

해양추출 다당류를 이용한 인조어란 캡슐의 제조 및 응용

이종석 · 김성구[†]

부산수산대학교 수산과학대학 생물공학과

Preparation and Applications of Synthetic Fish Egg Capsules from Marine Polysaccharides

Jong-Seok Lee and Sung-Koo Kim[†]

Department of Biotechnology and Bioengineering National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608-737, Korea

Abstract

The biopolymer membrane could be formed using marine polysaccharides. Chiotsan and alginate were used for the formation of capsule membrane to mimic the fish eggs such as flying fish eggs and salmon eggs. The size of capsules ranging 1 to 5mm was prepared and the mechanical tests were performed to determine the mechanical similarities to natural fish eggs. The similar mechanical pattern between the synthetic capsules and natural eggs could be found. The controlling parameters for the strength of capsules were pH of the chitosan solution. This encapsulation technique can be broadly applied to medical, engineering as well as food areas.

Key words : chitosan, capsule, fish egg

서 론

현재 국외에서는 캡슐화에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 의약품, 약물전달기능(controlled release), 인공장기 등에 이용되고 있다¹⁻³⁾. 다당류를 이용하여 캡슐을 형성할 수 있는데 그 기작으로 정전기적인 반응(electrostatic interaction)을 이용하여 생체막(biomembrane)을 형성할 수 있다^{3,4)}. 이러한 생체막의 경우 현재까지 미생물⁵⁾ 동물세포⁶⁻¹⁴⁾ 및 간세포 이식^{15,16)} 등의 도구로 사용되어져 왔다. 이러한 생물학적 응용이외에도 식품으로의 이용가능성

을 지니는데 이러한 경우 날치알, 혹은 철갑상어알(carvier)의 대용품으로 이용할 수 있다. 최근 자원고갈 및 어류 수확감소에 따른 어란 가공식품 즉 날치알, 철갑상어알 등의 생산도 감소하고 있는 추세이다¹⁾. 특히 이러한 어란 가공식품의 경우 그 공급선에 따라 품질의 차이가 심하므로 균일한 제품의 출하가 힘들며 또 그 가공 특성상 냉장 혹은 냉동 등의 저장에 많은 노력이 든다. 이점에 착안하여 어류에서 채취하는 알이 아닌 생체고분자 특히 해양에서 채취되는 해양 다당류를 이용하여 생체막을 형성하고 생체막으로 어란 형태의 성상을 지닌 캡슐을 형성하여 캡슐의 물리

[†] Corresponding author

적, 기계적 성질을 날치알이나, 목표로 하는 어란의 조직감과 유사한 캡슐을 제조할 수 있다. 생체막 형성에 영향을 주는 인자를 최적화 하여 인조식품을 제조할 수 있도록 한다. 이 이후의 가공 즉 맛이나 색은 적절한 조미료나 식용 색소를 처리하여 그 맛을 낼 수 있게 되는 것이다.

캡슐화 방법을 사용하여 어란 대체식품을 제조할 경우 어획고 혹은 자원고갈에 영향을 받지 않고 항상 수요에 따라 어란 식품을 공급할 수 있으며, 아울러 현재 거의 모든 어란 가공식품의 원료인 어란을 수입에 의존하고 있는 실정이므로 캡슐을 이용한 어란 대체식품의 개발을 체계적으로 연구함으로써 수입 대체 효과도 기대할 수 있게 되는 것이다. 특히 어란 수입 수송저장에 드는 비용을 절감할 수 있음으로 생산가를 절감할 수 있다. 본 연구를 통해 생체막 캡슐 제조 공정의 최적화를 확립함으로써 최고 품질의 제품을 생산해 낼 수 있을 것이다. 날치알 가공품의 경우 날치알을 수입해서 가공함으로써 가공 날치알의 생산 단가가 높을 뿐 아니라 각각의 수입선, 회사에 따라서 날치알의 선도 및 품질의 균일화를 이룰 수 없고, 수송 저장에도 많은 노력이 필요한 것이 현재 날치알 가공업체의 현실이다. 이러한 문제점을 인식하고 해양 다당류인 카이토산(chitosan)과 알진산(alginate)을 사용하여 어란(fish egg)과 성상 및 그 조직감(texture)과 같은 형태로 캡슐을 형성하여서 저장, 수송에 대한 문제 및 그 생산가를 절감할 수 있으며, 아울러 쉽게 가공하는 공정으로서 품질의 규격화를 꾀할 수 있다.

어란 대체품 캡슐의 제조시 사용되는 해양 다당류의 경우 카이토산(chitosan)을 양이온 다당류로 사용할 수 있다. 케나 바닷가재의 껍질을 형성하고 있는 카이틴(chitin)을 산처리하여 acetyl기를 제거한 것으로서 이러한 카이토산의 사용은 새우나 게 가공 공장의 폐기물 처리에도 큰 도움을 줄 것이다. 음이온 다당류로서는 알진(alginate) 혹은 카라기난(carragenan) 등의 해조류 다당류를 사용하여 인체에 무독성으로 식품으로서 특히 diet 식품으로 가공하기에 알맞은 특성을 가지고 있다.

해양다당류 고분자를 이용한 생체막 형성의 기작을 연구하여 캡슐을 생성하고 또 날치알 혹은 칠갑상어와 같은 어란 가공품 혹은 어류알 대체식품으로 사용하려는 시도로서 이러한 캡슐을 이용하여 생체막을 캡슐과 같은 성상으로 제조한다. 아울러 여러가지 생체막 생성 영향인자를 변화시켜 최적조건을 도출하므로써 원하는 형태 혹은 조직감으로

서의 캡슐 즉 인조 어란의 성질을 조절할 수 있다. 어란에는 어란 특유의 기계적 특성 즉 강도(hardness), 유연성(flexibility), 씹히는 조직감(texture)등의 어란 고유의 특성이 있다. 이러한 어란 고유의 기계적 특성을 살리는 인조 어란 캡슐을 제조하기 위해 캡슐의 형성 기작을 연구하고, 그 영향인자를 최적화하여 각각의 어란에 따른 기계적 특성 영향인자를 구해 줌으로서 원하는 인조어란 형태로 캡슐을 제조할 수 있는 Tailor-making을 할 수 있게 되는 것이다.

재료 및 방법

용액의 제조

생체 고분자막을 제조하기 위해서 양이온 다당류로서 0.5% 카이토산 용액을 0.5% 글루타믹산 용액에 하루동안 녹인 뒤 불용성 부분은 여과하여 제거하고 0.05M CaCl₂를 첨가하였다. 음이온 다당류로서는 0.5% 알진(sodium alginate) 용액을 제조하여 사용하였다.

캡슐의 제조

캡슐 제조 방법으로는 Fig. 1에서 나타낸 바와 같이 제

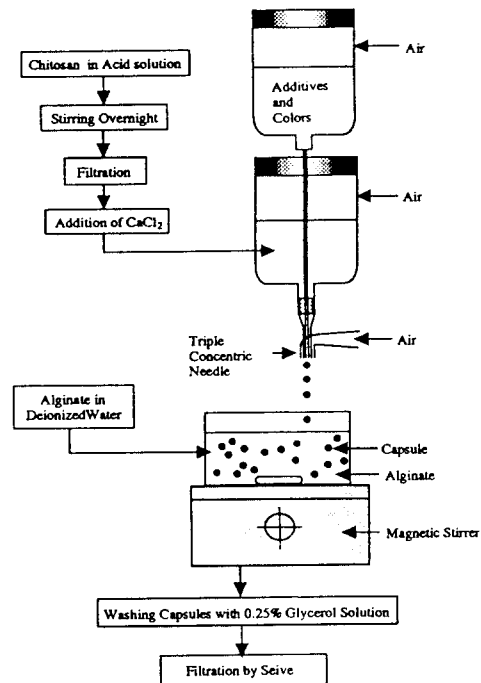


Fig. 1. Encapsulation Procedure

조하였으며, 카이토산 용액을 공기 주입에 의해 방울지게 분사해 주면서 알진 용액으로 떨어뜨려주면 캡슐이 형성된다. 캡슐의 크기는 분사기의 직경과 외부 공기 사출기의 공기 유속에 의해 좌우되며 연어알과 같은 크기(5mm)에서부터 날치알과 같이 작은(1mm)까지의 크기로 조절 가능하였다. 캡슐을 제조한 뒤 3분간 음이온 용액 속에서 교반한 뒤 체(sieve)로 음이온 용액을 제거하고 캡슐을 분리하였다.

기계적강도의 측정

제조된 캡슐의 기계적 강도는 Instron Universal Testing Machine (Model 1142, Canton, MA)를 사용하여 측정하였다. 연어알(salmon cavier), 날치알(flying fish egg) 및 인조 캡슐의 기계적 강도를 캡슐의 rupturing force로 표시하였다.

결과 및 고찰

캡슐 크기의 조절

원형의 캡슐을 제조할 수 있었다. Fig. 2에서 보여준 바와 같이 완전한 구형의 캡슐을 제조할 수 있으며 그 성상은 마치 날치알과 같은 형태를 하고 있다.

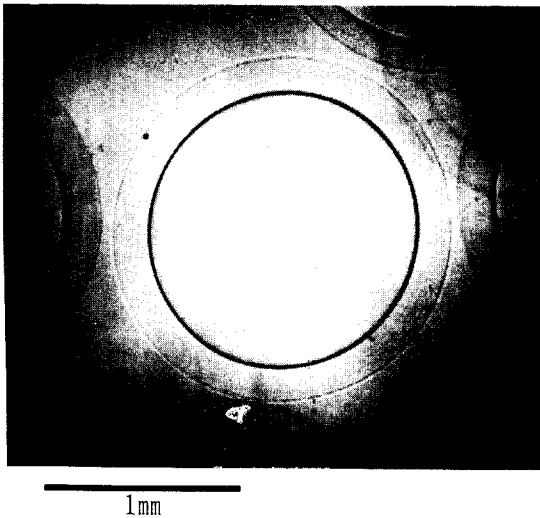


Fig. 2. Capsules formed by Bi-polymer membrane surrounding the liquid core(×30)

캡슐의 크기는 캡슐의 orifice 외부에 부착한 공기사출기의 공기흐름속도에 의해 조절할 수 있었다. Table 1에 나타낸바와 같이 공기의 유속에 따라 1~5mm 크기의 캡슐을 형성할 수 있었다. 공시 사출기에서 공기의 유속이 빨라질수록 캡슐의 크기는 감소하며 아울러 크기의 편차도 커짐을 알 수 있었다.

Table 1. Capsule size distribution by air flow rate at air blower

Air Flow Velocity(dm ³ /min)	Capsule Size(mm)
5	4.8±0.2
10	4.0±0.4
15	3.5±0.5
20	2.8±0.5
25	2.0±0.7
30	1.5±0.8

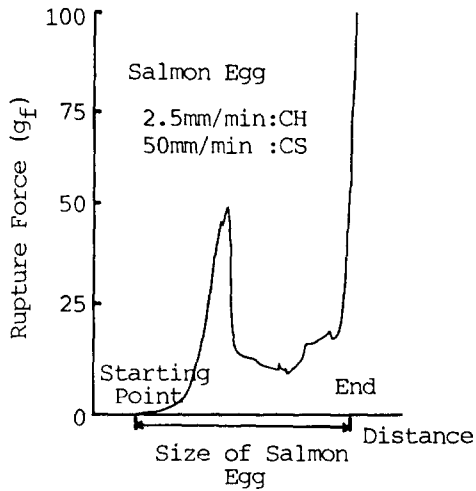
기계적 강도

시장에서 구입한 연어알의 경우 캡슐의 기계적 강도가 50g,정도의 rupture force를 가지지만, 훨씬 작은 날치알의 경우 200g,의 rupture force를 가진다. 연어알의 경우 쉽게 저작에 의해 터뜨릴 수 있지만 날치알의 경우 저작시 더 큰 힘이 필요하다는 것을 경험적으로 알수가 있다. Fig. 3의 a, b, c에 나타난 바와 같은 Instron의 force-distance curve에 의해 구한 각 어란 및 대표적으로 제조한 캡슐의 rupture force는 Table 2에 나타난 바와 같다.

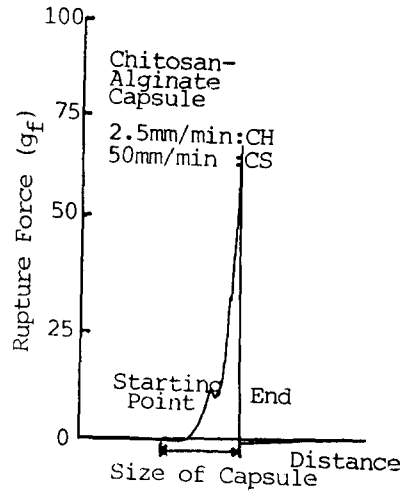
pH 4.0의 chitosan 용액으로 제조한 캡슐의 경우 캡슐의 크기가 작을수록 캡슐의 rupture force는 감소하는 경향을 보여서 작아질수록 쉽게 터지는 형태를 보여 주고 있다. 캡슐을 형성하는 membrane의 경우 pH가 일정할 때 chitosan alginate간의 정전기적 인력은 같을 것이므로 캡슐의 크기 즉 면적에 따라서 rupture force가 변화할 것이라고 짐작된다. 각각의 rupture pressure를 구하여 보면 그 크기는 비슷한 형태로 나타나지만 flying fish의 경우 매우 큰 값을 나타내는 것을 알 수 있다.

캡슐의 기계적 강도의 조절-pH의 영향

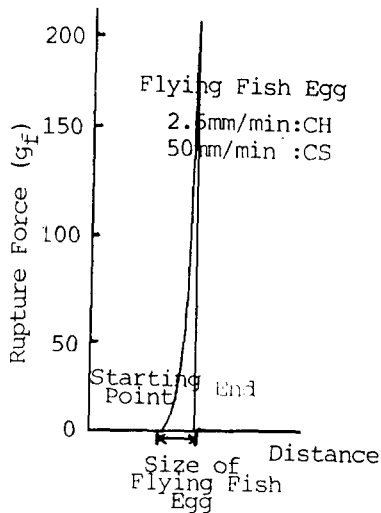
캡슐의 membrane을 형성하는 기본적인 힘은 양이온 고분자인 chitosan과 음이온 고분자인 alginate의 정전기적 반응이다. 그러므로 chitosan 용액의 pH의 변화에 따라서



(a)



(c)



(b)

Fig. 3. Force-Distance curves of a) Salmon egg, b) flying fish egg, and c) chitosan-alginate capsule
CH : Crosshead Speed CS : Chart Speed

양이온기의 전하밀도(charge density)를 변화시킬 수 있으므로 캡슐 형성시 기계적 강도를 조절할 수 있다.

양이온인 chitosan의 구조는 Fig. 4에서 보여주는 바와 같이 $\beta(1-4)$ 로 연결되어 cellulose의 구조를 하고 있으며 glucose의 2번 탄소에 수산화기(-OH) 대신 아미노기(-NH₃⁺)가 부착된 구조를 하고 있다. 이러한 이온구조 및 glycosidic 연결구조로서 용액내에 존재할 때 이온기의 반발력에 의해 막대처럼 퍼진 형태로의 분자구조를 가진다. 이런 분자구조의 chitosan은 무형 코일(ranmom coli) 형태의 음전하 다당류와의 정전기 반응의 횡수(frequency)의 변화와 이온전하의 증감에 따라서 부드럽고 유연성이 있는 캡슐에서

Table 2. Rupture forces and rupture pressures of fish eggs and capsules

Contents	Rupture forces(g _f)	Rupture Pressure(g _f /mm ²)
Salmon egg	52 ± 10	2
Flying fish egg	201 ± 12	114
Chitosan-Alginate Capsule(5mm in size, pH 4.0)	70 ± 10	4
Chitosan-Alginate Capsule(4mm in size, pH 4.0)	61 ± 8	5
Chitosan-Alginate Capsule(3mm in size, pH 4.0)	50 ± 9	7
Chitosan-Alginate Capsule(2mm in size, pH 4.0)	29 ± 8	9

부터 탄성과 기계적 강도가 큰 캡슐을 형성하게 되는 것이다.

아울러 chitosan 용액과 alginate 용액이 만남에 따라서 diffusion과 용액간의 mixing이 일어남으로 chitosan 용액의 pH가 alginate 용액에도 영향을 주므로 alginate의 manuronic acid 혹은 guluronic acid의 카르복실기(-COO⁻)의 전하에도 영향을 주므로 pH의 영향으로 Fig. 5에 나타낸 바와 같이 캡슐의 경우 rupture force를 20~150g_f까지 변화시킬 수 있었다. 대체적인 경향으로 chitosan 용액의 pH가 높을수록 기계적 강도가 큰 캡슐을 형성할 수 있었다.

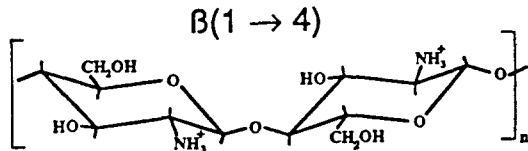


Fig. 4. Chitosan structure

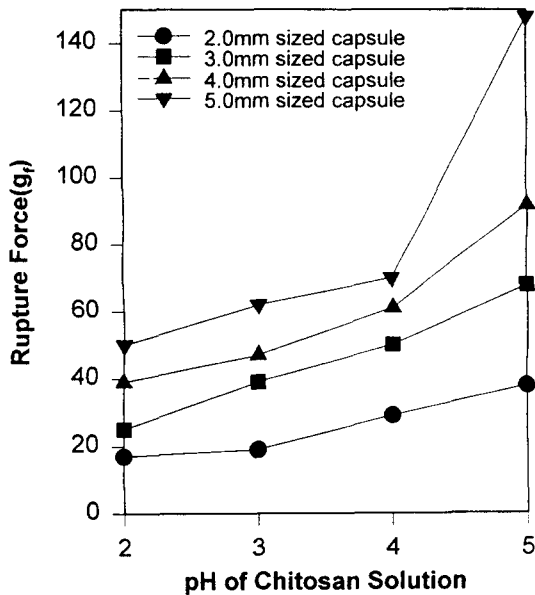


Fig. 5. The rupture forces of capsules prepared with chitosan solution at pH 2, 3, 4 and 5

캡슐의 기계적 강도 조절-염의 영향

염의 첨가는 이온결합을 방해하는 효과를 나타낸다. 그러므로 이온결합이 주된 결합력인 캡슐의 막형성에 영향을

준다. Fig. 6에 나타낸 바와 같이 이온의 농도가 높아질수록 캡슐의 기계적 강도는 떨어지는 결과를 얻을 수 있었다. 막을 형성하는 양이온인 chitosan의 -NH₃⁺기와 음이온인 alginate의 -COO⁻기를 Na⁺이온과 Cl⁻이온으로 중화되면서 정전기적 결합(electrostatic interaction)의 결합력을 떨어뜨리게 되므로 NaCl 농도가 높아질수록 캡슐의 기계적 강도는 감소하는 영향을 보였다.

이와 같이 캡슐의 기계적 강도를 캡슐막 형성의 주된 요소인 이온결합에 영향을 주는 인자인 pH와 이온의 농도로서 조절할 수 있었다.

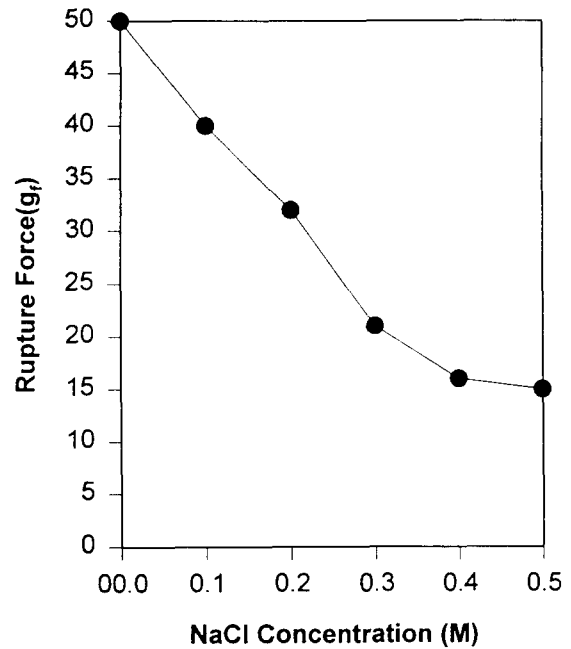


Fig. 6. The rupture forces of capsule(3.0mm) prepared with chitosan solution(pH 4.0) at various NaCl concentrations

요 약

해양 다당류인 chitosan과 alginate를 이용해서 캡슐을 제조할 수 있었으며 그 성상을 물고기 알과 같은 형태 즉 인조어란의 성상으로 만들 수 있었다. 캡슐의 크기는 공기 사출기의 유속에 의해 1~5mm로 조절할 수 있었다. 캡슐의 기계적 강도는 chitosan 용액의 pH와 이온의 농도에 의해 조절할 수 있었으며 원하는 어란의 기계적 강도를 가

진 인조캡슐을 제조할 수 있었다. 이러한 인조어란 대체품의 제조이외에도 타분야인 의약, 산업 및 식품 분야에 이용이 가능한 캡슐로 이용 될 것이다.

감사의 글

본 논문은 1995년도 늘원재단 지원연구비로 수행된 연구결과이며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 농수산통계년보, 농수산부, 1993. 11
2. Kim, S.K. and Rha, C.K., (1990a) "Transmembrane Permeation of Proteins in Chitosan Capsules" in Chitin and Chitosan-Sources, Chemistry, Biochemistry, Physical Properties and Applications, ed. Skjak-Braek, G., Anthonsen, T., and Sandfore, P., Elsevier Science Pub. Co, NY, pp. 636-642.
3. Kim, S.K. and Rha, C.K., (1990b) "Chitosan for the Encapsulation of Mammalian Cell Culture" in Chitin and Chitosan-Sources, Chemistry, Biochemistry, Physical Properties and Applications, ed. Skjak-Braek, G., Anthonsen, T., and Sandford, P., Elsevier Science Pub. Co, NY, pp. 644-652.
4. Chang, T., (1964), "Semipermeable Membrane", Science, 146, pp. 524-527
5. Chang, T., (1984), "Artificial Cells in Medicine and Biotechnology" in Microencapsulation and Artificial Cells ed. Chang, T., Hamana Press, Clifton, NJ 6. Mpoko Bokanga, (1984), "Encapsulation of Microbial Cells in Chitosan" MIT MS Thesis.
7. Rha, C.K., (1984), "Chitosan as a Biomaterial" In : Biotechnology in the Marine Sciences., Proceedings of the First Annual MIT Sea Grant Lecture and Seminar Series., ed. Cowell, R.R., pariser, E.R. and Sin-skey, A.J., John Wiley and Sons, New York, pp. 177-190
8. Posillico, E., (1986), "Microencapsulation Technology for large-scale antibody production", Biotechnology, 4, pp. 114-122
9. Spalding, B.J., (1991), "Encapsulated cells target diabetes and Parkinson's. Biotechnology, 9, pp. 616-617
10. Sun, A., O'Shea, G.M., Breimer, D.D., and Speiser, P. Ed., (1985), "Transplantation of microencapsulated islets of Langerhans as an insulin delivery system", Top. Pharm. Sci., Proc. Int. Congr. Pharm. Sci. F.I.P. Pub. Elsevier, Amsterdam, Neth., pp. 93-100
11. Brodelius, P. and Nilsson, K., (1980), "Entrapment of Plant Cells in Different Matrices, a Comparative Study", FEBS Letters, 122, pp. 312-319
12. Braun, K., Kuttler, B., Baquey, C. and Aubertin, J., (1987), "Prevention of complement-mediated cytotoxicity against rat islets by encapsulation in a cellulose sulfate membrane", Horm. Metal. Res., 19 (8), pp. 345-353
13. Braun, K., Besch, W and Hahn, H.J., (1985), "Studies on the suitability of cellulose sulfate capsules for the transplantation of isolater islets", Ergeb. Exp. Med., 46, pp. 566-570
14. Goosen, M., O'Shea, G., Gharapetian, H., Chou, S. and Sun, A. (1985), "Optimization of Microencapsulation Parameters : Semipermeable Microcapsules as a Bioartificial Pancreas", Biotech. Bioeng., 27, pp. 146-153
15. O'Shea, G., Goosen, M. and Sun, A. (1984), "Prolonged Survival of Transplanted Islets of Langerhans Encapsulated in a Biocompatible Membrane", Biochem. Biophys. Acta, 804, pp. 133-145
16. Kim, S.K., Gupta, S., Vermuru, R.P., Aragona, E., Yemeni, P.R., Burk, R.D. and Rha, C.K. (1993), "Hepatocyte Transplantation : An Alternative System for Evaluating Cell Survival and Immunoisolation", International of Artificial Organs, 16(3), pp. 155-163