약제학회지(2005), 제 35 권 제 6 호
J. Kor. Pharm. Sci., Vol. 35, No. 6, 411-416 (2005)

비드밀과 고압 호모게나이저를 이용한 나노 분산체의 제조 및 자외선 차단 효과에 대한 연구

박상현 · 안정호* · 문권기* · 배덕환* · 김민수 · 이시범 · 이태완 · 우종수** · 황성주†

*충남대학교 약학대학, *앨트웰 코스메틱㈜, **한미약품㈜*

(2005년 8월 8일 접수 · 2005년 8월 29일 승인)

Study on the *In Vitro* Sun Protection Factor Effect of Nanosuspensions Prepared Using Bead Mill and High Pressure Homogenizer

Sang Hyun Park, Jeong Ho Ahn*, Kwon Ki Moon*, Duck Hwan Bae*, Min-Soo Kim, Sibeum Lee, Tae Wan Lee, Jong-Soo Woo and Sung-Joo Hwang†**

College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea
**Cosmetic R&D Center, Altwell Cosmetic Co., Daejeon 306-020, Korea*
***Hanmi Pharmaceutical Co., Ltd., Kyungkido 445-910, Korea*

(Received August 8, 2005 · Accepted August 29, 2005)

ABSTRACT–The aim of the present work was to prepare the nanosuspension of inorganic pigment which shows light reflection and scattering as efficient sunscreen. The zinc oxide (ZnO) was chosen as an inorganic pigment, and high pressure homogenizer and bead mill have been used for the preparation of nanosuspension. The ZnO nanosuspensions were characterized by particle size, *in vitro* sun protection factor (SPF) and UV transmittance. ZnO nanosuspension prepared by bead mill showed the average diameter of 119±4 nm, resulting in the high value of SPF (28.74±2.06, n=20), while that prepared by high pressure homogenizer showed the average diameter of 751±32 nm with the relative lower value of SPF (21.38±1.94, n=20). In addition, the film of ZnO nanosuspension prepared by bead mill was showed a high visible ray (VIS) transmittance, indicating a high transparency. In conclusion, a physically stable ZnO nanosuspension in cyclomethicone was successfully prepared using bead mill for the suitable sunscreen preparations.

Key words–Nanosuspension, Zinc oxide, Bead mill, High pressure homogenizer, Sunscreen, Sun protection factor (SPF)

피부 노화의 주된 원인으로 알려져 있는 자외선으로부터 피부를 보호하기 위하여 자외선 차단제를 사용하는 사람들이 증가하고 있기 때문에 많은 화장품 제조회사에서는 보다 차별화되고 우수한 자외선 차단제를 개발하기 위하여 활발하게 연구를 진행하고 있다. 최근의 자외선 차단제의 차단효과는 파장에 따라 UV 영역을 두 부분으로 나누어 평가되고 있는데, 파장이 짧은 UVB영역(290-320 nm)과 조금 더 긴 파장의 UVA 영역(320-400 nm)으로 구분하고 있다.[1-3] 보다 경쟁력이 우수한 자외선 차단제를 개발하기 위한 일환 중의 하나는 인체에 안전하고, 자외선 차단 지수가 높은 선크림을 개발하는 것이다.[4]

일반적으로 높은 자외선 차단 지수를 얻기 위해서 유기화합물을 다량 첨가하여 자외선을 흡수할 수 있는 시스템이 연구되어 왔다. 이러한 시스템에 주로 사용되는 유기자외선흡수제로는 살리실산 유도체 및 벤조페논 유도체,[5] 파라아미노안식향산 유도체 및 파라메톡시 계피산 유도체[6] 등이 있으며, 각각 자외선 영역에 대한 흡수 spectrum이 달라 이 성분들을 혼합해서 사용하면 자외선 차단 범위 및 효과를 증가시킬 수 있다. 그러나, 자외선 차단제의 종류와 사용량에 따라 피부 자극을 발생 시킬 수 있는 단점이 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위하여 최근에 연구되고 있는 자외선 차단제로는 티타늄옥사이드(TiO_2)[7]와 산화아연(ZnO)[8-12]과 같은 무기화합물 계통의 미립자 분체가 있다. 이러한 무기미립자 분체는 자외선을 산란시키는 기전으로 자외선을 차단하는 작용을 하며, 유기자외선 차단제를 사용할 때 나타날 수 있는 피부 또는 눈 등에 대한 자극을 극소화하여 부작용을 개선할 수 있는 장점이 있다.

그러나, 무기계 자외선 산란제의 단점으로는 유기 자외선 차단제에 비해 사용량이 많이 요구되며, 그에 따른 사용감의

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 042)821-5922, E-mail : sjhwang@cnu.ac.kr

저하, 백탁 현상 등을 들 수 있다.[13]

화장품에 사용되는 산화아연은 입자 크기에 따라 그 용도에 차이가 있는데, 입자 크기가 큰 것은 주로 색조 화장품의 피부 은폐용으로 사용되고 있으며, 초미립자 형태의 산화아연은 자외선 차단제로 응용되고 있다. 산화아연을 포함한 대부분의 분체들은 입자 크기가 작아질수록 반데르바알스힘 또는 입자들 사이의 가교력이 생겨 입자가 서로 뭉쳐진 2차 입자로 되어 겉보기 입자 크기가 커지는 경향이 있다.[14-16] 용매 중에서도 초미립자 형태의 산화아연은 2차 입자를 형성하기가 쉬워 본래의 기능인 자외선 산란 능력이 떨어지기 때문에 분산제를 사용하여 입자를 분산시켜, 2차 입자 형성을 막으려고 하고 있다. 용매 중에서 입자를 분쇄시키면 2차 입자에서 1차 입자 크기에 가까운 크기로 작아진다.[17] 1차 입자 크기에 가까워 지면 도포시 단위면적당 입자의 빈도 밀도가 증가하여 자외선 산란효과가 높아지고, 사용할 때에도 백탁 현상이 현저하게 감소한다. 이렇게 용매중의 입자를 1차 입자 크기에 가깝게 만들기 위해서는 강력한 분산기기가 필요하며 최근에는 이러한 분산 기기에 대해서 주목하고 있다. 예로써, 도료, 안료, 잉크, 페인트, 화장품, 식품, 의약품, 전자 재료에서는 분체를 분쇄 또는 분산시켜 사용해 왔으며, 분체의 입자를 sub-micron영역으로 만드는데 관심이 높아지고 있다.[18] 최근 산업 분야에서 초미립화 기술의 기초연구가 급격하게 발전하면서 차세대의 산업 혁명이라고 할 만큼 실용화에 박차를 가하고 있고 국가 간의 경쟁도 치열해지고 있다.[19]

본 연구에서는 분체의 분산 안정화에 이용되는 고압 호모게나이저(high pressure homogenizer)[20]와 비드밀(bead mill)[21-27]을 사용하여 무기자외선 차단제로 사용되고 있는 산화아연의 나노현탁액(nanosuspension)[28] 제제를 제조하고, 각 공정으로 제조한 분체의 입자 크기,[29] 동일 함량에서의 UV 투과율, *in vitro* SPF 및 백탁현상 등에 대해 비교 연구하였다.

실험 방법

시료

ZnO-350Si(4) (Zinc oxide 96%, Dimethicone 4%)는 Sumitomo Osaka Cement사 (Japan)로부터, Cyclomethicone 및 Dimethicone Copolyol 은 ShinEstu사 (Japan)로부터 구입하였다.

기기

High-speed disk(T.K Homodisper f-model, Tokushu Kika, Japan), 고압 호모게나이저(Microfludizer, M-110EHI, Microfluidics, MA, USA), 비드밀(bead mill, UAM-015, Kemco Kure, Japan), 전기영동 광산란측정기(Electrophoretic light scattering spectrophotometer, ELS-8000, Otsuka Electronics Co., Japan), SPF 290s Analyzer (Optometrics Inc., MA, USA), 자외부/가시부 분광광도계(UV 1601, Shimadzu, Japan) 및 주사전자현미경(scanning electron microscope, JSM-6700F, Jeol, Japan)을 사용하였다.

나노현탁액의 제조

ZnO-350Si(4) : Cyclomethicone : Dimethicone copolyol을 5.0 : 4.2 : 0.8의 중량비율로 칭량하여 high-speed disk에 넣어 5,000 rpm으로 30분간 전처리하여 예비 분산액을 제조하였다. 전처리한 시료의 일부는 고압 호모게나이저인 Microfluidizer(1,000 bar, 8회)로 처리하여 나노 현탁액을 제조하였고, 또 나머지 일부는 비드밀로 제조하였다. 본 실험에서 액체/고체인 분산액을 고압(max. 2,500 bar)으로 충돌시키는 Z자 형태인 Microfluidizer를 사용하였다. 또한 beads와 기계를 vessel에서 처리하는 비드밀을 사용하여 bead와 분산 매체의 유동 및 충돌에 의한 전단력이 분산력으로 작용하는 메커니즘으로 미립자화하였다. Bead로는 직경 0.1 mm의 zirconia bead(zirconium 95% 이상, True density 6.05 g/cm^3, Bulk density 3.08 g/cm^3)를 사용하였으며, 나노 현탁액은 5,500 rpm으로 8회 반복하여 제조하였다.

입도 분포 측정

입자의 크기 및 분포는 전기영동 광산란측정기(ELS-8000, Otsuka Electronics Co., Japan)를 이용하여 동적광산란법(dynamic light scattering method)으로 분석하였으며, 분산매는 cyclomethicone을 사용하였다.

In vitro SPF 측정[2,6]

Sample holder에 3 M Transpore® Tape(7.2 cm^2)를 부착시켜 SPF Analyzer의 calibration 및 감도를 조정하여 reference scan을 하였다. 고압 호모게나이저와 비드밀로 제조한 나노 현탁액을 micro-cream pipette을 이용하여 각각 2 μl/cm^{2}를 취하여, Transpore® tape 비접착면에 점적하고, 편평하게 바른 후 15분간 건조하였다. Xenon arc lamp를 사용하여 290~400 nm의 광원에서 한 개의 plate에서 1회 측정 시 마다 위치를 바꾸어 총 6회 scan을 하였다. 6회 scan과정을 시료마다 20회 반복 측정하여 평균값을 구하였다. SPF Analyzer는 약 30분간 예열 시킨 후, 사용하였다.

UV/VIS Transmittance 측정

분산기기에 따라 달리 처리한 산화아연 50% 나노 현탁액을 각각 2 g씩 4 × 6 size의 아크릴판에 도포후 균일한 힘으로 4 μm applicator로 3회 처리후 15분간 건조후 자외부/가시부 분광광도계를 이용하여 측정 파장영역 280~800 nm에서 투과도를 조사하였다.

결과 및 고찰

입도 크기

나노 현탁액으로 제조된 산화아연을 cyclomethicone으로 1/10로 희석하여 입자 크기를 측정해 본 결과 고압 호모게나이저로 처리한 나노 현탁액은 처리 횟수에 따른 입자 크기 변화에 대한 큰 차이를 나타내지 않았으며, 입자의 크기는 751±32 nm를 나타내었다. 비드밀로 처리한 경우 처리 횟수를 달리하여 입자 사이즈를 측정하였을 때, 3회 처리까지 입자의 미립화 정도가 컸으며 8회 처리한 나노 현탁액은 119±4 nm의 입경을 가졌다(Figure 1, 2).

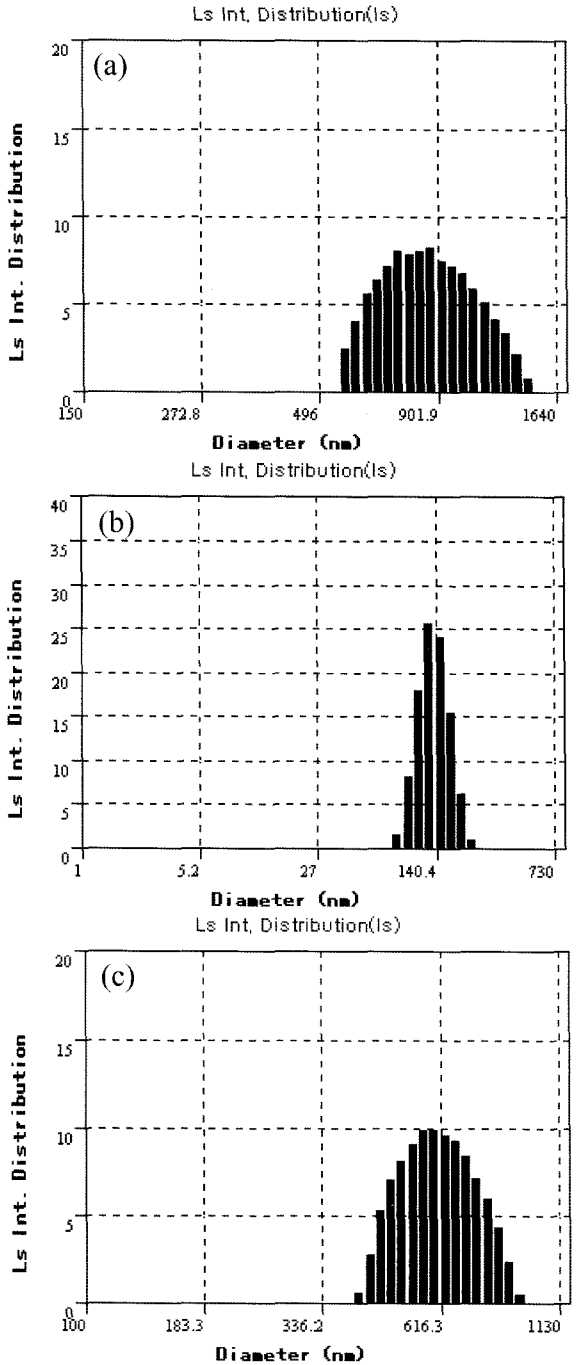

Figure 1–Light intensity distribution of raw material (a), ZnO nanosuspension prepared by bead mill at 60 min (b) and high pressure homogenizer at 8 passes (c).

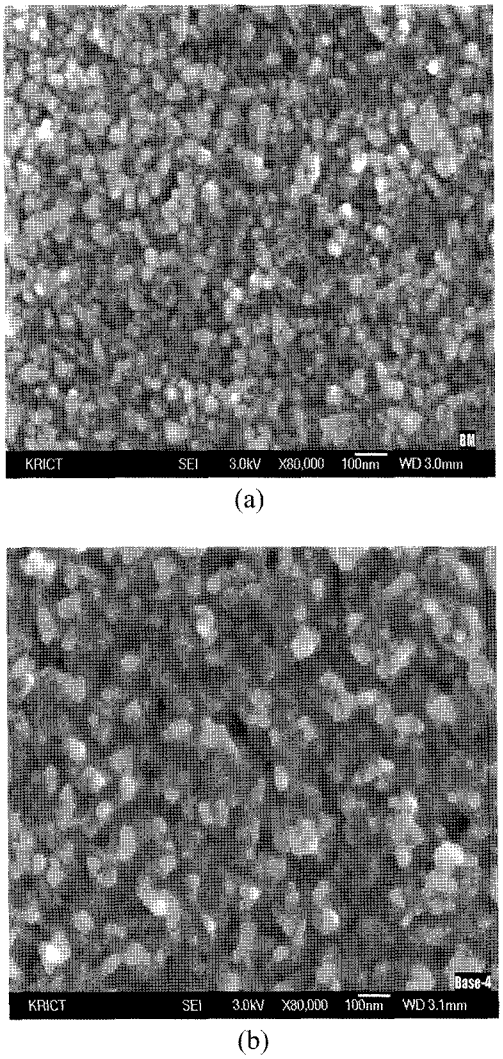

Figure 2–Scanning electron micrographs of ZnO nanosuspension prepared by bead mill at 60 min (a) and high pressure homogenizer at 8 passes (b).

Table I–*The Average Diameter and In Vitro SPF Values of ZnO Nanosuspension Prepared by Bead Mill and High Pressure Homogenizer*

	Raw material	Bead mill		High pressure homogenizer	
		10 min	60 min	1 pass	8 passes
In vitro SPF	-	25.82±2.56	28.74*±2.06	19.54±2.34	21.38±1.94
Average diameter[a]	876±84 nm	272±22 nm	119±4 nm	842±53 nm	751±32 nm
Polydispersity Index[a]	0.55±0.22	0.32±0.15	0.27±0.05	0.54±0.20	0.51±0.12

*$P<0.05$, significantly different compared to the ZnO nanosuspension prepared by high pressure homogenizer (mean±S.D., n=20).
[a]analysis results of cumulant method[31] by measurement of dynamic light scattering (mean±S.D., n=3).

In vitro SPF

High pressure homogenizer와 비드밀을 사용하여 산화아연 나노 현탁액을 제조한 시료에 대한 *in vitro* SPF를 비교한 결과 고압 호모게나이저로 처리한 산화아연 나노 현탁액은 21.38±1.94이었다. 반면에, 산화아연를 비드밀로 처리하여 조제한 시료의 *in vitro* SPF의 평균값은 28.74±2.06이었다. 동일한 산화아연 함량에 대한 다른 수치를 나타낸 것은 산화아연의 미립자 정도가 UV 산란에 영향을 미친 것으로 생각된다(Table I). 즉, 산화아연의 입자의 크기가 작아 질수록 *in vitro* SPF는 증가되는 것으로 생각된다.

UV/VIS Transmittance

Figure 3과 4에서 보는 바와 같이, 산화아연의 UV/VIS 흡수에 대한 임계 파장은 381 nm으로 나타났으며, 이는 Diffey[2] 등이 보고한 382 nm와 유사한 결과이다. 분산기기에 따른 산화아연 나노 현탁액을 조제하였을 때, 고압 호모게나이저로 처리한 나노 현탁액의 VIS transmittance[30]는 나노 현탁액의 조제과정에서 처리 횟수를 증가시킴에 따라 증가하였으며, 가시광선 영역 (400-800 nm)에서 40~70%의 투과도를 나타내었다 (Figure 3). 비드밀로 처리한 나노 현탁액의 VIS transmittance는 3회 이상 처리하였을 때 가시광선 영역에서 100%에 가까운 투과도에 도달하였다 (Figure 4). 이는 비드밀 처리를 한 산화아연 나노 현탁액에서 백탁현상이 현저히 감소되어 투명성[9]이 증가함을 보여준다. Figure 5는 처리 상

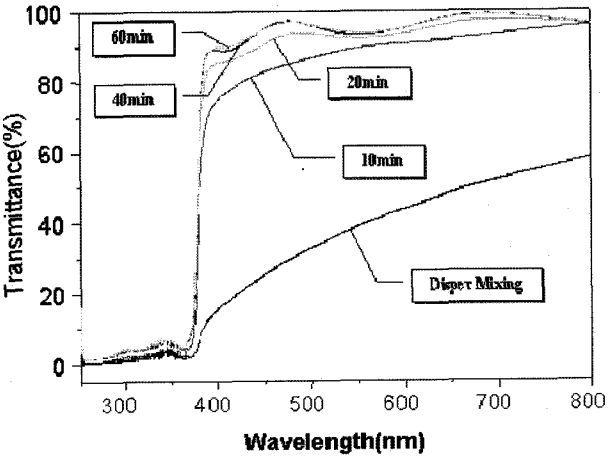

Figure 4–UV/VIS Transmittance of film of ZnO nanosuspension prepared by bead mill.

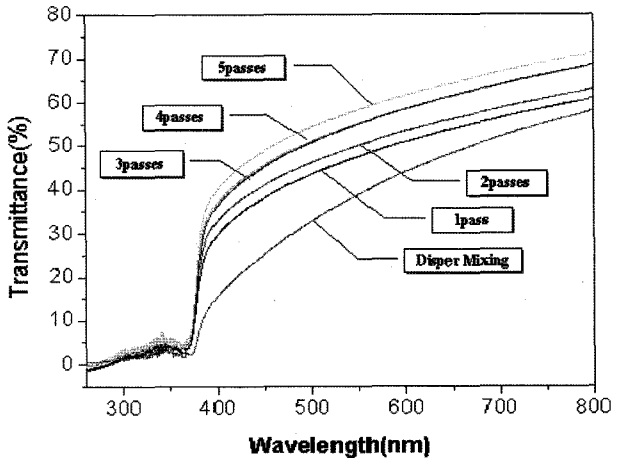

Figure 3–UV/VIS Transmittance of film of ZnO nanosuspension prepared by high pressure homogenizer.

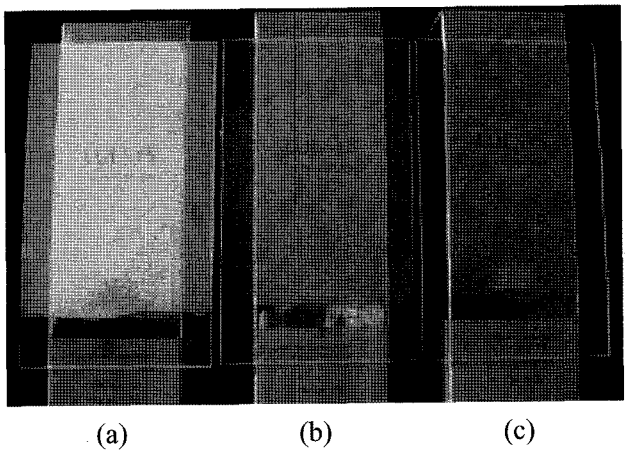

Figure 5–Photographs of transparency of films of ZnO suspension prepared by high speed disk (a), high pressure homogenizer at 8 passes (b) and bead mill at 60 min (c).

태에 따라 육안으로 관찰한 것을 나타낸 것 이다. 특히 비드밀로 처리한 나노 현탁액을 가지고 가시광선 영역에서의 투과율에 대한 조사결과, 효과가 가장 우수한 것으로 나타났다. 이는 각각 분산기기에 따라 달리 처리된 동량의 나노 현탁액을 함유한 동일한 처방의 자외선 차단제를 실험하였을 때 백탁 현상이 가장 낮은 수준의 양호한 결과를 얻을 수 있음을 제시한다. 자외선 차단제의 처방을 구성하는 성분 중에서 분체가 차지하는 기능적, 사용감적인 면은 매우 많은 비중을 차지하고 있는 바 분체의 미립화를 통하여 보다 효과적인 자외선 차단제를 개발하는데 도움이 된다고 할 수 있다.

결 론

본 연구에서는 자외선으로 인한 피부 노화, 흑화를 예방할 수 있는 자외선 차단제의 개발에 있어서 무기분체의 초미립화를 통한 보다 효과적이며 높은 자외선 방어지수를 얻고자 분산 기기에 따른 무기분체의 물성변화 및 그에 따른 SPF 지수와의 상관관계를 알아본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 고압 호모게나이저로 처리한 산화아연은 평균 751±32 nm 정도의 입자로서 박막법 형태로 UV/VIS transmittane를 측정하였을 때 가시광선영역에서 40~70%의 투과율을 보였다.

2. 0.1 mm의 zirconia bead를 사용하여 8회 처리한 산화아연 나노 현탁액은 119±4 nm 정도의 입자로 미세화되었으며, 동일한 방법으로 가시광선 영역의 투과율을 조사한 결과 100%에 가까운 높은 투과율을 나타내었다.

3. *In vitro* SPF 측정에서 나타난 분산기기에 따른 측정값에서도 분체의 초미립화 정도가 높은 비드밀처리를 한 산화아연 나노 현탁액이 28.74±2.06으로 고압 호모게나이저으로 처리한 산화아연 나노 현탁액의 21.38±1.94 보다 양호하였다.

감사의 말씀

본 연구는 한국과학재단 국가지정연구실사업(과제번호: M1-0302-00-0016)과 무기자외선 차단제를 함유하는 W/O형 선크림개발에 관한 제12차 산・학・연 공동기술개발 지역컨소시엄 사업의 지원에 의하여 이루어진 것임.

참고문헌

1) J. Schulz, H. Hohenberg, F. Pflucker, E. Gartner, T. Will, S. Pfeiffer, R. Wepf, V. Wendel, H. Gers-Barlag and K.-P. Wittern, Distribution of sunscreens on skin, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **54**, S157-S163 (2002).

2) B.L. Diffey, P.R. Tanner, P.J. Matts and J. Frank Nash, *In vitro* assment of the broad-spectrum ultraviolet protection of sunscreen products, *J Am. Acad. Dermatol.*, **43**, 1024-1035 (2000).

3) V. Brezová, S. Gabćová, D. Dvoranová, A. Staško, Reactive oxygen species produced upon photoexcitation of sunscreens containing titanium dioxide, *J. Photochem. Photobiol. Chem.*, **79**, 121-134 (2005).

4) D.A. Godwin, N-H. Kim and L.A. Felton, Influence of Transcutol CG® on the skin accumulation and transdermal permeation of ultraviolet absorbers, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **53**, 23-27 (2002).

5) T. Koda, T. Umezu, R. Kamata, K. Morohoshi, T. Ohta and M. Morita, Uterotrophic effects of benzophenone derivatives and a p-hydroxybenzoate used in ultraviolet screens, *Environ. Res.*, **98**, 40-45 (2005).

6) S. Pattanaargson, T. Munhapol, P. Hirunsupachot and P. Luangthongaram, Photoisomerizaton of octyl methoxycinnamate, *J. Photochem. Photobiol. Chem.*, **161**, 269-274 (2004).

7) S. Stiller, H. Gers-Barlab, M. Lergenmueller, F. Pflucker, J. Schulz, K.P. Wittern and R. Daniels, Investigation of the stability in emulsions stabilized with different surface modified titanium dioxides, *Colloid Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, **232**, 261-267 (2004).

8) L. Dong, Y.C. Liu, Y.H. Tong, Z.Y. Xiao, J.Y. Zhang, Y.M. Lu, D.Z. Shen and X.W. Fan, Preparation of ZnO colloids by aggregation of the nanocrystal subunits, *J. Colloid Interface Sci.*, **283**, 380-384 (2005).

9) F. Bai, P. He, Z. Jia, X. Huang and Y. He, Size-controlled preparation of monodispersed ZnO nanorods, *Mater. Lett.*, **59**, 4-7 (2005).

10) T.-H. Moon, M.-C. Jeong, W. Lee and J.-M. Myoung, The fabrication and characterization of ZnO UV detector, *Appl. Surf. Sci.*, **240**, 280-285 (2005).

11) H.S. Bae and S. Im, Ultraviole detecting properties of ZnO-based thin film transistors, *Thin Solid Films*, **469-470**, 75-79 (2004).

12) A. Mycielski, L. Kowalczyk, A. Szadkowski, B. Chwalisz, A. Wysmolek, R. Stepniewski, J.M. Baranowski, M. Potemski, A. Witowski, R. Jakiela, A. Barcz, B. Witkowska, W. Kaliszek, A. Jedrzejczak, A. Suchocki, E. Lusakowska and E. Kaminska, The chemical vapour transport growth of ZnO single crystals, *J. Alloy. Compd.*, **371**, 150-152 (2004).

13) 안성연, 배지현, 이해광, 분성준, 장이섭, *In vitro* SPF 측정법에 관한 연구, 대한화장품학회지, **30(1)**, 129, (2004).

14) Temple C. Patton, Paint flow and pigment dispersion, 468, John Wiley & Sons (1979).

15) 강석호, 분체공학, 희중당, p261 (1995).

16) T. Tsuritani 외, 공업분산기술, 일간공업신문사, p96 (1986).

17) 서태수외12명, 안료화학, ㈜학술정보, p180 (2001).

18) 나노테크놀로지입문, Ohmsa, p41 (2002).

19) (사)일본분체공업기술협회, 분체혼합기술, p90 (2001).

20) A. Lamprecht, N. Ubrich, M. Hombreiro Pérez, C.-M. Lehr,

M. Hoffman and P. Maincent, Biodegradable monodispersed nanoparticles prepared by pressure homogenization-emulsification, *Int. J. Pharm.*, **184**, 97-105 (1999).
21) J.M. Perrier-Cornet, P. Marie and P. Gervais, Comparison of emulsification efficiency of protein-stabilized oil-in-water emulsions using jet, high pressure and colloid mill homogenization, *J. Food Eng.*, **66**, 211-217 (2005).
22) C. Frances, On modelling of submicronic wet milling processes in bead mills, *Powder Technol.*, **143-144**, 253-263 (2004).
23) H. Bel Fadhel and C. Frances, Wet batch grinding of alumina hydrate in a stirred bead mill, *Powder Technol.*, **119**, 257-268 (2001).
24) S. Molina-Boisseau and N. Le Bolay, The mixing of a polymeric powder and the grinding medium in a shaker bead mill, *Powder Technol.*, **123**, 212-220 (2002).
25) H. Bel Fadhel, C. Frances and A. Mamourian, Investigations on ultra-fine grinding of titanium dioxide in a stirred media mill, *Powder Technol.*, **105**, 362-373 (1999).
26) A. Heim and M. Solecki, Disintegration of microorganisms in a bead mill with a multi-disk impeller, *Powder Technol.*, **105**, 389-395 (1999).
27) K. Belaroui, M.N. Pons, H. Vivier and M. Meijer, Wet grinding of gibbsite in a bead-mill, *Powder Technol.*, **105**, 396-405 (1999).
28) K.P. Krause and R.H. Muller, Production and characterisation of highly concentrated nanosuspensions by high pressure homogenisation, *Int. J. Pharm.*, **214**, 21-24 (2001).
29) S.A. Wissing and R.H. Muller, The development of an improved carrier system for sunscreen formulations based on crystalline lipid nanoparticles, *Int. J. Pharm.*, **242**, 373-375 (2002).
30) F. Urbach, The historical aspects of sunscreens, *J. Photochem. Photobiol. Biol.*, **64**, 99-104 (2001).
31) D.E. Koppel, Analysis of macromolecular polydispersity in intensity correlation spectroscopy: the method of cumulants, *J. Chem. Phys.*, **57**, 4814-2816 (1972).