J. Korean Ind. Eng. Chem., Vol. 19, No. 6, December 2008, 604-608

L-Ascorbic Acid의 비수계 나노 캡슐화

홍주희 · 송기세 · 김경준 · 이채성 · 안병민 · 김병식†

동국대학교 화공 · 생물공학과
(2008년 6월 30일 접수, 2008년 10월 16일 채택)

Nano-capsulation of L-Ascorbic Acid in Nonaqueous System

Joo-Hee Hong, Ki-Se Song, Kyoung-Jun Kim, Chae-Seong Lee, Byeong-Min An, and Byoung-Sik Kim†

Department of Chemical & Biochemical Engineering, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea
(Received June 30, 2008; accepted October 16, 2008)

본 연구에서는 L-아스코르빈산(L-ascorbic acid: Vitamin C)을 점성이 낮은 비수계 오일상에서의 나노 캡슐화(nano-capsulation)에 대한 기초 연구가 수행되었다. 비수계에서 제조된 나노 캡슐체들은 500 nm 이하 크기를 나타냈으며 유화물 형태에서의 평균 입자 크기는 410 nm로 나타났다. 온도와 저장 기간에 대한 안정도는 4, 20, 30 ℃ 온도에서 30일간 저장했을 때 최초 5일 후에는 5.1, 9.3, 12.5%의 L-아스코르빈산이 캡슐체로부터 유리되어 나왔으나 이후 기간 동안에는 약 1∼2% 정도가 유리되어 나왔다. 또한, 남녀 각각 10명의 대상인원에 대한 피부 자극도는 1명만이 2일 후에 아주 미세한 피부 자극이 나타났으며 다른 인원에게서는 무자극성을 나타내었다.

In this work, the basic research for nano-capsulation of L-ascorbic acid (Vitamin C) in nonaqueous system was carried out. 500 nm-sized nano-capsules were prepared in nonaqueous system, and the emulsified capsule had mean size of 410 nm. The stability test on the temperature and the storage periods was performed at 4, 20, and 30 ℃ for 30 days. After 5 days, L-ascorbic acid was extricated 5.1, 9.3, and 12.5% at each temperature, but only 1∼2 % was extricated after the time span. Likewise, the results of the skin susceptibility on women and men, each 10 persons, revealed that the very thin allergy was shown from only a woman after 2 days, but it was not shown from the others.

***Keywords**: L-ascorbic acid, Vitamin C, nano-capsulation, encapsulation, nonaqueous*

1. 서 론

캡슐화(capsulation) 기술은 축소 포장 기술이라고도 불리어지며 그 사용 방법과 재료에 따라서 다양한 형태를 나타낸다[1]. 즉, 미세 캡슐화(microcapsulation)는 온도, 습도, 미생물 등에 의해서 내용물의 기능이 저하되는 것을 encapsulation을 통해서 보호시키는 고급기술이다[2]. 미세 캡슐화는 여러 요인에 의해 생성되는 이물질들을 감소시키며, 극단적인 온도와 습도 하에서 다른 성분에 의한 반응성을 감소시켜 안정성을 갖게 할 뿐 아니라[3,4] 특정 조건하에서 그 내용물을 의도하는 속도로 방출할 수 있도록 보호성 캡슐로 둘러싸는 것을 말한다[5].

이러한 캡슐화 기술은 1930년대 National Cash Register에 의해 최초로 산업적으로 응용되어[6], 1931년 제약산업에서는 젤라틴을 이용하여 약품을 미세캡슐로 만들었으며[7], 1951년 Griffin[8]에 의하여 농축 고체 오일(concentrated solid oil)을 제조함으로써 식품 산업에서도 이용되게 되었다. 또한, 최근에는 화장품 산업에서 기능성 화장품에 대한 연구 분야에서도 캡슐화 기술에 대한 많은 연구가 진행되고 있다[9].

특히, 아스코르빈산(Ascorbic acid) 또는 아스코르브산염(Ascorbate) 등으로 불리우는 비타민 C는 화장품 분야에서 중요 연구 대상이 되고 있다. 이것은 α-케톨액톤(α-ketolactone)의 에놀(enol)형으로 불안정하여 공기, 특히 산소와 열, 그리고 빛과 같은 외부 환경에 민감하게 반응하여 쉽게 산화 분해되는 문제점이 있다(Figure 1).

또한, 비타민 C는 생리학적으로 대표적인 수용성의 높은 환원력을 갖는 항산화제로서 생물학적으로나 제약 및 화장품 영역, 그리고 피부학적인 측면에서 다양한 기능을 갖고 있다. 예를 들면 콜라겐의 생합성, 자외선 방어 원인이 되는 멜라닌의 감소와 프리라디컬의 억제효과, 바이러스에 대한 면역력의 증가 등의 기능이 그것이다. 이 조성물 등의 특징은 잘 알려져 있는 항산화의 기능과 밀접한 관계가 있다[10-15]. 반면에 우리 몸에 유해한 활성산소를 저해하여 질병, 암, 신장 질환 등의 여러 가지 질병을 방지하는 역할 때문에 그 중요성은 더욱 증대되고 있다[16,17].

그러나, 비타민 C는 비수용액 중에서는 극소량이 용해되는 반면에 수용액 중에서는 비교적 많은 양이 용해되지만, 빠른 산화작용으로 인하여 충분한 양의 비타민 C가 안정화되지 못 한다. 이 때문에 의약, 식품, 화장품등에서는 활성물질(active ingredient)로서 소량의 비타민 C만이 사용 가능하다.

† 교신저자 (e-mail: bskim@dongguk.edu)

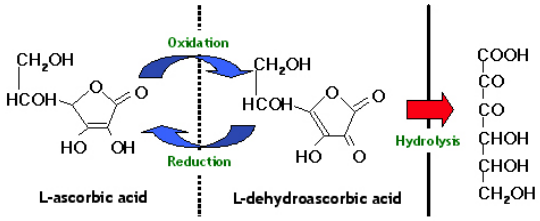

Figure 1. Oxidation mechanism of L-ascorbic acid.

따라서 비타민 C의 화학적 불안전성을 유화제를 이용한 마이크로 에멀젼, 리포좀 등의 방법으로 비타민 C를 고정하거나 캡슐화를 위한 많은 노력과 연구가 있어 왔다. 그러나 유화막은 물리화학적으로 매우 약하고 불안정하여 염이나 전하를 지닌 유기물 또는 무기물에 의한 오염으로 인하여 유화막이 파괴되고, 열이나 빛에 대해서도 매우 약하기 때문에, 장기간 보관에 있어 불안정할 뿐 아니라 저분자 유화제를 사용하여 유효성분을 함유한 나노 크기의 유화입자는 수용액상에서 불안정한 경향을 보이는 활성성분에 사용하기는 부적당하며 활성성분을 함유한 유화입자를 제형화 하는데도 상당한 제약을 받게 된다. 또한, 고농도 유효성분을 함유하기 위해서는 그에 비례하는 많은 양의 유화제를 사용해야 하므로 유화제에 의한 피부 자극 등이 유발 될 수 있다. 위와 같은 문제점을 해결하기 위하여, 비타민 C를 빛, 수분, 공기 중의 산소로부터 안정화시킴과 동시에 서방성(sustained releasing characteristic)을 부여하기 위한 방법에 대해서 연구가 이루어지고 있는데 이러한 방법의 하나가 비타민 C의 캡슐화 기술이다[18].

위와 같은 비타민 C에 대한 여러 문제점에 대한 방안으로 순수 비타민 C를 물에 노출시키지 않음으로써 안정화를 꾀하는 제안이 모색되고 있다. 그러므로 본 연구에서는 비타민 C를 점성이 낮은 오일에 혼합하여 비타민 C를 직접 사용하는 나노 캡슐화을 위한 기초 연구를 수행하였다.

2. 실 험

2.1. L-아스코르빈산의 비수계 나노 입자 제조

L-아스코르빈산, 토코페놀 아세테이트(tocopherol acetate)와 점성이 있는 실리콘검(silicone gum)을 전체 함량의 50% 정도를 투입한 다음 충분히 교반 한다. 이때 코어(core) 물질의 안쪽 배향을 위해서는 HLB (hydrophile lipophile balance)값 6 이하의 계면활성제 0.05%를 투입하고 자체 제작한 3롤밀(three roll mill)을 이용해 혼합하였다. 이 혼합물을 나노입자분쇄기(bead mill ; NITNPM-1, Nanointech Co.)에서 1회, 2회, 3회 처리하면서 입자 크기를 500 nm 이하가 되도록 분쇄되었다. 실험에 사용된 모든 시약은 (주)나우코스에서 제공되었다.

2.2. 나노캡슐의 제조

이중 캡슐을 위하여 일정량의 고분자인 폴리에스테르(polyester : MW 5000, Sigma-Aldrich Inc.)을 사용하여 L-아스토르빈산을 함유한 나노 입자를 디클로로메탄(dichloromethane: Junsei Chemical Co., Ltd.) 등의 유기용제에 균일 용해 시킨 후 음이온계면 활성제인 SLS 또는 SDS가 용해 되어 있는 증류수에 넣고 1차 유화 시킨다. 이때 1차 유화는 호모믹서(Homo-Mixer)를 사용하여 3500 rpm, 4 min간 처리한 후 곧 바로 유화기(microfludizer: Ultimizer system, Armstec Ind. Co. Ltd.)에서 나노 크기의 유화물을 제조 한다. 이러한 오일상에서 L-아스코르빈산 25 vol% 농도의 유화물로 제조되었다.

유화기에서 처리 횟수를 달리 하여 입자의 크기가 달라진 나노 유화물을 경화시키기 위하여, 서서히 교반하면서 유기용매를 첨가한다. 이때 고분자와 나노 입자를 용해시켰던 용매는 수상으로 서서히 확산되어 나오며, 수상의 공기접촉면에서 증발시켜 제거 한

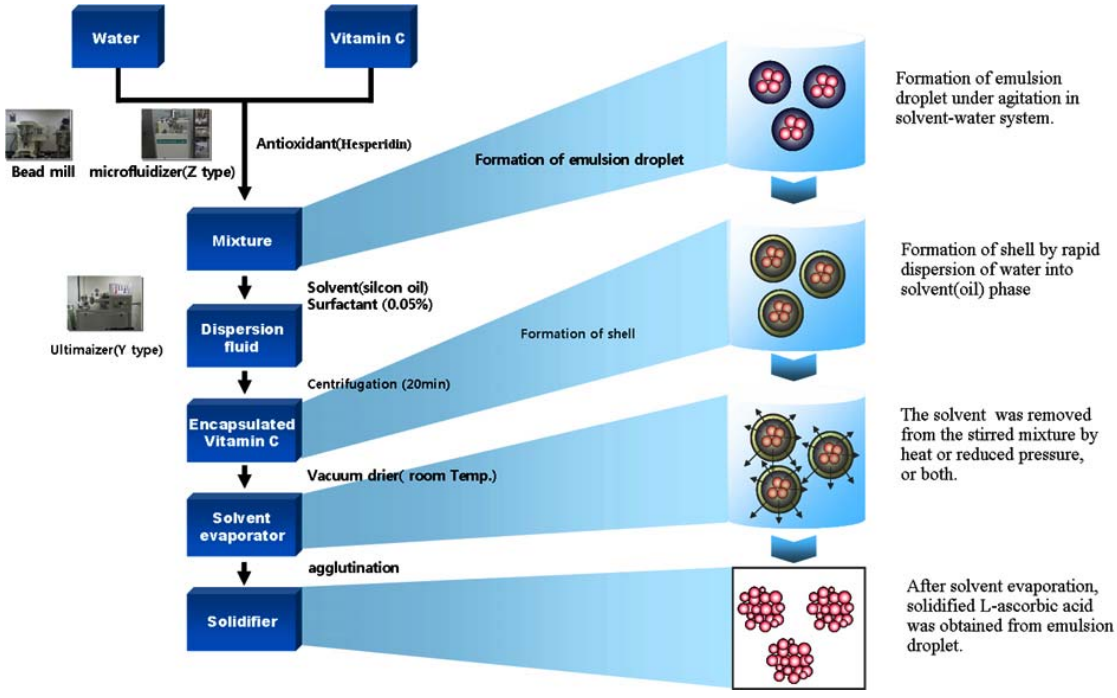

Figure 2. Schematic for the nano-capsulation of L-ascorbic acid.

Table 1. Criterion Index for the Skin Susceptibility

판정값	피부자극 정도
0	자극 없음
1	최소한의 자극(겨우 감지할 정도)
2	약간의 자극(홍반)
3	심한 자극(홍반, 부종)
4	극심한 자극(홍반, 부종)

다. 또한 용매 제거와 함께 유화물 내의 폴리에스테르 고분자는 경화되면서 캡슐체가 되며 경화된 캡슐체의 정제를 위하여 투석을 실시하여 계면활성제를 제거하고, 소정의 크기의 L-아스코르빈산이 함유한 폴리에스테르 고분자 입자체를 제조하게 된다. 나노 입자 제조와 캡슐화를 위한 개략적 공정은 Figure 2와 같다.

2.3. 입자 크기 및 분포

제조된 L-아스코르빈산 유화물의 크기 분포는 산란각 90°, 25 ℃에서 측정입도측정기(Laser Light Scattering; BI-9000AT, Brookhaven Instruments Co.)와 Car Zeiss사의 현미경(Axioskop 40, Carl Zeiss Co., Ltd.)을 이용하여 확인하였다. 또한, L-아스코르빈산을 함유한 캡슐체의 크기와 모양은 주사전자현미경을 이용하여 확인되었다.

2.4. 안정성 실험

제조된 L-아스코르빈산 미세캡슐의 저장 중 안정성을 조사하기 위해서 L-아스코르빈산 미세캡슐용액 10 mL (1 mg/mL)를 동량의 증류수와 혼합하여 4, 20, 30 ℃ 온도에서 각각 저장하였다. 이 용액을 30일간 저장하면서 5일 간격으로 일정량의 sample을 취한 후 DNP 방법을 이용하여 유리된 L-아스코르빈산를 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC; Waters 486, Waters Co.)를 이용하여 정량하였다.

Figure 3. Test for the skin susceptibility.

2.5. 피부 자극도 측정

L-아스코르빈산 함유 유화물의 사람의 피부에 대한 자극성 조사를 위하여 건강한 남녀 실험자 각각 10명의 팔 상박부에 시료를 첩포 시험 방법에 따라(Figure 3), 1일 1회씩 도포 후 1일 후, 2일 후, 3일 후에 Table 1의 판정표에 의하여 피부 자극 정도를 판단하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 입자의 크기 분포

Figure 4는 일정 온도(25 ℃)에서 입도 측정기를 이용하여 측정한 L-아스코르빈산 유화물의 입자크기 분포 곡선이다.

제조된 초기 입자들은 응집에 의하여 정확한 측정이 불가능하므

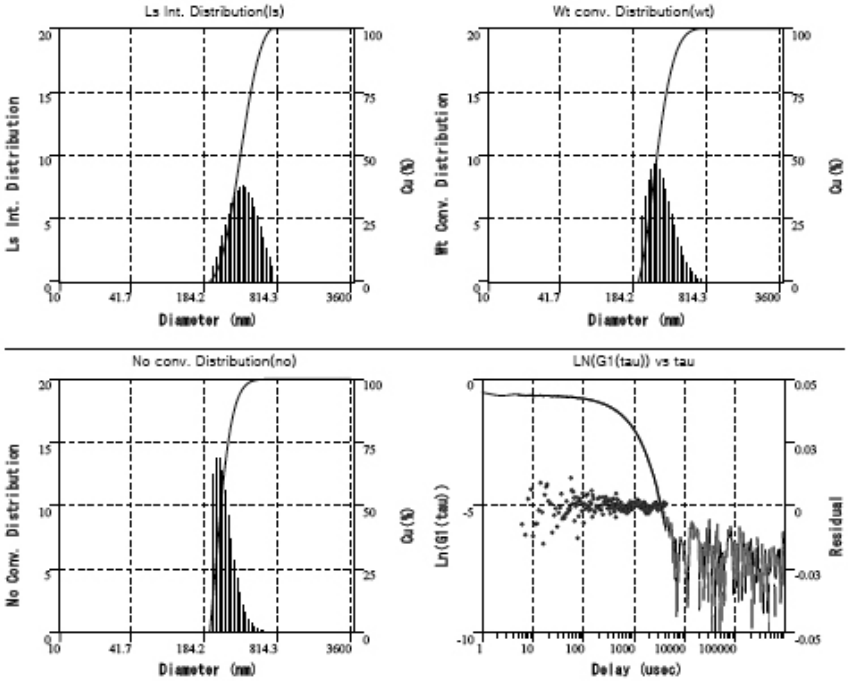

Figure 4. Distribution graph of emulsified L-ascorbic acid capsule.

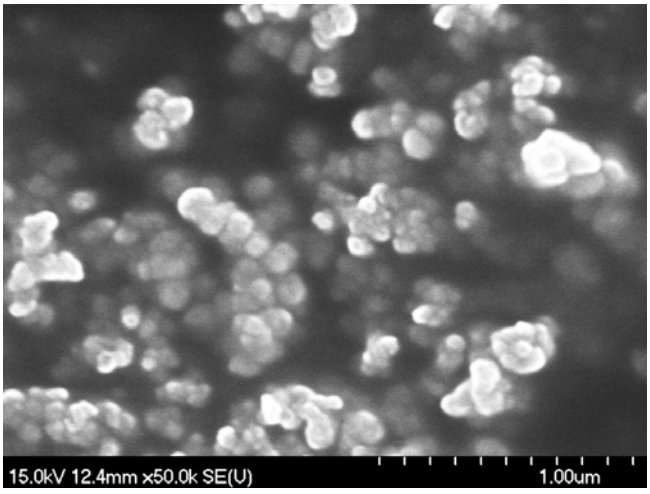

Figure 5. SEM photography of L-ascorbic acid capsule.

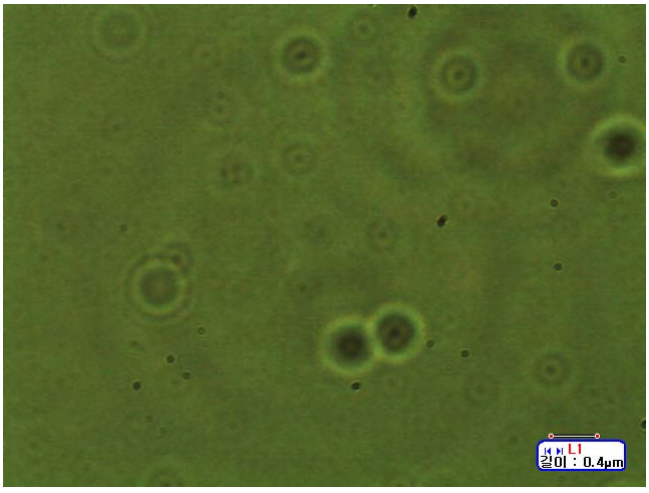

Figure 6. Microscope photography of emulsified L-ascorbic acid.

로 다량의 오일을 첨가하여 아주 낮은 농도로 희석된 용액 상태에서 측정되었다. 측정된 입자의 크기는 500 nm 이하에 약 70% 정도 존재하였으며 입자의 평균 크기는 410 nm 였다.

3.2. 입자 크기

L-아스코르빈산 캡슐체의 입자의 크기와 모양은 주사전자현미경을 이용하여 확인되었다.

Figure 5에 나타난 것처럼 입자들의 크기는 다양했으나 평균 크기는 200～500 nm범위의 크기를 나타내었고 입자들의 모양은 구형에 유사한 모양으로 관찰되었다.

한편, L-아스코르빈산 유화물의 모양과 크기를 Figure 6에 나타내었다. Figure 6에 나타난 것처럼 미세한 L-아스코르빈산 입자를 중심으로 이를 쌓고 있는 둥근 원이 관찰되었다. 이것은 L-아스코르빈산 입자가 캡슐화된 고분자 물질에 의하여 보호되고 있음을 나타낸다. 특히, 오일상에서 캡슐화되어 안정화되어 있는 L-아스코르빈산 입자는 수분과 공기로부터 차단되어 보다 장시간 산화되거나 분해되지 않은 상태로 유지 될 수 있다. 또한 캡슐화 형태로 분산되어 있는 유화물 입자들의 크기는 대부분이 500 nm 이하의 크기를 갖는 것으로 판단되었다.

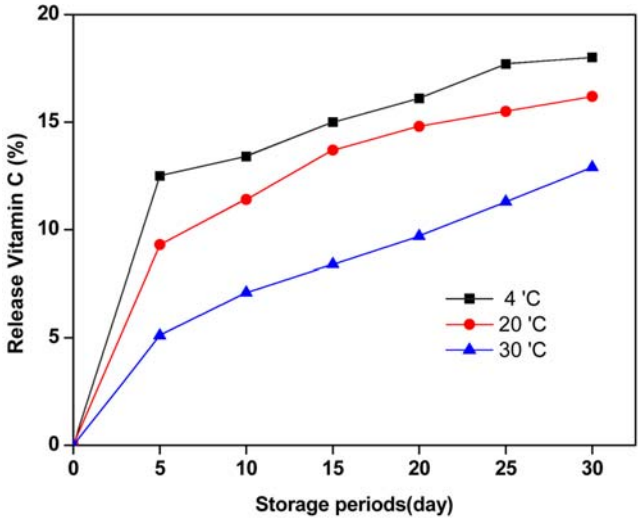

Figure 7. Effect of temperature on the release of vitamin C from capsules.

3.3. 안정도

최적조건에 따라 미세캡슐화된 L-아스코르빈산을 온도와 저장기간에 대한 안정성 조사를 위해 캡슐용액 10 mL (1 mg/mL)와 동량의 증류수를 첨가하여 4, 20, 30 ℃ 온도에서 30일간 저장하면서 유리된 L-아스코르빈산 양을 측정하여 그 결과를 Figure 7에 나타내었다.

저장기간 중 각각의 온도에서 유리된 L-아스코르빈산 양은 초기보다 저장기간이 경과함에 따라 증가하였고, 4 ℃보다 20 ℃에서 더 많이 유리되었으며 30 ℃에서 가장 많은 양의 L-아스코르빈산이 유리된 것으로 측정되었다. 즉, 저장 5일 후에는 각각의 온도에서 저장된 시료의 유리된 L-아스코르빈산 양이 5.1, 9.3, 12.5%로 나타났고, 저장 10일에는 6.1, 11.4, 13.4%, 저장 15일에는 7.4, 13.7, 15.0%로 나타났다. 저장 20일에는 9.7, 14.8, 16.1%, 저장 25일에는 11.3, 15.5, 17.7%, 마지막 저장 30일에는 12.9, 16.2, 18.0% 비타민 C의 유리량이 증가되었다. 그리고 Figure 5에 나타났듯이 저장 5일 동안에만 L-아스코르빈산의 유리량이 급증했고 저장 30일까지의 유리량은 완만한 증가량을 보였다. 4 ℃에서의 기간별 L-아스코르빈산의 유리량은 저장 5일에만 급증했고 그 이후의 5일 간격마다 약 1～2%정도의 증가량을 보였다. 반면, 20 ℃에서는 저장 15일까지 유리량이 급증했으나 20일 후부터는 완만한 유리량의 증가가 관찰되었다. 그리고 30 ℃에서는 처음 5일 동안에만 12.5%로 유리량이 급증하였으나 그 이후 기간동안의 유리량은 완만히 증가함을 보였다.

3.4. 피부 자극도 측정

건강한 남녀 실험자 20명을 팔 하박부에 시료를 폐쇄 첩포 시험방법에 따라, 1일 1회씩 도포 후 1일 후, 2일 후, 3일 후에 자극 정도를 Table 1의 수치화 된 값에 의하여 판단되었다.

실험 대상자 20명에 대하여 두 상에서 캡슐화된 L-아스코르빈산의 피부 자극 실험 결과 두 상에서 피부 자극도는 오일상에서 2일 후에 1명만이 인지할 정도의 약한 자극이 나타났을뿐 이외의 인원

에게서는 어떠한 자극도 나타나지 않았다. 20명을 대상으로 한 피부 자극도 실험 결과에 나타났듯이 유화물 형태의 캡슐화된 L-아스코르빈산은 사람의 피부에 무자극성을 나타내므로 피부에 안정적인 적용 수단으로 유용하다고 생각되었다.

4. 결 론

비수계에서 제조된 L-아스코르빈산을 포함하는 나노 캡슐체들은 500 nm 이하 크기를 갖는 입자들이 70%를 나타내었다. 또한, 유화물 형태에서의 평균 입자 크기는 410 nm로 나타났다.

L-아스코르빈산을 포함하는 캡슐체들의 온도와 저장 기간에 대한 안정도는 4, 20, 30 ℃ 온도에서 30일간 저장했을 때 최초 5일 후에는 5.1, 9.3, 12.5%로 급격히 L-아스코르빈산이 유리되어 빠져나왔으나 이후부터는 약 1～2% 정도의 증가량을 보였다. 또한, 유화물 형태의 L-아스코르빈산에 대한 남녀 각각 10명의 대상인원에 대한 피부 자극도는 1명만이 2일 후에 아주 미세한 피부 자극이 나타났으며 다른 인원에게서는 무자극성을 나타내었다. 그러므로, 제조된 캡슐화된 L-아스코르빈산는 피부에 대하여 무자극성을 나타내는 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 2007년도 산학협동재단 학술연구비지원사업에 의하여 이루어졌음.

참 고 문 헌

1. F. Shahidi and X. Q. Han, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **33**, 501 (1993).
2. U. R. Pothakamury and G. V. Barbosa-Canovas, *Trends in Food Science & Technology*, **6**, 397 (1995).
3. J. D. Dziezak, *Food Technology*, **52**, 136 (1998).
4. D. E. Pszczola, *Food Technology*, **52**, 70 (1998).
5. S. K. Kanawjia, V. Pathania, and S. Singh. *Indian Dairyman*, **44**, 280 (1992).
6. G. O. Fanger, Microcapsulation processes and application, Plenum press, NY, (1974).
7. P. B. Deasy, Microencapsulation and related drug processes, Marcel Dekker. Inc., NY, (1984).
8. USP 2, 556, 410 (1951).
9. B. Y. Ahn, J. H. Kim, S. I. Seok, S. Y. Ko, and H. K. Chang, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **13**, 672 (2002).
10. L. J. Machlin, Handbook of Vitamins, 2nd Ed, Marcel Dekker, Inc., NY, (1991).
11. T. Doba, G. W. Burton, and K. U. Ingold, *Biochim. Biophys. Acta*, **835**, 298 (1985).
12. A. Bossi, S. A. Piletsky, E. V. Piletska, P. G. Righetti, and A. Turner, *Anal Chem.*, **2**, 4296 (2007).
13. L. Yamamoto, A. Tai, Y. Fujinami, K. Sasaki, K. Okazaki, and S. J. Okazaki, *Med. Chem.*, **45**, 462 (2002).
14. H. Tsuchiya and C. J. Bates, *J. Nurt. Biochem.*, **9**, 402 (1998).
15. Y. Horino, S. Takahashi, T. Miura, and Y. Takahashi, *Life Science*, **71**, 3031 (2002).
16. L. S. Goodman and A. Gilman., As Bases Farmacologicas da Terapeutica, 9th Ed., McGraw Hill, (1996).
17. I. M. J. Hamilton, W. S. Gilmore, I. F. F. Benzie, C. W. Mulholland, and J. J. Strain, *British Journal of Nutrition*, **84**, 261 (2000).
18. USP 5, 286, 495 (1994).