

Ascorbic Acid의 산화억제

이강연, 한창규*, 조춘구

승실대학교 환경·화학공학과, *라미화장품 피부과학연구소

The Constraint for Oxidation of Ascorbic Acid

Kang Yun Lee, Chang Giu Han*, Choon Koo Zhoh

Department of Chemical & Environmental Engineering, Soongsil University

*Lamy Dermal Scientific Research Institute

요 약

기능성 물질로서 다양한 생리적 기능을 가진 ascorbic acid는 구조적으로 불안정하여 쉽게 산화되는데 이러한 ascorbic acid의 산화를 억제하기 위해 리포솜에 순수한 ascorbic acid를 봉입시켜 안정한 리포솜을 제조하였다. 안정한 리포솜의 제조를 위해 cholesterol이나 β -sitosterol이 리포솜의 안정화에 미치는 영향을 측정하였으며 ascorbic acid의 산화방지를 위해 항산화제로 butylated hydroxytoluene(BHT), tertiary butylhydroquinone(TBHQ)와 α -glycosyl rutin, natural concentrated tocopherol을 사용하였다.

리포솜 제조시 cholesterol이나 β -sitosterol을 사용한 경우 ascorbic acid의 산화가 감소하였는데 이는 cholesterol이나 β -sitosterol이 리포솜의 이중막을 강화하여 봉입한 ascorbic acid의 방출을 감소시켜 산화를 방지하는 것으로 생각된다. 또한 cholesterol의 농도가 0.3%인 경우 가장 안정한 리포솜이 생성됨을 알 수 있었다. 사용된 항산화제는 ascorbic acid에 대하여 모두 산화억제효과를 나타내었으며 tertiary butylhydroquinone, α -glycosyl rutin, butylated hydroxytoluene, natural concentrated tocopherol 순으로 우수함을 보였다. 그러나 제약 및 화장품에 사용되는 ascorbic acid의 산화억제에는 효과가 가장 좋은 합성 항산화

체인 tertiary butylhydroquinone보다 천연물질에서 추출한 항산화제인 α -glycosyl rutin이 더 적합할 것으로 생각된다.

Abstract

Ascorbic acid which has various physiological benefits as the functional substance is easily oxidized and destroyed by the structural instability. Liposome encapsulated pure ascorbic acid was prepared for the sake of the constraint of oxidation. The influence of cholesterol or β -sitosterol on the stabilization of liposome was investigated. Butylated hydroxytoluene(BHT), tertiary butylhydroquinone(TBHQ), α -glycosyl rutin and natural concentrated tocopherol were used for constraint of oxidation of ascorbic acid.

The presence of cholesterol or β -sitosterol decreased oxidation of ascorbic acid. That results were thought that cholesterol or β -sitosterol so increased rigidity of bilayer that the leakage of vitamin C decreased. As a result, the oxidation and degradation of vitamin C were constrained. At 0.3w/w% cholesterol content the most stable liposome was formulated.

The whole antioxidant that used at the research constrained oxidation of ascorbic acid. The antioxidation for ascorbic acid increased in order of tertiary butylhydroquinone, α -glycosyl rutin, butylated hydroxytoluene and natural concentrated tocopherol. But α -glycosyl rutin is preferable to tertiary butylhydroquinone which was the most effective in antioxidation as the antioxidant of ascorbic acid which was utilized in cosmetics and pharmacy.

1. 서 론

Ascorbic acid(vitamin C)는 인체의 면역 기능을 높여주고 피부, 연골, 모세혈관, 근육 등의 구성요소인 collagen의 생성을 촉진하며 자외선이 피부에 침투하여 생기는 화학물질을 파괴하여 피부 손상을 막아주는 역할을 한다. 또한 주름을 방지하고 건강하게 피부를 유지시키며 상처 난 피부 조직의 치료를 돕고 알레르기 반응을 일으키는 것으로 알려진 histamine 형성 및 노화 과정 중에 피부를 퇴색시키는 melamine의 형성을 막아주는 노화 방지제이다. Ascorbic acid는 γ -lactone과 유사한 구조로 불안정하여 공기(산소)와 열, 빛과 같은 외부환경에 민감하게 반응하여 쉽게 분해된다. 비수용액 중에서는 극소량이 용

해되는 반면에 수용액 중에서는 많은 양이 용해되지만 빠른 산화작용으로 인하여 충분한 양의 ascorbic acid가 안정화되지 못하기 때문에 의약, 식품, 화장품 등에서는 active ingredient로서 소량의 ascorbic acid만이 사용되는 것으로 알려져 있다^{1,4)}.

이러한 ascorbic acid의 단점을 보완하고 안정성을 향상시키기 위하여 ascorbic acid 유도체(derivatives)가 사용되지만 효율면에서 다소 떨어지는 단점이 있다. 따라서 순수한 ascorbic acid의 산화방지를 위하여 안정화에 관심이 쏠리고 있다. Ascorbic acid의 coating technique, granulation 등이 제안되었는데 granulation법은 가열과정에서 ascorbic acid의 파괴가 일어난다는 단점이 있으며 coating technique는 비경제적이므로 이들 이외의 방법이 시도되고 있다⁵⁾. 리포솜(Fig. 1)은 자기 스스로 회합하는 콜로이드 입자들의 구형 인지질 베시클로 정의되는데 1960년대 초 Alec Bangham은 물 속에서 인지질이 베시클 구조로 형성되는 것을 처음으로 발견하였다⁶⁾.

수용성 heads(친수기)와 불용성 tails(소수기)를 가진 양친매성 분자로 구성된 리포솜은 이들의 상호작용에 의하여 자발적으로 결합하여 정렬된 구조를 보이는데 그 크기와 lamellarity에 따라 SUV(small unilamellar vesicle), LUV(large unilamellar vesicle), MLV(multi-lamellar vesicle), OLV(oligolamellar vesicle) 등으로 분류된다⁷⁾. 이와 같이 다양한 lamellarity와 크기를 나타내는 리포솜은 그 크기가 20nm~수 μ m정도이며 세포막과 유사한 구조를 가진 이중막은 생체막의 유사모델로 사용되며 두께는 대략 4nm이다.

레시틴 같은 천연 지질로부터 만들어진 리포솜은 합성지질로 만들어진 리포솜보다 생분해성, 생친화성이 우수하여 수상 중심부(aqueous core)에는 수용성(water-soluble) 성분이, 인지질 막에는 지용성(oil-soluble) 성분이 가용화되어 친수성과 친유성 물질 모두를 봉입(encapsulation)하는 특징이 있다. 리포솜에는 수용성·지용성 비타민, 향(aromas), 색소(colors), 약물(drugs), 백신(vaccines) 등 여러 물질을 봉입할 수 있으며 봉입된 물질은 시간이 지남에 따라 서서히 방출하게 되는데 이중막의 견고성(rigidity)을 강화하여 봉입물질의 방출을 조절할 수 있다⁸⁻¹⁰⁾. 이러한 특성 때문에 리포솜은 제약 분야에서는 약물 전달체(drug carrier) 및 약물보호매체(capsulation)로, 화장품 분야에서는 영양소 전달체(nutrient carrier) 및 수분 전달체로, 의학 분야에서는 유전자 치료(gene therapy) 및 암 화학요법(cancer chemotherapy) 등으로 널리 사용되고 있다^{11,12)}.

본 연구에서는 ascorbic acid를 리포솜에 봉입하여 안정한 리포솜을 제조하였다. 안정한 리포솜의 제조를 위해 cholesterol이나 그와 유사한 구조를 가진 β -sitosterol이 리포솜의 안정화에 미치는 영향을 측정하였다. 이들의 농도에 따라 제조된 리포솜의 물리적 안정성은 리포솜의 크기 변화를 통하여 판단하였으며 봉입된 ascorbic acid 양의 경시변화

를 통하여 ascorbic acid의 안정화에 cholesterol이나 β -sitosterol이 미치는 영향을 평가하였다. 또한 ascorbic acid의 산화 방지를 위해 리포솜 제조시 항산화제로 butylated hydroxytoluene(BHT), α -glycosyl rutin(α G-rutin)과 tertiary butylhydroquinone(TBHQ), natural concentrated tocopherol(nc-tocopherol)을 사용하였다. 사용된 항산화제와 보관 온도가 ascorbic acid가 봉입된 리포솜에 미치는 영향을 통하여 항산화 작용을 비교, 평가하여 우수한 항산화제를 제시하고자 한다.

2. 이 론

2.1 Ascorbic acid(ascorbic acid)의 산화

Ascorbic acid(L-ascorbic acid)는 γ -lactone과 유사한 구조로 불안정하고 빛, 공기(산소), 물, 열 등의 영향을 받아 쉽게 산화되어 dehydroascorbic acid가 된다^{13,14}.

Ascorbic acid의 산화반응은 대개 연속적인 두 개의 전자전이과정(electron transfer process)인 수소 이온의 해리로 인해 ascorbic acid의 산화 중간체(intermediate)인 dehydroascorbate radical이 만들어지며 이는 반응성이 풍부하고 그 자체가 2분자로 반응해서 1분자의 ascorbic acid와 1분자의 dehydroascorbic acid를 생성한다¹⁵⁻¹⁸. 항산화제는 이 때 생성된 dehydroascorbate radical과 반응하여 유리기(radical)를 환원시키므로 산화반응을 억제한다. Ascorbic acid의 산화반응은 가역적이며 ascorbic acid의 산화형인 dehydroascorbic acid 역시 비타민으로서의 생리적 활성을 가지고 있다. 하지만 dehydroascorbic acid는 쉽게 가수분해되어 2,3-diketo-L-gulonic acid가 만들어지는데 이는 카르복시기의 이웃에 2개의 C=O기를 갖기 때문에 그 감응(感應)효과로 인해 일반적인 카르본산보다 해리되기 쉬우며 C=O기의 결합각(120°) 때문에 원자간 위치의 자유도가 작은 락톤환을 생성하기 어렵다. 따라서 비가역적으로 분해되어 L-lyxosic acid와 L-xylosic acid가 생성되는데 이들은 ascorbic acid로서의 생리적 활성을 잃어버린 상태이다¹⁹.

Fig. 2에 항산화제의 유리기에 대한 환원작용을 나타내었으며, Fig. 3^{20,21})에는 ascorbic acid의 산화, 분해과정을 나타내었다.

3. 실험 '험

3.1 실험재료

리포솜은 lecithin(Emulmetik 950, Lucas Meyer, Hamburg, Germany)을 사용하여 제조하였다. Emulmetik 950은 hydrogenated 레시틴으로 phosphatidylcholine(PC)가 94.0%이상 포함되어 있다. Ascorbic acid는 BASF Korea로부터 공급받았으며, propylene glycol(PG)는 Shinyo Pure Chem. Co.(Japan)에서, ethanol(EtOH)은 Duksan Pure Chem. Co.(Korea)에서 medium chain triglyceride(MCT)는 Inolex Chemical(U.S.A.)에서, macadamia oil은 N.O.I. (U.S.A.)에서 구입하여 사용하였다.

리포솜의 이중막 강화제로는 cholesterol(Chol.)과 β -sitosterol을 사용하였다. Chol.은 Nippon Chem.(Japan)에서 공급받았으며, β -sitosterol은 American Ingredients(U.S.A.)로부터 공급받아 사용하였다(Table 1). 모든 시약은 분석용 시약을 사용하였으며 물은 2차 증류수를 사용하였다.

산화를 방지하는 항산화제는 butylated hydroxytoluene(BHT), α -glycosyl rutin(α G-rutin), tertiary butylhydroquinone(TBHQ) 및 natural concentrated tocopherol (nc-tocopherol)을 사용하였으며 제조회사와 구조식을 Table 2에 나타내었다.

3.2 실험방법

3.2.1 Lecithin paste의 제조

Lecithin(Emulmetik 950)에 EtOH, MCT, PG 및 증류수를 넣은 혼합물을 homogenizer (Dasan, Korea)로 65°C, 3000rpm에서 10분간 균질화하였다. 균질화된 lecithin mixture는 Microfluidizer(M-110Y, Microfluidics Co. U.S.A.)로 65°C, 500bar에서 1회 통과시켜 lecithin paste를 제조하였다.

3.2.2 리포솜의 제조

3.2.2.1 Ascorbic acid가 봉입된 리포솜의 제조

Lecithin paste(50w/w%)에 ascorbic acid(3w/w%)와 증류수(27w/w%)를 넣고 500bar에서 3회 통과시켜 1차 리포솜을 제조하였다. 제조된 1차 리포솜에 chol.이나 β -sitosterol의 농도를 0.1, 0.3, 0.6%로 다르게 하여 macadamia oil(20w/w%)과 함께 넣은 후 다시 500bar에서 3회 통과시켜 2차 리포솜을 제조하였다. 제조시 온도는 65°C로 일정하게 유지하였다. 제조된 2차 리포솜은 25°C에서 차광하여 보관하였으며, ascorbic acid의 산화방지를 위하여 진공용기를 사용하였다. 보관시 진공용기의 head space가 생기지 않도록 하였으며 시간에 따른 리포솜의 크기와 봉입된 ascorbic acid의 양변화를 측정하였다.

3.2.2.2 Ascorbic acid와 항산화제가 포함된 리포솜의 제조

수용성 항산화제가 함유된 리포솜은 lecithin paste(50w/w%)에 α -G-rutin이나 TBHQ의 농도를 각각 0.05, 0.1, 0.2w/w%로 하여 ascorbic acid(3w/w%)와 증류수(27w/w%)를 넣고 500bar에서 3회 통과시켜 1차 리포솜을 제조하였다. 다시 1차 리포솜에 macadamia oil (20w/w%)를 넣고 500bar에서 3회 통과시켜 2차 리포솜을 제조하였다.

유용성 항산화제가 함유된 리포솜은 lecithin paste(50w/w%)에 ascorbic acid(3w/w%)와 증류수(27w/w%)를 넣고 500bar에서 3회 통과시켜 1차 리포솜을 제조하고 이 때 제조한 1차 리포솜에 항산화제인 BHT나 *nc*-tocopherol의 농도를 각각 0.05, 0.1, 0.2(w/w)%로 하여 macadamia oil(20w/w%)과 함께 넣고 500bar에서 3회 통과시켜 2차 리포솜을 제조하였다. 제조시 온도는 65℃로 일정하게 유지하였다. 제조된 리포솜은 4, 25, 35℃에서 각각 차광하여 진공용기에 보관하면서 봉입된 ascorbic acid의 시간에 따른 양변화를 측정하였다.

3.2.3 리포솜의 물리적 안정성 평가

제조된 리포솜의 안정성 평가를 위해 동적광산란법(dynamic light scattering method, DLS)²²⁻²⁵⁾을 이용하여 리포솜의 크기를 측정하였다.

측정에 사용된 광산란 장치는 Malvern system(Malvern PCS 4700, Malvern Instruments, U.K.)으로 파장이 633nm인 50mW He-Ne laser(Siemens, LGK 7626)와 PMT(PCS100), stepmotor controller(PCS7), correlator(K7032ES), pump/filter unit(PR98), temperature controller (PCS8)로 구성되어 있으며, 광산란 데이터는 Malvern 4700 software로 분석하였다. 또한 측정 온도는 25℃로 일정하게 유지하였으며 측정 각도는 90°로 설정하였다. 입자의 크기 측정은 3회 실시하여 평균값을 취하였다.

3.2.4 Titration method

Ascorbic acid의 양변화는 titration method²⁶⁾로 측정하였다.

Liposome 1ml에 1N NaCl 용액 49ml을 가하여 50ml의 시료용액을 만든 후 0.1N 요오드액으로 적정하였다. 지시약으로는 전분시액 1ml를 사용하였다. Ascorbic acid의 양은 아래 식에 의하여 계산하였다.

$$0.1N \text{ 요오드액 } 1ml = 8.806mg \text{ ascorbic acid}$$

4. 결과 및 고찰

4.1 리포솜의 안정성

Ascorbic acid를 봉입한 보다 안정한 리포솜을 만들기 위해 1차 리포솜에 sterol인 chol.을 각각 0.1, 0.3, 0.6(w/w%) 첨가하여 2차 리포솜을 제조하고 같은 방법으로 chol.대신에 β -sitosterol을 사용하여 2차 리포솜을 제조하여 리포솜의 안정성을 비교평가하였다.

리포솜의 물리적 안정성은 시간에 따른 입자의 크기 변화를 통해 관찰하였으며 봉입한 ascorbic acid의 시간에 따른 양변화를 통해 간접적으로 리포솜이 ascorbic acid의 안정화에 미치는 영향을 평가하였다. Fig. 4와 5에 리포솜의 크기 변화를 나타내었으며 Fig. 6과 7에 ascorbic acid의 경과시간에 따른 양변화를 각각 나타내었다.

Fig. 4에서는 chol.의 양변화에 따른 리포솜의 입자 크기 변화를 나타내었는데 chol.의 양이 증가함에 따라 리포솜의 크기 역시 약간 증가함을 보이지만 30일이 경과하여도 크기는 별다른 변화를 보이지 않았다. 따라서 chol.이 생체막과 유사하게 리포솜의 이중막에 끼어 들어 이중막 강화에 영향을 주는 것으로 생각된다. Chol.을 포함하지 않은 리포솜의 크기가 계속 증가함을 보이는데 이는 표면적을 작게 하여 안정해지려는 리포솜 입자의 회합(aggregation)으로 인하여 입자 크기가 증가한 것으로 사료된다. Chol.이 0.3% 함유된 리포솜과 0.6% 함유된 리포솜의 경우 입자 크기가 증가하다가 시간이 지남에 따라 일정해졌는데 이는 이중막에서 chol.이 반발력(repulsive force)을 유발시키고 막의 rigidity를 강화시켜 막을 견고히 함으로써 이중막의 구조적 안정성을 증가시키기 때문이라는 발표와 비슷한 결과라고 해석할 수 있다^{27,28)}.

Fig. 5에서는 chol.과 유사한 구조인 β -sitosterol의 농도에 따른 리포솜의 크기 변화를 나타내었다. β -sitosterol 역시 리포솜 입자의 크기를 증가시켰으며 chol.과 같이 막 사이에 삽입되어 입자의 크기를 증가시키는 것으로 생각된다. 하지만 3일이 지난 후에는 chol.과는 달리 입자의 크기가 계속 증가하였는데 이는 β -sitosterol이 이중막에서 막의 구성물질인 인지질과의 결합력 부족으로 입자의 크기가 계속 증가된 것으로 사료된다. 리포솜의 크기는 280~550nm 정도로 chol.의 280~330nm와 비교할 때 상대적으로 크게 나타났는데 이는 β -sitosterol의 분자가 chol.에 비하여 크기 때문인 결과로 생각된다.

4.2 Ascorbic acid의 안정성 평가

Fig. 6과 7은 chol.이나 β -sitosterol의 농도에 따라 봉입된 ascorbic acid의 양의 경시변화를 나타낸 그림이다. Ascorbic acid의 수용액과 ascorbic acid를 봉입시킨 리포솜을 비교할 때 리포솜의 경우 ascorbic acid 수용액에 비하여 우수한 ascorbic acid의 안정성을 보였

다. 이는 수용액 중에서 ascorbic acid가 쉽게 산화, 분해되는데 비하여 리포솜은 ascorbic acid를 봉입하여 외부물질과의 접촉을 줄임으로써 산화와 분해를 억제하는 역할을 한 결과로 생각된다. 또한 chol.이나 β -sitosterol이 포함된 리포솜의 경우 chol.이나 β -sitosterol이 포함되지 않은 리포솜에 비하여 ascorbic acid의 손실이 적게 나타났는데 이는 chol.과 β -sitosterol이 막의 rigidity를 강화하여 봉입된 물질의 방출특성(permeability)에 영향을 줌으로서 더욱 안정한 리포솜이 형성된다고 사료된다.

4.3 항산화제 효과

리포솜 제조시 ascorbic acid의 산화방지를 위하여 항산화제인 BHT, α G-rutin, TBHQ 및 nc-tocopherol을 첨가하였는데 항산화제의 농도는 각각 0.05, 0.1, 0.2%로 하였다. 제조한 리포솜은 항온조건에서 보관하면서 시간경과에 따른 ascorbic acid의 양변화를 측정하였다. Fig. 8~11에 항산화제의 종류와 농도에 따른 ascorbic acid의 양변화를 나타내었다.

Fig. 8을 통하여 BHT가 포함된 리포솜이 ascorbic acid 수용액 또는 BHT를 가하지 않은 리포솜에 비하여 더 많은 ascorbic acid를 포함함을 알 수 있다. 35°C에서 14일이 지난 후 BHT의 농도에 관계없이 ascorbic acid의 양은 73.4%로 일정하였으며 4°C에서는 BHT의 농도가 0.05%일 때 ascorbic acid의 양이 73.4%이었으나 0.1%이상일 때에는 76.3%로 BHT의 농도에 상관없이 일정하였다. 이는 BHT가 0.1%이상에서는 더 이상 항산화효과가 증대되지 않는 것으로 해석할 수 있다. 또한 모든 농도에서 온도의 영향을 받지 않고 거의 비슷한 항산화 효과를 나타내었는데 이를 통하여 BHT는 적어도 4~35°C 정도에서는 비교적 열에 안정적인 효과가 있다고 할 수 있다.

Fig. 9과 10은 수용성인 α G-rutin과 TBHQ가 함유된 리포솜에서 ascorbic acid의 양변화를 각각 나타낸 그림으로서 두 항산화제 역시 ascorbic acid에 대하여 좋은 항산화 효과를 보이고 있다. 천연 추출물인 rutin의 난용성을 개선한 α G-rutin은 모든 농도에서 온도에 관계없이 ascorbic acid의 양이 76.3%로 일정하게 나타났다. 이는 0.05%이하의 농도에서도 α G-rutin이 항산화 효과를 갖는다고 할 수 있다.

TBHQ는 4, 25°C에서 각각 14일이 지난 후 농도에 관계없이 ascorbic acid의 양은 82.2%로 일정하였으며 35°C에서는 ascorbic acid의 양이 76.4%로 4, 25°C에 비하여 적게 나타났는데 이는 TBHQ가 열에 불안정하여 항산화효과의 감소를 나타낸 것으로 사료된다.

Fig. 11은 nc-tocopherol의 항산화 효과를 나타낸 그림으로 nc-tocopherol의 경우 14일이 지난 후 25, 35°C에서 농도에 관계없이 거의 비슷한 산화억제효과를 보임을 알 수 있다.

온도에 따른 ascorbic acid의 안정성은 35°C보다는 4°C에서 비교적 좋은 결과를 얻었다. 이는 ascorbic acid의 산화반응에서 반응을 가속시키는 요인인 빛과 공기를 차단시킨 상태에서 열이 가속화 요인으로서 작용했기 때문으로 생각된다.

전체적으로 항산화제가 포함된 리포솜의 경우 항산화제가 포함되지 않은 리포솜에 비하여 봉입된 ascorbic acid의 손실이 적었다. Ascorbic acid에 대한 산화억제효과는 tertiary butylhydroquinone, α -glycosyl rutin, butylated hydroxytoluene, natural concentrated tocopherol 순으로 우수함을 보였다.

α G-rutin과 TBHQ는 유사한 산화억제 효과를 나타내었으며 nc-tocopherol과 BHT는 α G-rutin, TBHQ에 비하여 항산화 효과가 비교적 작게 나타났는데 이는 polyphenol류인 α G-rutin과 TBHQ가 ascorbic acid의 유리기인 dehydroascorbic acid를 환원시키는 hydroxy기를 분자 내에 많이 포함하기 때문에 나타난 결과로 사료된다.

5. 결 론

Ascorbic acid의 산화를 억제하기 위해 순수한 ascorbic acid를 봉입시킨 안정한 리포솜을 제조하고 봉입된 ascorbic acid의 산화방지를 위하여 항산화제를 사용한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

Cholesterol이나 β -sitosterol이 리포솜의 이중막을 강화하여 봉입한 ascorbic acid의 방출, 산화 및 분해를 억제함으로써 ascorbic acid의 안정화에 기여하였다. 또한 cholesterol의 농도가 0.3%인 경우 가장 안정한 리포솜이 생성되었다.

사용된 항산화제는 ascorbic acid에 대하여 모두 산화억제효과를 나타내었으며 tertiary butylhydroquinone, α -glycosyl rutin, butylated hydroxytoluene, natural concentrated tocopherol 순으로 우수함을 보였다. 합성 항산화제인 tertiary butylhydroquinone에 비하여 산화방지 효과에서는 다소 떨어지지만 천연물질에서 추출한 항산화제인 α -glycosyl rutin이 제약 및 화장품에 사용되는 ascorbic acid의 산화억제에는 더 적합할 것으로 생각된다.

참 고 도 서

1. Seifter, *The biochemical functions of ascorbic acid in Ann. Rev. Nutril*, 1986, **6**, 365-406.
2. Hollis, L. S., Amudsen, A. R., Stern, E. W., *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 274.

3. Sapper, H., Kang, S. O., Paul, H. H., Lohmann, W., *Naturforsch, Z., C. Biosci.*, **37C**, 1982, 129.
4. Cort, W. M., *Antioxidant properties of ascorbic acid in foods*, in : P. A. Seib, B. M. Tolbest(Eds.), *Ascorbic Acid Chemistry, Metabolism and Uses*, *Adv. Chem. Ser.*, American Chemical Society, Washington DC, 1982, **200**, 531.
5. Candau, Didier, Collin, Nathalie, *U. S. Patent 5,629,004*, 1997.
6. Bangham, A. D. & Horn, R. W., *J. Mol. Biol.*, 1964, **8**, 660-668.
7. Papahadjopoulos D. Ed., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1978, **308**, 1-412.
8. New. R. R. C, in : *Liposome - A Practical Approach*, IRL Press, Oxford, New York, 1990, 33.
9. Thoma, K., Schmid, A., *J. Pharm. Biopharm. Eur.* : Liposome as carriers for poorly soluble drugs in injectable solutions, 1992, **38**, 61.
10. Talsma, H., Crommelin, D. J. A., *Liposomes as drug delivery systems. Part I : Preparation. Pharm. Techn. Intern.*, 1992, **11**, 24.
11. Lasic, D. D., *Liposome From Physics to Application*, Elsevier, Amsterdam, 1993.
12. Lasic, D. D. , *Biophys. Biochim. Acta.*, 1982, **692**, 501.
13. King, D. I., Hahm, T. S. and Min, D. B., *Der. Food Sci.*, 1993, **33**, 629-705.
14. Carceles, M. F., *Thèse Sciences*, Soha-Antipolis, Nice, 1995.
15. Williams, N. H. and Yandell, J. K., *J. Chem.*, 1982, **35**, 1133.
16. Macartney, D. H. and N. Sutin, *Inorg. Chim. Acta.*, 1983, **74**, 221.
17. Imonigie, J. A. and Macrtney, D. H., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1993, 891.
18. Joddenbagh, J. M. A. and Macartney, D. H., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1990, 615.
19. Staudinger, H., Krisch, K., Leõnhausner, S., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1961, **92**, 195.
20. Yamazaki, I., Mason, H. S., Pietle, L. H., *J. Biol. Chem.*, 1960, **235**, 2444.
21. Kagawa, Y., Takiguchi, H., Shimazono, N., *Biochim. Biophys. Acta.*, 1961, **51**, 413.
22. F. Olson, C. A. Hunt, F. C. Szoka, W. J. Vail, and D. Papahadjopoulos, *Biochem. Biophys. Acta.*, 1978, **557**, 9.
23. D. D. Lasic, *Liposome From Physics to Application*, Elsevier, Amsterdam, 1993.
24. D. D. Lasic, *Biophys. Biochim. Acta.*, 1982, **692**, 501.
25. New. R. R. C, in : *Liposome - A Practical Approach*. IRL Press, Oxford, New York 1990, 33.

26. 한국약학대학협의회 약전분과회, *대한약전*, 문성사, 1987, 331-332.
27. Lis, L. J., McAlister, M., Fuller, N., Rand, R. P., Parsegian, V. A., *J. Biophys.*, 1982, 37, 657.
28. Gregoriadis, G., *Liposome as drug carriers, recent trends and progress*, John Wiley and Sons, New York, 1988.

Table 1. The Chemical Formula of Cholesterol and β -sitosterol

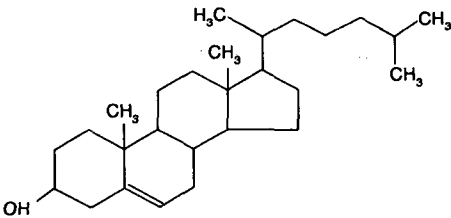
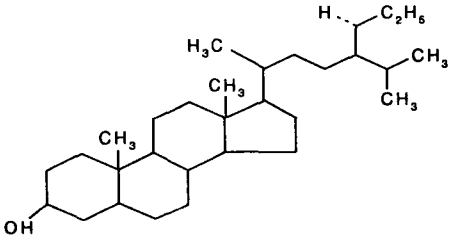
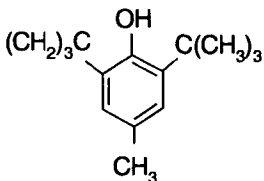
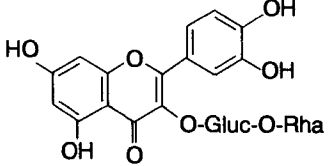
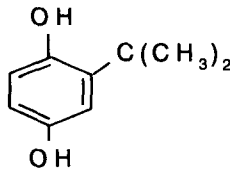
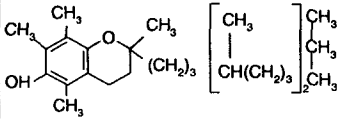
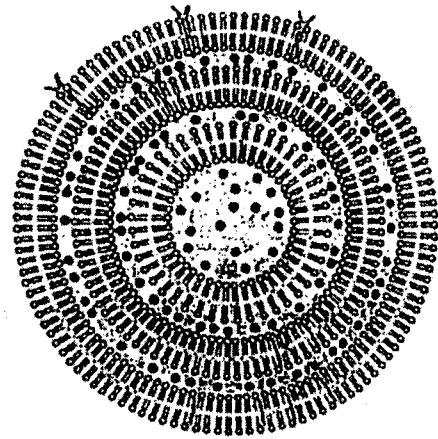
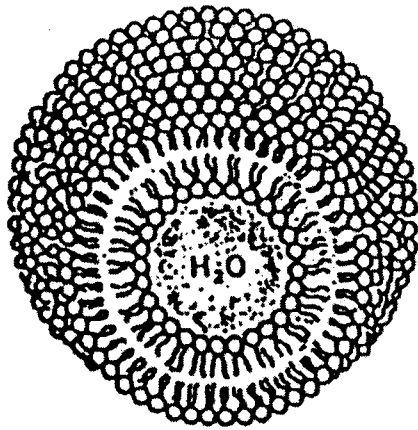
	Chemical formula	Maker
cholesterol (chol.)		Nippon Fine Chem. Japan
β -sitosterol		American Ingredients U. S. A.

Table 2. The Chemical Formula of Antioxidants

Antioxidant	Chemical formula	Maker
butylated hydroxy toluene (BHT)		Eastman U.S.A
α -glycosyl rutin (α G-rutin)		Toyo sugar refining co. LTD. Japan
tertiary butyl hydroquinone (TBHQ)		Eastman U.S.A
natural concentrated tocopherol (nc-tocopherol)		LIBiol France



- ∇ = Lipophilic active ingredients
- = Hydrophilic active ingredients
- ⊎ = Phosphatidylcholine

unilamellar

multilamellar

Fig. 1. Structure of unilamellar and multilamellar liposome.

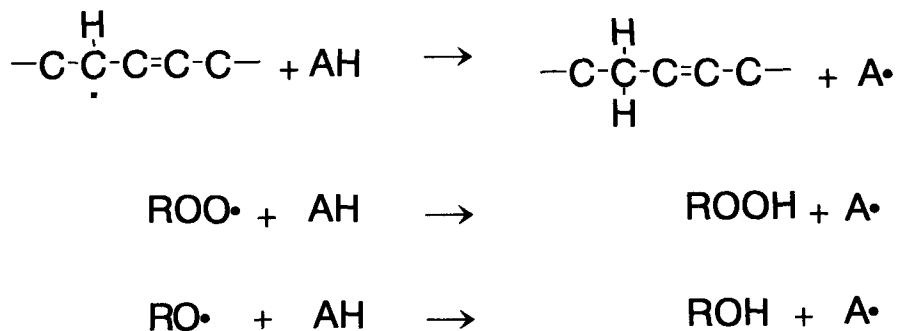


Fig. 2. The function of antioxidant for free radicals.
(AH : antioxidant, R : alkyl group)

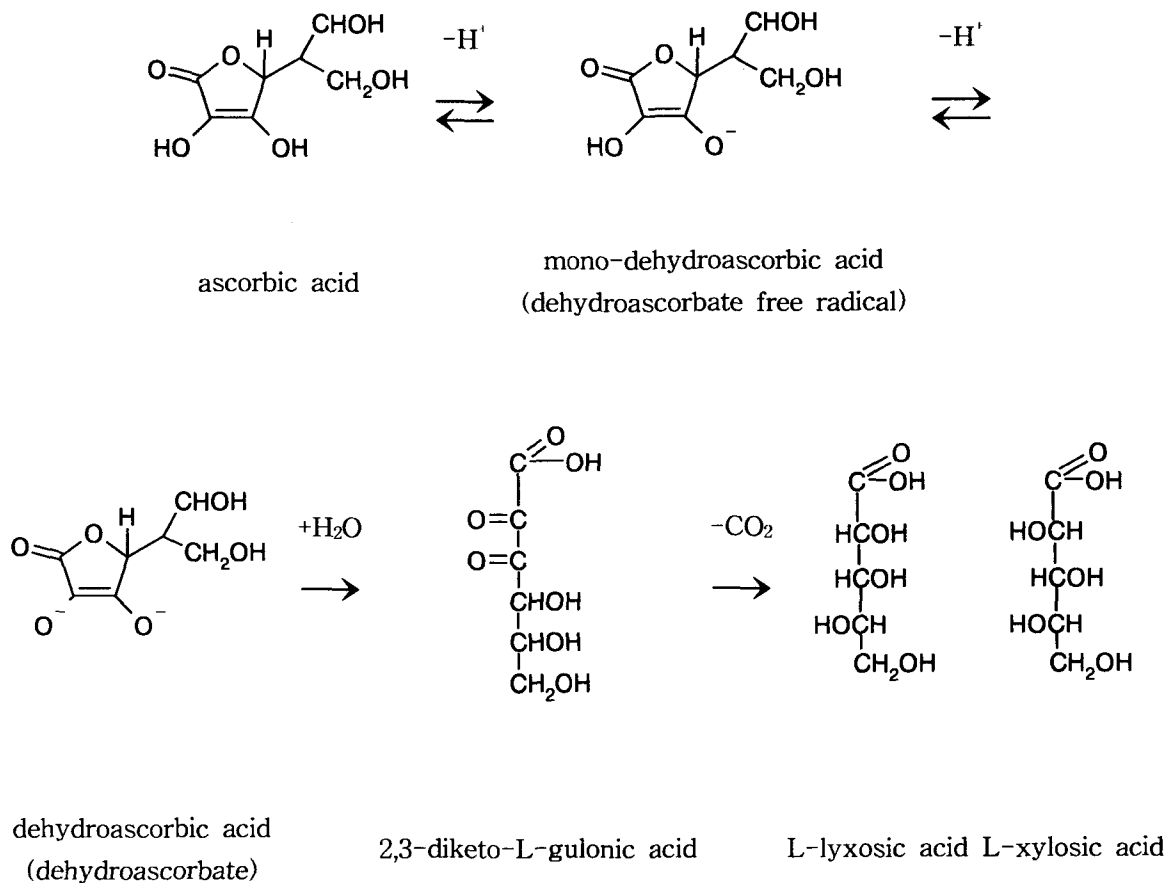


Fig. 3. The oxidation and degradation of ascorbic acid(vitamin C).

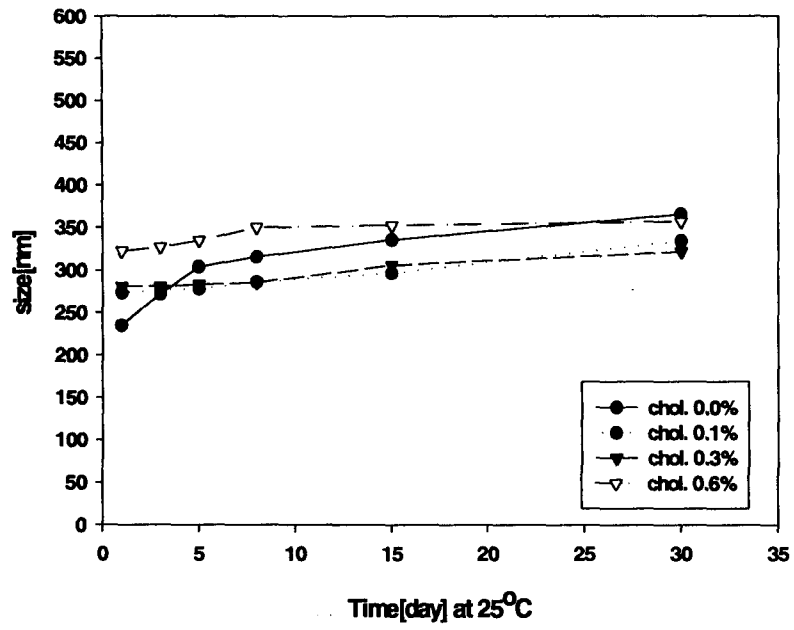


Fig. 4. The size of liposome prepared from different amount of cholesterol.

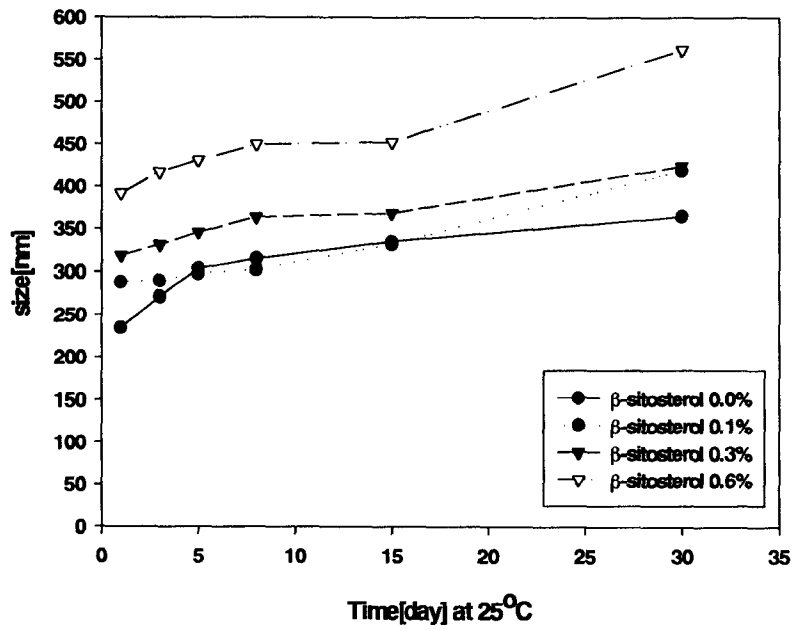


Fig. 5. The size of liposome prepared from different amount of β -sitosterol.

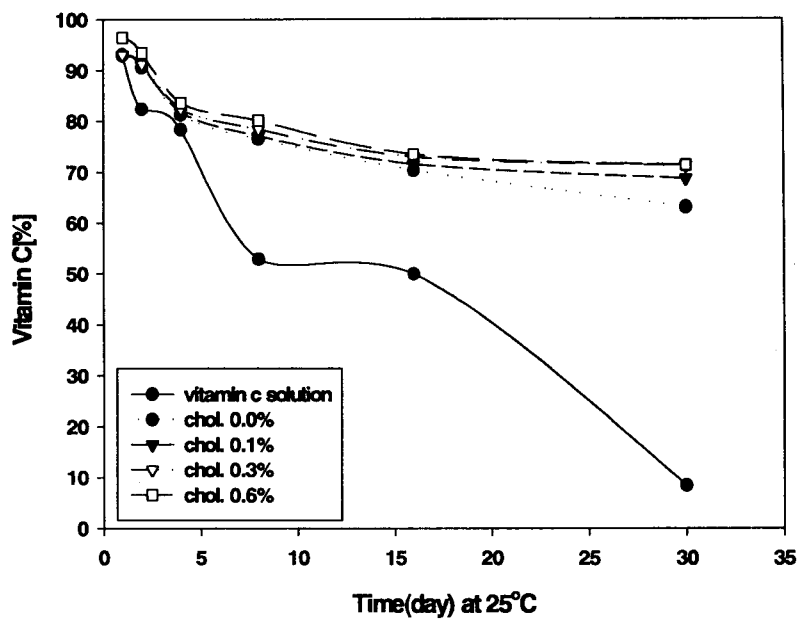


Fig. 6. The residual amount of vitamin C in liposome prepared from different amount of cholesterol.

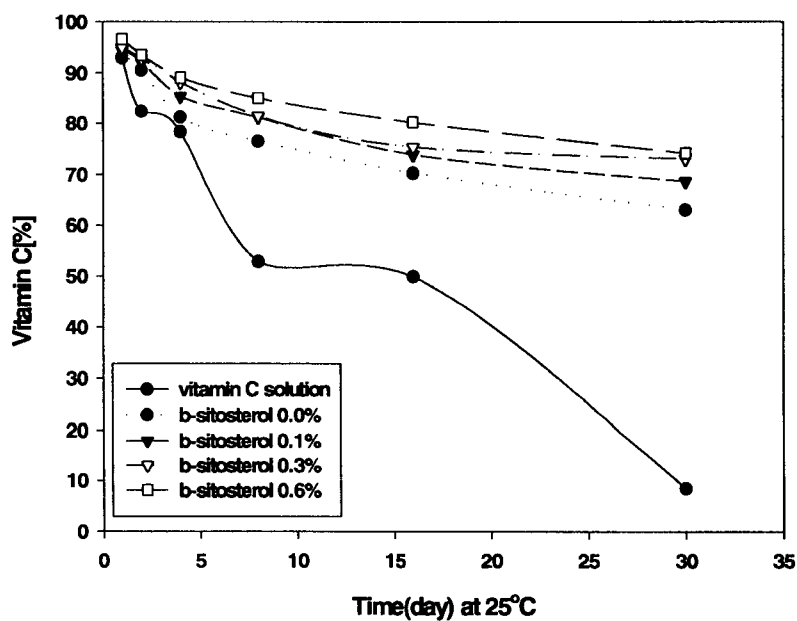


Fig. 7. The residual amount of vitamin C in liposome prepared from different amount of β -sitosterol.

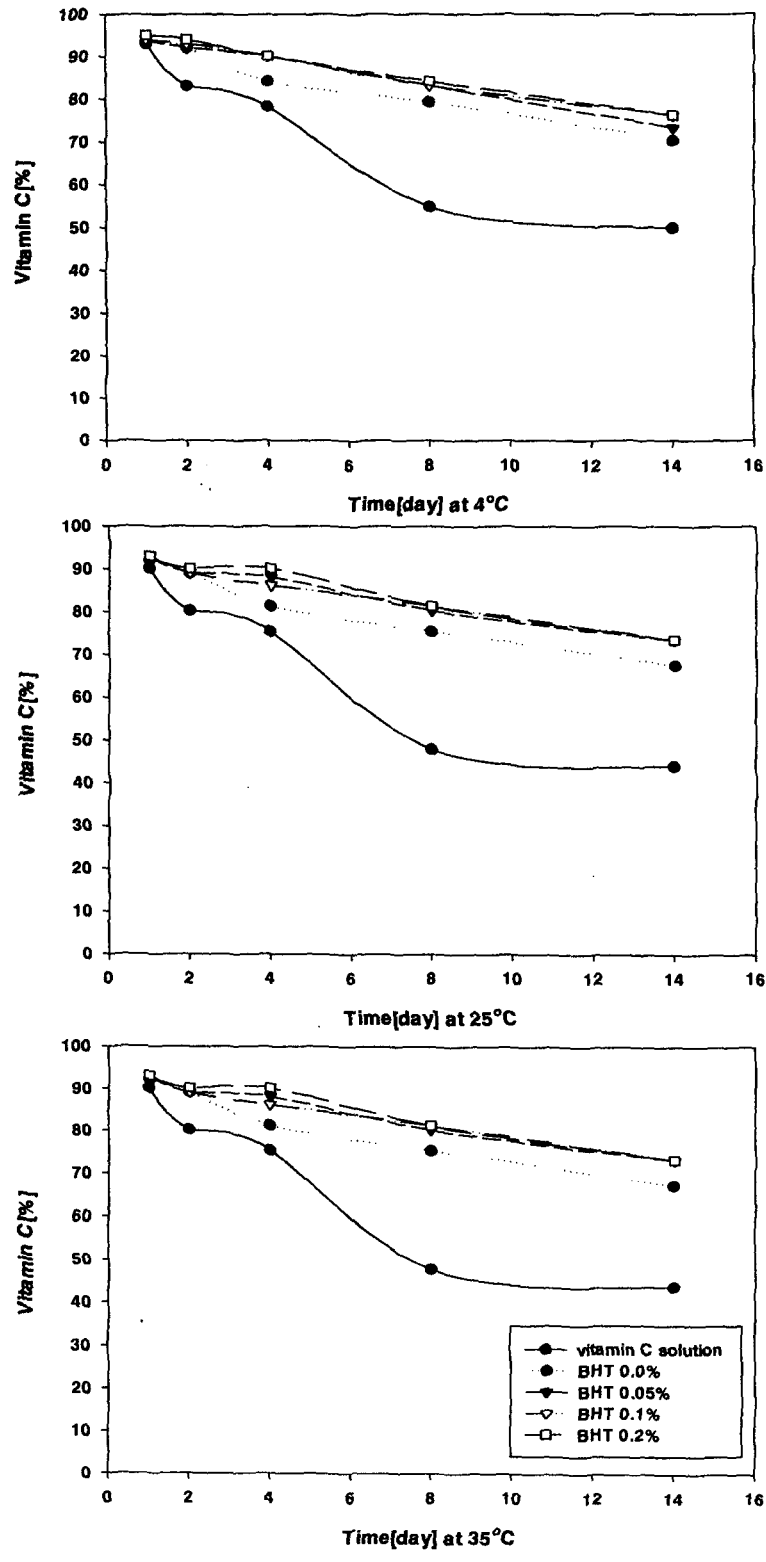


Fig. 8. The residual amount of vitamin C in liposome prepared from different amount of BHT(butylated hydroxytoluene) at 4, 25, 35°C.

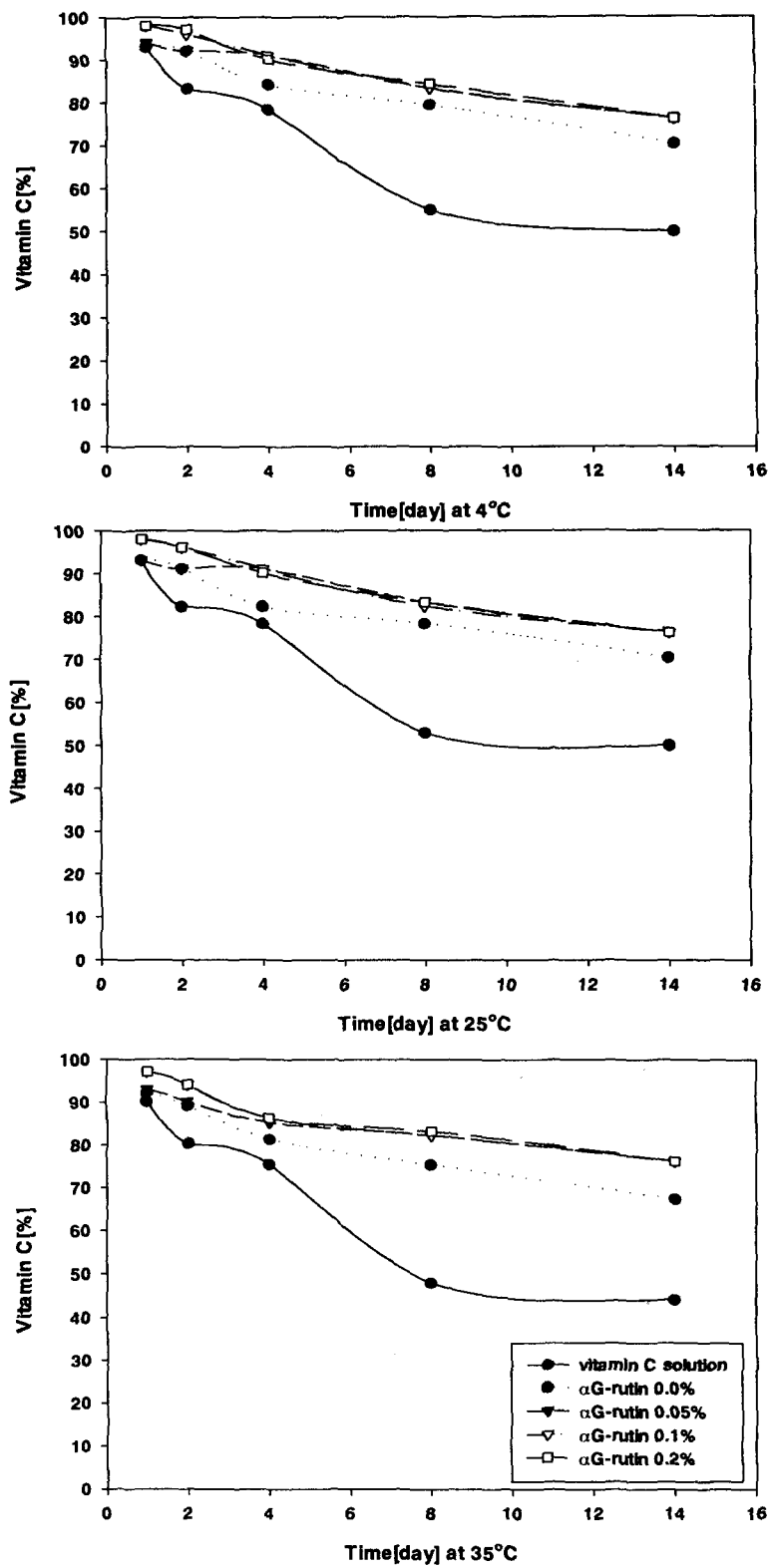


Fig. 9. The residual amount of vitamin C in liposome prepared from different amount of α G-rutin(α -glycosyl rutin) at 4, 25, 35°C.

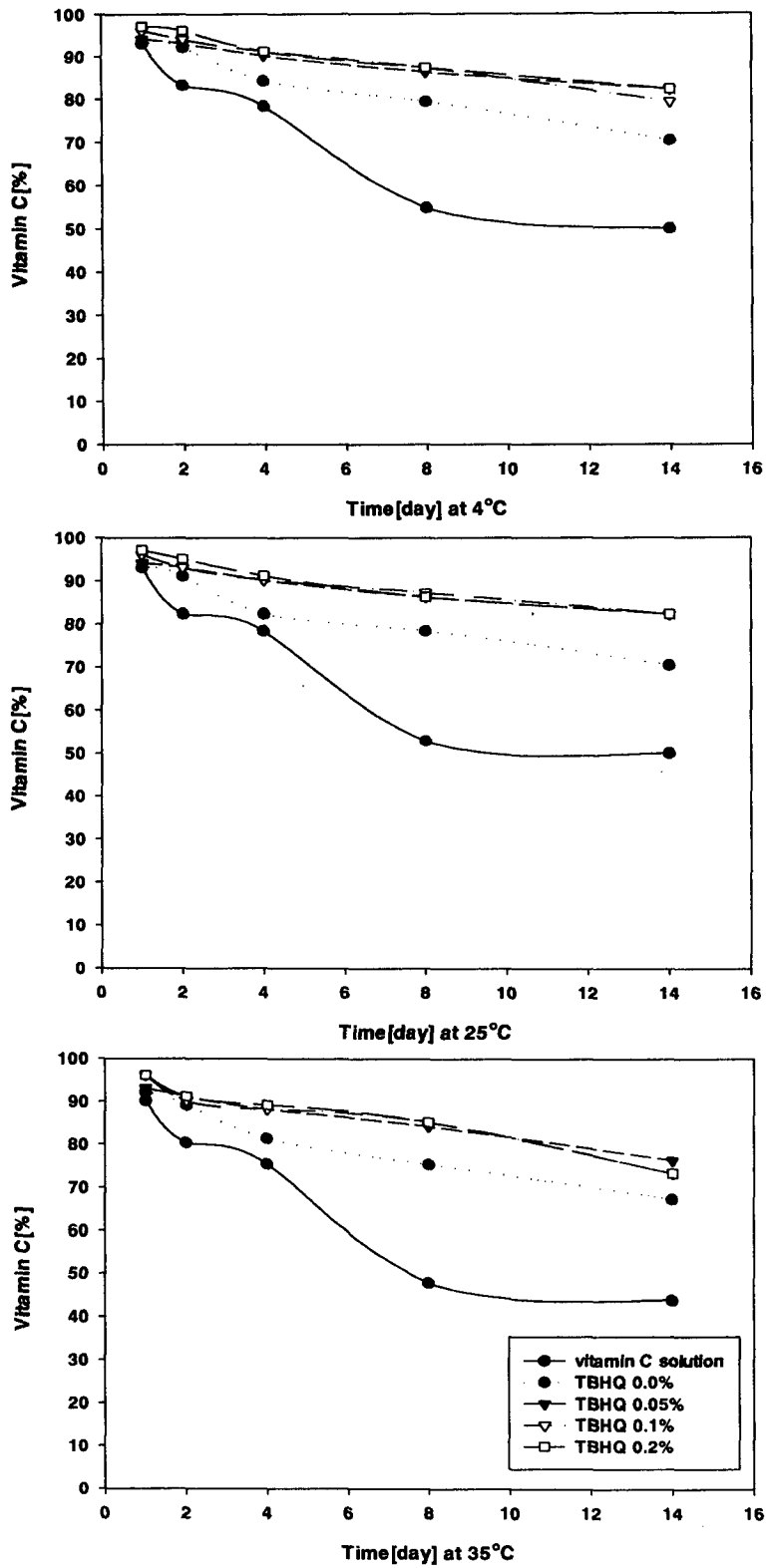


Fig. 10. The residual amount of vitamin C in liposome prepared from different amount of TBHQ(tertiary butylhydroquinone) at 4, 25, 35°C.

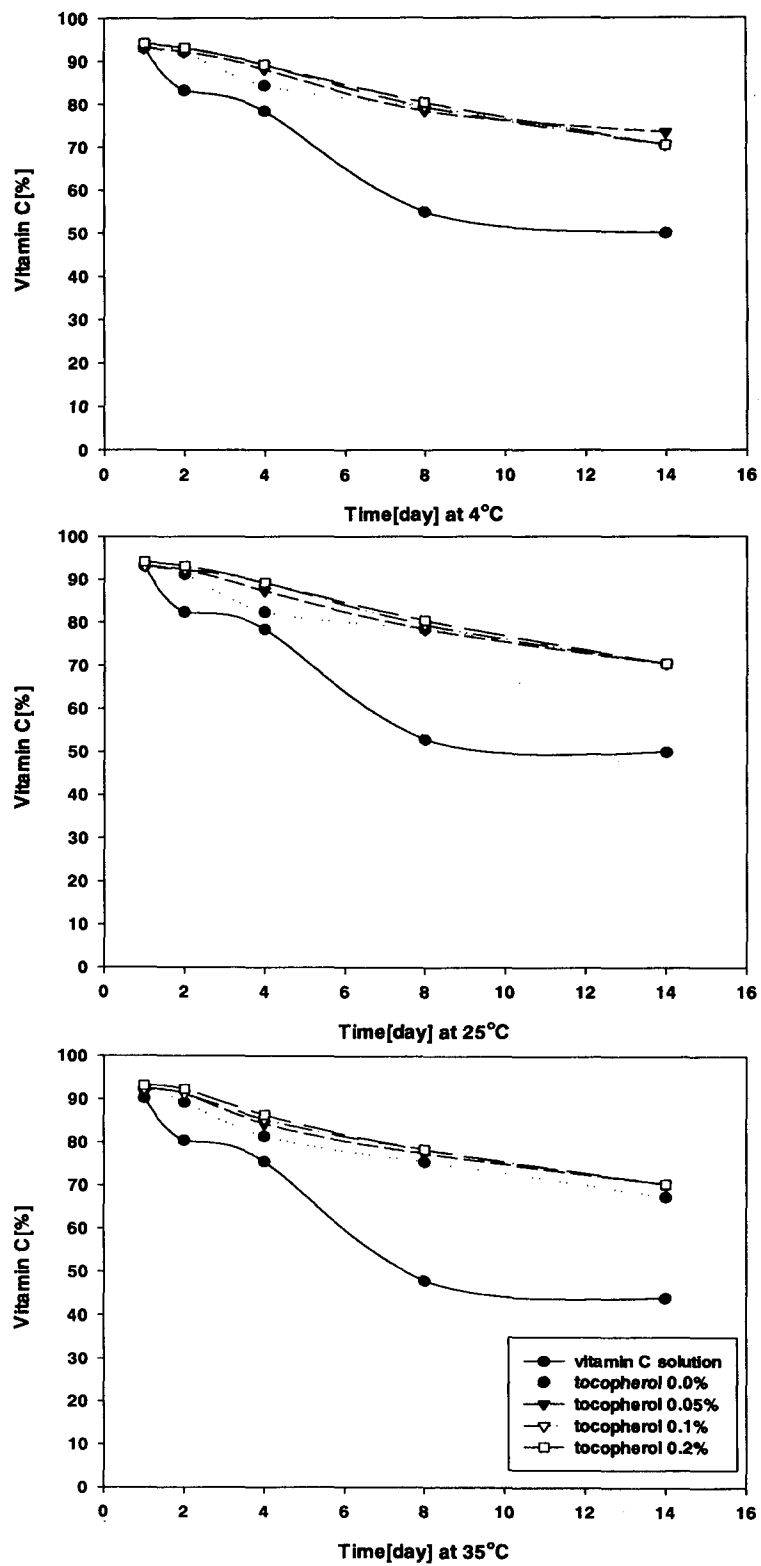


Fig. 11. The residual amount of vitamin C in liposome prepared from different amount of nc-tocopherol(natural concentrated tocopherol) at 4, 25, 35°C.