

초고압균질기 밸브 타입에 따른 coenzyme Q10 나노에멀전의 제조 및 안정성

임지선 · 강호진¹ · 윤성우 · 김형민 · 석종우 · 김도언 · 임재각^{1*}

(주)뉴트리, ¹한국산업기술대학교 생명화학공학과

Preparation and Its Stability of a Coenzyme Q10 Nanoemulsion by High Pressure Homogenization with Different Valve Type Conditions

Ji-Sun Lim, Ho-Jin Gang¹, Sung-Woo Yoon, Hyeong-Min Kim, Jong-Woo Suk, Do-Un Kim, and Jae-Kag Lim^{1*}

Newtree Food Co., Ltd.

¹Department of Biological Science and Chemical Technology, Korea Polytechnic University

Abstract A coenzyme Q10 nanoemulsion was prepared using high pressure homogenization with different valve type conditions (A, B, and C) and cycle numbers (1, 2, and 3). The particle size, transmittance, zeta potential, and coenzyme Q10 content of the prepared coenzyme Q10 nanoemulsion were measured. The stability of the prepared coenzyme Q10 nanoemulsion was evaluated on heating (95°C), freezing (-20°C), and different pH (2-10) conditions. Also, the prepared coenzyme Q10 nanoemulsion was stored at different temperatures of 4, 25, and 40°C for 12 weeks to evaluate its storage stability. In this study, the optimal conditions of high pressure homogenization for the preparation of a coenzyme Q10 nanoemulsion were identified to be 150 MPa, C valve, and a cycle number of 3. The results showed that the prepared coenzyme Q10 nanoemulsion had an average particle size of 40 nm, generated no deposits or floating matter when stored at either 4 or 25°C for 12 weeks, and displayed excellent dispersibility and transparency when processed at different pHs (4-10) or heating (95°C) and, freezing (-20°C) conditions. Our results indicated that a coenzyme Q10 nanoemulsion prepared by high pressure homogenization can be used for preparing beverages in the food industry.

Key words: coenzyme Q10, high pressure homogenization, nanoemulsion

서 론

Coenzyme Q₁₀(2,3-dimethoxy-5-methyl-6-decaprenyl-1,4-benzo-quinone)은 자연계에서 호기적 대사를 하는 거의 모든 동·식물체의 조직에서 발견되고 있으며, 세포막에 결합되어 있는 전자전달계의 필수적인 지질계 화합물로 알려져 있다(1). Coenzyme Q₁₀은 심혈관 질환들을 예방 또는 완화하고(2,3), 강력한 항산화제로 작용하여 세포막의 phospholipids와 각종 lipoprotein의 지질과산화를 방지하며(4), 면역세포를 강화시켜 식세포 작용을 원활하게 함으로써 면역반응을 증강시킨다(5). 이 같이 다양한 효능의 coenzyme Q₁₀은 인체의 모든 조직에 존재하는데 심장, 간, 신장, 췌장에서 고농도로 발견된다(6). 그러나 20대가 지나면서 coenzyme Q₁₀의 생체 생성량은 급격히 줄어들기 시작하고 음식으로 부족분을 공급하는데 한계가 있기 때문에 결핍상태가 발생하게 된다. Coenzyme Q₁₀의 결핍은 울혈성 심부전증, 고혈압, 협심증과 같은 심혈관계 질환과 파킨슨 병 등의 퇴행성 신경질환, 영양실조 장애, 치주질환, 비만, 만성피로, 불임 등을 앓고 있는 환자에게서 나타났다(7,8). 최근 연구에 따르면 부족한 coenzyme Q₁₀을 보충하기

위해서는 성인 기준 하루 90-100 mg의 섭취가 필요하다고 알려지고 있다(9).

Coenzyme Q₁₀은 독성이나 섭취로 인한 부작용이 거의 없어 전 세계적으로 화장품, 건강기능성 식품 및 심혈관계 질환 등 여러 종류의 치료제 및 항산화제로 많이 쓰이고 있으며, 그 유용성은 더욱 높아질 것으로 기대되고 있다(10). 그러나 coenzyme Q₁₀은 상온에서 용점이 약 49°C인 황색 결정의 고체 상태이며, 물에 거의 용해되지 않기 때문에 사용에 매우 제한적이라는 문제점이 있고, 경구 투여 시 생체 내 흡수율이 낮다(11-13). 이러한 coenzyme Q₁₀의 문제를 해결하고 이를 식음료, 화장품 등에 응용하기 위하여 수용화하거나 생체 내 흡수율을 높이기 위한 각종 기술들이 연구되어 왔다. 그 예로써 cyclodextrin을 이용한 나노 복합체의 제조방법과 tween 80을 이용한 coenzyme Q₁₀ 입자 제조, lecithin과 수소화된 팜오일의 monoglyceride, diglyceride, triglyceride 및 polyethylene glycol의 palmitate-stearate를 함께 사용하여 coenzyme Q₁₀을 캡슐화 시키는 방법 등이 있다. 그러나 위와 같은 방법들은 입자 크기가 커서 식음료에 적용 시 경피 흡수가 빠르지 못하다는 문제점이 있었다(14). 그 외에 유화제인 polyethoxy 40 수소화 피마자유와 polysorbate 80을 이용하여 coenzyme Q₁₀을 용해하는 방법들이 있는데, polyethoxy 40 수소화 피마자유 또는 polysorbate 80과 같은 비이온성 유화제의 사용은 용혈, 점막 자극, 점막 결손 등의 문제를 갖고 있기 때문에 이용이 제한적이다(15). 이러한 문제점들을 해결하기 위한 최근 연구들에 따르면 coenzyme Q₁₀과 같은 지용성 물질들을 안정하게 포집한 상태로 제형화 하여 생체 내에 효과적으로 흡수, 전달 될 수 있는 방법

*Corresponding author: Jae-Kag Lim, Korea Polytechnic University, Siheung, Gyeonggi 429-793, Korea
Tel: 82-31-8041-0616
Fax: 82-31-8041-0629
E-mail: jklim@kpu.ac.kr
Received May 6, 2010; revised July 13, 2010;
accepted July 27, 2010

으로 나노에멀전화 하는 방법이 제시되고 있다(16,17). 에멀전은 친유성기와 친수성기를 가지고 있는 양친매성 물질로 된 투명 또는 반투명한 액상으로 열역학적으로 불 때 안정하고 팽윤된 큰 미셀이 분산된 계이다. 분산시킨 에멀전의 방울 입자 크기가 10-100 nm의 범위를 나노에멀전(18)이라 하며, 미니에멀전(19) 또는 반투명계에멀전(20)으로 표현되기도 한다.

현재까지 알려진 나노에멀전 제조 방법으로는 유화제의 계면 화학적인 성질을 이용한 저에너지(low-energy) 에멀전화 방법(21) 과 기계적으로 큰 파쇄 에너지를 가하는 고에너지(high-energy) 에멀전화 방법이 있다(22).

저에너지 에멀전화 방법에는 자발적(spontaneous) 에멀전화(23), 자기결합(self-assembly) 에멀전화(24), 전상온도법(phase inversion temperature: PIT method)(25) 등이 있다. 이러한 저에너지 에멀전화 방법은 낮은 에너지를 투입하여 나노에멀전을 제조할 수 있지만 나노에멀전 형성의 평형상태에 도달하는 조건이나 대량생산 적용 시 어려움이 있다(26,27). 고에너지 에멀전화 방법은 파쇄 에너지가 큰 유화장치를 사용하여 에멀전을 제조하는 것으로 초음파균질기(ultrasound homogenizer)(28) 및 초고압균질기(high pressure homogenizer)(29) 등이 있다. 초음파 에멀전화 방법은 유화제의 존재 하에 초음파에너지를 가할 때 생성되는 내과 진공 거품(imploding cavitation bubble)으로 인해 용매 주위에 큰 충격 파가 발생되고, 높은 속도의 추진력으로 인해 에멀전 액적이 만들어지게 된다. 하지만 작은 batches 타입으로만 제조 할 수 있으므로 실험실 규모에 적합하며 산업적인 스케일에 이용하기에는 실용적이지 않다(30). 초고압균질기를 이용한 에멀전화 방법은 고압균질기를 이용함으로써 유화물이 높은 전단력을 받아 매우 작은 입도를 갖는 에멀전 액적(emulsion droplet)으로 제조가 가능하다. 오일 입자가 미립화 되는 과정은 높은 압력에서 유화물이 얇고 좁은 공간을 형성하는 초고압 균질기 밸브를 통과할 때 생기는 압력변동, 캐비테이션(cavitation), 충돌력 등으로 유화 입자를 작게 만드는 것이다. 초고압균질기를 이용한 에멀전화 방법은 다른 유화 공정들보다 더 작은 입자를 제조하는데 있어 생성효율이 우수하며, 나노에멀전을 산업적으로 대량 생산하기에 적합한 것으로 알려져 있다(31). 따라서, 본 연구에서는 지용성 성분인 coenzyme Q₁₀을 초고압균질기 조건에 따라 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전을 제조하고, 품질특성 및 안정성 평가를 하여 앞으로 다양한 제형의 제품에 활용할 수 있도록 연구를 진행하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용한 coenzyme Q₁₀은 Kaneca(Kaneca Co., Ltd, Osaka, Japan)에서 생산된 순도 98% 이상 제품을 사용하였다. 유화제는 분말형태의 HLB 값이 9.7인 lecithin(Food Tech, Yokkaichi, Japan)과 HLB 값이 12인 polyglycerin fatty acid ester(Riken Vitamin Co., Ltd, Tokyo, Japan)를 사용하였고, 용매로 monosaccharide(Food Tech, Yokkaichi, Japan)와 순수 제조 장치(Young Lin Instrument Co., Ltd, Basic 360, Anyang, Korea)에 의해 제조된 증류수(distilled water)를 사용하였다.

Coenzyme Q₁₀ 나노에멀전 제조

Coenzyme Q₁₀ 나노에멀전은 lecithin과 polyglycerin fatty acid ester를 monosaccharide와 증류수(distilled water)로 이루어진 용매에 분산시키고, 75°C로 유지하면서 coenzyme Q₁₀ 분말을 첨가하여 용해시켰다. 이 용액을 균질기(PRIMIX Corporation, T. K.

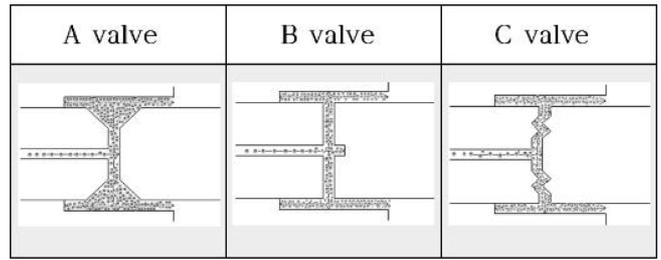


Fig. 1. Cross sections of three homogenization valve types.

Robomics, Osaka, Japan)를 이용하여 10,000 rpm의 조건에서 10분 동안 교반하여 1차 coenzyme Q₁₀ 에멀전을 제조하였다.

본 실험에서 사용한 고압균질기는 1차 coenzyme Q₁₀ 에멀전이 플러저 펌프작용에 의해 밸브에 공급되며 액은 호모노즐(homo nozzle)과 밸브 사이의 좁은 간격을 초고속으로 통과하게 된다. 이 때 분산된 입자는 밸브의 모양에 따라 전단작용을 받아 분쇄되며 출구에서 임팩트 링(impact ring)에 직각으로 충돌하여 충격에 의해 분산된 입자는 더욱 미세하게 된다. 본 실험에서는 밸브의 간격 및 모양에 따라 각각의 전단력이 다른 밸브 형태(Fig. 1)를 이용하여 실험을 진행하였다. 일반적으로 압력이 클수록 입자 크기가 작아지고 안정한 에멀전을 만드는 것으로 알려져 있음으로(32,33), 초고압균질기(Sanwa machine Co., Inc, Homogenizer, Shizuoka, Japan)의 최고 압력인 150 MPa 압력 하에서 1차 coenzyme Q₁₀ 에멀전을 밸브 형태를 달리하여 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전을 제조한 후, 입자 크기, 투과도 및 제타 전위를 측정하고 투과 전자현미경으로 관찰하여 가장 안정하고 작은 입자 크기를 제조할 수 있는 밸브 형태를 결정하였다.

Coenzyme Q₁₀ 나노에멀전 입자 크기 측정

Coenzyme Q₁₀ 나노에멀전 중의 지방구 크기 및 비표면적 측정은 particle size analyzer(Nanotrac, NPA-210, Montgomeryville, PA, USA)를 이용하여 용매로 쓰인 증류수로 기준광을 잡아주어 입자를 측정한 후, coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 측정 농도는 coenzyme Q₁₀ 하루 섭취량인 약 100 mg/100 mL의 함량으로 희석한 용액을 30초간 voltexing 한 후 4 mL을 취하여 3회 측정하여 평균값으로 나타내었다.

투과도 측정

투과도 측정은 UV-vis spectrometer(Mecasys, Optizen 2120UV PLUS, Seongnam, Korea)를 사용하여 660 nm 파장에서 증류수로 기준광을 잡아준 후, coenzyme Q₁₀이 100 mg/100 mL의 함량으로 희석한 용액을 30초간 voltexing 한 후 1.5 mL을 취하여 3회 측정하여 평균값으로 나타내었다.

제타 전위 측정

제타 전위의 측정은 Zeta Potentiometer(Brookhaven Instruments Corporation, ZetaPlus, Holtsville, NY, USA)를 이용하였고, 25°C에서 전기장은 자동으로 설정 한 후 coenzyme Q₁₀이 100 mg/100 mL의 함량으로 희석한 용액을 플라스틱 재질의 1 mL 일회용 셀에 샘플 0.8 mL를 채우고 3회 측정하여 평균값으로 나타내었다.

Coenzyme Q₁₀ 함량 측정

Coenzyme Q₁₀ 함량 변화 측정은 12주 동안 일정 기간 마다 HPLC(Jasco, UV-2075, PU-2089, AS-2057, CO-2060, Ishikawa,

Table 1. Operating conditions of HPLC for coenzyme Q₁₀

Parameters	Conditions
Instrument	HPLC (Highperformance liquid chromatography)
Column	Hypersil ODS-5 (4.6 mm×150 mm)
Mobile phase	Methanol : Ethanol (13:7)
Flow rate	1.0 mL/min
Injection	20 µL
Column temp.	35°C
Detector	UV 275 nm

Japan)를 이용하여 Table 1의 조건으로 시간이 지남에 따라 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전 중의 소실되는 coenzyme Q₁₀의 함량 추이를 관찰하였다.

투과 전자현미경 관찰

투과 전자현미경(Phillips, TECNAI 12, Eindhoven, Netherlands)을 이용하여 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 입자를 관찰하였다. Copper Grid를 핀셋을 이용하여 고정한 후, 시료, distilled water, uranyl acetate 2% solution의 순서로 점적한다. 상온에서 건조 후 copper grid를 TEM(Transmission Electron Microscopy)의 진공관 device에 올려놓은 후 관찰하였다.

Coenzyme Q₁₀ 나노에멀전 안정성

초고압균질기를 이용하여 최적의 조건(150 MPa, C 밸브, 통과 횟수 3회)으로 제조한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 안정성 평가를 위해 다양한 pH(2-10) 처리와 열(95°C) 처리한 후 입자 크기, 투과도 및 제타 전위를 측정하였다.

pH 및 열처리

Coenzyme Q₁₀ 농도가 100 mg/100 mL가 되도록 각각의 pH 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 및 10.0의 완충용액을 가하여 시료액을 제조하였다. 제조한 시료액을 갈색 바이알에 넣고 밀봉한 후 water bath에 넣어 95°C로 유지하며 1, 2, 3, 5 및 7시간 마다 입자 크기, 투과도 및 제타 전위를 측정하여 pH와 열처리에 따른 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 안정성을 평가하였다.

동결처리

Coenzyme Q₁₀ 농도가 100 mg/100 mL가 되도록 증류수(distilled water)를 가하여 시료액을 제조하였다. 제조한 시료액을 갈색 바

이알에 넣고 밀봉한 후 냉동실에 넣어 -20°C로 유지하며 1, 3, 5 및 10일 마다 입자 크기, 투과도 및 제타 전위를 측정하여 동결 처리에 따른 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 안정성을 평가하였다.

Coenzyme Q₁₀ 나노에멀전 저장성

초고압균질기를 이용하여 최적의 조건(150 MPa, C 밸브, 통과 횟수 3회)으로 제조한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전을 각각 4, 25, 및 40°C의 압소에 12주 동안 보관하면서 일정 기간마다 그 입자 크기 및 coenzyme Q₁₀ 함량 변화를 측정하였다.

통계 처리

모든 분석 결과는 3반복으로 수행된 평균값이며, 각 분석 결과에 대한 통계분석은 SAS(Statistical Analytical System version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 통계프로그램을 이용하여 분산분석을 하고 Duncan's multiple range test로 시료간의 유의차를 검증하였다.

결과 및 고찰

밸브형태 및 공정 횟수에 따른 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 품질 특성 평가

Petrowski(34)는 입자의 크기가 creaming과 aggregation에 영향을 미치며, 일반적으로 유화안정성은 creaming 정도를 관찰하거나 입자의 크기를 측정함으로써 알 수 있다고 보고하였다. 밸브 형태와 공정횟수에 따라 제조된 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 유화안정성을 확인하기 위해 입자크기를 측정한 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 A, B, C 밸브 모두 공정 횟수가 증가함에 따라 평균 입자 크기가 작아지는 경향을 보였으며, C 밸브를 3번 통과시켜 제조한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 평균 입자 크기가 40 nm로 가장 작은 값을 나타냈다($p < 0.01$). 이와 같은 결과는 Tadros 등(35)의 연구에서 일반적으로 전단력이 클수록 입자 크기가 작아지고 안정한 에멀전을 만드는 것으로 보고한 결과와 같았으며, 이는 C 밸브가 A 밸브에 비해 더 좁은 공간을 통과하고, B 밸브에 비해 입자간의 충돌 횟수가 많기 때문에 이때 생기는 압력변동, 캐비테이션(cavitation), 충돌력 등으로 유화 입자가 더 작게 만들어졌다고 판단된다.

Coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 투과도는 입자 크기가 작아질수록 투명해지는 것을 볼 수 있었다($p < 0.01$)(Table 2). 이는 Kim 등(36)의 연구에서 나노에멀전의 입자 크기가 100 nm 이하일 때 가시광선의 한계파장인 120 nm 보다 더 작은 크기를 갖기 때문에 투

Table 2. Effects of different valve types and cycle number on particle size, transmittance, and zeta potential of coenzyme Q10 nanoemulsion by homogenization at 150 MPa

Valve type	Cycle number	Particle size (nm)	Transmittance (%)	Zeta potential (-mV)
A	1	252.7±1.15 ^{a1)}	1.4±0.07 ^h	40.6±3.73 ^a
	2	242.3±1.53 ^b	2.4±0.04 ^g	45.3±2.67 ^b
	3	203.7±2.08 ^d	4.7±0.03 ^e	46.3±2.33 ^{bc}
B	1	233.3±1.53 ^c	2.4±0.06 ^g	44.3±1.69 ^b
	2	189.7±1.53 ^e	4.0±0.05 ^f	45.6±2.12 ^b
	3	151.0±2.00 ^f	11.9±0.09 ^d	47.9±1.92 ^{bc}
C	1	95.0±1.00 ^g	47.0±0.08 ^c	46.8±2.98 ^{bc}
	2	51.3±1.53 ^h	85.9±0.08 ^b	49.3±1.69 ^c
	3	40.3±1.15 ⁱ	90.1±0.08 ^a	56.9±3.29 ^d

¹⁾Values with different superscripts in the same columns are significantly different at $p < 0.01$. Data are expressed as mean±SD (n=3).

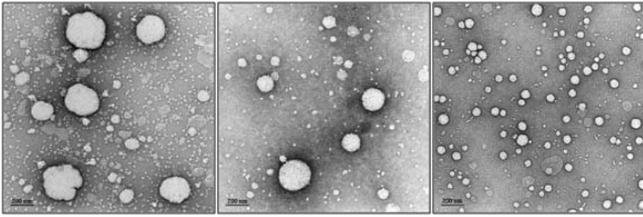


Fig. 2. Transmission electron microscopy image of coenzyme Q₁₀ nanoemulsion by homogenization A, B, C valve, 150 MPa and 3 cycles.

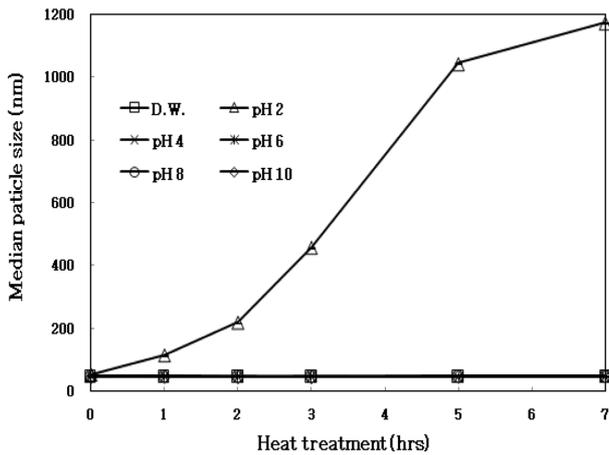


Fig. 3. Effect of various pH treatments on the median particle size of coenzyme Q₁₀ nanoemulsion during heating time by homogenization C valve, 150 MPa and 3 cycles. Data are expressed as mean±SD (n=3).

명해진다고 보고된 연구 자료와 같았으며, 이는 입자가 작아지면 작아질수록 산란되는 빛은 적어지고 투과되는 빛의 양이 많아져 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전이 투명해지는 것이라 판단된다. 초고압 균질기의 공정 횟수가 증가함에 따라 투명해지는 경향을 보였으며, C 밸브를 3번 통과시켜 제조한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 투과도 값은 90(%T)으로 A, B 밸브에 비해 높은 투명성을 나타냈는데, 이는 C 밸브로 제조한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 평균 입자 크기가 가시광선의 한계파장(120 nm)보다 작은 40-95 nm의 크기를 나타냈고 A, B 밸브를 이용하여 제조한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 평균 입자 크기는 151-253 nm로 가시광선의 한계파장보다 입자 크기가 크기 때문에 투과도가 낮은 경향을 나타낸 것이라 판단된다.

콜로이드로 존재하는 물질인 나노에멀전의 입자 표면 전하상태는 그 안정도에 큰 영향을 미친다. 따라서 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전 입자의 안정성을 측정할 때 제타 전위를 측정함으로써, 콜로이드 입자가 전기적으로 안정할 것인지를 예측할 수 있다. Sherman(37)의 연구에 따르면 제타 포텐셜 값이 +30 mV 이상이거나 -30 mV 이하인 경우 입자들은 일반적으로 안정하다고 하였는데, 이는 콜로이드 입자의 경우 제타 전위의 절대치가 증가하면 입자간의 반발력이 강해져 입자의 안정성은 높아지는 반면, 제타 전위 절대치가 0에 가까워지면 입자는 응집하기 쉬워진다고 보고하였다. 밸브 형태에 따라 제조한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 제타 전위를 측정된 결과(Table 2) 3가지 밸브 형태 모두 공정 횟수가 증가함에 따라 제조된 나노에멀전의 입자크기가 작아지고, 제타 전위 절대치가 증가하는 경향을 나타내었다($p < 0.01$). 이는 입자 크기가 작을수록 활발한 브라운 운동으로 인하여 입

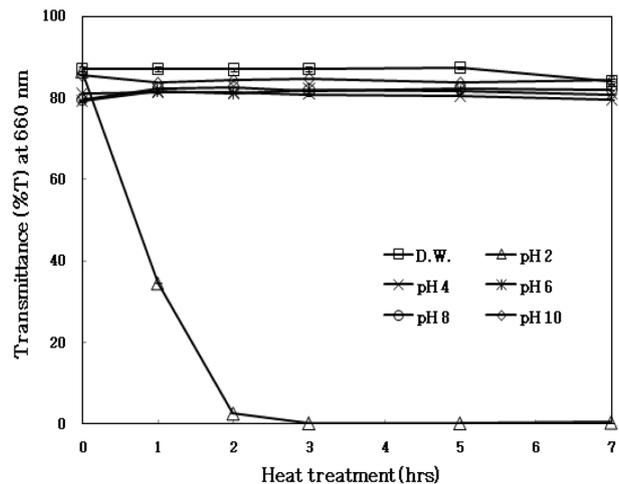


Fig. 4. Effect of various pH treatments on the transmittance of coenzyme Q₁₀ nanoemulsion during heating time by homogenization C valve, 150 MPa and 3 cycles. Data are expressed as mean±SD (n=3).

자 침강 속도가 늦어지게 되고, 균일한 농도로 분포되어 안정한 계가 유지되어 제타 전위 절대치가 증가했다고 판단된다. 특히 C 밸브에 3회 통과시켜 제조한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 제타 전위 값은 -57 mV을 나타내어 콜로이드 상태가 충분히 안정하다고 볼 수 있었다.

밸브 형태(A, B, C)에 따라 150 MPa 압력 하에서 3회씩 통과시켜 제조한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 입자를 투과 전자현미경(TECNAL, Phillips, Yokohama, Japan)을 이용하여 관찰한 결과(Fig. 2), particle size analyzer로 측정된 평균 입자 크기 값과 비슷한 경향을 나타내는 결과를 볼 수 있었다.

Coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 안정성 평가

Coenzyme Q₁₀ 나노에멀전에 다양한 pH(2-10)와 열처리 후 입자 크기를 측정된 결과를 Fig. 3에 나타내었다. pH 4, 6, 8 및 10 용액에 희석하여 열처리한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전은 7시간의 열처리 후에도 pH와 열처리 하지 않은 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 입자 크기와 균일한 경향을 나타냈으나, pH 2 용액에 희석한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전을 1시간 열처리 했을 때, 입자가 커지기 시작하여 7시간 후에는 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전이 깨지는 현상을 확인하였다($p < 0.01$). 투과도와 제타전위 역시 pH(4-10) 처리군에서는 안정하였으나, pH 2 용액에서는 불투명해져 투과도 값이 낮아졌고(Fig. 4), 제타 전위가 -20 mV 이하의 값으로 2시간 열처리 후에는 제타 전위 측정을 할 수 없었다($p < 0.01$)(Fig. 5). 이는 Shields 등(38)이 발표한 연구에서 식품 유화액은 열역학적으로 불안정하여 지방구 입자간의 상호 작용을 억제할 수 있는 에너지 장벽이 없으면, 제조 후 시간 경과와 더불어 크리밍, 지방구 응집, 합일(coalescence) 등의 유화 불안정화 현상이 나타난다는 연구결과처럼 pH 2 용액이 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 에너지 장벽을 파괴하여 입자끼리 응집하여 커진 후 유화상태가 불안정하게 된 것이라 판단된다. 또한, 입자크기가 증가하였을 때 유화액의 안정도는 감소한다는 Hong(39,40)의 연구결과와 비슷한 결과를 나타내었다.

동결처리가 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 안정성에 미치는 영향은 Table 3에 나타난 바와 같이 10일의 저장기간 동안 동결처리 하지 않은 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전과 입자 크기, 투과도 및 제

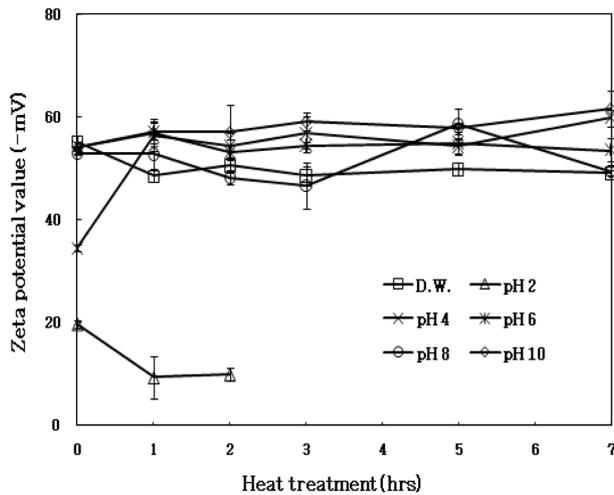


Fig. 5. Effect of various pH treatments on the zeta potential value of coenzyme Q₁₀ nanoemulsion during heating time by homogenization C valve, 150 MPa and 3 cycles. Data are expressed as mean±SD (n=3).

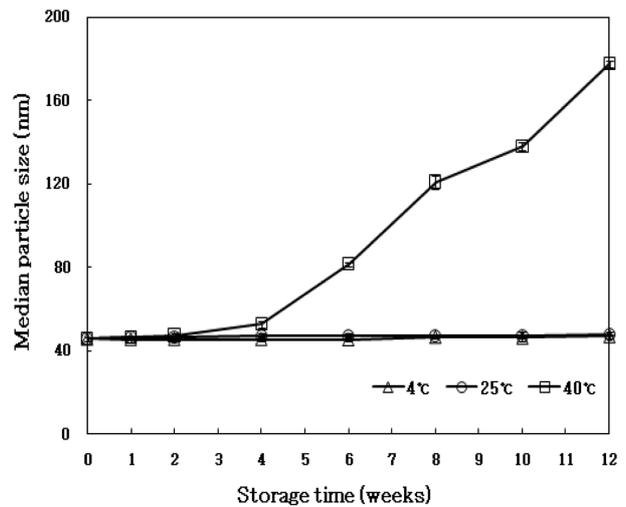


Fig. 6. Effect of storage temperature on the median particle size of coenzyme Q₁₀ nanoemulsion during storage time by homogenization C valve, 150 MPa and 3 cycles. Data are expressed as mean±SD (n=3).

Table 3. Effect of freezing treatments on the median particle size, transmittance, and zeta potential of coenzyme Q₁₀ nanoemulsion during storage time by homogenization C valve, 150 MPa and 3 cycles

storage time (day)	Particle size (nm)	Transmittance (%)	Zeta potential (-mV)
0	40.2±0.53 ¹⁾	90.1±0.30	51.4±0.87
1	40.6±0.24	90.1±0.41	50.5±2.97
3	40.1±0.37	90.0±0.40	50.5±1.06
5	40.5±0.45	90.1±0.46	54.4±3.36
10	40.3±0.21	90.1±0.40	51.4±1.90

¹⁾Data are expressed as mean±SD (n=3).

타전위 값이 유의적인 차이를 보이지 않아 동결처리에 대한 안정성을 확인하였다($p < 0.01$).

Coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 저장성 평가

4°C 및 25°C에서 보관한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 입자 크기는 12주의 저장 기간 동안 유의적인 변화가 없었으나($p < 0.01$), 40°C에서 12주 동안 저장한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 입자 크기는 2주 후부터 조금씩 커지는 경향을 보이다 4주부터는 입자 크기가 급속하게 커졌다($p < 0.01$)(Fig. 6). 이는 Shields 등(38)의 연구처럼 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전이 고온에서 입자사이의 에너지 장벽이 파괴되어 서로 응집한 후 에멀전이 깨지는 것으로 판단된다.

Coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 Coenzyme Q₁₀ 함량 변화

Coenzyme Q₁₀ 나노에멀전을 각각 4, 25, 및 40°C의 암소에 12주 동안 보관하면서 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전 중의 소실되는 coenzyme Q₁₀의 함량 변화 결과를 Fig. 7에 나타내었다. Coenzyme Q₁₀ 성분은 제시된 HPLC 조건하에서 잘 분리되었으며, 검량선 작성 농도 범위에서 양호한 직선상을 나타내었다. 4°C 및 25°C에서 보관한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전은 12주의 저장 기간 동안 coenzyme Q₁₀의 함량에 변화가 없었지만($p < 0.01$), 40°C에서 12주 동안 저장한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 coenzyme Q₁₀의 함량은 1주 이후 약간씩 감소하는 경향을 보이다 6주 이후부터는 coenzyme Q₁₀의 함량이 약 15%까지 감소하다가 일정해지는

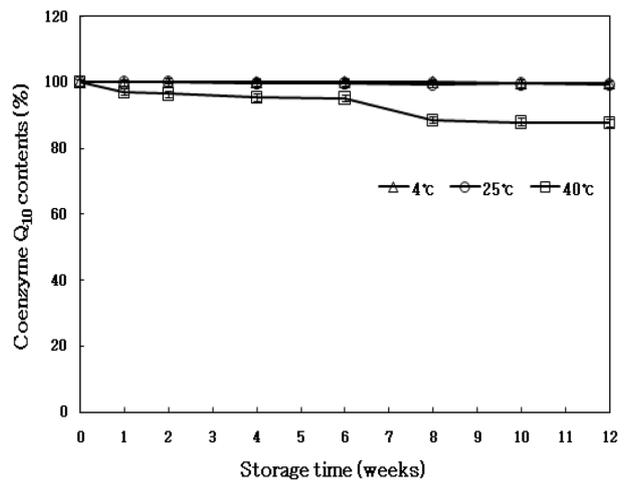


Fig. 7. Effect of storage temperature on the coenzyme Q₁₀ contents of coenzyme Q₁₀ nanoemulsion during storage time by homogenization C valve, 150 MPa and 3 cycles. Data are expressed as mean±SD (n=3).

경향을 보였다($p < 0.01$). 이 결과로 보아 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전은 40°C에서 온도의 영향을 받아 유화액의 에너지 장벽이 파괴되어 입자끼리 응집하는 속도가 빨라져 입자 크기가 커지고, 유화 입자가 깨지면서 안정하게 포집되어 있던 coenzyme Q₁₀이 산화되어 coenzyme Q₁₀ 함량이 감소하는 것으로 판단된다.

요 약

본 연구에서는 coenzyme Q₁₀을 나노에멀전화 하기 위해 초고압균질기를 이용하여 3가지 다른 형태의 밸브를 대상으로 평가를 진행하였으며, 선정된 밸브를 사용하여 제조된 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전의 품질 특성 및 안정성 평가를 하였다. 초고압균질기를 이용한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전 제조 시 최적 조건은 150 MPa, C 밸브, 통과 횟수 3회이었다. 제조된 나노에멀전은 평균 입자 크기가 40 nm, 제타 전위 값이 -57 mV을 나타내어 콜로이

드 상태가 충분히 안정하다고 볼 수 있었다. 또한 수용액에 빠르게 분산되었으며, 이때 coenzyme Q₁₀ 100 mg을 함유한 증류수 100 mL의 투과도 값이 90(%T)로 투명한 용액을 얻을 수 있었다. 제조한 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전은 4°C 및 25°C에서 12주 동안 보존하여도 침전 또는 부유물을 발생시키지 않았고 coenzyme Q₁₀ 함량이 변하지 않았으며, 10일간의 동결처리 후에도 안정하였다. pH 2 용액을 제외하고는 pH(4-10) 처리와 열(95°C)처리 및 동결(-20°C)처리 시에도 안정하였다. 따라서 제조된 coenzyme Q₁₀ 나노에멀전은 액체 형태 등 다양한 식품에 적용할 수 있는 가능성을 확보하였으며, 유통시에는 상온보다는 냉장 보관이 더 적합할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 중소기업청에서 시행한 중소기업기술혁신개발사업의 지원으로 수행한 연구결과로서 이에 감사드립니다.

문헌

- Mendoza-Vega O, Sabatie S, Brown W. Industrial production of heterologous proteins by fed-batch cultures of the yeast *Sacharomyces cerevisiae*. FEMS Microbiol. 15: 369-410 (1994)
- Sharma S, Kheradpezhou M, Shavali S, El-Refayy H, Eken J, Haren C, Ebadi M. Neuroprotective actions of coenzyme Q₁₀ in Parkinson's disease. Method Enzymol. 382: 488-509 (2004)
- Ikematsu H, Nakamura K, Harashima SI, Fujii K, Fukutomi N. Safety assessment of coenzyme Q₁₀ (Kaneka Q₁₀) in healthy subjects: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Regul. Toxicol. Pharm. 44: 212-218 (2006)
- Genova ML, Bonacorsi E, D'Aurelio M, Formiggini G, Nardo B, Cuccomarino S, Turi PM, Pich M, Lenaz G, Bovina C. Protective effect of exogenous coenzyme Q in rats subjected to partial hepatic ischemia and reperfusion. Biofactors 9: 345-349 (1999)
- Bliznakov EG. Coenzyme Q₁₀ in experimental infections and neoplasia. Else. Sci. 5: 73-89 (1997)
- Ernster L, Forsmark-Andree P. Ubiquinol an endogenous antioxidant in aerobic organism. Clin. Investigator. 71: 60-65 (1986)
- Folkers K, Littarru GP, Ho L, Runge TM, Havanonda S, Cooley D. Evidence for a deficiency of coenzyme Q₁₀ in human heart disease. Int. J. Vitam. Nutr. Res. 4: 380-390 (1970)
- Nakamura R, Littarru GP, Folkers K, Wilkinson EG. Deficiency of coenzyme Q in gingiva of patients with periodontal disease. Int. J. Vitam. Nutr. Res. 43: 84-92 (1973)
- Folkers K, Langsjoen P, Nara Y, Muratsu K, Komorowski J, Richardson PC, Smith TH. Biochemical deficiencies of coenzyme Q₁₀ in HIV-infection and exploratory treatment. Biochem. Bioph. Res. Co. 153: 888-896 (1988)
- Kawamukai M. Recent advance of the biosynthesis and the function of ubiquinone. Seikagaku 70: 1344-1349 (1998)
- Benita S, Levy MY. Submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration: comprehensive physicochemical characterization. J. Pharm. Sci. 82: 1069-1079 (1993)
- Schwarz JS, Weisspapir MR, Friedman DI. Enhanced transdermal delivery of diazepam by submicron emulsion (SME) creams. Pharm. Res. 12: 687-692 (1995)
- Friedman DI, Schwarz JS, Weisspapir MR. Submicron emulsions as vehicle for improved transdermal delivery of diazepam. Proc. Int. Symp. Control. Rel Bioact Mater. 21: 457-458 (1994)
- Chung WY, Kim KS, Lee CK, Yoon MS. Nano-emulsion composition using the high-pressure homogenizer. Korea Patent 10-0071572 (2007)
- Moon BK, Kim SI, Yoo JS, Jeon JW. Compositions containing coenzyme Q₁₀. Korea Patent 10-0786884 (2007)
- Choi AJ, Kim CJ, Cho YJ, Hwang JK, Kim CT. Effects of surfactants on the formation and stability of capsaicin-loaded nanoemulsions. Food Sci. Biotechnol. 18: 1161-1172 (2009)
- Spermath A, Yagmur A, Aserin A, Hoffman R, Garti N. Food-grade microemulsions based on nonionic emulsifiers: Media to enhance lycopene solubilization. J. Agr. Food Chem. 50: 6917-6922 (2002)
- El-Aasser MS, Sudol ED. Miniemulsions: Overview of research and applications. J. Coat. Technol. Res. 1: 21-31 (2004)
- El-Aasser MS, Lack CD, Vanderhoff JW, Fowkes FM. The miniemulsification process-different from of spontaneous emulsification. Colloid Surface 29: 103-118 (1988)
- Sing AJF, Graciaa A, Lachaise J, Brochette P, Salager JL. Interactions and coalescence of nanodroplets in translucent O/W emulsions. Colloid Surface A 152: 31-39 (1999)
- Rang MJ, Miller CA. Spontaneous emulsification of oils containing hydrocarbon, nonionic surfactant, and oleyl alcohol. J. Colloid Interf. Sci. 209: 179-192 (1999)
- Wlstra P. Principles of emulsion formation. Chem. Eng. Sci. 48: 333-351 (1993)
- Shafiq S, Shakell F, Talegaonkar S, Ali J, Baboota S, Ahuja A, Khar RK, Ali M. Formulation development and optimization using nanoemulsion technique: A technical note. AAPS Pharm-SciTech 8(2): E1-E6 (2007)
- Pons R, Carrera I, Caelles J, Rouch J, Panizza P. Formation and properties of miniemulsions formed by microemulsions dilution. Adv. Colloid Interface 106: 129-146 (2003)
- Izquierdo P, Esquena J, Tadros ThF, Dederen JC, Feng J, Garcia-Celma MJ, Azemar N, Solans C. Phase behavior and nano-emulsion formation by the phase inversion temperature method. Langmuir 20: 6594-6598 (2004)
- Anton N, Benoit JP, Saulnier P. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates. J. Control. Release 128: 185-199 (2008)
- Forgiarini A, Esquena J, Gonzalez C, Solans C. Formation of nano-emulsions by low-energy emulsification methods at constant temperature. Langmuir 17: 2076-2083 (2001)
- Jafari SM, He Y, Bhandari B. Nano-emulsion production by sonication and microfluidization-A comparison. Int. J. Food Prop. 9: 475-485 (2006)
- Tan CP, Nakajima M. β -Carotene nanodispersions: Preparation, characterization and stability evaluation. Food Chem. 92: 661-671 (2005)
- Maa YF, Hsu CC. Performance of sonication and microfluidization for liquid-liquid emulsification. Pharm. Dev. Technol. 4: 233-240 (1998)
- Asua JM. Microemulsion polymerization. Prog. Polym. Sci. 27: 1283-1346 (2002)
- Strawbridge KB, Ray E, Hallett FR, Tosh SM, Dagleish DG. Measurement of particle size distributions in milk homogenized by a microfluidizer: Estimation of populations of particles with radii less than 100 nm. J. Colloid Interf. Sci. 171: 392-398 (1995)
- Ramon BR, Manuel S. Factors involved in the production of liposomes with a high-pressure homogenizer. Int. J. Pharm. 213: 175-186 (2001)
- Petrowski GE. Pasteurized frozen whole egg and yolk for mayonnaise production. Adv. Food Res. 22: 309-359 (1976)
- Tadros T, Izquierdo P, Esquena J, Solans C. Formation and stability of nano-emulsions. Adv. Colloid Interfac. 108: 303-318 (2004)
- Kim CT, Kim CJ, Cho YJ, Kim YH, Kim IH, Choi AJ. Novel fabrication technology of food nanoemulsions. Korean J. Food Sci. Technol. 41: 33-45 (2008)
- Sherman P. Rheology of dispersed systems. pp. 97-183. In: Industrial Rheology. Academic Press Inc., London, UK (1970)
- Shields M, Ellis R, Saunders BR. A creaming study of weakly flocculated and depletion flocculated oil-in-water emulsions. Colloid Surf A 178: 265-276. (2001)
- Hong ST. Changes in the stability properties of methylcellulose emulsions as affected by competitive adsorption between methylcellulose and Tween 20. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 1278-1286 (2008)
- Hong ST. Influence of methylcellulose on properties of β -Lactoglobulin emulsions. Korean J. Food Eng. Prog. 12: 121-127 (2008)