

多重相乳化技術的應用

任俊懿、陳紫嫻 摘譯

水產試驗所東港生技研究中心

乳化

乳化就是將兩種不同極性的物質互相混合成均質的狀態。以油和水為例，將油和水依照特定比例加入容器內，再添加適當的界面活性劑（乳化劑），經均質攪拌後，使水以較小液滴的方式存在於油中即形成油包水乳化物（W/O emulsions）；反之，油滴存在於水中即為水包油乳化物（O/W emulsions）。乳化的主要發生過程為：(1)界面活性劑利用疏水基和親水基與被乳化物之間的親和性，降低油和水之間的表面張力，進入油和水之間，使油和水借助它連接起來；(2)隨著油和水之間的表面張力的降低，使被乳化的油或水逐漸地變薄，透過界面活性劑越來越多地分布於另一液體的表面上；(3)在界面活性劑的疏水性和親水性的作用下，使被乳化的油和水逐漸分裂，從而使油或水被乳化而均勻地分散在另一種液體中，此又稱為簡易乳化（Simple emulsion）。目前最熱門的研究為多重相乳化物（Multiple emulsions），是指乳化過程加入兩種不同親水親油平衡值（hydrophilic-lipophilic value, HLB）的介面活性劑進行乳化作用。所得產物含有兩種內部相液滴，它們可能是不同大小的兩種相同或不同物質。符號表示為 W/O/W 或 O/W/O。

圖解如下：

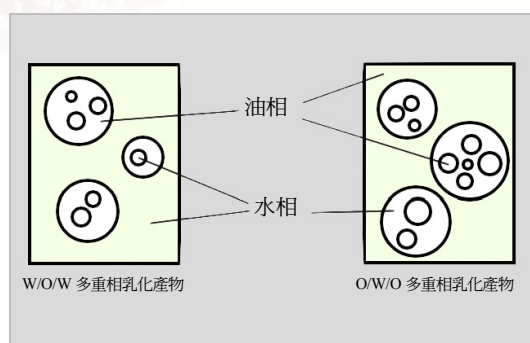


圖 1 多重相乳化系統的兩種產物形式

乳化是一個發展已久的技術，目前這項技術廣泛的被應用於各種科學。在食品科學方面，常見產品有沙拉醬、奶油和冰淇淋等。彩妝方面為乳液和面膜，並利用乳化讓玻尿酸易被人體吸收，提高產品價值。工業方面有潤滑劑、含水炸藥和目前最受重視的工廠廢水處理。工廠的含油工業廢水經油水分離，將含油的水直接製造成乳化重油，省下每噸 6 千至 1 萬元的廢水處理費，達到節能的效果。醫藥方面則有疫苗、藥膏和標靶藥物。最近研究發現，不管是水溶性還是油溶性的物質，在乳化物中都可達到很大的增溶量。內部水相的物質要想釋放，必先通過由界面活性劑分子組成的界面膜，此過程導致釋放較慢，且物質在內部相的總濃度可以達

到很高。因此，就可以達到減少用藥次數，緩慢釋放物質的目的。另外，包埋物在乳化物的內部水相中，避免與連續相的接觸，可保護易水解的物質在到達病灶部位前不被體液分解。透過乳化物載體，物質能夠緩慢地釋入人體內，且物質作用時間長，既能避免超過治療濃度範圍而導致的副作用，又可以使物質保持在有效的濃度範圍之內以維持療效。

在水產養殖方面的應用，大部分的研究著重在簡易乳化上，如 Arabaci et al. (2004) 利用 W/O 乳化法包埋雌性賀爾蒙 (GnRHa-FIA) 後注射虹鱔，顯示添加 25 或 50 mg 的佐劑型賀爾蒙顯著地加速卵的成熟，且不會影響卵的平均大小或成熟度。日本國特許廳於 2005/05/19 通過山下所提出「W/O 乳化相包埋水產動物用疫苗」專利一案。內容指出，本發明是依乳化安定性，將疫苗封入內水相形成的水包油乳化或水包油包水乳化所調製出來的成品。保存的安定性優於一般水產動物用疫苗。另外，這種乳化後的經口疫苗也可以相當簡單的配合水產動物用的飼料、營養補充劑、免疫賦活劑，進行經口攝取的可行性作法，以達到水產動物疾病防治的目的。除了研究，在產品開發方面，常見的有餌料生物滋養液，如熊克、派克系列和疫苗乳等。

W/O/W 型乳化在水產養殖上的研究近期備受重視，如任 (2006) 進行台灣石斑虹彩病毒 (Grouper iridovirus of Taiwan, TGIV) 不活化疫苗的口服製劑效果評估，總共進行 3 次口服免疫後病毒攻擊實驗。當未免疫的病毒對照組完全死亡時，820 免疫度天 (平均

水溫 $\times$ 免疫天數) 包埋疫苗組之活存率為 16.66—33.33%；而添加菇多醣體的包埋疫苗組別，保護效果在 500 免疫度天即有 20%，到 820 免疫度天時，免疫組的活存率達 26.66—43.75%。顯示多重相包埋處理確實能保護口服疫苗不被破壞。朱 (2007) 使用各種不同組別的飼料餵食點帶石斑苗 3 天，並在投餵結束後 1、5、10 天，進行病毒攻擊腹腔注射實驗，結果各組相對活存率分別為：IgY 包埋組 50%、94.5%及 22.2%，未包埋高劑量 IgY 組為 40%、68.8%及 33.3%，未包埋低劑量 IgY 組及餵食一般蛋粉組皆無保護功效。顯示 IgY 蛋粉具有被動保護作用，而包埋處理可以提高 IgY 的保護效果。另外陳 (2010) 研究，透過豐年蝦幼蟲和成蟲來攜帶多重相乳化物，其結果顯示，此乳化物確實可黏附於成蟲纖毛或幼蟲和成蟲被攝入體內進而被魚隻食入。這些研究顯示，多重相極適合被運用於水產養殖口服製劑的開發，因其外層為水相，因此在水中環境更可以均勻且安定的分布，為水產養殖方面帶來更方便的操作，期待未來有相關產品上市，以造福養殖業界。

多重相乳化成型技術

一、雙重乳化的技術/兩階段乳化作用 (Double Emulsification Technique /Two Steps Emulsification)

這是製作多重相乳化物最常見的方法，因為它非常簡易、可大量製造且再現性佳。選用適當的連續相和合適的乳化劑，將主要乳化物 W/O 或 O/W 再一次進行乳化作用。

第一步驟進行主要乳化(第一次乳化)獲得 W/O 或 O/W 乳化物,然後再使用大量的水相或油相內含合適的第二種乳化劑,將一次乳化物進行第二次乳化獲得 W/O/W 或 O/W/O 產物。親水性乳化劑和親油性乳化劑的比例會影響乳化物的物理化學性質。第二階段乳化是最重要的,因為其易導致第一次乳化物滴破裂。近來的研究是將每個乳化步驟進一步使用兩個次步驟(先使用超音波處理然後再進行乳化作用),因此衍生出 2×2 二階段乳化作用。這個修飾後的方法可以得到更高的產量和更穩定的產物。第二次乳化步驟的溫度及壓力,會影響多重相產物中液滴的大小。以良好的第一階段產物來進行第二階段乳化可得到高的包埋效果。

二、位相反相/單階段技術 (Phase Inversion / One Step Technique)

此多重相系統是由濃縮的 W/O 乳化物變成 O/W 乳化物的過程中發展而來。W/O/W 型乳液的位相反相是發生在整個系統的 HLB 值接近油所需的 HLB 值下。使用兩種乳化劑和兩種多聚合物透過單一階段乳化來完成多重相乳化物,這方法比兩階段乳化作用更有效率,且加入此兩種聚合物可使多重相乳化物更穩定。但是此技術無法產生顆粒均勻的產物且不能確定其所包埋的物質數目。

三、膜乳化作用技術 (Membrane Emulsification Technique)

這是一個嶄新、便利且有用的技術,係使用可調整孔徑大小的多微孔玻璃薄膜做為乳化用的工具,運用壓力來製備出分散相和連續相。本技術利用事先設定好孔徑大小的

薄膜,可得到預期中顆粒大小一致的液滴。多重相乳化物顆粒大小可以透過多微孔玻璃薄膜的選擇來進行調控,兩者間的關係式如下。

$$Y = 5.03 X + 0.19$$

X 代表薄膜孔徑大小

代表使用膜乳化作用技術的多重相乳化顆粒平均大小

四、微流道乳化技術 (Microchannel Emulsification, MC)

微流道乳化也是一項新穎且極具挑戰性的技術,用以製造單一分散的乳化物。此技術大都應用在兩階段乳化作用過程中的第二段階段乳化,來製備多重相乳化物。Li (2006) 使用油酸乙酯和中碳鏈的三甘油酯充當油相來研究內層水滴通過微流道的作用。他們成功的完成微流道乳化作用並製備出單一分散的油滴,內含小的水滴,所得包埋率高達 91%。

多重相乳化物的優勢

多重相乳化物幾乎都是 W/O/W 和 O/W/O 兩種形式,以前者的應用面最廣,因此研究也最詳細。水溶性的物質可以存在 W/O/W 內部的水相內,藉由此載體使水溶性的物質可以達到持久釋放的遞送目的。額外的 W/O/W 相對於 W/O 擁有許多的優勢,如其外部相為水相,所以具有較低的黏度,有利於各種操作。另外根據熱力學的分析,乳化物本身就是一個不穩定的產品,因此需要用界面活性劑等,來提供動態穩定,以促進長時間結構安定。為了使多重相乳化物穩

定，大多採用兩種不同的界面活性劑。一為穩定內層結構，另一則是穩定外部結構。作為生物載體的多重相乳化物，其組成成分的選擇更為苛刻。首先，成分必須無毒、無刺激性；其次，可提供攜帶物良好的生物利用率和增強溶解的能力。此外，多重相乳化物需具有較好的貯存穩定性（對溫度、pH、光、熱等不敏感），能夠控制攜帶物的釋放速度，具有緩釋及靶向性。離子型界面活性劑由於刺激性太大較少被使用，所以在生物載體系統中通常使用非離子型的表面活性劑。油相對於多重相乳化物的形成也很重要，碳鏈較長的油可以增溶多種尺寸的包埋物分子，而中等碳鏈的醇其生物降解率可達 90% 以上。因此，在選擇作為包埋物載體的多重相乳化物的組成時，要根據實際情況，綜合考慮以上因素。

多重相乳化物為相當複雜的系統，不過其具有許多優勢，如：(1)卓越的生物相容性；(2)完全可以被生物分解，不會因載體被分解而產生有害的物質；(3)避免不希望出現的免疫反應，防止包埋的物質被破壞；(4)親水性和疏水性的物質皆可以被包埋入同一載體中；(5)相對於其他給藥系統，顯著地減少給藥時物質的濃度波動情況；(6)可以增加內含物質的劑量，並長時間維持物質反應所需的濃度；(7)提升物質運送至網狀內皮系統和其他器官的可行性；(8)可以用做物質的味覺包裝，改變物質的嗜口性；(9)適當的油相選擇，可提升包埋物質在腸道的吸收效果。由於這些優勢，加上生物載體配方複雜，令多重相乳化技術至今仍受各國所重視，不斷有新的技術和配方專利的產出。

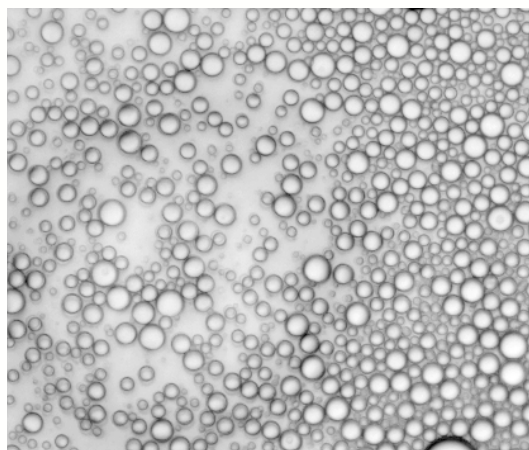


圖 2 W/O 乳化物之光學顯微鏡下的觀察圖

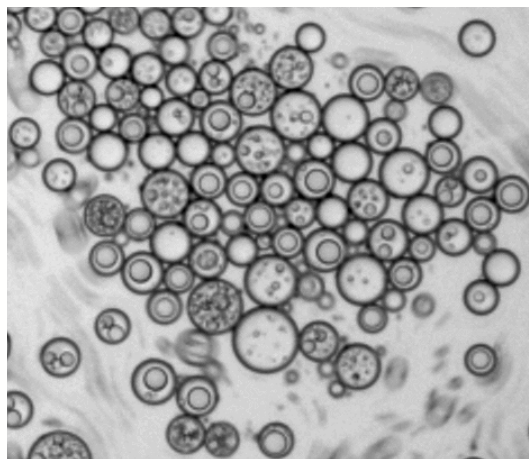


圖 3 W/O/W 乳化物之光學顯微鏡下的觀察圖

註：本文主要參考自

1. 山下政續（太陽化學株式會社）（2005/05/19）W/O 乳化相包埋水產動物用疫苗。日本國特許廳公開特許公報（A）。
2. Arabaci M, Diler I, Sari M. (2004) Induction and synchronization of ovulation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by administration of emulsified buserelin (GnRHa) and its effects on egg quality. *Aqua.*, 237(1-4): 475-484.
3. Yaqoob Khan, Azharl; Talegaonkar, Sushamal; Iqbal, Zeenatl; Jalees Ahmed, Farhanl; Krishan Khar, Roop (2006) Multiple Emulsions: An Overview. *Current Drug Delivery*, 3(4): 429-443.