

## 인지질-비이온계면활성제 혼합물로 형성된 나노에멀전과 이의 안정성

조 완 구<sup>†</sup> · 김 은 희

전주대학교 의과대학 기초의과학과  
(2014년 2월 4일 접수, 2014년 2월 13일 수정, 2014년 2월 20일 채택)

### Nano-emulsion Formed with Phospholipid-Nonionic Surfactant Mixtures and its Stability

Wan Goo Cho<sup>†</sup> and Eun Hee Kim

College of Medical Science, Jeonju University, 303 Cheonjam-ro, Wansan-gu, Jeonju 560-759, Korea  
(Received February 4, 2014; Revised February 13, 2014; Accepted February 20, 2014)

**요약:** 본 연구에서는 인지질-비이온계면활성제의 혼합계면활성제를 이용하여 옥틸도데실미리스테이트를 조성 상전이 유화법으로 O/W 타입 나노에멀전을 제조하였다. 혼합 계면활성제와 오일의 농도 비가 1 : 1 정도의 매우 좁은 영역에서 나노에멀전이 형성되었다. 비이온계면활성제로만 제조된 나노에멀전과는 달리 전상점 이후에 수용액상을 첨가함에 따라 에멀전의 입자 크기가 감소하였다. 제조된 나노에멀전은 실온에서 한 달 이상 안정하였다. 인지질을 함유하고 저에너지 유화법으로 제조된 나노에멀전 제형은 화장품의 기재로서 널리 사용될 수 있다.

**Abstract:** In this study, O/W type nano-emulsions were prepared by phospholipid-nonionic surfactant mixtures and octyldodecylmyristate using the phase transition low-energy emulsification method. The nano-emulsions were formed only in the very narrow area of the concentration of mixed surfactant and oil molar ratio of around 1 : 1. The particle size of the emulsions was decreased as adding the aqueous phase into the emulsions after phase inversion point unlike the emulsions formed only with nonionic surfactant. Nano-emulsion was stable at room temperature for more than a month. Thus, the nano-emulsions containing phospholipids can be widely used as a cosmetic formulations.

**Keywords:** nano-emulsion, phospholipid, stability, electric conductivity, Ostwald ripening

## 1. 서 론

나노에멀전은 입경이 20 ~ 200 nm 정도로 입자 크기가 작기 때문에 반투명한 외관을 갖는다[1-3]. 따라서 마이크로에멀전과는 다르게 나노에멀전은 열역학적으로 안정하지 않지만 장시간 안정할 수 있으며 산업적으로 중요한 의미가 있는 계면활성제의 농도가 낮기 때문에 의약품, 화장품 및 농업 분야에서 다양하게 응용되고 있다[4-6]. 일반적으로 나노에멀전은 전단력을 가진 믹서를 이용하여 계에 기계적인 에너지를

를 가하는 고압 유화기 또는 초음파 등과 같이 높은 에너지를 사용하는 방법으로 제조된다[7-8]. 그러나 저 에너지를 이용한 유화 방법이 최근 관심의 대상이 되고 있는데 이는 상전이 방법과 자발적 유화 방법 등이며 이들 방법은 미세한 입경의 나노에멀전 제조는 물론 입자 크기 분포의 폭이 적은 에멀전을 얻을 수 있다[9-12].

인지질은 세포의 가장 중요한 구성성분 중의 하나이고 특히 세포막과 관련하여 중요한 역할을 담당하고 있다. 화장품의 유화제로 널리 사용되고 있으며 특히 경피 흡수 촉진 제형의 개발에 유리한 작용을 할 수 있다[13]. 그러나 인지질을 이용한 나노에멀전의 연구는 많지 않으며 이는 인지질의 용해도와도 관련

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: wgcho@jj.ac.kr)

**Table 1.** Materials for Experiments

Chemical name	Trade name	Company
Hydrogenated Lecithin	Nikkol Lecinol S-10	Nikko Chem. (Japan)
Polyoxyethylene Sorbitan Monooleate	Tween 80	Croda (UK)
Sorbitan Monooleate	Span 80	Croda (UK)
Octyldodecylmyristate	ODM	Kokyu Alcohol (Japan)
Ethylenediaminetetraacetic acid-2Na	EDTA-2Na	AKZO (Netherlands)
Methyl Paraben	Danisol M	Nipa (Japan)

이 있으며 관련 연구들도 초음파유화기 또는 고압유화기를 이용하여 나노에멀전을 제조하였다[14,15].

본 논문에서는 인지질과 비이온계면활성제의 혼합계면활성제를 이용하여 옥틸도데실미리스테이트를 상전이 방법에 의해 나노에멀전을 제조하고 그에 따른 특성을 평가하고자 하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 시약

사용된 시료는 Table 1에 나타난 것과 같은 화장품용 등급의 원료를 사용하였다. 증류수는 Milli-Q (Millipore Co., Milford, MA, USA) 장치를 통과시킨 것을 사용하였다. Lecinol S-10은 Nikko Chem.사의 제품으로 Phosphatidylcholine이 25 - 30% 함유하고 있으며 나머지는 phosphatidylinositol, phosphatidic acid, phosphatidylethanolamine으로 구성되어 있으며 정제 없이 사용하였다.

### 2.2. 실험 방법

#### 2.2.1. O/W 나노에멀전의 제조

조성 상전이(phase inversion composition, PIC) 방법을 이용하여 나노에멀전을 제조하였다. 먼저 오일 상으로 인지질, Tween 80, Span 80, 메틸파라벤을 옥틸도데실미리스테이트에 70 °C에서 용해하였다. 다음으로 수용액상은 물에 EDTA-2Na를 용해하여 준비하였다. 유화는 유상에 수용액상을 70 °C에서 스포이드를 이용하여 2 mL/min의 속도로 첨가하면서 교반하였으며 300 rpm으로 고정하였다. 유화가 끝나면 시료를 물

중탕에서 실온으로 냉각하였다.

첫 번째는 Lecinol S-10의 농도에 따라 형성되는 에멀전의 입자 크기를 측정하였다. 혼합계면활성제 농도를 5 wt%로 고정하고 오일의 함량을 변화하면서 에멀전을 제조하고 입도 분포를 측정하였다.

두 번째로는 혼합계면활성제와 오일의 함량을 각각 5 wt%로 고정하고 첨가되는 수용상의 농도에 따른 에멀전의 거동을 관찰하였다.

세 번째로는 제조된 나노에멀전의 안정성은 시간 경과에 따라 입자크기의 변화를 관찰하여 평가하였다.

#### 2.2.2. 입자 크기, 다 분산도 및 안정성 실험

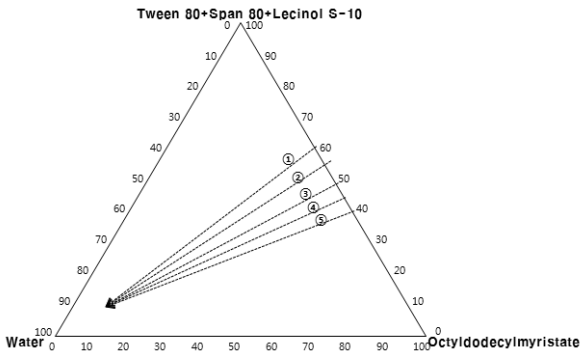
평균 입경과 분포도는 Dynamic light scattering 방법을 활용한 입자측정기(ELS-8000, Otsuka, Japan)를 사용하여 에멀전을 희석 없이 실온에서 측정하였다. 측정할 때의 산란각은 90 °에서 진행하였다.

#### 2.2.3. 전기전도도 측정

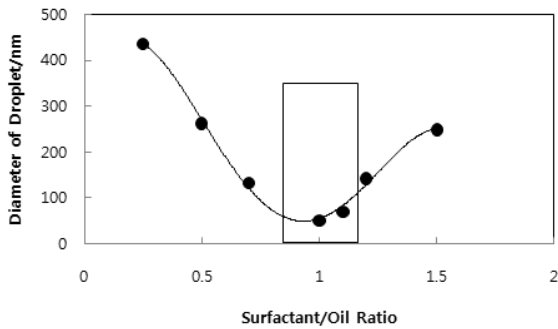
전기전도도는 W/O에서 O/W로 전상되는 영역을 확인하기 위해서 측정하였다. 유상에 수용액상을 자석 교반기를 이용하여 혼합하면서 측정하였다. 측정은 휴대용 전기전도도 측정기를 이용하였다(Accumet AP85; Fisher Scientific, Pittsburgh, USA).

#### 2.2.4. 점도 측정

점도는 Rheometer (Kinexus 회전 점도계, Malvern, UK)를 사용하였다. 모든 측정은 서로 다른 전단속도(0.1 - 100 s<sup>-1</sup>) 조건으로 실온에서 측정하였으며, 겔보기 전단 점도(apparent shear viscosity, h)는 고정된 전단속도, 10 s<sup>-1</sup>에서 측정하여 보고하였다.



**Figure 1.** PIC emulsification process on the phase diagram of the system of Tween 80/ Span 80/ Lecinol S-10/ ODM/ water.

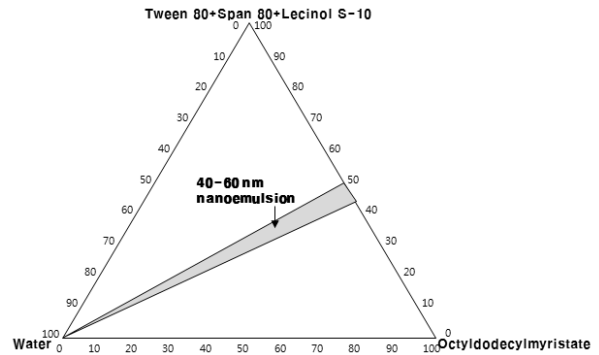


**Figure 2.** Effect of surfactant to oil ratio on the droplet diameter produced by the PIC method. Emulsions were prepared using 5.0 wt% of mixed surfactant, 1.25 - 7.5 wt% oil and 88 - 93 wt% water phase.

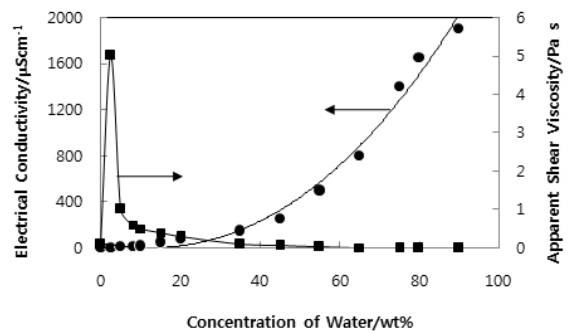
### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 혼합계면활성제와 오일의 농도에 따른 나노에멀전의 입도 분포

인지질 계통의 유화제는 피부 친화적이며 경피 흡수에 도움을 줄 수 있는 계면활성제이지만 용해성이 낮아 화장품의 제형에의 혼입이 제한적이다. 본 연구에서 사용된 Lecinol S-10을 유동파라핀, 실리콘오일 및 에스테르 오일에 용해성을 측정하고 비교적으로 에스테르 오일류의 용해성이 높았으며 본 연구에서는 옥틸도데실미리스테이트를 선정하였다. 혼합계면활성제는 Tween 80, Span 80 및 Lecinol S-10의 비율을 각각 3.23 : 1.1 : 0.67로 고정하고 Figure 1과 같이 혼합계면활성제와 오일의 비율을 변화하여 PIC 유화 방



**Figure 3.** Nanoemulsion formed region on the phase diagram of the system : mixed surfactant (Tween 80, 3.23 wt%; Span 80, 1.1 wt%; Lecinol S-10, 0.67 wt%)/ ODM/ water.



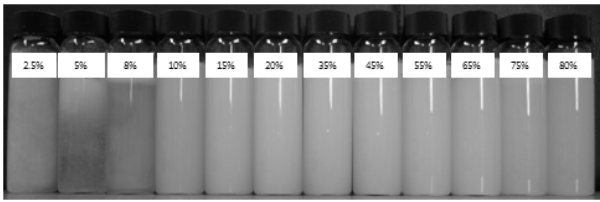
**Figure 4.** Effect of increasing water concentration on the electrical conductivity and apparent shear viscosity of emulsions at a fixed surfactant-to-oil ratio of 1.0.

법으로 에멀전을 제조하였다.

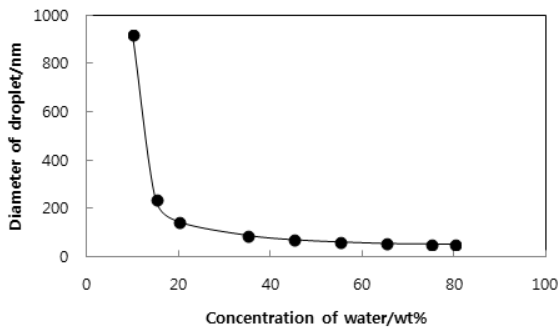
Figure 1의 과정으로 에멀전을 제조하여 입도 분포를 측정하고 그 결과를 Figure 2에 나타내었다. 오일의 비율이 낮은 ①과 ② 과정으로 제조된 에멀전의 입자크기는 250 nm보다 크게 형성되었으며 Lecinol S-10의 용해도가 낮아 에멀전 제조 후 Lecinol S-10이 석출되었다. 오일의 비율이 높은 ④와 ⑤ 과정으로 제조된 에멀전의 입자크기는 150과 250 nm 수준이었다. 그러나 ③의 과정으로 제조된 에멀전은 50 nm 정도의 미세한 입도 분포를 갖는 나노에멀전이 형성되었다. Figure 3과 같이 혼합계면활성제와 오일의 비율이 1.0을 전후로 하는 좁은 영역에서 나노에멀전을 형성하였다.

#### 3.2. 수용액상 첨가에 따른 나노에멀전의 거동

우선 계면활성제로서 Tween 80, Span 80 및 Lecinol



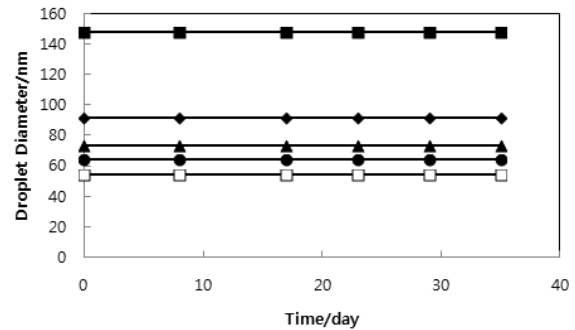
**Figure 5.** Effect of increasing water concentration on the appearance of emulsions at a fixed surfactant-to-oil ratio of 1.0.



**Figure 6.** Effect of increasing water concentration on the droplet diameter of emulsions at a fixed surfactant-to-oil ratio of 1.0.

S-10, 오일로서 ODM 그리고 EDTA-2Na 및 메틸파라벤을 함유한 수용액상을 포함하는 혼합계면활성제-오일-물 계의 상 거동을 평가하였다. 이들 계들은 PIC 유화를 이용하여 작은 입자의 에멀전을 형성하는데 어떤 영향을 미치는지 결정하기 위하여 다른 계면활성제-오일 비율(SOR = 0.25, 0.5, 1, 1.2, 1.5)들을 이용하였다. 오일과 계면활성제를 먼저 혼합하고 수용액상이 최종 농도가 될 때까지 자석 교반기를 이용하여 서서히 첨가하였다. 시료의 외관과 전기전도도를 수용액상의 농도를 증가시키면서 측정하였다(Figure 4). 계면활성제와 오일의 혼합물은 투명하였으며 낮은 전기전도를 나타냈으며 상대적으로 낮은 점도를 보였다.

일반적으로 서로 다른 SOR에서도 정성적으로는 유사한 거동을 보였으며 초기에는 낮은 점도의 외관을 보이다가 수용액상이 첨가됨에 따라 높은 점도를 보이고 수용액상이 더 첨가되면 점도가 낮아지는 거동을 보였다. 소량의 수용액상이 첨가되었을 경우 여전히 낮은 전기전도도를 보이는 것으로 미루어 여전히 외상이 오일임을 알 수 있으나 수용액상이 첨가됨에 따라 점진적으로 전기전도도가 증가하였다. 이는 계



**Figure 7.** Droplet diameter against time obtained in system of emulsions at a fixed surfactant-to-oil ratio of 1.0 and variance of water content, ■ : 20 wt%, ◆ : 35 wt%, ▲ : 45 wt%, ● : 55 wt%, □ : 80 wt%.

면활성제의 농도 저하에 따른 현상으로 생각된다. 처음에는 수용액상의 농도가 증가함에 따라 점도가 급격히 증가하는데 이러한 시점은 W/O에서 O/W로의 전상과 일치한다[16]. 초기에는 물의 수용액상의 농도가 증가함에 따라, W/O 에멀전에서 수용액상의 부피가 증가함에 따라 점도가 급격히 증가하며 일정 수준에 이른 후 수용상이 첨가됨에 따라 점도는 감소하게 된다. 수용액상을 첨가하는 도중에 급격한 점도의 상승은 액정이 생성되거나 높은 분산상에 의한 다중 에멀전의 생성에 기인한 것으로 생각된다[16].

Figure 5에서 수용액상의 농도가 증가함에 따라 변화하는 에멀전의 외관을 나타냈다. 수용액상이 8 wt%까지는 투명한 겔 형태를 보이며 Figure 4와 같이 전기전도도도 큰 변화를 보이지 않았다. Figure 6에는 희석에 따른 입자 크기의 변화를 관찰하였다.

전상 직후로 생각되는, 수용액상을 10 wt% 정도 첨가하였을 때는 완전한 오일의 입자가 생성되기 전으로 액정의 네트워크 구조가 분산된 형태를 나타내며 입자 크기가 900 nm 정도를 보였다[17]. 수용액상이 더욱 첨가됨에 따라 입자 크기가 급격히 감소하다가 그 이후의 감소폭은 완만하였으나 수용액상이 첨가되면서 감소되는 현상은 관찰할 수 있었다. 이와 같은 결과는 Lecinol S-10을 포함하지 않는 비이온계면활성제 계에서 보이는 즉 입자가 형성되면 그 다음 과정은 단지 휘석 과정으로 입자 크기가 변하지 않는 결과와는 다른 거동을 보였다[18].

### 3.3. 나노에멀전의 안정성

Figure 4에서 제조된 에멀전의 시간 경과에 따른 안정성을 관찰하였다. 5주간 입자 크기의 변화를 주기적으로 측정하였으며 Figure 7과 같이 변화를 보이지 않았다. 이는 사용된 옥틸도데실미리스테이트의 용해성이 낮아 Ostwald ripening으로 설명되는 안정성 변화에 영향을 받지 않는 것으로 생각되었다.

## 4. 결 론

인지질-비이온계면활성제의 혼합계면활성제를 이용하여 옥틸도데실미리스테이트를 조성 상전이 유화 방법으로 O/W 타입 나노에멀전을 제조하여 관찰한 결과 하기의 결론을 얻을 수 있었다.

1. 혼합 계면활성제와 오일의 농도 비가 1 : 1 정도의 매우 좁은 영역에서 나노에멀전이 형성되었다.
2. 비이온계면활성제로만 제조된 나노에멀전과는 달리 전상점 이후에 수용액상을 첨가함에 따라 에멀전의 입자 크기가 감소하였다.
3. 제조된 나노에멀전은 실온에서 한 달 이상 안정하였다.
4. Lecinol S-10을 함유하고 저에너지 유화법으로 제조된 나노에멀전 제형은 화장품의 기재로서 널리 사용될 수 있다.

## Acknowledgement

This study was supported by a grant of the Korea Healthcare technology R & D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (Grant No. HN12C0056).

## Reference

1. 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 146, ed. H. A. Roque, 457, CRC Press, New York (2010).
2. Solans, P. Izquierdo, J. Nolla, N. Azemar, and M. J. Garcia-Celma, Nano-emulsions, *Curr. Opin. Colloid Inter. Sci.*, **10**, 102 (2005).
3. 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 Inter. Sci.*, **13**, 245 (2008).
4. G. Caldero, M. J. Garcia-Celma, and C. Solans, Formation of polymeric nano-emulsions by a low-energy method and their use for nanoparticle preparation, *J. Colloid Inter. Sci.*, **353**, 406 (2011).
5. L. Wang, J. Dong, J. Chen, J. Eastoe, and X. Li, Design and optimization of a new self-nano-emulsifying drug delivery system, *J. Colloid Inter. Sci.*, **330**, 443 (2009).
6. L. Wang, X. Li, G. Zhang, J. Dong, and J. Eastoe, Oil-in-water nanoemulsions for pesticide formulations, *J. Colloid Inter. Sci.*, **314**, 230 (2007).
7. K. Landfester, J. Eisenblatter, and R. Rothe, Preparation of polymerizable miniemulsions by ultrasonication, *J. Coat. Technol. Res.*, **1**, 65 (2004).
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**, 1683 (2011).
9. W. G. Cho and S. J. Kim, Formation of skin lotions using various vehicles and skin hydration effects for a skin, *J. Kor. Oil Chemists' Soc.*, **26**(2), 1 (2009).
10. S. A. Vitale and J. L. Katz, Liquid droplet dispersions formed by homogeneous liquid-liquid nucleation: The Ouzo effect, *Langmuir*, **19**, 4105 (2003).
11. S. Sajjadi, Formation of fine emulsions by emulsification at high viscosity or low interfacial tension; A comparative study, *Langmuir*, **22**, 5597 (2006).
12. H. J. Yang, W. G. Cho, and S. N. Park, Stability of oil-in-water emulsions prepared using the phase inversion composition method, *J. of Ind. & Eng. Chem.*, **15**, 331 (2009).
13. A. Spornath, A. Aserin, and N. Garti, Fully dilutable microemulsions embedded with phospholipids and stabilized by short-chain organic acids and polyols, *J. Colloid Inter. Sci.*, **299**, 900 (2006).
14. Y. Imai, N. Ujiie, A. Nakamura, M. Koshinuma, and K. Tajima, Three-phase structure of hexadecane

- nanoemulsion formed with phospholipid-surfactant mixtures and its novel phase transition temperature  $T_E$ , *Colloids Surf. A*, **276**, 134 (2006).
15. Y. Imai, N. Ujiie, A. Nakamura, M. Koshinuma, and K. Tajima, Erratum to “Three-phase structure of hexadecane nanoemulsion formed with phospholipid-surfactant mixtures and its novel phase transition temperature  $T_E$ ”, *Colloids Surf. A*, **287**, 242 (2006).
  16. D. J. McClements, Edible delivery systems for nutraceuticals: designing functional foods for improved health, *Ther. Delivery*, **3**, 801 (2012).
  17. A. Forgiarini, J. Esquena, C. Gonza, and C. Solans, Formation of nanoemulsions by low-energy emulsification methods at constant temperature, *Langmuir*, **17**, 2076 (2001).
  18. S. Mayer, J. Weiss, and D. J. McClements, Vitamin E-enriched nanoemulsions formed by emulsion phase inversion: Factors influencing droplet size and stability, *J. Colloid Inter. Sci.*, **402**, 122 (2013).