식품 소재 나노물질의 개발

Nanomaterials for Food Products

고 상 훈

Sang-hoon Ko

세종대학교 식품공학과

Department of Food Science and Technology, Sejong University

서 론

나노기술(nanotechnology)은 식품의 가공적성, 품질, 안전성을 현격히 강화할 수 있는 새로운 개념과 기술을 제공 할 것으로 기대되기 때문에 최근 많은 주목을 받고 있다. 나노기술에 대한 많은 관심은 식품산업 분야에서 기존에 풀리지 않던 어려운 문제 해결에 새로운 가능성을 제시하기 때문이다. 최근 식품산업에서 주목하고 있는 나노기술은 식품 품질 및 생산 효율 증대, 나노센싱 기술을 이용한 식품 안전성 강화, 기능성 강화 식품의 개발, 나노컴포지트(nanocomposite)가 혼합된 식품포장재를 이용한 제품의 저장수명 증대 및 오염 방지 등에 적용될 수 있다. 특히, 나노크기까지 작아진 물질은 기존 물질의 물리적, 화학적, 생물학적 특성과 다른 새로운 특성을 부여 받음으로써, 기존 문제 해결 및 새로운 식품산업 분야 개척에 이용될 수 있는 신물질로 사용될 수 있으며, 예를 들면, 나노캡슐화는 식품에 적용 시 건강 기능성 물질의 가공적성 및 생체유용성 향상에 이용할 수 있다. 지용성 카로티노이드(carotenoids)를 나노캡슐화하여 첨가함으로써 향상된 생체유용성을 제공하는 과일음료와 비타민, 미네랄, phytochemical의 운반체로 이용되는 나노마이셀(nanomicelle)은 식품산업에서 소재화 및 제품화되어 시장에 출시되고 있다.

최근 식품산업에서 건강기능성 물질(health functional ingredient)을 전달체(delivery system)에 담아 생리활성 및 효능을 극대화하기 위하여 나노크기(nano-sized)의 전달체를 만들려는 연구가 활발히 진행 중이다. 일반적으로, 건강기능성 물질들은 외부요인으로부터 손상되기 쉬운 낮은 안정성 때문에 생리활성(bioactivity)이 감소하므로 효과적인 이용에 제한을 받게 된다. 즉, 빛, 산소, 수분, 온도와 같은 외부요인이 추출 또는 정제된 phytochemical, 비타민, 항산화물질(anti-oxidant), 향료, 색소 등의 생리활성을 가공 및 유통 과정뿐만 아니라 섭취 후 장내(gastrointestinal track) 잔류시간(residence time) 동안 저하시킨다. 그러므

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 : +82-2-3408-4319
E-mail : sanghoonko@sejong.ac.kr

로, 건강 기능성 물질은 입자(particle) 및 캡슐(capsule) 등의 전달체를 이용하여 외부 환경으로부터 보호하고 섭취 후 생체 내 원하는 곳에서 흡수, 이용될 때까지 활성이 유지되도록 하여야 한다. 또한, 식품 유래의 방출 조절 능력이 있는 코팅 및 계면 물질을 전달체 제조에 이용하여 건강 기능성 물질의 효과적인 이용에 도움을 줄 수 있다.

이 글에서는 식품산업에 이용할 수 있는 나노기술 중 기능성 강화 식품 제조 등 다양한 식품산업에 응용할 수 있는 나노캡슐화의 원리, 필요성 및 다양한 제조 방법에 관해서 소개하고자 한다.

Interface effect

식품나노기술(food nanotechnology)은 10억 분의 1 m인 나노(nano) 크기 범위에서 응용, 생산, 가공하는 기술로 다양한 식품 분야의 기술에 응용할 수 있다.[1] 특히, 식품나노기술은 자기조립에 의한 나노구조 형성과 같은 원리를 이용하여 새로운 특성을 갖는 물질 및 제품을 개발하는 새로운 방법 및 토대를 제공한다.[2, 3] 큰 형태의 물질로부터 나노크기까지 줄이는 'top-down' 방식과 나노크기보다 작은 물질로부터 나노크기로 증가시키는 'bottom-up'을 이용하여 나노크기의 물질을 제조할 수 있다.

나노크기 물질의 대표적인 특성은 기존 마이크로 및 거대물질에 비하여 단위 부피(또는 무게) 당 표면적의 비율이 현격히 증가한다는 점이다. 단위 부피 당 표면적의 증가는 물질의 표면 및 관련된 일련의 반응에서 반응속도의 현격한 증가를 초래한다. 예를 들면, 수분흡수, 향기 방출, 생체유용성, 촉매 반응속도의 향상을 위한 목적에서 나노크기의 물질은 기존의 물질들에 비하여 보다 나은 특성을 지닐 수 있으며, 이러한 특성이 요구되는 식품산업에 바람직하게 응용될 수 있다.

크기가 작아진 나노크기의 물질은 물(또는 비극성 용매)에서 뛰어난 분산성(dispersibility)을 가질 수 있다. Stokes 법칙에 따르면 용액 내에서 입자는 용액과 입자 간의 비중(밀도) 차가 있으면 중력 방향(또는 중력 반대 방향)으로 침전(또는 부유)한다. 이때, 침전(또는 부유)의 속도는 입자 반지름의 제곱과 비례하게 되는데, 나노크기의 물질이 되면 입자 반지름의 제곱 값이 매우 작은 값이 되므로 입자의 침전(또는 부유) 속도는 매우 작아진다. 반대로 입자의 브라운 운동은 크기가 작아짐에 따라 증가하게 되어 나노크기 입자는 용액 속에서 안정적으로 분산되어 있을 수 있다. 또한, 입자의 표면에 큰 입자에 비하여 상대적으로 적은 양의 소수성 부분(또는 친수성 부분)이 존재함으로 친수성(또는 소수성) 용액에서도 응집(flocculation) 및 상분리(phase separation)와 같은 불안정성을 감소시킬 수 있다. 나노크기 물질의 이와 같은 특성은 용해도 및 분산성 향상, 생체유용성 증대와 같은 잠재력을 가지므로 기능성 물질의 효율인 이용에 응용할 수 있다.[4]

작아진 나노크기의 물질은 장내(gastrointestinal track)에서 투과성(permeability)이 향상되고 체류시간(residence time)이 증가되어 생체유용성이 증가될 수 있다.[5, 6] 다른 입자 크기가 장내의 Peyer's patch 조직에서 흡수에 어떤 영향을 주는지 연구되었는데, bovine serum albumin이 캡슐화된 100 nm, 500 nm, 1 μm, 10 μm크기의 폴리락틱-글리콜산 (poly(lactic-co-glycolic acid, PLGA)과 폴리비닐알코올(poly(vinyl alcohol), PVA) 입자를 제조하여 사용하였다.[7] 장내의 Peyer's patch 조직에서 흡수되는 입자의 개수는 크기가 작을수록 현격히 증가

<Table 1> Nano- and microparticle uptake in number/mm² from rat intestinal tissue[7]

Mean diameter (nm)	Fabrication methods	Duodenum - Peyer's Patch (number/mm²)	Ileum - Peyer's Patch (number/mm²)
116 ± 5	Sonication	2.7×10^9	4.4×10^9
528 ± 20	Microfluidization	8.4×10^4	7.9×10^4
1,100 ± 100	Homogenization	1.0×10^5	6.5×10^5
9,400 ± 200	Vortexing	0.7×10^2	1.2×10^2

하였다. (Table 1) 이 결과는 전달체로 이용되는 나노크기의 입자 또는 캡슐은 건강 기능성 물질과 같은 캡슐화된 물질의 생체 내 흡수 및 전달 효율을 증대시켜 생체유용성을 향상시킬 수 있는 가능성을 제시한다.

캡슐화의 필요성

캡슐화는 변질되기 쉬운 건강 기능성 물질을 온도, 습도, 산소 등의 외부 환경으로부터 보호하고 가공, 저장, 유통 중에 화학적, 생물학적 반응을 최소화하는 물리적 장벽을 제공해 주는 유용성 때문에 식품산업에 널리 이용되고 있다. 특히, 식품 소재 중 외부환경 변화에 취약하여 변질이 쉬운 물질, 용매 및 주변환경으로부터 격리가 필요한 물질, 시간에 따른 지속적인 방출이 필요한 물질, 일정한 시간 동안 보호된 후 특정 시점에서 방출이 필요한 물질은 캡슐화를 통화여 목적에 맞게 이용될 필요가 있다. 예를 들면, 향료, 산알칼리, 지질, 효소, 미생물, 감미료, 비타민, 무기질, 보존료, 항산화제, 팽창제, 색소, 영양소 등은 캡슐화를 통하여 유용성 및 이용성을 향상시킬 수 있다. 식품소재를 캡슐화하여 얻을 수 있는 주요 장점을 정리하면, (1) 온도, 수분, 산화반응, 빛으로부터 안정성의 강화, (2) 캡슐화된 물질의 방출조절, (3) 원하지 않는 냄새 및 맛의 감소, (4) 다른 성분들과의 불필요한 반응의 억제 등이 있다. 또한 향료와 같이 대부분 액상으로 생산되는 소재는 빵, 케익, 죽(또는 슢), 젤리, 건조 음료 믹스 등의 다양한 식품 제조에 가공적성이 맞지 않아 이용에 한계가 있는데, 캡슐화를 통하여 액상 소재를 분말화하면 다양한 식품에 적용할 수 있는 가능성이 향상된다.

<Table 2> Various food ingredients that can be encapsulated[31]

Type of ingredient
Flavoring agents
Acids, alkalis, buffers
Lipids
Redox agents (bleaching, maturing)
Enzymes and microorganisms
Artificial sweeteners
Leavening agents
Preservatives
Colorants
Cross-linking and setting agents
Agents with undesirable flavors and odors
Essential oils, amino acids, vitamins, minerals

캡슐화될 수 있는 다양한 기능성 식품원료는 Table 2에 정리되어 있다. 캡슐화될 필요가 있는 다양한 건강 기능성을 갖는 물질들은 액체, 반고체, 고체의 다양한 물리적 상태 및 극성(polar), 비극성(nonpolar), 양쪽성(amphiphilic)의 다양한 이화학적 특성을 가지고 있다.[8] 그러므로 최종 제품에 쓰이는 기능성 물질의 적용 목적에 맞게 각각의 기능성 물질의 캡슐화에 적합한 과정을 설계하여야 하며, 이를 위하여 최적의 코팅물질을 선정하고 각각의 특성에 맞는 제조 방법의 적용하여야 한다. 코팅 물질의 원료로써 합성고분자물질 (synthetic polymer) 및 생체고분자물질(biopolymer)를 이용할 수 있는데[9-15], 일반적으로 GRAS (generally recognized as safe) 한 식품 소재물

<Table 3> A summary of typically used coating material in food industries[32]

Type	Example
Carbohydrate	Corn syrup, dextrins (malto and cyclodextrins), starch, sucrose
Gums	Agar, gum arabic, gum acacia, sodium alginate, butyrate phthalate, carrageenan
Lipids	Beeswax, diglycerides, fats, hardened oils, beeswax, monoglycerides, oils, paraffin, stearic acid, tristearin
Celluloses	Acetylcellulose, carboxymethylcellulose, nitrocellulose, methylcellulose, cellulose, acetate-butyrate-phthalate, cellulose acetate-phthalate, ethylcellulose,
Proteins	Albumin, casein, gelatin, gluten, hemoglobin, peptides
Synthetic elastomers	Ethylenevinyl acetate, polyacrylamide, polyacrylate, polyethylene, polyvinyl alcohol, polyvinyl, acetate
Synthetic polymers	Acrylonitrile, polybutadiene

<Table 4> Parameters affecting the release rate of core materials [32]

Coating properties	Density, crystallinity, orientation, solubility, plasticizer level, cross-linking, pretreatment
Capsule properties	Size, wall thickness, configuration, conformity, coating layers. post-treatment
Experimental parameters	Temperature. pH, moisture, solvent, mechanical action, partial pressure differential (inside and outside of coating)

질 (food-grade material)은 생체적합성(biocompatibility) 및 생체분해성(biodegradability) 특성이 있다. Table 3에 정리되어 있듯이 식품 소재물질들 중 다양한 탄수화물, gum, 지질, cellulose, 단백질 소재들이 코팅 물질로 이용될 수 있다.[16-30] 캡슐화된 코어물질의 농도, 코팅물질의 조성 및 방출 특성, 최종 입자의 크기, 제조된 입자의 비중 및 기계적 강도, 캡슐화된 최종 상태 (고체, 액체) 등의 가공변수를 조절하면 원하는 특성을 갖춘 전달체로 만들 수 있다. (Table 4) 다양한 제형으로 제조된 나노전달체는 액체 또는 고체 식품의 환경에서 기능성 물질의 보호, 안정성 증진, 생체이용성(bioavailability) 극대화, 기능성 물질의 방출조절 (controlled release) 및 표적조절 (targeting)을 위하여 이용될 수 있다.

나노캡슐화의 자기조립 원리

식품단백질은 1-10 nm 크기의 구형 구조를 이루며 대부분의 다당류와 지질은 나노크기의 두께를 갖는 직선상의 폴리머를 형성한다. 생체 내에서 일어나는 단백질, 탄수화물, 지질의 생리 작용은 분자들 간의 자기조립된 나노구조의 형성으로 유발되며 다른 생리작용을 수행하기 위해서는 나노구조의 변형이 필요하다. 또한 열처리, 효소작용 등에 의한 식품 가공은 나노구조의 집합체인 단백질, 탄수화물, 지질을 가공에 의하여 구조적으로 변형시키는 것을 의미한다. 예를 들면, 전분에 있는 결정 구조는 가공 후 변형되게 되는데, 원래 전분의 결정구조에 따라 변형의 질과 양이 달라지므로 호화 특성, 소화성, 젤형성 특성, 계면에서의 안정성은 전분의 결정구조에 의존한다.

나노구조체의 제조는 나노 범주에서 순서배열 및 조립 특성 원리와 같은 정밀한 구조 조절을 이용하여 나노 또는 그 이상 크기를 가진 물질을 형성시키는 것과 관련되어 있다. 이 때 'bottom-up' 방법을 이용하는데 이는 원하는 크기 및 특성을 갖는 물질을 제조하기 위한 조절인자로써 열역학의 법칙 하에서 분자들 간의 자기조립(self-assembly) 특성을 이용한다.[3] 자기조립 현상은 반응이 일어나는 시스템 내의 자유에너지(free energy)를 최소화하는 자발적인 반응이며, 제조에 이용되는 물질들 사이의 인력 및 척력 간의 균형(balance) 조절을 통하여 원하는 특성을 갖는 나노구조를 형성할 수 있다.[33-35] 물질들 사이의 힘의 균형에는 다양한 요소들이 영향을 주는데, 제조환경의 온도, 원료 물질의 농도, pH, 이온농도, 기계적 힘, 전자기력 등이 주요 인자이며, 이들의 조절을 통하여 다양한 종류의 나노구조를 제조할 수 있다. 자기조립에 의해서 형성된 최종적인 나노구조는 제조 조건이 원료물질의 구성성분 내부(intra) 및 구성성분 상호(inter) 간의 힘의 균형에 영향을 주는지에 의해서 결정된다.

나노현탁액 (nanodispersion) 및 나노입자(nanoparticle) 제조 방법

나노현탁액

마이셀, 소포(vesicle), 역마이셀(reverse micelle) 등 자기조립 방법으로 형성되는 나노콜로이드(nanocolloid)는 극성, 비극성, 양쪽성의 기능성 물질을 포함할 수 있는데, 제조 시 이용된 계면활성제의 종류 및 농도, 온도, 이온 농도, pH 등의 제조 환경을 조절하여 5-100 nm 정도의 콜로이드 용액을 제조할 수 있다.[36-39] 마이셀이나 소포는 기능성 물질의 캡슐화, 방출조절 등에 이용할 수 있다.[6, 34] 식품산업에서 널리 이용되는 유화액(emulsion)은 2종류의 열역학적으로 불안정한 서로 섞이지 않는 물질을 단순 (oil-in-water 또는

water-in-oil) 및 다중(multiple) 시스템에 골고루 분산한 것으로, 친수성 및 친유성을 갖는 물질(유화제)이 2가지 상의 계면에서 열역학적 불안정성을 해소하는데 도움을 준다. 나노유화액은 유화제에 의해 지용성 코어를 수용성 연속상으로부터 격리시키는데 이용될 수 있으며 지용성 생리활성물질의 나노캡슐화에 적합하다. 나노유화액의 형성을 위하여 초고압균질화가 이용되는데 분산될 액체는 균질기 내의 작은 틈을 통과할 때 전단력에 의하여 나노크기의 droplet들로 균질화된다. 나노크기로 작아진 droplet들의 계면에는 유화제가 부착되어 얇은 막을 형성하며 이는 droplet간의 재결합을 방지하여 큰 droplet들이 형성되는 것을 막아주며 유화액에 안정성을 부여한다. 이때 유화제로 이용되는 천연 소재로는 단백질이나 인지질 등이 있다. 나노유화액 제조 시 유화제의 종류 및 농도, 제조 용액의 pH, 온도, 이온농도, 점도, 균질기의 압력, 전단력 등의 적절한 선택과 조절을 통하여 50 nm 이하 크기를 갖는 droplet을 만들 수 있다.[40, 41]

나노입자

탄수화물 및 단백질과 같은 식품 유래 폴리머를 자기조립이 될 수 있도록 조절하여 나노구조를 제조하는 것에 이용할 수 있다. 자기조립에 의한 정형화된 구조를 형성할 수 있는 물질이 되기 위해선 두 가지의 요소가 동시에 존재하여야 하는데 상대적으로 긴 시간의 척력(열역학적 불일치, 상 분리, 쿨롱 척력 등)과 단 시간의 인력(공유결합, electric dipole interaction 등)이 중요한 요소이다.[3] 형성된 자기조립 구조의 특성은 폴리머의 크기 및 형태, 제조 용액의 조성, 외부 영향 등에 의존한다.

친수성콜로이드(hydrocolloid) 용액에 알코올 또는 아세톤을 가하여 물에 대한 용해성을 감소시켜 나노크기의 coacervate 형성을 유도하는데 이 과정을 coacervation이라 한다.[42, 43] 제조된 coacervate 내부에 형성된 다공성(porous) 구조 안에 기능성 물질을 포집시킬 수 있으며 제조 시 pH, 정전기적 인력 및 척력 등이 coacervate의 크기 및 특성에 주된 영향을 준다. 전해질 나노구조체는 서로 반대의 전하를 갖는 전해질을 결합시키는 이온젤화(ionic gelation)와 이들을 교대로 흡착시키는 layer-by-layer absorption 방법으로 제조되어 이용될 수 있다.[44, 45]. 전해질을 이용한 대표적인 나노구조는 양전하 고분자전해질인 키토산과 음전하 전해질인 tripolyphosphate(TPP)를 이용하는 시스템이며, 키토산의 중합도, pH, 염농도 등의 조절을 통하여 다양한 크기의 입자를 만들 수 있다.[21, 46, 47]

결 론

현재 부각되고 있는 나노기술은 다양한 식품 분야에 급속도로 응용되어 식품산업에 큰 영향을 줄 것으로 예상된다. 식품 나노기술을 이용하여 식품기술을 한 단계 더 발전시키고 나노소재를 적용한 신소재 식품의 개발을 통하여 식품의 품질 및 안전성을 및 향상을 기대하고 있다. 특히, 건강기능성 물질을 함유한 나노현탁액 및 나노입자를 이용하여 생리활성을 극대화 한 기능성 식품 개발은 빠르게 연구가 진행되고 있는 분야이다.

나노현탁액 및 나노입자의 첨가된 식품과 포장재와 같은 식품 접촉면에 나노물질의 이용은 유용성 때문에 많은 주목을 받고 있으나 현재 나노물질(또는 기술) 적용의 장점과 잠재 위해성 사이에서 많은 논란이 진행되고 있다. 영국의 왕립 공학아카데미(Royal Society and the Royal Academy of Engineering)에 따르면 이러한 현상의 주된 이유는 현재까지 나노물질의 생체 내 축적 또는 유발독성의 잠재성에 대한 지식 및 정보가 부족한 상태이기 때문이라고 판단하고 있다. 나노기술의 올바른 적용을 위해서는 나노식품의 잠재 위해성을 체계적으로 검증하고 소비자가 나노기술이 적용된 제품의 장점 및 위해성에 관한 정보를 쉽게 접근할 수 있게 하여 나노기술이 이용된 제품을 현명하게 선택하도록 하는 것이 중요하다.

감사의 글

본 연구는 2008년도 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 :20070401080043)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 지원에 감사 드립니다.

참고 문헌

1. Lopez-Rubio, A., Gavara, R. and Lagaron, J. M. Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. *Trends in Food Science & Technology* 17(10):567-575(2006)
2. Roco, M. C. Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine. *Current Opinion in Biotechnology* 14:337-346(2003)
3. Forster, S. and Konrad, M. From self-organizing polymers to nano- and biomaterials. *Journal of Materials chemistry* 13(11):2671-2688(2003)
4. Kim, C. K. and Park, J. S. Solubility enhancers for oral drug delivery: Can chemical structure manipulation be avoided? *ChemInform* 37(37)(2006)
5. Beduneau, A., Saulnier, P. and Benoit, J.-P. Active targeting of brain tumors using nanocarriers. *Biomaterials* 28(33):4947-4967(2007)
6. Torchilin, V. P. Multifunctional nanocarriers. *Advanced Drug Delivery Reviews* 58(14):1532-1555(2006)
7. Desai, M. P., Levy, R. J., Labhasetwar, V. and Amidon, G. L. Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size. *Pharmaceutical Research* 13(12):1838-1845(1996)
8. Weiss, J., Takhistov, P. and McClements, D. J. Functional Materials in Food Nanotechnology. *Journal of Food Science* 71(9):R107-R116(2006)
9. Langer, K., Balthasar, S., Vogel, V., Dinauer, N., vonBriesen, H. and Schubert, D. Optimization of the preparation process for human serum albumin (HSA) nanoparticles. International Journal of *Pharmaceutics* 257(1-2):169-180(2003)
10. Jalil, R. and Nixon, J. R. Biodegradable Poly(Lactic acid) and Poly(Lactide-co-glycolide) microcapsules-problems associated with preparative techniques and release properties. *Journal of Microencapsulation* 7(3):297-325(1990)
11. Edlund, U. and Albertsson, A. C., *Degradable polymer microspheres for controlled drug delivery,* in *Degradable Aliphatic Polyesters: Advances in Polymer Science,* A.C. Albertsson, Editor. 2002, Springer-Verlag: Berlin. p. 67-112.
12. O'Hagan, D. T., Singh, M. and Gupta, R. K. Poly(lactide-co-glycolide) microparticles for the development of single-dose controlled-release vaccines. *Advanced Drug Delivery Reviews* 32(3):225-246(1998)
13. Brannon-Peppas, L. Recent advances on the use of biodegradable microparticles and nanoparticles in controlled drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics* 116(1):1-9(1995)
14. Allemann, E., Jean-Christophe, L. and Gurny, R. Polymeric nano- and microparticles for the oral delivery of peptides and peptidomimetics. *Advanced Drug Delivery Reviews* 34(2-3):171-189(1998)
15. Viswanathan, N. B., Patil, S. S., Pandit, J. K., Lele, A. K., Kulkarni, M. G. and Mashelkar, R. A. J. Morphological changes in degrading PLGA and P(DL)LA microspheres: implications for the design of controlled release systems. *Journal of Microencapsulation* 18(6):783-800(2001)
16. Dimantov, A., Greenberg, M., Kesselman, E. and Shimoni, E. Study of high amylose corn starch as food grade enteric coating in a microcapsule model system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 5(1):93-100(2004)
17. Mattila-Sandholm, T., Myllarinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fonden, R. and Saarela, M. Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal* 12(2-3):173-182(2002)
18. Kuhn, G. O., McCampbell, P., Singmaster, G., Arneson, D. W. and Jameson, C. W. Application of microencapsulation technology to improve the stability of citral in rodent diets. *Fundamental and Applied Toxicology* 17(3):635-640(1991)
19. Lazko, J., Popineau, Y. and Legrand, J. Soy glycinin microcapsules by simple coacervation method. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 37(1-2):1-8(2004)
20. Gan, Q. and Wang, T. Chitosan nanoparticle as protein delivery carrier--Systematic examination of fabrication conditions for efficient loading and release. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 59(1):24-34(2007)
21. Gan, Q., Wang, T., Cochrane, C. and McCarron, P. Modulation of surface charge, particle size and morphological properties of chitosan-TPP nanoparticles intended for gene delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 44(2-3):65-73(2005)
22. Mao, H.-Q., Roy, K., Troung-Le, V. L., Janes, K. A., Lin, K. Y., Wang, Y., August, J. T. and Leong, K. W. Chitosan-DNA nanoparticles as gene carriers: synthesis, characterization and transfection efficiency. *Journal of Controlled Release* 70(3):399-421(2001)
23. Rhaese, S., vonBriesen, H., Rubsamen-Waigmann, H., Kreuter, J. and Langer, K. Human serum albumin-polyethylenimine nanoparticles for gene delivery. *Journal of Controlled Release* 92(1-2):199-208(2003)
24. Vural, I., Kas, H. S., Hincal, A. A. and Cave, G. Cyclophosphamide loaded albumin microspheres: 2. Release

characteristics. *Journal of Microencapsulation* 7(4):511-516(1990)
25. Gupta, P. K. and Hung, C. T. Albumin microspheres 1: Physicochemical characteristics. *Journal of Microencapsulation* 6(4):427-462(1989)
26. Andry, M. C. and Levy, M. C. In vitro degradation of serum albumin microcapsules: effect of process variables. *International Journal of Pharmaceutics* 152(2):145-151(1997)
27. Arnedo, A., Espuelas, S. and Irache, J. M. Albumin nanoparticles as carriers for a phosphodiester oligonucleotide. *International Journal of Pharmaceutics* 244(1-2):59-72(2002)
28. Drusch, S. and Schwarz, K. Microencapsulation properties of two different types of n-octenylsuccinate-derivatised starch. *European Food Research and Technology* 222(1-2):155-164(2006)
29. Sarmento, B., Ferreira, D. C., Jorgensen, L. and van de Weert, M. Probing insulin's secondary structure after entrapment into alginate/chitosan nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 65(1):10-17(2007)
30. Sarmento, B., Ferreira, D., Veiga, F. and Ribeiro, A. Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies. *Carbohydrate Polymers* 66(1):1-7(2006)
31. Gibbs, B. F., Kermasha, S., Alli, I. and Mulligan, C. N. Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 50(3):213-224(1999)
32. Shahidi, F. and Han, X. Q. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 33(6):501-547(1993)
33. Shiloach, A. and Blankschtein, D. Measurement and prediction of ionic/nonionic mixed micelle formation and growth. *Langmuir* 14(25):7166-7182(1998)
34. Kwon, S. Y. and Kim, M. W. Nano-control of self-assembled biomolecular structures. *Current Applied Physics* 2(1):71-78(2002)
35. Israelachvili, J. N., Mitchell, D. J. and Ninham, B. W. Theory of self-assembly of lipid bilayers and vesicles. *Biochimica et Biophysica Acta* 470(2):185-201(1977)
36. Garti, N., Spernath, A., Aserin, A. and Lutz, R. Nano-sized self-assemblies of nonionic surfactants as solubilization reservoirs and microreactors for food systems. *Soft Matter* 1(3):206-218(2005)
37. Garti, N., Shevachman, M. and Shani, A. Solubilization of lycopene in jojoba oil microemulsion. *Journal of the American Oil Chemists Society* 81(9):873-877(2004)
38. Golding, M. and Sein, A. Surface rheology of aqueous casein-monoglyceride dispersions. *Food Hydrocolloids* 18(3):451-461(2004)
39. Flanagan, J. and Singh, H. Microemulsions: A potential delivery system for bioactives in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46(3):221-237(2006)
40. Tan, C. P. and Nakajima, M. [beta]-Carotene nanodispersions: preparation, characterization and stability evaluation. *Food Chemistry* 92(4):661-671(2005)
41. McClements, D. J. and Decker, E. A. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *Journal of Food Science* 65(8):1270-1282(2000)
42. Lin, W., Garnett, M. C., Davies, M. C., Bignotti, F., Ferruti, P., Davis, S. S. and Illum, L. Preparation of surface-modified albumin nanospheres. *Biomaterials* 18(7):559-565(1997)
43. Irache, J. M., Bergougnoux, L., Ezpeleta, I., Gueguen, J. and Orecchioni, A.-M. Optimization and in vitro stability of legumin nanoparticles obtained by a coacervation method. *International Journal of Pharmaceutics* 126(1-2):103-109(1995)
44. Johnston, A. P. R., Cortez, C., Angelatos, A. S. and Caruso, F. Layer-by-layer engineered capsules and their applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 11(4):203-209(2006)
45. Chen, L. and Subirade, M. Chitosan/[beta]-lactoglobulin core-shell nanoparticles as nutraceutical carriers. *Biomaterials* 26(30):6041-6053(2005)
46. Zhang, H., Oh, M., Allen, C. and Kumacheva, E. Monodisperse chitosan nanoparticles for mucosal drug delivery. *Biomacromolecules* 5(6):2461-2468(2004)
47. Tsai, M. L., Bai, S. W. and Chen, R. H. Cavitation effects versus stretch effects resulted in different size and polydispersity of ionotropic gelation chitosan-sodium tripolyphosphate nanoparticle. *Carbohydrate Polymers* 71(3):448-457(2008)