

나노에멀전 형성에서의 혼합 경로와 온도의 영향

조 완 구[†] · 김 은 희 · 장 선 일* · 조 병 옥*

전주대학교 의과대학 바이오기능성식품학과

*(주)아토큐엔에이 기업부설연구소

(2016년 10월 19일 접수, 2016년 12월 4일 수정, 2016년 12월 7일 채택)

Effect of Mixing Route and Temperature on Formation of Nanoemulsions

Wan Goo Cho[†], Eun Hee Kim, Seon Il Jang*, and Byoung Ok Cho*

College of Medical Science, Jeonju University, 303 Cheonjam-ro, Wansan-Gu, Jeonju 55069, Korea

*R&D Center, Atoqna CO., Ltd., 303 Cheonjam-ro, Wansan-Gu, Jeonju 55069, Korea

(Received October 19, 2016; Revised December 4, 2016; Accepted December 7, 2016)

요약: 본 연구에서는 동일한 농도의 유동파라핀/ Span 80-Tween 80/ 정제수로 구성되는 조성물을 혼합 경로와 온도에 따라 형성되는 에멀전 상태를 비교하였다. 3성분계도상에서 최종 조성에 이르는 혼합경로는 세 가지로 구성하였다. 혼합 경로에 따라서 제조된 에멀전의 평균 입자크기는 큰 차이를 보였으며 제조 온도가 증가함에 따라 에멀전의 입자크기가 감소하였다. 그러나 혼합 온도보다는 혼합 경로에 따른 영향이 더욱 컸다.

Abstract: In this work, we compared the emulsion states having the same composition of liquid paraffin/ Span 80-Tween 80/ pure water and the different mixing paths and temperatures. Routes reaching the final composition in three component phase diagram were composed of three different ways. The average particle size of the emulsion prepared from the different mixing routes showed a significant difference and decreased as the mixing temperature was increased. However, the mixing route affected more in the size of the emulsions than mixing temperature.

Keywords: nanoemulsion, oil-in-water, mixing route, stability, PIC

1. 서 론

나노에멀전은 입경이 20 ~ 200 nm 정도의 크기를 가지며 입경이 작기 때문에 반투명한 외관을 갖는다 [1-5]. 마이크로에멀전과는 다르게 나노에멀전은 열역학적으로 안정하지 않지만 장시간 물리적으로 안정할 수 있으며 산업적으로 중요한 의미가 있는 계면활성제의 함량이 적기 때문에 의약품, 화장품 및 농업 분야에서 다양하게 응용되고 있다 [6,7]. 일반적으로 나노에멀전은 전단력을 가진 믹서를 이용하여 계에 기계적인 에너지를 가하거나 고압 유화기 또는 초음파 등과 같

이 높은 에너지를 사용하는 방법으로 제조된다 [8]. 그러나 저에너지를 이용한 유화 방법이 최근 관심의 대상이 되고 있는데 이는 상전이 방법, 직접 또는 자발적 유화 방법 등이며 이들 방법은 미세한 입경의 에멀전 제조는 물론 입경 분포의 폭이 적은 에멀전을 얻을 수 있다 [9].

상전이 방법은 유화과정 중에 발산되는 화학적 에너지를 이용하는 방법으로 이는 계면활성제 분자의 곡률이 음에서 양으로 또는 양에서 음으로의 변화를 의미한다. 이러한 변화는 일정 온도에서는 조성의 변화로 달성할 수 있으며 이러한 유화법을 조성 상전이 유화법(phase-inversion composition method, PIC)이라 칭한다 [10-12]. PIC 유화방법에서 중심이 되는 사항은 작은 입경의 에멀전을 얻기 위해서는 유화과정에서 라멜라

[†] 주 저자 (e-mail: wgcho@jj.ac.kr)
call: 063)220-2064

액정상 또는 이중 연속상 마이크로에멀전이 생성되어야 하며 이는 계면활성제 집합체의 평균 곡률이 영이 됨을 의미한다[13-15].

나노에멀전은 입도 크기가 작아 다양한 기능성이 요구하는 화장품의 경피 흡수 증진 및 외관 차별화 등에 응용 기회가 점차 확대되고 있다[2]. 본 연구에서는 오일-혼합계면활성제-정제수로 구성된 동일한 조성을 혼합 경로와 혼합온도를 변화하여 형성된 에멀전의 입자 크기를 포함한 물성의 변화를 관찰하고자 하였다.

2. 재료 및 실험방법

2.1. 시약

Table 1에 실험에 사용한 시약을 정리하였다. 화장품용 원료는 각 생산업체로부터 받아 그대로 사용하였으며 정제수는 Milli Q (Millepore Co., USA)에서 18 MW · cm로 통과시킨 것을 사용하였다.

2.2. 유화

2.2.1. 목표 에멀전

목표 에멀전은 혼합 계면활성제를 함유한 유동과라핀/정제수(O/W)로 오일상과 수용액상의 분율은 0.10이다. 목표 에멀전은 Tween 80과 Span 80을 혼합하여 HLB가 12.6이 되도록 고정하였다. 유화(혼합)는 열자석교반기(HSD 180, Mi Sung Sci., Korea)를 사용하여 400 rpm으로 교반하면서 오일상과 수용액상을 각각 경로에 따라 10 mL/min으로 첨가하면서 실시하였다.

2.2.2. 혼합 경로

유화 경로는 세 가지 방법을 사용하였으며 상전이 유화와 직접 유화이다.

상전이 유화(PIC, 경로 ①): 이 방법은 계면활성제를 유동과라핀에 용해하고 EDTA-2Na를 용해한 수용액을 첨가하는 경로이다. 먼저 오일상으로 유동과라핀, Tween 80, Span 80을 80 °C로 용해하였다. 다음으로 수용액상은 정제수에 EDTA-2Na를 용해하여 준비하였다. 유화는 오일상에 수용액상을 80 °C에서 스포이드를 이용하여 2 mL/min의 속도로 첨가하면서 교반하였으며, 300 rpm으로 고정하였다. 혼합이 끝나면 시료를 물중탕에서 실온으로 냉각하였다. 유화온도는 80 °C

Table 1. List of Used Reagents

Chemical name	Trade name	Company
Sorbitan monooleate	Span 80	Croda (UK)
EDTA-2Na	EDTA-2Na	AKZO (Netherlands)
Liquid paraffin	Lily 70	Kukdong (Korea)
Polysorbate 80	Tween 80	Dongnamyuhwa (Korea)

및 실온(27 °C)에서 각각 혼합하였다.

직접 유화(경로 ② 및 ③): 혼합은 분산상(오일상)을 연속상(수용액상)에 추가하는 방법이다. 여기서 계면활성제 혼합물을 에멀전에 혼입 방법에 따라 두 가지 경로로 실험하였다.

경로 ②: 계면활성제를 유동과라핀에 용해하고 EDTA-2Na를 정제수에 용해한 후 유화 온도에 맞춰 오일상을 수용액상에 첨가하여 제조한다.

경로 ③: 계면활성제를 정제수에 EDTA-2Na와 함께 첨가하여 수용액상을 준비하고 수용액상에 오일상을 첨가하여 제조한다.

2.3. 계면장력 측정

Du Nouy (K11, Kruss, Germany) 표면장력 측정 장치를 사용하여 측정하였다. 정제수와 유동과라핀 사이의 계면장력은 평형 상태에서 측정되었으며 유동과라핀/정제수/계면활성제의 계면장력은 두 벌크상 사이에서 계면활성제의 분배에 의존적이다. 3.9 wt% Tween 80의 수용액과 1.1 wt%의 Span 80을 용해한 유동과라핀 용액을 준비하고 정해진 부피의 수용액을 측정 접시에 넣고 유동과라핀 용액을 스포이드를 사용하여 수용액 위에 첨가하는 방법으로 계면장력을 측정하였다. 이때 수용액과 오일상의 부피 분율(ϕ)을 고려하여 측정 용액을 준비하였다. 준비된 용액을 3일 정도 방치하여 계면활성제가 분배될 수 있도록 한 후에 측정하였다.

2.4. 입자 크기, 다분산도 및 안정성 실험

평균 입경과 분포도는 dynamic light scattering 방법을 활용한 입자측정기(ELS-8000, Otsuka, Japan)를 사용하여 에멀전을 희석 없이 실온에서 측정하였다. 측정할 때의 산란각은 90°에서 진행하였다[16]. 에멀전의 안정성 실험은 시간 경과에 따른 에멀전의 입자 측정 이외에 상분리를 관찰하였다. 에멀전을 눈금이 있는 시험관에 넣고 분리되는 층의 부피를 시간 경과에 따

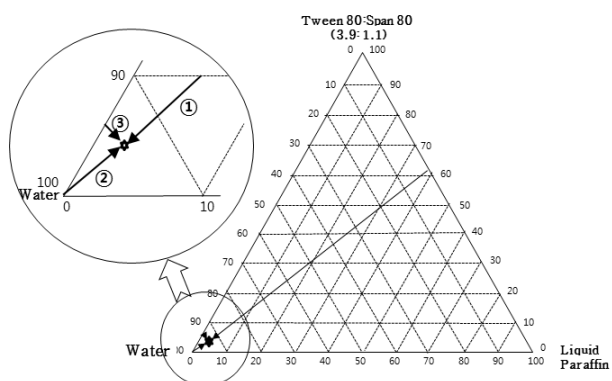


Figure 1. Presentation of the different emulsification procedures in the phase diagram of water/Tween 80+ Span 80 mixture/Liquid paraffin at 80 °C (in weight fractions). The three different emulsification methods, water phase poured into the oil phase (①), vice versa (②) and oil phase poured into water phase with surfactant mixture (③) are given by the arrows.

라 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 유화 입자에 대한 혼합 경로의 영향

동일한 조성을 갖지만 구성하고 있는 원료들의 첨가 순서에 따른 형성 에멀전의 입자 크기에 대한 연구는 반전유화, D상 유화, 액정 유화 등 다양한 명칭으로 연구되어왔다[1,9,15]. 본 절에서는 Figure 1과 같이 Tween 80과 Span 80의 조성비를 3.9 : 1.1로 하고 유동 파라핀과 정제수로 구성된 조성에 대하여 ①과 같이 유화제와 오일을 혼합하고 이것에 정제수를 첨가하는 경로, ②와 같이 유화제와 오일의 혼합액을 정제수에 첨가하는 경로와 ③과 같이 유화제를 정제수에 혼합하고 여기에 오일을 첨가하는 경로에 대하여 각각 80 °C와 실온(27 °C)에서 유화를 실시하였다.

Figure 2에 경로 ①, ②, 및 ③으로 제조된 에멀전 사진에서 보듯이 경로에 따른 현탁도의 차이가 뚜렷하며 Table 2에 나타난 것과 같이 유화온도는 80 °C로 하고 경로 ①로 제조된 에멀전은 평균 입자크기가 28.8 nm의 나노에멀전이 형성되었으며 경로 ②로 제조된 에멀전은 평균 입자크기가 96.7 nm 정도의 나노에멀전을 형성하였다. 그러나 경로 ③으로 제조된 에멀전은 제조 직후 상분리 초기 현상이 관찰되었으며 1일 후에는 완전한 상 분리로 입도를 측정할 수 없었다. 경로

Table 2. Average Droplet Diameter upon Emulsification Route

Emulsification Temperature (°C)	Route	Average droplet diameter (nm)
80	①	28.8
	②	96.7
	③	phase separation after 1 day

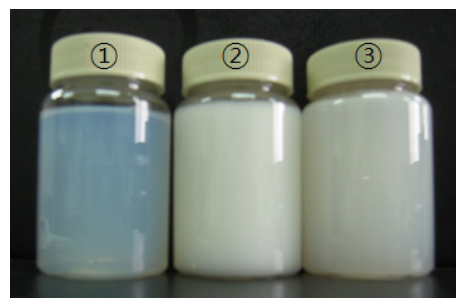


Figure 2. Photograph of nano-emulsions prepared of Tween 60/ Span 80/liquid paraffin/water system using different emulsification route at 80 °C (A): ①, (B): ②, (C): ③.

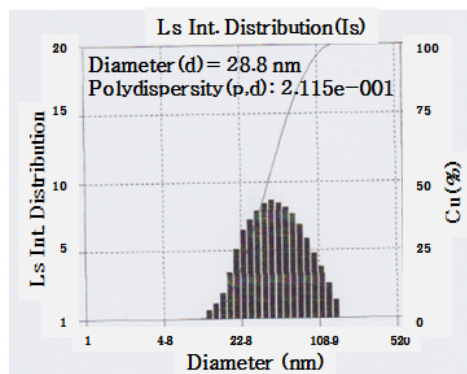


Figure 3. Droplet size distribution and polydispersity index determined by light scattering (ELS 8000).

②와 ③의 입자 크기의 차이는 혼합 시의 계면장력 차와 관련이 있는 것으로 생각된다. 즉 계면활성제가 오일상에 용해되어 있는 경우가 수용액상에 녹아 있는 경우에 비해 계면에서의 흡착량 및 속도 등에서 차이가 나며 이와 같은 현상이 입자 크기를 결정하는 중요한 요인으로 생각된다.

경로 ①에 의하여 형성된 나노에멀전의 입자 크기는 28.8 nm의 나타났으며 Figure 3에 입도 분포를 나타냈다. 입도 분포가 정규 분포를 보여준다.

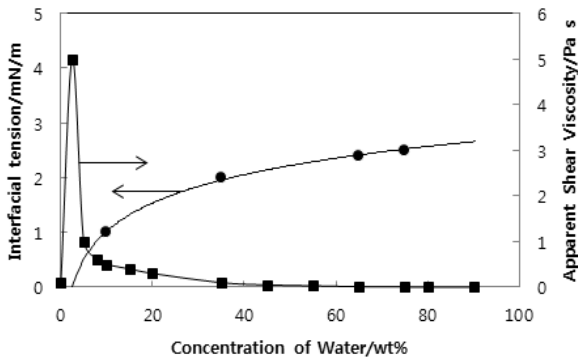


Figure 4. Variations in equilibrium interfacial tension as a function of ϕ_w (surfactant concentration = 5.0 wt%).

3.2. 혼합 경로에 따른 계면장력의 변화

유화에서 1 μm 정도의 작은 유화 입자 형성을 위해서는 높은 전단력이 요구된다. 그러나 계면장력이 아주 낮은 경우에는 자발적 유화가 일어나서 입자크기가 작은 에멀전을 얻을 수 있다. 따라서 혼합 경로에서 계면장력의 변화를 추적하는 것은 중요하다. 나노 에멀전 형성과 안정화 방법에 대한 논쟁이 있지만, 계면 장력이 중요한 역할을 한다는 것은 의심의 여지가 없다 [17]. 유화과정에서 상전이가 일어나면, 매우 낮은 계면 장력은 분산된 상이 쉽게 나노입자를 형성할 수 있게 한다. Figure 4에는 상 분율에 따른 계면장력의 변화를 나타냈다. 목표 에멀전의 계면 장력은 2.5 mN/m로 측정되었다. Figure 4로부터 상전이 유화에서의 계면장력 변화의 경향을 짐작할 수 있다. Figure 4로부터 ①번 경로는 낮은 계면장력을 통과하게 되고 이는 작은 입자크기를 갖는 에멀전을 형성하게 된다. 우리는 전상점 부근에서 본 실험에서 사용한 Du Nouy 계면장력 측정 장치로는 정확한 계면장력을 측정할 수는 없었다. 그러나 측정 결과는 분율이 0.05일 때 계면장력이 최소에 다다를 수 있음을 보여준다. ①번 경로는 상전이가 일어나는 경로이며 정제수가 계속 첨가되면 계면장력은 증가하게 된다. 또한 전상점 부근에서는 겔상을 보이며 점도가 높은 겔을 형성하였다가 수용액상이 점차 첨가되면서 겔상이 희석되며 나노에멀전을 형성하였다. 이러한 결과는 전상점 부근에서 겔과 같은 물질의 형성이 PIC 방법에 의한 미세한 오일 입자 형성에 중요한 역할을 할 수 있음을 시사한다. 아마도 이 겔형 물질은 높은 분산 상 부피 분율을 갖는 액정 결상 또는 이중연속상의 구조를 갖는 것으로 추정된다.

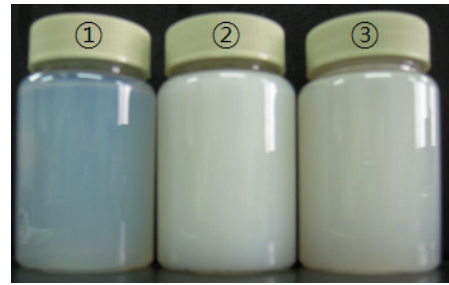


Figure 5. Photograph of nano-emulsions prepared from Tween 80/Span 80/liquid paraffin/water system using different emulsification route at 27 °C (A): ①, (B): ②, (C): ③.

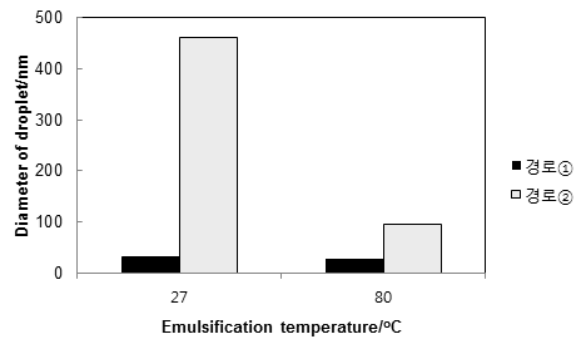


Figure 6. Comparison of diameter of droplets against mixing temperature upon different mixing temperature.

그럼에도 불구하고 이 중간 단계에서 계면 활성제, 오일 및 물 분자의 구조적 구성을 결정하고 이 구조와 상 전환 후 O/W 나노에멀전에서 생성된 입자 크기의 관계를 결정하기 위한 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

3.3. 유화 입자에 대한 혼합 온도의 영향

혼합 경로에 따른 혼합 온도의 영향을 검토하고자 3.1과 같은 조성과 경로의 실험을 실온에서 진행하였다. Figure 5와 같이 경로에 따른 에멀전의 거동은 80 °C에서 제조된 에멀전과 유사하였으나 입도 분포에서 차이를 보였다.

Figure 6에 유화 온도에 따른 경로별 유화 입자 크기를 나타내었다. 경로 ①의 경우 실온(27 °C) 및 80 °C 유화에서 각각 33.6 및 28.8 nm 정도의 크기를 보였으며 경로 ②에서는 462.1과 96.7 nm의 입자 크기를 보였다. 유화 온도가 증가함에 따라 계에 가해지는 에너지의 증가에 따른 입자 크기의 감소가 나타났으나 경로에 따른 차이보다는 영향력이 적었다. 이는 혼합 경로

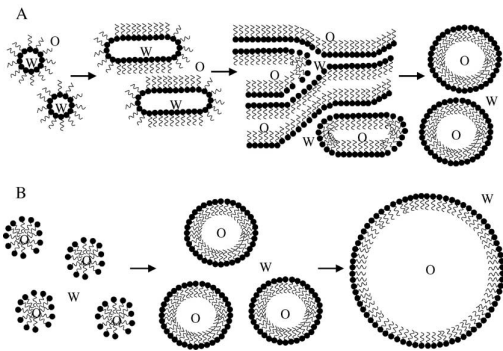


Figure 7. Scheme of the emulsification procedure (w: water phase; o: oil phase). Method A (①): first water-in-oil droplets are produced; those inverted structures merge together to give elongated and bicontinuous or lamellar structures that finally decompose into submicrometer-sized oil droplets. Method B (② and ③): small oil droplets are immediately produced and grow in size upon oil and surfactant addition. Their size is a result of the mechanical process only[16].

①은 Figure 7과 같이 혼합 초기에는 W/O 타입의 에멀전이 형성되며 정제수가 좀 더 첨가됨에 따라 점도가 높은 겔 상을 보이면서 상전이가 일어난다. 상전이가 일어나는 기작은 Figure 7과 같이 bicontinuous 상태를 보이며 Figure 4에서와 같이 계면장력이 최소에 이르러 입자 크기가 작은 나노에멀전을 형성하게 된다.

3.4. 나노에멀전의 안정성

Figure 8에 제조된 나노에멀전의 시간 경과에 따른 안정성 결과를 나타냈다. 4주간 입자 크기의 변화를 주기적으로 측정하였으며 입자 크기가 작은 나노에멀전은 입자 크기의 변화를 보이지 않았다. 경로 ①로 제조된 나노에멀전은 입자크기의 변화가 없었으나 경로 ②로 제조된 에멀전은 유화 온도에 따라 큰 차이를 보였으나 모두 입자크기의 증가를 보였으며 특히 실온에서 제조된 에멀전은 1주일 후에는 상분리로 입자크기의 측정이 무의미하였다.

4. 결 론

본 논문에서는 유동파라핀/Tween 80-Span 80/정제수로 구성된 동일한 조성을 서로 다른 혼합 경로와 혼합 온도를 변화하여 형성되는 에멀전의 상태를 측정하였다. 유화제를 오일에 용해하고 여기에 정제수를 첨가

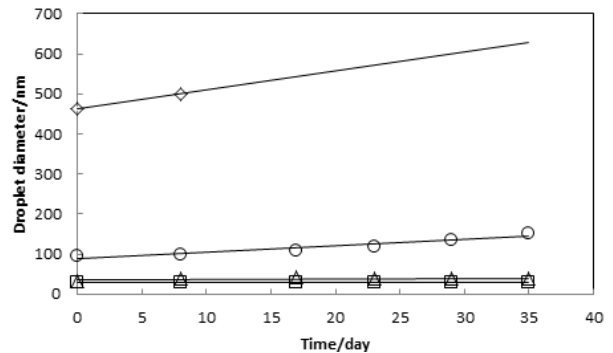


Figure 8. Droplet diameter of liquid paraffin/Tween 80-Span 80/water system using different mixing route against time varying mixing route and temperature, ◇: 경로 ②, 27 °C, ○: 경로 ②, 80 °C, △: 경로 ①, 80 °C, □: 경로 ①, 27 °C.

하는 경로 ①의 경우 가장 작은 에멀전 입자 크기를 보였으며 유화제를 오일에 용해하고 이것을 정제수에 첨가하는 경로 ②와 유화제를 정제수에 용해하고 여기에 오일을 첨가하는 경로 ③의 경우 입자크기가 큰 마이크로에멀전이 형성되었으며 시간 경과에 따라 입자 크기가 증가하여 상분리 현상을 보였다. 유화 온도를 실온과 80 °C에서 형성되는 유화입자 크기를 비교하였을 때 높은 온도에서 상대적으로 작은 입자크기의 에멀전이 형성되었으나 혼합 경로의 영향보다는 크지 않았다. 형성된 나노에멀전의 안정성은 1개월 정도의 시간 경과에 따라 입자크기의 변화가 관찰되지 않았으나 입자 크기가 마이크로에멀전 영역의 에멀전은 상분리 현상을 보여 불안정하였다. 이상의 결과로부터 나노에멀전 제형을 화장품 제형에 활용할 때 PIC 유화를 이용하여 에너지를 절약할 수 있는 시스템의 설계와 고가의 고압유화기를 설치하지 않고 제조가 가능할 것으로 생각된다.

Acknowledgement

본 과제는 전라북도 R&D 지원사업의 지원(20160427-C1-024)에 의해 수행되었습니다.

Reference

1. E. H. Kim and W. G. Cho, Stable liquid paraffin-in-water nanoemulsions prepared by phase in-

- version composition method, *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.*, **40**(2), 133 (2014).
2. N. Y. Yukuyama, D. D. M. Ghislene, T. J. A. Pinto, and N. A. Bon-Chacra, Nanoemulsion: process selection and application in cosmetics - a review, *Int. J. Cos. Sci.*, **38**(1), 13 (2016).
 3. C. Solans, P. Izquierdo, J. Nolla, N. Azemar, and M. J. Garcia-Celma, Nano-emulsions, *Curr. Opin. Colloid Inter. Sci.*, **10**(3-4), 102 (2005).
 4. C. Solans, I. Sole, A. Fernandez-Arteaga, J. Nolla, N. Azemar, J. M. Gutierrez, A. Maestro, C. Gonzalez, and C. M. Pey, Surfactant Science Series, Ed. Hidalgo-Alvarez Roque, 146, 457, Taylor and Francis Group (2010).
 5. J. M. Gutierrez, C. Gonzalez, A. Maestro, I. Sole, C. M. Pey, and J. Nolla, Nano-emulsions: new applications and optimization of their preparation, *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.*, **13**(4), 245 (2008).
 6. M. Antonietti and K. Landfester, Polyreactions in miniemulsions, *Prog. Polym. Sci.*, **27**(4), 689 (2002).
 7. J. M. Asua, Miniemulsion polymerization, *Prog. Polym. Sci.*, **27**(7), 1283 (2002).
 8. T. Delmas, H. Piraux, A. C. Couffin, I. Texier, F. Vinet, P. Poulin, M. E. Cates, and J. Bibette, How to prepare and stabilize very small nanoemulsions, *Langmuir*, **27**(5), 1683 (2011).
 9. F. Ganachaud and J. L. Katz, Nanoparticles and nanocapsules created using the ouzo effect: spontaneous emulsification as an alternative to ultrasonic and high-shear devices, *Chem. Phys. Chem.*, **6**(2), 209 (2005).
 10. A. Forgiarini, J. Esquena, C. Gonzalez, and C. Solans, Formation of nano-emulsions by low-energy emulsification methods at constant temperature, *Langmuir*, **17**(7), 2076 (2001).
 11. W. Liu, D. Sun, C. Li, Q. Liu, and J. Xu, Formation and stability of paraffin oil-in-water nano-emulsions prepared by the emulsion inversion point method, *J. Colloid Interf. Sci.*, **303**(2), 57 (2006).
 12. O. Sonnevile-Aubrun, D. Babayan, D. Bordeaux, P. Lindner, G. Rata, and B. Cabane, Phase transition pathways for the production of 100 nm oil-in-water emulsions, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **11**(1), 101 (2009).
 13. D. Morales, J. M. Gutierrez, M. J. Garcia-Celma, and C. Solans, A study of the relation between bicontinuous microemulsions and oil/water nanoemulsion formation, *Langmuir*, **19**(18), 7196 (2003).
 14. P. Izquierdo, J. Esquena, T. F. Tadros, J. C. Dederen, J. Feng, M. J. Garcia-Celma, N. Azemar, and C. Solans, Phase behavior and nano-emulsion formation by the phase inversion temperature method, *Langmuir*, **20**(16), 6594 (2004).
 15. E. H. Kim and W. G. Cho, Nano-emulsion formed with phospholipid-nonionic surfactant mixtures and its stability, *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.*, **40**(3), 221 (2014).
 16. C. Qian and D. J. McClements, Formation of nano-emulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size, *Food Hydrocoll.*, **25**(5), 1000 (2011).
 17. P. Fernandez, V. Andre, J. Rieger, and A. Kuhnle, Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion, *Colloids Surf. A, Physicochem. Eng. Asp.*, **251**(1), 53 (2004).