

편백정유를 함유한 알지네이트 비드의 제조 및 방출 특성

윤두수, 이응재*
조선이공대학교 생명환경화공과

Preparation and Release Characterization of Sodium Alginate Bead Containing Phytoncide Oil

Doo-Soo Yoon, Eung-Jae Lee*

Dept. of Bioenvironmental & Chemical Engineering, Chosun College of Science & Technology

요약 본 연구에서는 편백 오일을 함유한 고분자 알지네이트(HMWSA)/저분자 알지네이트(LMWSA)의 각 조성비를 달리하여 알지네이트 함량에 따라 비드를 제조하였으며 고분자알지네이트/저분자알지네이트 함량에 따른 알지네이트 비드의 직경과 모폴로지 및 방출특성을 관찰하였다. 고분자 알지네이트(HMWSA)와 저분자 알지네이트(LMWSA)비드 제조 시 교반속도와 농도의 변화에 따른 지름변화 및 표면 특성 등을 광학현미경으로 이용하여 확인하였다. 또한 피톤치드/알지네이트 비드에서 편백 오일 방출 거동에 대해서는 UV/Vis. spectrometer를 사용하여 그 특성을 조사하였다. 본 실험에서 제조된 피톤치드/알지네이트 비드의 평균 입자 크기는 교반 속도가 증가하면서 그 크기가 작아짐을 알 수 있었고, 가교제 역할을 하는 CaCl₂ 용액의 농도가 증가할수록 비드의 크기가 작아짐을 확인 할 수 있었다. 피톤치드/알지네이트 비드의 표면 모폴로지 확인 결과에서 저분자 알지네이트의 함량이 증가할수록 부드러운 표면이 거칠게 변화하는 것을 확인 할 수 있었다. 이러한 결과들은 피톤치드/알지네이트 비드 표면에서 친수성그룹들이 증가했으며, 또한 피톤치드/알지네이트에서 피톤치드 오일 방출속도가 증가되었기 때문이다.

Abstract High molecular weight sodium alginate (HMWSA)/low molecular weight sodium alginate (LMWSA) microcapsules containing phytoncide oil were prepared with different LMWSA contents. The effects of the stirring rate and ratio of HMWSA/LMWSA on the diameter and morphology of the phytoncide/alginate beads were investigated by optical microscopy and the release behaviors of phytoncide oil from the phytoncide/alginate beads were characterized by UV/Vis. spectrophotometry. The mean particle size of the phytoncide/alginate beads decreased with increasing stirring rate and concentration of the calcium chloride solution. The surface morphology of the phytoncide/alginate beads changed from smooth surfaces to skin-like rough surfaces with increasing LMWSA content. These results were due mainly to the increased hydrophilic groups at the bead surface, resulting in an increase in the release rate of phytoncide oil in the phytoncide/alginate beads.

Keywords : Alginate Bead, HMWSA, LMWSA, Phytoncide/Alginate Bead, Phytoncide Oil

1. 서론

향기를 내는 방향성 물질은 일반적으로 탄소수가 10~15개 정도의 간단한 유기화합물로서 휘발성이 클 뿐만 아니라 향이 실온에서 급방 증발되기 때문에 지속적

으로 작용하기가 힘들다. 따라서 방향성 물질을 적당한 크기의 고분자 물질로 감싸줌으로서 편백 정유가 갖는 고유의 특성을 작용시키려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 편백 정유 성분은 식물체에서 증류법에 의해 추출한 terpene 물질로써 피부질환 치료 및 항스트레스 작용뿐

*Corresponding Author : Eung-Jae Lee(Chosun College of Science & Technology.)

Tel: +82-62-230-8513 email: ejlee@cst.ac.kr

Received January 24, 2018

Accepted April 6, 2018

Revised (1st February 14, 2018, 2nd February 21, 2018)

Published April 30, 2018

만 아니라, 항균, 해충방지 및 항산화능에 매우 뛰어난 효과가 있는 것으로 보고되고 있다[1,2].

알지네이트(alginate)는 갈조류와 해조류의 세포벽의 주요 구성성분으로 존재하는 다당류(polysaccharide)이며[3,4] 우수한 생체적합성과 생분해성 및 다양한 물성을 가지고 있어 의약품, 화장품, 식품 등의 첨가제로 광범위하게 이용되고 있다. 알지네이트는 β -D-만누론산(mannuronic acid)과 α -L-글루루론산(guluronic acid)으로 구성되어 있다[5,6].

이러한 알지네이트를 이용한 대표적인 응용 사례가 알지네이트 비드(bead)이다. 알지네이트 용액에 다가이온(multivalent ion)인 칼슘 이온(Ca^{2+})을 넣어 주면 알지네이트에 존재하는 카르복실기와 정전기적 인력(electrostatic interaction)으로 인해서 하이드로겔(hydrogel)을 형성한다[7,8]. 최근 약물전달체에 관한 연구에서 약물의 안정성과 흡수율을 향상시켜서 약물발현을 최적화하여 치료효과를 극대화할 수 있다는 연구결과들이 발표되고 있는데, 알지네이트 비드의 경우 자극 민감성 약물 전달체의 효과적인 수단이 될 수 있다고 알려져 있다[8]. 또한, 저분자 알지네이트(LMWSA)의 경우 고분자 알지네이트(HMWSA)가 갖지 못한 뛰어난 항균성을 가지고 있으며 이러한 성질을 이용하여 다양한 활용 방안이 모색중이다[9].

본 실험에서는 앞서 언급한 바와 같이 우수한 탈취 및 항균성을 갖는 편백 정유를 함유한 알지네이트 비드를 HMWSA와 LMWSA를 사용하여 제조하였다. 이때 LMWSA의 함량과 교반속도의 변화에 따른 알지네이트 비드의 모폴로지의 변화를 관찰하였다. 또한 알지네이트 비드 안에 담지(loading)된 편백정유의 방출(releasing) 거동을 관찰하여 편백정유를 함유한 알지네이트 비드의 특성을 확인코자한다.

2. 실험

2.1 시료 및 재료

본 연구에는 사용된 고분자 알지네이트는 High Molecular Weight Sodium Alginate(Mn:401,271Da)를 사용하였고 이는 Choi[9]로부터 공급받아 그대로 사용하였으며, 이를 과산화수소와 초음파로 저분자하여 Low Molecular Weight Sodium Alginate (Mn:4,082Da) 사용하였다.[9] 알지네이트 가교제인 염화칼슘($CaCl_2$)은 Dae

jung Chemical Co., Ltd.(Korea)에서 구입하였다. Phytoncide Oil은 Junsei(Japan)사에서 구입하여 사용하였다. 과산화수소(H_2O_2)는 대성화학 제품을 사용하였으며, 미반응된 과산화수소 제거로 사용되는 효소는 bovine liver으로부터 얻어진 Catalase를 Aldrich(USA)사에서 구입하여 사용하였다.

2.2 저분자 알지네이트 제조

2 % 고분자 알지네이트(W/V, HMWSA 200 g, 증류수 10,000 mL) 10,000 mL 용액에 34.5 wt% 과산화수소(H_2O_2) 300 mL를 혼합한 후, 80 °C에서 480 ~ 600 W의 초음파로 22시간 동안 반응시킨다. 22시간 반응 이후에는 잔량의 과산화수소를 catalase로 완전하게 제거한 후, 50 °C에서 회전증발 농축기로 용매를 제거하여 40 °C에서 48시간 건조하여 회수하였다[9].

2.3 편백 정유 함유 알지네이트 비드의 제조

증류수 100 mL에 벽재 물질인 고분자 알지네이트와 저분자 알지네이트의 함량비 100:0, 90:10, 80:20 그리고 70:30) 1.0 g을 완전히 용해시킨 후 Phytoncide Oil 1.0 g 넣고 교반하여 충분히 분산시켜 주었다. 제조된 phytoncide /alginate 용액을 1초에 한 방울씩 0.5~1.0 wt% 염화칼슘 용액에 더해지면서 3시간 동안 같은 속도로 계속적으로 분산시켜 주었다. 또한 과량의 $CaCl_2$ 를 제거하기 위해서 증류수로 수회 세척하여 40 °C에서 약 24시간 동안 건조하여 회수하였다[10].

2.4 편백정유 함유 알지네이트 비드의 FT-IR 분석

제조된 편백 정유 알지네이트 비드의 phytoncide 함유 여부를 확인하기 위해 고분자 알지네이트, 저분자 알지네이트, 편백정유 그리고 제조된 편백 정유 알긴산염 비드를 FT-IR (Digital FRS-80, Bio-Rad scan range. 600-2,000 cm^{-1})를 이용하여 비교 분석하였다.

2.5 편백정유 함유 알지네이트 비드의 방출특성

제조된 편백 정유 알긴산염 비드의 방출 시간을 단축하기 위해 ethyl alcohol을 사용하여 편백정유 방출 특성을 측정하였다. ethyl alcohol 20 mL에 1 g의 편백 정유 함유 알지네이트 비드를 넣고 37 °C로 조절된 항온조에서 팽윤시키면서 편백정유를 방출시켰다. 일정 시간에

따라 용액을 채취하여 UV-Vis(Shimadzu Co., Ltd. UV mini-1240) 흡광도법으로 편백정유의 발색 피크인 535 nm에서 흡광도를 측정하여 방출 특성을 확인하였다[11].

3. 결과 및 고찰

3.1 편백정유 함유 알지네이트 비드의 형성

제조된 편백 정유 함유 알지네이트 비드의 편백정유의 함유 여부를 확인하기 위해 고분자 알지네이트, 저분자 알지네이트, 편백정유 그리고 고분자 알지네이트/저분자 알지네이트를 8:2의 비율로 사용하여 제조한 편백정유 일간산염 비드의 FT-IR를 측정하여 Fig. 1에 보였다. 편백정유에서 보여지는 -CO-에 의한 피크(1,730 cm^{-1}), 알킬그룹에서 비롯된 CH_2 bending에 의한 피크(1,443 cm^{-1}), 메틸렌 그룹 말단의 H-H bending에 의한 피크(885 cm^{-1})가 편백정유/알지네이트에서도 나타났다. 고분자 알지네이트와 저분자 알지네이트에서 보여지는 C=O 신축진동 (1,612 cm^{-1}), C-O 신축진동(1,415 cm^{-1}), C-O-H 신축진동(1,014 cm^{-1}) 피크 또한 편백정유/알지네이트 비드에서도 동일하게 나타났다. 따라서, 편백 정유를 함유한 알지네이트 비드가 생성된 것으로 사료된다.

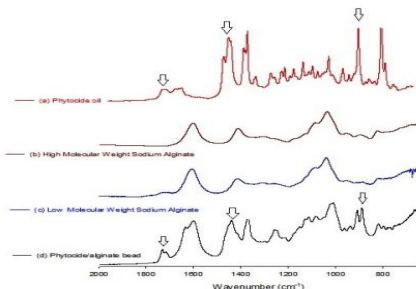


Fig. 1. FT-IR spectra of Phyticide Oil, HMWSA, LMWSA, and Phyticide/Alginate Bead.

3.2 교반 속도에 의한 영향

교반 속도의 영향을 알아보기 위하여 가교제의 농도를 1.0 wt%로 하고 고분자 알지네이트/저분자 알지네이트를 8:2로 고정시키고 교반시간을 3시간으로 일정하게 한 후 교반속도를 각각 500, 1,000, 2,000 rpm으로 하여 제조한 편백 정유/알지네이트 비드를 광학현미경으로 관찰하여 평균 크기와 형태를 확인(Fig. 2)하였다. 편백 정유/알지네이트 비드의 평균 크기는 500 rpm 교반

속도에서 제조한 경우 873.3 μm 로서 상대적으로 큰 입자들이 형성되었고, 1,000 rpm 교반속도에서 제조한 경우 706.3 μm 그리고 2,000 rpm 교반속도로 제조된 경우에는 530.8 μm 으로 측정되었다. 교반속도가 증가할수록 편백 정유 알긴산염 비드의 크기는 점점 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 편백 정유/알지네이트 비드의 크기가 교반속도에 영향을 받고 있음을 의미하며, 기계적 교반 속도가 증가할수록 잘 분산되어 입자의 크기가 감소된 것으로 사료된다[12].

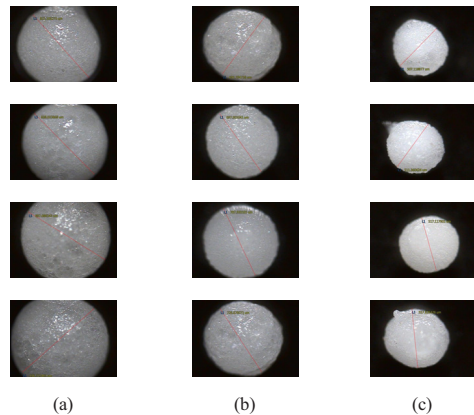


Fig. 2. Surface morphologies of different stirring rates: (a) 500rpm, (b) 1,000rpm, (c) 2,000rpm.

3.3 염화칼슘 농도에 의한 영향

염화칼슘을 가교제로 사용하여 제조하는 알지네이트 비드에서 염화칼슘의 농도에 의한 영향을 살펴보기 위하여 교반속도를 1,000 rpm으로 고정하고 고분자 알지네이트/저분자 알지네이트를 8:2로 첨가하여 3시간 동안 교반하고 가교제의 농도를 0.5 wt%, 1.0 wt% 그리고 2.0 wt%로 변화시켜 제조된 편백 정유 알지네이트 비드의 크기와 형태를 조사하여 Fig. 3에 보였다.

염화칼슘 농도를 0.5 wt%로 하여 제조된 비드의 평균 입자 크기는 804.5 μm 로서 약간 일그러진 형태와 부분적으로 입자들간의 유착으로 인한 덩어리들이 관찰되었다. 가교제의 농도가 1.0 wt%일 때는 입자들간의 유착은 거의 일어나지 않았으며 일정한 형태의 742.8 μm 평균 입자 크기를 나타내었다. 반면에 2.0 wt%일 때는 668.4 μm 평균 입자 크기로서 상대적으로 작고 일그러진 형태의 알지네이트 비드가 형성되는 것을 확인할 수 있었다. 이것은 알지네이트 용액에서 가교 역할을 하는 Ca^{2+} 이온

이 알지네이트에 존재하는 카르복실기와의 정전기적 인력으로 인해서 하이드로겔(hydrogel)을 형성하기 때문이다.[7,8] 따라서 염화칼슘의 농도가 비드 형성에 큰 영향을 미친다는 것을 알 수 있으며 [13,14], 본 연구에서도 동일한 경향성을 확인할 수 있었다.

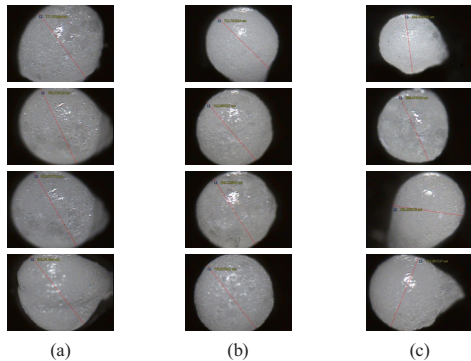


Fig. 3. Surface morphologies of different concentrations of CaCl₂ : (a) 0.5wt%, (b) 1.0wt%, (c) 2.0wt%.

3.4 저분자 알지네이트 함량에 의한 영향

편백 정유 알지네이트 비드 제조 시 저분자 알지네이트 함량이 미치는 영향을 살펴보기 위해서 가교제의 농도를 1.0 wt%, 교반속도는 1,000 rpm, 교반시간은 3시간으로 고정시키고 저분자 알지네이트의 함량을 0 wt%, 10 wt%, 20 wt% 그리고 30 wt%로 변화시켜서 알지네이트 비드를 제조하여 결과를 Fig. 4에 보였다.

제조된 편백 정유 알지네이트 비드의 크기 및 형태를 광학현미경으로 관찰하였으며, 저분자 알지네이트의 함량이 증가함에 따라 편백 정유 알지네이트의 크기는 약간 감소하는 경향을 보였다. 저분자 알지네이트를 0 wt%을 사용하였을 경우, 상대적으로 큰 알지네이트 비드가 형성되었음을 알 수 있었다. 평균 크기가 849.5 μm로 그 크기의 편차도 매우 커 균일하지 못한 알지네이트 비드가 형성되었다. 저분자 알지네이트 10 wt%을 사용하였을 경우에는 783.3 μm의 평균 크기를 갖는 알지네이트 비드가 형성되었으며, 20 wt%을 사용하였을 경우에는 737.5 μm의 평균 크기를 갖는 알지네이트 비드가 형성되었다. 그리고 30 wt%을 사용한 경우의 비드 크기는 583.0 μm이었다. 이러한 결과들은 피톤치드/알지네이트 비드 표면에서 친수성그룹을 갖는 저분자 알지네이트의 함량비가 증가함에 따른 결과로써 예측되며, 추가적 연구로 증명하고자 한다.

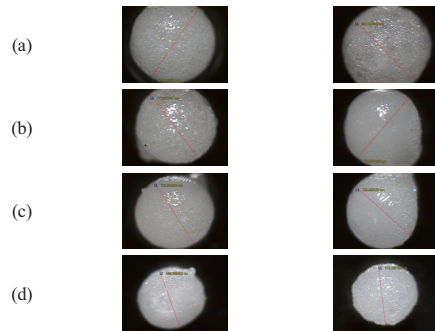


Fig. 4. Surface morphologies of different LMWSA ratios : (a) 0 wt%, (b) 10 wt%, (c) 20 wt%,(d) 30wt%.

3.5 저분자 알지네이트 함량비에 따른 방출거동

교반속도를 1,000 rpm, 가교제의 농도를 1.0%, 교반시간은 3시간으로 하여 제조된 알지네이트 비드의 저분자 알지네이트 함량비에 따라 Ethyl alcohol 내에서의 편백정유 방출 거동을 확인하여 결과를 Fig. 5에 보였다.

저분자 알지네이트 함량이 0, 10, 20, 30 wt%일 때, 방출 시간이 3시간 지났을 때, 각각 0.102, 0.135, 0.145, 0.168으로 편백정유가 측정되었다. 저분자 알지네이트를 사용한 경우 방출된 편백정유의 양이 더 많음을 확인하였다. 방출 시작한지 11시간 이후로는 저분자 알지네이트 함량에 상관없이 편백 정유가 아주 천천히 방출되는 것을 확인할 수 있었으며 16시간 이상 편백정유 향이 지속됨을 알 수 있었다. 저분자 알지네이트를 함량이 증가함에 따라 편백정유의 방출량이 많아지는 것을 알 수 있다. 이 또한 앞서 언급된 바와 같이 비드 표면에서 저분자 알지네이트의 친수성기가 증가했기 때문이며, 분자량이 큰 고분자 알지네이트에 비해서 상대적으로 분자량이 적은 저분자 알지네이트의 경우 확산계수가 증가하면서 비드 기공을 통해 편백오일이 더 잘 방출되었을 것으로 사료된다[13].

4. 결론

본 연구에서는 피톤치드 오일을 함유한 알지네이트 비드를 저분자 알지네이트의 함량에 따라 제조하였다. 고분자알지네이트/저분자 알지네이트의 함량에 따라 제조된 비드의 직경과 모폴로지 및 방출특성을 관찰하였다.

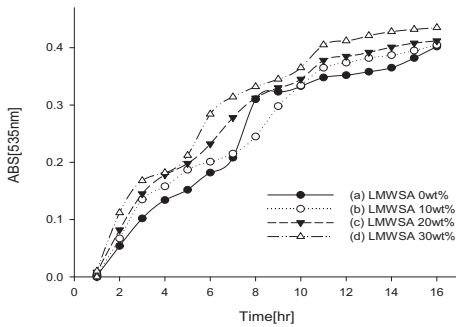


Fig. 5. Release behavior of different LMWSA ratios: (a) 0 wt%, (b) 10 wt%, (c) 20 wt%, (d) 30wt%.

제조된 비드 입자의 크기는 교반속도와 가교제의 양이 증가할수록 작아지는 것을 확인하였고, 교반속도가 빨라수록 비드의 크기가 작아짐을 관찰하였다. 염화칼슘의 함량은 0.5, 1.0, 2.0 wt%로 농도가 높을수록 비드의 크기가 작아짐을 확인하였다. 이때 염화칼슘의 농도가 증가함에 따라 비드의 표면이 매끄럽지 못하고 주름진 구형의 알지네이트 비드가 형성되었다. 방출 거동은 저분자 알지네이트의 함량에 관계없이 16시간 이상 지속됨을 알 수 있었다. 저분자 알지네이트 함량이 증가할수록 phytoncide oil의 초기 방출량은 많아짐을 확인하였다.

References

[1] Gocho S. "Antibacterial action of aroma compounds in vapor state". *Int J Antimicrob Agents.*, 19: 329-334, 1991.

[2] Rudman P. "The causes of natural durability in timber(11), some tests on fungi toxicity of wood extractives and related compounds", *Holzforschung*, 17: 54-57, 1963.
DOI: <https://doi.org/10.1515/hfsg.1963.17.2.54>

[3] V. Pillai and R. Fasshi, "In vitro release modulation from crosslinked pellets for site-specific drug delivery to the gastrointestinal tract: II. Physicochemical characterization of calcium - alginate, calcium - pectinate and calcium - alginate - pectinate pellets", *J. Control. Rel.*, Vol. 59, pp. 243-256, 20 May 1999.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(98\)00197-7](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(98)00197-7)

[4] S. R. Kim, S. H. Yuk, and M. S. hon, "A semi-interpenetrating networks system for a polymer membrane", *European Polymer J.*, 33, 1009-1014, 1997.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0014-3057\(96\)00301-1](https://doi.org/10.1016/S0014-3057(96)00301-1)

[5] H. Ertesvag and S. Valla, "Biosynthesis and applications of alginates", *Polym Degrad Stabil.*, 59, 85 - 91. 1998.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(97\)00179-1](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(97)00179-1)

[6] P. D. Vos, B. D. Haan, and R. V. Schilfgaard, "Effect

of the alginate composition on the biocompatibility of alginate-polylysine microcapsules", *Biomaterials.*, 18, 273, 1997.

DOI: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(96\)00135-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(96)00135-4)

[7] J. H. Choi, H. Y. Lee, and J. C. Kim, "Release behavior of freeze-dried alginate beads containing poly (N-isopropylacrylamide) copolymers," *J. Appl. Polym. Sci.*, 110(1), 117-123, 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1002/app.28620>

[8] E. Roux, C. Passerini, S. Scaffold, J. P. Benoit, and J. C. C, "Serum-stable and long-circulating, PEGylated, pH-sensitive liposomes", *Leroux, J. Control. Rel.*, Vol 94, pp 447-451, 10 February 2004.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2003.10.024>

[9] S. K. Choi and Y. S. Choi, "Depolymerization of Alginates by Hydrogen Peroxide/Ultrasonic Irradiation", *Polym. (korea).*, Vol 35, pp. 444-450, 2011.

[10] D. H. Yong, M. K. Song, and H. H. Yoon, "Effects of Sodium Alginate Concentration on Physical and Sensory Characteristics of Persimmon Calcium Alginate Beads", *Korea J. Food Cook SCI.*, 27(5):497-505, 2011.
DOI: <https://doi.org/10.9724/kfcs.2011.27.5.497>

[11] Sen. M and Güven. O, "Radiation synthesis of poly(N-vinyl 2-pyrrolidone/itaconic acid) hydrogels and their controlled release behaviours", *Radial. Phys. Chem.*, Vol 55, pp 113-120, June 1999.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0969-806X\(98\)00315-6](https://doi.org/10.1016/S0969-806X(98)00315-6)

[12] B.B. Lee, P. Ravindra, and E. S. Chan, "Size and Shape of Calcium Alginate Beads Produced by Extrusion Dripping", *Chemical Engineering Technology.*, 36, 10, 2013.
DOI: <https://doi.org/10.1002/ceat.201290081>

[13] M. K. Kang and J.C. Kim, "Preparation and Release Property of Alginate Beads Immobilizing Poly (N-isopropylacrylamide-co-dimethylaminoethyl methacrylate)", *Polym(Korea).*, 34,79, 2010.

[14] S. Giridhar Reddy*, Akanksha Saxena Pandit, and Amrita Thakur, "Effects of Crosslink Agents on Sodium Alginate and Lignosulphonic Acid Blends", *Polym(Korea).*, 40, 63. 2016.

윤 두 수 (Doo-Soo Yoon)

[정회원]



- 1997년 2월 : 조선대학교 고분자공학(공학석사)
- 2007년 2월 : 조선대학교 고분자공학(공학박사)
- 2009년 4월 ~ 현재 : 조선이공대학교 생명환경화학공과 교수

<관심분야>

고분자 합성, 고분자블렌드

이 응 재(Lee-Eung Jae)

[정회원]



- 2004년 2월 : 조선대학교 고분자공학과(공학석사)
- 2014년 2월 : 조선대학교 첨단부품소재공학과(공학박사)
- 2009년 4월 ~ 현재 : 조선이공대학교 생명환경화학공과 교수

<관심분야>

고분자 합성, 내열성고분자