

PIC 방법으로 제조된 저점도 W/O 나노에멀전의 안정성

조 완 구[†]

전주대학교 의과대학 바이오기능성식품학과
(2016년 4월 22일 접수, 2016년 5월 30일 수정, 2016년 6월 9일 채택)

Stability of W/O Nanoemulsions with Low Viscosity Prepared by PIC Method

Wan Goo Cho[†]

College of Medical Science, Jeonju University, 303 Cheonjam-ro, Wansan-gu, Jeonju 55069, Korea
(Received April 22, 2016; Revised May 30, 2016; Accepted June 9, 2016)

요약: 본 연구에서는 정제수/Span 80-Nikkol BL 25/오일계의 water-in-oil (W/O) 나노에멀전을 높은 온도에서 PIC 유화로 제조하였다. 이 방법은 본 시스템에서 미세하게 분산된 저점도의 W/O 나노에멀전의 형성을 가능케 하였다. 그러나 실온에서 PIC 방법으로 제조된 에멀전은 나노에멀전보다는 마이크로에멀전이 제조되었다. 유화온도가 30 °C에서 80 °C로 증가하면 온도에 따른 계면장력의 큰 변화의 결과로 입자 크기는 2 μm 에서 100 nm 정도로 감소하였다. 80 °C에서 제조된 나노에멀전의 입자 크기는 50 ~ 200 nm 범위에 있었고 내상의 분율은 15 wt%까지 가능하였다. 또한 혼합 유화제의 최적 HLB는 7.0 부근에서 가장 안정한 나노에멀전이 형성되었다. 제조된 나노에멀전은 1개월 이상 실온에서 안정하였다. 본 연구 결과는 저점도의 W/O 나노에멀전의 형성 최적화에 중요한 정보를 제공할 수 있다. 이 결과는 W/O 나노에멀전의 저점도로 인한 부드러운 사용감 등으로 화장품 제형으로 유용하게 이용될 것으로 생각된다.

Abstract: In this study, water-in-oil (W/O) nanoemulsions of water/Span 80-Nikkol BL 25/oil system were prepared by the PIC method at elevated temperature. This method allows the formation of finely dispersed W/O nanoemulsions with low viscosity in this system. However, macroemulsions rather than nanoemulsions were prepared by PIC method at room temperature. As a result of the significant change of interfacial tension with temperature, the emulsion droplet size decreases from 2 μm to 100 nm with the increase in temperature from 30 °C to 80 °C. The droplet size of nanoemulsions prepared at 80 °C was in the range of 50 ~ 200 nm and the internal phase content could reach as high as 15 wt%. The most stable nanoemulsion was formed in the vicinity of 7.0 of optimum HLB of the emulsifier mixture. The obtained nanoemulsions were stable without obvious change in droplet size in one month. This study provides valuable information for optimizing the formation of W/O nanoemulsions with low viscosity. These results suggest that W/O nanoemulsions of low viscosity could be useful for cosmetics with soft feeling.

Keywords: nanoemulsion, water-in-oil, low viscosity, stability, PIC

1. 서 론

나노에멀전은 입경이 20 ~ 200 nm 정도의 크기를 갖으며 입경이 작기 때문에 반투명한 외관을 갖는다 [1-3]. 나노에멀전은 마이크로에멀전과는 다르게 열역

학적으로 안정하지 않지만 장시간 물리적으로 안정할 수 있으며 계면활성제의 함량이 적기 때문에 의약품, 화장품 및 농업 분야에서 다양하게 응용되고 있다 [4,5]. 일반적으로 나노에멀전은 전단력을 가진 믹서를 이용하여 계에 기계적인 에너지를 가하거나 고압 유화기 또는 초음파 등과 같이 높은 에너지를 사용하는 방법으로 제조된다[6]. 그러나 저 에너지를 이용한 유화 방법이 최근 관심의 대상이 되고 있는데 이는 상전이

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

Table 1. List of Used Reagents

Chemical name	Trade name	Company
Polyoxyethylene (25) lauryl ether	Nikkol BL 25	Nikko (Japan)
Sorbitan monooleate	Span 80	Croda (UK)
EDTA-2Na	EDTA-2Na	Akzo (Netherlands)
Liquid paraffin	Lily 70	Kukdong (Korea)
Polysorbate 80	Tween 80	Dongnamyuhwa (Korea)
Squalane	Pripure 3759	Croda (UK)

방법, 직접 또는 자발적 유화 방법 등이며 이들 방법은 미세한 입경의 에멀전 제조는 물론 입경 분포의 폭이 작은 에멀전을 제조할 수 있다[7].

상전이 방법은 유화과정 중에 발산되는 화학적 에너지를 이용하는 방법으로 이는 계면활성제 분자의 곡률이 음에서 양으로 또는 양에서 음으로의 변화를 의미한다. 이러한 변화는 일정 온도에서는 조성의 변화로 달성할 수 있으며 이러한 유화법을 조성 상전이 유화법(phase-inversion composition method, PIC)이라 칭한다[8-10]. PIC 유화방법에서 중심이 되는 사항은 작은 입경의 에멀전을 얻기 위해서는 유화과정에서 라멜라 액정상 또는 이중 연속상 마이크로에멀전이 생성되어야 하며 이는 계면활성제 집합체의 평균 곡률이 영이 됨을 의미한다[11-13].

W/O (water-in-oil) 에멀전은 화장품에서 지속성과 내수성이 O/W 에멀전에 비하여 탁월하기 때문에 자외선 차단 크림, 화장 지속성이 요구되는 메이크업 제품 및 BB 크림 등의 다양한 제형으로 응용되고 있다. 지금까지 대부분의 나노에멀전 연구는 O/W 타입에 집중되었으며 W/O 나노에멀전에 대해서는 단지 소수의 논문이 연구 발표되었다[14,15]. 또한 그중에서도 점도가 낮은 제형에 대해서는 극소수의 논문이 발표되었다. Uson 등은 물과 Cremophor EL-Cremophor WO 7의 혼합유화제/이소프로필미리스테이트 시스템에서 PIC 방법을 사용하여 낮은 비율의 내상을 갖는 W/O 나노에멀전을 제조하였다[14]. 또한 Sun 등도 유동과라핀을 외상으로 하여 W/O 나노에멀전을 제조하였지만 지금까지 안정한 저점도 W/O 나노에멀전의 제조는 상대적으로 매우 어려운 것으로 생각되어 왔다[15].

본 연구에서는 유동과라핀을 Span 80 및 Nikkol BL 25을 유화제로 하여 HLB, 내상 비율, 유화제/오일 및 유화제/물의 비율에 따라 PIC 방법을 이용하여

저점도의 W/O 나노에멀전을 제조하여 안정성을 검토하였다.

2. 재료 및 실험방법

2.1. 시약

Table 1에 실험에 사용한 시약을 정리하였다. 화장품용 원료는 각 생산업체로부터 받아 그대로 사용하였으며 정제수는 Milli Q (Millepore Co., Milford, MA, USA)에서 18 MW·cm로 통과시킨 것을 사용하였다.

2.2. W/O 나노에멀전의 제조

조성 상전이 방법을 이용하여 나노에멀전을 제조하였다. 먼저 유화 직전에 오일상으로 Span 80과 Nikkol BL 25를 유동과라핀에 첨가하여 자석교반기를 이용하여 80 °C로 용해하였다. EDTA-2Na를 용해한 적정량의 정제수와 오일상은 워터베스를 이용하여 필요한 유화 온도를 유지하였다. 유화는 수용액상에 오일상을 스포이드를 이용하여 2 mL/min의 속도로 첨가하면서 교반하였으며 300 rpm으로 고정하였다. 유화가 끝나면 시료를 실온에 방치하여 실온으로 냉각하였다. 형성된 나노에멀전의 유화입자의 크기는 내상의 분율(ϕ)과 유화제-오일의 비율(SOR)에 따라 밀접하게 관련이 있었다.

2.3. 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.

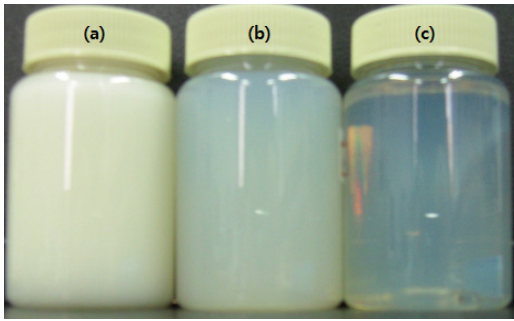


Figure 1. Photograph of nanoemulsions of Span 80/Nikkol BL 25/liquid paraffin/water system using PIC emulsification process varying the emulsification temperature, (a): 30 °C, (b): 60 °C, (c): 80 °C.

3. 결과 및 고찰

3.1. 유화 입자에 대한 유화 온도의 영향

저점도의 안정한 W/O 나노에멀전의 제조 가능성을 실험하고자 Span 80/Nikkol BL 25/유동파라핀을 오일상으로 하고 EDTA-2Na, 0.02 wt%를 함유하는 수용액상에 다양한 온도에서 오일상을 첨가하는 PIC 유화법으로 나노에멀전을 제조하였다. 여기서 계면활성제는 친유성/친수성 계면활성제 비율을 4.1/0.9으로 하고 전체 오일상의 농도를 유화제 함량, 20.0 g을 포함한 85.0 wt%로 하여 유화 온도를 각각 30, 60 및 80 °C에서 나노에멀전을 제조하고 그 결과를 Figure 1에 나타냈다. 사진에서 보듯이 온도가 증가함에 따라 투명도에서 큰 차이를 보였고 입도 측정 결과 60 °C 이상에서는 300 nm 이하의 입도를 보였으며 이하 본 실험에서는 유화 온도를 80 °C로 고정하였다.

3.2. 전상점에서의 상거동

Span 80와 Nikkol BL 25의 유화제(S)와 유동파라핀(O) 및 EDTA-2Na를 함유한 정제수로 구성되는 정제수-오일-유화제(W/O/S)계의 상 거동을 조사하였다. SOW의 비율을 4/13/3으로 고정하고 혼합계면활성제는 Span 80, 16.4%와 Nikkol BL 25, 3.6%로 하여 유동파라핀에 첨가하고 용해한 후 오일상을 수용액상에 첨가하여 혼합 후 최종 농도에 도달하도록 하였다. 제조된 시료의 점도 및 전기전도도를 측정하여 Figure 2에 나타냈다. 초기 수용액상 및 오일상 혼합물은 약간 현탁된 외관을 보이며 상대적으로 낮은 점도와 높은 전기전도

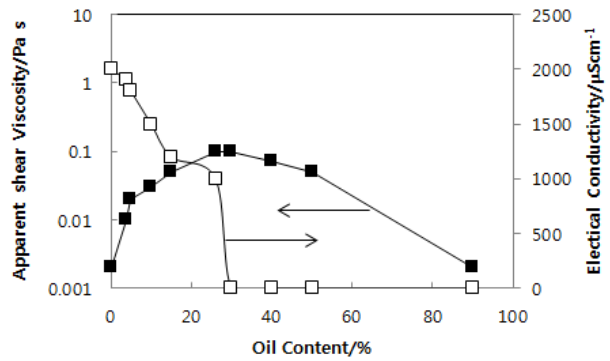


Figure 2. Influence of increasing oil phase concentration on the appearance, shear viscosity and electrical conductivity of emulsions at a fixed surfactant-to-oil ratio of 4/13.

도를 보였다. 육안상으로 초기에는 현탁된 상태의 점도가 낮은 성상을 보이다가 약한 겔이 형성되었다가 다시 약한 겔이 풀어지는 거동을 보였다. 이는 O/W 나노에멀전의 전상점에서 형성되는 높은 점도의 겔 형성과는 확연히 낮은 점도의 약한 겔을 형성하였다 [17-20]. 전기전도도는 초기에는 수용액상이 외상인 O/W 에멀전의 형성으로 높게 형성되었으나 오일상이 첨가되면서 에멀전이 O/W에서 W/O 형태로 전환되는 전상점을 지나면서 전기전도도는 급격히 감소하였다. 점도는 초기에는 오일상이 첨가되면서 큰 변화를 보이지 않았으며 전상점 부근에서는 점도가 약간 상승하였으나 W/O 타입에서 O/W 타입으로 전상시켜 제조하는 O/W 나노에멀전의 전상점에서의 겔 형성과는 현격한 차이를 보였다[17-19].

3.3. 선정된 계면활성제의 HLB에 따른 유화 상태에 대한 영향

나노에멀전을 형성한 Span 80 및 Nikkol BL 25의 혼합 계면활성제의 조성에 따른 최적의 나노에멀전을 제조하기 위하여 혼합계면활성제의 HLB에 따른 에멀전의 입도 분포를 평가하고자 하였다. 혼합계면활성제의 HLB는 Span 80을 친유성계면활성제로 사용하여 보고된 다음의 산술적 방법으로 계산할 수 있었다[16].

$$HLB_{mix} = HLB_A \times A\% + HLB_B \times B\%$$

여기서 HLB_{mix} 는 혼합계면활성제의 HLB이고 $HLB_{A/B}$

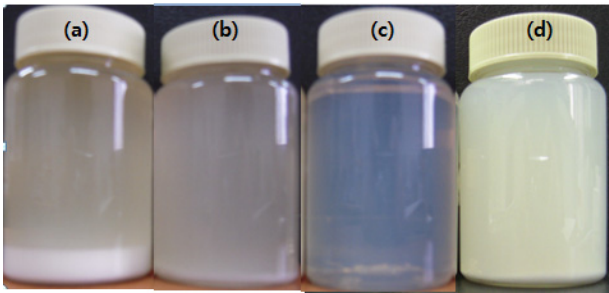


Figure 3. Photograph of emulsions of Span 80/Nikkol BL 25/liquid paraffin/water system using PIC emulsification process varying the HLB, (a): 4.3, (b): 5.7, (c): 7.0, (d) 8.7.

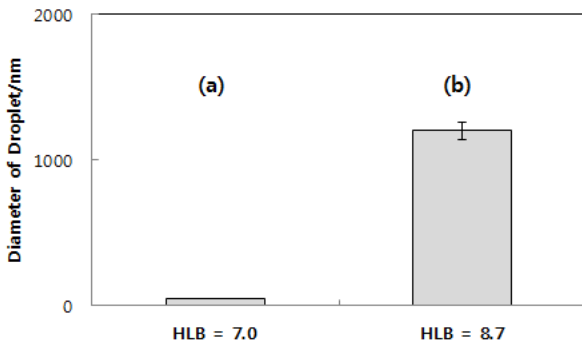


Figure 4. Droplet diameter of emulsions of Span 80/Nikkol BL 25/liquid paraffin/water system using PIC emulsification process varying the HLB of mixed emulsifiers, (a): 7.0, (b): 8.7.

는 각각 계면활성제 A와 B의 HLB이며 A%와 B%는 계면활성제 A와 B의 중량 %이다. 모든 HLB는 25 °C에서 얻었다. Figure 3에는 Span 80/Nikkol BL 25의 HLB에 따른 에멀전 형성 결과를 나타냈다. SOW의 비율을 4/13/3으로 고정하고 혼합계면활성제는 Span 80과 Nikkol BL 25로 하여 유동파라핀에 첨가하고 용해한 후 오일상을 수용액상에 첨가하여 혼합 후 최종 농도에 도달하도록 하였다. Figure 4에는 입자 크기에 대한 HLB의 영향에 대해 나타냈다. 혼합계면활성제의 HLB가 7.0 부근에서 100 nm 정도의 입도를 가진 나노에멀전이 형성되었다. 그러나 HLB 값이 6.0 이하이거나 8.0 이상에서는 나노에멀전이 형성되지 않고 마이크로에멀전이 형성되었으며 외관상으로도 매우 현탁된 모습을 보였다. 이들 마이크로에멀전은 제조 후 2 ~ 3일 이내에 침전 현상으로 인한 상분리 현상을 보여 불안정하였다.

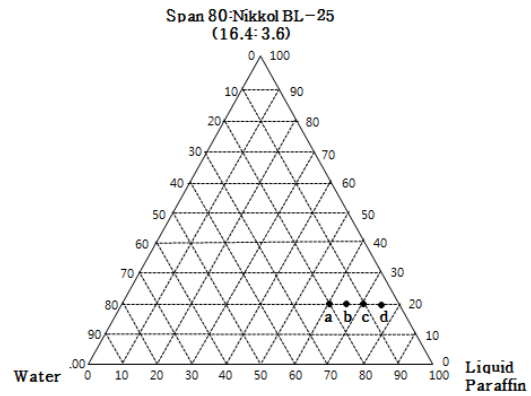


Figure 5. Compositions of samples for internal phase ratio of emulsions.

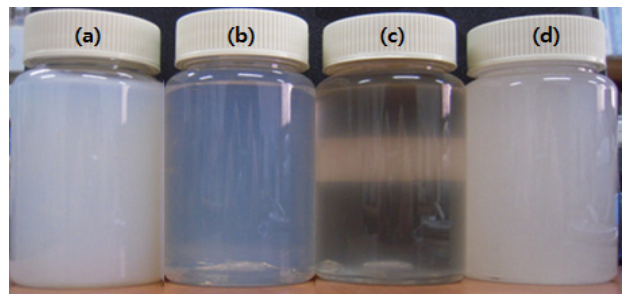


Figure 6. Photograph of emulsions of Span 80/Nikkol BL 25/liquid paraffin/water system using PIC emulsification process varying the ratio of water/oil, (a): 17/63, (b): 15/65, (c): 10/70, (d): 5/75.

3.4. 내상의 비율에 따른 유화 상태에 대한 영향

내상의 비율에 따른 유화상태를 관찰하고자 Figure 5의 삼성분계도에 해당하는 조성을 PIC 유화로 에멀전을 제조하였다. Figure 6에 나타난 것과 같이 내상이 10 ~ 15% 영역에서는 반투명한 나노에멀전이 형성되었으나 수용액상이 이 범위를 벗어난 조성에서는 마이크로에멀전이 형성되었으며 안정성이 유지되지 않았다. 수용액상이 15% 이상에서는 마이크로에멀전이 형성되었으며 5% 이하에서는 반투명한 겔상이 형성되었다.

3.5. 유화제-오일의 비율(SOR)에 따른 유화 상태에 대한 영향

유화제와 오일의 비율에 따른 유화상태를 관찰하고자 유화제와 오일의 비율을 변화하여 PIC 방법으로 에멀전을 제조하였다. Figure 7과 같이 유화제의 농도가 10% 이하로 감소하면 나노에멀전이 형성되지 않고 안

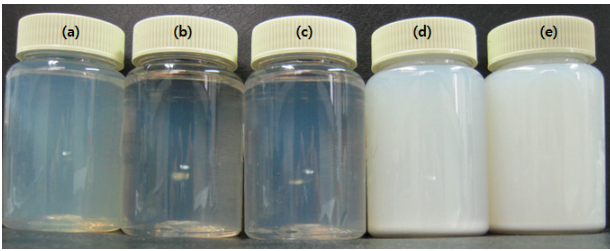


Figure 7. Photograph of emulsions of Span 80/Nikkol BL 25/liquid paraffin/water system using PIC emulsification process varying the SOR, (a): 20/65, (b): 15/70, (c): 10/75, (d): 7.5/77.5, (e): 5/80.

정성이 떨어지는 마크로에멀전이 생성되었다.

3.6. 친수성 유화제 종류에 따른 유화 상태에 대한 영향
친수성유화제인 Nikkol BL 25를 Tween 80으로 변경하여 에멀전의 제조 상태를 관찰하였다. 동일한 농도의 Nikkol BL 25을 Tween 80으로 대체한 결과 Figure 8의 사진과 같이 Tween 80을 사용한 시스템에서는 나노에멀전이 형성되지 않았다. 에멀전은 육안으로 보기에 나노에멀전이 아닌 마크로에멀전이 형성되었으며 안정성도 확보할 수 없었다. 나노에멀전 형성 여부는 Tween 80의 HLB는 15.0이며 Nikkol BL 25는 19.5로 차이를 보이며 전자는 에스테르 타입이며 후자는 에텔의 구조를 보유하는 차이로부터 기인되는 것으로 사료된다.

3.7. 오일의 종류에 따른 유화 상태에 대한 영향

유동파라핀을 같은 탄화수소인 스쿠알란으로 변경하여 에멀전의 제조 상태를 관찰하였다. 동일한 농도로 대체한 결과 Figure 9의 사진과 같이 스쿠알란을 사용한 시스템에서는 나노에멀전이 형성되지 않았다. 이는 유화제의 유수상 분율 등에 기인되는 것으로 추측된다[17].

3.8. 나노에멀전의 장기 안정성

Figure 10에 Figure 1의 조성으로 다양한 온도별로 제조된 나노에멀전의 시간 경과에 따른 안정성 결과를 나타냈다. 4주간 입자 크기의 변화를 주기적으로 측정하였으며 입자 크기가 작은 나노에멀전은 변화를 보이지 않았다. 이는 사용된 유동파라핀의 물에 대한 용해성이 낮아 ostwald ripening으로 설명되는 안정성 변화

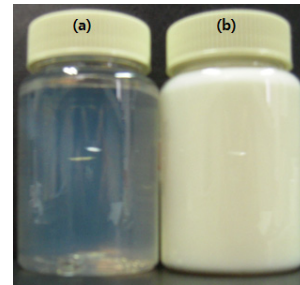


Figure 8. Photograph of emulsions of Span 80/hydrophilic emulsifier/liquid paraffin/water system using PIC emulsification process varying the hydrophilic emulsifier, (a): Nikkol BL 25, (b): Tween 80.

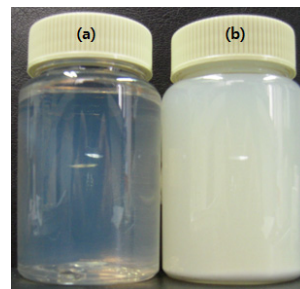


Figure 9. Photograph of emulsions of Span 80/Nikkol BL 25/oil/water system using PIC emulsification process varying the oils, (a): liquid paraffin, (b): squalane.

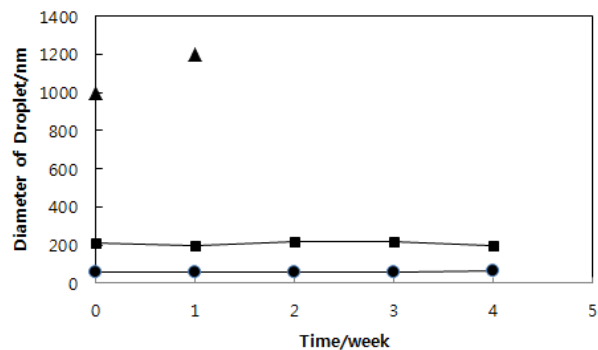


Figure 10. Droplet diameter of nanoemulsions of Span 80/Nikkol BL 25/liquid paraffin/water system using PIC emulsification process against time varying the temperature of emulsification, ▲: 30 °C, ■: 60 °C, ●: 80 °C.

에 영향을 받지 않는 것으로 생각되었다. 그러나 나노에멀전이 형성되지 않고 입도가 100 nm 이상의 에멀전은 에멀전의 상층부에 크리밍 현상이 관찰되었으며 상분리가 관찰되어 1주일 후에는 입도를 측정하지 않

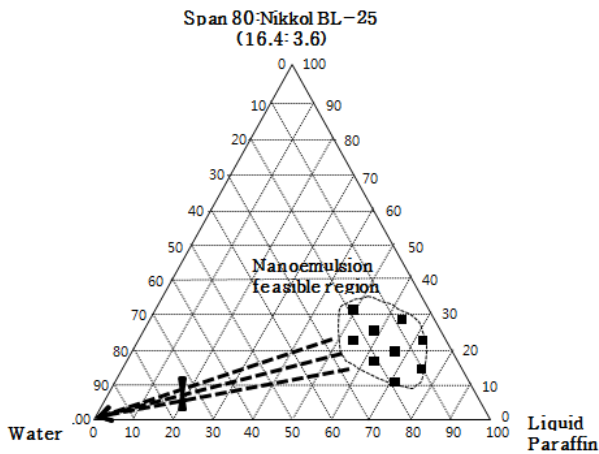


Figure 11. Nanoemulsion feasible region of Span 80/Nikkol BL 25/liquid paraffin/water system using PIC emulsification process.

았다.

4주간의 입자 크기 측정 결과에 추가하여 Figure 10의 60 및 80 °C에서 제조된 나노에멀전의 freeze thaw cycle (-5 °C 1일 냉동 후 1일 실온 해동) 시험결과 5회 연속 시험 후에도 육안상 및 사용감 평가 결과, 시험 전 시료와 차이를 발견할 수 없었다.

3.9. 저점도 W/O 나노에멀전의 화장품 제형으로의 응용 가능성

Figure 11에 나타난 것과 같이 내상이 10 ~ 15% 영역에서 안정한 나노에멀전이 형성되며 이는 삼성분계도에서 해당하는 영역의 나노에멀전을 얼굴 등에 적용한 후 물로 희석하여 제거하는 클렌징 제품에 응용하는 경우를 가정할 수 있다. 일반적으로 메이크업 화장을 지우기 위한 1차 세정은 유동과라핀을 주성분으로 하는 클렌징크림이나 클렌징로션 등이 사용되며 이때 소비자들은 클렌징크림 적용 후 티슈 등으로 클렌징크림을 제거한다. 이는 오일을 고농도로 함유된 클렌징크림의 물에 대한 세정성이 낮으며 일반적인 미용법에서는 클렌징크림 등의 1차 세안 후 비누 등의 2차 세안을 추천하고 있다. 그러나 안정한 W/O 타입 나노에멀전은 다량의 오일을 함유하고 있음에도 Figure 11에 화살표로 표기한 것과 같이 물로 희석이 진행될 경우 전상이 일어나며 이는 W/O 나노에멀전에서 O/W 에멀전으로 전상되어 쉽게 물로 세안이 가능하다.

4. 결 론

본 논문에서는 정제수/Span 80-Nikkol BL 25/유동과라핀의 나노에멀전을 높은 온도에서 PIC 유화로 제조하여 다음과 같은 결과를 도출하였다.

- 1) 실온에서 PIC 방법으로 제조된 에멀전은 나노에멀전보다는 매크로에멀전이 제조되었다. 온도에 따른 계면장력의 큰 변화의 결과로 온도가 30 °C에서 80 °C로 증가하면 입자 크기는 2 μm에서 100 nm 정도로 감소하여 80 °C에서 제조된 나노에멀전의 입자 크기는 50 ~ 200 nm 범위에 있었다.
- 2) 내상은 10 ~ 15 wt%에서 안정한 반투명의 저점도 W/O 나노에멀전이 형성되었다.
- 3) 혼합 유화제의 HLB는 7.0 부근에서 가장 안정한 나노에멀전이 형성되었다.
- 4) 제조된 나노에멀전은 1개월 이상 실온에서 안정하였다.
- 5) Nikkol BL 25를 Tween 80으로 동량 대체하면 나노에멀전이 형성되지 않았다.
- 6) 유동과라핀을 스쿠알란으로 동량 대체하면 나노에멀전이 형성되지 않고 매크로에멀전이 형성되었다.
- 7) W/O 나노에멀전의 저점도로 인한 부드러운 사용감과 얼굴에 적용 후 물로 세안하는 경우에는 W/O에서 O/W로 전상이 발생하여 쉽게 제거되므로 클렌징 화장품 제형 등으로 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

Acknowledgement

본 연구는 보건복지부 보건의료연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(과제고유번호 HN12C0056).

Reference

1. C. Solans, P. Izquierdo, J. Nolla, N. Azemar, and M. J. Garcia-Celma, Nano-emulsions, *Curr. Opin. Colloid Inter. Sci.*, **10**(3-4), 102 (2005).

2. 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, Ed. Hidalgo-Alvarez Roque, 146, 457, Taylor and Francis Group (2010).
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 Interf. Sci.*, **13**(4), 245 (2008).
4. M. Antonietti and K. Landfester, Polyreactions in miniemulsions, *Prog. Polym. Sci.*, **27**(4), 689 (2002).
5. J. M. Asua, Miniemulsion polymerization, *Prog. Polym. Sci.*, **27**(7), 1283 (2002).
6. 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**(5), 1683 (2011).
7. F. Ganachaud and J. L. Katz, Nanoparticles and nanocapsules created using the ouzo effect: spontaneous emulsification as an alternative to ultrasonic and high-shear devices, *Chem. Phys. Chem.*, **6**(2), 209 (2005).
8. A. Forgiarini, J. Esquena, C. Gonzalez, C. Solans, Formation of nano-emulsions by low-energy emulsification methods at constant temperature, *Langmuir*, **17**(7), 2076 (2001).
9. W. Liu, D. Sun, C. Li, Q. Liu, and J. Xu, Formation and stability of paraffin oil-in-water nano-emulsions prepared by the emulsion inversion point method, *J. Colloid Interf. Sci.*, **303**(2), 57 (2006).
10. O. Sonnevile-Aubrun, D. Babayan, D. Bordeaux, P. Lindner, G. Rata, and B. Cabane, Phase transition pathways for the production of 100 nm oil-in-water emulsions, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **11**(1), 101 (2009).
11. D. Morales, J. M. Gutierrez, M. J. Garcia-Celma, and C. Solans, A study of the relation between bicontinuous microemulsions and oil/water nanoemulsion formation, *Langmuir*, **19**(18), 7196 (2003).
12. P. Izquierdo, J. Esquena, T. F. Tadros, J. C. Dederen, J. Feng, M. J. Garcia-Celma, N. Azemar, and C. Solans, Phase behavior and nano-emulsion formation by the phase inversion temperature method, *Langmuir*, **20**(16), 6594 (2004).
13. 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).
14. N. Uson, M. J. Garcia, and C. Solans, Formation of water-in-oil (W/O) nano-emulsions in a water/mixed non-ionic surfactant/oil systems prepared by a low-energy emulsification method, *Colloids Surf. A*, **250**(1), 415 (2004).
15. H. Pan, L. Yu, J. Xu, and D. Sun, Preparation of highly stable concentrated W/O nanoemulsions by PIC method at elevated temperature, *Colloids Surf. A*, **447**, 97 (2014).
16. E. H. Kim and W. G. Cho, Candelilla wax nano-emulsions prepared by phase inversion composition (PIC) method, *J. Kor. Oil Chem. Soc.*, **31**(2), 203 (2014).
17. S. Setya, S. Talegaonkar, and B. K. Razdan, Nanoemulsions: formulation methods and stability aspects, *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, **3**(2), 2214 (2014).
18. E. H. Kim and W. G. Cho, Nanoemulsions containing vitamin E acetate prepared by PIC (phase inversion composition) methods: factors affecting droplets sizes, *J. Kor. Oil Chem. Soc.*, **30**(4), 602 (2013).
19. E. H. Kim and W. G. Cho, Stable liquid paraffin-in-water nanoemulsions prepared by phase inversion composition method, *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.*, **40**(2), 133 (2014).
20. W. G. Cho, Application of stable o/w nanoemulsions with skin depigmenting agent for integration type of cosmetics, *J. of Digital Convergence*, **13**(4), 417 (2015).