

Cyclodextrin을 이용한 분자단위 나노캡슐화 기술 및 연구동향

천 지 연
제주대학교

I. 연구 배경

나노기술 및 나노식품의 정의

식품 산업 기술의 발전은 다양한 물리적인 방법으로 단순 가공하는 것으로 시작하여 화학 공학의 도입에 의해 특정 성분의 분리, 미세한 분쇄를 통한 소재화 등을 통해 발전해 왔다.¹⁾ 2000년 초반부터 세계 각국에서 식품에 대한 나노기술에 대한 많은 연구와 산업화를 위한 노력을 하고 있다. FAO에서 정의 하는 나노식품은 “나노기술을 활용하여 식품 시스템을 구축하고 고안하여 유용물질을 생산하거나 건강증진에 도움이 되는 신소재를 이용한 기능성 식품”으로 정의하고 있다. 국내의 경우 아래와 같이 나노기술 및 나노식품에 대해 정의하고 있다.

(나노기술개발촉진법 제2조 1항)

“나노기술”이란 다음 각 목의 기술을 말한다.

- 가. 물질을 나노미터 크기의 범주에서 조작·분석하고 이를 제어함으로써 새롭거나 개선된 물리적·화학적·생물학적 특성을 나타내는 소재·소자 또는 시스템(이하 “소재 등”이라 한다)을 만들어 내는 과학기술
- 나. 소재 등을 나노미터 크기의 범주에서 미세하게 가공하는 과학기술

(제48회 식품의약품안전전문포럼, 식품의약품안전처)

“나노기술용식품”이란 식품의 제조, 생산, 가공, 조리, 저장, 포장 등의 과정에서 직접 또는 간접적으로 나노기술이 적용된 식품(건강기능식품 포함), 식품첨가물, 기구, 또는 용기, 포장 등을 말한다

세계적으로 나노식품 개발에 관한 연구 분야가 확대되어 가고 있으며 그 수요가 해마다 증가하고 있지만, 학술적 연구와 기술개발에 집중되었던 반면 나노 기술의 농업생산이나 식품산업의 응용은 아직 초기 단계에 있다. 정부는 2001년 ‘나노기술종합발전계획’ 수립 이후, ‘나노기술개발촉진법’ 제정 등 나노기술개발을 위한 정책적 지원을 지속하여, 나노기술분야 정부 연간 지원액은 2001년 1,052억 원에서 2012년에는 2,834억 원 규모까지 확대되었으며 누적액 기준 2조 9천억 원 투자하고 있다.²⁾ 약리학 분야에서 나노기술은 이미 오래 진행되어온 분야로 현재 식품분야로 넘어와 식품산업에서 약간의 기술을 차용하고 있는 실정 가운데 실험실 단위에서 소량으로 제조된 제품에 대한 연구는 이미 다수의 논문을 통해 발표되어 온 실정이다. 연구적인 측면에서는 선진국에 비해 나노기술에 대한 노력은 활발하나 해외에 비해 제품화가 부족하며 고부가가치 시장은 여전히 미성숙한 상태이다. 또한 우리나라 식품산업 중 나노식품분야는 다른 제품군에 비해 연구와 지원은 상대적으로 미미한 실정이다. 나노식품에 대한 기술이 식품 소재 범위나 그에 따른 기술이 광범위하게 산재 되어 있고 문제는 산업체 현장 적용할 만한 기술은 매우 미흡한 실정으로 산

1) 신정규, 식품의 신제품 개발 및 기술연구동향, 진흥원, 보건산업 기술동향 2005 여름호(통권 22호)

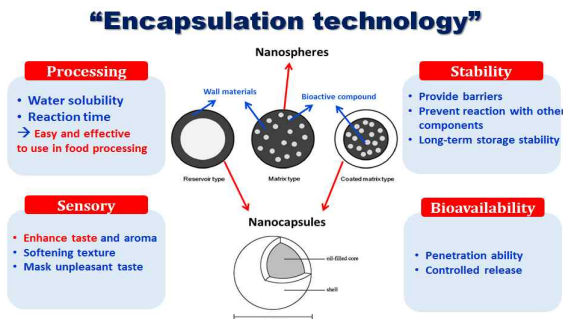
2) 김석필 외. 나노기술 상용화 현황 진단과 혁신과제. KISTEP. 연구보고 2014-016.

업체 현장에 적용해 보면 나노 크기가 제조되지 않거나, 수율에서 현저히 떨어진다.

현재 적극적인 정부의 투자의 결과로 원천기술과 인력 및 인프라 확대의 성과는 어느 정도 달성하였으나, 시장진출 및 산업의 확대 등 본격적인 산업화 및 제품화를 위한 노력을 다양한 연구기관에서 활발히 진행중이다. 국내에서는 실험실 단위에서 개발 및 규명된 나노식품의 공장 적용 실현 가능한 기술 개발이 매우 부족한 상태로 실질적인 기술 개발이 필요하다.

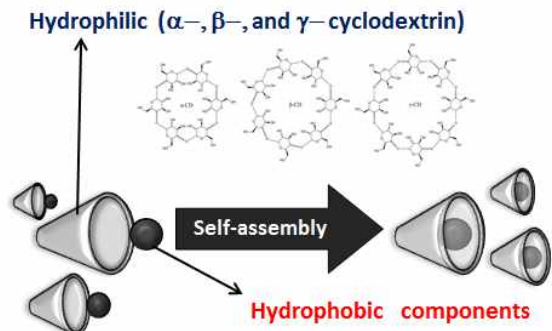
나노캡슐화(Encapsulation)

식품산업에서 나노기술의 적용은 주로 입자나 캡슐의 형태로 만들어진다. 특히 캡슐화 공정(encapsulation)은 기능성 식품의 제조를 위한 가공기술 중 하나이며, 기능성식품의 효율성 증대와 안전성, 안정성 강화가 주요 목적이다. 각종 기능성 물질들 즉, 천연추출물, 약물, 비타민, 항산화물질(antioxidant), 향료, 색소 등은 빛, 산소, 수분, 온도 등의 외부요인으로부터 영향을 받아 손상되기 쉬우며, 가공 및 유통 과정 동안 안정성이 저하되어 활성이 감소하게 된다. 따라서 이러한 기능성 물질 혹은 활성화 물질(active substance)을 외부 환경으로부터 보호하고 안정성을 유지하기 위하여 캡슐화 기술이 필요하며, 전 세계적으로 지속적인 나노식품 연구개발이 이뤄지고 있다. 즉 기능성 물질이 그 역할을 제대로 수행하기 위해선, 캡슐화 기술이 필요하다.



Cyclodextrin을 이용한 분자단위 나노캡슐화

분자단위 나노캡슐화(Molecular Inclusion Encapsulation)는 기능성 식품소재를 Cyclodextrin(CD) 등의 탄수화물에 포접시켜 수용성화 하는 기술이다. CD 내부는 일정한 크기의 빈공간이 있고 외부는 친수성이기 때문에 내부에 소수성 물질을 포접할 수 있으며 친수성인 외부로 인하여 용해도가 증가될 수 있다. 즉 인클루전 코팅 방법은 shell(혹은 wall material)에 해당되는 물질(Host)의 소수성 공간에 코팅하고자 하는 물질(guest)이 포함되어 들어가 분자단위의 코팅과정이 이루어지는 제조방법이다. 코팅하고자 하는 물질은 host 공간 내에서 수소 결합, 반데발스 힘, 열역학적 엔트로피 평형상태 도달로 서로 결합되어 있다. 식품산업체에서 molecular inclusion 방법은 상업적으로 아직 보편화 되어 있지 않다.



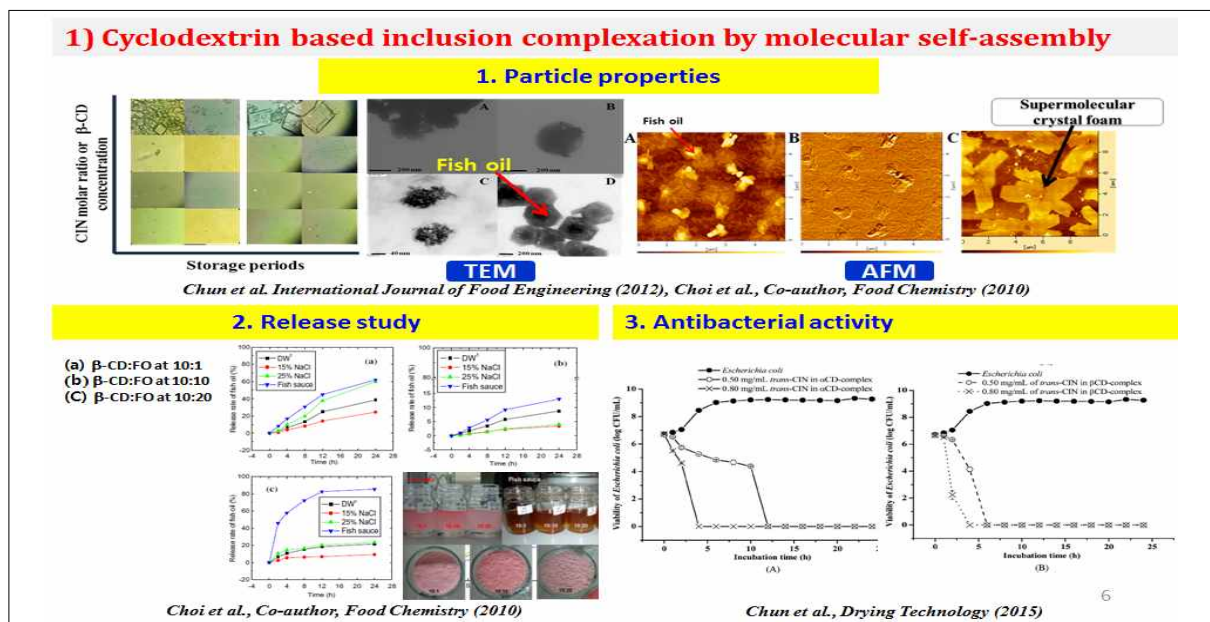
CD는 다당류가 6, 7, 8개로 서로 연결되어 링 (α -, β -, γ -CD)을 구성, 링 공간 안에 다양한 소수성 essential oil을 포접시켜 휘발되는 성분을 막을 수 있다. 이 방법은 분자 단위의 분산 상태로 5-8 Å의 크기 내에 정유를 코팅 릴리즈 속도와 외부 환경에 따른 릴리즈 효과를 연구할 수 있다. Cyclodextrin molecular inclusion 방법의 가장 큰 장점은, 분자단위의 코팅 기술, 고온, 저온에서도 안정적인 화학적 구조, 그리고 일반적인 emulsion 입자들의 릴리즈 양상과 다른 고유의 릴리즈 모습을 지니고 있다는 점이다³⁾.

2. 연구 내용

베타 사이클로덱스트린(beta-CD)을 이용하여 분자단위로 포집한 기능성 에센셜 오일의 물리적 특성을 관찰한 연구들이며, 앞서 설명한 바와 같이 본 연구에서 사용한 wall material로는 beta-CD가 사용되었다. Beta-CD은 천연의 재료에서 유래되는 무독성 물질이다. 구조적으로 외부는 친수성, 내부는 소수성인 특징으로 beta-CD 내부에 소수성 물질을 포집할 수 있는 능력을 지닌다. 인클루전방법을 통해 이취나, 이미 등을 메스킹하는 효과가 있으며, 외부로부터의 화학적 반응 혹은 미생물오염으로부터 포집된 물질을 보호하는 능력도 뛰어나다. 이로 인해 식품의 저장성을 증진 시키는데 유용하다. 포집하기 위한 기능성 물질로는 시나몬오일, 유진올, 피시오일 등을 이용하였다. 또한, beta-CD를 emulsion-diffusion법을 이용한 나노캡슐화 공정에 활용하여 동해방지제로서의 특성을 관찰해보았다.

1) 다양한 기능성 에센셜 오일의 사이클로덱스트린(beta-CD)에의 분자단위 포집공정 및 물리적 특성 관찰

○ Beta-CD에 시나몬오일(cinnamon oil)을 포집한 후 저장 기간 동안의 물리적 특성변화를 관찰하였다. 인클루전캡슐을 생성하기 위한 다양한 농도의 beta-CD과 시나몬오일 간의 최적의 포몰레이션을 확립하고자 하였다. 또한 10일 동안의 저장기간동안 물리적 변화를 관찰하고자 하였다. 다양한 농도의 beta-CD 솔루션을 만들고 여기에 다양한 몰비율의 시나몬오일을 첨가한 후 4시간 동안 셀프-어셈블링에 의해 인클루전 캡슐을 제조 후 저장하면서 인클루전캡슐의 물리적 변화를 관찰하였다. beta-CD농도, 시나몬오일의 몰비율, 그리고 저장시간에 따라 입자들의 응집이 증가되고 나아가 침전되는 현상이 나타났다. 특히 1.8 wt% 와 1.2 wt% beta-CD농도에서 입자사이즈가 시나몬오일의



3) 민상기, 분자단위 Inclusion과 polymer의 정전기력 다중막 형성기작을 이용한 Cinnamon oil 나노 및 마이크로 캡슐화, NRF 일반연구자지원사업연구보고서(2014)

물비율이 증가함에 따라 급격히 커지는 것을 볼 수 있었다. 시나몬오일의 포집 효율은 모든 조건의 인클루전캡슐에서 90% 이상의 높은 효율을 보였고, 제조 직후 보다 24-48시간 이후 인캡슐레이션 효율이 높은 것으로 측정되었다. 저장기간 동안 어셈블링 당시 포집 되지 않았던 시나몬오일이 프리beta-CD 혹은 인클루전캡슐들 사이로 포집되는 현상이 일어나 캡슐화 효율이 증가됨으로 사료되었다. 광학현미경 관찰 이미지에서도 역시 beta-CD농도와 시나몬오일 간의 물비율 (m:m), 저장기간에 따라 응집에 되면 되며 입자의 결정이 커짐을 볼 수 있었다. 특히 1:3 (m:m) 비율에서 입자가 크고 응집되는 것을 관찰하였다.⁴⁾

- 두번째 연구에서는 beta-CD에 어셈블링 시간에 따라 유진올(eugenol)을 포집한 후 다양한 상대습도 환경에 안정성을 측정해 보았다. 어셈블링 시간에 따라 beta-CD에 유진올을 포집한 후 물리적 특성을 관찰하고 다양한 상대습도의 환경에서 그 안정성을 테스트해 하였다. 어셈블링 시간에 따라 입자의 사이즈는 증가되었으며 8시간 어셈블링은 650 nm, 24시간 어셈블링은 1 μm이상의 입자 사이즈를 나타냈다. 유진올의 인캡슐레이션 효율은 2시간의 어셈블링 시간을 제외하고 약 90%의 높은 효율을 보였다. 입자 전하는 24시간 어셈블링 시간의 인클루전캡슐이 가장 높았으나 표면장력은 반대로 가장 낮은 결과를 나타냈다. 투과전자현미경 관찰이미지에서도 입자사이즈 결과와 마찬가지로 어셈블링 시간이 길어질 수록 응집이 증가 되고 입자의 사이즈가 커지는 것을 볼 수 있었다. 터비스칸을 이용하여 인클루전 콤플렉스의 분산안정성을 측정한 결과 시간이 지남에 따라 입자

의 사이즈가 커지고 응집되는 양이 증가하며 침전물이 생기는 것을 관찰할 수 있었다. 다양한 상대습도의 환경에서 유진올의 릴리즈 되는 정도는 측정해 보았다. 모든 상대습도 환경에서 24시간의 어셈블링 인클루전캡슐에서 유진올 보유량이 가장 높게 측정되었으며 어셈블링 시간에 따라 유진올의 릴리즈 되는 양이 감소됨을 볼 수 있었다. 다양한 어셈블링 시간에 따라 유진올을 인클루전 한 결과, 24시간 인클루전캡슐이 입자 사이즈는 가장 컸으나 응집현상으로 이뤄진 beta-CD의 두꺼운 벽에 의해 유진올이 릴리즈 되는 것은 방어하는 효과를 나타낸 것으로 사료된다.⁵⁾

- Beta-CD에 어유오일(fish oil)을 포집한 후 다양한 염농도의 염용액, 실제 피시소스에서의 안정성을 측정하고 다양한 상대습도의 환경에서도 어유오일의 릴리즈 되는 정도를 측정하였다. 또한 실제 식품적용에 적합한 인클루전캡슐의 포물레이션을 확립하고자 하였다. 어유오일 인클루전 콤플렉스 제조하여 동결건조 전과 후에 인캡슐레이션 효율을 측정하였다. 동결건조 전 피시오일의 첨가 비율에 따라 모두 80% 이상의 효율을 나타냈다. 10:20 비율에서 동결건조 전과 후에 가장 높은 보유율을 나타냈다. 다양한 농도의 염용액과 실제 피시소스에 첨가하여 24시간 동안 어유오일의 릴리즈 정도를 측정하였다. 10:10과 10:20 비율의 인클루전 캡슐에서 80% 이상의 높은 보유율을 나타냈다. 하지만 10:20비율에서는 실제 피시소스 환경에서는 저장 초기에 많은 양이 릴리즈 되는 것이 관찰되었다. 모든 비율의 인클루전캡슐에서 0% 염용액 보다는 15% 염용액에서 더욱 안정적인 것으로 나타났습니다. 다양한 상대습도와 온도

4) Chun et al., Effect of Various Concentration of β-Cyclodextrin Inclusion Complexes Containing trans-Cinnamaldehyde by Molecular Self-Assembly, International Journal of Food Engineering. Volume 11, Issue 5, Pages 619 - 627 (2015).

5) Chun et. al., Characterization of β-cyclodextrin Self-Aggregates for Eugenol Encapsulation, International Journal of Food Engineering. Volume 8, Issue 2, Article 17 (2012).

의 조건에서도 10:10과 10:20비율의 인클루전캡슐에서 90% 이상의 어유오일이 보유되는 것을 나타냈다. 이와는 반대로 10:1의 인클루전캡슐은 최대 90%이상의 어유오일이 릴리즈되는 결과를 보였습니다. 투과전자현미경과 원자력간 현미경 관찰이미지에서는 모든 비율의 인클루전캡슐인 경우 피시오일 주변으로 beta-CD벽을 이루는 것이 관찰되었으며 헥사고날 타입의 콤플렉스가 관찰되었다. 어유오일의 첨가량을 많은 수록 두꺼운 beta-CD벽이 어유오일 주변으로 생기면서 어유오일이 릴리즈 되는 것을 방지한다고 사료된다.⁶⁾

2) 시나몬오일-CD복합체의 항균효과(Antimicrobial effect of α - or β -cyclodextrin complexes with trans-cinnamaldehyde against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*)

○ 앞서 연구한 시나몬오일-CD복합체의 제조공정을 이용하여 본 연구에서는 alpha - CD 혹은 beta-CD 복합체를 제조하고 두 복합체의 물리적 특성을 비교관찰 후 시나몬오일-alpha-CD 혹은 시나몬오일-beta-CD복합체의 항균효과를 알아보기 위해 *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*를 이용하여 두 미생물의 사멸정도를 관찰하였다. alpha-CD과, beta-CD에 시나몬 오일을 자가조립 공정을 통해 포집하였다. 이렇게 제조된 시나몬 오일-사이클로 덱스트린 복합체는 동결건조를 통해 분말화 되었다. 두 복합체 모두 나노크기의 입자사이즈, 300-500 nm를 나타냈으며, 90% 이상의 포집효율을 보였다. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*이 접종된 액체 배지에 시나몬-사이클로 덱스트린 복합체 첨가한 결과 베타-사이클로 덱스트린에

시나몬 오일을 포집하였을 때 더욱 항균효과가 우수한 것으로 관찰되었다. 시나몬 오일은 항균효과가 우수한 천연오일이지만, 휘발성이 강하여 다양한 환경에 의해 산화되기 쉽다. 이를 방지하기 위해 사이클로 덱스트린에 포집하여 복합체를 제조하여, 다양한 식품 혹은 식품포장재에 활용하여 항균효과를 발휘할 수 있다.

3) 나노캡슐의 동결건조시 동해방지제로서의 β -CD (Effect of β -cyclodextrin on physical properties of nanocapsules manufactured by emulsion - diffusion method)

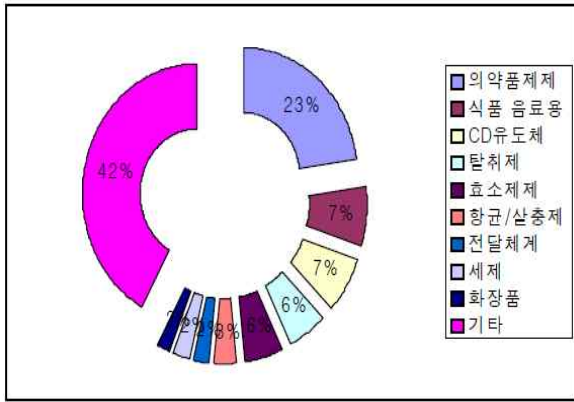
○ 휘발성 향미성분인 eugenol을 emulsion-diffusion 방법으로 캡슐화 한 후 동결시 캡슐의 입자손상 방지를 위해 β -cyclodextrin (β -CD)을 동해방지제로서 첨가하였다⁷⁾. Eugenol 나노캡슐캡슐의 열적 특정 및 eugenol의 release 특성을 다양한 상대 습도 및 저장 온도 조건에서 관찰하였다. 동결 건조 후 eugenol 나노캡슐의 입자 크기, Z-potential, encapsulation efficiency 및 loading content는 각각 340 nm, -34.5 mV, 91.7% 및 58.4%를 나타내었다. 상대 습도 및 저장 온도에 따라 eugenol의 retention 속도를 비교한 결과, 모든 처리구에서 전반적으로 eugenol의 함량은 초기 저장 단계에서 빠르게 감소하였으며, 8시간 후 천천히 감소하다가 반응을 중지하였다. Avrami equation 결과, release 속도 상수인 k 값은 상대습도와 저장 온도가 증가 할수록 k 값 또한 비례하여 증가함을 나타내었다. Arrhenius equation 결과, 활성화 에너지는 56.0%, 75.1% 및 90.6%의 상대 습도에 따라 각각 16.21 kJ/mol, 19.70 kJ/mol 및 22.75 kJ/mol로 산출되었다. 본 연구에서는 동결건조의 의한

6) Choi et. al., Physical characteristics of fish oil encapsulated by beta-cyclodextrin using an aggregation method or polycaprolactone using an emulsion - diffusion method, Food Chemistry, 119, 1694-1703 (2010).

7) Chun et.al., Effect of b-cyclodextrin on physical properties of nanocapsules manufactured by emulsion - diffusion method, Journal of Food Engineering 119, 588 - 594 (2013).

입자의 손상을 줄이기 위해 β-CD를 첨가하였고, 그 결과 Eugenol 나노캡슐의 동해방지제로서의 효과가 있음을 확인하였다. 나노캡슐을 건조공정을 이용하여 분말화 할 때 나노캡슐이 파괴되는 문제점을 보완하는데 효과적인 것으로 사료한다.

3. 연구의 활용



<그림> 사이클로덱스트린의 국제 출원내용

1) 기능성 물질의 용해성 및 안정성 증진

○ 외부는 친수성을, 그리고, 그 공동 내부는 소수성을 나타내, 여러가지 유기 분자를 수중에 넣는 포접기능을 가지고 있어 폭넓은 응용이 가능한 물질이다. 즉 물에 용해되지 않는 소수성 물질을 포접하여 물에 대한 개선된 용해성을 증가시켜 이용가능성을 향상시켜준다. 뿐만 아니라 빛과 산화, 열에 대한 안정성이 향상시킴으로서 저장안정성을 높여주는 장점도 있다.

2) 이취 및 이미의 마스킹(masking) 효과

○ 2010년 Journal of food science에 발표된 ‘Sensory Properties of Ginseng Solutions Modified by

Masking Agents’ 연구⁸⁾에 의하면 사이클로덱스트린으로 기능성 음료에 든 인삼의 쓴맛을 감소시키는 것에 관한 연구를 발표하였다. 물과 에너지 드링크 모델 용액에서 인삼의 쓴맛을 감소시키기 위한 효과적인 기법을 밝혀내고자 시도되었다. 연구진은 쓴맛을 감소시킬 기법을 조사하기 위해 잘 어울리는 향료의 첨가, 쓴맛 차단제의 사용, 효소적 변형, 성분간 상호작용, 복합체 형성 등을 포함하는 일련의 파일럿 스터디를 수행했다. 파일럿 스터디의 결과에 근거해 볼 때, 감마 사이클로덱스트린과 베타 사이클로덱스트린 복합체형성제가 가장 높은 가능성을 지닌 것으로 밝혀졌다.

○ 2010년 Food Chemistry에 발표된 ‘Physical characteristics of fish oil encapsulated by beta-cyclodextrin using an aggregation method or polycaprolactone using an emulsion-diffusion method’⁶⁾ 연구에서도 오메가-3 지방산을 포함하는 피시소스 제조를 위해 어유를 두 가지 나노캡슐공정을 이용하여 포접하였으며, 물과 피시소스에 첨가하여 물리적 특성을 관찰하였다. 실제 관능검사 연구는 진행되지 않았으나, 어유 특유의 이취 및 이미를 마스킹 하는데 어느 정도는 효과적일 것이라 사료된다.

3) 휘발성 강한 미, 향균, 항산화 기능성 물질의 릴리즈 조절

○ 일반적으로 향미, 향균, 항산화 기능성 물질은 휘발성이 높은 단점이 있다. CD 복합체를 형성함으로써 향기 성분의 릴리즈 속도를 조절할 수 있다. 수용액 상태의 성분 산화 및 분해를 방지하여 체내 활용도와 안정성을 높여 기능성을 유지시킬 수 있다. 특히 화장품, 개인위생용품, 화장실용품 등에 그 활용성이 높다고 판단

8) Tamamoto et. al., Sensory properties of ginseng solutions modified by masking agents, J Food Sci. 75(7):S341-347 (2010).

한다.

- 특히 앞서 연구한 eugenol 분자에 항균, 항진균 및 항산화 기능이 있고 식물 추출 성분이기 때문에 식품업계에서는 방부제로 유제놀을 주로 사용하고 있다고 설명했다. 유제놀은 산소, 빛, 열에 의한 손상에 상당히 취약하지만, 사이클로덱스트린 포접화합물을 이용해 유제놀을 캡슐화하면 방부제로 사용되는 유제놀의 내열성을 유지할 수 있다는 사실이 밝혀졌다. 이렇게 하면 캡슐에 싸인 유효성분을 조심스럽게, 그리고 천천히 내보낼 수 있다는 것도 또 하나의 장점이다.

4. 맺음말

CD의 성분 및 구조적 특징의 장점으로 의약품 제제, 식·음료용 제제, CD유도체의 개발, 탈취제식품의 원료, 방향제, 약물 등의 전달체제(delivery system)로의 이용범위 넓은 물질로서 앞으로 활용이 가능하다. 이미 국내에서도 이미 활발한 연구와 특허출원이 계속되고 있으므로, 앞으로 계속 발전될 가능성이 높다고 사료된다.