

## 다중 층 화장료에서 수성 이상계의 응용

홍준기<sup>†</sup>·유재원·유장영·남승욱·이상길·표형배

한불화장품(주) 기술연구소

(2012년 10월 17일 접수, 2013년 1월 7일 수정, 2013년 3월 4일 채택)

### Applying Aqueous Two Phase Systems to Multi-layer Cosmetics

Junki Hong<sup>†</sup>, Jaewon You, Jangyung Yoo, Seungok Nam, Sanggil Lee, and Hyeongbae Pyo

R&D Center, Hanbul Cosmetics Co. Ltd., 62, Deasung-ro 547-gil,

Samsung-myeon, Umsung-gun, Chungcheongbuk-do 369-834, Korea

(Received October 17, 2012; Revised January 7, 2013; Accepted March 4, 2013)

**요약:** 수성 이상계는 물에 친수 성분만을 용해시킨 후 용해 물질들 사이에 유발되는 단순한 물리적 불친화성에 의해 액상 다중 층으로 분리되기 때문에 생체적합성에 대한 장점을 가지고 있다. 본 연구에서는 물에 친수 성분만을 용해시킨 후 두 층으로 분리되는 수성 이상계 상분리 원리를 수성 다중 층 액상 화장료에 응용하여 수성 다중 층 화장료에 적용이 가능한 대표적인 두 종의 수성 이상계를 선정하였으며, 이들에 대해 바이노달 곡선과 임계점 및 농도 대응선 그리고 새로운 개념의 상분리 부피 및 상분리 시간 대응곡선을 포함하는 상도를 실험을 통해 작성하였으며, 상 도표로부터 액상 다중 층으로 분리되는 최적의 조건을 관찰할 수 있었다.

**Abstract:** The aqueous two phase system has biocompatibility, because it is physically separated into an immiscible liquid multi-layer induced by incompatibility among hydrophilic components dissolved in the water phase. we have applied this principle to aqueous multi-layer liquid cosmetics and select two representative systems. What it was experimentally obtained was the phase diagrams including a binodal curve, a critical point, tie lines of concentration and tie curves of phase separating volume ratio and phase separating time. From the phase diagrams, we were able to observe existence of the optimum condition to prepare the aqueous multi-layer cosmetics for the systems.

**Keywords:** aqueous two phase system, multi-layer, polyethylene glycol, potassium phosphate, ethanol

## 1. 서 론

두 가지 액체상을 서로 섞으면 물과 알코올처럼 단일 상으로 완전하게 혼합되거나 물과 벤젠처럼 두 상으로 층 분리가 일어난다. 이와 같이 두 가지 액체상을 섞을 때 완전하게 혼합 되거나 분리되는 원인은 두 상간 친화성에 의한다[1]. 물과 혼합되지 않는 유기용매를 이용하여 이층으로 분리시키는 이상 분리는 현재 추출과 같은 공정에 자주 이용되고 있다. 그러나

물과 유기용매를 이용한 층 분리는 화학적 변성이나 자극을 줄 수 있어 화장품 산업에 적용하기에 적합하지 못하다. 그런데, 이와 달리 유기용매를 이용하지 아니하고 물에 친수 성분만을 용해시키는 것만으로도 두 층으로 분리되는 수성 이상계(aqueous two phase system, ATPS)는 화학적 변성이나 자극이 거의 없다는 장점으로 생물분리 공정 등에 많이 이용되고 있으며[1-9], 화장품 산업에도 적용 가능성이 매우 높다고 판단된다.

Beijerinck는 젤라틴과 아가 수용액에 의한 수성 이상계 현상을 처음 보고하였고, Dobry 등은 유기용매

<sup>†</sup> 주 저자 (email: doccher@hanbul.co.kr)

와 물에서 두 가지 고분자 간 혼화성과 불친화성에 대한 연구를 다수 발표하였다. Albertsson은 고분자와 고분자 또는 고분자와 염을 이용한 수성 이상계를 생물 분리 공정에 처음 적용하여 수많은 연구자들이 수성 이상계에 관심을 갖게 하는 계기가 되었다[1]. 고분자 / 고분자 수성 이상계는 모두 물에 잘 용해되지만 서로 친화성이 나쁜 두 가지 고분자를 함께 물에 용해시킬 때 물에 용해된 두 고분자가 서로 섞이지 않으면서 두 층으로 분리되는 원리를 이용한 것이다[1-6]. 그러나 반드시 고분자들만이 이용되는 것이 아니라, 고분자 / 염을 이용한 방법도 보고되어 있고, 알코올류 / 염에 의한 수성 이상계도 알려져 있다[7-9].

수성 이상계를 쉽게 이해하기 위한 상도에는 물 / 용질 1 / 용질 2의 구성비를 이용하는 삼성분계 상도와 용질 1의 농도 / 용질 2의 농도를 이용하는 이성분계 상도 등 다양한 상도가 알려져 있으나 이들 중 Treybal 등이 제안한 이성분계 상도가 널리 이용되고 있다. 이성분계 상도에서 상분리 영역과 단일상 영역을 나누는 곡선을 바이노달(binodal) 곡선이라고 하며 바이노달 곡선 우상 영역이 상분리가 일어나는 영역이고 좌하 영역이 단일상 영역이다. 또한, 이성분계 상도의 상분리 영역에서 다양한 부피비로 분리되는 같은 농도들은 일직선상에 위치하며 이들을 연결한 직선을 대응선(tie line)이라 한다. 대응선을 점점 바이노달 곡선에 접근 시키면 바이노달 곡선 위에 한 점을 얻을 수 있으며 이 점을 임계점(critical point, K)이라 한다[1]. 그런데, 기존에 주로 사용되고 있는 이성분계 상도와 대응선은 위층과 아래층 농도 위주로 작성되어 있기 때문에 화장품 산업에 필요한 상분리 시간과 상분리 부피비에 관한 자세한 정보를 얻기가 어렵다.

수성 이상계에서 상분리 시간은 두 상간 비중차와 점도에 의존한다. 상분리 시간은 두 상간 비중차가 클수록 짧아지고 점도가 높을수록 길어진다. 이성분계 상도의 상분리 영역 안에서 바이노달 곡선에 접근해 갈수록 두 상간 비중차가 점점 작아지기 때문에 상분리 시간이 길어지며, 바이노달 곡선에서 멀어져 갈수록 계의 점도가 점점 높아지기 때문에 상분리 시간이 역시 길어진다[1]. 따라서 중간 지점 어딘가에 상분리 시간이 가장 짧은 영역이 존재할 것이라는 가설을 세울 수 있다.

본 연구에서는 수성 이상계 원리를 수성 다중 층 화

장료에 응용하기 위하여 화장품에 적용이 용이한 대표적인 수성 이상계로 폴리에틸렌글리콜 / 인산칼륨 수성 이상계와 에탄올 / 인산칼륨 수성 이상계를 선택하였고, 이들을 화장품에 응용하기 위한 조건을 알아보고자 하였다. 수성 이상계를 화장품에 적용하기 위한 조건을 손쉽게 정하기 위한 방법으로 기존 연구 방법과 다르게 새로운 개념을 갖는 상분리 부피비와 상분리 시간 대응곡선(tie curve)을 포함하는 이성분계 상도를 작성하고자 하였다.

## 2. 실험 방법

### 2.1. 실험 재료 및 기구

수성 이상계를 형성시키기 위해 분자량이 1,450인 폴리에틸렌글리콜(polyethylene glycol, PEG, Dow Chemical Co., U.S.A), 인산칼륨(potassium phosphate,  $K_2HPO_4$ , 약이화학공업 Co., Korea), 에탄올(ethanol, 95%, Union Carbide Co., U.S.A)과 정제수를 사용하였다. 수성 이상계 구성 물질인 폴리에틸렌글리콜과 인산칼륨 농도는 자외·가시 흡광광도계(model: CARY 1E, Varian Co., U.S.A)를 이용하여, 에탄올 농도는 기체 크로마토그래피(GC, model: GC-14B, Shimadzu Co., Japan, DB-WAX 60 m Capillary column)를 이용하여 측정하였다.

### 2.2. 실험 방법

#### 2.2.1. 수성 이상계 제조 방법

수성 이상계를 형성시키기 위하여 50 wt% 폴리에틸렌글리콜과 인산칼륨 수용액을 미리 충분히 만들어 두고 필요한 양을 취하여 여기에 에탄올 또는 정제수를 채운 후 마개를 막고 10회 뒤집어가며 흔들고 난 후 위·아래 상 계면에 혼탁도가 사라져 상이 뚜렷하게 자연 분리될 때까지 방치하였다.

#### 2.2.2. 이성분계 바이노달 곡선 작성 방법

폴리에틸렌글리콜 / 인산칼륨 수성 이상계에 대하여 이성분계 상도의 바이노달 곡선을 작성하기 위해 먼저 50 wt% 인산칼륨 수용액 5 g을 시험관에 넣고 50 wt% 폴리에틸렌글리콜 수용액을 한 방울씩 적하해 가며 흔들어 주어 수성 이상계가 처음 형성되는 양을 정확하게 측정하였다. 여기에 물 약 1 g을 더 넣어

단일상계로 만들고 정확하게 질량을 측정된 후 폴리에틸렌글리콜 수용액을 한 방울씩 적하해 가며 흔들어 주어 다시 수성 이상계가 만들어지는 양을 기록하는 방식을 수차례 반복하였다. 그 후 반대로 50 wt% 폴리에틸렌글리콜 수용액 5 g에 50 wt% 인산칼륨 수용액을 한 방울씩 적하하는 동일한 방식을 반복하고 수성 이상계 총량에 대한 농도를 각각 계산하여 이성분계 바이노달 곡선을 작성하였다. 또한, 에탄올 / 인산칼륨 수성 이상계 이성분계 상도의 바이노달 곡선도 동일한 방법으로 작성하였다.

2.2.3. 이성분계 상분리 대응선 및 대응곡선 작성 방법

바이노달 곡선이 완성된 후 이성분계 상분리 영역에서 용질 농도를 1 wt%씩 일정하게 변화시켜가며 수성 이상계를 만든 후 10회 뒤집어가며 흔들고 방치하여 상분리가 자연적으로 완전히 일어날 때까지 분리시키고 위층과 아래층의 분리된 상분리 부피비와 상분리 시간을 각각 측정하였다. 측정된 각 점의 상하좌우 거리를 균등 분할하여 원하는 상분리 부피비와 상분리 시간에 대한 좌표를 구하고 서로 연결하여 상분리 부피비 대응곡선 및 상분리 시간 대응곡선이라는 새로운 개념의 상도를 각각 작성하였다. 또한, 상분리 부피비 대응선 중 동일 부피비 위에 있는 점 몇 개에 대해 위층 농도를 각각 측정하였으며, 이로부터 아래층 분산물질들에 대한 농도를 각각 계산하여 상분리 농도 대응선을 작성하였다. 폴리에틸렌글리콜 농도는 274 nm에서, 인산칼륨 농도는 338 nm에서 흡광도를 각각 측정하였다[1,10].

3. 실험결과 및 고찰

3.1. 폴리에틸렌글리콜 / 인산칼륨 수성 이상계 상도

3.1.1. 상분리 농도 상도

폴리에틸렌글리콜 / 인산칼륨 수성 이상계에 대해 바이노달 곡선을 작성하여 Figure 1에 나타내었다. 바이노달 곡선 우상부 상분리 영역에 위치하는 완전 분리된 수성 이상계 몇 개에 대해 위층의 폴리에틸렌글리콜과 인산칼륨 농도를 각각 구한 후 이로부터 아래층 분산물질들에 대한 농도를 각각 계산하여 상분리 농도 대응선을 작성하고, 상분리 농도 대응선을 바이

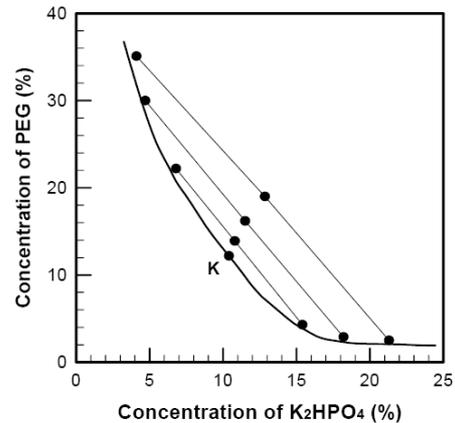


Figure 1. Phase diagram including a binodal curve and the tie lines of phase separating concentration and a critical point (K) for PEG / K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ATPS.

노달 곡선에 접근시켜서 농도 임계점 K를 구하여 Figure 1에 나타내었다. 상분리 농도 대응선 위의 모든 수상 이성계는 농도가 동일하게 분리되지만 상분리 부피비와 상분리 시간이 서로 다르다는 것을 의미한다. 상분리 농도 상도는 일반적으로 널리 작성되는 상도이지만 상분리 부피비와 상분리 시간에 대한 정보를 얻기 어렵다는 단점이 있다.

3.1.2. 상분리 부피비 상도

앞서 작성된 바이노달 곡선 우상부에 위치하는 상분리 영역에서 농도를 일정 간격으로 변화시켜가며 만든 폴리에틸렌글리콜 / 인산칼륨 수성 이상계의 상분리 부피비를 각각 측정하고 새로운 개념의 상분리 부피비 대응곡선을 작성하여 Figure 2에 나타내었다. 그 결과 Figure 2에서 볼 수 있는 바와 같이 3 : 1 ~ 1 : 4에 이르는 상분리 부피비를 얻을 수 있었다. 작성된 상분리 부피비 상도를 이용하여 화장품에서 중요한 동일 부피비로 분리되는 수성 이상계를 포함한 원하는 상분리 부피비를 갖는 임의의 수성 이상계를 손쉽게 제조할 수 있는 유용한 자료로 활용이 가능할 것으로 판단된다.

3.1.3. 상분리 시간 상도

상분리 영역에 대하여 일정한 간격으로 폴리에틸렌글리콜 / 인산칼륨 수성 이상계를 제조하고 이들에 대한 상분리 시간을 각각 측정하여 새로운 개념의 상분리 시간 대응곡선을 작성하고 Figure 3에 나타내었다.

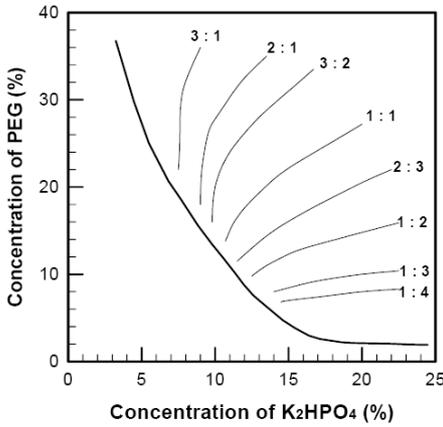


Figure 2. Phase diagram including the tie curves of phase separating volume ratio for PEG / K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ATPS.

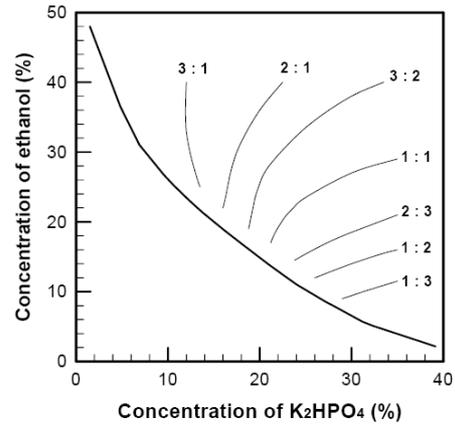


Figure 4. Phase diagram including a binodal curve and the tie curves of phase separating volume ratio for ethanol / K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ATPS.

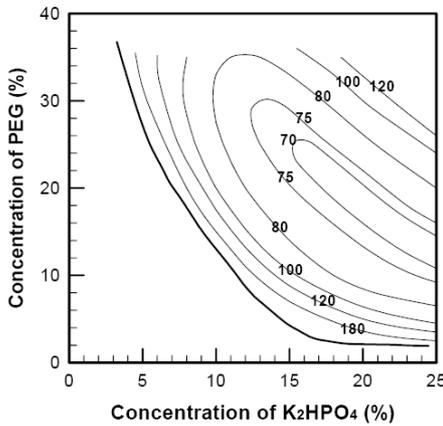


Figure 3. Phase diagram including the tie curves of phase separating time (s) for PEG / K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ATPS.

상분리 시간은 Figure 3에서 볼 수 있는 바와 같이 바이노달 곡선에서 멀어질수록 점차 짧아지다가 어느 순간 상분리 시간 임계점에 도달하여 최저값(약 70 s)을 갖은 후 다시 길어지는 것을 볼 수 있었다. 따라서 중간 지점에 상분리 시간이 가장 짧은 영역이 존재한다는 것을 실험을 통해 확인할 수 있었다. 이것은 상분리 시간 임계점으로부터 바이노달 곡선에 접근해 갈수록 농도가 열어져 두 상간 비중차가 작아지기 때문에 상분리 시간이 점점 길어지고, 반대로 상분리 시간 임계점으로부터 바이노달 곡선에서 멀어질수록 농도가 진해져 점도가 높아지기 때문에 상분리 시간이 길어지는 것으로 설명할 수 있다. 따라서 작성된 상분리 시간 상도를 이용하여 상분리 시간 임계점이 존재하는 영역에서 가장 짧은 상분리 시간을 갖는 수성 이

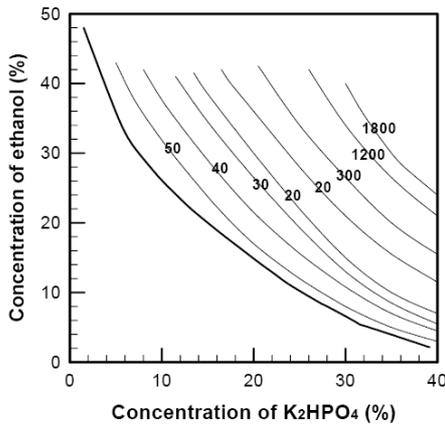
상계를 손쉽게 제조할 수 있을 뿐 아니라 원하는 상분리 시간을 임의로 정할 수 있는 자료로 활용이 가능할 것으로 판단된다. 또한, Figures 2, 3에 의하면 서로 다른 농도에서 동일한 상분리 부피비와 동일한 상분리 시간을 갖는 수성 이상계가 두 개 존재한다는 것을 실험을 통해 입증할 수 있었다. 따라서 제조비용을 절감할 수 있는 자료로도 이용이 가능하며 임계 상분리 시간과 바이노달 곡선 사이의 값을 활용할 때 경제성이 높아진다고 생각된다.

### 3.2. 에탄올 / 인산칼륨 수성 이상계 상도

#### 3.2.1. 상분리 부피비 상도

에탄올 / 인산칼륨 수성 이상계에 대한 상도를 작성하였다. 바이노달 곡선을 작성하는 방법은 폴리에틸렌글리콜 / 인산칼륨 수성 이상계 경우와 동일한 방법으로 작성하였으나, 바이노달 곡선이 직선에 가까워서 상분리 농도 상도는 오차가 심하였기 때문에 작성에 의미가 없었다.

바이노달 곡선을 작성한 후 곡선 우상부에 위치하는 이상분리 영역에 대하여 일정한 간격으로 폴리에틸렌글리콜 / 에탄올 수성 이상계를 각각 제조하고 이들에 대한 상분리 부피비를 측정하고 후 새로운 개념의 상분리 부피비 대응곡선을 작성하여 Figure 4에 나타내었다. Figure 4에서 볼 수 있는 바와 같이 3 : 1 ~ 1 : 3에 이르는 상분리 부피비를 얻을 수 있었다. 따라서 작성된 상분리 부피비 상도를 이용하여 동일 부피



**Figure 5.** Phase diagram including the tie curves of phase separating time (s) for ethanol /  $K_2HPO_4$  ATPS.

비로 분리되는 수성 이상계를 포함한 원하는 상분리 부피비를 갖는 임의의 수성 이상계를 손쉽게 제조할 수 있을 것으로 판단된다.

3.2.2. 상분리 시간 상도

상분리 영역에 대하여 일정한 간격으로 에탄올 / 인산칼륨 수성 이상계를 제조하고 이들에 대한 상분리 시간을 각각 측정 후 새로운 개념의 상분리 시간 대응곡선을 작성하여 Figure 5에 나타내었다. 상분리 시간은 바이노달 곡선에서 멀어질수록 점차 짧아지다가 어느 순간 상분리 시간 임계점에 도달하여 최저값(약 20 s)을 갖은 후 다시 급격히 길어지는 것을 볼 수 있었다. 따라서 중간 지점에 상분리 시간이 가장 짧은 영역이 존재한다는 것을 실험을 통해 확인할 수 있었다. 이 결과에서도 상분리 시간은 분리되는 두 상의 농도에서 기인하는 비중차 또는 점도와 밀접한 관련이 있다고 할 수 있다. 따라서 작성된 상분리 시간 상도를 이용하여 상분리 시간 임계점이 존재하는 영역에서 가장 짧은 상분리 시간을 갖는 수성 이상계를 제조하는 것을 포함한 원하는 상분리 시간을 갖는 폴리에틸렌글리콜 / 에탄올 수성 이상계를 임의로 제조할 수 있을 것이라고 생각되며, 다른 농도임에도 동일한 상분리 부피비와 동일한 상분리 시간을 갖는 수성 이상계가 두 개 존재한다는 것을 입증할 수 있었다. 따라서 Figure 4와 Figure 5를 함께 이용하면 손쉽게 수성 이상계를 화장품에 응용할 수 있을 뿐만 아니라 불필요한 제조비용을 절감할 수 있는 유용한 자료로 활용할 수 있을 것이라 판단된다.

4. 결 론

다중 층 화장료에 적용하기 적합하다고 판단되는 대표적인 수성 이상계인 폴리에틸렌글리콜 / 인산칼륨 수성 이상계와 에탄올 / 인산칼륨 수성 이상계에 대하여 상분리 부피비 및 상분리 시간 대응곡선을 포함하는 새로운 개념의 이성분계 상도를 성공적으로 작성할 수 있었다. 폴리에틸렌글리콜 / 인산칼륨 수성 이상계에 대해서 3 : 1 ~ 1 : 4, 에탄올 / 인산칼륨 수성 이상계에 대해서는 3 : 1 ~ 1 : 3으로 분리되는 상분리 부피비 상도를 얻을 수 있었다. 또한, 상분리 시간 상도를 통하여 폴리에틸렌글리콜 / 인산칼륨 수성 이상계는 약 70 s, 에탄올 / 인산칼륨 수성 이상계는 약 20 s의 최저 임계 상분리 시간을 갖는다는 사실을 알 수 있었다. 상분리 부피비 및 상분리 시간에 대한 상도를 함께 활용하여 상분리 부피비와 상분리 시간이 동일한 서로 다른 두 개의 농도가 존재한다는 사실이 확인되어 경제적 가치가 있었으며, 임의의 상분리 시간과 부피비를 갖는 수성 이상계 농도를 쉽게 정할 수 있어 수성 이상계를 화장품에 응용하기에 매우 편리한 자료가 될 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 2011년 지식경제부 지역산업기술개발 사업의 연구비 일부에 의하여 이루어진 것으로 지원에 감사드립니다(과제번호 200480).

Reference

1. P. A. Albertsson, Partition of Cell Particles and Macromolecules, 2nd Ed., 12, John Wiley & Sons, New York (1971).
2. B. C. Park and D. J. Lim,  $\alpha$ -Amylase, *Kor. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **20**(2), 190 (1992).
3. Y. S. Choi, S. Y. Lee, and D. I. Kim, Cultivation of *Digitalis Lanata* Cell Suspending in an Aqueous Two-Phase System, *J. Microbiol. Biotechnol.*, **9**(5), 589 (1999).
4. Y. S. Kim, K. N. Park, and S. H. Jang, Purification

- of Native and Modified Enzymes Using a Reactive Aqueous Two-Phase System, *J. Ind. Eng. Chem.*, **10**(3), 384 (2004).
5. J. Planas, D. Lefebvre, F. Tjerneld, and B Hahn, Analysis of Phase Composition in Aqueous Two-Phase Systems Using a Two-column Chromatographic Method, *Biotech. & Bioeng.*, **54**(4), 303 (1997).
  6. A. S. Schmidt, A. M. Ventom, and J. A. Asenjo, Partitioning and Purification of Alpha-Amylase in Aqueous Two-Phase Systems, *Enzyme and Microbial Technology*, **16**(2), 131 (1994).
  7. M. Cisneros, J. Benavides, C. H. Brenes, and M. Rito-Palomares, Recovery in Aqueous Two-Phase Systems of Lutein Produced by the Green Microalga *Chlorella Protothecoides*, *J. of Chromatography B.*, **807**(1), 105 (2004).
  8. T. Tianwei, H. Qing, and L. Qiang, Purification of Glycyrrhizin from *Glycyrrhiza Uralensis* Fisch with Ethanol/Phosphate Aqueous Two Phase System, *Biotechnology Letters*, **24**, 1417 (2002).
  9. H. Wang, Y. Dong, and Z. Xiu, Microwave-assisted aqueous two-phase extraction of piceid, resveratrol and emodin from *Polygonum cuspidatum* by ethanol/ammonium sulphate, *Biotechnology Letters*, **30**, 2079 (2008).
  10. D. G. Simonsen, M. Wertman, L. M. Westover, and J. W. Mehl, The Determination of Serum Phosphate by the Molybdovanadate Method, *J. Biological Chemistry.*, **22**(8), 747 (1946).