

반응표면분석법을 이용한 Coconut Oil 원료 O/W 유화액의 유화안정성 최적화

유봉호* · 쥐청량 · 이승범†

단국대학교 화학공학과, *단국대학교 공과대학
(2019년 7월 15일 접수, 2019년 7월 26일 심사, 2019년 7월 29일 채택)

Optimization on the Stability of Coconut Oil in Water Emulsion Using Response Surface Methodology

Bong-Ho Yoo*, Chengliang Zuo, and Seung Bum Lee†

Department of Chemical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 16890, Korea
*College of Engineering, Dankook University, Gyeonggi 16890, Korea
(Received July 15, 2019; Revised July 26, 2019; Accepted July 29, 2019)

초 록

본 연구에서는 coconut oil과 sugar ester를 이용한 유화과정에 대한 최적화공정을 수행하였다. 최적화를 위해 반응표면 분석법 중 중심합성계획모델을 이용하였다. 반응표면분석법의 반응치로는 유화액의 점도, 평균입자크기와 7 days 경과 후 ESI 등을 설정하였으며, 계량인자로는 유화시간, 유화속도 및 유화제의 첨가량을 설정하였다. 중심합성계획모델로 최적화과정을 수행한 결과 계량인자는 유화시간(22.63 min), 유화속도(6,627.41 rpm) 및 유화제의 첨가량(2.29 wt.%)에서 최적실험값인 점도(1,707.56 cP), 평균입자크기(1,877.05 nm) 및 7 days 경과 후 ESI (93.23%)로 종합만족도(D = 0.8848)가 높게 나타났다. 또한 이 조건에서 실제 실험을 통해 얻은 결과는 이론결과와 비해 평균오차율 1.2 ± 0.1%로 작게 나타났다. 따라서 coconut oil의 유화과정에 반응표면분석법 중 중심합성계획법을 적용할 경우 매우 낮은 오차율을 얻을 수 있었다.

Abstract

In this study, an optimization for the emulsification process with coconut oil and sugar ester was performed in conjunction with the central composite design (CCD) model of response surface methodology (RSM). Response values for the CCD model were the viscosity of the emulsion, mean droplet size, and emulsion stability index (ESI) after 7days from the reaction. On the other hand, the emulsification time, emulsification rate, and amount of emulsifier were selected as quantitative factors. According to the result of CCD, optimum conditions for the emulsification were as follows; the emulsification time of 22.63 min, emulsification speed of 6,627.41 rpm, and amount of emulsifier of 2.29 wt.%. Under these conditions, the viscosity, mean droplet size, and emulsion stability index (ESI) after 7 days from reaction were estimated as 1,707.56 cP, 1877.05 nm, and 93.23%, respectively. The comprehensive satisfaction of the CCD was indicated as 0.8848 with an average error of 1.2 ± 0.1% from the experiment compared to that of the theoretical one. Overall, a very low error rate could be obtained when the central composite model was applied to the optimized coconut oil to water emulsification.

Keywords: Emulsification, Optimization, Response surface methodology, Coconut oil, Sugar ester

1. 서 론

최근 들어 피부건강에 대한 관심이 증가하여 화장품 제조분야에 인체친화적인 물질의 사용에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 천연 오일 중 coconut oil은 식용기름으로 풍부한 포화 지방을 가지고 있어 유화과정 후 훌륭한 향산화 및 방부성을 가지고 있으며, 현재 응용화

학, 식품화학, 의약화학 또한 화장품 등 다양한 분야에 응용되고 있다 [1,2]. 또한 천연 유화제인 sugar ester는 자당 지방산 에스테르(sucrose fatty acid esters)인 sugar substituent를 가지고 있는 비이온성 유화제이다. Sucrose는 극성 머리 원자단(polar head group)이며, 지방산이 소수성(apolar group)으로 구성되어 있다. Sucrose 안에 유리상태의 수산기(free hydroxyl groups)를 가지고 있기 때문에 다양한 지방산과 결합하여 광범위의 HLB 값(hydrophilic lipophilic balance value) 조절이 가능하다[3-6]. 이러한 양친매성을 가지고 있기 때문에 sugar ester는 유화과정의 비이온성 유화제로 이용할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 coconut oil과 sugar ester를 사용하여 제조한 O/W 유화액의 안정성을 높이기 위한 최적 제조조건을 도출하기 위해 반응표면분석법 중 중심

† Corresponding Author: Dankook University,
Department of Chemical Engineering, Gyeonggi 16890, Korea
Tel: +82-31-8005-3559 e-mail: leesb@dankook.ac.kr

합성계획모델을 통해 두 가지 이상의 반응치를 동시에 만족하는 최적 조건을 결정하는데 활용하였다. 반응표면분석법은 화장품 분야의 연구에서도 적용될 수 있다. 반응표면분석법이란 실험 계획법(design of experiment)의 종류 중 하나로 실제 공정의 실험을 바탕으로 경향성을 분석해 회귀방정식을 유도하고 목표값에 최적화 시키는 분석방법이다. 이는 상호 작용을 독립 변수의 효과 정의뿐만 아니라 변수 사이의 주효과도를 최적화할 수 있어 현재 코팅, 식품, 촉매 등 다양한 분야에서 적용되고 있다[7,8]. 반응표면분석법에서는 실험목적의 달성에 직결된 품질 특성을 나타내는 반응치(response, y), 인자들이 실험 중에 취하는 값 또는 조절조건인 수준(level), 반응치에 영향을 주리라 기대되는 변수인 계량인자(quantitative factor) 및 계수인자(qualitative factor), 주어진 결과값과 인자변화의 관계를 설명하는 수학적 관계인 모델, 그리고 계량인자가 반응치에 미치는 영향을 나타낸 주효과도(main effect) 및 계량인자가 두 개 이상일 때 인자수준의 조합에서 일어나는 효과를 나타낸 교호효과도(interaction effect) 등을 이용하여 최적화 과정을 수행한다. 본 연구에서는 유화액의 안정성을 평가하기 위해 유화액의 점도, 평균입자크기(mean droplet size), 유화안정도지수(emulsion stability index, ESI)를 반응표면분석법의 반응치로 설정하였고, 유화과정의 계량인자로는 유화시간, 유화속도, 유화제의 첨가량 등을 설정하였다.

2. 실험방법

2.1. O/W 유화액의 유화과정

O/W 유화액의 제조를 위해 수상과 유상으로는 각각 초순수(Viva-gen EXL-III)와 coconut oil (Junsei Chemical Co., Ltd, Japan)을 이용하였다. 유화과정에 사용된 유화제는 천연유화제인 sugar ester를 수상에 용해하여 사용하였다. 수상과 수상의 질량비(O/W ratio)를 2 : 8로 고정하여 실험을 수행하였으며, high-speed emulsifier (Homomixer Mark II, T.K. Primix)를 이용하여 유화시켰다. 이때 유화온도는 75 °C로 고정하였으며, 유화시간(10~25 min), 유화속도(4,000~7,000 rpm), 유화제의 첨가량(1.0~2.5 wt.%) 등을 변수로 설정하여 유화과정을 수행하였다. 유화과정 후 유화액은 정제수로 냉각시켜 25 °C인 incubator에 7 days간 보관하였다.

2.2. O/W 유화액의 물성 측정

O/W 유화액의 물성 평가를 위해 점도, 평균입자크기, zeta-potential 등을 측정하였다. 유화액의 점도는 Brookfield 점도계(DV-II+ Pro, Brookfield Co.)를 이용하여 측정하였으며, 각 조건에서 5회 반복 측정하였다. 또한 평균입자크기와 zeta-potential은 Zeta Sizer (Zen 3600, Malvern)을 이용하여 10회 반복 측정하였다. 유화액의 점도, 평균입자크기 및 zeta-potential은 유화액 제조 후 경과시간 7 days차까지 상온(24 ± 3 °C)에서 측정하였다.

2.3. 유화안정성 평가

유화액의 안정성을 평가하기 위한 유화안정도지수(ESI)는 유화액의 creaming 정도를 나타내는 척도이다. 유화액 제조 후 7 days간 25 °C의 incubator에서 밀폐된 glass cell로 보관하여 유화액 상부 creaming층과 하부 serum층으로 분리시키고 각 층의 부피를 이용하여 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$ESI = \left(1 - \frac{H_{serum}}{H_{total}} \right) \times 100 \quad (1)$$

여기서 H_{serum} 은 하부 serum층의 높이이고, H_{total} 은 전체 유화액의 높이이다. 따라서 ESI가 100에 가까울수록 유화액의 안정성이 좋은 것으로 평가할 수 있다[9-11].

3. 결과 및 고찰

3.1. 반응표면분석법을 이용한 최적화 과정

본 연구에서는 반응표면분석법 중 중심합성계획모델을 이용하여 O/W 유화액의 안정성을 평가하기 위해 유화액의 점도, 평균입자크기, 7 days 경과 후 ESI를 반응표면분석법의 반응치로 설정하고, 유화과정의 계량인자로는 유화시간, 유화속도, 유화제의 첨가량 등을 설정하여 최적화 과정을 수행하였다. 기초실험으로부터 계량인자의 범위를 유화시간(20~25 min), 유화속도(6,000~7,000 rpm), 유화제의 첨가량(2.0~2.5 wt.%)으로 설정하였다. 유화과정의 최적화를 위해 중심합성계획법에 따라 설계된 20개의 실험조건을 Table 1에 나타내었다. 반응치를 분석하기 위해서는 점유형(point type) 분석을 수행하였다. 점유형 분석에서는 높은 반응치를 갖는 점유형을 1, 낮은 반응치를 갖는 것을 -1, 중간값은 0으로 표현한다. 이 반응치를 바탕으로 점유형이 0인 변수는 유화시간 22.5 min, 유화속도 6,500 rpm, 유화제의 첨가량 2.25 wt.%로 경향성의 정확도를 확인하기 위해 총 6번 반복실험을 진행한다. 또한 점유형 1의 변수는 중간값에서 모두 분산되어 있으며, 반응치에 높은 영향을 끼치는 지점이다. 점유형이 -1인 변수는 낮은 반응치를 갖는 지점으로 3변수 중 2변수가 중간값을 갖고, 1변수만 반응치가 낮은 지점으로 한 변수의 경향성을 분석하기 위한 지점이다. 본 연구에서는 점유형이 0인 중간값에서의 결과 유화액의 점도 1,704.5 cP, 평균입자크기 1,890 nm, 7 days 경과 후 ESI는 93%이고 오차범위는 ± 1%로 나타났다. 이는 중심합성계획법을 사용하기 적합한 실험이라고 판단된다.

Figure 1은 중심합성계획모델에 의해 설정된 계량인자에 따라 제조된 O/W 유화액의 점도를 3차원 그래프와 등고선도로 나타낸 그림이다. 유화액의 점도가 클수록 유화액적의 brown 운동에 의한 분자 간 불규칙한 운동에 대한 저항이 증가하여 발생하는 충돌을 피하는 능력이 생기므로 유화액의 안정성을 유지할 수 있으므로 유화액의 점도는 유화액의 안정성과 정비례 관계가 있다. 이러한 3차원 그림을 이용하여 관측에 대한 변수의 주효과도, 교호효과도 등을 종합하여 회귀방정식을 유도할 수 있다. 중심합성계획법에 따라 설계된 O/W 유화액의 점도에 대한 중심합성계획모델의 회귀방정식은 다음과 같다.

$$V = -4,130 + 60.7x_1 + 0.977x_2 + 1,642x_3 - 2.053x_1^2 - 0.000086x_2^2 - 468.4x_3^2 + 0.00230x_1x_2 + 8.20x_1x_3 + 0.0490x_2x_3 \quad (1)$$

여기서 V 는 반응표면분석법에서 반응치로 설정된 O/W 유화액의 점도이고, 계량인자인 x_1 , x_2 , x_3 는 각각 유화시간, 유화속도, 유화제의 첨가량이다. 회귀방정식으로부터 O/W 유화액에 미치는 각 계량인자의 주효과도는 (유화시간) : (유화속도) : (유화제의 첨가량)의 비율 62.13 : 1.0 : 1,680.66로 나타났으며, 교호효과도인 (유화시간 × 유화속도) : (유화시간 × 유화제의 첨가량) : (유화속도 × 유화제의 첨가량)의 비율은 1.0 : 3,565.22 : 21.30로 나타났다. 이를 통해 O/W 유화액

Table 1. Basic Experimental Setup of Response Surface Methodology

No.	Emulsification condition			Experimental data		
	Time [min]	Speed [rpm]	Emulsifier [wt.%]	Viscosity [cP]	MDS* [nm]	ESI [%]
1	22.5	6,500	2.25	1,680	1,864	93
2	22.5	6,500	2.25	1,729	1,870	94
3	22.5	6,500	2.25	1,710	1,921	92
4	20.0	7,000	2.50	1,649	2,234	90
5	20.0	6,000	2.50	1,623	2,270	88
6	22.5	6,500	2.67	1,641	1,996	84
7	25.0	7,000	2.00	1,630	2,243	88
8	25.0	7,000	2.50	1,684	2,172	87
9	18.3	6,500	2.25	1,674	1,938	89
10	22.5	6,500	1.83	1,622	2,275	81
11	22.5	6,500	2.25	1,691	1,902	93
12	20.0	6,000	2.00	1,614	2,231	83
13	26.7	6,500	2.25	1,682	1,922	90
14	22.5	6,500	2.25	1,713	1,888	91
15	22.5	5,659	2.25	1,643	1,947	86
16	20.0	7,000	2.00	1,631	2,219	85
17	25.0	6,000	2.00	1,617	2,375	82
18	22.5	7,341	2.25	1,664	1,932	88
19	25.0	6,000	2.50	1,631	2,317	84
20	22.5	6,500	2.25	1,704	1,895	95

* MDS: mean droplet size.

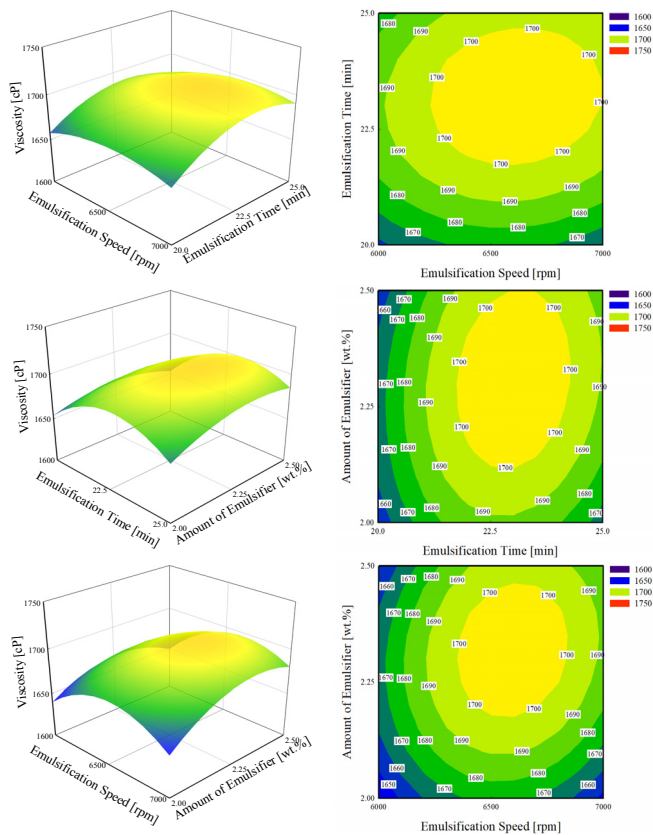


Figure 1. 3D surface and contour graph of viscosity according to various variables.

의 점도에 미치는 주효과도와 교호효과도를 함께 고려할 경우 유화제의 첨가량이 O/W 유화액의 점도에 가장 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 세 가지 계량인자인 유화시간, 유화속도, 유화제의 첨가량이 증가함에 따라 유화액의 점도는 증가한 후 감소하는 경향을 보였다. O/W 유화액의 점도만을 고려할 경우 반응표면분석법으로 계산된 최적 유화조건은 유화시간(23.14 min), 유화속도(6,644.40 rpm) 및 유화제의 첨가량(2.31 wt.%)이고, 이때 O/W 유화액의 점도는 1,708.1 cP로 예측할 수 있다.

Figure 2는 중심합성계획모델에 의해 설정된 계량인자에 따라 제조된 O/W 유화액의 평균입자크기를 3차원 그래프와 등고선도로 나타낸 그림이다. 유화액의 평균입자크기는 유화액의 액적 분산도를 나타내며, 유화액의 안정성이 좋을 경우 작은 평균입자크기를 갖는다. 세 가지 계량인자가 증가함에 따라 유화액의 평균입자크기는 감소하다 증가하는 경향을 나타내었다. 중심합성계획법에 따라 설계된 O/W 유화액의 평균입자크기에 대한 중심합성계획모델의 회귀방정식은 다음과 같다.

$$S = 25,287 - 246x_1 - 3.10x_2 - 9,131x_3 + 10.68x_1^2 + 0.000280x_2^2 + 2,230x_3^2 - 0.0229x_1x_2 - 36.6x_1x_3 - 0.037x_2x_3 \quad (2)$$

여기서 S는 O/W 유화액의 평균입자크기이고, 계량인자인 x_1, x_2, x_3 는 각각 유화시간, 유화속도, 유화제의 첨가량이다. 회귀방정식으로부터 O/W 유화액의 평균입자크기에 대해 계량인자들의 주효과도는 (유화시간) : (유화속도) : (유화제의 첨가량)은 -79.35 : 1.0 : -2,945.48로 나타났으며, 교호효과도는 (유화시간 × 유화속도) : (유화시간 × 유화제의 첨가량) : (유화속도 × 유화제의 첨가량)의 비율은 1.0 : 1,598.25 : 1.62로 나타났다. O/W 유화액의 평균입자크기만을 고려할 경우 반

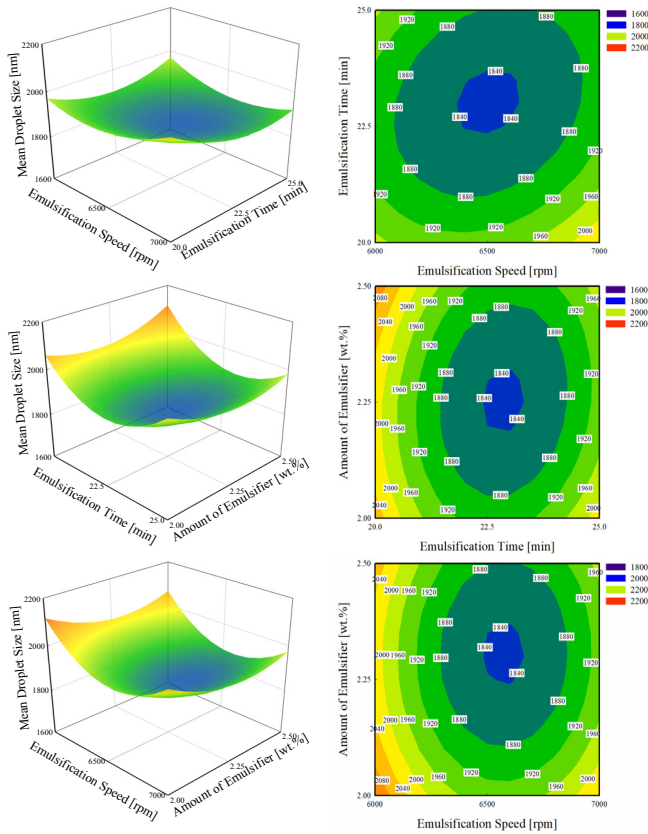


Figure 2. 3D surface and contour graph of mean droplet size according to various variables.

응표면분석법으로부터 계산된 최적 유화조건은 유화시간(22.50 min), 유화속도(6,593.43 rpm) 및 유화제의 첨가량(2.29 wt.%)이고, 이때 O/W 유화액의 평균입자크기는 1,876.6 nm로 예측된다.

Figure 3은 중심합성계획모델에 의해 설정된 계량인자에 따라 제조된 O/W 유화액의 7 days 경과 후 ESI를 3차원 그래프와 등고선도로 나타낸 그림이다. 중심합성계획법에 따라 설계된 O/W 유화액의 평균입자크기에 대한 중심합성계획모델의 회귀방정식은 다음과 같다.

$$E = -756 + 9.69x_1 + 0.1088x_2 + 332.8x_3 - 0.1998x_1^2 - 0.000009x_2^2 - 59.58x_3^2 + 0.000500x_1x_2 - 1.800x_1x_3 - 0.00300x_2x_3 \quad (3)$$

여기서 E 는 O/W 유화액의 7 days 경과 후 ESI이고, 계량인자인 x_1 , x_2 , x_3 는 각각 유화시간, 유화속도, 유화제의 첨가량이다. 회귀방정식으로부터 O/W 유화액의 ESI에 대해 주효과도는 (유화시간) : (유화속도) : (유화제의 첨가량)은 89.06 : 1.0 : 3,058.82로 나타났으며, 교호효과도는 (유화시간 × 유화속도) : (유화시간 × 유화제의 첨가량) : (유화속도 × 유화제의 첨가량) = 1.0 : -3,600 : -6.0로 나타났다. 이를 통해 O/W 유화액의 점도에 미치는 주효과도와 교호효과도를 함께 고려할 경우 유화제의 첨가량이 O/W 유화액의 점도에 가장 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. O/W 유화액의 7 days 경과 후 ESI만을 고려할 경우 최적 유화조건은 유화시간(22.20 min), 유화속도(6,627.41 rpm) 및 유화제의 첨가량(2.29 wt.%)이고, 이때 7 days 경과 후 O/W 유화액의 ESI 예측값은 93.26%이다.

유화과정의 계량인자인 유화시간, 유화속도, 유화제의 첨가량 등의

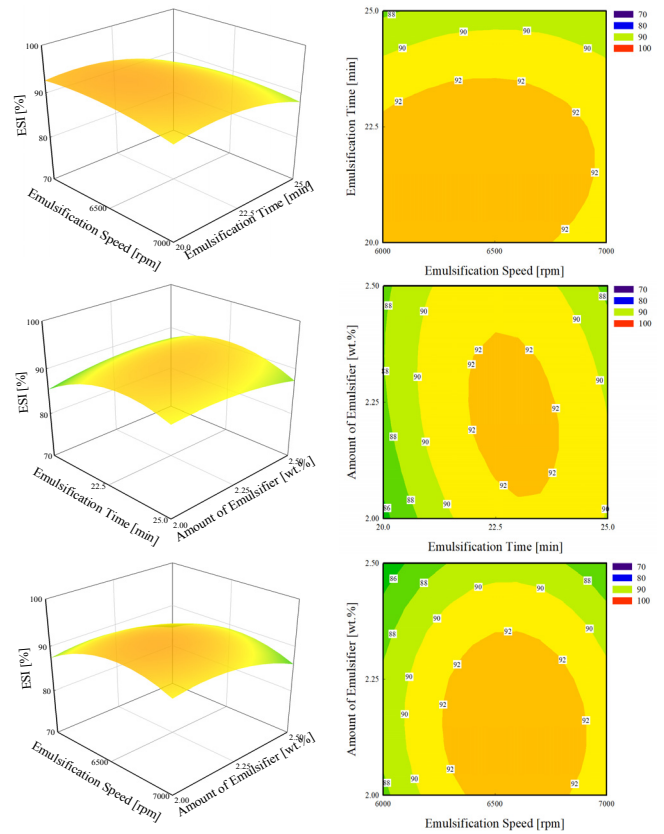


Figure 3. 3D surface and contour graph of ESI according to various variables.

주효과도를 확인하기 위해 각 계량인자 증감에 따른 O/W 유화액의 점도, 평균입자크기, 7 days 경과 후 ESI의 변화를 Figure 4에 나타내었다. 계량인자의 동일한 변수범위를 위해 각 계량인자의 증감범위를 최적조건을 기준으로 $\pm 10\%$ 인 유화시간(± 0.5 min), 유화속도(± 100 rpm), 유화제의 첨가량(± 0.05 wt.%)으로 설정하였다. O/W 유화액의 점도는 유화제의 첨가량, 유화시간, 유화속도의 순으로 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있었으며, O/W 유화액의 평균입자크기의 경우 유화액의 첨가량이 다른 두 변수에 비해 큰 영향을 나타내었다. 또한 O/W 유화액의 7 days 경과 후 ESI의 경우에는 모든 계량인자에 대해 유사한 주효과도를 나타내어 전체적으로 유화제의 첨가량이 유화과정에 가장 큰 영향을 나타내는 것을 알 수 있었다.

3.2. 종합만족도 평가

Coconut oil과 sugar ester를 이용한 O/W 유화액의 유화과정에서 O/W 유화액의 안정성을 평가하기 위해 유화액의 점도, 평균입자크기, 7 days 경과 후 ESI를 반응표면분석법의 반응치로 설정하여 최적화 과정을 수행하였다. 세 가지 반응치를 동시에 만족하는 최적 유화조건은 유화속도(6,627.41 rpm), 유화시간(22.63 min), 유화제의 첨가량(2.29 wt.%)으로 산출되었으며, 최적화 종합만족도 그래프를 Figure 5에 나타내었다. 최적화 과정의 종합만족도는 0.8848로 나타났으며, 이러한 조건들에 중심합성계획모델을 통해 예상한 반응치가 각각 유화액 점도(1,707.56 cP), 평균입자크기(1,877.05 nm), 7 days 경과 후 ESI(93.23%)로 나타났다. 최적조건 하에서 실제 실험을 진행한 결과 O/W 유화액의 점도(1,688 cP), 평균입자크기(1,902.3 nm), 7 days 경과 후 ESI

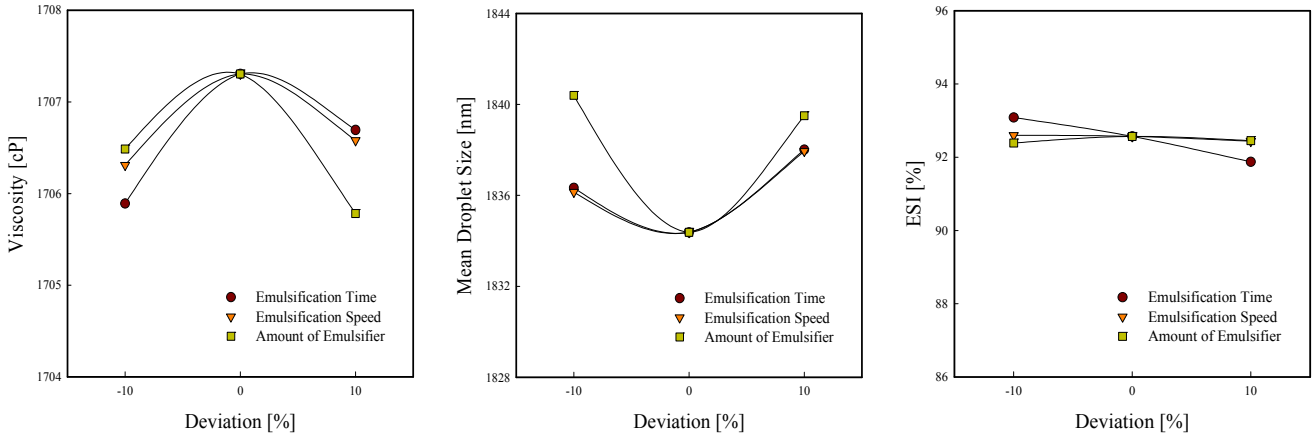


Figure 4. Perturbation plot for the effect of variables on viscosity, mean droplet size, and ESI.

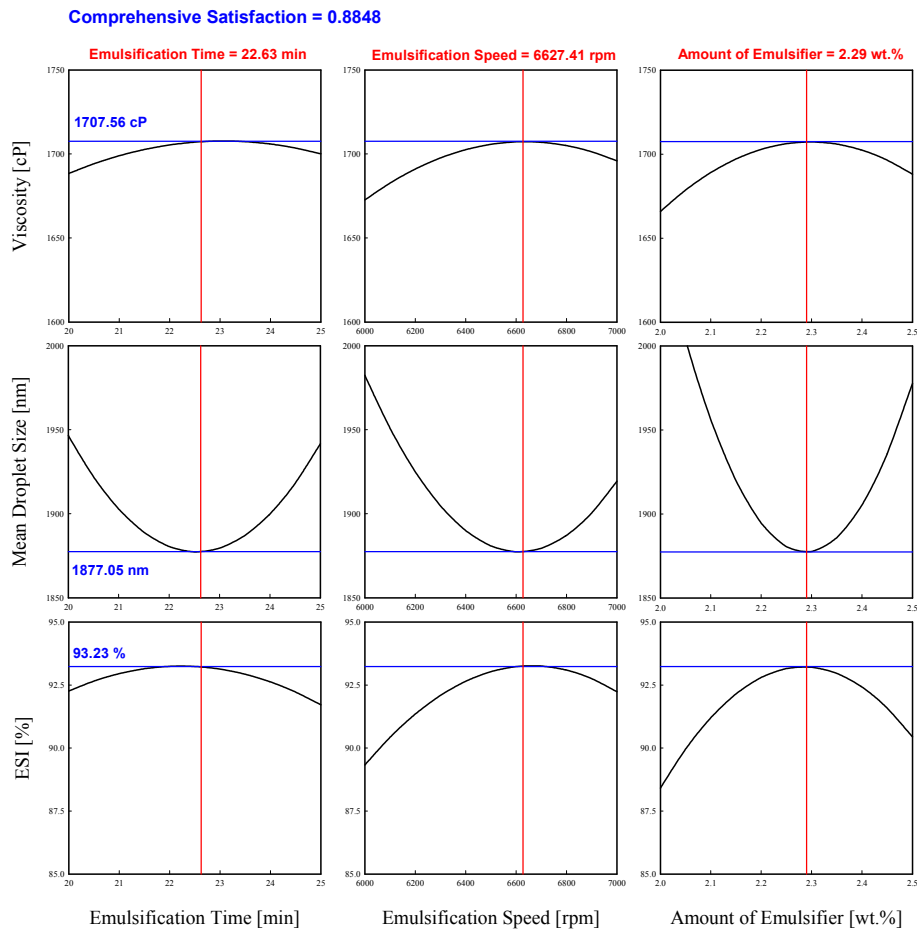


Figure 5. Optimization graph of response surface for viscosity, mean droplet size, and ESI.

(92.14%)로 측정되었으며, 평균오차율은 $1.2 \pm 0.1\%$ 로 나타났다.

4. 결 론

본 연구에서는 유화액의 안정성을 평가하기 위해 유화액의 점도, 평균입자크기, 유화안정도지수(ESI)를 반응표면분석법의 반응치로 설정하고, 최적화한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 유화액의 점도와 평균입자크기의 경우 계량인자 중 유화제의 첨가량에 가장 큰 영향을 나타내었으며, 점도만을 반응치로 고려한 경우 최적유화조건은 유화시간(23.14 min), 유화속도(6,644.4 rpm), 유화제의 첨가량(2.31 wt.%)이었고 평균입자크기만을 고려한 경우에는 유화시간(22.50 min), 유화속도(6,593.4 rpm), 유화제의 첨가량(2.29 wt.%)이었다.
2. 유화액의 7 days 경과 후 ESI의 경우에는 세 가지 계량인자의 영

향이 유사하게 나타났으며, 7 days 경과 후 ESI만을 고려한 최적유화 조건은 유화시간(22.20 min), 유화속도(6,627.4 rpm), 유화제의 첨가량 (2.29 wt.%)이었다.

4. 유화액의 점도, 평균입자크기, 7 days 경과 후 ESI 등 세 가지 반응치를 동시에 고려한 최적유화조건은 반응표면분석법 중 중심합성계획모델에 의해 유화시간(22.63 min), 유화속도(6,627.4 rpm) 및 유화제의 첨가량(2.29 wt.%)으로 산출되었으며, 이때 유화액의 점도(1,707.56 cp), 평균입자크기(1,877.05 nm), 7 days 경과 후 ESI (93.23%)를 예측할 수 있었다. 이때 종합만족도는 0.8848이었고, 이 조건에서의 실제 실험 결과 평균오차율은 $1.2 \pm 0.1\%$ 이었다.

References

1. S. Intahphuak, P. Khonsung, and A. Panthong, Anti-inflammatory, analgesic, and antipyretic activities of virgin coconut oil, *Pharm. Biol.*, **48**(2), 151-157 (2010).
2. A. M. Marina, Y. B. Cheman, S. A. H. Nazimah, and I. Amin, Antioxidant capacity and phenolic acids of virgin coconut oil, *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **60**(2), 114-123 (2009).
3. G. Csoka, S. Marton, R. Zelko, N. Otomo, and I. Antal, Application of sucrose fatty acid esters in transdermal therapeutic systems, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **65**(2), 233-237 (2007).
4. N. S. Neta, J. A. Teixeira, and L. R. Rodrigues, Sugar ester surfactants: Enzymatic synthesis and applications in food industry, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **55**(5), 595-610 (2015).
5. W. Wei, F. Q. Feng, B. Perez, M. D. Dong, and G. Zheng, Biocatalytic synthesis of ultra- long-chain fatty acid sugar alcohol monoesters, *Green Chem.*, **17**, 3475-3489 (2017).
6. X. Zhang, W. Wei, X. Cao, and F. Q. Feng, Characterization of enzymatically prepared sugar medium-chain fatty acid monoesters, *J. Sci. Food Agric.*, **95**(8), 1631-1637 (2015).
7. T. N. Decaestecker, W. E. Lambert, C. H. Van Peteghem, D. Deforce, and J. F. van Bocxlaer, Optimization of solid-phase extraction for a liquid chromatographic-tandem mass spectrometric general unknown screening procedure by means of computational techniques, *J. Chromatogr. A*, **1056**(1-2), 57-65 (2004).
8. S. Khodadoust and M. Hadjmohammadi, Determination of N-methylcarbamate insecticides in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction and HPLC with the aid of experimental design and desirability function, *Anal. Chim. Acta*, **699**(1), 113-119 (2011).
9. W. L. Kang, B. Xu, Y. J. Wang, Y. Li, X. H. Shan, F. An, and J. H. Liu, Stability mechanism of W/O crude oil emulsion stabilized by polymer and surfactant, *Colloids Surf. A*, **384**(1-3), 555-560 (2011).
10. F. Y. Ushikubo and R. L. Cunha, Stability mechanisms of liquid water-in-oil emulsions, *Food Hydrocolloids*, **34**, 145-153 (2014).
11. M. Homayoonfal, F. Khodaiyan, and M. Mousavi, Modelling and optimising of physicochemical features of walnut-oil beverage emulsions by implementation of response surface methodology: Effect of preparation conditions on emulsion stability, *Food Chem.*, **174**, 649-659 (2015).