

지방산 및 지방알코올을 함유한 나노에멀전의 안정성

조 완 구[†] · 김 경 아 · 장 선 일* · 조 병 옥*

전주대학교 의과대학 바이오기능성식품학과

*(주)아토크엔에이 기업부설연구소

(2017년 8월 26일 접수, 2017년 12월 1일 수정, 2017년 12월 11일 채택)

Stability of Nano-emulsions Containing Fatty Acid and Fatty Alcohol

Wan Goo Cho[†], Kyung Ah Kim, Seon Il Jang*, and Byoung Ok Cho*

College of Medical Science, Jeonju University, 303 Cheonjam-ro, Wansan-gu, Jeonju-si, Jeonbuk-do 55069, Korea

*R&D Center, Atoqna Co., Ltd., Jeonbuk-do 55069, Korea

(Received August 26, 2017; Revised December 1, 2017; Accepted December 11, 2017)

요약: 본 실험에서는 화장품에 널리 사용되는 지방산과 지방알코올을 Tween 80과 Span 80을 함께 사용하여 조성 상전이 유효법으로 O/W (oil-in-water) 저점도 나노에멀전을 제조하였다. 지방알코올의 오일상에서의 농도가 증가할수록 나노에멀전의 입자 크기가 증가하였다. 혼합계면활성제의 HLB를 조절하여 입도 분포가 좁고 안정한 나노에멀전의 제조가 가능하였다. 전상점 부근에서 지방산 및 지방알코올을 함유한 계 모두에서 유사한 점도와 전기전도도의 변화를 보였으나 오일과 계면활성제만으로 구성된 계와는 다르게 넓은 수용액상 분율 범위에서 높은 점도를 나타냈다. 입자 크기가 100 nm 미만의 저점도 나노에멀전은 실온에서 한 달 이상 안정하였다. 지방산 또는 지방알코올을 함유하고, 저에너지 유효법으로 제조된 저점도 O/W 나노에멀전 제형은 화장품의 기재로서 널리 사용될 수 있다.

Abstract: In this study, low viscous O/W (oil-in-water) nano-emulsion with fatty acid and fatty alcohol was prepared by phase inversion emulsification method using Tween 80 and Span 80 widely used in cosmetic products. The particle size of the nano-emulsion was increased as increasing the concentration of fatty alcohol in oil phase. Adjusting the HLB of mixed surfactants, a stable nano-emulsion with a narrow size distribution was produced. Similar change in viscosity and electrical conductivity in both systems containing fatty acid and fatty alcohol was shown in the vicinity of the phase inversion point. However, high viscosity was shown in a wide range of different aqueous fraction unlike the system consisting only oils and surfactants. The low viscous nano-emulsion with less than 100 nm droplet size was stable for one month or more at room temperature. O/W nano-emulsions with low viscosity containing fatty acid or fatty alcohol produced by low-energy emulsification method can be widely used as formulations of cosmetics.

Keywords: nano-emulsion, fatty acid, stability, fatty alcohol, Ostwald ripening

† 주 저자 (e-mail: wgcho@jj.ac.kr)
call: 063)220-2064

1. 서 론

나노에멀전은 입경이 20-200 nm 정도의 크기를 가지며 입자 크기가 작기 때문에 반투명한 외관을 갖는다[1-3]. 마이크로에멀전과는 다르게 나노에멀전은 열역학적으로는 안정하지 않지만 장시간 안정할 수 있으며 산업적으로 중요한 의미가 있는 계면활성제의 농도가 낮기 때문에 의약품, 화장품 및 농업 분야에서 다양하게 응용되고 있다[4-10]. 일반적으로 나노에멀전은 전단력을 가진 믹서를 이용하여 계에 기계적인 에너지를 가하거나 고압 유회기 또는 초음파 등과 같이 높은 에너지를 사용하는 방법으로 제조된다[11-13]. 그러나 저 에너지를 이용한 유회 방법이 최근 관심의 대상이 되고 있는데 이는 상전이 방법과 자발적 유회 방법 등이며 이들 방법은 미세한 입경의 나노에멀전 제조는 물론 입자 크기 분포의 폭이 적은 에멀전을 얻을 수 있다[14-19].

상전이 방법은 유회과정 중에 발산되는 화학적 에너지를 이용하는 방법으로 이는 계면활성제 막의 곡률이 음에서 양으로 또는 양에서 음으로의 변화를 의미한다. 이러한 변화는 일정 온도에서는 조성의 변화로 달성할 수 있으며 이러한 유회법을 조성 상전이 유회법(phase-inversion composition method, PIC)이라 칭한다[20]. PIC 유회방법에서 중심이 되는 사항은 작은 입경의 에멀전을 얻기 위해서는 유회과정에서 라멜라 액정상 또는 이중 연속상 마이크로에멀전이 생성되어야 하며 이는 계면활성제 집합체의 평균 곡률이 영이 됨을 의미한다[21].

지방산 및 지방알코올은 화장품의 주요한 유연 물질로서 대부분의 화장품 에멀전 제형에 폭넓게 응용되고 있으나 점도가 낮은 나노에멀전에서는 응용된 사례가 거의 없다. 본 논문에서는 PIC 방법에 의해 형성된 지방산 및 지방알코올 함유 나노에멀전의 거동과 안정성을 검토하고자 하였다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1. 시약

사용된 시료는 Table 1에 나타난 것과 같은 화장품용 등급의 원료를 사용하였다. 증류수는 Milli Q (Millipore Co., USA) 장치를 통과시킨 것을 사용하였다.

2.2. 실험 방법

2.2.1. O/W 나노에멀전의 제조

비이온성 계면활성제인 Tween 80과 Span 80을 이소노닐이소노나네이트 또는 유동파라핀에 80 °C로 용해하고 지방산 또는 지방알코올을 첨가하여 오일상을 제조하였다. 수상은 EDTA-2Na를 물에 용해하여 제조하였으며 오일상에 수상을 첨가하기 위하여 열판 자석교반기를 사용하였다. 유회는 80 °C에서 진행하였으며 수상을 오일상에 첨가하기 전 각각 80 °C로 가열하였다. 혼합은 400 rpm으로 하였으며 100 g을 제조할 때 분당 수용액상을 40 g 정도의 속도로 첨가하였다. 유회과정은 온도에 민감하여 물중탕을 활용하여 유회온도를 유지하였다.

2.2.2. 입자 크기, 다분산도 및 안정성 실험

평균 입경과 분포도는 dynamic light scattering 방법을 활용한 입자측정기(ELS-8000, Otsuka, Japan)를 사용하여 에멀전을 희석 없이 실온에서 측정하였다. 측정할 때의 산란각은 90°에서 진행하였다.

2.2.3. 전기전도도 측정

전기전도도는 W/O에서 O/W로 전상되는 영역을 확인하기 위해서 측정하였다. 유상에 수용액상을 자석교반기를 이용하여 혼합하면서 측정하였다. 측정은 휴대용 전기전도도 측정기를 이용하였다(Accumet AP85, Fisher Scientific, USA).

2.2.4. 점도 측정

나노에멀전의 점도는 Brookfield 점도계(Model DV-E, Brookfield, USA)를 사용하여 실온에서 속도 60 rpm, spindle No. 6로 2 min 후에 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 혼합계면활성제와 지방알코올 농도에 따른 나노에멀전의 입도 분포

오일 + 지방산 또는 지방알코올/Tween 80 + Span 80/정제수의 시스템에서 에멀전을 제조하였다. Tween 80과 Span 80의 비율을 3.9 : 1.1로 고정(HLB = 12.6)하며 오일은 3.0 wt%로 고정하고 세토스테아릴알코올의 비율을 변화하여 PIC 방법으로 80 °C에서 유회하여 에멀

Table 1. Materials for Experiments

INCI name	Trade name	Company
Lauric acid	Lunac L-98	Kao Chemicals (Japan)
Myristic acid	Lunac MY 98	Kao Chemicals (Japan)
Stearic acid	Lunac S-98	Kao Chemicals (Japan)
Polyoxyethylene (20) sorbitanmonooleate	Tween 80	Croda (UK)
Sorbitan monooleate	Span 80	Croda (UK)
Liquid paraffin	Lily 70	Kukdong (Korea)
Isononyl isononanoate	KAK 99	Kokyu Alcohol (Japan)
Cetostearyl alcohol	Lanett O	BASF (Germany)
EDTA-2Na	EDTA-2Na	AKZO (Netherlands)

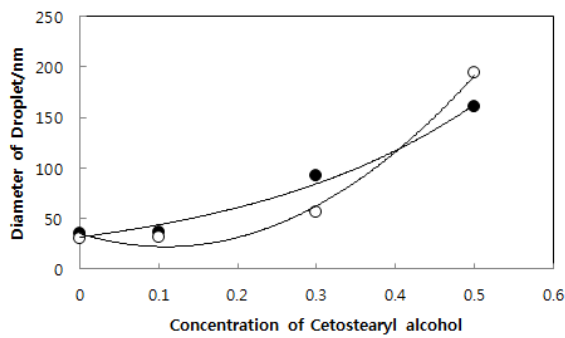


Figure 1. Droplet diameter as a function of concentration of cetostearyl alcohol in oils (●; Liquid paraffin, ○; isononyl isononanoate) with Tween 80 : Span 80 (= 3.9 : 1.1).

전을 제조하였다. 이때 유화제의 농도는 5.0 wt%로 고정하고 오일은 유동파라핀 또는 이소노닐이소노나네이트를 사용하였다.

Figure 1에 보인 것과 같이 세토스테아릴알코올의 농도가 증가할수록 형성된 나노에멀전의 입자 크기가 증가하였다. 나노에멀전은 오일상이 유동파라핀 또는 이소노닐 이소노나네이트 모두에서 나노에멀전을 형성하였으나 세토스테아릴알코올의 농도가 0.5 wt% 이상에서는 나노에멀전이 형성되지 않고 마크로에멀전이 형성되고 상온에서 제조 직후 상분리 현상을 보였다.

Figure 2에는 오일상으로 이소노닐이소노나네이트를 사용하고 여기에 지방알코올 대신에 스테아린산을 첨가하여, 농도에 따라 형성되는 에멀전의 초기 입자 크기를 나타냈다. 지방산이 0.1 또는 0.2 wt%의 농도에서는 에멀전 입자가 세토스테아릴알코올과 유사한 30-40 nm 크기의 나노에멀전이 형성되었으나 0.3 wt%로 증가하면 마크로에멀전이 형성되어 불안정하였다.

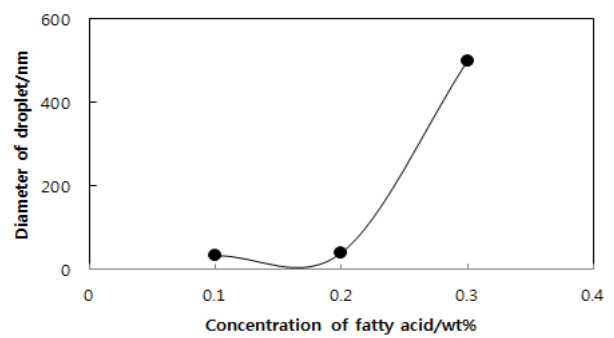


Figure 2. Droplet diameter as a function of concentration of stearic acid in isononyl isononanoate phase with Tween 80 : Span 80 (= 3.9 : 1.1).

Figure 3에는 이소노닐이소노나네이트를 3.0 wt%로 하고 지방산 농도는 0.1 wt%로 고정하여 라우린산, 미리스틴산 및 스테아린산에 의해 형성되는 에멀전의 초기 입자 크기를 나타냈다. 탄소 사슬의 수가 증가하면서도 모두 30 nm 부근에서 나노에멀전을 형성하였고 탄소 사슬에 관계없이 모두 안정한 나노에멀전이 형성되었다. 따라서 계면활성제 5.0 wt%, 오일 3.0 wt%의 농도에서 0.1 wt%의 지방산은 탄소 사슬의 수에 관계없이 모두 안정성 나노에멀전이 형성되었다.

3.2. 혼합계면활성제의 HLB에 따른 에멀전의 입자크기 변화

여기서는 Tween 80과 Span 80의 혼합 계면활성제의 조성에 따른 최적의 나노에멀전을 제조하기 위하여 혼합계면활성제의 HLB에 따른 에멀전의 입도 분포를 평가하고자 하였다. 혼합계면활성제의 HLB는 다음의 산술적 방법으로 계산할 수 있었다.

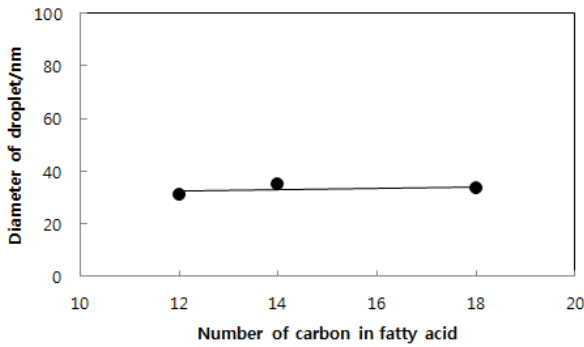


Figure 3. Droplet diameter as a function of carbon number of fatty acid (concentration = 0.1 wt%) in isononyl isononate phase with Tween 80 : Span 80 (= 3.9 : 1.1).

$$HLB_{mix} = HLB_A \times A\% + HLB_B \times B\% \quad (1)$$

여기서 HLB_{mix} 는 혼합계면활성제의 HLB이고 $HLB_{A/B}$ 는 각각 계면활성제 A와 B의 HLB이며 A% 와 B%는 계면활성제 A와 B의 중량 %이다. 모든 HLB는 25 °C에서 얻었다. Figure 4에는 입자 크기에 대한 HLB의 영향에 대해 나타냈다. 입자 크기가 작은 것으로 한다면 혼합계면활성제의 HLB는 13 부근에서 가장 작은 입자크기를 나타냈다. 그러나 HLB 값이 11 이하이거나 15 이상에서는 나노에멀전이 형성되지 않고 마이크로에멀전이 형성되었으며 외관상으로도 현탁된 모습을 보였다. 이들 마이크로에멀전은 제조 후 1주일 이내에 크리밍 현상으로 인한 상분리 현상을 보여 불안정하였다. Figure 4의 입도 분포는 HLB 12.5-13.5 부근에서 40 nm 정도의 작은 입도 분포를 보였는데 이는 Figure 1의 실험 결과와 유사하였다.

3.3. 전상점 부근에서 수용액상 첨가에 따른 나노에멀전의 거동

계면활성제로서 Tween 80 및 Span 80, 오일로서 이소노닐이소노나네이트 또는 유동파라핀 그리고 EDTA-2Na를 함유한 수용액상을 포함하는 혼합계면활성제-오일-물 계의 상 거동을 평가하였다. 오일과 계면활성제를 먼저 혼합하고 수용액상이 최종 농도가 될 때까지 자석 교반기를 이용하여 서서히 첨가하였다. Figure 5에 나타낸 것과 같이 시료의 외관과 전기전도도를 수용액상의 농도를 증가시키면서 측정하였다. 계면활성제와 오일의 혼합물은 투명하였으며 낮은 전기전도도를 나타

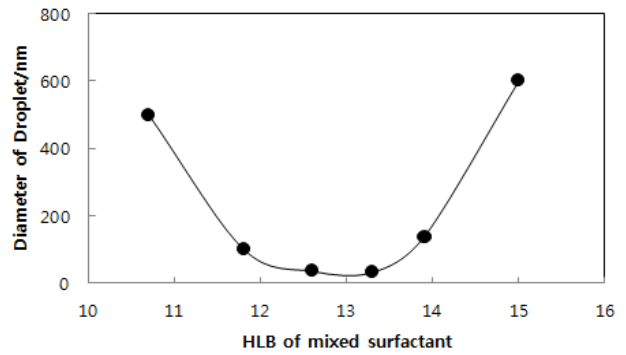


Figure 4. Droplet diameter as a function of the HLB value for samples with cetostearyl alcohol/isononyl isononate = 0.1/0.9, ϕ (내상 분율) = 0.08 and preparation temp. = 80 °C.

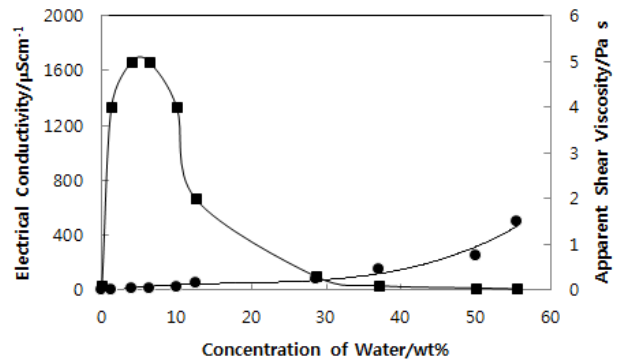


Figure 5. Effect of increasing water concentration on the electrical conductivity and apparent shear viscosity of emulsions at a fixed surfactant-to-oil ratio of 1.67 (■; viscosity, ●; electrical conductivity).

냈으며 상대적으로 낮은 점도를 보였다. 초기에는 낮은 점도의 외관을 보이다가 수용액상이 첨가됨에 따라 높은 점도를 보이고 수용액상이 더 첨가되면 점도가 낮아지는 거동을 보였다. 소량의 수용액상이 첨가되었을 경우 여전히 낮은 전기전도도를 보이는 것으로 미루어 여전히 외상이 오일상임을 알 수 있으나 수용액상이 첨가됨에 따라 점진적으로 전기전도도가 증가하였다. 초기에는 수용액상의 농도가 증가함에 따라 점도가 급격히 증가하는데 이러한 시점은 W/O에서 O/W로의 전상과 일치한다[16]. 초기에는 수용액상의 농도가 증가함에 따라, W/O 에멀전에서 수용액상의 부피가 증가함에 따라 점도가 급격히 증가하며 일정 수준에 이른 후 수용상이 첨가됨에 따라 점도는 감소하게 된다. 수용액상을 첨가하는 도중에 급격한 점도의 상승은 액정이

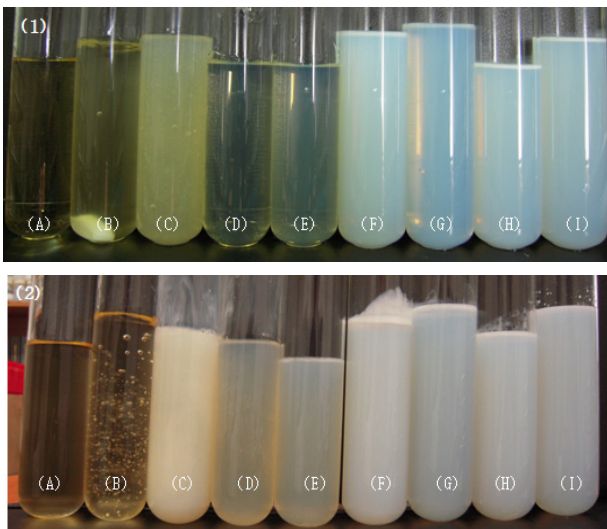


Figure 6. Effect of increasing water concentration on the appearance of emulsions at a fixed surfactant-to-oil ratio of 1.67.

(1) Tween 80 + Span 80/water/isononyl isononannate+stearic acid (3.9 wt% + 1.1 wt% + 3.0 wt% + 0.1 wt%): oil/water volume ratio (A); 8, (B); 2.48, (C); 1.6, (D); 1, (E); 0.8, (F); 0.35, (G); 0.27, (H); 0.2, (I); 0.18.

(2) Tween 80+Span 80/water/isononyl isononannate+cetostearyl alcohol (3.9 wt% + 1.1 wt% + 3.0 wt% + 0.1 wt%): oil/water volume ratio (A); 8, (B); 2.48, (C); 1.6, (D); 1, (E); 0.8, (F); 0.35, (G); 0.27, (H); 0.2, (I); 0.18.

생성되거나 높은 분산상에 의한 다중 에멀전의 생성에 기인한 것으로 생각된다[16].

Figure 6에서 오일과 계면활성제를 1 : 1.67로 혼합한 유상에 수용액상의 농도를 증가시킴에 따라 변화하는 에멀전의 외관을 나타냈다. 지방산 또는 지방알코올이 함유되지 않은 계에서는 점도의 변화가 전상점 부근에서 최대의 점도를 보이는 것과 달리 지방산이나 지방알코올을 함유하는 계에서는 Figure 5와 같이 수용액상의 분율이 좀 더 첨가되는 계에서도 점도를 유지하였다. 이러한 현상은 세토스테아릴 알코올 및 스테아린산을 포함한 계에서 유사한 거동을 보였으며 오일만으로 오일상이 구성된 계와 차이를 보였다[15].

3.4. 나노에멀전의 안정성

Ostwald ripening은 일반적으로 나노에멀전의 불안정화 기작으로 설명된다[18]. 입자가 작으면 용해도가 증가하고 다분산 입자로 존재하는 나노에멀전에서

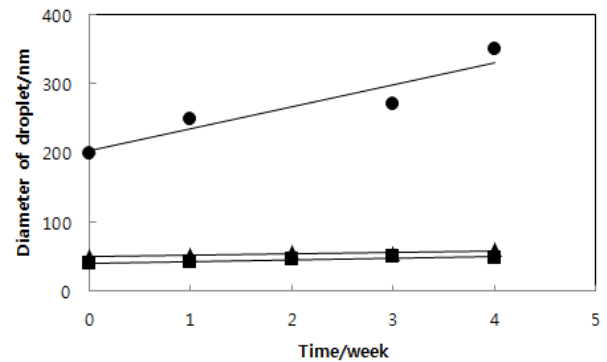


Figure 7. Droplet diameter against time obtained in system of emulsions at a fixed surfactant-to-isononyl isononate with ■: 0.1 wt%, ▲: 0.3 wt%, ●: 0.5 wt% of cetostearyl alcohol.

큰 입자는 작은 입자를 소비하여 입자 크기가 증가된다. 이는 오일 분자의 연속상을 통한 분자 확산을 통해 일어난다. Ostwald ripening 속도(w)는 LSW (Lifshitz-Slezov-Wagner) 이론에 의해 다음과 같이 나타낼 수 있다[19].

$$w = dr^3/dt = 8 \gamma C_{\infty} V_m D / 9RT \quad (2)$$

여기서 r 은 평균 입자 반경, t 는 보관 시간, C_{∞} 는 벌크 용액의 용해도, γ 는 계면장력, V_m 는 오일의 몰부피, D 는 연속상에서 오일의 확산 계수, R 은 기체상수이며 T 는 절대온도이다. 식 (2)는 입자 반경의 세제곱과 시간이 직선적 관계에 있음을 보여준다.

일반적으로 나노에멀전의 응용성을 제한하는 것은 안정성인데 고압 유화기 등을 사용하여 제조된 나노에멀전은 오일의 점도를 증가시켜 안정성 향상을 유지하고자하는데 이는 C_{∞} 를 감소시키기 위한 것이다.

이 방법으로 제조된 나노에멀전은 8주 이상 안정하였다[20]. 그러나 이 방법의 단점은 많은 에너지가 필요하며 이는 고압 유화기의 압력이 50에서 100 MPa가 필요한데서 기인된다[21]. 저에너지 유화법을 사용한 유화에서 오일상의 탄소 수에 따른 에멀전의 안정성을 검토한 결과 탄소수의 증가에 따라 안정성이 향상됨을 보고하였다. 일반적으로 Ostwald ripening 속도는 오일상의 수용액상에 대한 용해도의 감소로 인한 안정성 개선으로 설명될 수 있다[22].

여기서는 제조된 에멀전을 실온에 보관하면서 입도 변화를 관찰하였다. Figure 7에는 Figure 1의 세토스테

아릴 알코올 농도에 따라 제조된 에멀전의 안정성을 검토한 결과 제조 초기에 100 nm 이하의 나노에멀전이 형성된 경우 입도의 변화 없이 4주 이상 안정성이 유지 되었다. 다만 세토스테아릴알코올의 농도가 0.5 wt%인 경우는 200 nm 정도의 에멀전이 형성되었으나 안정성은 확보되지 않았다.

4. 결 론

지방산과 지방알코올을 Tween 80과 Span 80을 사용하여 조성 상전이 유화법으로 O/W 타입의 저점도 나노에멀전을 제조한 실험 결과로부터 아래의 결론을 얻을 수 있었다.

- 1) 지방알코올의 오일상에서의 농도가 증가할수록 나노에멀전의 입자크기가 증가하였다.
- 2) 지방산의 오일상에서의 농도가 증가할수록 나노에멀전의 입자크기가 증가하였다.
- 3) 지방산을 구성하는 탄소 체인의 수와 나노에멀전 입자 크기에 미치는 영향은 크지 않았다.
- 4) 혼합계면활성제의 HLB를 조절하여 입도분포가 좁은 안정한 나노에멀전의 제조가 가능하였다.
- 5) 전상점 부근에서 지방산 및 지방알코올을 함유한 계 모두에서 유사한 점도와 전기전도도의 변화를 보였으나 오일과 계면활성제만으로 구성된 계와는 다르게 넓은 수용액상 분율 범위에서 높은 점도를 나타냈다.
- 6) 입자크기가 100 nm 미만의 저점도 나노에멀전은 실온에서 한 달 이상 안정하였다.

본 연구에서 논의 된 지방산 또는 지방알코올을 함유하고, 저에너지 유화법으로 제조된 저점도 O/W 나노에멀전 제형은 화장품의 기재로서 다양하게 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

Acknowledgement

본 연구는 전라북도 R&D 지원사업의 지원(20160427-CI-024)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

Reference

1. C. Solans, I. Sole, A. Fernandez-Arteaga, J. Nolla, N. Azemar, J. M. Gutierrez, A. Maestro, C. Gonzalez, and C. M. Pey, Surfactant Science Series 146, ed. H. A. Roque, 457, CRC Press, New York (2010).
2. Solans, P. Izquierdo, J. Nolla, N. Azemar, and M. J. Garcia-Celma, Nano-emulsions, *Curr. Opin. Colloid Inter. Sci.*, **10**, 102 (2005).
3. J. M. Gutierrez, C. Gonzalez, A. Maestro, I. Sole, C. M. Pey, and J. Nolla, Nano-emulsions: new applications and optimization of their preparation, *Curr. Opin. Colloid Inter. Sci.*, **13**, 245 (2008).
4. J. M. Asua, Miniemulsion polymerization, *Prog. Polym. Sci.*, **27**, 1283 (2002).
5. M. Antonietti and K. Landfester, Polyreactions in miniemulsions, *Prog. Polym. Sci.*, **27**, 689 (2002).
6. G. Caldero, M. J. Garcia-Celma, and C. Solans, Formation of polymeric nano-emulsions by a low-energy method and their use for nanoparticle preparation, *J. Colloid Inter. Sci.*, **353**, 406 (2011).
7. L. Wang, J. Dong, J. Chen, J. Eastoe, and X. Li, Design and optimization of a new self-nano-emulsifying drug delivery system, *J. Colloid Inter. Sci.*, **330**, 443 (2009).
8. N. Sadurni, C. Solans, N. Azemar, and M. J. Garcia-Celma, Studies on the formation of O/W nano-emulsions, by low-energy emulsification methods, suitable for pharmaceutical applications, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **26**, 438 (2005).
9. L. Wang, X. Li, G. Zhang, J. Dong, and J. Eastoe, Oil-in-water nanoemulsions for pesticide formulations, *J. Colloid Inter. Sci.*, **314**, 230 (2007).
10. O. Sonnevile-Aubrun, J. T. Simonnet, and F. L'Alloret, Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products, *Adv. Colloid Inter. Sci.*, **108-9**, 145 (2004).
11. J. Floury, A. Desrumaux, M. A. V. Axelos, and J. Legrand, Effect of high pressure homogenisation on methylcellulose as food emulsifier, *J. Food Eng.*, **58**, 227 (2003).
12. K. Landfester, J. Eisenblatter, and R. Rothe,

- Preparation of polymerizable miniemulsions by ultrasonication, *J. Coat. Technol. Res.*, **1**, 65 (2004).
13. T. Delmas, H. Piraux, A. C. Couffin, I. Texier, F. Vinet, P. Poulin, M. E. Cates, and J. Bibette, How to prepare and stabilize very small nanoemulsions, *Langmuir*, **27**, 1683 (2011).
 14. Th. F. Tadros, P. Izquierdo, J. Esquena, and C. Solans, Formation and stability of nano-emulsions, *Adv. Colloid Inter. Sci.*, **108-09**, 303 (2004).
 15. W. G. Cho and S. J. Kim, Formation of skin lotions using various vehicles and skin hydration effects for a skin, *J. Kor. Oil Chemists' Soc.*, **26**(2), 1 (2009).
 16. S. A. Vitale and J. L. Katz, Liquid droplet dispersions formed by homogeneous liquid-liquid nucleation: the Ouzo effect, *Langmuir*, **19**, 4105 (2003).
 17. S. Sajjadi, Formation of fine emulsions by emulsification at high viscosity or low interfacial tension; a comparative study, *Langmuir*, **22**, 5597 (2006).
 18. K. Bouchemal, S. Briancon, E. Perrier, and H. Fessi, Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation, *Int. J. Pharm.*, **280**, 241 (2004).
 19. H. J. Yang, W. G. Cho, and S. N. Park, Stability of oil-in-water emulsions prepared using the phase inversion composition method, *J. of Ind. & Eng. Chem.*, **15**, 331 (2009).
 20. A. Forgiarini, J. Esquena, C. Gonzalez, and C. Solans, Formation of nano-emulsions by low-energy emulsification methods at constant temperature, *Langmuir*, **17**(7), 2076 (2001).
 21. E. H. Kim and W. G. Cho, Nano-emulsion formed with phospholipid-nonionic surfactant mixtures and its stability, *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.*, **40**(3), 221 (2014).
 22. W. G. Cho, Application of nanoemulsions upon type of cosmetic oils for convergence type of cosmetics, *J. Digital Convergence*, **13**(4), 369 (2015).