

더블매트릭스 캡슐화에 의한 유산균의 안정화

김대섭[†] · 박미의 · 유소연

한국외국어대학교부속 용인외국어고등학교 자연과학부
(2013년 12월 9일 접수; 2013년 12월 27일 수정; 2013년 12월 27일 채택)

Stabilization of Lactobacillus with Double Matrix Capsulation

Dae-Seop Kim[†] · Mi-Ey Park · So-Yeun Yoo

*Dept. of natural science, Hankuk Academy of Foreign Studies, Wangsan-ri, Yongin-si,
Gyeonggi-do, 449-854 Republic of Korea*

(Received December 9, 2013 ; Revised December 27, 2013 ; Accepted December 27, 2013)

요약 : 본 연구는 식품으로 사용하고 있는 유산균의 보존성과 안정성을 높이고, 맛과 시각적인 차별화를 주기 위한 방법으로 더블매트릭스 캡슐화에 대한 제조방법에 대하여 기술하였다. 일차캡슐화방법으로 5wt%의 슈크로스에스터를 이용하여 부드럽고 촉촉한 크림을 만들었다. 더블매트릭스캡슐화는 키토산과 아르긴산을 1:3의 비율로 혼합하여 제조하였을 때 가장 안정한 캡슐이 형성되었다. 더블매트릭스캡슐입자의 크기는 지름이 3mm이었다. 유산균의 pH변화에 대한 활성은 산성(pH=4.3±0.3)이나 중성(pH=7.12±0.2)상태에서보다 알칼리성 (pH=10.5±0.3)에서 더욱 우수한 활성을 보였다. 1개월 경과 후에서도 살아있는 유산균의 활성을 확인할 수 있었다. 식품산업에 응용으로 요거트안에 유산균캡슐이 함유된 제형과 5가지의 색상을 입힌 더블매트릭스캡슐을 개발하였다. 이상의 결과로 볼 때, 유산균을 안정화시키는 방법의 하나의 도구로써, 더블매트릭스캡슐이 식품산업에 크게 기여할 것으로 기대된다. 더 나아가 의약품산업에서 인슐린 등의 캡슐화를 통한 약물전달시스템 (drug delivery system) 및 화장품산업에서의 활성성분의 안정화 기술에 응용이 가능할 것으로 기대한다.

주제어 : 락토바실러스, 유산균, 캡슐, 안정성, 발효, 식품산업

Abstract : This study using yogurt of food in order to increase the conservativeness and stability of lactobacillus, to be deliciously flavored and give it visual differential effect, were described regarding making the preparing method of double matrix capsulation in food industries. Our study group was especially made to soft and moisture cream using 5wt% of sucrose ester emulsifier as first capsulation. Double matrix capsulation was formed with the best stabilized bead type capsules when it blended 1:3 ratio of chitosan and alginate. The bead diameter size was about 2.5~4mm (mean diameter: 3mm). Activity of lactobacillus containing cream for depending on various pH variations showed that alkalinity (pH=10.3±0.3) condition was higher than acidity (pH=4.3±0.3) and neutrality (pH=7.12±0.2) conditions. After a month, it also was certified to the activity of

[†]Corresponding author
(E-mail: danny960404@naver.com)

lactobacillus in incubated at 37° C in culture medium. As application of food industry, we developed the containing lactobacillus capsule and 5 colored kinds of double matrix capsulation in yogurt cream. As for above mentioned those results, one of tool to stabilize the living lactobacillus, doubled matrix capsulation greatly be expected to contribute to food industry. Furthermore, it can be expected to apply the drug delivery system (DDS) to active ingredients of stabilizing technologies at drug and cosmetic industries.

Keywords : Lactobacillus, capsule, stability, fermentation, food industry

1. 서 론

유산균이란? 다른 표현으로 젖산균이라고도 하며, 당류를 발효함으로 에너지를 획득하고 다량의 락트산을 생성하는 세균의 총칭하여 “유산균”이라고 부르는 이름은 관용명이고, 분류학적인 위치를 가리키는 것은 아니다[1, 3]. 유산균의 정의에 적합한 것은 lactobacillus, lactococcus, leuconostoc, pediococcus, bifidobacterium 등의 균속에 속한다. 형태적으로는 구균(lactococcus, pediococcus, leuconostoc)과 간균(lactobacillus, bifidobacterium)으로 나누어지고 그람(gram) 염색성은 양성을 가지고 있다[1]. 어느 것이나 산소가 적은 환경에서 잘 발육하여 각종 당으로부터 락트산을 생성한다[1, 2]. 산에 내성을 나타내는 것이 많고 영양요구성은 매우 복잡하여 당류 이외에 많은 종류의 아미노산이나 비타민을 요구하며 균종, 균주에 따라 미량 영양소를 가하지 않으면 생육할 수 없는 것도 있다. 한편, 식품산업에서 요구르트, 요거트 등 다양한 유산균이 함유된 제품들이 많이 출시되고 있다[3-5]. 그러나 이러한 유제품류들은 부패하기 쉬우며, 단맛과 신맛, 텁텁한 느낌 등 변하기 쉬운 단점이 있다. 음용방법으로는 마시는 제품과 떠먹는 타입으로 나누어져 있다. 이러한 제품들은 밀봉 상태에서는 어느 정도의 유통기한을 보증하고 있으나, 한번 마개를 열면 장기 보존성이 떨어지고, 맛이 쉽게 변하여, 장기간 보관이 어려운 문제점이 내재되어 있어왔다[6]. 유산균의 보존성을 높이는 방법으로 단순 모노캡슐화(mono-capsule)방법과 이중캡슐화하는 방법들이 연구되고 있는데, 공업화된 캡슐 공법에 대하여는 그다지 찾아보기 힘들다[10.13.15.16]. 유산균 발효형식에 따라 정상(homo)유산발효와 이상(hetero) 유산발효로 나뉘어 진다[1]. 유산균은 농산물이나 식품에서부터

사람이나 동물의 몸까지 자연계에 널리 분포하고 있으며 확실한 생육처를 알 수 없는 것도 있지만, lactococcus는 10°C에서 발육하지만 45°C에서는 발육하지 않고 최적온도가 30°C 전후의 구균으로 정상발효를 한다[2, 3]. 유제품의 스타터(starter)로서 식품가공에 사용되는 균종이 많다. Pediococcus는 정상발효를 하는 구균으로 4련의 세포배열을 한다. 생육온도, 유산의 선광성 등에 의해 8종류의 균종으로 분류되어 있다[1, 7]. Pediococcus는 leuconostoc과 함께 발효에 관련된 대부분의 균이 동물의 생체와는 관계가 적다. Leuconostoc은 이상발효하는 연쇄구균으로 당 분해, 성장, 생육 pH변화 등에 의해 4종류의 균종으로 분류되고 또한 L. mesenterides는 3가지 아균종으로 분류된다[1]. Lactobacillus는 정상발효와 이상발효를 하는 2종류로 대별되는데 생육온도, 당분해, 성장, 생성 유산의 선광성 등에 따라 55균종 11아균종으로 분류되어 있다[1,8,10]. Lactobacillus는 대표적인 유산균으로서 각종 발효식품에 사용되고 또한 장관 상재 균종으로서 사람이나 동물의 건강과 중요한 관계가 있다. Bifidobacterium와 L. mesenterides는 이상발효를 하는 편성혐기성 gram양성 간균으로서 주로 유산과 초산을 최종산물로 생산한다[6-8]. 러시아의 과학자 Elie Mechnikov가 불가리아 사람들이 장수를 누리는 이유는 lactobacillus로 발효된 발효유의 섭취 덕분이라는 것을 밝혀내어 노벨상을 받은 이래로 유산균, 프로바이오틱스의 기능성은 오랫동안 연구되어 오고 있다[9-13]. 위산과 담즙산에서 살아남아 소장까지 도달하여 장에서 증식하고 정착하여야 하며 장관 내에서 유용한 효과를 나타내어야 하고 독성이 없으며 비병원성이어야 한다. 전통적으로 프로바이오틱스 제품들은 lactobacillus 등의 유산균을 이용하여 만들어진 발효유 제품으로 섭취되어 왔으나, 최근에는

lactobacillus 이외에 bifidobacterium, enterococcus 일부 균주 등을 포함한 발효유뿐 아니라 과립, 분말 등의 형태로 제조되고 있다. 내산성, 내담즙성이 높으며, 면역조절기전, 생착능, 균총조정효과가 커서 기능성 식품의 원료로 전반적으로 많이 쓰이는 좋은 lactobacillus와 bifidobacteria종이다[14-18]. 이러한 유산균들의 안정성을 위하여 나노엔캡슐화(nano-encapsulation)를 하거나, 나노PIT에밀전을 통하여 이를 해결하는 연구들이 발표되고 있다 [19-20].

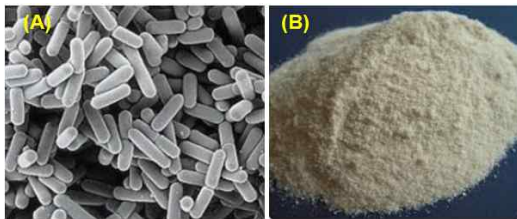


Fig. 1. Picture of lactobacillus (A) and powder type (B).

따라서 본 연구에서는 식감을 개선하면서 장기 보존을 용이하게 하게 하기 위하여 더블캡슐화를 통하여 안정성을 유지시키는 방법에 대하여 연구하였다. 첫째로 식용 가능한 슈크로스 에스테르를 사용하여 유산균이 크림을 만들어 일차 캡슐화한 다음, 키토산과 아르긴산 폴리머를 이용하여 최외각에 매트릭스 캡슐화하는 가능성을 시도하였다. 안정한 더블매트릭스캡슐화를 위하여 pH변화에 따른 캡슐의 안정성에 대하여 검토하였으며, 다양한 색상의 캡슐화를 통한 응용 연구를 수행하였다. 이 기술을 잘 응용한다면, 인슐린 등의 약물을 같은 방법으로 응용하여 약물전달 체계를 이용하는데 기여할 것으로 기대한다.

2. 실험

2.1 시약

본 실험에 사용된 유산균은 주성분이 락토바실러스균 (Sigma Aldrich) 으로 시약급을 사용하였으며, 이것이 함유된 슈크로스에스테르형크림을 만들기 위한 원료로서는 슈크로스에스테르 (Sigma

Aldrich), 제주산동백오일 ((주)바이오부텍, 한국), 스쿠알란(키시모토, 일본), 토크페롤 (Sigma Aldrich), 스테아르산(Sigma Aldrich)으로 식품용 등급을 사용하였다. 또한 더블매트릭스 캡슐을 만들기 위하여 키토산, 아르긴산은 Sigma Aldrich 사의 원료를 사용하였다. 캡슐막을 강화시키는 목적으로 칼슘클로라이드, 에탄올을 사용하였으며, pH조정제, 활성성분 등 본 실험에 사용된 모든 재료들은 시약용 및 식용이 가능한 등급의 원료를 별도의 정제과정이 없이 그대로 사용하였다.

2.2 실험기기

유산균이 함유된 크림은 호모믹서(Primix, 일본)를 사용하였고, 크림의 물성 및 안정성 평가는 CCD카메라가 장착된 광학현미경(Olympus, 일본)과 입도 분포를 측정하는 장비인 laser light scattering system (Melvern UK, Model Mastersizer 2000, 영국)을 이용하여 입도의 분포를 측정하였다. 매트릭스 캡슐을 만들기 위하여 캡슐성형기((주)바이오부텍, 한국)를 제작하여 사용하였다.

2.3 일차캡슐의 제조방법

일차캡슐인 슈크로스에스테르 크림을 만들기 위한 조성물을 Table 1에 나타내었다. 유산균이 함유된 크림의 조성물은 5wt%의 슈크로스에스테르, 3wt%의 스테아르산, 5wt%의 동백오일, 2wt%의 스쿠알란, 0.5wt%의 토크페롤을 사용하였으며, 글리세린, 키토산, 아르긴산은 Table 1에 나타낸 바 대로 사용하였다. 제조방법은 Figure 2에 나타낸 바와 같이 원료를 정확히 구분하여 계량한 후에 A상을 70~85°C가온 용해한다. 여기에 B상을 혼합하여 호모믹서를 사용하여 3,000rpm으로 3분 동안 교반한 후, C상을 넣어 1분 동안 교반하고, 25°C까지 냉각하여 제조를 완료한다. 이것이 1차 캡슐화하여, 매트릭스캡슐이 잘 될 수 있도록 하였다.

2.4 더블매트릭스 캡슐의 제조방법

더블매트릭스캡슐의 제조방법은 다음과 같다. Table 1의 조성대로 유산균이 함유된 크림을 제조한 것을 Figure 3과 같은 장치에 통과함으로써 안정한 매트릭스 캡슐을 제조하였다.

Table 1. Composition of 1st Capsule Sucrose Ester Cream

Phase ^a	Ingredients ^b	Content (wt%) ^c
A ^a	Sucrose ester ^d	5.0 ^e
	Stearic acid ^d	3.0 ^e
	Camellia Japonica Seed Oil ^d	5.0 ^e
	Squalane ^d	2.0 ^e
	Tocopherol ^d	0.5 ^e
B ^a	Glycerin ^d	10.0 ^e
	Chitosan (5% Solution) ^d	5.0 ^e
	Sodium Alginate (5% Solution) ^d	8.0 ^e
	Water ^d	56.5 ^e
C ^a	Lactobacillus Powder ^d	5.0 ^e
Total ^d		100.0 ^e

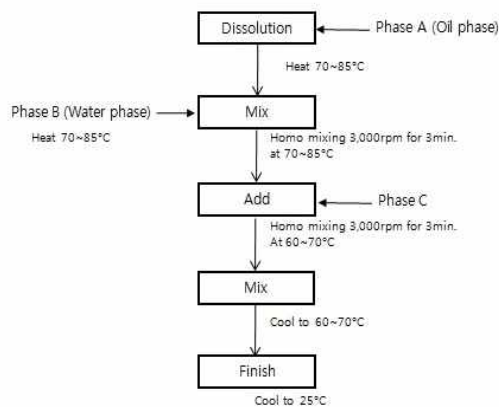


Fig. 2. Preparing method 1st capsule.



Fig. 3. Pictures of preparing equipment: (a) manufacturing equipment, (b) magnified needles (diameter: 0.5mm)

일차 캡슐화한 부드러운 크림을 Figure 3의 장

치 vessel에 옮겨 담아 밀폐한 다음, 적은 압력으로 공기를 주입하면 작은 노즐을 통하여 바늘을 통해 한 방울씩 낙하하게 된다. 이때 미리 준비한 1%의 칼슘용액, 5%의 에탄올용액에 떨어뜨리면 딱딱한 캡슐이 형성된다.

2.5 유산균의 안정성 측정법

유산균이 안정성을 측정하기 위하여 50배 희석한 유산균용액을 컨트롤로 하고 이중매트릭스 캡슐화 시료를 가지고 아가배지에 로딩하여 37°C 인큐베이터에 넣어 유산균이 살아있는지를 현미경과 유관으로 확인하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 이중 매트릭스 캡슐의 특징점

본 연구에서 주의해야 할 사항이 몇 가지가 있는데, 인체에 무해하며, 먹을 수 있어야 한다는 것이다. 또한, 식품공전에 나와있는 성분으로 구성되어야 하며, 유산균과 혼합했을 때 반응성이 없이 안정해야 한다. 이를 만족하면서 안정한 더블캡슐화에 성공하였다. 유산균을 이중매트릭스 캡슐화를 통한 특징점은 여러 가지가 있다. 키토산과 아르긴산을 적용한 가장 큰 특징으로는 식용이 가능하다는 것이며, 고온 및 산성이나 알칼리성에서도 안정하다. 키토산은 매우 안정, 안전한 물질로 보습성이 우수할뿐더러 항산화 활성이 우수한 물질로 알려져 있다[11]. 물성적 특징으로는 불용성이나 구연산, 초산, 염산 등의 산성 용매에서 염을 형성하여 용해할 수 있다. 키토산은 알칼리에서 겔이 형성하여 침전하고, 음이온성 고분자와 겔을 형성한다[11,16]. 또한 알긴산은 해조류에서 추출한 산성물질로 물에는 불용이나 물을 흡수하여 겔이 되는 성질을 가지고 있다 [7,9,11]. 알긴산은 알칼리에서 에탄올과 축합하여 Na, K, Ca으로 치환시켜, 수용성을 높여 사용하는 경우가 대부분이다. 본 연구에서는 Na으로 치환시킨 아르긴산을 그대로 사용하였다. 본 연구에서는 키토산과 아르긴산을 1:3으로 혼합하여 사용하였으며, 이러한 특징을 바탕으로하여 슈크로스에스터형 크림을 만들었고, 두 원료를 매트릭스로 하여 개발하였을 때, 보다 안정하고 경도가 높은 캡슐제작이 가능하였다. 두 혼합물질을 사용한 가장 큰 이유는 키토산은 항박테리아 효과가 우수하여 별도의 보존제가 필요 없이 장기

간에도 안정하게 보존할 수 있었다. 유산균의 고유의 특성을 그대로 유지하면서, 키토산의 항산화 및 항노화 효과를 그대로 적용할 수 있으며, 아르긴산의 보습성 등을 함유하고 있어 다기능의 효과를 가지는 소재개발이 가능한 것이 특징이다.

3.2 일차 슈크로스에스터 크림의 물성

Table 1의 조성을 가지고 만든 일차 캡슐유화물인 슈크로스에스터형 크림의 외관은 백색이었으며, 부드러운 점성을 가진 겔이 형성되었다. 제조된 크림의 pH미터로 10%용액으로 희석하여 측정된 결과, pH는 5.8~6.90으로 약산성을 띠고 있었다. 점성도는 Brookfield viscometer, 스피들 No.4, 30rpm, 1분간 작동하여 측정된 결과 7,000~15,000cps로 부드러운 크림타입이었다. 광학현미경으로 측정된 크림의 입자크기는 약 5~50 μ m이었다. 평균입자 크기는 20 μ m로 안정한 상태를 유지하고 있음을 알 수 있었다(Figure 4). 비중계로 측정된 결과, 비중이 0.95~1.05로 물보다 약간 낮은 비중을 가지고 있었다. 맛은 약간 신맛이었고, 별도의 안정화제 없이 그대로 이차 매트릭스캡슐을 만드는데 사용하였다.

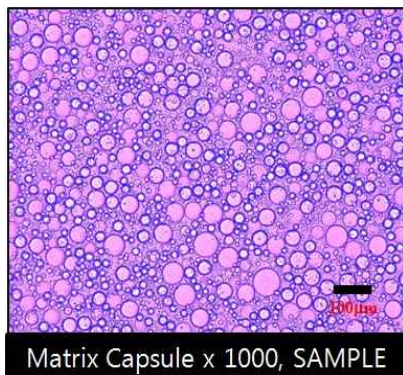


Fig. 4. Microscope of 1st sucrose ester cream in corporate with lactobacillus; observed magnification x 1,000 times, photo-light microscope.

3.3 더블매트릭스 캡슐화

더블매트릭스캡슐은 Figure 3에 나타난 장치로 실행하였다. 장치는 캡슐을 쉽게 만들 수 있도록 별도로 제작한 기기를 사용하였다. Figure 3(A)는 캡슐을 만들 수 있는 장치의 전면이며, 특별히 제작한 바늘은 잘 안보이기 때문에 확대하여

Figure 3(B)에 나타내었다. 우선 원형의 좁쌀만한 크기의 캡슐을 만들기 위하여 제작한 바늘의 내경은 지름이 0.5mm크기로 제작하였다. 내경이 0.6mm, 0.7mm, 1mm크기의 바늘을 제작하여 실험하였으나, 본 연구에서는 작은 입자를 목적으로 하였기 때문에 0.5mm크기로 고정하여 실험하였다. 또한, 안정한 이중매트릭스캡슐막을 형성시키기 위하여 1%의 칼슘용액, 5%의 에탄올 용액, 구연산나트륨으로 pH=10.5 \pm 0.3이 되게 500mL를 준비하였다. 1차 크림을 vessel에 넣은 다음 공기 압력을 주입하여 내용물이 주사기 바늘을 통과하고 미리 준비한 용액에 떨어뜨리면 유산균이 함유된 딱딱하고 안정한 캡슐이 만들어 졌다.

이것을 꺼내어 맑은 물에 2~3회 씻어내어 깨끗한 입자의 캡슐을 만들 수 있었다. 이 캡슐을 Figure 5에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 좁쌀모양의 크기로 만들어졌으며, 캡슐의 크기는 지름 3mm크기의 입자로 형성되었다. 캡슐에 보기 좋게 하기 위하여 식용색소를 넣어 다양한 색깔을 가질 수 있도록 하였다. Figure 5(A)는 흰색의 캡슐, Figure 5(B)는 하늘색의 캡슐, Figure 5(C)는 적색의 캡슐, Figure 5(D)는 노란색의 캡슐을 만들 수 있었다.

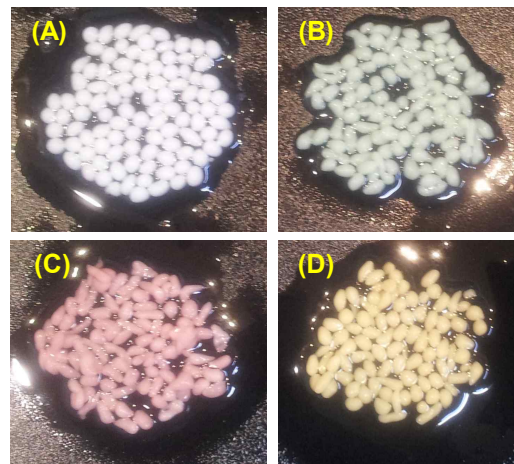


Fig. 5. Various capsulations of 4 colored matrix capsulations incorporated with lactobacillus with chitosan and alginate.

모두가 유산균이 함유된 캡슐이다. 유산균은 동결 건조된 프로바이오틱스를 20배로 희석하여 크림에 넣었다. 키토산과 아르긴산의 1:3의 비율

로 혼합하여 0.8~1.0wt%로 용해한 것에서 가장 안정한 캡슐이 만들어졌다. 그 이하의 농도에서는 매트릭스막이 안정하지 않았으며, 더 높은 농도에서는 너무 딱딱하게 형성되어 모양이 만들어지지 않았으며, 바늘구멍의 막힘현상이 있어 구상의 비드캡슐을 만들 수가 없었다. 또한 캡슐의 표면은 매끄러운 상태였으며, 입자는 동그란 모양으로 나타났다. 이것을 일반적인 요거트나 빵 등에 혼합하여 식용으로 사용한다면, 보다 독특한 제형의 기능성식품으로 개발될 수 있을 것으로 기대된다.

3.4 pH변화에 따른 유산균의 활성

유산균을 매트릭스 캡슐로 만들었을 경우 그 활성이 그대로 유지되는지 시험하였다. 일차 슈크로스형 크림의 pH를 조절하기 위하여 산성은 구연산용액으로 조절하였으며, 알칼리성은 구연산나트륨용액으로 조절하여 크림을 만들었으며, 이에 따른 유산균의 활성 여부를 확인하였다. 시료는 pH=4.3±0.3, pH=7.12±0.2, pH=10.3±0.3로 조절한 3가지의 시료를 만들어 사용하였다. 장기 보관된 살아있는 유산균의 활성이 있는지에 대한 실험결과를 Figure 5에 나타내었다. 우선 초기상태의 활성도는 구체적으로 나타내지는 않았으나, 콘트롤군과 더블매트릭스캡슐군 모두 유산균의 활성이 아주 좋은 결과를 얻었다. 한편, 동일한 시료를 냉장고에 1개월간 보관한 시료를 가지고 활성을 가지고 있는지의 여부를 관찰하였다. Figure 6(B)에 나타낸 바와 같이 캡슐화되지 않은 콘트롤 배지에서는 산성, 중성, 염기성에서도 유산균의 활성도는 그다지 높지 않았다. 그러나 매트릭스캡슐화군에서는 산성이나 알칼리성 모두 유산균의 활성이 우수하다는 것을 확인 할 수 있었다 Figure 6(A). 특히, 산성이나 중성 상태보다는 알칼리성 상태에서 활성이 더 높은 것을 알 수 있었다.

3.5 데리버리 시스템의 응용 및 기대효과

본 연구를 통하여 얻어진 결과를 토대로 하여 유산균을 안정화하는데 새로운 도구로써 사용이 가능하며, 매트릭스 캡슐을 만들 수 있는 장비를 이용하여, 용도에 따라 캡슐의 크기를 다양하게 조절이 가능하도록 다양한 응용이 가능 할 것으로 사료된다. 또한 유산균이 위에서 대부분 흡수 되는데 반하여 이 결과를 이용한다면 위에서 일부 분해가 되면서 장까지 도달할 수 있는 새로운 캡슐이 만들어 질 것으로 전망하고 있다. 이들

중 Figure 7에 나타낸 것은 요거트 안에 캡슐을 넣어서 보기도 좋고 맛도 보존할 수 있는 제형이 가능하다는 것을 예로 제시하였다.

또한 Figure 8은 더블매트릭스를 응용하여 5종류의 건강기능식품으로 알려진 활성성분을 다양한 용도에 맞게 사용할 수 있도록 5가지 색상을 입혀서 제작하였다. Figure 8의 (A)는 인슐린, (B)는 알파 토크페롤, (C)는 스쿠알렌, (D)는 한국홍삼추출물, (E)는 알파리포산을 적당량 로딩한 캡슐을 개발하였다. 이 유효성분에 대한 안정도는 캡슐화하지 않은 것보다 변색, 이취 등에서 월등히 안정하게 유지되는 것을 알 수 있었다. 이는 더블캡슐에 의하여 공기와의 접촉을 최소화하였음을 반증해 주는 것이 아닌가 고찰할 수 있었다.

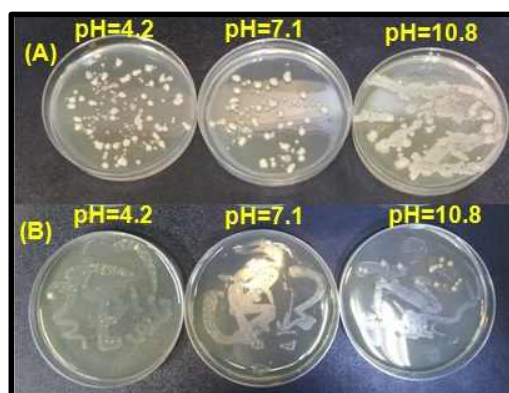


Fig. 6. Activity of lactobacillus compared control with doubled matrix capsulation in agar badge incubated at 37° C.

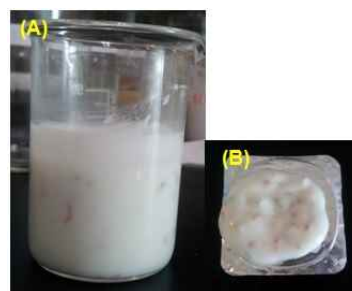


Fig. 7. Pictures of application of yogurt containing 10wt% of doubled matrix capsules in food industry.

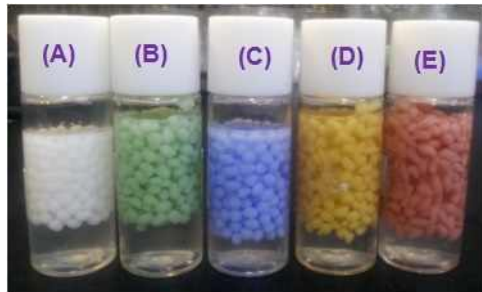


Fig. 8. Various doubled matrix capsules containing active ingredients; (A) insulin, (B) alpha-tocopherol, (C) squalene, (D) Korean ginseng extract, (E) alpha lipoic acid

4. 결론

본 연구에서는 식품으로 사용하고 있는 유산균의 보존성과 안정성을 높이고, 맛과 시각적인 차별화를 주기 위한 방법으로 더블매트릭스 캡슐화에 대한 방법을 시사하였다.

첫째, 1차 캡슐화방법으로 5wt%의 슈크로스 에스터를 이용하여 부드럽고 촉촉한 크림을 만들 수 있었다. 둘째, 2차 매트릭스캡슐로는 키토산과 아르긴산을 1:3의 비율로 혼합하여 캡슐화를 하였을 때 가장 안정한 캡슐이 형성되었다. 더블매트릭스 캡슐의 크기는 3mm로 표면이 매끄럽고 단단한 비드형태로 만들 수 있었다. 셋째, 유산균의 pH변화에 대한 활성은 산성에서보다 알칼리성에서 더욱 우수한 활성을 보였으며, 1개월 경과 후에서도 살아있는 유산균의 활성을 확인할 수 있었다. 넷째, 건강식품산업에 응용으로 요거트안에 캡슐이 함유된 제형과 5가지의 활성성분을 함유하면서, 다양한 색상을 입힌 더블매트릭스 캡슐을 제작하여 소개하였다. 이를 토대로 하여 다양한 산업분야에서 활용이 가능토록 제시하였다.

이상의 결과로 볼 때, 유산균을 안정화시키는 방법의 하나의 도구로써, 더블매트릭스 캡슐이 식품산업에 크게 기여할 것으로 기대되며, 더 나아가 의약품산업에서 인슐린의 캡슐화를 통한 약물 전달시스템 (drug delivery system) 및 화장품산업에서의 활성성분의 안정화 기술에 응용이 가능할 것으로 기대한다.

감사의 글

본 연구는 한국외국대학부설 용인외국어고등학교 자연과학부와 (주)바이오뷰텍 기술연구소와 공동연구로 진행하여 완성되었습니다. 특히 실험이 원만하게 실행될 수 있도록 지도하여 주신 본교 자연과학부의 생물을 담당하시는 유소연 선생님, 박미의 선생님과 실질적인 캡슐화가 만들어질 수 있도록 아낌없이 연구비지원을 해주신 (주)바이오뷰텍 기업부설연구소의 김인영 박사님께 깊이 감사드립니다.

References

1. Asa Ljungh and Torkel Wadstrom, *Lactobacillus molecular biology: from genomics to probiotics*, Caister academic press, p.30-93, Faculty of medicine, Sweden (2009).
2. S. Kumalaningsih, M. Padaga, Suprayogi, and V. Rizky P, Encapsulation of lactobacillus sp. with moringa oleifera leaves extract for food supplement, *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, 1(7), 273(2011).
3. Benjamin F. Hammond, Burton Rosan, and Ned B. Williams, Encapsulated lactobacillus: specific capsular reaction of lactobacillus casei, *J. Bacteriol.*, 88(6), 1807(1964).
4. S. J. Kim, S. Y. Cho, S. H. Kim, O. J. Song, I. S. Shin, D. S. Cha, and H. J. Park, Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in lactobacillus acidophilus ATCC 43121, *LWT*, 41, 493(2008).
5. A. Sohail, M. S. Turner, A. Coombes, and B. Bhandari, Following double encapsulation in alginate and maltodextrin, *Food and Bioprocess Technology*, 6(10), 2763(2013).
6. L. E. Shi, Z. H. Li, Z. L. Zhang, T. T. Zhang, W. M. Yu, M. L. Zhou, and Z. X. Tang, Encapsulation of lactobacillus

- bulgaricus in carrageenan–locust bean gum coated milk microspheres with double layer structure, *LWT – Food Science and Technology*, 54, 147(2013).
7. Viladot J. L., Fernandez B. A., and Delgado R., Versatile delivery system based on microemulsions and microdispersions–microencapsulation of water–soluble and insoluble actives, *Bioencapsulation Innovations*, March, 4(2012).
 8. A. Munin and F. Edwards–Levy, Encapsulation of natural polyphenolic compounds, *Pharmaceutics*, 3, 793 (2011).
 9. M. Matos, A. Timgren, M. Sjøo, P. Dejmeck, and M. Rayner, Preparation and encapsulation properties of double pickering emulsions stabilized by quinoa starch granules, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 12th, 1(2012).
 10. K. Tominaga, N. Hongo, M. Karato and E. Yamashita, Cosmetic benefits of astaxanthin on humans subjects, *Biochemica Polonica*, 59(1), 43(2012).
 11. K. G. H. Desai and H. J. Paerk, Encapsulation of vitamin C in tripolyphosphate cross–linked chitosan microspheres by spray drying, *Journal of Microencapsulation*, 22(2), 179(2005).
 12. Y. Hong, H. Song, Y. Gong, Z. Mao, C. Gao, and J. Shen, Covalently crosslinked chitosan hydrogel: Properties of in vitro degradation and chondrocyte encapsulation, *Acta Biomaterialia*, 3, 23(2007).
 13. I. Batubara, D. Rahayu1, K. Mohamad, and W. E. Prasetyaningtyas, Leydig cells encapsulation with alginate–chitosan: optimization of microcapsule formation, *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, 2, 15(2012).
 14. M. Chavarri, I. Maranon, R. Ares, F. C. Ibane, F. Marzo, and M. C. Villaran, Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate–chitosan capsules improves survival in simulated gastro–intestinal conditions, *International Journal of Food Microbiology*, 142, 185(2010).
 15. R. K. Das, N. Kasoju, and U. Bora, Encapsulation of curcumin in alginate–chitosan–pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6, 153(2010).
 16. A. J. Ribeiro, C. Silva, D. Ferreira, and F. Veiga, Chitosan–reinforced alginate microspheres obtained through the emulsification/internal gelation technique, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25, 31(2005).
 17. X. Wang, K. X. Zhu and H. M. Zhou, Immobilization of glucose oxidase in alginate–chitosan microcapsules, *Int. J. Mol. Sci.*, 12, 3042(2011).
 18. B. Ismail and K. M. Nampoothiri, Exopolysaccharide production and prevention of syneresis in starch using encapsulated probiotic lactobacillus plantarum, *L. plantarum*, *Food Technol. Biotechnol.*, 48 (4), 484(2010).
 19. Zhoh C. K., Han C. G., Hong S. H., Kim I. Y., and Lee H. S., Nano capsulization of ceramide and the efficacy of atopy skin, *Society of Cosmetic Scientists of Korea*, Nov, 268(2003).
 20. S. J. Joo, H. S. Kim, J. K. Lee, M. H. Lee, and I. Y. Kim, Nano–emulsion of a rapeseed oil extract originated from Jeju with PIT emulsifying system, *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, 29(3), 486(2012).