

고압 균질기를 이용한 커큐민 함유 나노에멀전의 제조

조연지 · 이슬비 · 이재권 · 권윤중*

경기대학교 식품생물공학과

Preparation of Nanoemulsions Containing Curcumin by High Pressure Homogenization

Yeon-Ji Jo, Seul-Bee Lee, Jae-Kwon Lee and Yun-Joong Kwon*

Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University

Abstract

Curcumin is a natural polyphenolic compound with a variety of beneficial activities. However, its application as a functional ingredient is currently limited because of its poor aqueous solubility and bioavailability. In this study, oil-in-water nanoemulsions containing curcumin were prepared by microfluidization to improve solubility and bioavailability of curcumin. The effects of emulsifier type and concentrations, the homogenizing pressure (40-140 MPa) and number of cycles on particle size parameters and stability of nanoemulsions were investigated. The results showed that particle size of the nanoemulsion was considerably decreased from 126 nm to 55 nm with increasing homogenization pressure, number of cycles and emulsifier concentration. The optimum conditions for nanoemulsion preparation were determined to be homogenization pressure of 120 MPa and 3 cycles. The storage study showed that the curcumin nanoemulsions were physically stable for about 8 weeks at room temperature.

Key words: nanoemulsion, microfluidizer, curcumin, droplet size

서 론

최근 들어 급격히 노인인구가 증가하면서 성인병, 암과 같은 질병뿐만 아니라 기억력 증대 및 치매예방에 대한 관심이 점차 증가하고 있다. 이러한 질병을 예방하고 치료하는 식품이나 의약품에 대한 사람들의 선호도가 점차 증대됨에 따라 강황의 주성분인 커큐민(curcumin)에 대해 관심이 대두되고 있는 실정이다. 커큐민은 강황의 뿌리 부분에서 유래하는 노란색 색소를 지니는 향신료의 주성분으로써 polyphenol류의 천연 항산화제이다(Khanna, 1999). 커큐민은 항암, 항산화, 항균 및 항염증 등과 같은 다양한 치료 효과를 가지고 있으며, 많은 식품업계에서 치매예방 및 기억력 증대와 관련된 소재로 커큐민을 함유하는 식품의 개발에 관심을 가지고 있다(Chan et al., 1998; Duvoix et al., 2005; Sharma et al., 2005). 또한 커큐민의 원산지인 인도, 중국 및 일본 등의 아시아 지역에서 한약재, 향신료 및 식

용으로 널리 이용되고 있으며, 많은 연구자들에 의해 여러 효능이 검증되고 있다(Joe et al., 2004; Basnet & Skalko-Basnet, 2011).

그러나 커큐민은 물에 거의 녹지 않는 지용성 물질로써, 중성이나 염기성인 pH 조건에서 불안정하며 산성 pH 조건에서는 비교적 안정하다고 알려져 있기 때문에 식품 및 의약품 재료로 이용되기에는 매우 제한적이라는 문제점이 존재한다(Wang et al., 2008). 즉, 커큐민은 용해도가 매우 낮기 때문에 이를 직접 구강섭취 할 경우 생체이용률 및 흡수율이 매우 낮다. 따라서 커큐민의 수용성과 생체이용률을 증진시키기 위한 많은 연구가 활발히 진행되고 있다. 최근에 나노에멀전(nanoemulsion)과 같은 전달체(delivery system)가 커큐민을 캡슐화하는데 사용되었으며(Wang et al., 2008; Ahmed et al., 2012), 이들 연구에서 에멀전화는 물에 결정형 커큐민을 분산시키는 것에 비교하여 커큐민의 생체이용률을 훨씬 증가시킨다고 보고하였다.

나노에멀전은 통상적으로 입자 크기가 나노수준(보통 20~200 nm)의 크기로 존재하는 에멀전을 말하며, 수중유적형(O/W) 또는 유중수적형(W/O) 에멀전으로 분류될 수 있다(Solans et al., 2005). 나노에멀전은 일반 에멀전과 달리 동역학적으로 매우 안정한 상태로 존재하며, 외관상 투명하거나 반투명한 상태이다. 또한 나노에멀전은 입자가 매

*Corresponding author: Yun-Joong Kwon, Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, San 94-6, Iui-dong, Yeong-tong-gu, Suwon, 443-760, Korea

Tel: +82-31-249-9651; Fax: +82-31-249-9650

E-mail: yjkwon@kgu.ac.kr

Received June 25, 2014; revised September 18, 2014; accepted September 22, 2014

우 작아 입자의 브라운 운동으로 인한 침강(sedimentation), 응집(agggregation) 및 크리밍(creaming)에 대해 매우 안정하다고 알려져 있다(McClements, 2005). 이러한 여러 장점으로 인하여, 나노에멀전은 지용성 생리활성물질의 전달체로 활용의 중요성이 점점 증가하고 있다.

지용성 생리활성체를 함유하는 나노에멀전은 다양한 유화공정으로 생산될 수 있는데, 고압 균질화(high pressure homogenization)는 식품, 제약 및 생물산업에서 다양한 제품의 유화, 분산, 혼합공정에 널리 이용되고 있다. 이 방법은 충돌에 의한 충격력, 속도구배에 의해 야기되는 전단력, 그리고 급격한 압력감소에 의한 cavitation의 세가지 힘에 의해 나노크기의 입자와 균일한 분산도를 가지는 입자를 얻을 수 있으며, 다른 유화공정보다 더 작은 입자를 생산하는데 효용이 우수하다고 알려져 있다(Lim et al., 2010).

본 연구에서는 지방산의 polyoxyethylene sorbitan esters 계열(Tween 계열)을 유화제로 사용하여 고압유화방법으로 커큐민을 함유한 나노에멀전을 제조하여 그 특성을 검토하였다. 유화제의 종류와 농도, 그리고 microfluidizer의 압력과 통과횟수가 나노에멀전의 물리적 성질과 안정성에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에서 사용한 커큐민은(30% in corn oil)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 또한 분산상으로 이용한 medium chain triglyceride(MCT) 오일은 SHS International Ltd.(Liverpool, UK)으로부터 공급받았다. 유화제인 polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Tween20), polyoxyethylene sorbitan monomyristate(Tween40), polyoxyethylene sorbitan monostearate(Tween60) 및 polyoxyethylene sorbitan monooleate(Tween80)들은 YAKURI Co.(DUSAN, Seoul, Korea)에서 구입하였으며, 기타 모든 시약은 분석용을 사용하였다.

나노에멀전의 제조

고압 균질기에 의한 커큐민 함유 수중유적형(O/W) 나노에멀전 제조 과정의 모식도는 Fig. 1에 나타내었다. 나노에멀전의 분산상은 1%(w/w) 커큐민을 함유한 MCT 오일을 이용하였으며, 연속상으로는 서로 다른 HLB(hydrophilic-hydrophobic balance)값을 갖는 Tween 계열의 유화제를 종류수에 충분히 용해시켜 준비하였다. 유화제 종류는 Tween 20, Tween 40, Tween 60 및 Tween 80을 선택하였고, 첨가한 유화제의 농도는 2.5-30%로 하여 제조하였다. 커큐민을 함유한 분산상은 140°C 이상의 MCT 오일에 커큐민 1%를 분산시키고 몇 초간 용해시킨 후 바로 상온에서 냉각하여 준비하였다. 분산상과 연속상을 고속 혼합기

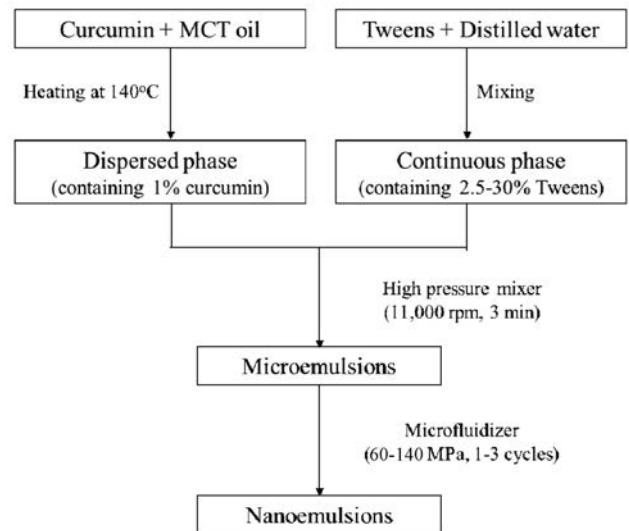


Fig. 1. Preparation of curcumin nanoemulsions by microfluidization technique.

(high speed mixer, Ultra-Turrax T 18, IKA Works, China)를 이용하여 11,000 rpm에서 약 3분간 교반하여 마이크로에멀전을 제조하였다. 분산상과 연속상은 5:95 또는 10:90의 비율로 혼합하였다. 이 때 에멀전의 커큐민 최종농도는 각 0.05%(분산상:연속상=5:95)와 0.1%(분산상:연속상=10:90)이었다.

마이크로에멀전을 고압 균질기(Model M-110L Microfluidizer Processor, Microfluidic Corporation, Newton, ME, USA)에 통과시킴으로 더 유화되어 나노에멀전을 제조하였다. 이 때 고압 균질기의 여러가지 조건을 변화시켜 실험을 진행하였다. Microfluidizer는 60-140 MPa로 조절하였으며, microfluidizer의 통과횟수는 각 1-3 회로 하여 나노에멀전을 생산한 후 입자분석기를 이용하여 입자크기 및 제타전위를 측정하였다.

입자크기 및 입자분포도 측정

커큐민 함유 나노에멀전의 평균 입자크기 및 입자분포도는 dynamic light scattering 원리에 의해 Zetasizer Nano-ZS 90(Malvern Instruments, Worcestershire, UK)으로 분석하였다. 25°C에서 용매로 쓰인 증류수로 기준광을 잡고 나노에멀전을 적절히 희석하여 잘 섞은 후 1 mL을 취하여 3 회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다. 이 때, 굴절률 값은 커큐민(1.47), MCT 오일(1.45), 유화제(Tweens: 1.47) 그리고 물 (1.33)의 각각 굴절률 값을 이용하여 산출하였다. 나노에멀전의 입자크기는 particle diameter(nm)로 표현되며, 입자분포도는 polydispersity index(PdI)로 나타내었다.

제타전위 측정

제타전위(ζ -potential) 측정은 electrophoresis 원리에 의해 Zetasizer Nano-ZS90으로 분석하였다. 제타전위는 콜로이드

시스템의 안정성을 예측하는데 이용하며, 그 값이 +30 mV 이상 또는 -30 mV 이하일 경우 대부분 안정하다고 인정한다 (McClements, 2005). 시료는 25°C에서 전기장을 자동 설정한 후 에멀전의 용매로 쓰인 증류수로 적절히 희석하여 1 mL을 취한 후 3 회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다.

저장기간에 따른 물리적 안정성 평가

나노입자 제조에 쓰인 유화제 중 Tween 20을 선택하여, 유화제의 농도, 고압 균질기의 압력 및 통과횟수에 따라 제조된 커큐민 함유 나노에멀전을 상온(25°C)에서 두 달 동안 저장하면서 일정 기간마다 입자크기를 측정하였다.

통계처리

본 실험의 모든 분석은 3 회 실시 하였으며, 각 분석결과에 대한 측정은 3 회 반복 수행된 평균값이며, 분석 결과에 대한 통계분석은 SAS 프로그램(Statistic Analytical System, Ver. 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 사용하여 유의성 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

고압 균질기의 압력 및 통과횟수에 따른 입자특성

Microfluidizer는 균질, 분산, 유화 목적에 사용되는 장비로써 충돌력, 전단력, 케비테이션의 세 가지 힘에 의하여 좁은 입자분포도를 가지는 나노크기의 입자를 얻을 수 있다. 특히, microfluidizer로 제조된 미세한 입자는 점성마찰이 부력보다 강하기 때문에 침강(sedimentation) 혹은 크리밍(creaming) 작용이 잘 일어나지 않아 일반 에멀전과 달리 물리적으로 안정하다고 알려져 있다(Lander et al., 2000; Pinnamaneni et al., 2003; Solans et al., 2005). 커큐민 함유 나노에멀전은 두 단계 균질화 방법에 의해 제조하였다. 먼저, 고속 혼합기(high speed mixer)를 이용하여 마이크로에멀전을 생산하였으며, 2 단계로는 고압 균질기(high pressure homogenizer)를 통과시켜 단분산상 형태인 나노입자를 제조하였다. 고압 균질기, 즉 microfluidizer의 압력 및 통과횟수는 에멀전의 물리적 안정성에 상당한 영향을 끼친다고 알려졌다. 본 실험에서는 커큐민을 함유한 나노에멀전 제조의 최적조건을 확립하고자 고압 균질기의 압력 및 통과횟수에 따른 물리적 특성을 검토하였다. 그리고 분산상과 연속상의 비율은 5:95 또는 10:90으로 조절한 후 비교실험을 진행하였다.

고압 균질기의 압력 및 통과횟수를 조절하여 나노에멀전을 생성한 후에 입자크기 및 제타전위를 측정된 결과를 Fig. 2(분산상과 연속상의 혼합비율 5:95)와 Fig. 3(분산상과 연속상의 혼합비율 10:90)에 나타내었다. 일반적으로 입자를 제조할 때 생성되는 입자의 크기는 전단력과 가장 밀접한 관계가 있다고 알려져 있으며(Lander et al., 2000),

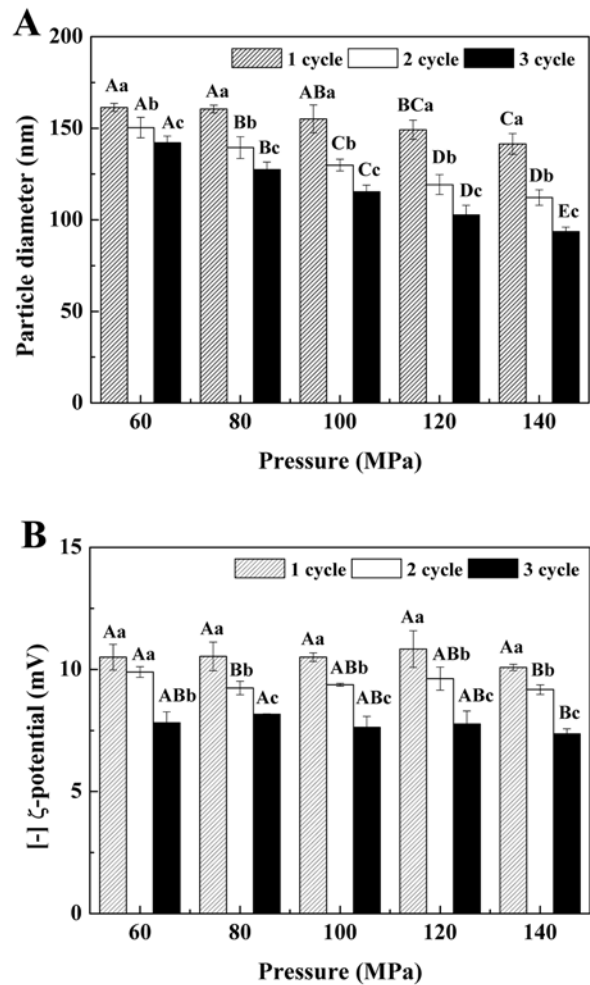


Fig. 2. Effect of microfluidization pressure and cycle on (A) thedroplet size and (B) ζ -potential of curcumin nanoemulsions prepared with 10% Tween 20: ratio of disperse phase andcontinuous phase, 5:95. ^{A-E}Means significantly differ at the samecycle ($p<0.05$). ^{a-c}Means significantly differ at the same pressure ($p<0.05$).

입자의 평균크기는 입자 제조과정의 균질압력 및 통과횟수가 증가할수록 유화액의 분산성이 증가하여 감소하는 것으로 판단된다(Kim et al., 2012). 분산상과 연속상의 혼합비율이 5:95 일 때, 제조된 나노에멀전의 평균입자크기는 압력 및 통과횟수에 따라 93.5 nm에서 161.3 nm 범위를 나타내었으며(Fig. 2A), 분산상과 연속상의 혼합비율이 10:90 일 때의 평균입자크기는 69.4 nm에서 121.9 nm 크기의 입자를 생성하였다(Fig. 3A). 에멀전의 입자크기는 균질기의 압력 및 통과횟수가 높을수록 감소하는 경향을 나타냈으나, 압력의 영향은 크지 않았다. 그러나, 고압 균질기의 통과횟수에 따른 영향은 크게 나타났으며, 통과횟수가 높을수록 입자크기는 감소하는 경향을 보였다.

이러한 경향은 제타전위 측정결과에서도 유사하게 나타났다. 에멀전 상에서 입자의 제타전위란 에멀전의 최외각 경계면과 에멀전의 연속상 사이의 전하를 나타내며, 에멀

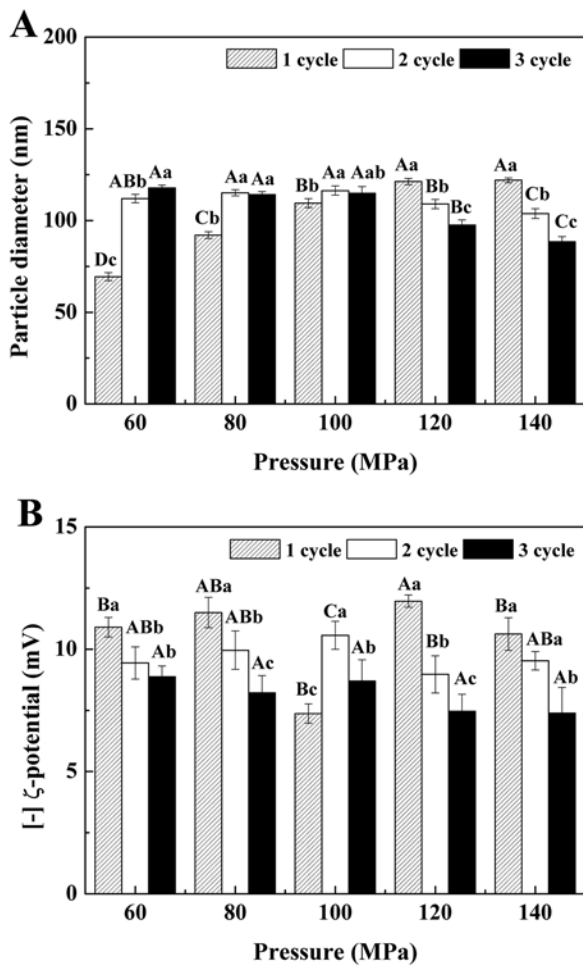


Fig. 3. Effect of microfluidization pressure and cycle on (A) droplet size and (B) ζ -potential of curcumin nanoemulsions prepared with 10% Tween 20: ratio of disperse phase and continuous phase, 10:90. ^{A-E}Means significantly differ at the same cycle ($p < 0.05$). ^{a-c}Means significantly differ at the same pressure ($p < 0.05$).

전 입자의 분산상의 특성을 판단하는 척도로 이용된다. 특히, 제타전위의 절대값은 에멀전 입자의 안정도를 나타내는 기준으로 사용될 수 있으며 그 절대값이 클수록 안정한 상태를 유지한다고 알려져 있다(McClements, 2005). 제타전위의 측정결과를 살펴보면, 각 압력 조건에서 고압 균질기의 통과횟수가 증가할수록 제타전위의 절대값이 감소하는 양상을 나타내었다. 즉, 고압 균질기 통과횟수는 에멀전 입자크기를 작게 하는데 있어 매우 효과적이거나, 입자의 안정성 측면에서는 덜 효과적으로 나타났다. 고압 균질기의 압력 및 통과횟수에 따른 측정결과는 입자크기 측면에서 압력보다는 통과횟수에 대해 큰 영향을 받았음을 확인하였다.

유화제 종류 및 농도에 따른 입자특성

일반적으로 유화제는 분산상이라 불리는 oil phase를 보다 효과적으로 분산시키고, 분산된 입자의 안정성을 부여

하기 위하여 이용된다. 따라서 입자를 제조함에 있어서 분산상 입자간의 반발력에 의해 서로 응집이 일어나지 않고 고르게 분산될 수 있도록 해야 한다(Chang and Fogler, 1997; Surassmo et al., 2010). 분산이 잘 되지 않을 경우에는 입자간의 응집 및 침강에 의하여 유화 제품의 이용성 및 수율이 감소하게 된다. 그러므로 입자간의 응집을 방지하고 분산상에 골고루 분산시키기 위해서는 분산상에 사용되는 유화제의 종류 및 농도가 매우 중요하며, 일반적으로 Tweens 계열의 유화제가 많이 이용되고 있다. 본 실험에 사용된 유화제는 나노에멀전 제조 시에 응집현상이 적고 입자크기 또한 마이크로/나노 단위 입자 생산에 있어 매우 효과적이라 알려져 있다.

본 연구에서는 고압 균질기의 동일한 조건(압력 120 MPa 과 통과횟수 3 회)에서 여러 종류의 Tweens 계열의 계면활성제에 의해 제조된 커큐민 함유 나노에멀전 입자의 성질을 검토하였으며, 그 결과는 Table 1에 나타내었다. 이 실험에서 나노에멀전의 입자분포는 단분산 형태이고, 크기는 55.1 nm에서 122.1 nm 범위였으며, 입자분산지수는 0.430 이하로 측정되었다. 입자분산지수는 입자크기 분포의 퍼짐을 나타내는 값으로 작은 값일수록 좁은 입자분포를 나타낸다(Yuan et al., 2008). 일반적으로 커큐민 나노에멀전은 입자분산지수 값 0.43 이하로써 상대적으로 좁은 범위의 입자분포도를 나타내었다.

커큐민 함유 나노에멀전 제조 시 Tweens 농도를 2.5~30% 범위 내에서 사용했을 때 나노크기를 지닌 에멀전을 생산할 수 있었다. 유화제 종류에 따른 입자크기는 유화제의 서로 다른 hydrophilic-hydrophobic balance(HLB) 값에 의해 영향을 받는다. HLB 값은 친수성과 친유성의 평형기준 지표를 의미함으로써, 유화제 분자 중에 친유성인 부분과 친수성인 부분의 균형을 나타낸다(McClements, 2005). 본 실험에 사용된 Tween 20, Tween 40, Tween 60, Tween 80의 HLB 값은 각각 16.7, 16.5, 14.9, 15.0으로 알려져 있으며(Yuan et al., 2008), 유화제가 친수성 일수록 HLB 값이 높으며, 친유성 일수록 HLB 값이 낮게 측정된다. 본 연구결과는 Yuan 등(2008)의 연구와 같이 사용된 유화제 중 Tween 40으로 제조된 에멀전이 다른 유화제로 제조된 에멀전보다 상대적으로 입자크기가 크게 측정되었다. 그러나, 다른 연구결과와 다르게 Tween 80 유화제로 제조된 나노에멀전의 경우 가장 작은 입자크기를 나타내었다(Yuan et al., 2008; Jo and Kwon, 2014).

제조된 나노에멀전의 입자분산지수를 비교해보면, HLB 값이 가장 높은 Tween 20 유화제일 경우 상대적으로 낮은 수치를 나타내었다. 분산상과 연속상의 비율이 5:95일 때, 15% Tweens이 첨가된 에멀전의 입자분산지수를 살펴보면, Tween 20으로 제조된 에멀전의 입자분산지수는 0.227인 반면에 Tween 80으로 제조된 에멀전일 경우에는 0.345로 나타났다. 본 결과로 미루어 볼 때 Tween 20 유화제는 입

Table 1. Physical properties of curcumin nanoemulsions with different emulsifiers at different concentration. Ratio of disperse phase and continuous phase, (A) 5:95 and (B) 10:90 (mean±SD, n=3)¹.

(A) Emulsifiers type	Property	Concentration (% w/w)			
		2.5	5	10	15
Tween 20	D (nm) ²	122.1±1.626 ^{Ba}	117.7±4.063 ^{Ba}	103.0±3.762 ^{Bb}	87.6±3.068 ^{Cc}
	PdI ³	0.249±0.017 ^{Bb}	0.234±0.005 ^{Cc}	0.226±0.013 ^{Cc}	0.227±0.014 ^{Ba}
	ζ-potential (mV)	-11.97±0.208 ^{Ab}	-8.86±0.858 ^{Ac}	-7.79±0.624 ^{Aa}	-6.34±0.21 ^{Aa}
Tween 40	D (nm)	126.1±2.364 ^{Aa}	122.1±0.473 ^{Aa}	117.0±3.153 ^{Ab}	97.8±2.191 ^{Ac}
	PdI	0.293±0.025 ^{Bb}	0.27±0.005 ^{Bb}	0.269±0.008 ^{Bb}	0.337±0.025 ^{Aa}
	ζ-potential (mV)	-16.57±0.603 ^{Cb}	-14.03±0.252 ^{Ca}	-12.87±0.252 ^{Ca}	-13.23±1.914 ^{Ba}
Tween 60	D (nm)	124.7±0.961 ^{ABa}	110.8±0.202 ^{Ba}	107.7±1.274 ^{Bc}	92.5±1.353 ^{Bd}
	PdI	0.296±0.026 ^{Bb}	0.383±0.010 ^{Ba}	0.286±0.037 ^{Bb}	0.311±0.025 ^{Ab}
	ζ-potential (mV)	-14.2±0.361 ^{Bb}	-15.33±0.493 ^{Ca}	-12.2±0.529 ^{Ca}	-11.9±0.346 ^{Ba}
Tween 80	D (nm)	101.1±0.764 ^{Cb}	109.3±1.136 ^{Ca}	88.6±1.074 ^{Cc}	74.6±0.676 ^{Dd}
	PdI	0.397±0.028 ^{Aa}	0.286±0.028 ^{Ab}	0.369±0.002 ^{Aa}	0.345±0.006 ^{Aa}
	ζ-potential (mV)	-12.43±0.473 ^{Ac}	-10.5±1.893 ^{Bbc}	-8.92±0.423 ^{Bb}	-6.7±0.731 ^{Aa}

(B) Emulsifiers type	Property	Concentration (% w/w)			
		5	10	20	30
Tween 20	D (nm)	110.5±2.984 ^{Aa*}	97.4±1.279 ^{Bb}	70.5±0.935 ^{Bc}	55.1±0.388 ^{Dd}
	PdI	0.280±0.01 ^{Ca}	0.259±0.007 ^{Ca}	0.215±0.019 ^{Cb}	0.201±0.004 ^{Bb}
	ζ-potential (mV)	-9.93±1.046 ^{Ac}	-7.62±0.392 ^{Ab}	-6.23±0.505 ^{Aa}	-6.31±0.480 ^{Aa}
Tween 40	D (nm)	104.8±1.159 ^{Ba}	104.2±0.608 ^{Aa}	90.3±1.372 ^{Ab}	64.4±0.998 ^{Ac}
	PdI	0.415±0.005 ^{Aa}	0.322±0.061 ^{Bb}	0.305±0.019 ^{Bb}	0.326±0.031 ^{Ab}
	ζ-potential (mV)	-14.7±0.800 ^{Bc}	-12.93±0.252 ^{Bb}	-11.43±0.577 ^{Ba}	-10.9±0.872 ^{Ba}
Tween 60	D (nm)	99.1±0.952 ^{Ca}	93.0±0.593 ^{Bb}	72±0.681 ^{Bc}	61.1±0.382 ^{Bd}
	PdI	0.430±0.004 ^{Aa}	0.370±0.015 ^{ABb}	0.324±0.011 ^{ABb}	0.350±0.013 ^{Ac}
	ζ-potential (mV)	-14.27±0.569 ^{Bd}	-12.77±0.252 ^{Bc}	-9.44±0.573 ^{Ba}	-11.4±0.529 ^{Bb}
Tween 80	D (nm)	92.4±1.38 ^{Da}	85.8±1.535 ^{Bb}	70.1±0.855 ^{Bc}	56.9±0.314 ^{Cd}
	PdI	0.350±0.035 ^{Ba}	0.319±0.038 ^{Aa}	0.345±0.008 ^{Aa}	0.333±0.007 ^{Aa}
	ζ-potential (mV)	-8.68±0.739 ^{Aab}	-9.31±1.675 ^{Bb}	-9.71±2.257 ^{Bb}	-6.16±0.397 ^{Aa}

¹ The emulsions were prepared at the microfluidization pressure and cycle of 120 MPa and 3 cycles, respectively.

² D (nm), accumulate mean diameter of the nanoemulsion particles.

³ PdI, polydispersity index

*Mean±standard deviation of triplicate determinations (n=3). ^{A-D}Means with different superscripts within the same column are significantly different (p<0.05). ^{a-e}Means with different superscripts within the same row are significantly different (p<0.05).

자분포도 측면에서는 가장 낮은 분산지수를 확인하였기 때문에 나머지 세 유화제보다 입자 분포형태가 매우 고르고 균일한 형태를 나타낼 것이라 사료된다.

분산상과 연속상의 비율을 5:95(A)와 10:90(B)으로 달리 하여 에멀전을 제조하여 그 특성을 비교하였다. 분산상의 농도가 높을수록 많은 유화제가 이용되기 때문에 상대적으로 분산상의 농도가 높은 에멀전일 경우에 입자크기가 작게 나타남을 확인하였다. 일반적으로 Tweens의 농도가 증가할수록 나노에멀전의 입자크기는 감소하는 경향을 보여 주고 있다. 그 이유는 입자크기가 작을수록 표면적이 커지기 때문에, 큰 표면을 덮는데 더 많은 유화제를 필요로 하기 때문이다. 제타전위 측정결과도 유사한 경향을 나타내었으며, 유화제의 농도가 증가할수록 제타전위 값이 감소하는 경향을 보였다. Tweens로 둘러 쌓인 지방구의 제타전

위 측정값은 -16.57 mV에서 -6.16 mV범위를 나타내었으며, 모든 농도에서 음전하 값을 보여주었다. Tweens은 비이온성 유화제 이더라도, Tweens에 의해 안정화된 나노에멀전의 전체 표면전하는 음의 값을 나타내었다. 이것은 aqueous phase로부터 OH기가 interphase에 흡착되었기 때문으로 사료된다(Yin et al., 2009).

저장 중의 물리적 안정성 평가

여러 가지 조건(유화제 농도, 고압 균질기의 압력 및 통과횟수)에서 제조된 나노에멀전의 안정성을 저장기간 동안의 입자크기 변화를 측정함으로써 알아보았다. 유화제로 Tween 20, 분산상과 연속상 비율로는 10:90으로 제조된 커큐민 함유 나노에멀전을 25°C에서 두 달간 저장하면서 일정기간 마다 시료를 취하여 입자분석기를 통해 입자크기의

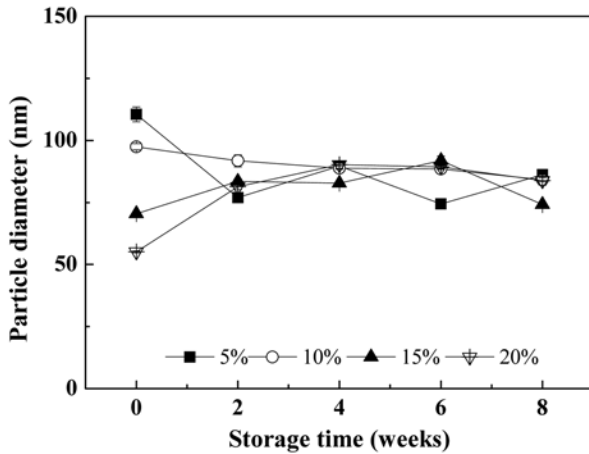


Fig. 4. Changes in droplet size of nanoemulsions containing curcumin prepared with various Tween 20 concentrations at room temperature (25°C) for 2 months.

Nanoemulsions were prepared at 120 MPa and 3 cycles.

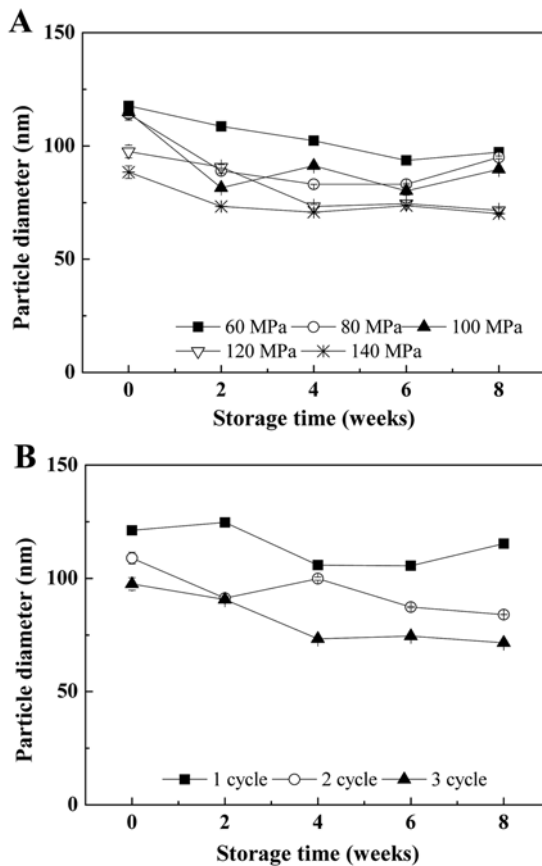


Fig. 5. Changes in droplet size of nanoemulsions containing curcumin prepared at various microfluidizer operating conditions such as (A) pressure (3 cycles) and (B) cycle number (120 MPa) at room temperature (25°C) for 2 months.

Nanoemulsions were prepared with 10% Tween 20 at 10:90, ratio of disperse phase and continuous phase.

변화를 측정하였다. 유화제 농도에 따른 입자크기 변화는 Fig. 4, 고압 균질기의 압력 및 통과횟수에 따른 입자크기

변화는 Fig. 5에 나타내었다. 저장기간에 따른 입자크기 변화는 두 달 동안 실시되었으며, 제조된 에멀전의 입자크기는 거의 변화하지 않았다. 즉, 두 달 동안 초기 제조된 에멀전 상태를 유지하였기 때문에 물리적으로 매우 안정한 상태를 확인하였다.

요 약

본 연구에서는 지용성 생리활성 물질인 커큐민의 가용화를 통해 실제 식품에 적용하기 위하여 고압 균질기 (microfluidizer)를 이용한 나노크기 입자를 생산하였으며, 제조된 나노에멀전의 입자특성을 검토하였다. 제조된 나노에멀전의 여러 가지 물리적 특성은 유화제 종류 및 농도, 분산상과 연속상의 혼합비율, 고압 균질기의 압력 및 통과 횟수의 영향을 받았다. 일반적으로 연속상에서의 유화제 농도가 높을수록, 고압 균질기 압력 및 통과횟수가 높을수록 입자크기 및 제타전위 값이 감소하는 경향을 보였으며, 입자분산지수 또한 감소되는 양상을 보였다. 여러 조건에서 제조된 나노에멀전의 저장 기간 동안 입자크기 변화를 측정된 결과, 물리적으로 매우 안정한 상태를 유지하였다. 따라서, 본 연구를 통해 고압균질기를 이용하여 입자분포가 좁은 커큐민 함유 나노에멀전을 제조할 수 있었다. 추후 연구에서는 음료와 같은 실제 식품에 적용하고 상업적으로 이용하기 위해서는 열, 냉동, pH, 염 등의 외부환경에 대한 물리화학적 안정성을 검토해야 할 것이다.

References

- Ahmed K, Li Y, McClements DJ, Xiao H. 2012. Nanoemulsion- and emulsion-based delivery systems for curcumin: Encapsulation and release properties. *Food Chem.* 132: 799-807.
- Basnet P, Skalko-Basnet N. 2011. Curcumin: An anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. *Molecules* 16: 4567-4598.
- Chan MMY, Huang HI, Fenton MR, Fong D. 1998. In Vivo Inhibition of nitric oxide synthase gene expression by curcumin, a cancer preventive natural product with anti-inflammatory properties. *Biochem. Pharmacol.* 55: 1955-1962.
- Chang CL, Fogler HS. 1997. Controlled formation of silica particles from tetraethyl orthosilicate in nonionic water-in-oil microemulsions. *Langmuir* 13: 3295-3307.
- Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, Dicato M, Diederich M. 2005. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett.* 223: 181-190.
- Jo YJ, Kwon YJ. 2014. Characterization of β -carotene nanoemulsions prepared by microfluidization technique. *Food Sci. Biotechnol.* 23:107-113.
- Joe B, Vijaykumar M, Lokesh BR. 2004. Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44:97-111.
- Khanna NM. 1999. Turmeric - Nature's precious gift. *Curr. Sci.*

- 76:1351-1356.
- Kim BC, Chun JY, Park YM, Hong GP, Lee SK, Choi MJ. 2012. Influence of coating materials and emulsifiers on nanoparticles in manufacturing process. *Korean J. Food Sci. An.*32:220-227.
- Lander R, Manger W, Scouloudis M, Ku A, Davis C, Lee A. 2000. Gaulin homogenization: A mechanistic study. *Biotechnol. Prog.* 16:80-85.
- Lim JS, Gang HJ, Yoon SW, King HM, Suk JW, Kim DU, Lim JK. 2010. Preparation and its stability of a coenzyme Q10 nanoemulsion by high pressure homogenization with different valve type conditions. *Food Sci. Biotechnol.* 42:565-570.
- McClements DJ. 2005. *Food emulsions: principles, practice, and techniques.* CRC Press Inc.
- Pinnamaneni S, Das NG, Das SK. 2003. Comparison of oil-in-water emulsions manufactured by microfluidization and homogenization. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 58:554-558.
- Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP. 2005. Curcumin: the story so far. *Eur. J. Cancer.* 41:1955-1968.
- Solans C, Izquierdo P, Nolla J, Azemar N, Garcia-Celma MJ. 2005. Nano-emulsions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 10:102-110.
- Surassmo S, Min SG, Bejrapha P, Choi MJ. 2010. Effects of surfactants on the physical properties of capsicum oleoresin-loaded nanocapsules formulated through the emulsion-diffusion method. *Food Res. Int.* 43:8-17.
- Wang X, Jiang Y, Wang YW, Huang MT, Ho CT, Huang Q. 2008. Enhancing anti-inflammation activity of curcumin through O/W nanoemulsions. *Food Chem.* 108:419-424.
- Yuan Y, Gao Y, Zhao J, Mao L. 2008. Characterization and stability evaluation of β -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization under various emulsifying conditions. *Food Res. Int.* 41:61-68.
- Yin LJ, Chu BS, Kobayashi I, Nakajima M. 2009. Performance of selected emulsifiers and their combinations in the preparation of β -carotene nanodispersions. *Food Hydrocollid.* 23: 1617-1622.