

## 초임계 ASES 공정으로 제조된 Vitamin-C 포접복합체의 안정성 평가

양준모 · 김석윤 · 한지현 · 정인일 · 유종훈 · †임교빈

수원대학교 공과대학 화공생명공학과

(접수 : 2006. 1. 26., 게재승인 : 2006. 4. 11.)

### Stability Evaluation of Vitamin-C Inclusion Complexes Prepared using Supercritical ASES Process

Jun-Mo Yang, Seok-Yun Kim, Ji-Hyun Han, In-Il Jung, Jong-Hoon Ryu, and Gio-Bin Lim†

Department of Chemical and Biochemical Engineering, The University of Suwon, Hwasung 445-743, Korea

(Received : 2006. 1. 26., Accepted : 2006. 4. 11.)

A supercritical fluid process, called aerosol solvent extraction system (ASES), is especially suitable to the pharmaceutical, cosmetic and food industries due to its environmentally-friendly, non-toxic and residual solvent-free properties. In particular, the application of the ASES process to the processing of thermo-labile bioactive compounds has received attention of many scientists and engineers because of its low-temperature operating conditions. Unstable substances such as Vitamin-C and Vitamin-A can be effectively protected from degradation during the preparation process, because the ASES process is free from oxygen and moisture. In this study, Vitamin-C was formulated with 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP- $\beta$ -CD) for enhancement of Vitamin-C stability and bioavailability using the ASES process. To investigate the influence of the preparation process on the stability of Vitamin-C, Vitamin-C/HP- $\beta$ -CD inclusion complexes were prepared using both conventional solvent evaporation method and ASES process, and stored in a 50 mM phosphate buffer solution of pH 7.0 at 25°C for 24 hours. From the experimental results, the stability of the Vitamin-C/HP- $\beta$ -CD inclusion complex prepared from the ASES process was found to be much higher than that of pure Vitamin-C and the Vitamin-C/HP- $\beta$ -CD inclusion complex prepared by the solvent evaporation method. The stability of Vitamin-C was observed to increase with the decrease of temperature at a constant pressure or with the increase of pressure at a constant temperature.

**Key Words** : Vitamin-C, cyclodextrin, inclusion complex, stabilization, supercritical fluid, ASES

#### 서론

Vitamin-C는 강력한 항산화제로서 Fig. 1과 같은 화학구조를 가지며 생체 내의 산소와 과산화수소로부터 발생되는 과산화물 (superoxide,  $O_2^-$ ), 히드록실 (hydroxyl,  $OH^\cdot$ ), 히드로퍼옥시 (hydroperoxy,  $HOO^\cdot$ ), 과산화질소 (peroxynitrite, OONO) 등과 같은 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)을 제거하는 기능을 나타내고, 괴혈병의 예방은 물론 상처의 치유를 도우며, 치아의 상아질, 연골, 뼈의 단백질 등을 비롯한 세포내 물질 합성에 매우 중요한 역할을 하여 기능성 식품소재로 널리 이용되고 있다(1-3). 또한, 피부의

색소 침착 (pigmentation)을 막아주고 멜라닌 (melanin)을 분해하는 특성을 가지고 있어서 피부 미백에도 매우 효과적이며, 콜라겐 (collagen)의 생합성을 촉진시킴으로써 피부의 유연성 및 탄성을 향상시켜 피부 노화방지에 매우 중요한 역할을 하는 화장품 또는 피부의학 제품의 소재로 이용된다(4, 5).

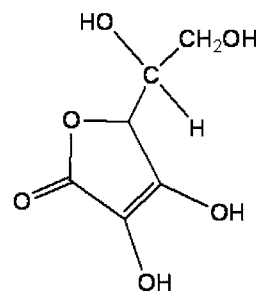


Figure 1. Chemical structure of vitamin-C

† Corresponding Author : Department of Chemical and Biochemical Engineering, The University of Suwon, Hwasung 445-743, Korea

Tel : +82-31-220-2243, Fax : +82-31-220-2528

E-mail : gblim@suwon.ac.kr

이처럼 Vitamin-C는 인체에 대한 다양한 기능을 가지고 있지만 공기, 습기, 빛 등 외부의 여러 환경적 요인에 의하여 쉽게 산화 및 분해되어 실질적으로 그 기능을 발휘하기가 매우 어렵다(6, 7). 따라서 Vitamin-C의 실질적인 기능을 최대화하기 위한 안정화 기술의 개발은 매우 중요한 연구 분야라고 할 수 있다.

최근 Vitamin-C의 생리적인 활성을 높이기 위해서 외부의 환경적 요인으로부터 보호하여 안정성을 증진시키려는 연구에 대한 관심이 높아지고 있다. 특히 Vitamin-C의 안정성을 증진시키기 위하여 싸클로덱스트린 (cyclodextrin, CD)을 이용한 포접복합체의 제조(8)가 시도되었으나 기존의 공정을 적용하는 경우 고온 조건에서 진행되거나 수용액 상태에서 이루어지는 경우가 대부분이기 때문에 제조과정 중 야기되는 Vitamin-C의 산화 및 분해, 다단계의 복잡한 과정의 요구, 높은 에너지 소비 등 여러 가지 문제점이 발생된다. 따라서 Vitamin-C 안정화 제제의 제조를 위한 새로운 공정 기술의 개발이 절실히 요구된다.

CD는 글루코스 (glucose) 분자가 고리를 형성하고 있는 형태의 물질로서, 글루코스 분자가 각각 6개, 7개 및 8개가 환상형으로 연결된 도넛 모양으로 글루코스 단위의 수에 따라 각각  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD 및  $\gamma$ -CD로 구분되며,  $\alpha$ -CD의 경우 4.7~5.3 Å,  $\beta$ -CD의 경우 6.0~6.5 Å,  $\gamma$ -CD의 경우 7.5~8.3 Å의 각각 다른 크기의 내부 공동 (cavity)을 지니고 있다. 또한, CD의 내부는 수소결합과 에스테르결합으로 인하여 소수성을 갖는 반면에 CD 외부의 경우 CD를 구성하는 글루코스의 외부로 노출되어있는 수산기 (hydroxyl group)로 인하여 친수성의 성질을 나타낸다. 이러한 구조적 입체 특성과 친수성 및 소수성의 성질로 인하여 다양한 물질에 대하여 포접복합체 (inclusion complex)를 형성함으로써 guest 물질의 수용액상에서의 용해성 및 안정성을 향상시키는 등 포접된 물질의 물리적, 화학적 물성의 변화를 유도할 수 있다. 이와 같은 CD의 포접 특성을 활용하여 식품, 화장품, 의약품 등 다양한 산업분야에 적용되고 있다. 포접복합체 형성의 결합력은 현재까지 명확히 규명되어 있지 않으나, 소수성 guest 물질과 CD 내부 공동의 소수성 부분과의 소수성 효과, van der Waals 결합, 수소결합, CD 공동내의 고에너지 분자의 방출에 의한 에너지 감소, ligand의 결합에 의한 CD의 환상 구조에 존재하는 변형 에너지의 방출 등으로 추정되고 있다(9, 10).

본 연구에서는 앞서 제기된 기존 포접복합체 제조과정에서 나타나는 공정상의 문제점을 해결하기 위한 방법으로 초임계 이산화탄소의 특성을 이용하여 Vitamin-C와 CD 간에 포접복합체 형성을 통해 이러한 문제점을 해결하고자 하였다. 초임계 유체로 가장 널리 사용되고 있는 이산화탄소는 낮은 임계온도 (31.1°C)와 임계압력 (73.8 bar)으로 인하여 초임계 상태의 형성이 매우 용이하며, 특히 낮은 임계온도는 열에 민감한 물질에 매우 적합한 공정이며, 인체에 무해하고, 가격이 저렴할 뿐만 아니라 폭발성 및 발화성이 없으며, 단순 감압에 의해 사용된 이산화탄소를 쉽게 회수하여 재사용할 수 있다는 장점이 있다. 또한 기존의 포접복합체 제조기술의 공정 중 발생하는 안정성 저해, 오랜 공정 시간으로 인한 높은 에너지 소비 등의 문제

점을 해결할 수 있으며, 특히 사용된 유기용매를 회수 후 재사용하며, 잔류용매를 완전히 제거할 수 있어 다량의 유기용매를 사용하여야 하는 기존의 기술을 대체할 수 있는 청정기술이다(11, 12).

대표적인 생리활성물질인 Vitamin-C를 안정화시키기 위하여 CD의 유도체인 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP- $\beta$ -CD)을 외부의 환경요인과 차단하는 보호물질로 이용하여 Vitamin-C의 안정성을 증가시킴으로써 생체이용률을 현저히 향상시킬 수 있는 Vitamin-C/HP- $\beta$ -CD 포접복합체 미세입자를 초임계 유체 공정기술 중 하나인 ASES (aerosol solvent extraction system) 공정(13-15)을 이용하여 제조하였다. 또한, 기존의 포접복합체 제조방법 중의 하나인 용매 증발법과 ASES 공정을 비교하고자 각각의 공정에서 포접된 Vitamin-C의 안정성을 검토하였으며, 초임계 공정조건에 따른 입자형성 및 안정성의 변화를 관찰하여 초임계유체 공정 기술을 포접복합체 미세입자의 제조공정에 적용하기 위한 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 연구에서 사용된 Vitamin-C는 Sigma사 (미국)에서 구입하였으며 HPLC급으로 더 이상의 정제 없이 바로 사용하였고, Vitamin-C의 포접체를 형성하기 위하여 HP- $\beta$ -CD (Aldrich, 미국)를 사용하였으며 HP- $\beta$ -CD 내의 hydroxypropyl 기의 몰치환도 (molar degree of substitution)는 0.6, 평균 분자량은 1,380이었다.

초임계 공정에 사용된 이산화탄소 (동민특수가스, 대한민국)는 99.9% 순도의 것을 사용하였으며, Vitamin-C와 HP- $\beta$ -CD가 함께 혼합된 용액을 제조하기 위하여 사용된 에탄올 (Fisher, 미국)은 HPLC급으로 더 이상의 정제 없이 사용하였다.

### 용매 증발법

Vitamin-C와 HP- $\beta$ -CD를 칭량하여 일정량의 에탄올에 용해시키고, Vortex Mixer (Scientific Industries, 미국)를 사용하여 10분간 충분히 혼합 후  $55 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 의 수욕 상에서 에탄올이 완전히 증발될 때까지 회전진공농축기 (한신과학, 대한민국)를 사용하여 Vitamin-C와 HP- $\beta$ -CD간의 포접복합체를 제조하였다. 이때 회전진공농축기 내의 압력은 0.1 bar로 유지하였다. 제조된 포접복합체에 잔류하는 에탄올을 충분히 제거하기 위해서 실온에서 진공건조기 (JISICO, 대한민국)를 이용하여 24시간 동안 건조하였다.

### 초임계 ASES 공정

초임계 ASES 공정을 이용하여 Vitamin-C와 HP- $\beta$ -CD 간의 포접복합체를 제조하는 장치는 자체적으로 설계 제작한 것으로 장치의 개략도를 Fig. 2에 나타내었다. 칩전기 내에 초임계 이산화탄소를 연속적으로 공급하는 액체고압 펌프 (Lewa, EL-1, 미국)를 원활히 사용하기 위하여 이산화탄소를 충분히 냉각하여 액화시켜 사용했으며, 원하는 압

력을 일정하게 조절하기 위하여 후방압력조절기 (back pressure regulator, Tescom, 26-1700, 미국)를 장착하여 사용하였다. 포접복합체 미세입자 형성을 위해 유효성분을 지닌 Vitamin-C와 HP-β-CD를 용해시킬 수 있는 에탄올에 녹여서 유효성분 용액을 제조하였다. 침전기내의 온도와 압력을 일정하게 유지시킨 후 제조된 유효성분 용액을 주사기 펌프 (syringe pump, ISCO, 100DX, 미국)를 이용하여 침전기 내부 상단에 위치한 모세관 노즐 (내경: 127 μm, 길이: 30 cm, Altech, 미국)을 통해 분사하였다. 모세관 노즐을 통해 분사된 유효성분 용액의 액적 (droplet)은 초임계 이산화탄소가 에탄올과 단일상을 형성함에 따라, 결과적으로 에탄올의 Vitamin-C와 HP-β-CD에 대한 용매로서의 능력을 상실하게 된다. 이와 같은 초임계 이산화탄소의 역용매 작용에 의하여 액적 내에서 과포화가 일어나게 되어 에탄올 속에 용해되었던 Vitamin-C와 HP-β-CD가 침전기 내로 석출되면서 포접복합체 입자의 생성이 이루어지게 된다. 생성된 포접복합체 미세 입자들은 침전기 하단에 위치한 금속 필터 (평균공극크기: 0.5 μm, Supelco, 미국)를 이용하여 수집하였으며, 감압탱크의 압력을 2.0 MPa로 유지하여 이산화탄소와 사용한 에탄올을 자발적으로 분리하여 회수하였다.

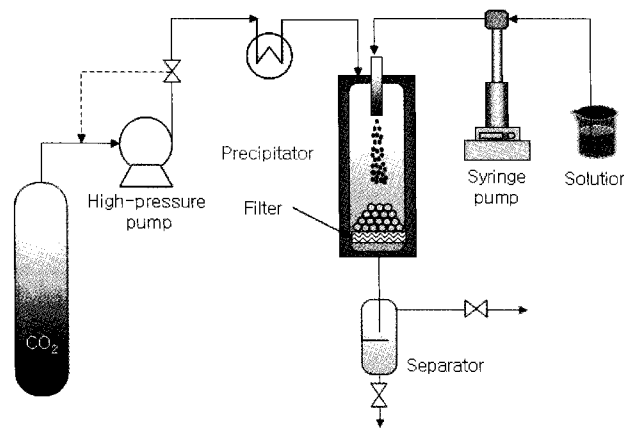


Figure 2. Schematic diagram of the ASES apparatus used for the preparation of vitamin-C/HP-β-CD inclusion complex microparticles.

**포접복합체 입자 분석**

제조된 분체상태의 포접복합체 및 순수 Vitamin-C 입자의 크기와 형상을 주사전자현미경 (scanning electron microscope, JSM-5600, JEOL, 일본)을 통하여 관찰하였다. 사분법을 통해 균일하게 섞은 소량의 미세입자를 양면 전도성 테이프에 부착시킨 후 진공 플라즈마 코팅 장치에서 약 5분간 입자를 코팅 (두께: 약 60 nm)하여 분석에 사용하였다.

X-선 회절분석기 (x-ray diffractometer, D8 Advance, Bruker Axs, 독일)를 이용하여 Vitamin-C 분체와 HP-β-CD 및 포접복합체 입자의 X-선 회절 양상을 분석하였다. 회절각을 20~60°의 2θ 범위에서 변화시키면서 입자들의 결정성을 살펴 보았으며, 이때 사용된 각속도는 0.5 °/min로 유지하였다.

**안정성 시험**

순수한 Vitamin-C, 용매증발법에 의하여 제조된 포접복

합체, 초임계 ASES 공정에 의하여 제조된 포접복합체를 각각 50 mM 농도의 인산완충용액 (phosphate buffer solution, PBS, pH 7.0)에 용해시키고, 용액 중의 Vitamin-C의 농도가 1,000 ppm (w/v)가 되도록 조절하였다. 제조된 용액에 충분히 산소를 공급하고 빛을 차단하여 25 ± 0.1 °C의 수용액상에서 24시간 동안 0, 2, 4, 6, 12, 24의 시간 간격으로 각각 1 mL씩 취한 후 0.45 μm의 평균 기공을 갖는 분리막으로 여과한 후 회석하여 Vitamin-C의 분해정도를 측정하였다. 이때 모든 실험은 각각 3번씩 수행하여 그 평균값을 결과로 나타내었다.

Vitamin-C의 정량분석을 위하여 고성능 액체 크로마토그래피 (high-performance liquid chromatography, HPLC, 600 Series with 717 Autosampler, Waters, 미국)를 사용하였으며, 분석에 사용된 칼럼으로는 ODS Hypersil (5 μm, 150 × 4.6 mm, Thermo Electron, 미국)을 사용하였다. 이동상은 인산을 사용하여 3차 증류수를 pH 2.5로 조절하여 사용하였고 유속은 1.0 mL/min으로 하였으며, UV 검출기로 245 nm의 파장에서 분석하여 미리 작성된 검정곡선을 이용하여 Vitamin-C의 분해율을 계산하였다.

**결과 및 고찰**

순수한 Vitamin-C와 HP-β-CD, Vitamin-C와 HP-β-CD 간의 몰비율 1 : 1로 유지한 상태에서 제조된 물리적인 혼합물 및 용매증발법과 초임계 ASES 공정을 이용하여 제조된 포접복합체의 크기와 형상은 주사전자현미경 관찰을 통하여 살펴 보았다. Fig. 3과 같이 순수한 Vitamin-C 시료 입자는 100~200 μm 이상의 크기를 가진 각진 다면체 형상이고, HP-β-CD는 50~100 μm의 크기를 가지며, 다공성의 구 (sphere) 형상을 하고 있었다. Fig. 4는 각각 물리적인 혼합물, 용매 증발법 및 초임계 ASES 공정을 이용하여 제조된 포접복합체의 입자를 나타낸다. Vitamin-C와 HP-β-CD간의 물리적인 혼합물 입자는 50~100 μm의 크기를 가지고 있고, 물리적인 혼합과정 중 HP-β-CD의 분쇄는 거의 일어나지 않았으며 본래의 특징적인 형상을 유지하고 있었다. 상대적으로 Vitamin-C는 물리적인 혼합과정에서 분쇄되어 구형의 HP-β-CD의 표면에 부착되어 있는 형상을 하고 있었다. 이러한 물리적인 혼합물의 입자 형상으로 미루어보아 두 물질간에 분자 수준에서의 효율적인 포접복합체의 형성은 이루어지지 않았다는 사실을 알 수 있었다. 용매증발법에 의하여 제조된 포접복합체 입자의 경우는 100~200 μm 이상의 크기를 가지며 본래의 Vitamin-C와 HP-β-CD의 형상과는 달리 조각으로 부서진 다양한 형태의 다면체를 이루고 있었다. 반면 초임계 ASES 공정으로 제조된 포접복합체의 경우에는 입자의 크기가 0.5 μm 이하로 현저히 작아지는 것을 확인할 수 있었다. 이는 초임계유체 내에서의 물질의 확산속도가 일반적인 액체 내에서의 확산속도보다 약 100배 정도 빠르기 때문에 노즐을 통하여 분사된 미세한 액적들 내의 에탄올이 액적 외부의 초임계유체로 빠르게 확산하여 빠른 과포화를 유도할 수 있기 때문이다. 과포화 속도가 빠르면 빠를수록 입자의 크기는

매우 작아지기 때문에 초임계 상태의 조건에서 미세입자가 생성되는 것이다.

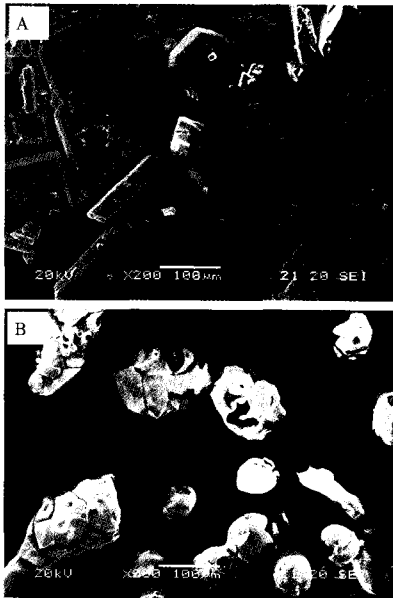


Figure 3. SEM micrographs of pure vitamin-C (A) and HP-β-CD (B).

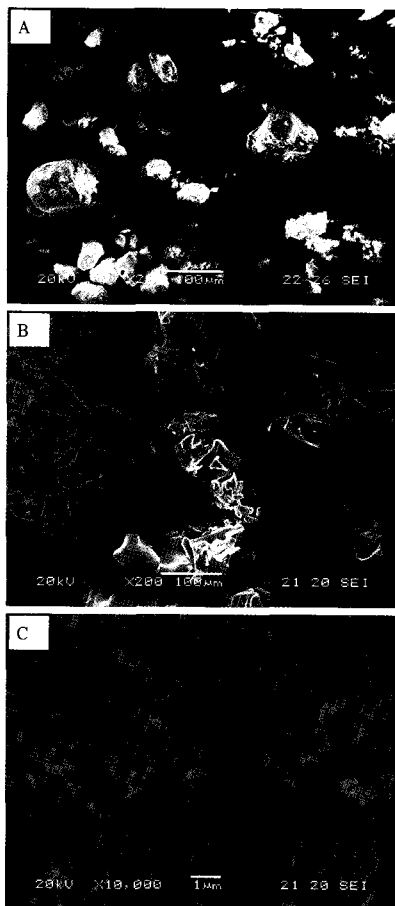


Figure 4. SEM micrographs of physical mixture of vitamin-C with HP-β-CD (A), and vitamin-C/HP-β-CD inclusion complex microparticles prepared by solvent evaporation method (B) and by the ASES process (C).

순수 물질인 Vitamin-C와 HP-β-CD 및 이들의 물리적 혼합물, 용매증발법을 이용하여 제조된 포접복합체, 초임계 ASES 공정을 이용하여 제조된 포접복합체의 결정 특성을 알아보기 위하여 X-선 회절 분석을 하였다. Fig. 5에 나타난 것과 같이 순수한 Vitamin-C는 20~60°의 2θ 범위에서 결정성을 나타내는 특성 피크들을 나타낸 반면 HP-β-CD의 경우 결정성을 나타내는 특성 피크가 측정 전 범위에서 전혀 나타나지 않았다. 이는 HP-β-CD가 무정질적인 특성을 지니고 있음을 의미한다. Vitamin-C와 HP-β-CD를 1:1의 몰비로 물리적으로 혼합한 경우에는 결정성을 나타내는 특성 피크들이 마치 중첩되어 있는 모습을 보여 Vitamin-C와 HP-β-CD가 완전하게 포접복합체를 형성하지 못한 것으로 판단된다. 용매증발법에 의하여 제조된 포접복합체의 경우 결정 특성을 살펴보면 Vitamin-C의 결정성을 나타내는 특성 피크들이 사라진 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 용매증발법을 통하여 포접복합체가 순조롭게 형성되었음을 의미한다. 마찬가지로 초임계 ASES 공정을 이용하여 제조된 포접복합체의 XRD 분석 결과 Vitamin-C의 결정성을 나타내는 특성 피크들이 사라진 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 여러 다양한 대상 물질들과 CD간의 포접복합체 형성에 관한 연구 결과와 동일하며, 초임계 ASES 공정을 통하여 포접복합체가 순조롭게 형성되었음을 의미한다. 이는 기존의 수용액 상에서 제조되었던 포접복합체를 초임계 이산화탄소를 이용한 공정을 통해서도 제조할 수 있다는 것을 의미한다.

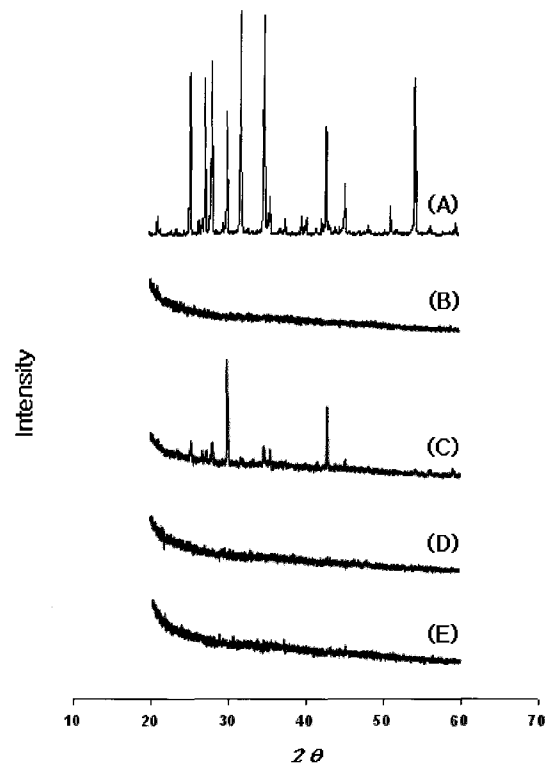


Figure 5. XRD patterns of vitamin-C (A), HP-β-CD (B), physical mixture of vitamin-C with HP-β-CD (C), and vitamin-C/HP-β-CD inclusion complexes prepared by solvent evaporation method (D) and by the ASES process (E).

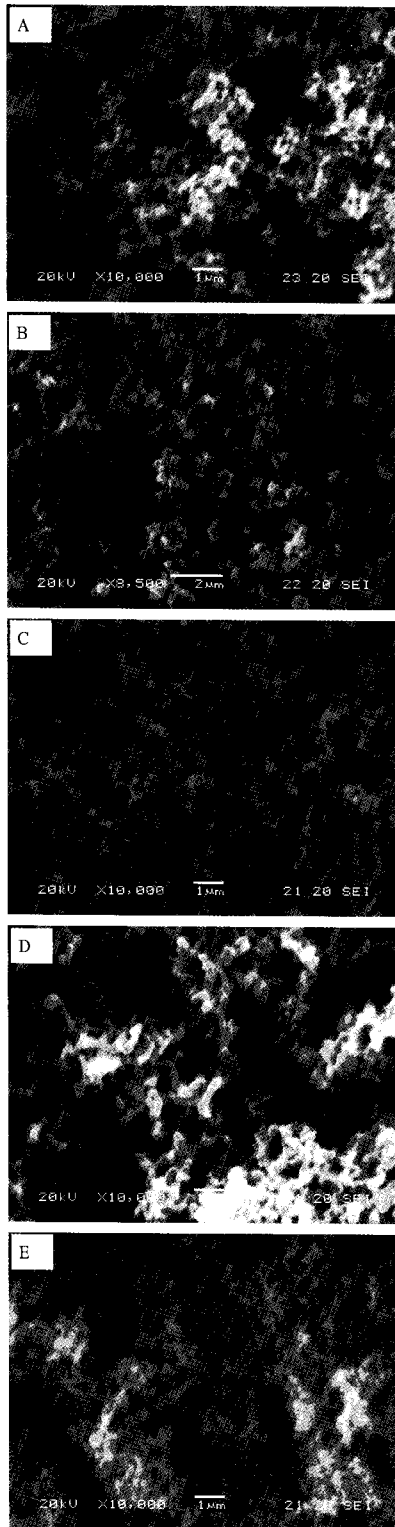


Figure 6. SEM micrographs of ASES-processed vitamin-C/HP-β-CD inclusion complex microparticles: (A) 25°C, 83 bar, (B) 25°C, 125 bar, (C) 25°C, 140 bar, (D) 45°C, 140 bar, and (E) 65°C, 140 bar.

초임계 이산화탄소를 이용한 포접복합체 제조 공정은 전 공정을 closed-loop 시스템으로 조작할 수 있기 때문에 최종 생산된 포접복합체의 순도 및 안정성이 매우 우수할 것으로 예상된다. 아울러 열, 산소, 물 등으로부터 불안정한 Vitamin-C와 같은 생리활성물질들이 무산소-건식 공정

인 초임계 이산화탄소 공정을 통하여 포접복합체의 제조 과정에서부터 야기되는 각종 열분해, 산화, 가수분해 등으로부터 보호 받을 수 있을 것으로 기대된다.

Vitamin-C와 HP-β-CD를 1 : 1의 몰비로 에탄올에 용해하여 4.15 wt% 농도의 용액을 제조한 후 0.5 mL/min의 유량으로 초임계 이산화탄소 내로 분사하여 포접복합체를 얻었다. 초임계 이산화탄소는 40 g/min의 유량으로 주입하였고, 25~65°C의 온도범위와 83~140 bar의 압력범위에서 실험을 수행하였다. 한편 본 연구에서 수행된 공정조건 내에서 포접복합체의 입자 크기와 형상은 Fig. 6에서와 같이 온도와 압력의 공정조건 변화에 크게 영향을 받지 않은 것으로 관찰되었다.

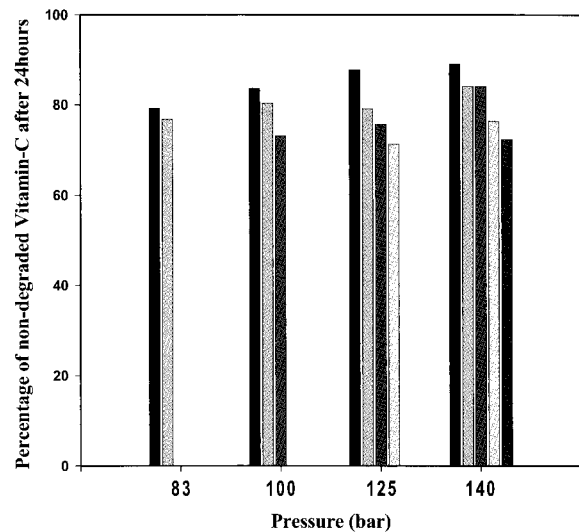


Figure 7. Effect of operating temperature and pressure on the stability of vitamin-C in a 50 mM phosphate buffer solution of pH 7.0 at 25°C after 24 hours: 25°C (Black), 35°C (Grey), 45°C (White), 55°C (Diagonal), and 65°C (Cross-hatch).

초임계 ASES 공정에서 온도 (25~65°C)과 압력 (83~140 bar)의 공정조건 변화에 따라 제조된 포접복합체의 경우 Vitamin-C의 안정성 비교를 통하여 온도와 압력의 공정조건이 포접복합체의 형성과 포접된 Vitamin-C의 안정성에 미치는 영향을 알아보았다. Fig. 7에서 보는 바와 같이 온도가 낮을수록, 압력이 높을수록 제조된 포접복합체의 Vitamin-C 안정성이 향상됨을 확인할 수 있었다. 이는 역으로 온도가 높아짐에 따라 초임계 이산화탄소의 분자 활동이 활발하게 이루어지므로 Vitamin-C와 HP-β-CD의 공동간의 물리적인 결합력이 점차로 약해져서 포접복합체 형성이 용이하지 않게 되기 때문인 것으로 생각되고, 또한 압력의 상승으로 인한 이산화탄소의 밀도 상승으로 HP-β-CD의 공동 내에 머물러 있던 에탄올이 외부의 초임계 이산화탄소로 확산되는 역용매 효과가 점점 강하게 나타나게 되어 Vitamin-C가 HP-β-CD의 공동 내에 더욱 용이하게 물리적으로 결합이 이루어지기 때문인 것으로 생각된다.

Vitamin-C의 포접 효율성에 대한 초임계 ASES 공정의 우수성을 확인하기 위하여 순수한 Vitamin-C, 물리적인 혼합물 및 용매증발법과 초임계 ASES 공정을 이용하여 제조

된 포접복합체를  $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 의 온도로 일정하게 유지된 pH 7.0의 50 mM 인산완충용액 상에서 시간 (0, 2, 6, 12, 24h)에 따른 Vitamin-C의 잔존률을 비교하여 Fig. 8에 나타내었다.  $25^\circ\text{C}$ 의 온도와 140 bar의 압력 공정조건에서 제조된 포접복합체의 경우 24시간 후 Vitamin-C의 잔존률이 89.09%로 가장 높았으며, 순수한 Vitamin-C의 잔존률 (68.32%)과 비교하여 약 21% 더 높은 잔존률을 나타내었다.

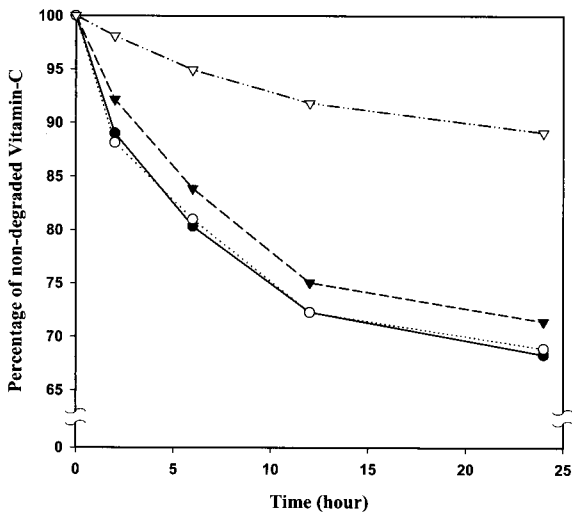


Figure 8. Effect of preparation methods on the stability of vitamin-C in a 50 mM buffer solution of pH 7.0 at  $25^\circ\text{C}$ : pure vitamin-C (●), physical mixture of vitamin-C with HP- $\beta$ -CD (○), and vitamin-C/HP- $\beta$ -CD inclusion complexes prepared by solvent evaporation method (▼) by the ASES process (▽).

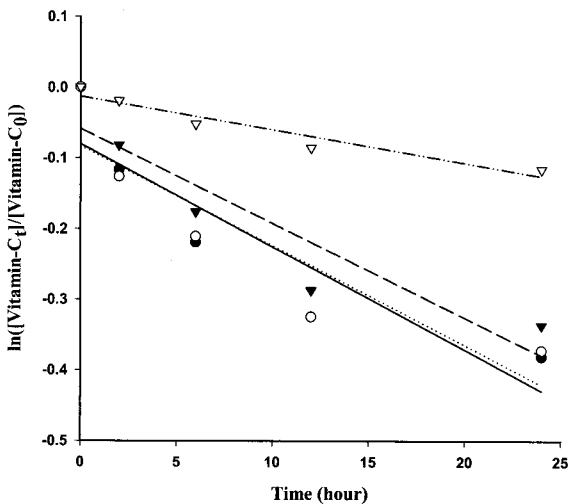


Figure 9. Effect of preparation methods on the stability of Vitamin-C in a 50 mM buffer solution of pH 7.0 at  $25^\circ\text{C}$  as a pseudo first-order plot of vitamin-C: pure vitamin-C (●), physical mixture of vitamin-C with HP- $\beta$ -CD (○), and vitamin-C/HP- $\beta$ -CD inclusion complexes prepared by solvent evaporation method (▼) and by the ASES process (▽).

$25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 의 온도로 유지한 pH 7.0의 50 mM 인산완충용액 상에서 순수한 Vitamin-C, 물리적인 혼합물 및 용매증

발법과 초임계 ASES 공정을 이용하여 제조된 포접복합체의 Vitamin-C 결보기 1차 분해 속도 상수는 각각  $1.45 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$  ( $r = -0.9104$ ),  $1.41 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$  ( $r = -0.9037$ ),  $1.34 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$  ( $r = -0.9247$ ),  $0.47 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$  ( $r = -0.9624$ )으로 Fig. 9에 대수 배율 (log plot)에 맞추어 도식하였다. 각 분해 곡선의 기울기 값으로 표현되는 결보기 1차 분해 속도 상수의 변화에서 알 수 있듯이 초임계 ASES 공정을 통하여 제조된 포접복합체의 경우 Vitamin-C의 안정성이 매우 크게 향상되는 것을 확인 할 수 있었다. 또한 본 연구를 통하여 초임계 ASES 공정을 이용하는 경우 간단한 압력의 조절만으로 초임계 이산화탄소의 용해능력을 쉽게 조절 할 수 있고, 낮은 온도 조건에서의 조작이 가능하기 때문에 Vitamin-C와 같이 열에 민감한 물질의 포접복합체 제조에 매우 적합한 공정임을 확인할 수 있었다.

### 요 약

본 연구에서는 초임계 ASES 공정을 이용하여 인체내 및 피부에 여러 가지로 유익한 대표적 생리활성물질인 Vitamin-C의 불안정성을 극복하기 위하여 HP- $\beta$ -CD와의 포접복합체를 제조하여 수용액상에서의 안정성을 분석하였다. X-선 회절을 이용한 Vitamin-C와 HP- $\beta$ -CD의 결정성 분석으로 초임계 ASES 공정을 통하여 포접복합체가 용이하게 형성될 수 있음을 확인하였다.

HP- $\beta$ -CD가 Vitamin-C의 안정성을 향상시키는 방법으로 이용될 수 있음을 확인하였으며,  $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 의 온도를 유지한 pH 7.0의 50 mM 인산완충용액 상에서 순수한 Vitamin-C, 물리적인 혼합물 및 용매증발법과 초임계 ASES 공정을 이용하여 제조된 포접복합체의 Vitamin-C 결보기 1차 분해 속도 상수는 각각  $1.45 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ ,  $1.41 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ ,  $1.34 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ ,  $0.20 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ 로 초임계 ASES 공정으로 제조된 포접복합체의 경우 Vitamin-C의 안정성이 매우 크게 향상되는 것을 확인하였다.

### 감 사

본 연구는 산업자원부 에너지관리공단의 에너지기술 학술진흥사업 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

### REFERENCES

- Hodges, R. E., E. M. Baker, J. Hood, H. E. Sauberlich, and S. C. March (1969), Experimental scurvy in man, *Am. J. Clin. Nutr.* **22**, 533-548.
- Hodges, R. E., J. Hood, J. E. Canham, H. E. Sauberlich, and E. M. Baker (1971), Clinical manifestations of ascorbic acid deficiency in man, *Am. J. Clin. Nutr.* **24**, 432-443.
- Dollery, Colin T. (1998), *Therapeutic Drugs*, 2nd ed., Churchill, Livingstone.
- Djerassi, D. (1997), The role of the corrective vitamins A, B5 and C in the new, high performance cosmetics, *Drug Cosmet Ind.* **160**, 60-62.

5. Fox, C. (1997), Advances in the cosmetic science and technology of topical bioactive materials, *Cosmet. Toil.* **112**, 67-84.
6. Roing, M. G., Z. S. Rivera, and J. F. Kennedy (1995), A model study on rate of degradation of L-ascorbic acid during processing home-produced juice concentrates, *Int. J. Food Sci. Nutr.* **46**, 107.
7. Liao, M. L. and P. A. Seib (1988), Chemistry of L-ascorbic acid related to foods, *Food Chemistry* **30**, 313-317.
8. Manzanares, M. I., V. Solis, and Rita H. de Rossi (1996), Effect of cyclodextrins on the electrochemical behaviour of ascorbic acid on gold electrodes, *J. Electroanal. Chem.* **407**, 141-147.
9. Loftsson, T. and M. E. Brewster (1996), Pharmaceutical applications of cyclodextrins. I. Drug solubilization and stabilization, *J. Pharm. Sci.* **85**, 1017-1025.
10. Szejtli J. (1989), Downstream processing using cyclodextrins, *TIBTRCH* **7**, 171-4.
11. Mark A. Mchugh and Val J. Krukonis, (1994), Supercritical fluid extraction; principles and practice, 2nd ed., USA.
12. Subramaniam B. et al. (1997) Pharmaceutical processing with supercritical carbon dioxide, *J. Pharm. Sci.* **86**(8) , 885-890.
13. Jung, J. and M. Perrut (2001) Particle design using supercritical fluids: literature and patent survey, *J. Supercrit. Fluids* **20**, 179-219.
14. Lee, S. Y., J. K. Kim, W. S. Kim, J. H. Ryu, and G. B. Lim (2004), Preparation of microparticulate itraconazole/hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes using a supercritical anti-solvent process, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **19**(4), 321-326.
15. Lee, S. Y., J. K. Kim, W. S. Kim, J. H. Ryu, and G. B. Lim (2005), Study of a supercritical fluid process for the preparation of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes, *Korean Chem. Eng. Res.* **43**(1), 110-117.