비수계에서 L-Ascorbic Acid 의 나노 캡슐화

김병식,* 홍주희, 이채성, 김경준, 송기세 [1]

동국대학교, [1] (주) 나우코스

(bskim@dongguk.edu*)

Nanocapsulation of L-Ascorbic Acid in Non-Aqueous system

Byoung-Sik Kim*, Joo-Hee Hong, Chae-Sung Lee, Kyoung-Jun Kim, Gi-Se Song[1]

Department of Chemical & Biochemical Engineering, Dongguk University

[1]Nowcos Co., Ltd

(bskim@dongguk.edu*)

서론

비타민 C 는 아스코빅산(Ascorbic acid) 또는 아스코베이트(Ascorbate)라고 불리어진다[1]. 이것은 α-ketolactone 의 에놀(Enol) 형으로 불안정하여 공기, 특히 산소와 열, 그리고 빛과 같은 외부 환경에 민감하게 반응하여 쉽게 분해된다. 한편, 비타민 C 는 비수용액 중에서는 극소량이 용해되는 반면에 수용액 중에서는 비교적 많은 량이 용해되지만, 빠른 산화작용으로 인하여 충분한 양의 비타민 C 가 안정화 되지 못하고 있다. 이 때문에 의약, 식품, 화장품 등에서는 활성물질(active ingredient)로서 소량의 비타민 C 만이 사용 가능하다[1,2]. 반면에 우리 몸에 유해한 활성산소를 저해하여 질병, 암, 신장 질환 등의 여러 가지 질병을 방지하는 역할을 함으로서 그 중요성은 나날이 증대 되고 있다.

따라서 비타민 C 의 화학적 불안전성을 액체성 결정화(liquid crystalization)와 마이크로에멀젼(microemulsion), 리보솜(ribosome) 등의 방법으로 비타민 C 를 고정하거나 캡슐화(capsulation) 시키는 많은 노력과 연구가 있어 왔다[2-4]. 그러나 유화 막은 물리화학적으로 매우 약하고 불안정하여 염이나 전하를 지닌 유기물 또는 무기물에 의한 오염으로 인하여 유화막이 파괴되고, 열이나 빛에 대해서도 매우 약하기 때문에, 장기간 보관에 있어

불안정한 단점이 있다. 이와 같이 저분자 유화제를 사용하여 유효성분을 함유한 나노 크기의 유화입자는, 수용액상에서 불안정한 경향을 보이는 활성성분에 사용하기는 부적당할 뿐 아니라 활성성분을 함유한 유화입자를 제형화 하는데도 상당히 제약을 받게 된다. 또한, 고농도 유효성분을 함유하기 위해서는 그에 비례하는 많은 양의 유화제를 사용해야 하는 관계로, 유화제에 의한 피부 자극 등이 유발 될 수도 있다. 위와 같은 문제점을 해결하기 위하여, L-아스코빅산(Ascorbic acid)을 빛, 수분, 공기중의 산소로부터 안정화를 위한 방법들 중의 하나가 캡슐화 기술이다[1,4].

본 연구에서는 온도, 습도, 미생물 등에 의한 반응성의 감소와 기능 저하를 방지하고 안정성을 갖도록 비타민 C 를 비수계(non-aqueous)에서 나노 입자화 시킨 후 특수한 조건하에서 통제된 속도로 방출할 수 있도록 마이크로캡슐화 (microcapsulation) 기술을 개발하고자 한다.

실험

L-아스코빅산의 비수계 나노 입자의 캡슐제조는 점도가 물과 비슷한 실리콘 오일상에 전체 함량의 30%정도 L-아스코빅산를 첨가 후 코어(core) 물질의 안쪽 배향을 위해서 HLB 값 6 이하의 유화제를 일정 비율별로 투입하고 충분히 교한 후 마이크로플르다이져(microfluidizer; ultimaizer system)를 이용하여 1~3 회 분쇄하여 300 nm 이하의 크기로 분쇄하였다. 각 회마다 분쇄된 입자들의 크기 분포와 모양 등은 온도 25℃에서 레이저 광산란기(Laser Light Scattering; BI-9000AT)과 투과전자현미경(Transmission electron microscopy)를 이용하여 관찰하였다.

제조된 입자들의 이중 캡슐을 위하여 일정량의 고분자인 폴리에스터(Polyester; MW 5,000)을 사용하여 L-아스코빅산을 함유한 나노 입자를 디클로로메테인 (dichlromethane)등의 유기용제에 균일 용해시킨 다음, 음이온계면 활성제인 SLS 또는 SDS 가 용해 되어 있는 정제수에 넣고 1 차 유화 시킨다. 이때 1 차 유화는 호모믹서(Homo-Mixer)를 사용하여 3500rpm 에서 4 분간 처리한 후 곧 바로 Ultimizer 에서 나노 크기의 유화물을 제조 한 후 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 증발, 제거 한다. 또한 용매 제거와 함께 유화물내의 폴리에스터 고분자는 경화되면서 더블 캡슐체가 되며 경화된 캡슐체의 정

제를 위하여 투석을 실시하여 계면활성제를 제거하고, 소정의 크기의 L-아스코빅산이 함유된 폴리에스터 고분자 입자체를 제조한다.

캡슐화된 나노 크기의 L-아스코빅산의 입자 크기는 3 차 증류수에 분산시켜 1% 우라닐 아세테이트(Uranyl Acetate)로 염색 후 30 분간 건조 후 투과전자현미경을 이용하여 입자의 크기와 모양 등을 관찰하였다

한편, 제조된 입자들을 크림 제형에 2, 5, 10%함유하도록 제조하고 이에 대한 사용감, 안정성에 평가를 실시하였으며 건강한 남녀 실험자 20 명을 하박부에 시료를 폐쇄 첩포 시험 방법에 따라 1 일 1 회씩 도포 후 외부와의 차단을 위해 플라스틱 캡을 씌운 후 1, 3, 7 일 후에 자극 정도를 관찰하였다. 자극 정도의 판단 기준은 다음 Table 1 에 의하여 이루어졌다.

Table 1 Critertion of skin cytotoxicity

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)

결과 및 토론

Fig.1 은 마이크로플르다이져에 의하여 3 회 분쇄된 L-아스코빅산의 입자 분포와 입자들의 사진이다. 그림들에 나타난 것 처럼 분쇄된 입자들의 크기는 35~ 470 nm 의 범위를 나타내었다. 특히, 250~380 nm 크기의 입자들이 전체의 50%을 나타내었다. 이 범위의 입자 크기는 오일 상에서 우유빛의 에멀젼 상태를 유지하고 있으므로 투명한 용액으로 제조를 위해서는 100nm 이하의 크기로까지 분쇄가 요구된다.

Fig. 2 는 투과전자현미경에 의하여 관찰된 L-아스코빅산 입자들의 사진들이다. 희석전(Fig.2(a))의 입자들은 입자들간의 거리가 매우 근접하거나 엉킴에 의해 모양의 정확한 판단이 어려웠다. 그러나 입자들의 농도를 100 배로 묽게 희석하여 관찰된 결과 그 모양들은 표면이 오목하고 매끄럽지 않은 불규칙한 모양을 나타내었다(Fig. 2(b).

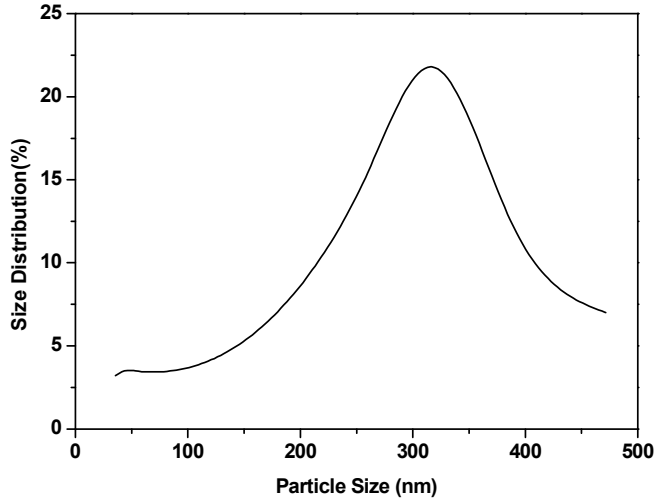
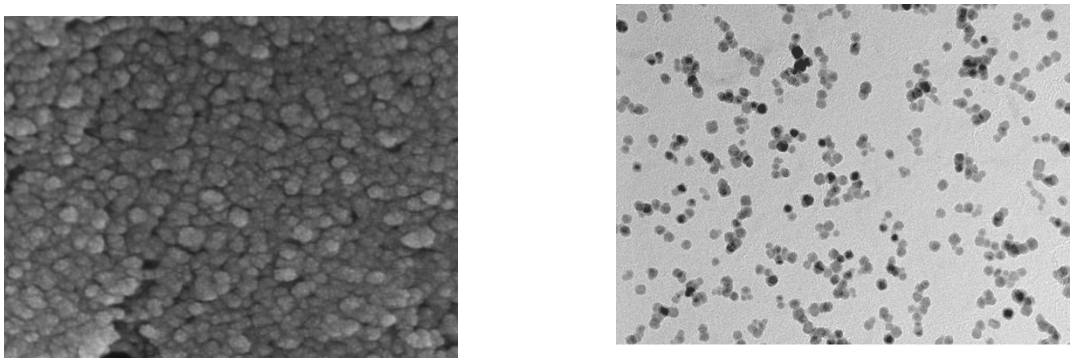


Fig. 1 Size distribution of prepared particles.



(a) **(b)**

Fig.2 Photographs of prepared particles (a) before and (b) after dilution.

참고문헌

1. J. B. Lee, "Microencapsulation of vitamin C and it's effect on iron bioavailability in iron fortified milk", M.S. Thesis, Sejong Univ. (2002)
2. G. Y. Lee, "Preparation of microcapulse containing L-ascorbic acid by W/O/W multiple emulsification and solvent evaporation, M.S. Thesis, Yonsei Univ. (2001)
3. E. Espositio, F. Cervellati, E. Menegatti et al., "Spary dried eudragit microparticles as encapsulation devices for vitamin C", International J. Pharmaceutics, **242** (2002), 329-334
4. J. H. Yang, S. Y. Lee, Y. S. Han, et al., "Efficient transdermal penetration and improved stability of L-ascorbic acid encapsulated in an inorganic nanocapsule", Bull. Korean Chem. Soc., **24** (2003) 499-503