



Original Article / 원저

HME (Hot-Melt Extrusion)를 이용한 오미자 씨 및 박의 수용성 및 항산화 효과 향상

고은지¹, 강민지², 김민준², 임정대², 김영숙³, 임종민³, 조민정³, 오태우^{4,5}, 김석호¹, 곽경태¹, 전병엽^{1*}

¹(주)큐비엠, ²강원대학교 바이오기능성소재학과, ³(주)글루칸, ⁴한국한의학연구원
⁵과학기술연합대학원대학교 한의융합과학전공

An Enhanced Water Solubility and Antioxidant Effects of Seed and Pamace of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill Formulation by HME (Hot-Melt Extrusion)

Eun Ji Go¹, Min Ji Kang², Min Jun Kim², Jung Dae Lim², Young-Suk Kim³, Jong-Min Lim³,
Min Jeong Cho³, Tae Woo Oh^{4,5}, Seokho Kim¹, Kyeong Tae Kwak¹, Byeong Yeob Jeon^{1*}

¹QBM Co. Ltd., ²Department of Bio-Functional Material, Kangwon National University ³Glucan Co. Ltd., ⁴Korean Medicine (KM)-Application Center, Korea Institute of Oriental Medicine (KIOM), ⁵Department of Korean Convergence Medical Science, University of Science & Technology(UST)

ABSTRACT

Objectives : *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill contains many nutrients and exhibits high physiological functions. It has been shown that Schisandra seed and pamace contains more nutrients than fruits and thus have higher antioxidant efficacy. In this study, seed and pamace of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill (SPSC) were treated with hot-melt extrudate (HME) extrusion to produce water-soluble nanoparticles.

Methods : SPSC was treated with HME to prepare nanoparticles. In this process, excipients (hydroxypropyl methylcellulose, pullulan, 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin, lecithin) were added to prepare a hydrophilic polymer matrix. To compare and analyze the antioxidant effect and schizandrin content, total flavonoid content, total phenol content and ABTS assay were measured. To confirm the effect of increasing the water solubility of the particles, particle size and water solubility index measurements were performed. The molecular of the material was analyzed using Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR).

© 2023 The Korean Medicine Society For The Herbal Formula Study

This paper is available at <http://www.formulastudy.com> which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Results : The particle size of HME extrudates decreased, while total phenols, flavonoids, schizandrin, antioxidant effect, and solubility increased. Through FT-IR, it was confirmed that the SPSC and the extrudate exhibit the same chemical properties. In addition, it was confirmed that when extracted with water, it exhibited a higher antioxidant effect than the ethanol extract.

Conclusions : HME technology increased the solubility of SPSC, which are processing by-products, and improved their antioxidant effect to a higher degree. It was confirmed that SPSC could be used as an eco-friendly, high value-added material.

Key-words : Schisandra chinensis, Hot-melt extrudate, schizandrin, water solubility, nanoparticle

I. 서론

오미자는 단맛, 쓴맛, 신맛, 매운맛, 짠맛의 다섯 가지의 맛을 낸다고 하여 명칭이 유래되었다¹⁾. 오미자에는 shizandrin AC, schisandrol, deoxyschixandrin, gomisins AH, gomisins J-K1, K2, K3, gomisins N 등과 같은 40가지 이상의 다양한 lignan 화합물을 포함한 기능성 물질이 있다²⁾. 오미자와 관련된 생리학적 기능으로는 혈압강화효과, 콜레스테롤 저하 효과, 항산화 효과, 항균활성, 항염증 효과 및 항암 효과가 보고되어 있다³⁾.

오미자 열매 100 kg으로부터 과즙 20 kg, 씨 30-35 kg, 박 45-50 kg을 회수한다. 과즙은 주로 살균 후 음료로 사용되지만, 씨와 박은 특별한 용도 없이 폐기되고 있는 실정이다⁴⁾. 실제로 오미자 열매, 씨, 박의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과, 씨 > 박 > 열매 순으로 함량이 높게 나오고, 총 플라보노이드 함량 분석 결과 박 > 씨 > 열매 순으로 높게 나오는 것으로 알려져 있다⁴⁾. 항산화 활성 평가인 DPPH, ABTS 소거능을 확인한 결과 박 > 씨 > 열매 추출물 순으로 열매보다 씨와 박에서 더 우수한 항산화능을 나타낸다고 알려져 있다⁴⁾. 박 추출물의 소거능은 가시오가피, 백부자, 산수유, 삼지구엽초와 유사하거나 더 우수한 항산화력을 갖고 있다고 보고되었다⁵⁾. 이러한 결과는 폐기되고 있는 오미자 씨 및 박의 우수한 항산화 활성을 이용한 식의약품 소재 개발의 필요함을 나타내고 있다.

고온 용융 압출 (hot-melt extrusion, HME)은 난용성 화합물의 향상된 용해도, 표적화, 약물 전달 및 나노입자 준비와 같은 특성을 통해 약물 전달 시스템 및 여러 응용 분야에서 성공적인 기술임이 입증

되었다⁶⁾. HME는 식품 산업 및 의약품 분야에서 널리 사용된다. HME는 혼합물을 다이 (die)를 통해 강제로 통과시켜 혼합물을 균일한 모양 및 밀도와 같은 특정 특성을 갖도록 변환한다⁷⁾. HME의 원리는 원재료에 열과 마찰 (입자간 마찰, 시료와 벽 마찰, 시료 및 나사 마찰)을 가하여 용융, 추가 용해 및 용해를 유도하는 것이다⁸⁾. HME의 장점은 유기용매를 사용하지 않는 친환경 기술이며, 약물의 분산성과 난용성 약물의 용해도를 향상하고 생체이용률을 높이는 점이다. 반면에 HME의 단점은 고온이 필요하고 열분해 시 안정해야 한다는 점이다⁹⁾.

HME 가공은 부형제와의 조합을 통해 안정적인 무정형 고체 분산체와 증가된 에너지 형태를 생성하여 약물의 용해도를 증가시킨다¹⁰⁾. Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)는 셀룰로오스 중합체로 난용성 약물의 흡수 및 용출 특성을 증가시킨다¹¹⁾. 압출물은 종종 물과 접촉할 때 겔 층이 빠르게 형성되어 약물의 용해에 영향을 미치며, 압출물의 점도는 폴리머의 점도에 비례하여 고점도 압출물은 보다 조밀한 겔 층을 형성한다¹²⁾. 따라서 중합체의 흡수성은 비정질 약물의 안정성에 중요한 역할을 하여, 더 높은 수분함량에서 더 빨리 결정형태로 전환할 수 있다. 기존의 cyclodextrin은 난용성 약물의 용해도를 향상시키지만 용매 집약적이고 환경적으로 유해하다고 알려져 있다. 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HPCD)은 이러한 단점을 개선하고 용해도를 향상할 수 있다고 이러한 단점을 개선시킬 수 있다¹³⁾. HME 공정 중에 HPCD를 사용하였을 때 용해도, 결정성, 지속적인 방출이 이루어진다고 보고되었다¹⁴⁾. 천연 유화제 중에서 lecithin은 소수성 상호작용을 통해

*Corresponding author: Byeong Yeob Jeon, QBM Co. Ltd., 6F, 7-25 Gangnam-daero 27-gil, Seocho-gu, Seoul, 06752, Republic of Korea.
Tel : +82-2-2057-8118, Fax : +82-2-2057-5115, E-mail : byjeon01@qbm.co.kr

•Received : November 1, 2023 / Revised : November 6, 2023 / Accepted : November 8, 2023

단백질을 결합할 수 있는 양친매성 계면활성제이다¹¹). 계면활성제로 사용되는 lecithin은 용해도를 향상시켜 유효성분의 용해도를 향상시키며, 매트릭스의 가소제로도 사용된다¹⁵). HME 공정 중에 가소제를 첨가하면 가공 온도를 낮추고 분산을 높일 수 있다¹⁶). Ascorbic acid의 양친매성 합성 유도체인 ascorbyl palmitate는 식품 산업에서 천연 항산화제로 사용되며¹⁷), 유화제로도 사용할 수 있다¹⁸). *Moringa oleifera* Lam을 사용한 HME 연구에서 ascorbyl palmitate가 가소제로 사용되어 보다 안정적인 입자를 제공하였다¹⁹). Pullulan은 *Aureobasidium pullulans*에 의해 생성되는 선형 세포 외 고분자이며, chitosan, cellulose 및 alginate와 같은 여러 단백질 또는 다당류와 혼합하여 사슬을 증가시킬 수 있는 부형제이다²⁰).

HME 기술을 이용해 오미자씨 및 박을 원료로 하여 더 높은 항산화 활성을 위한 소재 개발 및 유기용매를 사용하지 않는 친환경 소재 개발을 위해 HPMC, HPCD, pullulan, lecithin 및 ascorbyl palmitate를

혼합하여 제형을 제조하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) HME (hot-melt extrusion)을 이용한 오미자씨 및 박 압출성형물의 제조

오미자씨 및 박 [seed and pomace of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill., SPSC] 은 큰들농업회사 법인주식회사 (경상북도 문경시) 에서 구입하였다. SPSC는 HME (STS-HS, co-rotating intermeshin type twin-screw extruder, Pyeongtaek, Korea)로 처리하였다. HME는 이중압출기를 사용하였고, 원형 die: 1 mm, 원료 사출 속도 40 g/min, 150 rpm, 온도: 70-100°C의 조건으로 진행하였다. 압출성형 후 압출물을 건조기를 통해 90°C에서 24 시간 건조시킨 후 분쇄기를 통해 분말 형태로 얻었다. 압출성형의 조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Formulation ratio SPSC and biopolymer (%).

| | F1 | F2 |
|--|-----|-----|
| seed and pomace of <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill. | 100 | 80 |
| Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) | - | 5 |
| Pullulan | - | 5 |
| 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HPCD) | - | 5 |
| Lecithin | | 2.5 |
| Ascorbyl palmitate | - | 2.5 |
| Total | 100 | 100 |

2) 실험재료

실험에 사용된 schizandrin, quercetin, caffeic acid, ascorbic acid는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Aluminium chloride hexahydrate, potassium acetate, sodium carbonate, Folin-Ciocalteureagent, potassium persulfate는 Junsei Chemical (Tokyo, Japan)에서 구입하였다. Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HPCD)는 Carbosynth (Gardner, MA, USA)에서 구입하였다. Pullulan은 TCI (Tokyo,

Japan)에서 구입하였고, lecithin, ascorbyl palmitate는 ES 식품원료 (Gumpo, Korea)에서 구입하였다.

2. 방법

1) SPSC 압출성형 전, 후의 schizandrin 함량 분석

오미자씨 및 박 원료의 압출 성형 전, 후 시료 (SPSC, HME-SPSC-F1, HME-SPSC-F2)를 분말화하여 분말시료를 준비하였다. 분말시료 1 g에 용매 (60% EtOH or water 45 ml)를 가한 후, 1 시간 동안 초음파로 추출하여 schizandrin의 함량을 HPLC를 통해

분석하였다. HPLC 분석은 Table 2의 조건과 같이 Shimadzu LC-20AD HPLC system을 이용하여 분석하였으며, column은 YMC hydrosphere C18을

사용하였다. 표준물질은 schizandrin으로 검량선을 작성하여 분말시료 1 g에 존재하는 schizandrin의 함량을 산출하여 나타내었다.

Table 2. HPLC condition of analysis of schizandrin.

| Shimadzu LC-20AD HPLC system | | |
|------------------------------|--|----|
| Column | YMC Hydrosphere C18 (4.6×250 mm, 5 μm) | |
| Flow rate | 1.0 ml/min | |
| Injection volume | 10 μl | |
| Oven temperature | 40°C | |
| Detector wavelength | 250 nm | |
| Mobile phase | Gradient | |
| Solvent A | Water | |
| Solvent B | Acetonitrile | |
| Elution time (min) | A | B |
| 0 | 60 | 40 |
| 30 | 15 | 85 |
| 35 | 15 | 85 |
| 40 | 60 | 40 |
| 50 | 60 | 40 |

3) 총 flavonoid 함량 분석

Total flavonoid 함량 분석은 Do 등의 분석방법에 따라 측정하였다²¹⁾. 총 flavonoid 함량 분석하기 위해 test tube에 sample 0.25 ml를 가하였다. 그 후, 95% EtOH 0.75 ml, 10% aluminum chloride hexahydrate 0.5 ml 그리고 1M potassium acetate 0.05 ml를 혼합한 후 40 분 동안 실온에서 반응시켰다. 반응 후 UV/VIS spectrophotometer (Genesys 160, Thermo Fisher, Waltham, MA, USA)를 사용하여 415 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 quercetin을 사용하였으며, 시료의 total flavonoid 함량을 계산하여 나타내었다.

4) 총 phenol 함량 분석

Total phenol 함량 분석은 Lim 등의 분석방법에 따라 측정하였다²²⁾. Test tube에 sample 0.05 ml, sodium carbonate 2 ml, 50% Folin-Ciocalteureagent 0.05 ml

그리고 증류수 1.4 ml를 혼합하여 상온에서 30 분간 방치하였다. 반응 후 UV/VIS spectrophotometer (Genesys 160, Thermo Fisher, Waltham, MA, USA)를 사용하여 750 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 caffeic acid를 사용하였으며, 시료의 total phenol 함량을 계산하여 나타내었다.

5) ABTS 항산화능 평가

ABTS 분석은 이전에 보고된 방법의 분석방법에 따라 측정하였다²³⁾. 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 1:1 비율로 섞어 실온인 암실에서 16-24 시간 방치하여 반응시켰다. 만든 용액을 730 nm에서 흡광도가 0.9가 될 수 있게 PBS (0.1M, pH 7.4)로 희석시켜 ABTS 반응 시약을 제조하였다. 그 후, 추출물 30 μl, ABTS 반응 시약 150 μl를 혼합하여 암실에서 15 분 동안 방치하였다. 반응 후, UV/VIS spectrophotometer (Genesys 160, Thermo Fisher, Waltham, MA, USA)를

사용하여 730 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 ascorbic acid을 사용하였으며, 시료의 IC₅₀ (half maximal inhibitory concentration, 반수 최대 억제 농도)를 계산하여 나타내었다.

6) PSA, PDI, zeta potential

SPSC, HME-SPSC-F1, HME-SPSC-F2의 particle size analysis (PSA), poly dispersity index (PDI), zeta potential은 Katsuhiko의 분석방법을 사용하여 DLS (Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments, Malvern, UK)를 통해 측정하였다²⁴⁾. DLS 측정을 위해 모든 시료는 증류수에 분산시켜 측정하였다.

7) 수분용해지수 측정

수분용해지수 측정은 이전에 보고된 방법에 따라 진행하였다²⁵⁾. 분말시료 1 g에 water 50 ml를 넣은 후 상온에서 1 시간 교반 후 10,000 × g의 속도로 15 분간 원심분리 후 상층액을 10 ml 회수하여 -55°C에서 동결건조하여 수분용해지수를 나타내었다.

$$\text{수분용해지수 (\%)} = \frac{\text{건조상층액중량}}{\text{건조시료중량}} \times 100$$

8) 푸리에 변환 적외선 분광기 (FT-IR)를 이용한 분자구조 특성 확인

푸리에 변환 적외선 분광기 (Fourier transform infrared spectrometer, FT-IR)을 이용하여 시료의 흡광도와 투과율

측정으로 물질의 분자구조를 분석하였으며 이를 통해 제조된 압출성형물이 결정형을 나타내는지, 비정형질을 나타내는지 확인하였다.

9) 통계 분석

통계 프로그램은 SPSS 소프트웨어(IBM, Armonk, NY, USA)를 사용하였다. 모든 분석은 $p < 0.05$ 수준의 One-way ANOVA를 통해 그룹 간 분석되었다. 결과는 Tukey의 Range Test를 통해 검증되었다.

III. 결과

1. HPLC 분석

오미자 씨 및 박 [seed and pomace of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill., SPSC] 을 60% 에탄올로 추출하였을 때 11.34±1.07 mg/g의 schizandrin의 함량을 나타내었고, 물로 추출하였을 때, 7.60±1.62 mg/g의 함량을 나타내었다 (Table 3). 높은 schizandrin을 추출하기 위해서는 유기용매를 사용하는 것이 효율적인 것을 확인하였지만, SPSC를 압출성형한 제형 (HME-SPSC-F1)은 10.36±0.20 mg/g, SPSC와 여러 부형제를 혼합하여 압출성형한 제형 (HME-SPSC-F2)은 12.18±0.12 mg/g의 함량으로 SPSC를 물로 추출하였을 때 보다 더 높은 schizandrin의 함량을 증가시킨 것을 확인하였다.

Table 3. Schizandrin content in SPSC extracts (mg/g).

| Sample | | Schizandrin |
|---------------------|---------------------------|--------------------------|
| EtOH ¹⁾ | SPSC ³⁾ | 11.34±1.07 ^{ab} |
| | SPSC | 7.60±1.62 ^c |
| Water ²⁾ | HME-SPSC-F1 ⁴⁾ | 10.36±0.20 ^b |
| | HME-SPSC-F2 ⁵⁾ | 12.18±0.12 ^a |

¹⁾EtOH: extraction with 60% ethanol, ²⁾Water: extraction with water, ³⁾SPSC: seed and pomace of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill., ^{4,5)}HME-SPSC-F1/F2: treatment of SPSC HME formulation. *All values are means ± SD (n =3). *Means with different letters (a - c) in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by One-way ANOVA.

2. 총 phenol 및 총 flavonoid 함량

총 phenol 함량을 비교한 결과 SPSC를 60% 에탄올로 추출하였을 때 3,804.29±181.23 µg/g, 물로 추출하였을 때 1,124.29±134.53 µg/g의 함량을 나타내었다.

HME-SPSC-F1 제형을 물로 추출하였을 때 1,963.81±14.66 µg/g의 함량, HME-SPSC-F2 제형의 경우 4,847.62±93.70 µg/g의 함량을 나타내었다. HME-SPSC-F2 제형을 물로 추출하였을 때, SPSC를

유기용매로 추출하였을 때보다 통계적으로 유의한 수준으로 phenol 함량이 높게 나온 것을 확인하였다.

총 flavonoid 함량을 비교한 결과 총 phenol 함량과 비슷한 결과를 나타내었다. SPSC를 물로 추출하였을 때 flavonoid 함량은 $363.89 \pm 64.07 \mu\text{g/g}$, 60% 에탄올로

추출하였을 때 $436.11 \pm 60.54 \mu\text{g/g}$ 을 나타내었다. HME-SPSC-F1 시료는 $498.15 \pm 66.69 \mu\text{g/g}$, HME-SPSC-F2 시료는 $685.19 \pm 95.64 \mu\text{g/g}$ 의 flavonoid 함량을 나타내었다 (Table 4).

Table 4. Total flavonoid content and total phenol content of SPSC ($\mu\text{g/g}$).

| Sample | | Total flavonoid contents | Total phenol contents |
|---------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|
| EtOH ¹⁾ | SPSC ³⁾ | 363.89 ± 64.07^b | $3,804.29 \pm 181.23^b$ |
| | SPSC | 436.11 ± 60.54^b | $1,124.29 \pm 134.53^d$ |
| Water ²⁾ | HME-SPSC-F1 ⁴⁾ | 498.15 ± 66.69^b | $1,963.81 \pm 14.66^c$ |
| | HME-SPSC-F2 ⁵⁾ | 685.19 ± 95.64^a | $4,847.62 \pm 93.70^a$ |

¹⁾EtOH: extraction with 60% ethanol, ²⁾Water: extraction with water, ³⁾SPSC: seed and pomace of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill., ^{4,5)}HME-SPSC-F1/F2: treatment of SPSC HME formulation. *All values are means \pm SD (n =3). *Means with different letters (a - d) in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by One-way ANOVA.

3. 항산화평가

항산화 효과를 측정하는 결과 대조군으로 사용한 ascorbic acid의 IC₅₀은 $4.33 \pm 1.18 \mu\text{g/ml}$ 로 높은 항산화 활성을 나타내었고, SPSC를 60% 에탄올로 추출하였을 때 $200.72 \pm 19.56 \mu\text{g/ml}$, 물로 추출하였을

때 $590.44 \pm 19.16 \mu\text{g/ml}$ 의 항산화 활성을 나타냄을 확인하였다. HME-SPSC-F1의 경우 $545.79 \pm 91.70 \mu\text{g/ml}$, HME-SPSC-F2는 $192.53 \pm 5.99 \mu\text{g/ml}$ 의 항산화 효과를 나타내었다 (Table 5).

Table 5. ABTS free radical IC₅₀ of SPSC ($\mu\text{g/ml}$).

| Sample | | IC ₅₀ ⁶⁾ |
|---------------------|---------------------------|--------------------------------|
| Ascorbic acid | | 4.33 ± 1.18^c |
| EtOH ¹⁾ | SPSC ³⁾ | 200.72 ± 19.56^b |
| | SPSC | 590.44 ± 19.16^a |
| Water ²⁾ | HME-SPSC-F1 ⁴⁾ | 545.79 ± 91.70^a |
| | HME-SPSC-F2 ⁵⁾ | 192.53 ± 5.99^b |

¹⁾EtOH: extraction with 60% ethanol, ²⁾Water: extraction with water, ³⁾SPSC: seed and pomace of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill., ^{4,5)}HME-F1/F2: treatment of SPSC HME formulation, ⁶⁾IC₅₀: Inhibitory concentration 50. *All values are means \pm SD (n =3). *Means with different letters (a - c) in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by One-way ANOVA.

4. 평균입자크기, 다분산지수 및 제타전위

DLS (dynamic light scattering)를 통해 입자크기를 측정하는 결과, SPSC의 평균 입자 크기는 550.33 ± 0.44

nm를 나타내었고, HME-SPSC-F1은 385.33 ± 0.47 nm, HME-SPSC-F2는 174.37 ± 0.22 nm의 입자크기를 나타내어 압출성형 후에 입자크기가 감소한 것을

확인하였다 (Table 6). PDI 값은 SPSC는 0.44 ± 0.02 , HME-SPSC-F1은 0.47 ± 0.01 , HME-SPSC-F2는 0.22 ± 0.01 의 수치를 나타내었다. Zeta potential

측정한 결과, SPSC는 -24.05 ± 0.27 mV, HME-SPSC-F1시료는 -28.52 ± 0.89 mV, HME-SPSC-F2 시료는 -24.60 ± 1.84 mV의 전하값을 나타내었다.

Table 6. Particle size average (PSA), polydispersity index (PDI), and zeta potential (ZP) of the prepared SPSC formulations.

| Sample | PSA (nm) | PDI (index) | ZP (mV) |
|-------------|-------------------|-----------------|-------------------|
| SPSC | 550.33 ± 0.44 | 0.44 ± 0.02 | -24.05 ± 0.27 |
| HME-SPSC-F1 | 385.33 ± 0.47 | 0.47 ± 0.01 | -28.52 ± 0.89 |
| HME-SPSC-F2 | 174.37 ± 0.22 | 0.22 ± 0.01 | -24.60 ± 1.84 |

5. 용해도 지수

SPSC의 용해도 지수는 $14.06 \pm 0.18\%$, HME-SPSC-F1시료는 $15.15 \pm 0.99\%$, HME-SPSC-F2시료는 $20.12 \pm 0.70\%$ 를 나타내었다 (Table 7). HME-SPSC-F1 시료의 용해도 지수가 SPSC시료에 비해 높지만,

통계적으로 유의한 차이를 나타내진 않았다. HME-SPSC-F2 시료는 SPSC와 HME-SPSC-F1 시료와 통계적으로 유의한 수준으로 용해도 지수가 증가한 것을 확인하였다.

Table 7. Water solubility analysis of the prepared SPSC formulations.

| Sample | Solubility (%) |
|-------------|--------------------|
| SPSC | 14.06 ± 0.18^b |
| HME-SPSC-F1 | 15.15 ± 0.99^b |
| HME-SPSC-F2 | 20.12 ± 0.70^a |

*Means with different letters (a - c) in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by One-way ANOVA.

6. FT-IR

SPSC시료에서 1010.10 cm^{-1} , 1147.92 cm^{-1} , 1240.97 cm^{-1} , 1519.15 cm^{-1} , 1631.00 cm^{-1} , 1744.30 cm^{-1} , 2854.06 cm^{-1} , 2920.11 cm^{-1} , 3273.57 cm^{-1} 의 피크를 확인하였다 (Fig. 1A). HME-SPSC-F1 시료에서는 1010.10 cm^{-1} , 1146.96 cm^{-1} , 1241.45 cm^{-1} , 1457.43 cm^{-1} , 1625.22 cm^{-1} , 1744.30 cm^{-1} , 2854.61 cm^{-1} , 2920.67 cm^{-1} , 3284.67 cm^{-1} 의 피크를 확인하였다 (Fig. 1B). HME-SPSC-F2 시료에서는 1020.09 cm^{-1} , 1150.32 cm^{-1} , 1460.45 cm^{-1} , 1630.72 cm^{-1} , 1740.45 cm^{-1} , 2860.46 cm^{-1} , 2920.15 cm^{-1} , 3290.00 cm^{-1} 의 피크를 확인하였다 (Fig. 1C).

부형제로 사용된 HPMC는 947.14 cm^{-1} , 1040.11 cm^{-1} , 1380.17 cm^{-1} , 1460.29 cm^{-1} , 1640.23 cm^{-1} , 2900.64 cm^{-1} , 3460.87 cm^{-1} 의 피크를 확인하였다 (Fig. 1D). Pullulan은 1024.10 cm^{-1} , 1140.04 cm^{-1} , 1350.17 cm^{-1} , 1640.23 cm^{-1} , 2920.17 cm^{-1} , 3380.44 cm^{-1} 의 피크를 확인하였다 (Fig. 1E). HPCD는 854.35 cm^{-1} , 1010.23 cm^{-1} , 1340.45 cm^{-1} , 1630.23 cm^{-1} , 2920.84 cm^{-1} , 3360.18 cm^{-1} 의 피크를 확인하였다 (Fig. 1F). Lecithin은 823.46 cm^{-1} , 1050.14 cm^{-1} , 1230.03 cm^{-1} , 1740.31 cm^{-1} , 2850.24 cm^{-1} , 2920.28 cm^{-1} , 3280.57 cm^{-1} 의 피크를 확인하였다 (Fig. 1G).

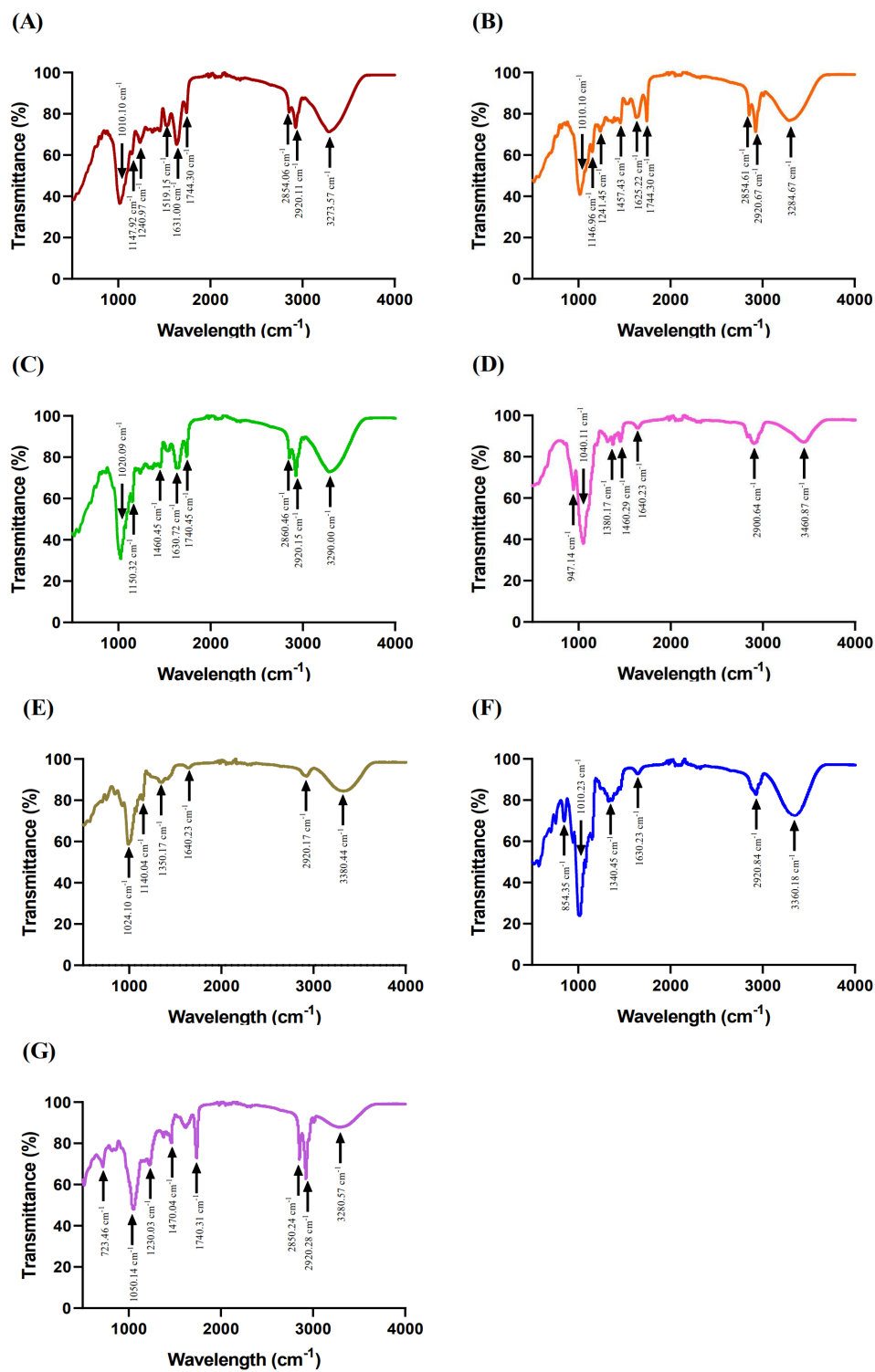


Figure 1. Fourier-transform Infrared Analysis (FT-IR) analysis of SPSC and biopolymers. (A): SPSC, (B): HME-SPSC-F1, (C): HME-SPSC-F2, (D): HPMC, (E): Pullulan, (F): HPCD, (G): Lecithin.

IV. 고찰

오미자 열매의 가공부산물인 오미자 씨 및 착즙 후 박은 대부분 폐기되고 있다. 실제로 오미자 열매보다 씨 및 박에 더 많은 영양성분과 항산화 효능이 보고돼 왔다⁴⁾. 이러한 가공부산물을 이용한 고부가가치 식품 소재 개발이 더욱 진행되어야 한다. 이 연구는 오미자 씨 및 박의 효과를 증진하면서, 유기 용매를 사용하지 않는 친환경적인 방법으로 up-cycling 하는 소재 개발을 진행하였다.

HME (hot-melt extrudate) 기술은 잔류 용매와 관련된 독성문제를 일으키지 않는 기술로 친환경적이라고 할 수 있다²⁶⁾. 난용성 약물을 고온, 고압에서 비정질 형태로 변화시켜 약물의 용출량을 높여, 활성 성분을 친수성 용매에 균일하게 분산시키는 기술이다¹²⁾. HME는 물에 안정하지 않은 약물에 적용할 수 있고, 용매 회수가 불필요하므로 친환경적임과 동시에 회수에 되는 에너지를 절약할 수 있다²⁷⁾. 또한 다른 생산공정과 달리, 이 공정은 연속 생산이 가능하여 시간당 생산량 및 소비 에너지 측면에서도 주목 받고 있다²⁸⁾.

HME 공정 후 SPSC의 schizandrin의 함량을 확인하기 위해 HPLC 분석을 진행하였다. 세포 구성 요소의 열 공정 분해가 결합한 페놀 화합물의 방출을 촉진한다는 것은 잘 알려져 있다²⁹⁾. HME 공정은 세포벽을 파괴하고 화합물이 용액으로 방출될 수 있도록 하여³⁰⁾, HME는 난용성 화합물의 용해도를 높일 수 있다³¹⁾. HME 공정 중에 폴리머와 가소제를 첨가하면 난용성 활성 화합물의 용해도가 향상될 수 있고³²⁾, 또한 기계적 처리는 나노 복합체의 형성을 통해 수용성을 증가시킨다고 보고되었다³³⁾. Schizandrin은 물에 잘 녹지 않는 지용성 성분이다³⁴⁾. HME는 지용성 성분의 용해도를 증가시킨다고 알려져 있다³⁵⁾.

SPSC를 60% 에탄올로 추출하였을 때 11.34 ± 1.07 mg/g의 schizandrin의 함량을 나타내었고, 물로 추출하였을 때, 7.60 ± 1.62 mg/g의 함량을 나타내었다. 높은 schizandrin을 추출하기 위해서는 유기용매를 사용하는 것이 효율적인 것을 확인하였지만, HME-SPSC-F1은 10.36 ± 0.20 mg/g, HME-SPSC-F2는 12.18 ± 0.12 mg/g의 함량으로 SPSC를 물로 추출하였을 때 보다 더 높은 schizandrin의 함량을 증가시킨 것을

확인하였다. HME-SPSC-F2제형은 SPSC를 유기용매로 추출하였을 때보다 함량이 높게 나온 것을 확인할 수 있었다. HME 공정을 통해 지용성 성분이 물에 대한 용해도가 증가하여 소수성 활성 화합물의 양이 증가한다는 보고와 같이 HME-SPSC-F1, F2제형에서 schizandrin의 함량이 증가한 것을 확인하였다³⁶⁾. 또한 HME-SPSC-F2제형에서 더 높은 schizandrin의 함량을 나타낸 것을 통해, HME 공정중에 HPMC첨가는 난수용성 약물의 수용성 증가와 제어 방출 능력을 증가시킨다는 연구결과와 일치하는 것을 확인하였다³⁷⁾.

HME-SPSC-F2 제형을 물로 추출하였을 때, SPSC를 유기용매로 추출하였을 때보다 통계적으로 유의한 수준으로 phenol함량이 높게 나온 것을 확인하였다. 이는 SPSC에 HME를 적용하면 총 phenol함량이 증가함을 의미한다. 이러한 결과는 총 phenol 함량과 관련하여 schizandrin의 수용해도가 증가한 것을 설명할 수 있다. 페놀성 화합물에 적용되는 고온 및 전단력은 무정형 구조를 형성할 수 있으며 세포 구성 요소의 파괴를 통해 용해도를 증가시킬 수 있다³⁸⁾. HME 공정의 높은 압출 온도는 phenol 화합물의 분해 또는 구조적인 변화를 일으킬 수 있지만³⁹⁾, 부형제로 인해 입자가 높은 온도에서 안정화되고, 용해도가 증가하여 높은 phenol 함량으로 이루어질 수 있다⁴⁰⁾. HME 공정 중 부형제 첨가에 의한 총 phenol 함량 증가는 또 다른 연구에서도 보고되었다⁴¹⁾.

총 flavonoid 함량은 유기용매로 추출하였을 때보다 물로 추출하였을 때 더 높은 함량을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. HME-SPSC-F2 시료는 SPSC 및 HME-SPSC-F1 시료보다 통계적으로 유의한 수준으로 flavonoid 함량이 높은 것을 확인하였다. SPSC의 총 flavonoid 함량은 부형제를 첨가한 HME 공정을 통해 증가하였으며 용해도를 증가시킬 수 있다는 보고와 일치하였다⁴²⁾.

항산화제는 산화를 억제하거나 산소나 과산화물에 의해 유발되는 반응을 억제할 수 있다⁴³⁾. IC₅₀은 ABTS 용액을 50% 감소시키는 데 필요한 항산화제의 양을 나타낸다. IC₅₀ 값이 낮을수록 항산화 활성이 더 높다는 것을 의미한다. 항산화 활성은 HME-SPSC-F2 > SPSC 물 추출 > HME-SPSC-F1 > SPSC 60% 에탄올 추출 순서로 높게 나온 것을 확인하였다. 페놀성 화합물의 항산화 활성은 환원성, 수서공여체 또는

단일한 산소억제 특성에 기인한다⁴⁴). 따라서 페놀성 화합물이 많이 존재하는 HME-SPSC-F2 시료에서 제일 높은 항산화효과가 나타난 것을 확인하였다.

용해도를 향상하는 방법은 입자의 크기를 나노 규모로 줄여 비표면적 (질량당 면적)을 증가시키는 방법이 있다. Noyes-Whitney 방정식에 따르면 입자 크기가 감소하면 약물 입자 용해율이 증가할 수 있다⁴⁵). HME는 질량에 작용하는 압력을 증가시켜 입자를 감소시키고, 입자를 균일한 두께, 모양 및 크기로 제조할 수 있다고 보고하였다⁴⁶).

PDI 값은 SPSC은 0.44 ± 0.02 , HME-SPSC-F1은 0.47 ± 0.01 , HME-SPSC-F2는 0.22 ± 0.01 의 수치를 나타내었다. PDI 값이 1에 가까울수록 입자 응집이 다분산된 것을 의미하며⁴⁷, PDI 값이 0.1-0.4이면 입자가 뭉치지 않고 균일한 나노입자가 생성되는 것으로 간주된다⁴⁸). HME-SPSC-F2의 제형이 0.1에서 0.4 사이의 수치를 나타내어 입자 균일하게 분산되는 것을 확인하였다. Zeta potential (ZP)은 입자의 물리적안정성을 나타낸다⁴⁹). SPSC는 -24.05 ± 0.27 mV, HME-SPSC-F1시료는 -28.52 ± 0.89 mV, HME-SPSC-F2 시료는 -24.60 ± 1.84 mV의 전하값을 나타내었다. 모든 입자의 ZP는 음의 값을 나타내었으며, 이는 입자가 현탁액에서 전하를 갖고 있음을 나타낸다⁵⁰). -30 mV 미만의 ZP를 갖는 입자는 장기간에 걸쳐 응집 없이 안정적으로 유지되는 것으로 간주된다⁵¹).

HME는 입자 크기를 줄이고 용해도를 향상하기 때문에 결정질 물질을 제조하기에 가장 적합한 공정이라고 알려져 있다³⁰). 입자 크기를 줄임으로써, 시료의 표면적이 증가하였고, 활성물질이 방출되었다. SPSC 시료를 HME 공정에 적용함으로써 유용 성분을 증가시킬 수 있었다. 이를 위해 시료의 입자 크기를 감소시켜 용해도를 증가시켰다. SPSC의 용해도 지수는 $14.06 \pm 0.18\%$, HME-SPSC-F1시료는 $15.15 \pm 0.99\%$, HME-SPSC-F2시료는 $20.12 \pm 0.70\%$ 를 나타내었다 (Table 7). HME-SPSC-F1시료의 용해도 지수가 SPSC시료에 비해 높지만, 통계적으로 유의한 차이를 나타내진 않았다. HME-SPSC-F2 시료는 SPSC와 HME-SPSC-F1시료와 통계적으로 유의한 수준으로 용해도 지수가 증가한 것을 확인하였다.

일반적으로 부형제는 HME에 의해 생성된 것을 포함하여 입자에서의 용해도 개선에 영향을 미칠 수

있다⁵²). 예를 들어, Milleret 등 은 HME에 의한 활성 약물 화합물 공정의 용해도 및 생체 이용률을 향상시키는 능력에 대한 HPMC 폴리머의 영향을 조사하였다⁵³). 난용성 화합물의 용해도를 향상시키는 HPMC의 효능은 주로 수성 매질에서 분자의 재결정화를 방지하는 능력에 기인한다⁵⁴). 그 외의 HME-SPSC-F2 시료에 함유된 HPCD와 pullulan도 용해도를 향상시킬 수 있다. HPCD는 수용액에서 나노 규모 집합체로 자가 조립되어, 효능유지 및 향상과 함께 용해도가 증가를 위해 활용될 수 있다고 알려져 있다⁵⁵). Pullulan은 생분해성, 생체 적합성 및 고온 저항성을 갖춘 수용성 다당류로 식품 기술에 적합하다⁵⁶).

HME에 의해 제조된 시료의 스펙트럼은 입자의 형성 및 안정성에 중요한 역할을 하는 화합물과 부형제 사이의 분자간 상호작용을 식별하기 위해 사용된다⁵⁷). $940 \text{ cm}^{-1} - 1200 \text{ cm}^{-1}$ 사이의 복합 피크는 glycoside, COC, C-OH, C-OCH₃, C-OCH₂CH₂OH를 포함할 수 많은 C-O 진동과 관련이 있다⁵⁸). 압출물의 경우, 1600 cm^{-1} , 3300 cm^{-1} 의 피크가 변화하고 넓어지고 강도가 감소하는 것을 관찰할 수 있다. 이는 입자와 부형제 사이의 분자간 수소 결합을 의미하여 이는 순수 고체 분산체에서도 관찰된다⁵⁹). $3360 \text{ cm}^{-1} - 3380 \text{ cm}^{-1}$ 은 -OH의 반복단위, 2920 cm^{-1} 은 C-H의 스트레칭 진동에 기인한다^{60, 61}). 1640 cm^{-1} , 1024 cm^{-1} 및 1140 cm^{-1} 의 피크는 각각 O-C-O 결합, glycoside 결합 및 C-O-C 결합의 스트레칭 진동 때문이다^{62, 63}). Pullulan의 처리로 SPSC의 1010 cm^{-1} 피크가 1020 cm^{-1} 으로 이동하였다⁶⁴). 1340 cm^{-1} 는 메틸기의 굽힌 진동에 기인한 것이며⁶⁵, 854 cm^{-1} 피크는 알파형 glycoside 결합에 의한 것이다⁶⁶).

혼합제에서 HPCD의 특징적인 피크 중 일부가 이동하거나 감소하거나 사라졌음을 보여준다. 이는 페놀성 고리가 HPCD부형제내에 내장되었음을 나타낼 수 있다⁶⁷). 그리고 이러한 결과를 통해 개별 구성 요소 간에 단순한 중첩을 보여준다. 강도의 미미한 변화가 감지되었으며, 이는 4 가지 구성요소 사이의 상호 작용 없이 혼합되었음을 나타낸다. 스펙트럼 분석에 따르면 나노 입자 표면의 SPSC와 HME-SPSC-F1, F2의 특정 작용기는 거의 동일한 화학적 특성을 나타내며 HME-SPSC-F2는 SPSC의 주요 특성 피크를 나타낸다. 이러한 결과를 통해 HME 공정중의 부형제 첨가는

SPSC의 화학 구조를 변형시킬 수 있는 분자 상호 작용이 없음을 시사한다.

HME는 폴리머의 선택에 따라 생분해성/비생분해성 경구용 서방형 제형을 제조하여, 난용성 약물의 생체 이용률을 향상시키는 데 사용될 수 있다⁶⁷⁾. 서방형 제제는 지속적인 방출로 인해 투여 빈도를 줄여 경구투여량을 줄일 수 있다⁶⁸⁾. 적은 경구투여량은 약물의 독성을 줄일 수 있는 것으로 알려져 있다⁶⁹⁾. 부형제로 사용된 HPMC은 1 일 허용 섭취량이 책정되어 있지 않지만, 랫트에 복강 주사 시 LD₅₀은 5,200 mg/kg이다⁷⁰⁾. Pullulan의 경우 식품 첨가제의 일부로 10 g/day 14 일간 반복섭취 하였을 때 혈액 생화학적 검사에 대해 안정성을 확보한 것으로 알려져있다⁷¹⁾. HPCD의 LC₅₀은 5,000 mg/kg⁷²⁾, lecithin의 LD₅₀은 8 g/kg으로 보고되었다⁷³⁾. 부형제를 각각 2.5-5% 범위 내를 사용하였기 때문에, SPSC 섭취 독성에 대한 우려는 없을 것이라고 판단하였다. SPSC를 식품 등급 고분자를 사용하여 고체 분산체를 제조한 HME-SPSC-F2는 식약약품 소재로 사용될 수 있음을 확인하였다.

V. 결론

오미자의 가공부산물인 오미자 씨 및 박을 이용한 친환경 고부가가치 식품 소재를 개발하였다. 오미자 씨 및 박을 부형제 (HPMC, pullulan, HPCD, lecithin)와 함께 HME 기술을 이용하여 제조하였다. 유기용매를 사용하지 않아도 통계적으로 유의한 schizandrin 함량, 또는 높은 flavonoid, phenol의 함량을 나타내 더 높은 항산화 효과를 나타내었다. 이는 입자 크기가 감소하여 용해도가 증가한 것을 확인하였다. 본 연구의 결과는 친환경적인 방법으로 가공부산물을 up-cycling 하는 소재 개발하여 항산화효과를 증가시키는 기술을 제시한다.

감사의 글

본 결과물은 환경부의 재원으로 한국환경산업기술원의 야생생물 유래 친환경 신소재 및 공정기술개발사업 (과제번호 : 2021003270008)의 지원을 받아 연구되었습니다.

References

1. Jeong PH, Kim YS, Shin DH. Changes of physicochemical characteristics of *Schizandra chinensis* during postharvest ripening at various temperatures. Korean Journal of Food Science and Technology. 2016;38(4):469-474.
2. Kim HJ. Isolation of Compounds from the Fruits of *Schizandra chinensis* Baill. Master's Thesis, Kyunghee University, Dongdaemun-gu, Seoul, Korea, February 2014.
3. Kim HJ, Seo YM, Lee EJ, Chung C, Sung HJ, Sohn HY et al. Anti-proliferative and pro-apoptotic activities by pomace of *Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill. and Schizandrin. Journal of Life Science. 2018;28(4):415-420.
4. Kim MS, Sung HJ, Park JY, Sohn HY. Evaluation of anti-oxidant, anti-microbial and anti-thrombosis activities of fruit, seed and pomace of *Schizandra chinensis* Baillon. Journal of Life Science. 2017;27(2):131-138.
5. Jeon YB, Kil JB, Lim SM, Kim MH, Kim MR. Analysis of antioxidative activity and antimutagenic effect of ethanol extract from *Schizandra chinensis* Baillon. Journal of the East Asian Society of Dietary Life. 2018;18(5): 746-752.
6. Simões MF, Pinto RM, Simões S. Hot-melt extrusion in the pharmaceutical industry: toward filling a new drug application. Drug Discovery Today, 2018;24(9):1749-1768.
7. Censi R, Gigliobianco MR, Casadidio C, Di Martino P. Hot melt extrusion: Highlighting physicochemical factors to be investigated while designing and optimizing a hot melt extrusion process. Pharmaceutics. 2018;10(3):89.
8. Thakkar R, Thakkar, R, Pillai A, Ashour EA, Repka MA. Systematic screening of pharmaceutical polymers for hot melt extrusion processing: A comprehensive review. International journal of pharmaceutics. 2020;576:118989.
9. Go EJ, Ryu BR, Ryu SJ, Kim HB, Lee HT, Kwon JW et al. An enhanced water solubility and stability of anthocyanins in mulberry processed

- with hot melt extrusion. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(22).
10. Charunuch C, Tangkanakul P, Limsangouan N, Sonted V. Effects of extrusion conditions on the physical and functional properties of instant cereal beverage powders admixed with mulberry (*Morus alba* L.) leaves. *Food science and technology research*. 2008;14(5):421-421.
 11. Wu F, Chen F, Pu Y, Qian F, Leng Y, Mu G et al. Effects of soy lecithin concentration on the physicochemical properties of whey protein isolate, casein-stabilised simulated infant formula emulsion and their corresponding microcapsules. *International Journal of Dairy Technology*. 2022;75(3):513-526.
 12. Pawar J, Gokarna VS, Deshpande VD, Amin PD. Enhancement of solubility and stability of itraconazole by formation of solid crystal suspensions using hot melt extrusion. *Pharm. Eng.* 2016;69-71.
 13. Cid-Samamed A, Rakmai J, Mejuto JC, Simal-Gandara J, Astray G. Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. *Food Chemistry*. 2022;384:132467.
 14. Munnangi SR, Youssef AAA, Narala N, Lakkala P, Vemula SK, Alluri R et al. Continuous manufacturing of solvent-free cyclodextrin inclusion complexes for enhanced drug solubility via hot-melt extrusion: A quality by design approach. *Pharmaceutics*. 2023;15(9):2203.
 15. Chuah AM, Jacob B, Jie Z, Ramesh S, Mandal S, Puthan JK et al. Enhanced bioavailability and bioefficacy of an amorphous solid dispersion of curcumin. *Food Chemistry*. 2014;156:227-233.
 16. Yang F, Su Y, Zhang J, DiNunzio J, Leone A, Huang C et al. Rheology guided rational selection of processing temperature to prepare copovidone-nifedipine amorphous solid dispersions via hot melt extrusion (HME). *Molecular Pharmaceutics*. 2016;13(10):3494-3505.
 17. Sohrabi Y, Mohammadzadeh-Aghdash H, Baghbani E, Dehghan P, Dolatabadi JEN. Cytotoxicity and genotoxicity assessment of ascorbyl palmitate (ap) food additive. *Advanced pharmaceutical bulletin*. 2018;8(2):341.
 18. Fratter A, Mason V, Pellizzato M, Valier S, Cicero AFG, Tedesco E et al. Lipomatrix: A novel ascorbyl palmitate-based lipid matrix to enhancing enteric absorption of serenoa repens oil. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(3):669.
 19. Park MO, Park CI, Jin SJ, Park MR, Choi IY, Park CH et al. Comparison in content of total polyphenol, flavonoid, and antioxidant capacity from different organs and extruded condition of *Moringa oleifera* Lam. *Processes*. 2022;10(5):819.
 20. Ma J, Xu C, Yu H, Feng Z, Yu W, Gu L et al. Electro-encapsulation of probiotics in gum Arabic-pullulan blend nanofibres using electrospinning technology. *Food Hydrocolloids*. 2012;111:106381.
 21. Do QD, Angkawijaya AE, Tran-Nguyen PL, Huynh LH, Soetaredjo FE, Ismadji S et al. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*. 2014;22(3):296-302.
 22. Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY et al. Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 2004;12(3):191-202.
 23. Mingle CE, Newsome AL. An amended potassium persulfate ABTS antioxidant assay used for medicinal plant extracts revealed variable antioxidant capacity based upon plant extraction process. *bioRxiv*. 2020;2020-07.
 24. Ishii K, Iwai T. Low-coherence dynamic light scattering and its potential for measuring cell dynamics. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2012;13(14):2562-2568.
 25. Piao J, Lee JY, Weon JB, Ma CJ, Ko HJ, Kim DD et al. *Angelica gigas* Nakai and Soluplus-based

- solid formulations prepared by hot-melting extrusion: Oral absorption enhancing and memory ameliorating effects. *PLoS One*. 2015;10(4):e0124447.
26. Reddy Dumpa N, Bandari SA, Repka M. Novel gastroretentive floating pulsatile drug delivery system produced via hot-melt extrusion and fused deposition modeling 3D printing. *Pharmaceutics*. 2020;12(1):52.
27. Monschke M, Kayser K, Wagner KG. Processing of polyvinyl acetate phthalate in hot-melt extrusion—preparation of amorphous solid dispersions. *Pharmaceutics*. 2020;12(4):337.
28. Crowley MM, Zhang F, Repka MA, Thumma S, Upadhye SB, Kumar Battu S et al. Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: part I. Drug development and industrial pharmacy. 2007;33(9):909–926.
29. Dewanto V, Wu X, Liu RH. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Journal of Agricultural and food Chemistry*. 2002;50(17):4959–4964.
30. Lee SY, Nam S, Choi Y, Kim M, Koo JS, Chae BJ et al. Fabrication and characterizations of hot-melt extruded nanocomposites based on zinc sulfate monohydrate and soluplus. *Applied Sciences*. 2017;7(9):902.
31. Dokoumetzidis A, Papadopoulou V, Macheras P. Analysis of dissolution data using modified versions of Noyes–Whitney equation and the Weibull function. *Pharmaceutical research*. 2006;23:256–261.
32. Maniruzzaman M, Boateng JS, Snowden MJ, Douroumis D. A review of hot-melt extrusion: process technology to pharmaceutical products. *International Scholarly Research Notices*. 2012.
33. Kalam Azad MO, Jeong DI, Adnan M, Salitxay T, Heo JW, Naznin MT et al. Effect of different processing methods on the accumulation of the phenolic compounds and antioxidant profile of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) flour. *Foods*. 2019;87:230.
34. Kim HS, Moon HK, Lee YJ, Lee CY, Hwang KH, Kim OH et al. Comparison of the content of shizandrin, gomisins A and gomisins N in schisandra fruit by water extraction condition. *Journal of Food Hygiene and Safety*. 2015;30(1):59–64.
35. Azad MOK, Kang WS, Lim JD, Park CH. Bio-fortification of *Angelica gigas* Nakai nano-powder using bio-polymer by hot melt extrusion to enhance the bioaccessibility and functionality of nutraceutical compounds. *Pharmaceutics*. 2019;13(1):3.
36. Kim HB, Ryu S, Baek JS. The effect of hot-melt extrusion of mulberry leaf on the number of active compounds and antioxidant activity. *Plants*. 2022;11(22):3019.
37. Yi S, Wang J, Lu Y, Ma R, Gao Q, Liu S et al. Novel hot melt extruded matrices of hydroxypropyl cellulose and amorphous felodipine-plasticized hydroxypropyl methylcellulose as controlled release systems. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20:1–14.
38. Jurišić V, Julson JL, Krička T, Čurić D, Voča N, Karunanithy C. Effect of extrusion pretreatment on enzymatic hydrolysis of *Miscanthus* for the purpose of ethanol production. *Journal of Agricultural Science*. 2015;7(11).
39. Thiry J, Lebrun P, Vinassa C, Adam M, Netchacovitch L, Ziemons E et al. Continuous production of itraconazole-based solid dispersions by hot melt extrusion: Preformulation, optimization and design space determination. *International Journal of Pharmaceutics*. 2016;515(1–2):114–124.
40. Go EJ, Ryu BR, Gim GJ, Lee HY, You HS, Kim HB et al. Hot-melt extrusion enhances antioxidant effects of mulberry on probiotics and pathogenic microorganisms. *Antioxidants*. 2022;11(11):2301.
41. Azad MOK, Adnan M, Sung IJ, Lim JD, Baek JS, Lim YS et al. Development of value-added functional food by fusion of colored potato and

- buckwheat flour through hot-melt extrusion. Journal of Food Processing and Preservation. 2022;46(5),
42. Wang W, Kang Q, Liu N, Zhang Q, Zhang Y, Li H et al. Enhanced dissolution rate and oral bioavailability of *Ginkgo biloba* extract by preparing solid dispersion via hot-melt extrusion. Fitoterapia. 2015;102:189-197.
43. Aličić D, Šubarić D, Jašić M, Pašalić H, Ačkar Đ. Antioxidant properties of pollen. Hrana u zdravlju i bolesti: znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku. 2014;3(1):6-12.
44. Abdel-Hameed ESS. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. Food chemistry. 2009;114(4):1271-1277.
45. Noyes AA, Whitney WR. The rate of solution of solid substances in their own solutions. Journal of the American Chemical Society. 1897;19(12): 30-934.
46. Maniruzzaman M, Rana MM, Boateng JS, Mitchell JC, Douroumis D. Dissolution enhancement of poorly water-soluble APIs processed by hot-melt extrusion using hydrophilic polymers. Drug development and industrial pharmacy. 2013;39(2):218-227.
47. Nayak D, Ashe S, Rauta PR, Kumari M, Nayak B. Bark extract mediated green synthesis of silver nanoparticles: evaluation of antimicrobial activity and antiproliferative response against osteosarcoma. Materials Science and Engineering: C. 2016;58: 44-52.
48. Ameen F, Abdullah MM, Al-Homaidan AA, Al-Lohedan HA, Al-Ghanayem AA, Almansob A. Fabrication of silver nanoparticles employing the cyanobacterium *Spirulina platensis* and its bactericidal effect against opportunistic nosocomial pathogens of the respiratory tract. Journal of Molecular Structure. 2020;1217: 128392.
49. Singh M, Singh SP, Rachana R. Development, characterization and cytotoxicity evaluation of *Ginkgo biloba* extract (EGB761) loaded microemulsion for intra-nasal application. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2017;7(1):024-034.
50. Das S, Ng WK, Tan RB. Are nanostructured lipid carriers (NLCs) better than solid lipid nanoparticles (SLNs): development, characterizations and comparative evaluations of clotrimazole-loaded SLNs and NLCs? European journal of pharmaceutical sciences. 2012;47(1):139-151.
51. Zhou P, Feng R, Luo Z, Li X, Wang L, Gao L. Synthesis, identification and bioavailability of *Juglans regia* L. polyphenols-Hohenbuehelia serotina polysaccharides nanoparticles. Food chemistry. 2020;329:127158.
52. TD Tran T, HL Tran P. Perspectives on strategies using swellable polymers in solid dispersions for controlled drug release. Current Pharmaceutical Design. 2017;23(11):1639-1648.
53. Miller DA, DiNunzio JC, Yang W, McGinity JW, Williams III RO. Enhanced *in vivo* absorption of itraconazole via stabilization of supersaturation following acidic-to-neutral pH transition. Drug development and industrial pharmacy. 2008;34(8):890-902.
54. Yokoi Y, Yonemochi E, Terada K. Effects of sugar ester and hydroxypropyl methylcellulose on the physicochemical stability of amorphous cefditoren pivoxil in aqueous suspension. International journal of pharmaceuticals. 2005;290(1-2):91-99.
55. Eguchi M, Du YZ, Ogawa Y, Okada T, Yumoto N, Kodaka M. Effects of conditions for preparing nanoparticles composed of aminoethylcarbamoyl- β -cyclodextrin and ethylene glycol diglycidyl ether on trap efficiency of a guest molecule. International journal of pharmaceuticals. 2006;311(1-2):215-222.
56. Colombo V, Focarete ML, Gherardi M, Gualandi C, Laurita R, Liguori A et al. Crosslinking of water-soluble pullulan nanofibrous mats through atmospheric plasma treatment. In 2015 IEEE International Conference on Plasma Sciences

- (ICOPS) 2015;(pp. 1–1). IEEE.
57. Zhang L, Luan H, Lu W, Wang H. Preliminary development of solid dispersion for an insoluble compound ZL006 by miniaturized hot melt extrusion. *Pharmaceutical Fronts*. 2019;1(01): e11–e21.
 58. Bajwa GS, Sammon C, Timmins P, Melia CD. Molecular and mechanical properties of hydroxypropyl methylcellulose solutions during the sol: gel transition. *Polymer*. 2009;50(19): 4571–4576.
 59. Zhang Y, Luo R, Chen Y, Ke X, Hu D, Han M. Application of carrier and plasticizer to improve the dissolution and bioavailability of poorly water-soluble baicalein by hot melt extrusion. *AAPS PharmSciTech*. 2014;15: 560–568.
 60. Zhang Y, Jiang H, Wang H, Wang C. Separation of hazardous polyvinyl chloride from waste plastics by flotation assisted with surface modification of ammonium persulfate: process and mechanism. *Journal of Hazardous Materials*. 2020;389: 121918.
 61. Zhao K, Wang X, Wang Z, Yan W, Zhou X, Xu L et al. A novel depressant for selective flotation separation of pyrite and pyrophyllite. *Applied Surface Science*. 2019;487:9–16.
 62. Choudhury AR, Saluja P, Prasad GS. Pullulan production by an osmotolerant *Aureobasidium pullulans* RBF-4A3 isolated from flowers of *Caesulia axillaris*. *Carbohydrate polymers*. 2011;83(4):1547–1552.
 63. Shingel KI. Determination of structural peculiarities of dexran, pullulan and γ -irradiated pullulan by Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydrate research*. 2002;337(16):1445–1451.
 64. Yi S, Wang J, Lu Y, Ma R, Gao Q, Liu S et al. Novel hot melt extruded matrices of hydroxypropyl cellulose and amorphous felodipine-plasticized hydroxypropyl methylcellulose as controlled release systems. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20:1–14.
 65. Rodríguez-López MI, Mercader-Ros MT, López-Miranda S, Pellicer JA, Pérez-Garrido A, Pérez-Sánchez H et al. Thorough characterization and stability of HP- β -cyclodextrin thymol inclusion complexes prepared by microwave technology: A required approach to a successful application in food industry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2019;99(3): 1322–1333.
 66. Escobar-Avello D, Avendaño-Godoy J, Santos J, Lozano-Castellón J, Mardones C, von Baer D et al. Encapsulation of phenolic compounds from a grape cane pilot-plant extract in hydroxypropyl beta-cyclodextrin and maltodextrin by spray drying. *Antioxidants*. 2021;10(7):1130.
 67. Dos Santos J, da Silva GS, Velho MC, Beck RCR. Eudragit®: A versatile family of polymers for hot melt extrusion and 3D printing processes in pharmaceuticals. *Pharmaceutics*. 2021;13(9):1424.
 68. Pereira GG, Figueiredo S, Fernandes AI, Pinto JF. Polymer selection for hot-melt extrusion coupled to fused deposition modelling in pharmaceuticals. *Pharmaceutics*. 2020;12(9):795.
 69. Ishimoto K, Shimada Y, Ohno A, Otani S, Ago Y, Maeda S et al. Physicochemical and biochemical evaluation of amorphous solid dispersion of naringenin prepared using hot-melt extrusion. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9: 850103.
 70. Kim BS, Youn JY, Kim JW, Kim MS, Kang G, Lee HB. Applications of HPMC (hydroxypropyl methylcellulose) as drug delivery carrier system. *Polymer Science and Technology*. 2007;18(6): 549–553.
 71. Korea, Food and Drug Administration (KFDA). Survey on ensuring the safety of thickening stabilizers permitted. Korea, Food and Drug Administration. 2000;180–181.
 72. Chandrama Singh S, Choudhary M, Mourya A, Khatri DK, Singh PK, Madan J et al. Acute and subacute toxicity assessment of andrographolide- β -hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex via oral and inhalation route of

administration in sprague-dawley rats. The Scientific World Journal, 2022.

73. EFSA Panel on Additives and Products or

Substances used in Animal Feed (FEEDAP). Safety and efficacy of lecithins for all animal species. EFSA Journal, 2016;14(8):e04561.