

이중유화법을 이용한 PLA 마이크로캡슐 내부로의 아스코르브산 캡슐화 공정 최적화

윤지원 · 정영미[†]

한국기술교육대학교 에너지신소재화학공학부
(2024년 1월 29일 접수, 2024년 3월 1일 수정, 2024년 3월 11일 채택)

Optimization of Ascorbic Acid Encapsulation in PLA Microcapsules Using Double Emulsion Process

Ji Won Yun and Young Mi Chung[†]

School of Energy, Materials & Chemical Engineering, Korea University of Technology and Education, Cheonan-si 31253, Republic of Korea

(Received January 29, 2024; Revised March 1, 2024; Accepted March 11, 2024)

초 록

본 연구는 W1/O/W2 이중유화법을 통한 마이크로 캡슐화 공정을 최적화하기 위해 역미셀(reverse micelle), salt 농도 등의 열역학적 변수와 유체의 점도, 계면장력 등 계면의 유동에 영향을 미치는 공정변수들의 영향성을 분석하였다. 아스코르브산의 PLA (polylactic acid) 미립자 내부로의 캡슐화 효율에 가장 큰 영향을 미치는 변수는 W1과 W2상의 삼투압의 차이로 W2상의 salt 농도를 높이거나, W1상의 아스코르브산 농도를 줄이면 캡슐화 효율이 높아짐을 관찰하였다. 또한, 삼투압의 차이가 클수록 미립자 표면의 손상이 심해짐을 확인할 수 있었다. 캡슐화 효율을 높일 것으로 예상되었던 역미셀 도입은 그 기어도가 낮거나 오히려 캡슐화 효율을 낮추었다. 마이크로캡슐의 수율은 공정 조건, 용액 조성 등과 상관없는 universal 함수로 표현하였는데, $Ca > 20$ 에서는 더 이상의 수율 증가가 관찰되지 않았다.

Abstract

This study analyzed the influence of process variables affecting the thermodynamic equilibrium and fluid dynamics of interfaces such as reverse micelle, salt concentration, interfacial tension, and viscosity of fluids to optimize the microencapsulation process using the W1/O/W2 double emulsion method. The process variable with the greatest impact on encapsulation efficiency was found to be the difference in osmotic pressure between the W1 and W2 phases. It was observed that increasing the salt concentration in the W2 phase or decreasing the ascorbic acid concentration in the W1 phase resulted in higher encapsulation efficiency. Additionally, a larger difference in osmotic pressure led to increased damage to the surface of the micro-particles, as confirmed by SEM images. The introduction of reverse micelles, which was anticipated to increase encapsulation efficiency, either had a low contribution or even decreased encapsulation efficiency. The yield of microcapsules was expressed as a universal function, applicable to all process conditions or solution compositions. According to this universal function, no further increase in yield was observed beyond the Ca (capillary number) of approximately 20.

Keywords: Encapsulation, PLA, Ascorbic acid, Reverse micelle, Capillary number

1. 서 론

Ascorbic acid (이하 AA)는 수용성 비타민으로 항산화 기능이 뛰어나 자유라디칼의 생성을 억제하면서 피부의 탄력이 처지거나 색소가 침착되는 등의 미백 및 안티에이징 효과가 있다[1]. AA는 특히 화장품 산업에서 각광받는 기능성 물질이지만, 쉽게 분해되어 안정성이

떨어진다는 어려움이 있다. 산화안정성이 낮기 때문에 쉽게 손상되며 [2,3], 산소나 금속 이온이 존재하는 높은 pH의 수용액에서도 쉽게 분해된다[4]. 또한, 환원형 비타민C인 AA가 불안정한 형태의 산화형 비타민C인 dehydroascorbic acid로 변하게 되면 수분과의 접촉에 의해 분해되고 활성을 잃게 된다[5]. 이와 같이 ascorbic acid의 손상을 막기 위한 방안으로는 미립자 내부에 캡슐화(encapsulation) 하는 방법이 있다.

캡슐화(encapsulation) 기술은 고체, 액체 혹은 가스 상태의 물질을 얇은 고분자 막으로 감싸서 마이크로캡슐이라고 부르는 수 마이크로 미터 크기의 미립자 형태로 만드는 기술이다. 생분해성 고분자를 사용하여 약물을 내부에 봉입하여 미립자를 만드는 경우, 고분자의 크기와 분해되는 시간을 조절하여 약물의 방출 속도를 제어할 수 있다 [6]. 따라서, encapsulation 기술은 제약, 화장품, 의약, 농업, 식품 등

[†] Corresponding Author: Korea University of Technology and Education, School of Energy, Materials & Chemical Engineering, Cheonan-si 31253, Republic of Korea
Tel: +82-41-560-1347 e-mail: quebecoise@koreatech.ac.kr

수많은 영역에서 유용하게 활용된다[7].

미립자의 제조에 사용되는 생분해성 고분자는 코어와 반응하지 않고 밀봉 상태가 잘 유지되며 내부를 보호하고 독성이 없고 생체적합성이 높아야 하는 특성을 가진다[7]. 천연고분자 중에서는 폴리펩타이드, 단백질, 다당류(전분, 키토산 등), 세포 등이 있고, 합성고분자 중에서는 PLA (polylactic acid), PLGA (polylactic-co-glycolic acid), PHB (polyhydroxybutyrate) 등이 있다[8]. 이 중 PLA는 옥수수 등의 재생 가능한 원료에서 추출한 L-lactide를 원료로 만들어지는 합성 고분자로 FDA의 승인을 받았으며 가장 많이 사용되는 생분해성 고분자 중의 하나로, 독성이 없고 생체적합성이 높으며 생분해성 고분자 중 우수한 열 가공특성을 가져 인체 사용을 위해 가공하기가 용이하다[9-11]. 경구 및 점액 제제의 PLA 마이크로캡슐에 효소, 단백질 등과 같이 불안정한 물질을 고정하여 손실이 없도록 전달할 수 있으며 인슐린과 같은 친수성 호르몬의 체내 장기적 용출이 가능하다[12,13].

PLA는 체내에서 소수성을 띠기 때문에 세포 친화성이 떨어지고 분해되는 속도가 느려 오랫동안 잔류하며, 이 과정에서 염증 반응이 유도될 수 있다[10,14]. 반면, AA는 식세포작용을 활성화하여 항균효과를 높이고[15], 체내의 다양한 염증 유발 물질의 발현을 down-regulation하여 염증을 최소화한다[16]. 따라서 PLA에 AA를 동시에 처리하면 PLA로 인한 염증 반응이 일어나는 것을 최소화할 수 있다[14]. 또한, 피부나 연골 등의 노화를 되돌리기 위해 콜라겐을 합성하는 과정에서 PLA가 분해되어 생성되는 lactic acid는, AA와 같이 콜라겐을 합성하는 데에 큰 자극을 준다[17-19]. 따라서 PLA 미립자 내에 AA를 캡슐화하여 봉입하면 필러나 화장품에 사용되는 PLA 미립자로 인해 생길 수 있는 염증 반응을 개선하고, 콜라겐의 생성을 더욱 활성화할 수 있을 것이다. 그러나 이러한 장점에도 불구하고 현재까지 PLA를 이용하여 AA를 encapsulation을 한 연구나 상품화된 사례는 전무하다.

Gao *et al.*[20]은 PLLA (poly-L-lactic acid), PDLA (poly-D-lactic acid), PDLLA (poly-DL-lactic acid)로 만들어진 생분해성 고분자 필러에 대한 적합성 평가 연구를 진행하였고, Zhang *et al.*[21]은 PLLA, PLLGA (poly(L-lactide-co-glycolide)), PLLA-PEG (polyethylene glycol)-PLLA로 만들어진 생분해성 고분자 필러에 대한 적합성을 평가하는 연구를 진행하였다. 그 결과 두 연구 모두 PLLA로 만들어진 생분해성 고분자 필러의 염증 유발 가능성이 가장 낮고 콜라겐의 재생력 또한 가장 높음을 볼 수 있었다. 또한 다른 고분자와 비교했을 때 PLLA는 추가적인 중합이 필요하지 않고, 분해 속도가 18-24개월 정도로 길기 때문에, 장기적으로 체내 약물의 방출이 필요하거나 오랫동안 잔류하여 효과를 쥐야 하는 경우 유효하다[22]. 따라서 AA를 봉입한 PLA 미립자는 바르는 필러, 혹은 진피층에 주입하는 미용 목적의 필러로 적합한 제형이라고 볼 수 있다.

미립자를 만드는 방법은 크게 기계적 방법과 물리적 방법이 있으며 내부에 봉입하려는 물질의 특성, 고분자의 특성과 내외부 물질이 어떻게 상호작용하는지에 따라 다양하게 선택할 수 있다[23]. PLA 마이크로캡슐을 제조하기 위해 가장 일반적으로 사용되는 방법은 수중유중수(W1/O/W2)형 이중에멀전 공정이다[24]. 공정 내에서 입자의 형성 방법과 사용되는 유기용매, 용매의 제거 방법과 제형에 따라 내부 구조, 형태와 크기가 변화되어 미립자의 특성이 바뀔 수 있다[25].

다중유화법을 이용한 W/O/W 미립자 캡슐화 공정에서 영향을 미치는 변수가 많이 연구되어 왔다. 내부 수상에 PVA (polyvinyl alcohol)가 존재하는 경우 W/O인 1차 에멀전이 안정화되어 캡슐화 효율을 높이는 것으로 관찰되었는데 이는 역미셀 형성이 액적끼리의 coalescence를 방지하기 때문인 것으로 보인다[26,27]. 내부 수상에 PVA

와 같은 계면활성제를 투입하는 경우 수상과 유기상의 막이 만들어지는 과정에서 자발적으로 계면활성제 분자가 조합하면서 계면에 역미셀(reverse micelle)을 형성한다[28]. 또한, AA에 이온성 염을 결합하면 직접적인 항산화 활성을 갖지 않으나 생체 내에서 효소 반응을 통해 L-ascorbic acid로 전환되는 유도체의 형태를 만들어 안정성을 높일 수 있다[4].

본 논문에서는 생분해성 고분자인 PLA를 이용하여 AA가 손상되지 않도록 보호하는 미립자를 제작하고, AA의 캡슐화 효율과 미립자 수 등에 미치는 공정 변수를 파악한다. 계면의 열역학, 유체역학적 거동에 영향을 미칠 수 있는 다양한 공정변수, 즉 역미셀 도입, 염의 농도, 용액의 점도, 용액 간의 계면장력 등에 대한 총체적인 영향을 분석하여 PLA 미립자 생성 시 최적의 AA 캡슐화 공정 조건에 대하여 연구를 수행하였다.

2. 실험

2.1. 시약 및 재료

미립자를 만들기 위한 고분자로 천연 중합체인 PLA (poly (L-lactic acid))를 두 종류 이용하여 실험을 진행하였다. 190 °C/2.16 kg 기준으로 MI = 3 g/10 min인 PLA는 LX575 (Total-Corbion)를 사용하였으며, MI = 30 g/10 min인 PLA는 FY201 (Dreamy Co.)을 구매하여 사용하였다. 제조사로부터 PLA 분자량 데이터를 제공받지 못했으므로 편의상 본지에서는 흐름성이 높은 저점도 FY201을 LPLA (low-viscosity poly(lactic acid))로 명명하고, 흐름성이 낮은 고점도 LX575을 HPLA (high-viscosity poly(lactic acid))로 명명하겠다.

PLA는 DCM (dichloromethane, SAMCHUN, 99.5%, extra pure)에 녹여 유기상으로 만들어 사용하였다. 계면활성제로는 PVA (polyvinyl alcohol 1,500, 대정화금 CP 등급)를 사용하였으며 미립자 내부에 봉입하기 위한 L(+)-ascorbic acid (99%, EP)와 염으로 사용된 sodium chloride (99%, EP) 또한 대정화금 제품을 사용하였다. HPLC 이동상 용액에 사용된 시약은 NaH₂PO₄ (99%, EP, 대정화금)와 C₂H₅OH (95% EP, 덕산약품공업)이다.

2.2. 마이크로캡슐 제조

실험 조건에 따라서 유기 중합체인 PLA는 각각 2, 4, 6, 8, 10, 12 wt% (질량 %)가 되도록 계량하여 DCM에 완전히 용해하여 준비하였다. PVA는 전체 질량에서 1 wt%가 되도록 칭량하여 증류수에서 완전히 용해하였다. 유기상 내부에 봉입하기 위한 수상으로, AA를 20 wt%가 되도록 증류수에 첨가하고 차광한 상태로 상온에서 교반하여 수용액 상으로 만들었으며, 시료를 만들기 직전에 용액을 제조하도록 했다.

준비된 용액을, 질량비를 맞춰 정확히 칭량하고, homogenizer (고속 분산기, DAIHAN, HG-15A-set A)를 통해 혼합하였다. Figure 1과 같이 순차적으로 진행하였으며, Figure 1(b)은 W1에 PVA를 추가적으로 첨가한 역미셀 조건이다. 염이 들어가는 조건에서는 W1과 W2에 각각 0-0.2 wt%의 농도가 되도록 NaCl을 첨가하여 실험을 진행하였다. Homogenizer의 회전속도는 전 공정에 동일하게 세팅했으며, 캡슐화도 비교실험의 경우 13,500 rpm으로 진행했다. 추후 Ca를 구하는 실험에서는 회전속도를 변경시킨 샘플도 추가하였다.

W1/O/W2로 분산하여 전체적으로 혼합된 용액 내부에서 생성되어 침전된 미립자를 분리하기 위해서 유기용매를 제거하고 입자를 건조하였다. 먼저 회전증발감압장치(rotary evaporator (Scilab, EV-1001V))를 40 °C에서 2시간 동안 5 rpm으로 회전시키며 DCM을 기화시켰다.

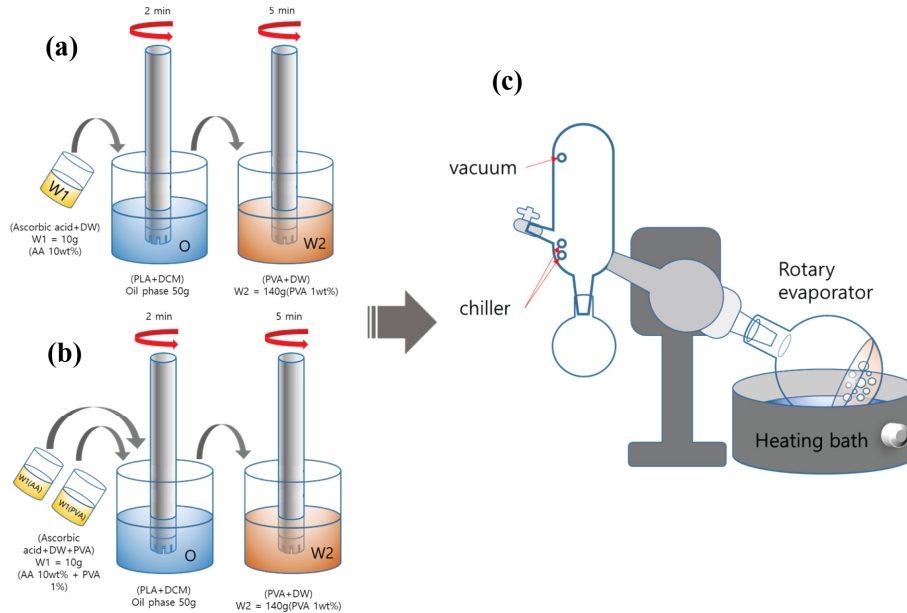


Figure 1. Illustration of experimental steps of (a) manufacturing W1/O/W2 double emulsion (b) manufacturing double emulsion with reverse micelle in W1 (c) evaporating DCM and precipitating PLA microcapsules.

침전되어 있던 미립자 시료를 증류수로 세척하며 비커로 옮긴 뒤, 잔류 유기 용매와 계면활성제를 제거하기 위해서 원심분리기(Nasco Korea, DT5-2B)를 사용하여 입자가 침전되도록 한 뒤, vortexing하고 용액을 50 mL 튜브에 소분하여 원심분리기를 통해 침전시키는 과정을 2번 반복하였다. 세척된 입자는 동결건조기(OPERON ADVANTECH, LYB-8604)를 이용해 건조했다. 완전히 건조된 입자는 미립자의 수율을 구하기 위해 칭량한 뒤, HPLC 분석 등에 사용하였다. 수득된 미립자의 수율은 아래 식을 이용해 계산하였다.

$$yield(\%) = \frac{Mass\ of\ particles\ produced}{Mass\ of\ initial\ polymer\ material + AA} \times 100(\%) \quad (1)$$

2.3. 캡슐화도 분석

AA의 캡슐화 효율을 분석하기 위해 수득된 미립자를 50 mg씩 E-tube (Eppendorf tube)에 소분하였다. 각 미립자가 담긴 E-tube에 1 mL 증류수를 첨가한 뒤 vortexing, 원심분리를 거쳐 상부의 supernatant는 피펫으로 제거하였다. 이와 같은 washing 과정을 4회 반복하여 입자의 표면에 잔류하는 AA를 최대한 제거, 미립자의 내부에 완전히 봉입된 AA만을 측정할 수 있도록 했다. 세척이 끝난 뒤, 미립자가 담긴 centrifuge tube에 DCM을 0.3 mL 넣어 입자의 PLA를 완전히 용해하였고, 여기에 AA의 분해를 방지하기 위해 metaphosphoric acid (GR, Kanto Chemical) 5% 수용액을 1 mL 첨가하였다. Centrifuge tube 내의 용액을 vortexing을 통해 mixing 한 후, DCM에 용해되지 않은 AA가 수용액에 추출될 수 있도록 하여 원심분리 후 유기용매층과 수층을 분리하였다. 이후 0.2 μm PTFE-H 주사기 필터에 상층액인 수용액을 여과하여 265 nm 파장에서 HPLC (HITACHI Primaide PM1000 Series (Hitachi, Japan))를 통해 AA의 함량을 분석하였다. 컬럼은 Quasar SPP C18 250 mm × 4.6 mm 0.5 μm (Perkin Elmer, N9308955), 이동상은 2.5% 에탄올 + 25 mmol/L NaH₂PO₄ 수용액(pH 4.7), 유속은 0.5 mL/min으로 분석을 진행하였다. 분석하여 나온 결과는 검량선을 통해 encapsulation efficiency (이하 EE)를 계산하여 AA 캡슐화 효율 데이터

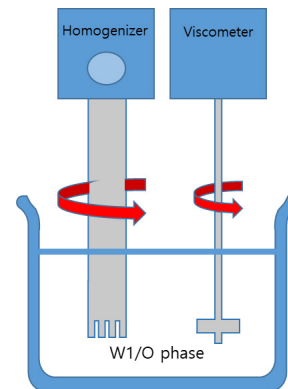


Figure 2. In-situ viscosity measurement set-up.

를 얻었으며, EE (%)를 구하는 계산식은 아래와 같다.

$$EE(\%) = \frac{Mass\ of\ AA\ in\ nanoparticles}{Mass\ of\ AA\ in\ formulation} \times 100(\%) \quad (2)$$

입자의 형태와 크기, 표면을 주사전자현미경(SEM, JEOL-6510)을 이용해 500배율로 관찰하였다. 동일 샘플에 대해서는 최소 2회 이상 반복 실험하여 재현성을 확보하고 평균값을 계산하였다.

2.4. 공정변수 측정

실험 과정에서 사용된 용액의 점도가 미립자 생성에 어떠한 영향을 주는지 확인하기 위해서 용액을 분석하였다. 용액의 점도 측정은 viscometer (BROOKFIELD, DV1MLVTJ0)를 사용했다. PLA + DCM 용액은 Non-Newtonian 유체일 가능성이 있으므로, Figure 2와 같이 in-situ 점도 측정 시스템을 적용하였다. 먼저 각 실험 조성에 맞는 W1/O를 제조한 뒤 homogenizer를 구동하면서 동시에 viscometer도 함께 구동하였다. 점도는 3회 측정하여 평균값을 구하였다. 또한, 초

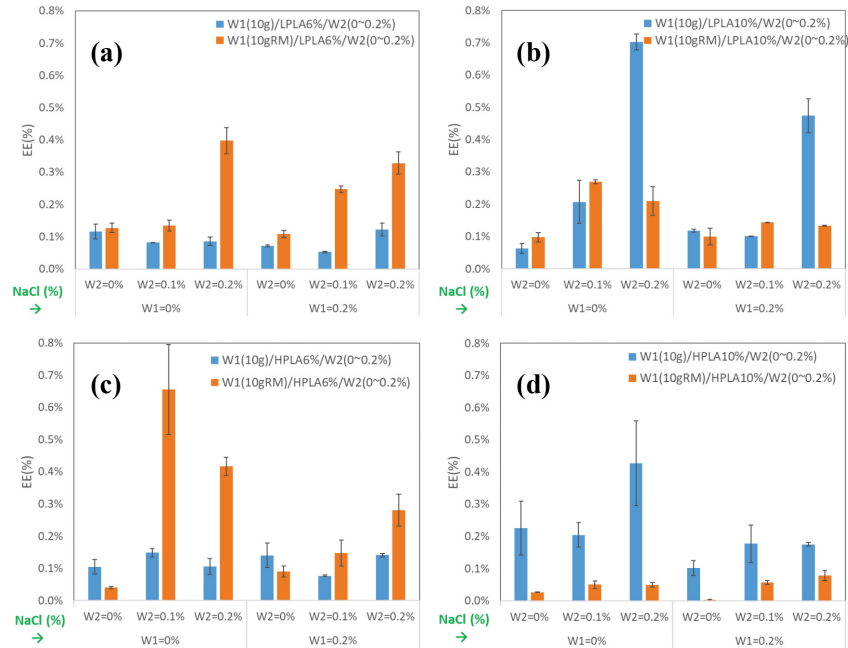


Figure 3. EE(%) of LPLA microcapsules of at various salt concentration of W1 and W2 with or without reverse micelle with (a) 6% LPLA in oil phase (b) 10% LPLA in oil phase (c) 6% HPLA in oil phase (b) 10% HPLA in oil phase.

기 액적이 생성되는 과정에서 W1/O 계면 간 생성되는 계면장력 측정하기 위해 contact angle analyzer (SEO, DCA-200)을 사용하였으며 실제 샘플의 조성대로 W1/O상을 제조하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 캡슐화 효율

Figure 3은 W1, W2의 salt 농도에 따른 LPLA와 HPLA 마이크로캡슐의 EE값의 변화를 보여준다. Figure 3(a)의 왼쪽 막대그래프의 레이블은 그래프 상단 오른쪽에 W1(10 g)/LPLA6%/W2(0~0.2%)로 표시되는데, 이는 W1/O/W2 각각의 상의 조성을 순서대로 나열한 것이다. 먼저 W1 뒤의 괄호 안 (10 g)은 Figure 1(a)의 샘플 조성을 그대로 따른 것으로 Figure 1(b) 역미셀 조성의 1% PVA만 제외하고 나머지는 동일한데, 모든 역미셀의 W1은 10 g으로 조제되었기 때문이다. LPLA6%는 LPLA가 오일상에 6% 함유되었다는 것을 의미하며, 그 다음 W2 뒤의 괄호 속 0~0.2%는 NaCl 함량을 의미한다. W1 위 괄호가 (5 g)인 경우는 Figure 1(b)의 W1 조성을 형성할 때 부피를 절반으로 줄이고 AA의 농도는 두 배로 늘려서 조제한 경우이다. EE 분석에 앞서 homogenizer로부터의 교반 열로 인해 AA의 분해정도를 조사하기 위해 O/W2 없이 W1의 AA 수용액만 homogenizer로 믹싱하여 비교 실험을 진행하였으나, 사용한 homogenizer의 최대 허용치로 회전한 후에도 AA의 농도감소는 보이지 않았으므로 본 실험을 통한 EE값의 차이는 순전히 마이크로캡슐 제조의 효율성과 직결된다고 볼 수 있다.

Figure 3에서 (a)와 (b)는 오일상이 LPLA일 때, (c)와 (d)는 HPLA일 때의 EE값을 비교한다. 전체적인 경향성은 (c)에서 W1의 NaCl이 0% 경우를 제외하고는 모두 W2의 NaCl 농도가 높아질수록 EE값이 올라갔다. 이는 대체적으로 W2 층에 salt 농도가 높아질수록 AA의 봉입 효율이 올라간다는 것으로 W1에 기본적으로 함유된 AA의 삼투압에 저항하는 효과로 보이며, 궁극적으로 EE 향상에 크게 기여하는 것

로 보인다. 서론에서도 밝혔지만 AA의 안정성을 위해 W1에 salt를 추가하여 비교테스트를 진행하였는데, Figure 3의 각 그래프의 왼쪽(W1 = NaCl 0%)과 오른쪽(W1 = NaCl 0.2%)을 비교했을 시 오른쪽의 EE값이 상대적으로 낮음을 볼 수 있다. 이는 삼투압의 격차를 더 벌어지게 하는 것으로 W1 내부에 추가적인 salt 첨가는 AA와 같이 친수성이 강한 물질을 봉입할 경우 EE값에 매우 부정적 영향을 끼치는 것으로 보인다.

Figure 3(a), (c) 즉, LPLA, HPLA 6%에서 모두 역미셀을 도입한 경우 더 높은 EE값을 보인다. 이는 두 종류의 PLA가 모두 10%의 경우인 Figure 3(b), (d)와는 대비되는 결과로 저농도의 PLA에서 역미셀의 캡슐화 기여도가 높고 반대로 고농도의 PLA에서는 역미셀 도입이 오히려 캡슐화를 저해하는 것으로 나타났다. 이는 역미셀 형성이 내부 수상인 W1을 안정화시켜 캡슐화에 기여한다는 결과들과[26,27]과는 상반된 결과이다. 이러한 결과에 대한 한 가지 가설은 고농도의 PLA를 함유한 오일상의 경우 W1 성분을 함유한 역미셀이 오일상을 가로질러 외부로 혼입되는 시간이 충분하지만, 반대로 저농도 PLA 오일상의 경우 내부에 역미셀 형성이 된 후 바로 얇은 고분자 막이 형성되어 오히려 EE값에 유리할 것으로 추측된다. Figure 3로부터 추정하건데, 캡슐화도는 dynamics에 지배받기보다 열역학적 평형에 더 지배를 받는 것으로 보이는데, 점도와 상관없이 LPLA, HPLA의 EE는 비슷한 농도 구간에서 비슷한 경향성을 보인다. 캡슐화가 동적 에너지에 더 영향을 받는다면 비슷한 점도 구간인 LPLA 고농도와 HPLA 저농도에서 비슷한 거동을 보여야 하는데 그런 경향성은 발견하지 못했다. 이 부분은 3.3. section에서 더 자세히 다룰 예정이다.

Figure 4 또한 앞서 언급한 논점을 뒷받침하는 결과로, 점도와 상관없이 LPLA (a), HPLA (b) 두 경우 모두 저농도에서 역미셀의 효과가 두드러지고 고농도에서 반대 현상을 관찰할 수 있다. W2에 salt를 추가한 경우 이러한 경향성이 더 부각됨을 볼 수 있다. Figure 5는 W1(5 g)과 W1(10 g)을 비교하는 결과로 앞서 설명한 대로 둘의 AA의 총량

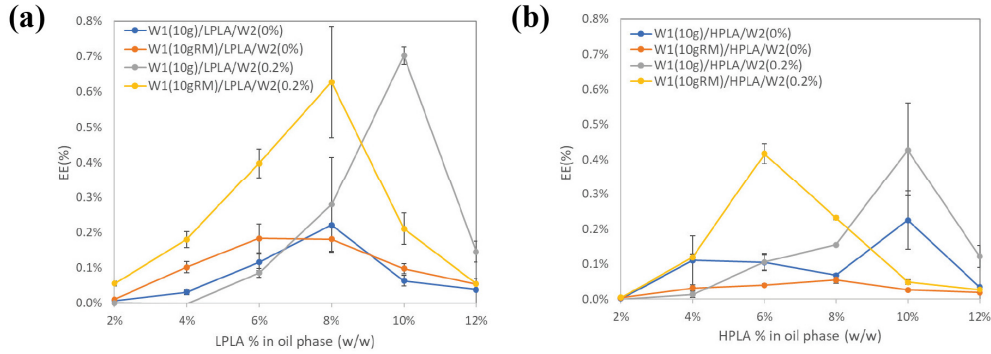


Figure 4. EE (%) profile of (a) LPLA (2~12% in oil phase) microcapsules with various combination of W1 and W2 (b) HPLA (2~12% in oil phase) microcapsules with various combination of W1 and W2.

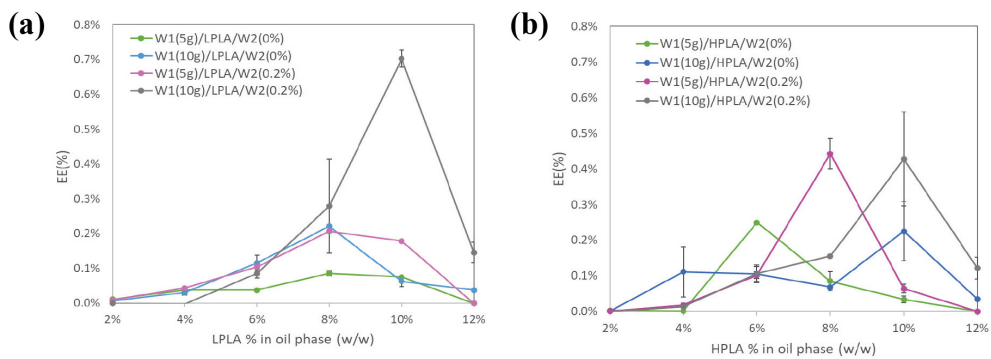


Figure 5. Comparison of EE(%) profile between W1(10 g) and W1(5 g) at 0% and 0.2% salt of W2 phase for (a) LPLA (2~12% in oil phase) and (b) HPLA (2~12% in oil phase).

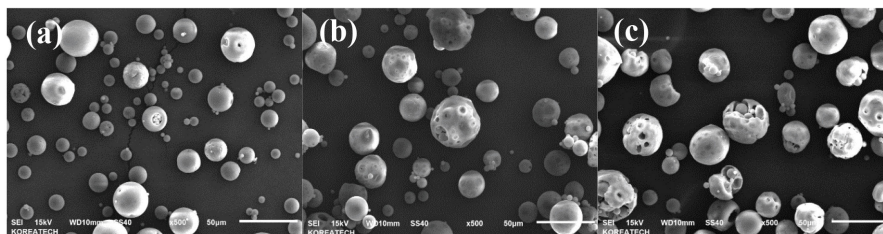


Figure 6. SEM images of (a) microcapsules from 10% LPLA with 0.2% salt of W2 (b) microcapsules from 10% LPLA with 0% salt of W2 (c) microcapsules from 10% LPLA with 0% salt of W2 + 0.2% salt of W1.

은 같지만 W1(5 g)의 농도가 두 배로 높고 대신 W1 양이 절반으로 줄어든 경우다. 당연히 W1(5g)의 경우에 AA 수용액으로 인한 삼투압이 더 높아질 것으로 EE값이 W1(10 g) 대비 상대적으로 낮아질 것으로 예상할 수 있으며, Figure 5로부터 HPLA 저농도 구간을 제외하고 예측된 경향성이 뚜렷하게 나타남을 볼 수 있다. PLA 미립자를 제품화한다면 피부 내 분해 속도 등을 고려하여 LPLA에 가까운 저분자량의 PLA를 적용함이 바람직하다.

3.2. Morphology

Figure 6은 LPLA로 제조된 미립자들의 SEM 이미지를 나열한 것으로 왼쪽부터 (a) W1 0% salt + W2에 0.2% salt를 적용한 경우, (b) W1 0% salt + W2에 0% salt를 적용한 경우 (c) W1 0.2% salt + W2 0% salt를 적용한 3가지 경우를 비교하였다. 조성을 비교해 보면 예측할 수 있듯이 (a)의 경우가 가장 삼투압의 차이가 작고 (b), (c)로 갈수록

증가한다. 삼투압의 차이가 가장 큰 (c)의 경우 미립자 표면이 구멍이 나고 손상이 많은 것으로 보이며, 반대로 (a)의 경우 미립자 표면이 가장 매끄럽고 단단해 보인다. 이로써 큰 삼투압의 차이가 미립자 안정성을 저해하고 미립자 자체의 수율에는 영향이 없더라도, 손상이 가고 구멍이 난 미립자를 생산하게 되어 내부의 AA가 외부로 쉽게 손실되었음을 유추할 수 있다.

3.3. Modeling

AA와 같이 친수성 물질이 아닌 다양한 기능성 물질을 캡슐화 할 수 있기 때문에 수율 자체에 대한 공정 예측도 필요하다. 앞서 분석한 EE값과는 별개로 미립자 표면이 손상되더라도 생산된 미립자는 온전히 수율 계산에 포함된다. 당초 미립자 형성은 가느다랗고 기다란 액적이 형성된 뒤 주변의 강한 전단응력(shear stress)로 인해 끊어지면서 작은 구형 액적이 형성되는 것에 착안하여 무차원수인 Ca (capillary

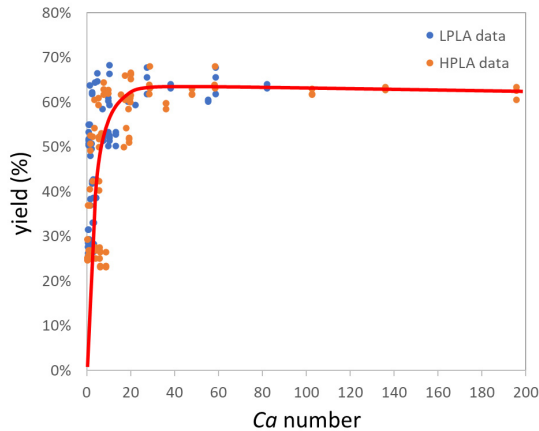


Figure 7. Universal plot of microcapsule yield (%) versus capillary number.

number)를 도입하였다. Ca 는 계면장력 대비 가해지는 viscous drag force로써 Equation (3)과 같이 Weber number와 Reynolds number로 표현될 수 있다.

$$Ca = \frac{\mu v}{\sigma} = \frac{We}{Re} \quad (3)$$

$$Re = \frac{\rho v l}{\mu} \rightarrow Re_m = \frac{\rho n d^2}{\mu} \quad (4)$$

$$We = \frac{\rho v^2 l}{\sigma} \rightarrow We_m = \frac{\rho n^2 d^3}{\sigma} \quad (5)$$

여기서 ρ , v , μ , σ , n , d 는 각각 초기 생성된 액적(W1)과 그들을 둘러싸는 오일상(O)의 밀도, 속도, 점도, 계면장력, 회전속도, 교반기 회전자의 직경이다. Equation (3) 표현에서 drag force의 주된 driving force가 교반기 회전력인 경우 Equation (4), (5)와 같이 식을 변형하여 각각을 Re_m , We_m 으로 명명한다. Re_m , We_m 은 각각 Re , We 와 동일하게 무차원이지만 $v = nd$, $l = d$ 와 같이 실측가능한 운전 변수를 대입하여 계산이 가능하도록 변형한 무차원수이며 그 물리적인 의미는 변함이 없다. 이와 같이 변형된 무차원수들을 Equation (3)에 대입하여 capillary number of mixing을 유도하면 아래와 같다.

$$Ca_m = \frac{We_m}{Re_m} = \frac{\mu n d}{\sigma} \quad (6)$$

Figure 7은 LPLA, HPLA, 역미셀, W1, W2의 다양한 salt 농도를 포함하는 모든 샘플의 데이터를 통합, Equation (6)의 Ca 값에 대하여 plot한 결과이다. 그래프를 자세히 보면 Ca 약 20 부근까지는 yield값이 급격히 증가하다가 이후 일정하게 유지되는 것을 볼 수 있다. 따라서, $Ca = 20$ 이 에너지 비용을 절감하면서 최고치의 미립자 yield를 얻을 수 있는 최적의 공정 조건이라고 본다. 반면, EE값은 Equation (4), (5), (6)의 무차원수들과 어떠한 상관관계도 발견되지 않았으며, 계면장력과 같은 개별적인 공정변수와도 아무런 상관관계가 발견되지 않았다. 이를 통해서 수율은 유체의 dynamics에 지배를 받으며, EE는 계면 사이의 열역학적 평형에 지배받음을 유추할 수 있다.

4. 결 론

본 연구에서는 W1/O/W2 이중유화법을 통하여 아스코르브산을 봉입한 PLA 마이크로캡슐을 제조하였으며, 최고의 EE, yield를 위한 공정 조건을 찾기 위해 다양한 공정변수의 영향성을 분석하였다. 실험 결과 캡슐화 효율에 가장 큰 영향을 미치는 변수는 W1과 W2의 삼투압의 차이로, 삼투압의 차이가 클수록 미립자 표면이 손상되며 EE값도 낮아짐을 볼 수 있었다. EE값을 높일 것으로 예측했던 역미셀의 도입은 낮은 농도의 PLA 구간에서만 효율적인 것으로 나타났다. 모델링 결과 Ca 관계식을 yield data에 도입해 본 결과 전 영역에 걸쳐 일관된 경향성을 보였고, $Ca > 20$ 에서는 더 이상 수율이 증가하지 않음을 발견했다. 최고의 공정 효율성을 위해서는 $Ca = 20$ 부근에서 공정을 수행하여 높은 수율을 얻고, 고농도 salt를 함유한 W2를 사용하여 EE값을 높이는 방법이 될 것이다. 마지막으로 EE값은 계면 사이의 열역학적 평형에 지배를 받는 것으로 보이는 바, 후속 연구는 삼투압의 차이를 정량적으로 측정하고, 이를 바탕으로 열역학적 모델링을 수행하여 EE값과 상호연관성을 규명하는 일이 될 것이다.

감 사

이 논문은 2022년도 한국기술교육대학교 교수 교육연구진흥과제 및 공용장비센터 지원에 의하여 연구되었습니다.

References

1. N. I. Kim, Role of vitamins and minerals on skin care and beauty, *Food Sci. Ind.*, **38**, 16-25 (2005).
2. R. M. S. Cruz, M. C. Vieira, and C. L. M. Silva, Effect of heat and thermosonication treatments on watercress (*Nasturtium officinale*) vitamin C degradation kinetics, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, **9**, 483-488 (2008).
3. S. K. Lee and A. A. Kader, Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops, *Postharvest Biol. Technol.*, **20**, 207-220 (2000).
4. A. C. Caritá, B. Fonseca-Santos, J. D. Shultz, B. Michniak-Kohn, M. Chorilli, and G. R. Leonardi, Vitamin C: One compound, several uses. Advances for delivery, efficiency and stability, *Nanomedicine*, **24**, 102117 (2020).
5. J. A. Tudela, J. C. Espín, and M. I. Gil, Vitamin C retention in fresh-cut potatoes, *Postharvest Biol. Technol.*, **26**, 75-84 (2002).
6. G. Ma, Microencapsulation of protein drugs for drug delivery: Strategy, preparation, and applications, *J. Control. Release*, **193**, 324-340 (2014).
7. P. T. da Silva, L. L. M. Fries, C. R. de Menezes, A. T. Holkem, C. L. Schwan, É. F. Wigmann, J. de O. Bastos, and C. de B. da Silva, Microencapsulation: Concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology, *Cienc. Rural.*, **44**, 1304-1311 (2014).
8. G. S. Khang, J. S. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, Drug delivery systems using biodegradable polymers, *Polym. Sci. Technol.*, **12**, 4-19 (2001).
9. M.-H. Lee, K.-J. Kim, and T.-J. Eom, Preparation of emulsion from biodegradable polymer (I) - Preparation of PLA and PBS emulsions -, *J. Korea TAPPI*, **44**, 28-35 (2012).

10. R. M. Rasal, A. V. Janorkar, and D. E. Hirt, Poly(lactic acid) modifications, *Prog. Polym. Sci.*, **35**, 338-356 (2010).
11. R. A. Jain, The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices, *Biomaterials*, **21**, 2475-2490 (2000).
12. M. Kitajima and A. Kondo, Fermentation without multiplication of cells using microcapsules that contain zymase complex and muscle enzyme extract, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **44**, 3201-3202 (1971).
13. T. Uchida, N. Nagareya, S. Sakakibara, Y. Konishi, A. Nakai, M. Nishikata, K. Matsuyama, and K. Yoshida, Preparation and characterization of polylactic acid microspheres containing bovine insulin by a w/o/w emulsion solvent evaporation method, *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 1539-1543 (1997).
14. A. Popelka, A. Abdulkareem, A. A. Mahmoud, M. G. Nassr, M. K. A. A. Mohamoud, K. J. Mohamoud, M. K. Hussein, M. Lehocky, D. Vesela, P. Humpolíček, and P. Kasak, Antimicrobial modification of PLA scaffolds with ascorbic and fumaric acids via plasma treatment, *Surf. Coat. Technol.*, **400**, 126216 (2020).
15. A. Carr and S. Maggini, Vitamin C and immune function, *Nutrients*, **9**, 1211 (2017).
16. A. Gęgotek and E. Skrzydlewska, Antioxidative and anti-inflammatory activity of ascorbic acid, *Antioxidants*, **11**, 1993, (2022).
17. N. Mangır, A. J. Bullock, S. Roman, N. Osman, C. Chapple, and S. MacNeil, Production of ascorbic acid releasing biomaterials for pelvic floor repair, *Acta Biomater.*, **29**, 188-197 (2016).
18. H. R. Jin, Tissue engineered human cartilage, *Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg.*, **46**, 355-363 (2003).
19. R. Fitzgerald, L. M. Bass, D. J. Goldberg, M. H. Graivier, and Z. P., Physicochemical characteristics of poly-L-lactic acid (PLLA), *Aesthet. Surg. J.*, **38**, S13-S17 (2018).
20. Q. Gao, L. Duan, X. Feng, and W. Xu, Superiority of poly(L-lactic acid) microspheres as dermal fillers, *Chin. Chem. Lett.*, **32**, 577-582 (2021).
21. Y. Zhang, H. Liang, Q. Luo, J. Chen, N. Zhao, W. Gao, Y. Pu, B. He, and J. Xie, In vivo inducing collagen regeneration of biodegradable polymer microspheres, *Regen. Biomater.*, **8**, 1-13 (2021).
22. B. K. Kim, *A Study on the Microencapsulation of Nanospheres*, MSc Dissertation, Hannam University, Daejeon, Korea (2004).
23. S. L. Duraikkannu, R. Castro-Muñoz, and A. Figoli, A review on phase-inversion technique-based polymer microsphere fabrication, *Colloids Interface Sci. Commun.*, **40**, 100329 (2021).
24. R. Liu, G.-H. Ma, Y.-H. Wan, and Z.-G. Su, Influence of process parameters on the size distribution of PLA microcapsules prepared by combining membrane emulsification technique and double emulsion-solvent evaporation method, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, **45**, 144-153 (2005).
25. J. H. Lee, J. W. Jang, J. W. So, J. H. Choi, J. H. Park, S. I. Ahn, Y. S. Son, B. H. Min, and G. S. Khang, Adhesion of human intervertebral disk cells on alginate/PLGA microspheres, *Polym. Korea*, **33**, 7-12 (2009).
26. Y. Yang, Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method, *Biomaterials*, **22**, 231-241 (2001).
27. T. Ohwaki, R. Machida, H. Ozawa, Y. Kawashima, T. Hino, H. Takeuchi, and T. Niwa, Improvement of the stability of water-in-oil-in-water multiple emulsions by the addition of surfactants in the internal aqueous phase of the emulsions, *Int. J. Pharm.*, **93**, 61-74 (1993).
28. Z. Li, H. Liu, L. Zeng, H. Liu, S. Yang, and Y. Wang, Preparation of high internal water-phase double emulsions stabilized by a single anionic surfactant for fabricating interconnecting porous polymer microspheres, *Langmuir*, **30**, 12154-12163 (2014).

Authors

Ji Won Yun; Graduate Student, School of Energy, Materials & Chemical Engineering, Korea University of Technology and Education, Cheonan-si 31253, Republic of Korea; imjiwon@gmail.com

Young Mi Chung; Ph.D., Professor, School of Energy, Materials & Chemical Engineering, Korea University of Technology and Education, Cheonan-si 31253, Republic of Korea; quebecoise@koreatech.ac.kr