

유화제 종류에 따른 nanoemulsion의 형성과 Ostwald ripening에 관한 연구

박은정 · 이의석 · 홍순택[†]

충남대학교 농업생명과학대학 식품공학과
(2015년 8월 14일 접수; 2015년 9월 16일 수정; 2015년 9월 19일 채택)

A study on the formation and Ostwald ripening stability of nanoemulsion with various emulsifiers

Eun-Jeong Park · Eui-Seok Lee · Soon-Taek Hong[†]

*Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Life Science,
Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea
(Received August 14, 2015; Revised September 16, 2015; Accepted September 19, 2015)*

Abstract : This study aimed to investigate the effect of various emulsifiers on the formation of nanoemulsions and their stability properties. MCT (medium chain triglyceride) nanoemulsions were prepared (10 wt% oil, 10 wt% emulsifiers, 20 mM bis-tris, pH 7) with emulsifier such as Tween 20 (Polyoxyethylene(20) sorbitan monolaurate), Almax 3800 (Sorbitan monooleate), soy lecithin, and SSL (sodium stearyl lactylate) and changes in fat globule size with respect to storage period and stability properties by Turbiscan were investigated. In case of control nanoemulsion with 10 wt% Tween 20, the initial fat globule size was 89.0 nm and 113.4 nm after 28 day of storage and this large increase (*ca.* 24 nm) was thought to be caused by Ostwald ripening. When Tween 20 was partially replaced with Almax 3800, lecithin and SSL in nanoemulsions, their physicochemical properties (*i.e.*, fat globule size and stability) were changed accordingly. In general, the initial fat globule size was decreased with increasing the concentration of the emulsifiers and the stability against Ostwald ripening increased. The most stable nanoemulsions against Ostwald ripening could be prepared with emulsifiers of Tween 20 and Almax 3800 or lecithin in the ratio of 6:4 (wt%), which was verified with Ostwald ripening rate (ω). In addition, the emulsion stability by Turbiscan was observed to be consistent with results of changes in fat globule size with storage period.

Keywords : Nanoemulsion, Ostwald ripening, Fat globule size, Turbiscan

[†]Corresponding author
(E-mail: Hongst@cnu.ac.kr)

1. 서론

최근 나노과학(nano science) 및 기술(nano technology)에 대한 연구가 각 분야에서 다양하게 발전하면서 식품 에멀션 분야에서도 한층 중요한 트렌드로 부상하고 있다. 일반적으로 에멀션은 분산상인 지방구의 크기에 따라 매크로에멀션(100 nm-100 μ m), 나노에멀션(10-1000 nm), 마이크로에멀션(2-100 nm) 등으로 구분하는데, 이중 후자는 분산상이 유화제의 미셀형태로 존재하여 열역학적으로 안정한 시스템으로 알려져 있다[1]. 상기 언급한 에멀션 중 나노에멀션은 매크로에멀션에 비해 지방구의 크기가 작아 다양한 장점이 있다. 첫째, 물리적 측면에서 중력의 영향보다 브라운 운동이 지배적으로 작용하여 크리밍(creaming), 합일(coalescence), 상전환(phase inversion) 등의 유화 불안정화 현상이 적게 발생하며 O/W 유화시스템에서 안정성이 매우 우수하다. 둘째, 체내(피부와 몸속)에서 흡수율을 높여주며 따라서 식품분야 뿐만 아니라 화장품, 의약 산업 등에서 다양하게 연구 되고 있다[2-4]. 특히, 식품 분야에서는 β -carotene, curcumin 등의 생리기능성물질을 나노에멀션에 포함시켜 생체 이용률을 높이는 연구가 다수 진행되었다.[5,6] 그러나 나노에멀션은 분산상을 구성하는 매우 작은 크기의 지방구 입자로 인하여 연속상에 일부 용해될 수 있으며 따라서 작은 지방구가 큰 지방구에 확산·흡수되는 Ostwald ripening에 취약하여[7,8] 이를 억제할 수 있는 방법에 대한 연구가 다양하게 진행되고 있다. 그중 분산상의 기름 종류를 달리하여 수행한 연구가 활발히 진행되었으며, 여러 기름 중에서 장쇄지방산으로 구성된 기름을 사용할 경우 Ostwald ripening 현상을 가장 효과적으로 억제할 수 있다는 많은 연구 결과가 보고되었다[9,10]. 이 경우 지방산의 사슬 길이가 길수록 물에 대한 용해도가 감소하며 따라서 Ostwald ripening 현상은 낮아지게 된다[10]. 또한 연속상에 대하여 용해성이 낮은 기름과 높은 기름(예, medium chain triglyceride, MCT)을 혼합하여 사용하였을 경우 혼합 엔트로피(entropy of mixing) 효과에 의해 나노에멀션의 Ostwald ripening이 적게 발생하게 된다[11]. 그러나 이 경우 에멀션 중 장쇄지방산 기름의 함량이 증가할수록 지방구의 크기가 비교적 크게 형성된다는 단점이 있다. 그 외에 Ostwald ripening을 억제할 수 있는 방법으로 지방구의 계

면막(interfacial membrane)에 변화를 주는 방법 등을 고려할 수 있는데, 계면막의 두께를 증가시켜 지방구 내부의 기름이 연속상으로 확산되는 정도를 낮추거나[12] 이온계 유화제(음이온 또는 양이온)를 이용하여 계면막에 전하를 띄게 하여 입자간 반발력을 증가시켜 Ostwald ripening을 억제하는 방법 등이 제안되었다[13]. 실제로 Xin 등은 음이온 계면활성제인 sodium dodecyl sulfate (SDS)와 Tween 20을 혼합하여 나노에멀션을 제조하였을 경우 지방구간의 반발력으로 인하여 Ostwald ripening에 대한 안정성이 증가되었다고 보고하였다[14].

Medium chain triglyceride (MCT)는 소화 과정 중 간문맥을 통하여 직접 인체 내에 흡수되어 간에서 산화·분해되는 건강한 기름으로[15] 식·의약품 제조에 널리 이용되고 있으며, 또한 비교적 낮은 점도, 저분자량 특성으로 인하여 나노에멀션 형성에 적합한 기름으로 알려져 있다. 그러나 MCT는 비교적 높은 수용해성을 나타내어 전술한 Ostwald ripening 현상에 매우 취약하므로 MCT 나노에멀션의 저장 안정성 증진을 위한 연구가 지속적으로 수행되고 있다[16].

따라서 본 연구는 MCT 나노에멀션의 저장 안정성 증진을 목적으로 일련의 비이온계 혹은 이온성 유화제를 복합적으로 사용하여 에멀션을 제조하고, 이에 대한 Ostwald ripening 안정도를 평가하고자 하였다. 즉, 여러 가지 유화제를 병용하여 초기 지방구 입자 크기가 100 nm 이하의 나노에멀션을 제조하고, 저장기간에 따른 입자 크기 변화 및 터비스캔에 의한 후방 산란 강도 변화(Δ backscattering intensity, Δ BS)를 측정하여 Ostwald ripening 안정도에 대한 유화제의 영향을 조사하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 재료

본 실험에 사용된 MCT oil(Medium chain triglyceride)은 (주)일신웰스(Chung-buk, Korea)에서 제공받아 사용하였고 유화제로 Tween 20(Polyoxyethylene(20) sorbitan monolaurate)은 Sigma-aldrich사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였고, Soy lecithin(이하 Lecithin), SSL(Sodium Stearoyl Latylate) 및 Almax 3800(Sorbitan monooleate, 이하 Almax)은 일신

웰스(Chung-buk, Korea)에서 제공받아 사용하였다. 그리고 이외 실험에 사용된 모든 시약들은 특급이상의 시약을 사용하였다.

2.2. 나노에멀션 제조

에멀션의 제조는 Tim의 방법을 변형하여 제조하였다[9]. 수상(aqueous phase)으로 20 mM bis-tris 완충용액(pH 7.0)을 사용하였으며, 유상(oil phase)은 MCT oil을 사용하였다. 에멀션 중 유화제는 총 10 wt%로 Tween 20을 기본으로 기타 유화제(lecithin, SSL 및 Almax)를 일정 비율(9.5:0.5→6:4)로 혼합하여 사용하였다. 수상(90 wt%) 및 유상(10 wt%)의 혼합액을 실험실용 silverson 균질기(L4RT, Silverson Machines Ltd, Bucks, UK)를 이용하여 8,000 rpm에서 5분 동안 예비균질(pre-mixing)을 하였으며, 이 예비균질액을 실험실용 고압균질기(M-110Y, Microfluidics, CA, USA)를 이용하여 15,000 psi에서 4회 균질하여 최종 에멀션을 완성하였다.

2.3. 지방구 크기 측정

나노에멀션 중 지방구 크기는 입도분석기(Nano ZS, Malvern Instrument, Worcestershire, UK)를 이용하여 측정하였다. 지방구의 크기는 dynamic light scattering(DLS)에 의해 측정되며 다중 산란 현상(multiple light scattering)을 방지하기 위하여 에멀션 시료는 20 mM bis-tris 완충용액(pH 7.0)에 1000배 희석하여 평가하였다.

2.4. Turbiscan에 의한 나노에멀션의 안정도 평가

Turbiscan(Turbiscan Lab., Formulation, l'Union, France)은 다중 산란 현상을 이용하여 유화안정도를 평가하는 방법으로, 에멀션 시료를 넣은 용기에 880 nm 근적외선을 조사하여 시험기간 중 분산상의 농도 변화에 따른 투과도(transmission) 및 후방 산란 강도(backscattering intensity)변화(Δ BS)를 동시에 측정하여 유화안정도를 평가한다. 응집 혹은 합일에 의해 분산상인 지방구의 입자 크기가 증가하거나 크리밍 등에 의해 시료 용기내의 위쪽과 아래쪽의 농도차이가 생기면 투과 및 후방 산란된 빛의 양(flux)이 달라지므로 유화안정성의 변화를 측정할 수 있게 된다[17]. 본 실험에서는 나노에멀션 시료를 측정 용기에 넣은 후 24시간 동안 저장하면서 안정도를 평가하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 유화안정도 평가

3.1.1. Tween 20 나노에멀션

3.1.1.1. 지방구 크기의 변화

저장 기간에 따른 Tween 20 나노에멀션의 지방구 크기 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 에멀션 중 지방구 크기는 저장 기간과 더불어 점점 증가하는 것으로 관찰되었으며, 초기 지방구 크기는 89.0 nm에서 저장 28일 후 113.4 nm로 약 24 nm 증가하였다. Ostwald ripening은 에멀션 입자 내의 기름이 연속상으로 용해·확산되어 다른 입자로 흡수됨에 따라 입자의 크기가 성장하여 에멀션의 안정성이 감소하는 현상을 일컫는데, Fig. 1의 결과는 분산상인 MCT oil의 비교적 높은 수용해성[18] 특성으로 인하여 발생된 Ostwald ripening에 기인된 것으로 생각되었다[16]. 에멀션 중 지방구 크기는 다분산계(polydisperse system)의 특징을 나타내며 작은 크기의 지방구 입자는 큰 입자에 비하여 표면에너지가 크다[4]. 따라서 에멀션 시스템의 경우 전체 에너지는 높은 상태에서 낮은 상태로 진행하므로 에너지가 큰 작은 입자는 에너지가 작은 큰 입자로 확산되어 전체 에너지의 균형을 이루려고 한다. 수중유적형(O/W) 에멀션에서 이러한 현상이 가능한 이유는, 지방구의 크기가 작아짐에 따라 물에 대해 약간의 용해도를 갖게 되며 특히, 코코넛오일 등과 같이 중쇄 또는 단쇄 지방산을 가진 기름은 장쇄 지방산을 가진 기름보다 연속상에 용해되기 쉽다[18]. 따라서 100 nm이하의 작은 입자로 이루어진 Tween 20 나노에멀션에서 Ostwald ripening이 용이하게 발생될 수 있음을 추론할 수 있다. 다음의 Kelvin식은 에멀션 중 입자의 크기가 작을수록 연속상에 대한 용해도가 증가함을 나타내고 있다[19].

$$c(r) = c_{\infty} \exp \left[\frac{2\gamma M}{\rho R r T} \right] = c_{\infty} \exp \left[\frac{K}{r} \right]$$

- M : 지방구 내부 물질의 분자량
- ρ : 지방구의 밀도
- c_{∞} : 기름의 연속상에 대한 용해도
- γ : 계면장력
- R : 기체상수
- T : 절대온도

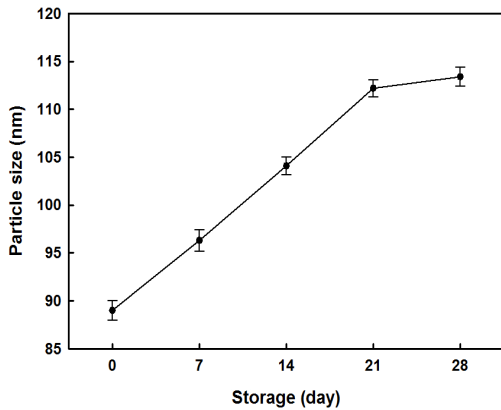


Fig. 1. Changes in particle size of Tween 20 nanoemulsion (10 wt% Tween 20, MCT 10 wt%, 20 mM bis-tris, pH7) with storage time.

3.1.1.2. 터비스칸을 이용한 유화 안정도 평가

Fig. 2는 Turbiscan을 이용하여 Tween 20 나노에멀션의 유화안정도 변화를 측정된 결과로 저장 시간에 따른 후방산란 강도의 변화를 나타내고 있다(측정 조건 : 25°C, 24 h). Fig. 2에 의하면 후방산란 강도는 시료 높이와 관계없이 측정 시간의 경과와 더불어 상승하는 것(분홍→빨강)으로 나타났다(Δ BS 약 1% 상승/24 h). 이는 시료 에멀션 중 지방구의 크기가 증가할 경우에 관찰되는 현상으로[17,20] 비교적 과량의 유화제(10 wt%)로 안정화된 Tween 20 나노에멀션의 경우 지방구 입자의 응집/합일 발생 가능성은 배제할 수 있으므로 Fig. 2의 결과는 주로 Ostwald ripening에 의한 결과로 생각할 수 있다. Saberi

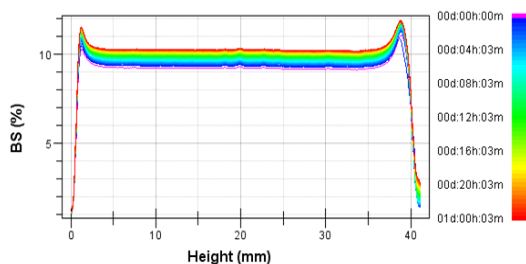


Fig. 2. Changes in the backscattering intensity (BS%) of Tween 20 nanoemulsion measured by Turbiscan. BS increased from pink (measuring time: 0 h) to red (measuring time: 24 h).

등의 연구결과에 의하면 MCT를 carrier oil로 사용한 vitamin E 나노에멀션의 경우 시간의 경과와 더불어 Ostwald ripening 기작에 의해서 지방구 크기가 증가하였음을 보고하였다[21]. 한편, Fig. 2의 결과는 Mao의 β -carotene 나노에멀션(MCT 기름, 1 wt% Tween 20) 연구에서 보고된 후방산란 강도의 변화(약 2%/12 h)에 비해서 다소 낮은 값으로 이는 에멀션 중 유화제 함량 및 측정 온도(55°C)의 차이에 기인된 것으로 생각되었다[22].

3.1.2. Tween 20 + Almax 3800 병용 첨가 효과

3.1.2.1. 지방구 크기의 변화

Tween 20 + Almax 나노에멀션에 있어서 Almax 첨가 농도에 따른 초기 지방구 크기 변화 및 이들 에멀션의 상온 저장 안정성을 조사한 결과를 Fig. 3에 나타내었다(저장 기간 : 28일). Fig. 3에 나타난 바와 같이 대체로 Tween 20에 Almax를 병용 첨가할 경우 Almax 첨가 농도의 증가와 더불어 나노에멀션의 초기 지방구 크기는 감소하였다. 대조구 Tween 20 10 wt% 나노에멀션의 초기 지방구 크기는 89.0 nm였으며(Fig. 1), Tween 20 9.5 wt% + Almax 0.5 wt% 나노에멀션의 경우 93.1 nm, Tween 20 9 wt% + Almax 1 wt%는 91.12 nm로 대조구와 비교하여 큰 차이는 없었으나, Almax 유화제를 2 wt% 이상 첨가할 경우 지방구 크기는 점차 감소하여 Tween 20 6 wt% + Almax 4 wt% 첨가한 나노에멀션의 지방구 크기는 78.65 nm로 대조구 나노에멀션에 비하여 약 10 nm 정도 작았다. 또한 Fig. 3은 Almax의 첨가 농도가 높을수록 저장에 따른 지방구 크기의 변화 정도가 낮았음을 보여주고 있다. 대조구 에멀션(Tween 20 10 wt% 나노에멀션)의 경우 저장 28일 후 지방구 크기가 약 24 nm 증가하였으며, Tween 20 9.5 wt% + Almax 0.5 wt% 나노에멀션은 저장 초기 93.1 nm로부터 28일 후 107.25 nm로 약 14 nm 증가하였고, Tween 20 6 wt% + Almax 4 wt% 첨가의 경우 저장 초기 78.65 nm에서 저장 28일 후 83 nm로 약 5 nm 정도 증가하였다. 이러한 결과는 Almax 첨가 농도가 증가와 더불어 나노에멀션의 유화 안정성이 향상되고 있음을 시사하는 것으로 Almax의 유화 특성에 기인된 것으로 생각되었다. 즉 Almax 유화제는 구성 지방

산이 oleate(C18)인 HLB가 4.3인 지용성 유화제로, 유화과정 중 지방구를 내부로부터 둘러싸 계면막을 형성하므로 비교적 수용해성이 높은 MCT 기름이 연속상으로 확산·용출되는 것을 억제하고, 이 결과 Ostwald ripening이 억제되어 유화안정도가 높아진 것으로 생각되었다[13].

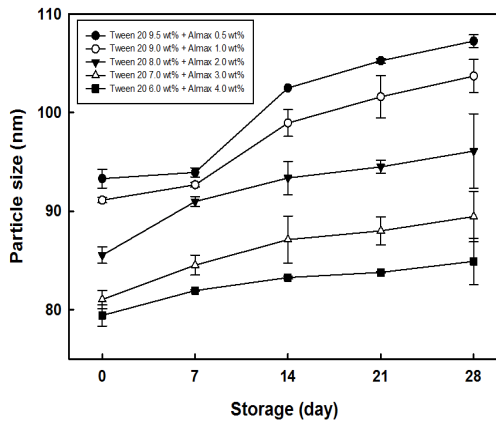


Fig. 3. Effect of Almax addition on changes in particle size of Tween 20 nanoemulsions with storage time. The emulsions were stored at room temperature for 28 days.

또한 McClement는 유화제를 혼합하여 사용할 경우 HLB 값이 10-12 범위가 되도록 조합하면 높은 유화 안정도 특성의 에멀션을 제조할 수 있다고 하였다[23]. 본 실험의 경우 Table 1에 나타난 바와 같이 혼합 유화제 시스템의 HLB 값은

Almax의 첨가 비율이 높을수록 낮아지며 Tween 20 6 wt% + Almax 4 wt%(6:4)의 경우 HLB 값이 11.7이 되어 McClement가 제안한 유화안정도 증진에 가장 효과적인 비율 범위에 도달됨을 알 수 있다. 장쇄지방산으로 구성된 wheat bran oil을 사용하여 제조한 나노에멀션 안정성에 관한 Sara의 연구에 따르면 Span-80(sorbitan monooleate)과 Tween 80을 37.4 : 62.6 (wt%)으로 혼합하였을 때 에멀션 중 지방구 크기가 가장 작고 유화안정도가 우수하였음을 보고하여 본 실험 결과를 입증하고 있다[24].

3.1.2.2. 터비스칸을 이용한 유화 안정도 평가

Fig. 4는 Turbiscan을 이용하여 Tween 20 + Almax 병용 나노에멀션의 유화안정도 특성을 나타내고 있으며, 후방산란 강도의 변화($\Delta BS\%$)를 측정 시간(24 h)의 함수로 표현하였다. Fig. 2에서 기술한 바와 같이 Ostwald ripening 등에 의해서 에멀션 중 지방구 크기가 증가하면 후방산란 강도가 변화하게 되며, 그 변화 속도를 Turbiscan에서 제공하는 소프트웨어를 이용하여 동역학적(kinetics)으로 관찰할 수 있다. Fig. 4에 의하면 대조구인 Tween 20 나노에멀션의 24시간 동안 ΔBS 는 1% 정도였으며, Tween 20 9.5 wt% + Almax 0.5 wt% 나노에멀션의 경우 ΔBS 는 약 0.8%였고, Tween 20 8 wt% + Almax 2 wt% 나노에멀션의 ΔBS 는 0.5% 그리고 Tween 20 6 wt% + Almax 4 wt% 나노에멀션의 ΔBS 는 약 0.3%로 분석되어 Almax 함량 증가에 따라 ΔBS 는 낮아지는 것으로 관찰되었다. 이러한 변화 경향은 동일한 나노에멀션을 28일

Table 1. HLB number and particle size of nanoemulsions with a various combination of surfactant used in the present study

Surfactants (wt%)	HLB number	Initial particle size(nm)	particle size (nm) after 28 days
Tween 20 (10 wt%)	16.7	89.12	113.52
Tween 20 : Almax (9.5:0.5)	16.08	93.1	107.25
Tween 20 : Almax (9.0:1.0)	15.46	91.12	103.7
Tween 20 : Almax (8.0:2.0)	14.22	85.53	92.79
Tween 20 : Almax (7.0:3.0)	12.98	81.03	86.82
Tween 20 : Almax (6.0:4.0)	11.74	78.65	83.23

동안 저장하면서 얻은 지방구의 크기 변화 경향 (Fig. 3)과 동일한 것으로 Tween 20 나노에멀션 제조에 있어서 Tween 20 유화제의 일부를 Almax 유화제로 대체 사용할 경우 농도의 증가와 더불어 Ostwald ripening에 대한 안정도가 상승됨을 시사하고 있다.

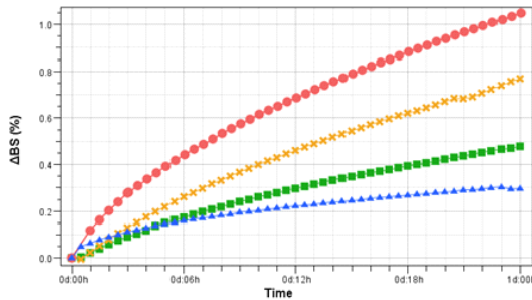


Fig. 4. Changes in backscattering profiles in nanoemulsions by Turbiscan as a function of measuring time. (●): Tween 20 10 wt%, (x): Tween 20 9.5 wt% + Almax 0.5 wt%, (■): Tween 20 8 wt% + Almax 2 wt%, (▲): Tween 20 6 wt% + Almax 4 wt%. $\Delta BS = BS_t - BS_0$, BS_t : backscattering intensity at time = t , BS_0 : backscattering intensity at time = 0.

3.1.3. Tween 20 + 레시틴 병용 첨가 효과

3.1.3.1. 지방구 크기의 변화

Tween 20과 레시틴을 병용하여 나노에멀션을 제조하고 저장 기간 경과에 따른 지방구 크기의 변화를 Fig. 5에 나타내었다. Tween 20 9.5 wt% + 레시틴 0.5 wt%를 혼합 사용한 경우 나노에멀션의 초기 지방구 크기 90.53 nm였고, 28일 후 112.1 nm로 변화하여 약 21 nm 증가하였다. Tween 20 8.0 wt% + 레시틴 2.0 wt% 나노에멀션의 지방구 크기는 저장 28일 후 약 17 nm 증가하였으며, Tween 20 7.0 wt% + 레시틴 3.0 wt%의 경우는 저장 28일 후 약 18 nm 증가하였다. 이러한 결과는 대조군 Tween 20 나노에멀션의 경우와 유사한 것으로 저농도의 레시틴 첨가에 의해 Tween 20 나노에멀션의 안정성 증진 효과가 없음을 시사하고 있다. 한편, 레시틴을 4% 첨가(Tween 20 6 wt% + 레시틴 4 wt%)할

경우 제조한 나노에멀션 중 초기 지방구 크기가 가장 작게 형성되었으며, 비로소 나노에멀션의 안정성 증진 효과가 유의하게 나타났다(초기 지방구 크기 : 82.84 nm, 저장 28일 후 : 95.0 nm로 약 12 nm 증가). 전반적으로 이러한 결과는 Affandi 등의 연구 결과와 유사한 경향으로 palm olein을 유상으로 하고 유화제로 Tween 80 (polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate)과 레시틴을 6:4 비율로 혼합사용 하였을 때 가장 안정한 나노에멀션을 제조할 수 있었음을 보고하고 있다.[25] Fig. 5의 결과는 Affandi 등이 제안한 바와 같이 고농도의 레시틴 첨가(4%)에 의해서 나노에멀션의 지방구 크기가 가장 작게 형성되었으며, 또한 에멀션의 안정성 증진에 가장 효과적인 HLB 값 범위에 도달되어 초래된 결과로 생각되었다[25].

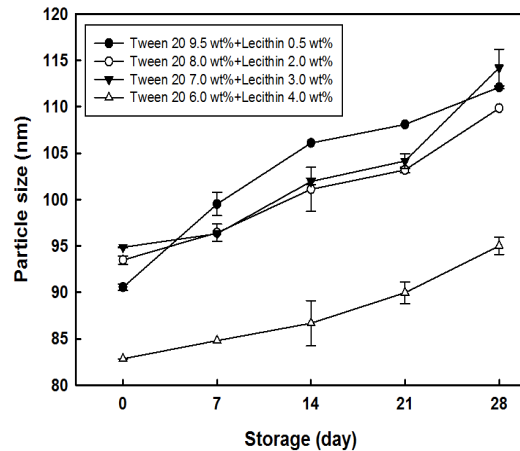


Fig. 5. Effect of lecithin addition on changes in particle size and stability of Tween 20 nanoemulsion with time. The emulsions were stored at room temperature for 28 days.

3.1.3.2. 터비스칸을 이용한 유화 안정도 평가

Tween 20 + 레시틴 혼합 유화제 시스템을 이용하여 제조한 나노에멀션의 유화안정도 특성을 Turbiscan을 이용하여 24시간 동안 측정하였으며, 그 결과를 후방산란 강도의 변화($\Delta BS\%$)로 표현하였다(Fig. 6). Tween 20 9.5 wt% + 레시틴 0.5 wt% 나노에멀션의 ΔBS 는 대조군 나노에멀션과 유사한 수준인 약 0.95%이고, Tween 20 8 wt% + 레시틴 2 wt% 나노에멀션의 ΔBS 는

약 0.8%로 Tween 20 9.5 wt% + Almax 0.5 wt% 나노에멀션의 Δ BS에 비해 다소 낮았다. 또한 Tween 20 6 wt% + 레시틴 4 wt% 나노에멀션의 Δ BS는 약 0.4%로 레시틴 함유 나노에멀션 중 가장 낮은 BS 증가 수준을 보여 유효안정도가 가장 높았다. 이러한 경향은 Fig. 5에서 관찰한 바와 같이 저장 기간에 따른 지방구 크기의 변화 경향과 잘 일치하고 있다.

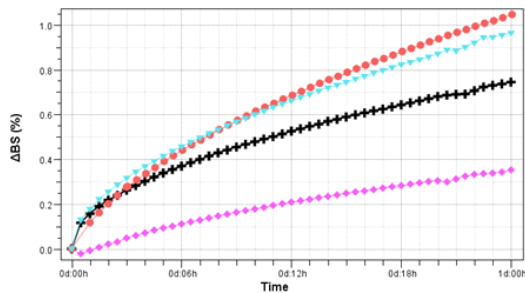


Fig. 6. Changes in backscattering profiles in nanoemulsions by Turbiscan as a function of measuring time. (●): Tween 20 10 wt%, (▼): Tween 20 9.5 wt% + lecithin 0.5 wt%, (+): Tween 20 8 wt% + lecithin 2 wt%, (◆): Tween 20 6 wt% + lecithin 4 wt%.

3.1.4. Tween 20 + SSL 병용 첨가 효과

3.1.4.1. 지방구 크기의 변화

Tween 20과 SSL을 혼합 사용하여 나노에멀션의 저장 기간 경과에 따른 지방구 크기 변화를 Fig. 7에 나타내었다. Tween 20 9.5 wt% + SSL 0.5 wt%를 혼합하여 제조한 나노에멀션의 초기 지방구 크기는 93.2 nm이었고, 4주 후에는 105.2 nm로 약 12 nm 증가하였으며, SSL을 1% 배합한 경우 0.5 wt% 사용했을 때보다 초기 지방구 크기는 작았으나(88.4 nm) 저장기간 중 SSL 유화제로 추정되는 입자가 육안을 통해 관찰되었으며 이로 인해 지방구의 크기가 오히려 더 증가하였다(저장 28일 후 약 104 nm로 16 nm 증가). SSL은 sodium dodecyl sulphate(SDS)와 유사한 음이온계 유화제로 지방구에 흡착하여 음전하를 부여하고 정전기적 반발력을 통해 지방구의 충돌을 억제하는 역할을 할 수 있을 것으로 추정되었으나[14], Fig. 7에서 관찰한 바와 같이

SSL을 비교적 고농도(1%)로 첨가할 경우 SSL 유화제로 추정되는 입자가 석출되어 오히려 나노에멀션의 안정도를 낮추는 것으로 관찰되었다. 상업용 SSL의 녹는점은 50°C 정도로[26] 본 실험의 저장 조건인 실온에서 용해도 감소로 인해 SSL 유화제 입자가 석출되었을 것으로 생각되었다.

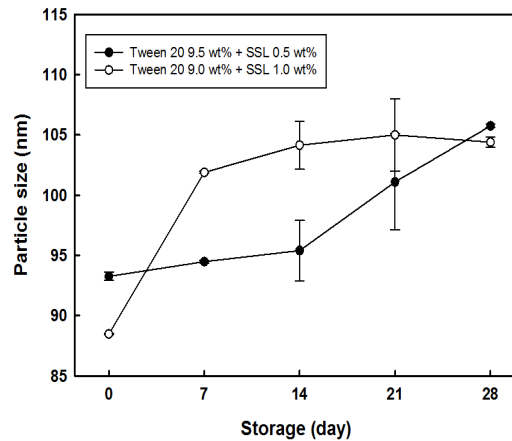


Fig. 7. Effect of SSL addition on changes in particle size and stability of Tween 20 nanoemulsion with storage time. The emulsions were stored at room temperature for 28 days.

3.1.4.2. 터비스칸을 이용한 유화 안정도 평가

Tween 20과 SSL 혼합 유화제 시스템으로 제조한 나노에멀션의 터비스칸 유화안정도 특성을 Fig. 8에 나타내었다. Tween 20 + SSL 나노에멀

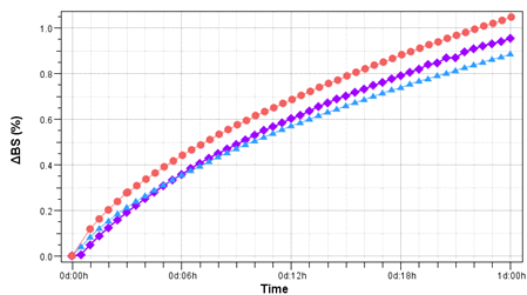


Fig. 8. Changes in backscattering profiles in nanoemulsions by Turbiscan as a function of measuring time. (●): Tween 20 10 wt%, (◆): Tween 20 9.5 wt% + SSL 0.5 wt%, (▲): Tween 20 9 wt% + SSL 1 wt%.

션의 ΔBS 는 대조구 Tween 20 나노에멀션과 비교하여 다소 양호한 수준이나 전반적으로 큰 차이는 없었다. 따라서 SSL 유화제는 Tween 20 나노에멀션의 Ostwald ripening을 억제하는데 그다지 효과적이지 않다고 생각되었다.

3.2. Ostwald ripening 속도

Ostwald ripening에 의한 나노에멀션 중 지방구 크기 변화는 다음과 같이 나타낼 수 있다[12].

$$d(t)^3 - d(0)^3 = \omega t = \frac{32}{9} \alpha S_{\infty} D t$$

- $d(t)$: 시간 t 에서 평균 지방구 크기
- $d(0)$: 초기 평균 지방구 크기
- ω : Ostwald ripening rate
- $\alpha = 2 \gamma_{o/w} V_m / RT$: $\gamma_{o/w}$: 기름-물의 계면장력, V_m : 용질의 몰부피, R : 기체상수, T : 온도
- D : 분산상의 확산계수
- S_{∞} : 분산상의 연속상에 대한 용해도

상기 식에 의하면 나노에멀션 중 지방구 크기 3제곱승의 변화(d^3)는 저장 기간(t)과 직선적 함수 관계를 나타내며(Fig. 9), 따라서 나노에멀션의 Ostwald ripening 속도는 직선의 기울기가 된다(Table 2). Table 2에 의하면 Tween 20 10 wt% 나노에멀션의 경우 Ostwald ripening 속도가 가장 높았으며, Tween 20 10 wt% + SSL 1 wt%, Tween 20 10 wt% + 레시틴 4 wt%, Tween 20 10 wt% + Almax 4 wt% 나노에멀션의 순서로 나타났다. Tween 20 10% 나노에멀

션의 Ostwald ripening 속도 [$1.21 \times 10^3(\text{nm}^3)\text{h}^{-1}$]는 대체로 Weiss 등[27]의 연구 결과와 일치하고 있으며, Tween 20 10 wt% + SSL 1 wt% 나노에멀션의 경우 비교적 낮은 Ostwald ripening 속도를 보였으나 [$0.59 \times 10^3(\text{nm}^3)\text{h}^{-1}$] 전술한 바와 같이 SSL로 추정되는 입자의 석출로 인하여 0.6434의 낮은 상관계수(r^2)을 나타내었다. Tween 20 10 wt% + Almax 4 wt% 나노에멀션이 본 실험에서 가장 낮은 Ostwald ripening 속도 [$0.18 \times 10^3(\text{nm}^3)\text{h}^{-1}$]를 보였으며, 전반적으로 유화제 종류 변화에 따른 나노에멀션의 Ostwald ripening 안정도 평가 결과는 전술한 Turbiscan을 이용하여 얻은 유화 안정도 결과와 잘 일치하고 있다.

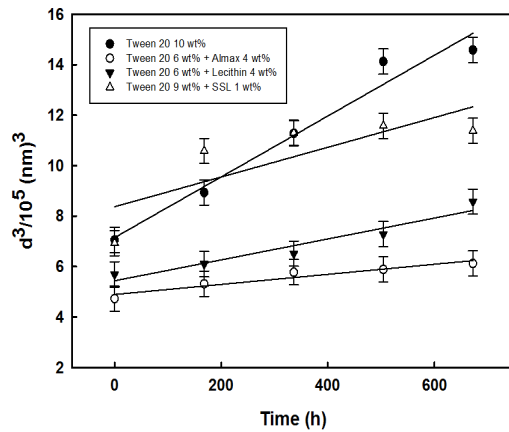


Fig. 9. Growth of the cube of the mean droplet diameter of MCT nanoemulsions with various emulsifiers.

Table 2. Ostwald ripening rates (ω) determined for nanoemulsions with various emulsifiers

Surfactants (wt%)	$\omega \times 10^3(\text{nm}^3)\text{h}^{-1}$	r^2 *
Tween 20 (10)	1.21	0.9686
Tween 20 : SSL(9.0:1.0)	0.59	0.6434
Tween 20 : Lecithin(6.0:4.0)	0.41	0.9326
Tween 20 : Almax 3800(6.0:4.0)	0.18	0.9243

*: correlation coefficient

4. 결론

본 연구는 유화제 종류에 따른 나노에멀션 형성 및 이의 유화안정도를 평가하기 위해 수행하였다. Tween 20(Polyoxyethylene(20) sorbitan monolaurate), Almax 3800((Sorbitan monooleate), 대두 레시틴, SSL(sodium steary lactylate) 등의 유화제를 이용하여 MCT (medium chain triglyceride) 나노에멀션을 제조 (기름 10 wt%, 유화제 10 wt%, 20 mM bis-tris, pH 7)하고 저장 기간에 따른 지방구 크기의 변화를 조사하였으며, 또한 Turbiscan을 이용하여 각 나노에멀션의 유화안정도를 평가하였다. 대조구 나노에멀션(Tween 20 10 wt% 첨가)의 경우 초기 지방구 크기는 89.0 nm, 저장 28 일 후 113.4 nm로 약 24 nm 증가하여 Tween 20 나노에멀션은 Ostwald ripening 현상에 취약하였다. Tween 20 유화제의 일부를 Almax 3800, 레시틴 혹은 SSL로 대체하여 제조한 나노에멀션의 특성(지방구 크기 및 유화안정도)은 대체 유화제의 종류 및 첨가 농도에 따라 다르게 나타났다. 일반적으로 대체 유화제 첨가 농도의 증가와 더불어 나노에멀션의 초기 지방구 크기는 작아졌고 Ostwald ripening에 대한 안정도는 증가하였다. 그중 Tween 20과 Almax 3800 혹은 레시틴을 6:4(wt%) 비율로 혼합 사용할 경우 Ostwald ripening에 대한 안정도가 상대적으로 높게 나타났으며, 그 결과를 Ostwald ripening 속도(ω)로 표현하였다. 한편, Turbiscan을 이용하여 저장에 따른 나노에멀션의 후방산란 강도 (backscattering intensity) 변화를 기준으로 유화안정도를 평가하였을 때 그 결과는 진술한 저장에 따른 나노에멀션의 지방구 크기 변화 경향과 잘 일치하는 것으로 나타났다. Almax 3800 혹은 레시틴 첨가에 의한 나노에멀션의 유화안정도 향상은 이들 유화제에 의해 MCT 지방구가 수용액으로 확산·용해하는 것을 억제하여 초래된 것으로 추정하였으며, 본 연구의 결과는 향후 curcumin 등의 생리활성물질을 첨가한 나노에멀션의 안정성과 생리활성 연구에 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 논문은 충남대학교의 자체 연구과제(관리번호

호 2013-1953)의 지원에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

References

1. D. J. McClements, and J. Rao, Food-grade Nanoemulsions: formation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity, *Crit. Rev. Food Sci.*, **51**(4), 285(2011).
2. T. G. Mason, J. N. Wilking, K. Meleson, C. B. Chang, and S. M. Graves, Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties, *J. Phys-Condens Mat.*, **18**(41), R635(2006).
3. C. Solans, P. Izquierdo, J. Nolla, N. Azemar, and M. J. Garcia-Celma, Nano-emulsions, *Curr. Opin. Colloid In.*, **10**(3-4), 102(2005).
4. D. J. McClements, Nanoemulsions versus Microemulsions: terminology, differences, and similarities, *Soft Matter*, **8**, 1719(2012).
5. K. Ahmed, Y. Li, D. J. McClements, and H. Xiao, Nanoemulsion- and emulsion-based delivery systems for curcumin: Encapsulation and release properties, *Food Chem.*, **132**(2), 799(2012).
6. N. Anton, J. Benoit, and P. Saulnier, Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates —A review, *J. Control Release*, **128**(3), **185**(2008).
7. P. Izquierdo, J. Esquena, T. F. Tadros, C. Dederen, M. J. Garcia, N. Azemar, and C. Solans, Formation and stability of nano-emulsions prepared using the phase inversion temperature method. *Langmuir*. **18**(1), 26(2002).
8. J. W. Tim, G. Matt, and S. Peerasak, Impact of oil type on nanoemulsion formation and Ostwald ripening stability. *Langmuir*, **24**(22), 12758(2008).
9. Y. Li, S. L. Maux, H. Xiao, and D. J. McClements, Emulsion-based delivery

- systems for tributyrin, a potential colon cancer preventative agent. *J. Agr. Food Chem.*, **57**(19), 9243(2009).
10. S. S. Lim, M. Y. Baik, E. A. Decker, L. Henson, L. M. Popplewell, D. J. McClements, and S. J. Choi. Stabilization of orange oil-in-water emulsions: A new role for ester gum as an ostwald ripening inhibitor. *Food Chem.*, **128**(4), 1023(2011).
 11. S. Mun, and D. J. McClements, Influence of interfacial characteristics on ostwald ripening in hydrocarbon oil-in-water emulsions, *Langmuir*, **22**(4), 1551(2006).
 12. D. J. McClements a, "Food emulsions: principles, practices, and techniques", 2nd ed., p 333-335, CRC press, Florida, USA(2005).
 13. X. Xin, H. Zhang, G. Xu, Y. Tan, J. Zhang, and X. Lv. Influence of CTAB and SDS on the properties of oil-in-water nano-emulsion with paraffin and span 20/Tween 20, *Colloid Surface A.*, **418**, 60(2013).
 14. T. Aoyama, N. Nosaka, and M. Kasai, Research on the nutritional characteristics of medium chain fatty acids, *J. Med Invest.*, **54**(3,4), 385(2007).
 15. T. J. Wooster, H. F. Andrews, and P. Sanguansri, Nanoemulsions, U. S. Patent, 20100305218 (2010).
 16. D. Allende, A. Cambiella, J. M. Benito, C. Pazos, and J. Coca, Destabilization enhanced centrifugation of metalworking oil-in-water emulsions: Effect of demulsifying agents, *Chem. Eng. Technol.*, **317**(7), 1007(2008).
 17. J. Weiss, N. Herrmann, and D. J. McClements, Ostwald ripening of hydrocarbon emulsion droplets in surfactant solutions, *Langmuir*, **15**(20), 6652(1999).
 18. P. Taylor, Ostwald ripening in emulsions, *Adv. Colloid Interfac.*, **75**(2), 107(1998).
 19. O. Mengual, G. Meunier, I. Cayré, K. Puech, and P. Snabre, Turbiscan MA 2000: multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis. *Talanta*. **50**(2), 445(1999).
 20. A. H. Saberi, Y. Fang, and D. J. McClements, Effect of glycerol on formation, stability, and properties of vitamin-E enriched nanoemulsions produced using spontaneous emulsification. *J. Colloid Interf. Sci.*, **411**(1), 105(2013).
 21. L. Mao, D. Xu, J. Yang, F. Yuan, Y. Gao, and J. Zhao, Effects of small and large molecule emulsifiers on the characteristics of β -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization, *Food Technol. Biotechnol.*, **47**(3), 336(2009).
 22. D. J. McClements b, "Food emulsions: principles, practices, and techniques", 2nd ed., p 131-133, CRC press, Florida(2005).
 23. S. Rebolleda, M. Teresa, J. M. Benito, S. Beltan, I. Escudero, and M. L. Gonzalez San-Jose, Formulation and characterisation of wheat bran oil-in-water nanoemulsions. *Food Chem.*, **167**, 16(2015).
 24. M. M. Affandi, T. Julianto, and A. Majeed, Development and stability evaluation of astaxanthin nanoemulsion, *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, **4**(1), 142(2011).
 25. R. J. Whitehurst, "Food Emulsifiers in Food Technology", 1st ed. p 206-225, Blackwell publishing. Oxford(2004).
 26. J. Weiss, C. Cancelliere, and D. J. McClements, Mass transport phenomena in oil-in-water emulsions containing surfactant micelles: Ostwald ripening. *Langmuir*, **16**(17), 6833(2000).