

Microencapsulation을 이용한 미립자 사료개발

이은주 · 김성구[†]

부경대학교 생물공학과

The Development of Microparticle Feed Using Microencapsulation

Eun-Ju Lee and Sung-Koo Kim[†]

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

Abstract

The development of fish feed is essential to aquaculture. Recently, yeast, chlorella and plankton have been studied and developed as the feed of the fry fishes. But, these biological feeds cause the nutritional unbalance to fry fishes, rotifer or artemia. Therefore, to solve these problems, microcapsules with micron sizes were prepared for enhancing the nutritional values of artemia and rotifer which are used as the feed of fry fishes.

Microparticle oil capsules were prepared by the complex coacervation technique. The method to make the optimal size of microcapsule which the artemia and rotifer can be easily taken was evaluated. The size of oil microcapsule in the range of 5–70μm was obtained by the agitation conditions during coacervation. Capsule size and size distribution were dependent on the agitation speed and agitation time, respectively.

서 론

양식에 있어 어류 사료의 개발은 기본적인 요소이다. 현재 치어의 사료로 사용하는 사료의 경우 식물성 플랑크톤, 클로렐라, yeast의 개발 및 연구가 진행되고 있다^{1~2)}. 하지만 rotifer 배양의 경우 주로 yeast를 사용하는데 지방산의 첨가가 요구⁴⁾되고 있으며, artemia의 경우 그 생산 산지에 따라 고도 불포화 지방산의 함량에 많은 차이를 보이므로³⁾ 영양의 균형성을 요구하게 되었다^{4~5)}. 즉, 탄수화물, 단백질, 지방의 3대요소의 균형 있는 공급과 아울러 성장을 위한 단백질의 어체중량을 증가시키기 위해 에너지가 높은

지방의 첨가량을 늘리는 것이 필요하다.

Oil 혹은 oil상의 물질에 대한 microencapsulation기술은 액상의 물질을 분말 상태로 만들어 주며 외부의 환경에 대해 캡슐된 내용물의 변질을 방지하는 역할을 하므로 산업적으로 많은 분야에서 이용되어 왔는데, 이 기술을 수산 양식 분야에 적용함으로써 치어 및 어패류의 양식에 있어 문제점으로 작용하던 여러가지를 해결하고자 하였다. 즉, 부족하기 쉬운 지방을 공급하기 위해 oil microencapsulation을 이용한 지방질 미립자 사료를 단백질 성분과 함께 공급함으로써 영양상의 균형 및 단백질의 어체중량증가를 기대할 수 있으며 사료로 공급하기 힘든 지용성 vitamin¹¹⁾

[†] Corresponding author

및 소수성 steroid계통의 hormone, 항생제 등을 oil capsule에 첨가하여 어류에 전달하는 전달 체계로도 사용할 수 있다. 또 이 oil capsule은 oil이 membrane에 싸여 있으므로 oil에 의한 BOD 증가의 피해를 줄일 수 있으며 양식장의 수질오염을 방지할 수 있을 뿐아니라 oil의 산화를 줄이므로써 산화지방의 독성에 의한 피해를 줄일 수 있다.⁶⁾

이번 연구에서는 artemia와 rotifer가 쉽게 섭취할 수 있는 size를 얻기 위해 고분자 물질로 microcapsule을 제조하는데 복합응집법(complex coacervation)을 적용시켜 교반시의 조건인 교반속도(rpm), 교반시간(time)과 oil의 종류를 parameter로 실험하였고 나머지 조건들은 기존의 문헌을 참조하여 설정하였다.

재료 및 방법

재료

Squid oil은 이화유자공업 주식회사로 부터 얻었으며, wall materials로는 gelatin(175 bloom, Sigma Chem. Co., St. Cois, USA), carboxymethyl cellulose(CMC : Sigma Chem. Co., St. Cois, USA, low viscosity : 4% solution at 25°C, 50–200cps.) 과 polyvinyl methyl maleic anhydride(PVMMA, Sigma Chem. Co., St. Cois, USA)가 사용되었다.

캡슐의 제조

8.93g의 gelatin을 95.54g의 de-ionized water에 녹인 후 gelatin에 대한 미생물의 저해를 방지하기 위해 약간의 보존제를 첨가한다. 이때 최종 온도는 50–55°C가 유지되도록 한다. 그리고 25% NaOH를 이용, 이 용액의 pH를 6.5가 되도록 한다. 그후 107.91g의 oil을 섞어 waring blender를 사용하여 원하는 size를 얻을 때까지 rpm과 시간을 변화시켜가며 격렬하게 교반시킨다. 여기에 143.48g의 de-ionized water와 7.08g의 5% PVMMA용액을 섞은 후 계속 교반시키면서 온도를 50–55°C 사이 유지시켜 준다. 그리고 0.6g의 CMC 37.78g의 de-ionized water에 녹인 후 섞어 준다. 다음 25% NaOH용액을 이용 pH10으로 맞춘 후 천천히 저어 주면서 15%의 acetic acid를 이용 pH를 내려 준다. pH가 4.2가 되면 교반속도를 높여 주면서 동시에 온도를 10°C로 낮추어 주면서 2.25g의 25% glutaraldehyde 용액을 첨가한 후 한 시간 동안 stirrer를 이용

교반한다. 그후 7.43g의 5%의 PVMMA용액을 더해 준 후 밤새 교반시킨다.

다음날 아침 4.53g의 10% NaCO₃용액을 넣어 주고 5분간 정치시킨 후 25% NaOH용액을 이용 pH를 10으로 맞춘다. 그 다음 0.5ml의 37% formaldehyde 용액을 더해 준다. 형성된 capsule은 deionized water로 washing한 후 현미경하에서 관찰한다^{7–10)}.

실험조건

실 험	oil 종 류	교반속도(rpm)	교반시간(sec)
1	soy bean	9600	
		11500	30
		13400	60
		17200	90
		19100	120
		21000	
2	corn	18500	60
		21000	120
3	squid	18500	60
		21000	120

결과 및 고찰

캡슐의 크기조절

coacervation을 이용한 microencapsulation기술을 수산 양식분야에 이용하여 치어 및 어패류의 사료를 만들기 위해 oil microcapsule을 제조하였다.

Soybean oil을 사용하여 교반시간과 교반속도를 조절하여 여러 다양한 크기의 캡슐을 제조할 수 있었다. 캡슐의 크기는 emulsion과정의 RPM에 따라 조절할 수 있었는데 Fig. 1과 Table 1에서 보이는 것처럼 9,600rpm에서는 캡슐의 크기가 다른 캡슐들에 비해 크고 aggregation이 많이 되었으며 rpm이 높아질수록 순차적으로 캡슐의 크기가 줄어들어 21,000rpm에서는 대체로 균일하고 작은 캡슐들이 형성되어 있음을 알 수 있다.

Fig. 2에서는 교반시간과 교반속도를 parameter로 하여 형성된 캡슐의 크기변화를 3차원 그래프로 나타내었다. 교반시간이 많을수록 교반속도가 높을수록 캡슐의 크기가 작아지는 전체적으로 경사진 형태를 보인다. 따라서 교반속도

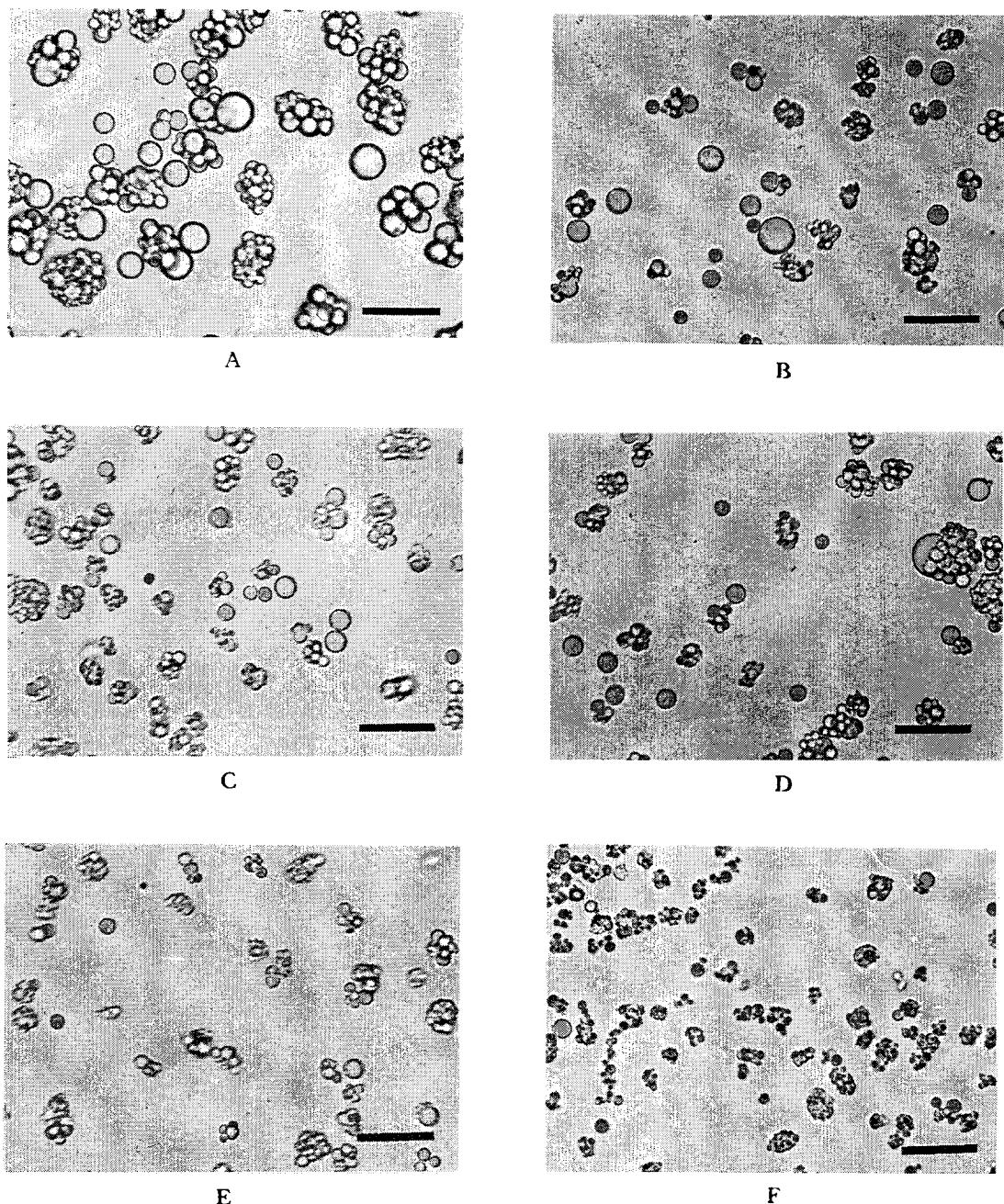


Fig. 1. Micrographs of microcapsules prepared with soybean oil(60 seconds agitation).

A : 9,600rpm B : 11,500rpm C : 13,400rpm D : 17,200rpm E : 19,100rpm F : 21,000rpm (scale bar : 25 μm)

Table. 1. Microcapsule size as a function of agitation speed and agitation time using soybean oil. Oil emulsion was formed by warning blender. The speed of blender(RPM) and the time for agitation were controlled to evaluate the microcapsule size and microcapsule size distribution(size unit : μm)

Agitation speed(rpm)	Agitation time(sec)			
	30	60	90	120
9,600	10.0–12.5	5.0–10.0	5.0	5.0–705
11,500	5.0–10	5.0–7.5	5.0	3.8–5.0
13,400	5.0–7.5	5.0–8.8	2.5–5.0	2.5–3.8
17,200	2.3–7.5	3.8–6.3	2.5–5.0	2.5
19,100	2.5–5.0	5.0–2.5	2.5–5.0	2.5–5.0
21,000	2.5–6.3	2.5–3.8	2.5	1.3

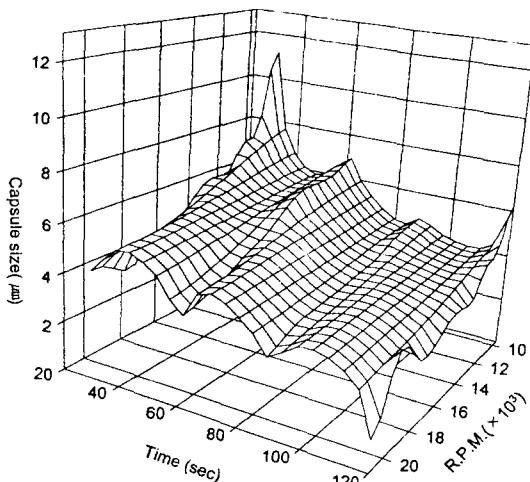


Fig. 2. Three dimension graph of microcapsule size as a function of agitation speed and agitation time.

가 클수록, 그리고 같은 교반속도라도 교반시간이 길수록 작고 균일한 캡슐이 형성된다는 것을 알 수 있다.

Oil 종류에 따른 캡슐형성

인공사료의 제조시 그 단가문제를 배제할 수 없는데, 쉽게 구할 수 있으며 그 가격에 있어 corn oil과 soybean oil은 이 문제를 만족시킬 수 있다. EPA, DHA 등 고도불포화지방산을 많이 함유하여 그 중요성을 인정받고 있는 squid oil¹²⁾의 경우 어류의 높은 기호도를 보이며, ω3 고도불포화지방산은 어류의 성장과 생존에 있어 필수적인 것이다. 그러나 고도불포화지방산은 산화하기 쉬운데 산화한 지방산의 금이는 여러 가지 질병뿐아니라 폐사에 이르게

하므로 지방산의 산화를 줄이기 위하여 microencapsulation을 이용해 캡슐을 제조하였다.

Corn oil과 squid oil을 사용한 Fig. 3과 Fig. 4에서 보듯이 두 oil 모두 교반속도가 클수록 캡슐의 크기가 작음을 알 수 있는데 Fig. 2의 soybean oil과 같이 교반속도에 대한 캡슐크기의 양상이 같음을 알 수 있다. 그러나 soybean oil로 제조한 캡슐보다 squid oil로 제조한 캡슐이 같은 교반속도와 교반시간에서 크기가 다름을 볼수 있다. 따라서 oil의 종류에 따라 일정한 크기를 얻기 위해서는 교반속도와 교반시간을 달리해야 한다는 것을 알 수 있다.

Squid oil의 경우, corn oil에서는 볼수 없는 캡슐안에 작은 캡슐이 생기는 현상이 관찰되었다. 캡슐의 membrane을 형성하는 기본적인 힘은 양이온 고분자인 gelatin과 음이온 고분자인 CMC와 PVMMA의 정전기적 반응에 의한 것인데 다수의 불순물을 함유한 crude squid oil이라 이 불순물에 의해 정전기적 반응을 방해한 것이라 추정한다. 하지만 고속으로 교반하여, 캡슐의 크기를 줄였을 때는 이러한 현상을 방지할 수 있었다.

요약

복합용집법을 이용하여 치어의 사료로 적당한 크기(5–10 μm)의 캡슐을 emulsion단계의 교반속도와 교반시간을 조절하여 제조하였다. emulsion단계의 교반속도가 클수록, 그리고 같은 교반속도라도 교반시간이 길수록 작고 균일한 캡슐이 형성되었다. Oil 종류를 달리하여 제조한 캡슐의 경우에 각 oil에 따라 같은 교반속도와 교반시간에서 다른 크기의 캡슐이 형성되었다. 특히 squid oil의 경우에 있어서

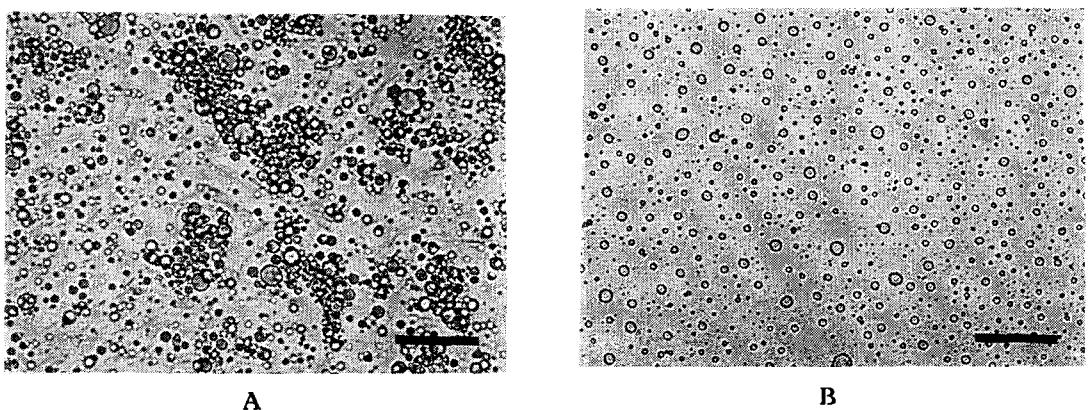


Fig. 3. Microcapsule prepared with a corn oil.(scale bar : 25μm)

A : The size of oil microcapsule in the range of 10–20μm is shown at 18,500rpm

B : The size of oil microcapsule in the range of 7–10μm (relatively uniform size) is show at 21,000rpm

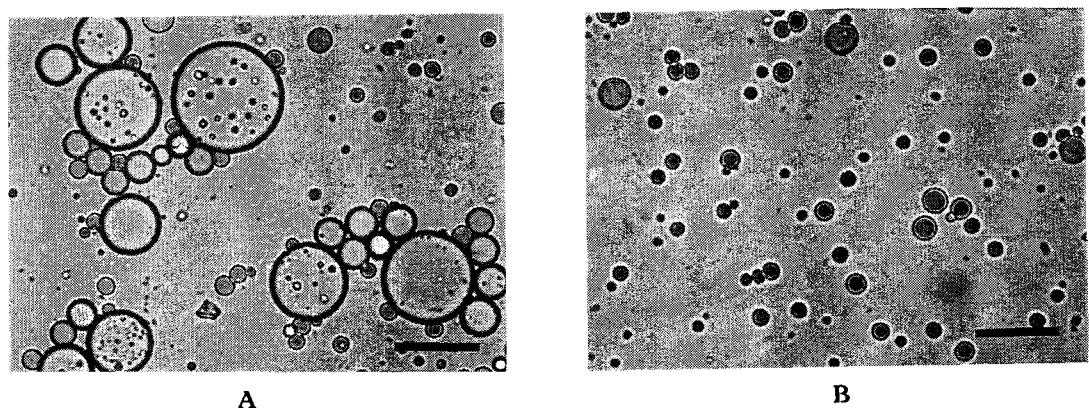


Fig. 4. Microcapsule prepared with a squid oil(scale bar : 25μm)

A : The size of oil microcapsule in the range of 2–35μm is shown at 18,500rpm.

B : The size of oil microcapsule in the range of 3–10μm is shown at 21,000rpm.

는 큰 캡슐안에 작은 캡슐이 형성되는 것이 관찰되었다.

감사의 글

본 논문은 1995년 해양산업 개발연구소 지원연구비(95 K4-1506-02-00-1)로 수행된 연구결과이며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. 수산 연보, 수산업 협회, 93년간
2. 이상민, 배합 사료 개발 현황, pp. 91–25, *Aquaculture* (1994. 7).
3. 박병하, 종묘 생산 기술 개발 현황, pp. 80–82, *Aquaculture* (1994. 1).
4. 수산 양식 편집부, 효모 캡슐을 이용한 로티페라의 영양 강화, pp. 89–91, *Aquaculture* (1994. 3).
5. 류호성, 동물성 먹이생물 배양, pp. 134–137, *Aqua-*

- culture(1991, 2).
- 6. 이영호, 해산어류의 영양, pp. 165 – 171, *Aquaculture* (1994, 2).
 - 7. Sakai, T, Kagaya, T., Yokota, K. and Hata, K. : Microparticulate Material and Method of Making Such Material. *US Patent* 3,959, 457(1976).
 - 8. Hiestrand, E. N., Jensen, G, Jensen, E. and Meister, P.D. : Encapsulation of Lipophilic Liquid in Hydrophobic Liquid Emulsions. *US Patent* 3,549, 555 (1970).
 - 9. Sakai, T, Kagaya, T., Yokota, K. and Hata, K. : Micro-Encapsulating Method. *US Patent* 3,994, 827 (1970).
 - 10. Chilvers, G. R., Gunning, A. P. and Morris, V. J. : Coacervation of gelatin-XM6 mixtures and their use in microencapsulation. *American Chemical Society*, V8 (1), 55 – 61(1988).
 - 11. Fu-Lin E. Chu, Kenneth L. Webb, Daniel A. Hepworth and Beverly B. Casey. : Metamorphosis of Larvae of *Crossostrea virginica* Fed Microencapsulated Diets. 64, 185 – 197 (1987).
 - 12. Chih-Cheng Lin, Shan-Yang Lin, and Sun Hwang : Microencapsulation of Squid Oil with Hydrophilic Macromolecules for Oxidative and Thermal Stabilization. *J. Food Science*, 60(1), 36 – 39(1995).