

반응표면분석법에 의한 정제어유 미세캡슐화 공정의 최적화 및 미세캡슐 저장안정성 분석

장판식 · 하재석
서울산업대학교 식품공학과

Optimization of Fish Oil Microencapsulation by Response Surface Methodology and Its Storage Stability

Pahn Shick Chang and Jae Seok Ha
Department of Food Science and Technology, Seoul National University of Technology

Abstract

Using agar and waxy corn starch as the wall material, we could encapsulate the purified fish oil. Firstly, we have developed a simple and sensitive method for the quantitative analysis of the microencapsulation yield using 5% cupric acetate pyridine solution. Then, the optimum conditions such as the ratio of [core material] to [wall material](X_1), the temperature of dispersion fluid(X_2), and the emulsifier concentration(X_3) for the microencapsulation process were determined by using response surface methodology(RSM). The regression model equation for the yield of microencapsulation(Y , %) of purified fish oil upon three kinds of independent variables could be predicted as follows; $Y = 100.138621 - 0.735000(X_2) + 0.840000(X_1)(X_2) + 0.817500(X_1)(X_3) - 0.852500(X_2)(X_3)$. And the optimum conditions for the microencapsulation of the purified fish oil were the ratio of [core material] to [wall material] of 4.9:5.1(w/w), the emulsifier concentration of 0.48%, and dispersion fluid temperature of 19.4°C. The microcapsules containing the purified fish oil showed the highest storage stability at pH 7.0 and 20~25°C.

Key words : purified fish oil, RSM, microencapsulation, storage stability

서 론

최근 고도불포화 지방산이 여러 가지 바람직한 생리활성을 가진 것으로 보고되면서, 이를 함유한 지방질을 식품에 첨가·이용하려는 연구가 활발히 진행되고 있으며⁽¹⁾, 특히 ω 3계 고도불포화 지방산의 일종인 EPA(eicosapentaenoic acid, $C_{20:5}$) 및 DHA(docosahexaenoic acid, $C_{22:6}$)를 많이 함유하는 어유는 인체 영양학적인 측면에서 매우 유용한 것으로 알려져 있다⁽²⁾. 그러나 이런 고도불포화 지방산은 산소에 약하여 쉽게 산패되며 어유 가공식품의 경우 원료로 사용했던 어유의 비린내가 재발됨으로써 제품의 품질이 현저하게 나빠지는 문제점이 있다⁽³⁾. 이러한 문제점을 해

결하기 위하여 고도불포화 지방산을 주변의 열악한 환경으로부터 보호하기 위한 미세캡슐화 기술이 최근 소개되기 시작하였다.

즉, 식품공업에서 미세캡슐화 기술은 향기성분이나 비타민, 필수지방산, 미생물, 효소 등을 빚, 산소, 수분 등으로부터 보호하여 손실을 줄이고, 독성, 냄새, 맛을 은폐시키거나, 고형화 시켜 취급을 간편하게 하고, 내용물의 용출 속도를 조절하는 등의 목적으로 이용되고 있다^(4,5). 이러한 미세캡슐화 기술은 다양한 종류가 있으며, 미세캡슐화 기술을 이용하여 지방질의 산화를 억제한 연구사례는 이미 여러 차례 보고되어져 있는 바, 김 등⁽⁶⁾은 ω 3계 지방산을 함유하는 어유를 에멀전 방법으로 미세캡슐화하여 그 특성을 조사하였으며, Claypool⁽⁷⁾은 버터의 분무건조에 의한 미세캡슐화 결과 12~24개월에 달하는 저장성의 증가가 있었다고 보고하였다.

이와 같은 식품의 특수 성분들을 미세캡슐화하는데 있어서 수율에 영향을 미치는 기본적인 요인들로는 중심물질과 피복물질의 조성 및 비율, 유허제의 농도, 미

Corresponding author : Pahn Shick Chang, Department of Food Science and Technology, Seoul National University of Technology, 172 Kongneung-dong, Noweon-gu, Seoul 139-743, Korea
Tel : 82-2-970-6437
Fax : 82-2-976-6460
E-mail : pschang@plaza1.snut.ac.kr

세캡슐화 공정중의 온도 등으로서, Pauletti 등⁽⁸⁾은 버터 미세캡슐화 공정 중 피복물질의 조성이 수율에 미치는 영향을 살펴보고있으며, Rabiskova 등⁽⁹⁾은 대두유와 올리브유, 땅콩유 등을 미세캡슐화하는 경우 유화제의 HLB(hydrophilic lipophilic balance)값에 미치는 영향을 보고한바 있다.

한편, 최근 에멀전 방법에 의하여 ω3계 고도불포화 지방산 함유 미세캡슐을 제조하는 방법이 소개되었지만 미세캡슐의 안정성이 낮은 단점이 지적되어 왔다. 따라서, 본 연구에서는 액체내 분산법을 사용하여 ω3계 고도불포화 지방산을 함유하는 어유를 노화시킨 탄수화물(피복물질)로 미세캡슐화 하였으며, 이때 미세캡슐화 공정에 영향을 미치는 변수인 중심물질과 피복물질의 농도 비율, 유화제의 농도, 분산매의 온도 등을 반응표면분석법을 사용하여 최적화 하였다. 또한 액체내 분산법을 위한 최적 조건하에서 생산된 미세캡슐의 저장 안정성을 조사함으로써 식품공업에서의 적용 가능성도 검토하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 유화제인 polyoxyethylene sorbitan monolaurate(H.L.B 16.7)는 (주)일신유화(서울, 한국)제품을 사용하였다. 피복물질(wall material, Wm)로 사용한 agar 및 waxy corn starch등은 99.0%이상의 순도를 갖는 Sigma社(St. Louis, MO, U.S.A)제품이었으며, 중심물질(core material, Cm)로서는 DHA를 30%, EPA를 15%함유하는 부분 정제어유를 (주)동원산업(서울, 한국)에서 구입하여 사용하였다.

피복물질 제조 및 분산매에 사용한 물은 pH 6.8~7.0의 탈이온화 된 2차 중류수이었으며, 기타 시약은 EP 등급 이상을 사용하였다.

피복물질의 제조

단일종류의 피복물질(Wm) 보다 두 종류의 피복물질을 사용하는 방법이 유리하며 상승효과가 있는 것으로 Smith 등⁽¹⁰⁾에 의하여 이미 보고되었는 바, 본 실험에서는 이전보고⁽¹¹⁾인 액체내 분산 직전 단계의 유화액 계에서 최적 피복물질로 이미 결정되어진 agar와 waxy corn starch를 각각 0.50% 및 0.25%의 농도로 70°C의 중류수에 넣고 천천히 교반하면서 녹임으로써 투명한 호화액을 제조할 수 있었는데, 이때의 온도를 65°C로 계속 유지하여 노화되지 않은 상태를 분산매 내로 분무하기 직전까지의 피복물질로 사용하였다.

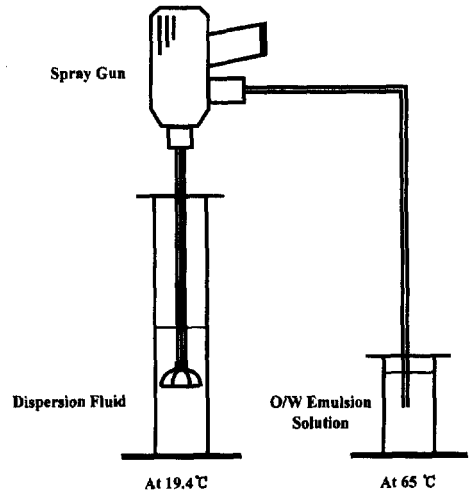


Fig. 1. Schematic diagram for the microencapsulation apparatus.

고도불포화지방산을 함유한 정제어유의 미세캡슐화

장동⁽¹¹⁾에 의하여 이미 보고된 방법을 변형하여 다음과 같이 사용하였다. 우선 유화액 제조용 시험관 주변의 온도를 65°C로 유지하면서 중심물질(Cm)인 정제어유와 유화제를 적당량 혼합하여 homo-mixer(Ultraturrax T25, Janke and Kunkel, Stauffer, Germany)로 30초간 9,000 rpm의 속도로 강하게 교반한 후, 이미 제조되어진 피복물질을 혼합하고 다시 9,000 rpm에서 30초간 교반하여 수중유적(oil in water, O/W)형 유화액을 제조하였다. 이렇게 하여 제조되어진 O/W형 유화액을 Fig. 1의 장치에서와 같이 압축분무기(W 300, Wagner, Germany)를 사용하여 일정온도를 유지시킨 중류수로 된 분산매 내로 분무하여 미세캡슐화 하였다.

미세캡슐화 수율의 측정

한⁽¹²⁾에 의하여 5% cupric acetate-pyridine(pH 6.01) 용액에 oleic acid가 정량적으로 발색됨이 이미 보고되었는 바, 정제어유에 oleic acid를 20%(w/w) 농도로 첨가하여 미세캡슐화 수율을 측정하기 위한 중심물질로 사용하였다. 한편, 미세캡슐화 수율을 측정하기 위하여 Fig. 2의 방법을 사용하였는 바, 미세캡슐화 공정을 종결시킨 후 n-hexane을 미세캡슐 분산액 부피의 1/2을 첨가하여 10초동안 진탕하였으며, 진탕 후 1시간 동안 정치시켜 캡슐화 되지 않은 지방산을 완전히 추출하였다. 상기한 방법에 의하여 얻어진 추출액의 일정용액을 취하여 5% cupric acetate-pyridine으로 발색시킨 후 UV/VIS-spectrophotometer(UV-2101, Shimadzu, Japan)로 715 nm에서 흡광도(A)를 측정하였으며, 이때

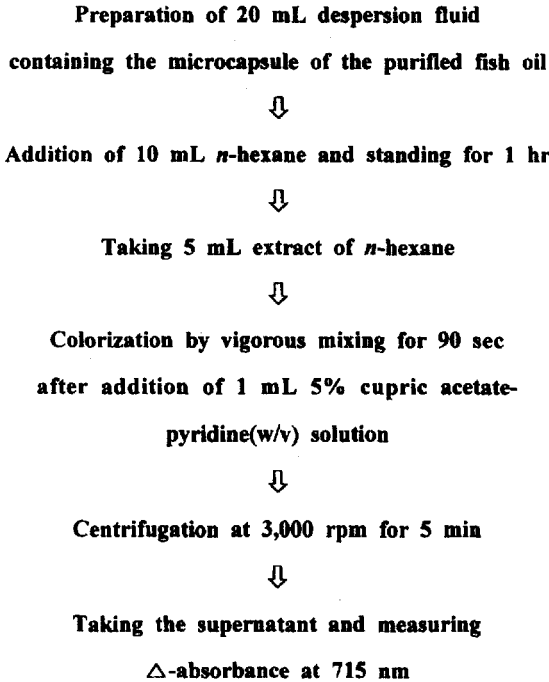


Fig. 2. Schematic diagram for the analysis of micro-encapsulation yield by 5% cupric acetate-pyridine colorization.

의 흡광도 A를 아래의 계산식에 적용시켜 미세캡슐화 수율로 환산하였다.

$$\text{미세캡슐화 수율(\%)} = \frac{B-A}{B} \times 100$$

단, 여기서의 B값은 유화제만 첨가하지 않고 이외의 모든 조건은 A값을 측정할 때와 동일하게 발색시켜 측정된 흡광도를 나타낸다. 또한, 미세캡슐화 수율의 측정법의 검증 및 미세캡슐의 저장안정성 측정시 미세캡슐화에 참여하지 못하고 노출되는 지방산의 함량을 정량분석하기 위한 표준곡선을 작성하고자 하였다. 우선 순도 99% 이상인 oleic acid를 20%(w/w)의 농도로 첨가한 정제어유를 미세캡슐화 시키지 않고 농도별로 직접 분산액에 첨가한 후 *n*-hexane을 전체 부피의 1/2를 첨가하고 1시간 정치시켜 지방산을 완전히

Table 1. Experimental conditions for the assay of DHA with gas chromatography

Contents	Conditions
Instrument	HP 5890*II
Detector	Flame ionization detector
Column	Omega wax 320TM, 30 m × 0.25 mm ID, 0.25 μm film
Temperature	
Column	190°C (0 min) → 230°C (1°C/min) → 230°C for 5 min
Injector	250°C
Detector	260°C
Carrier gas	Helium (99.999%), 1.2 mL/min
Split ratio	80 : 1

추출하였으며, 추출액의 일정량을 취하여 5% cupric acetate-pyridine 용액으로 발색시켜 정제어유(oleic acid가 20%(w/w)포함되어 있는 정제어유) 농도별로 715 nm에서의 흡광도를 측정하여 표준곡선을 작성하였다.

Gas chromatography에 의한 ω3계 고도불포화지방산의 분석

Gas chromatography에 의하여 정제어유내의 지방산을 정량분석함으로써 미세캡슐화 수율을 직접 계산한 후 전술한 5% cupric acetate-pyridine 발색에 의한 간접적인 수율 계산 결과와 비교하여 cupric acetate-pyridine 발색에 의한 미세캡슐화 수율 측정법의 정확성을 검증하고자 하였다. 이때의 gas chromatography에 의한 지방산 분석 조건은 Table 1에 나타내었다.

반응표면 분석을 위한 실험설계

정제어유의 미세캡슐화 실험은 중심합성계획법(central composite design)⁽¹³⁾에 따라 설계하였고, 반응표면회귀 분석은 Statistical Analysis System(SAS) program (SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A)을 이용하였다. 미세캡슐화에 영향을 미치는 변수인 [Cm]:[Wm]의 비율, 분산매의 온도, 유화제의 농도 등을 각각의 독립변수로 설정하고, 각 변수들을 -1, 0, 1의 세 단계로 부호화하여 실험값을 Table 2에 나타내었는 바, 각각의 독립변수에 대한 실험영역은 유화제에서의 예비실험 결과를 이용하여 설정하였다. 이러한 code와 변수

Table 2. Coded levels for independent variables in developing experimental data

Coded X _i	Variable	Coded level		
		-1	0	+1
X ₁	Ratio of [Cm]:[Wm] ¹⁾ (w/w)	3:7	5:5	7:3
X ₂	Temperature of dispersion fluid (°C)	5	15	25
X ₃	Concentration of emulsifier (w/w)	0.2	0.4	0.6

¹⁾Cm: Core material, Wm: Wall material

Table 3. Central composite design consisting of 16 experiments for the study of three experimental factors in coded units

Run number	Coded variable ¹⁾			Process variable ²⁾		
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃
1	-1	-1	-1	3:7	5	0.2
2	+1	-1	-1	7:3	5	0.2
3	-1	+1	-1	3:7	25	0.2
4	+1	+1	-1	7:3	25	0.2
5	-1	-1	+1	3:7	5	0.6
6	+1	-1	+1	7:3	5	0.6
7	-1	+1	+1	3:7	25	0.6
8	+1	+1	+1	7:3	25	0.6
9	-1	0	0	3:7	15	0.4
10	+1	0	0	7:3	15	0.4
11	0	-1	0	5:5	5	0.4
12	0	+1	0	5:5	25	0.4
13	0	0	-1	5:5	15	0.2
14	0	0	+1	5:5	15	0.6
15	0	0	0	5:5	15	0.4
16	0	0	0	5:5	15	0.4

^{1,2)}X₁: Ratio of [Cm] : [Wm], %, X₂: Temperature of dispersion fluid, °C, X₃: Concentration of emulsifier, %

를 이용하여 중심합성계획의 2차 모형으로 작성하였으며, Table 3에 표현한 총 16개의 실험구를 수행하였다.⁽¹⁴⁾

반응표면분석에 의한 미세캡슐화 조건의 최적화

중심합성계획법에 따라 설계한 실험구(Table 3)에 의하여 도출한 결과인 미세캡슐화의 수율을 RSREG⁽¹⁵⁾를 이용하여 통계분석하고, 3차원분석⁽⁶⁾을 통하여 미세캡슐화 조건의 최적화를 실시하였다.

정제어유의 미세캡슐화에 관련된 독립변수인 [Cm] : [Wm]의 비율(X₁), 분산매의 온도(X₂)와 유화제의 농도(X₃)에 대한 표본회귀모형식⁽¹⁶⁾은 다음과 같다.

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^3 b_i X_i + \sum_{i=1}^3 b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 b_{ij} X_i X_j$$

여기서 Y는 반응(종속)변수, X_i, X_j는 독립변수, b₀는 절편, b_i, b_{ii}, b_{ij}는 회귀계수이다. 또한 회귀분석 결과 임계점이 최대점과 최소점이 아니고 안장점(saddle point)일 경우에는 능선분석(ridge of maximum response)을 수행하여 최적점을 구하였다.

미세캡슐의 온도 및 pH별 저장안정성 확인

최적조건하에서 제조된 미세캡슐 분산용액(5%, w/v)을 5°C, 15°C, 25°C, 35°C, 45°C 등에서 각각 7일간

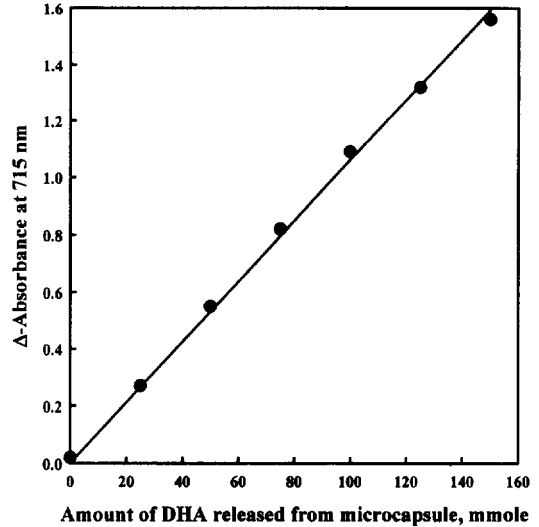


Fig. 3. Standard curve for the calculation of the yield of microencapsulation by 5% cupric acetate-pyridine colorization.

저장하면서 파괴되지 않고 안정하게 유지되는 미세캡슐의 함량을 측정하였다. 또한 최적의 저장온도 하에서 미세캡슐 분산액의 pH가 저장안정성에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 100 mM의 완충용액을 pH 2부터 pH 11까지(pH 2: 0.1 M KCl-HCl buffer, pH 3~pH 7: 0.1 M citrate-phosphate buffer, pH 9: 0.1 M NaOH-HCl buffer, pH 11: 0.1 M Na₂HPO₄-NaOH buffer) 제조하여 미세캡슐 용액과 1:1(v/v)의 비율로 혼합·첨가함으로써 미세캡슐용액의 pH를 원하는 값으로 변형시킨 다음 7일간 저장하면서 미세캡슐의 저장안정성을 측정하였다.

결과 및 고찰

정제어유 미세캡슐화 수율 측정법의 확립

전술한 표준곡선 작성법에 의하여 Fig. 3을 완성할 수 있었는데, 미세캡슐의 중심물질로 참여하지 못한 정제어유의 함량이 증가할수록 715 nm에서의 흡광도가 비례적으로 상승하는 것으로 판명되었으며, 이러한 표준곡선과 재료 및 방법에서 언급한 미세캡슐화 수율 계산식을 사용하면 정제어유의 미세캡슐화 수율 및 저장 기간동안 파괴되는 미세캡슐의 함량을 분석할 수 있을 것으로 생각되었다. 그런데 상기한 발색법은 정제어유내의 주요 지방산인 DHA 성분을 직접 정량하는 것이 아니라 임의로 첨가한 oleic acid의 흡광정도를 측정함으로써 함께 존재하는 정제어유의 미세캡슐

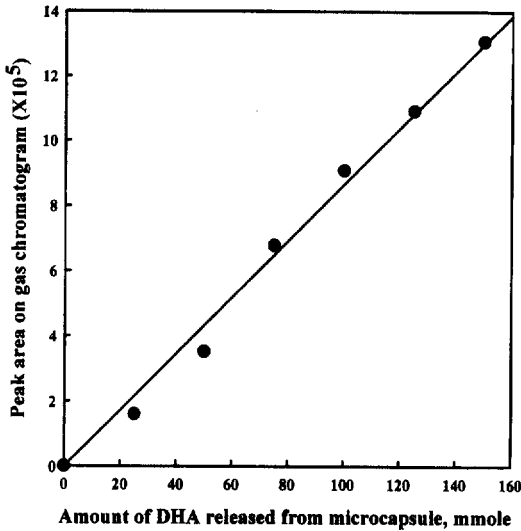


Fig. 4. Standard curve for the calculation of the yield of microencapsulation by gas chromatography.

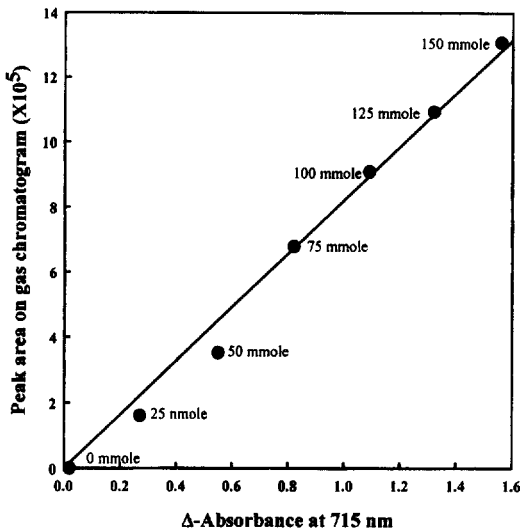


Fig. 5. Comparison of peak area vs Δ -absorbance vs mM of DHA.

로부터의 누출정도를 간접적으로 확인한 것이다. 따라서, 이러한 발색법의 논리적인 타당성을 부여할 것으로 판단되었다.

발색법의 정확성을 검증하기 위하여 동일한 정제어유 sample(정제어유 미세캡슐화 수율 측정법의 확립)에서 언급한 동일한 방법에 의하여 얻어진 n-hexane 추출액을 사용하여 gas chromatography를 수행함으로써 정제어유내의 DHA 성분을 직접적으로 정량분석할 수 있었으며 이러한 결과로부터 Fig. 4의 표준곡선을

Table 4. Response of independent variables to the experiment for the microencapsulation of the purified fish oil

Run number	Independent variable ¹⁾			Yield of microencapsulation (%)
	X ₁	X ₂	X ₃	
1	-1	-1	-1	99.8
2	1	-1	-1	93.0
3	-1	1	-1	99.9
4	1	1	-1	99.8
5	-1	-1	1	100.0
6	1	-1	1	99.7
7	-1	1	1	99.9
8	1	1	1	99.8
9	-1	0	0	99.9
10	1	0	0	99.8
11	0	-1	0	99.8
12	0	1	0	100.0
13	0	0	-1	99.8
14	0	0	1	100.0
15	0	0	0	99.9
16	0	0	0	99.9

¹⁾X₁: Ratio of [Cm] : [Wm], %, X₂: Temperature of dispersion fluid, °C, X₃: Concentration of emulsifier, %

완성할 수 있었다.

이상의 Fig. 3과 Fig. 4를 합성하여 Fig. 5를 완성할 수 있었는 바, 정제어유의 함량 측정을 위한 5% cupric acetate-pyridine에 의한 발색법과 gas chromatography에 의한 직접적인 측정법 사이에는 높은 상관관계(r = 0.9974)가 있음을 확인할 수 있었다. 따라서, 정제어유 미세캡슐화 수율의 측정을 위하여 간편하면서도 정확성이 확인된 5% cupric acetate-pyridine 발색법을 사용할 수 있음을 알 수 있었으며, 이러한 결과를 '재료 및 방법'에서의 계산식에 적용하면 미세캡슐화 수율을 정량화할 수 있을 것으로 판단되어, 추후 모든 실험에서는 5% cupric acetate-pyridine 발색법에 의하여 정제어유 미세캡슐화 수율 및 미세캡슐의 저장안정성을 계산하였다.

반응표면분석법에 의한 미세캡슐화 조건의 최적화

중심합성계획법에 의하여 설계된 실험 조건하에서 정제어유를 미세캡슐화 시킨 후 수율을 측정된 결과는 Table 4와 같다.

Table 4를 바탕으로 RSREG 처리하여 나타난 결과는 Table 5와 같으며, 3가지 독립변수(X₁: [중심물질, Cm]:[피복물질, Wm]의 비율(%), X₂: 분산매의 온도(°C), X₃: 유화제의 농도(%))가 각각 변화함에 따른 미세캡슐화의 수율 Y에 대한 회귀식은 다음과 같이 표현되었다.

Table 5. Values of regression coefficients calculated for the degree of microencapsulation of the purified fish oil

Independent variable ¹⁾	Coefficient	t-value	Significance level (P)
Constant	100.138621	177.0	
X ₁	-0.735000	-1.945	<0.1
X ₂	0.713000	1.886	
X ₃	0.709000	1.876	
X ₁ X ₁	-0.372931	-0.507	
X ₂ X ₁	0.840000	1.988	<0.1
X ₂ X ₂	-0.372931	-0.507	
X ₃ X ₁	0.817500	1.935	<0.1
X ₃ X ₂	-0.852500	-2.017	<0.1
X ₃ X ₃	-0.362931	-0.493	
R ²			0.8046
F			2.745
Probability of F			0.1159

¹⁾X₁: Ratio of [Cm] : [Wm], %, X₂: Temperature of dispersion fluid, °C, X₃: Concentration of emulsifier, %

Table 6. Critical values from the canonical analysis of response surface based on the coded data

Variable ¹⁾	Coded ²⁾	Uncoded ³⁾
X ₁	-0.060879	4.9 : 5.1 = 0.96
X ₂	0.440079	19.4
X ₃	0.391347	0.48

¹⁾X₁: Ratio of [Cm] : [Wm], %, X₂: Temperature of dispersion fluid, °C, X₃: Concentration of emulsifier, %
²⁾The value obtained from the statistical process
³⁾The value translated from the coded value

$$Y = 100.138621 - 0.735000(X_1) - 0.840000(X_1)(X_2) - 0.817500(X_1)(X_3) - 0.852500(X_2)(X_3)$$

이때의 결정계수(coefficient of determination, R²)는 0.8046이고 유의성은 0.1159로서 10%수준에서 인정되었다. 이러한 유의수준은 일반적인 생화학 실험에서의 유의수준 5% 이내의 범위는 벗어나지만, 식품공학적인 한계수준인 15~20% 유의수준의 범위는 지키는 것이므로 10% 수준에서 채택하기로 하였다.

정준분석(Canonical analysis)에서의 임계값(critical value)을 나타낸 Table 6을 근거로 하여 두 독립변수 상호간의 관계를 나머지 변수는 0(zero) 수준으로 두고 3차원으로 도식하여 Fig. 6~Fig. 8의 결과를 얻었다. 3차원 분석에 있어서 [Cm] : [Wm]의 비율과 분산매의 온도, [Cm] : [Wm]의 비율과 유화제의 농도, 분산매의 온도와 유화제의 농도와의 관계가 모두 중심점이 안장점(saddle point)을 나타내므로, 실질적인 최적점을 구하기 위하여 능선분석을 수행하는 것이 요구되었다. 따라서 능선분석에 의하여 coded radius(능선분석을 수행할 때의 독립변수 범위)가 0.0~1.0 범위

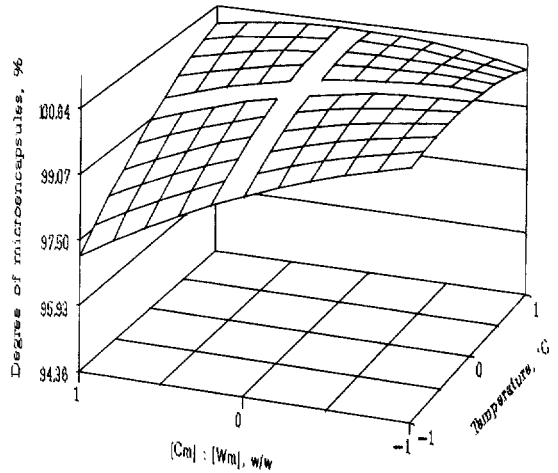


Fig. 6. Response surface on the degree of microencapsulation versus the ratio of [core material] : [wall material](X₁) and dispersion fluid temperature(X₂).

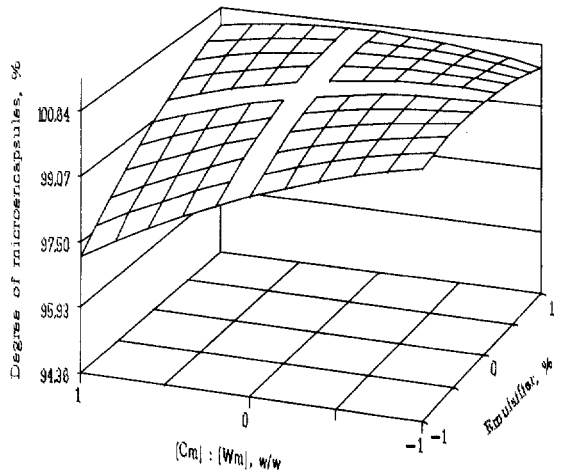


Fig. 7. Response surface on the degree of microencapsulation versus the ratio of [core material] : [wall material](X₁) and emulsifier concentration(X₃).

내에서 실험을 수행하여 예측치와 실측치를 비교한 결과 가장 높은 미세캡슐화 수율을 얻을 수 있는 조건을 정준분석에서의 critical value를 나타내는 점으로 결정할 수 있었는 바, 예측치가 100.4%였으며 실측치는 99.9%의 수율을 보였다. 이러한 결과는 1% 미만의 실험오차 범위 내에서 예측치와 실측치가 거의 일치함을 보여주었으며, 따라서 본 실험에서는 능선분석에 의하여 구한 값을 반응표면 분석법에 의한 최적 미세캡슐화 조건으로 결정하였고, 이 점에서의 각 변수의 값은 각각 [Cm] : [Wm]의 비율은 4.9 : 5.1(w/w), 분산매의 온도는 19.4°C, 유화제의 농도는 0.48%(w/w)였다.

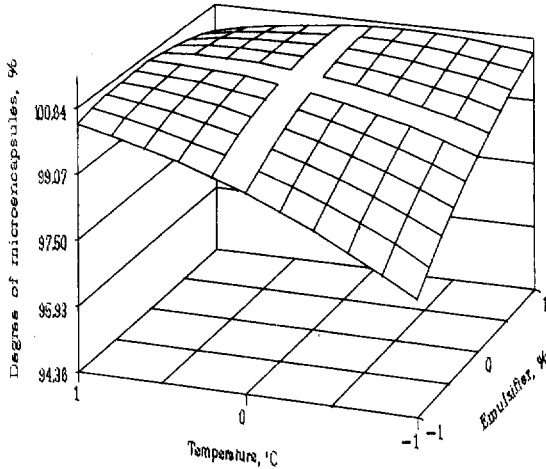


Fig. 8. Response surface on the degree of microencapsulation versus dispersion fluid temperature(X_2) and emulsifier concentration(X_3).

한편 Table 4의 결과, 2번 실험구를 제외한 나머지 실험구들 사이에는 미세캡슐화 수율의 큰 차이가 없으며, 특히 2번 실험구에서만 낮은 수율을 나타내고 있는데, 이는 (i) 중심물질의 함량이 피복물질 보다 상대적으로 가장 높았으며, (ii) 미세캡슐의 안정성을 증가시켜 주는 유화제 함량이 가장 낮았고, (iii) 분산매의 온도도 가장 불리한 조건인 5°C 하에서 미세캡슐화 작업이 수행된 원인들에 기인한 것으로 판단되었다. 특히, 상기한 (i) (ii) (iii)의 원인들의 상승작용에 의하여 미세캡슐화 수율이 격감한 것으로 예측된다.

미세캡슐의 온도 및 pH별 저장안정성

상기한 최적조건 하에서 제조한 정제어유 미세캡슐 용액의 온도별 저장안정성을 확인한 결과 Fig. 9에 나타난 바와 같이 25°C에서는 7일이 경과하여도 99% 이상 미세캡슐이 파괴되지 않고 안정하게 유지되는 것으로 나타났다. 그러나 25°C 이하 특히 5°C에서는 7일 후 50% 이상의 미세캡슐이 파괴되는 현상을 볼 수 있었는데, 이는 미세캡슐 용액 외부의 온도가 감소함에 따라 전분물질로 구성된 피복물질의 노화에 의하여 미세캡슐이 파괴되는 것으로 생각되었다. 한편 25°C 이상의 높은 온도에서는 피복물질이 온도의 상승으로 인한 전분입자의 팽윤으로 미세캡슐이 다소 파괴되는 것으로 판단되었다. 이상의 결과로 볼 때, 정제어유 미세캡슐의 저장을 위한 최적 온도는 25°C인 것으로 판명되었으며, 상온에서도 장기 저장할 수 있을 것으로 생각된다.

한편 정제어유 미세캡슐의 최적 저장온도로 결정된

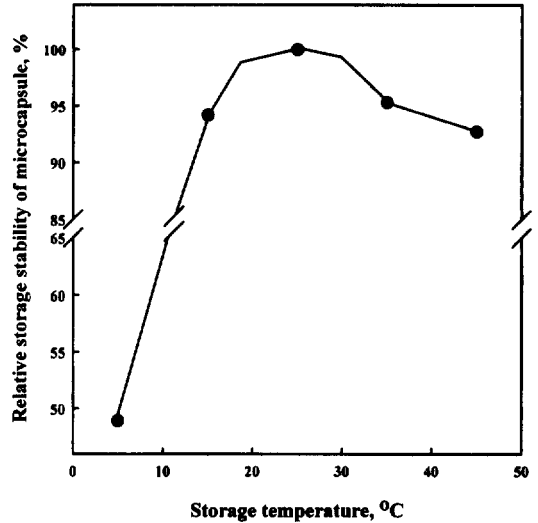


Fig. 9. Effect of temperature on the storage stability of the purified fish oil microencapsulated with waxy corn starch and agar.

Relative storage stability is described as the percentage ratio of [microcapsule not disrupted after storage]/[microcapsule not disrupted at initial time].

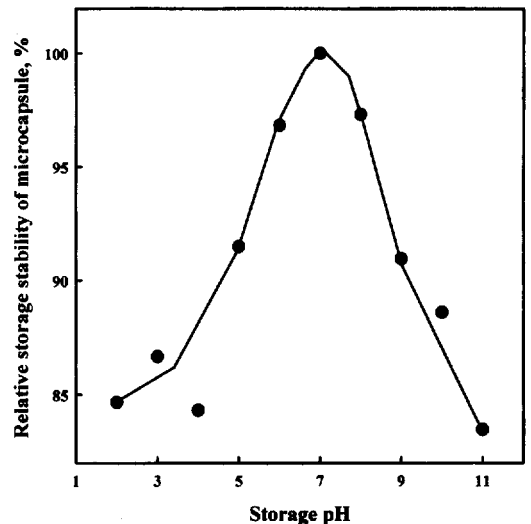


Fig. 10. Effect of pH on the storage stability of the purified fish oil microencapsulated with waxy corn starch and agar.

Relative storage stability is described as the percentage ratio of [microcapsule, not disrupted after storage]/[microcapsule not disrupted at initial time].

25°C에서 미세캡슐 분산액의 pH를 변화시키면서 저장 안정성을 측정된 결과 Fig. 10에 나타난 바와 같이 pH 7에서 가장 안정한 것으로 나타났으며, pH 4와 11에

서 각각 가장 큰 감소율을 보였다. 따라서 정제어유 미세캡슐 분산액 저장을 위한 최적 pH는 7.0인 것으로 판명되었다.

요 약

ω 3계 고도불포화 지방산의 한 종류인 DHA(docosahexaenoic acid, $C_{22:6}$, ω 3)를 함유하는 정제어유를 중심물질로 하고 agar와 waxy corn starch를 피복물질로 하여 미세캡슐화 공정을 수행할 때 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)을 이용하여 최적 조건을 확립하고자 하였다. 이때 정제어유 미세캡슐화의 수율을 정량화하기 위하여 5% cupric acetate-pyridine 용액에 발색정도가 뛰어난 oleic acid를 정제어유내에 20%(w/w) 농도로 첨가하여 중심물질로 사용하였다. 반응표면분석결과 최적화된 미세캡슐화 조건은 [중심물질, Cm]: [피복물질, Wm]의 비율 = 4.9:5.1 (w/w), 유화제(sorbitan monolaurate, H.L.B. 16.7)의 농도 = 0.48%(w/w), 분산매의 온도 = 19.4°C이었고, 실제 이 조건에서 99.9%의 수율을 보였다. 또한 최적 조건 하에서 제조된 미세캡슐물질 저장을 위한 최적 온도 및 pH는 각각 25°C와 pH 7.0인 것으로 나타났으며, 25°C, pH 7.0의 분산매내에서 7일간 저장한 후에도 99%이상의 미세캡슐이 안정한 상태로 존재함을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 1998년도 농림부 첨단농업기술개발사업(296070-3) 연구비 지원에 의하여 수행되었으므로 이에 감사하는 바이다. 또한, 본 연구를 수행함에 있어서 큰 도움을 준 유석식, 전한수, 한영진에게 깊은 감사를 드리는 바이다.

문 헌

1. Kim, J.W., Hong, J.W. and Byun, D.S. Oxidation stability model of fish oil. *J. Korean Soc. Food. Nutr.* 24: 384-388 (1994)
2. Chang, P.S. Structure of lipids pp. 30. In: *Lipid Chem-*

- istry, Seoul National University of Technology press, Seoul. (1998)
3. Han, D.S., Yi, O.S. and Shin, H.K. Effect of naturally occurring antioxidants on the oxidative stability of fish oil. *Korean J. Food Sci. Technol.* 23: 433-436 (1991)
4. Risch, S.J. Encapsulation. pp. 2-7. In: *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*. ACS symposium series No 590, Washington, DC (1995)
5. Versic, R.J. Flavor encapsulation. pp. 1-6. In: *Flavor Encapsulation*. ACS symposium series No 370, Washington, DC (1988)
6. Kim, H.J., Lee, K.W., Baick, S.J, Kwak, H.S. and Kang, J.O. Studies on the microencapsulation of ω -3 polyunsaturated fatty acid. *Korean J. Food Sci. Technology* 28: 743-749 (1996)
7. Claypool, L.L. Functional role of components of dairy products in processed cereal products. pp. 83-89. In: *Dairy Products for the Cereal Processing Industry*. American Association of Cereal Chemists (1984)
8. Pauletti, M.S. and Amestoy, P. Butter microencapsulation as affected by composition of wall material and fat. *J. Food Sci.* 64: 279-282 (1999)
9. Rabiskova, M. and Valaskova, J. The influence of HLB on the encapsulation of oil by complex coacervation. *J. Microencapsulation* 15: 747-751 (1998)
10. Smith, L.M. and Dairiki, T. Stability of milk fat emulsion. I. Preparation of model oil-in-water emulsions and evaluation of their stability. *J. Dairy Sci.* 58: 1249-1253 (1974)
11. Chang, P.S. and Cho, G.B. Optimization of the Conditions for the O/W Emulsion Containing ω -3 Polyunsaturated Fatty Acid. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 1114-1119 (1998)
12. Han, D.S. Characteristics of lipase from *Candida rugosa* and hydrolysis of triglycerides by the enzyme in the AOT-isooctane reversed micellar system. Ph. D. Thesis, Korea Advanced Institute of Sci. and Tech. Korea (1986)
13. Park, D.G. pp. 354. In: *Experimental Design*, Jayu Academy, Seoul (1995)
14. Baek, H.H. and Cadwallader, K.R. Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by-products. *J. Food Sci.* 60: 929-935 (1995)
15. SAS Institute, Inc. SAS User's Guide. Statistical Analysis Ssystem Institute, Cary, NC, USA (1990)
16. Park, J., Rhee K.S., Kim, B.K and Rhee, K.C. Single-screw extrusion of defatted soy flour, corn starch and raw beef blends. *J. Food Sci.* 58: 9-20 (1993)

(2000년 월 일 접수)