

식품 소재물질을 이용한 나노현탁액 및 나노입자 제조

Nanodispersion and Nanoparticle Using Food-Grade Materials

고 상 훈
Sanghoon Ko

세종대학교 식품공학과
Department of Food Science and Technology, Sejong University

서 론

기능성 식품(functional food)에 대한 관심이 증가하면서 기능성 물질(functional ingredient)의 효율적인 이용에 대한 기술들이 주목 받고 있다. 천연 추출물, 약물, 비타민, 항산화물질(anti-oxidant), 향료, 색소 등의 기능성 물질들은 빛, 산소, 수분, 온도 등의 외부요인으로부터 영향을 받아 손상되기 쉬우며, 가공 및 유통 과정 동안 안정성이 저하되어 활성이 감소하게 된다. 또한 기능성 물질의 직접 섭취 시 낮은 투과성을 비롯하여 위장 내의 산성 조건, 효소, 그 밖의 영향 요인에 의하여 안정성(stability)이 감소하게 되면 그 결과 이들이 보유한 생리활성(bioactivity)에 제한을 주게 된다(1). 그러므로, 대부분의 기능성 물질은 외부 환경으로부터 보호하고 안정성을 유지하기 위하여 입자(particle) 및 캡슐(capsule) 등의 전달체(delivery system)와 결합되어 이용된다. 전달체는 기능성 물질의 섭취 후 생체 내에서 이용될 때까지 활성을 유지하도록 도움을 주는 보호막 기능을 제공한다. 전달체 역할을 하는 입자 및 캡슐들의 원료로써 합성고분

자물질(synthetic polymer) 및 생체고분자물질(biopolymer)들을 많이 이용하고 있는데(2-8), 식품에 이용을 위해서는 자연친화적이고 안전한 물질로 만드는 것이 적합하다. 그러므로 GRAS(generally recognized as safe) 하다고 소비자들에게 인식되고 있는 식품 소재물질(food-grade material)을 이용한 입자 및 캡슐 제조가 주목을 받고 있다. 생체적합성(bio-compatibility) 및 생체분해성(biodegradability) 특성이 있는 식품 소재물질들 중 알긴산(alginate), 키토산(chitosan), 전분(starch) 등의 탄수화물소재들과 알부민(albumin), 유청단백질(whey protein), 콩단백질(soy protein) 등의 단백질소재들이 입자 및 캡슐을 제조하는데 주로 이용되어 왔다(9-23).

나노기술(nanotechnology)은 10억 분의 1 m인 나노(nano) 단위까지 조작하는 첨단 기술로 식품 분야의 다양한 기술에도 응용할 수 있어 기존의 식품산업의 문제들을 해결할 수 있는 차세대 핵심기술로 각광 받고 있다(24). 나노크기의 물질을 만드는 방법은 크게 두 가지의 개념으로 접근할 수 있는데, 한 가지 방법은 큰 형태의 물질로부터 나노크기까지 줄이는 것

*Corresponding author: Sanghoon Ko, Department of Food Science and Technology, Sejong University, 98 Gunja-dong, Gwangjin-gu, Seoul 143-747, Republic of Korea
Tel: +82-2-3408-3260
Fax: +82-2-3408-3419
E-mail: sanghoonko@sejong.ac.kr

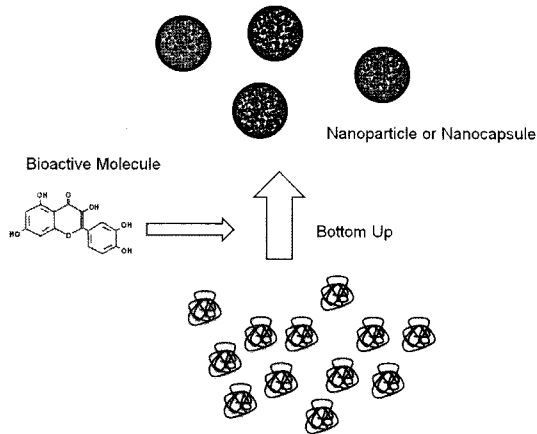


그림 1. Bottom-up 방식에 의한 기능성 물질의 나노캡슐화 (nanoencapsulation) 과정.

이고(top-down), 다른 하나는 나노크기보다 더 작은 물질로부터 나노크기로 증가시키는 것이다(그림 1, bottom-up). 식품 소재물질을 이용하여 나노크기의 물질을 만드는 경우에는 bottom-up 방식의 대표적인 원리인 자기조립(self-assembly) 특성을 이용하는데, 나노구조를 형성하는 자기조립 현상이 자유에너지(free energy)를 최소화하여 시스템을 안정화시키는 자발적인 반응이기 때문이다(25-27). 식품 소재물질로 이용될 수 있는 물질들의 크기를 살펴보면, 칼륨(K), 나트륨(Na)과 같은 단분자 이온의 크기는 0.1 nm 정도이며, 당류(sugars), 아미노산, 호르몬, DNA의 크기는 1 to 100 nm에 포함된다. 또한, 대부분의 단백질(protein)과 다당체(polysaccharide)의 크기도 1-100 nm의 범주에 속한다. 나노기술이 적용된 입자 및 캡슐은 기존의 방법에 비하여 크기가 감소되었기 때문에, 입자 및 캡슐의 투과성(permeability)과 체류시간(residence time)이 향상되어 생체 내 흡수 및 이용이 증가될 것으로 기대된다(28,29). 폴리락틱-글리콜산(poly(lactic-co-glycolic acid, PLGA)과 폴리비닐알코올(poly(vinyl alcohol), PVA)을 이용하여 water-in-oil-in-water(W/O/W) 유화액을 만들어 bovine serum albumin을 캡슐화 한 후 100 nm, 500 nm, 1 μ m, 10 μ m의 네 종류의 나노 및 마이크로캡슐을 만들어 쥐의 장세포에서 흡수 효과를 실험하였는데, 100 nm의 나노캡슐이 500 nm일 때보다 10,000 배에서

100,000 배 정도 흡수도가 좋은 것으로 판명되었다(30). 나노기술을 적용하여 제조된 나노입자 및 캡슐의 대표적인 특성은 이들이 물과 지방에 모두 친한 용해성(duo-solubility)을 갖는 것이며, 용해도(solubility) 및 분산성(dispersibility)을 향상시킬 수 있고 생체 내 세포에 이용 시 투과하기 어려운 세포의 지질 이중막(lipid bilayer) 통과할 잠재력을 가지므로 기능성 물질의 효율적 이용에 대한 기대가 크다(31).

기능성 물질은 대단히 종류가 많고 다양한 분자구조와 다양한 물리적 형태를 지니고 있다. 기능성 물질은 극성(polar), 비극성(nonpolar), 또는 양쪽성(amphiphilic)을 띠고 상온에서 액체, 고체, 기체의 상태로 존재한다(32). 그러므로 다양한 종류의 기능성 물질을 포함하는 나노입자 및 나노캡슐을 만들기 위해서는 그 특성에 맞는 제조 방법의 적용이 필요하다. 또한 식품에 이용할 경우에도 액체 또는 고체 식품의 환경에서 기능성 물질의 보호, 안정성, 생체이용성(bioavailability) 등을 극대화할 수 있는 제조 방법이 적용되어야 한다. 적절한 제조법으로 만들어진 나노입자 및 나노캡슐은 기능성 물질의 보호 이외에도, 식품 또는 생체 내에서 기능성 물질의 방출조절(controlled release) 및 표적조절(targeting) 특성을 갖도록 제조될 수 있다. 적절한 제조법을 이용하여 나노입자 및 나노캡슐의 기계적 성질 및 나노구조 등을 조절하여 원하는 방출조절 및 표적조절 특성을 갖춘 전달체로 만들 수 있다.

이 글에서는 2006년 Journal of Food Science에 실린 Functional materials in food nanotechnology (32) 논문을 바탕으로 최근 건강기능성 물질의 새로운 전달체로 주목을 받고 있는 식품 소재물질을 이용한 나노현탁액 및 나노입자 제조 방법에 대해 소개하고자 한다.

나노현탁액(nanodispersion) 제조 방법

1. 나노콜로이드(association colloid)

나노콜로이드의 형성은 시스템이 자유에너지를 소화하여 안정화되는 자발적인 과정으로 용액 내에서 콜로이드의 자기조립 특성을 이용한다. 계면활성제 micelle, 소포(vesicle), 이중층(bilayer) 및 역

micelles 등의 구조는 자기조립 방법으로 형성되며, 이때 만들어진 구조는 나노크기를 형성할 수 있다. 나노콜로이드에는 극성, 비극성, 양쪽성 기능성 물질을 포함할 수 있는데, 이때 기능성 물질은 나노콜로이드 입자의 내부 또는 micelle의 얇은 막에 포함될 수 있다. 생성되는 나노콜로이드의 특성은 계면활성제의 종류, 농도에 따라 다르며, 나노콜로이드가 형성될 때의 온도, 이온 농도, pH 등의 제조 환경에 따라 영향을 받게 된다. 나노콜로이드 제조 방법을 이용하여 크기 5-100 nm 정도의 콜로이드 구조를 가진 현탁액을 제조할 수 있다(33-36).

2. 나노유화액(nanoemulsion)

자발적으로 나노콜로이드가 형성되지 않는 현탁액에 초고압균질기(high-pressure homogenizer), 초고압유화기(high-pressure microfluidizer) 또는 고주파파괴기(sonicator)를 이용하여 나노크기의 수중유적형(oil-in-water, O/W) 및 유중수적형(water-in-oil, O/W) 유화액을 제조할 수 있으며, 기능성 물질을 나노유화액의 droplet 내부, 계면, 외부 연속상에 포함시킬 수 있다. 초고압균질기 및 초고압유화기를 이용하여 생성된 나노유화액은 100-500 nm 크기의 droplet이 연속상 내에 존재하는 안정한 시스템이었다(37, 38). 고주파파괴기를 이용하여 기능성 식품소재를 캡슐화한 나노유화액을 제조하였는데, 지용성 물질인 *d*-limonene를 캡슐화하기 위하여 150-700 nm 크기의 지용성 droplet을 갖는 유화액을 제조하는데 성공하였다(39). 고주파파괴기를 이용한 다른 연구는 아마유(flaxseed oil), 계면활성제 Tween 40, 물을 원료로 하여 지용성 droplet의 평균 크기가 135 nm인 유화액을 제조하였다(40). 고주파를 가한 시간이 길면 생성되는 droplet의 크기는 작아지지만, 과도한 고주파 에너지 공급은 droplet의 크기를 증가시킬 수 있다(41). 고주파파괴법은 입자 크기의 분포도는 다소 넓지만 제조 과정과 세척 과정이 초고압균질화 및 초고압유화법 보다 용이하다.

3. 나노다중유화액(nanostructured multiple emulsion)

나노구조를 가진 oil-in-water-in-oil(O/W/O) 및 water-in-oil-in-water(W/O/W) 유화액을 제조하여 기능성 물질의 캡슐화에 이용할 수 있다. 예를 들면, $W_1/O/W_2$ 나노다중유화액은 나노크기의 친수성 droplet 또는 역 micelle(W_1), 큰 크기의 지용성 droplet(O) 및 수용성 연속상(W_2)으로 구성할 수 있다(42). 나노다중유화액은 기능성 물질을 W_1 , O, W_2 상에 포함할 수 있어 수용성 및 지용성 물질을 모두 포함할 수 있으며, 특히 한 종류 이상의 기능성 물질을 동시에 포함할 수 있다. 또한 같은 상(phase) 내에 존재할 때 반응하여 문제점을 일으키는 것이 염려되는 두 종류의 기능성 물질을 각각 W_1 와 W_2 상에 분리시킬 수 있으므로 기능성 물질의 안정성을 향상시킬 수 있다. 또한, W_1 에 캡슐화된 기능성 물질을 섭취 후 입, 위, 소장 환경으로부터 보호하거나 특정위치에서 방출되도록 조절하는 것이 가능하다.

4. 나노다중층유화액(nanostructured multilayer emulsion)

나노다중층유화액은 기본적 제조 원리에서 나노유화액과 비슷한 구조를 하고 있는데, 나노유화액의 경우 단층막이 기능성 물질을 감싸고 있는 구조라면 나노다중층유화액은 두 층 이상의 다중층이 기능성 물질을 감싸고 있는 구조이다. 예를 들면, O/W 나노다중층유화액은 지용성 기능성 물질 droplet을 두 층 이상의 고분자전해질(polyelectrolyte)이 나노 두께의 막으로 둘러싼 구조를 하고 있다. 나노다중층유화액의 제조 시 이용되는 나노 두께의 다중층을 만드는 방법을 layer-by-layer(LbL) 방법이라 한다(43, 44). LbL 방법은 양전하를 띠고 있는 고분자전해질과 음전하를 띠고 있는 고분자전해질을 교대로 넣어 줄 때 생기는 양이온과 음이온 사이의 정전기적 결합으로 표면층 두께를 단계적으로 증가시키는 원리를 이용한다. 이 방식을 이용하여 제조된 나노다중층 기능성 캡슐은 도포된 고분자전해질 층의 개수 및 개별 층의 두께를 조절하여 입자의 전체 크기를 조절할 수 있고, 제조 시 유화액 조건 및 최종 도포층의 종류에 따라 생성된 입자 표면의 전하(zeta-potential)를 조절할 수 있다. 예를 들어, O/W 나노다중층유화액을 만드는 과정을 살

퍼보면, 지용성 기능성 물질을 수용성 상에 전하를 띠는 유화제(ionic emulsifier)를 넣고 균질화하여 지용성 기능성 물질이 droplet을 형성하는 일차유화액(primary emulsion)을 제조한다. 일차유화액에 이미 사용된 유화제와 반대의 전하를 띠는 고분자전해질을 넣어주면 고분자전해질이 droplet 표면에 침적되게 되는데, 이때 생성된 시스템을 이차유화액(secondary emulsion)이라고 한다. 이와 같은 방법을 반복하여 양전하 고분자전해질과 음전하 고분자전해질을 교대로 첨가하면 다중층유화액(multilayer emulsion)을 제조할 수 있다. 제조된 나노다중층유화액은 다층 구조 때문에 외부적 영향에 대해서 단일층 나노유화액 보다 향상된 안정성을 갖는다(45-47).

나노입자(nanoparticle) 제조 방법

1. Coacervation 방법에 의한 나노입자 제조

수용성 단백질과 같은 친수성콜로이드(hydrocolloid) 분자들이 외부환경에 의한 용해도 감소로 적당한 크기로 모여서 coacervate를 형성하는 과정을 coacervation이라 한다(48, 49). 예를 들면, 낮은 농도의 젤라틴(gelatin) 또는 알부민 수용액과 같은 친수성콜로이드 용액에 탈용매화(desolvation) 특성을 부여하는 알코올 또는 아세톤을 다량 가하면 친수성콜로이드 분자들이 모여서 coacervate 형태로 상분리를 하게 된다. 친수성콜로이드는 알코올 또는 아세톤 첨가로 인해 물에 대한 용해성이 감소되므로 자유에너지를 최소화하기 위하여 공간부피를 최소화하는데, 이 과정에서 친수성콜로이드 분자들 간에 결합하여 coacervate를 형성하게 된다. 생성된 coacervate는 내부에 미세한 다공성(porous) 구조를 형성하게 되는데, 이 다공성 구조 안에 기능성 물질을 포함시킬 수 있다. coacervate의 안정성은 온도, pH, 정전기적 인력 및 척력, 수소결합(hydrogen bond) 및 소수성결합(hydrophobic interaction) 등의 제조 시 환경 조건에 의해 결정된다. 예를 들면, bovine serum albumin 또는 β -lactoglobulin의 단백질 수용액에 아세톤을 천천히 가함으로써 나노크기의 단백질 coacervate를 제조할 수 있다(50-52). 단백질 coacervate 제조 시 단백

질 분자간의 정전기적 척력을 부여할 수 있도록 pH를 조절하는데, 높은 pH 조건은 단백질 분자들 간의 응집을 최소화하여 나노크기의 coacervate가 형성될 수 있는 환경을 제공한다. 아세톤의 첨가량의 증가에 따라 투명하던 단백질 수용액은 틴달현상(Tyndall phenomenon)을 갑자기 보이며 뿌옇게 변하는데, 이 지점이 나노크기의 coacervate가 형성되는 시점이다. 나노크기를 만들기 위하여 아세톤의 첨가를 틴달현상이 시작되는 시점에서 멈추게 되는데, 과량의 아세톤 첨가는 추가적인 응집을 일으키고 coacervate의 크기를 빠르게 증가시키게 된다.

2. 이온젤화(ionic gelation) 방법에 의한 나노입자 제조

이온젤화를 이용한 방법은 고분자전해질과 이와 반대 전하를 가진 전해질 간의 정전기적 결합으로 나노크기의 입자를 형성하는 원리를 이용한다(53). 대표적으로 알려진 이온젤화 방법에 의해 제조할 수 있는 나노입자는 키토산과 tripolyphosphate(TPP)를 이용하여 형성할 수 있다(14, 54, 55). 양전하 고분자전해질인 키토산에 음전하 전해질인 TPP를 첨가하면, 정전기적 인력에 의하여 총 전하(net charge)의 상쇄가 일어나면서 입자를 형성하게 된다. 이온젤화 원리를 이용하여 제조된 나노입자는 100 nm 이하의 크기로 형성될 수 있으며 키토산의 중합도 및 제조 환경의 조절을 통하여 입자의 크기를 변화시킬 수 있다. 이온젤화에 의한 나노입자는 전해질 간의 자발적인 정전기력에 의해 형성되므로 잠재적인 독성이 있는 cross-linker의 사용을 피할 수 있는 장점이 있다. 이온젤화 과정의 정전기적 인력은 가역적(reversible)이므로 나노입자가 특정 조건에서 구조가 변형되는 특징을 보인다. 이러한 측면 때문에 이온젤화를 통해 생성된 나노입자는 특정 환경에서 안정성이 낮아지지만 이 특성을 잘 이용하면 나노입자 안에 보호하고 있는 기능성 물질을 특정위치에서 방출되도록 조절하는 것이 가능하다.

3. 나노라미네이트입자(nanolaminated particle) 결정이나 입자 형태의 기능성 물질에 두 층 이상의

나노 두께를 가진 막을 코팅하여 나노 막구조 입자를 제조할 수 있는데 이를 나노라미네이트입자라 한다. 이 때 이용되는 제조 원리는 본문의 위에서 소개된 나노다중층유화액의 제조 방법과 비슷한 LbL 방법을 이용하는 데, 양전하 고분자전해질과 음전하 고분자전해질을 교대로 넣어 표면 코팅층의 두께를 단계적으로 증가시킬 수 있다. 이 때 코팅층 한 겹의 두께는 1-100 nm로 조절할 수 있으며 정전기력, 수소결합, 소수성결합 등의 자발적 반응이 고분자전해질, 계면활성제, 유화제, 나노입자 등을 단계적으로 흡착시키는데 이용된다. 나노라미네이트입자 제조 과정은 도포하고자 하는 물질을 포함하고 있는 일련의 용액들을 단계별로 준비하고, 결정이나 입자 형태의 기능성 물질을 그 용액들 속에 단계적으로 담그거나 기능성 물질에 단계적으로 분사(spraying)하는 방식을 이용한다(56). 나노라미네이트입자 제조 시 코팅층에 이용되는 물질에는 천연 고분자전해질인 단백질 및 다당체, 인지질(phospholipids)과 계면활성제와 같이 전하를 띠고 있는 지질류, micelle, vesicle, droplet 콜로이드입자 등이 있다. 나노라미네이트입자의 특성은 표면에 흡착되는 물질들의 종류, 물질들의 흡착 순서, 흡착된 층의 개수 및 두께, 최종 흡착층의 종류, 제조 조건에 따라 조절될 수 있다.

4. 나노침전 (nanoprecipitation) 방법에 의한 나노입자 제조

나노침전 방법은 고분자물질로 이루어진 나노캡슐 안에 지용성 기능성 물질을 넣어 보호할 수 있도록 제조하는 것이다(57, 58). 예를 들면, 지용성 기능성 물질이 포함된 용액을 고분자물질과 인지질이 포함된 아세톤과 혼합하여 지용성 혼합용액을 제조한 후, 계면활성제가 포함된 수용액에 첨가하게 되면 아세톤이 수용액 쪽으로 확산되어 나가면서 지용성의 nanodroplet을 형성하게 된다. 이 때 불용성의 고분자물질이 O/W 계면으로 이동하면서 캡슐의 벽을 형성하게 되어 지용성 기능성 물질을 보호하며, 상분리되어 나노입자를 형성한다.

5. 용매추출증발 (solvent extraction-evaporation) 방법에 의한 나노입자 제조

용매추출증발법을 이용하여 생성되는 나노입자의 형

태는 고분자 나노캡슐 안에 지용성 기능성 물질을 포함하고 있는 형태이다. 용매추출증발법의 과정은 나노 침전법과 유사한데 지용성 기능성 물질과 고분자물질을 클로로포름(chloroform)이나 에틸아세테이트(ethyl acetate) 등의 휘발성 유기용매에 녹인 다음, 계면활성제가 포함된 수용액에 첨가하여 O/W 유화액을 제조하는 것이다. 이 때 유화액의 지용성 droplet의 표면으로부터 수용액 상으로 유기용매가 확산되어 빠져 나감에 따라 고분자물질의 농도가 증가하게 되어 나노크기의 입자를 형성하게 된다. 생성된 나노입자는 휘발성 용매를 증발시켜 회수할 수 있으며, 입자의 크기는 10 - 250 nm로 제조될 수 있다.

6. 분무건조 (spray drying) 방법에 의한 나노입자 제조

분무건조에 의한 생성 방법은 나노입자를 대량 생산하는데 이용할 수 있기 때문에, 의약품에 비해서 가격 경쟁력이 있어야 하는 식품산업에서 나노입자의 식품 적용을 현실화 할 수 있는 방안으로 주목받고 있다. 나노입자 생산을 위한 분무건조는 나노현탁액을 비롯한 액상의 원료를 분무건조기 내의 분무기(atomizer)를 이용하여 미세한 droplet로 분사한 다음 이를 건조하는 과정을 거친다. 원료액의 농도, 분무기의 속도, 투입구(inlet) 온도, 방출구(outlet) 온도, 송풍기(blower)의 속도 등이 최종 입자의 크기를 결정짓는 중요한 공정변수이다. 최근 녹차의 항산화물질인 카테킨(catechin)을 분무건조 방법에 의하여 나노입자 내에 캡슐화 하였는데, 전분과 maltodextrin에 카테킨을 균질화한 후 분무건조하여 80 nm 정도의 나노입자를 제조하는데 성공하였다(62). 또 다른 연구에서는 하이드록시프로필 셀룰로오스(hydroxypropyl cellulose)를 습식분쇄(wet milling)한 후 분무건조하여 마이크로크기의 응집체(microaggregate)를 제조하였는데, 이 건조된 응집체는 물과 다시 혼합하면 나노입자로 분산되게 된다(63).

결 론

나노기술이 과학과 산업을 한 단계 발전시킬 수 있

는 새로운 패러다임으로 다가온 가운데, 식품산업도 나노기술의 적용과 응용을 시도하고 있다. 특히, 건강 기능성 물질을 나노크기의 전달체에 캡슐화하여 생리 활성 및 효능을 극대화하려는 시도가 큰 관심을 끌고 있으며, 식품 소재물질을 이용한 나노현탁액 및 나노 입자가 첨가된 기능성 식품의 개발이 시도되고 있다. 하지만, 나노기술의 정의에 따르면 나노물질은 거대물질(macromaterial)과는 다른 물리적, 화학적, 생물학적 특성을 가지므로 (National nanotechnology initiative, USA), 안전한 식품소재로부터 나노물질이 만들어지더라도 이 물질은 안전하지 않을 수도 있다고 가정되어야 한다. 그러므로, 장차 산업화 및 제품화를 통해 만들어질 나노식품의 안전한 이용을 위하여, 나노식품의 생체 위해성을 체계적으로 검증한 후 섭취되어야 하며, 친환경적이고 친인간적인 그린 나노기술(green nanotechnology)이 식품산업에 적용되어야 한다.

감사의 글

본 연구는 2007년도 세종대학교 교내연구비 지원으로 수행되었으며, 지원에 감사 드립니다.

참고문헌

- Bell LN. Stability testing of nutraceuticals and functional foods pp. 501-516. In: Handbook of nutraceuticals and functional foods. Wildman REC (ed). CRC Press, New York (2001)
- Langer K, Balthasar S, Vogel V, Dinauer N, vonBriesen H, Schubert D. Optimization of the preparation process for human serum albumin (HSA) nanoparticles. *Int. J. Pharm.* 257: 169-180 (2003)
- Jalil R, Nixon JR. Biodegradable Poly(Lactic acid) and Poly(Lactide-co-glycolide) microcapsules-problems associated with preparative techniques and release properties. *J. Microencapsul.* 7: 297-325 (1990)
- Edlund U, Albertsson AC. Degradable polymer microspheres for controlled drug delivery Vol. 157, pp. 67-112. In: Degradable Aliphatic Polyesters: Advances in Polymer Science. Albertsson AC (ed). Springer-Verlag, Berlin (2002)
- O' Hagan DT, Singh M, Gupta RK. Poly(lactide-co-glycolide) microparticles for the development of single-dose controlled-release vaccines. *Adv. Drug Del. Rev.* 32: 225-246 (1998)
- Brannon-Peppas L. Recent advances on the use of biodegradable microparticles and nanoparticles in controlled drug delivery. *Int. J. Pharm.* 116: 1-9 (1995)
- Allemann E, Jean-Christophe L, Gurny R. Polymeric nano-and microparticles for the oral delivery of peptides and peptidomimetics. *Adv. Drug Del. Rev.* 34: 171-189 (1998)
- Viswanathan NB, Patil SS, Pandit JK, Lele AK, Kulkarni MG, Mashelkar RAJ. Morphological changes in degrading PLGA and P(DL)LA microspheres: implications for the design of controlled release systems. *J. Microencapsul.* 18: 783-800 (2001)
- Dimantov A, Greenberg M, Kesselman E, Shimoni E. Study of high amylose corn starch as food grade enteric coating in a microcapsule model system. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 5: 93-100 (2004)
- Mattila-Sandholm T, Myllarinen P, Crittenden R, Mogensen G, Fonden R, Saarela M. Technological challenges for future probiotic foods. *Int. Dairy J.* 12: 173-182 (2002)
- Kuhn GO, McCampbell P, Singmaster G, Arneson DW, Jameison CW. Application of microencapsulation technology to improve the stability of citral in rodent diets. *Fund. Appl. Toxicol.* 17: 635-640 (1991)
- Lazko J, Popineau Y, Legrand J. Soy glycinin microcapsules by simple coacervation method. *Colloid. Surface. B: Biointerfaces* 37: 1-8 (2004)
- Gan Q, Wang T. Chitosan nanoparticle as protein delivery carrier--Systematic examination of fabrication conditions for efficient loading and release. *Colloid. Surface. B: Biointerfaces* 59: 24-34 (2007)
- Gan Q, Wang T, Cochrane C, McCarron P. Modulation of surface charge, particle size and morphological properties of chitosan-TPP nanoparticles intended for gene delivery. *Colloid. Surface. B: Biointerfaces* 44: 65-73 (2005)
- Mao H-Q, Roy K, Troung-Le VL, Janes KA, Lin KY, Wang Y, August JT, Leong KW. Chitosan-DNA nanoparticles as gene carriers: synthesis, characterization and transfection efficiency. *J. Control. Release* 70: 399-421 (2001)
- Rhaese S, vonBriesen H, Rubsamens-Waigmann H, Kreuter J, Langer K. Human serum albumin-polyethylenimine nanoparticles for gene delivery. *J. Control. Release* 92: 199-208 (2003)
- Vural I, Kas HS, Hincal AA, Cave G. Cyclophosphamide loaded albumin microspheres: 2. Release characteristics. *J. Microencapsul.* 7: 511-516 (1990)
- Gupta PK, Hung CT. Albumin microspheres 1: Physico-chemical characteristics. *J. Microencapsul.* 6: 427-462 (1989)
- Andry MC, Levy MC. *In vitro* degradation of serum albumin microcapsules: effect of process variables. *Int. J. Pharm.* 152: 145-151 (1997)
- Arnedo A, Espuelas S, Irache JM. Albumin nanoparticles as

- carriers for a phosphodiester oligonucleotide. *Int. J. Pharm.* 244: 59-72 (2002)
21. Drusch S, Schwarz K. Microencapsulation properties of two different types of n-octenylsuccinate-derivatised starch. *Eur. Food Res. Technol.* 222: 155-164 (2006)
 22. Sarmento B, Ferreira DC, Jorgensen L, van de Weert M. Probing insulin's secondary structure after entrapment into alginate/chitosan nanoparticles. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 65: 10-17 (2007)
 23. Sarmento B, Ferreira D, Veiga F, Ribeiro A. Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionic pre-gelation through DSC and FTIR studies. *Carbohydr. Polym.* 66: 1-7 (2006)
 24. Lopez-Rubio A, Gavara R, Lagaron JM. Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. *Trends Food Sci. Technol.* 17: 567-575 (2006)
 25. Shiloach A, Blankshtein D. Measurement and prediction of ionic/nonionic mixed micelle formation and growth. *Langmuir* 14: 7166-7182 (1998)
 26. Kwon SY, Kim MW. Nano-control of self-assembled biomolecular structures. *Current Appl. Phys.* 2: 71-78 (2002)
 27. Israelachvili JN, Mitchell DJ, Ninham BW. Theory of self-assembly of lipid bilayers and vesicles. *Biochim. Biophys. Acta* 470: 185-201 (1977)
 28. Beduneau A, Saulnier P, Benoit J-P. Active targeting of brain tumors using nanocarriers. *Biomaterials* 28: 4947-4967 (2007)
 29. Torchilin VP. Multifunctional nanocarriers. *Adv. Drug Del. Rev.* 58: 1532-1555 (2006)
 30. Desai MP, Levy RJ, Labhasetwar V, Amidon GL. Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size. *Pharm. Res.* 13: 1838-1845 (1996)
 31. Kim CK, Park JS. Solubility enhancers for oral drug delivery: Can chemical structure manipulation be avoided? *ChemInform* 37 (2006)
 32. Weiss J, Takhistov P, McClements DJ. Functional materials in food nanotechnology. *J. Food Sci.* 71: R107-R116 (2006)
 33. Garti N, Spornath A, Aserin A, Lutz R. Nano-sized self-assemblies of nonionic surfactants as solubilization reservoirs and microreactors for food systems. *Soft Matter* 1: 206-218 (2005)
 34. Garti N, Shevachman M, Shani A. Solubilization of lycopene in jojoba oil microemulsion. *J. AOCS* 81: 873-877 (2004)
 35. Golding M, Sein A. Surface rheology of aqueous casein-mono-glyceride dispersions. *Food Hydrocolloid* 18: 451-461 (2004)
 36. Flanagan J, Singh H. Microemulsions: A potential delivery system for bioactives in food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 46: 221-237 (2006)
 37. Tan CP, Nakajima M. β -Carotene nanodispersions: preparation, characterization and stability evaluation. *Food Chem.* 92: 661-671 (2005)
 38. McClements DJ, Decker EA. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *J. Food Sci.* 65: 1270-1282 (2000)
 39. Jafari SM, He Y, Bhandari B. Nano-emulsion production by sonication and microfluidization - A comparison. *Int. J. Food Prop.* 9: 475 - 485 (2006)
 40. Kentish S, Wooster TJ, Ashokkumar M, Balachandran S, Mawson R, Simons L. The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* In Press.
 41. Jafari SM, He Y, Bhandari B. Production of sub-micron emulsions by ultrasound and microfluidization techniques. *J. Food Eng.* 82: 478-488 (2007)
 42. Muschollik G. Multiple emulsions for food use. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 12: 213-220 (2007)
 43. Quinn JF, Yeo JCC, Caruso F. Layer-by-layer assembly of nanoblended thin films: poly(allylamine hydrochloride) and a binary mixture of a synthetic and natural polyelectrolyte. *Macromolecules* 37: 2004
 44. Johnston APR, Cortez C, Angelatos AS, Caruso F. Layer-by-layer engineered capsules and their applications. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 11: 203-209 (2006)
 45. Guzey D, McClements DJ. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. *Adv. Colloid Interface Sci.* 128-130: 227-248 (2006)
 46. Gu YS, Decker AE, McClements DJ. Production and characterization of oil-in-water emulsions containing droplets stabilized by multilayer membranes consisting of beta-lactoglobulin, iota-carrageenan and gelatin. *Langmuir* 21: 5752-5760 (2005)
 47. Mun S, Decker EA, McClements DJ. Influence of droplet characteristics on the formation of oil-in-water emulsions stabilized by surfactant-chitosan layers. *Langmuir* 21: 6228-6234 (2005)
 48. Lin W, Garnett MC, Davies MC, Bignotti F, Ferruti P, Davis SS, Illum L. Preparation of surface-modified albumin nanospheres. *Biomaterials* 18: 559-565 (1997)
 49. Irache JM, Bergougnoux L, Ezpeleta I, Gueguen J, Orecchioni A-M. Optimization and in vitro stability of legumin nanoparticles obtained by a coacervation method. *Int. J. Pharm.* 126: 103-109 (1995)
 50. Lin W, Coombes AGA, Davies MC, Davis SS, Illum L. Preparation of Sub-100nm human serum albumin nanospheres using a pH-coacervation method. *J. Drug Target.* 1: 237-243 (1993)
 51. Muller GM, Leuenberger H, Kissel T. Albumin nanospheres as carriers for passive drug targeting: an optimized manufac-

- turing technique. *Pharm. Res.* 13: 32-37 (1996)
52. Gunasekaran S, Ko S, Xiao L. Use of whey proteins for encapsulation and controlled delivery applications. *J. Food Eng.* 83: 31-40 (2007)
 53. Chen L, Subirade M. Chitosan/ β -lactoglobulin core-shell nanoparticles as nutraceutical carriers. *Biomaterials* 26: 6041-6053 (2005)
 54. Zhang H, Oh M, Allen C, Kumacheva E. Monodisperse chitosan nanoparticles for mucosal drug delivery. *Biomacromolecules* 5: 2461-2468 (2004)
 55. Tsai ML, Bai SW, Chen RH. Cavitation effects versus stretch effects resulted in different size and polydispersity of ionotropic gelation chitosan-sodium tripolyphosphate nanoparticle. *Carbohydr. Polym.* 71: 448-457 (2008)
 56. McClements DJ, Decker EA, Weiss J. Novel procedure for creating nano-laminated edible films and coatings. US Patent Application UMA 05-27: (2005)
 57. Fessi H, Puisieux F, Devissaguet JP, Ammoury N, Benita S. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *Int. J. Pharm.* 55: R1-R4 (1989)
 58. Guterres SS, Fessi H, Barratt G, Devissaguet JP, Puisieux F. Poly (DL-lactide) nanocapsules containing diclofenac: I. Formulation and stability study. *Int. J. Pharm.* 113: 57-63 (1995)
 59. Mu L, Feng SS. Vitamin E TPGS used as emulsifier in the solvent evaporation/extraction technique for fabrication of polymeric nanospheres for controlled release of paclitaxel (Taxol(R)). *J. Control. Release* 80: 129-144 (2002)
 60. Xiaoyan A, Jun Y, Min W, Haiyue Z, Li C, Kangde Y, Fanglian Y. Preparation of chitosan-gelatin scaffold containing tetrandrine-loaded nano-aggregates and its controlled release behavior. *Int. J. Pharm.* 350: 257-264 (2008)
 61. Mundargi RC, Babu VR, Rangaswamy V, Patel P, Aminabhavi TM. Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(d,l-lactide-co-glycolide) and its derivatives. *J. Control. Release* 125: 193-209 (2008)
 62. Ferreira I, Rocha SMC. Encapsulation of antioxidants by spray-drying. *Eng. Trans.* 11: 713-717 (2007)
 63. Lee J. Drug nano- and microparticles processed into solid dosage forms: physical properties. *J. Pharm. Sci.* 92: 2057-2068 (2003)