



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0053048
(43) 공개일자 2018년05월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23P 10/30 (2016.01)

(52) CPC특허분류

A23P 10/30 (2016.08)

A23V 2002/00 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0150390

(22) 출원일자 2016년11월11일

심사청구일자 2016년11월11일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

강윤혁

서울특별시 강남구 삼성로 151, 11동 802호 (대치동, 선경아파트)

이윤경

경기도 성남시 중원구 황송로 77, 102동 1703호 (금광동, 래미안금광아파트)

강유라

광주광역시 북구 하서로483번길 22, 201동 1102호 (용두동, 용두2주공아파트)

(74) 대리인

특허법인 하나

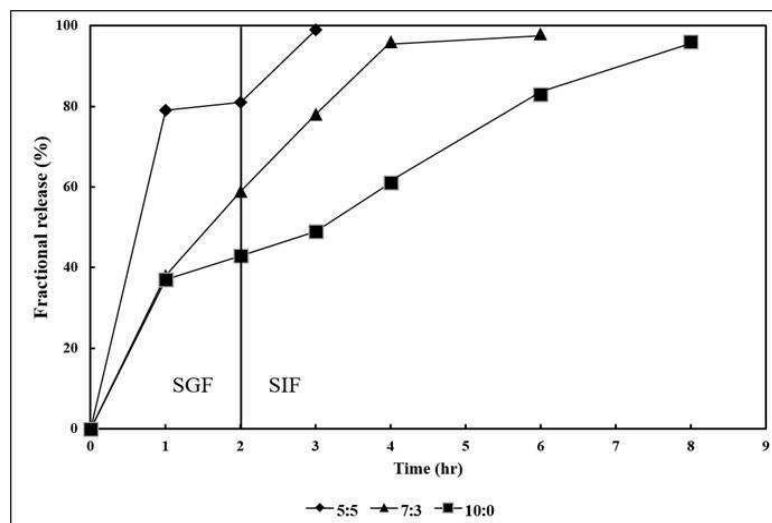
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **엽록소 미세캡슐 및 이의 제조방법**

(57) 요약

본 발명은 엽록소 미세캡슐 및 이의 제조방법에 관한 것이다. 구체적으로, 상기 엽록소 미세캡슐은 엽록소를 포함하는 중심물질 및 상기 중심물질을 둘러싼 피복물질로 이루어진 것이다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

A23V 2250/5028 (2013.01)

A23V 2250/5114 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20160031

부처명 중소기업청

연구관리전문기관 경기지방중소기업청

연구사업명 산학협력기술개발사업

연구과제명 엽록소 미세캡슐화 및 유도체화 기술을 적용한 미용식품 및 화장품의 개발

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2015.11.12 ~ 2016.11.11

명세서

청구범위

청구항 1

엽록소를 포함하는 중심물질 및 상기 중심물질을 둘러싼 피복물질로 이루어지고,
상기 피복물질은 말토텍스트린 또는 말토텍스트린 및 아라비아 검의 혼합물인, 엽록소 미세캡슐.

청구항 2

제1항에 있어서,
상기 중심물질은 엽록소 및 중간사슬 트리글리세리드(Medium chain triglyceride, MCT)을 혼합한 것인, 엽록소 미세캡슐.

청구항 3

제1항에 있어서,
상기 피복물질은 전체 부피 대비 10 내지 30%인 것인, 엽록소 미세캡슐.

청구항 4

제1항에 있어서,
상기 말토텍스트린 및 아라비아 검의 중량비는 5 : 5 내지 10 : 0인 것인, 엽록소 미세캡슐.

청구항 5

제1항에 있어서,
상기 중심물질 및 피복물질의 부피비는 1 : 2 내지 1 : 4인 것인, 엽록소 미세캡슐.

청구항 6

- a) 엽록소를 포함하는 중심물질 및 피복물질을 혼합하는 단계로서,
상기 피복물질은 말토텍스트린 또는 말토텍스트린 및 아라비아 검의 혼합물인 것인 단계; 및
b) 상기 혼합물을 균질화하는 단계를 포함하는, 엽록소 미세캡슐 제조방법.

청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 a) 단계 전에, 엽록소 및 중간사슬 트리글리세리드(Medium chain triglyceride, MCT)를 혼합하여 중심물질을 형성하는 단계를 추가로 포함하는, 엽록소 미세캡슐 제조방법.

청구항 8

제6항에 있어서,
상기 피복물질은 전체 부피 대비 10 내지 30%인 것인, 엽록소 미세캡슐.

청구항 9

제 6항에 있어서, 상기 말토텍스트린 및 아라비아 검의 중량비는 5 : 5 내지 10 : 0인 것인, 엽록소 미세캡슐 제조방법.

청구항 10

제6항에 있어서,

상기 중심물질 및 피복물질의 부피비는 1 : 2 내지 1 : 4인 것인, 엽록소 미세캡슐.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 엽록소 미세캡슐 및 이의 제조방법에 관한 것이다. 구체적으로, 상기 엽록소 미세캡슐은 엽록소를 포함하는 중심물질 및 상기 중심물질을 둘러싼 피복물질로 이루어진 것이다.

배경 기술

[0002] 천연색소는 가공공정이나 보관 저장 중에 환경 요인에 의해서 그 색깔이나 색의 정도가 변하여 가공식품의 상품성과 관능성에 큰 영향을 미치게 된다. 주로 pH, 산소, 수분, 열과 빛, 금속이온을 비롯하여 식품 자체의 성분 에 의한 상호반응에 의한 색깔의 퇴색과 변색이 일어나게 된다.

[0003] 천연색소 중 하나인 엽록소는 항산화, 피부 건강 개선, 상처 치유, 암 예방, 면역력 증진, 아토피 개선 등 다양한 기능이 있다고 보고되어 있으나, 외부 환경에 대단히 불안정하여 효소, 산, 공기 중의 산소, 빛, 열 등에 의해 페오피틴(pheophytin), 페오포르비드(pheophorbide), 파이로페오피틴(pyropheophytin), 파이로페오포르비드(pyropheophorbide) 등의 엽록소 유도체로 변화하는 문제점이 있다.

[0004] 특히, 외부 환경에 대한 엽록소의 불안정성은 식품의 가공과정 중에도 나타나 상당수의 엽록소가 가열, 건조 등의 열처리 공정에 의해 변성 혹은 파괴되는 경향을 보인다. 또한 엽록소를 함유한 식품을 경구 섭취 시, 소화과정 중, 특히 위의 낮은 pH와 오랜 머무름 시간에 의해 엽록소는 그 유도체인 페오피틴으로 변성된다. 따라서 엽록소를 다량으로 함유한 식품을 섭취한다 하더라도 실제 인체 내로 흡수되는 순수한 형태의 엽록소는 적기 때문에 생체이용률이 낮은 단점이 있다.

[0005] 이에, 엽록소의 다양한 기능성을 인체 내에서 효율적, 효과적으로 발휘시키기 위한 기술에 관한 연구 및 개발이 지속적으로 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1386350호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 엽록소를 포함하는 중심물질 및 상기 중심물질을 둘러싼 피복물질로 이루어진, 엽록소 미세캡슐을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 엽록소 미세캡슐의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 측면은 엽록소를 포함하는 중심물질 및 상기 중심물질을 둘러싼 피복물질로 이루어진 엽록소 미세캡슐을 제공한다. 구체적으로 상기 피복물질은 말토덱스트린 또는 말토덱스트린 및 아라비아 검의 혼합물인 것인 엽록소 미세캡슐을 제공한다.

[0010] 본 발명에서, “엽록소(chlorophyll)”는 녹색식물의 잎 속에 들어 있는 화합물로 엽록체의 그라나(grana) 속에 함유되어 있다. 엽록소에는 a, b, c, d, e와 박테리오클로로필 a와 b 등 여러 가지가 포함되어 있으며, 엽록소는 녹색식물의 엽록체 속에서 빛에너지를 흡수하여 이산화탄소를 유기화합물인 탄수화물로 동화시키는 데 쓰인다.

[0011] 근래에는 엽록소가 건강기능성을 갖는 물질로 각광을 받으면서 섭취 및 이용이 증가되고 있다. 엽록소가 갖는 대표적인 생리활성으로는 조혈작용, 비타민 제공, 효소활성 유지, 해독작용, 탈취작용, 섬유소제공, 소염작용,

신진대사 촉진 등이 있다. 또한, 엽록소는 체내 효소의 제조 및 활성의 유지에 중요한 작용을 하며, 감염예방, 염증 확산 방지, 통증 억제 등의 작용이 있고, 신체에서 발생하는 각종 체취를 제거하는 기능도 한다. 또한 식물 섬유소가 엽록소와 함께 존재하기 때문에 엽록소를 섭취함으로써 섬유소도 충분히 섭취할 수 있게 된다. 이외에도 체질을 개선시키며, 노화, 암, 유전자 돌연변이, 위장병, 여드름, 기미, 주근깨, 얼룩점, 빈혈, 만성 피로, 심장질환, 고혈압, 중풍, 간염 및 간경화 등을 예방할 수 있다고도 알려져있다.

[0012] 상기와 같은 다양한 효과에도 불구하고, 엽록소는 외부 환경에 상당히 불안정하여 섭취를 위한 가공과정 중 변성 혹은 파괴되는 단점이 있다. 본 발명 일 실시예에서는 엽록소를 미세캡슐화하여 안정성을 부여하고 생체이용률을 증진시킴으로써 상기 단점을 극복하고자 하였다.

[0013] 캡슐화(encapsulation) 기술은 특정 환경 조건하에서 일정속도로 방출하여 중심물질(core material)이 가지고 있는 기능성 또는 생리작용을 크게 향상시킬 수 있으며, 중심물질에 영향을 줄 수 있는 빛, 산소, 수분 등의 외부 환경으로부터 보호하는 기술이다. 캡슐화 기술은 식품산업에서 불완전한 외부환경으로부터의 고유기능성 유지, 산화방지 및 보존성 향상, 이취 차단, 액상 식품의 고형화 등의 목적으로 사용되고 있으며, 색소, 향산화물질, 산, 효소, 미생물, 향기성분, 비타민, 무기질, 유지 등에 적용되고 있다.

[0014] 본 발명에서, "미세캡슐(microcapsule)"은, 1000 μm 이하의 크기를 갖는 미세한 크기의 캡슐로, 여기에 각종 유효성분을 캡슐화하여 의약품, 화장품, 식품 및 기타 여러 분야에 많이 활용되고 있다. 미세캡슐은 여러 방법으로 제조될 수 있는데, 그 중 하나로 분무건조법(spray drying)이 있다. 분무건조법은 캡슐의 재료가 되는 물질이 녹아있는 용매의 미세 액적(droplet)을 열풍 증으로 분무하여 빠르게 건조시킴으로써 미세캡슐을 얻는 방법으로, 단시간 내에 많은 미세캡슐을 얻을 수 있으며, 에멀전(emulsion)과 같은 현탁액을 분무 건조하여 미세캡슐을 제조할 수 있다. 미세캡슐을 제조하는 방법은 상기 분무건조법에 제한되지 않으며, 당해 분야의 기술자가 필요에 따라 적절한 방법을 이용하여 미세캡슐을 제조할 수 있다.

[0015] 본 발명에서, "중심물질(core material)"은 엽록소 자체 또는 용매에 엽록소를 혼합하여 녹인 용액, 에멀전, 오일, 분말 등을 말하며, 특정 형태에 한정되는 것은 아니다. 엽록소를 주성분으로 포함하는 물질이면 엽록소 미세캡슐의 중심물질이 될 수 있다. 구체적인 일 예로, 상기 중심물질은 엽록소 및 중간사슬 트리글리세리드(Medium chain triglyceride, MCT)을 혼합한 것일 수 있다.

[0016] 본 발명에서, "피복물질(wall material)"은, 엽록소 또는 엽록소를 포함하는 중심물질을 보호하기 위하여 얇은 층으로 덮어씌우는 물질을 말한다. 피복물질은 외부 환경에서 상당히 불안정한 엽록소가 안정성을 유지하도록 하고, 효소, 산, 공기 중의 산소, 빛, 열 등에 의해 페오피틴(pheophytin), 페오포르비드(pheophorbide), 파이로페오피틴(pyropheophytin), 파이로페오포르비드(pyropheophorbide) 등의 엽록소 유도체로 변화되지 않도록 보호할 수 있는 물질이면 제한없이 사용될 수 있다.

[0017] 본 발명 일 실시예에서는 말토덱스트린, 또는 말토덱스트린 및 아라비아 검을 포함하는 피복물질을 이용하여 엽록소를 포함하는 중심물질을 피복하여 엽록소 미세캡슐을 제조하였으며(제조예 2), 엽록소 미세캡슐의 안정적이고 지속적인 방출양상(도 4) 및 장기 안정성(도 5)을 확인하였다.

[0018] 구체적으로, 상기 피복물질은 전체 부피 대비 10 내지 30%일 수 있다.

[0019] 본 발명 일 실시예에서는 말토덱스트린 및 아라비아 검을 혼합한 피복물질을 전체 부피 대비 10 내지 30%의 비율로 혼합하여 엽록소 미세캡슐을 제조하기 위한 유화액을 만들었으며, 엽록소 미세캡슐의 안정성에 영향을 미치는 유화안정지수를 확인하였다. 상기 유화안정지수의 확인을 통해 안정성이 있음을 확인하였으며, 나아가 피복물질의 농도가 전체 부피 대비 25 내지 30%의 비율로 혼합된 경우, 유화안정지수가 크게 증가하여, 안정성이 우수한 것을 확인하였다(도 1).

[0020] 또한 구체적으로, 피복물질의 성분으로 사용되는 말토덱스트린 및 아라비아 검의 중량비는 5 : 5 내지 10 : 0 일 수 있다.

[0021] 본 발명 일 실시예에서는 피복물질의 성분으로 사용되는 말토덱스트린 및 아라비아 검의 중량비를 5 : 5(실시예 1), 7 : 3(실시예 2), 10 : 0(말토덱스트린 단독, 실시예 3)으로 하여 각각의 엽록소 미세캡슐을 제조하였으며, 상기 실시예 1 내지 3에 따른 엽록소 미세캡슐의 수율, 엽록소 함량, 인공 위액(SGF) 및 인공 소장액(SIF)에서의 엽록소 방출량 및 안정성을 확인하였다.

[0022] 상기 확인 결과, 실시예 1 내지 3 모두 최소 60% 이상의 안정적인 수율을 나타냄을 확인하였으며(도 2), 외부 환경에 민감하여 쉽게 변성되는 엽록소임에도 불구하고 본 발명의 미세캡슐의 경우 엽록소 함량이 최소 30ug/g

oil 이상으로 나타남을 확인하였다(도 3). 특히, 엽록소의 미세캡슐화를 통해 엽록소 또는 엽록소를 포함하는 중심물질이 위에서 보호될 수 있도록 하여 소장 내에서의 흡수를 증가시키고 생체이용률을 증가시키는 효과를 나타냄을 확인하였으며(도 4), 나아가 엽록소를 미세캡슐화 하는 기술을 통해 외부 환경에 상당히 불안정한 엽록소에 안정성을 부여하였음을 확인하였다(도 5).

[0023] 또한, 말토텍스트린의 함량이 증가할수록 상기 효과들이 모두 증가하는 것을 확인하였는바, 더욱 구체적으로 피복물질의 성분으로 사용되는 말토텍스트린 및 아라비아 검의 중량비는 7 : 3 내지 10 : 0 일 수 있다. 특히, 상기 말토텍스트린 및 아라비아 검의 중량비가 10 : 0인 것과 같이 피복물질은 말토텍스트린 단독 성분으로만 구성될 수 있다.

[0024] 또한 구체적으로, 엽록소를 포함하는 중심물질 및 피복물질의 부피비는 1 : 2 내지 1 : 4 일 수 있다.

[0025] 본 발명 일 실시예에서는 중심물질 및 피복물질의 부피비를 1 : 2 내지 1 : 4로 하여 엽록소 미세캡슐을 제조하기 위한 유화액을 제조하였으며, 이에 엽록소 미세캡슐의 안정성에 영향을 미치는 유화안정지수를 확인하였다. 상기 유화안정지수의 확인을 통해 안정성이 있음을 확인하였으며, 나아가 중심물질의 비율이 증가할수록 유화안정지수가 증가하는 것을 확인하였다(도 1).

[0026] 본 발명의 또 다른 일 측면은 a) 엽록소를 포함하는 중심물질 및 피복물질을 혼합하는 단계로서, 상기 피복물질은 말토텍스트린 또는 말토텍스트린 및 아라비아 검의 혼합물인 것인 단계; 및 b) 상기 혼합물을 균질화하는 단계를 포함하는, 엽록소 미세캡슐 제조방법을 제공한다.

[0027] 구체적으로 상기 a) 단계 전에, 엽록소 및 중간사슬 트리글리세리드(Medium chain triglyceride, MCT)를 혼합하여 중심물질을 형성하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0028] 본 발명 일 실시예에서는 엽록소를 추출한 추출물에 중간사슬 트리글리세리드(Medium chain triglyceride, MCT)를 혼합하여 중심물질을 제조하여 피복물질과 혼합하였으며(제조예 1), 상기 예시에 제한되지 않고 당업자는 적절히 필요에 따라 중간사슬 트리글리세리드(Medium chain triglyceride, MCT) 대신 다른 용매를 이용하여 중심물질을 제조할 수 있다.

[0029] 또한 구체적으로, 상기 피복물질은 전체 부피 대비 10 내지 30%의 비율로 혼합될 수 있다.

[0030] 또한 구체적으로, 피복물질의 성분으로 사용되는 말토텍스트린 및 아라비아 검의 중량비는 5 : 5 내지 10 : 0 일 수 있다.

[0031] 또한 구체적으로, 엽록소를 포함하는 중심물질 및 피복물질의 부피비는 1 : 2 내지 1 : 4 일 수 있다.

[0032] 본 발명 일 실시예에서 상기 조건에 따라 제조된 엽록소 미세캡슐의 수율, 엽록소 함량, 인공 위액(SGF) 및 인공 소장액(SIF)에서의 엽록소 방출량 및 안정성에 관해 확인한 사항은 상기 기재된 바와 같다.

발명의 효과

[0033] 본 발명의 엽록소 미세캡슐은 불안정한 엽록소에 안정성을 부여함으로써 주변 환경의 변화에도 장기간 안정한 상태로 유지될 수 있도록 한다. 또한, 내산성의 물질로 엽록소를 피복함으로써 위의 강산 환경에서도 엽록소의 형태를 유지하여 소장에서의 체내 흡수를 증진시켜 생체이용률을 향상시킨 효과를 나타낸다.

[0034] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 중심물질 및 피복물질의 함량 비율에 따른 안정성을 측정한 결과를 나타낸 것이다. 구체적으로, 중심물질 : 피복물질의 함량비율이 1 : 2, 1 : 3 및 1 : 4 일 때의 안정성을 측정한 것이다.

도 2는 피복물질을 구성하는 성분 중 말토텍스트린 및 아라비아 검의 함량 비율에 따른 미세캡슐화 수율을 측정한 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 피복물질을 구성하는 성분 중 말토텍스트린 및 아라비아 검의 함량 비율에 따른 엽록소 미세캡슐 내의 엽록소 함량을 측정한 결과를 나타낸 것이다.

도 4는 인공 위액 및 인공 소장액 내에서의 엽록소 미세캡슐의 엽록소 방출량을 측정한 결과를 나타낸 것이다.

도 5는 저장온도에 따른 엽록소 미세캡슐의 안정성을 평가한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

제조예 1. 엽록소의 추출

Iriyama 등[J. Biochem. 76, 901-904(1974)]의 방법을 참고하여 시금치로부터 엽록소를 추출하였다. 구체적으로, 줄기로부터 분리한 시금치 잎 100g과 아세톤 300mL을 혼합한 후, 시금치 내의 유기산을 중화시키기 위해 $MgCO_3$ 를 첨가하여 믹서기로 3분 동안 마쇄하였다. 마쇄액을 감압 여과하여 아세톤에 용해되어 있는 엽록소 추출액과 시금치 분쇄물을 분리한 다음, 엽록소 추출액 부피의 1/7에 해당하는 다이옥산(1,4-dioxane)을 혼합한 후, 상기 용액 부피의 1/7에 해당하는 증류수를 첨가하면서 교반하였다. 상기의 혼합액 내에 엽록소 결정이 형성되면, $-20^{\circ}C$ 의 저온 냉동고에 6시간 동안 방치하였으며, 6시간 이후 혼합액은 물-엽록소-다이옥산 복합물이 엽록소 이외의 지용성 색소가 용해되어 있는 아세톤 용액 층으로부터 분리되어 있는 상태로 관찰되었다. 감압 여과로 분리해낸 물-엽록소-다이옥산 복합물을 $-80^{\circ}C$ 의 초저온 냉동고에 24시간 보관하여 동결시킨 다음, 동결 건조 시킴으로써 엽록소와 결합한 물, 다이옥산을 제거하였다.

제조예 2. 엽록소 미세캡슐의 제조

상기 실시예 1에서 추출한 엽록소를 중간사슬 트리글리세리드(Medium chain triglyceride, MCT)오일과 0.01mg/ml의 농도로 상온에서 혼합 및 교반하여 중심물질을 제조하였다.

또한, 말토덱스트린 및/또는 아라비아 검을 증류수에 녹여 피복물질을 제조하였으며, 말토덱스트린 및/또는 아라비아 검의 양은 증류수 부피 대비 각각 10, 15, 20, 25, 30 중량% 가 되도록 하였다. 또한, 말토덱스트린과 아라비아검의 비율은 5:5, 7:3, 10:0 으로 달리 하였다. 이후, $60^{\circ}C$ 로 설정한 교반기로 3-4시간 교반하여 증류수에 말토덱스트린 또는 아라비아검을 완전히 녹인 후, 냉장고에 12시간 동안 보관함으로써 말토덱스트린과 아라비아검의 수화를 유도하였다. 상기와 같이 제조한 중심물질과 피복물질을 각각 1 : 2, 1 : 3, 및 1 : 4의 부피 비율로 혼합하고, 총 부피 대비 1.0 중량%에 해당하는 Tween 80을 첨가한 후, 균질기를 이용하여 20,500rpm에서 3분간 균질화함으로써 유화액을 제조하였다. 제조한 유화액을 분무 건조기를 이용하여 캡슐화/분말화하였으며, 분무 건조기의 운전 조건은 공기 주입 온도 $145 \pm 5^{\circ}C$, 배기 온도 $95 \pm 2^{\circ}C$, 자동 분사 10X10 kPa, 풍속 $0.5m^3/min$ 로 하였다.

상기 말토덱스트린 및/또는 아라비아 검의 혼합 비율에 따른 실시예는 하기 표 1에 정리된 바와 같다.

표 1

	말토덱스트린 : 아라비아검
실시예 1	5 : 5
실시예 2	7 : 3
실시예 3	10 : 0

제조예 3. 최적 유화액 제조 조건의 설정

상기 제조예 2에 있어서 최적 유화액 및 미세캡슐을 위한 조건을 설정하기 위하여, 피복물질인 말토덱스트린과 아라비아검을 5:5의 비율로 혼합한 후, 하기 표 2의 비율에 따라 혼합 및 균질 처리하여 실시예 4 내지 실시예 8을 제조하였다.

표 2

	피복물질 농도(% v/v)	중심물질 : 피복물질(v/v)
실시예 4	10	1 : 2
실시예 5	10	1 : 3
실시예 6	10	1 : 4
실시예 7	15	1 : 2
실시예 8	15	1 : 3

실시예 9	15	1 : 4
실시예 10	20	1 : 2
실시예 11	20	1 : 3
실시예 12	20	1 : 4
실시예 13	25	1 : 2
실시예 14	25	1 : 3
실시예 15	25	1 : 4
실시예 16	30	1 : 2
실시예 17	30	1 : 3
실시예 18	30	1 : 4

[0047] 이후, 각각 10mL 메스실린더에 옮겨 담은 후, 24시간 후에 분리된 층의 부피를 확인함으로써 volumetric method 에 의한 유화안정지수(ESI, emulsion stability index)를 산출하고 비교/평가하였다.

[0048] $ESI (\%) = 1 - (\text{Total volume of the separated water layer} / \text{Total volume of the water layer in the inclusion complex})$

[0049] ESI (%)를 산출하여 비교한 결과, 피복물질의 농도가 높아질수록 ESI가 증가하는 경향을 보였으며, 중심 물질 대비 피복물질의 비율이 증가할수록 ESI가 감소하는 경향을 보였다. 특히 30% 농도의 중심물질을 피복물질 대비 1 : 2 비율로 혼합/균질하여 제조했을 때(실시예 16), ESI가 0.9 ± 0.02 로 가장 높게 평가 되었으므로, 상기의 조건을 최적의 유화액 제조 조건으로 설정하였다(도 1).

[0050] 실험예 1. 엽록소 미세캡슐 수율 측정

[0051] 피복물질의 종류 및/또는 함량을 달리하여 제조한 실시예 1 내지 3 각각에 관한 엽록소 미세캡슐의 수율을 측정 하였다. Socrates 등[Food science and Technology. 44(9), 1880-1887(2011)]의 방법을 참고하였으며, 미세캡슐의 총 오일과 표면 오일을 측정하여 산출하였다. 0.2g의 미세캡슐에 20mL의 85% 에탄올(ethanol)을 첨가하여 볼텍스 믹서로 잘 혼합한 후, 초음파 세척기를 이용하여 상온에서 30분 동안 초음파 처리했다. 10mL의 석유에테르(petroleum ether)를 첨가하여 가볍게 혼합한 후 방치하여 층 분리를 유도한 후, 상층액을 65℃ 열풍 건조기에서 향량 시킨 둥근 바닥 플라스크에 옮겨 담았다. 상기의 과정을 총 5회 반복 실시한 후, 회전증발농축기를 이용하여 65℃ 항온 수조에서 둥근 바닥 플라스크 내의 용매를 모두 휘발시켰다. 이후 둥근 바닥 플라스크를 65℃에서 3시간 동안 열풍 건조하여 향량 시킨 후, 무게를 측정함으로써 총 오일량을 측정하였다. 표면 오일의 경우, 0.2g의 미세캡슐에 15mL의 석유에테르를 첨가한 후, 회전식 진탕기에서 20분 동안 150rpm의 속도로 교반시켰다. 이후 정량 여과지(Advantec filter paper 5C)와 향량시킨 둥근 바닥 플라스크를 이용하여 상기의 혼합액을 여과시킨 후, 5mL의 석유에테르로 잔여물을 3회 세척했다. 이후 회전증발농축기를 이용하여 65℃ 항온 수조에서 둥근 바닥 플라스크 내의 용매를 모두 휘발시킨 후, 65℃ 열풍 건조기 내에서 3시간 동안 향량시킨 다음 무게를 측정하여 표면 오일량을 측정하였다.

[0052] $\text{Microencapsulation efficiency} = [(\text{Total oil} - \text{Surface oil}) / \text{Total oil}] \times 100$

[0053] 엽록소 내부에 포함된 오일의 양을 측정함으로써 미세캡슐화 수율을 측정한 결과 실시예 1 내지 3 모두 최소 60% 이상의 안정적인 수율을 나타냄을 확인하였다. 나아가, 피복물질 중 말토덱스트린의 함량이 높아질수록 수율이 유의적으로 증가함을 확인하였다(도 2).

[0054] 실험예 2. 엽록소 미세캡슐의 엽록소 함량 측정

[0055] 피복물질의 종류 및/또는 함량을 달리하여 제조한 실시예 1 내지 3 각각에 관한 엽록소 미세캡슐의 엽록소 함량을 측정하였다. 배은경 등[한국식품과학회지. 40(3), 303-310(2008)], YK Lee 등[Drying Technology. 33, 1991-2001(2015)]의 방법을 참고하였다. 0.2g의 미세캡슐과 5mL의 증류수를 혼합하여 볼텍스 믹서로 2분간 교반한 후, 이소옥탄(iso-octane)과 이소프로판올(iso-propanol)을 3:1로 혼합한 용액을 40mL 첨가하여 볼텍스 믹서로 1분간 교반했다. 이후 상기의 혼합액을 1000rpm의 속도로 10분간 원심 분리한 후, 분리된 상층액을 둥근 바닥 플라스크에 옮겼다. 남은 혼합액에 이소옥탄 및 이소프로판올 혼합액(3:1)을 20mL 가하여 볼텍스 믹서로 30초 동안 교반한 후, 1000rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 상기의 둥근 바닥 플라스크에 옮겨 담았다. 이후 회전증발농축기를 이용하여 상온에서 둥근 바닥 플라스크 내의 용매를 휘발시켰고, 이에 100% 아세톤을 2mL 첨가하여 잔류한 중심 물질을 용해 시켰으며, 646nm, 662nm에서 흡광도를 측정하여 미세캡슐의 엽록소 함량을 산출했다.

- [0056] Chlorophyll a (ug/g oil extract) = $11.24A_{662} - 2.04A_{646}$
- [0057] Chlorophyll b (ug/g oil extract) = $20.13A_{646} - 4.19A_{662}$
- [0058] 엽록소 미세캡슐 내의 엽록소 함량을 측정한 결과, 외부 환경에 민감하여 쉽게 변성되는 엽록소임에도 불구하고 본 발명의 미세캡슐의 경우 엽록소 함량이 최소 30ug/g oil 이상 나타남을 확인하였다. 말토덱스트린의 함량이 높아질수록 엽록소 함량이 증가하는 것을 관찰하였으며, 엽록소 미세캡슐화 수율 경향과 동일하게 나타남을 확인하였다(도 3).
- [0059] **실험예 3. 인공 위액(SGF) 및 인공 소장액(SIF)에서의 엽록소 미세캡슐의 엽록소 방출량 측정**
- [0060] 피복물질의 종류 및/또는 함량을 달리하여 제조한 실시예 1 내지 3 각각으로부터 제조된 엽록소 미세캡슐 0.2g 을 20mL 증류수에 현탁시킨 후, 0.1M HCl을 이용하여 현탁액의 pH를 2.0으로 조정한다. 다음, 펩신 용액(1g/0.1M HCl 25mL) 0.25mL를 첨가하여 인공 위액을 조성하였다. 이후 37℃ 자력교반 항온수조에서 75rpm으로 교반 하면서 총 2시간 동안 일정 간격으로 인공 위액 중에 방출된 엽록소 양을 측정하였다.
- [0061] 이후 엽록소 미세캡슐을 조성된 인공 소장액(SIF)이 있는 37℃ 자력교반 항온수조로 옮긴 후, 75rpm으로 교반 하면서 총 8시간 동안 1시간 또는 2시간 간격으로 인공 소장액 중에 방출된 엽록소 양을 측정하였다. 상기 인공 소장액은 판크레아틴(pancreatin) 0.04g과 디옥시콜린산(deoxycholic acid) 0.25g을 0.1M NaHCO₃ 10mL에 녹인 후, 0.1N NaOH로 용액의 pH를 7.0으로 조정하여 제조하였다.
- [0062] 엽록소 방출량은 'fractional release (%)'로 산출하였으며, 계산 방법은 아래와 같다.
- [0063] Fractional release (%) = $[(M_0 - M_t) / M_0] \times 100$
- [0064] M₀ : 엽록소 미세캡슐의 엽록소 함량
- [0065] M_t : 인공 위액 혹은 소장액 환경에서 t 시간이 지난 후, 엽록소 미세캡슐에 남아있는 엽록소 함량
- [0066] 상기와 같이 인공 위액 및 인공 소장액 중에서 엽록소 미세캡슐로부터 방출되는 엽록소의 양을 측정한 결과, 피복물질 중에 말토덱스트린의 함량이 높을수록 더욱 안정한 것을 확인할 수 있었다. 구체적으로, 말토덱스트린과 아라비아 검이 5:5의 비율로 혼합된 실시예 1의 경우, 인공 위액 내에서 2시간 후 약 81%에 해당하는 엽록소를 방출했으며, 말토덱스트린과 아라비아 검이 7:3의 비율로 혼합된 실시예 2의 경우, 인공 위액 내에서 2시간 후 약 60%의 엽록소를 방출하였다. 말토덱스트린만으로 구성된 실시예 3의 경우, 인공 위액 내에서 2시간 후 약 43%에 해당하는 엽록소를 방출하였다. 이러한 결과로부터 엽록소 미세캡슐은 피복물질을 통해 엽록소를 포함하는 중심물질을 보호함으로써 위에서의 엽록소 방출이 감소될 수 있도록 할 수 있음을 알 수 있었다. 나아가, 인공 소장액 내에서도 말토덱스트린의 함량에 증가할수록 안정적이고 지속적인 방출이 나타나는 것을 확인하였다. 말토덱스트린과 아라비아 검이 5:5의 비율로 혼합된 실시예 1의 경우, 인공 위액에서 인공 소장액으로 옮겨진 지 1시간 경과 후 엽록소가 100% 방출된 반면, 말토덱스트린과 아라비아 검이 7:3의 비율로 혼합된 실시예 2의 경우, 약 4시간 이상 엽록소의 방출이 지속되었으며, 말토덱스트린만으로 구성된 실시예 3의 경우, 약 6시간 이상 엽록소의 방출이 지속된 것을 알 수 있었다(도 4).
- [0067] 상기와 같은 결과는 본 발명이 엽록소의 미세캡슐화를 통해 엽록소 또는 엽록소를 포함하는 중심물질이 위에서 보호될 수 있도록 하여 소장 내에서의 흡수를 증가시키고 생체이용률을 증가시키는 효과를 나타냄을 확인할 수 있도록 한다. 나아가, 말토덱스트린의 함량을 증가시키는 방법을 통해 엽록소의 방출을 제어할 수 있음을 시사하는 것이다.
- [0068] **실험예 4. 저장온도에 따른 엽록소 미세캡슐의 안정성 확인**
- [0069] 피복물질의 종류 및/또는 함량을 달리하여 제조한 실시예 1 내지 3 각각으로부터 제조된 엽록소 미세캡슐을 20℃, 60℃로 설정한 인큐베이터에 10일 동안 저장하면서 미세캡슐의 엽록소 함유량과 색도를 확인함으로써 엽록소 미세캡슐의 안정성을 측정하였다.
- [0070] 20℃에서 10일간 저장했을 시에는 실시예 1 내지 3에서 모두 엽록소 미세캡슐 간의 안정성이 비슷한 경향을 보였으나, 60℃에서 저장했을 시에는 피복 물질 중에 말토덱스트린의 함량이 높을수록 안정성이 높게 유지되는 경향을 보였다(도 5). 특히, 말토덱스트린과 아라비아 검이 5:5의 비율로 혼합된 실시예 1에 비해 상대적으로 실시예 2 및 3의 안정성이 높게 나타났으며, 실시예 2 및 3의 경우 10일 경과 후의 안정성이 비슷하게 나타나는

것을 확인하였다(도 5).

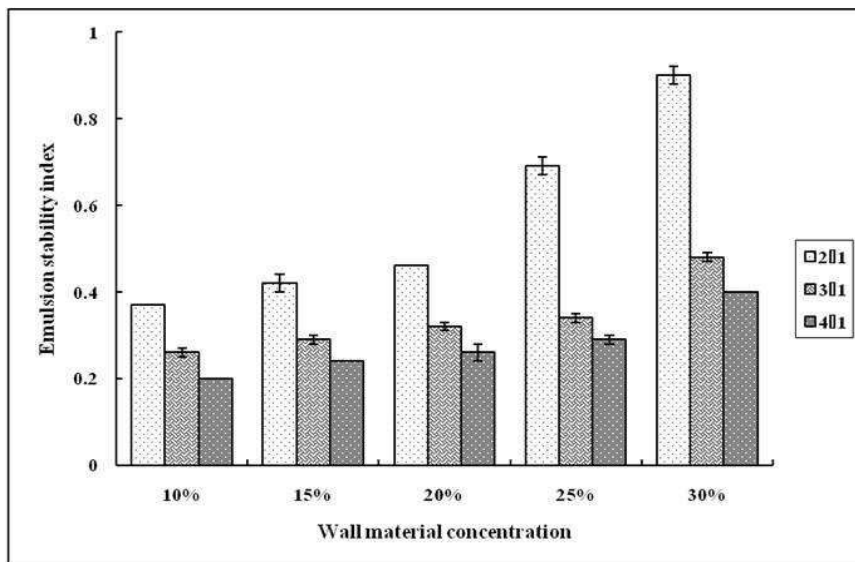
[0071] 상기와 같은 결과로부터 본 발명의 엽록소 미세캡슐은 상온 조건에서 10일이 경과하도록 안정성이 90% 이상 유지됨을 알 수 있었다. 나아가, 말토덱스트린의 함량이 상대적으로 높은 실시예 2 및 3의 경우 온도가 높은 가혹 조건에서도 10일 동안 60% 이상의 안정성을 유지하는 것을 확인하여, 엽록소를 미세캡슐화하는 기술을 통해 외부 환경에 상당히 불안정한 엽록소에 안정성을 부여하였음을 확인하였다.

[0072] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

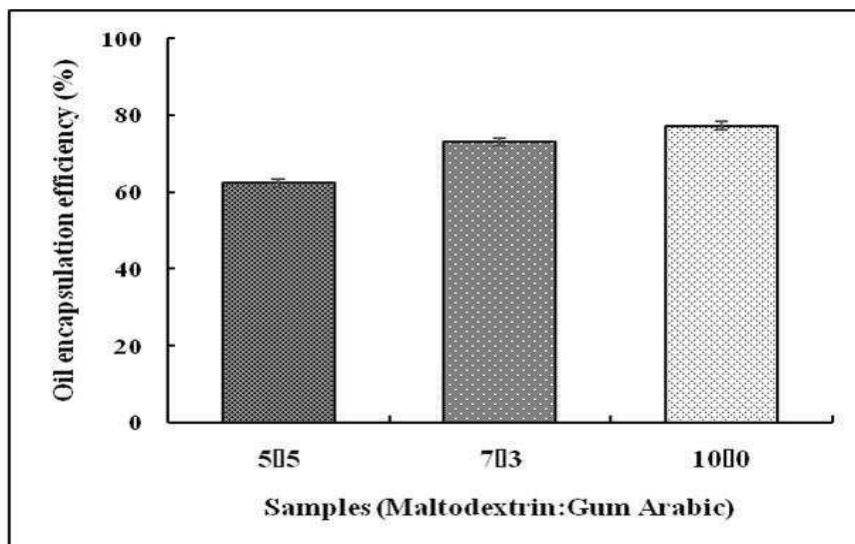
[0073] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

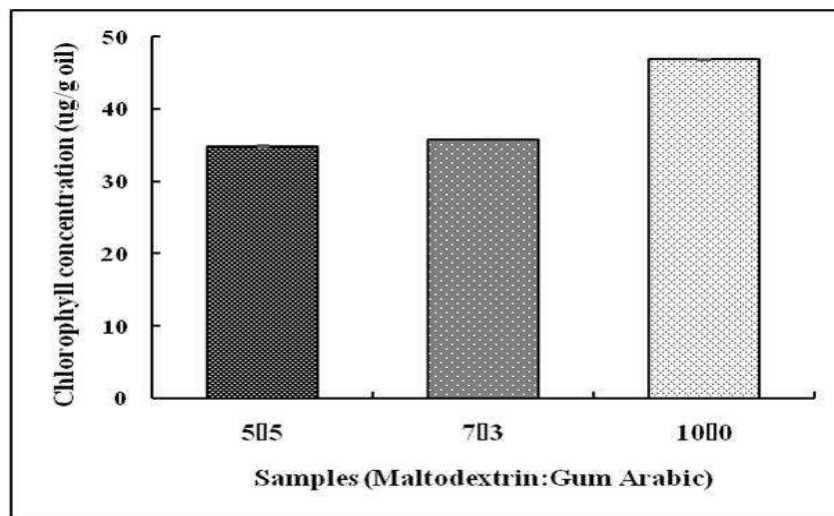
도면1



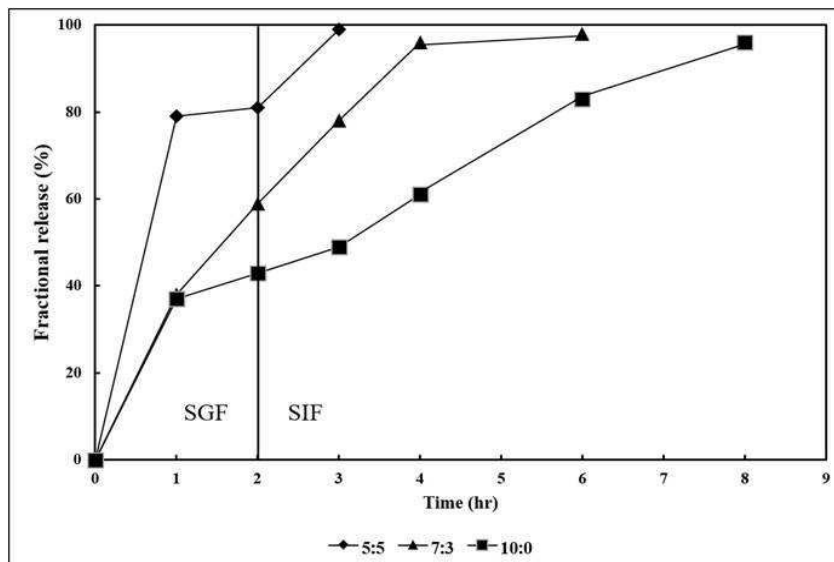
도면2



도면3



도면4



도면5

