

고기능성 식품나노체 제조기술

Novel Fabrication Technology of Food Nanoemulsions

김종태 · 김철진 · 조용진 · 김양하¹ · 김인환² · 최애진

Chong-Tai Kim*, Chul-Jin Kim, Yong-Jin Cho, Yangha Kim¹, In-Hwan Kim², Ae-Jin Choi

한국식품연구원 식품나노바이오연구단, ¹이화여자대학교 식품영양학과, ²고려대학교 식품영양학과

Food Nano-Biotechnology Research Group, Korea Food Research Institute

¹Department of Food and Nutritional Science, Ewha Womans University

²Department of Food and Nutrition, Korea University

서론

나노기술은 일반적으로 0.1-200 nm 크기의 극도로 작은 물질의 현상과 나노 크기의 재료를 이용한 구조, 장치 및 시스템을 다루는 기술로서, 1 나노미터(nm)는 10억분의 1 m(10^{-9} m) 크기이다. 나노 크기를 보다 이해가 될 수 있는 개념은 DNA 2.5 nm, 단백질 분자 5 nm, 적혈구 세포 7,000 nm 및 사람의 머리카락 굵기 80,000 nm 등의 크기에 대한 비교를 통하여 이해하면 될 것 같다. 식품에 있어 나노기술은 식품성분 표면적의 상호작용을 조절하는 기술 및 시스템 개발이 최종 목표가 될 것이다. 예를 들면, 분쇄한 커피콩에 있어 입자가 큰 경우와 작은 경우는 커피를 추출 용매(물)에 있어 매우 다른 표면적 특성을 제공하게 되는데, 체내 흡수능을 고려할 경우 소장의 용모는 나노 크기의 세포관으로 이루어진 것을 인지해야 할 것이다.

식품나노기술은 식품의 영양소 섭취 또는 변화 조절을 가능하게 할 수 있는 기술이기 때문에 강화식품 또는 건강기능식품 산업의 시장규모를 크게 확대시킬 수 있는 잠재력을 가지고 있다. 식품산업 분야에서의 나

노기술은 크게 나노에멀전, 나노포장재, 나노센서, 생물고분자와 기능성 소재를 이용한 나노소재 및 제품 개발 등으로 구분할 수 있다(1). 이러한 관점에서 식품분야에서 나노기술의 응용은 식품산업에서 현재까지 해결과제로 대두되고 있는 식품 기능성분의 용해도, 체내 흡수율 및 생체이용도 증진 등과 같은 문제를 효과적으로 해결할 수 있는 가능성이 제기되면서 차, 식용유, 비타민 보조제, 식의약품제 등을 생산하는 기술개발에 적용하려는 시도가 국내외 식품업체를 중심으로 시도되고 있다. 동시에 식품산업에서는 기업체의 신상품 개발에 대한 투자가 증대되면서 신규 시장의 주도권 장악을 위한 경쟁이 가속화되고 있다. 특히, 건강과 윤택한 생활을 추구하는 소비계층이 급속도로 형성되고 있는 최근 상황에서 새로운 형태의 식품설계 및 상품화는 나노기술을 통하여 가능할 것이라는 예측이 나오고 있다.

현재까지 나노기술에 의하여 기능성을 향상시킨 식품이 시장에 출시된 예를 몇 가지 살펴보면 다음과 같다. 이스라엘 식품회사가 개발한 “Canola Active”는 나노 크기의 lipid micelles을 제조함으로써 장관 내

*Corresponding author: Chong-Tai Kim, Food Nano-Biotechnology Research Group, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea
Tel: +82-31-780-9138
Fax: +82-31-780-9257
E-mail: ctkim@kfri.re.kr

에서 용해도와 흡수증진은 물론 canola에 함유된 phyto-sterol을 체내에 공급할 수 있는 특징을 갖는다. 미국 식품업체가 개발한 제품은 "OilFresh"-가열 중 유지의 변패 지연 촉매제, 비타민의 흡수증대를 위한 나노스프레이 비타민 보조제, 다양한 형태의 NanoCeuticals(돼지감자 나노클러스터) 등이 출시되었다. 한편, 일본 연구진에 의하여 개발된 나노분산성의 베타-카로텐은 용해도와 생체이용성을 증진시킬 수 있는 특징을 갖으나, 나노분산상에서 베타-카로텐은 화학적으로 불안정하며, 품질특성은 분산에멀전의 평균입자 크기에 좌우됨을 확인하였다(2). 이같이 나노기술을 통한 기존 식품소재의 품질개선 또는 기능성이 향상된 형태의 제품 및 이를 생산하기 위한 기술개발은 시작단계에 불과하며, 향후 새로운 나노기술이 접목된 형태의 제품개발이 급진전될 뿐만 아니라 이에 따른 식품시장의 규모도 크게 확대될 것으로 예상된다. 따라서 본고에서는 나노에멀전화 기법을 이용한 식품나노에멀전의 제조방법과 산업적 응용기술에 관하여 논해 보기로 한다.

나노에멀전의 정의 및 형성 기작

나노에멀전은 입자의 크기가 20-200 nm 범위에 속하는 에멀전을 말하며(3), 이의 또 다른 명칭도 miniemulsions(4,5), fine-disperse emulsions(6), sub-micron emulsions(7), unstable microemulsions(8) 및 translucent emulsions(9) 등과 같이 분야에 따라서 다양하게 불리고 있다. 이러한 나노에멀전의 형성기작에 대하여는 다음과 같은 3가지 이론이 제기되고 있다.

- 1) Fixed film 이론: 계면막(interfacial film)이 물과 기름의 계면이 각기 다른 특성을 갖는 duplex film으로 고려한 이론(10).
- 2) 용해화 이론: 물 또는 탄화수소로 용해화된 단일상계와 같이 팽윤된 마이셀계로 고려한 이론(11).
- 3) 열역학적 이론: 나노에멀전 형성에 있어서 계면 자유에너지, 액체구간의 상호작용 에너지 및 엔트로피 등과 같이 각기 다른 항으로 구성되는 자유에너지가 존재하는 이론(12)으로 계면 자유에너지는 매우 낮거

나 약간의 음의 값을 나타낼 때 나노에멀전 형성이 가능하다.

식품 에멀전은 일반적으로 기계적인 혼합 및 음과 에너지를 기름, 물 및 유화제 등으로 구성되는 혼합물에 적용함으로써 제조할 수 있는데, 사용하는 유화제가 분산상과 연속상 사이에 형성되는 경계층(interfacial layer)을 안정화시키는 역할을 함으로서 에멀전의 안정도에 영향을 미치는 중요한 인자가 된다. 일반 에멀전(macroemulsion)은 불투명하고 에멀전의 크기가 0.2-10 μm 정도가 되며, 동력학적으로는 안정하나, 열역학적 측면에서는 불안정한 특징을 갖는다. 한편, 나노 에멀전은 5-100 nm 입자크기를 갖고 열역학적으로 안정하면서 투명한 상태를 유지하게 되는데, 에멀전 제조에 사용한 계면활성제 분자의 친수성 및 친유성 부위가 자발적인 자기결합이 이루어짐으로서 에멀전을 형성하게 된다. 나노에멀전은 입자가 매우 작기 때문에 중력가속도와 브라운 운동이 현저하게 감소하여 저장기간 중, 응결(flocculation), 입자가 표면 또는 바닥 쪽으로 농축되는 크리밍(creaming), 응집(coalescence)등의 현상에 의한 층분리가 일어나지 않는다.

또한 나노에멀전은 식품 내의 기능성분의 강한 장내 자극 효과 및 향미를 감소시킬 수 있는 방법으로 제공될 수 있으며, 카로테노이드와 같이 외부의 환경에 대한 안정성이 떨어지며 쉽게 산화되는 성분의 경우(13), 나노에멀전은 수용성 및 비수용성 성분을 캡슐화할 수 있는 특성을 부여하기 때문에 제품의 제조, 저장, 운송, 유통 중에 발생할 수 있는 화학적 분해로부터 기능성분의 보호 및 특이한 환경조건에서 반응하여 방출조절 특성을 갖는 제품에 응용할 수 있다. 또한, 제조공정의 간편성 및 저비용의 경제적인 가공기술이라는 특징으로 인하여 미래 식품산업에서 활용 가능성이 크다(14).

단일상 에멀전

단일상 에멀전(single phase emulsions)은 유상, 수상, 계면활성제(유화제)와 보조유화제 등이 특정 농도 범위에서 조화를 이룰 때 형성되기 때문에 열역학적으로 안정하고 등방성 혼합물(isotropic mixture)을 형

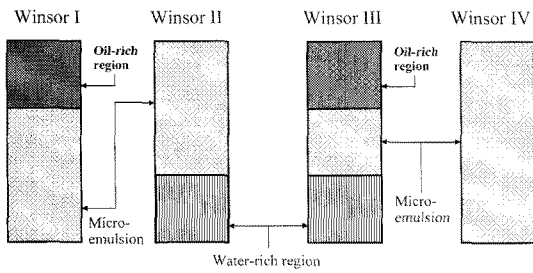


그림 1. 유상 및 수상 나노에멀전 형성기작을 나타내는 Winsor 모델(15).

성한다. 일반적으로 30% 이하의 유상의 농도에서는 수중유적형(oil-in-water(O/W)) 에멀전의 형성되고, 반대의 경우에는 유중수적형(water-in-oil(W/O))의 에멀전이 형성된다. 이러한 수중유적형과 유중수적형 에멀전은 유상-수상-유화제의 특정 농도범위에서 마이셀(micellar), 역마이셀(reverse micellar), lamellar와 비연속상(bicontinuous phase) 등의 다른 형태로 존재할 수 있다. 마이셀과 역마이셀은, 유상 혹은 수상이 각각 존재하는 않는 조건에서 계면활성제의 자발적인 자기결합(spontaneous self-assembly)에 의해 형성될 수 있다(15).

복합상 에멀전

복합상 에멀전(multiple phase emulsions)은 과잉의 기름 혹은 과잉의 물로 평형상태가 유지될 때 공존하게 되는데, 계면활성제 함량이 충분하지 않거나 에멀전 성분의 조성변화 혹은 온도변화를 제공하는 새로운 성분을 첨가함으로써 상과 상간의 전이가 유도되면서 형성된다. 이러한 복합상 에멀전 형성의 상변화는 에멀전을 4가지 형태로 분류한 Winsor 모델 분류법(16)으로 설명할 수 있다(그림 1). Winsor 모델 I형 에멀전은 윗상의 계면활성제 용액과 아랫상의 에멀전이 평형을 이루고 있는 형태이고, Winsor 모델 II형은 아랫상의 계면활성제 용액과 윗상의 에멀전이 평형을 이루고 있는 형태이다. Winsor 모델 III형은 단일상의 에멀전이 계면활성제 용액 중간에서 평형을 이루고 있는 형태로 분류되며, Winsor 모델 IV형은 단일상의 균질한 에멀전을 형성하는 시스템으로 설명할 수 있다(15).

식품 나노에멀전의 분류

단일 나노에멀전

O/W 단일 나노에멀전(single nanoemulsions)은 기름상이 계면활성제의 얇은 경계층(interfacial layer)에 의해 감싸지면서 비연속상의 물 안으로 포집되면서 형성되며(15), 반대의 경우에는 W/O 나노에멀전이 형성된다. O/W 나노에멀전의 기름 입자크기와 농도는 유화제의 특성에 따라 조절할 수 있다(17). O/W 나노에멀전은 수용성 유화제와 함께 기름과 물을 고전단 혼합장치와 고압균질기, 콜로이드밀, 초음파 균질기 및 막균질기 등을 사용하는 균질화 방법으로 제조할 수 있다(18). O/W 나노에멀전은 다양한 생리활성 지질성분의 생체전달시스템과 캡슐화에 활용할 수 있는데, 예를 들면 ω -3 지방산의 캡슐화 및 우유, 요구르트, 아이스크림 등에 있어서 유용성분의 포집(incorporating)을 통한 체내 전달시스템으로 이용될 수 있다(19-21). 이러한 나노에멀전을 이용한 전달 시스템은 기름입자 내부의 불포화지방산의 산화방지 효과도 있다(19).

복합 에멀전

복합 에멀전(multiple emulsions)의 가장 일반적인 형태는 water-in-oil-in-water(W/O/W) 에멀전과 oil-in-water-in-oil(O/W/O) 에멀전으로 구분할 수 있다(22,23). W/O/W 에멀전은 작은 물 입자 또는 역마이셀(W_1)이 기름 입자 내에 존재된 상태로 물의 연속상(W_2)에 함유된 상태의 에멀전 형태이다. 복합에멀전 중 $W_1/O/W_2$ 나노에멀전은 지용성 유화제와 함께 기름상을 물에 균질화시켜 W/O 에멀전을 제조한 다음, 수용성 유화제가 첨가된 물 안으로 미리 제조한 W/O 에멀전을 균질화시킴으로써 제조할 수 있다. 이러한 W/O/W 나노에멀전은 β -carotene(24)과 ω -3 지방산(25,26)과 같은 지용성 생리활성 및 비타민 B(27,28) 인슐린(26), 아미노산(27,29) 등과 같은 수용성 생리활성 성분들의 캡슐화 방법으로도 활용되고 있다. $W_1/O/W_2$ 나노에멀전은 체내 전달시스템으로 활용할 경우 지용성과 수용성 생리활성 성분들을 동시에 안정한 형태로 제조할 수 있는 캡슐화 방법이다

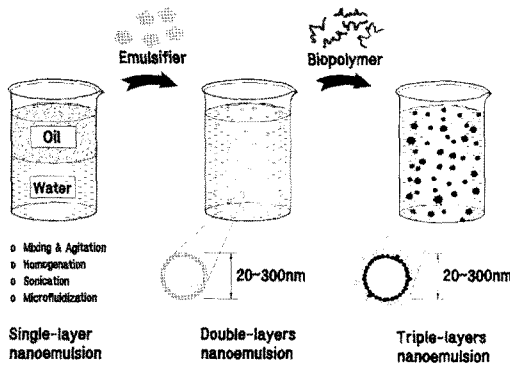


그림 2. 단일, 이중 및 삼중 층 나노에멀전 제조 원리.

(27).

다층 에멀전

다층 나노에멀전(multilayer O/W nanoemulsions)은 유화제나 biopolymer 등으로 이루어진 nano-laminated 경계층에 의해 감싸진 각각의 작은 기름입자들을 물 입자 속으로 균질화시킴으로서 제조할 수 있다(그림 2). 다층 나노에멀전의 박막은 layer-by-layer electrostatic deposition 방법에 의하여 형성시킬 수 있는데, 이 과정에서 반대 전하를 띠는 콜로이드 입자 표면에 다가 전해질이 연속적으로 흡착하게 된다. 균질화 방법으로 이온성 유화제를 기름방울 표면에 신속하게 흡착시켜 1차 에멀전을 제조하고, 반대 전하를 갖는 다가 전해질을 첨가하여 에멀전 표면에 흡착시키게 되면 2개의 박막층으로 감싸진 2차 에멀전이 형성되며, 필요시 3개 이상의 박막층을 사용하여 기름방울을 감싸 다층 에멀전을 형성할 수 있다(30,31). 다층 나노에멀전은 경계층의 구성 성분과 특성을 조절하여 외부 환경에 대한 물리적인 안정성과 캡슐화된 성분의 화학적인 안정성을 향상시킬 수 있는 장점이 있다(19,32,33). 다층 나노에멀전은 단일 나노에멀전에 비하여 특히 냉동 및 해동, 열처리, 고농도의 칼슘 등과 같은 조건에서 보다 큰 안정성을 보이며(30,34-36), 또한 지방과 수용성 prooxidants 중의 하나인 철 분 사이의 상호작용을 방해함으로써 산화방지에 효과적이다(37).

식품 나노에멀전의 제조방법

식품 나노에멀전 제조 기술

식품 나노에멀전은 고에너지 에멀전화, 고전단 교반, 고압균질화 및 초음파 등의 방법으로 제조할 수 있으며, 최근에는 초미립자의 droplets 형성을 촉진하고 에멀전의 phase behavior에 안정적인 저에너지 에멀전화(38) 방법이 사용하고 있다. 이러한 저에너지 에멀전화 기술은 자기결합(self-assembly) 에멀전화(5,39,40), 자발적(spontaneous) 에멀전화, phase transition(3,41) 및 phase inversion temperature 방법(42-44) 등이 지속적으로 활용되고 있다. 이중 식품 나노에멀전 제조에 적용성이 높은 자기결합 에멀전화 방법은 기름상, 유화제, 보조유화제의 isotropic mixture를 물의 연속상에 혼입하면서 안정한 O/W 나노에멀전을 제조할 수 있다. 또한, 자기결합 구조체는 W/O 나노에멀전도 제조가 가능하며, 폭 넓은 농도범위에서 나노 에멀전의 안정성을 유지할 수 있는 것이 큰 장점이다(45). 한편, 나노에멀전의 제조는 비교적 쉽게 제조할 수 있으나, 나노에멀전의 최적 제조조건과 품질특성 구명은 많은 시행오차를 거쳐 확인할 수 있는데, 가장 대표적인 것이 삼상도(pseudoternary phase diagram) 작도에 의한 방법이다. 이 방법은 나노에멀전을 구성하는 물, 지방 및 계면활성제 성분이 각각 다른 농도로 존재하면서 형성되는 나노에멀전 조성물의 상(phase)의 상태를 단일상, 이상, 삼상 및 결정상 영역 등을 상도표에 표시하여 최종 목표로 하는 나노에멀전의 형성조건을 확인할 수 있다. 그림 3은 지용성 생리활성 성분, 물 및 계면활성제로 이루어지는 에멀전 조성물의 삼상도를 나타낸 것이다. 그림에서 타원형 영역에 속하는 조성물은 나노 크기를 갖는 단일상의 나노에멀전이며, 타원형 외부 영역은 이상 또는 삼상 및 결정형태의 마이크로미터 수준의 에멀전이 존재하는 것을 나타낸다. 따라서 나노에멀전은 지용성 생리활성 성분, 물 및 계면활성제 성분이 타원형 내 영역에 포함되는 비로 조성되어야만이 100 나노 크기 이하의 에멀전을 제조할 수 있다(46).

자발적 에멀전화 방법은 기름상, 물, 유화제, 보조유화제를 최적의 비율로 혼합하여 지속적으로 교반하면서

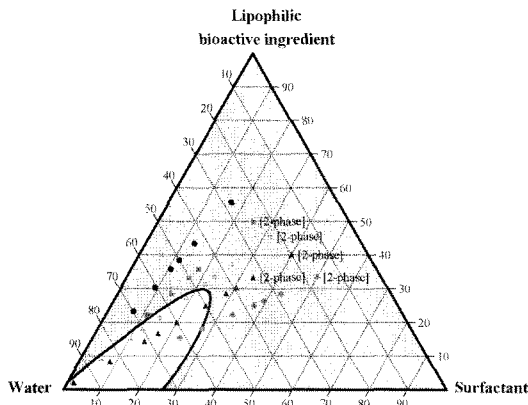


그림 3. 지용성 생리활성 성분, 물 및 계면활성제의 조성비 변화에 따른 단일상, 이중상 및 결정상 영역을 나타내는 나노에멀전 삼상도.

각 성분들의 자발적인 결합을 유도함으로써 나노에멀전을 제조할 수 있는데, 기름상과 유화제의 종류에 따라서 성분의 배합비율의 조건을 선정하는 것이 가장 중요하다. 이러한 자발적 에멀전화 방법은 낮은 에너지를 투입하여 나노에멀전을 제조할 수 있는 기술이지만, 나노에멀전 형성의 평형상태에 도달하는 시간이 긴 것이 단점이다(47). Phase transition 방법은 일정한 온도에서 기름상과 유화제의 혼합물에 물을 적정하는 방법으로 조금씩 첨가할 때 상변이에 의해 나노에멀전을 제조되고(48), phase inversion temperature 방법은 에멀전에 첨가된 비이온성 유화제의 HLB(hydrophile-lipophile balance) 온도 범위에서 빠른 온도 변화에 따른 상전환에 의해 나노에멀전을 제조할 수 있는 방법이다. 초기 에멀전계의 HLB 온도에서 비연속적인 마이크로에멀전을 형성하거나 두 개의 상을 형성하고 있을 경우, 나노에멀전은 신속하게 제조할 수 있다(49).

한편, 이산화탄소를 사용하는 초임계유체 공정에 의한 나노에멀전 제조방법은 고압조건하에 수용성 및 지용성 물질을 용해화시킴과 동시에 강한 분자결합력에 의한 고도의 액체구조체를 형성되게 함으로서 나노에멀전 제조가 가능하다. 초임계 압력 및 온도에 따른 나노에멀전 제조결과, 초임계 압력 2,000 psi에서 온도 15 및 25°C에서 420 nm, 35°C에서 300 nm, 55°C에서 200 nm 크기의 나노에멀전 제조가 가능하고, 초

임계압력 4,000 psi에서는 36 및 47°C에서 각각 130 및 150 nm, 62°C에서 250 nm 크기의 나노에멀전 제조가 가능하였다. 한편, 초임계압력 6,000 psi에서는 55°C에서 120 nm, 70°C에서는 67 nm 크기의 나노에멀전이 형성되었다. 이와 같이 초임계유체 공정에서 초임계압력은 6,000 psi가 나노에멀전 형성에 효과적인 영향을 미치는 것을 알 수 있으며, 온도의 영향도 존재한다고 판단된다(46).

식품 나노에멀전 제조용 계면활성제, biopolmer 및 지방

식품 나노에멀전을 제조하는데 있어서 관여하는 성분 인자는 크게 계면활성제, 보조 계면활성제, 지방 등으로 구분할 수 있으며 각 성분별로 자세한 특이사항을 살펴보면 다음과 같으며 대표적인 생리활성 성분 전달시스템을 제조를 위한 식품에멀전 제조용 주원료의 특성과 적용분야를 표 1에 나타내었다.

1) 계면활성제(Surfactant)

계면활성제는 유화제 또는 양친성 화합물로도 지칭되며, 나노에멀전 제조 시 경계면 장력을 감소시키는 중요한 역할을 한다. 계면활성제의 친유성 말단부와 극성 용매의 상호작용이 감소하는 엔탈피에 의하여 경계면 장력이 감소함으로써 에멀전계 전체의 총괄 자유에너지를 떨어뜨림으로서 나노에멀전이 형성되게 한다. 희석 용액상에서 계면활성제는 단량체로 존재하나 일정 농도 이상(critical micelle concentration; CMC)에서 계면활성제 분자는 자발적으로 마이셀을 형성하기 위하여 회합을 하게 된다. 계면활성제의 친유성 말단부의 강한 상호작용이 유도되면 마이셀(micelle)이 형성되고, 계면활성제의 극성부의 친수성 상호작용이 작용하면 역마이셀(reverse micelle)이 형성된다. 형성되는 마이셀의 형태는 마이셀을 구성하는 계면활성제의 packing parameter에 영향을 받게 되는데, critical packing parameter(CPP)는 아래 식에 의하여 계산할 수 있다.

$$CPP = v / \alpha \cdot l$$

여기서, v 는 계면활성제 친유성 부분의 partial

표 1. 생리활성 성분 전달시스템 제조를 위한 식품에멀전 제조용 주원료(14)

Name	Important characteristics	Examples
Surfactants	Solubility(HLB) Head group charge Molecular geometry Surface load at saturation	Non-ionic: Tween, Span Anionic: SLS, DATEM, CITREM Cationic: lauric alginate Zwitterionic: lecithin
Biopolymers	Molar mass Conformation Charge Hydrophobicity Flexibility	Globular proteins: whey, soy, egg Flexible proteins: casein, gelatin Nonionic polysaccharides: starch, dextran, agar, dextran, galactomannans, cellulose Anionic polysaccharides: alginate, pectin, xanthan, carrageenan, gellan, gum arabic Cationic polysaccharides: chitosan
Lipids	Nonpolarity Chemical stability	Animal fats: beef, pork, chicken Fish oils: cod liver, menheadan, salmon, tuna Plant oils: palm, coconut, sunflower, safflower, corn, flax seed, soybean Flavor oils: lemon, orange

molar volume, α 는 optimal head group area, l 은 extended surfactant chain length이며, 계면활성제의 임계길이 l_c 는 l 로서 유추가 가능한데 일반적으로 l_c 는 l 의 70-80% 정도로 추정한다. 그림 4는 에멀전 제조용 용액의 친수성과 친유성 활성기의 영향(CPP)에 따른 계면활성제의 분자구조 및 배열을 나타낸 것이다(15). 이온성 계면활성제의 유효 head group 면적을 감소시키면 head group의 선별과 이중층의 위축현상이 일어나며, 글리세롤 또는 솔비톨 같은 친수성 분자를 첨가하면 수용상에서 head group의 용해도를 변화시켜 최적 head group의 면적에 영향을 미친다. CPP와는 별도로 hydrophilic-hydrophobic balance(HLB)도 계면활성제의 친수성 및 친유성 부분의 상대적 작용을 설명할 수 있다. 일반적으로 계면활성제의 HLB가 3-8 범위에 속할때 water-in-oil 에멀전을, HLB가 8-18 범위에 속할때 oil-in-water 에멀전을 형성하는 것으로 알려져 있다.

계면활성제는 비이온성(nonionic), 양쪽성(zwitterionic), 양이온성(cationic), 음이온성(anionic) 등으로 구분할 수 있는데, 비이온성 계면활성제(sorbitan monooleate, polyoxyethylene ether)는 비교적 낮은

독성 및 자극성이 있기 때문에 의약품 에멀전 제조에 주로 사용한다. 인지질은 대표적인 양쪽성 계면활성제 중의 하나인데, GRAS로 지정되어 나노에멀전 제조에 가장 많이 사용하고 있으며, 상업적 생산이 되고 있

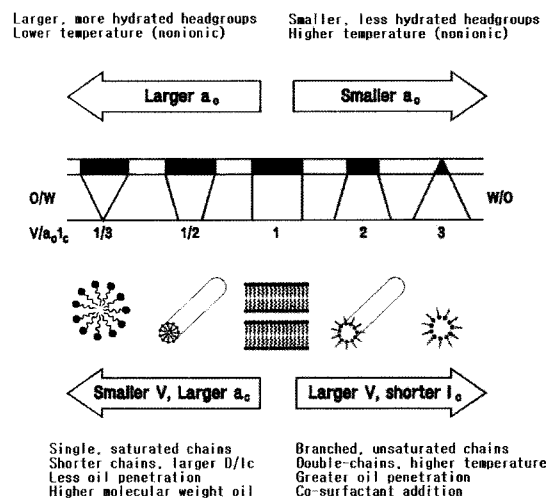


그림 4. 에멀전 제조용 용액의 친수성과 친유성 활성기의 영향 및 그에 따른 계면활성제의 분자구조 및 배열(15).

는 레시틴은 대두와 계란으로부터 제조하는데 phosphatidylcholine이 주성분을 이루고 있다. 레시틴의 단점은 보조 계면활성제를 사용해야만 에멀전 제조가 가능하다. 상업적으로 생산하여 사용하고 있는 대부분의 계면활성제는 균일상이 아니고, 지방산 측쇄 길이, 포화도, 지방산 측쇄의 변형도 등에 따라서 매우 다른 불균일상이며 표 2에 미국과 유럽연합에서 식품용으로

허가한 계면활성제의 종류와 이용 예를 나타내었다.

비이온성 계면활성제로 안정화시킨 나노에멀전은 온도에 민감하게 반응하여 비이온성 계면활성제는 온도가 감소하면 용해도가 감소한다. 따라서 비이온성 계면활성제로 안정화시킨 나노에멀전은 상전환 온도(phase inversion temperature; PIT)가 존재하며, 이 온도에서 구조의 전이가 발생한다. 나노에멀전의 PIT를 변

표 2. 미국 및 유럽연합에서 허용된 식품용 계면활성제(15)

General class	Examples	US 21 CFR ^a	EU no.
Lecithin and lecithin derivatives	Pure phospholipid (e.g. phosphatidyl choline) and mixed phospholipids	184.1400 ^b	E322
	Hydroxylated phospholipids/lecithin	172.814 ^b	E322
Lactylated esters	Lactylic esters of fatty acids	172.848	
	Lactylated fatty acid esters of glycerol and propylene glycol	172.850	
	Calcium stearyl-2-lactylate	172.844	E482
	Sodium stearyl-2-lactylate	172.846	E481
Glycerol fatty esters	Polyglycerol fatty acid esters	172.854	E475
	Polyglycerol polyricinoleate		E476
	Propylene glycol fatty acid esters	172.856	E477
Partial glycerides and derivatives	Mono- and di-glycerides	184.1505 ^b	
	Monosodium esters of mono- and diglycerides	184.1521 ^b	
	Acetic acid esters of mono- and diglycerides	172.828	E472a
	Lactic acid esters of mono- and diglycerides	172.852	E472b
	Citric acid esters of mono- and diglycerides		E472c
	Stearyl citrate	184.185 ^b	E484
	Diacetyl tartaric acid esters of mono- and di-glycerides(DATEMS)	184.1101 ^b	
	Succinylated monoglycerides	172.830	E472g
Ethoxylated mono- and di-glycerides		172.834	
Sucrose esters	Mono-, di-, and tri-esters of sucrose with fatty acids	172.859	E473
Sorbitan fatty acid esters	Sorbitan monostearate		E491
	Sorbitan tristearate		E492
	Sorbitan monolaurate		E493
	Sorbitan monooleate		E494
Polyoxyethylene sorbitan fatty acid esters	Polyoxyethylene(20) sorbitan monostearate(Polysorbate 60)	172.836	E435
	Polyoxyethylene(20) sorbitan tristearate(Polysorbate 65)	172.838	E436
	Polyoxyethylene(20) sorbitan monooleate(Polysorbate 80)	172.840	E433
Others	Ox bile extract	184.1560 ^b	
	Propylene glycol	184.1666 ^b	
	Sodium lauryl sulfate	172.822	

^a United States Code of Federal Regulations.

^b Generally recognised as safe(GRAS).

화시킬 수 있는 방법은 전해질을 가해주거나 PIT 변화를 유도할 수 있는 화합물과 포접시키는 것이다.

2) 보조 계면활성제(Cosurfactant)

보조 계면활성제는 중쇄 알콜 그리고 드물게 아민과 아미노산 등이 에멀전 제조 시 사용이 되는데, 이 보조 계면활성제 역할은 경계면 장력을 보다 더 감소시킴으로서 경계면의 유동성을 증가시키고 따라서 에멀전계의 엔트로피를 증가시키는 작용을 한다. 또한 보조 계면활성제는 경계면 필름의 굴곡을 계면활성제 사슬과 꼬리 사이에서 분배작용에 의하여 조절함으로써 계면활성제 꼬리 사이에서 기름의 침투가 크게 일어나게 한다. 에멀전에 존재하는 보조 계면활성제인 알콜은 기름과 물상의 사이에서 분배작용으로 용해도 특성에 영향을 주며(50), 또한 보조 계면활성제는 lamellar 액체 결정상을 불안정하게 한다(51). 보조 계면활성제중 1-butanol, 2-butanol 및 ter-butanol 등은 독성이 있는 것으로 보고되었고(52), 알콜 중 식품용으로 허가된 것은 에틸알콜이 유일하나, 사람이 섭취 가능한 농도는 10-20% 범위가 제시되고 있다.

3) Biopolymer

생리활성 소재를 함유하는 식품 나노체를 제조하기 위해서는 단백질 또는 다당류와 같은 생물고분자를 사용할 수 있는데, 이 같은 나노입자는 자기회합(self-association) 촉진, 단일 생물고분자의 응집(aggregation), 생물고분자 혼합물계에서 상호응집작용 또는 상호분리작용 등의 조작과 같은 상분리(phase separation)를 유도함으로써 가능하다. 생물고분자를 기초로 하는 나노체는 생리활성 전달시스템 기능을 제공하기 때문에 친유성 생리활성 물질의 기호성, 체내 흡수성, 생리활성 성분의 안정성 등의 증가시킬 수 있는 방법으로 폭 넓은 활용이 시도되고 있다(53, 54). 생물고분자는 안전성, 생체적합성 및 생분해성 등과 같은 장점을 제공하기 때문에 식품 및 의약품분야에서 효율적인 전달시스템 제조의 소재로 활용되고 있는데, 키토산, 알긴산, 젤라틴 등이 식품나노체 제조에 저렴한 가격과 공급량이 풍부한 소재로서 인지되고 있다. 특히 키토산은 양이온성다당류의 특성상 음이온성 다당류

와 complex coacervation을 유도하여 합작물을 형성함으로써 다양한 형태의 기능성 소재개발에 적용되고 있다. 예를 들면 BSA-chitosan(55), ovalbumin-chitosan(56, 57) 및 β -lactoglobulin-chitosan(58) 등과 같은 합작물 형성이 가능하다. β -lactoglobulin-chitosan의 hydrogel을 가열처리할 경우, pH 4.5에서는 140 nm 크기의 양이온성 hydrogel이 형성되나, pH 5.0에서는 1,000 nm 이상의 크기를 갖는 응집물이 형성되게 되는데, 이는 pH 5.0 이상에서 hydrogel 혼합물의 전하력이 감소되기 때문이다(59).

4) 지방

탄화수소계 지방은 에멀전 형성이 잘 되고 순도가 높기 때문에 현재까지 마이크로 에멀전 연구에 주로 사용되어 왔으나, 트리글리세리드 같은 고분자량의 지방은 에멀전 형성이 어렵다. 트리글리세리드는 장쇄 지방산이 함유되어 탄화수소와 비교시 반극성을 나타내기 때문에 최적의 굴곡형성 작용에 있어서 표면적이 크기 때문에 경계면 필름을 통과하는 어렵다. 따라서 식품용 나노에멀전의 제조에서는 저분자량의 지방 즉, 중쇄 지방 글리세리드(상품명: Miglyol 80) 또는 limonene 같은 정유의 개발과 적용연구가 진행되고 있다.

식품기능성분 전달용 나노에멀전 및 소재의 이용 가능성

최근에 식품, 약품 및 의약품 산업 분야에서 지용성 기능성 물질을 체내에 전달 및 흡수시킬 수 있는 효과적인 기술개발을 위한 연구가 폭 넓게 시도되고 있는데, 이러한 지용성 성분은 주로 bioactive lipids, 향미, 향균제 및 항산화제 등의 다양한 형태로 존재한다(48, 60-62). 식품으로 이용되고 있는 대표적인 지용성 기능성분을 표 3에 나타내었다. 지용성 기능성분의 oral bioavailability를 증가시키기 위하여 지방을 원료로 하는 기본 조성물 개발이 기술특히 선점에 있어서 중요한 사항이다. 일반적으로 지질-유화제 분산액, 마이크로에멀전, 나노에멀전, 자기결합 조성물, 리포솜 등과 같은 형태의 지질 운송체(lipid vehicles)를 사용하

표 3. 대표적인 식품용 지용성 생리활성 소재(14)

Name	Types	Potential nutritional benefits
Fatty acids	ω -3 Fatty acids, conjugated linoleic acid, butyric acid	Coronary heart disease, bone health, immune response disorder, weight gain, stroke prevention, mental health, cancer and visual acuity
Carotenoids	β -Carotene, lycopene, lutein, and zeaxanthin	Cancer, coronary heart disease, muscular degeneration, and cataracts
Antioxidants	Tocopherols, flavonoids, polyphenols	Coronary heart disease, cancer, and urinary tract disease
Phytosterols	Stigmasterol, β -sitosterol, and campesterol	Coronary heart disease

여 지용성 생리활성 물질을 포접할 수 있다(63-65). 또한, 수용액속에 지용성 생리활성 성분을 포접하여 그 성분들의 요구특성(desirability)과 활성도(bioactivity)를 향상시킬 경우 기능성식품이나 음료 등의 형태로 매우 큰 수요를 충족하며 활용할 수 있다(15). 다음은 식품산업에서 이용되고 있는 대표적인 지용성 생리활성 성분에 대하여 기술한 것이다.

① 카로테노이드 (Carotenoids)

카로테노이드는 황색 또는 적색식품에 함유된 친유성 화합물로서, 산소가 함유된 xanthopylls(예: lutein, zeaxanthin)과 산소를 함유하지 않은 carotenes(예: lycopene, β -carotene)이 있다. 카로테노이드 중 lutein과 zeaxanthin은 노인성 황반변성과 백내장 예방(66)에, lycopene은 전립선암 예방(67)에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 카로테노이드는 원료 식품 내에 존재할 때는 비교적 안정하나, 식품첨가제 형태로 식품 내에 존재할 때는 빛, 산소 및 자동산화 등에 민감하게 반응하여 불안정한 것이 단점이다(68). 따라서 카로테노이드를 식품 조성물에 분산시킬 경우 급속한 파괴와 더불어 분자의 이중결합이 손실되거나 깨지게 되며(69, 70), 카로테노이드 내 이중결합이 이성화 반응에 의하여 cis형으로 바뀌게 된다(68).

② 오메가-3 지방산

대표적인 ω -3 지방산은 α -linoleic acid(ALA, 18:3), eicosapentaenoic acid(EPA, 20:5) 및 docosahexaenoic acid(DHA, 22:6) 등이 있는데, 이중 장쇄

지방산인 EPA와 DHA가 가장 활성이 있는 것으로 알려져 있는데, 사람의 체내에서 ALA는 장쇄 ω -3 지방산으로 완전한 전환이 되지 않아 주로 인체에 효과적인 작용을 하는 것은 식이 EPA와 DHA인 것으로 확인되었다(71). 현재까지 ω -3 지방산을 함유한 다양한 종류의 기능성 식품을 개발되어 생산, 수송 및 저장단계에서 품질유지 방법을 찾는 노력이 시도되었으나, 이들 제품에 함유된 지방은 산화에 쉽게 변패하기 때문에 이를 해결하기 위한 연구는 식품과학자들의 지속적인 관심분야로 대두되고 있다. 한 예로 DHA의 경우 산화속도가 올레산보다 50배 이상 빠르게 진행되며(72), ω -3 지방산의 산화 생성물은 관능적 감지범위가 매우 낮기 때문에 산화 초기단계에 검출해야 하는 품질관리상의 어려운 문제가 있다. 현재까지 알려진 ω -3 지방산의 안정화를 이룰 수 있는 최적의 방법은 미세캡슐화 기술이다(73).

③ 식물성 스테롤 (Phytosterols)

식물성 스테롤은 식물체 기원 즉, 종자, 건조과일, 빵 및 곡류 등에 함유된 stigmasterol, β -sitosterol, campesterol 등과 같은 성분의 phytochemicals을 말하며, 자연의 식물성 stanol은 sterol보다 낮은 농도로 존재하며, 식물성 스테롤에 수소첨가 반응을 통하여 생산할 수 있다. 식물성 스테롤은 일반적으로 식물의 종자, 건조과일, 빵 및 곡류 등에 존재하며, 인체 내에서는 합성이 되지 않기 때문에 이들 식품을 통하여 섭취해야 한다. 식물성 스테롤은 결정형, 유리된 형태 및 일일 섭취량 증가(5-10 g) 등과 같은 품질특성을 만족

시켜야 콜레스테롤 저하효과를 기대할 수 있으며, 이 같은 효율성은 물리적 상태에 좌우된다. 식물성 스테롤은 물에 용해하지 않을 뿐만 아니라 식이지방에도 불용성의 결정을 형성하는 특징이 있어 이를 강화시킨 식품제조에 있어서는 기술적 및 품질관리 측면에서 어려운 점이 있다. 이러한 경우 Winsor 모델 IV 및 IV를 이용한 식물성 스테롤과 콜레스테롤을 Tween 60, 물, R(+)-limonene, 에탄올 및 프로필렌글리콜 등으로 조성되는 마이크로에멀전을 pseudo-ternary phase에서 용해할 수 있다(74). 한편 식물성 스테롤의 용해화 문제를 해결하기 위한 방법의 일환으로 식물성 스테롤을 포화지방산으로 에스테르화시킴으로써 스테롤의 용해도를 증가시킬 수 있으며, 결정화 과정에서 결정성장은 결정화 조건과 결정화 물질에 따라서 다양한 메카니즘으로 형성되게 된다. 즉, 결정의 성장 속도, 결정의 크기, 분산액의 점도, 불순물의 존재여부 및 냉각단계에서 교반방법 등에 좌우되는 것으로 알려져 있다(75). 식물성 스테롤이 산화될 경우 생리활성을 손실되거나 독성을 나타내는 사실에 대한 것은 산화 콜레스테롤과 비슷하게 취급되며, 현재까지 이것과 관련한 정확한 구명이 없다. 따라서, 생리활성 지질이 산화에 매우 민감한 것을 고려할 때 식물성 스테롤의 미세캡슐화 방법은 산화 안정성을 높일 수 있는 수단이 될 수 있다.

식품나노에멀전 및 소재의 안전성 검증

식품나노기술은 식품분야에서 품질, 조직감, 맛 등의 개선하거나 지방함량 섭취를 낮추는 기능, 식품성분의 파괴 및 분해 방지와 생체이용성 증진 등과 같은 기존의 기술로서는 해결이 어려운 문제점들을 극복할 수 있는 미래기술로 발전하고 있다. 이러한 사실에 식품산업과 소비자 측면에서는 큰 관심을 갖고 보다 월등한 제품 개발에 대한 기대와 요구가 증가하고 있다.

그러나 최근, 나노소재는 생체내 축적과 독성 등에 관한 지식과 정보가 부족하여 안전성 문제가 제기되면서 미국과 영국 등의 소비자 단체를 중심으로 안전성 확보를 요구하는 압력이 정부에 제기되고 있다. 나노체의 크기가 300 nm 이상인 경우 세포 외부에 잔

존하고, 70-300 nm 인 경우는 세포내로 침투하며, 70 nm 이하인 경우는 세포핵까지 침투한다는 연구보고가 있다(76). 또한, 나노입자의 크기, 형태 및 분산상태 등이 인체에 대하여 미치는 독성에 대한 연구보고가 있지만(77), 현재까지 나노식품 소재에 대한 독성 및 안전성에 대한 연구개발 시도는 전혀 이루어지지 않았다. 세계적인 식품회사 BASF사가 판매하고 있는 합성 lycopene은 200-400 nm 크기로 토마토와 과일 등에 함유되어 있는 것과 비슷한 크기로 생산하고 있다. 이같은 사실과 관련하여 식품소재 산업 분야에서의 나노 크기의 범주는 100 nm 수준의 식품 나노소재에 대한 것으로 관련 전문가들로부터 제기되고 있다. 본 저자들은 캡사이신을 함유하는 20-100 nm 크기의 chitosan 및 alginate로 이루어진 이중층 및 삼중층 나노에멀전의 in vitro 세포 생존율 연구에서 각각의 나노에멀전은 독성을 나타내지 않았을 뿐만 아니라 세포증식에도 영향을 미치지 않은 결과를 확인하였다(46).

한편, 미국은 2007년 12월 2차 국가나노기술계획(National Nanotechnology Initiative, NNI)을 수립하여 (1) 세계수준의 나노기술 연구개발 촉진, (2) 경제적 이익과 공익을 위한 신기술의 제품화 촉진, (3) 나노기술 발전을 위한 교육, 인력양성 및 기반시설 구축, (4) 환경, 건강, 안전 등에 미치는 영향에 대한 사회적 책임 완수 등과 같이 4대 목표를 설정하고, 나노기술개발 추진에 있어 안전문제에 대한 중요성을 제시하였다(78). 우리나라는 과학기술부가 제 2기 나노기술종합발전 계획(2006-2015) 실현을 위한 국가나노기술로드맵을 작성하고 나노소재 산업적 응용분야에 식품나노기술을 포함시켜 국가적 차원의 지원체계가 확립되어 추진될 예정이다(79). 특히, 나노바이오 안전성, 영향평가 및 표준화 분야에서는 나노 구조의 안전성, 독성 등 나노기술이 인체나 환경에 미치는 영향을 평가하고 나노기술을 표준화하기 위하여 성능 안전성 평가 기술, 환경 및 인체 영향 평가 기술, 표준화 기술 등이 포함되어 이 분야의 체계적인 연구개발과 기술확보가 가능할 것으로 판단된다.

따라서, 식품나노체의 안전성에 대한 평가 및 기술 개발은 식품화학, 영양학, 생화학, 분자생물학 및 생명

시스템 공학 분야의 전문가 집단이 상호협력을 통한 융합기술로 추진한다면 식품나노기술 분야의 발전에 크게 기여할 것으로 기대한다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부에서 지원한 2007년도 “식품나노기술개발사업” 연구비의 지원으로 수행한 결과이며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Weiss J, Takhistov P, McClements J. Functional materials in food nanotechnology. *J. Food Sci.* 71: 107-116 (2006)
2. Kuzma J. The nanotechnology-biology interface: Exploring models for oversight. Workshop report of Center for Science, Technology, and Public Policy, University of Minnesota, MN, USA (2005)
3. Forgiarini A, Esquena J, Gonzalez C, Solans C. Formation of nano-emulsions by low-energy emulsification methods at constant temperature. *Langmuir* 17: 2076-2083 (2001)
4. El-Aasser MS, Lack CD, Vanderhoff JW, Fowkes FM. The miniemulsification process-different from of spontaneous emulsification. *Colloid Surface* 29: 103-118 (1988)
5. Pons R, Carrera I, Caelles J, Rouch J, Panizza P. Formation and properties of miniemulsions formed by microemulsions dilution. *Adv. Colloid Interface Sci.* 106: 129-146 (2003)
6. Foster T, Vornybinski W, Wadle A. Influence of microemulsion phases on the preparation of fine-disperse emulsions. *Adv. Colloid Interface Sci.* 58: 119-149 (1995)
7. Benita S, Levy MY. Submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration-Comprehensive physicochemical characterization. *J. Pharm. Sci.* 82: 1069-1079 (1993)
8. Rosamo HL, Lan T, Weiss A, Whittam JH, Gerbacia WEF. Unstable micro-emulsions. *J. Phys. Chem.* 85: 468-473 (1981)
9. Sing AJF, Graciaa A, Lachaise J, Brochette P, Salager JL. Interactions and coalescence of nanodroplets in translucent O/W emulsions. *Colloid Surface A* 152: 31-39 (1999)
10. Schulman JH, Stoeckenius W, Prince LM. Mechanism of formation and structure of micro emulsions by electron microscopy. *J. Phys. Chem.* 63: 1677-1680 (1959)
11. Friberg SE. Microemulsions and micellar solutions. pp. 133-148 In: *Microemulsions: Theory and Practise.* Prince LM. (ed.). Academic Press, London, UK (1977)
12. Ruckenstein E, Chi JC. Stability of microemulsions. *J. Chem. Soc. Farad. T.* 271: 1690-1707 (1975)
13. Shafiq S, Shakeel F, Talegaonkar S, Ahmad FJ, Khar RK, Ali M. Development and bioavailability assessment of ramipril nanoemulsion formulation. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 66: 227-243 (2007)
14. McClements DJ, Decker EA, Weiss J. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *J. Food Sci.* 72(8): R109-124 (2007)
15. Flanagan J, Singh H. Microemulsions: a potential delivery system for bioactives in food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 46: 221-237 (2006)
16. Winsor PA. Hydrotropy, solubilization and related emulsification processes. *J. Chem. Soc.* 44: 376-398 (1948)
17. Guzey D, McClements DJ. Impact of electrostatic interactions on formation and stability of emulsions containing oil droplets coated by beta-lactoglobulin-pectin complexes. *J. Agric. Food Chem.* 55: 475-485 (2007)
18. Wlstra P. Principles of emulsion formation. *Chem. Eng. Sci.* 48: 333-351 (1993)
19. McClements DJ, Decker EA. Lipid oxidation in oil-in water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reaction in heterogeneous food systems. *J. Food Sci.* 65: 1270-1282 (2000)
20. Chee CP, Gallaher JJ, Djordjevic D, Faraji H, McClements DJ, Decker EA, Hollender R, Peterson DG, Roberts RF, Coupland JN. Chemical and sensory analysis of strawberry flavoured yogurt supplement with an algae oil emulsion. *J. Dairy Res.* 72: 311-316 (2005)
21. Sharma R. Market trends and opportunities for functional dairy beverage. *Austr. J. Dairy Technol.* 60: 195-198 (2005)
22. Garti N, Yagmur A, Leser ME, Clement V, Watzke HJ. Improved oil solubilization in oil/water food grade microemulsions in the presence of polyols and ethanol. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2552-2562 (2001)
23. Garti N, Benichou A. Recent developments in double emulsions for food applications. pp. 353-412. In: *Food Emulsions.* Friberg S. et al (ed.). Marcel Dekker, New York, USA (2004)
24. Rodriguez-Huezo ME, Pedroza-Islas R, Prado-Barragan LA, Beristain CI, Vernon-Carter EJ. Microencapsulation by spray drying of multiple emulsions containing carotenoids. *J. Food Sci.* 69(7): E351-359 (2004)
25. Onuki Y, Morishita M, Watanabe H, Chiba Y, Tokiwa S, Takayama K, Nagai T. Improved insulin enteral delivery using water-in-oil-in-water multiple emulsion incorporating highly purified docosahexaenoic acid. *Stp. Pharm. Sci.* 13: 231-235 (2003)
26. Courmarie F, Savelli MP, Rosilio W, Bretez F, Vauthier C, Grossiord JL, Seiller M. Insulin-loaded W/O/W multiple emulsions: comparison of the performances of systems prepared with medium-chain-triglycerides and fish oil. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 58: 477-482 (2004)
27. Owusu RK, Zhu QH, Dickinson E. Controlled release of L-tryptophan and vitamin-B2 from model water oil-water multiple emulsions. *Food Hydrocolloids* 6: 443-453 (1992)
28. Fechner A, Knoth A, Scherze I, Muschiolik G. Stability and release properties of double-emulsions stabilized by caseinate-dextran conjugates. *Food hydrocolloids* 21: 943-952 (2007)

29. Weiss J, Scherze I, Muschiolik G. Polysaccharide gel with multiple emulsion. *Food Hydrocolloids* 19: 605-615 (2005)
30. Gu YS, Regnier L, McClements DJ. Influence of environmental stresses on stability of oil-in-water emulsions containing droplets stabilized by β -lactoglobulin-t-carrageenan membranes. *J. Colloid Interface Sci.* 286: 551-558 (2005)
31. Mun S, Decker EA, McClements J. Influence of droplet characteristics on the formation of oil-in-water emulsions stabilized by surfactant-chitosan layers. *Langmuir* 21: 6228-6234 (2005)
32. Morales D, Gutierrez JM, Garcia-Celma JM, Solans C. A study of the relation between bicontinuous microemulsions and oil/water nano-emulsion formation. *Langmuir* 19: 7196-7200 (2003)
33. Klinkersorn U, Sophanodora P, Chinachoti P, McClements DJ, Decker EA. Increasing the oxidative stability of liquid and dried tuna oil-in-water emulsions with electrostatic layer-by-layer deposition technology. *J. Agric. Food Chem.* 53: 4561-4566 (2005)
34. Moreau L, Kim HJ, Decker EA, McClements DJ. Production and characterization of oil-in-water emulsions containing droplets stabilized by β -lactoglobulin-pectin membranes. *J. Agric. Food Chem.* 51: 6612-6617 (2003)
35. Ogawa S, Decker EA, McClements DJ. Production and characterization of O/W emulsions containing droplets stabilized by lecithin-chitosan-pectin multilayered membranes. *J. Agric. Food Chem.* 52: 3592-3600 (2004)
36. Gu YS, Decker EA, McClements DJ. Influence of iota-carrageenan on droplet flocculation of β -lactoglobulin-stabilized oil-in-water emulsions during thermal processing. *Langmuir* 20: 9565-9570 (2004)
37. Klinkersorn U, Sophanodora P, Chinachoti P, McClements DJ, Decker EA. Stability of spray-dried tuna oil emulsions encapsulated with two-layered interfacial membranes. *J. Agric. Food Chem.* 53: 8365-8371 (2005)
38. Rang MJ, Miller CA. Spontaneous emulsification of oils containing hydrocarbon, nonionic surfactant, and oleyl alcohol. *J. Colloid Interface Sci.* 209: 179-192 (1999)
39. Bataller H, Lamaallam S, Lachaise J, Graciaa A, Dicharry C, Mater J. Cutting fluid emulsions produced by dilution of a cutting fluid concentrate containing a cationic/ nonionic surfactant mixture. *Process Technol.* 152: 215-220 (2004)
40. Lamaallam S, Bataller H, Dicharry C, Lachaise J. Formation and stability of miniemulsions produced by dispersion of water/oil/surfactants concentrates in a large amount of water. *Colloids Surf. A Physiochem. Eng. Aspects* 270-271: 44-51 (2005)
41. Forgiarini A, Esquena J, Gonzalez C, Solans C. Studies of the relation between phase behavior and emulsification methods with nanoemulsion formation. *Process Colloid Polym. Sci.* 115: 36-39 (2000)
42. Izquierdo P, Esquena J, Tadros ThF, Dederen JC, Feng J, Garcia-Celma MJ, Azemar N, Solans C. Phase behavior and nano-emulsion formation by the phase inversion temperature method. *Langmuir* 20: 6594-6598 (2004)
43. Izquierdo P, Esquena J, Tadros ThF, Dederen JC, Garcia-Celma MJ, Azemar N, Solans C. Formation and stability of nano-emulsions prepared using the phase inversion temperature method. *Langmuir* 18: 26-30 (2002)
44. Izquierdo P, Esquena J, Tadros ThF, Dederen JC, Garcia-Celma MJ, Azemar N, Solans C. The influence of surfactant mixing ratio on nano-emulsion formation by the pit method. *J. Colloid Interface Sci.* 285: 388-394 (2005)
45. Grati N, Spemath A, Aserin A, Lutz R. Nano-sized self-assemblies of nonionic surfactants as solubilization reservoirs and microreactors for food systems. *Royal Soc. Chem.* 1: 206-218 (2005)
46. Kim CT, Cho YJ, Kim CJ, Kim IH, Kim YH, Choi AJ. Korea Food Research Institute Research Report, No. E071000-07085. Development of process technology for functional food nanocomposite. pp. 123-266. In: Report of the Development of Food Nanotechnology. December 31, Kyonggi, Korea (2007)
47. Shafiq S, Shakell F, Talegaonkar S, Ali J, Baboota S, Ahuja A, Khar RK, Ali M. Formulation development and optimization using nanoemulsion technique: a technical note. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 8(2): E1-E6 (2007)
48. Ubbink J. Flavor delivery systems: trends, technologies and applications. *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.* 223: U34-U34 (2002)
49. Wang L, Li X, Zhang G, Dong J, Eastoe J. Oil-in-water nanoemulsions for pesticide formations. *J. Colloid Interface Sci.* 314: 230-235 (2007)
50. Lawrence MJ, Rees GD. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Adv. Drug Delivery Res.* 45: 89-121 (2000)
51. Tenjarla S. Microemulsions: An review and pharmaceutical applications. *Crit. Rev. Ther. Drug.* 16: 461-521 (1999)
52. Attwood D. Microemulsions. pp. 31-71. In: *Colloidal Drug Delivery Systems*. Kreuter J. (ed.). Marcel Dekker, New York, USA (1994)
53. Kim CT, Kim CJ, Cho YJ, Choi AJ. Effects of emulsification parameters on the formation of food nanoemulsions and its characterization. *Proceedings of 74th Social Obligation of Food Science and Technology*, June 20-22, 2007, BEXCO, Busan, Korea. p. 262 (2007)
54. Kim CT, Kim CJ, Cho YJ, Choi AJ. Preparation of nanoemulsions and nanoparticles as delivery systems for bioactive ingredients in food. *Proceedings of Particles 2007*. August 19-22, 2007, Toronto, Canada. p. 42 (2007)
55. Chen RH, Tash ML. Effect of preparation method and characteristics of chitosan on the mechanical and release properties of the prepared capsule. *J. Appl. Polym. Sci.* 66: 161-169 (1997)
56. Delben F, Stefancich S. Interaction of food polysaccharides with ovalbumin. *Food Hydrocolloids* 12: 291-299 (1998)

57. Yu SY, Hu JH, Pan XY, Yao P, Jiang M. Stable and pH-sensitive nanogels prepared by self-assembly of chitosan and ovalbumin. *Langmuir* 22: 2754-2759 (2006)
58. Guzey D, McClements DJ. Characterization of beta-lactoglobulin-chitosan interactions in aqueous solutions: A calorimetry, light scattering, electrophoretic mobility and solubility study. *Food Hydrocolloids* 20: 124-131 (2006)
59. Hong YH, McClements DJ. Formation of hydrogel particles by thermal treatment of β -lactoglobulin-chitosan complexes. *J. Agric. Food Chem.* 55: 5653-5660 (2007)
60. Shefer A, Shefer S. Novel encapsulations system provides controlled release of ingredients. *Food Technol.* 57(11): 40-43 (2003)
61. Chen LY, Remondetto GE, Subirade M. Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. *Trends Food Sci. Technol.* 17: 272-283 (2006)
62. Ubbink J, Kruger J. Physical approaches for the delivery of active ingredients in foods. *Trends Food Sci. Technol.* 17: 244-254 (2006)
63. Charman SA, Charman MC, Rogge TD, Wilson FJ, Dutko CW, Pouton CW. Self-emulsifying drug delivery systems formulation and biopharmaceutic evaluation of an investigational lipophilic compound. *Pharm. Res.* 9: 87-93 (1992)
64. Kang BK, Lee JS, Chon SK, Jeong SY, Yuk SH, Khang G, Lee HB, Cho SH. Development of self-microemulsion formulation using delivery systems (SMEDDS) for oral bioavailability enhancement of simvastatin in beagle dogs. *Int. J. Pharm.* 274: 65-73 (2004)
65. Bouchemal K, Briancon S, Perrier E, Fessi H. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimization. *Int. J. Pharm.* 280: 241-151 (2004)
66. Stringham JK, Hammond BR. Dietary lutein and zeaxanthin: possible effects on visual function. *Nutr. Rev.* 63: 59-64 (2005)
67. Basu A, Imrhan V. Tomatoes versus lycopene in oxidative stress and carcinogenesis: conclusions from clinical trials. *Eur. J. Clin. Nutr.* 61: 295-303 (2007)
68. Xianquan S, Shi J, Kakuda Y, Yueming J. Stability of lycopene during food processing and storage. *J. Med. Food* 8: 413-422 (2005)
69. Heinonen M, Haila K, Lampi AM, Piironen V. Inhibition of oxidation in 10% oil-in-water emulsions by beta-carotene with alpha- and gamma-tocopherols. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74: 1047-1052 (1997)
70. Ribero HS, Ax K, Schubert H. Stability of lycopene emulsions in food systems. *J. Food Sci.* 68: 2730-2734 (2003)
71. Hibbeln JR, Nieminen LRG, Blasbalg TL, Riggs JA, Lands WEM. Healthy intakes of n-3 and n-6 fatty acids: estimation considering worldwide diversity. *Am. J. Clin. Nutr.* 83: 1483S-1493S (2006)
72. Frankel E. *Lipid oxidation*. The Oily Press, Bridgwater TA7 OYZ, UK. (2005)
73. Garg ML, Wood LG, Singh H, Moughan PJ. Means of delivering recommended levels of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in human diets. *J. Food Sci.* 71(5): R66-71 (2006)
74. Spemath A, Yaghmur A, Aserin A, Hoffman R, Garti N. Self-diffusion nuclear magnetic resonance, microstructure transitions, and solubilization capacity of phytosterols and cholesterol in Winsor IV food-grade microemulsions. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2359-2364 (2003)
75. Vaikousi H, Lazaridou A, Biliaderis CG, Zawistowski J. Phase transitions, solubility, and crystallization kinetics of phytosterols and phytosterol-oil blends. *J. Agric. Food Chem.* 55: 1790-1798 (2007)
76. Chen M, Mikecz A. Formation of nucleoplasmic protein aggregates impairs nuclear function in response to SiO₂ nanoparticles. *Exper. Cell Res.* 305: 51-62 (2005)
77. Powers KW, Palazuelos M, Moudgil BM, Robert SM. Characterization of size, shape, and state of dispersion of nanoparticles for toxicological studies. *Nanotoxicology* 1: 42-51 (2007)
78. NSTC. *The National Nanotechnology Initiative: Strategic plans*. Nanoscale Science, Engineering, and Technology (NSET) Subcommittee, National Science and Technology Council, U.S. Gov., Washing, D.C., USA (2007)
79. *National Nanotechnology Roadmap*. Ministry of Science and Technology. Seoul, Korea. pp. 134-138 (2007)