

Azelaic Acid 함유 밀크 나노분말과 여드름 나노화장품을 위한 나노캡슐의 최적화 공정

김 동 명[†] · 최 지 은* · 김 덕 훈* · 이 준 탁*

서울대학교 자연과학대학, *인타글리오(주) 기술연구소
(2011년 2월 10일 접수, 2011년 2월 20일 수정, 2011년 3월 7일 채택)

Optimization of Nanoencapsulation Process for Azelaic Acid-Milk Nano Powder and Acne Nanocosmetics

Dongmyong Kim[†], Jieun Choi*, Duckhoon Kim*, and Juntack Lee*

Division of Nanobio Science, College of Natural Science, Seoul National University,
599 Gwanak-ro, Gwanak-gu, Seoul 151-742, Korea

*Intaglio Inc., R&D Center

(Received February 10, 2011; Revised February 20, 2011; Accepted March 7, 2011)

요약: 여드름 나노화장품(nanocosmetics) 개발을 위하여 azelaic acid-milk nano powder의 nanoencapsulation을 fluid-bed processor로 중심합성계획에 따라 유입공기온도(60 ~ 80 °C), 분무속도(0.5 ~ 0.9 mL/min) 및 분무압력(1.2 ~ 2.0 kg/cm²)을 달리하여 나노캡슐(nanoencapsule)을 제조하고, 나노캡슐의 품질특성을 조사하여 회귀분석을 실시하였다. 나노캡슐의 예측된 수율의 최대값은 70.97 %로 수율은 유입공기온도, 분무속도 및 분무압력 에 의해 크게 영향을 받고 있었다. 시료의 입자 크기는 유입공기온도가 높고 분무속도가 빠르며, 분무압력이 낮을수록 커지는 것으로 나타났고, 생리식염수에서 나노캡슐의 용출율은 모두 유입공기온도 및 분무속도에 의해서 가장 많은 영향을 받고 있었다. 수분함량은 분무 속도가 증가하고 분무압력이 높아질수록 증가하였고, 수분활성도는 수분함량과 유사한 경향을 나타내었다. 기계적 색도인 L값과 b값은 유입공기온도가 높아질수록 증가하였다. 수율이 높고 입자크기가 작으며, 피부적합성 나노캡슐 제조의 최적조건은 유입공기온도 67 ~ 73 °C, 분무속도 0.6 ~ 0.8 mL/min 및 분무압력 1.8 ~ 2.0 kg/cm² 범위로 예측되었다. 이상의 예측범위 내의 임의의 점에서 실제 실험한 실험치는 반응표면분석법에 의해 예측된 값과 유사한 경향을 보여 도출된 회귀식의 신뢰성을 검증할 수 있었다.

Abstract: The conditions in fluid-bed processor for nanoencapsulation of azelaic acid-milk nano powder for acne nanocosmetics were optimized by response surface methodology (RSM). The maximum value of yield was 70.97 %. The yield was appreciably influenced by inlet air temperature, atomizing pressure, and feeding speed. The particle size increased with an increase in the feeding speed and a decrease in the atomizing pressure. The elution rate in saline solutions was appreciably influenced by inlet air temperature and atomizing pressure. The moisture content increased with higher atomizing pressure, which was demonstrated to be similar to the nanoencapsulation characteristics related to water activity. The Hunter's L and b values increased with an increase in the inlet air temperature. The optimum conditions estimated by RSM for the maximized values of yield, moisture content, particle size and elution rate in skin suitability were 67 ~ 73 °C of inlet air temperature, 0.6 ~ 0.8 mL/min feeding speed and 1.8 ~ 2.0 kg/cm² of atomizing pressure, respectively. These estimated values were in agreement with those measured by real experiments.

Keywords: acne, nanoencapsulation, azelaic acid-milk mixture, response surface methodology (RSM), fluid-bed processor

[†] 주 저자 (e-mail: biohub@paran.com)

1. 서 론

여드름은 주로 사춘기 남녀에 발생하며 면포, 구진, 농포, 낭종 및 결절 형성을 특징으로 하는 모낭 피지선의 만성 염증성 질환이다. 주로 안면부에 구진, 면포, 농도 등이 발생하며 심한 경우에는 낭종, 결절 등이 발생할 수 있다. 여드름은 너무 흔히 발생되기 때문에 증상이 경한 경우에는 사춘기에 나타나는 생리적인 현상 정도로 생각하고 치료를 안 하는 경향이 있다. 그러나 증상이 심하거나 환자의 성격이 예민한 경우 매우 심한 정신적 육체적인 고통을 겪게 되고, 앓고 난 후에 보기 싫은 반흔이 남을 염려가 있기 때문에 적절한 치료가 필요하다[1].

여드름은 병변에 직접 시행하는 국소치료와 약제를 복용하는 전신치료로 나누는데 국소 또는 전신치료제들은 여드름의 형태와 각 단계에 따라 단독으로 또는 복합적으로 사용한다. 국소치료제로는 합성비타민 A 연고, Benzoyl peroxide, 항생제 연고, 스테로이드 연고, azelaic acid 등이 있고 전신치료제로는 경구항생제, 호르몬제, 합성 비타민 A 제제 등이 있다[1,2].

아젤라익산(azelaic acid; Figure 1)은 한 분자 내에 카르복실기(-COOH)를 2개 갖고 있는 디카르복실산(dicarboxylic acid)으로 밀(wheat), 호밀(rye), 보리에 함유되어 있으며, 피부 위에 상재하는 진균의 일종인 *Pityrosporum ovale*에 의해 생성되기도 하는 천연물질이다. 이 물질을 20% 함유하는 크림을 환부에 바르면 여드름 등의 피부질환에 유효한 효과가 있다. 이 물질은 모발의 성장을 촉진하는 것으로도 알려져 있다. 아젤라익산은 모낭(hair follicle) 안에서 여드름균(*Propionibacterium acnes*) 및 피부 포도상구균(*Staphylococcus epidermidis*) 등의 세균 증식을 억제한다. 또한 불필요한 각질세포의 제거(keratolytic)와 여드름 면포의 용해(comedolytic) 각질세포의 이상 증식으로 두텁게 쌓인 불필요한 각질을 벗겨내며, 면포를 덮고 있는 각질을 제거하여 여드름이 치료되도록 도와주며 과산화물을 제거하고, 염증을 완화시켜 준다. 그 밖에 피부의 착색을 완화시켜 이상착색으로 피부에 기미 등의 반점이 있는 환자에게 특히 유효하며, 여드름 후유증으로 피부에 남는 갈색 점에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 아젤라익산을 사용한 부위가 지나치게 탈색되어 저색소침착증(hypopigmentation)에 걸린 사례가 보고되어 있다. 아젤라익산은 피부색이 검은 사람들에게 대한 임상연구가 아직 불충분하기 때문에 저색소침착증의 징후가 나타나는지를 잘 관찰하면서 조심스럽게 사용하여야 한다. 그래서 아젤라익산을 20% 이상 함유하는 제품은 피부에 자극

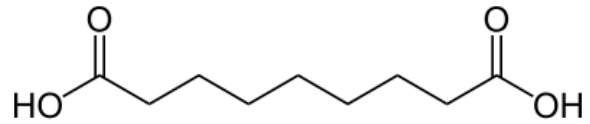


Figure 1. Chemical structure of azelaic acid. It is a saturated dicarboxylic acid found naturally in wheat, rye, and barley. It is a natural substance that is produced by *Malassezia furfur* (also known as *Pityrosporum ovale*), a yeast that lives on normal skin. It is effective against a number of skin conditions, such as mild to moderate acne, when applied topically in a cream formulation of 20%.

을 줄 수 있으므로 의사의 지시에 따라 사용하여야 하며 피부에 서서히 흡수 용출될 수 있는 나노캡슐로 안정화해야 할 필요성이 있다[3].

국내에서 아젤라익산을 약리적인 물질로 사용한 여드름 치료제는 한국 세링에서 판매하고 있다. 제형은 아젤라익산 20%를 마이크로 에멀전 제형으로 판매하고 있으며 그 외에도 동일 성분의 제품으로는 유유제약의 니트망(Neatman[®]), 디올라(Diola[®]), 경남제약의 레오날(Reonal[®]), 아세라인(Aceline[®]), 아제린(Azellin[®]), 아크니스(Acness[®]) 등이 판매되었던 적이 있으나 현재는 여러 가지 문제로 더 이상 생산이 되지 않고 있으며 나빌레나(Navillena[®]) 크림의 경우는 허가가 취하된 경우도 있다. 현재 판매되고 있는 제품은 세링사의 아젤리아(Agellia[®])가 유일하며 모두의약품으로 판매되고 있다. 이들 제품은 모두 propyleneglycol (PEG)에 분산된 마이크로 에멀전 제형으로 피부의 침투력이 떨어지고 피부의 친화력이 많이 떨어지는 문제점이 있다[4].

캡슐화기술(encapsulation technology)은 고체, 액체, 기체상의 물질을 차폐하거나 특정조건하에서 조절된 속도로 내용물을 방출할 수 있도록 어떤 물질이나 조직 내부에 포장하는 기술이다[5,6]. 나노 크기의 포장단위를 나노캡슐(nanocapsule)이라 하며 크기는 나노화장품(nanocosmetics)에서 100 nm 이하로 정의한다. 모양은 구형이 이상적이나 캡슐화되기 전 원래의 물질 구조에 따라 크게 영향을 받는다. 내부에 코팅되는 물질을 핵물질(core material), payload, active, internal phase, fill 등으로 부르는데 이 피부 부위는 두께와 층부에 따라 다양하게 분류된다[6-8].

나노캡슐화 기술은 기능성 성분 또는 약물 등의 불안정한 물질을 외부환경, 즉 빛 산소, 수분 등으로부터 보호하여 손실을 줄이고, 반응성이 큰 물질을 격리시키고, 독성, 냄새, 맛을 은폐시키며, 고형 화시켜 취급을 간편하게 하고, 내용물의 용출속도를 조절하는 등의 목적으로 이용되고 있

Table 1. Levels of Operating Conditions for Fluid-Bed Processor in Experimental Design for Nanoencapsulation of Antiacne Azelaic Acid-Milk Mixture

Xn	Operating condition	Level				
		-2	-1	0	1	2
X1	Inlet air temperature (°C)	60	65	70	75	80
X2	Feeding speed (mL/min)	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
X3	Atomizing pressure (kg/cm ²)	1.2	1.4	1.6	1.8	2.1

다. 그러나 나노화장품 분야에 있어서 나노캡슐의 이용은 나노화장품에 이용되는 피복물질이나 용매에 제약이 있고, 처리비용, 가능성 등을 고려하여 적절한 공정을 선택하는 것이 중요하다[6,7,9].

최근 아젤라익산을 주성분으로 한 제품들은 거의 PEG와 같은 합성고분자나 리보솜 같은 생체고분자에 분산된 마이크로 에멀전화한 제형으로 피부 침투력과 친화력이 많이 떨어지고 제형화하는데 문제점이 발견되었으며, 기존에 시판된 제품도 쉽게 산화되어 유통기간 내 변질을 초래하기 쉽다. 이로 인하여 아직까지 적당한 제품 소재로 보급되어 널리 활용되지 못하고 있는 실정이다[4].

본 연구에서는 이러한 문제점과 단점을 개선하기 위해 천연성분이면서 피부친화성과 침투력이 좋은 탈지분유(milk) 분말에 나노캡슐화 기술을 도입하였다. 이 기술은 여드름에 효과가 있는 azelaic acid-milk 분말소재의 기능적 특성을 그대로 유지하면서 아젤라익산의 물리화학적 성질을 개선하여 나노화장품의 품질 강화 및 사용 시 거부감 또는 이물감 등을 제거하는 기술로 중심합성 계획과 반응표면 분석을 활용하여 fluid-bed processor의 조건, 즉 유입 공기온도, 분무속도 및 분무압력에 따른 나노캡슐의 품질 특성을 모니터링 함으로써 새로운 azelaic acid-milk nano powder 및 여드름 나노화장품을 개발하고자 하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 실험재료

실험에 사용된 시료는 아젤라익산(azelaic acid, Sichuan Huamai Technology Co., Ltd, China)에 대해서 탈지분유(skim milk, 서울우유, 한국)를 1 : 5 (g/g)의 비로 혼합한 다음 -70 °C에서 동결 건조한 후 분쇄하여 평균입자 크기가 29.72 ± 0.3 nm인 것을 azelaic acid-milk nano powder로 선별하여 나노캡슐화하는데 시료로 사용하였다.

탈지분유 분말은 1차적으로 탈유당 탈지분유로 만들어 집단밀도를 높인 후 탈지분유의 입자보다 더 크게 팽윤시

켜 유당을 제거하였으며 구체적으로는 유액을 가열 및 교반하면서 칼슘염 용액을 첨가 후 응고유 알갱이와 상청액을 분리시킨 다음 상청액을 막 분리기술을 사용해 유당을 제거하였다. 유당이 제거된 다공성 구조의 탈지분유 분말은 2차적으로 아젤라익산 현탁액을 흡착건조시킨 후, 최대한 불규칙하고, 거칠고, 부푼 상태로 만들어 동결건조하면 부서지기 쉬운 상태의 동결건조분말이 형성된다. 2차 가공된 동결건조분말은 나노분쇄분급기(ZetaBeads[®], Netzsch-Condux Mahltechnik GmbH, German)로 분쇄 후 나노캡슐화 하는데 필요한 실험재료로 사용하였다.

2.2. Azelaic Acid-Milk Nano Powder의 나노캡슐화

Azelaic acid-milk nano powder의 나노캡슐화를 위해 fluid-bed processor(Miniglatt, Glatt, Germany)에 제조된 azelaic acid-milk nano powder 50 g을 넣고 예비건조를 위해 유입공기 온도 60 °C, 유출공기온도 40 °C에서 30 min간 미세분말의 예비건조를 실시한 후, 유동화 압력 0.4 kg/cm²에서 각각의 제조공정별로 코팅액을 분무시켜 캡슐화하였다. 이때 코팅액은 10 % Zein-DP (옥수수단백질, 풀림무약(주), 한국)를 사용하였으며, azelaic acid-milk nano powder와 코팅액의 비율은 1 : 2 (g/g)로 하였다.

2.3. Azelaic Acid-Milk Nano Powder의 나노캡슐화 공정 최적화를 위한 실험계획

Azelaic acid-milk nano powder의 나노캡슐화에 중요한 변수로 작용하는 유입공기 온도, 코팅액의 분무속도 및 분무압력을 독립변수(Xn)로 하여 중심합성계획법(central composite design)에 의해 Table 1과 같이 1, 2, -1, 0, 1, 2의 다섯 단계로 부호화하였다. 16구간의 실험조건에서 얻어진 나노캡슐의 품질을 종속변수(Yn)로 하여 수율(Y1), 입자크기(Y2), 용출율(Y3), 수분함량(Y4), 수분활성도(Y5) 및 기계적 색도(Y6)를 측정하였다. 반응표면 회귀분석을 위해서는 SAS (statistical analysis system) program을 사용하였으며[10,11], 각 실험 조건별 4차원 반응표면 분

Table 2. Experimental Data on Moisture Content, Water Activity and Hunter's Color Values in Microcapsule of Antiacne Azelaic Acid-Milk Mixture under Different Conditions Based on Central Composite Design for Response Surface Analysis

Exp. No. ¹⁾	Independent variables ²⁾			Physicochemical properties		
	X ₁	X ₂	X ₃	Yield (%)	Moisture content (%)	Water activity
1	75(1)	0.8(1)	1.8(1)	51.80 ± 2.03	4.04 ± 0.54	0.187 ± 0.013
2	75(1)	0.8(1)	1.4(-1)	60.40 ± 1.12	3.61 ± 3.29	0.136 ± 0.005
3	75(1)	0.6(-1)	1.8(1)	54.60 ± 0.85	3.29 ± 0.41	0.182 ± 0.011
4	75(1)	0.6(-1)	1.4(-1)	65.63 ± 1.13	2.72 ± 0.03	0.155 ± 0.008
5	65(-1)	0.8(1)	1.8(1)	65.93 ± 0.50	3.67 ± 0.49	0.199 ± 0.006
6	65(-1)	0.8(1)	1.4(-1)	60.83 ± 2.33	3.52 ± 0.19	0.161 ± 0.009
7	65(-1)	0.6(-1)	1.8(1)	62.53 ± 2.16	3.26 ± 0.38	0.156 ± 0.007
8	65(-1)	0.6(-1)	1.6(0)	46.67 ± 0.67	3.38 ± 0.20	0.165 ± 0.006
9	70(0)	0.7(0)	1.6(0)	69.60 ± 1.40	3.22 ± 0.13	0.178 ± 0.005
10	70(0)	0.7(0)	1.6(0)	68.67 ± 2.21	3.17 ± 0.17	0.182 ± 0.006
11	60(-2)	0.7(0)	1.6(0)	50.67 ± 1.33	3.63 ± 0.39	0.190 ± 0.003
12	80(2)	0.7(0)	1.6(0)	47.20 ± 0.47	2.83 ± 0.24	0.154 ± 0.006
13	70(0)	0.5(-2)	1.6(0)	52.07 ± 0.55	3.03 ± 0.36	0.148 ± 0.007
14	70(0)	0.9(2)	1.6(0)	50.10 ± 0.49	3.98 ± 0.45	0.173 ± 0.006
15	70(0)	0.7(0)	1.2(-2)	48.67 ± 0.97	3.18 ± 0.26	0.153 ± 0.010
16	70(0)	0.7(0)	2.0(2)	54.30 ± 1.06	3.74 ± 0.26	0.183 ± 0.005

¹⁾The number of experimental conditions by central composite design

²⁾X₁: Inletairtemperature (°C), X₂: Feedingspeed (mL/min), X₃: Atomizingpressure (kg/cm²)

석(response surface methodology, RSM)을 위해 mathematical program을 사용하였다[11,12].

2.4. 수율 측정

수율은 나노캡슐의 제조에 사용된 azelaic acid-milk nano powder 및 코팅액 사용량에 대한 제조된 나노캡슐의 중량을 백분율로 나타내었다.

2.5. 입자크기 측정 및 형태적 특성

시료의 입자크기는 입도분석기(LS 13320, Berkman, USA)를 이용하여 측정하였다. 이때 분석에 사용한 용매는 isopropyl alcohol이었다. 시료의 입자의 형태적 특성은 FE SEM (Field Emission-Scanning Electron Microscopy, LEO 1530, Carazeiss, Germany)를 이용하여 관찰하였다.

2.6. 용출율 측정

제조된 나노캡슐의 용출율은 생리식염수의 시험액 20 mL에 시료 1 g을 넣고 교반하여 37 °C에서 2 h 방치한 후 그 상층액을 취하여 420 nm에서 흡광도를 측정 한 값으로 용출된 아젤라익산의 총량을 표시하였다.

2.7. 수분함량 및 수분 활성도 측정

제조된 나노캡슐의 수분함량은 적외선 수분측정기(MA100, Satorius, Germany)를 이용하여 측정하였으며, 수분 활성도는 수분 활성도 측정기(TH-500, Novasina, Swizerland)를 이용하여 25 °C에서 측정하여 나타내었다.

2.8. 기계적 색도 측정

시료의 기계적 색도는 색차계(JS555, Color Techo Co., Japan)를 사용하여 Hunter 방식인 L, a 및 b값으로 나타내었다. 이때 표준 백색판의 L, a 및 b값은 97.7, -0.03 및 1.95이었다.

2.9. 최적 제조공정의 예측 및 실증실험

미세분말의 나노캡슐화 공정 최적화를 위하여 나노캡슐의 중요한 품질인자로 고려되는 수율, 입자크기, 용출율 및 수분함량에 대한 4차원 반응표면을 superimposing하여 fluid bed processor의 최적 공정조건을 예측하였다. 또한, 예측된 범위에서 임의의 점을 설정하여 회귀식에 대입한 후 그 예측된 최적값들에 대하여 동일한 조건에서 실제 실험을 통하여 얻은 실험치를 비교하여 신뢰성을 검증하였다[13].

Table 3. Polynomial Equations by RSM Program for Operating Conditions of Fluid-Bed Processor

Responses	Second order polynomials	R ²	Significance	
Yield	$Y_{Yd} = -2362.110000 + 40.745375X_1 + 1166.368750X_2 + 748.540625X_3 - 0.202000X_1^2 - 6.397500X_1X_2 - 451.250000X_2^2 - 5.073750X_1X_3 - 52.062500X_2X_3 - 110.312500X_3^2$	0.9071	0.0167	
Moisture contents (%)	$Y_{Mc} = 39.518750 - 0.455875X_1 - 28.668750X_2 - 13.684375X_3 + 0.000350X_1^2 + 0.272500X_1X_2 + 7.750000X_2^2 + 0.121250X_1X_3 + 0.812500X_2X_3 + 1.656250X_3^2$	0.9122	0.0143	
Water activity	$Y_{Wa} = -0.145312 + 0.009512X_1 + 0.946875X_2 - 0.447187X_3 - 0.006125X_1X_3 + 0.443750X_2X_3 - 0.075000X_3^2$	0.9077	0.0165	
Hunter's color values	L	$Y_L = 203.245000 - 1.595500X_1 + 88.212500X_2 - 161.737500X_3 + 0.008700X_1^2 - 0.455000X_1X_2 - 55.750000X_2^2 + 62.500000X_1X_3 + 14.375000X_2X_3 + 34.937500X_3^2$	0.9032	0.0187
	a	$Y_a = -14.443125 + 0.328750X_1 + 1.775000X_2 + 14.000000X_3 - 0.000550X_1^2 + 0.145000X_1X_2 - 4.625000X_2^2 - 0.252500X_1X_3 - 3.750000X_2X_3 + 1.593750X_3^2$	0.8068	0.1127
	b	$Y_b = 110.336875 - 1.560875X_1 - 73.543750X_2 - 10.153125X_3 + 0.004400X_1^2 + 0.902500X_1X_2 + 13.375000X_2^2 + 0.293750X_1X_3 - 3.312500X_2X_3 - 2.250000X_3^2$	0.8204	0.0943
Particle size (nm)	$Y_{Ps} = -54.763125 + 4.143125X_1 - 696.493750X_2 + 355.440625X_3 - 0.100850X_1^2 + 18.697500X_1X_2 - 191.250000X_2^2 - 1.598750X_1X_3 - 170.187500X_2X_3 - 58.437500X_3^2$	0.9027	0.0190	
Elution ratio (abs. at 420 nm)	$Y_{1,2} = 27.268438 - 0.630388X_1 - 4.656875X_2 - 3.983437X_3 + 0.005390X_1^2 + 0.192250X_1X_2 + 11.837500X_2^2 + 0.009375X_1X_3 + 0.493750X_2X_3 + 0.925000X_3^2$	0.9158	0.0128	

*X₁: Inject air temperature (°C), X₂: Feeding speed (mL/min), X₃: Atomizing pressure (kg/cm²)

3. 결과 및 고찰

3.1. 수율

나노캡슐의 캡슐화 공정조건에 따른 수율을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 즉, 나노캡슐의 수율은 46.67 ~ 69.60 %의 범위로 나타났으며, 유입공기 온도, 분무속도 및 분무압력에 따라 기기 내 부착 등으로 인한 손실의 차이가 큰 것으로 나타났다. 또한 중심합성 계획에 의해 설계된 실험 조건으로 나노캡슐을 제조하면서 반응표면 회귀분석을 실시해 본 결과, 수율에 대한 회귀식의 R²는 0.9071로 유의성이 5 % 이내의 유의수준에서 인정되었다(Table 3). 수율에 대한 최대값은 유입공기온도 69.33 °C, 분무속도 0.71 mL/min 분무압력 1.63 kg/cm²에서 70.97 %로 나타났으며, 최소값은 유입공기온도 63.18 °C, 분무속도 0.62 mL/min 분무압력 1.37 kg/cm²에서 38.58 %로 예측되었다(Table 4). 이것은 반응표면분석으로 예측된 값이며 수율(Figure 2-A)은 유입공기온도, 분무속도 및 분무압력에 의해 크게 영향을 받고 있었으며 수율이 가장 높은 조건은 유입공기온도 65 ~ 75 °C, 분무속도 0.6 ~ 0.8 mL/min 및 분무압력 1.4 ~ 1.9 kg/cm²의 범위로 예측할 수 있었다. 이러한 결과는 유입공기온도가 지나치게 낮거나 높은 조건에서는 코팅액의 건조가 제대로 이루어지지 않고, 분무속도가 빠르고 분무압력이 낮은 조건에서는 코팅액의 액적의 크기가

증가하고 미세분말의 유동이 적절히 이루어지지 않아 엉김 현상의 발생으로 수율이 감소되는 것으로 사료된다.

3.2. 입자크기 및 형태

유입공기온도, 분무속도 및 분무압력에 따른 나노캡슐의 입자크기를 측정된 결과는 Table 5과 같고, 반응표면 회귀식은 Table 3에 나타내었다. 각각의 실험조건 별 입자크기는 63.00 ~ 98.86 nm의 범위로 측정되었으며, 반응표면 회귀식의 R²는 0.9027로 유의성이 5 % 이내의 유의수준에서 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점으로 능선분석을 실시한 결과, 유입공기온도 75.01 °C, 분무속도 0.83 mL/min 및 분무압력 1.37 kg/cm²일 때 98.86 nm로 최대의 입자크기를 나타내었다(Table 4). 입자크기는 분무속도 및 분무압력에 의해서 많은 영향을 받았으며, 유입공기온도에 대한 영향은 거의 없는 것으로 나타났다(Table 6). Figure 2-B에서 보는 바와 같이 시료의 입자크기는 유입공기온도가 높고 분무속도가 빠르며 분무압력이 낮을수록 나노분말의 유동이 작은 상태에서 큰 액적의 코팅액이 나노캡슐의 표면을 다량 감싸게 되어 입자의 크기가 커지는 것으로 사료된다.

본 나노캡슐은 Figure 3의 FE SEM 사진에서 보는 바와 같이 100 ~ 200 nm 크기의 균일한 나노입자로 구성되어 있었고 수계 분산성이 우수하며 균일한 입도분포를 가질

Table 4. Predicted Levels of Optimum Conditions for the Maximized and Minimized Responses of Variables by the Ridge Analysis of Their Response Surface

Responses	Operating conditions				Morphology
	Inlet air temperature (°C)	Feeding speed (mL/min)	Atomizing pressure (kg/cm ²)	Estimated responses	
Yield	63.18	0.62	1.36	38.58 (min.)	Maximum
	69.33	0.71	1.63	70.97 (max.)	
Moisture contents (%)	77.22	0.59	1.44	2.50 (min.)	Saddle point
	73.20	0.86	1.80	4.23 (max.)	
Water activity	75.15	0.80	1.32	0.122 (min.)	Saddle point
	67.57	0.83	1.89	0.204 (max.)	
L	64.54	0.53	1.62	59.47 (min.)	Saddle point
	74.24	0.71	1.96	71.50 (max.)	
Hunter's color values	77.79	0.71	1.85	4.83 (min.)	Saddle point
	73.17	0.73	1.23	6.80 (max.)	
b	61.11	0.75	1.75	28.83 (min.)	Saddle point
	77.55	0.82	1.70	33.59 (max.)	
Particle size (nm)	75.71	0.57	1.79	86.51 (min.)	Saddle point
	75.01	0.83	1.37	98.56 (max.)	
Elution ratio (abs. at 420nm)	70.31	0.74	1.60	0.258 (min.)	Minimum
	77.00	0.56	1.60	1.108 (max.)	

Table 5. Experimental Data on Particle Size and Elution Ratio in Nanocapsule of Antiacne Azelaic Acid-Milk Mixture under Different Conditions Based on Central Composite Design for Response Surface Analysis

Exp. No. ¹⁾	Physicochemical properties				
	Particle size (nm)	Hunter's color values			Elution ratio (abs. at 420 nm)
		L	a	b	
1	87.43 ± 1.55	67.57 ± 0.02	4.92 ± 0.02	32.64 ± 0.01	0.341 ± 0.003
2	98.86 ± 1.85	62.75 ± 0.01	6.32 ± 0.01	31.68 ± 0.04	0.337 ± 0.001
3	73.31 ± 0.31	65.81 ± 0.01	5.22 ± 0.02	30.48 ± 0.01	0.802 ± 0.009
4	74.66 ± 0.30	63.99 ± 0.01	6.01 ± 0.01	29.11 ± 0.03	0.767 ± 0.009
5	82.90 ± 0.52	64.28 ± 0.00	5.78 ± 0.00	29.33 ± 0.03	0.523 ± 0.009
6	86.47 ± 0.71	63.81 ± 0.00	5.86 ± 0.01	29.32 ± 0.02	0.486 ± 0.006
7	75.84 ± 0.10	63.46 ± 0.00	6.06 ± 0.01	28.75 ± 0.01	0.529 ± 0.002
8	81.13 ± 0.55	62.30 ± 0.00	6.15 ± 0.00	28.78 ± 0.01	0.602 ± 0.006
9	88.77 ± 9.69	63.08 ± 0.01	6.07 ± 0.02	30.53 ± 0.01	0.326 ± 0.002
10	88.60 ± 8.57	62.89 ± 0.00	6.18 ± 0.01	30.70 ± 0.04	0.238 ± 0.008
11	85.33 ± 1.07	59.34 ± 0.00	6.74 ± 0.01	29.85 ± 0.03	0.755 ± 0.038
12	82.87 ± 0.12	68.37 ± 0.01	5.40 ± 0.02	32.26 ± 0.03	0.887 ± 0.050
13	80.90 ± 0.10	60.94 ± 0.01	6.02 ± 0.00	30.75 ± 0.02	0.803 ± 0.010
14	89.17 ± 0.38	60.57 ± 0.00	5.86 ± 0.01	31.55 ± 0.01	0.708 ± 0.025
15	92.67 ± 2.43	67.54 ± 0.01	6.75 ± 0.00	29.56 ± 0.03	0.448 ± 0.010
16	63.00 ± 0.01	69.61 ± 0.01	6.01 ± 0.01	30.95 ± 0.01	0.412 ± 0.011

¹⁾The number of experimental conditions by central composite design

Table 6. Analysis of Variables for Regression Model of Physicochemical Properties in Operating Condition of Fluid-Bed Processor

Operation conditions	F-Ratio		
	Inlet air temperature (°C)	Feeding speed (mL/min)	Atomizing pressure (kg/cm ²)
Yield	12.21***	7.27**	9.31***
Moisture contents (%)	3.71*	10.35**	3.83*
Water activity	4.29*	5.86**	9.63***
Hunter's color values	L	4.98**	0.76
	a	3.55*	0.38
	b	4.63**	2.02
Particle size (nm)	2.98	5.32**	8.55**
Elution ratio (abs. at 420 nm)	10.61***	11.05***	0.67

***Significant at 1 % level, **Significant at 5 % level, *Significant at 10 % level

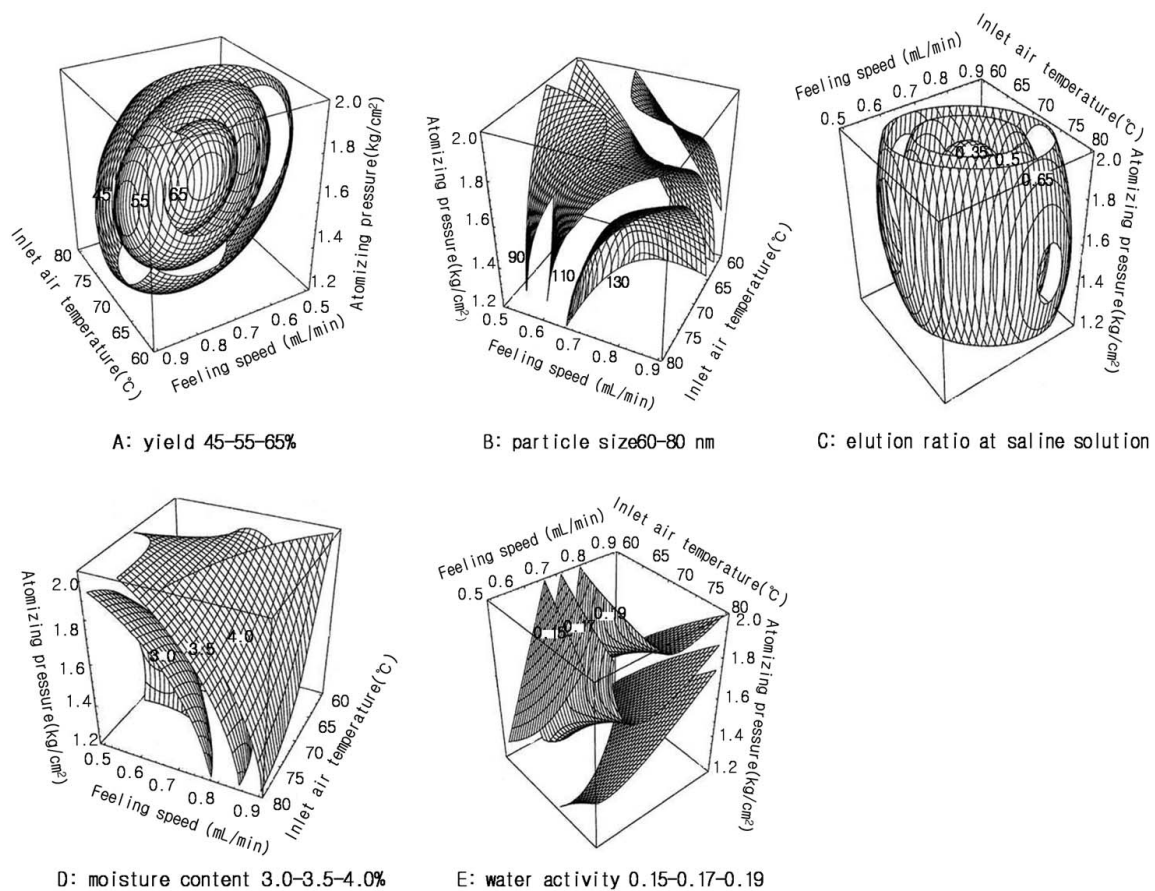


Figure 2. Response surface for yield in nanocapsule of anti-acne azelaic acid-milk mixture at constant values as a function of inlet air temperature, feeding speed and atomizing pressure. A: yield 45-55-65 %, B: particle size 60-80-100 nm, C: elution ratio at saline solution 1.2-0.35-0.50-0.65 %, D: moisture content 3.0-3.5-4.0 %, E: water activity 0.15-0.17-0.19.

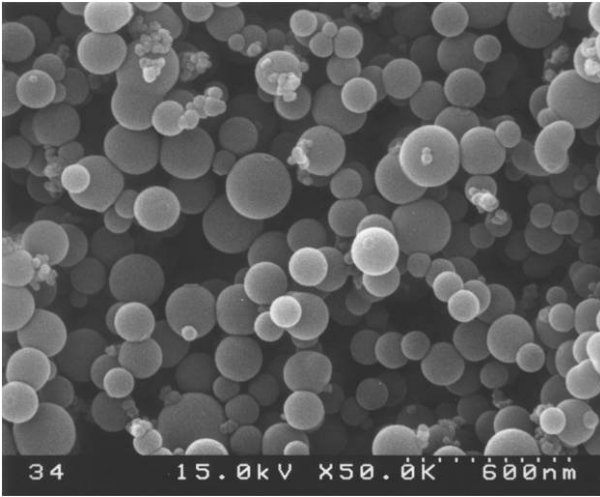


Figure 3. Field Emission-Scanning Electron Microscopy (FE SEM) image of azelaic acid-milk nano powder optimized by response surface methodology (RSM).

뿐만 아니라 내부 증공에 아젤라익산과 같은 생리 활성 물질을 담지할 수 있는 효과가 있다. 또한, 본 최적 공정으로 제조한 azelaic acid-milk nano powder는 $100 \text{ m}^2/\text{g}$ 이상의 큰 표면적과 좁은 분포의 중형 기공(meso pore)을 지니고 있어 생리활성물질의 담지가 가능할 것으로 판단된다. 따라서 아젤라익산에 대한 성분 안정성이 뛰어나 피부 흡수율, 수율, 함수율, 용출율 등의 물리적 특성이 기존제형보다 우수할 것으로 판단되며 향후 다양한 화장품 조성에 대한 상품품질과 기능을 더욱 향상시킬 것으로 예상하고 있다.

3.3. 용출율

코팅소재로 사용된 zein-DP는 물에는 녹지 않지만, 함수에 탄올에는 잘 녹는 옥수수 단백질로서 pH 약 11 이상의 알칼리 수용액, SDS 등의 계면활성제 및 고농도 요소용액 등에 용해되는 특성을 지니고 있다. 따라서 zein-DP를 코팅소재로 하여 유입공기온도, 분무속도 및 분무압력에 따른 나노캡슐을 제조하고 생리식염수에서의 용출율을 측정하여 코팅효율을 조사하였다. 나노캡슐의 용출율을 흡광도로 나타낸 결과, 0.238 ~ 0.887의 범위의 흡광도를 나타내었으며 나노캡슐의 제조방법에 따라 흡광도가 약 4배정도 차이가 날 수 있다는 것을 알 수 있었다(Table 5). 생리식염수에서 나노캡슐의 용출율에 대한 반응표면 회귀식의 R^2 는 0.9158로 유의성이 5% 이내의 유의수준에서 인정되었다(Table 3). 인체 피부와 비슷한 생리식염수 조건에서 나노캡슐의 용출율은 유입공기온도 및 분무속도에 의해서 가

장 많은 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 유입공기온도 65 ~ 75 °C의 범위 및 분무속도 0.7 mL/min 전후에서는 거의 용출되지 않으므로 생리식염수에서 안전한 나노캡슐을 만들 수 있었으며, 나노캡슐의 코팅물질이 단백질이므로 피부세포에 큰 영향을 주지 않을 것으로 사료된다(Table 6, Figure 2(C)).

3.4. 수분함량 및 수분 활성도

유입공기온도, 분무속도 및 분무압력에 따른 나노캡슐의 수분함량 및 수분활성도의 변화는 Table 2에 나타내었다. 즉, 수분함량의 경우 2.72 ~ 4.04 %의 범위에서 나타났으며, 수분활성도의 경우 0.136 ~ 0.199의 범위로 나타났다. 반응표면분석에 의한 회귀식은 Table 4에 나타내었으며, 수분함량 및 수분활성도에 대한 R^2 는 0.9122 및 0.9077로 유의성이 5% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 유입공기온도, 분무속도 및 분무압력에 따른 수분함량은 분무속도에 가장 큰 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 분무속도가 증가하고 분무압력이 높아질수록 수분함량이 증가함을 알 수 있었다(Table 6, Figure. 2(D)). 수분활성도는 분무압력에 가장 큰 영향을 받고 있었으며, 분무속도가 증가하고 분무압력이 높아질수록 수분활성도가 증가하였는데, 이러한 경향은 수분함량의 경우와 유사하게 나타났으며(Table 6, Figure 2(E)), 분무압력이 높고, 분무속도가 빠른 조건에서는 건조속도에 비하여 코팅액의 분무속도가 빨라 잔류 수분함량이 많은 것으로 여겨진다. 그러나 최대 수분함량이 4.04%로 낮아 나노캡슐의 품질에 영향을 주지 않을 것으로 사료된다.

3.5. 기계적 색도

각각의 실험 조건별 기계적 색도의 변화는 Table 3에 나타내었다. 반응표면 회귀식은 Table 4에 나타내었으며, L, a 및 b값에 대한 회귀식의 R^2 는 0.9032, 0.8068 및 0.8204로 나타났다. L 값은 5% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었으며, b값은 10% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었으나 a값은 유의성이 인정되지 않았다. 기계적 색도에 대한 반응표면을 살펴보면, L값은 유입공기온도가 높아질수록 증가하였으며, 분무압력 1.6 kg/cm²를 전후하여 증가하는 것으로 나타났다(Figure 4(A)). a값은 유입공기온도와 분무압력이 높을수록 감소하는 경향이었으며, b값은 유입공기온도가 높아질수록 증가하는 것으로 나타났다(Figure 4(B), Figure 4(C)). 이러한 결과로 zein-DP를 다량 코팅하게 되면 나노캡슐의 색이 반투명에서 약간 짙어지는 것을 알 수 있는데, 분무압력이 높을수록 분무되는

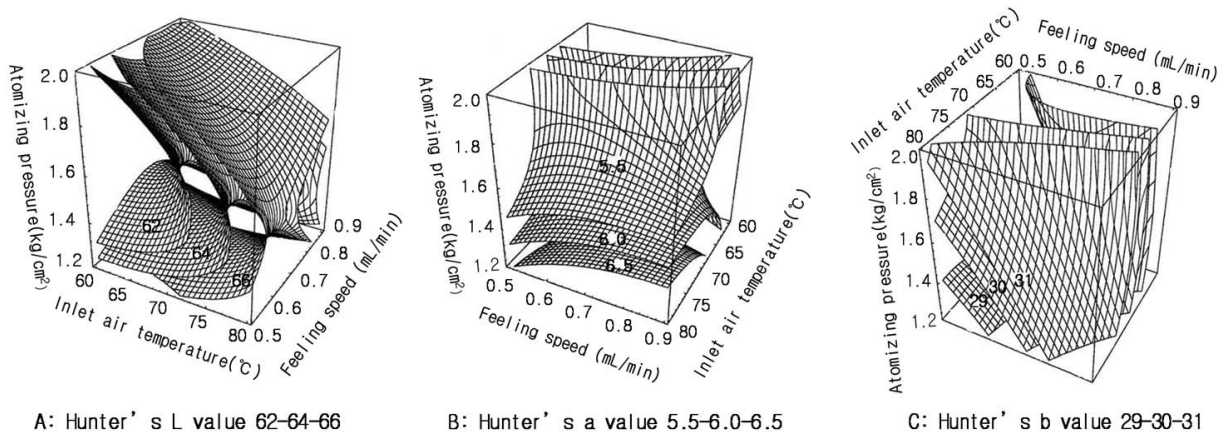


Figure 4. Response surface for Hunter's value in nanocapsule of anti-acne azelaic acid-milk mixture at constant values as a function of inlet air temperature, feeding speed and atomizing pressure. A: Hunter's L value 62-64-66, B: Hunter's a value 5.5-6.0-6.5, C: Hunter's b value 29-30-31.

코팅액의 액적의 크기가 작아져 얇은 코팅층을 형성함으로써 a값이 감소하고, 유입공기가 높아지면 갈변반응에 의하여 b값이 증가하는 것으로 여겨진다.

3.6. 최적 제조공정의 예측 및 실증

유입공기온도, 분무속도 및 분무압력에 따른 나노캡슐의 최적 제조조건을 설정하기 위하여 제조 조건별 나노캡슐의 수율, 입자크기, 용출율, 수분함량, 수분활성도 및 기계적 색도를 조사하였다. 그 결과 수율, 입자크기, 용출율 및 수분함량의 반응표면을 superimposing하여 나노캡슐의 최적 제조조건을 예측하였다. Figure 5와 같이 수율, 입자크기, 용출율 및 수분함량이 모두 만족하는 범위는 유입공기온도 67 ~ 73 °C, 분무속도 0.6 ~ 0.8 mL/min 및 분무압력 1.8 ~ 2.0 kg/cm²로 나타났다. 따라서 이와 같이 예측된 최적 조건 범위 내에서 임의의 조건, 즉 유입공기온도 70 °C, 분무속도 0.7 mL/min 및 분무압력 1.9 kg/cm²를 대입하여 이화학적 특성을 예측해 보았다. 그 결과 수율 62.08 %, 입자크기 78.40 nm, 용출율 0.368, 수분함량 3.59 %, 수분활성도 0.19, 기계적 색도 L값 67.39, a값 5.74 및 b값 30.51로 예측되었다(Table 7). 나노캡슐의 품질특성들의 예측치와 동일조건에서 실제 실험을 통하여 얻은 실험치와의 제조효율을 확인하여 회귀식의 신뢰성을 검증하였다. 이때 임의의 제조조건은 유입공기온도 70 °C, 분무속도 0.7 mL/min 및 분무압력 1.9 kg/cm²로 하여 제조효율을 확인해 본 결과, Table 7과 같이 임의의 조건에서 실제실험을 통하여 얻은 나노캡슐의 품질특성, 즉 수율, 입자크기, 용출율, 수분함량, 수분활성도 및 기계적 색도는 반응표면분석법에 의해 예측된 값과 비교하여 유사한 경향으로 나타나

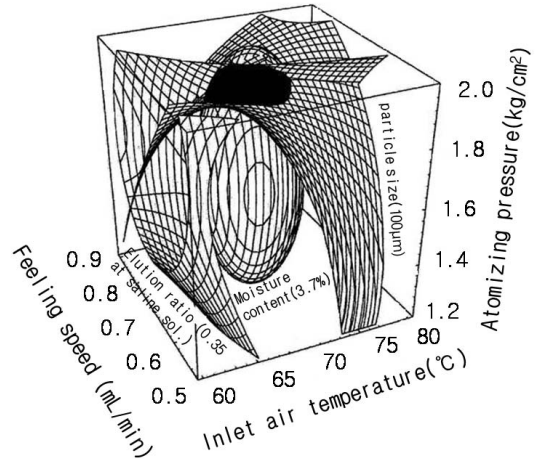


Figure 5. Superimposed response surface for optimization of moisture content (3.7 %), particle size (100 nm) and elution ratio at saline solution of nanocapsule of anti-acne azelaic acid-milk B mixture as a function of inlet air temperature, feeding speed and atomizing pressure.

도출된 회귀식의 신뢰성을 검증할 수 있었다.

4. 결 론

본 연구는 피부자극이 없고 피부에 서서히 흡수 및 용출될 수 있는 피부적합성 여드름 나노화장품 개발을 주요 목표로 하였다. 따라서 그동안 여드름 화장품 제형에서 가장 문제가 되어왔던 침투력과 피부친화력의 문제점과 난점을 해결하고자 아젤라익산의 기능적 특성을 그대로 유지하고

Table 7. Predicted and Experimental Values of Responses Variables for Operating Condition of Fluid-Bed Processor at a Given Condition¹⁾ within the Range of Optimum Conditions

Physicochemical properties	Predicted values	Experimental values	
Yield	62.08	65.97	
Moisture contents (%)	3.59	3.53	
Water activity	0.19	0.17	
	L	67.39	64.64
Hunter's color values	a	5.74	5.69
	b	30.51	31.62
Particle size(nm)	101.40	103.65	
Elution ratio (abs. at 420 nm)	0.368	0.324	

¹⁾Given conditions: 70 °C in inlet air temperature, 0.7 mL/min in feeding speed, and 1.9 kg/cm² in atomizing pressure

물리화학적 성질을 개질하여 최적화된 azelaic acid-milk nano powder를 만들어 나노캡슐화함으로써 품질특성, 즉 수율, 입자크기, 용출율, 수분함량, 수분활성도 및 기계적 색도에 있어서 우수한 결과를 구현할 수 있었다. 나노캡슐은 fluid-bed processor로 중심합성계획에 따라 유입공기온도(60 ~ 80 °C), 분무속도(0.5 ~ 0.9 mL/min) 및 분무압력(1.2 ~ 2.0 kg/cm²)을 달리하여 나노캡슐을 제조하였고, 나노캡슐의 품질특성을 조사하여 회귀분석을 실시하였다. 나노캡슐의 예측된 수율의 최대값은 70.97 %로 수율은 유입공기온도, 분무속도 및 분무압력에 의해 크게 영향을 받고 있었다. 시료의 입자크기는 유입공기온도가 높고 분무속도가 빠르며, 분무압력이 낮을수록 커지는 것으로 나타났고, 인체 피부와 비슷한 생리식염수 조건에서 나노캡슐의 용출율은 모두 유입공기온도 및 분무속도에 의해서 가장 많은 영향을 받고 있었다. 수분함량은 분무속도가 증가하고 분무압력이 높아질수록 증가하였고, 수분활성도는 수분함량과 유사한 경향을 나타내었다. 기계적 색도인 L값과 b값은 유입공기온도가 높아질수록 증가하였다. 수율이 높고 입자크기가 작으며, 피부친화성 나노캡슐 제조의 최적조건은 유입공기온도 67 ~ 73 °C, 분무속도 0.6 ~ 0.8 mL/min 및 분무압력 1.8 ~ 2.0 kg/cm² 범위로 예측되었다. 이상의 예측범위 내의 임의의 점에서 실제 실험한 실험치는 반응표면분석법에 의해 예측된 값과 유사한 경향을 보여 도출된 회귀식의 신뢰성을 검증할 수 있었다.

감사의 글

본 논문은 2008년 교육과학기술부의 재원으로 한국학술진흥재단(KRF-2008-314-E00270)의 지원을 받아 수행한 연구결과와 지식경제부·한국산업기술평가원 지원의 우수제조기술연구센터(ATC-100026100)의 지원에 의한 것이며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. L. F. Eichenfield, J. F. Fowler, R. G. Fried, S. F. Friedlander, M. L. Levy, and G. F. Webster, Perspectives on therapeutic options for acne: an update, *Semin Cutan. Med. Surg.*, **29**(2), 13 (2010).
2. L. Kircik and A. Friedman, Optimizing acne therapy with unique vehicles, *J. Drugs Dermatol.*, **9**(5), 53 (2010).
3. H. Gollnick and M. Schramm, Topical drug treatment in acne, *Dermatology*, **196**(1), 119 (1998).
4. R. A. Anderson and M. M. Polansky, Dermatological therapeutics: global markets, eds. A. Bryden, 195, BCC Research, New York Washington, D.C. (2009).
5. J. D. Dziezak, Microencapsulation and encapsulated ingredients, *Food Technol.*, **42**, 136 (1988).
6. D. M. Kim and K. S. Cho, Nanocapsules and its materials as Nutrient Delivery System (NDS), *Agric. Chem. Biotechnol.*, **49**, 39 (2006).
7. D. M. Kim and K. D. Lee, Introduction to the technology, applications, products, markets, R&D, and perspectives of nano industry, *J. Food Sci. Nutr.*, **11**, 348 (2006).
8. B. L. Zeller, F. Z. Saleeb, and R. D. Ludescher, Trends in development of porous carbohydrate food ingredients for use in flavor encapsulation, *Trends in Food Science & Technology*, **9**, 389 (1999).
9. F. S. Shahi and X. Han, Encapsulation of food ingredients, *CRC Cri. Rev. in Food Sci. Nutr.*, **33**, 501 (1993).
10. SAS Institute, Inc. SAS User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA. (1990).
11. N. Gontard, S. Guilbert, and J. L. Cuq, Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface metho-

- dology. *J. Food Sci.*, **57**, 190 (1992).
12. L. A. Martha and P. B. James, The Mathematica Handbook, Copatible with Mathematica, Version 2.0 Harcourt Brace, Massachusetts : An Imprint of a Division of Academic press (1992).
 13. D. Fu, C. L. Weller, and R. L. Wehling, Zein: Properties, preparations, and applications. *Food Sci., Biotechnol.*, **8**, 1 (1999).