

(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0029942  
(43) 공개일자 2013년03월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 9/16 (2006.01) A61K 9/48 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01) A61K 47/06 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0093370

(22) 출원일자 2011년09월16일

심사청구일자 2011년09월16일

(71) 출원인

경상대학교산학협력단

경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)

(72) 발명자

이원재

경상남도 진주시 진주대로815번길 11, 117동 202호 (주약동, 현대아파트)

하호경

경상남도 진주시 집현면 신당길208번길 38

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김종관, 권오식, 박창희

전체 청구항 수 : 총 10 항

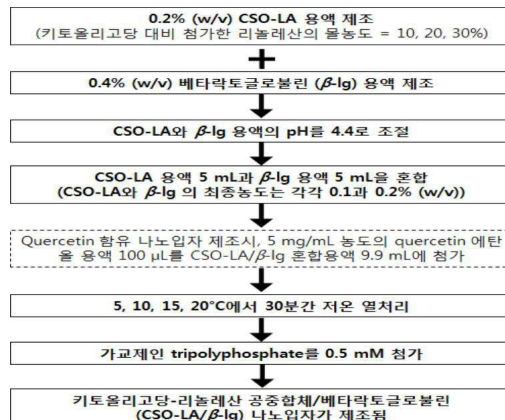
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 저온 공중합 기술을 이용한 키토올리고당 / 베타락토글로불린 나노 전달체 및 그의 제조방법

### (57) 요약

본 발명은 키토올리고당-리놀레산 공중합체 또는 키토올리고당 단량체; 베타락토글로불린; 및 가교제인 TPP;를 포함하는 나노 전달체 및 그의 제조방법에 관한 것이며 본 발명의 나노 전달체는 수용액 상태에서 지용성 기능성 물질을 효과적으로 포집하여 체내에 전달할 수 있는 전달체로 무지방, 저지방 식품에 대한 소비자들의 선호도를 충족시킬 수 있는 고부가가치 기능성 식품 소재로 이용 가능하다.

대표도 - 도15



(72) 발명자

**이미령**

경상남도 진주시 진주대로815번길 11, 117동 202호  
(주약동, 현대아파트)

**김진옥**

경상남도 사천시 사천읍 구암두문로 254-9, 구암두  
문로 254-9 원광이안애 아파트 105-1205 (원광 이  
안애 아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 107072-3

부처명 농림수산식품부

연구사업명 농림기술개발사업

연구과제명 콜드젤 기술을 이용한 유청 단백질 나노담체 함유 기능성 유제품 가공기술 개발

주관기관 경상대학교

연구기간 2007.05.30 ~ 2010.05.29

---

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

- a) 키토올리고당-리놀레산 공중합체 또는 키토올리고당 단량체를 준비하는 단계;  
 b) 상기 a)단계의 키토올리고당-리놀레산 공중합체 또는 키토올리고당 단량체; 및 베타락토글로불린; 을 혼합하여 저온 열처리하는 단계; 및  
 c) 상기 b) 혼합물에 가교제인 TPP를 투입하여 가교하는 단계;  
 를 포함하는 나노 전달체 제조방법.

### 청구항 2

제 1항에 있어서,  
 상기 b)단계에서 소수성 기능성 물질을 추가하여 저온 열처리하는 단계를 포함하는 나노 전달체 제조방법.

### 청구항 3

제 1항에 있어서,  
 상기 b) 단계의 저온 열처리하는 단계는 5℃ ~ 34℃에서 수행되는 것을 특징으로 하는 나노 전달체 제조방법.

### 청구항 4

제 1항에 있어서,  
 상기 b)단계의 키토올리고당-리놀레산 공중합체, 또는 키토올리고당 단량체; 및 베타락토글로불린은 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액 또는 키토올리고당 단량체 수용액; 및 베타락토글로불린 수용액으로 제조하여 각각의 pH를 조절한 후 투입하는 단계를 포함하는 나노 전달체 제조방법.

### 청구항 5

제 4항에 있어서,  
 상기 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액 또는 키토올리고당 단량체 수용액; 및 베타락토글로불린 수용액의 pH는 각각 3.5 ~ 4.8 인 나노 전달체 제조방법.

### 청구항 6

제 1항에 있어서,  
 c) 단계에서 TPP의 농도는 0.2 ~ 0.7 mM 인 나노 전달체 제조방법.

### 청구항 7

키토올리고당-리놀레산 공중합체 또는 키토올리고당 단량체; 베타락토글로불린; 및 가교제인 TPP;를 포함하는 나노 전달체.

### 청구항 8

제 1항 내지 제 6항 중에 어느 한 항의 제조방법으로 제조된 나노 전달체.

### 청구항 9

제 8항에 있어서,  
 상기 나노 전달체는 소수성 기능성 물질을 포집하는 나노 전달체.

### 청구항 10

제 7항의 나노 전달체 및 제 1항 내지 제 6항의 제조방법으로 제조된 나노 전달체를 포함하는 기능성 나노식품.

## 명세서

### 기술분야

[0001] 본 발명은 저온 공중합 기술을 이용하여 난용성이고 생체 이용률이 낮은 항산화물질을 수용액 내에서도 효과적으로 포집 전달할 수 있는 나노 전달체 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

### 배경기술

[0002] 나노 전달체는 1~200 nm의 크기를 지니는 전달 시스템으로 기존에 소수성 물질 전달에 이용되었던 미세 입자 (>1,000 nm)와 비교하여 입자 크기가 매우 작아 표면적을 급격히 증가시킴으로써 장 체류 시간 및 장 상피세포와의 상호작용이 증가되어 소수성 물질의 생체 이용성을 높이는데 유리하다.

[0003] 양이온 다당류인 키토산은 독성이 없고 생분해성을 지닐 뿐만 아니라, 상처치료 및 정균작용 효과 등 다양한 생리활성 효과를 지니고 있어 그 자체로 식품, 의료부분에 널리 이용되고 있다. 또한 키토산은 인체의 구강부터 위장관에 걸쳐 존재하는 점액질 층에 잘 결합하여 포집된 물질의 흡수를 촉진시키는 특성을 지니고 있어 특히 수용성 기능성 물질의 전달체로 많이 이용되어 왔다. 본 발명에 이용된 키토올리고당(chitosan oligosaccharide, CSO)은 분자량을 줄인 키토산으로 생리적 pH (~7.4) 에서 낮은 수용해도를 지닌 키토산과 달리 수용성이 높아 보다 다양한 분야에 이용될 수 있다. 그러나 키토산과 키토올리고당은 이용한 전달시스템은 낮은 pH (예, 위 pH) 에서 빠르게 분해되어 포집된 물질을 위에서 보호하지 못하고 수용액 내에서 물을 빠르게 흡수하여 팽윤되므로 포집된 물질이 빠르게 방출되는 단점을 지니기 때문에 기능성 식품 등에서 식품소재로 이용 시 어려움이 있으며, 또한 식품적용성이 낮은 퀘세틴(quercetin)과 같은 소수성 기능성 물질의 포집 효율이 매우 낮은 단점을 지니고 있다 (Chen & Subirade, 2005; George and Abraham, 2006, 비특허문헌 1).

[0004] 구형의 유청 단백질인 베타락토글로불린은 GRAS(generally recognized as safe)하고 생체적합성을 지닌 생분해성 천연 고분자로, 젤이나 에멀전을 형성할 수 있는 기능적 특성을 지닌다. 베타락토글로불린은 매우 낮은 pH (예, 위 pH)에서 안정적이고 포집된 기능성 물질을 보호할 수 있을 뿐만 아니라 오메가-3 지방산이나 천연 항산화제인 레스베라트롤(resveratrol)과 같은 소수성 기능성 물질과 잘 결합할 수 있어 소수성 기능성 물질 전달체로 사용한다. 본 연구에서는 키토올리고당 전달시스템의 단점으로 알려진 낮은 pH (예, 위 pH)에서 분해되어 기능성 물질을 보호하지 못하는 문제를 해결하기 위해 낮은 pH에서 안정적인 베타락토글로불린을 가교제인 트리폴리포스페이트(tripolyphosphate, TPP)를 이용하여 복합체화 시켰다.

[0005] 건강에 이익이 되는 퀘세틴과 같은 소수성 기능성 물질은 식품 제조공정 환경 (온도, 산소, 빛) 및 위장관 내 환경 (pH, 효소)에서 낮은 용해도와 안정성을 지니기 때문에 생체 이용성이 매우 낮은 (퀘세틴: < 1%) 단점을 지닌다 (Gershanik and Benita, 2000; Arbóes et al., 2002; Chen & Subirade, 2005, 비특허문헌 2). 또한, 최근 다이어트에 대한 관심과 함께 저지방 무지방 식품에 대한 소비자의 선호도가 증가하고 있다. 소수성 기능성 물질의 식품 내 이용성 증가를 위해 오일을 이용하거나 오일 기반 전달체를 이용한 기존 방식으로는 소비자의 요구를 만족시킬 수 없다. 따라서, 오일을 사용하지 않고도 수용액 상태에서 퀘세틴(quercetin)과 같은 소수성 기능성 물질을 효과적으로 전달 할 수 있는 수용성 기반 나노 전달체의 개발이 필요하다.

### 선행기술문헌

#### 비특허문헌

[0006] (비특허문헌 0001) Chen & Subirade, 2005; George and Abraham, 2006

(비특허문헌 0002) Gershanik and Benita, 2000; Arbóes et al., 2002; Chen & Subirade, 2005

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

[0007] 기존 기술의 문제점을 해결하기 위한 본 발명의 목적은 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노

전달체를 제조하고, 나노 전달체의 제조 공정 요인인 리놀레산(Linoleic acid, LA)의 공중합도와 저온 열처리 온도가 나노 전달체의 크기나 소수성 기능성 물질 (모델물질: 퀴세틴)의 포집 효율에 어떠한 영향을 미치는지 확인하여 생체 내에 효율적으로 전달되고 GRAS한 나노 전달체 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

- [0008] 폴리머릭(Polymeric) 전달 시스템을 이용한 소수성 기능성 물질의 포집은 폴리머와 소수성 기능성 물질간의 소수성 결합력을 강하게 함으로써 증가 시킬 수 있다고 알려져 왔다. 본 연구에서는 식품에 적용 가능하고 보다 효과적인 수용성 기반 소수성 물질 전달체 개발을 위해 소수성 물질의 포집 효율은 전달체의 소수성 결합력 증가를 통해 향상 시킬 수 있다는 가설을 근거로 저온 공중합 기술을 이용하여 키토올리고당/베타락토글로불린 복합체와 소수성 전달 물질간의 소수성 결합을 증가시키고자 하였다. 즉, 키토올리고당에 소수성 물질인 리놀레산을 공중합시켜 키토올리고당의 소수성을 증진시키는 공중합 기술과 저온 열처리를 통해 베타락토글로불린의 표면 소수성을 증진시키는 저온 열처리 공정을 포함하는 저온공중합 기술로 보다 효과적인 소수성 물질 전달체를 제조하고자 한다.
- [0009] 본 발명에 따른 저온공중합 기술은 키토올리고당-리놀레산 공중합체를 제조하는 단계와 상기 키토올리고당-리놀레산 공중합체 또는 키토올리고당 단량체; 및 베타락토글로불린;을 혼합하여 저온 열처리 하는 단계를 모두 포함하는 기술로 정의할 수 있다.
- [0010] 본 발명은,
- [0011] a) 키토올리고당-리놀레산 공중합체 또는 키토올리고당 단량체를 준비하는 단계;
- [0012] b) 상기 a)단계의 키토올리고당-리놀레산 공중합체 또는 키토올리고당 단량체; 및 베타락토글로불린;을 혼합하여 저온 열처리하는 단계; 및
- [0013] c) 상기 b) 혼합물에 가교제인 TPP를 투입하는 단계;
- [0014] 를 포함하는 나노 전달체 제조방법을 제공한다.
- [0015] 이러한 제조방법을 도 15에 도식화 하였다.
- [0016] 다음으로, 본 발명의 각 단계에 대하여 설명한다.
- [0017] a) 단계에서, 키토올리고당은 단량체로 사용하거나 리놀레산과의 공중합으로 키토올리고당-리놀레산 공중합체를 제조하여 사용할 수 있다.
- [0018] 본 발명에 따른 키토올리고당-리놀레산 공중합체는 1-에틸-3(3-디메틸아미노프로필) 카보디이미드(EDC) 중재 커플링 반응을 통해 합성되었다. "zero-length"가교제인 EDC는 리놀레산의 카르복실기와 키토올리고당의 아민기 간에 아마이드 결합을 형성시킨다(도 1).
- [0019] 또한 본 발명은, 상기 b)단계에서 소수성 기능성 물질을 추가하여 저온 열처리하는 단계를 포함하는 나노 전달체 제조방법을 제공한다.
- [0020] 상기 b) 단계에서 저온 열처리는 5℃ ~ 34℃ 에서 수행되는 것을 특징으로 한다.
- [0021] 저온 열처리 시간은 크게 제한적이지 않으나, 본 발명의 효율성을 높이기 위한 최소 시간인 30분이 바람직하다.
- [0022] 저온 열처리 온도가 5℃ 미만이면 본 발명의 나노 전달체를 얻을 수 없으며, 34℃를 초과하면 가교제 투입시 침전이 생기는 문제점이 있다.
- [0023] 또한 본 발명은 상기 b)단계의 키토올리고당-리놀레산 공중합체, 또는 키토올리고당 단량체; 및 베타락토글로불린을 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액 또는 키토올리고당 단량체 수용액; 및 베타락토글로불린 수용액으로 제조하여 pH를 조절한 후 투입하는 단계를 포함하는 나노 전달체 제조방법을 제공한다.
- [0024] 여기서 상기 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액 또는 키토올리고당 단량체 수용액; 및 베타락토글로불린 수용액의 pH는 각각 3.5 ~ 4.8 인 것이 바람직하다.
- [0025] 본 발명에 따른 나노 전달체에 포함되는 키토올리고당, 키토올리고당-리놀레산 공중합체 및 베타락토글로불린의 농도는 크게 제한적이지는 않으나, 각각 0.01 ~ 0.5 % (w/v) 의 범위로 사용할 수 있다. Gan과 Wang (2007)의 연구결과에서 보고된 것처럼 일반적으로 폴리머릭 전달시스템의 제조에 있어 폴리머의 농도를 증가시킬 경우 제

조되는 전달시스템의 크기가 증가한다. 따라서 본 발명에서 키토올리고당 또는 키토올리고당-리놀레산 공중합체와 베타락토글로불린의 농도를 증가시킬 경우 제조된 입자의 크기가 증가하여 본 발명의 목적인 나노 전달체 제조에 바람직하지 않다.

[0026] 본 발명에 따른 나노 전달체의 제조방법에 있어서 상기 c) 단계의 TPP의 농도는 0.2 ~ 0.7 mM 인 것이 좋다.

[0027] 또한 본 발명은 상기 제조방법으로 제조된 나노 전달체를 제공한다.

[0028] 본 발명은, 키토올리고당-리놀레산 공중합체 또는 키토올리고당 단량체; 베타락토글로불린; 및 가교제인 TPP;를 포함하는 나노 전달체를 제공한다.

[0029] 이때, 본 발명에 따른 나노 전달체는 소수성 기능성 물질을 포집하는 기능을 하는 나노 전달체일 수 있다.

[0030] 상기 소수성 기능성 물질의 예로는 안테라크산틴(anthraxanthin), 아스타산틴(astaxanthin), 알파카로틴(alpha-carotene), 베타카로틴(beta-carotene), 베타-아포-4'-카로티날(beta-apo-4'-carotenal), 베타-아포-8'-카로티날(beta-apo-8'-carotenal), 칸타크산틴(canthaxanthin), 시트라나산틴(citranaxanthin), 크립토크산틴(cryptoxanthin), 디하이드로플렉타니아산틴(dehydroplectanixanthin), 다이아토산틴(diatoxanthin), 푸코산틴(fucoxanthin), 푸코산티놀(fucoxanthinol), 락투카산틴(lactucaxanthin), 루테인(lutein), 라이코펜(lycopene), 네오산틴(neoxanthin), 뉴로스포라산틴(neurosporaxanthin), 뉴로스포렌(neurosporene), 페리디닌(peridinin), 파이토엔(phytoene), 로드핀(rhodopin), 시포노크산틴(siphonaxanthin), 스페로이딘(spheroidene), 스피릴로산틴(spirilloxanthin), 토룰라로딘(torularhodin), 유리올라이드(uriolide), 유리올라이드 아세테이트(uriolide acetate), 비올라크산틴(violaxanthin), 제아산틴(zeaxanthin), 빅신(bixin), 캡산틴(capsanthin), 감마-카로틴(gamma-carotene), 델타 카로틴(delta-carotene), 엡실론 카로틴(epsilon-carotene), 제타 카로틴(zeta-carotene), 노르빅신(norbixin), 토룰린(torulene), 네로리돌(nerolidol), 시트랄(citral), 시남알데하이드(cinnamaldehyde), 시트로네롤(citronellol), cis-3-헥산알(cis-3hexenal), 아이소아밀아세테이트(isoamyl acetate), 1-옥텐-3-원(1-octen-3-one), 옥틸아세테이트(octyl acetate), 마소이아락톤(massoiolactone), 멘톨(menthol), 메틸부트레이트(methyl butyrate), 멘톤(menthone), 펜틸부트레이트(pentyl butyrate), 펜틸펜타노에이트(pentyl pentanoate), 제라니올(geraniol), 데카날(decanal), 1-나프톨(1-naphthol), 기타 영양물질 중에 어유(fish oil), 밀랍(beewax), D-리모넨(D-limonene), 비타민 A, 비타민 E, 코엔자임큐텐(Co-Q10), 레시틴(lecithin), DHA(Docosahexaenoic acid), EPA(Eicosapentaenoic acid), 캡사이신(capsaicin), 및 퀴세틴 등이 있다.

[0031] 또한 본 발명에 따른 나노 전달체를 포함하는 기능성 나노식품도 본 발명의 범위에 포함된다.

### 발명의 효과

[0032] 본 발명에 의하여 제조된 키토올리고당 베타락토글로불린 나노 전달체는 수용액 상태에서 지용성 기능성 물질을 효과적으로 포집하여 체내에 전달할 수 있는 전달체로 무지방, 저지방 식품에 대한 소비자들의 선호도를 충족시킬 수 있는 고부가가치 기능성 식품 소재로 이용 가능하다.

### 도면의 간단한 설명

[0033] 도 1은 본 발명의 키토올리고당-리놀레산 공중합체의 합성반응을 나타낸 것이며,

도 2는 (a)CSO, (b) LA, (c)CSO-LA 20 의  $^1\text{H}$  핵자기 공명(nuclear magnetic resonance, NMR) 스펙트럼이며,

도 3은 pH 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 및 4.4 에 따른 구형의 나노 전달체 형성사진이며,

도 4는 저온열처리 온도(5 ~ 30℃)에 따른 구형의 나노 전달체 형성사진이며,

도 5는 (a) 실시예5, (b) 실시예6, (c)실시예4, (d)실시예7 의 리놀레산 농도에 따른 나노 전달체 형성 이미지이며,

도 6은 (a)실시예1, (b)실시예2, (c)실시예3, (d)실시예4 의 저온 열처리 온도에 따른 나노 전달체 형성 이미지이며,

도 7은 원자현미경(AFM)으로 측정된 실시예5, 실시예6, 실시예4 및 실시예7 의 리놀레산 농도에 따른 나노 전달체 크기를 나타낸 그래프이며,

도 8은 동적광산란법(dynamic light scattering, DLS)로 측정된 실시예5, 실시예6, 실시예4 및 실시예7 의 리

놀레산 농도에 따른 나노 전달체 크기를 나타낸 그래프이며,

도 9는 원자현미경(AFM)으로 측정한 실시예1, 실시예2, 실시예3 및 실시예4 의 저온 열처리 온도에 따른 나노 전달체 크기를 나타낸 그래프이며,

도 10은 DLS 로 측정한 실시예1, 실시예2, 실시예3 및 실시예4 의 저온 열처리 온도에 따른 나노 전달체 크기를 나타낸 그래프이며,

도 11은 실시예15, 실시예8, 실시예9 및 실시예10 의 리놀레산 농도에 따른 포집효율을 나타낸 그래프이며,

도 12는 실시예11, 실시예12, 실시예13 및 실시예9 의 저온 열처리 온도에 따른 포집효율을 나타낸 그래프이며,

도 13은 본 발명의 실시예에 따른 나노 전달체를 pH 4.4 (요구르트 pH)에 용해 시킨 후 4℃에서 15일간의 저장 기간 동안 형태 변화를 원자현미경(AFM)으로 관찰한 사진이며,

도 14는 본 발명의 실시예에 따른 나노 전달체를 pH 6.7 (우유 pH)에 용해 시킨 후 4℃에서 15일간 저장기간 동안 형태 변화를 원자현미경(AFM)으로 관찰한 사진이며,

도 15는 본 발명의 나노 전달체를 제조하는 방법을 기재한 모식도이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0034] 이하에서 본 발명을 제조예, 실시예 및 비교예를 통하여 더욱 상세히 설명하나 본 발명이 이들 예에 의하여 한정되는 것은 아니다.
- [0035] 이때, 사용되는 기술 용어 및 과학 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 가지며, 하기의 설명 및 첨부 도면에서 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 설명은 생략한다.
- [0036] [제조예 1~3] 키토올리고당-리놀레산 공중합체 제조
- [0037] 키토올리고당 200 mg을 증류수 20 mL에 녹여 준비하고, 리놀레산은 에탄올 10 mL와 혼합하여 준비하였다. 이때 리놀레산은 상기 키토올리고당 200 mg의 D-글루코사민 단위체 100개 대비 첨가한 리놀레산의 몰농도가 각각 10, 20, 30% (각각 제조예1, 제조예2, 제조예3)가 되도록 첨가하였다. 리놀레산 대비 첨가한 EDC의 몰농도가 1:1이 되도록 증류수에 녹인 EDC 수용액 5 mL 을 키토올리고당/리놀레산 혼합용액에 첨가한 다음 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 그런 다음 공중합 반응의 부산물을 제거하기 위해 투석막(Thermo Scientific, Rockford, IL, USA) 50% 에탄올 용액에서 24시간, 증류수에서 48시간 동안 투석하였다. 분자량이 20 kDa 이상인 키토올리고당-리놀레산 공중합체를 분자량이 작은 공중합 되지 않은 리놀레산 (0.28 kDa) 및 EDC (0.15kDa) 부산물과 분리하기 위해 3.5 kDa의 분획분자량(molecular weight cut off)을 지니는 투석막을 이용하였다. 투석 후에는 동결 건조하여 파우더 형태의 키토올리고당-리놀레산 공중합체를 준비하였다.
- [0038] [실시예 1~4] 나노 전달체 제조
- [0039] 상기 제조예2에서 제조된 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액 (0.2%, w/v)와 열처리 되지 않은 베타락토글로불린 수용액 (0.4%, w/v)을 준비한 후 pH를 4.4로 조절하였다.
- [0040] 상기 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액(0.2%, w/v, pH 4.4) 5 mL 및 상기 베타락토글로불린(0.4%, w/v, pH 4.4) 수용액 5 mL 를 혼합하였다. 혼합된 키토올리고당-리놀레산 공중합체와 베타락토글로불린의 최종농도는 각각 0.1%와 0.2% (w/v)였다. 혼합용액을 5℃, 10℃, 15℃ 및 20℃(실시예1, 2, 3 및 4) 에서 각각 30분간 저온 열처리한 후 가교제인 TPP 0.1M 의 수용액을 50 μL 첨가하였다 (처리된 TPP의 최종 농도: 0.5 mM). TPP를 처리하자 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 혼합용액의 색이 유백광으로 변화하였다.
- [0041] [실시예 5] 나노 전달체 제조
- [0042] 키토올리고당 수용액(0.2%,w/w, pH 4.4) 5 mL 및 상기 베타락토글로불린(0.4%, w/v, pH 4.4) 수용액 5 mL 를 혼합하였다. 혼합된 키토올리고당과 베타락토글로불린의 최종농도는 각각 0.1%와 0.2% (w/v)였다. 혼합용액을 20℃에서 30분간 저온 열처리한 후 가교제인 TPP 0.1M 의 수용액을 50 μL 첨가하였다 (처리된 TPP의 최종 농도: 0.5 mM). TPP를 처리하자 키토올리고당/베타락토글로불린 혼합용액의 색이 유백광으로 변화하였다.
- [0043] [실시예 6] 나노 전달체 제조

- [0044] 제조예 1의 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액(0.2%, w/v)을 pH 4.4로 조절하여 사용한 것을 제외하고는 실시예 4와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0045] [실시예 7] 나노 전달체 제조
- [0046] 제조예 3의 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액(0.2%, w/v)을 pH 4.4로 조절하여 사용한 것을 제외하고는 실시예 4와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0047] [실시예 8] 퀴세틴 함유 나노 전달체 제조
- [0048] 상기 제조예 1에서 제조된 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액 (0.2%, w/v)와 열처리 되지 않은 베타락토글로불린 수용액 (0.4%, w/v)을 준비한 후 pH를 4.4로 조절하였다.
- [0049] 상기 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액(0.2%, w/v, pH 4.4) 4.95 mL, 상기 베타락토글로불린(0.4%, w/v, pH 4.4) 수용액 4.95 mL를 혼합하였다. 그런 다음 5 mg/mL 농도로 에탄올에 녹인 퀴세틴 용액 0.1 mL 를 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 혼합용액 9.9 mL에 첨가하였다. 혼합된 키토올리고당-리놀레산 공중합체와 베타락토글로불린의 최종농도는 각각 0.1%와 0.2% (w/v)였다. 혼합용액을 20℃에서 각각 30분간 저온 열처리한 후 가교제인 TPP 0.1M(0.1몰/리터) 의 수용액을 50  $\mu$ L 첨가하였다 (처리된 TPP의 최종 농도: 0.5 mM). TPP를 처리하자 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 혼합용액의 색이 유백광으로 변하였다.
- [0050] [실시예 9] 퀴세틴 함유 나노 전달체 제조
- [0051] 상기 제조예2에서 제조된 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액 (0.1%, w/v)을 pH 4.4로 조절하여 사용한 것을 제외하고는 실시예 8과 같은 방법으로 제조하였다.
- [0052] [실시예 10] 퀴세틴 함유 나노 전달체 제조
- [0053] 상기 제조예 3에서 제조된 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액 (0.1%, w/v)을 pH 4.4로 조절하여 사용한 것을 제외하고는 실시예 8과 같은 방법으로 제조하였다.
- [0054] [실시예 11] 퀴세틴 함유 나노 전달체 제조
- [0055] 상기 저온 열처리 온도가 5℃인 것을 제외하고는 실시예 9와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0056] [실시예 12] 퀴세틴 함유 나노 전달체 제조
- [0057] 상기 저온 열처리 온도가 10℃인 것을 제외하고는 실시예 9와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0058] [실시예 13] 퀴세틴 함유 나노 전달체 제조
- [0059] 상기 저온 열처리 온도가 15℃인 것을 제외하고는 실시예 9와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0060] [실시예 14] 나노 전달체 제조
- [0061] 저온 열처리 온도가 30℃인 것을 제외하고는 상기 실시예 4와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0062] [실시예 15] 퀴세틴 함유 나노 전달체 제조
- [0063] 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액 (0.2%, w/v, pH 4.4)를 키토올리고당 수용액(0.2%,w/w, pH 4.4)으로 치환하여 사용한 것을 제외하고는 실시예 8과 같은 방법으로 제조하였다.
- [0064] [비교예 1] 나노 전달체 제조
- [0065] 가교제인 TPP 0.1M 의 수용액을 100  $\mu$ L(TPP의 최종 농도: 1 mM) 투입하는 것을 제외하고는 상기 실시예 4와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0066] [비교예 2] 나노 전달체 제조
- [0067] 저온 열처리 온도가 35℃인 것을 제외하고는 상기 실시예 4와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0068] [비교예 3] 나노 전달체 제조
- [0069] 열처리 되지 않은 베타락토글로불린 대신에 pH 2.4로 조절 후 80℃에서 30분간 열처리 하여 변성된 베타락토글로불린 수용액의 pH를 4.4로 조절한 것을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 4와 같은 방법으로 제조하였다.

- [0070] [비교예 4] 나노 전달체 제조
- [0071] 키토올리고당 수용액(0.2%,w/w, pH 2.5)수용액 5 mL 및 열처리 되지 않은 베타락토글로불린(0.4%, w/v, pH 2.5) 수용액 5 mL을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 5와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0072] [비교예 5] 나노 전달체 제조
- [0073] 가교제인 TPP 0.1M 의 수용액을 100  $\mu$ L 투입(처리된 TPP의 최종 농도: 1 mM)한 것을 제외하고는 상기 비교예 4와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0074] [비교예 6] 나노 전달체 제조
- [0075] 키토올리고당 수용액(0.2%,w/w, pH 3.0)수용액 5 mL 및 열처리 되지 않은 베타락토글로불린(0.4%, w/v, pH 3.0) 수용액 5 mL을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 5와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0076] [비교예 7] 나노 전달체 제조
- [0077] 가교제인 TPP 0.1M 의 수용액을 100  $\mu$ L 투입(처리된 TPP의 최종 농도: 1 mM)한 것을 제외하고는 상기 비교예 6와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0078] [비교예 8] 나노 전달체 제조
- [0079] 키토올리고당 수용액(0.2%,w/w, pH 3.5)수용액 5 mL 및 열처리 되지 않은 베타락토글로불린(0.4%, w/v, pH 3.5) 수용액 5 mL을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 5와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0080] [비교예 9] 나노 전달체 제조
- [0081] 가교제인 TPP 0.1M 의 수용액을 100  $\mu$ L 투입(처리된 TPP의 최종 농도: 1 mM)한 것을 제외하고는 상기 비교예 8와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0082] [비교예 10] 나노 전달체 제조
- [0083] 키토올리고당 수용액(0.2%,w/w, pH 4.0)수용액 5 mL 및 열처리 되지 않은 베타락토글로불린(0.4%, w/v, pH 4.0) 수용액 5 mL을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 5와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0084] [비교예 11] 나노 전달체 제조
- [0085] 가교제인 TPP 0.1M 의 수용액을 100  $\mu$ L 투입(처리된 TPP의 최종 농도: 1 mM)한 것을 제외하고는 상기 비교예 10와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0086] [비교예 12] 나노 전달체 제조
- [0087] 가교제인 TPP 0.1M 의 수용액을 100  $\mu$ L(TPP의 최종 농도: 1 mM) 를 투입하는것을 제외하고는 상기 실시예 5와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0088] [비교예 13] 나노 전달체 제조
- [0089] 키토올리고당 수용액(0.2%,w/w, pH 5.0)수용액 5 mL 및 열처리 되지 않은 베타락토글로불린(0.4%, w/v, pH 5.0) 수용액 5 mL을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 5와 같은 방법으로 제조하였다.
- [0090] 본 발명의 실시예 및 비교예에서 제조된 나노 전달체의 물리·화학적 특성은 아래와 같은 방법으로 측정되었다.
- [0091] 1. 키토올리고당-리놀레산 공중합체의  $^1\text{H}$  NMR 분석을 통한 공중합도.
- [0092] 리놀레산의 카르복실기와 키토올리고당의 아민기간의 공중합과 공중합도는 리놀레산, 키토올리고당, 키토올리고당-리놀레산 공중합체의  $^1\text{H}$  NMR 스펙트라를 이용하여 확인하였다. 키토올리고당은  $\text{D}_2\text{O}$  용액에, 리놀레산과 키토올리고당-리놀레산 공중합체는 디메틸 설펍사이드 듀테라이드 용액에 20 mg/mL 농도로 녹인 다음 Bruker Advance UltraShield 400 (400 MHz, Bruker, Germany)을 이용하여 실온(25 $^{\circ}\text{C}$ ) 에서 양성자(proton) 피크를 얻었다.
- [0093] 2. 키토올리고당 단량체 및 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체의 형태
- [0094] 키토올리고당 단량체 및 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체의 형태학적 특성은 투과 전자 현미경 (transmission electron microscopy, TEM, phillips Tecnai 12, 120 kV)과 원자현미경 (atomic

force microscopy, AFM, XE-100, PSIA, Korea)을 이용하여 측정하였다. 투과전자현미경 촬영은 제조된 나노전달체를 탄소를 입힌 그리드(grid)에 위치시킨 후, 실온에서 2% uranyl acetate로 음성염색법 (negative staining)을 실행한 뒤 건조시킨다음 투과전자현미경에 삽입하여 관찰하였다. 원자현미경 촬영을 위해 10배 희석된 나노 전달체 20  $\mu$ L를 mica에 위치시킨 후 1분 동안 대기한 뒤 mica의 표면을 증류수로 세척하여 부착되지 않은 나노 전달체를 제거한 다음 실온에서 건조시켰다. 원자현미경 이미지는 non-contact mode를 이용하여 얻었으며 XEI software (PSIA corp., version 1.5)를 이용하여 분석하였다.

[0095] 3. 크기 측정

[0096] 원자현미경(AFM)과 동적광산란법 (dynamic light scattering, DLS)를 이용하여 입자 크기를 측정하였다.

[0097] 4. 퀴세틴의 포집 효율 측정

[0098] 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체 내에 포집된 퀴세틴의 포집 효율(encapsulation efficiency, EE, %)은 Kumari 등의 방법을 변형하여 측정하였다. 포집 되지 않은 물에 난용성인 퀴세틴의 양을 측정하기 위해 메탄올 5 mL을 퀴세틴 함유 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체 5 mL과 혼합한 다음 30,000 $\times$  g, 20 $^{\circ}$ C에서 30분간 초고속원심분리 (Optima XL-100K centrifuge, Beckman, CA, USA) 하였다. 원심분리 후 상층액의 포집 되지 않은 퀴세틴의 양은 C18 컬럼 (Gemini-NX C18, 5  $\mu$ m, 4.6  $\times$  250 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA)을 장착시킨 역상 고성능액체크로마토그래피 (reverse-phase high performance liquid chromatography, RP HPLC)를 통해 분석하였다. RP HPLC는 Tertiary gradient pump (model P580; Dionex Corporation, USA)와 photodiode array detector (model PDA-100; Dionex Corporation, USA)를 이용하였다. 이동상은 40 % (v/v) 아세트나이트릴 수용액을 이용하였고 유속 1.0 mL/min, 흡광도는 365 nm에서 측정하였다. 분석은 실온에서 실시하였다. 상층액 내의 포집 되지 않은 퀴세틴은 기준으로 1 mg/mL 농도로 메탄올에 녹인 퀴세틴의 체류시간과 비교하여 정량하였다. 퀴세틴의 포집 효율(EE)은 아래의 식에 따라 계산하였다.

$$EE (\%) = \frac{\text{퀴세틴의 총량} - \text{포집되지 않은 퀴세틴의 양}}{\text{퀴세틴의 총량}} \times 100$$

[0099]

[0100] 5. 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체의 동결 건조 및 동결 건조 후 유식품 적용시 안정성 측정

[0101] 본 연구에서 제조된 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체가 동결 건조 후 유식품에 적용시 안정성을 유지하는지 확인하기 위하여 다음과 같은 실험을 실시하였다. 우선 제조된 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체를 동결 건조하기 위하여 -80 $^{\circ}$ C에서 24시간동안 동결 후 동결 건조기를 이용하여 동결 건조하였다. 유식품적용시 안정성을 유지하는지 확인하기 위하여 동결 건조된 나노 전달체를 1 mg/mL 농도로 pH 4.4 (요구르트 pH) 또는 pH 6.7 (우유 pH) 증류수에 녹인 후 4 $^{\circ}$ C에서 15일간 보관하였다. 보관기간 동안 안정성 변화는 원자현미경을 이용하여 측정하였다.

[0102] 물리·화학적 특성 측정 결과는 다음과 같다.

[0103] 1) 키토올리고당-리놀레산의 공중합도 분석

[0104] 도 2는 키토올리고당, 리놀레산, 키토올리고당-리놀레산 공중합체의  $^1\text{H}$  NMR spectra를 나타낸다. 리놀레산의 카르복실기(-COOH)의 양성자 피크(proton peak)는 11.9 ppm에, 메틸기 (-CH<sub>3</sub>)의 proton peak는 0.9 ppm에서 각각 관찰되었다. 키토올리고당과 리놀레산의 공중합 뒤 제조된 키토올리고당-리놀레산 공중합체는 키토올리고당의 proton peak외에 리놀레산에서 유래한 메틸기의 proton peak가 관찰되었다. 한편, 리놀레산의 카르복실기의 양성자는 아마이드 결합을 형성하면서 해리되기 때문에 공중합 뒤 피크가 관찰되지 않았다. 이를 통해 키토올리고당-리놀레산 공중합체가 성공적으로 제조되었음을 알 수 있었다.

[0105] 키토올리고당-리놀레산 공중합체의 리놀레산 공중합도는 리놀레산 유래 메틸기 (chemical shift 0.9 ppm)와 키토올리고당의 -COCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (chemical shift 2.0 ppm)의 peak area와 키토올리고당의 탈아세틸화도를 이용하여 측정하였다. 그 결과, 키토올리고당의 D-글루코사민 단위체 100개 대비 첨가한 리놀레산의 몰농도가 10%에서 30%로 증가됨에 따라 키토올리고당-리놀레산 공중합체의 공중합도가 2.7%에서 8.4%로 증가하였다(표 1). 공중합도

의 증가는 키토올리고당의 소수성 잔기 (리놀레산)가 증가되었음을 의미한다.

[표 1] 공중합도

| NO.  |           | CSO의 D-글루코사민 단위체 100몰에<br>대한 LA의 몰농도(%) | 공중합도(%)         |
|------|-----------|-----------------------------------------|-----------------|
| 제조예1 | CSO-LA 10 | 10                                      | $2.7 \pm 0.2^a$ |
| 제조예2 | CSO-LA 20 | 20                                      | $4.6 \pm 0.3^b$ |
| 제조예3 | CSO-LA 30 | 30                                      | $8.4 \pm 0.5^c$ |

2) 키토올리고당/베타락토글로불린 및 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체의 형성 및 구조

제조 공정 요인인 pH와 가교제인 TPP 농도에 따른 키토올리고당/베타락토글로불린 나노 전달체 및 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체 형성 여부 확인을 위해 다음과 같은 실험 디자인을 설계하였다 (표 2). 그 결과 모든 pH (2.5~4.4)에서 TPP를 0.5 mM 처리하였을 때 침전이 발생하지 않고 유백광의 현탁액이 관찰되었고, TPP 농도를 1 mM 첨가하였을 때는 침전이 발생하였다. 또한 pH 5.0인 경우 TPP를 0.5 mM에서도 침전이 발생하였다. 침전이 발생하지 않은 pH 2.5~4.4, TPP 0.5 mM 처리구에서 나노 전달체가 형성되었는지 확인하기 위해 투과전자현미경을 이용하여 관찰하였다. 그 결과 pH 2.5와 3.0에서는 나노 전달체가 형성되지 않았고, pH 3.5이상 5.0미만에서는 나노 전달체가 형성되었다. 나노 전달체가 가장 잘 형성된 pH 4.4에서 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체를 제조하여 확인한 결과 키토올리고당/베타락토글로불린 나노 전달체와 마찬가지로 본 발명의 목적에 상응하는 구형의 나노 전달체가 관찰되었다(도 3). 또한 pH 2.4으로 조절 후 80℃에서 30분 열처리된 베타락토글로불린을 사용한 경우 열처리 없는 베타락토글로불린을 사용한 실시예 4 와는 달리 침전이 발생하였다.

[표 2] 침전 테스트 및 나노 전달체 생성 유무

| smamples | Beta-Ig의<br>최종농도              | CSO의<br>최종<br>농도        | PH  | TPP의<br>최종농<br>도(mM) | 침 전 유무 | 나노전달체생성유무 |
|----------|-------------------------------|-------------------------|-----|----------------------|--------|-----------|
| 비교예4     | 0.2%                          | 0.1%<br>CSO             | 2.5 | 0.5                  | 무      | 무         |
| 비교예5     |                               |                         |     | 1.0                  | 유      | -         |
| 비교예6     |                               |                         | 3.0 | 0.5                  | 무      | 무         |
| 비교예7     |                               |                         |     | 1.0                  | 유      | -         |
| 비교예8     |                               |                         | 3.5 | 0.5                  | 무      | 유         |
| 비교예9     |                               |                         |     | 1.0                  | 유      | -         |
| 비교예10    |                               |                         | 4.0 | 0.5                  | 무      | 유         |
| 비교예11    |                               |                         |     | 1.0                  | 유      | -         |
| 실시예5     |                               |                         | 4.4 | 0.5                  | 무      | 유         |
| 비교예12    |                               |                         |     | 1.0                  | 유      | -         |
| 비교예13    |                               |                         | 5.0 | 0.5                  | 유      | -         |
| 실시예4     |                               | 0.1%<br>CSO-LA<br>(20%) | 4.4 | 0.5                  | 무      | 유         |
| 비교예1     |                               |                         | 4.4 | 1.0                  | 유      | -         |
| 비교예3     | 80℃ 30분 열처리<br>된 Beta-Ig 0.2% |                         | 4.4 | 0.5                  | 유      | -         |

따라서 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체의 최적 공정요인은 키토올리고당 수용액 또는 키토올리고당-리놀레산 공중합체 수용액 및 베타락토글로불린 수용액의 pH는 각각 3.5~4.4 이며, TPP 농도는 0.5 mM 로 고정하였으며,

보다 구체적으로는, 키토올리고당-리놀레산 공중합체 또는 키토올리고당 단량체 수용액 및 베타락토글로불린 수

용액의 pH는 각각 4.4 이며, TPP 농도는 0.5 mM 로 고정하여 다음 실험을 진행하였다.

[0114] 저온 열처리 온도에 따른 나노 전달체 형성여부를 확인하였다. 그 결과 저온 열처리 온도가 35℃ 이상일 때 침전이 발생하였다. 침전이 발생하지 않은 저온 열처리 온도 10℃, 20℃ 및 30℃의 처리구를 투과전자현미경을 이용하여 나노 전달체 형성여부를 확인한 결과 모두 구형의 나노 전달체가 관찰되었다(도 4).

[0115] [표 3] 저온 열처리 온도에 따른 침전 및 나노 전달체 생성유무

|       | 저온 열처리 온도 (℃) | 침전유무 | 나노전달체생성유무 |
|-------|---------------|------|-----------|
| 실시예2  | 10            | 무    | 유         |
| 실시예4  | 20            | 무    | 유         |
| 실시예14 | 30            | 무    | 유         |
| 비교예2  | 35            | 유    | -         |

[0116] 3) 나노 전달체의 형태학적 구조

[0117] 보다 효과적인 소수성 물질 전달체를 제조하기 위해 서로 다른 공중합도를 지닌 키토올리고당-리놀레산 복합체와 서로 다른 저온 열처리 온도를 이용하여 제조한 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체를 제조하였으며 나노 전달체의 형태학적 구조는 원자현미경을 이용하여 관찰 하였다. 그 결과 키토올리고당의 D-글루코사민 단위체 100개 대비 첨가한 리놀레산의 몰농도가 10, 20, 30% 첨가하여 제조한 키토올리고당-공중합체와 베타락토글로불린을 이용하여 저온열처리온도를 5, 10, 15 및 20℃로 조절한 처리구에서 구형의 약 170에서 360 nm의 크기를 지니는 구형의 입자가 관찰되었다. 이를 통해 나노 전달체가 성공적으로 제조되었음을 알 수 있었다. 또한 실시예 8, 9 및 10의 키토올리고당 대비 첨가한 리놀레산의 농도가 증가함에 따라 입자의 크기가 증가되는 것이 관찰되었다 (도 5). 이와 비슷하게 저온 열처리 온도를 증가시킴에 따라 형성된 실시예 11, 12, 13 및 9의 나노 전달체의 크기는 증가하는 경향을 나타내었다 (도 6).

[0118] 4) 나노 전달체의 크기

[0119] 키토올리고당 대비 첨가한 리놀레산 농도가 0% (키토올리고당 단량체)에서 30%로 증가함에 따라 형성된 나노 전달체의 크기가 원자현미경 측정결과 261 nm에서 357 nm로(도 7), DLS로 측정결과 258 nm에서 351 nm로(도 8) 유의적으로 증가하였다 ( $p < 0.05$ ).

[0120] 저온 열처리 온도를 5℃에서 20℃로 증가시킴에 따라 형성된 나노 전달체의 크기도 증 원자현미경 측정결과 181 nm에서 325 nm (도 9)로, DLS로 측정결과 186 nm에서 319 nm로 (도 10) 유의적으로 증가하였다 ( $p < 0.05$ ). 따라서, 본 발명의 공정요인인 키토올리고당의 D-글루코사민 단위체 100개 대비 첨가한 리놀레산의 몰농도와 저온열처리 온도를 조절을 통해 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체의 크기를 조절할 수 있음을 알 수 있었다. 전달체의 입자 크기는 포집된 기능성 물질의 흡수 및 방출 속도에 큰 영향을 주기 때문에 입자 크기 조절을 통해 포집된 기능성 물질의 흡수율을 보다 효과적으로 증가시킬 수 있다.

[0121] 5) 퀴세틴의 포집 효율

[0122] 키토올리고당 대비 첨가한 리놀레산 농도와 저온 열처리 온도에 따른 모델 소수성 물질인 퀴세틴의 포집 효율은 도 11, 12에 나타내었다. 키토올리고당 대비 첨가한 리놀레산의 농도를 0%에서 30%로 증가시킴에 따라 퀴세틴의 포집 효율이 52.2%에서 56.1%로 유의적으로 ( $p < 0.05$ ) 증가하였다 (도 11). 리놀레산이 첨가되지 않은 경우에는 포집효율이 25%정도로 낮았다.

[0123] 퀴세틴의 포집 효율은 저온 열처리 온도를 20℃에서 5℃로 감소시킴에 따라 53.4%에서 56.6%로 유의적으로 ( $p < 0.05$ ) 증가되었다 (도 12).

[0124] 결과적으로, 본 발명의 공정요인인 키토올리고당의 D-글루코사민 단위체 100개 대비 첨가한 리놀레산의 몰농도와 저온열처리 온도를 조절을 통해 소수성 기능성 물질의 포집효율을 극대화 시킬 수 있어 본 연구에서 제조된 나노 전달체는 소수성 기능성 물질의 생체 내 이용성을 극대화 할 수 있는 고부가가치 기능성 식품소재로 활용 가능하다.

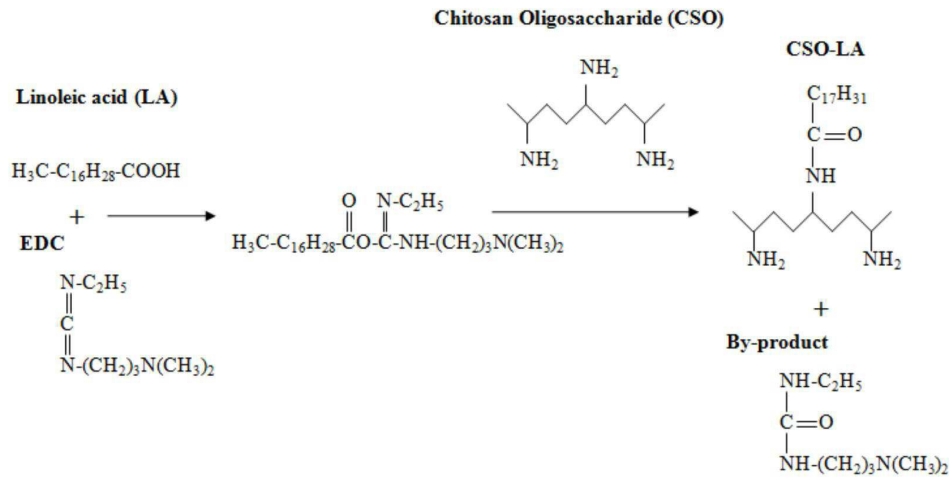
[0125] 6) 나노 전달체의 동결 건조 및 식품 적용

[0126] 제조된 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체가 동결 건조 후 유식품 적용 시 그 안정

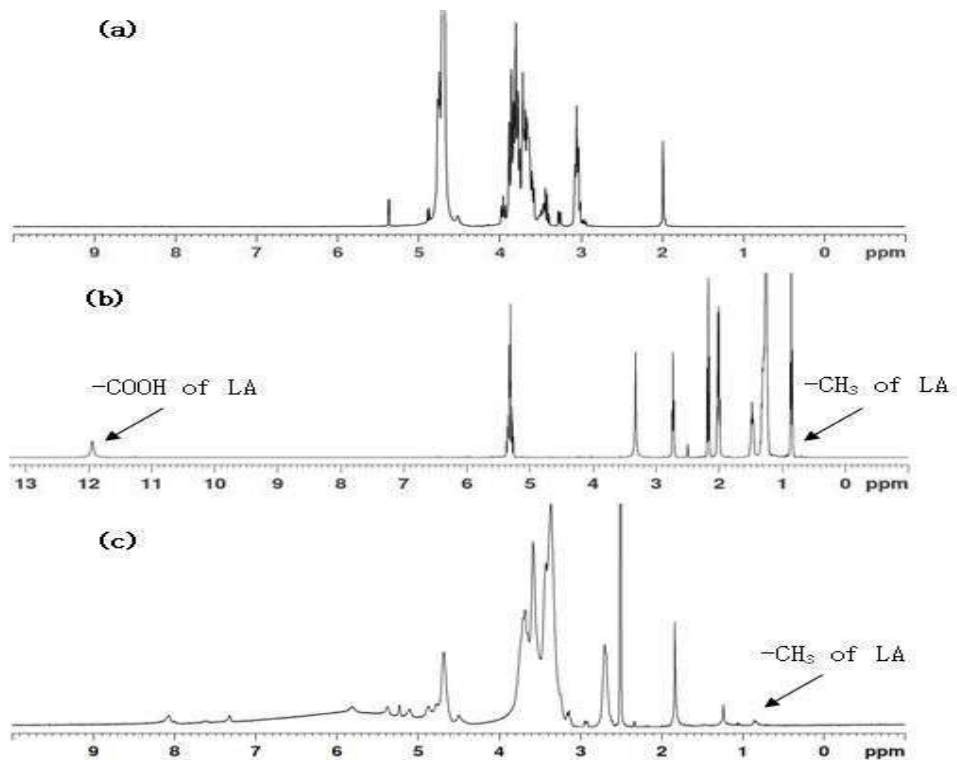
성을 유지하는지 확인하기 위하여 원자현미경을 이용하여 확인하였다. 동결 건조된 키토올리고당-리놀레산 공중합체/베타락토글로불린 나노 전달체를 pH 4.4 (요구르트 pH)에 용해 시킨 후 4℃에서 15일간의 저장기간 동안 형태 변화를 관찰한 결과, 입자의 형태 변화 없이 그 안정성을 유지하였다. 도 13에 사진을 첨부하였다. 이와 마찬가지로 pH 6.7 (우유 pH)에 용해 시킨 후 4℃에서 15일간 저장기간 동안에도 제조된 나노 전달체는 그 안정성을 유지하였다. 도 14에 사진을 첨부하였다. 따라서 본 발명에 의하여 제조된 나노 전달체는 동결방지제를 사용하지 않으며, 동결건조 및 분말화가 가능하여 기능성 나노식품 등의 다양한 분야에 적용이 가능할 것으로 전망된다.

## 도면

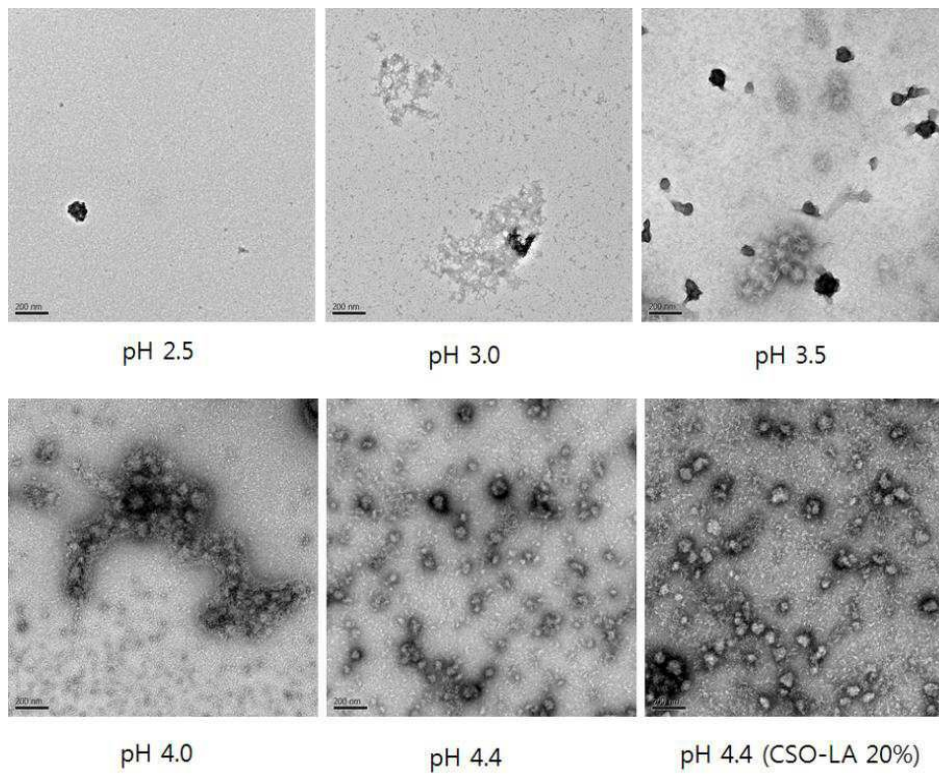
### 도면1



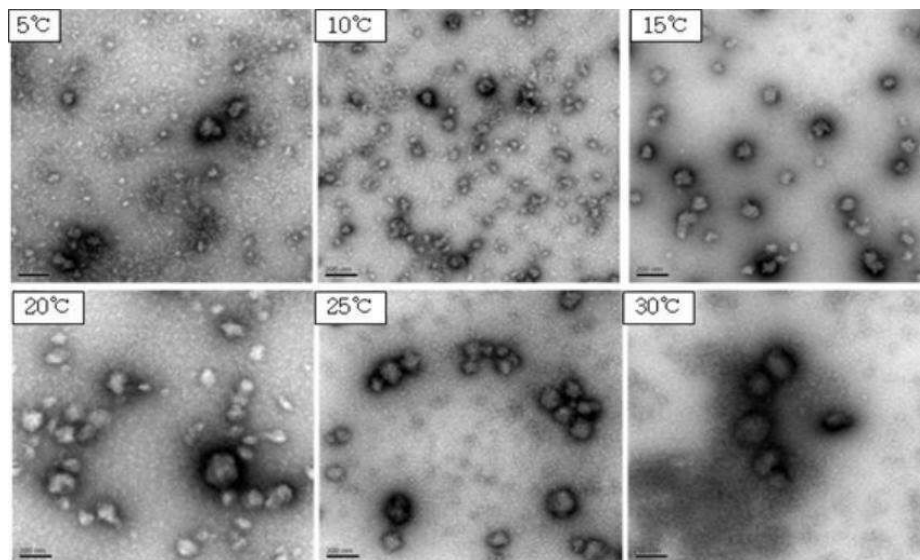
### 도면2



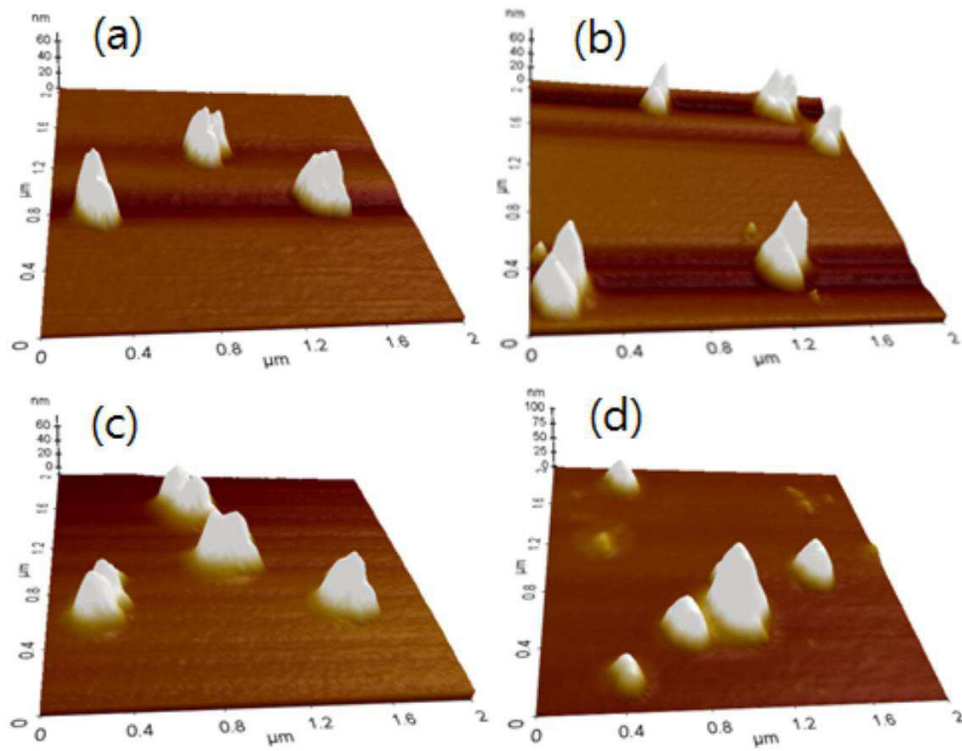
도면3



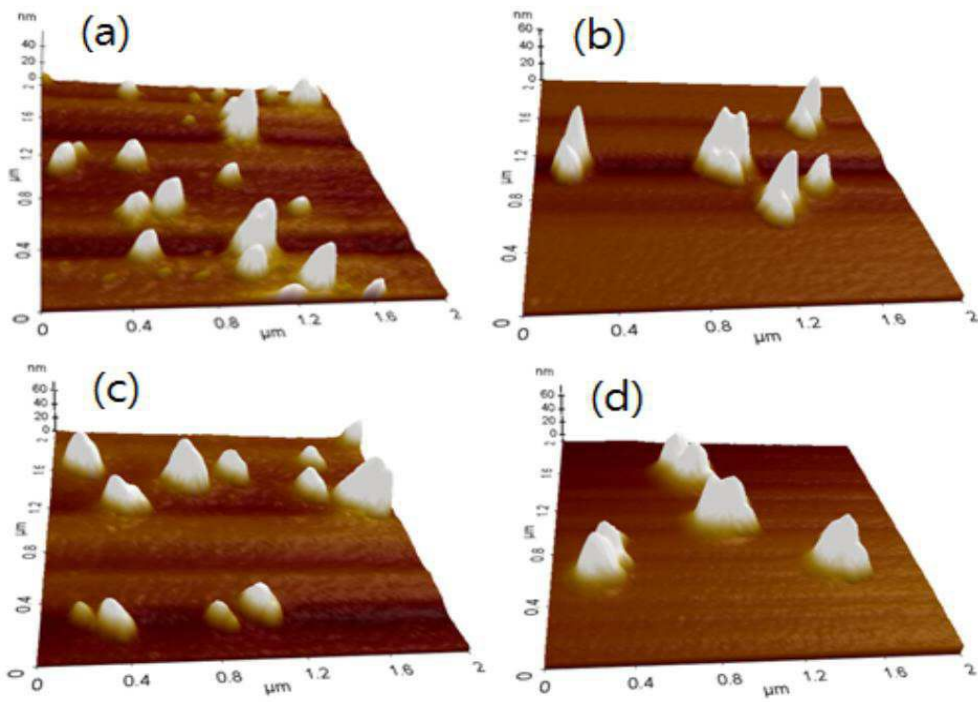
도면4



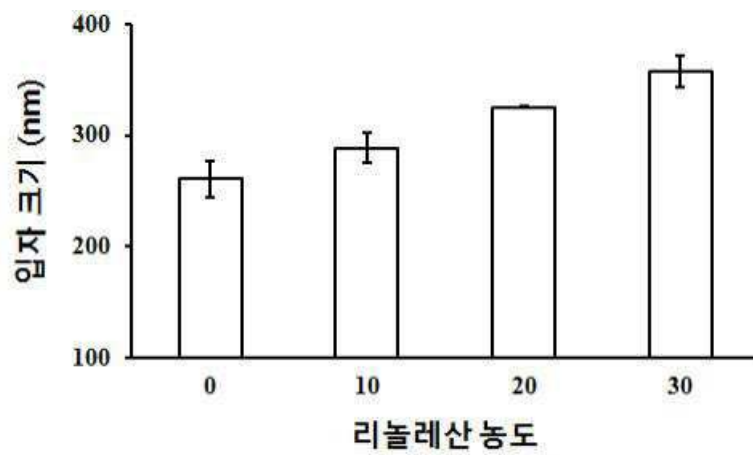
도면5



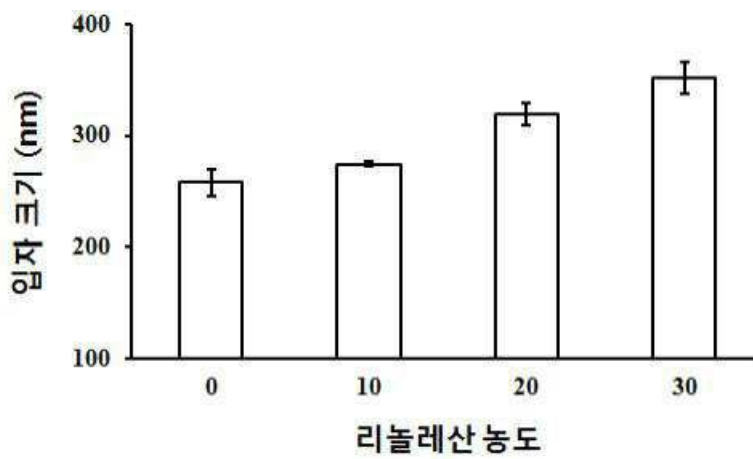
도면6



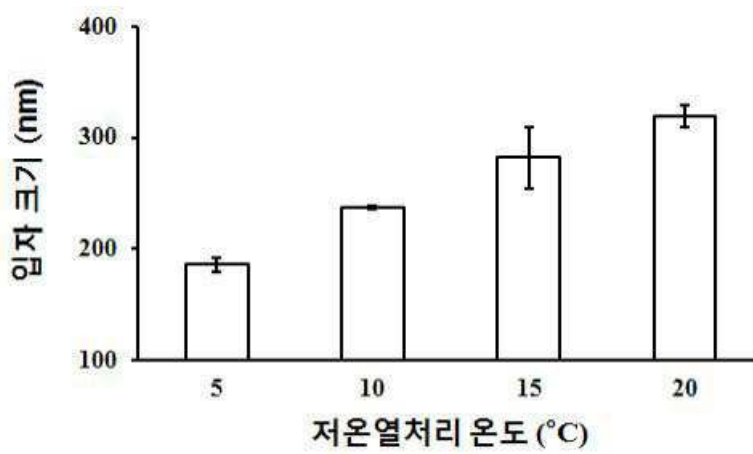
도면7



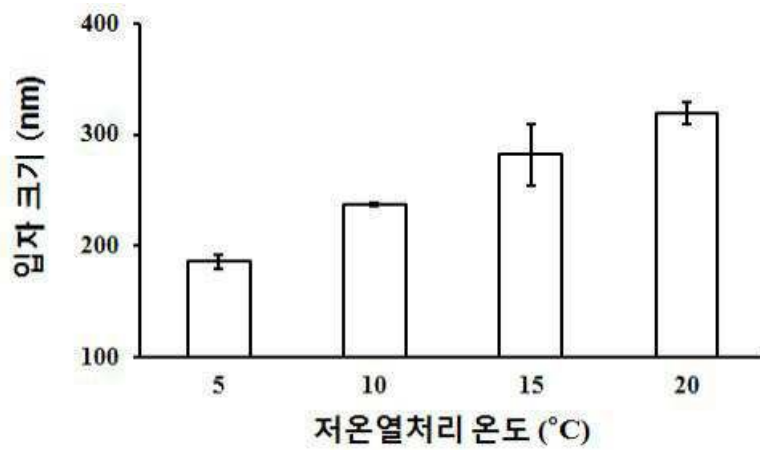
도면8



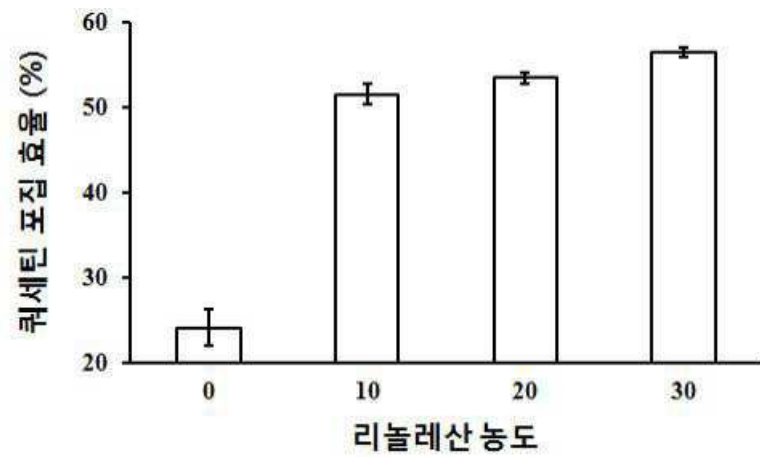
도면9



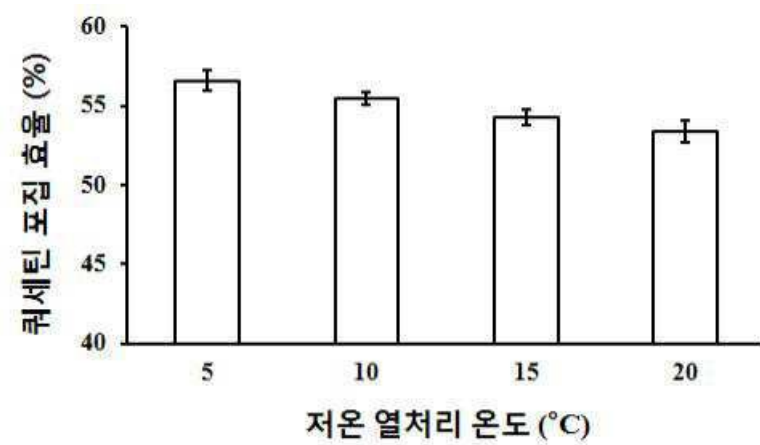
도면10



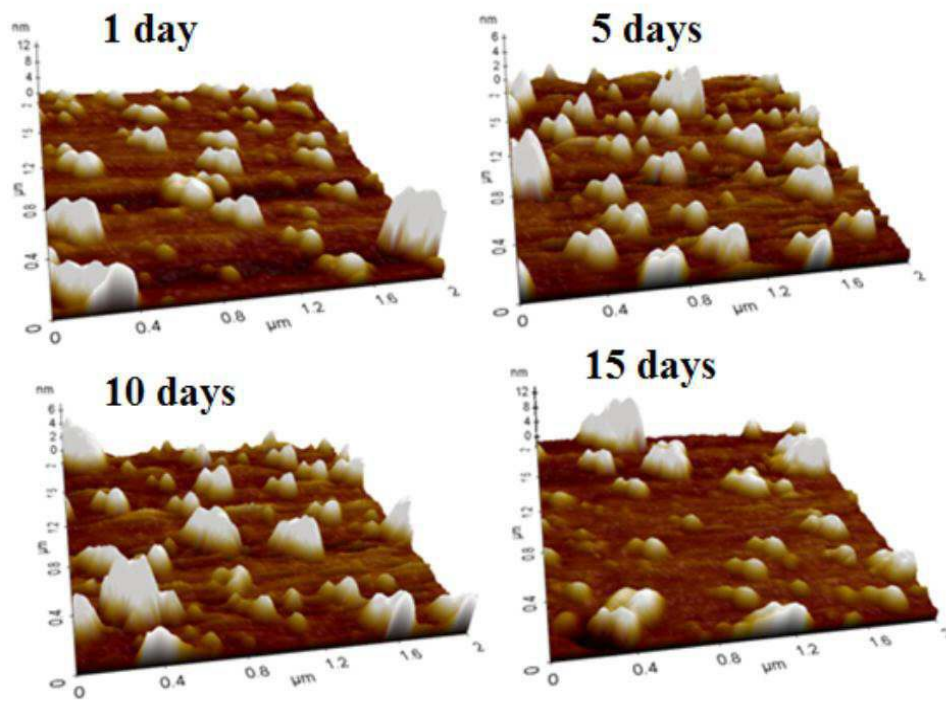
도면11



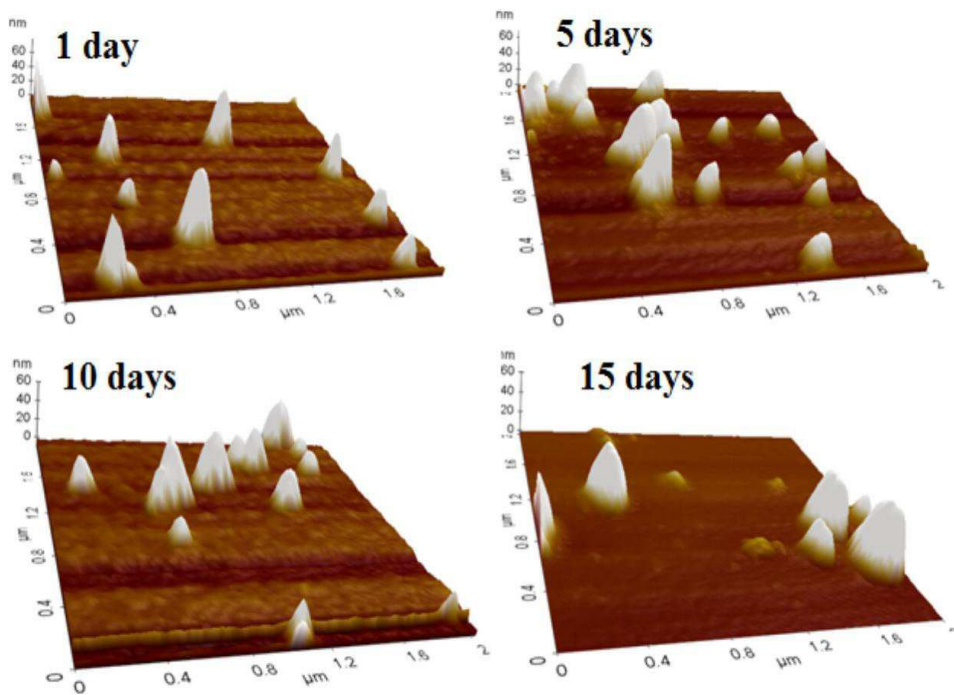
도면12



도면13



도면14



도면15

