

Water-in-Oil-in-Water Multiple-Phase Emulsion의 實驗室的 製造

梁 三 柱

(太平洋化學(株) 一部三科主任)

Synopsis

It has been found that W/O/W-type multiple-phase emulsions can be prepared by a two-step procedure of emulsification using a variety of nonionic emulsifying agents. The first step in emulsification, providing the W/O emulsion, was made with an organophilic emulsifying agent such as Span 80, and the second step, providing the W/O/W emulsion, was then carried out by mixing the W/O emulsion with an aqueous solution of a polyoxyethylene-type hydrophilic emulsifying agent. Yield of the W/O/W emulsion was measured by the amount of maker (glucose), which migrated from the dispersed globules to the continuous phase, using dialysis for separating the migrated glucose from the newly prepared W/O/W emulsion, and using Nelson-Somogyi's technique for analyzing the amount of the glucose. The results of the yield measurement for a series of the samples indicate that the significant factor affecting the W/O/W emulsion formation is the ratio of the organophilic emulsifying agent in the oil phase to the hydrophilic emulsifying agent in the aqueous continuous phase. The correlation between the yield of the W/O/W emulsion and the ratio of emulsifying agents used for the two-step in

emulsification shows that when one desires a yield of the W/O/W emulsion higher than 90%, the organophilic emulsifying agent needed is 10 times or more the amount of the hydrophilic emulsifying agent.

1. 緒 論

이멀존은 界面化學의 일환으로 유중수(w/o) 혹은 수중유(o/w)의 형태로 식품, 의약품, 화장품등에 널리 이용되며, 많은 研究가 進行되어 왔다. Sherman¹⁾에 의하여 지적된 바와 같이 일반적인 유화의 과정에서 분산상의 함량이 높다던지, 유화제의 함량이 많다가나, 轉相(phase inversion)²⁾이나 이멀존의 두相 사이에서의 유화제의 移動³⁾⁴⁾에 의한다거나 하여 Multiple Phase Emulsion(이하 MPE라함)이 예기치 않게 얻어지고 있으나 현재까지 MPE(w/o/w) 혹은 o/w/o)의 製造方法은 확립되지 않고 있다. 만일 어떤 特殊成分이 MPE의 Inner Liquid Phase(內部液相: 이하 ILP라함) 안에 고정되어 流動하지 않도록 하는 MPE가 可能하다면 이러한 이멀존은 널리 이용될 수 있을 것이다. 이러한 관점에서 MPE를 製造하는 실험실적 방법에 대해서 고찰해 본 결과 本論文에서는 w/o/w MPE의 製法에 대해서 취급하였다. w/o/w이멀존의 형성에 영향을 주는 因子(factor)는 형성된

이멸존의 量을 測定하는 새로운 方法에 依해 얻어진 결과로서 설명될 수 있었다.

2. 實驗의 背景

1. w/o/w 이멸존의 製造

예비실험에서 (1) w/o/w 이멸존의 형성에는 두 段階의 유화공정이 필요하다. 즉 w/o를 만드는 1段階와 w/o/w를 만드는 2段階의 과정이다. (2) w/o/w 이멸존의 수율을 높이기 위해서는 이온성유화제보다는 비이온성유화제가 2段階의 유화에서 더 바람직하다. (3) 기계적인 교반에 의하여 물을 함유한 w/o 分散粒子들은 비이온성유화제를 함유한 물중으로 쉽게 분산이 된다는 결과를 얻었다.

그리하여 본실험에서 사용한 모든 시료는 그림 1에서와 같이 여러 종류의 비이온성유화제를

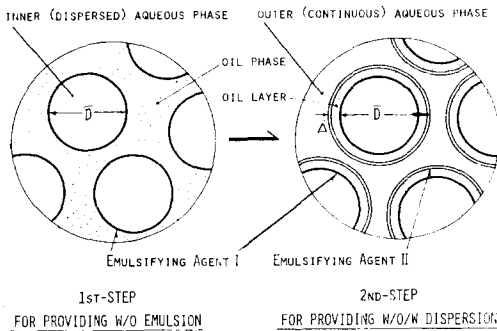


그림 1. w/o/w MPE 제조를 위한 2단계 유화공정

사용하여 2단계의 유화를 거쳐 만들었다. 1단계에서는 유화제 I 이 용해되어있는 오일상으로 內相인 水相 成分이 分散된다. 생성된 w/o 이멸존은 적당량의 유화제 II 가 미리 함유되어 있는 외부 수상(Outer Aqueous Phase: 이하 OAP라 함) 안으로 分散이 된다. 만일 2 段階의 유화가 잘 된다면 1段階의 w/o이멸존의 수상 입자들 끼리 상호관계 없이 외부의 수상(OAP) 내에서 잘 분산이 된다는 것을 기대할 수가 있을 것이다. 그러므로 모든 水相 粒子들은 그림 1과 같이 유화제 1, 오일相, 유화제 II 로 이루어지는 오일층으

로 둘러싸인 입자군을 형성하게 된다.

만일 오일층을 이루는 成分이 均一하게 水相 粒子들의 表面에 分散되어 있다면, 水相 粒子 表面의 오일층의 平均두께(\bar{D})는 水相 粒子의 平均 直徑(\bar{D}) 및 w/o 이멸존에서의 수상 입자의 상용적(Phase Volume: $\phi_{w/o}$)에 따르며 다음식으 로 표시된다.

$$\phi_{w/o} = \frac{1}{6}\pi\bar{D}^3 / \frac{1}{6}\pi(\bar{D} + 2\bar{D})^3 = \bar{D}^3 / (\bar{D} + 2\bar{D})^3 \quad (1)$$

$$\bar{D} = [(\bar{D}^3 / \phi_{w/o}) - \bar{D}] / 2 \quad (2)$$

2. w/o/w 이멸존의 수율측정

w/o/w 分散界의 형성 mechanism을 명확히 하 기 위하여 製造直後의 w/o/w 이멸존의 수율을 측정하는 것이 본 실험의 重要한 목적이라 할 수 있다.

w/o/w 이멸존을 현미경으로 관찰하면 ILP의 表面으로부터의 굴절된 빛에 依해 오일층으로 둘러싸인 水相 粒子와 단순한 오일 粒子를 구별 할 수 있다. 만일 수용성 안료(pigment)를 ILP 에 용해시켜 1 段階 유화를 시킨다면 ILP 粒子의 파피에 의해 ILP로부터 OAP로 移動되는 pig- ment의 量을 分析할 수 있으며, 따라서 w/o/w 수율 측정이 가능할 수도 있다. 그러나 안료의 분자 구조의 복잡성에 의해 염료 수용액의 색상 (tone)은 pH, 온도, 무기염류의 存在下에서 多 樣해져 여러 條件下에서 移動되는 염료의 비색 계(Colorimeter)에 의한 정량은 매우 어렵다. 또 한 ILP 粒子와 OAP粒子의 比重差가 근소하기 때문에 원심분리에 依하여 w/o/w 이멸존으로부 터 OAP粒子를 分離한다는 것도 어려운 일이다.

예비실험에서 glucose가 다음 두 理由로 해서 가장 적합한 물질임을 알았다. 즉 (1) Glucose 의 微量 分析이 可能하고, (2) ILP粒子의 파피 에 依하여 ILP粒子에서 OAP粒子로 移動하는 glucose는 dialysis(격막분석, 투석)에 依해 w/ o/w 이멸존으로부터 分離가 可能하다.

그리하여 그림 2와 같은 dialysis에 依한 w/o/w 의 수율을 測定하는 方法을 研究하였다.

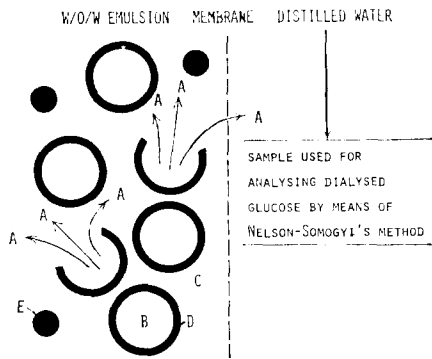


그림 2. w/o/w 이멀존의 측정을 위한 설명도
 A: ILP로부터 이동한 Glucose
 B: ILP입자
 C: OAP입자
 E: 오일중의 파편으로 인한 오일입자

1단계의 유화는 ILP에 glucose가 均一하게 分散되어 있도록 ILP에 미리 glucose를 용해시켜 유화를 시킨다. 그런뒤 2단계 유화를 시킨 직후 일정량의 w/o/w 이멀존을 dialysis 평형에 도달할 때까지 일정량의 이온교환증류수로써 투석한다. 이온교환증류수로 이동한 glucose量은 Nelson-Somogyi Method^{5),6)}에 의해 定量한다. 증류수중의 glucose量이 ml당 a gram이라면 w/o/w 이멀존의 수율은 다음 식에 의하여 구해진다.

$$w/o/w \text{ 이멀존의 수율}(\%) = 100 - 100a / [c / (v_1 + v_2 + v_3)] \quad (3)$$

- c; dialysis전 w/o/w의 내부 수상중의 glucose量
- v₁; ILP의 용적
- v₂; OAP의 용적
- v₃; 이온교환증류수의 용적 (투석된 상태에서의)

3. 實 驗

가. 사용 원료

- 각 相의 成分; 1. 이온교환증류수
- 2. glucose(시약 1급)
- 3. 유동파라핀(Witco Chem. Co. Clearol 60)

유화제 I ; Span80 (Sorbitan monooleate, Atlas Co.)

유화제 II ; Tween 20 (P.O.E. sorbitan monolaurate, Atlas Co.)

Tween 80 (P. O. E. sorbitan monooleate, Atlas Co.)

Nikkol BO-10TX (P.O.E. oleyl ether, Nikko Chem. Co.)

Nikkol BO-9EX (P.O.E. lauryl ether, Nikko Chem Co.)

Nikkol MTL-10 (P.O.E. mono-laurate, Nikko Chem. Co.)

Nikkol NP-10 (P.O.E. nonyl phenyl ether, Nikko Chem Co.)

Dialysis tube: Seamless cellulose tube (Union Carbide Co.)

나. 1단계 유화과정

유동파라핀과 Span 80을 pin-mixer의 vessel에 취한 후 0.5% glucose 수용액을 buret에 연결된 비닐파이프를 통해 서서히 첨가하면서 교반한다. 이때 粒子的 크기가 一定하도록 系에 일정한 shear force를 주어야 하며, mixer를 88rpm으로 고정하여 실온에서 교반한다.⁷⁾

사용된 pin mixer는 dough-mixing properties를 측정하는 Mixograph (National Mfg. Ltd., Lincoln, Nebraska)의 一部分이며 알미늄 vessel (깊이 4.2cm, 내경 7.5cm)과 네개의 pin-rotor를 가진 교반기로 되어있다. 각각의 pin은 길이 3.9cm, 직경 0.26cm이다. Rotor는 변속(variable speed)이 可能하다. Vessel 바닥에는 수직으로 고정된 3개의 metal-pin이 있다.

다. 2단계 유화과정

1단계 유화에서 만들어진 w/o 이멀존을 一定濃度の 유화제 II를 함유하고 있는 OAP와 混合한 후 homogenizer⁸⁾ (Tokushu Kika Kogyo Co., Ltd. Osaka, 50w, 100~1,200rpm)로 300rpm에서 2~6分間 유화시킨다. 全體 w/o/w 이멀존에의 w/o 이멀존의 용적분율은 $\phi_{w/o/w}$ 로 표시한다.

라. 현미경 관찰

이멀존을 만든 직후 광학현미경 (XH20TU-F W Microstar, American Optical Co.)으로써 w/o와 w/o/w에서의 ILP의 分散狀態를 관찰하였다. 각 샘플은 광학현미경으로 관찰하기전에 각 分散媒(例, w/o인 경우 유동파라핀, w/o/w인 경우 0.5% Tween 20 수용액)로 20배 희석하여 관찰이 용이하도록 하였으며, 희석된 샘플 한 방울을 중앙에 깊이 0.01cm, 직경 0.5cm의 홈이 있는 glass slide에 놓고 관찰하였다.⁸⁾⁹⁾

마. w/o/w 이멀존의 dialysis

금방 만들어진 w/o/w 이멀존 50그램을 cellulose tube에 넣고 이온교환증류수 700ml로 실온에서 20시간 투석하였다. ILP의 파괴에 따라 격막을 통해 移動된 glucose의 量을 定量하기 위해 투석한 증류수 2ml를 취한다.

바. Glucose의 微量分析

Nelson-Somogyi 법에 준한다⁵⁾⁶⁾

(1) 검액(투석한 증류수)2ml를 Alkali-銅용액 (potassium sodium tartarate, sodium carbonate, copper sulfate, sodium hydrogen carbonate, sodium sulfate의 수용액) 2ml와 혼합한 뒤 10분간 비등하는 수욕상에서 가열한다.

(2) 검액을 ice water에서 가능한 한 빨리 냉각 시킨 후, Arsenic molybdate 용액 (암모늄 molybdate, 황산, sodium hydrogen arsenate 용액)과 혼합한다.

(3) Glucose의 환원력에 의해 銅이온으로부터 정량적으로 생성된 copper oxide의 작용에 의해 arsenic molybdate가 molybdenum Blue로 환원 되도록 혼합물을 15분이상 방치한다.

(4) 최종용액을 500nm 파장의 incident light에서 Spectrophotometer (Model No. 200-11, Hitachi, Japan)로 흡광도를 측정하며, 여러 농도의 glucose 수용액을 상기공정에 의해 처리하여 만든 standard와 비교하여 定量한다. 이방법은 0.5 γ -glucose/ml 샘플용액 이내의 재현성을 가지고 있었다.

4. 實驗結果

가. 현미경 관찰결과

그림 3 (A)는 오일 파트의 30%의 Span 80을 함유하고 안정화된 w/o 이멀존의 현미경 사진이다. 그림 3 (A)로부터 분산된 水相의 平均粒

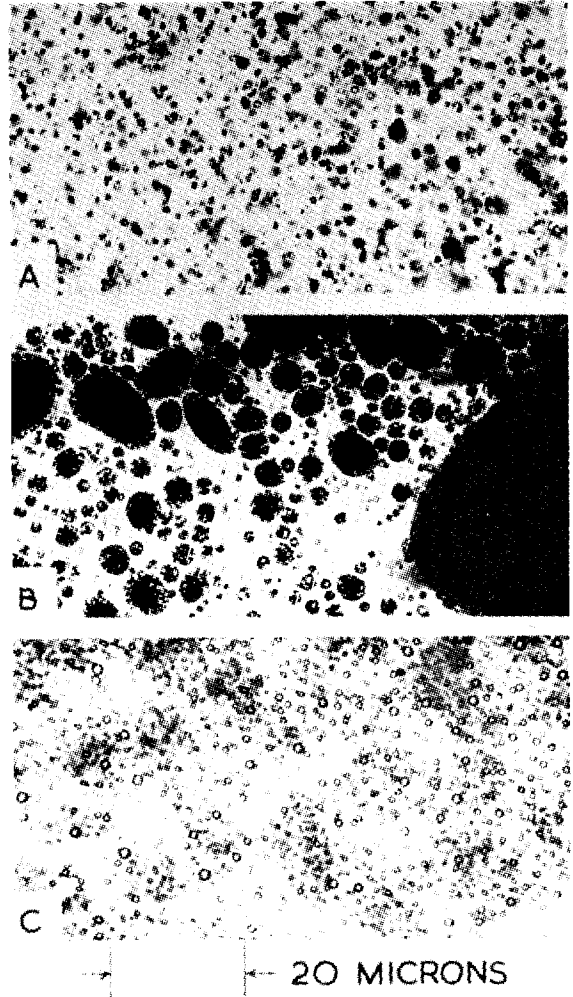


그림 3. A: 30% w/w Span 80의 1단계 유효된 w/o 이멀존
B: 2단계 유효초기의 0.5%w/w Tween 20의 OAP로의 ILP의 분산되는 상태의 사진
C: 생성된 w/o/w 이멀존

子直徑은 약 $2\mu\text{m}$ 로 측정되었으며, 이는 앞서 말한 바와같이 유동파라핀으로 20배 희석이 된 상태이다. 일련의 현미경 관찰에서 Span 80의 濃度의 變化라든가 수상의 상용적의 變化가 분산상의 평균입자반경에 별로 영향을 미치지 않음을 알았다.

그림 3 (B)는 2단계유화 초기에 찍은 사진이며, 분산된 ILP의 단일입자나 응집된 입자들이 OAP (0.5% Tween 20 수용액)로 분산되고 있다.

2段階유화 말기에는 OAP내에 대부분의 ILP 입자들이 각기 分離되어 있다(그림 3 (C)). ILP의 입자 지름은 약 $2\mu\text{m}$ 이며 이는 앞에 말한 w/o 이멀존시의 水相입자들의 입자지름과 一致한다. 현미경사진에 의해 w/o/w 이멀존의 確認은 不可能했지만, w/o/w 수율은 90% 이상이였다.

나. 유화제 I 의 농도에 따르는 w/o/w 이멀존 形成

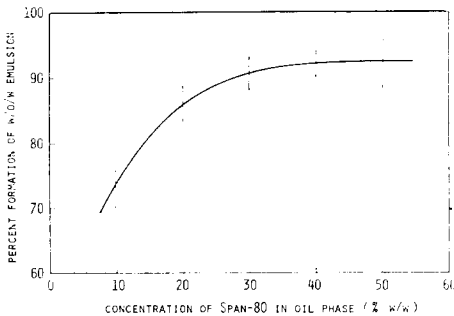


그림 4. w/o/w 형성을 위한 Span-80의 영향(유화제 I ; 0.5 w/w Tween 20, $\phi_{w/o}$; 0.64, $\phi_{w/o/w}$; 0.34)

1단계유화는 유화제 I Span 80의 농도에 영향을 받는다(그림 4). 그림에서와 같이 90% 이상의 w/o/w 수율을 얻기 위해서는 오일상의 30% (w/w) 이상의 Span-80이 必要하며, Span 20을 유화제 I 로 사용할 경우는 오일상에서 Tween 20의 양이 증가하면 할수록 수율은 증가하였다.

다. 유화제 II 의 농도에 따르는 w/o/w 형성

그림 5는 유화제 I 즉 Span 80의 농도가 오일상의 30% (w/w), $\phi_{w/o}$; 0.72, $\phi_{w/o/w}$; 0.51

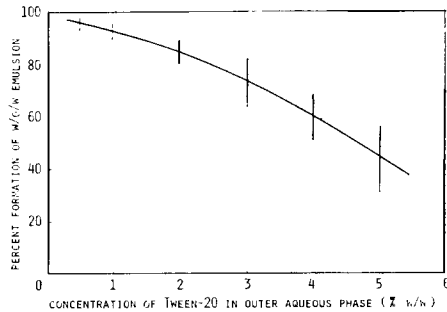


그림 5. w/o/w 형성을 위한 유화제 II로써 Tween 20의 영향(유화제 I : 오일상의 30%w/w Span 80 $\phi_{w/o}$; 0.72, $\phi_{w/o/w}$; 0.51)

인 조건에서의 OAP에서의 Tween 20의 농도와 수율과의 관계를 나타낸 것이다. OAP의 Tween 20의 증가에 따라 수율은 현저하게 감소하였으며, 모든 유화제 II에서 같은 현상이 나타났

라. w/o/w 수율과 $\phi_{w/o/w}$ 와의 관계

w/o 이멀존의 상용적 $\phi_{w/o/w}$ 은 비교적 낮은 용적비에서 w/o/w 이멀존의 수율에 중요한 역할을 하였다. 그림 6은 수율과 $\phi_{w/o/w}$ 의 관계를 보여주며 이때 유화제 I (Span 80)은 오일상의 30% (w/w), 유화제 II (Tween 20)의 농도는 OAP의 0.5% (w/w), $\phi_{w/o}$; 0.64이다. ILP粒자들의 파괴는 입자사이의 응집에 의한 것이 아니고, ILP 입자의 표면오일층의 파괴에 기인한

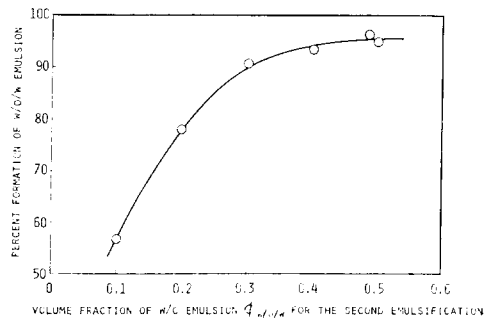


그림 6. $\phi_{w/o/w}$ 와 수율과의 관계 (유화제 I : 30% w/w Span-80 유화제 II : 0.5% w/w Tween-20, $\phi_{w/o}$; 0.64)

다는 것을 암시한다. 만일 입자사이의 응집이 수율에 영향을 미친다면 실험결과와는 반대로 $\phi_{w/o/w}$ 의 증가에 따라 수율은 감소하게 될 것이다. 오일층의 파괴이유는 후에 설명하기로 한다.

마. $\phi_{w/o}$ 와 \bar{D} 사이의 관계

w/o 이멀존의 ILP상용적 $\phi_{w/o}$ 는 식 (1)에서 계산되는 바와 같이 임의로 변화시킬 수 있으며 이때 오일층의 두께 (\bar{D})도 직접적으로 영향을 받는다. 그러나 $\phi_{w/o}$ 는 그림 7에서 보는 바와 같이 w/o/w 이멀존의 수율에 큰 영향을 미치지 못한다.

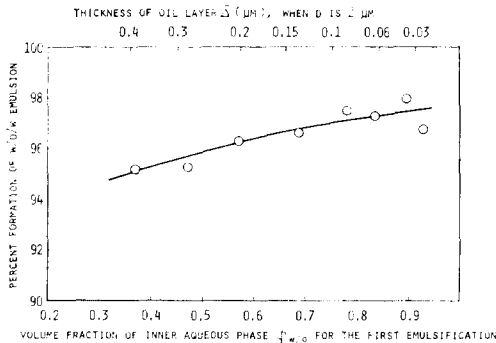


그림 7. w/o/w 수율과 \bar{D} 와의 관계 (유화제 I : 30% w/w Span-80, 유화제 II : 0.5% w/w Tween-20, $\phi_{w/r/w}$: 0.5)

유화제 I (Span 80)의 농도 30% (w/w), 유화제 II의 농도 (Tween 20) 0.5% (w/w), $\phi_{w/o/w}$; 0.5의 조건에서 ILP의 입자지름 \bar{D} 이 $2\mu\text{m}$ 이고 ILP표면에 오일층이 균일하게 분산되어 있을 때 \bar{D} 와 $\phi_{w/o}$ 의 관계를 그림 7에 나타내었다.

5. 考 察

본 研究에서 얻어진 데이터로부터 w/o/w 이멀존의 수율은 OAP 중의 $\phi_{w/o/w}$ 와, 1단계 및 2단계 유화과정에 사용되는 유화제에 의해 영향을 받게 됨을 알았다. 또한 유화제 I 과 유화제 II의 비율이 w/o/w 이멀존의 수율에 중요한 인자로서의 의미가 있음을 발견하였다.

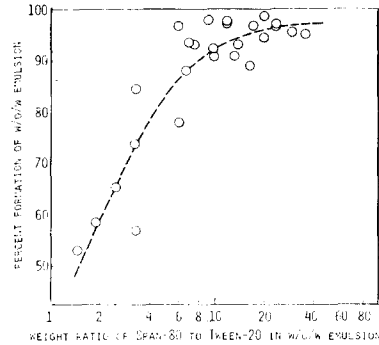


그림 8. Span 80과 Tween 20의 비율에 따른 w/o/w 이멀존의 수율과의 관계

그림 8에서 같이 w/o/w 이멀존의 수율이 유화제 I 과 II의 비율은 각 샘플의 성분으로부터 Span 80과 Tween 20의 무게비에 대한 plot되었다. 90%이상의 수율을 얻기 위해서는 Tween 20의 10배 이상의 Span 80이 필요함을 말해준다.

그림 9는 2단계 유화에서의 유화제 II를 변화시킬 때의 결과를 나타낸 것이다. 여기서 비이온 유화제의 알킬기의 사슬길이가 수율에 관계됨을 알 수 있다.

유화제 II의 효과는 w/o 이멀존의 粒子를 OAP로 분산되도록 하는 것으로 생각되며, 유화제 I의 효과는 ILP의 표면에 강력한 유화제 I의 흡수층을 형성하기 때문에 w/o 이멀존 형성에 관여한다고 할 수 있다. 반면 유화제 II의 미셀농도가 임계점을 초과할 때 오일층의 유화제 I의 분자들이 OAP로 가용화되어 들어가게 된다.

이러한 공정은 OAP안의 유화제 II의 농도가

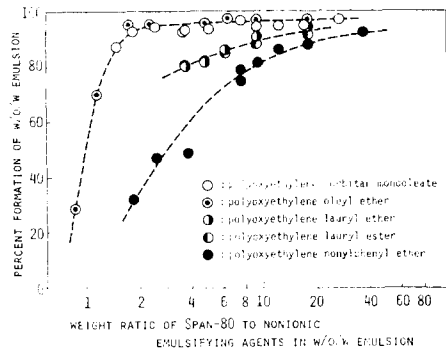


그림 9. Span 80과 비이온성 유화제에 대한 비율이 수율에 미치는 영향

증가함에 따라, 현저히 증가하게 되는 유화제 I 과 II를 동시에 함유하는 결합된 미셀의 상호작용에 의해 일어난다고 할 수 있다. 이와 같은 현상은 2단계유화후의 ILP표면오일층을 파괴하는 중요한 要因이 된다. 그러므로 유화제 I의 II에 대한 비율이 w/o/w 이멀존의 수율에 밀접한 관계가 있다는 사실을 설명할 수 있다.

앞서 말한 바와 같이 아주 얇은 오일층의 ILP 粒子를 만드는 것이 可能하므로, 이러한 w/o/w 시스템은 w/o/w 이멀존의 安定性的 研究가 오일층의 파괴기구의 규명과 병행하여 이루어져야 할 것이며, 生物學的 격막투과의 모델로도 응용이 可能하리라 생각한다.

參 考 文 獻

1. Sherman, P., in "Emulsion Science" (P. Sherman Ed.), p. 206. Academic Press, New York, 1968.
2. Seifrez, W., J. Phys. Chem. **29**, 738(1925).
3. Becher, P., J. Soc. Cosm. Chem. **9**, 141(1958)
4. Sherman, P., in "Rheology of emulsions" (P. Sherman, Ed.), p. 73. Pergamon Press, London, 1963.
5. Nelson, N., J. Biol. Chem. **153**, 375(1944)
6. Somogyi, M., J. Biol. Chem. **195**, 19(1952)
7. Mason, S.G. and Bartok, W., in "Rheology of Disperse Systems" (C.C. Mill, Ed.), p. 16. Pergamon Press, London, 1959.
8. Mita, T., Iguchi, E., Yamada, K., Matsumoto, S., and Yonezawa, D., J. Texture Stud. **5**, 89(1974).
9. Mita, T., Yamada, K., Matsumoto, S., and Yonezawa, D., J. Texture Stud. **4**, 41(1973).