

단백질 캡슐화를 위한 동축 이중 노즐을 사용한 전기분무건조법

호환기 · 박세현 · 박철호 · 이종휘[†]

중앙대학교 화학신소재공학부

(2009년 3월 7일 접수, 2009년 3월 27일 수정, 2009년 3월 27일 채택)

Electrohydrodynamic Spray Drying Using Co-axial Nozzles for Protein Encapsulation

Hwanki Ho, SeHyun Park, Chul Ho Park, and Jonghwi Lee[†]

Department of Chemical Engineering and Materials Science, Chung-Ang University,
221 Heukseok-dong, Dongjak-gu, Seoul 156-756, Korea

(Received March 7, 2009; Revised March 27, 2009; Accepted March 27, 2009)

초록: 분무건조는 약물의 입자 제조에 널리 사용되고 있는 효과적이고 안정적인 공정 중 하나이다. 과거 분무건조의 방법에서는 입자의 응집을 조절하기 쉽지 않았으며, 크기 조절에도 많은 어려움을 겪어 왔다. 특히 고분자 입자의 제조는 저분자 유기물질인 식품, 의약품 등과 비교하여 상대적으로 제조하기 어려운 면이 있었다. 본 연구에서는 기존의 분무건조기를 개조하여 노즐에 전기장을 외부에서 가해 줌과 동시에 동축 이중 노즐을 사용하여 고분자 입자의 제조를 시도하였다. 내부 고분자 물질로는 폴리에틸렌글리콜과 폴리락타이드코글리콜라이드를, 외부 물질로는 락토오스를 사용하였다. 그 결과 전기장을 사용하지 않는 분무건조에 비해 비교적 일정한 크기와 모양을 제조할 수 있었으며, 입자 간의 응집을 줄일 수 있음을 확인하였다. 전기분무건조된 PLGA 분말은 주로 2~5 μm 크기인 둥근 모양의 입자로 구성되었다.

Abstract: Spray drying is an effective and stable process, which has been widely used to produce pharmaceutical powders. In the traditional spray drying process, it was not quite easy to control the aggregation and the size of particles. Particularly, the preparation of polymeric particles was relatively hard compared to the preparation of food and pharmaceutical ingredients, typically organic materials of small molecular weights. In this study, modification of a conventional spray dryer was tried to use electrical charge and co-axial nozzles to prepare polymeric particles. Poly(ethylene glycol) and poly(D,L-lactide-co-glycolide) were used as the inner polymeric materials, and lactose as the outer shell materials. The results showed that electrohydrodynamic spray-dried particles had a relatively uniform size and particle morphology, and the aggregation of particles could be suppressed compared to the conventional spray-dried particles. The electrohydrodynamic spray-dried powders consisted of spherical particles of 2~5 μm diameters.

Keywords: spray drying, co-axial nozzles, microparticles, electrospraying, drug delivery.

서 론

분무건조는 제약 산업에서 분말 제조에 널리 쓰이고 있는 방법으로, 특히 약의 흡입을 통해 폐를 치료하는 제형의 제조를 목적으로 주로 연구되어왔다. 기존의 분무건조 방법은 입자크기가 넓게 분포되어 균일하지 못하며 크기를 조절하기 또한 어려웠다. 대체로 폐를 목표로 공기로 흡입할 수 있는 입자의 크기는 1~5 μm 이어야 한다. 1 μm 보다 작다면 정전기 등의 인력으로 흡입하기 힘들며, 5 μm 이상이면 폐까지 도달하기 전에 침전이 생길 것이다. 아울러 입자크기도 고른 분포를 보여야 한다. 과거 전통적인 분무건조 방법은 넓은 입자분포를 가지

고 있었으나 분무건조에 있어 전압을 가해줌으로써 입자크기를 균일하게 만들 수 있다.¹

전기분무는 어느 정도의 전기 전도도와 점도를 가지는 고분자 용액 등을 모세관에 주입시킨 후 정전기력을 부과하여 미세입자를 제조하는 방법으로 장치의 형태와 구조가 간단하여 제작이 용이하고 발생된 입자들이 단분산 분포를 가질 수 있을 뿐 아니라 수십 나노부터 수백 마이크로미터까지 다양한 크기의 입자를 제조하기에 유용하다. 또한, 가해진 전기장은 생성된 액적 표면에 전하를 가해줌에 입자체의 특정 구조를 유도할 수 있는 장점이 있다. 그간 무기물 입자의 제조나 코팅 등의 분야에 주로 연구되어 왔으나, 최근에는 약물 전달 분야에서 약물을 함유한 입자 생성에 적용하려는 연구가 진행되고 있다.^{2,3}

약물의 캡슐화는 다양한 응용성 때문에 꾸준히 연구되어오는 분야

[†]To whom correspondence should be addressed.
E-mail: jong@cau.ac.kr

이다. 약물의 부작용을 최소화하기 위해 특정 온도, 특정 pH에서 녹거나 반응하여 원하는 부위에만 작용하도록 약을 캡슐화시킴으로써 목적지에 닿기 이전에 분해되는 것을 막을 수 있다. 또한, 기존 의약품의 부작용을 막고, 효능을 극대화시켜 필요한 양의 약물을 효율적으로 전달할 수도 있다. 캡슐화시키는 기술에는 용매의 분산 및 건조, 상 분리, 전기분무 등의 방법이 개발되어 왔으며^{4,5} 분무건조는 연속적인 생산이 용이하여 약이나 식품제조 산업에 일반적으로 많이 사용될 수 있다.⁶⁻⁹

본 연구에서는 다양한 장점을 가지고 있는 전기분무법과 분무건조법을 접목하여 그 가능성을 탐색하고자 한다. 즉, 이전의 전기분무 연구에서와는 달리 분무건조 시 전압을 가함으로써 좀 더 완벽하게 캡슐화를 시키는 것을 기대할 수 있으며 뿐만 아니라 입자크기를 균일하게 하면서 캡슐화를 시킬 수 있는 가능성이 있다. 아울러 분무건조 방법에 전기를 부가적으로 가해줌으로써 전기분무 방식의 단점인 낮은 생산성을 극복할 수 있다. 본 연구에서는 이러한 전기분무 건조법을 개발하기 위해 동축 이중 노즐을 사용하는 방법을 이용하여¹⁰⁻¹⁶ 우선 일반적인 수용성 부형제와 서방성 고분자를 사용하여 캡슐형태의 입자 제조를 시도하였다. 분무건조 시 전기적 영향을 살펴보기 위해 내부 물질로 폴리에틸렌글리콜(poly(ethylene glycol)), 폴리락타이드코글리콜라이드(poly(D,L-lactide-co-glycolide))를 외부 물질로 락토오스(α -lactose monohydrate)를 사용하여 전압의 변화에 따른 영향을 살펴보았다.

실 험

시약 및 재료. 폴리에틸렌글리콜(poly(ethylene glycol), PEG, Sigma-Aldrich, 미국), 폴리락타이드코글리콜라이드(poly(D,L-lactide-co-glycolide), PLGA, Ingelheim, RH503, 독일)와 락토오스(α -lactose monohydrate, Sigma Aldrich, 미국)를 사용하였다. 용매로는 1차 증류수와 메틸렌클로라이드(DukSan, 한국)를 사용하였다. 미니분무건조기(Mini Spray Dryer B-209 BUCHI, 스위스)를 사용하여 실험을 하였다. 입자크기 측정을 위해 분산매로는 프로필알코올(propyl alcohol, 삼진화학, 한국)을 사용하였다.

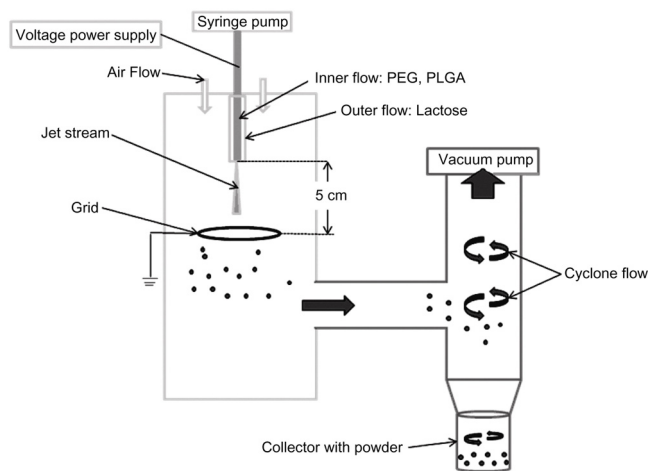


Figure 1. Apparatus of electrohydrodynamic spray drying.

전기분무건조법. 샘플 제조를 위한 미니분무건조기의 nozzle은, 바깥쪽 nozzle로 Buchi사의 model 044698(스위스)를, 안쪽 nozzle은 스테인리스로 된 24 gauge nozzle을 사용하였다. 사용한 안쪽 nozzle에는 PEG 9 wt% 혹은 PLGA 1 wt%를 사용하였으며 바깥쪽 nozzle에는 lactose 1 wt% 혹은 5 wt%를 사용하였다. 분무건조 조건은 온도는 PEG와 락토오스는 60 °C에서 PLGA와 락토오스는 55 °C이며, flow rate는 각각 PEG는 0.5 mL/min, PLGA는 0.1 mL/min, lactose는 0.5 mL/min과 1 mL/min이며 flow meter spraying air 473 L/min으로 하였다. 또 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 kV의 전압을 가하여 분무건조를 하였으며, grid는 스테인리스 링을 사용하였으며 링의 지름 5 cm, 두께 1 mm로 링과 노즐과의 거리는 5 cm로 하였다 (Figure 1).

입자크기 분석. 샘플의 입도 분석은 레이저 광 산란 입도 분석기(LA-910 Horiba, 일본)가 사용되었다. 측정조건은 분산매 프로필알코올 150 mL, 상대굴절률 2.01, 사용된 초음파 분산기의 분해 전력은 40 W (39 Hz)로 5분 동안 분산시킨 후 부피평균입자 분포를 얻었다.

시차주사 열량계(Differential Scanning Calorimeter) 분석. 녹는점 및 엔탈피 변화를 확인하기 위해 시차주사 열량계(Jade DSC Perkin Elmer, 미국)를 사용하였다. 샘플을 10 mg을, 측정조건으로는 20 °C로 5분간 유지시킨 후 20~250 °C까지 1분에 10 °C씩 올려 주고 250 °C에서 5분간 유지시킨 후 250 °C에서 20 °C까지 1분에 10 °C씩 내려주어 변화를 조사하였다.

주사전자 현미경(Scanning Electron Microscope) 분석. 입자 모양을 확인하기 위해 주사전자 현미경(scanning electron microscope, S-3400, Hitachi, 일본)을 사용하였다. 샘플을 카본 테이프가 붙어 있는 유리판에 뿌린 후 carbon coater(Hitachi, 일본)에 의해 백금을 6.7 nm/min 속도로 180초간 코팅하여 15 kV 조건하에 조사하였다.

결과 및 토론

입자크기 및 모양. 제조된 PEG/Lactose 입자의 크기는 제조시 노즐에 가해진 전압의 영향을 보여주었다. Table 1에는 전압에 따른 입자크기의 변화를 보여주고 있다. 전압을 걸어주지 않은 분무건조에서는 전압을 걸어 주었을 때 보다 큰 입자크기를 보여주고 있다. 반면, 전압을 0.5 kV씩 올려주면서 2.5 kV까지의 부피평균 입자크기 변화를 살펴보면 대체로 4.1 μ m 이하로 작아지는 것을 보여주고 있다. 2.5 kV에서는 부피평균 입자크기가 2.15 μ m의 크기를 보여주고 있다. 이것은 분무건조만 했을 때보다 6분의 1정도의 크기를 보여주고 있다. Table 1의 입자크기 결과로 보아 'Taylor cone'이 형성되는 특정 입

Table 1. Particle Size of PEG/Lactose (9/1 wt ratio) Particles as a Function of Applied Voltage Prepared by Co-axial Electrohydrodynamic Spray Drying

Voltage (kV)	Volume average size (μ m)	Standard deviation
0.0	14.59	0.44
0.5	4.13	0.16
1.0	3.61	0.19
1.5	3.53	0.31
2.0	3.69	0.54
2.5	2.15	0.53

계 전압이 존재하지는 않는 것으로 사료된다.

입자의 분포도를 살펴본 Figure 2에서는 전압을 가하지 않은 것은 넓은 분포를 나타내주고 있으며 2.5 kV에서는 전압의 영향으로 고른 분포가 나타나고 있으며 크기 또한 작아진 것을 볼 수 있다. 1.5 kV의 샘플은 2.5 kV에서와 같은 분포를 보여 주지만 입자크기는 커진 것을 확인할 수 있다. 이런 입도 분포는 다른 분무건조에 비해 고른 입자분포를 나타내주고 있으며¹⁷ 전압에 따른 입자크기의 차이를 보이고 있다. 전압을 가한 경우 입자들을 lactose와 PEG의 비율에 따른 프로필 알코올에 분산시킨 경우 Figure 3에서와 같은 1~10 μm 의 분포를 보이고 있다. 높은 전압을 가한 분무건조에서 더 작은 입자의 분포를 보이고 있는데, 이것은 전기장의 영향에 의해 미세한 액적이 생기고 이들이 빠르게 건조되는 과정에서 더 작은 크기의 입자가 나타난 것으로 보인다.

Figure 3에서는 PEG와 lactose의 복합입자 모양을 보여주고 있다. Figure 3(a)는 전압을 걸지 않은 입자의 모양을 보여주고 있으며 (b)에서는 2.5 kV를 가한 입자의 모양을 나타내주고 있다. 입도분포를

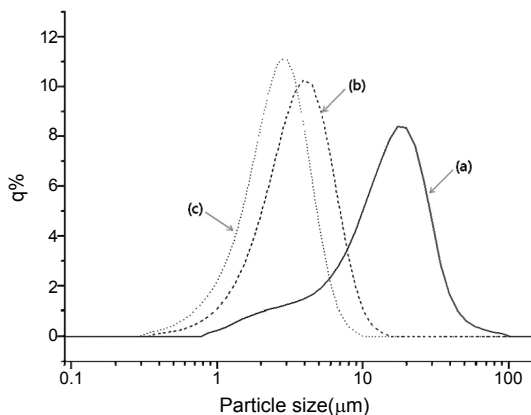


Figure 2. Particle size distributions of PEG/Lactose (9/1 wt ratio) particles prepared by co-axial electrohydrodynamic spray drying: (a) 0; (b) 1.5; (c) 2.5 kV.

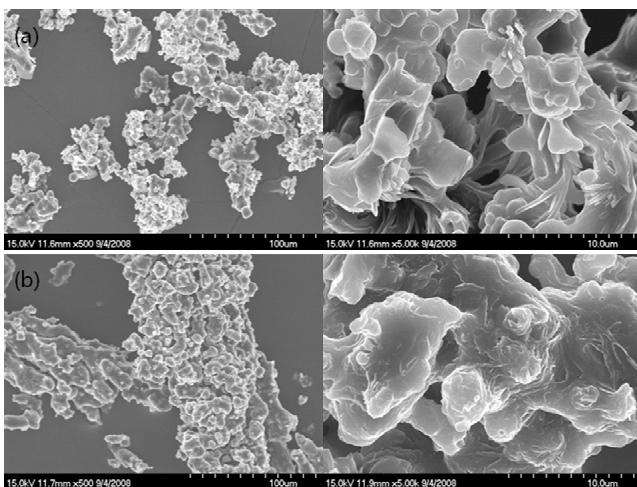


Figure 3. SEM micrographs of PEG/Lactose (9/1 wt ratio) particles prepared by co-axial electrohydrodynamic spray drying: (a) 0; (b) 2.5 kV.

과에 비해 뚜렷한 차이를 볼 수는 없었으나, 전압을 가한 입자의 모양이 보다 균일한 규칙성을 나타내주고 있으며, 전압을 가하지 않은 입자의 모양은 균일함보다는 보다 서로 엉켜있는 모양을 보여주고 있음을 알 수 있다. 이러한 차이는 PLGA/Lactose 경우에 보다 뚜렷한 차이를 볼 수 있었다.

Figure 4에서는 PLGA/Lactose의 입자크기를 보여 주고 있다. 0, 2.0, 2.5 kV 모두 비교적 고른 분포를 보여주고 있으며 이것은 PLGA의 분산제로서 lactose의 영향을 나타내주고 있다. PEG 경우에 비해 입자크기의 차이가 적은데, 그 이유는 Figure 4의 입자크기는 물에 분산시켜 측정된 것으로 외부의 lactose가 녹은 후 PLGA의 크기만을 관찰하고 있기 때문이다. 즉, 복합입자 전체의 크기는 전기장에 민감하게 반응하는 반면 내부의 PLGA의 크기는 상대적으로 적은 의존도를 보여주고 있다. 이는 전기분무건조에 의해 제조된 입자는 주로 외부에 lactose가 내부에 PLGA가 존재할 수 있고, 이 경우 lactose의 표면에 주로 전하가 가해짐으로 내부의 PLGA 입자는 전기장의 영향에 직접적으로 노출되어 있지 않을 수 있기 때문이다. Lactose에 비해 전기장의 영향을 덜 받고 있기는 하나, 2.0과 2.5 kV의 경우 1 μm 이하의 입자가 나타나고 있으며 약간의 전기장의 영향을 볼 수 있다.

PLGA와 lactose의 입자 모양을 Figure 5에서 보여 주고 있다. PEG에 비해 전압을 가한 것과 가하지 않은 것들 사이에 보다 뚜렷한 차이를 확인할 수 있다. 또한, 전압이 높아짐에 따라라도 입자의 모양에 차이가 있음을 보여주고 있다. 전압을 가하지 않은 입자들은 서로 엉켜 붙어 구형의 입자를 나타내지 않고 있지만, 전압을 가한 것은 구형의 형태를 보이고 있다.

이러한 크기 및 모양의 변화는 분무건조에서는 공기의 운동에너지에 의해 액적이 분해가 되며 분해된 입자들은 건조과정을 거치면서 서로 응집현상이 일어나게 된다. 하지만, 노즐에 전압을 가해 주어 분무를 할 경우 전하가 공기층과 용액의 계면에 유도되고 이들의 반발력으로 미세한 액적이 생성되게 된다. 작아진 액적들은 건조과정에서 전하의 반발력으로 서로 응집현상이 줄어들게 되어 입자의 크기는 더욱 작아지게 된다. 높은 전압을 가할수록 입자가 건조될 때 전하가 머무르는 시간이 길어지게 되고 이러한 영향으로 입자의 응집현상이 줄어들게 된다. 입자간의 전기장의 영향으로 전압이 높아질수록 응집이 줄어들게 되며 둥근 형태를 나타내는 것을 확인할 수 있다.

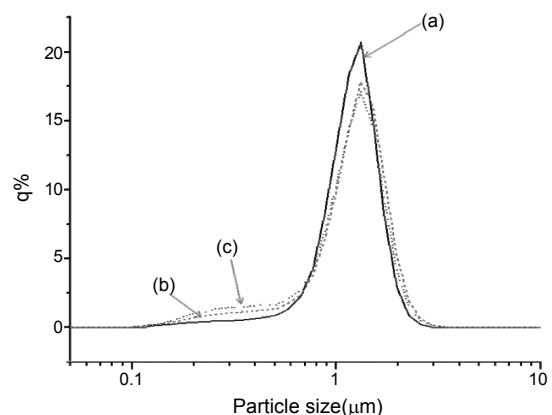


Figure 4. Particle size distributions of PLGA/Lactose (1/5 wt ratio) particles prepared by co-axial electrohydrodynamic spray drying: (a) 0; (b) 2.0; (c) 2.5 kV.

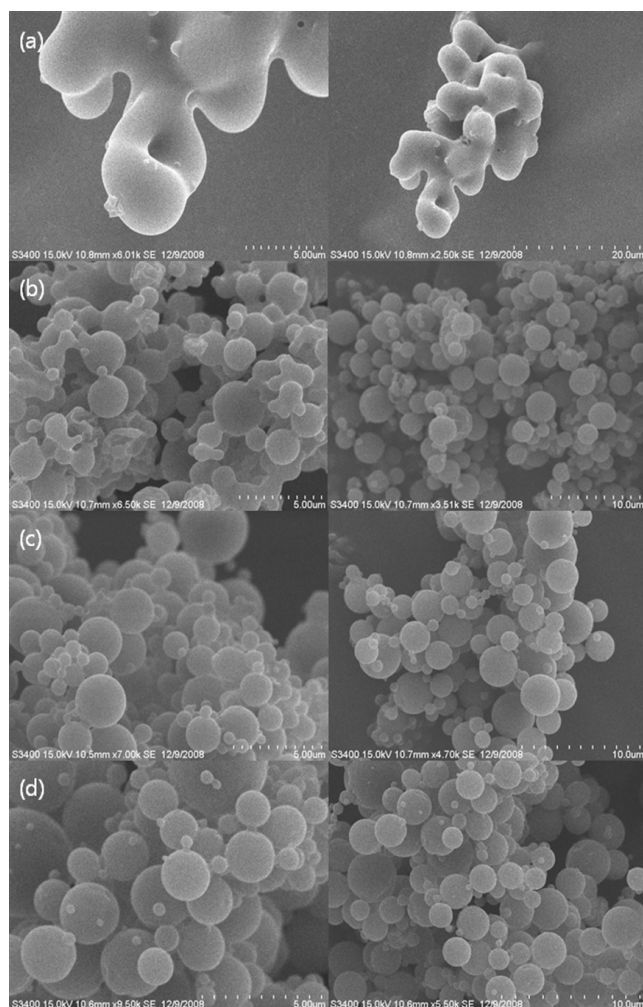


Figure 5. SEM micrographs of PLGA/Lactose (1/5 wt ratio) particles prepared by co-axial electrohydrodynamic spray drying at various voltages: (a) 0; (b) 0.5; (c) 2.0; (d) 2.5 kV.

용융 엔탈피 변화 분석. 전압 변화에 따른 입자의 엔탈피 및 녹는점의 변화를 알아봄으로써 분무건조에 있어 전기의 영향을 살펴보고 있으며, Table 2와 Figure 6에서 그 결과를 보여주고 있다. 전압을 걸지 않았을 때 녹는점을 살펴보면 PEG는 46 °C, lactose는 212 °C이다. 일반적인 PEG의 녹는점 55~58 °C와 lactose의 녹는점 219 °C보다 다소 낮은 온도를 나타내고 있다. 이것은 결정화가 일어나기에는 분무건조조건이 빠른 것으로 보인다. 0.5 kV까지의 녹는점은 PEG는 45~46 °C, lactose 212 °C로 비교적 일정함을 보여주고 있다. 1.0~2.0 kV에서 녹는점은 PEG의 경우 44~46 °C로 차이를 보이고 있지 않지만, lactose는 다소 차이를 보여주고 있다. 전압을 걸어 주지 않았을 때 lactose의 녹는점이 1개의 온도가 나오는 반면 1.0~2.5 kV에서는 lactose 녹는점의 온도가 두 지점에서 나오게 됨을 알 수 있다. 이 둘의 녹는점의 차이는 10~20 °C의 차이를 보이게 된다. 이것은 전기의 영향에 의해 입자의 건조 속도 등이 변화하여 lactose의 결정화 과정이 불균일하게 진행된 결과일 수 있으며, 전기장에 의해 입자들의 크기가 줄어들어 충분한 결정화 시간을 허용하지 않은 채 빠르게 건조되어 Figure 6과 같이 두 개의 용융피크가 나타난 것으로

Table 2. DSC Results of PEG/Lactose (9/1 wt ratio) Particles Prepared by Co-axial Electrohydrodynamic Spray Drying at Various Voltages

Voltage (kV)	PEG		Lactose	
	Enthalpy (J/g)	T_m (°C)	Enthalpy (J/g)	T_m (°C)
0	132	46	308	212
0.5	144	45	193	212
1.0	148	46	167	211
				223
1.5	151	46	176	209
				218
2.0	154	44	102	196
				212
2.5	149	52	42	194
				206

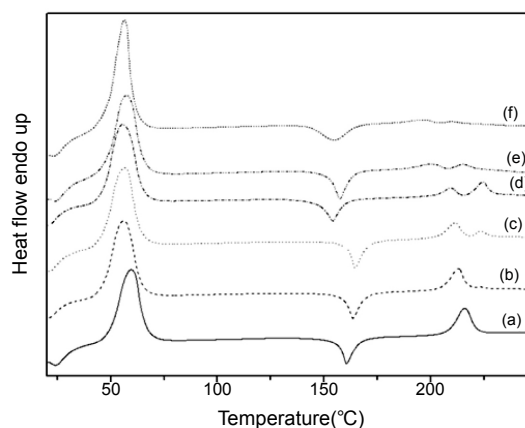


Figure 6. DSC thermograms of PEG/Lactose (9/1 wt ratio) particles prepared by co-axial electrohydrodynamic spray drying: (a) 0; (b) 0.5; (c) 1.0; (d) 1.5; (e) 2.0; (f) 2.5 kV.

Table 3. DSC Results of PLGA/Lactose (1/5 wt ratio) Particles Prepared by Co-axial Electrohydrodynamic Spray Drying at Various Voltages

Lactose	0 kV		0.5 kV		2.0 kV		2.5 kV	
	Enthalpy (J/g)	T_m (°C)	Enthalpy (J/g)	T_m (°C)	Enthalpy (J/g)	T_m (°C)	Enthalpy (J/g)	T_m (°C)
	180	222	98	226	83	216	77	220

보여진다.

PEG 및 lactose의 용융 엔탈피의 변화는 전압을 가하지 않은 분무건조에서는 PEG 132 J/g, lactose 308 J/g를 보인다. 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 kV까지 PEG의 경우 엔탈피 값은 다소 증가하는 경향을 보이고 있으며, lactose는 전압을 걸지 않은 것에 비해 100 J/g 이상의 감소를 보이고 있다. 하지만, 2.5 kV에서 PEG 엔탈피는 149 J/g으로 감소했으며, lactose는 42 J/g으로 전압을 걸지 않았을 때와의 차이를 보이고 있다. Lactose의 엔탈피 감소는 전기분무건조 동안 결정화가 충분히 일어나기 힘들었음을 의미할 수 있다.

Table 3에서는 PLGA/Lactose 입자의 경우 lactose의 용융 엔탈피의 변화를 보여주고 있다. 용융점은 큰 차이를 보이고 있지 않으나, Table 2에서와 같이 전압이 증가할수록 lactose 엔탈피 값이 급격히 줄어들고 있다. 전압을 걸지 않았을 때보다 2.5 kV를 가했을 경우 엔탈피 값이 -103 J/g 감소하는 것을 볼 수 있다. 이 역시 외부에 주로 존재하는 lactose 층이 전압의 영향에 의해 작아진 액적 크기, 그리고 표면 전하의 반발에 따른 응집 현상 감소 등에 따라 빠르게 건조되어 충분한 결정화 시간을 가지지 못했음을 추측할 수 있다.

PEG와 PLGA 두 경우 모두 lactose가 외부에 존재하는 물질로서 전기장의 영향에 의해 미세한 액적이 생기고 이들이 빠르게 건조되어 충분한 결정성이 형성되기 어려운 상황에 노출됨에 따라 민감하게 엔탈피가 감소하는, 즉, 결정성이 줄어드는 경향을 살펴볼 수 있었다. 반면, PLGA 및 PEG는 내부에 주로 존재하여 이러한 전기장의 영향에 비교적 덜 노출되어 있는 것으로 판단된다. 이러한 결과는 전기장에 의해 입자크기 및 분포가 변화한 것 외에도 core-shell 구조의 형성 및 유지에도 전기장이 도움을 주는 것으로 추측할 수 있는 결과로 단순한 분무건조에서 core-shell 구조 입자를 제조할 수 없는 한계를 전기장을 사용하여 극복할 수 있을 것으로 예상된다.

결 론

본 실험은 분무건조 장치의 노즐에 고전압을 가해 그 영향을 살펴보기 위해, 전압을 0~2.5 kV까지 변화시키면서 고분자물질의 분무 실험을 하고, 그 입자의 크기 및 열적성질을 관찰하여 전기장의 영향을 살펴보았다. 동축 이중 노즐을 사용하여 내부노즐에 PLGA 또는 PEG를, 외부노즐에 lactose를 분무하였다. 가해진 전압이 커짐에 따라 외부 물질인 lactose의 엔탈피 크기가 감소하였고, 전체 입자의 크기 또한 작아지는 것을 확인하였다. 상대적으로 내부 물질인 PLGA의 입자크기는 전압의 영향을 적게 받았다. 이것은 전기분무건조 시 전기장에 의해 미세한 액적이 생기고, 표면 전하에 의해 응집 현상이 줄어들며, 빠르게 건조됨으로써 건조동안 결정화가 충분히 일어나지 않아서 생긴 결과로 판단된다. 입도 분포와 SEM 관찰에서도 PLGA와 lactose의 복합입자들은 전압이 높아짐에 따라 미세 입자가 많아지는 것을 확인할 수 있었다.

감사의 글: 이 논문은 2008년도 중앙대학교 연구 장학 기금 지원에 의한 것임.

참 고 문 헌

1. O. Lastow, J. Andresson, A. Nilsson, and W. Balachandran, *Pharmaceutical Development and Thechnology*, **12**, 175 (2007).
2. J. Xie, J. C. M. Marijnis, and C. H. Wang, *Biomaterials*, **27**, 3321 (2006).
3. J. Xie, W. J. Ng, L. Y. Lee, and C. H. Wang, *J. Colloid Interf. Sci.*, **317**, 469 (2008).
4. M. Asada, H. Akahashi, H. Okamoto, H. Tanino, and K. Danjo, *Int. J. Pharm.*, **270**, 167 (2004).
5. J. M. Lopez-Herrera, A. Barrero, A. Lopez, I. G. Loscertales, and M. Marquez, *J. Aerosol Sci.*, **34**, 535 (2003).
6. F. X. Lacasse, P. Hildgen, and J. N. McMullen, *Int. J. Pharm.*, **174**, 101 (1998).
7. G. Leach, G. Oliveira, and R. Morais, *J. Ind. Microbiol. Biotech.*, **20**, 82 (1999).
8. M. Jimenez, H. S. Garcia, and C. I. Beristain, *Eur. Food Res. Technol.*, **219**, 588 (2004).
9. M. E. Rodriguez-Huezo, R. Pedroza-Islas, L. A. Prado-Barragan, C. I. Beristain, and E. J. Vernon-Carter, *J. Food Sci.*, **69**, E351 (2004).
10. W. C. Hinds, *Aerosol Technology, Properties, Behavior and Measurement of Airborne Particle*, John Wiley & Sons, New York, 1982.
11. I. G. Loscertales, A. Barrero, I. Guerrero, R. Cortijo, M. Marquez, and A. M. Ganán-Calvo, *Science*, **295**, 1695 (2002).
12. T. Sakai, M. Sadakata, M. Sato, and K. Kimura, *Atomization Sprays*, **1**, 171 (1991).
13. A. M. Ganán-Calvo, *J. Aerosol Sci.*, **30**, 863 (1999).
14. A. G. Marin, I. G. Loscertales, M. Marquez, and A. Barrero, *Phys. Rev. Lett.*, **98**, 014502 (2007).
15. F. Mei and D. R. Chen, *Phys. Fluids*, **19**, 103303 (2007).
16. S. N. Jayasinghe and A. Townsend-Nicholson, *Lab Chip*, **6**, 1086 (2006).
17. Y. L. Su, Z. Y. Fu, J. Y. Zhang, W. M. Wang, H. Wang, Y. C. Wang, and Q. J. Zhang, *Powder Technology*, **184**, 114 (2008).