



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0033437
(43) 공개일자 2020년03월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23P 10/30 (2016.01) A23L 29/00 (2016.01)

A23L 33/12 (2016.01) A23P 10/35 (2016.01)

(52) CPC특허분류

A23P 10/30 (2016.08)

A23L 29/04 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2018-0112686

(22) 출원일자 2018년09월20일

심사청구일자 2018년09월20일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

장윤혁

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

이윤경

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

최유라

서울특별시 영등포구 가마산로 468, 레전드힐스동 1111호(신길동, 레전드힐스)

(74) 대리인

특허법인 하나

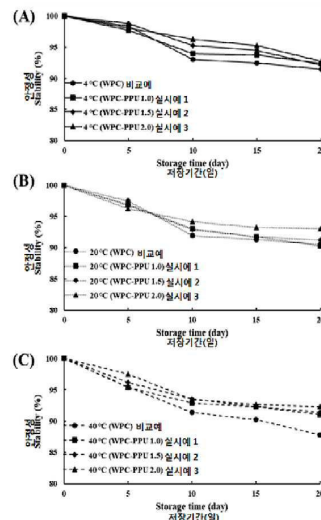
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 유근피 다당류 및 유청단백질 복합체를 포함하는 이중미세캡슐, 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 갈산을 포함하는 중심물질 및 상기 중심물질을 1차 피복물질 및 2차 피복물질로 순차적으로 피복한 이중미세캡슐 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

A23L 33/12 (2016.08)

A23P 10/35 (2016.08)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015R1DA1A01059564

부처명 한국연구재단

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 이공분야기초연구사업 > 이공학 개인기초연구지원사업 > 기본연구지원사업 > 기본연구지원사업
업

연구과제명 향산화 활성과 유변학적 특성을 향상시킨 유근피 다당류 유도체의 개발

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교

연구기간 2017.11.01 ~ 2018.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

갈산을 포함하는 중심물질 및 상기 중심물질을 1차 피복물질 및 2차 피복물질로 순차적으로 피복한, 이중미세캡슐.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 1차 피복물질은 중간사슬트리글리세리드(MCT, medium chain triglyceride) 오일 및 폴리글리세롤 폴리리시놀리에이트(PGPR, polyglycerol polyricinoleate)을 포함하는 것인, 이중미세캡슐.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 2차 피복물질은 유근피 다당류를 포함하는 것인, 이중미세캡슐.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 2차 피복물질은 유근피 다당류를 1.0 중량% 내지 2.0중량%를 포함하는 것인, 이중미세캡슐.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 2차 피복물질은 유근피 다당류 및 유청단백질의 복합체를 포함하는 것인, 이중미세캡슐.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 2차 피복물질은 유근피 다당류 및 유청단백질이 중량% 기준으로 1 : 15 내지 1 : 30의 비율로 구성된 복합체를 포함하는 것인, 이중미세캡슐.

청구항 7

a) 갈산을 포함하는 중심물질 및 1차 피복물질을 혼합하여 1차 에멀전(emulsion)을 제조하는 단계; 및

b) 상기 1차 에멀전 및 2차 피복물질을 혼합하여 2차 에멀전을 제조하는 단계를 포함하는, 이중미세캡슐 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 1차 피복물질은 중간사슬트리글리세리드(MCT, medium chain triglyceride) 오일 및 폴리글리세롤 폴리리시놀리에이트(PGPR, polyglycerol polyricinoleate)를 혼합한 것인, 이중미세캡슐 제조방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 2차 피복물질은 유근피 다당류를 포함하는 것인, 이중미세캡슐 제조방법.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 2차 피복물질은 유근피 다당류를 1.0 중량% 내지 2.0중량%를 포함하는 것인, 이중미세캡슐 제조방법.

청구항 11

제7항에 있어서,

상기 2차 피복물질은 유근피 다당류 및 유청단백질의 복합체를 포함하는 것인, 이중미세캡슐 제조방법.

청구항 12

제7항에 있어서,

상기 2차 피복물질은 유근피 다당류 및 유청단백질이 중량% 기준으로 1 : 15 내지 1 : 30의 비율로 구성된 복합체를 포함하는 것인, 이중미세캡슐 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 갈산을 포함하는 중심물질 및 상기 중심물질을 1차 피복물질 및 2차 피복물질로 순차적으로 피복한 이중미세캡슐 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 갈산, 천연색소, 비타민 등은 활용을 위한 가공공정이나 보관 저장 중에 환경 요인에 의해 성질이 변하여 적용되는 식품의 상품성 및 관능성에 큰 영향을 미치게 된다. 상기와 같이 외부환경에 민감한 유효성분들은 주로 pH, 산소, 수분, 열과 빛, 금속이온을 비롯하여 식품 자체의 성분에 의한 상호반응에 의해 변성이 일어나게 된다.

[0003] 특히, 외부환경에 대한 유효성분의 불안정성으로 인하여 이를 함유한 식품을 섭취하더라도 실제로 체 내에 흡수되는 유효성분의 양이 적어 생체이용률이 낮은 단점이 있다.

[0004] 이에 따라, 유효성분의 안정성을 높이기 위한 시도가 있어왔으나, 안정성을 높이기 위한 과정 중 사용되는 유화제가 대부분 합성물질임에 따라 이에 의한 세포독성 및 환경문제가 추가로 발생하는 문제가 있었다.

[0005] 이에 따라, 유효성분의 안정성을 높이면서도 독성이 없는 천연 소재의 활용을 위한 연구가 지속적으로 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 한국등록특허 10-185292250호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 갈산을 포함하는 중심물질 및 상기 중심물질을 1차 피복물질 및 2차 피복물질로 순차적으로 피복한, 이중미세캡슐을 제공하는 것이다.

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

과제의 해결 수단

[0009] 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 측면은 갈산을 포함하는 중심물질 및 상기 중심물질을 1차 피복물질 및 2차 피복물질로 순차적으로 피복한, 이중미세캡슐을 제공한다.

- [0010] 본 발명에서, “갈산(gallic acid)”은 너트류, 차류를 포함한 다양한 식물의 뿌리, 줄기, 잎, 열매 등에 유리 상태로 분포하며, 미생물이나 바이러스의 생육을 억제하고, 미백효과, 항산화, 항암 및 항당뇨 효과가 탁월한 것으로 알려져 있다. 그러나, 외부환경과 접촉시 쉽게 산화되어 체내에 적용되기까지의 유효한 성질을 유지하기 어렵다는 단점이 있다. 본 발명에서는 상기와 같이 보존이 어려운 갈산을 포함하는 중심물질이 1차 피복물질 및 2차 피복물질로 순차적으로 피복되어 보존성이 향상될 수 있도록 하였으며, 갈산은 외부환경에 취약한 물질 중 하나인 것으로 본 발명은 갈산 외에도 엽록소, 비타민 등 외부환경에 취약하여 쉽게 변성이 되는 각종 유효성분에 적용될 수 있다.
- [0011] 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, 항산화물질, 산, 효소, 미생물, 향기성분, 비타민, 무기질, 유지 등에 적용되고 있다.
- [0012] 본 발명에서, “이중미세캡슐”은 1000 μm 이하의 크기를 갖는 미세한 크기의 캡슐인 미세캡슐에서 중심물질이 2 중의 피복물질로 보호되도록 한 것이다. 이러한 이중미세캡슐은 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 이중미세캡슐을 얻는 방법으로, 단시간 내에 많은 이중미세캡슐을 얻을 수 있으며, 에멀전(emulsion)과 같은 현탁액을 분무 건조하여 이중미세캡슐을 제조할 수 있다. 이중미세캡슐을 제조하는 방법은 상기 분무건조법에 제한되지 않으며, 당해 분야의 기술자가 필요에 따라 적절한 방법을 이용하여 이중미세캡슐을 제조할 수 있다.
- [0013] 본 발명에서, “중심물질(core material)”은 갈산 자체 또는 용매에 갈산을 혼합하여 녹인 용액, 에멀전, 오일, 분말 등을 말하며, 특정 형태에 한정되는 것은 아니다. 갈산을 주성분으로 포함하는 물질이면 본 발명의 중심물질이 될 수 있으며, 나아가 갈산 외에도 엽록소, 비타민 등 외부환경에 취약하여 쉽게 변성이 되는 각종 유효성분 역시 중심물질로서 본 발명에 적용될 수 있다.
- [0014] 본 발명에서, “피복물질(wall material)”은, 갈산 또는 갈산을 포함하는 중심물질을 보호하기 위하여 얇은 층으로 덮어씌우는 물질을 말한다. 피복물질은 외부 환경에서 상당히 불안정한 갈산 등의 유효성분이 안정성을 유지하도록 하고, 효소, 산, 공기 중의 산소, 빛, 열 등에 의해 다른 화학물질, 유도체 등으로 변화되지 않도록 보호할 수 있는 물질이면 제한없이 사용될 수 있다. 또한 상기 피복물질은 1차 피복물질, 2차 피복물질 등으로 구분되어 적용될 수 있으며, 본 발명에서는 1차 피복물질 및 2차 피복물질을 포함하는 이중미세캡슐이 형성되도록 하였으며, 더욱 구체적으로 상기 피복물질에 유근피 다당류가 포함되도록 하였다.
- [0015] 본 발명에서, “유근피”는 느릅나무과(Ulmaceae)에 속하는 나무의 나무껍질 및 뿌리부분 껍질을 모두 포함하며, 유백피, 상피, 영유, 유피라고도 불린다. 상기 유근피는 다양한 느릅나무로부터 유래될 수 있으며, 특별히 이에 제한되지 않으나, 구체적으로 비술나무(*Ulmus pumila*), 참느릅나무(*Ulmus parvifolia*), 왕느릅나무(*Ulmus macrocarpa*), 난티나무(*Ulmus laciniata*), 당느릅나무(*Ulmus davidiana*) 등의 다양한 느릅나무의 줄기와 뿌리부분의 껍질이 될 수 있다. 또한, 유근피는 한방 약재로 이용되어 왔으며, 항균, 살균 작용이 뛰어나 비염과 축농증 치료에 도움이 되며, 염증에도 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 본 발명에서는 상기와 같은 유근피로부터 다당류를 추출하고 추출된 유근피 다당류가 유청단백질과 복합체를 형성하도록 하여 이중미세캡슐의 2차 피복물질로 활용될 수 있음을 확인하였다.
- [0016] 나아가, 상기와 같이 천연물질인 유근피 다당류를 피복물질로 활용함으로써 기존 유화제로 사용되는 계면활성제나 합성 물질의 세포독성 및 환경적인 문제를 해결할 수 있으며 천연소재의 피복물질로써 식품소재 뿐 아니라 화장품 소재로도 적용이 가능하다.
- [0017] 구체적으로, 상기 1차 피복물질은 중간사슬트리글리세리드(MCT, medium chain triglyceride) 오일 및 폴리글리세롤 폴리리시놀리에이트(PGPR, polyglycerol polyricinoleate)을 포함할 수 있다.
- [0018] 또한 구체적으로, 상기 2차 피복물질은 유근피 다당류를 포함하는 것일 수 있다.
- [0019] 본 발명 일 실시예에서는 중간사슬트리글리세리드(MCT, medium chain triglyceride) 오일 및 폴리글리세롤 폴리리시놀리에이트(PGPR, polyglycerol polyricinoleate)을 포함하는 1차 피복물질을 중심물질인 갈산과 혼합하여 W/O형의 1차 에멀전을 제조하였으며, 상기 1차 에멀전에 추출된 유근피 다당류를 유청단백질과 혼합하여 형성된 복합체로 제조된 2차 피복물질을 혼합하여 W/O/W형의 2차 에멀전을 제조함으로써 이중미세캡슐을 제조하였다.

- [0020] 특히, 상기 2차 피복물질에 있어서 유근피 다당류를 포함하지 않는 이중미세캡슐 대비 유근피 다당류를 포함하는 이중미세캡슐이 높은 캡슐화 효율을 가지며(표 3), 저장안정성이 우수하고(표 4 및 도 5), 향상된 소화안정성을 나타냄을 확인하였다(도 6).
- [0021] 구체적으로, 본 발명 이중미세캡슐의 상기 2차 피복물질은 유근피 다당류를 1.0 중량% 내지 2.0중량%를 포함하는 것일 수 있다.
- [0022] 또한 구체적으로, 상기 2차 피복물질은 유근피 다당류 및 유청단백질의 복합체를 포함하는 것일 수 있으며, 더욱 구체적으로 유근피 다당류 및 유청단백질을 중량% 기준으로 1 : 15 내지 1 : 30의 비율로 구성된 복합체를 포함하는 것일 수 있다.
- [0023] 본 발명 일 실시예에서는 유근피 다당류가 1.0 중량% 내지 2.0중량% 포함된 2차 피복물질을 포함하는 이중미세캡슐을 제조하였으며, 유근피 다당류 및 유청단백질을 중량% 기준으로 1 : 15 내지 1 : 30의 비율로 구성된 복합체를 포함하는 2차 피복물질을 포함하는 이중미세캡슐을 제조하였다.
- [0024] 상기와 같은 유근피 다당류를 2차 피복물질에 포함하는 이중미세캡슐의 경우 유근피 다당류를 포함하지 않는 이중미세캡슐에 비해 우수한 캡슐화 효율을 나타내었으며, 포함된 유근피 다당류의 함량이 증가함에 따라 캡슐화 효율이 유의하게 증가함을 확인하였다(표 3). 캡슐화 효율은 피복물질이 중심물질을 안정하게 보호하는 정도를 말하며, 본 발명에서는 유근피 다당류를 포함하는 2차 피복물질의 중심물질 보호 효과가 우수함을 확인하였다.
- [0025] 또한, 본 발명 일 실시예에서는 유근피 다당류를 2차 피복물질에 포함하는 이중미세캡슐의 경우 유근피 다당류를 포함하지 않는 이중미세캡슐에 비해 수분 함량이 현저히 낮아 수분에 의한 변질을 최소화함으로써 중심물질의 저장안정성이 증가된 것을 확인하였으며(표 4), 나아가 4 ℃, 20 ℃ 및 40 ℃의 조건 모두에서 유근피 다당류를 2차 피복물질에 포함하는 이중미세캡슐의 저장안정성이 현저하게 우수함을 확인하였다(도 5).
- [0026] 나아가, 본 발명 일 실시예에서는 유근피 다당류를 2차 피복물질에 포함하는 이중미세캡슐의 경우 유근피 다당류를 포함하지 않는 이중미세캡슐에 비해 산성의 위액에서의 중심물질의 방출을 억제함으로써 소화 안정성을 향상시키고 소장에서의 생체이용률이 증가될 수 있도록 하였음을 확인하였다(도 6).
- [0027] 본 발명의 또 다른 일 측면은 a) 갈산을 포함하는 중심물질 및 1차 피복물질을 혼합하여 1차 에멀전(emulsion)을 제조하는 단계; 및 b) 상기 1차 에멀전 및 2차 피복물질을 혼합하여 2차 에멀전을 제조하는 단계를 포함하는, 이중미세캡슐 제조방법을 제공한다.
- [0028] 구체적으로, 상기 1차 피복물질은 중간사슬트리글리세리드(MCT, medium chain triglyceride) 오일 및 폴리글리세롤 폴리리시놀리에이트(PGPR, polyglycerol polyricinoleate)를 혼합한 것일 수 있다.
- [0029] 또한 구체적으로, 상기 2차 피복물질은 유근피 다당류를 포함하는 것일 수 있다.
- [0030] 또한 구체적으로, 본 발명 이중미세캡슐의 상기 2차 피복물질은 유근피 다당류를 1.0 중량% 내지 2.0중량%를 포함하는 것일 수 있다.
- [0031] 또한 구체적으로, 상기 2차 피복물질은 유근피 다당류 및 유청단백질의 복합체를 포함하는 것일 수 있으며, 더욱 구체적으로 유근피 다당류 및 유청단백질을 중량% 기준으로 1 : 15 내지 1 : 30의 비율로 구성된 복합체를 포함하는 것일 수 있다.
- [0032] 본 발명 일 실시예에서 상기 조건에 따라 제조된 이중미세캡슐의 캡슐화 효율, 저장안정성 및 소화안정성에 관해 확인한 사항은 상기 기재된 바와 같다. 상기와 같은 우수한 안정성으로 인해 본 발명의 이중미세캡슐은 각종 식품 및 식품첨가제 등의 식품산업, 화장품산업 등에 널리 활용될 수 있다.

발명의 효과

- [0033] 본 발명의 이중미세캡슐은 외부환경에 불안정한 갈산에 안정성을 부여함으로써 주변 환경의 변화에도 장기간 안정한 상태로 유지될 수 있도록 한다. 또한, 위의 강산 환경에서도 갈산의 안정성을 높게 유지하여 위액에서의 방출량을 낮춤으로써 소화 안정성을 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 (A) 비교예, (B) 실시예 1, (C) 실시예 2 및 (D) 실시예 3의 W/O/W 에멀전 형성을 광학 현미경으로 측정한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 2는 비교예 및 실시예 1 내지 3의 제타전위를 측정한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 3은 비교예 및 실시예 1 내지 3의 주사전자현미경(SEM) 사진을 나타낸 것이다.
- 도 4는 (A) 갈산, (B) 유청단백질, (C) 유근피 다당류, (D) 비교예, (E) 실시예 1, (F) 실시예 2 및 (G) 실시예 3 각각의 FT-IR 결과를 나타낸 것이다.
- 도 5는 비교예 및 실시예 1 내지 3의 저장안정성을 관찰한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 6은 비교예 및 실시예 1 내지 3의 인공 위액 조성 하에서의 갈산의 방출량을 측정한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0036] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0037] 제조예 1. 유근피 다당류의 추출

- [0038] 건조된 유근피 뿌리 껍질 60 g 분쇄하고 증류수(1 : 20, w/v)와 혼합하였다. 진탕 수조(BS-11, Jeio tech Co., Ltd., 대전, 한국)에서 24 시간 동안 80 ℃에서 배양 하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 현탁액을 3500 rpm에서 10 분간 원심 분리 하였다 (Combi 408, 한일바이오메드, 광주, 한국). 유근피 다당류를 침전시키기 위해 에탄올 (95 %)을 상층액 (3 : 1, v/v)에 첨가시킨 후 Whatman No. 1 paper(GE Healthcare, Amersham, UK)로 여과시켰다. 여과 후 얻은 고형물을 동결 건조하여 유근피에서 추출한 다당류(UPC)를 수득하였다.

[0039] 제조예 2. 유근피 다당류 및 유청단백질의 복합체 제조

- [0040] 상기 제조예 1에서 수득한 유근피 다당류 1.0, 1.5 및 2 g을 각각 증류수에 분산시켜 100 g의 유근피 다당류 용액을 제조하였다. 또한, 유청단백질을 증류수에 용해시켜 100 g의 유청단백질 용액을 제조하였다.
- [0041] 상기 용액들을 각각 자기교반기로 30 분 동안 부드럽게 교반하고, 인산 완충액을 통해 pH를 6.3으로 조정하였다. 상기 용액들을 혼합하고 완전히 수화시키기 위해 실온에서 밤새 교반하였다. 이후, 만들어진 용액의 건조물질을 증가시키기 위하여 10 g의 말토덱스트린을 혼합하고 분무건조기를 이용하여 분말화 하여 유근피 다당류 및 유청단백질의 복합체(WPC-UDP)를 수득하였다. 상기 유근피 다당류 및 유청단백질의 복합체를 2차 피복물질로 사용하였다.

[0042] 제조예 3. 이중미세캡슐 제조

- [0043] W/O/W 에멀전을 2단계의 절차로 제조하였다.

[0044] 3-1. W/O형의 1차 에멀전 제조

- [0045] 5 중량%의 중간사슬트리글리세리드(MCT, medium chain triglyceride) 오일 및 76 중량%의 폴리글리세롤 폴리리놀레이트(PGPR, polyglycerol polyricinoleate)를 350 rpm으로 투명해질 때까지 교반하여 1차 피복물질을 제조하였다. 그 후, 갈산(gallic acid, Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA))을 중심물질로 하여 19 w/w%가 될 때까지 서서히 첨가하였으며, 충분한 시간 동안 교반하여 마이크로에멀전 형태의 1차 에멀전을 제조하였다. MCT 오일 및 PGPR을 서로 상이한 비율로 혼합한 후 균질화하였으며, 구체적으로, 본 예시에서는 1차 에멀전의 MCT 오일 : PGPR : 갈산의 비율을 19 중량% : 5 중량% : 76 중량%로 적용하였다.

[0046] 3-2. W/O/W형의 2차 에멀전 제조

- [0047] 2 단계는 10 ℃에서 수행하였다. DIAX 600 균질기(Heidolph, Kelheim, Germany)를 사용하였으며, 상기 W/O형의 1차 에멀전에 상기 제조예 2에서 수득한 2차 피복물질(유근피 다당류 및 유청단백질의 복합체)를 서서히 첨가하며 9400 rpm에서 5 분간 균질화하였다. 이후 12,000 rpm에서 2 분 동안 추가로 균질화하였다. 본 예시에서는, 상기 과정을 통해 제조된 다중 에멀전은 1차 W/O 에멀전 75 중량% 및 2차 피복물질 75 중량%의 비율이 되도록 적용하였다.

- [0048] 상기 유근피 다당류의 중량비에 따른 비교예 및 실시예의 성분은 하기 표 1에 나타난 바와 같다. 구체적으로, 실시예 1은 1.0중량%의 유근피 다당류 및 유청단백질의 복합체, 실시예 2는 1.5중량%의 유근피 다당류 및 유청

단백질의 복합체, 실시예 3은 2.0중량%의 유근피 다당류 및 유청단백질의 복합체가 포함되도록 한 것이다.

표 1

다중 에멀전 (multiple emulsion)	W/O/W 형 2차 에멀전						
	W/O형 1차 에멀전			2차 피복물질			
	내상(inner phase)마이크로에멀전			외상(outer phase)			
	중심물질	1차 피복물질		2차 피복물질			
	갈산 (중량%)	PGPR (중량%)	MCT 오일 (중량%)	유청단백질 (중량%)	유근피다당류 (중량%)	말토덱스트린 (중량%)	증류수
비교예(WPC)	19	5	76	30	-	10	Up to 100
실시예 1 (WPC-UDP 1.0)	19	5	76	30	1.0	10	
실시예 2(WPC-UDP 1.5)	19	5	76	30	1.5	10	
실시예 3 (WPC-UDP 2.0)	19	5	76	30	2.0	10	
합(중량%)	100			100			

상기와 같이 제조된 비교예 및 실시예 1 내지 3의 W/O/W 에멀전의 형성을 광학현미경을 통해 측정하였으며, 모든 샘플이 둥근 모양과 비교적 매끄러운 표면을 나타냄을 확인하였다(도 1).

3-3. 분무건조에 의한 이중미세캡슐의 제조

상기 제조예 3-2에서 수득한 비교예 및 실시예 1 내지 3을 분무건조하여 이중미세캡슐을 제조하였다.

구체적으로, 상기 분무건조기의 조건은 주입 공기 온도 $140 \pm 5^\circ\text{C}$, 배출 공기 온도 $85 \pm 5^\circ\text{C}$ (분무 건조기 SD-1000, Eyela, Tokyo, Japan)에서, 회전 분무기 $10 \times 10 \text{ kPa}$, 송풍기 속도 $0.60 \text{ m}^3/\text{min}$ 및 펌프 속도 $1.0 \text{ mL}/\text{min}$ 이었으며, 이 때 얻어지는 건조 분말을 수집하여 이후 추가 분석까지 -20°C 의 기밀 용기에 보관하였다.

실험예 1. 이중미세캡슐의 이화학적 특성 평가

1-1. 제타전위(Zeta-potential) 측정

2차 피복물질의 종류 및/또는 함량을 달리 제조한 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐의 입자 거동과 상호작용을 확인하기 위해 제타전위를 측정하였다. 구체적으로, 0.3 g 의 이중미세캡슐을 30 mL 의 증류수에 희석하고, 희석된 이중미세캡슐을 플로우 셀에 주입하여 ELSZ-1000 형 zeta-potential & particle size analyzer(Phota Otsuka Electronics, Osaka, Japan)로 제타전위 값을 측정하였다.

비교예 및 실시예 1 내지 3의 제타전위 값은 각각 -37 mV , -37 mV , -38 mV 및 -36 mV 로서 서로 유의적인 차이를 나타내지 않았다(도 2). 일반적으로 제타전위가 $\pm 30 \text{ mV}$ 보다 높을 때, 유체는 정전기적 반발력으로 인해 안정한 것으로 간주되므로, 상기 결과는 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐 모두 정전기적으로 안정함을 나타내는 것이다.

1-2. 이중미세캡슐의 입자 표면 관측

2차 피복물질의 종류 및/또는 함량을 달리 제조한 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐의 입자 표면을 주사전자현미경(Scanning electron microscopy)으로 관측하였다.

구체적으로, 상기 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐을 양면 탄소 테이프에 뿌리고 백금가루로 코팅하였다. 가속 전압 10 kV 의 주사전자현미경(S-4700, Hitachi CO, Tokyo, Japan)에서 입자의 형태학적 특징을 5000 배 배율로 촬영하였다(도 3).

도 3에 나타난 바와 같이, 유근피 다당류를 포함하지 않는 비교예의 이중미세캡슐의 경우 상기 분무건조 단계에서의 고온에 의한 단백질의 변성으로 수축 및 표면의 함몰이 나타났다. 반면, 2차 피복물질에 유근피 다당류를 포함하는 실시예 1 내지 3의 경우, 표면이 매끄럽고 균열이 관찰되지 않았다.

상기 결과는 2차 피복물질에 유근피 다당류를 포함시킴으로써 안정화된 입자 표면을 가진 이중미세캡슐을 제조

할 수 있음을 나타내는 것이다.

1-3. 이중미세캡슐의 입자 크기 측정

2차 피복물질의 종류 및/또는 함량을 달리 제조한 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐의 입자 크기를 Malvern Mastersizer 2000(Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK)로 측정하였다.

구체적으로, 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐을 1 : 400(w/v) 비율로 10 mL 탈이온수에 혼합하여 샘플 현탁액을 제조하고, 3 회 연속 판독 동안 입자 분포를 모니터링 하였다(표 2).

표 2

구분	$D_{[4,3]}$ (μm) ²⁾	D_{50} (μm) ³⁾	D_{90} (μm) ⁴⁾	Span
비교예	2.33 ± 0.02^d	2.79 ± 0.03^c	9.35 ± 0.37^{bc}	2.93 ± 0.09^{bc}
실시예 1	2.45 ± 0.01^c	3.01 ± 0.02^b	8.94 ± 0.05^c	2.56 ± 0.07^c
실시예 2	2.49 ± 0.01^b	3.05 ± 0.02^b	9.78 ± 0.34^b	2.80 ± 0.09^b
실시예 3	2.66 ± 0.01^a	3.29 ± 0.03^a	12.24 ± 0.41^a	3.33 ± 0.09^a

1) 결과는 3 회 측정 평균 $\pm$ 표준 편차의 평균값이다. 같은 열에서 다른 문자가 있는 값은 현저하게 다르다($p < 0.05$).

2) $D_{[4,3]}$: 부피-무게 평균 직경

3) D_{50} : 누적 부피 분포의 중간 입자 직경 (50 번째 백분위 수)

4) D_{90} : 누적된 부피 분포의 90 백분위 수

표 2에 나타난 바와 같이, 2차 피복물질로 유근피 다당류를 포함하는 실시예 1 내지 3의 경우 비교예와 비교하였을 때, $D_{[4,3]}$ 값이 현저하게 높았다. 또한, $D_{[4,3]}$ 값은 실시예 내에서도 유근피 다당류의 농도가 증가함에 따라 유의하게 증가하였다.

상기 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐의 입자 크기 증가는 유근피 다당류의 음이온 반응성 부위와 유청단백질의 양이온성 부위 사이의 정전기 상호작용으로 인해 더욱 두꺼운 피복층이 형성됨에 기인한 것으로 볼 수 있다.

1-4. 이중미세캡슐의 효율성 측정

2차 피복물질의 종류 및/또는 함량을 달리 제조한 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐의 캡슐화 효율을 측정하기 위하여 Folin-Ciocalteu 방법을 수행하였다. 캡슐화 효율은 피복물질이 중심물질을 안정하게 보호하는 정도를 의미하며, 본 발명의 이중미세캡슐에 사용된 중심물질인 갈산의 백분율을 통해 측정하였다(표 3).

표 3

구분	캡슐화 효율(%)	갈산 농도($\mu\text{g/g}$ 건조분말)
비교예	78.53 ± 1.03^c	793.11 ± 0.26^d
실시예 1	80.20 ± 0.34^b	806.22 ± 0.27^c
실시예 2	81.03 ± 0.32^b	809.06 ± 0.23^b
실시예 3	82.64 ± 0.81^a	824.99 ± 0.03^a

*동일 컬럼 내의 동일 알파벳 문자가 붙은 값은 유의적 차이를 보이지 않음($p < 0.05$)

상기 표 3에 나타난 바와 같이, 실시예 1 내지 3의 경우 비교예에 비해 우수한 캡슐화 효율을 나타내었으며, 실시예 1 내지 3에서도 유근피 다당류의 함량이 증가함에 따라 캡슐화 효율이 유의적으로 증가하였다. 이는 유근피 다당류 및 유청단백질 사이의 정전기적 인력에 의해 캡슐화 효율이 향상된 것이라 할 수 있으며, 상기 결과를 통해 본 발명의 이중미세캡슐이 중심물질인 갈산을 안정하게 보호하는 정도가 우수함을 확인하였다.

1-5. 이중미세캡슐의 수분 함량 측정

[0075] 이중미세캡슐의 수분 함량은 캡슐의 유리화 및 결정화에 따른 건조 효율, 분말 유동성, 점착성 및 저장 안정성 등의 성질과 관련이 있다. 이에, 2차 피복물질의 종류 및/또는 함량을 달리 제조한 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐의 수분 함량을 측정하였다. 구체적으로, 105 ° C의 열풍 오븐에서 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐을 건조시킨 후, 이중미세캡슐의 총 중량 대비 건조에 의해 줄어든 중량의 비율로 계산하였다(표 4.)

표 4

구분	수분 함량 (%)
비교예	2.64 ± 0.07 ^a
실시예 1	0.83 ± 0.51 ^b
실시예 2	0.43 ± 0.21 ^{bc}
실시예 3	0.30 ± 0.10 ^c

[0077] *동일 컬럼 내의 동일 알파벳 문자가 붙은 값은 유의적 차이를 보이지 않음(p<0.05)

[0078] 상기 표 4에 나타난 바와 같이, 실시예 1 내지 3이 비교예에 비해 이중미세캡슐의 수분 함량이 현저하게 낮았으며, 실시예 1 내지 3에서도 유근피 다당류의 농도가 증가함에 따라 이중미세캡슐의 수분 함량이 유의적으로 감소하였다.

[0079] 일반적으로 이중미세캡슐의 수분 함량이 높은 경우, 피복물질이 캡슐의 결정화를 변화시켜 저장기간 동안 중심물질이 방출되거나 분해될 수 있어 저장안정성이 낮아진다. 따라서, 상기 결과는 2차 피복물질에 유근피 다당류를 포함시킴으로써 이중미세캡슐의 수분 함량을 낮춰 중심물질의 저장안정성을 현저하게 극대화시킬 수 있음을 나타낸다.

[0080] 1-6. FT-IR(Fourier transform infrared) 측정

[0081] 2차 피복물질인 유근피 다당류 및 유청단백질 사이의 상호작용을 확인하기 위해 FT-IR을 측정하였다. 구체적으로, total reflectance attenuator(FTIRATR)에 연결된 Combined Raman FTIR 분광 광도계(LabRam Aramis IR2, Horiba Jobin Yvon)를 사용하였다. 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐 샘플을 건조 오븐에서 5 시간 동안 건조하였고, 실온에서 8 cm⁻¹의 분해능으로 650 내지 4000 cm⁻¹의 범위에서 스캐닝하였다. 그 결과, 실시예 1 내지 3에서 1,577 cm⁻¹의 새로운 피크가 나타나는 것을 확인하였다(도 4).

[0082] 이러한 결과는 유근피 다당류와 유청단백질의 복합체를 분무건조하는 동안 유청단백질의 아미노기와 유근피 다당류의 카르복실기 사이에 새로운 아미드 결합이 형성되었음을 나타내는 것이다.

[0083] 실험예 2. 이중미세캡슐의 저장안정성 확인

[0084] 2차 피복물질의 종류 및/또는 함량을 달리 제조한 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐을 다양한 온도로 설정한 인큐베이터에서 20 일 동안 저장하면서 중심물질에 대한 저장안정성을 측정하였다. 구체적으로, 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐(0.1 g)을 각각 4 °C(A), 20 °C(B) 및 40 °C(C)의 MIR-153 배양기(Sanyo, Gunma, Japan)에 저장하여 중심물질에 대한 저장안정성을 5 일 마다 20일 동안 측정하였다. 각 상이한 온도에서의 중심물질의 저장안정성은 종래에 알려진 방법(Lee, Y. K., Ganesan, P., Baharin, B. S., & Kwak, H. S. (2015). Characteristics, stability, and release of peanut sprout extracts in powdered microcapsules by spray drying. *Drying Technology*, 33, 1991-2001.)을 사용하여 측정하였다(도 5).

[0085] 도 5에 나타난 바와 같이, 모든 저장온도에서 실시예 1 내지 3은 비교예에 비해 저장안정성이 우수하였으며, 특히, 유근피 다당류의 함량이 가장 높은 실시예 3은 저장안정성이 현저하게 우수함을 나타내었다.

[0086] 상기 결과는 유근피 다당류와 유청단백질의 복합체로 피복된 이중미세캡슐(실시예 1 내지 3)이 유청단백질로 피복한 이중미세캡슐(비교예) 보다 중심물질의 방출을 현저하게 지연시킴을 시사한다.

[0087] 실험예 3. 이중미세캡슐의 소화안정성 확인

[0088] 2차 피복물질의 종류 및/또는 함량을 달리 제조한 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐에 인공 위액 조성

하에 처리한 후 중심물질인 갈산의 방출량을 측정하여 이중미세캡슐의 소화안정성을 확인하였다. 구체적으로, 비교예 및 실시예 1 내지 3의 이중미세캡슐 0.2 g을 20 mL 증류수에 현탁시킨 후, 0.1 M HCl을 이용하여 현탁액의 pH를 pH 2.0으로 조정된 다음, 0.25 g의 펩신 용액(1 g/0.1 M HCl 25 mL)을 첨가하여 인공 위액을 조성하였다. 이후 37 °C 자력교반 항온수조에서 75 rpm으로 교반하고 총 2시간 동안 일정 간격으로 갈산의 방출량을 측정하였다(도 6).

[0089] 측정 결과, 비교예, 실시예 1 내지 3의 인공 위액 내에서 2 시간 후 갈산의 방출량은 각각 8.09, 4.57, 3.47 및 2.87 %로 나타났으며, 중심물질인 갈산의 방출량은 유근피 다당류의 농도가 높아짐에 따라 낮아짐을 확인하였다(도 6). 이는 유근피 다당류와 유청단백질 복합체로 피복된 이중미세캡슐이 응집체를 형성하고 용액으로부터 침전됨에 따라 펩신을 함유하는 산성 조건에서 이중미세캡슐 내부의 중심물질의 방출이 어려운 것으로 볼 수 있다.

[0090] 또한, 음이온성 다당류와 양이온성 단백질의 복합체(pH < pI)는 강한 전기세포 상호작용을 나타내어 산성 pH의 위(gastric) 조건 하에서 단백질과 다당류 사이에 강력한 전기 세포 상호 작용의 형성을 유도할 수 있다. 따라서, 정전기적 상호작용이 이루어진 유근피 다당류와 유청단백질의 복합체로 제조한 이중미세캡슐의 소화 안정성이 높아지고, 중심물질인 갈산의 안정성이 더욱 향상된다.

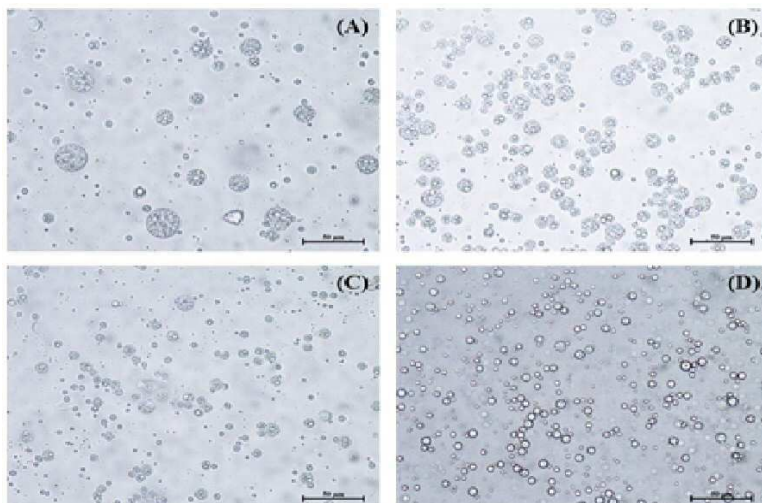
[0091] 상기와 같은 결과는 유근피 다당류를 포함하는 2차 피복물질을 통해 이중미세캡슐의 중심물질이 위에서 보호될 수 있도록 하여 소장 내에서의 흡수를 증가시키고, 생체이용률을 증가시키는 효과를 나타낼 수 있음을 시사한다.

[0092] 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.

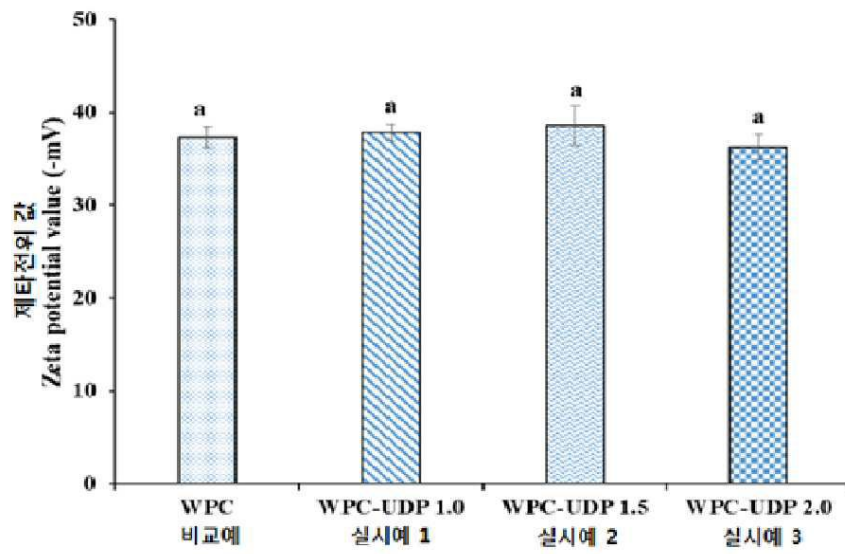
[0093] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

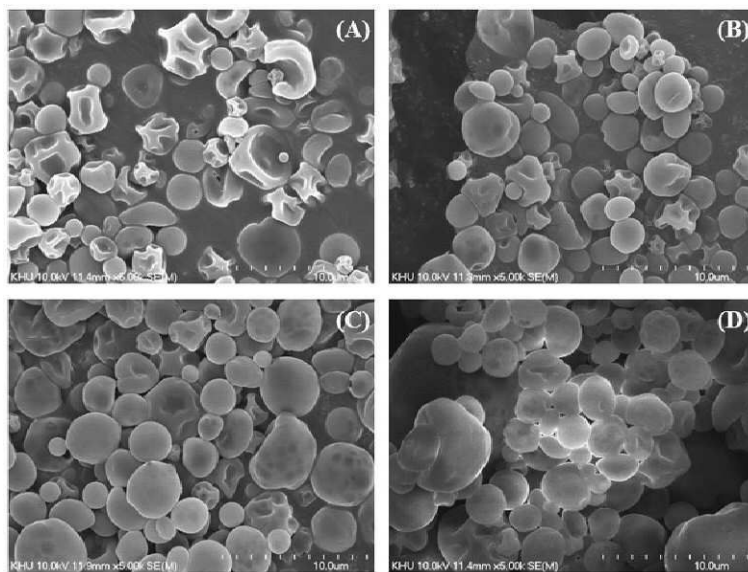
도면1



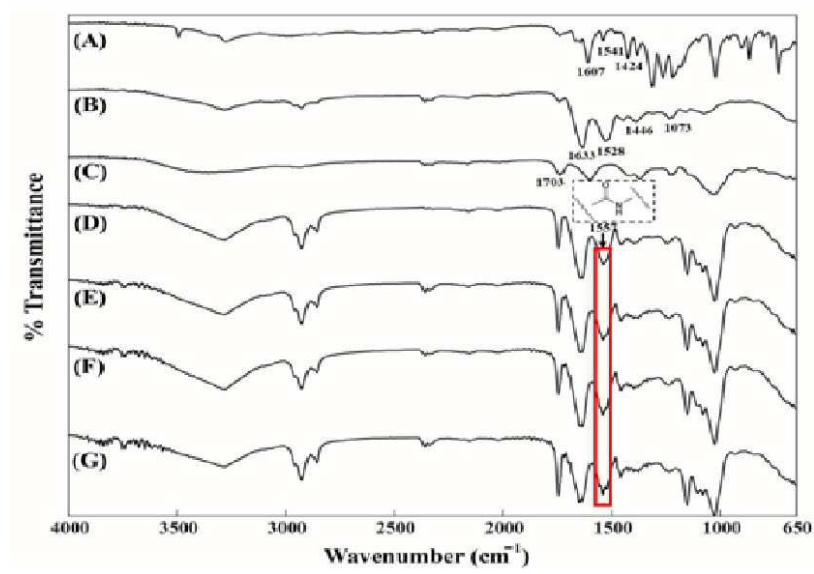
도면2



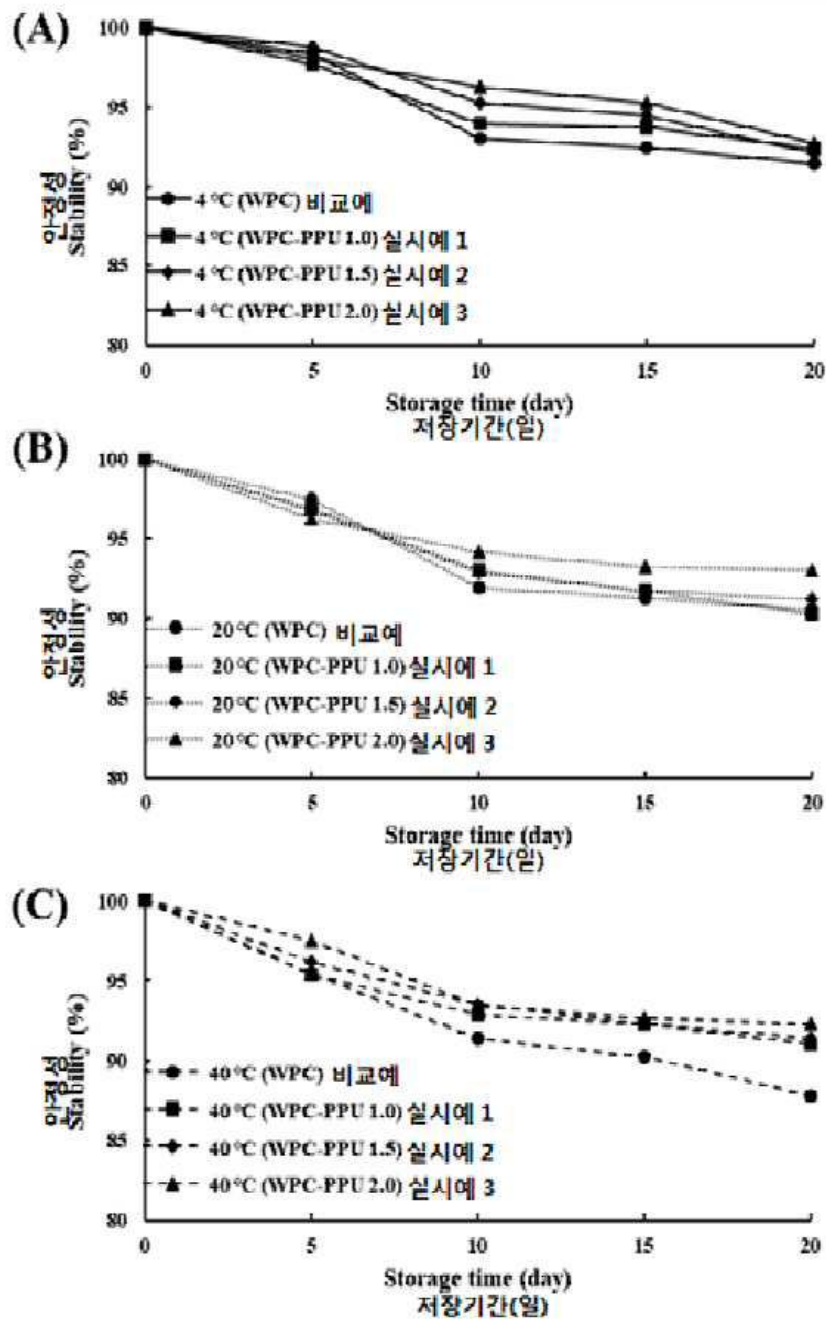
도면3



도면4



도면5



도면6

