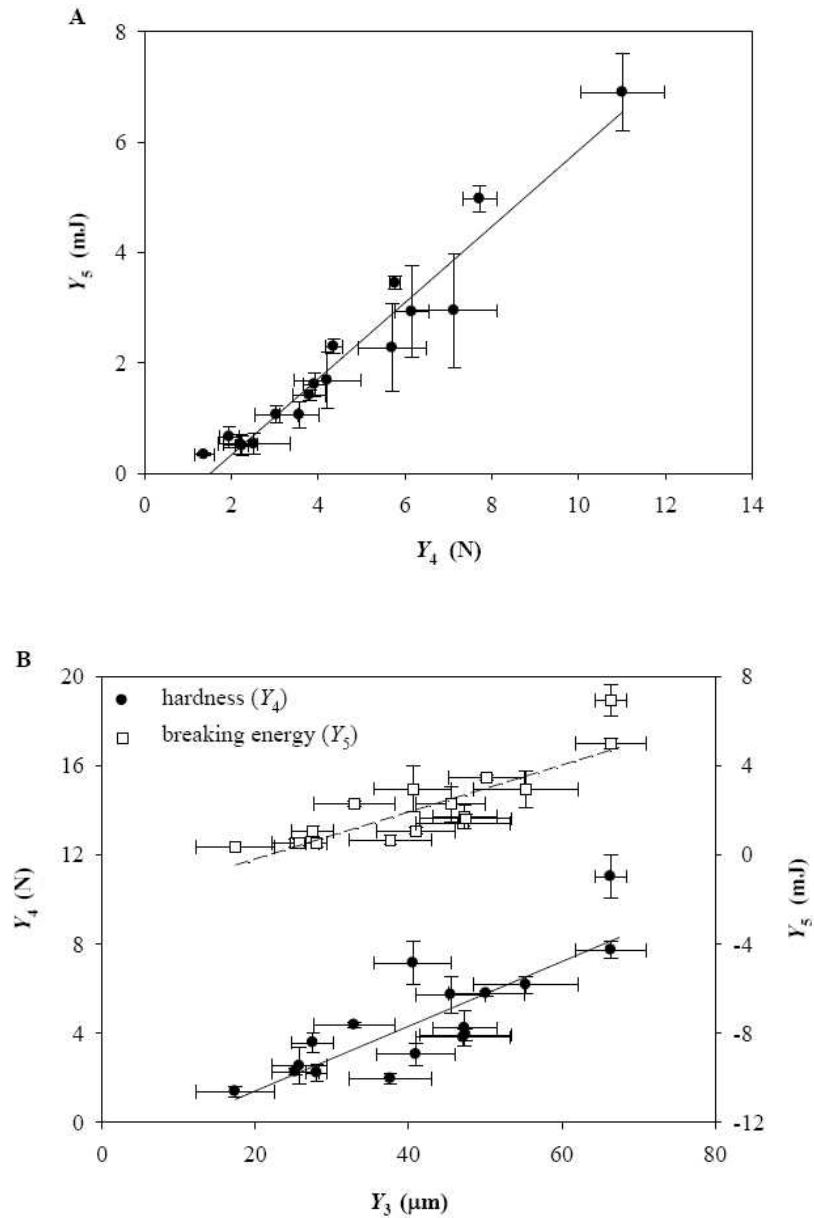


Figure 23. Ca-alginate 매크로캡슐의 강도(Y_4)와 파쇄 에너지(Y_5)의 연관성 및 이들 두 가지 조직감 특성의 쉘두께(Y_3)에의 의존성

◦ 제품화에 적합한 공정변수 기준 설정

표면 형태에 오일이 보이는 것은 코어가 표면으로 스며나왔다는 것을 의미하므로 제품에 적용하였을 경우 상당한 문제가 있을 수 있다. 따라서 $Y_1 \leq 1$ 의 기준을 만족하여야 제조된 캡슐을 제품화할 수 있을 것으로 판단하였다. 또한 실험을 통하여 다루어 본 결과 강도가 3 N 이하의 캡슐은 쉽게 깨어져 handling에 상당한 어려움이 있었다. 따라서 $Y_3 \geq 3$ N의 기준을 만족하는 캡슐만이 제품화될 수 있을 것으로 판단하였다.

◦ 제품화를 위한 공정변수 최적화 범위 결정

위에서 설정된 두 가지 공정변수 기준을 바탕으로 Table 5에서 얻어진 데이터를 superimposed contour plot에 도식화하여 최적화된 공정변수범위를 결정하였다 (Phawaphuthanon et al., 2014). Figure 24A에서 보여지듯 전압을 사용하지 않은 일반 공압출의 경우 낮은 alginate 농도와 높은 셸-코어 유속비 지역에서 최적화 공정변수 범위가 관찰되었으며, Figure 24B에서 보여지듯 10 kV의 전압으로 전기공압출을 실시하였을 경우 높은 alginate 농도와 낮은 셸-코어 유속비 지역에서 넓은 최적화 공정변수 범위가 관찰되었다.

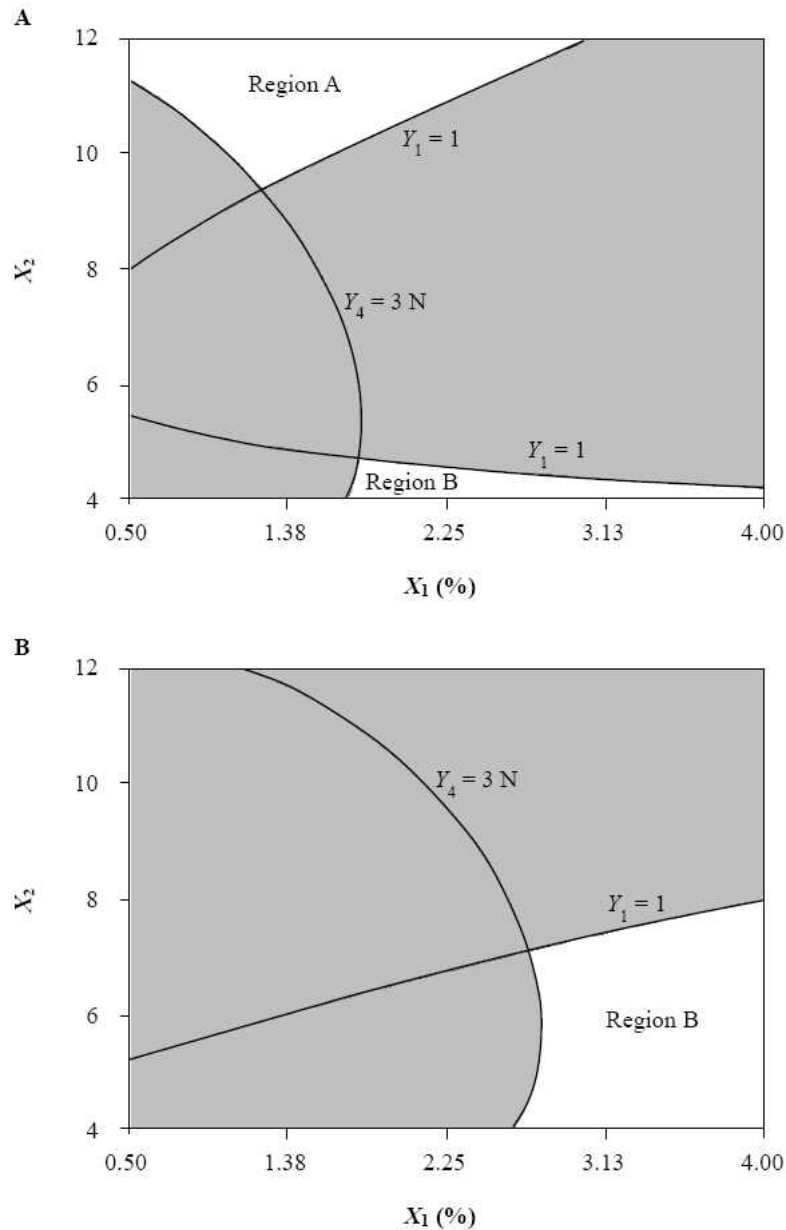


Figure 24. 제품화 적합기준인 $Y_1 \leq 1$ 및 $Y_3 \geq 3 \text{ N}$ 을 만족하는 최적 공정변수 범위를 0 kV (A), 10 kV (B) 조건에서 표시한 superimposed contour plots.

나. Agar-based 혼합 매크로캡슐

(1) Agar-based 매크로캡슐 공정흐름도 확립

- Agar-based 매크로캡슐을 제조공정 역시 세 과정으로 구성하였다: (1) 전기공압출, (2) 경화, (3) 건조. Ca-alginate 매크로캡슐 제조공정에 비하여 다음과 같은 차이점이 있다.
 - 전기공압출 과정은 Figure 19A에 나타난 개요도를 바탕으로 다음과 같은 조건으로 확립되었다. 총 중량농도를 2%로 고정하고 agar 베이스로 하여 gelatin(bovine, porcine, fish), k-carrageenan, xanthan gum, locust bean gum, low methoxyl pectin, methyl cellulose 등 하이드로콜로이드(hydrocolloid)를 agar:hydrocolloid=80:20의 중량 비율로 혼합한 수용액을 셸 유체로, 수단(sudan) III를 포함한 올리브유를 코어 용액으로 사용하여 셸-코어 유속비를 600-100 μ l/min, 셸 용액 온도를 50 °로 유지하면서 0 kV 혹은 6 kV 전압 조건에서 전기공압출하였다.
 - 경화과정은 전기공압출에 의해 형성된 액적을 2 ° C로 유지된 파라핀유(paraffin oil)로 낙하시킨 후 20분간 냉각경화(cold-set)하여 코어-셸 매크로 캡슐을 형성하였다.
 - 형성된 습식 캡슐을 20°C, 상대습도 50% 조건에서 공기건조(air drying)를 하거나 혹은 20°C에서 진공건조를 하여 건조 캡슐을 형성하였다.

(2) Agar-based 혼합 매크로캡슐 형성을 위한 최적 하이드로콜로이드 결정

◦ 매크로캡슐의 형태 분석

Agar만으로 형성된 매크로캡슐과 agar와 methyl cellulose가 혼합된 매크로캡슐은 건조방법과 전압에 상관없이 코어가 새지 않는 안정된 표면형태를 보였다(Table 7). 전압이 사용되지 않은 경우(0 kV), 위 두 종의 캡슐을 제외한 모든 혼합 매크로캡슐은 건조방법에 상관없이 코어가 새어나온 기름기있는 표면형태를 보여 안정된 매크로캡슐을 형성하지 못하였다.

전압이 6 kV 가해져 전기공압출이 실시된 경우, 로커스트빈검, 잔탄검, 저메톡실 펙틴 혼합 캡슐을 제외한 모든 캡슐이 코어가 새지 않는 안정된 표면형태를 나타내었으며, 이는 전기공압출이 일부 혼합캡슐(세 종류의 gelatin 및 k-carrageenan 혼합 캡슐)의 형성을 안정화하는 역할을 한다는 것을 나타낸다.

Table 7. Agar-based 매크로캡슐의 표면 형태

매크로캡슐	0 kV		6 kV	
	공기건조	진공건조	공기건조	진공건조
Agar	O	O	O	O
Agar+Bovine gelatin	X	X	O	O
Agar+Porcine gelatin	X	X	O	O
Agar+Fish gelatin	X	X	O	O
Agar+k-carrageenan	X	X	O	O
Agar+locust bean gum	X	X	X	X
Agar+xanthan gum	X	X	X	X
Agar+low methoxyl pectin	X	X	X	X
Agar+Methyl cellulose	O	O	O	O

◦ 매크로캡슐의 조직감 분석

Agar와 locust bean gum, xanthan gum, low-methoxyl pectin, 혹은 methyl cellulose와의 혼합 매크로캡슐은 전기장의 유무와 건조방법에 관계없이 3 N 이하의 약한 강도를 나타내었다 (Table 8). Agar만으로 형성된 매크로캡슐 및 agar와 세 종류의 gelatin 혹은 k-carrageenan의 혼합 매크로캡슐의 경우, 전기장을 사용하지 않은 일반 공압출(coextrusion)을 하였을 때 건조방법에 상관없이 높은 강도를 나타내었다. 이 다섯 종류의 매크로캡슐을 전기장을 적용하여 전기공압출을 실시해 형성하였을 경우, 공기건조된 캡슐은 일반 공압출과 비슷한 수준의 높은 강도를 나타내었으며, 진공건조하였을 경우 젤라틴이 혼합된 세 종류의 캡슐은 약한 강도를, 나머지 두 종의 캡슐은 높은 강도를 나타내었다.

이는 위 다섯 종류의 매크로캡슐 형성의 경우, 공기건조를 할 경우 강도의 손실없이 전기공압출의 장점을 이용하면서 제조할 수 있다는 것을 의미한다.

매크로캡슐의 탄성도는 공기건조 시 조금 더 높은 값이 측정되었으며, 전기장이 사용되었을 경우 조금 감소하는 경향을 보였으나 그 차이는 크지 않았다.

Table 8. 아가베이스 매크로캡슐의 강도(hardness) 및 탄성도(elasticity)

매크로캡슐	강도(N)				탄성도			
	0 kV		6 kV		0 kV		6 kV	
	공기건조	진공건조	공기건조	진공건조	공기건조	진공건조	공기건조	진공건조
Agar	5.93±0.82	5.57±0.92	5.24±0.70	4.77±0.73	0.63±0.09	0.59±0.08	0.60±0.06	0.58±0.07
+Bovine gelatin	5.59±0.96	5.39±0.93	4.88±0.68	2.83±0.85	0.72±0.09	0.58±0.10	0.67±0.08	0.53±0.10
+Porcine gelatin	5.61±0.75	5.34±0.89	4.18±0.58	2.80±0.73	0.72±0.08	0.56±0.13	0.64±0.06	0.52±0.11
+Fish gelatin	4.79±0.94	4.75±0.88	4.18±0.68	2.74±0.71	0.73±0.06	0.52±0.07	0.66±0.04	0.49±0.09
+k-carrageenan	5.07±0.71	4.78±0.74	4.21±0.68	4.07±0.69	0.56±0.13	0.51±0.14	0.59±0.07	0.50±0.11
+locust bean gum	2.06±0.77	1.96±0.71	1.41±0.51	1.24±0.43	0.75±0.12	0.71±0.20	0.70±0.05	0.67±0.14
+xanthan gum	2.89±0.71	1.73±0.84	2.10±0.46	1.50±0.58	0.28±0.08	0.28±0.13	0.27±0.06	0.26±0.10
+low methoxyl pectin	2.27±0.69	1.53±0.73	2.08±0.56	0.67±0.67	0.43±0.06	0.41±0.07	0.40±0.05	0.35±0.05
+Methyl cellulose	2.77±0.85	2.47±0.88	2.12±0.64	1.95±0.78	0.59±0.09	0.58±0.12	0.58±0.08	0.52±0.08

◦ 매크로캡슐의 분해특성 분석

Agar만으로 형성된 매크로캡슐은 전기장의 유무와 건조방법에 상관없이 끓는 물에서 10분의 분해소요시간이 측정되었다. Agar와 세 종의 gelatin 및 k-carrageenan의 혼합 매크로캡슐은 이의 절반에 불과한 5분의 분해소요시간을 나타내었는데, 이는 하이드로콜로이드를 혼합하는 전략이 분해시간의 단축에 상당한 효과를 가지고 있다는 것을 나타낸다.

◦ 혼합 매크로캡슐 제조를 위한 최적 하이드로콜로이드 결정

즉석조리 적용 제품화에 필요한 3가지 최소기준은 다음과 같다. (1) 제조공정이나 보관 중 코어가 새지 않는 integrity를 가진 원형 매크로캡슐, (2) 3 N이상의 강도를 가져 handling 중 파손에 의한 코어의 누출이 없음, (4) 끓는물에서 5분내 분해되어 코어 방출.

이러한 특성은 Ca-alginate나 agar만 사용한 매크로캡슐로는 확보할 수 없었으며, 연구전략에서 예상하였듯이 냉각경화가 가능한 가역성(reversible) 하이드로콜로이드인 agar에 다른 냉각경화 가역성 하이드로콜로이드를 혼합하여 매크로캡슐을 제조함으로써 확보할 수 있었다.

연구에서 사용한 실험조건에서 제품화에 필요한 기준을 모두 충족시키는 agar-based 매크로캡슐을 형성할 수 있는 하이드로콜로이드로서 bovine gelatin, porcine gelatin, fish gelatin, k-carrageenan 등 네 종류가 있음을 확인하였다.

Table 9. 끓는 물에서 아가베이스 매크로캡슐의 분해 소요시간

매크로캡슐	분해 소요시간 (min)			
	0 kV		6 kV	
	공기건조	진공건조	공기건조	진공건조
Agar	10	10	10	10
Agar+Bovine gelatin	5	5	5	5
Agar +Porcine gelatin	5	5	5	5
Agar +Fish gelatin	5	5	5	5
Agar +k-Carrageenan	5	5	5	5
Agar +Locust bean gum	7	7	7	7
Agar +Xanthan gum	10	10	10	10
Agar +Low methoxyl pectin	10	10	10	10
Agar +Methyl cellulose	10	10	10	10

제 3 절 3차년도 연구개발 내용

1. 연구개발의 목표 및 연구개발 수행내용

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
3차 년도 (2014)	캡슐 함유 식 품의 특성 및 차별성 구명	캡슐 함유 식품 제조 및 차별 성 분석	<ul style="list-style-type: none"> ◦민트유 캡슐 함유 검 및 쇠고기 추출 물 캡슐 함유 스프 첨가물 제조 ◦캡슐 제품과 캡슐을 포함하지 않은 제 품의 조직감 및 관능에서의 차별성 분석
		식품 제조 및 저장 중 캡슐 안 정성 분석	<ul style="list-style-type: none"> ◦식품 제조과정 및 저장 중 함유된 캡 슐의 integrity를 공정 및 시간에 따라 관찰하여 안정성을 분석 ◦식품제조와 저장에 최적의 효과를 줄 수 있도록 캡슐특성 보정
		캡슐 제조공정 pilot scale-up	<ul style="list-style-type: none"> ◦Pilot-scale로 output을 증가하였을 때 발생되는 기계적 및 공정상 문제점을 분석하고 이를 해결하여 제조공정을 scale-up

2. 연구범위 및 연구수행 방법

연 구 범 위 (3차년도)	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
캡슐 함유 식품 제 조 및 차별성 분석	<ul style="list-style-type: none"> ▪모델 액상 조미성분 함유 Ca-alginate 매크로캡슐 제조 ▪Ca-alginate 매크로캡슐 함유 식 품 제조 ▪매크로캡슐 함유 식품의 조직감 및 관능 분석 	<ul style="list-style-type: none"> ◦Alginate 농도를 달리하며 페퍼민트유 를 함유한 Ca-alginate 매크로캡슐을 전기공압출로 형성 ◦매크로캡슐의 entrapment efficiency, mean diameter, shell thickness, moisture content, shrinkage ratio, 및 eccentricity 측정 ◦매크로캡슐 및 캡슐이 함유된 츄잉검 의 조직감(breaking energy, penetration energy, hardness) 측정 및 7점 평점법을 이용한 관능 평가
식품 제조 및 저장 중 캡슐 안정성 분 석	<ul style="list-style-type: none"> ▪매크로캡슐 저장 중 코어 방출 을 측정하여 캡슐 안정성 평가 	<ul style="list-style-type: none"> ◦저장 중 매크로캡슐의 형태는 큰 변화 가 없으므로 저장 중 방출되는 페퍼민 트유의 양을 측정하여 캡슐의 저장 안 정성 측정 ◦Alginate 농도를 달리하여 캡슐을 제조 하고 35일간 25 °C, 0% 상대습도 조건 에서 저장 안정성 테스트
캡슐 제조공정 pilot scale-up	<ul style="list-style-type: none"> ▪매크로캡슐 자동 대량생산을 위 한 공정 개선 	<ul style="list-style-type: none"> ◦대용량 자동 디스펜서 장착, 노즐 구조 변경, 대용량 자동 액송탱크 및 자동 컨트롤러를 이용한 pilot scale 공정 설계 및 테스트.

3. 연구결과

가. 페퍼민트유 함유 Ca-alginate 매크로캡슐을 포함한 추잉껌의 조직감 및 관능평가

- 페퍼민트 정유 10%를 함유한 올리브유를 코어로 한 Ca-alginate 매크로캡슐을 전기공압출성형으로 제조하였다. 셸 용액은 1.0, 1.5 혹은 2.0%의 alginate 용액을 사용하였으며 공기를 제거하기 위하여 상온에서 10분간 초음파처리를 한 후 사용하였다.
- 전기공압출로 형성된 액적을 5% CaCl₂용액으로 낙하시킨 후 30분간 교반하여 매크로캡슐을 제조하였다. 전압은 6 kV이었으며, 코어와 셸의 유량은 각각 400과 1700 $\mu\text{l}/\text{min}$, 노즐과 CaCl₂용액 표면과의 간격은 10 cm로 유지하였다. 제조된 wet 매크로캡슐은 감압여과를 하여 수거 하였으며, 표면에 잔류하고 있는 올리브유를 완전히 제거하기 위하여 70% 에탄올 수용액으로 세척한 후 증류수로 다시 세척하였다. 최종적으로 회수한 매크로캡슐은 항온습기(25°C, RH 50%)에서 20시간 동안 표면에 잔류하는 수분을 제거한 후 실험에 사용하였다. 매크로캡슐의 수분함량은 AOAC (2000) 방법을 이용하여 측정하였다.
- 페퍼민트 정유의 entrapment efficiency 분석
 - Entrapment efficiency는 Kim et al. (2008)의 방법을 응용하여 분석하였다. 약 1.0 g의 매크로캡슐을 각각 5 ml의 0.1 M PBS (phosphate buffered saline, pH 7.4)와 hexane이 혼합된 40 ml의 gas tight vial에 넣고 60°C 수욕조에서 20분 동안 가열하여 매크로캡슐을 완전히 분해하였다. PBS/hexane 혼합시약에서 hexane과 PBS층을 완전히 분리하기 위하여 2시간 동안 4°C 냉장실에 보관하였다. Hexane 층에서의 페퍼민트 정유성분의 분석은 가스크로마토그래피(7890A GC system, Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, USA)를 사용하였으며 사용한 검출기는 mass selective detector (5975C inert MSD)를 이었다. 칼럼은 HP-5MS (5%phenyl methyl silox, 30 m \times ID 250 μm \times 0.25 μm thickness, Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, USA)을 사용하였으며, 이동상으로 사용한 helium gas는 split mode (split ratio = 5:1)에서 0.5 ml/min의 유속으로 흘려주었다. 주입구 온도는 280°C 이었으며 오븐온도는 70°C 에서 5 분간 유지하고 10°C/min 속도로 285°C 까지 증가시킨 후 3 분간 유지하였다.
 - 페퍼민트 정유의 주요성분은 menthol (Mw 156.15, RT 14.530 min)과 *cis*-menthone (Mw 154.14, RT 14.25 min) 및 *trans*-menthone (Mw 154.14, RT 14.40 min)으로 분석되었으므로(Figure 25) 이를 정량분석에 사용하였으며, 검량선 작성을 위하여 페퍼민트 정유를 용해한 올리브유 1 g 을 PBS/hexane (1:1, v/v) 혼합시약에 넣은 후 hexane 층을 취하여 분석하였다(Koo et al., 2014).
 - Entrapment efficiency는 menthone과 menthol 함량을 합하여 다음과 같은 계산식을 이용하여 측정하였다.

$$\text{Encapsulation efficiency} = \frac{M_a}{M_{th}} \times 100$$

M_a는 매크로캡슐에 함유된 페퍼민트 정유(menthone, menthol)의 실험적 분석결과이며, M_{th}는 매크로캡슐 제조공정에 투입된 페퍼민트 정유의 총량이다.

- 매크로캡슐의 형태분석

매크로캡슐의 diameter, shell thickness, eccentricity는 디지털 카메라(DFC 290, Leica

Microsystem Inc., Wetzlar, Germany)가 장착된 stereomicroscope (Leica MZ 12.5, Leica Microsystem Inc., Wetzlar, Germany)를 사용하여 측정 하였다. 매크로캡슐의 diameter는 장축과 단축을 측정 하였으며, shell thickness는 매크로캡슐 4개 이상의 지점에 두께를 측정 하였다. Eccentricity는 매크로캡슐의 장축과 단축의 비율로서 나타내었다. 결과 값은 40개 이상의 캡슐을 측정하여 평균값으로 표시하였다.

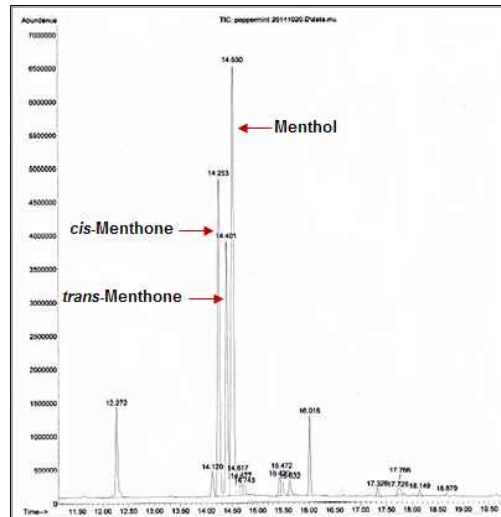


Figure 25. 식품용 페퍼민트 정유의 GC-MS 크로마토그램

- 셸용액의 alginate 농도를 1.0-2.0%로 증가시킴에 따라 매크로캡슐의 diameter, shell thickness, 수분함량, 및 entrapment efficiency는 각각 1.52-1.60 mm, 8.3-14.9 μ m, 48.6-54.9%, 및 74-91%로 증가하였다(Table 10).
- 제조된 매크로캡슐은 표면이 매끈한 구형으로서 alginate 농도에 상관없이 eccentricity값은 1.0으로 측정되었다(Table 10).

Table 10. 페퍼민트유를 함유한 Ca-alginate 매크로캡슐의 entrapment efficiency, mean diameter, shell thickness, moisture content, shrinkage ratio, 및 eccentricity

Alginate 농도(%)	1.0	1.5	2.0
Entrapment efficiency (%)	74.03 ± 7.21	77.70 ± 1.45	90.61 ± 5.29
Diameter (mm)	1.52 ± 0.05	1.54 ± 0.06	1.60 ± 0.03
Shell thickness (um)	8.26 ± 0.01	13.71 ± 0.01	14.88 ± 0.12
Moisture content (%)	48.61 ± 5.21	53.99 ± 3.97	54.92 ± 8.56
Shrinkage ratio (%)	19.93 ± 0.11	24.24 ± 0.08	24.48 ± 0.09
Eccentricity	0.99 ± 0.06	1.00 ± 0.04	1.02 ± 0.05

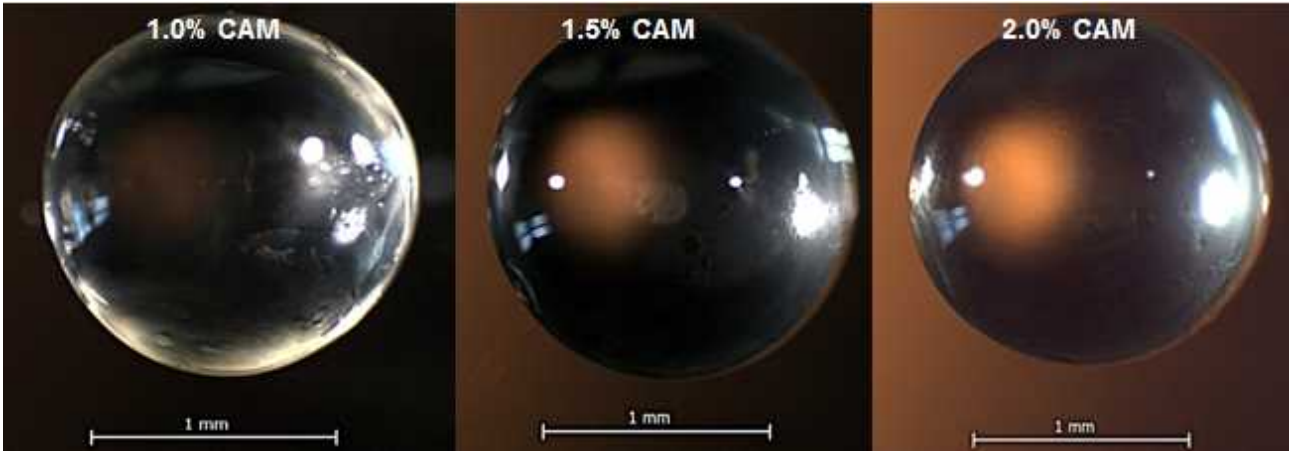


Figure 26. 페퍼민트유를 함유한 Ca-alginate 매크로캡슐의 형태

◦ 조직감 분석

- 매크로캡슐, 츄잉검, 및 매크로캡슐 함유 츄잉검의 hardness, breaking energy와 penetration energy는 texture analyzer (TA.XT plus, Stable Micro System Ltd., Godalming, UK)를 사용하여 측정 하였다. 매크로캡슐 함유 츄잉검 준비과정은 Figure 27에 나타내었다. 매크로캡슐의 경우 flat round probe (10 mm diameter)를 사용하여 0.1 mm/s의 속도로 매크로캡슐 diameter의 80%를 이동시키면서 측정하였으며, 높이 5 mm의 츄잉검과 매크로캡슐 함유 츄잉검은 flat round probe (5 mm diameter)를 사용하여 1.0 mm/s의 속도로 80%를 이동하면서 측정 하였다. Alginate 농도 1.0, 1.5, 2.0%로 제조된 매크로캡슐 각 20개를 츄잉검 1개의 내부에 삽입하여 세 종류의 매크로캡슐 함유 츄잉검을 준비하였으며, 이때 매크로캡슐과 츄잉검의 평균부피비율은 각각 1:24, 1:20, 1:18로 계산되었다. Hardness는 probe를 샘플의 80%를 이동 시켰을 때 완전히 파괴되는 지점에서 측정 하였으며, breaking energy와 penetration energy는 force와 probe가 이동한 거리의 면적을 계산하여 total energy로 표시 하였다. 결과는 40개 이상을 측정한 후 평균값으로 나타내었다.
- 사용한 alginate 농도가 1.0-2.0%로 증가하였을 때 매크로캡슐의 breaking energy와 hardness 역시 0.25-0.92 mJ 및 1.39-3.90 N으로 증가하였는데(Figure 28, Table 11), 이는 당연히 alginate 농도가 높아지면서 더 단단한 쉘을 만들 수 있기 때문이다.



Figure 27. Ca-alginate 매크로캡슐 함유 츄잉검

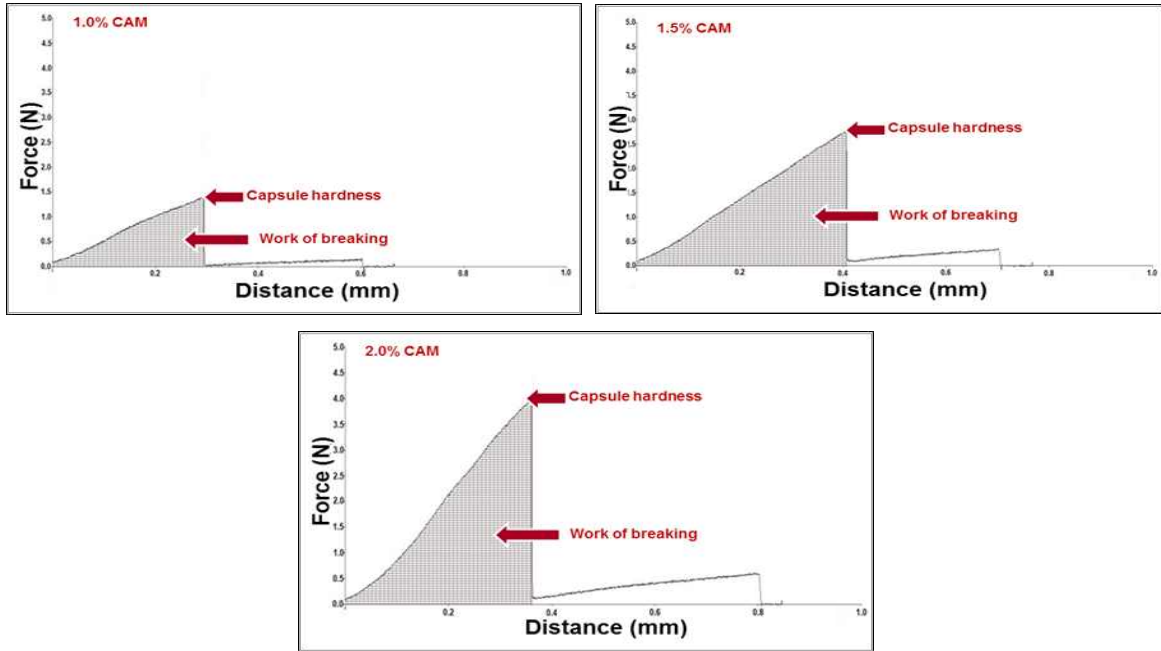


Figure 28. 페퍼민트유를 함유한 Ca-alginate 매크로캡슐 (0.1, 1.0, 2.0% alginate)의 조직감 (force-distance) 프로파일

Table 11. 페퍼민트유를 함유한 Ca-alginate 매크로캡슐의 breaking energy와 hardness

Alginate 농도(%)	Breaking energy (mJ)	Hardness(N)
1.0	0.25±0.10	1.39±0.28
1.5	0.49±0.26	2.48±0.76
2.0	0.92±0.39	3.90±1.26

- 사용한 alginate 농도가 1.0-2.0%로 증가하였을 때 매크로캡슐을 함유한 츄잉검의 penetration energy와 hardness는 각각 38.9-49.4 mJ 및 15.2-18.6 N으로 증가하였다(Table 12). 매크로캡슐을 함유하지 않은 츄잉검의 경우 예상한 대로 두 값이 각각 37.2 mJ 및 14.0 N으로서 매크로캡슐을 함유한 츄잉검보다 낮은 값을 나타내었다.

Table 12. 츄잉검 및 Ca-alginate 매크로캡슐을 함유한 츄잉검의 penetration energy와 hardness

Samples	Penetration energy (mJ)	Hardness (N)
1.0% CAM-chewing gum ^a	38.89±4.59	15.18±2.14
1.5% CAM-chewing gum	41.78±3.94	15.82±3.19
2.0% CAM-chewing gum	49.40±5.24	18.60±3.18
Chewing gum ^b	37.21±8.69	13.96±2.56

- Figure 29는 두 종류 츠잉검의 force-distance 프로파일을 보여주는데, 츠잉검의 경우는 penetration이 발생할 때까지 force가 부드럽게 증가하나 매크로캡슐을 함유한 츠잉검의 경우는 force가 증가 후 감소하였다가 다시 증가하여 penetration에 이르게 되는데 이는 츠잉검에 삽입된 매크로캡슐의 효과에 의한 것으로 판단된다.

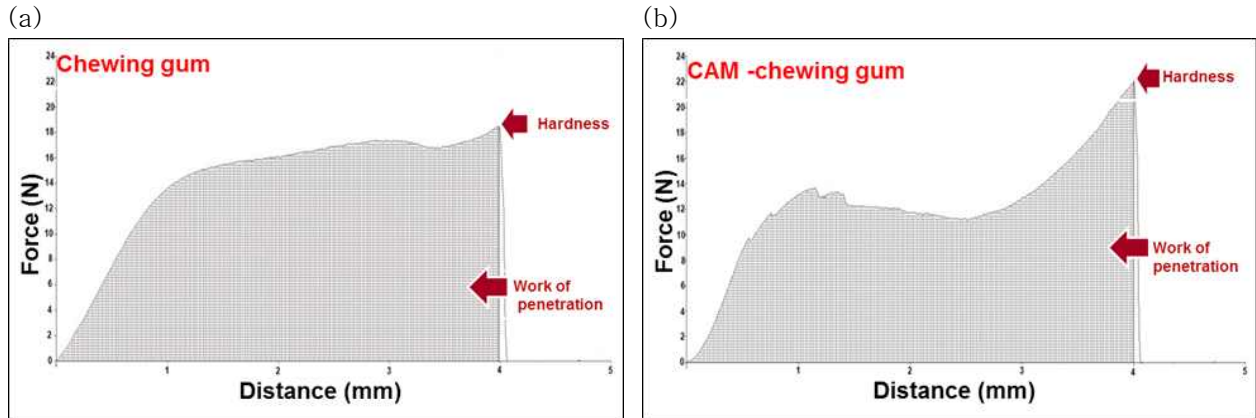


Figure 29. 츠잉검(a) 및 Ca-alginate 매크로캡슐을 함유한 츠잉검(b)의 조직감(force-distance) 프로파일

○ 관능평가

- 츠잉검 및 매크로캡슐 함유 츠잉검에 대한 관능평가는 smell, flavor, hardness, hardness acceptance, overall acceptance에 대하여 7점 평점법 (Lisak et al., 2012)을 이용하여 평가하였으며, 실험에 참가한 패널은 각각의 샘플을 1-4회씩 씹은 후 평가하였다 (Pascua, 2013). 관능평가에는 총 20명의 패널이 참가 하였으며 사전에 측정항목과 측정방법에 대하여 충분한 교육을 실시한 후 실험에 참가하였다.

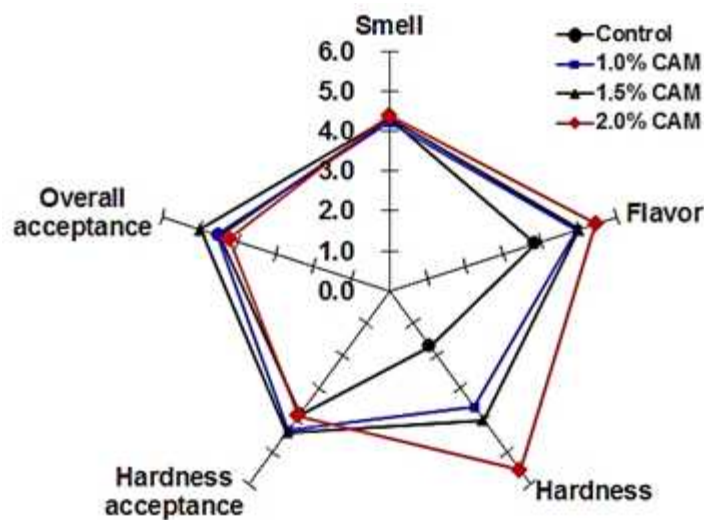


Figure 30. 츠잉검(control) 및 Ca-alginate 매크로캡슐을 함유한 츠잉검의 관능평가

- Smell의 경우 모든 샘플이 비슷한 결과를 나타내었으나 flavor의 경우 페퍼민트유 매크로캡슐을 함유한 추잉검이 캡슐을 함유하지 않은 콘트롤 추잉검에 비하여 월등히 좋았다 (Figure 30). Alginate 2.0%로 제조된 매크로캡슐 함유 추잉검은 flavor에서 가장 높은 값을 나타내었으나 hardness가 너무 높아 hardness acceptance와 overall acceptance가 다른 샘플에 비해 좋지 않았다. Hardness acceptance와 overall acceptance가 가장 높은 샘플은 1.5% alginate 매크로캡슐 함유 추잉검으로 나타났는데, 이는 약간의 씹힘성이 오히려 acceptance를 증가시켰기 때문으로 판단된다.

나. 페퍼민트유 함유 Ca-alginate 매크로캡슐의 저장 안정성 분석

- 매크로캡슐의 저장 안정성측정은 약 0.5 g의 매크로캡슐을 silicone septum이 장착된 40 ml gas tight vial에 넣고 질소가스를 충전 한 후 25 °C에서 35일간 저장하면서 매크로캡슐에서 방출된 오일의 무게를 측정하면서 확인하였다.

$$\text{Cumulative release of oil} = \frac{W_0 - W_t}{W_0} \times 100$$

W_0 는 초기 매크로캡슐의 무게이며, W_t 는 t 시간 이후의 무게이다.

- Alginate 1.0%로 제조된 매크로캡슐의 경우 저장 기간 25일에 4.8%, 35일에는 17.5%의 코어 용액이 방출 되었으나, 1.5 및 2.0% alginate로 제조된 매크로캡슐은 각각 4.8, 3.8%의 코어 용액이 방출되어 저장 안정성이 월등히 향상된 것을 확인하였다(Figure 31).

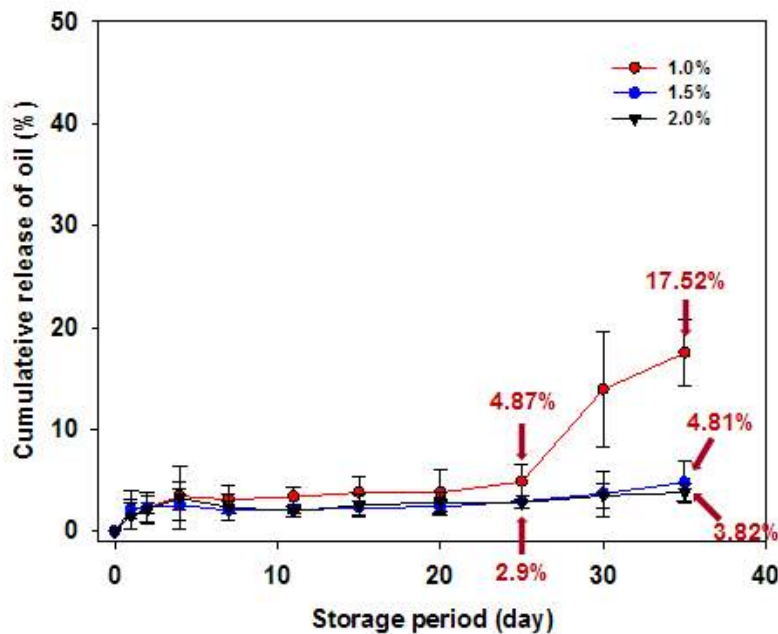


Figure 31. 25 °C, 0% 상대습도 조건에서 Ca-alginate 매크로캡슐의 저장 안정성

다. 대량생산을 위한 pilot scale 공정 설계

- 표준화된 매크로캡슐을 대량생산하기 위한 설비를 구축하기 위해서는 노즐, 디스펜서, 액송 탱크, 자동 컨트롤러 등에 대한 설계변경이 필요한 것으로 분석되었다.
- 따라서 우선 기존의 50 ml 시린지 펌프를 (주)무사시 엔지니어링의 스크류 타입 대용량(340

ml) 자동 디스펜서로 교체하고 매크로캡슐을 제조하며 호환성을 확인하였다(Figure 32). 기존 기기에 장착된 스크류 타입의 시린지 펌프는 용량이 작은 것은 물론 장시간 운용시 스크류가 마모되어 대량생산에 적합하지 않았는데, 위 자동 디스펜서는 실리콘 공정 등에 이용되는 기기로서 비록 스크류 타입이긴 하지만 이러한 마모의 문제점이 없는 것으로 알려져 있다.

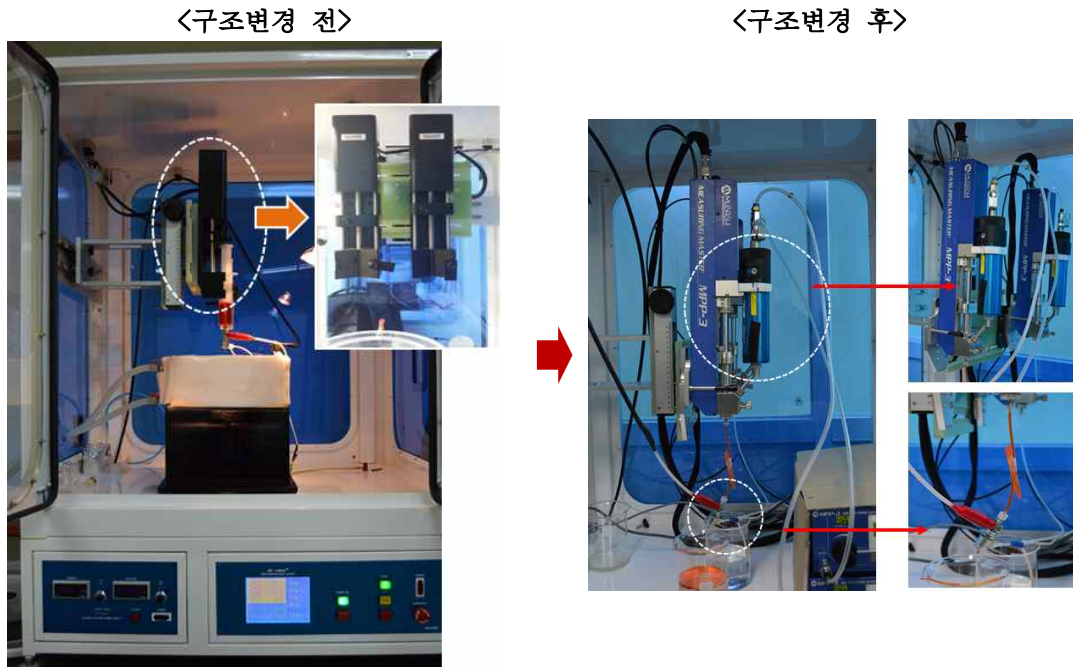


Figure 32. 매크로캡슐 대량생산을 위한 대용량 자동 디스펜서 설치

- 그러나 캡슐 제조 중 자동 디스펜서의 금속재질로 인하여 노즐에 전압을 설정 할 경우 전류가 흐르는 문제점이 발생하였으므로 Figure 33에 나타난 것과 같이 노즐 외부를 절연체 코팅하고 전극 위치를 변경하여 누전 문제를 해결하였다.
- 또한 자동화 방식으로 매크로캡슐을 대량생산하기 위하여 공기압방식 대용량 액송탱크(Figure 34)를 위에 설명된 자동 디스펜서에 연결하여 자동 디스펜서의 코어 및 셸 유체가 소진되면 대용량 탱크의 유체가 자동으로 디스펜서로 운반될 수 있도록 설비하였다. 탱크는 스테인리스 재질(SUS 303)의 내압용기로 제작된 10 L 크기를 사용하였으며 0.5 Mpa의 압력으로 공압 액송하는 방식을 사용하였고 믹서기와 온도조절 장치를 추가설비하여 혼합과 온도 조절이 가능하도록 설비하여 테스트하였다.
- 전기공압출 공정은 다양한 범위의 매크로캡슐을 제조할 수 있으나 세밀한 조정이 필요하여 아주 대량으로 캡슐을 제조하기엔 위험이 따르는데, 이러한 점을 고려한다면 본 연구에서 테스트된 방법으로 scale-up된 pilot scale 전기공압출 공정(Figure 35)은 아주 대량은 아니나 상업적으로 사용하기에 충분한 양의 매크로캡슐 제조에 적절하다.

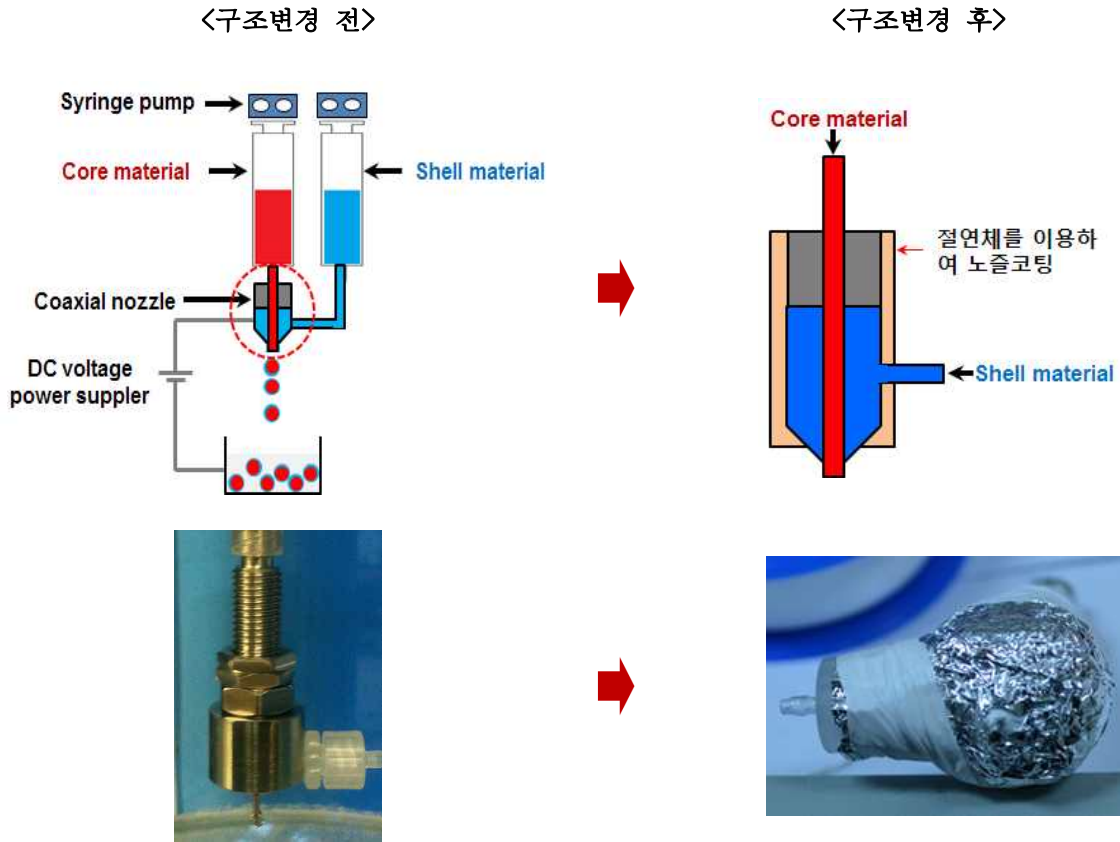


Figure 33. 전기공압출 공정을 위한 동축노즐 구조 변경

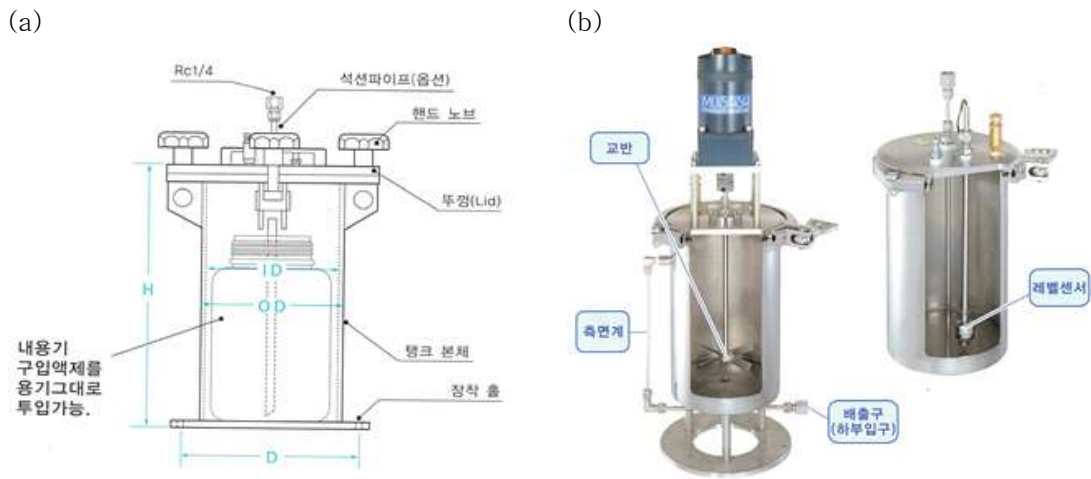


Figure 34. 자동 대용량(10 L) 액송탱크의 설계도(a) 및 구성도(b) ((주) 무사시 엔지니어링)

❖ 자동 디스펜서 (340 mL)

Model : MPP 3

Company : Musashi engineering Co., Ltd.



❖ 자동 대용량 액송 탱크 (10 L)

Model : MPP 3

Company : Musashi engineering Co., Ltd.

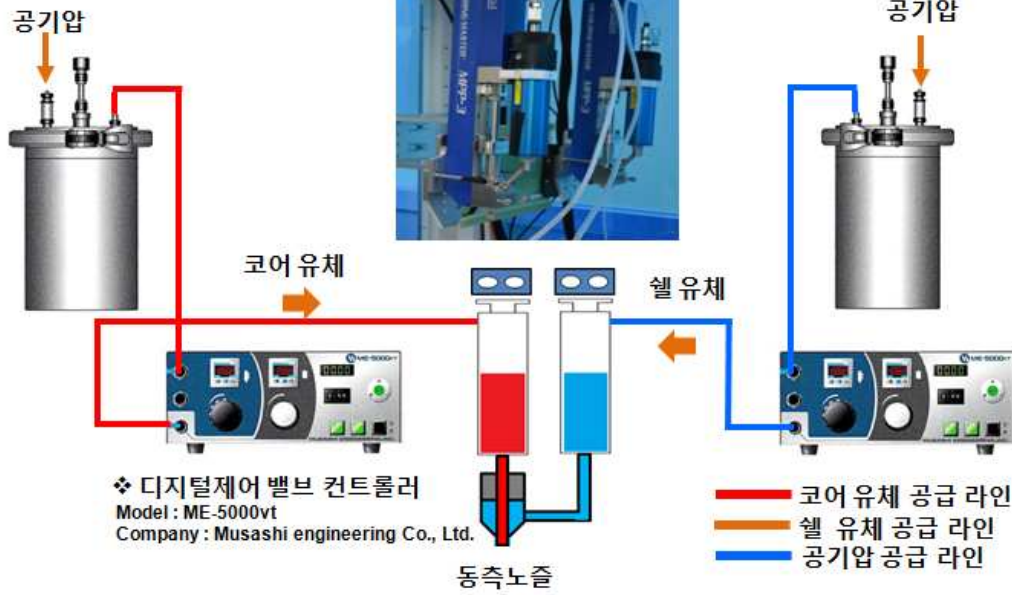


Figure 35. 대량생산을 위한 pilot scale 전기공압출 공정 설계도

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 평가의 착안점에 의한 목표 달성도

구분	연도	연구개발의 목표	달성도	평가의 착안점 및 기준
1차 년도	2012	전기공압출성형에 의한 코어-셸 캡슐 형성 기반조건 확립	100%	<ul style="list-style-type: none"> ○ 바이오폴리머의 타입/농도/비율과 캡슐 특성의 상관관계 분석 자료 확보-1건 이상 ○ 셸 네트워크 형성 방법과 캡슐 특성의 상관관계 분석 자료 확보-1건 이상 ○ 유속/유속비율/전압/노즐크기/셸형성온도/건조조건과 캡슐 특성의 상관관계 분석 자료-1건 이상
2차 년도	2013	액상 조미성분 인캡슐레이션 공정 최적화	100%	<ul style="list-style-type: none"> ○ 민트유 인캡슐레이션 공정 흐름도(PFD) 확보-1건 이상 ○ 최적 인캡슐레이션 조건 확보-1건 이상 ○ 저장 중 캡슐의 안정성 분석 자료 확보-1건 이상 ○ 열수처리에 의한 코어 방출유발 특성 분석 자료 확보-1건 이상¹⁾
3차 년도	2014	캡슐 함유 식품의 특성 및 차별성 구명	100%	<ul style="list-style-type: none"> ○ 캡슐 함유 식품 제조²⁾ 및 조직감과 관능분석자료 확보-1건 이상 ○ 식품 제조 및 저장 중 캡슐 안정화 특성 자료 확보-1건 이상 ○ 매크로캡슐 자동 대량생산을 위한 공정 개선도 확보-1건 이상³⁾
최종 평가		전기공압출성형에 의한 조미성분 인캡슐레이션 산업화 기반기술 확보	100%	<ul style="list-style-type: none"> ○ 전기공압출성형에 의한 액상 조미성분 인캡슐레이션 최적 공정도 확립 유무-1건 이상

- 1) 당초 계획에는 열수처리와 함께 압력에 의한 효과도 테스트 할 예정이었으나 압력은 보통 저작시 발생하므로 매크로캡슐의 조직감(breaking energy 및 hardness)을 평가하여 대체하였음.
- 2) 당초 계획에는 민트유 함유 매크로캡슐을 포함한 검류와 함께 쇠고기 추출물 함유 캡슐을 포함한 스프류도 제조 할 계획이었으나 시판용 쇠고기 추출물은 유성이 없고 수성만 있어 유성에 특화된 본 매크로캡슐에 포집이 불가능하였음. 따라서 올리브유를 모델 액상 조미성분으로 사용하여 캡슐에 포집하고 열수처리에 의한 코어 방출유발 특성을 분석하여 식품적용에 필요한 데이터를 확보하였음.
- 3) 본 연구에서는 다른 산업에서 상용화되어 있는 기기 부속과 장치들의 일부를 가져와 전기공압출 자동 대량생산을 위한 공정을 디자인하고 테스트 하였는데, 테스트는 성공적으로 완료하였으나 제한된 연구비로 연구팀 자체에서 파일럿 공정을 구축하는 것은 불가능하였고, 따라서 기계부속과 공정 개발에 집중하기 위한 후속 연구과제가 구성되는 것이 바람직하다 판단된다.

제 2 절 관련분야 기술 기여도

- 본 연구에서는 전기공압출성형 기술을 이용한 식품 유용성분 인캡슐레이션 기술의 상용화에 필요한 기반기술을 확보하였다.
- 본 연구에서 개발된 식품 하이드로 콜로이드 코어-셸 매크로캡슐은 풍미의 손실을 최소화 하며 액상 조미성분을 식품에 첨가할 수 있으며, 포집된 풍미를 섭취 및 조리행위 중 방출 할 수 있도록 해주어 풍미의 효과를 극대화 할 수 있다.
- 소비자의 기호에 큰 영향을 받지 않는 의약품과는 달리 식품 분야에서는 구매욕을 자극할 수 있는 시각적 효과가 매우 중요하다. 따라서 식품 분야에서는 마이크로 혹은 나노 크기의 캡슐보다는 본 연구에서 개발된 것과 같은 매크로 크기의 캡슐이 훨씬 매력적이다.
- 개발된 매크로캡슐을 이용하여 소비자 기호에 절대적 영향을 미치는 액상 조미식품을 보다 용이하고 효과적으로 즉석(섭취, 조리, 편의) 식품, 기능성 식품, 일반가공 식품 등의 고형식품에 첨가할 수 있으므로 소비자 요구에 부응하는 새로운 형태의 고품질 식품의 디자인과 개발이 가능하다.
- 개발된 매크로캡슐은 기능성 음료(요구르트 등), 치약, 화장품, 의약품, 농어업제품 등의 분야에 다양하게 사용될 수 있으므로 관련분야의 파급효과 역시 기대된다.
- 현재 유럽, 미국, 캐나다, 이스라엘, 일본 등에는 캡슐만을 전문적으로 생산하는 다수의 기업들이 활동하고 있으나 국내에는 이러한 기업이 전무한 실정이다. 본 연구에서 확보된 기술로 국외의 캡슐 전문기업과 경쟁 가능한 전문 산업체를 국내 최초로 출범시키는 것이 가능하다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

당초목표	연구개발 성과 및 활용 계획
① 특허 출원 2/등록 1	특허 출원 1/등록 1 - 가열 용해성 매크로 캡슐의 제조방법에 대한 특허 1건 출원 및 등록 완료. - 전기공압출성형 공정 개선에 대한 특허를 1건 더 계획하였으나 이는 공개되는 것 보다 노하우로 보호되는 것이 바람직하다 여겨져 출원하지 않음.
② 시제품 2/완제품 1	시제품 2/완제품 1 - Alginate-base와 agar-base 쉘로 구성된 2가지 형태의 매크로캡슐 시제품이 개발됨. - 액상 조미성분인 민트유를 함유한 alginate-base 매크로캡슐의 경우 최적화가 완료되어 바로 식품에 응용가능한 완제품임.
③ 상표등록 1	상표등록 0 - Pilot scale 설비구축이 완료되어 대량생산이 가능해지는 시점에 상표등록 예정.
④ 논문 SCI 3	논문 SCI 2 - SCI 논문 2편 게재 완료. - 현재 1편의 SCI논문과 1편의 국내논문 투고 준비 중.
⑤ 기술이전 1	기술이전 0 - Pilot scale 설비를 위한 공정 디자인 및 테스트 완료. - 현재 10,000,000원의 기술료(예상)로 2015년 상반기 내 기술이전을 계획하고 있음.
⑥ 상품화 3	상품화 (시제품 2/완제품 1) ⁴⁾ - Alginate-base와 agar-base 쉘로 구성된 2가지 형태의 매크로캡슐 시제품이 개발됨. - 액상 조미성분인 민트유를 함유한 alginate-base 매크로캡슐의 경우 최적화가 완료되어 바로 식품에 응용가능한 완제품임. - 상품 판매는 대량생산 가능한 pilot scale 설비구축 이후로 예정.
⑦ 교육지도 15	교육지도 10 - 연구과제 진행 중 10차례의 공식 교육지도를 실시함. - 참여기업 실무자 1명이 1여 년 간 연구실에 상주하며 지속적 의견 교환과 협력 연구개발을 수행함.

4) 본 연구에서는 전기공압출성형 인캡슐레이션 기술의 상용화에 필요한 기반기술을 확보하여 참여기업에 제공하였고, 기업은 대량생산을 위한 파일럿 제조공정을 위한 투자를 2015-2016년에 걸쳐 진행할 예정임. 기업은 파일럿 설비가 구축되는 시점까지 현재 설비된 lab-scale의 소규모 장치로 매크로캡슐을 생산하여, 현재 국외에서 시도되고 있는 다양한 형태의 캡슐 함유 시제품을 형성하여 홍보와 시장반응 분석에 주력할 예정임. 한편으로는 새로운 형태, 가치, 수요층을 지닌 식품 디자인 및 신시장을 창출하기 위하여, 매크로캡슐을 기반으로 한 분자미식(molecular gastronomy) 기술에 대한 국내 수요 및 시장창출 가능성을 2015-2016년에 걸쳐 분석할 예정임. 기업은 시장반응에 따라 기능성 식품캡슐 자체를 신제품군으로 하여 새로운 시장을 창출해 갈 계획을 갖고 있으며, 더 나아가 개발된 캡슐과 기술을 기능성 음료, 치약, 화장품, 의약품, 농업제품 등의 분야로 확장하여 적용하는 전략을 바탕으로 국외 기업과 경쟁 가능한 전문 캡슐기업체를 지향할 계획임.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 1 절 해외기술 및 시장 동향

- 일본 도쿄에서 개최된 박람회인 Foodex Japan 2013 (2013.03.05~03.08) 에서는 다양한 바이오 폴리머를 이용하여 제조한 매크로캡슐 제품이 시판되고 있었는데 주로 alginate, starch 등을 사용하고 있었으며, 특히 식품에서의 디자인, 토폭, 프로바이오틱스 유산균 캡슐화 등의 목적으로 제조되고 있었다.
- 첫 번째 큰 제품군은 다양한 색소가 첨가된 1 cm 이하 크기의 alginate-base 매크로캡슐 제품으로서, 건조되지 않은 상태로 저온저장으로 유통되는 경우가 많으며 주로 샐러드, 아이스크림, 간식과 같은 식품을 디자인하기 위한 첨가물로서 사용되고 있다.
- 두 번째 큰 제품군은 민트, 레몬, 복숭아 등 다양한 향을 포집한 코어-셸 형태의 매크로캡슐로서, 구강 청결제 (breath care)로 판매되고 있다.
- 현재 시판되고 있는 국내외의 대표적 캡슐제품을 각각 Table 13과 14에 나타내었는데, 국내 제품은 셀바이오틱 제품을 중심으로 약 30,000-60,000원 사이에서, 해외 제품은 약 10-40달러 사이에서 제품가격이 형성되어 있다.

Table 13. 국내 판매 캡슐 제품


제품명	가격(원)	제조사	판매처
 듀오락 골드 (프로바이오틱스)	₩60,000	Cell biotech co. ltd.	http://www.duolac.co.kr/product/product_all.asp
 플레인 모닝 (프로바이오틱스)	₩30,000	Cell biotech co. ltd.	http://www.duolac.co.kr/product/product_all.asp
 듀오락 베이비 세트 (프로바이오틱스)	₩60,000	Cell biotech co. ltd.	http://www.duolac.co.kr/product/product_all.asp
 듀오락 케어	₩50,000	Cell biotech co. ltd.	http://www.duolac.co.kr/product/product_all.asp
 캡슐 앰플 믹스 콜렉션 (고농축 에센셜오일 스킨 케어 제품)	₩45,000	스피어테크	http://www.gmarket.co.kr/Item/DetailView/Item.aspx?goodscode=581904408

Table 14. 해외 판매 캡슐 제품

	제품명	가격(달러)	제조사	판매처
	Reese Large Pearl Tapioca	\$23.99	CSH Foods Inc.	Amazon.com
	Rainbow Tapioca Pearls Boba Bubble Tea	\$11.45	New Dream Factory	Amazon.com
	Breath care strong mint	\$9.24	Kobayashi Seiyaku	Amazon.com
	Breath care	\$41.08	Kobayashi Seiyaku	Amazon.com
	Chewing breath care	\$10.61	Kobayashi Seiyaku	Amazon.com
	Chewable brath care cool mint	\$10.31	Kobayashi Seiyaku	Amazon.com

제 7 장 연구시설·장비 현황

해당사항 없음.

제 8 장 참고문헌

- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD, USA.
- Kim WT, Chung H, Shin IS, Yam KL, Chung D. 2008. Characterization of calcium alginate and chitosan-treated calcium alginate gel beads entrapping allyl isothiocyanate. *Carbohydrate Polymers*. 71:566-57.
- Koo SY, Cha KH, Song DG, Chung D, Pan CH. 2014. Microencapsulation of peppermint oil in an alginate-pectin matrix using a coaxial electrospray system. *International Journal of Food Science and Technology*. 49:733-739.
- Lakkis JM (ed.). 2007. Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems. Blackwell Publishing. IA, USA.
- Lisak K, Lenc M, Jeličić I, Božanić R. 2012. Sensory evaluation of the strawberry flavored yoghurt with stevia and sucrose addition. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*. 7:39-43.
- MarketsandMarkets. 2009. Global Food Encapsulation Market (2009-2014).
- Pascua Y, Koc H, Foegeding EA. 2013. Food structure: Roles of mechanical properties and oral processing in determining sensory texture of soft materials. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 18:324-333.
- Phawaphuthanon N, Behnam S, Koo SY, Pan CH, Chung D. 2014. Characterization of core-shell calcium-alginate macrocapsules fabricated by electro-coextrusion. *International Journal of Biological Macromolecules*. 65:267-274.
- Quan J, Kim SM, Pan CH, Chung D. 2013. Characterization of fucoxanthin-loaded microspheres composed of cetyl palmitate-based solid lipid core and fish gelatin-gum arabic coacervate shell. *Food Research International*. 50:31-37.
- RTS Resource, Ltd. 2011. Opportunities for seasonings, herbs and spices (www.rts-resource.com).
- Simth J, Charter E (ed.). 2010. Functional Food Product Development. Blackwell Publishing. IA, USA.
- 한국보건산업진흥원. 2010. 식품산업분석보고서.