

Turbiscan[®]LAB을 이용한 Glyceryl Monooleate(GMO) 함유 W/O 유제의 안정성 평가

조경진 · 조원경 · 이전평 · 김민수 · 김정수 · 황성주[†]

충남대학교 약학대학

(2009년 5월 4일 접수 · 2009년 6월 9일 수정 · 2009년 6월 9일 승인)

Evaluation of Glyceryl Monooleate(GMO) W/O Emulsion Stability by using Turbiscan[®]LAB

Kyung-Jin Cho, Won-Kyung Cho, Jeon-Pyung Lee, Min-Soo Kim, Jeong-Soo Kim and Sung-Joo Hwang[†]

College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon, 305-764, Korea

(Received May 4, 2009 · Revised June 9, 2009 · Accepted June 9, 2009)

ABSTRACT – The main object of this study was to prepare of w/o emulsion including glyceryl monooleate(GMO) and to evaluate its stability by using the recently developed Turbiscan[®]LAB. GMO is the polar oily surfactant with the low HLB value, and it forms the gel phase of cubic structures after dissolves in aqueous media. Phosphate buffer solution (PBS) of pH 7.4 was prepared as the water phase and Marcol 52(mineral oil) was used as the oil phase in this study. GMO was used as the surfactant of W/O emulsion. W/O emulsion using GMO alone as a surfactant was very unstable. But the emulsion using both GMO and poloxamer 407 was more stable. The stability of W/O emulsions was evaluated after centrifuging the emulsions. But it was difficult with naked eye because an opaque and concentrated system like W/O emulsion was very turbid. So Turbiscan[®]LAB was used to detect the destabilization phenomena in non-diluted emulsion. As a result, the W/O emulsion using the proper amounts of GMO and poloxamer 407 was more stable among them using GMO of various amounts. But it seems that the other element for the stability of W/O emulsion including GMO was required. Furthermore, the Turbiscan[®]LAB was a very efficient analyzer for evaluating the physical stability of emulsion.

Key words – w/o emulsion, TurbiscanLAB, glyceryl monooleate(GMO), physical stability

유제는 서로 섞이지 않는 두 액체가 서로 혼재되어 있을 때 하나의 상이 다른 연속된 상의 내부에 작은 방울 형태로 분산되어 있는 제형을 지칭하며 약제분야, 화장품 분야 및 식품분야에서 널리 사용되고 있다. 그 형태에 따라 외상이 유상이고 내상이 수상인 W/O 유제, 외상이 수상이고 내상이 유상인 O/W가 분산계로서 널리 쓰이며, 이런 분산상태를 유지하기 위해서는 유화제가 첨가되어야 하는데, 적절한 유화제가 적정량 첨가되었을 때 유제는 안정해질 수 있다.^{1,2)} W/O 유제는 백신의 효능을 향상시키는 백신 보조제(adjuvant)로써 널리 사용될 수 있고, 이것은 백신 작용부위에서 서서히 항원을 방출함으로써 형질 세포(plasma cell)에서 항체생성을 유도하여 과민반응은 줄이고 백신의 효능성을 증가시키는 작용을 한다. 이때도 적절한 유화제가 적당량 쓰일 때, 백신으로 말미암은 부작용을 줄일 수 있으며, 특히 유화제로 쓰이는 계면활성제는 물리적인 탈지질(delipidation)작용을 통해 단백질과 세포막의 친화성을 높여

면역효율성도 획득할 수 있다.^{3,4)} 또한 버티나 마가린 등의 식품에도 다양하게 사용되고 있지만, O/W 유제에 비해 W/O 유제에 대한 연구가 다양하게 이뤄지지 않았다. 일반적으로 W/O 유제에 사용되는 유화제는 외상인 유상과의 친화성이 좋은 물질이 사용되며, Span류 및 다양한 유화제가 사용된 W/O 유제에 대한 연구가 알려져 있다.⁵⁾

모노올레인(monoolein)은 글리세릴모노올레이트(glyceryl monooleate, GMO) 또는 글리세릴올레이트(glyceryl oleate)라고도 하며 백색에 가까운 약간의 특이한 냄새를 갖는 페이스트상의 친수성 지질(lipid)이다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 모노올레인은 구조적으로 양친매성 극성지질구조로 되어 있으며, 양친매성 극성지질이 물에 수화(hydration)되어 열역학적으로 안정한 지질 이중층을 형성하듯이 모노올레인은 수화되면 자발적으로 입방상 액정 구조체(cubic phase liquid crystalline)를 형성하며, 이렇게 형성된 입방상 액정 구조체 겔을 물에 분산시킨 큐보솜이 단백질과 펩티드 등의 약물수송체로써 응용가능성이 연구되고 있다.⁶⁻⁸⁾ 모노올레인은 지질을 기제로 하기 때문에 생체적합 적이며 체내에서 쉽게 분해되므로 생체 내 투여 시 체내에 축적되지 않고 독성이 없

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 042)821-5922, E-mail : sjhwang@cnu.ac.kr

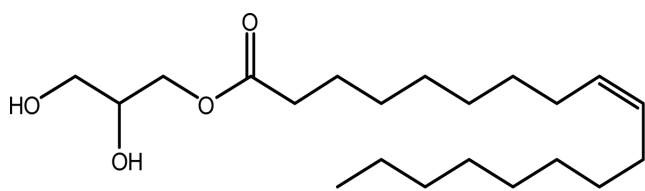


Figure 1—Chemical structure of glyceryl monooleate (GMO).

는 장점이 있어 백신보조제의 유화제로써 응용할 수 있다. 또한, 기본적으로 물에 불용성을 띠며 기름에 잘 용해되고, HLB값이 3.8로 낮으며, 모노올레인의 양친매성 극성지질구조는 W/O 유제에서 유화제로 응용될 가능성을 보여준다.

유제는 분산상 입자의 유착(coalescence) 및 응집(flocculation)의 비가역적 변화와 크리밍(creaming) 및 침전(sedimentation)의 가역적 변화에 의해 불안정해질 수 있다. 최근에 발전한 광학분석 기계인 Turbiscan[®]LAB의 가장 큰 장점은 분산상의 이러한 현상을 다중광산란법(multiple light scattering method)을 이용하여 기존 광산란법 기기에서 측정하기 힘든 불투명하거나 농축된 콜로이드 분산액을 별도의 희석 과정 없이 단일 기기로 안정성을 측정할 수 있으며, 육안으로 안정성을 평가하기 어려운 유제의 안정성을 육안으로 관찰할 때보다 빠르게 측정할 수 있어 안정한 유제의 조성을 결정하고 평가하는 데 있어 그 시간을 혁신적으로 단축할 수 있다는 것이다.⁹⁻¹¹⁾ 본 논문에서는 모노올레인을 유화제로 이용하여 여러 가지 처방으로 W/O형 유제를 제조하였으며, 제조된 유제의 물리적 안정성을 Turbiscan[®]LAB을 이용하여 평가하여 그 결과를 보고하고자 한다.

실험 방법

시약 및 기기

Marcol 52(mineral oil)는 ExxonMobil(Texas state, USA)

로부터 구입하였다. Monoolein(glyceryl monooleate, 이하 GMO로 약함)은 acyl group(oleyl group)의 순도가 >99%이고, ester(monoglyceride)의 순도가 >97%인 제품으로서 Cognis(Germany)로부터 구입하였고, Poloxamer 407은 BASF(Lutrol F127, Germany)에서 구입하였다. pH 7.4 인 산업 완충액(이하 PBS로 약함)은 NaCl 8 g, KCl 0.2 g, Na₂HPO₄ 1.44 g, KH₂PO₄ 0.24 g을 3차 증류수에 녹여 총량을 1 L로 하여 조제하였다.

유화 분산장치로는 Direct driven digital stirrer(SS-11D, YoungJi Hana Tech Co., Korea), 균질화 장치(homogenizer)로는 Ultra-Turrax[®] T18 basic(IKA[®] LTD., Japan), 원심분리기 MF-550(Hanil Science Industrial., Korea), 분산안정성 측정장치로는 Turbiscan[®]LAB(Formulaction Co., France)을 사용하였다.

W/O 유제의 제조

이 실험은 GMO를 유화제로 사용하여 W/O 유제의 제조 가능성을 알아보고자 수행하였다. 기본적으로 유상인 Marcol 52와 수상인 PBS, 그리고 입자의 안정화제로 쓰인 poloxamer 407의 중량을 일정하게 한 후 GMO의 양을 변화시켜가며 제조한 유제의 안정성을 평가해 보았다.

본 시험에서 유화제로 사용되는 모노올레인(이하 GMO)은 HLB값이 3.8이며, 이는 물보다는 유상에 더 잘 녹으며 W/O 유제에서 외상으로 쓰이는 Marcol 52에 균일하게 용해시켰다.

Table I의 조성에 따라 비커에 Marcol 52를 넣고, GMO를 40°C 이상으로 가온하여 녹인 후 정해진 조성에 따른 GMO를 피펫을 이용하여 비커에 담긴 Marcol 52에 가하고 균일하게 용해하기 위해 교반기를 이용하여 1시간 정도 교반시켜 유상을 조제하였다. GMO를 취하여 Marcol 52에 넣을 때 40°C 이상으로 가열한 이유는 녹는점을 고려하여

Table I—Composition of water-in-oil emulsion containing various amounts of GMO

Sample	Oil phase		Water phase		Total	HLB
	Marcol 52	GMO	PBS	Poloxamer 407		
G1	Weight(g)	25.5	2.0	15.0	0.0	43
	Content(w/w%)	60.00	4.71	35.29	0.00	
GP1	Weight(g)	25.5	1.0	15.0	0.5	42
	Content(w/w%)	60.71	2.38	35.71	1.19	
GP2	Weight(g)	25.5	2.0	15.0	0.5	43
	Content(w/w%)	59.30	4.65	34.88	1.16	
GP3	Weight(g)	25.5	3.0	15.0	0.5	44
	Content(w/w%)	57.96	6.82	34.09	1.14	
GP4	Weight(g)	25.5	4.0	15.0	0.5	45
	Content(w/w%)	56.67	8.89	33.33	1.11	

GMO가 액상을 유지하여 Marcol 52에 잘 섞이도록 하기 위해서이다. 유상을 준비하는 모든 과정은 실온에서 실시하였다.

또한, Table I의 조성에 따라 PBS에 poloxamer 407을 녹여 수상을 조제하였다.

여기에 쓰인 poloxamer 407 수용액은 모노올레인을 이용한 큐보솜 제조 시 입자의 안정화제로 쓰이는 물질로 이번 실험에서 제조하는 W/O 유제에서도 입자의 안정화를 위해 사용되었다.¹²⁾ 여러 연구에서 poloxamer 407 수용액은 특이한 유동학적 특징을 보이는 것으로 밝혀졌는데 sol-gel 변화 온도가 체온보다 낮아 poloxamer 407 용액이 액상으로 투여된 후 겔이 되는 것으로 알려져있다. Poloxamer 407 수용액의 무독성적 특성과 안정성으로 말미암아 인체에 투여되는 약물전달체로 쓰이게 되므로 유제의 안정화제로써 약학적 응용이 가능하다.¹³⁾

이렇게 준비된 유상에 교반기 Mixer의 head를 담근 후 실온에서 1,000rpm으로 교반시키면서 조제된 수상을 천천히 가한 후 3분 동안 추가로 교반하여 유제를 제조하였다. 유제를 제조한 후 유제의 내부입자를 균일한 크기로 잘게 부수기 위해 교반을 통해 준비된 유제에 균질화 장치(Ultra-Turrax®)의 head를 담근 후 6,500 rpm에서 3분간 입자를 균질화하였다.

유제의 유형 확인법

실험에서는 광유(mineral oil)인 Marcol 52를 외상으로 하고, 내상은 수상인 PBS를 사용하였고 궁극적으로 W/O 유제가 형성되어야 하므로, 유제의 유형평가에 쓰이는 대표적인 기본적인 방법인 희석법을 실시하여 W/O 유제가 형성되는 것을 관찰하였다. 비커를 준비하고 증류수를 채운 후 만들어진 시료를 피펫으로 5 mL을 취해 증류수가 들어 있는 흔들림 없이 안정화된 비커의 수면 위에 조심스럽게 떨어뜨린 후 일어나는 현상을 관찰하였다.

유제의 안정성 측정

W/O 유제의 안정성은 분산상이 입자의 유착과 침전 등의 현상을 피해 얼마나 오랫동안 분산을 유지하는가로 정의할 수 있고 그 안정성은 유화제 사용의 여부, 점도, 중력, 수상의 성분, 유제가 제조 시간 등에 의해 좌우된다.²⁾ 유제를 제조함에 있어서 그 안정성은 매우 중요한 요소이나, 안정성 평가는 생각만큼 쉽지 않다. 유제의 분리현상에 대한 연구는 비교적 많이 이뤄져 있고, 유제의 안정성 평가에 대한 여러 방법이 제시되었다. 일반적으로 사용되는 안정화 테스트 방법으로는 유제의 입자 크기 분석,¹⁴⁾ 유제의 물리적 성질 측

정(점도),¹⁵⁾ 가혹실험,^{15,16)} 광산란법(light-scattering) 등이 있다. 이중 유제 안정화 테스트에 가장 널리 쓰이는 현미경을 이용한 입도 분석은 많은 시간이 소요되는 방법이며, 탁도(turbidity) 측정을 통해 유제의 안정화를 평가할 수도 있다.

먼저 준비한 유제를 원심분리시켰다. 유제를 원심분리 하는 이유는 중력에 대한 가속시험의 목적으로, 원심분리 후 상의 분리를 관찰함으로써 단시간에 유제의 중력에 대한 불안정화 정도를 판단할 수 방법이다. 준비된 시료를 피펫을 이용하여 10 mL를 취해 실린더에 옮겨 원심분리기에 넣고 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 가혹 테스트를 한 후 유제의 상 분리를 관찰하였다.

다음으로 다중광산란법(multiple light scattering method)을 이용한 기기인 Turbiscan®LAB을 이용하여 시료를 희석하지 않고 실제 농도에서 일어날 수 있는 유제 내부의 현상을 측정하였다. 실린더형의 측정용 유리 셀(glass cell)에 시료를 20 mL 취해 넣고 Turbiscan®LAB을 이용하여 30°C 항온조건에서 1시간 동안은 5분 간격으로, 나머지 3시간은 30분 간격으로 총 4시간씩 측정하여 단기간 중 시료 내부에서 일어나는 현상을 측정하였다.

결과 및 고찰

유제의 유형

준비된 비커의 증류수의 수면에 시료를 떨어뜨렸을 때, 시료가 수면에 떠있는 것이 뚜렷하게 관찰되고 비커를 조심스럽게 흔들었을 때에도 여전히 시료가 증류수의 수면에 떠있다면 그 시료는 W/O 유제가 형성된 것으로 판정한다. 반대로 비커의 수면에 떨어뜨린 시료가 점차 확산하며 최종적으로 희석되는 것이 관찰된다면 그 시료는 O/W 유제로 판정한다. 증류수 수면에 떨어진 W/O 유제 방울이 물 위에 떠있는 이유는 물보다 비중이 작은 유상이 외상으로써, 내상인 수상을 둘러싸고 있기 때문이다. 실험에서 제조한 유제 또한 증류수보다 비중이 작은 Marcol 52가 PBS를 둘러싸고 있어서 원래 서로 섞이지 않는 Marcol 52와 비커의 증류수 사이의 계면장력에 의해 두 상이 섞이지 않고 증류수 위에 떠있는 것이 관찰되었다. 이것으로 제조된 시료는 W/O 유제가 형성된 것으로 판정하였다.

유제의 안정성 평가

안정화된 유제는 기본적으로 서로 섞이지 않는 두 액체가 서로 섞여 있는 상태로 유지되어야 하기 때문에 장기간 보존할 때에도 유상이나 수상의 분리가 일어나지 않거나 되도록 적게 분리되어야 한다. W/O 유제의 경우, 시료가 불안정

할수록 보존 시 연속상에 퍼져있던 분산상의 입자들이 증력에 의해 가라앉게 되어 외상인 유상이 분리되는 것을 관찰할 수 있다. 이러한 증력에 대한 분리도를 관찰함으로써 기본적인 유제의 안정성을 평가할 수 있기 때문에 이번 실험에서는 증력에 대한 가속시험의 하나로 시료에 3,000 rpm에서 10분간 원심분리를 함으로써 단시간에 준비된 시료의 안정성을 판단할 수 있었다. 그 결과 poloxamer 407 없이 GMO만을 단독으로 사용한 시료(G1)는 명확하게 유상이 분리되는 것을 육안으로 관찰할 수 있었다. 그러나 poloxamer 407을 GMO와 함께 유화제로 사용한 시료 GP1, GP2, GP3 또는 GP4의 경우는 유상의 분리 정도가 GMO의 양의 변화에 따라 변하는 양상을 육안으로 비교하기 어려웠고, 탁도(turbidity)가 높아 아래층에 가라앉은 비율도 육안으로 관찰하기 어려웠다. Poloxamer 407을 사용하지 않은 시료 G1은 원심분리를 거치지 않더라도 유화를 시킨 후 얼마 지나지 않아 분리가 일어나는 것으로 보아 단순히 GMO만을 유화제로 사용했을 때보다는 poloxamer 407을 유화제로써 함께 사용했을 때 비교적 안정한 유제를 얻을 수 있음을 알 수 있었다. 실제로 유화제가 단독으로 사용되었을 때보다 다른 유화제와 함께 사용된 유화제의 혼합물은 단일 유화제의 에너지 상태보다 낮은 에너지 상태를 나타내기 때문에 더욱 안정화되는 것으로 알려져 있다.¹⁷⁾ 하지만, GMO의 양이 W/O 유제의 안정성에 미치는 영향을 평가하고자 부가적인 실험이 필요하였다.

원심분리로 가속시험을 시행했을 때 확인한 분리를 일으키는 poloxamer 407이 첨가되지 않은 G1 시료를 제외하고, 일정량의 poloxamer 407이 첨가되고 GMO의 양을 각각 다르게 조성한 GP1, GP2, GP3, GP4 시료는 원심분리 후에도 그 탁도가 높아서 시료의 상분리를 관찰하는데 어려움이 있었다. 그로 말미암아 안정성에 대한 평가를 내리기 어려워 분산안정성 측정장치인 Turbiscan[®]LAB을 이용하여 GMO 비율의 변화에 따른 시료의 안정성을 비교해보았다. 빛의 투과(transmission, T)와 후방산란(backscattering, BS)을 측정하였고, 이렇게 얻어진 자료를 분석하면 육안으로 관찰하여 시료의 안정성을 판단할 때보다 4배에서 최대 50배 정도 짧은 시간으로도 시료의 안정성을 판단할 수 있고 이를 근거로 시료의 장기적인 안정성까지 예측할 수 있었다.⁹⁾ Fig. 2에 나타난 측정기계에서 보면 Turbiscan[®]LAB은 파장이 880 nm인 근적외선(near infrared)을 사용한다. 광원이 위치한 Reading Head에서 시료가 담긴 cell의 아래쪽에서 위쪽으로 움직이며 분석 시 매 40 μm 간격으로 Scanning 하여 광원의 반대편(180° 각도)에 위치한 투과탐지기(transmission detector) 및 입사각과 45° 각도 뒤쪽에 위치한 후방산란탐지기(backscattering detector)에서 측정된 값을 바탕으로 분산상의 입자크기와 분산상과 연속상의 부피 분율에 따른 투과 및 후방산란 된 빛의 양을 동시에 측정한다. 이때 시료의 내부로 보내진 photon이 여러 개의 입자와 산란(multiple light scattering)을 일으킨 후 측정된 투과 또는, 후방 산란하는 빛의 양은 시료 내에서 산란을 일으키는 동안 Photon의 평균 이동경로(Mean Free Path(λ^*))에 따라 달라지며, 이러한 물리적인 값들은 분산된 입자의 크기 d 와 농도 Φ 에 의존하여 최종적으로 다음과 같은 식에 의해 그 값이 얻어진다.^{9,18,19)}

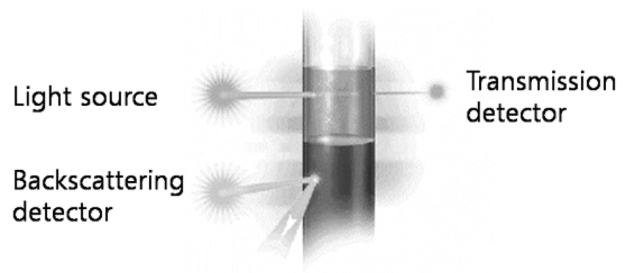


Figure 2—Measurement principle of the Turbiscan[®]LAB.

기(backscattering detector)에서 측정된 값을 바탕으로 분산상의 입자크기와 분산상과 연속상의 부피 분율에 따른 투과 및 후방산란 된 빛의 양을 동시에 측정한다. 이때 시료의 내부로 보내진 photon이 여러 개의 입자와 산란(multiple light scattering)을 일으킨 후 측정된 투과 또는, 후방 산란하는 빛의 양은 시료 내에서 산란을 일으키는 동안 Photon의 평균 이동경로(Mean Free Path(λ^*))에 따라 달라지며, 이러한 물리적인 값들은 분산된 입자의 크기 d 와 농도 Φ 에 의존하여 최종적으로 다음과 같은 식에 의해 그 값이 얻어진다.^{9,18,19)}

$$BS = \frac{1}{\sqrt{\lambda^*}} \quad \text{with} \quad \lambda^*(d, \Phi) = \frac{2d}{3\Phi(1-g)Q_s}$$

$$T(\lambda, r_i) = T_0 e^{-\frac{2r_i}{\lambda}} \quad \text{with} \quad \lambda(d, \Phi) = \frac{2d}{3\Phi Q_s}$$

앞에서 언급했듯이 Turbiscan[®]LAB의 측정은 다중광산란법에 의해 측정되는데 이렇게 측정된 투과 또는 후방산란된 빛의 양은 농도와 입자크기에 영향을 받게 된다. 농도가 묽은 영역에서 측정된 빛 대부분은 투과에 의해 나타나며 농도가 증가할수록 투과량은 감소하고 시료의 농도가 임계농도에 이르면 더 이상은 투과량이 감지되지 않는다. 이때부터가 후방산란 영역으로 농도가 증가할수록 후방산란량은 증가하며 시료의 농도가 포화농도에 이르면 그 이후부터는 후방산란된 빛의 양이 다시 감소하는 경향을 나타내는데, 이는 농도가 매우 짙어 인접한 입자 간의 거리가 아주 가까워서 각 입자에 의한 산란광이 서로 상쇄되는 Destructive interference가 일어나기 때문이다. 입자의 크기에 영향을 받는 경우, Turbiscan[®]LAB은 파장이 880 nm인 근적외선을 광원으로 사용하기 때문에 입자의 크기가 광원으로 사용되는 빛의 파장보다 작은 경우, 응집에 의해 입자의 크기가 증가하면 산란이 더욱 잘 일어나게 되어 후방산란된 빛의 양은 증가하고 투과된 빛의 양은 감소하는 경향을 보이며 파장과 입자의 크기가 같아지는 지점에서 후방산란된 빛의 양은 최대값, 투과된 빛의 양은 최소값을 보인다. 하지만, 입자의 크기가 광원으로 사용되는 빛의 파장보다 큰 경우로서

응집에 의해 입자의 크기가 증가하면 평균적인 입자 간의 거리가 멀어지기 때문에 후방산란된 빛의 양은 다시 감소하고 투과된 빛의 양은 다시 증가하는 경향을 나타낸다. 이러한 요인들을 종합적으로 참고하여 측정된 정보를 종합적으로 분석하여 시료의 안정성을 분석할 수 있다.¹⁹⁾

측정된 자료는 기기에서 안정화되는 시간을 고려하여 기기에 장치한 후 5분 후에 측정된 자료를 기준(reference)으로 하고, 측정시작 후 5분에 측정된 후방산란 값에 비해 어느 정도 그 측정값이 변했는지를 각 조성에 따라 Fig. 3~6에 나타내었다. Turbiscan[®]LAB 후방산란으로 얻어진 자료를 바탕으로 제조된 시료의 30°C에서 시료 내부에 일어나는 변화를 분석해보았다.

첫째로, 모든 시료의 마지막 측정시간인 4시간 05분에서의 측정된 후방산란 값 중 시료의 상층부(40 mm~45 mm)에서의 후방산란 된 빛의 양이 5분에 측정된 값에 비해 크게는 약 22%에서 작게는 약 5% 감소하는 양상을 보이는 것은 앞에서 언급한 식에 근거하여 입자 내에서 photon의

mean free path(λ^*) 값이 증가했음을 의미하며 이것은 상층부에서 입자의 밀도가 감소하는 것을 의미한다. 즉, 유화제로 둘러싸인 분산상인 수상 입자들이 그 비중에 의해 시료의 아래로 침전을 일으켰음을 알 수 있다. 둘째로, 시료의 중간 부분 (약 10 mm~40 mm)에서의 시간에 따른 후방산란 값(BS)이 시간이 지날수록 조금씩 작아지는 것은 입자사이의 증가를 의미하는 것으로 시료의 중간 부분의 내부에서 미세하게나마 입자들의 응집(coalescence)이나 유착(flocculation)이 일어나고 있다는 것으로 예측할 수 있다. 마지막으로 시간이 지날수록 시료의 하층부에선 후방산란 값이 다소 증가하는 것은 입자 내에서 photon의 mean free path (λ^*)가 감소하는 것을 뜻하며 이는 하층부에서 입자밀도가 증가한다는 것을 의미하며 다시 한번 모든 시료에서 분산상인 수상 입자들의 비중에 의해 공통으로 입자의 침전(sedimentation)이 일어났다는 것을 알 수 있었다. 특히적으로 두 번째 측정값이 나타내는 GP2 시료의 경우, 다른 시료와는 달리 측정 초기에 후방산란 값이 2시간 35분에 측정된 시점까지 기준

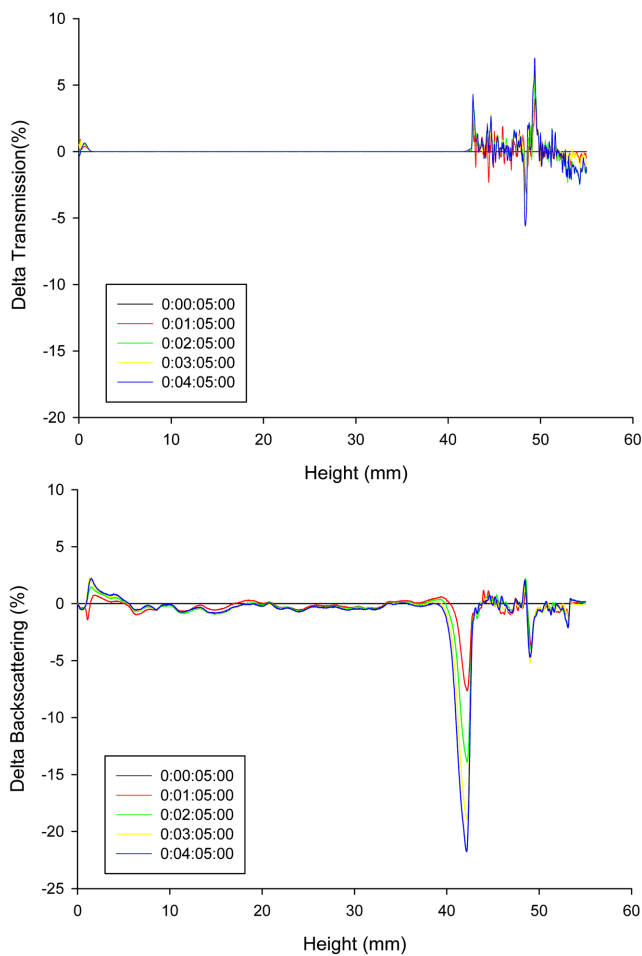


Figure 3—Transmission and backscattering data of sample GP1.

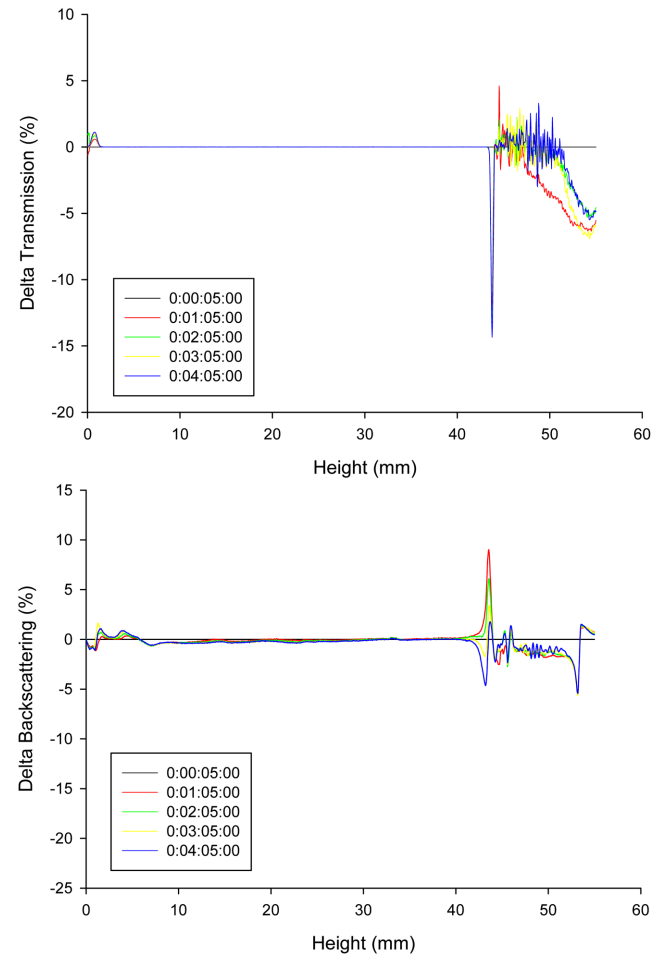


Figure 4—Transmission and backscattering data of sample GP2.

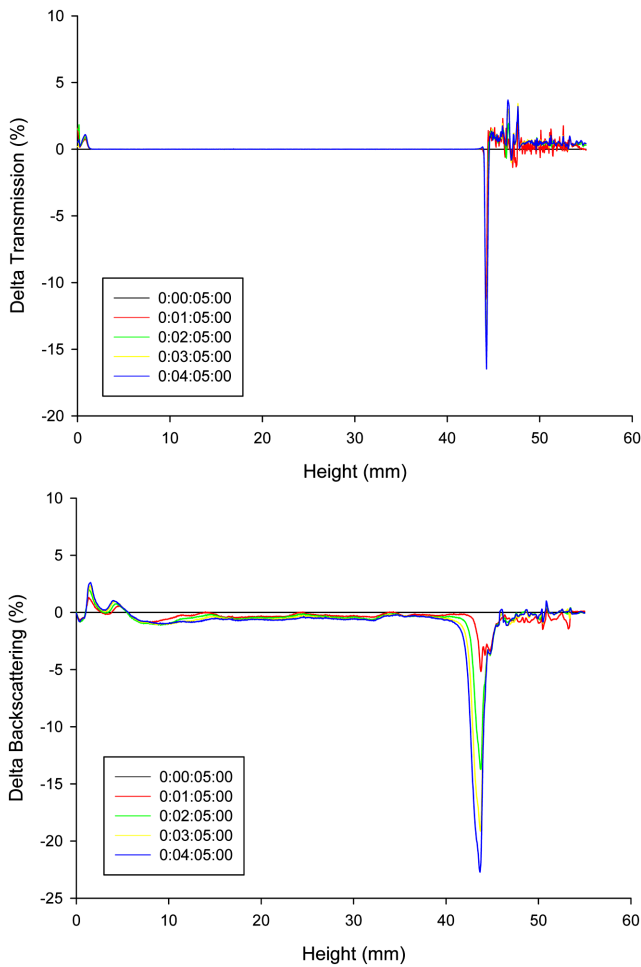


Figure 5—Transmission and backscattering data of sample GP3.

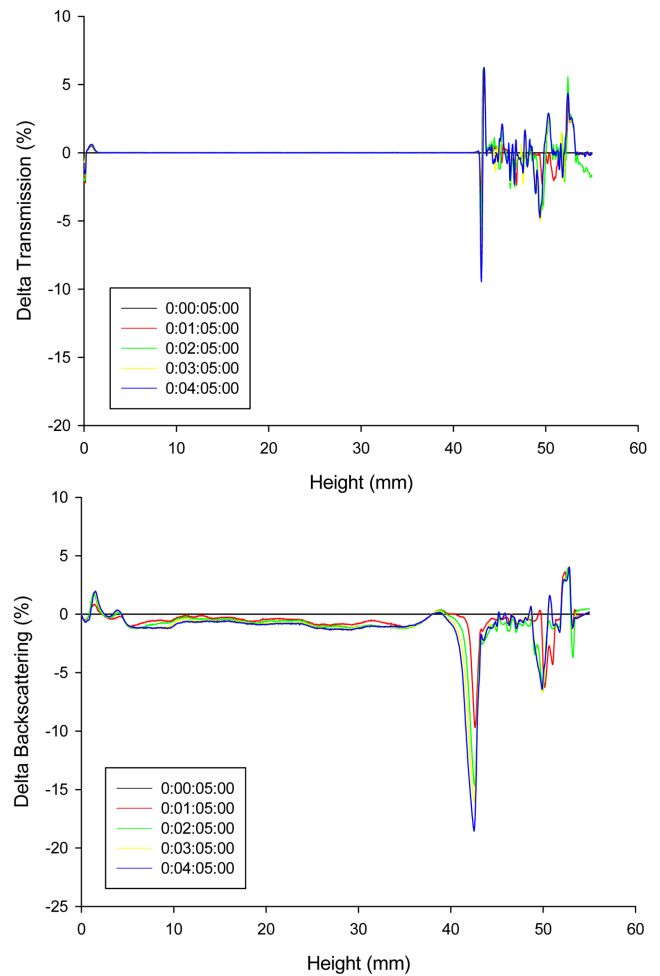


Figure 6—Transmission and backscattering data of sample GP4.

점인 5분에 측정된 값에 비해 큰 값을 보이다가 3시간 05분 되는 시점에서 기준점보다 작은 값을 나타내기 시작하는 현상이 관찰되었다. (Fig. 4) 상층의 초기 후방산란 값이 큰 것은 그 부위에 밀도가 증가하여 입자 내에서 photon의 mean free path (λ^*) 값이 작아지는 것을 의미하므로 상층부의 밀도가 일시적으로 커지는 것으로 해석할 수 있는데 밀도가 큰 분산상인 수상이 위로 이동하여 밀도가 커졌다기보다는 유화제로 사용되고 남은 잉여의 GMO나 poloxamer 407 이 일시적으로 유제의 상층에 모인 후 침전이 일어나는 것으로 추측된다. Turbiscan®LAB을 이용한 자료를 분석하였을 때 시료 전체적인 변화양상을 살펴보면 일반적인 유중수형 유화제의 HLB 값의 범위인 3~6에 근접한 GP3이나 GP4 시료보다 HLB 값이 6.6~7.6인 범위의 유화제를 사용한 GP2 시료가 가장 안정한 것으로 나타났다. 일반적으로 유화제가 적게 사용되었을 때에는 그 유제는 불안정해지고, 반대로 유화제가 너무 과량으로 사용되었을 때에는 급격한

유착이나 응집이 증가하는 양상을 나타내는 것으로 알려져 있다.²⁾ 이번 실험 결과에서도 수화시킬 때 독특한 입방상을 형성하는 GMO의 특성을 고려했을 때 W/O 유화제로 사용된 양이 늘어난 GP3이나 GP4 시료의 분산상의 계면에 존재하는 GMO 상호 간의 친화성이 증가되어 입자들이 서로 모이게 되어 불안정한 양상을 보이고 상대적으로 GP2 시료가 가장 안정한 양상을 보이는 것으로 생각된다. (Fig. 4, 5, 6)

결론

일반적으로 큐보솜 제조에 사용되는 GMO는 유중수형의 유화제로서 단독으로 사용했을 때는 그 유화능력이 떨어지나 큐보솜에서 안정화제로 사용된 poloxamer 407과 함께 사용되었을 때 유화능력이 증가함을 알 수 있었다. 하지만, GMO 자체의 친화성으로 인해 입자가 불규칙적으로 응집되

거나 유착될 수 있다는 사실을 알 수 있었다. 응집이나 유착을 막아 입자를 안정화시킬 수 있는 다른 부가적인 성분을 찾아 함께 유화제로 사용하면 W/O 유체에서 유화제로 응용될 수 있을 것으로 사료된다. 또한, 일반적으로 W/O 유체의 경우 그 탁도가 높아 육안으로 분산상의 내부현상을 관찰하고 안정성을 평가하는데 어려움이 따르나 다중광산란법(multiple light scattering method)을 이용한 Turbiscan®LAB은 시료를 희석하지 않고 보다 빠르게 그 안정성을 평가할 수 있어서 안정성 평가에 효율성을 높여줄 수 있음을 알 수 있었다.

참고문헌

- 1) R.P. Borwankar, L.A. Lobo and D.T. Wasan, Emulsion stability-kinetics of flocculation and coalescence, *Colloid Surf*, **69**, 135-146 (1992).
- 2) G. Chen and D. Tao, An experimental study of stability of oil-water emulsion, *Fuel Process. Technol.*, **86**, 499-508 (2005).
- 3) K. Oda, H. Matsuda and T. Murakami, Relationship between adjuvant activity and amphipathic structure of soyasaponins, *Vaccine*, **21**, 2145-2151 (2003).
- 4) J.C. Aguilar and E.G. Rodriguez, Vaccine adjuvants revisited, *Vaccine*, **25**, 3752-3762 (2007).
- 5) T. Berg, P. Arlt and R. Brummer, Insights into the structure and dynamics of complex W/O-emulsions by combining NMR, rheology and electron microscopy, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.*, **238**, 59-69 (2004).
- 6) Y. Sadhale and J.C. Shah, Stabilization of insulin against agitation-induced aggregation by the GMO cubic phase gel, *Int. J. Pharm.*, **191**, 51-64 (1999).
- 7) D.I. Nesseem, Formulation and evaluation of itraconazole via liquid crystal for topical delivery system, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **26**, 387-399 (2001).
- 8) T. Nylander, C. Mattisson and V. Razumas, A study of entrapped enzyme stability and substrate diffusion in a monoglyceride-based cubic liquid crystalline phase, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.*, **114**, 311-320 (1996).
- 9) C. Lemarchand, P. Couvreur and C.I. Vauthier, Study of emulsion stabilization by graft copolymers using the optical analyzer Turbiscan, *Int. J. Pharm.*, **254**, 77-82 (2003).
- 10) O. Mengual, G. Meunier and I. Cayre, Characterisation of instability of concentrated dispersions by a new optical analyser: the TURBISCAN MA 1000, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.*, **152**, 111-123 (1999).
- 11) C. Celia, E. Trapasso and D. Cosco, Turbiscan Lab® Expert analysis of the stability of ethosomes® and ultradeformable liposomes containing a bilayer fluidizing agent, *Colloid Surf. B-Physicochem.* **72**, 155-160 (2009).
- 12) K.Y. Kyong, Preparation and Evaluation of Cubic Liquid Crystalline Phase Gel and Cubosome Containing Polyethoxylated Retinamide, *M.S. Thesis for Pharmacy*, Chungnam National University (2005).
- 13) M.L. Veyries, G. Couarraze and S. Geiger, Controlled release of vancomycin from Poloxamer 407 gels. *Int. J. Pharm.*, **192**, 183-193 (1999).
- 14) P. Walstra and H. Oortwijn, Estimating globule-size distribution of oil-in-water emulsions by coulter counter, *J. Colloid Interface Sci.*, **29**, 424-431 (1969).
- 15) B.W. Barry, The self bodying action of the mixed emulsifier sodium dodecyl sulfate/cetyl alcohol, *J. Colloid Interface Sci.*, **28**, 82-91 (1968).
- 16) K. Shinoda and H. Arai, The Correlation between Phase Inversion Temperature In Emulsion and Cloud Point in Solution of Nonionic Emulsifier, *J. Phys. Chem. A*, **68**, 3485-3490 (1964).
- 17) M. Porras, C. Solans and C. Gonzalez, Studies of formation of W/O nano-emulsions, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.*, **249**, 115-118 (2004).
- 18) B.L. Drolen and C.L. Tien, Absorption and scattering of agglomerated soot particulate, *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.*, **37**, 433-448 (1987).
- 19) O. Mengual, G. Meunier and I. Cayre, TURBISCAN MA 2000: multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis, *Talanta*, **50**, 445-456 (1999).