



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0045377
(43) 공개일자 2011년05월04일

(51) Int. Cl.

B01J 13/00 (2006.01) *A23D 9/00* (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0101928

(22) 출원일자 2009년10월26일

심사청구일자 2009년10월26일

(71) 출원인

세종대학교산학협력단

서울 광진구 군자동 98 세종대학교

(72) 발명자

서영수

서울특별시 노원구 상계동 주공아파트 122동 701호

은채정

인천광역시 남구 주안4동 1577-20번지 1층

곽해수

서울특별시 강동구 둔촌동 현대2차아파트 101동 601호

(74) 대리인

특허법인 엠에이피에스

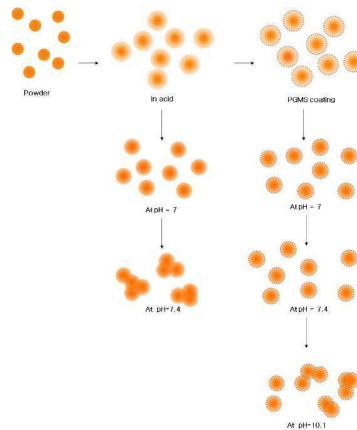
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 복합 기능성 키토산 콜로이드 및 그의 제조 방법

(57) 요약

본원은 복합 기능성 키토산 콜로이드, 그의 제조 방법 및 용도에 관한 것으로서, 상기 복합 기능성 키토산 콜로이드는 키토산 입자를 다양한 생리활성을 갖는 기능성 유기산 또는 상기 기능성 유기산 및/또는 양쪽성 물질을 포함하는 수용액 중에 분산시킴으로써 키토산 입자를 상기 기능성 유기산을 이용하여 복합 기능성화 시킨 것으로서, 수용액 중에서 넓은 pH 및 온도 범위에서 안정하게 용해되어 있어 화장품, 식음료, 농업, 제약, 의학, 위생학 등에 널리 응용될 수 있다.

대표도 - 도8



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2008-0244

부처명 해양수산부

연구관리전문기관

연구사업명 해양 과학 기술 연구 개발 사업

연구과제명 고분자 키토산 나노분말과 수용성 유도체의 개발

기여율

주관기관 세종대학교산학협력단

연구기간 2007년 09월 20일 ~ 2009년 09월 19일

특허청구의 범위

청구항 1

기능성 유기산을 포함하는 수용액 내 분산된 키토산 입자를 포함하는, 복합 기능성 키토산 콜로이드.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

양쪽성 물질을 추가 포함하는, 복합 기능성 키토산 콜로이드.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 기능성 유기산은 아스코르브산(ascorbic acid), 레티노산(retinoic acid), 페룰산(ferulic acid), 폴릭산(folic acid), 리놀렌산(γ -linolenic acid), 우르솔(ursolic acid), 올레산(oleic acid) 또는 이들의 조합을 포함하는 것인, 복합 기능성 키토산 콜로이드.

청구항 4

제 2 항에 있어서,

상기 양쪽성 물질이 폴리글리세롤 모노스테아레이트(polyglycerol monosterate, PGMS) 인, 복합 기능성 키토산 콜로이드.

청구항 5

제 3 항에 있어서,

상기 기능성 유기산은 아스코르브산, 레티노산, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인, 복합 기능성 키토산 콜로이드.

청구항 6

제 4 항에 있어서,

상기 기능성 유기산은 아스코르브산, 레티노산, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인, 복합 기능성 키토산 콜로이드.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 키토산 입자는 키토산 나노분말을 포함하는 것인, 복합 기능성 키토산 콜로이드.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 따른 복합 기능성 키토산 콜로이드를 유효성분으로 포함하는 화장품.

청구항 9

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 따른 복합 기능성 키토산 콜로이드를 유효성분으로 포함하는 식음료.

청구항 10

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 따른 복합 기능성 키토산 콜로이드를 유효성분으로 포함하는 건강식품.

청구항 11

키토산 입자를 기능성 유기산을 포함하는 수용액과 혼합하여 분산시키는 것을 포함하는, 복합 기능성 키토산 콜

로이드의 제조 방법.

청구항 12

제 11 항에 있어서,

상기 기능성 유기산을 포함하는 수용액이 양쪽성 물질을 추가 포함하는 것인, 복합 기능성 키토산 콜로이드의 제조 방법.

청구항 13

제 12 항에 있어서,

상기 양쪽성 물질은 폴리글리세롤 모노스테아레이트를 포함하는 것인, 복합 기능성 키토산 콜로이드의 제조 방법.

청구항 14

제 11 항 또는 제 12 항에 있어서,

상기 기능성 유기산은 아스코르브산(ascorbic acid), 레티노산(retinoic acid), 페룰산(ferulic acid), 폴릭산(folic acid), 리놀렌산(γ -linolenic acid), 우르솔(ursolic acid), 올레산(oleic acid) 또는 이들의 조합을 포함하는 것인, 복합 기능성 키토산 콜로이드의 제조 방법.

청구항 15

제 11 항 또는 제 12 항에 있어서,

상기 기능성 유기산은 아스코르브산, 레티노산, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인, 복합 기능성 키토산 콜로이드의 제조 방법.

청구항 16

제 11 항 또는 제 12 항에 있어서,

상기 키토산 입자와 기능성 유기산을 포함하는 수용액을 혼합한 후 또는 상기 키토산 나노분말과 양쪽성 물질과 기능성 유기산을 포함하는 수용액과 혼합한 후 초음파 처리하는 것을 추가 포함하는, 복합 기능성 키토산 콜로이드의 제조 방법.

청구항 17

제 11 항 또는 제 12 항에 있어서,

상기 키토산 입자가 키토산 나노분말을 포함하는 것인, 복합 기능성 키토산 콜로이드의 제조 방법.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본원은 다양한 생리활성을 갖는 기능성 유기산으로 기능화된 복합 기능성 키토산 콜로이드 및 그의 제조 방법과 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 키토산은 다당류의 일종인 셀룰로오스와 유사한 구조를 가지고 있으므로 생체 친화성이 우수하고 인체 내에서 독성이 없으며, 최근 미국의 FDA에서 식품으로서 인증을 받은 바 있다. 특히 20,000 에서 100,000사이의 특정 분자량의 범위를 갖는 고분자량 키토산은 강한 생리 활성 기능을 갖는 것으로 알려져 있다. 따라서 건강 식품 분야, 식음료 분야, 화장품 분야, 보건위생 분야 및 의약품 분야 등에서 다양한 응용이 기대되고 있다. 또한

키티 및 키토산의 연간 생산량은 약 1 천억 톤 정도로 많고, 수산물의 부산물인 게 껍질 및 오징어 연골 등에서 추출되기 때문에 키토산 가공품의 연구와 개발은 환경 문제를 해결할 뿐만 아니라 어민의 소득증대에도 기여한다고 볼 수 있다.

[0003] 키토산은 당뇨병, 심혈관질환, 대장질환, 노화 예방 등에 효과가 있으며, 면역력을 증진시키고, 체내 수분밸런스를 유지하는 등의 다양한 역할을 한다고 알려져 있다. 최근에는 다이어트 식품으로도 각광받고 있으며 이는 키토산의 양전하가 지방산과 결합, 지방을 흡착하여 배설되거나 체내 흡수를 방해하는 등의 효과를 갖기 때문인 것으로 알려져 있다.

[0004] 이러한 장점에도 불구하고 키토산은 가공 과정과 상업적인 응용에 있어 여러 가지 제한을 갖는다. 기존의 키토산 제품들은 키토산의 사슬을 짧게 자른 저분자량 키토산이나 키토산올리고머로 제조되었다. 키토산은 분자량이 작을수록 체내흡수율과 물에 대한 용해도가 증가하기 때문이다[Naoji et al., A simple preparation of half N-acetylated chitosan highly soluble in water and aqueous organic solvents, *Carbohydrate Research*, 324, 268-274, 2000]. 그렇지만 고분자량 키토산이 저분자량 키토산에 비해 항산화효과를 비롯한 생리활성이 더욱 우수한 것으로 알려져 있고[Xing et al., Preparation of high-molecular weight and high-sulfate content chitosans and their potential antioxidant activity in vitro, *Carbohydrate Polymers*, 61, 148-154, 2005], 키토산에 약리활성을 갖는 기능성 물질을 첨가할 경우, 저분자량 키토산에 비해 고분자량 키토산에 첨가된 물질의 방출 속도 조절이 더욱 용이한 것으로 알려져 있어 고분자량 키토산의 수용성화 혹은 콜로이드화가 요구되고 있다[Chen et al., Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical, and permeability properties of the prepared membrane, *Carbohydrate Polymers*, 29(4), 353-358, (1996)].

[0005] 키토산을 수용성화는 일반적으로 알려진 방법은 키토산을 산성 용액에 녹이는 방법이다. 키토산은 젖산, 초산, 프로피온산, 포름산, 아스코르브산 및 주석산을 포함하는 유기산과, 염산, 질산 및 황산 등의 무기산에 용해되거나 [Wang et al., Selected properties of pH-sensitive, biodegradable chitosan-poly(vinyl alcohol) hydrogel, *Polym. Int*, 53(7), 911-918, 2004], 중화시켜 pH를 중성 근처로 높일 경우 대부분의 키토산 입자들은 양전하를 잃게 되고 침전될 것이므로 용액의 안정성이 떨어진다.

[0006] 또한 키토산을 수용성화하기 위해서 화학적으로 변형할 경우 키토산이 갖는 고유의 생리활성 능력이 감소되는 것으로 알려져 있다[Murata et al., Inhibitory effect of chitin heparinoids on the lung metastasis of B16-BL6 Melanoma, *Jpn. J. Cancer Res*, 80, 866-872, 1989].

[0007] 따라서 키토산을 수용액 내에서 화학적 처리를 최소화하고 보다 안정적으로 분산시키는 방법 및 상기 방법에 따른 조성물을 개발하고자 많은 연구가 이루어지는 추세이다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0008] 상기한 문제점을 해결하기 위하여, 본원자들은 키토산을 수용액 중에 용이하게 분산 또는 용해시킬 수 있는 방법에 대하여 연구한 결과, 키토산 입자를 다양한 생리활성을 갖는 기능성 유기산을 포함하는 수용액 또는 상기 기능성 유기산과 양쪽성 물질을 포함하는 수용액 중에 분산시킴으로써 키토산 나노분말을 상기 기능성 유기산을 이용하여 복합 기능성화 하는 경우, 수용액 중에서 산성, 중성 및 염기성 범위에 걸친 넓은 pH 범위 및 넓은 온도 범위에서 키토산이 안정하게 용해되어 있는 복합 기능성 키토산 콜로이드를 수득할 수 있는 것을 발견하여 본원을 완성하였다.

[0009] 이에, 본원은 다양한 생리활성을 갖는 기능성 유기산으로 기능화된 복합 기능성 키토산 콜로이드 및 그의 제조 방법과 용도를 제공하고자 한다.

[0010] 그러나, 본원이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제 해결수단

- [0011] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본원의 일 측면은, 소량의 기능성 유기산을 포함하는 수용액 내 분산된 키토산 입자를 포함하는, 복합 기능성 키토산 콜로이드를 제공한다.
- [0012] 본원의 다른 측면은, 상기 복합 기능성 키토산 콜로이드를 유효성분으로 포함하는 화장품, 식음료, 건강식품 또는 의약 조성물을 제공한다.
- [0013] 본원의 또 다른 측면은, 키토산 입자를 기능성 유기산을 포함하는 수용액과 혼합하여 분산시키는 것을 포함하는, 복합 기능성 키토산 콜로이드의 제조 방법을 제공한다.

효 과

- [0014] 본원에 따른 상기 복합 기능성 키토산 콜로이드는 다양한 생리 활성을 갖는 기능성 유기산 또는 상기 기능성 유기산과 양쪽성 물질을 포함하는 수용액 중에 키토산 나노분말의 표면이 팽윤된 상태로 분산되어 있으며 상기 다양한 기능성 유기산에 의하여 기능화 되어 있는 것으로서, 양쪽성 물질인 계면활성제를 첨가함으로써 넓은 pH 및 온도 범위의 수용액에 안정하게 용해되어 있어 화장품, 식음료, 농업, 제약, 의학, 위생학 등에 널리 응용될 수 있다.
- [0015] 상기 기능성 유기산은 수용성 또는 지용성인 것을 사용할 수 있으며, 예를 들어, 아스코르브산(ascorbic acid), 레티노산(retinoic acid), 페룰산(ferulic acid), 폴릭산(folic acid), 리놀렌산(γ -linolenic acid), 우르솔(ursolic acid), 올레산(oleic acid) 또는 이들의 조합을 사용할 수 있으며, 이들 기능성 유기산을 이용하여 키토산 입자 표면을 기능화시켜 키토산 본래의 활성과 상기 기능성 유기산의 다양한 활성을 모두 갖는 복합기능성 키토산 콜로이드를 수득할 수 있다.
- [0016] 본원의 키토산 유도체를 포함하는 키토산 콜로이드는 키토산의 다양한 생리 활성에 상기 수용성 또는 지용성의 다양한 유기산의 기능이 결합되어 뛰어난 복합 생리 활성을 가질 수 있다. 또한 고분자 키토산 자체를 중성 범위에서 수용성화 시킴으로써 화장품, 식음료, 농업, 제약, 의학, 위생학 등에 널리 응용될 수 있어 그 용도가 매우 다양화될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- [0017] 이하, 첨부한 도면을 참조하여 본원이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본원의 구현예 및 실시예를 상세히 설명한다.
- [0018] 그러나 본원은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 구현예 및 실시예에 한정되지 않는다. 그리고 도면에서 본원을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.
- [0019] 본원의 일 측면에 있어서, 기능성 유기산을 포함하는 수용액 내 분산된 키토산 입자를 포함하는, 복합 기능성 키토산 콜로이드를 제공할 수 있다. 예를 들어, 상기 키토산 입자는 키토산 나노분말을 포함하는 것일 수 있다.
- [0020] 예시적 구현예에 있어서, 상기 기능성 유기산은 수용성 또는 지용성인 것을 사용할 수 있으며, 예를 들어, 아스코르브산(ascorbic acid), 레티노산(retinoic acid), 페룰산(ferulic acid), 폴릭산(folic acid), 리놀렌산(γ -linolenic acid), 우르솔(ursolic acid), 올레산(oleic acid) 또는 이들의 조합을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 예를 들어, 상기 기능성 유기산은 아스코르브산, 레티노산, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들 기능성 유기산을 이용하여 키토산 입자 표면을 기능화시켜 키토산 본래의 활성과 상기 기능성 유기산의 다양한 활성을 모두 갖는 복합기능성 키토산 콜로이드를 수득할 수 있다.
- [0021] 예시적 구현예에 있어서, 상기 기능성 유기산을 포함하는 수용액이 양쪽성 물질을 추가 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 양쪽성 물질은 폴리글리세롤 모노스테아레이트(Polyglycerol monostearate, PGMS)를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 글리세린 지방산 에스테르류, 폴리 글리세린 지방산 에스테르류, 폴리 솔베이 트류, 솔비탄 지방산 에스테르류도 가능하다. 상기 양쪽성 물질은 상기 기능성 유기산에 의하여 팽윤된 키토산 입자 표면에 흡착되어 키토산 입자의 분산성 및 용해성, 다양한 pH 및 온도 범위에 대한 안정성 등을 향상시킬 수 있다.

- [0022] 본원의 다른 측면에 있어서, 상기 키토산 콜로이드를 유효성분으로 포함하는 화장품, 식음료, 건강식품 등을 제공할 수 있다.
- [0023] 본원의 또 다른 측면에 있어서, 키토산 입자를 기능성 유기산을 포함하는 수용액과 혼합하여 분산시키는 것을 포함하는, 복합 기능성 키토산 콜로이드의 제조 방법을 제공할 수 있다. 상기 키토산 입자가 키토산 나노분말을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 예시적 구현예에 있어서, 상기 기능성 유기산은 수용성 또는 지용성인 것을 사용할 수 있으며, 예를 들어, 아스코르브산(ascorbic acid), 레티노산(retinoic acid), 페룰산(ferulic acid), 폴릭산(folic acid), 리놀렌산(γ -linolenic acid), 우르솔(ursolic acid), 올레산(oleic acid) 또는 이들의 조합을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 예를 들어, 상기 기능성 유기산은 아스코르브산, 레티노산, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들 기능성 유기산을 이용하여 키토산 입자 표면을 기능화시켜 키토산 본래의 활성과 상기 기능성 유기산의 다양한 활성을 모두 갖는 복합기능성 키토산 콜로이드를 수득할 수 있다.
- [0025] 예시적 구현예에 있어서, 상기 기능성 유기산을 포함하는 수용액이 양쪽성 물질을 추가 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 양쪽성 물질은 폴리글리세롤 모노스테아레이트(Polyglycerol monostearate, PGMS)를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 양쪽성 물질은 상기 기능성 유기산에 의하여 기능화되는 동시에 팽윤된 키토산 입자 표면에 흡착되어 키토산 입자의 분산성 및 용해성, 다양한 pH 및 온도 범위에 대한 안정성 등을 향상시킬 수 있다.
- [0026] 예시적 구현예에 있어서, 상기 키토산 입자와 기능성 유기산을 포함하는 수용액을 혼합한 후 또는 상기 키토산 나노분말과 양쪽성 물질과 기능성 유기산을 포함하는 수용액과 혼합한 후 초음파 처리하는 것을 추가 포함할 수 있다. 상기 초음파 처리는 키토산 입자가 물리적으로 파괴되지 않도록 처리 온도와 시간을 적절히 선택하여 수행된다.
- [0027] 도 8는 본원의 일 실시예에 따른 키토산 나노분말의 콜로이드화 과정에 관한 도식도인데, 이를 참조하면 상기 방법에 의하여 키토산 나노분말이 산 조건 하에서 상기 기능성 유기산과 반응하여 팽윤되고, 이후 PGMS와 반응하여 나노분말 표면에 PGMS가 코팅된 입자 형태를 볼 수 있다.
- [0028] 상기 키토산 나노분말은 산 조건, 예를 들어, 아스코르브산과 반응하여 기능화시킨 경우 pH 7.4에서 키토산 입자의 응집이 일어나는데, PGMS로 코팅된 키토산 나노분말의 경우에는 pH 10 까지는 키토산 입자의 응집이 일어나지 않아 보다 넓은 범위의 pH에서 키토산 콜로이드가 안정하게 분산되어 있음을 확인할 수 있다.
- [0029] 이하, 본원의 예시적 구현예 및 실시예에 대하여 도면을 이용하여 자세히 설명한다. 그러나, 본원이 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0030] 본원 사용될 수 있는 키토산은 고분자 키토산으로서 입자 하나하나는 수많은 키토산 사슬들이 얽혀있는 상태로 존재하고 있다. 고분자 키토산이 산 용액에 용해된다는 것은 엉켜있던 키토산 사슬들의 아민기가 산 용액의 수소 이온과 반응하여 수용성 염이 되는 것을 의미한다. 키토산 나노분말의 경우 저농도 산 용액에서 입자 바깥 부분의 키토산 사슬이 풀어지며 팽윤 현상이 나타나고, 이와 같이 팽윤된 키토산 사슬들에 의해 키토산 입자의 분산력이 증대된다. 반면, 내부의 키토산은 산에 의해 수용성화 되지 않은 상태로 남아 고분자 키토산 자체의 생리활성을 기대할 수 있는 장점을 가지고 있다.
- [0031] 본원에서는 입자 크기를 인식하고 분석하는 방법으로서 동적광산란법 (Dynamic Light Scattering) 및 cryo-electron microscopy (cryo-EM)을 사용하였다. 여기서, 상기 동적광산란법은 팽윤된 키토산 입자 전체의 크기를 측정하는 반면, 상기 cryo-EM으로는 키토산 입자 표면의 팽윤된 사슬이 물과의 전자밀도 차이가 적어 흐릿하게 보이거나 보이지 않으므로, 산의 영향을 받지 않은 키토산 입자의 중심 (고분자 키토산이 그대로 보존된) 부분만 촬영된다. 그러므로 동적광산란법과 cryo-EM 데이터를 비교 분석함으로써 고분자 키토산 입자의 팽윤 정

도를 정량화할 수 있다.

- [0032] 상기 용액이 산성을 띠면 상업적인 응용에 제한을 받게 되므로 본원에서는 용액의 pH를 중성 근처까지 높여 주 기 위한 중화를 수행할 수 있다.
- [0033] 기능성을 갖는 동시에 산성을 띠는 기능성 유기산 물질들은 아스코르브산(ascorbic acid), 특히, L-아스코르브 산, 레티노산(retinoic acid), 페룰산(ferulic acid), 폴릭산(folic acid), 리놀렌산(linolenic acid), 특히 γ -리놀렌산, 우르솔(ursolic acid), 올레산(oleic acid) 등으로 다양하다. 본원의 실시예에 있어서 아스코르브 산 및 레티노산을 사용하여 키토산을 수용액 상에서 분산시켰고 그들의 기능을 함유한 복합 기능성 키토산 콜로이드를 획득하였다.
- [0034] 여기서 특히 상기 아스코르브산은 흔히 비타민 C 로 알려져 있으며 괴혈병에 특효를 갖는 물질로서, 인체 내에서 합성되지 않아 식품으로 섭취해야만 하고 결핍되면 괴혈병을 일으킬 수 있다. 상기 아스코르브산은 콜라겐 합성, 산화-환원 상태 유지, 항산화제로의 작용, 멜라닌 형성 억제, 소장에서 철분의 흡수 등 인체 내에서 다양한 기능을 하며, 아스코르브산과 키토산이 접촉했을 때 키토산의 생리활성능력이 향상된 결과는 이미 보고된 바 있다 (Razdan, 1994). 레티노산은 비타민 A가 산화된 형태로 피부의 노화 방지뿐만 아니라 성장기 발육에도 필수적이며, 시력 형성에도 결정적인 역할을 한다. 피부의 표피세포가 원래의 기능을 유지하는 데 중요한 역할을 하며 화장품 분야에서 주목을 받고 있는 물질이다.
- [0035] 비타민 A가 산화된 형태인 레티노산은 피부의 표피 세포가 원래의 기능을 유지할 수 있도록 중요한 역할을 한다. 상기 레티노산은 엘라스틴의 합성을 촉진하여 주름을 감소시키고 피부 탄력을 증대시키는데 효과가 있다. 또한 세포의 정상적인 분화와 뼈, 이, 머리카락, 손톱 등의 성장 유도에 필수적인 성분으로 알려져 있다. 일찍 부터 이러한 효능이 검증되어 있었지만 자극성이 강하고 피부 안정성이 떨어져 그 응용이 제한적이었다. 그렇지만 RA의 자극성과 피부 안정성은 키토산과 복합체를 이룸에 따라 pH가 증가되므로 개선될 수 있다고 판단하였다. 현재 세계적으로 레티노이드 계 물질들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 저분자량 키토산에 레티놀 을 이온결합에 의해 봉입하여 캡슐화한 논문이나 특허들도 존재한다[(Kim, 2005), (Kim, 2006), (나재운, 2006)]. 그렇지만 상기 연구들은 키토산이 아닌 레티놀 자체를 수용성화 하는데 그 목적이 있으므로 물에 녹을 수 있는 저분자량 키토산 (MW=18,000)을 사용하였다. 또한 동결건조시켜 액상이 아닌 고상의 레티놀이 담지된 키토산 분말을 제조하거나, 제조된 분말을 다시 물에 녹여 용액화하는 등 그 제조방법이 복잡하다. 하지만 본 연구에서는 생리활성을 극대화시키기 위해 평균분자량이 100,000인 고분자량 키토산을 사용하였으며, 레티노산 이 봉입된 키토산을 간단한 제조법으로 수용액에 안정하게 콜로이드화 하였다.

실시예

- [0036] 1. 아스코르브산 용액에서 고분자 키토산 나노분말의 콜로이드화
- [0037] 키토산 입자(나노분말)의 콜로이드화를 위한 아스코르브산의 농도를 찾기 위해서 농도별 아스코르브산 용액에 5 mg/ml 농도의 키토산 입자를 첨가한 후, 약 20 분간 상온을 유지하면서 초음파 처리를 하였다. 여기서 상기 키토산 나노분말은 고분자량 (평균 분자량 100,000)을 가지며 탈 아세틸화도가 95%인 것으로서 (주)삼성키토피아에서 구입하였고, (주)나노테크윌드에서 건식나노분쇄공법으로 분쇄하여 200~600nm의 크기를 갖는 키토산 나노분말 을 사용하였다(도 1참조).
- [0038] 도 2는 본원의 실시예에 따른 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.45, 1 wt% 농도로서 각각상이한 아스코르브산 농도를 가진 키토산 콜로이드 시료에 관한 사진이다. 0% ~ 0.3%의 농도에서는 키토산 입자들이 완전히 용해되지 않아 불투 명한 상태를 보이지만 0.4%부터는 키토산의 상당량이 아스코르브산에 녹아 들어가 남아있는 입자크기가 매우 작 거나 없어서 투명하게 보여 키토산 입자가 용해되었음을 알 수 있다.
- [0039] 이후, 키토산 입자가 콜로이드화 되어 수용액 중에 남아있는 양을 정량화하기 위해 도 2의 시료들을 5500 rpm에 서 5분간 원심분리한 후에 상등액을 걸러내고 가라앉은 키토산을 건조시켰다. 건조된 키토산 무게를 측정하여 첨가한 키토산 양과 비교하여 보면 상등액에 존재하는 키토산 양을 결정할 수 있다.
- [0040] 또한 이후에 검증될 pH와 온도에 대한 안정성을 향상시키기 위해서 양쪽성 물질인 0.001 wt% PGMS를 같은 조건

의 용액에 첨가하여 검사하였다.

[0041] 도 3에서 나타난 바와 같이, 아스코르브산의 농도가 증가할수록 상등액에 잔류하는 키토산의 양이 증가하여 0.35% 이후로는 전량 상등액에 잔류하는 것으로 측정되었다.

[0042] 이후 수득한 각 용액의 상등액에 분산된 팽윤 상태의 키토산 입자 크기를 동적광산란법을 이용하여 분석하였다 (도 4 참조).

[0043] 이후 각 용액의 상등액에 분산되어 있는 키토산 입자 크기를 cryo-EM을 이용하여 분석하였다 (도 5 참조).

[0044] 도 4를 다시 참조하면 아스코르브산 농도가 증가함에 따라, 약 350nm의 크기를 갖는 키토산 입자가 점차 팽윤하여 0.2%에서 최대가 되어 약 600nm 크기를 갖는 것으로 관찰되며, 0.25%이후로는 다시 작아지는 것을 확인할 수 있다. 이는 아스코르브산에 의해 키토산 나노분말 표면에 있는 분자 사슬이 팽윤되고 산 농도가 증가함에 따라 점차 입자 내부의 사슬도 팽윤되어 크기가 증가하는 것으로 보이며, 아스코르브산의 농도가 0.25% 이상으로 증가하면 키토산 분자 사슬이 분말에서 이탈하여 결국 용액 중으로 녹아들어 가는 것으로 판단된다.

[0045] 이상의 결과를 도 5의 cryo-EM 분석결과와 비교하여 보면, 0.15% 아스코르브산에서 동적광산란법으로 측정된 팽윤 상태의 키토산 입자의 크기는 500 nm 정도이나, 반면 cryo-EM 사진에서는 0.15% 아스코르브산 농도에서 약 200-250 nm 정도로 측정되었다. 이 결과는 아스코르브산에 의해 키토산 입자 표면의 사슬이 팽윤되고, 지름 200-250nm 크기의 키토산 나노분말 내부는 고분자 키토산이 그대로 보존된 채 콜로이드화 되어 있다는 것을 알 수 있다. 즉, 키토산 입자는 저농도의 아스코르브산 용액에서 코어-셸(core-shell) 구조를 갖고 있는 것으로 예상된다. 동일한 현상이 PGMS의 첨가 시에도 발견되었다. 이러한 해석은 도8에서 개괄적인 그림으로 표시되어 있다.

[0046] 2. 아스코르브산-키토산 콜로이드의 pH 안정성

[0047] 도 4의 시료 중 키토산 나노 입자의 최대 팽윤 아스코르브산 농도인 0.2%의 용액에 0.005 M의 NaOH 용액을 첨가하면서 pH에 따른 크기의 변화를 관찰하였다.

[0048] 도 6은 본원의 실시예에 따른 키토산 콜로이드를 중화시킴에 따라 동적광산란법으로 측정한 키토산 입자의 크기 변화를 나타내는 그래프이다. PGMS 첨가 유무와 관계없이 두 용액의 pH가 증가함에 따라 크기가 작아지는 경향을 보인다. 그래프에 나타난 입자 크기의 최저점 이상으로 pH를 증가시킬 경우 도 6의 삽입한 사진(inset)에서 보이는 바와 같이 침전이 발생하였다. 이때 PGMS의 유무에 따라 pH에 대한 저항성이 달라지는데, PGMS를 첨가하지 않은 콜로이드의 경우 pH 7.3에서, PGMS 첨가의 경우 pH 10.1에서 응집이 발생했다.

[0049] 즉, PGMS를 코팅하게 되면 코팅 전보다 더 높은 pH까지 키토산 입자간의 상호인력을 견딜 수 있어 콜로이드의 안정성이 증가하는 것으로 보인다.

[0050] 이런 결과들로 미루어 보아 본원에서 개발된 키토산 콜로이드는 PGMS를 코팅함으로써 키토산 콜로이드의 pH에 대한 안정성을 증대시켰고, 산성에서 염기성에 이르는 넓은 범위의 pH에서 안정하여 식품, 의약, 화장품에 이르는 영역에서 산업적인 응용이 뛰어날 것으로 기대된다.

[0051] 3. 아스코르브산-키토산 콜로이드의 온도 저항성

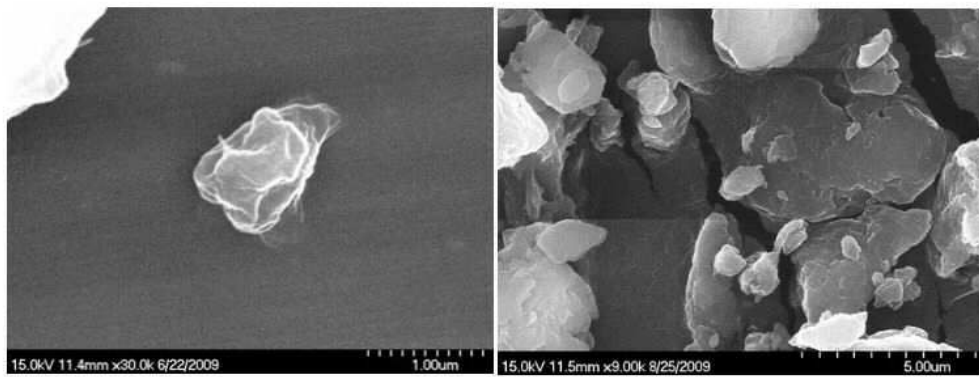
[0052] 도 4의 시료 중 0.15, 0.2, 0.25wt% 아스코르브산의 키토산 콜로이드를 50℃의 항온조에서 방치하여 키토산 콜로이드의 열에 대한 안정성을 측정하였다. 그 결과 PGMS 첨가 유무와 관계없이 50℃에서 3일이 지나도 아스코르브산의 산화 현상으로 인해 용액의 색이 약간 갈색으로 변했을 뿐 침전이 발생하지 않았다.

[0053] 4. 고분자 키토산 콜로이드에 레티노산(Retinoic acid) 도입

- [0054] 레티노산은 지용성 물질이기 때문에 소량의 에탄올에 용해시켜 도 4의 시료에 첨가하는 방식으로 실험을 수행하였다. 레티노산은 빛과 열에 민감하므로 실험 중 빛을 차단하였고 상온을 유지하면서 실험하였다.
- [0055] 0.2 ml의 에탄올에 0.5 mg의 레티노산을 녹여서 레티노산 용액을 만들고, 제조된 아스코르브산-키토산 콜로이드 10 ml에 첨가하였다. 상기 레티노산 용액을 PGMS를 첨가한 콜로이드와 혼합한 결과 침전이 발생하지 않은 것으로 보아 레티노산이 키토산 콜로이드에 잘 도입된 것으로 판단된다.
- [0056] 레티놀을 도입한 이후에 키토산 입자크기의 변화를 확인하기 위해서 동적광산란법을 이용해 콜로이드 내부의 입자 크기를 분석하였다.
- [0057] 도 7은 레티노산을 첨가함에 따른 상등액 내 키토산 입자의 크기 변화를 나타내는 그래프이다. 0.2% 아스코르브산 용액 속에 팽윤된 키토산 입자 크기가 약 600 nm 이고 레티노산을 첨가하여 입자 크기가 800 nm로 증가한 것으로 보아 아스코르브산 수용액에서 콜로이드화된 키토산 나노분말이 지용성의 레티노산을 수용하여 콜로이드 상태를 유지할 수 있음을 알 수 있다.
- [0058] 이상, 실시예를 들어 본원을 상세하게 설명하였으나, 본원은 상기 실시예들에 한정되지 않으며, 여러 가지 다양한 형태로 변형될 수 있으며, 본원의 기술적 사상 내에서 당 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의하여 여러 가지 많은 변형이 가능함이 명백하다.
- 도면의 간단한 설명**
- [0059] 도 1은 본원의 실시예에 따른 고분자 키토산을 분쇄하여 나노화시킨 키토산 나노분말에 대한 SEM(Scanning Electron Microscope) 사진이다.
- [0060] 도 2는 본원의 실시예에 따른 0%, 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.45% 및 1% 농도로서 상이한 아스코르브산 농도를 가진 키토산 콜로이드 시료에 관한 사진이다.
- [0061] 도 3은 본원의 실시예에 따른 아스코르브산 중량에 따른 상등액 내 키토산 양을 나타내는 그래프이다.
- [0062] 도 4는 본원의 실시예에 따른 아스코르브산 중량에 따른 PGMS 첨가 전후의 동적광산란법으로 측정된 키토산 입자의 크기 변화를 나타내는 그래프이다.
- [0063] 도 5는 본원의 실시예에 따른 0.15% 아스코르브산 용액 내 팽윤된 키토산 나노분말 콜로이드의 Cryo-EM 사진이다.
- [0064] 도 6은 본원의 실시예에 따른 키토산 콜로이드를 중화시킴에 따라 키토산 입자의 크기 변화를 나타내는 그래프이다.
- [0065] 도 7은 본원의 실시예에 따른 레티노산을 첨가함에 따른 키토산 입자의 크기 변화를 나타내는 그래프이다.
- [0066] 도 8은 본원의 실시예에 따른 키토산 나노분말을 콜로이드화하는 과정을 보여주는 도식도이다.

도면

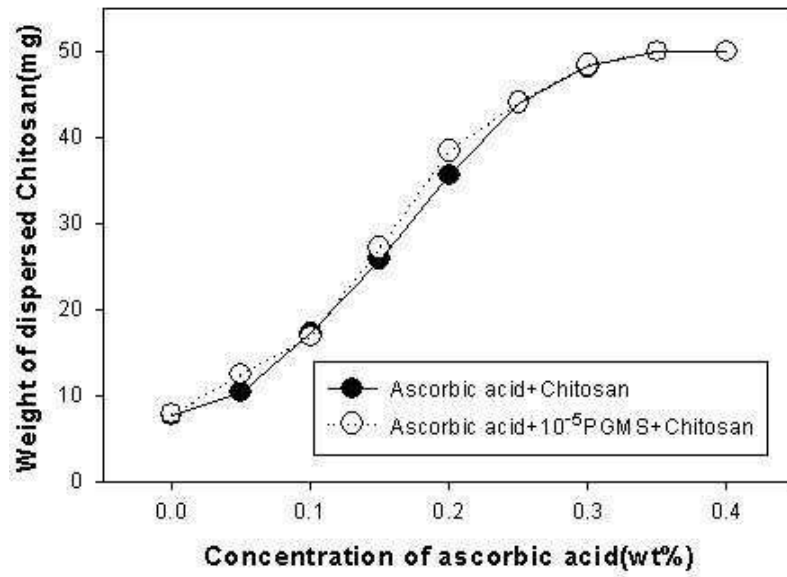
도면1



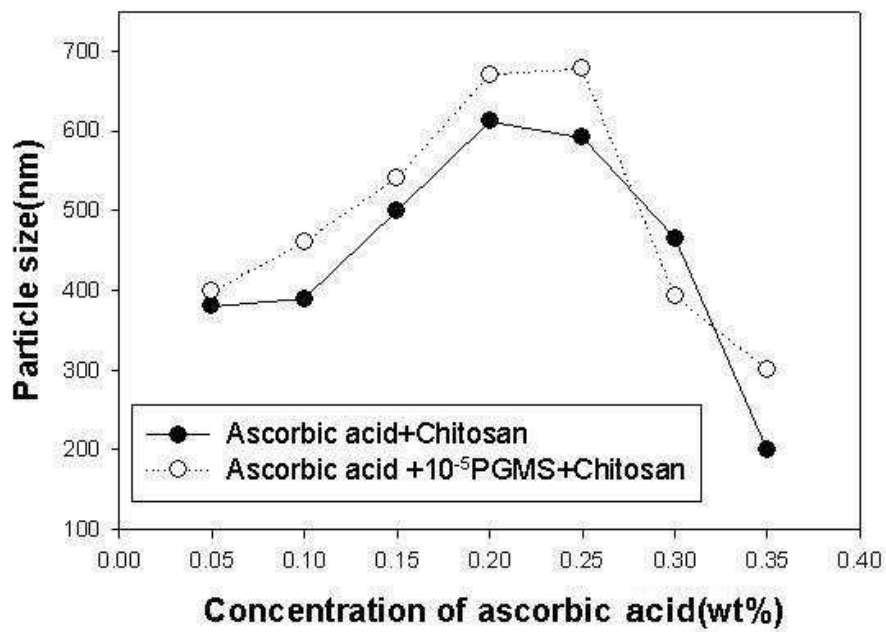
도면2



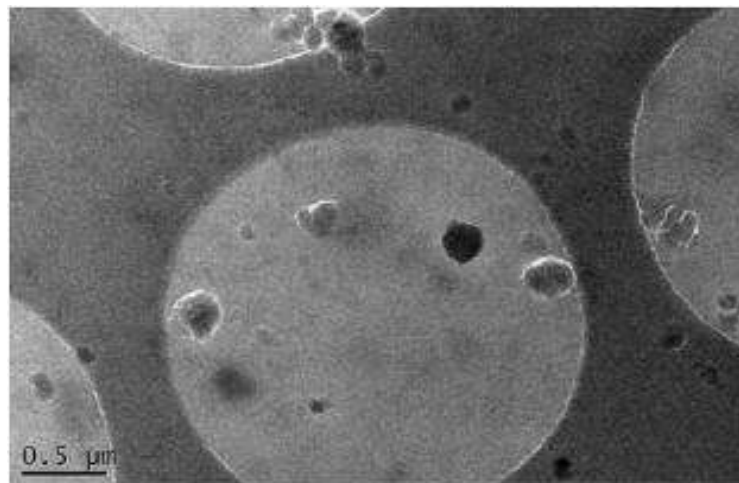
도면3



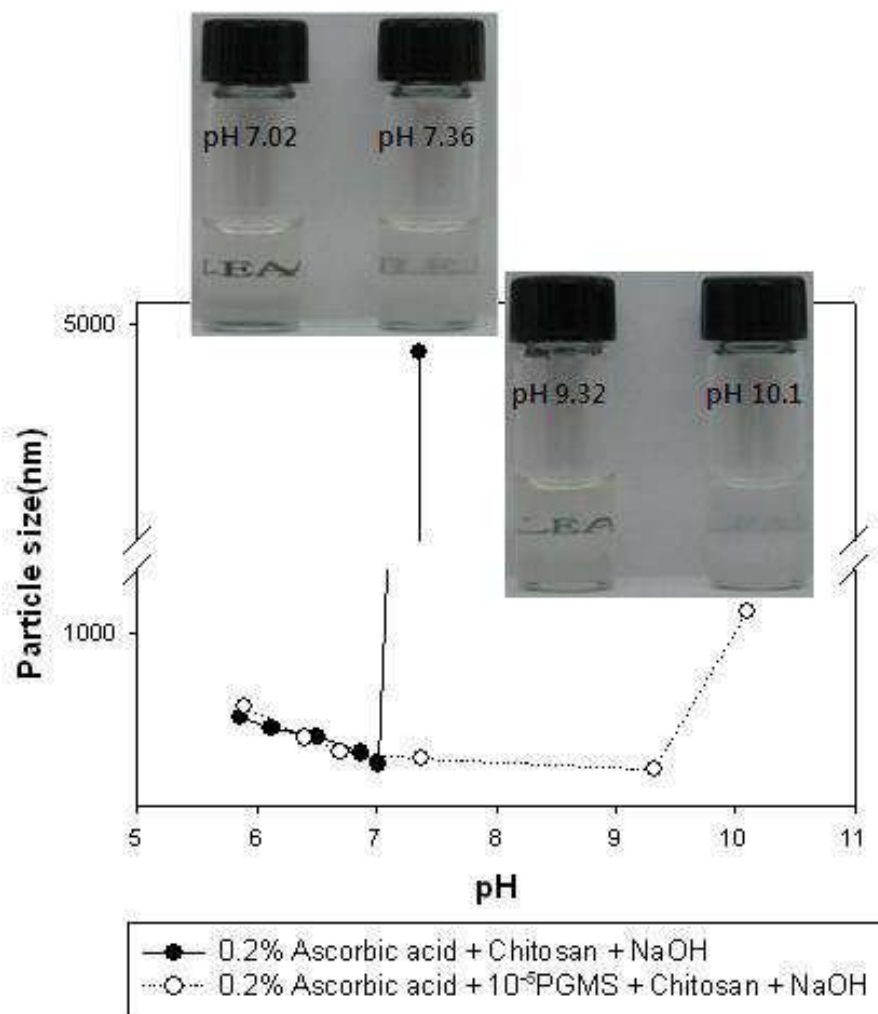
도면4



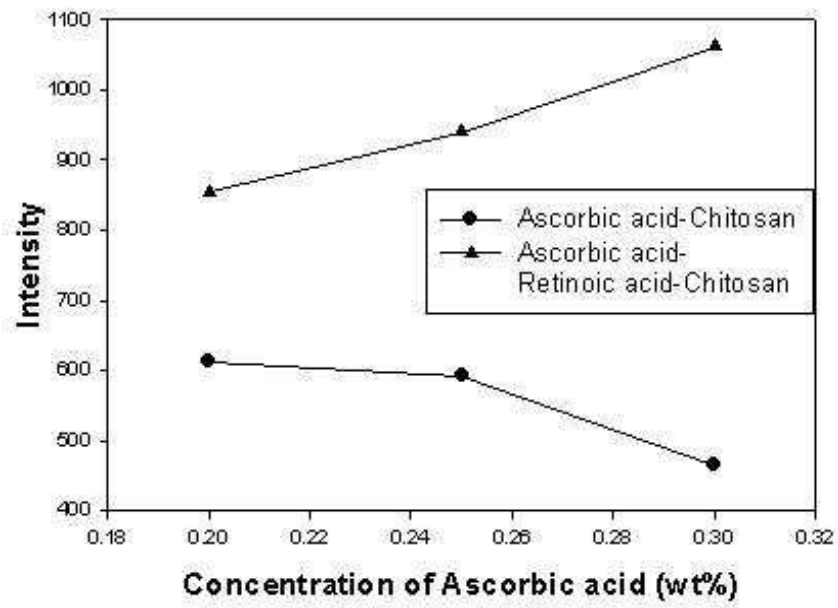
도면5



도면6



도면7



도면8

