

## 키토산-PVP 시스템을 이용한 다중에멀전 및 다중캡슐 제조에 관한 연구

정경택 · 설용건<sup>†</sup> · 이 훈\* · 이민선\* · 남상인\*

연세대학교 화학공학과

\*제일제당 생활화학연구소

(1997년 10월 1일 접수, 1998년 1월 30일 채택)

### A Study on the Synthesis of Multiple Emulsion and Multiple Capsule Using Chitosan-PVP System

Kyeong Taek Jung, Yong Gun Shul<sup>†</sup>, Hoon Lee\*, Min Sun Lee\* and Sang In Nam

Dept. of Chem. Eng., Yonsei Univ.

\*Div. of Household Products Cheiljaedang Co. R&D Center

(Received 1 October 1997; accepted 30 January 1998)

#### 요 약

키토산-PVP를 이용하여 유상과 수상의 유효성분을 동시에 함유하는 다중 에멀전(W/O/W)과 다중 캡슐을 제조하였다. 다중 에멀전에서 키토산 용액과 PVP를 각각 외부와 내부 수상으로, 그리고 squalane을 내부 유상으로 사용하였다. 다중 에멀전의 안정성을 증가시키기 위해, 다중 에멀전을 노즐을 통하여 알칼리용액에서 처리하여 얻은 다중 캡슐은 경화된 벽재(키토산-PVP)로 이루어진 지름 2-3 mm 크기의 비드였다. 키토산과 PVP의 복합막의 경도는 PVP가 증가함에 따라 증가하였다. 항균특성실험에서 *E. coli*를 사용한 항균특성에서는 1시간이 경과한 후부터 급격한 감소를 보이기 시작하여 24시간에 모두 소멸되는 것으로 나타났다.

**Abstract**—Multiple capsule was prepared by using chitosan-PVP multiple emulsion system(W/O/W) in which oil and water phase can co-exist simultaneously. In multiple emulsion, chitosan and PVP solution were used for external and internal aqueous phase materials, respectively. And squalane was used for oil phase material. To increase the stability of multiple emulsion, multiple emulsion was ejected into the NaOH solution through the nozzle to form multiple capsule of 2-3 mm in diameter, where the chitosan-PVP composite was used as a wall materials. The hardness of this multiple capsule was found to increase as the amount of PVP increased. Antibacterial property of this multicapsule was tested by *E. coli*. After 1 h, there was drastic decrease of *E. coli* population and all the *E. coli* was diminished after 24 h.

**Key words:** Multiple Emulsion, W/O/W, Multiple Capsule, Chitosan, PVP, Antibacterial

#### 1. 서 론

질병에 뛰어난 효능이 있는 약물의 개발도 필요하지만 이 약물이 원하는 부위에 효과적으로 전달되어 부작용을 줄이면서 효능을 발휘할 수 있는 약물전달체계(DDS, drug delivery system) 기술 또한 중요한 부분을 차지한다. 1970년대부터 선진국들이 첨단기술을 동원해 DDS에 관한 연구를 활발히 진행 중에 있다. 현재 개발 중인 전달체계방식으로는 활성이 요구되는 부위에서 원하는 시점에 효력이 발휘되도록 하는 캡슐화 기술, 피부를 통해 약물을 전달하는 patch 제조기술 그리고 비수용성 약물을 주사액으로 만드는 기술 등으로 구분된다[1]. 이러한 제조 기술 중 유효성분을 캡슐화하는 캡슐화 기술은 의약품, 식품, 화장품 및 기타 산업에서 특별한 기술적 진보를

의미한다고 할 수 있으며 현재 이러한 기술을 인공 세포막의 제조 기술인 리포솜 제조 기술에 응용하고 있다[2]. 이때 캡슐화의 벽재로 사용되는 고분자 물질은 단독 또는 복합한 후 사용하는데 생물학적 분해의 안전성, 유효성분과의 반응성, 응용단계에서의 무독성이 요구된다. 최근 합성 중합체의 도움으로 캡슐을 제조하는 여러 가지 기술이 제시되어 왔으나 합성 중합체들은 공업적인 생산이 용이한 반면 수득한 캡슐들이 일반적으로 생물학적 분해가 어렵고 생물학적 분해가 되어도 독성이 있거나 독성의 여부가 알려지지 않은 분해 산물을 생성할 수도 있다. 일 예로 poly(D,L-lactic acid)와 poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) 등을 이용한 결과가 보고되고 있고 나일론과 실리콘 등도 여기에 이용된다[3]. 천연의 벽재로는 고분자 물질의 젤라틴, 아카시아, 전분, 단백질, 콜라겐 등이 이용된다. 또 다른 기술적 관점에서 캡슐화는 내부 유효성분의 특성에 영향을 받는다. 그리고 내부 물질이 액체로서 물에 대한 용해도가 높다면 벽재 재료로서

<sup>†</sup>E-mail: inorgzeo@bubble.yonsei.ac.kr

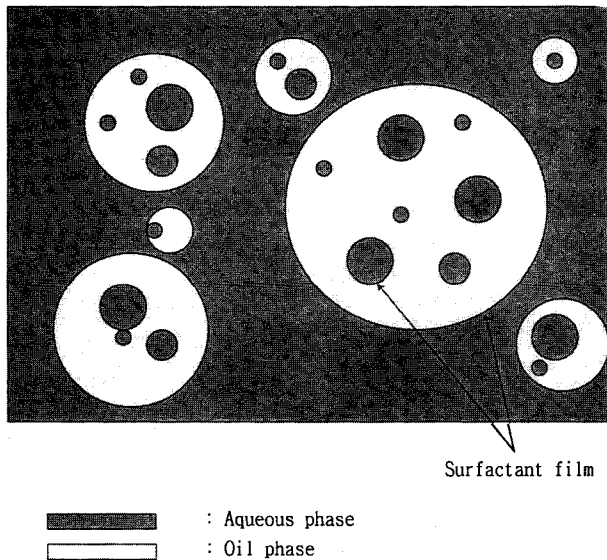


Fig. 1. Schematic representation of W/O/W multiple emulsion.

수용성 고분자의 사용은 그 안정성에서 부적합하다고 할 수 있다. 따라서 벽재의 선택이 중요함을 나타내고 있으며 이러한 단점을 최소화하는 기술이 필요함을 제시한다. 최근에는 이를 극복하기 위한 기술로 수상과 유상을 동시에 함유하는 다중 에멀전 기술이 보고되고 있다.

다중 에멀전은 이름 그대로 수상에 유상(O/W)과 유상에 수상(W/O)이 동시에 하나의 액적 안에 존재하는 또 다른 유화 형태이다(Fig. 1). 종류로는 유상 액적내에 하나 또는 수 개의 수상 액적이 존재하는 1차 에멀전 자체가 다시 분산상으로 연속상의 수상에 존재하는 형태인 W/O/W 다중 에멀전과 이와는 반대로 수상액적내에 하나 또는 수 개의 유상액적이 존재하면서 그 자체가 다시 분산상으로 연속상의 유상에 존재하는 O/W/O 다중 에멀전으로 구분할 수 있다[3]. 원칙적으로 다중 에멀전은 sonification, 교반 그리고 상반전(phase inversion) 등의 전통적인 에멀전법으로 제조가 가능하지만 제조시 1차 에멀전이 파괴되어 그 상의 고유특성을 잃어버리는 결과를 낳기도 한다. 특히 상반전으로 만드는 경우에는 에멀전 형성과 안정성에 뛰어난 특성을 지니는 계를 형성하기 위해서 계면활성제(surfactant)의 종류나 이들의 조합에 세심한 신경을 기울여야 한다[4]. 이러한 다중 에멀전에 관해서는 오래 전부터 알려져 왔지만 제어된 약물전달[5, 6], 응급용 약물투약처리[7], 폐수처리[8-10], 분리기술[11], 화장품[12], 적혈구세포 대체(red blood cell substitute)[13] 등에 실제적으로 적용된 것은 최근이다. 다중 에멀전은 내부의 유효성분이 두 상으로 존재할 수 있어야 하는데 조건에 따라서 열역학적으로 매우 불안정하기 때문에 시간에 따라서 합체가 일어나고 종래에는 두 상으로 분리되어 비중차에 따라 상하로 배열을 달리하게 된다. 결국 에멀전 내부의 안정성을 높이기 위해 보조 유화제를 사용해야 하지만 보조 유화제의 사용 또한 알려지지 않은 부차적인 독성의 문제, 분해산물의 문제 등을 야기할 수 있다. 그리고 캡슐내부에 영양물질인 유효성분의 함유는 시간이 지남에 따라 부패, 산패가 일어날 수 있고 결국 방부제를 필요로 하게 되고 이는 자체의 독성, 분해산물의 문제 등을 일으킬 수 있다. 키토산과 키틴에 대한 연구가 계속되던 중 1859년 Rouget이 키틴을 진한 KOH로 처리하는 과정에서 유기산(organic acid)에 용해되는 새로운 성질의 변형된 키틴을 발견하고 이를 키토산이라 부르게 되었다[14]. 키토산의 조성과 구조는 셀룰로스와 유사하나 C-2 위치에 일차 아민기가 있다는 점이 차이점이다(Fig. 2).

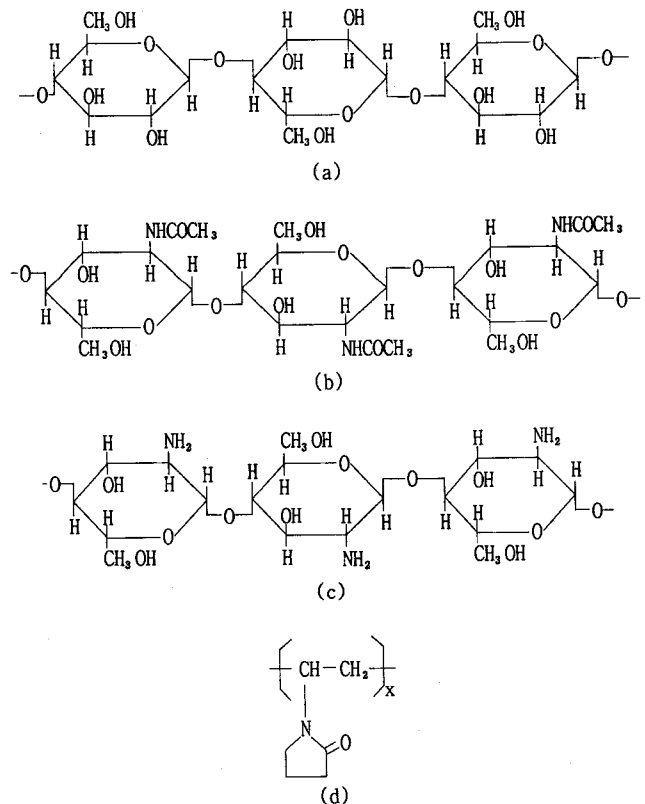


Fig. 2. Molecular structure of various organic polymer.

(a) cellulose, (b) chitin, (c) chitosan, (d) PVP

따라서 키토산은 화학적 변형으로 보다 다양한 기능화가 가능한 장점이 있다. 이러한 키토산의 glucosamine 반복단위의 존재는 여러 가지 유도체의 합성을 용이하게도 하는데 왜냐하면 이 일차 amine 기는 C-6과 C-3의 수산기에 비해 높은 반응성을 나타내기 때문이다. 최근 키토산과 그 유도체들이 식품공업, 의약품, 농축산업 및 폐수 처리에 키틴과 키토산이 이용되고 있다. 이는 생분해성, 무독성, 생체 친화성의 측면에서 뛰어난 강점을 지니고 있기 때문이다. 의약품에서는 제산작용과 궤양억제작용에 이용되고 혈액 중의 콜리레스테롤과 tri-glyceride의 농도를 낮추는 약리작용, 장내세균인 lactobacillus와 bifidobacterium의 발육 촉진작용 및 혈청의 항체량을 증가시켜 면역성을 높이는 작용 등이 보고되고 있다[14, 15]. 산업이 날로 발전함에 따라서 공업폐수가 누적되고 이들 폐수처리의 필요성이 점차 고조되고 있는데 실제로 생활오수의 응집, 탈수기능이 기존의 합성 고분자 응집제보다 우수하며 독성이 낮아 환경보호 측면에서 유용한 것으로 알려져 있다. 또한 키토산은 lysozyme chitosanase 등의 효소에 의해 선택적으로 가수분해되며 생분해도가 우수하여 마이크로 스피어(microsphere), 비드(bead), 멤브레인(membrane) 등의 형태로 약물 전달체로의 연구도 활발하다. 그리고 생쥐나 소동물에 각종 테스트를 실시한 결과, 암세포의 전이가 저지된 것을 발견할 수 있었고, 비장의 임파관 T 세포의 활성화가 일어난 것으로 보고되기도 하며 생체류를 사용한 동물실험결과, 혈압 상승의 원인이 되는 효소의 활성력을 높이는 염소이온을 키토산이 흡착시켜서 몸밖으로 배설시키는 촉진작용이 보고되었다[16]. 이외에도 각 방면의 연구에 의해 협심증이나 심근경색, 뇌출혈, 뇌연화증, 동맥류의 원인인 혈전을 용해시키기도 하고, 담배 니코틴의 흡착, 배출작용, 항균상처의 치유 촉진, 새 살갓이나 새 피부의 형성 촉진, 혈청단백질의 흡착 작용에 의한 지혈 효과 등이 보고되고 있다[17].

본 연구에서는 자연계에서 셀룰로오스 다음으로 풍부한 키토인을 이용하여 합성한 키토산의 특성과 PVP를 이용하여 다중 멀티에멀전을 제조하고자 하였다. 그리고 키토산-PVP를 벽재로 하고 보조 유화제 사용 없이 최소량의 유화제만을 사용하여 유효성분으로서 수용성과 유용성을 동시에 함유한 무방부 시스템의 다중 멀티 캡슐을 제조 및 특성화하여 추후 약물전달체계의 사용 가능성을 고찰하고자 한다.

## 2. 실험

### 2-1. 시약

키토산을 합성하기 위한 출발물질로 키토인(sigma)은 시약등급을 사용하였고 polyvinyl pyrrolidone(PVP, ISP Co., 화장품 grade)을 사용하였다. 유화제로는 다중 에멀전을 만들기 위해 친수성 계면활성제로 Tween 80(ICI사), hydrophobic 계면활성제로는 Arlcel 83(ICI사)을 사용하였다. 약물상으로는 수용성 유효성분에 phanthenol을, 그리고 유용성 유효성분에 tocopherol acetate를 사용하였으며 모두 BASF사로부터 구입하였다. 유상은 비극성 오일로 천연의 올리브 나무에서 추출한 화장품 등급의 스쿠알렌(Sophim Co.)을 사용하였다. Fig. 2에는 사용한 키토인, 키토산, 그리고 PVP 각각의 분자구조식을 나타내었다.

### 2-2. 합성

키토인 16.5g을 3구 플라스크에 넣고 40-50% 가성소다액 140ml를 투입한 후 증류수 10ml로 플라스크 기벽을 수세한 후 혼합한다. 반응온도는 100-110℃로 유지하면서 4시간 동안 충분히 혼합하여 반응, 탈아세틸화시켜 키토산을 합성한다. 반응 후 용액을 여과지를 사용하여 여과한 후 증류수와 에탄올로 순차적 수세하여 데시케이터에서 건조시켜 키토산 9.24g을 얻었다. 항균특성을 지닌 벽재료의 사용 가능성을 알아보기 위하여 키토산과 PVP 복합막을 제조한 후 경도와 항균력을 측정하였다. 복합막의 제조는 100ml 비이커에 초산 1ml를 투입하고 따로 준비한 키토산 1g을 혼합한 후 증류수를 가하여 전체가 100g이 되게 하였다. 이를 실온에서 충분히 교반 용해하여 완전히 용해시킨다. 다른 100ml 비이커에 10g PVP를 투입하고 에탄올을 가해 전체가 100g이 되게 한후 실온에서 충분히 교반하여 완전히 용해시킨다. 이렇게 얻은 키토산 용액과 PVP 용액을 각각 여러 비율로 혼합하여 키토산과 PVP 복합막을 얻었다. 수득한 키토산과 PVP 복합막의 경도증가를 측정하기 위하여 물성측정기(Rheometer CR-200D)를 이용하여 연결구 직경 20mm, 하강속도 70mm/min, 침투깊이 20mm로 setting하여 25℃에서 측정하였다. 이때 경도는 침투깊이 20mm일 때 최고 힘(force) 값으로 단위는 max.  $g_{force}$ 이다. 키토산과 PVP 복합막의 항균력시험은 1종의 효모, 1종의 mold, 2종의 박테리아를 대상으로 USP(United States Pharmacopea)법으로 측정하였다[18]. 테스트 균주로는 *Candida albicans* (ATCC 10231), *Aspergillus niger*(ATCC 16404), 대장균(*Escherichia coli*, ATCC 8739), 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*, ATCC 6538)을 이용하였다. 각각의 organisms 0.1ml를 각각 1% 키토산 용액 55g에 접종하여 충분히 교반, 용해한 후 10% PVP 용액 1.6g을 가하여 충분히 교반, 혼합한다. 시료를 30℃에서 배양시켜가면서 초기부터 0.5, 1, 2, 24, 48시간 후 균주수를 세어서 계산하였다. 이때 USP 법으로 제조된 것의 농도를 기준으로 하여 1000배 희석한 경우는 농도를  $10^{-3}$ 으로 표시하여 나타내었다.

Fig. 3에서는 2 단계공정을 이용하여 다중 에멀전을 형성하는 순서를 나타내었다. 수상 부분에 K Value 90의 10% PVP 용액 70g과 D-phathenol 20g을 넣고 충분히 교반한 후 완전히 용해시킨다. 유상부분에는 비극성 용액인 스쿠알렌 134g과 Tocopheryl acetate 20g을 투입하고 친유성 계면활성제인 Arlcel-83 20g을 투입하여 40℃가

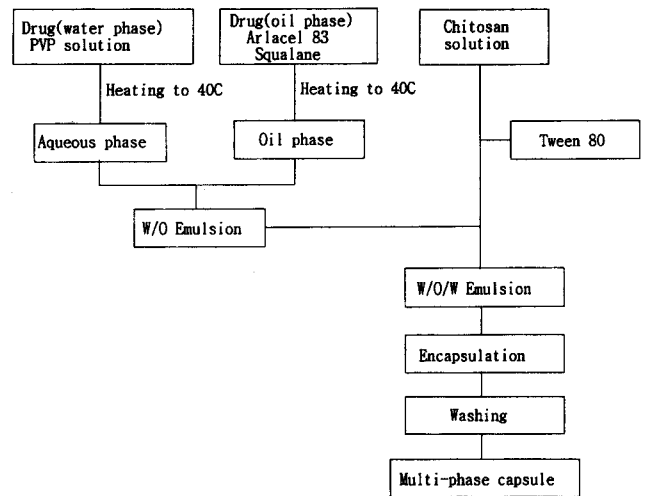


Fig. 3. Schematic diagram of multi encapsulation technique using two step method.

지 가열하여 완전히 용해시킨다. 균일교반기를 사용하여 미리 준비한 수상부분을 유상부분에 투입하고 40℃에서 homogenizer로 3,000rpm으로 약 3분간 유화하여 1차 W/O 에멀전을 만든다. W/O/W 에멀전을 형성시키기 위하여 초산처리된 1% 키토산 용액 30g에 친수성 계면활성제 Tween-80 50g을 정제수 654g에 넣고 약 40℃까지 가열한 다음 미리 준비한 W/O 에멀전을 투입한다. 그리고 40℃에서 paddle 형 교반기를 이용하여 30rpm의 속도로 약 3분간 저어주면서 W/O/W 다중 멀티 에멀전을 형성시킨 다음 동일조건에서 homogenizer로 1,000rpm으로 6분간 교반하였다.

안정성을 지닌 다중 캡슐을 얻기 위하여 형성된 W/O/W 다중 멀티 에멀전을 150μm 크기의 노즐을 통해 10% NaOH 용액 수조에 대기 중을 통해 떨어뜨리면서 알칼리로 경화시킨 지름 2-3mm 정도의 다중 캡슐을 제조하였다. 이때 압력은 질소를 이용하여 2기압으로 고정하였다. 얻어진 멀티캡슐을 다시 정제수로 수회 세척하고 24시간 동안 건조하였다. Fig. 4에서는 W/O/W 에멀전을 이용하여 다중 멀티 캡슐을 제조하는 장치를 나타내었다.

### 2-3. 특성화

다중 멀티 캡슐 제조시 homomixer(T.K Japan)을 사용하여 유화 공정을 수행하였으며 다중 멀티 캡슐의 표면형태 및 내부 구조 관찰을

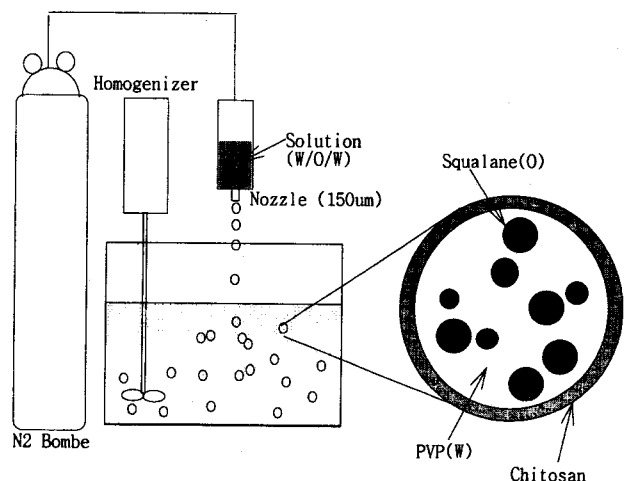


Fig. 4. Apparatus for multi encapsulation of W/O/W emulsion solution.

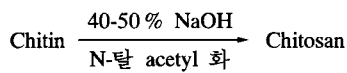
위해 Olympus사의 BX50 위상차 현미경을 사용하였으며 키토산과 PVP의 복합막의 경도를 측정하기 위해 Sun Chem(Japan)사의 Rheometer CR-200D를 사용하였다. 키토산과 PVP 복합막의 IR 분석을 위해 Perkin Elmer system-2000 FT-IR을 사용하였다.

### 3. 결과 및 토의

#### 3-1. 키토산으로부터 키토산의 제조

키토산을 이용하여 탈아세틸화를 통하여 키토산을 제조하였다. Fig. 5에는 반응에 의해서 형성된 키토산의 적외선 흡수 스펙트럼의 결과이다. Fig. 5에서 나타난 바와 같이 탈아세틸화에 따라서  $1,570\text{ cm}^{-1}$ 의 N-H band의 피크강도가 증가되었고 이에 비하여 아세틸기에 의한  $1,665\text{ cm}^{-1}$ 의 amide I 및  $1,460\text{ cm}^{-1}$ 의 amide II band의 피크 강도가 감소함을 알 수 있다[14].

따라서 아래와 같은 탈아세틸화 방법에 의해서 키토산이 제조되었음을 알 수 있었다.



#### 3-2. 키토산과 PVP 복합막의 제조

키토산의 조성과 구조는 cellulose와 유사하나 C-2 위치에 일차 아민기가 있다는 차이점으로 화학적 변형에 의해 보다 다양한 기능화가 가능한 장점이 있다. 키토산이 지니는 일차 amine 기는 C-6와, C-3의 수산기에 비해 높은 반응성을 나타내기 때문에 여러 가지 유도체의 합성이 용이하다고 알려져 있다[17]. 키토산과 PVP의 복합막에 대한 경도의 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 키토산과 PVP의 복합막의 경도증가는 그 키토산의 함량에 의존하였으며 10% PVP K90과 1% 키토산용액의 배합비를 70%에서 50%까지 변화시키면서 그 경도를 측정 결과 키토산이 증가함에 따라 경도가 급격하게 감소함을 알 수 있다. Elias 등은 키토산과 poly ethersulfone 위에 코팅을 하여 polyether sulfone을 변형하였는데 이때 형성되는 결합방식은 키토산의 아민기와 polyethersulfone의 sulfate( $\text{SO}_3^-$ )기가 반응한다고 하였고 이러한 이온결합에 의한 변형은 중성이나 알칼리 용액에서 안정하다고 보고하였다[19]. 본 실험에서도 PVP의  $\text{O}^-$  기와 키토산의 아민기가 이온결합으로 복합막을 형성하고 있는 것으로 사료된다. 이를 확인하기 위하여 복합막을 형성한 후 IR을 측정하였

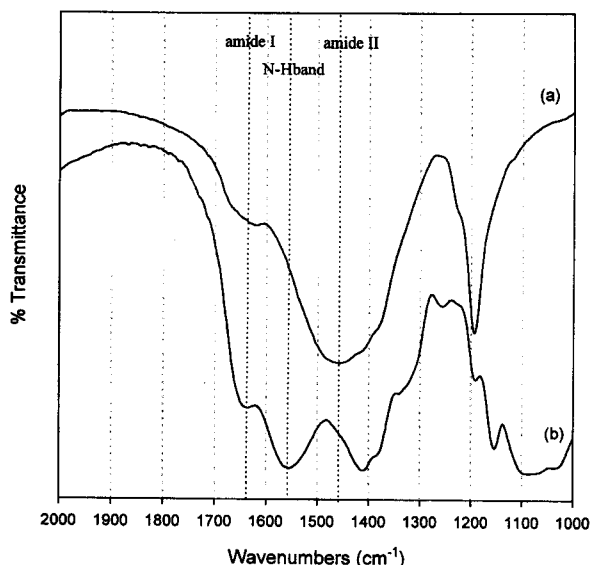


Fig. 5. IR spectra of chitin (a) and chitosan (b).

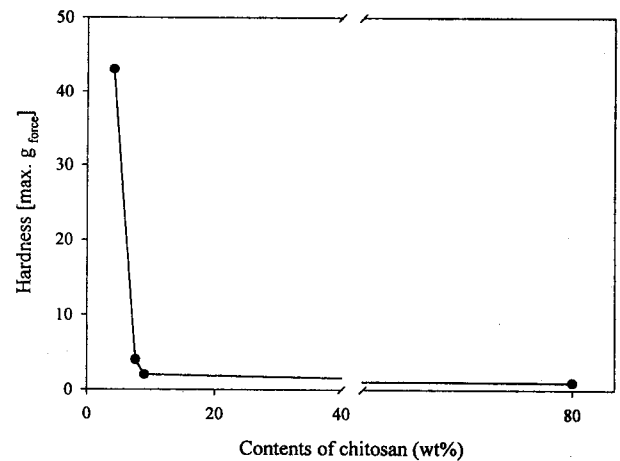


Fig. 6. Effect of chitosan content on the hardness of chitosan-PVP composite.

다. Fig. 7에서 보는 바와 같이 키토산-PVP 복합막인 (c)의 경우에는 키토산의 특징 피크인  $1,570\text{ cm}^{-1}$ 의 N-H band의 피크가 사라진 것을 알 수 있다. 그리고 PVP의  $\text{C=O}$  결합에 의한 피크에 해당하는  $1,670\text{ cm}^{-1}$ 의 피크가  $1,650\text{ cm}^{-1}$ 으로 이동하였음을 알 수 있다. 이러한 IR 결과는 PVP의  $\text{O}^-$  기와 키토산의 아민기가 이온결합으로 복합막을 형성하고 있는 것으로 사료된다. Fig. 8에는 이러한 결과를 바탕으로 키토산과 PVP의 복합막 형성시 가능한 메커니즘을 나타내었다. Elias 등이 키토산과 poly ethersulfone 시스템에서 언급했듯이 이온결합에 의해 결합되어 있는 형태를 제시하고 있다[19].

이러한 결과는 키토산과 PVP를 이용하여 다중 멀티 캡슐을 제조함에 있어서 벽재의 견고성을 고려할 때에 키토산과 PVP의 비율을 고려해야 함을 제시하고 있다.

#### 3-3. 키토산과 PVP의 복합막 항균력 테스트

다중 멀티 에멀전의 경우에는 에멀전 내부의 안정성을 높이기 위해 보조 유화제를 사용해야 하지만 알려지지 않은 부차적인 독성의 문제, 분해산물의 문제 등을 야기할 수 있다. 그리고 캡슐내부에 영

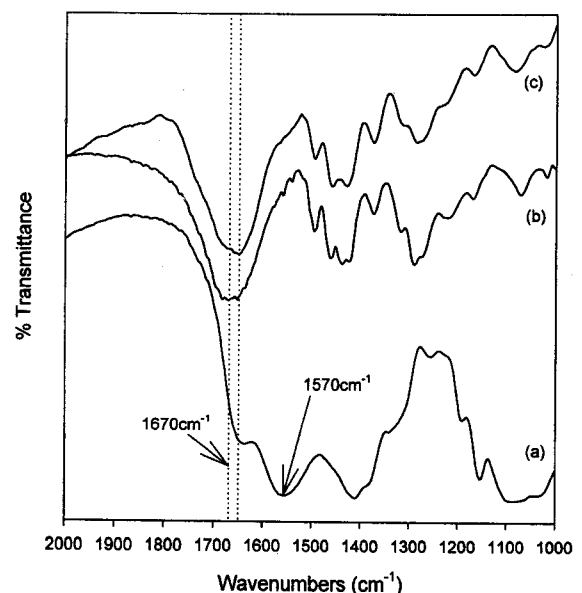


Fig. 7. IR spectra of chitosan (a), PVP (b), and PVP(10%)-chitosan (1%) composite (c).

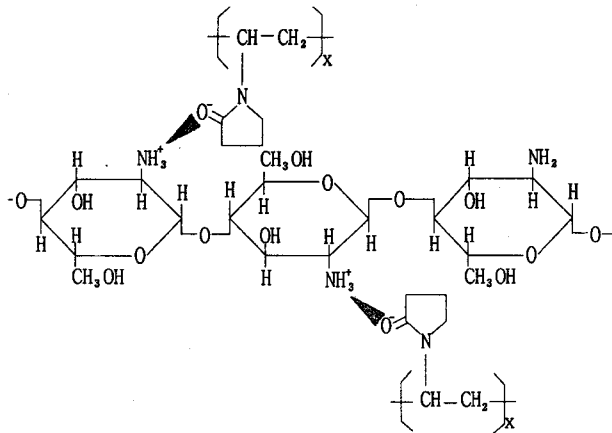


Fig. 8. Possible formation mechanism of chitosan-PVP composite.

양물질인 유효성분의 함유는 시간이 지남에 따라 부패, 산패가 일어날 수 있어 방부제를 필요로 하게 되는데 이는 방부제 자체의 독성 문제나 분해산물 등의 문제를 일으킬 수 있다. 이러한 점을 극복하기 위하여 본 연구에서 천연물로 무해하고 항균성이 알려진 키토산-PVP 시스템의 항균력을 측정하였다. 적절한 균체의 농도를 결정하기 위하여 *Staphylococcus aureus*의 농도를 각각  $10^{-3}$ - $10^{-6}$ 으로 변화시켜 가면서 관찰하여 보았다. Fig. 9에서 보는 바와 같이 *Staphylococcus aureus*의 농도가  $10^{-3}$ 인 경우 *Staphylococcus aureus*의 개수를 파악할 수 있어서 적절한 비교를 할 수 있는 농도로 나타났다. Fig. 10에서는 *Staphylococcus aureus*의 농도가  $10^{-3}$ 인 경우 30℃에서 배양시간에 따른 개수의 변화를 살펴본 그림이다. 1시간이 경과

한 (b)의 경우에 개수가 급격히 감소하다가 24시간 경과 후에 소멸함을 알 수 있다. Table 1에는 키토산과 PVP의 항균력을 1종의 효모, 1종의 곰팡이, 3종의 박테리아를 대상으로 USP 법[18]으로 측정 결과를 종합한 것으로 *Echerichia coli*의 경우에는 1시간이 경과한 후부터 급격한 감소를 보이기 시작하여 24시간에 모두 소멸되는 것으로 나타났다. 이에 비하여 *Staphylococcus aureus*, *Candida albic*, 그리고 *Aspergillus niger* 등은 2시간이 경과한 후부터 감소하기 시작하여 48시간이 경과한 후에 모두 소멸이 되는 것으로 나타났다. 이는 키토산과 PVP 복합막이 항균 효과는 충분하나 효모나 곰팡이에는 항균력이 다소 떨어지는 것으로 나타났다.

### 3-4. 다중 에멀전 및 캡슐의 제조

캡슐내부에 안정하게 두 상이 존재하는 것은 에멀전 형태로 존재해야 함을 의미하며 만일 상이 분리가 되어 캡슐내부에 존재하거나 캡슐벽재가 수상이나 유상에 대해서 불안정하여 어느 한 상에 대해 용해성이 높아진다면 이는 그 부분에서 캡슐의 파괴를 의미한다. 따라서 벽재의 선택은 상당히 중요하다고 할 수 있다. 다중 멀티 에멀전을 형성하기 전에 키토산 용액과 PVP 용액만을 기계적으로 교반하여 보았다. 이때에는 에멀전이 형성되지 않고 점도가 증가하는 단일상만을 얻을 수 있었다. 하지만 이러한 형태는 원하는 성능을 나타낼 수 없기 때문에 2단으로 다중 에멀전법을 제조하였다(Fig. 3). 스쿠알렌과 PVP를 이용하여 먼저 1차 에멀전인 W/O 에멀전을 형성하고 이 용액을 키토산 용액에 첨가하여 W/O/W 에멀전을 형성하였다. 이러한 방법은 벽재를 항균성을 지닌 키토산으로 하고 내부의 수상에 PVP 용액을 투입하여 캡슐내부의 상안정성을 유지시키고자 하는 것이다. Fig. 11에서는 PVP 용액과 스쿠알렌을 이용한 W(PVP)/O(squalane) 에멀전의 400배 확대한 image analyzer 사진이다. 보는

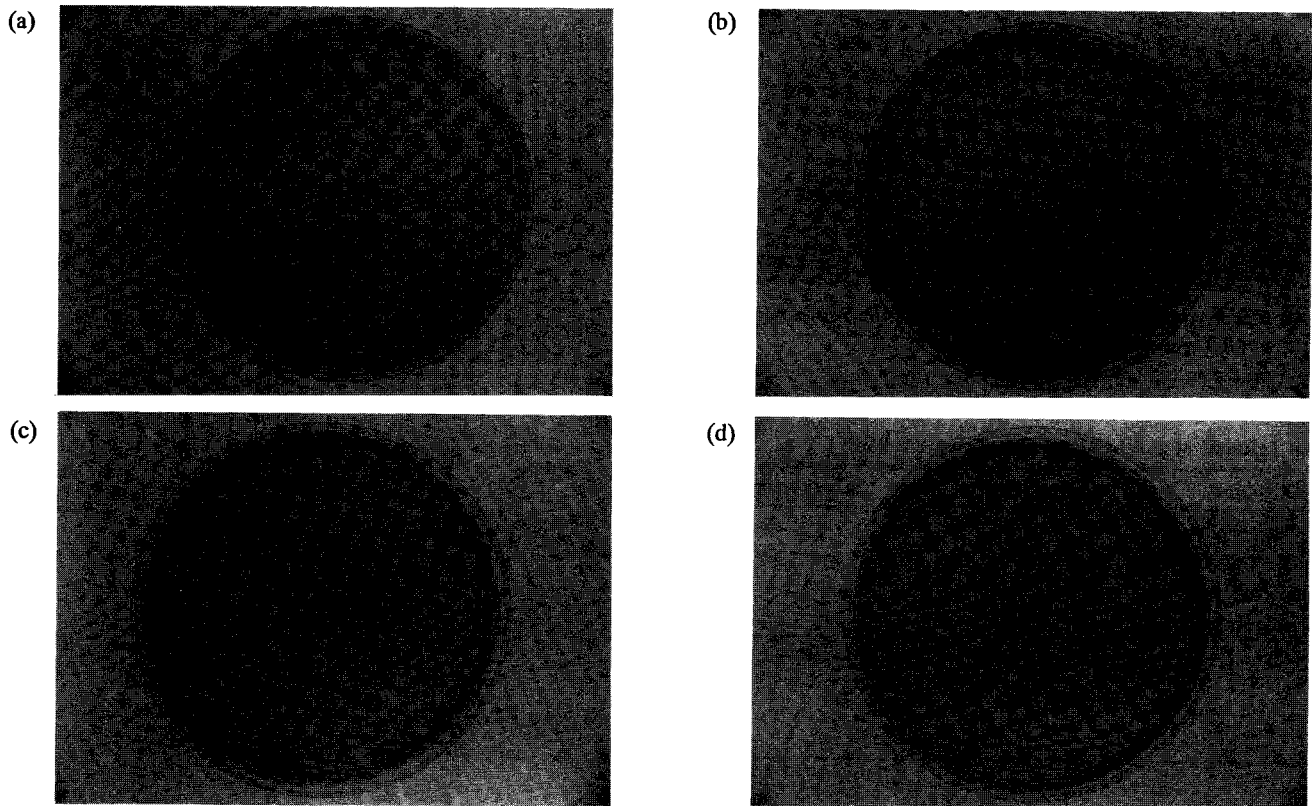


Fig. 9. Changes of number of *S. Aureus* with the concentration of *S. Aureus*(1 % chitosan solution, 30 °C).  
(a)  $10^{-3}$ , (b)  $10^{-4}$ , (c)  $10^{-5}$ , (d)  $10^{-6}$

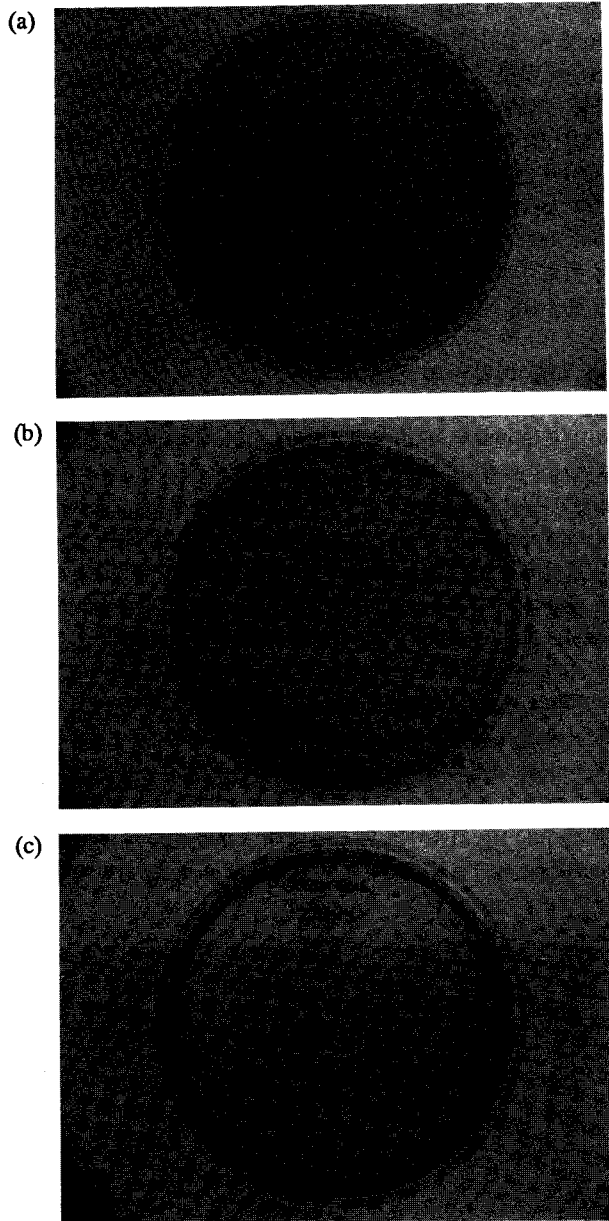


Fig. 10. Changes of number of *S. Aureus* with the incubation time at 30 °C (concentration of *S. Aureus*:  $10^{-3}$ ).  
(a) 0.5 hr, (b) 1 hr, (c) 24 hr

Table 1. Result of anti-bacterial test of chitosan-PVP

Organism	0 hour	1 hour	2 hour	24 hour	48 hour
<i>Escherichia coli</i>	+++	+	+	-	
<i>Staphylococcus aureus</i>	+++	+++	+	-	
<i>Candida albicans</i>	+++	+++	++	++	-
<i>Aspergillus niger</i>	+++	+++	++	++	-
Remarks	+++: above 100 C.F.U/plate +++: 1-99 C.F.U/plate + : 1-9 C.F.U/plate - : 0 C.F.U/plate				

바와 같이 W/O 에멀전이 형성되었음을 알 수 있다. 그리고 키토산을 이용하여 다중복합 에멀전을 형성한 경우에는 Fig. 12에서 보는

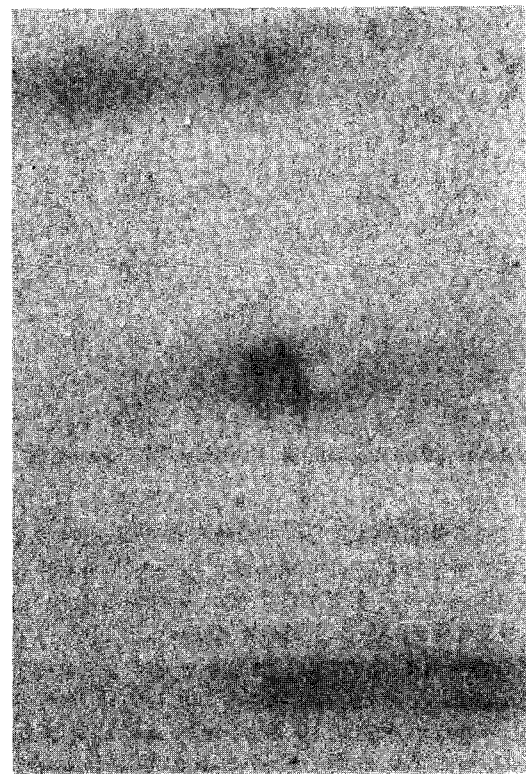


Fig. 11. Optical microphotograph of O/W emulsion system.  
(PVP-squalane, ×400)

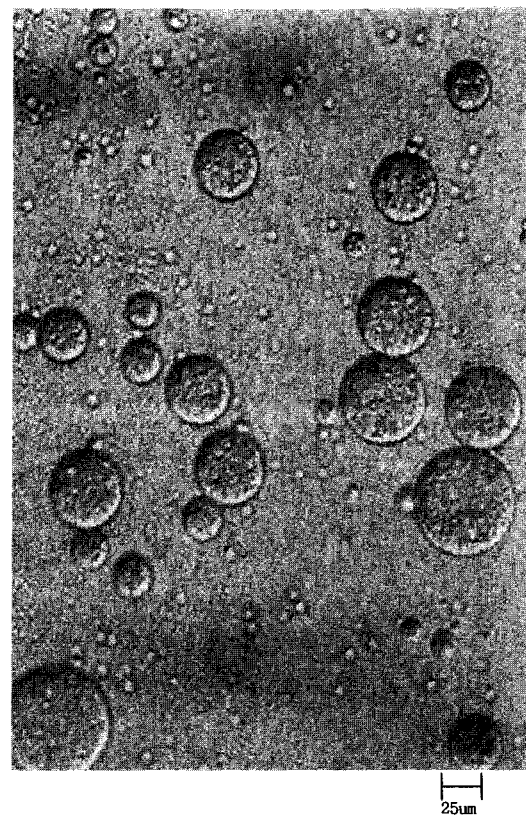


Fig. 12. Optical microphotograph of W/O/W emulsion system.  
(chitosan-PVP-squalane, ×400)



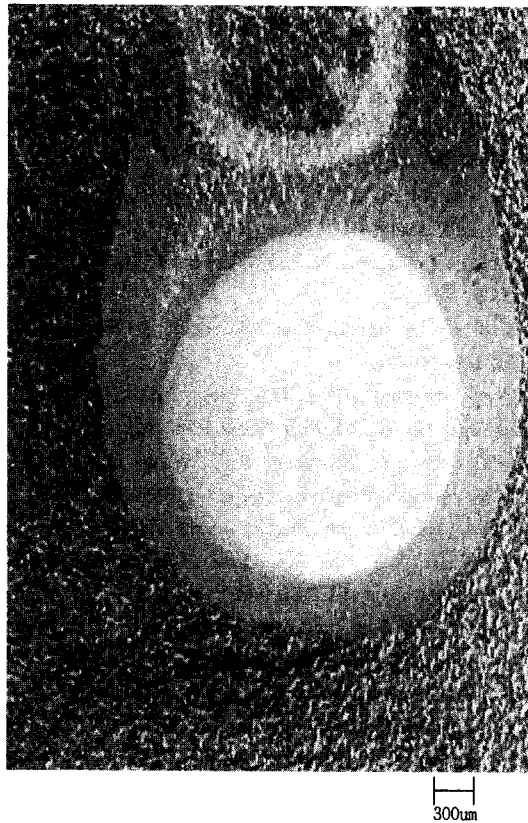


Fig. 13. Optical microphotograph of the formation of spherical bead of W/O/W emulsion system in NaOH solution( $\times 35$ ).

바와 같이 키토산 내부에 크기 5-60  $\mu\text{m}$  크기의 다중 멀티 에멀전이 형성이 되었음을 알 수 있다. 안정성을 지닌 멀티 캡슐을 제조하기 위하여 얻어진 용액을 NaOH 용액에 적하시켰을 경우의 결과가 Fig. 13에 나타내었다. 그림에서 보듯이 직경 2-3 mm의 구형입자가 형성이 되어 있음을 알 수 있는데 흰색을 띠는 겔부분은 키토산으로 벽재를 형성하고 있는 형태이다. 이것을 회수한 후와 1-3 butylene glycol에 넣어서 찍은 사진이 Fig. 14(a)와 (b)에 나타내었다. 멀티 캡슐이 형성되었는지를 알아보기 위하여 한 개의 구형입자를 다시 확대하여 본 경우와 이를 파괴시켜 내부의 형태를 알아본 결과를 Fig. 15에 나타내었다. 이를 부셔서 본 결과 내부에 또 다른 에멀전이 형성이 되어 있음을 알 수 있다. 따라서 처음에 의도한 바와 같이 다중상이 내부에 안정하게 형성되었음을 확인할 수 있었다.

실제로 다중 멀티 에멀전 제조시에 PVP 용액을 사용하지 않은 경우에는 시간이 지남에 따라 캡슐내부에서 층분리가 일어나 비중차이에 의해 유상과 수상 두 부분으로 층분리 현상이 일어났으나 PVP 용액이 투입된 경우에는 다중 에멀전이 형성되어 있었고 시간이 지남에 따라 합일에 의해 PVP 용액이 외부로 빠져 나오면서 앞서 살펴본 바와 같이 벽재의 키토산 용액과 화학적 결합을 통하여 표면에 복합막 구조를 형성하여 다중구조가 강화되므로 안정화된 유화 상태를 유지시키는 것으로 관측되었다. 이는 유화 안정성을 위해 별도의 보조 유화제를 사용하거나 유상내에 금속염 등에 의한 별도의 증점제(viscosity builder)를 필요치 않음을 확인하였는데 이는 제2의 보조 유화제나 유상의 증점제를 사용할 경우에 발생하는 그 자체의 독성 및 알려지지 않은 분해산물의 생성 가능성을 제거할 수 있는 획기적인 방법으로 사료된다. 그리고 약물전달 체계로서 다중 멀티 캡슐 내에 약물 또는 영양물질을 함유케 하는 것은 별도의 방부제를 필요로 하나 벽재로 사용한 키토산 자체의 항균효과에 의해 최소한의 방부

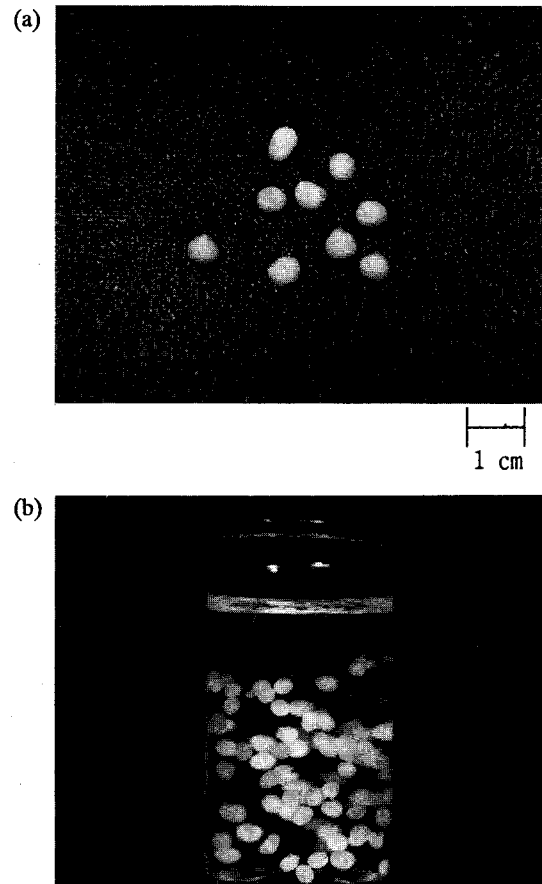


Fig. 14. Optical microphotographs of W/O/W emulsion system. (chitosan-PVP-squalane)

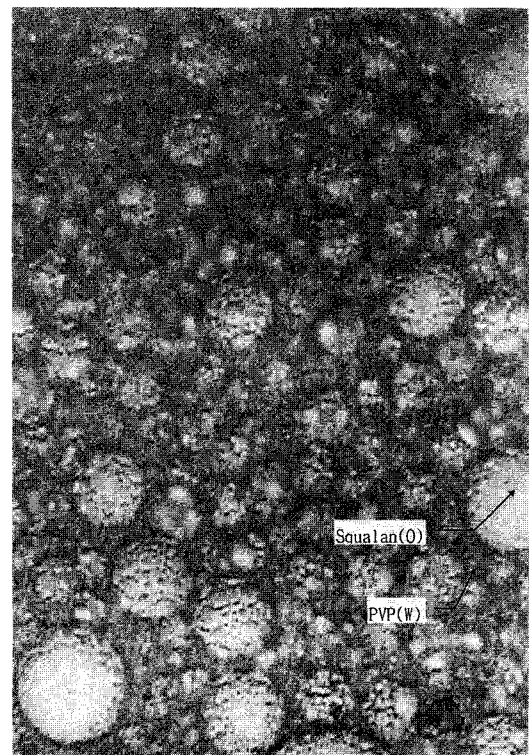


Fig. 15. Optical microphotograph of the inner side of spherical bead of W/O/W emulsion system in NaOH solution( $\times 400$ ).

제를 제공할 수 있으므로 이는 곧 식품, 의약품, 화장품 등에 이러한 시스템을 적용할 수 있음을 의미하는 것으로 사료된다.

#### 4. 결 론

키토산-스쿠알렌-PVP를 이용하여 다중 멀티 에멀전을 형성하였으며 안정성의 증가를 위해 다중 멀티 에멀전을 알칼리 처리하여 경화된 벽재(키토산-PVP)를 함유한 다중 멀티 캡슐을 제조하였다. 키토산-PVP 복합막의 경우, 키토산이 증가함에 따라 경도가 감소하였으며 *Escherichia coli*에 대해서는 충분한 항균 효과를 보였지만 yeast나 mold에 대해서는 항균력이 다소 떨어지는 것으로 나타났다. 이는 키토산 자체의 항균효과를 이용하여 최소한의 방부 시스템만으로도 균주에 항균성을 보유하고 있는 안전한 다중 멀티 캡슐을 제조를 가능하게 하는 것으로 추후 키토산-스쿠알렌-PVP를 이용한 마이크로 에멀전 제조를 통하여 유상의 유효성분과 수상의 유효성분을 동시에 함유하며 최소한의 유효제와 최소한의 방부제로 보다 무독성이 없는 안전한 약물전달체제로서의 개발을 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

#### 참고문헌

1. Roseman, J. and Mansdorf, S.Z.: "Controlled Release Delivery Systems", Marcel Dekker, 177(1983).
2. Leszek, K.: "Extended-Release Dosage Form", CRC Press, 114 (1987).
3. Florence, A. T. and Whitehill, D.: *Int. J. Pharm.*, **11**, 277(1981).
4. Beche, P.: "Emulsion: Theory and Practice", 2nd ed., Reinhold Publishing Corp., New York, 2(1965).
5. Brodin, A. F., Kavaliunas, D. R. and Frank, S. G.: *Acta Pharm. Suec.*, **15**, 1(1978).
6. Florence, A. T.: *Chem. Ind.*, **20**, 1000(1993).
7. Chiang, C., Fuller, G. C., Frakenfeld, J. W. and Rhodes, C. T.: *J. Pharm. Sci.*, **67**, 63(1978).
8. Li, N. N. and Shrier, A. L.: "Recent Development in Separation Science", CRC Press, Boca Raton, Fla., 163(1972).
9. Raghuraman, B., Tirmize, N. and Wiencek, J.: *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 1090(1994).
10. Larson, K., Raghuraman, B. and Wiencek, J.: *Ind. Eng. Chem. Res.*, **33**, 1612(1994).
11. Li, N. N. and Somerset, W. J.: U.S. Patent 3,410,794(1966).
12. Lion Dentrific Co. Ltd.: British Patent 1,541,463(1979).
13. Zheng, S., Zheng, Y., Beissinger, R. L., Wasan D. T. and McCormick D. L.: *Biochim. Biophys. Acta*, **65**, 1158(1993).
14. Kurita, K., Koyma, Y. and Chikaoka, S.: *Polymer*, 1083(1988).
15. Won, J. M., Bae, S. Y., Ha, B. H., Kim, H. T. and Kumazawa, H.: *Korean J. Chem. Eng.*, **13**, 324(1996).
16. Moon, I. S., Park, S. K. and Lee, S. W.: Theories and Applications of Chemical Engineering, KICChE Spring Meeting(1997).
17. Charles Fox: *Cosmetic and Toiletries*: November, **101**(1986).
18. Orth. D. S.: *Cosmetic and Toiletries*, November, **101**, 43(1986).
19. Klein, E., Eichholz, E., Theimer, F. and Yeager, D.: *J. Membrane Science*, **95**, 199(1995).