

## Dynamic Light Scattering Method 를 이용한 수중유형 Microemulsion 의 제조조건 평가

민신홍 · 양중익 · 권종원 · 정대식 · 정엽

동아제약 연구소

(1987년 2 월 11일 접수)

### Process Evaluation in Preparing Oil in Water Microemulsion by Dynamic Light Scattering Method

Shin Hong Min, Joong Ik Yang, Jong Won Kwon, Dae Sik Jeong and Yeoub Jeong

Research Laboratories of Dong-A Pharm. Co., Ltd.

(Received February 11, 1987)

Oil in water microemulsion containing soybean oil and egg phosphatide was prepared by vacuum high shear mixing and high pressure homogenizing. The laser particle sizer, Coulter counter and photomicroscope were used to determine the particle size distribution at each cycle of homogenizing. Particularly, the laser particle sizer (dynamic light scattering method) was applied to the study of particle size distribution behavior below  $1 \mu\text{m}$ . It was found that the particle size distribution below  $1 \mu\text{m}$  was shifted to lower size range as the number of passing cycle was increased. Beyond the 7th cycle, however, the particle size distribution was not varied.

high pressure homogenizer 를 사용한  $1 \mu\text{m}$  이하의 microemulsion 제조시 적정압력 및 통과 회수를 결정하는 일은 매우 중요한데 주로 제조한 emulsion 의 입도분포 및 평균입경을 측정함으로써 가능하다.

입자측정법<sup>1-3)</sup>에는 현미경법, 침강법, 탁도법, Coulter counter 법과 laser particle sizer 법 등이 있는데 광학현미경에 의한 입자측정법은  $2 \mu\text{m}$  이하의 관찰이 곤란하고 정량적이지 못하며<sup>1)</sup> 탁도법은 조작이 간단하나 특정 emulsion system 에서 경험적인 data 가 축적되었을 때 사용이 가능하므로 high pressure homogenizer 를 이용한 microemulsion 의 제조조건 평가에는 사용하기 어렵다. 침강법에는 중력에 의한 방법과 원심분리에 의한 방법이 있는데 측정 시간이 많이 걸리고 또한 분산매 및 분산상의 진밀도를 알아야 입자크

기를 정확히 산출할 수 있기 때문에 진밀도 측정을 위한 별도의 측정기와 복잡한 조작을 필요로 하는 단점이 있다. Coulter counter 에 의한 emulsion 의 입자측정<sup>4-6)</sup>은  $0.5 \mu\text{m}$  이하에서는 적용할 수 없다는 문제점이 있으나  $1 \mu\text{m}$  이상에서는 적용이 용이하고 또 입자수를 정확히 알 수 있는 장점이 있다. dynamic light scattering method<sup>2-3)</sup>를 이용한 laser particle sizer 는  $0.003 \sim 3 \mu\text{m}$  범위 내에서 입도분포와 평균입경을 재현성 있게 측정할 수는 있으나 입자수를 측정할 수 없다는 제한이 있다.

따라서 저자 등은 Coulter counter 와 laser particle sizer 를 동시에 사용해  $1 \mu\text{m}$  이하의 입도분포와  $1 \mu\text{m}$  이상의 입자수를 측정함으로써 high pressure homogenizer 에 의한 microemulsion 의 제조조건을 보다 정확하게 평가할 수 있었다.

**실험방법**

**재료 및 시약**

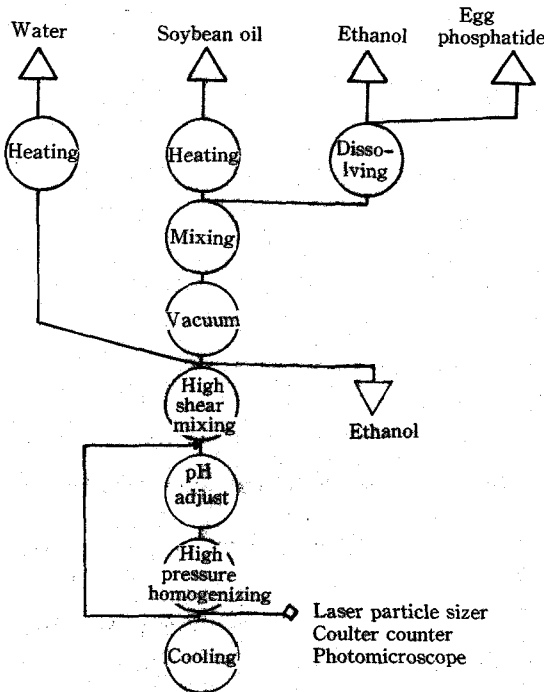
purified egg phosphatide(Asahi Chemical), 수산화나트륨(Tokyo Ohka), 에탄올(E. Merck), Isoton II(Coulter Electronics) 등을 사용하였고 대두유는 4℃에서 2주이상 winterizing 하여 생성된 고형성분을 가아제로 여과하여 제거한 후 사용하였다.

**기기**

high shear mixer(Mizuho PVQ-3), high pressure homogenizer(Manton Gaulin 15 M-8 TA), Coulter counter(Coulter Electronics, model ZM) with channelyzer(Coulter Electronics, C-100, photographic microscope(Olympus Optics Co.), pH meter(Beckman PHI 71) 및 laser particle sizer(Nicomp, model 370)등을 사용하였다.

**Microemulsion 의 제조<sup>7-11)</sup>**

Scheme 1의 방법에 따라 high shear mixer에



Scheme 1—Manufacturing process of o/w microemulsion.

대두유 100g을 넣고 70℃로 가온한 후 여기에 purified egg phosphatide 12g을 무수 에탄올 50 ml에 녹인 용액을 가하고 5분간 혼합한 후 720 mmHg 이상으로 10분간 진공을 유지하여 에탄올을 제거하였다. 여기에 70℃로 미리 가온한 증류수 910 ml를 가하여 8,000 rpm으로 20분간 high shear mixing을 한 후 pH를 6.8로 조절하고 이것을 반복하여 high pressure homogenizer에 통과시키면서 통과회수 및 압력을 변화시켜 microemulsion을 제조하였다.

**입도측정**

high pressure homogenizer를 통과시킨 microemulsion을 소량 취하여 slide 위에 놓고 증류수를 가해 적당히 희석한 후 현미경을 사용하여 거대입자의 유무를 관찰하였고 70 μm aperture, 1, 11 μm standard latex로 calibration한 Coulter counter를 사용하여 1 μm 이상의 입자수를 측정하였다. 이 때의 시료는 microemulsion을 Isoton II에 1 : 10,000으로 희석하여 사용하였다.

1 μm 이하의 입도분포 및 평균입경은 희석하지 않은 microemulsion을 직접 시료로 하여 autodiluter가 장착된 laser particle sizer를 사용하여 측정하였으며 data 수집 및 처리는 Nicomp software version 4.20으로 하였다.

**실험결과 및 고찰**

현미경에 의한 microemulsion의 관찰은 2 μm 이상에서는 가능하나 1 μm 이하의 입도변화는 알 수 없었으며 high pressure homogenizer 1회

Table I—Particle counts of Microemulsions by Coulter counter.

Size (μm)	Counts			
	1 Pass	3 Pass	5 Pass	7 Pass
5.0	3	0	0	0
3.0	22	2	0	0
1.0	3,372	826	156	81

dilution ratio (1 : 10000), aperture size: 30 μm, manometer volume: 50 μl

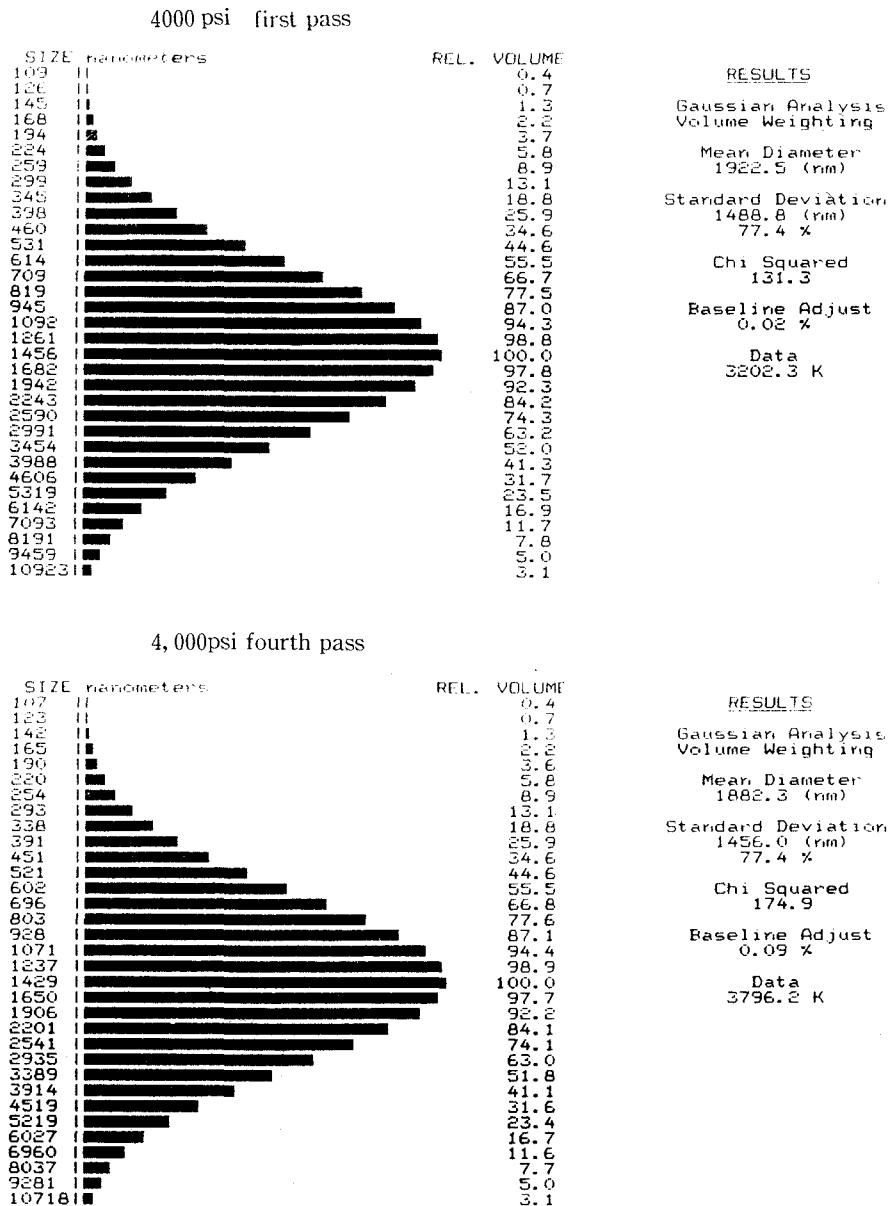


Figure 1 —Gaussian analyses of particle size distribution at 4,000psi.

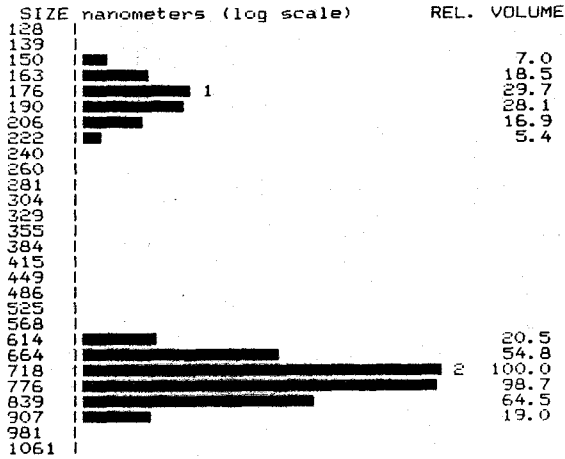
통과에 의해 size 가 급격히 감소됨으로 현미경 관찰에 의한 제조조건 평가는 불가능함을 알 수 있었다.

Table I 은 6,000 psi 압력에서 통과회수에 따른 입자의 크기별 입자수를 Coulter counter 로 측정 한 결과로서 통과회수를 증가시킬수록 1.0 μm 이

상의 입자수가 급격히 적어지고 대부분 1 μm 이하의 입자로 존재하므로 전체적인 입자거동은 알 수 없으나 1 μm 이상 입자의 존재 유무는 정확히 알 수 있었다.

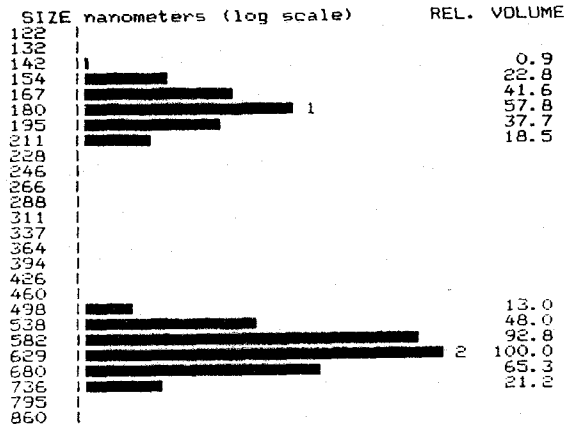
Fig.1은 4,000 psi 압력에서 high pressure homogenizer 를 1 회 및 4 회 통과시켰을 때의

5,000psi first pass



**RESULTS**  
 Distribution Analysis  
 Peak #1  
 Diameter = 181.0  
 % Volume = 22.9  
 Peak #2  
 Diameter = 743.3  
 % Volume = 77.1  
 Fit Error  
 3.1  
 Residual  
 0.0  
 Mean Diameter  
 622.4 (nm)  
 Standard Deviation  
 247.4 (nm)

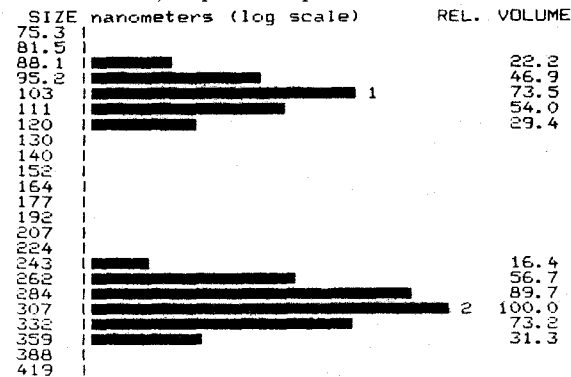
5,000psi tenth pass



**RESULTS**  
 Distribution Analysis  
 Peak #1  
 Diameter = 180.3  
 % Volume = 36.6  
 Peak #2  
 Diameter = 620.0  
 % Volume = 63.4  
 Fit Error  
 1.9  
 Residual  
 0.0  
 Mean Diameter  
 465.2 (nm)  
 Standard Deviation  
 212.5 (nm)

Figure 2 — Particle distribution analyses of microemulsions with different passes in high pressure homogenizer at 5,000psi.

Nicomp Distribution Analysis  
 6,000psi tenth pass



**RESULTS**  
 Distribution Analysis  
 Peak #1  
 Diameter = 104.2  
 % Volume = 42.4  
 Peak #2  
 Diameter = 303.9  
 % Volume = 57.6  
 Fit Error  
 1.7  
 Residual  
 13.5  
 Mean Diameter  
 226.1 (nm)  
 Standard Deviation  
 98.8 (nm)

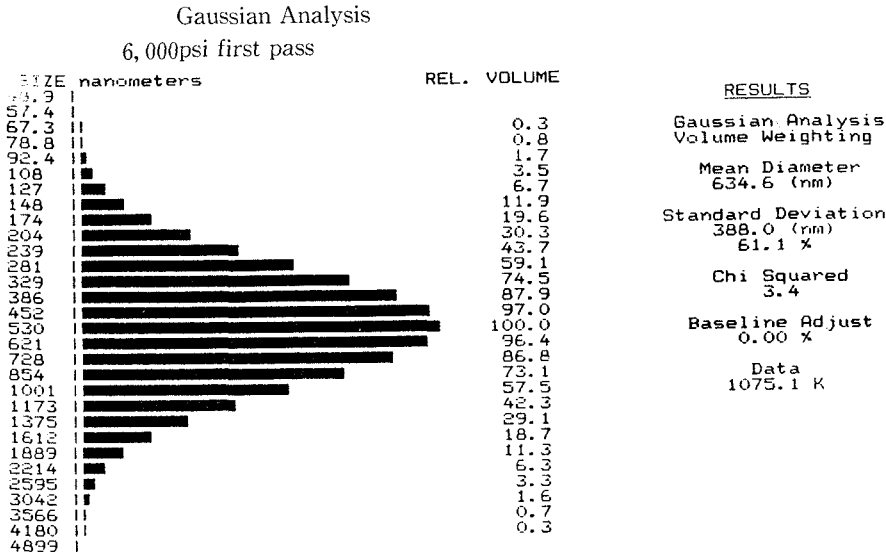


Figure 3—Particle size distributions at 6,000 psi.

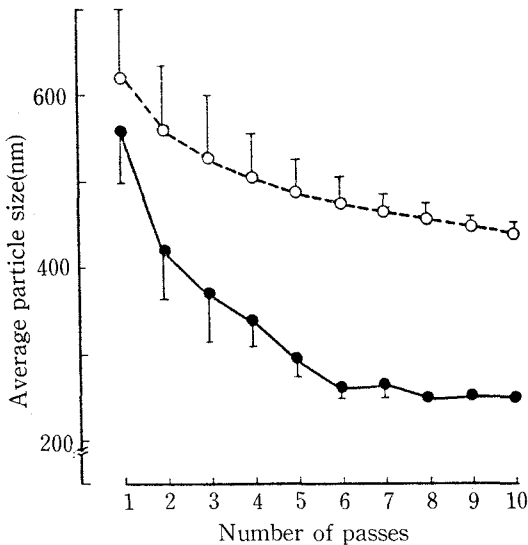


Figure 4—Average particle sizes plotted against number of passes in the homogenizer.  
Key: ○--○, 5,000 psi; ●—●, 6,000 psi

laser particle sizer의 data로서 4,000 psi에서는 4회 통과에 의해 입도분포의 변화가 거의 없고 평균입경의 감소도 거의 일어나지 않았다.

Fig.2 및 Fig.3은 5,000 psi 및 6,000 psi에서의 data로서 각 통과 회수에 따른 입도분포 및 평균입경을 나타낸 것이다.

Fig.4는 각각의 압력하에서 high pressure

homogenizer 통과 회수에 따른 평균입경의 변화를 나타낸 도표로서 5,000 psi의 경우 통과 회수 증가에 따라 평균입경이 서서히 감소됨에 비해 6,000 psi에서는 6회까지는 급격히 감소되었으나 7회 이후에는 큰 변화가 없었다. 특히 5,000 psi에서 10회 통과한 경우보다 6,000 psi에서 2~3회 통과한 경우의 평균입경이 더욱 작았다.

### 결론

1. high pressure homogenizer를 사용하여 10% 대두유 microemulsion을 제조할 때 6,000 psi에서 6회 통과가 최적 제조조건이었으며 7회 이상 통과시켜도 평균입경 및 입도분포에 유의성 있는 감소가 나타나지 않았다.

2. Coulter counter와 laser particle sizer의 동시 사용이 1 μm 이하의 microemulsion의 제조조건을 평가하는데 매우 유용하였다.

### 문헌

- 1) M.J. Groves and D.C. Freshwater, Particle-size analysis of emulsion systems, *J. Pharm. Sci.*, **57**(8), 1273 (1968)
- 2) N. Stanley and T. Allen, Particle size

- analysis 1981, Wiley Heyden Ltd., 1982
- 3) T. Allen, Particle size measurement, 3rd edition, Chapman and Hall Ltd., 1981
  - 4) K. Eberth and J. Merry, A comparative study of emulsions prepared by ultrasound and by a conventional method, *Intern. J. Pharm.*, **14**, 349 (1983)
  - 5) W.S. Singleton and M.L. Brown, Effect of saline electrolyte on particle sizes in fat emulsions by electronic counting, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **42**, 312 (1965)
  - 6) D.G. Cornell and M.J. Pallansch, Counting and sizing fat globules electronically, *J. Dairy Sci.*, **49**(11), 1371 (1966)
  - 7) R.P. Geyer, F.R. Olsen, S.B. Andrus, W. R. Waddell and F.J. Stare, Preparation of fat emulsions for intravenous alimentation, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **32**, 365 (1955)
  - 8) R.R. Benerito and W.S. Singleton, Fat emulsion, Effect of heat on solubility of hydrophilic emulsifiers, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **33**, 364 (1956)
  - 9) W.S. Singleton, J.L. White, L.L. Ditrapani and M.L. Brown, An emulsifier system for experimental intravenous fat emulsions, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **39**, 260 (1962)
  - 10) H.J. Zeringue, M.L. Brown and W.S. Singleton, Chromatographically homogeneous egg lecithin as stabilizer of emulsions for intravenous nutrition, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **41**, 688 (1964)
  - 11) A. Takamura, F. Ishii, S. Noro and M. Koishi, Effect of homogenization conditions on the physicochemical properties of emulsion bases, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 2786 (1983)