

## 복합비타민 유제의 제조와 평가

이문석 · 조혜영 · 이용복<sup>†</sup>

전남대학교 약학대학약품개발연구소  
(2002년 1월 4일 접수 · 2002년 2월 15일 승인)

## Preparation and Evaluation of Multivitamin Emulsion

Moon-Seok Lee, Hea-Young Cho and Yong-Bok Lee<sup>†</sup>

College of Pharmacy and Research Institute of Drug Development,  
Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

(Received January 4, 2002 · Accepted February 15, 2002)

**ABSTRACT**—Water-lipid soluble multivitamin formulations were widely used to reduce the disease and stress of animals as husbandry has made a remarkable progress in recent. But the efficiency of these formulations is far from satisfactory. So, this study was attempted to develop the physically and chemically stable and useful multivitamin o/w emulsion. Multivitamin o/w emulsion composed of water, soybean oil (10%, v/v), vitamin A, D, E, K, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> and panthenol. To make a stable o/w emulsion, the egg lecithin (2%, w/v) and glycerin (2.5%, w/v) were used for emulsifier and thickening agent, respectively. The oil in water emulsion system was manufactured by microfluidizer and the physicochemical stability of this emulsion was evaluated. The average particle size and interfacial tension were measured. From the result of interfacial tension tested, critical micelle concentration of the egg lecithin was 0.5% (w/v) and optimal concentration for the preparation of emulsion was 2% (w/v). The mean particle size was about 0.6 μm which was suitable for injections. Short-term accelerated stability as physical stability study was tested by centrifuging and freeze-thawing the emulsion samples. The additions of vitamins resulted in the increment of particle size and reduction of physical stability of emulsion. But it is not an enormous problem for the stability of emulsion. Also, we have performed the long-period preservation stability test for the vitamins. All vitamins were analysed by HPLC. The result of storage under 4°C and dark conditions demonstrated that all vitamins were maintained stable at least 16 weeks, except for vitamin B<sub>12</sub>.

**Keywords**—O/W emulsion, Vitamins, Physicochemical stability

비타민은 고등동물의 체내에서 전혀 합성되지 않거나 필요한 만큼 합성되지 아니하여 식품으로부터 반드시 섭취해야 한다. 비타민은 소량으로 신체기능을 조절한다는 점에서 호르몬과 비슷하다. 그러나 호르몬은 신체의 내분비기관에서 합성되지만 비타민은 외부로부터 섭취되어야 한다는 점이 전혀 다르다. 따라서, 체내합성 여부에 따라서 어떤 동물에게는 비타민이, 다른 동물에게는 호르몬이 될 수 있다. 비타민의 체내기능은 매우 광범위한데, 대부분은 효소나 또는 효소의 역할을 보조하는 조효소의 구성성분이 되어 탄수화물·지방·단백질·무기질의 대사에 관여한다. 이러한 비타민의 체내 필요량은 매우 소량으로도 충분하지만, 이 소량의 필요량이 공급되지 않을 때 생명현상의 유지에 필요한 체내 영양소의 대사가 지장을 받게 된다. 이러한 이유로 해서 비타민은 사람이나 동물에게 많이 투여되고 있는 실정이다. 이러

한 비타민을 생체에 공급하기 위한 복합비타민 유제는 대규모로 산업현장에서 제조되고 있고, 또한 임상적으로도 많이 사용되고 있다. 하지만 현재 시판되고 있는 제제는 생체이용율이나 안정성의 측면에서 볼 때 상당히 미흡한 실정이다.<sup>1)</sup>

한편, 유제는 그 내부에 상당량의 지용성 약물과 수용성 약물을 한꺼번에 운반할 수 있는 능력을 가지고 있다.<sup>2)</sup> 또한 약물을 유제로 해서 경구투여하면 흡수가 촉진되어 약물의 생체이용율이 상승한다.<sup>3-5)</sup> 특히, 복합비타민 수중유형 유제는 유적을 약물운반체로 사용하고 있어 리포솜 등에 비해 생분해성, 생적합성, 물리적 안정성 등이 더 우수하고 그 제조방법이 간단하기 때문에 최근에 그 연구가 집중되고 있다.<sup>2)</sup>

수중유형 유제는 일반적으로 유화제가 포함된 수상에 유상을 섞어서 제조한다. 제조된 유제 입자의 안정성, 지용성 약물의 포집능, 그리고 체내분포 등과 같은 유제의 특성은 사용 유화제의 종류와 기름과 유화제의 비율 등에 의해서 결정된다.<sup>2)</sup> 이론적으로 양친성 또는 세제와 같은 분자는 적당한 조건하에서 유화제로 쓰일 수 있다. 실제로 인지질은 보

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : 062-530-2931, E-mail : leeyb@chonnam.chonnam.ac.kr

조 유화제를 넣지 않아도 되고 낮은 독성과 생체 적합성 때문에 정맥주사용 유제의 유화제로 사용되고 있다. 인지질의 일종인 레시틴을 유화제로 사용하여 적당한 조건 하에서 제조된 유제는 안정할 뿐만 아니라 에너지원으로도 사용될 수 있어 정맥 주사용 제제로 이용되고 있다.<sup>6)</sup>

본 연구에서는 레시틴을 유화제로 사용하여 복합비타민 수중유형 유제를 제조한 후 복합비타민 유제의 제조기준 및 시험방법을 확립하고 제조된 복합비타민 유제의 물리화학적 안정성을 시험함으로써 사람이나 동물에 대해 경구와 정맥 투여 제제로서 이용될 수 있는 복합비타민 유제를 개발하고자 하였다.

## 실험방법

### 시약 및 기기

All trans-retinol palmitate, 콜레칼시페롤, (+)-알파-토코페롤, 메나디온, 리보플라빈 인산나트륨, 피리독신 염산염, 시아노코발라민, 판토텐일 알코올, 대두유, 에탄올, 글리세린 (이상 Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, 미국), 난황 레시틴(Asahi Chemical Industry Co. Ltd., Tokyo, 일본)은 복합비타민 수중유형 유제의 제조에 사용되었다.

HPLC 용매로 아세토니트릴, 메탄올(이상 Fisher Scientific Co., Fair Lawn, NJ, 미국) 등을 사용하였으며 HPLC에 사용되는 물은 Milli Q(Millipore Co., Milford, MA, 미국)에서 18 MΩ·cm로 통과시킨 것을 사용하였다. Silicon wax (Superior<sup>®</sup>, Paul Marienfeld KG, Bad Mergentheim, 독일)는 원심분리 실험에, 기타 다른 시약들은 모두 특급 또는 1급 시약을 그대로 사용하였다.

실험장비로는 homogenizer(PT-MR 3100, POLYTRON<sup>®</sup>, Kinematica AG, Littau, 스위스), microfluidizer(M-110 Microfluidizer<sup>®</sup>, Microfluidics Co., Newton, MA, 미국),

du Noüy tensiometer(Educational Tensiometer K6, Krüss, Hamburg, 독일), dynamic light scattering analyzer (Auto-sizer Lo-C, MALVERN Instruments, Worcestershire, 영국), 원심분리기(H-31, Kokusan Inc., Tokyo, 일본), auto-mated hemocytometer(Coulter<sup>®</sup> STKS, Coulter Electronics Inc., Northwell, 영국) 및 plain capillary tube(내경 1.1~1.2 mm, Chase Scientific Glass Inc., Rockwood, TN, 미국) 등을 사용하였다.

또한 비타민의 정량을 위한 HPLC 기기로는 HPLC용 펌프(LC-10ADvp, Shimadzu, Tokyo, Japan), Nucleosil 100-5 C<sub>18</sub>(입자경 5 μm, 4.6 × 150 mm, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co., Düren, 독일), Nova-Pak C<sub>18</sub>(입자경 4 μm, 3.9 × 150 mm, Waters Co., Milford, MA, 미국), AQUA C<sub>18</sub>(입자경 5 μm, 250 × 4.6 mm, Phenomenex, Torrance, CA, 미국), UV 검출기( SPD-10A, Shimadzu, Tokyo, 일본), 형광 검출기(RF10A<sub>XL</sub>, Shimadzu, Tokyo, 일본), Column oven(CTO-10Avp, Shimadzu, Tokyo, 일본), 적분계(SCL 10 Avp, Shimadzu, Tokyo, 일본) 및 주입기(7725i, Rheodyne, Cotati, CA, 미국)를 사용하였다.

### 복합비타민 유제의 조성

복합비타민 유제의 유화제로는 난황 레시틴을, 후화제로는 글리세린을, 비타민으로서는 비타민 A, D<sub>3</sub>, E, K<sub>3</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> 및 panthenol을 사용하였으며 비타민의 1일 필요량과 유제의 희석배수를 고려하여 최종적으로 결정한 복합비타민 유제의 조성을 Table I에 나타내었다.<sup>1,6)</sup>

### 계면장력 측정

레시틴을 각각 0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2 및 5% (w/v) 함유한 수상 40 ml를 준비하고 여기에 유상으로서 대두유 40 ml를 조심히 부은 후 계면에 담긴 du Noüy tensio-

Table I—Composition of multivitamin emulsion

|                  | Ingredient   | Content (1 L) |
|------------------|--|---------------|
| Emulsifier       | Egg lecithin   | 20 g          |
| Thickening agent | Glycerin   | 25 g          |
| Vitamins         | Vitamin A (retinol palmitate)                        | 10,000,000 IU |
|                  | Vitamin D <sub>3</sub> (cholecalciferol)             | 2,000,000 IU  |
|                  | Vitamin E ((+)-α-tocopherol)                         | 15,000 IU     |
|                  | Vitamin K <sub>3</sub> (menadione)                   | 2,000 mg      |
|                  | Vitamin B <sub>2</sub> (riboflavin sodium phosphate) | 4,000 mg      |
|                  | Vitamin B <sub>6</sub> (pyridoxine HCl)              | 500 mg        |
|                  | Vitamin B <sub>12</sub> (cyanocobalamin)             | 20 mg         |
|                  | D-panthenol (D-pantothenyl alcohol)                  | 2,400 mg      |

meter의 백금-이리듐 환을 분리시키는데 필요한 힘을 계면장력으로 환산하였다.<sup>7)</sup> 또한 계면장력에 미치는 비타민의 영향을 알아보기 위해서 유상과 수상에 각각 지용성 비타민과 수용성 비타민을 처방량 만큼 넣어 용해시킨 후 동일한 방법으로 측정하였다.

**유제의 제조**

대두유를 70°C로 유지한 상태에서 지용성 비타민을 넣고 서서히 녹여 유상으로 하였다. 난황 레시틴에 물을 가하고 70°C로 유지시켰다. 때때로 저어서 난황 레시틴을 모두 녹인 후 여기에 수용성 비타민을 가해 수상으로 하였다. 유상과 수상을 70°C로 유지한 상태에서 1:10(v/v)의 비율로 혼합하고 여기에 글리세린을 첨가(2.5%, w/v)하였다. 이 혼합액을 10,000 rpm에서 10분간 homogenization하여 제조한 crude 유제를 0.1 N NaOH를 가하여 pH를 7.0으로 조정하였다. 이렇게 제조한 crude 유제를 고압분산법에 따라 18 psi 유입압력, 3,000 psi 적용압력 하에서 microfluidizer에 통과시켜 유제를 제조하였다.<sup>8,9)</sup>

**입자도 측정**

가장 작은 입자 크기를 유지하는 최적의 유화제 농도를 결정하고 비타민의 첨가가 입자 크기에 미치는 영향을 검토하고자 레시틴을 0.01, 0.1, 0.5, 1, 2 및 5%(w/v) 함유한 공유제와 복합비타민 유제를 제조한 후 dynamic light scattering analyzer를 이용하여 입자도를 측정하였다.<sup>7)</sup> 아울러, 제조된 유제의 물리적 안정성을 측정하기 위하여 제조직 후의 유제와 4°C, 암소에서 보관한 유제의 일정량을 1, 4, 8, 12 및 16주 후에 취하여 동일한 방법으로 입자도를 측정하였다.

**Microfluidizer 통과 횟수 결정**

Microfluidizer를 이용한 고압분산법에 따른 가장 안정한 유제를 제조할 수 있는 통과 횟수를 결정하기 위하여 비타민을 첨가하여 제조한 crude 유제와 첨가하지 않고 제조한 공유제를 18 psi 유입압력, 3,000 psi 적용압력 하에서 microfluidizer에 통과시켜 통과 횟수에 따른 유제의 입자도 변화를 측정하였다.<sup>10)</sup>

**복합비타민 유제의 물리적 안정성 측정<sup>7,10,11)</sup>**

제조된 유제의 물리적 안정성을 측정하기 위하여 제조직 후의 유제와 4°C, 암소에서 보관한 유제의 일정량을 1, 4, 8, 12 및 16주 후에 취하여 plain capillary tube에 제조한 유제를 채우고 그 끝을 silicon wax로 단단히 봉인한 다음

원심분리기를 이용하여 3000, 5000, 7000 및 10000 g에서 원심분리 시켰으며 원심분리 시간에 따른 영향을 알아보기 위해서 10분과 30분 동안 원심분리 시킨 후 automated hemocytometer를 이용하여 creaming 분율을 구하였다. 또한 제조된 유제를 -70°C에서 12시간 얼린 후 4°C에서 12시간 동안 녹이는 cycle을 0, 1, 2, 3 및 6회 실행한 후 유제의 입자도 변화를 측정하였으며 측정시간에 따른 변화를 알아보기 위해서 녹인 직후, 20, 40 및 60분 후의 입자도를 측정하였다.

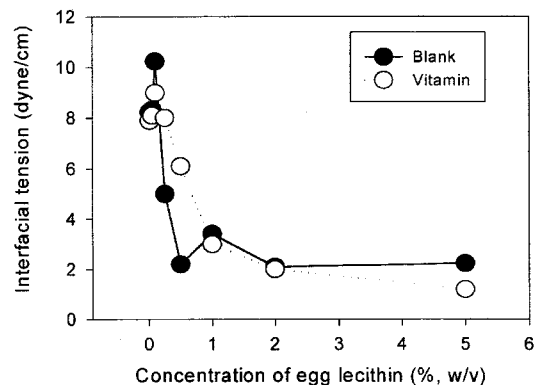
**복합비타민 유제 중 비타민의 안정성 측정**

복합비타민 유제 중 비타민의 안정성을 알아보기 위하여 장기보존실험을 하였다. 우선 유제에 첨가한 개개 비타민들의 분석법을 기존의 HPLC 분석논문<sup>12-20)</sup>을 참조하여 확립하였다. 복합비타민 유제를 메탄올, 에탄올 또는 3차 증류수를 이용하여 적절히 희석한 후 HPLC로 분석하였으며 이 결과를 바탕으로 유제 중 비타민의 안정성을 측정하였다. 제조한 복합비타민 유제를 4°C, 암소에서 보관하면서 1, 4, 8, 12 및 16주가 경과하는 동안 검체의 일부를 취하여 개개 비타민의 분석 조건에 따라 비타민의 함량을 측정하여 제조 후 발생할 수 있는 역가의 저하 등을 측정하였다.

**결과 및 고찰**

**유화제의 최적 농도 결정**

비이온성 유화제로 난황 레시틴을 사용하였다. 난황레시틴의 농도와 계면장력과의 관계를 Figure 1에 나타내었다. 난황레시틴의 농도가 0.01%에서 0.1%까지는 계면장력이 크게 변화하지 않다가 0.1%부터 1%사이에서 급격히 감소하였다. 그 이후에는 레시틴의 농도를 증가시켜도 계면장력은 크게 변화하지 않고 일정해 짐을 알 수 있었다. 이러한 결과



**Figure 1**—Effect of egg lecithin on the interfacial tension between soybean oil and water system. Each point represents the mean ± S.D. (n=3). Error bars were included in the symbols.

로부터 난황레시틴의 임계미셀농도는 0.5%가 됨을 알 수 있었다. 또한 임계미셀농도 값이 실제로 유제를 제조하였을 때 어떻게 변화하는 지를 알아보기 위해 유화제의 농도를 변화시켜 유제를 제조하고 그 입자도를 측정해 보았다. Figure 2에 나타냈듯이 레시틴의 농도가 높아질수록 입자도가 점점 줄어들다가 2% 이상에서는 일정해 짐을 알 수 있었다. 이로부터 임계미셀농도 이상 2%까지는 레시틴의 농도를 증가시킬수록 계면막은 점점 더 단단해져서 막의 물리적, 전기화학적 안정화에 기여하고 유화를 하는 과정에서 주위의 기름방울과의 반발력을 더욱 더 증가시켜 입자를 더욱 더 작게 만드는 것으로 사료되었으며, 또한 이렇게 생성된 크기가 작은 기름 방울은 안정하여 오랫동안 저장이 가능함을 알 수 있었다. 따라서, 비록 임계미셀농도는 0.5%이지만 유제의 최적화를 위해서는 2% 이상의 레시틴이 필요함을 알 수 있었으며 이러한 결과로부터 유화제의 최적 농도를 2%로 결정하였다.

**복합비타민 유제의 제조**

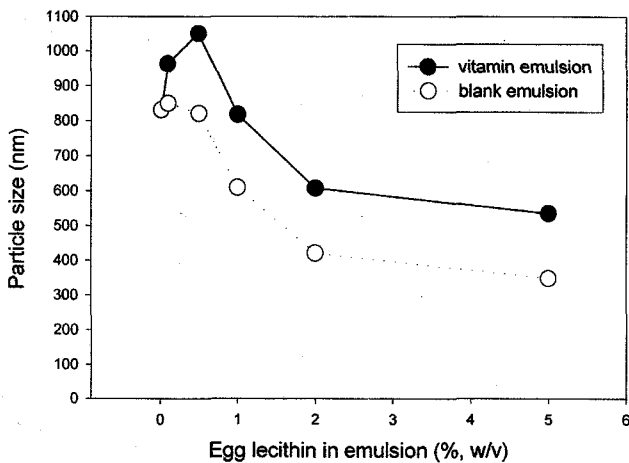
입자의 크기와 분포는 유제의 안정성이나 생체내 조직분포 등에 중요한 역할을 한다.<sup>2)</sup> 크기가 작고 안정한 유제를 만들기 위해서는 그만큼의 커다란 전단력을 필요로 하기 때문에 microfluidizer를 이용하여 복합비타민 유제를 만들었다. 예상대로 유제의 입자 크기는 microfluidizer를 통과하는 통과 횟수에 의존함을 알 수 있었다. 기름방울은 전단력을 받으면 받을수록 더욱 더 작게 깨지고 곧이어 수상에 존재하는 유화제의 지용성 부분과 접촉하게 되어 Figure 3에서 보듯이 통과 횟수를 증가시키면 따라 그 크기가 점점 줄어들었다. 공유제의 경우에는 통과 횟수를 증가시키면 시킬수록 계속해서 입자 크기가 줄어들어 11회부터는 그 크기가 일정

하게 유지됨을 알 수 있었다. 반면에 복합비타민 유제의 경우는 7회까지는 계속해서 크기가 줄어들다가 9회부터는 오히려 갑자기 커져서 일정해짐을 알 수 있었다. 이는 microfluidizer에 의한 과잉의 힘에 복합비타민 유제가 계속해서 노출되면 오히려 계면막이 파괴되기 때문일 것으로 사료되었다. 따라서 복합비타민 유제의 제조시 microfluidizer 통과 횟수를 7회로 정하였고 그때 얻은 평균 입자 크기는 620 nm이었다.

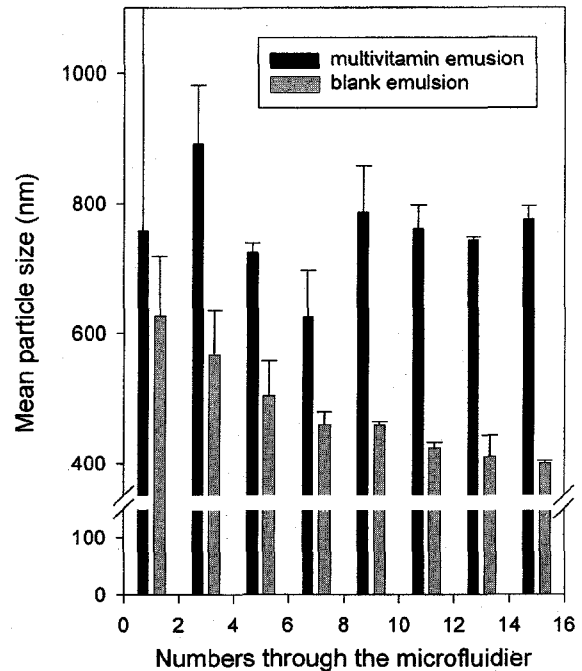
**복합비타민 유제의 물리적 안정성**

제조직후의 복합비타민 유제와 공유제의 안정성을 비교하기 위해 원심분리기를 이용하여 3000, 5000, 7000 및 10000 g에서 10분과 30분 동안 원심분리시켜 creaming 비율을 측정한 결과, 다음 Figure 4와 같은 결과를 얻었다. 복합비타민 유제가 공유제보다도 같은 회전력에서 creaming 비율이 더 큰 것은 복합비타민 유제가 공유제보다도 입자의 크기가 약 400 nm 더 크기 때문인 것으로 사료되었다. 아울러, 제조된 복합비타민 유제나 공유제는 16주까지는 그 입자도와 creaming 비율이 일정하게 유지되고 있음을 알 수 있었으며 이로부터 본 방법에 따라 제조된 복합비타민 유제는 물리적으로 안정하여 시판 가능할 것으로 사료되었다.

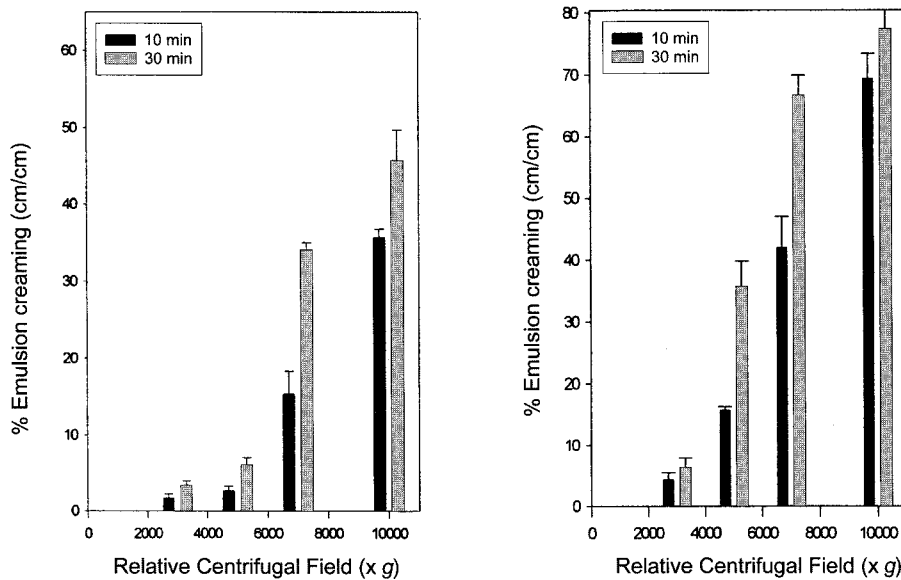
한편, freeze-thaw cycle과 녹인 후 시간의 경과에 따른



**Figure 2**—Effect of egg lecithin on the particle size of blank and multivitamin emulsion. Each point represents the mean ± S.D. (n=3). Error bars were included in the symbols.



**Figure 3**—Average particle size of blank and multivitamin emulsion as the function of cycles through the microfluidizer. Black and gray bars represent the blank and vitamin emulsion, respectively. Each value represents the mean ± S.D. (n=3).

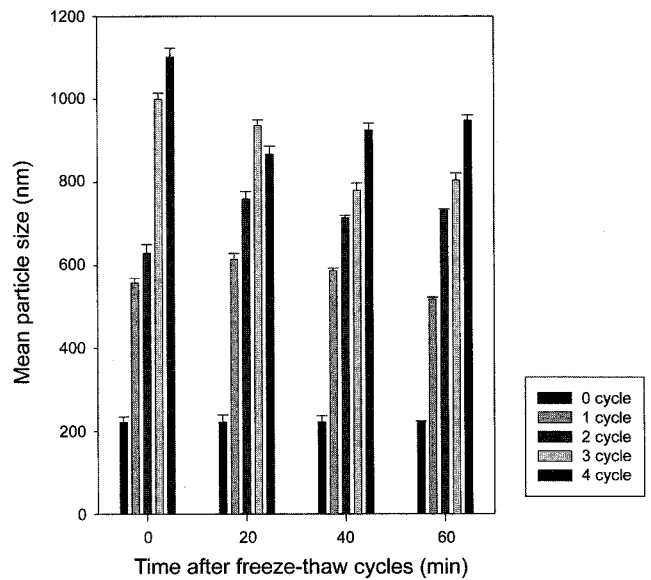


**Figure 4**—Blank emulsion (left) and multivitamin emulsion (right) creaming as the function of the speed and time of centrifugation. Each value represents the mean  $\pm$  S.D. (n=3).

제조된 유제의 입자도 변화를 측정된 결과(Figure 5와 6), 공유제의 경우 시험 전에 약 0.2  $\mu\text{m}$ 이었던 입자도가 cycle 을 거치는 동안 증가하여 약 1  $\mu\text{m}$ 까지 증가한 반면 복합비타민 유제는 약 0.6  $\mu\text{m}$ 에서 시작하여 6 cycle이 지난 후에는 평균 약 60  $\mu\text{m}$ 까지 증가하였고 그 분포양상도 공유제에 비하여 상당히 넓게 나타났다. 이는 복합비타민 유제의 경우에는 수·지용성 비타민 다성분계에 의한 간섭현상과 비타민 내에 함유된 염에 의해 유제가 쉽게 파괴되었기 때문으로 사료되었다. 그러나 cycle이 끝난 후 측정시점까지의 시간에 따른 영향은 크지 않음을 알 수 있었다.

**복합비타민 유제 중 비타민의 안정성**

비타민의 안정성과 제조된 유제의 기준 및 시험방법을 확립하기 위해서는 우선 각 비타민에 대한 유제중 분리분석법의 확립이 필요하였다. 비타민 각 성분들은 제시된 HPLC 조건<sup>12-20</sup>하에서 상호 간섭현상 없이 잘 분리되었으며 각 비타민은 검량선 작성 농도 범위에서 양호한 직선성을 나타낼 수 있었다. 또한 각 비타민은 검량선 작성 농도 범위에서 시료의 일간 및 일내 변동계수가 모두 15% 이내로 나타나 본 HPLC 분석 방법은 재현성이 있음을 알 수 있었으며, 비타민의 안정성을 시험하는데 충분한 정확성과 감도를 지니고 있음을 알 수 있었다. 이로부터 제조된 비타민 유제의 기준 및 시험방법을 작성할 수 있었다. 아울러, 제조된 복합비타민 유제를 4°C, 암소에서 보관하고 제조직후, 4, 8, 12 및 16주에 걸쳐 검체를 소량 채취하여 위에서 확립한



**Figure 5**—Physical stability of blank emulsion at various freeze-thaw cycles. Vertical bars represent the standard deviation of the mean (n=3).

HPLC 분석법을 이용하여, 시간의 경과에 따른 검체중 비타민의 안정성을 측정하였다(Figure 7). 그 결과 비타민 B<sub>12</sub>의 경우에는 시간이 지남에 따라 그 함량이 지속적으로 감소하였지만 함량규정 범위 내에는 들어왔으며 나머지 비타민들은 적어도 16주까지는 대부분 안정하여 함량규정 범위 내에 들어 있음을 알 수 있다. 이로부터 복합비타민 유제 중의 비타민은 최소한 16주까지는 함량규정 범위 내에서 사용할 수

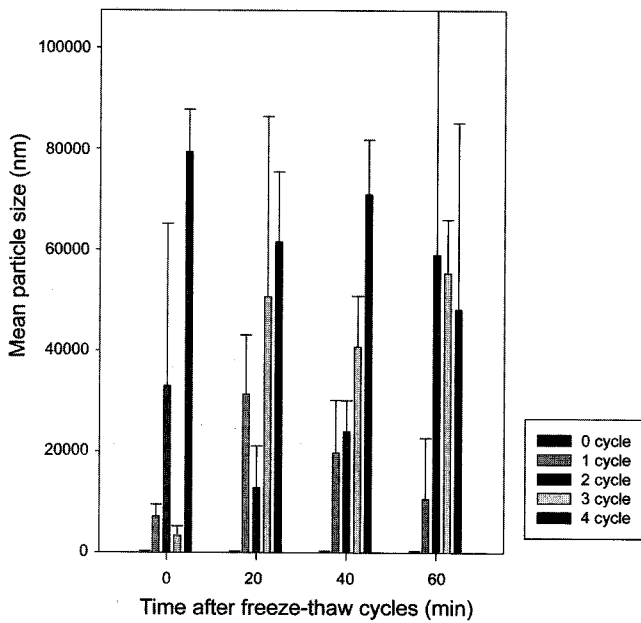


Figure 6—Physical stability of multivitamin emulsion at various freeze-thaw cycles. Vertical bars represent the standard deviation of the mean (n=3).

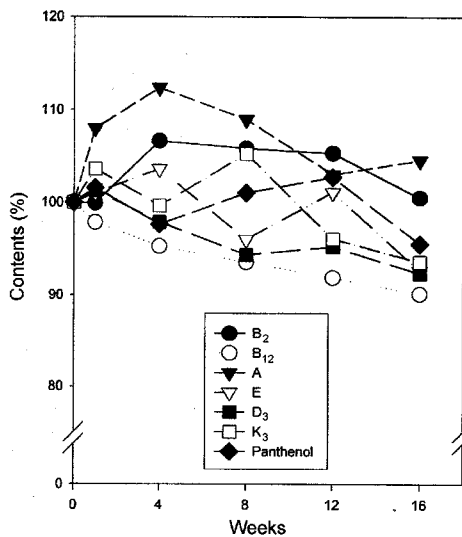


Figure 7—Long-period preservation stability of multivitamin emulsion. Each point represents the mean ± S.D.(n=3). Error bars were included in the symbols.

있음을 알 수 있었다.

### 결론

Microfluidizer를 이용한 고압분산법에 따라 복합비타민 유제를 제조하고 평가한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 유화제인 난황 레시틴의 농도 증가에 따른 입자도 측정 결과에 따르면 계면장력 측정을 통해 얻은 임계미셀농도(0.5%, w/v)보다 유제의 제조 시에는 더 높은 난황 레시틴 농도(2%, w/v)가 필요함을 알 수 있었다.

2. 고용량의 비타민이 들어가 있는 복합비타민 유제는 비타민이 들어있지 않은 공유제에 비해 더 불안정하였다. 그렇지만, 복합비타민 유제는 공유제와 같이 제조 후 16주 동안은 일정한 크기와 creaming 분율을 유지하였으며 모두 규정된 함량범위 내에 들어 있음을 알 수 있었다.

이로부터 제조된 복합비타민 유제는 함량규정 범위 내에서 16주까지는 안정하게 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

### 감사의 말씀

본 연구는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업과 2001년도 두뇌한국 21사업 핵심분야의 지원을 받아 전남대학교 약학대학에서 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

### 문헌

- 1) W. Friedrich, *Vitamins*, Walter de Gruyter & Co., New York (1988).
- 2) F. Liu and D. Liu, Amphipathic polyethylene glycol stabilized emulsions (O/W): physical characterization and in vivo distribution, *Int. J. Pharm.*, **125**, 73-80 (1995).
- 3) Y.V. Pathak, A. Rubinstein and S. Benita, Enhanced stability of physostigmine salicylate in submicron o/w emulsion, *ibid*, **65**, 169-175 (1990).
- 4) P. Grolier, S. Agoudavi and V. Azais-braesco, Comparative bioavailability of diet-, oil- and emulsion-based preparations of vitamin A and β-carotene in rat, *Nut. Res.*, **15**(10), 1507-1516 (1995).
- 5) T. Julianto, K.H. Yuen and A.M. Noor, Improved bioavailability of vitamin E with a self emulsifying formulation, *Int. J. Pharm.*, **200**, 53-57 (2000).
- 6) P. Prinderre, P. Piccerelle, E. Cauture, G. Kalantzis, J.P. Reynier and J. Joachim, Formulation and evaluation of o/w emulsions using experimental design, *Int. J. Pharm.*, **163**, 73-79 (1998).
- 7) I.J. Oh and M.Y. Lee, Effect of PVP on the physical stability of O/W emulsion, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **27**(4), 287-293 (1997).
- 8) M.W. Lovell, H.W. Johnson and P.K. Gupta, Stability of a less-painful intravenous emulsion of clarithromycin, *Int. J. Pharm.*, **118**, 47-54 (1995).
- 9) U.T. Lashmar and J. Beesley, Correlation of an oil in water emulsion with manufacturing procedures and stability, *ibid*, **91**, 59-67 (1993).

- 10) S.J. Kim, Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of cyclosporin A as O/W-emulsion formulation, *A master's thesis*, Chonnam National University (1999).
- 11) J. Han, S.S. Davis and C. Washington, Physical properties and stability of two emulsion formulations of propofol, *Int. J. Pharm.*, **215**, 207-220 (2001).
- 12) M. Gallarate, M.E. Carloti, M. Trotta and S. Bovo, On the stability of ascorbic acid in emulsified systems for topical and cosmetic use, *ibid*, **188**, 233-241 (1999).
- 13) M.M.D. Zamarreno, A.S. Perez, C.G. Perez and J.H. Mendez, High-performance liquid chromatography with electrochemical detection for the simultaneous determination of vitamin A, D<sub>3</sub> and E in milk, *J. Chromatogr.*, **623**, 69-74 (1992).
- 14) O. Sommerburg, L.Y. Zang and F.J.G.M. Kuijk, Simultaneous detection of carotenoids and vitamin E in human plasma, *J. Chromatogr. B.*, **695**, 209-215 (1997).
- 15) R.A.P. Hughes and D.H. Calam, Determination of vitamin D<sub>3</sub> in cod-liver oil by high-performance liquid chromatography, *ibid*, **246**, 95-104 (1982).
- 16) N.S. Sosnowska, K. Blitek and I.W. Wojtulewicz, Determination of menadione sodium hydrogen sulphite and nicotinamide in multivitamin formulations by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, **357**, 227-232 (1986).
- 17) A.L. Anaya and M. Mayersohn, Quantification of riboflavin, riboflavin 5'-phosphate and flavin adenine dinucleotide in plasma and urine by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. B.*, **423**, 105-113 (1987).
- 18) M.J. Esteve, R. Farre, A. Frigola and J.M.G. Cantabella, Determination of vitamin B<sub>6</sub> (pyridoxamine, pyridoxal and pyridoxine) in pork meat and pork meat products by liquid chromatography, *J. Chromatogr. A.*, **795**, 383-387 (1998).
- 19) J. Dalbacke and I. Dahlquist, Determination of vitamin B<sub>12</sub> in multivitamin-multimineral tablets by high-performance liquid chromatography after solid-phase extraction, *ibid*, **541**, 383-392 (1991).
- 20) M. Huong and B. Nguyen, Direct determination of D-panthenol in pharmaceutical preparations by ion-pair chromatography, *J. Chromatogr.*, **303**, 291-295 (1984).