사이클로덱스트린과 전분을 이용한 coenzyme Q₁₀ 복합체의 특성 연구

이준경 · 이현주 · 임재각*
한국산업기술대학교 생명화학공학과

Structural and Solubility Characteristics of Coenzyme Q₁₀ Complexes Including Cyclodextrin and Starch

Joon-Kyoung Lee, Hyun-Joo Lee, and Jae-Kag Lim*

Department of Biological Science and Chemical Technology, Korea Polytechnic University

Abstract This study focused on assessing the solubility and structural characteristics of two types of coenzyme Q₁₀ (CoQ₁₀) complexes: the CoQ₁₀-starch and the CoQ₁₀-cyclodextrin complexes. The solubility of CoQ₁₀-starch complex increased significantly as the temperature was increased. However, the solubility of CoQ₁₀-cyclodextrin complex reached a peak at 37°C, and strong aggregation occurred at 50°C. When the temperature was raised to 80°C, the CoQ₁₀-cyclodextrin complex dissociated owing to the weakening of bonds, resulting in CoQ₁₀ emerging at the surface of water. Therefore, CoQ₁₀-cyclodextrin complexes have lower solubility, due to their reduced heat-stability, than do the CoQ₁₀-starch complexes. Structural differences between the two CoQ₁₀ complexes were confirmed by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy, X-ray diffractometer (XRD), and differential scanning calorimeter (DSC). The CoQ₁₀-cyclodextrin complex included an isoprenoid chain of CoQ₁₀, while the CoQ₁₀-starch complex included both the benzoquinone ring and the isoprenoid chain of CoQ₁₀. These results suggest that CoQ₁₀-starch complexes possess higher heat-stability and solubility than do the CoQ₁₀-cyclodextrin complexes.

Keywords: coenzyme Q₁₀(CoQ₁₀)-starch complex, coenzyme Q₁₀(CoQ₁₀)-cyclodextrin complex, heat-stability, solubility capability, structural characteristic

서 론

Coenzyme Q₁₀ (2,3-dimethoxy-5-methyl-6-decaprenyl-1,4-benzoquinone)은 식품의약품안전청에서 인증한 항산화 기능성 물질이다(1). Coenzyme Q₁₀은 비타민C와 함께 항산화력이 강한 대표적인 성분으로 유럽과 미국에서는 꾸준히 매출 3위 안에 들 정도의 영양보충식품이다(2). 이는 유비퀴논(ubiquinone)으로 불리며 자연계의 거의 모든 호기적 대사를 하는 동·식물체의 조직에서 발견되는 보조효소이다(3). 또한 신체내에서 다양한 생리작용을 한다. 항산화 기능, 항노화, 심장 및 순환계 질환, 파킨슨병, 알츠하이머, 헌팅톤 질환(Huntington's disease)과 같은 퇴행성신경 질환에 관련되어 coenzyme Q₁₀의 연구가 진행되었다(4-11). 하지만 coenzyme Q₁₀은 열에 안정하지 못하여 식품공정에서와 마찬가지로 오랜 시간 열처리를 하는 경우 파괴되어 효능을 잃어버릴 수 있다. 이러한 열 안정성을 개선하고자 한다면 미세캡슐 등의 방법을 통해 coenzyme Q₁₀의 열에 의한 파괴를 최소화하여 효율적으로 응용할 수 있을 것으로 예상된다. 또한 coenzyme Q₁₀은 물

에 녹지 않는 물질로 구조적 특성상 소수성기가 대부분을 차지하여 용해도가 낮은 문제점을 가지고 있다. 따라서 스포츠 드링크 큰 건강 드링크 등의 음료 제품에 첨가할 경우에는 용해도를 높이는 것이 중요하다(12). 생체이용율은 액제 > 현탁제 > 경질캡셀제 > 압축정제 > 코팅정제 순으로 감소하고 그에 따라 난용성 약물의 생체이용율을 높이기 위해서는 액상제제가 바람직한 제형으로 기대되고 있다(13). 그러므로 coenzyme Q₁₀의 용해도증가에 따라 생체이용개선을 함께 기대할 수 있으며, 다양한 생리활성을 갖춘 기능성 소재인 coenzyme Q₁₀을 지금까지는 주로 의약품이나 화장품 산업에서 주로 이용되어 왔으나 불안정한 열 안정성, 낮은 용해도와 생체이용율 개선을 통하여 다양한 제형으로 식품뿐만 아니라 건강기능식품 산업 발전이 기대된다. Coenzyme Q₁₀의 수용화 및 안정성개선과 더불어 생체이용율을 높이는 방법은 크게 3가지로 나눌 수 있다.

첫째, 유화제를 사용하여 에멀전을 제조하는 방법이다. 에멀전은 2개 또는 그 이상의 섞이지 않는 액체를 혼합하여 안정한 유화액을 만드는 작업이다. 이러한 에멀전을 제조하기 위해선 유화제가 필요하다. 유화제는 한 분자내에 친수성과 소수성 기를 모두 가져야 한다(14). 난용성 물질은 마이크로 또는 나노 에멀전으로 제조함으로써 분산안정성을 개선시킬 수 있으며 생체이용율 개선에 도움을 줄 수 있다(15,16). Coenzyme Q₁₀은 다양한 유화제와 균질기를 사용하여 용해도를 높이고 광, 열 안정성의 개선이 연구된 바 있다. 초고압 균질기를 이용하여 coenzyme Q₁₀ 나노 에멀전을 제조하여 안정성을 개선을 확인하였고(17) 또한 제조된 에멀전의 생체이용율 개선을 확인한 보고 있다(18-21).

*Corresponding author: Jae-Kag Lim, Department of Biological Science and Chemical Technology, 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 June 9, 2013; revised November 19, 2013; accepted December 14, 2013

둘째, cyclodextrin 복합체를 형성하는 방법이다. Cyclodextrin은 전분을 CGT-ase로 분해하여 얻은 cyclic oligosaccharides로서 glucopyranose분자가 α -1,4결합을 한 환상의 구조물이다(22). 이러한 환상의 구조물은 외부는 친수성을 나타내고, 내부는 C-H와 글루코시드 산소만이 존재하여 소수성을 나타낸다. 따라서 cyclodextrin 분자 내 소수성 공동에 불안정한 구조를 갖고 있는 각종 소수성 화합물을 포접시켜 포접복합체를 형성할 수 있다고 하였다(23). 이렇게 포접된 복합체는 식품산업에서 다양하게 응용된다. Cyclodextrin으로 난용성 기능성원료 및 의약품과 복합체를 형성하여 용해도개선 및 생체이용을 개선을 확인하였다(24-27). Coenzyme Q₁₀은 이미 cyclodextrin으로 포접하여 복합체를 형성하는 선행연구가 진행되었다. Lutka와 Pawlaczyk는 coenzyme Q₁₀을 다양한 cyclodextrin으로 포접하였고, 복합체의 안정성 및 용해도를 분석하였다. 또한 coenzyme Q₁₀의 경우 구조상 큰 잔기를 포함하고 있기 때문에 포접할 수 있는 내부공동이 가장 큰 γ -cyclodextrin이 복합체를 형성할 수 있는 확률이 가장 크기 때문에 coenzyme Q₁₀과 복합체를 형성함에 있어 가장 유리할 것이라고 보고하였다(28-31). 뿐만 아니라 coenzyme Q₁₀-cyclodextrin 복합체를 제조후 복합체의 용해도, 열 및 광 안정성 개선, 생체이용을 개선을 보고한바 있다(32-35).

셋째, starch 복합체를 형성하는 방법이다. Starch내의 amylose는 나선구조를 통해 복합체를 형성할 수 있으며 나선의 외부는 α -1,4 glucose chain의 glucosyl hydroxyl 기가 존재하며 내부는 소수성 물질과 복합체 형성이 가능한 glycosidic oxygens, methylene 기와 같은 hydrophobic 기가 있다(34). 복합체는 난용성 분자를 물에 분산시켜 분산액을 제조할 수 있다(36-40). Kim 등(41)은 starch와 dextrin으로 coenzyme Q₁₀ 분산액을 제조하였으며 제조된 분산액은 nano particle로 3주 동안 안정하였다. 또한 산소에 민감하여 산화에 의해 부정적인 영향을 받는 향료 및 기능성 원료를 보호할 수 있다(42,43).

현재까지 coenzyme Q₁₀은 다양한 측면에서 난용성, 낮은 생체이용율을 개선하기 위한 연구가 진행되었다. 그 중 가장 흔히 사용하는 방법이 첫번째 방법으로 제시된 유화제를 사용하는 방법이다. 하지만 유화제는 식품 첨가물로 분류된다. Lee 등(44)은 식품첨가물은 인체에 해가 없는 것만으로 허가가 되지만 대개 화학적으로 합성된 화학적 합성품으로 식품의 안정성과 관련하여 식품첨가물의 남용이 독을 만들 수 있으므로 이를 과량 섭취할 경우 유독하다고 보고하였다.

따라서 본 연구에서는 유화제의 사용 없이 coenzyme Q₁₀의 수용화 및 생체이용율을 개선시킬 수 있는 cyclodextrin 복합체와 starch 복합체를 비교하고자 하며 산업적 응용성, 제품 적용 및 제형 선택에 중요한 척도인 용해도를 온도에 따라 비교하였고 그에 따른 두 복합체의 용해도 차이를 구조적 측면에서 원인을 찾고자 FT-IR, XRD, DSC를 이용하여 구조적 특성을 분석하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 연구에 사용한 host compound는 내부공동이 가장 크기 때문에 큰 잔기를 포함하고 있는 coenzyme Q₁₀을 포접하여 복합체를 형성할 수 있는 확률이 가장 크다고 보고된 선행연구 결과에 따라 γ -cyclodextrin을 선정한 뒤 coenzyme Q₁₀과 복합체 형성을 유도하였으며, γ -cyclodextrin (r -100, 98% 이상)은 Ensuiko sugar refining Co., Ltd. (Yokohama, Kanagawa, Japan)에서 생산된 제품을 사용하였고 high amylomaize starch (HylonVII, 70% amylose)

는 National Starch and Chemical Company (Bridgewater, NJ, USA)에서 생산된 제품을 사용하였다. Guest compound인 coenzyme Q₁₀ (Kaneka Q₁₀, 98% 이상)은 Kaneka Co., (Osaka, Japan)에서 생산된 제품을 사용하였다.

Coenzyme Q₁₀-cyclodextrin 복합체제조

Coenzyme Q₁₀-cyclodextrin 복합체는 Fir 등(33)의 방법을 응용하여 제조하였다. Cyclodextrin 7.5 g을 증류수 15 mL에 녹여 80°C에서 30분간 보관한 후 cyclodextrin과 1:1 molar 비율에 해당하는 coenzyme Q₁₀ 4.983 g을 첨가하고 고속균질기(T25 Digital, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany)를 활용하여 10,000 rpm, 30초간 처리하였다. 보다 견고한 복합체를 형성하기 위하여 복합체 용액을 25°C에서 24시간 보관하였고, free 상태의 coenzyme Q₁₀과 cyclodextrin을 제거하기 위해서 고속원심분리기(5,000×g, 10 min, 4°C)를 이용하여 n-hexane으로 두 번 세척하고 증류수로 한 번 세척한 뒤 가라앉은 침전물을 55°C, 24시간 건조하였다. 건조된 복합체는 100 μ m 체를 사용하여 분말화된 복합체를 얻었다.

Coenzyme Q₁₀-starch 복합체제조

Coenzyme Q₁₀-starch 복합체는 Kim 등(41)의 방법을 응용하여 제조하였다. 전처리를 통해 지방이 제거된 starch (HylonVII) 500 mg을 1 M NaOH 6 mL에 용해한 후 증류수 38 mL로 희석하고, 1 M HCl로 중화시킨 다음 산화방지를 위하여 질소가스를 5분 동안 주입 후 고압멸균기를 이용하여 121°C에서 20분 동안 처리하였다. 이 starch 용액에 coenzyme Q₁₀ 150 mg을 넣고 고속균질기를 10,000 rpm, 30초 처리하고 70°C에서 12시간 교반한 다음 다시 6시간 교반하면서 천천히 냉각한다. 냉각한 용액은 동결건조하고 건조된 복합체는 100 μ m 체를 사용하여 분말화된 복합체를 얻었다.

온도에 따른 coenzyme Q₁₀ 용해도 비교

분말화된 복합체 1 g을 증류수 50 mL에 넣고 25, 37, 50 및 80 °C에서 185 rpm으로 shaking하며 12시간 처리후 용해되지 않은 복합체와 용출된 coenzyme Q₁₀을 글라스 필터(G2, 40-100 μ m)를 이용하여 제거하였고 여과된 용액내의 coenzyme Q₁₀ 용해도를 분석하였다.

Coenzyme Q₁₀ 분석

Coenzyme Q₁₀ 용해도는 여과액 중 5 mL을 취하여 동결건조하고 건조된 복합체내의 coenzyme Q₁₀의 함량을 정량하였다. 건조된 복합체내에서 coenzyme Q₁₀을 추출하기 위하여 N,N-methyl-formamide 5 mL에 건조된 복합체를 용해후 60°C에서 1시간 초음파 처리하였다. 추출된 coenzyme Q₁₀ 용액은 0.45 μ m filter로 여과후 HPLC (Jasco Co., Tokyo, Japan)로 정량분석 하였다. HPLC 조건은 Table 1에 나타내었다.

FT-IR

FT-IR spectrophotometer (Spectrum GX1, Perkin Elmer Co., Norwalk, CT, USA)를 이용하여 복합체의 형성 유무와 coenzyme Q₁₀-cyclodextrin 복합체, coenzyme Q₁₀-starch 복합체의 구조적 특성을 비교하였다. 복합체의 형성유무는 물리적 혼합물, host compound, guest compound와 비교를 통해 확인하였다. 분석조건은 각각의 sample 1.5 mg을 300 mg의 KBr과 고르게 혼합하여 disk를 제조하였다. 제조된 disk는 4000-400×10⁻¹ cm 조건에서 분석하였다.

Table 1. The operating conditions of HPLC for coenzyme Q₁₀

Parameters	Conditions
Instrument	HPLC (high performance 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	275 nm

XRD

X-선 회절 패턴을 통해 복합체의 결정성을 확인하기 위하여 X-ray diffractometer (SXV-090A, XAVIS Co., Ltd., Seongnam, Korea)를 이용하였다. Target은 Cu-Kα로 voltage 40 kV, current 30 mA로 작동하였고, 회절 각도는 2-30° (2θ)로 스캔 속도는 1.0°/min으로 측정하였다.

DSC

복합체의 열적특성을 알아보기 위하여 시차주사열량계(Auto-MDSC Q2000, TA Instruments, New Castle, DE, USA)로 분석하였다. 각각의 sample 2 mg을 알루미늄 팬에 담아 밀봉하여 분석하였다. Calibration을 위한 baseline과 reference로서 빈 팬을 이용하였다. 분석조건은 25°C에서 250°C까지 5°C/min의 속도로 가열하면서 복합체의 열적거동을 확인하였다.

In vitro 소화 방출 패턴

In vitro 소화 방출 패턴은 Yoo(45)의 *in vitro* simulated digestion model을 응용하였다. 구강, 위장 및 소장 에 대한 효소는 α-amylase, pepsin, pancreatin을 사용하였다. 효소를 처리한 simulation solution과 효소를 처리하지 않은 control solution을 제조하여 효소에 의한 coenzyme Q₁₀의 방출량을 분석하였다. 제조된 각각의 solution 1 mL을 sample 10 mg에 각각 용해하여 37°C에서 구강조건은 30분, 위장·소장 조건은 2시간 반응하였다. 반응 후 원심분리(4000×g, 20 min)하여 침전물을 회수하고 동결건조 하였다. 건조된 침전물내의 coenzyme Q₁₀의 함량을 HPLC를 이용하여 정량분석 하였다.

방출량(%)=(초기복합체내의 coenzyme Q₁₀ (mg)-침전된 복합체 내의 coenzyme Q₁₀ (mg)/초기복합체내의 coenzyme Q₁₀ (mg)×100

- 구강조건: α-amylase solution은 pH 7.0의 1 mM CaCl₂ 25 mL에 α-amylase (Sigma A4551, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 32.5 mg을 용해하였다.

- 위장조건: pepsin solution은 pH 2.0의 0.1 N HCl 20 mL에 pepsin (Sigma P7000, Sigma-Aldrich) 0.01 g을 용해하였다.

- 소장조건: pancreatin solution은 pH 7.5의 0.1 M NaHCO₃ 25 mL에 pancreatin (Sigma P7545, Sigma-Aldrich) 0.1 g과 bile salts (Sigma 48305, Sigma-Aldrich) 0.625 g을 용해하였다.

통계분석

본 연구의 실험결과는 최소 3반복을 실시한 평균값과 표준편차로 나타내었다. 실험결과에 대한 유의차 검정은 SAS (Statistical analytical system version 9.1, SAS Institute Inc. Cary, NC, USA) 이용하여 평균값과 표준편차를 토대로 Duncan의 다중범위

시험법(Duncan's multiple range test)을 실시하여 통계적 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰**복합체 제조**

Cyclodextrin과 coenzyme Q₁₀은 복합체를 형성한다고 이미 연구되었다(28-34). 본 연구는 선행연구를 통해 γ-cyclodextrin으로 cyclodextrin을 선택한 뒤 coenzyme Q₁₀과 복합체 형성을 유도하였으며 그 결과를 사진으로 나타내었다(Fig. 1). Cyclodextrin만 처리한 경우(Fig. 1a)에서는 cyclodextrin이 물에 녹아 투명한 색으로 나타난 것을 확인하였다. 하지만 coenzyme Q₁₀만 처리한 경우(Fig. 1b)에서는 coenzyme Q₁₀이 물에 녹지 않고 위에 뜨는 양상을 확인하였다. 그에 비해 cyclodextrin solution에 coenzyme Q₁₀을 첨가하여 고속 균질화한 경우(Fig. 1c)에서는 노란색의 paste가 형성되어 복합체가 견고하게 형성되었음을 확인하였다. 노란색 균질화된 paste를 통해 cyclodextrin과 coenzyme Q₁₀이 복합체를 형성하였음을 확인할 수 있었다. 이는 Fir 등(33)이 80°C에서 cyclodextrin과 coenzyme Q₁₀이 노란색의 paste를 형성할 때까지 교반하는 방법을 제시하였기 때문에 노란색의 paste를 형성한다면 복합체가 형성되었다고 판단할 수 있다.

Kim 등(41)은 지방이 제거된 Hylon VII과 가수분해한 텍스트린으로 coenzyme Q₁₀과 반응하여 nano dispersion을 형성한다고 보고하였다. Starch 복합체의 형성유무는 Fig. 2에 나타내었다. Starch만 복합체 제조공정과 동일하게 처리한 경우에서는 starch가 완전히 풀어진 것을 확인할 수 있으며(Fig. 2a), coenzyme Q₁₀만 처리한 경우에는 coenzyme Q₁₀이 물에 녹지 않은 것을 확인할 수 있다(Fig. 2b). 그에 비해 starch solution에 coenzyme Q₁₀을 반응시킨 경우에는 노란색의 현탁액이 나타나면서 복합체가 형성된 것을 확인할 수 있다(Fig. 2c). 따라서 starch와 coenzyme Q₁₀이 복합체를 형성하였음을 사진을 통해 확인가능하다. 또한 형성된 복합체의 형상은 Kim 등(41)의 복합체 형성과 비슷한 결과를 나타내었다.

이렇게 형성된 cyclodextrin 복합체와 starch 복합체를 분말화하여 용해도 및 구조적 특성을 분석하였다.

온도에 따른 복합체의 용해 형상

증류수 50 mL에 용해된 복합체의 형상을 Fig. 3에 나타내었다. 복합체를 증류수에 용해후 미처 용해되지 못하고 가라앉은 복합체와 용해과정에서 복합체의 붕괴가 일어나 coenzyme Q₁₀이 용출되어 물 위에 뜨는 양상을 확인하였다. 하지만 여과과정을 거쳐 가라앉은 복합체와 뜨는 coenzyme Q₁₀을 제거할 수 있다. Starch 복합체는 온도가 증가 할수록 가라앉은 복합체의 함량이 감소하는 것을 확인하였다. 이는 온도가 증가할수록 복합체의 용해도가 증가하여 미처 용해되지 못하고 가라앉은 복합체가 감소하는 것으로 사료된다. 하지만 cyclodextrin 복합체는 25°C에서 37°C로 온도가 증가할 경우 가라앉은 복합체의 함량이 감소했으나 50°C로 온도가 증가했을 경우 오히려 가라앉은 복합체의 함량이 크게 증가하는 것을 확인하였다. 이는 coenzyme Q₁₀의 melting point인 50°C 부근에서 복합체의 aggregation이 일어나 대부분의 복합체가 가라앉은 것으로 사료된다. 또한 80°C에선 복합체내의 결합이 약해짐에 따라 coenzyme Q₁₀ 용출이 일어나 물 위에 뜨는 것을 확인하였다. 따라서 cyclodextrin 복합체는 열에 대한 안정성이 starch 복합체 보다 떨어지는 것으로 사료된다. 이렇게 여과된 용액내의 복합체 용해도와 coenzyme Q₁₀ 용해도를

Fig. 1. Appearance of controls and coenzyme Q₁₀-cyclodextrin complex. (a) cyclodextrin alone, (b) coenzyme Q₁₀ alone, (c) coenzyme Q₁₀ complex paste prepared with cyclodextrin

Fig. 2. Appearance of controls and coenzyme Q₁₀-starch complex. (a) cyclodextrin alone, (b) coenzyme Q₁₀ alone, (c) coenzyme Q₁₀ complex paste prepared with cyclodextrin

각각 분석하였다.

온도에 따른 coenzyme Q₁₀ 용해도

복합체내의 coenzyme Q₁₀의 용해도 결과를 Fig. 4에 나타내었다. Starch 복합체는 온도가 증가함에 따라 coenzyme Q₁₀ 용해도가 증가하여 80°C에서 최대의 용해도를 보였다. 이는 Fig. 3에서 확인된 것처럼 용해되지 못하고 가라앉은 복합체의 함량이 감소하는 양상과 같은 결과라고 할 수 있겠다. 그에 비해 cyclodextrin 복합체는 37°C에서 최대 용해도를 보였으며 50°C에서 용해도가 크게 감소하는 것을 확인하였다. 이는 50°C에서 aggregation이 일어남에 따라 대부분의 복합체가 응집되기 때문에 용해도가 크게 감소하는 것으로 사료된다. 또한 복합체의 붕괴가 일어나는 80°C에서 coenzyme-Q₁₀ 용해도가 증가하는 원인은 복합체에서 용출된 free 상태의 coenzyme Q₁₀과 free 상태의 cyclodextrin이 재반응 하면서 물에 용해된 coenzyme Q₁₀의 함량이 증가하는 것으로 사료된다. Starch 복합체는 용해온도가 증가할수록 복합체 및 복합체내의 coenzyme Q₁₀의 용해도가 유의적으로 증가하는데 비해 cyclodextrin 복합체는 37°C에서 coenzyme Q₁₀의 최대 용해도를 보였으며 이후 50°C에서는 강하게 aggregation이 일어났으며 80°C에서는 약해진 결합에 의해 복합체가 깨짐으로써 coenzyme Q₁₀이 물 위에 뜨는 현상을 나타내었다. 따라서 starch 복합체에 비해 cyclodextrin 복합체는 열안정성이 낮으며 그에 따라 용해도 역시 낮은 것으로 사료된다. 본 실험에 제조된 cyclodextrin 복합체와 starch 복합체는 다른 양상의 용해 특성을 보였으며 이는 복

Fig. 3. Appearance of complexes at different temperature conditions. ¹⁾CC is coenzyme Q₁₀-cyclodextrin complex, SC is coenzyme Q₁₀-starch complex

합체의 열안정성 차이에 의해 나타난 것으로 사료된다.

Coenzyme Q₁₀ 및 복합체의 용해도 정량 결과를 Table 2에 나타내었다. Lutka 등(30)은 coenzyme Q₁₀-cyclodextrin 복합체를 각각 55, 60, 65°C에서 제조한 결과 65°C에서 제조된 복합체내의 coenzyme Q₁₀ 용해도가 약 6 µg/mL로 가장 높았다고 보고하였다. 하지만 본 연구에서 용해된 coenzyme Q₁₀의 함량은 cyclodextrin 복합체의 경우 최대 용해도를 보인 37°C에서 0.04 g/50 mL로 가장 높았으며 이는 1 mL에 용해된 coenzyme Q₁₀의 함량이 약 1.6

Table 2. Solubility of host compound, coenzyme Q₁₀ and complex in the form of coenzyme Q₁₀-cyclodextrin complex and coenzyme Q₁₀-starch complex at various temperature (Unit: g/50 mL)

	CC ¹⁾			SC		
	Cyclodextrin	Coenzyme Q ₁₀	Complex	Starch	Coenzyme Q ₁₀	Complex
25°C	0.10±0.02 ^a	0.02±0.01 ^a	0.12±0.03 ^a	0.36±0.01 ^a	0.02±0.00 ^a	0.38±0.02 ^a
37°C	0.19±0.03 ^b	0.04±0.01 ^b	0.23±0.04 ^b	0.37±0.02 ^a	0.02±0.00 ^a	0.39±0.02 ^a
50°C	0.25±0.03 ^c	0.02±0.00 ^a	0.27±0.04 ^b	0.43±0.00 ^b	0.06±0.00 ^b	0.50±0.00 ^b
80°C	0.68±0.00 ^d	0.03±0.01 ^{ab}	0.71±0.01 ^c	0.67±0.02 ^c	0.08±0.00 ^c	0.75±0.02 ^c

¹⁾CC is coenzyme Q₁₀-cyclodextrin complex, SC is coenzyme Q₁₀-starch complex.

^{a-d}Means with different letters within columns are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Fig. 4. Water solubility of complexes on the coenzyme Q₁₀-cyclodextrin complex (●) and coenzyme Q₁₀-starch complex (○) at various temperatures.

Fig. 5. Effect of temperature on coenzyme Q₁₀ solubility of coenzyme Q₁₀-cyclodextrin complex (●) and coenzyme Q₁₀-starch complex (○) at various temperatures.

mg이므로 선행연구의 복합체보다 약 266배 이상의 용해도를 보이는 것으로 사료된다. Starch 복합체는 80°C에서 0.08 g/50 mL로 cyclodextrin 복합체내에 용해된 함량보다 높게 나타났다. 50 mL에 최대 용해된 coenzyme Q₁₀의 함량이 0.08 g로 다소 낮아 보일 수 있으나 식약청에서 권장하는 coenzyme Q₁₀의 일일 섭취량이 성인 기준 0.1 g임을 감안한다면 100 mL에 용해될 coenzyme Q₁₀의 함량은 0.16 g으로 일일 섭취량 이상의 함량이기 때문에 starch 복합체는 유화제의 첨가 없이 기능성 음료로 활용 가능성이 높다고 사료된다. 이러한 두 복합체의 열안정성 차이뿐 만 아니라 온도에 따른 용해도의 차이는 구조적 특성에 비롯되기 때문에 두 복합체의 구조적 특성을 비교하였다.

복합체의 적외선 분광 분석

Coenzyme Q₁₀은 크게 C=O와 C=C의 benzoquinone ring (1400-1700×10⁻¹ cm)과 isoprenoid chain인 C-H 영역(2,800-3,000×10⁻¹ cm)으로 나타난다. 또한 1451×10⁻¹ cm에서 C-H bending vibration band, 1,600-1,700×10⁻¹ cm에서 carbonyl band 그리고 2,800-3,000×10⁻¹ cm에서 C-H stretching 복합체영역을 포함하고 있다. Coenzyme Q₁₀은 cyclodextrin, starch와 복합체를 형성함에 따라 고유 밴드의 변화를 가지고 온다(28-31,34).

Cyclodextrin과 coenzyme Q₁₀을 막자로 갈아 혼합시킨 물리적 혼합물(Fig. 5c)에 비해 cyclodextrin 복합체(Fig. 5d)는 2,800-3,000×10⁻¹ cm 영역에서 차이를 가지고 있다. 물리적 혼합물은 2,900-2,950×10⁻¹ cm 영역 내에 두개의 peak가 존재하는데 반해 복합체는 두개의 peak가 하나의 peak로 합쳐졌고 intensity가 증

가하는 것을 확인하였다. 이는 Fir 등(33)의 보고와 동일한 결과를 나타내었다. 하지만 benzoquinone ring 영역의 밴드 형태나 intensity의 차이는 나타나지 않았다. 따라서 본 연구에서 제조된 cyclodextrin 복합체는 cyclodextrin cavity 내에 coenzyme Q₁₀의 benzoquinone ring이 아닌 isoprenoid chain 영역이 포접되어 있는 것으로 사료된다.

Starch와 coenzyme Q₁₀ 물리적 혼합물(Fig. 5a)에 비해 starch 복합체(Fig. 5b)는 2,800-3,000×10⁻¹ cm, 1,600-1,700×10⁻¹ cm 영역에서 차이를 가지고 있다. starch 물리적 혼합물은 2,900-2,950×10⁻¹ cm 사이의 두개의 peak가 존재하나 starch 복합체는 두개의 peak가 하나로 합쳐지고 intensity가 증가하였다. 또한 1,600-1,700×10⁻¹ cm 영역의 밴드 intensity가 물리적 혼합물에 비해 현저히 감소하는 것을 확인하였다. 이는 물리적 혼합물에 비해 복합체가 starch 나선 구조에 더 많이 포접되어 있다고 할 수 있다. 따라서 coenzyme Q₁₀은 starch와 복합체를 형성하였고 형성된 복합체는 coenzyme Q₁₀의 benzoquinone ring과 isoprenoid chain 영역 모두 나선에 의해 포접 되어 있음을 확인하였다.

따라서 coenzyme Q₁₀은 cyclodextrin, starch와 각각 복합체 형성할 수 있다. 하지만 starch 복합체는 cyclodextrin 복합체에 비해 coenzyme Q₁₀ 고유 밴드의 intensity가 현저하게 감소된 것을 확인할 수 있었다. Cyclodextrin 복합체는 starch 복합체에 비해 coenzyme Q₁₀이 host compound 내부에 포접 되는 영역이 좁은 것으로 사료된다. 이는 cyclodextrin은 cavity의 영역이 한정되어 있어 그 내부에 coenzyme Q₁₀ 특히 benzoquinone ring을 포접하기에는 한계가 있다. 하지만, starch는 나선형으로 coenzyme Q₁₀

Fig. 6. IR spectra of coenzyme Q₁₀-starch physical mixture (a), coenzyme Q₁₀-starch complex (b), coenzyme Q₁₀-cyclodextrin physical mixture (c), coenzyme Q₁₀-cyclodextrin complex (d), pure coenzyme Q₁₀ (e), pure γ -cyclodextrin (f), pure starch (g).

을 포접하기 때문에 benzoquinone ring 영역뿐만 아니라 isoprenoid chain 영역도 나선 형태로 감싸져 있는 것으로 사료된다. 이를 토대로 앞선 용해도 연구에서 cyclodextrin 복합체가 50°C에서부터 크게 aggregation이 일어나고 80°C에서 복합체가 깨져 coenzyme Q₁₀이 위에 뜨는 현상은 cyclodextrin이 coenzyme Q₁₀의 isoprenoid chain을 주로 포접하기 때문에 쉽게 빠져 나올 수 있는 것으로 사료된다. 그에 비해 starch 복합체는 benzoquinone ring과 isoprenoid chain에 걸쳐 포접되어 있기 때문에 안정성이 높은 것으로 연관 지을 수 있다.

복합체의 결정 특성

Coenzyme Q₁₀의 XRD 패턴은 $2\theta=19^\circ, 23^\circ$ 에서 강한 peak를 확인하였다. Cyclodextrin 복합체(Fig. 6c)는 coenzyme Q₁₀ 고유의 결정 피크 intensity가 감소하는 반면 7, 14-17° 등에서 추가적인 피크가 새롭게 발견 되었는데 이것은 coenzyme Q₁₀과 cyclodextrin이 복합체를 형성하여 새로운 결정구조를 나타낸 것으로 사료된다. 하지만 물리적 혼합물(Fig. 6b)은 cyclodextrin과 coenzyme Q₁₀의 결정 패턴이 공존하며 coenzyme Q₁₀의 결정성이 크게 감소하는 것으로 확인하였다. 이는 Higashi 등(34)의 연구결과와 비슷한 결과이다.

복합체 제조에 사용된 starch는 lipid-amylose 복합체내의 lipid를 제거하는 전처리 과정을 거치고 그 과정에서 starch는 무정형으로 존재하기 때문에 XRD 패턴에서 결정성의 peak가 나타나지 않았다(Fig. 6g). Starch 복합체(Fig. 6f)는 cyclodextrin 복합체와 동일하게 coenzyme Q₁₀ 고유의 결정 피크 intensity가 감소하게 나타났다. 반면 물리적 혼합물(Fig. 6e)은 coenzyme Q₁₀ 고유의 결정 피크 intensity가 복합체에 비해 크며 그 외 다른 부분에서 coenzyme Q₁₀의 남은 peak를 확인하였다.

따라서 두 복합체 모두 coenzyme Q₁₀에 비해 결정성이 감소하였으나 starch 복합체는 cyclodextrin 복합체보다 결정성이 크게 낮은 것으로 확인하였다. 이는 starch 복합체가 coenzyme Q₁₀의 결정성을 더 크게 감소시키기 때문에 cyclodextrin 복합체에 비해 용해도가 높은 것으로 연관 지을 수 있다.

Fig. 7. X-ray diffractometry patterns of pure coenzyme Q₁₀ (a), coenzyme Q₁₀-cyclodextrin physical mixture (b), coenzyme Q₁₀-cyclodextrin complex (c), pure γ -cyclodextrin (d), coenzyme Q₁₀-starch physical mixture (e), coenzyme Q₁₀-starch complex (f), pure starch (g).

복합체의 열적 특성

Pure coenzyme Q₁₀ (Fig. 7g)은 50°C 부근에서 melting point를 확인하였다. 이는 Lutka 등(30)과 동일한 결과이다. Pure γ -cyclodextrin (Fig. 7b)은 300°C 이상에서 열분해가 일어난다고 알려져 있으며 100°C 부근의 흡열 peak는 cyclodextrin cavity 내부의 수분에 의해 나타난 것으로 사료된다. Cyclodextrin 물리적 혼합물(Fig. 7e)는 cyclodextrin 복합체(Fig. 7c)에 비해 coenzyme Q₁₀ 용융 peak의 넓이가 넓은 것을 확인하였다. 또한 복합체에서 확인되는 coenzyme Q₁₀ 용융 peak는 cyclodextrin과 약하게 결합된 coenzyme Q₁₀이 용융되면서 나타나는 용융 peak라 사료된다. 또한 cyclodextrin 복합체는 235°C 부근에서 새로운 용융 피크를 나타내었다. 이는 앞선 결정 구조에서 복합체를 형성함에 따라 새로운 결정구조를 형성한 것에 대한 새로운 용융 피크로 사료된다.

Starch 복합체(Fig. 7d)도 마찬가지로 coenzyme Q₁₀의 용융 peak가 물리적 혼합물(Fig. 7f)에 비해 감소하는 것으로 확인하였다. Amylose와 소수성 리간드가 단일 나선 구조를 이룰 경우 흔히들 V-amylose 복합체라 불리우며 이는 120°C 부근에서 복합체 고유의 용융 peak가 나타난다고 보고된바 있다(46-48). 하지만 본 연구에서 제조된 starch 복합체는 XRD 패턴에서 보았듯이 V6 패턴을 나타내지 않았고 120°C 부근에서 용융 피크가 나타나지 않았다. 따라서 제조된 starch 복합체는 coenzyme Q₁₀ 한 분자에 amylose가 단일나선 형성을 하는 것이 아니라 연속적으로 amylose가 포접되는 것으로 사료된다. 따라서 복합체의 용융 peak를 확인할 수 없었다.

DSC 분석 결과 두 복합체 모두 복합체를 형성함에 따라 coenzyme Q₁₀의 무정형영역이 증가하는 것을 확인하였다. 두 복합체의 구조적 차이를 FT-IR, XRD, DSC를 통하여 확인한 결과 cyclodextrin 복합체는 coenzyme Q₁₀의 isoprenoid chain에 주로 포접이 되어 있는데 반해 starch 복합체는 coenzyme Q₁₀의 isoprenoid chain 뿐만 아니라 benzoquinone ring에도 포접되어 있는 것을 확인 하였으며 또한 starch 복합체가 cyclodextrin 복합체에 비해 coenzyme Q₁₀ 무정형영역이 더 크게 증가되어 있는 것을 확인하였다. 이는 starch 복합체가 cyclodextrin 복합체보다 열 안

Fig. 8. DSC thermograms of pure starch (a), pure γ -cyclodextrin (b), coenzyme Q_{10} -cyclodextrin complex (c), coenzyme Q_{10} -starch complex (d), coenzyme Q_{10} -cyclodextrin physical mixture (e), coenzyme Q_{10} -starch physical mixture (f), pure coenzyme Q_{10} (g).

정성 및 용해도가 높은 원인으로 사료된다.

In vitro 소화 방출 패턴

Cyclodextrin은 이미 안전한 약물 전달 캐리어로 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(49). 또한 coenzyme Q_{10} 와 γ -cyclodextrin으로 제조된 복합체를 가지고 *in vitro*, *in vivo* 실험을 통해 생체이용률 개선이 확인된바 있다(34,35). 본 연구의 cyclodextrin 복합체는 구강 조건에서 control solution에서 방출된 양(8.4%)과 α -amylase가 첨가된 simulation solution에서 방출된 양(10%)의 차이는 약 1.6%로 유의적 차이를 보이지 않았고 위장 조건에서는 control solution에서 방출된 양(11.3%)과 pepsin이 첨가된 simulation solution에서 방출량(8.6%)도 유의적 차이가 나타나지 않았다. 소장 조건에서는 control solution에서 방출된 양(55%)에 비해 pancreatin이 첨가된 simulation solution에서 방출된 양(90.7%)이 약 35% 높게 나타나 유의적으로 크게 증가 하는 것을 확인하였다(Fig. 8). Cyclodextrin 복합체는 구강 조건의 α -amylase와 위장 조건의 pepsin 효소에 비해 소장 조건의 pancreatin 효소에 의해 복합체내 coenzyme Q_{10} 의 용출이 큰 것으로 확인하였다.

Starch 복합체는 불안정한 생리활성 물질을 섭취 시 위 환경에서 생리활성을 잃지 않도록 보호 하고 이를 소장에서 효소 분해 작용에 의해 방출 될 수 있다고 하였으며 이는 기능성식품이나 제약 산업에서 delivery system의 개발에 사용될 수 있을 것을 기대하였다(50-53). 이에 따라 starch 복합체도 cyclodextrin 복합체와 비슷한 결과를 보였다. 구강 control solution에서 방출된 양(23.6%)과 α -amylase가 첨가된 simulation solution에서 방출된 양(28.2%)은 유의적 차이를 보이지 않았고 위장 조건에서는 control solution에서 방출된 양(24.2%)과 pepsin이 첨가된 simulation solution에서 방출량(23.3%)도 유의적 차이가 나타나지 않았다. 소장 조건에서는 control solution에서 방출된 양(53.6%)에 비해 pancreatin이 첨가된 simulation solution에서 방출된 양(92.9%)이 약 40% 높게 나타나 유의적으로 크게 증가 하는 것을 확인하였다(Fig. 9). Starch 복합체도 구강 조건의 α -amylase와 위장 조건의 pepsin 효소에 비해 소장 조건의 pancreatin 효소에 의해 복합체 내 coenzyme Q_{10} 의 용출이 효과적인 것으로 확인하였다.

In vitro simulated digestion model을 통하여 각 소화기관 별 복합체의 방출 패턴을 확인 한 결과 두 복합체 모두 구강, 위장의

Fig. 9. Release profiles of coenzyme Q_{10} from coenzyme Q_{10} -cyclodextrin complex in various *in-vitro* digestion models. ■, control solution; □, simulation solution. Values are the means of triplicate $\pm$ SD; Means with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Fig. 10. Release profiles of coenzyme Q_{10} from coenzyme Q_{10} -starch complex in various *in-vitro* digestion models. ■, control solution; □, simulation solution. Values are the means of triplicate $\pm$ SD; Means with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

효소 및 조건에 비해 소장의 효소와 조건에서 유의적으로 크게 coenzyme Q_{10} 의 방출이 확인되었다. 따라서 복합체의 체내섭취 시 위장의 낮은 pH에 coenzyme Q_{10} 의 생리활성을 잃지 않고 소장에서 안정적으로 흡수 가능 할 것으로 사료된다.

본 연구에서 제조된 cyclodextrin 복합체와 starch 복합체는 모두 구강과 위장 조건에서 효소에 의해 coenzyme Q_{10} 의 방출량이 낮은 반면 소장 조건에서 효소에 의한 방출율이 90%로 높았다. 따라서 coenzyme Q_{10} 은 cyclodextrin, starch와 포접되어 복합체를 형성함으로써 α -amylase와 pepsin이 포함된 pH 2의 산성 조건에서도 coenzyme Q_{10} 의 보호할 수 있고 그에 따라 복합체가 소장에서 pancreatin에 의해 분해되어 coenzyme Q_{10} 이 소장에서 활성을 잃지 않고 안정하게 흡수 될 수 있기 때문에 생체이용률의 향상을 기대할 수 있다.

요약

본 실험에서는 coenzyme Q₁₀을 cyclodextrin, starch를 이용하여 각각 복합체를 형성하고 형성된 복합체의 용해도 및 구조적 특성을 확인하였다. Starch 복합체는 용해 온도가 증가할수록 복합체 및 복합체내의 coenzyme Q₁₀의 용해도가 유의적으로 증가하는데 비해 cyclodextrin 복합체는 37°C에서 coenzyme Q₁₀의 최대 용해도를 보였으며 이후 50°C에서는 강하게 aggregation이 일어났고, 80°C에서는 약해진 결합에 의해 복합체가 깨짐으로써 coenzyme Q₁₀이 물 위에 뜨는 현상을 나타내었다. 두 복합체의 구조적 차이를 FT-IR, XRD, DSC를 통하여 확인한 결과 cyclodextrin 복합체는 coenzyme Q₁₀의 isoprenoid chain에 주로 포접이 되어 있는데 반해 starch 복합체는 coenzyme Q₁₀의 isoprenoid chain 뿐만 아니라 benzoquinone ring에도 포접되어 있는 것을 확인하였고, 또한 starch 복합체가 cyclodextrin 복합체에 비해 coenzyme Q₁₀ 무정형영역이 더 크게 증가되어 있는 것을 확인하였다. *In vitro* simulated digestion model을 통하여 각 소화기관 별 복합체의 방출 패턴을 확인 한 결과 두 복합체 모두 구강, 위장의 효소 및 조건에 비해 소장의 효소와 조건에서 유의적으로 크게 coenzyme Q₁₀의 방출이 확인되었다. 따라서 coenzyme Q₁₀은 cyclodextrin, starch와 포접되어 복합체를 형성함으로써 생체이용율의 향상을 기대할 수 있다.

References

- Ministry of Food and Drug Safety Health Functional Food Code. Available from: <http://www.mfds.go.kr/eng/index.do> Accessed Dec. 29, 2006.
- Lee SM. Study on the consumers' recognition of antioxidant health functional foods. MS thesis, ChungAng University, Seoul, Korea (2009)
- No KM, Leem DG, Kim MG, Park KS, Yoon TH, Hong J, Park SY, Jeong JY. Analysis of coenzyme Q₁₀ in dietary supplement by HPLC. J. Fd. Hyg. Safety 26: 12-15 (2011)
- Lee BJ, Huang YC, Chen SJ, Lin PT. Coenzyme Q₁₀ supplementation reduces oxidative stress and increases antioxidant enzyme activity in patients with coronary artery disease. Nutrition 28: 250-255 (2012)
- Kim JK, Roh SK. The effect of coenzyme Q₁₀ supplementation on oxidative stress index and antioxidant capacity in the elderly. Korean J. Exerc. Nutr. 13: 29-35 (2009)
- Kumar A, Kaur H, Devi P, Mohan V. Role of coenzyme Q₁₀ (CoQ₁₀) in cardiac disease, hypertension and meniere-like syndrome. Pharmacol. Ther. 124: 259-268 (2009)
- Littarru GP, Langsjoen P. Coenzyme Q₁₀ and statins: biochemical and clinical implications. Mitochondrion 7: 168-174 (2007)
- Hargreaves IP, Lane A, Sleiman PMA. The coenzyme Q₁₀ status of the brain regions of parkinson's disease patients. Neurosci. Lett. 447: 17-19 (2008)
- Shults CW. Therapeutic role of coenzyme Q₁₀ in parkinson's disease. Pharmacol. Ther. 107: 120-130 (2005)
- Hickey MA, Zhu C, Medvedeva V, Franich NR, Levine MS, Chesselet MF. Evidence for behavioral benefits of early dietary supplementation with coenzyme Q₁₀ in a slowly progressing mouse model. Mol. Cell. Neurosci. 49: 149-157 (2012)
- Kumar P, Kumar P, Ram A, Kumar M, Kumar R. Coenzyme Q₁₀: a progress towards the treatment of neurodegenerative disease. OPEM 10: 239-253 (2010)
- Shim EJ, Noh BS. Possible application of coenzyme Q₁₀ in food industry. Food Sci. Indus. 39(1): 37-44 (2006)
- Hwang WS, Kwon KI, Bang KH. Enhanced bioavailability of itraconazole in liquid preparation. Yakhak Hoeji 44: 528-533 (2000)
- Cho YH, Shin DS, Park JY. Microencapsulation technology of food industry. Food Sci. Indus. 30(4): 98-111 (1997)
- Kim JS, Lee JY, Oh MH, Jo SD, Nam YS. Micelle and nanoemulsions for in vivo delivery of therapeutic and diagnostic agents. Polym. Sci. Technol. 23: 174-184 (2012)
- Cho WG. A recent research trends for food emulsions using pickering stabilization of nano-particles. J. Korean Oil Chemists Soc. 29: 238-247 (2012)
- Lim JS, Gang HJ, Yoon SW, Kim HM, Suk JW, Kim DU, Lim JK. Preparation and its stability of a coenzyme Q₁₀ nanoemulsion by high pressure homogenization with different valve type conditions. Korean J. Food Sci. Technol. 42: 565-570 (2010)
- Thanatukorn P, Kawai K, Hayakawa M, Hayashi M, Kajiura K. Improvement of the oral bioavailability of coenzyme Q₁₀ by emulsification with fats and emulsifiers used in the food industry. LWT-Food Sci. Technol. 42: 385-390 (2009)
- Choi CH, Kim SH, Shanmugam S, Baskaran R, Park JS, Yong CS, Choi HG, Yoo BK, Han K. Relative bioavailability of coenzyme Q₁₀ in emulsion and liposome formulations. Biomol. Ther. 18: 99-105 (2010)
- Carli F, Chiellini EE, Bellich B, Macchiavelli S, Cadelli G. Ubidecarenone nanoemulsified composite systems. Int. J. Pharm. 291: 113-118 (2005)
- Seo DW, Kang MJ, Sohn YS, Lee JH. Self-microemulsifying formulation-based oral solution of coenzyme Q₁₀. Yakugaku Zasshi 129: 1559-1563 (2009)
- Singh M, Sharma R, Banerjee UC. Biotechnological applications of cyclodextrins. Biotechnol. Adv. 20: 341-359 (2002)
- Jang SM. Preparation and properties of mixed cyclodextrin/linoleic acid inclusion complex. MS thesis, Soongsil University, Seoul, Korea (2009)
- Park SJ. Pharmaceutical studies on inclusion complex of clonixin with cyclodextrins. MS thesis, Ewha Womans University, Seoul, Korea (1994)
- Choi YS, Cha HJ. A study on the inclusion complex of enoxacin with α -cyclodextrin and β -cyclodextrin. J. Korean Soc. Hygienic Sci. 7: 27-36 (2001)
- Kwack ES, Cho IS, Lee GW, Jee UK, Park DK. Preparation and evaluation of inclusion complex of muscone with β -cyclodextrin. J. Kor. Pharm. Sci. 27: 265-269 (1997)
- Lee UH. Preparation of inclusion complex of lutein with hydroxypropyl- β -cyclodextrin and its characteristics. MS thesis, Chungbuk National University, Cheongju, Korea (2010)
- Lutka A, Pawlaczyk J. Inclusion complexation of coenzyme Q₁₀ with cyclodextrins. Acta Pol. Pharm. 52: 379-386 (1995)
- Lutka A, Pawlaczyk J. Investigation of inclusion complexes of coenzyme Q₁₀ with γ -cyclodextrin and methyl- β -cyclodextrin (MS=0.97). part I. comparison of complexation methods in the solution state. Acta Pol. Pharm. 53: 193-196 (1996)
- Lutka A, Pawlaczyk J. Investigation of inclusion complexes of coenzyme Q₁₀ with γ -cyclodextrin and methyl- β -cyclodextrin (MS=0.97). part II. the influence of complexation temperature ("heating" method) on coenzyme Q₁₀ solubility. Acta Pol. Pharm. 53: 197-201 (1996)
- Lutka A, Pawlaczyk J. Investigation of inclusion complexes of coenzyme Q₁₀ with γ -cyclodextrin and methyl- β -cyclodextrin (MS=0.97). part III. the influence of cyclodextrins on coenzyme Q₁₀ stability. Acta Pol. Pharm. 54: 279-285 (1997)
- Fir MM, Milivojevic L, Prosek M, Smidovnik A. Property studies of coenzyme Q₁₀-cyclodextrins complexes. Acta Chim. Slov. 56: 885-891 (2009)
- Fir MM, Smidovnik A, Milivojevic L, Zmitek J, Prosek M. Studies of CoQ₁₀ and cyclodextrin complexes: solubility, thermo- and photo-stability. J. Incl. Phenom. Macro. 64: 225-232 (2009)
- Higashi T, Nishimura K, Yoshimatsu A, Ikeda H, Arima K, Motoyama K, Hirayama F, Uekama K, Arima H. Preparation of four types of coenzyme Q₁₀/ γ -cyclodextrin supramolecular complexes and comparison of their pharmaceutical properties. Chem. Pharm. Bull. 57: 965-970 (2009)
- Terao K, Nakata D, Fukumi H, Schmid G, Arima H, Hirayama F, Uekama K. Enhancement of oral bioavailability of coenzyme Q₁₀ by complexation with γ -cyclodextrin in healthy adults. Nutr. Res. 26: 503-508 (2006)

36. Copeland L, Blazek J, Salman H, Tang MC. Form and functionality of starch. *Food Hydrocolloid*. 23: 1527-1534 (2009)
37. Heinemann C, Escher F, Conde-Petit B. Structural features of starch-lactone inclusion complexes in aqueous potato starch dispersions: the role of amylose and amylopectin. *Carbohydr. Polym.* 51: 159-168 (2003)
38. Karlberg M, Piculell L, Huang L. Solubility of amylose/ionic surfactant complexes in dilute aqueous solutions: dependence on surfactant concentration. *Carbohydr. Polym.* 70: 350-354 (2007)
39. Choi HJ. A study on the preparation and characterization of Octacosanol-Starch complex. MS thesis, Korea Polytechnic University, Siheung, Korea (2011)
40. Jang DG. A study on preparation and characterization of Octacosanol-Dextrin complex. MS thesis, Korea University, Seoul, Korea (2011)
41. Kim EA, Kim JY, Chung HJ, Lim ST. Preparation of aqueous dispersions of coenzyme Q₁₀ nanoparticles with amylo maize starch and its dextrin. *LWT-Food Sci. Technol.* 47: 493-499 (2012)
42. Wulff G, Avgenaki G, Guzman MSP. Molecular encapsulation of flavours as helical inclusion complexes of amylose. *J. Cereal Sci.* 41: 239-249 (2005)
43. Lalush I, Bar H, Zakaria I, Eichler S, Shimoni E. Utilization of amylose-lipid complexes as molecular nanocapsules for conjugated linoleic acid. *Biomacromolecules* 6: 121-130 (2005)
44. Lee NR. A study on the food additives labelling practices for beverages and necessity of nutritional education. MS thesis, Hanyang University, Seoul, Korea (2010)
45. Yoo HJ. Comparisons of in vitro digestion models for assessing antioxidant effects in apple peels. MS thesis, Hanyang University, Seoul, Korea (2012)
46. Saenger W. The structure of the blue starch-iodine complex. *Naturwissenschaften* 71: 31-36 (1984)
47. Biliaderis CG, Galloway G. Crystallization behaviour of amylose-Vcomplexes: structure-property relationships. *Carbohydr. Res.* 189: 31-48 (1989)
48. Tufvesson F, Eliasson AC. Formation and crystallization of amylose-mono glyceride complex in a starch matrix. *Carbohydr. Polym.* 43: 359-365 (2000)
49. Brewster ME, Loftsson T. cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59: 645-666 (2007)
50. Lesmes U, Barchechath J, Shimoni E. Continuous dual feed homogenization for production of starch inclusion complexes for controlled release of nutrients. *Innov. Food Sci. Emerg.* 9: 507-515 (2008)
51. Yang Y, Gu Z, Zhang G. Delivery of bioactive conjugated linoleic acid with self-assembled amylose-CLA complex. *J. Agr. Food Chem.* 57: 7125-7130 (2009)
52. Chohen R, Orlova Y, Koralev M, Ungar Y, Shimoni E. Structural and functional properties of amylose complexes with genistein. *J. Agr. Food Chem.* 56: 4212-4218 (2008)
53. Lesmes U, Cohen SH, Shener Y, Shimoni E. Effects of long chain fatty acid unsaturation on the structure and controlled release properties of amylose complexes. *Food Hydrocolloid.* 23: 667-675 (2009)