

고분자 흡착층의 입체장해효과를 이용한 라이코펜 색소의 특성분석

배지현* · 정종진 · 이승호 · 김운중†

한남대학교 화학과

(2017년 6월 2일 접수: 2017년 6월 19일 수정: 2017년 6월 29일 채택)

Characterization of lycopene pigments by steric effect of polymer adsorption layer

Jihyun Bae* · Jongjin Jung · Seungho Lee · Woonjung Kim†

Dept. of Chemistry, Hannam University, Jeonmin-dong, Daejeon-City, 305-811, Seoul Korea

(Received June 2, 2017; Revised June 19, 2017; Accepted June 29, 2017)

요약 : 천연색소는 색을 발현할 수 있는 물질로서 식품, 화장품, 의약품 등에 사용된다. 천연색소는 동·식물에서 추출하여 만들기 때문에 크기가 균일하지 않으며 특히 적색색소의 경우, 다른 색의 색소에 비해 친유성이 강해 수용액 상태에서 쉽게 응집이 되는 경향이 있다. 또한 응집에 의한 크기변화로 인해 색의 재현이 어려운 문제점이 있다. 적색색소로 기존에 사용했던 동물성 색소인 코치닐 추출 색소는 알레르기를 유발하고 식용으로서의 거부감이 있는 등의 문제점으로 인하여 사용이 기피되는 추세이다. 본 연구에서는 적색의 식물성 색소인 라이코펜 추출물과 치자황색소를 사용하였고 Ball-milling을 이용하여 색소의 크기를 균일하게 만든 후 Asymmetrical flow field-flow fractionation(AsFFFF), Dynamic light scattering(DLS)를 이용하여 크기를 분석하고 색차계를 이용하여 색을 확인하는 연구를 진행하였다. 실험결과 milling 전에는 색소 입자의 크기가 크고 크기분포가 넓었으나, milling 후에는 크기가 감소하고 크기분포가 좁아짐을 확인하였다. 색차계 측정 결과, milling 시간이 증가함에 따라 밝기, 적색도, 황색도가 높아져서 밝은 적색을 나타내었다.

주제어 : 천연색소, 라이코펜, AsFFFF, DLS, 크기분포

Abstract : Natural pigments are materials that express color and have been used in foods, cosmetics, medicine and so on. Since natural pigments are extracted from animals and plants, they are not uniform in size. Red pigments in particular are more lipophilic than other color pigments and tend to aggregate easily in aqueous solutions which make it difficult to reproduce the specific color due to size change. Found to be an allergen and the growing aversion for it to be used in foods, cochineal pigment, an animal pigment used for red pigments is being used less.

†Corresponding author

(E-mail: jbae0723@gmail.com, wjkim@hun.kr)

In this study, red vegetable pigment lycopene extract and gardenia yellow was made uniform in size by ball-milling, then asymmetrical flow-field flow fractionation (AsFFFF) and dynamic light scattering (DLS) were used to measure the size, and a color meter was used to confirm the color. Experimental results showed that the pigment particles were large in size and size distribution was wide before milling, but the size of the particles decreased and size distribution narrowed after milling. Color meter measurements showed that as the milling time increased, the size of the pigment particles decreased and the brightness, redness, and yellowness increased indicating a bright red color.

Keywords : Natural pigment, Lycopene, AsFFFF, DLS, Size distribution

1. 서론

일반적인 의미에서의 색소란 색을 나타낼 수 있는 가시광선의 파장영역인 350 - 750 nm 범위에서 파장을 흡수할 수 있는 유기 혹은 무기 화합물을 말하며, 제품의 색상은 소비자가 최종적으로 상품을 구별, 선택하는데 결정적인 역할을 하는 중요한 요소이기도 하다.[1]

색소에는 인공색소와 천연색소가 [2,3] 있는데 인공색소는 석유 부산물인 콜타르(coal tar)로부터 제조된 합성색소이며, 천연색소는 동·식물로부터 추출하여 만들어지는 천연물질이다. 천연색소는 추출된 원료물질에 따라 동물성 색소, 식물성 색소, 미생물에서 유래된 색소 등이 있으며 인체에 무해하고 자연스러운 색조로 인하여 식품, 화장품, 제약분야 등에 널리 이용된다. [4-8] 동물성 천연색소인 코치닐색소는 선인장에서 기생하는 연지벌레에서 추출한 것으로, 수용성이며 유화형 색소가 요구되는 제품에 적용되어 왔다.[3]

하지만 동물성 색소는 알레르기를 유발하거나 식용으로의 거부감 등의 이유로 기피하는 추세에 있어 이러한 동물성 색소를 대신하여 식물성 색소가 주목 받고 있다. 식물성 색소로는 녹색채소 또는 과일에서 추출된 클로로필 색소, 등황색 채소 또는 과일에서 추출된 Carotenoid계 색소 [9, 10]와 같은 지용성 색소가 있으며, 안토시아닌 색소와 같은 수용성 색소가 있다. 그러나 이들 식물성 색소를 포함한 천연색소는 광, 산소, 온도, 유기산 등의 외부요인에 의해 쉽게 손상을 입으며, 색소 전이 현상이 발생하거나 분산성 혹은 안정성이 떨어지는 등의 문제점을 가지고 있다.[11]

따라서 본 연구에서는 기계적 분쇄 (mechanical disruption)를 이용해 색소의 크기를 일정하게 만들어 분산 안정성을 높이는 실험을 진행하였다.[12-14]

분쇄[15, 16]는 기계적인 힘을 가함으로써 고체를 보다 작은 크기로 만드는 작업으로서 그 크기에 따라 조분쇄, 중분쇄, 미분쇄, 초미분쇄로 분류할 수 있다. Ball-milling은 미분쇄에 속하며, 세라믹 공정에서 원료 분말을 미분으로 분쇄하거나 재료배합을 목적으로 가장 많이 사용되는 방법 중 하나이다. 특히 ball-milling은 설치 및 운용비용이 저렴하고 다양한 재료를 비교적 쉽게 다룰 수 있다는 장점이 있어 소재 분야 기업 현장에서 널리 채택되고 있다.[17-19] Fig. 1에 ball-milling의 작동원리에 대해 간단히 그림으로 나타내었다.

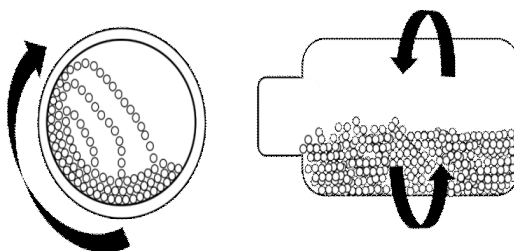


Fig. 1. Principle of ball-milling.

Ball-milling의 원리는 돌이나 플라스틱 재질의 실린더 형 용기에 단단한 지르코니아 볼을 넣어 회전시킴으로써 텀블링에 의한 충격이나 전단력, 마찰력 등을 이용하여 원료를 분쇄하는 것이다.

이때 주어진 시간 내에 원료의 크기를 작고 균일하게 하는 것이 중요한 관심사이다. 일반적

으로 원료 크기는 볼의 크기, 경도, 강도, 무게, 양 등에 크게 의존하며 회전속도, 밀링 시간, 적재량 등 밀링 조건에도 많은 영향을 받는다. 특히 용기 내의 볼과 분말원료의 기공률(porosity)은 크기와 밀접한 상관관계를 갖기 때문에, 볼의 크기와 양은 이를 고려하여 결정되어야 한다. [20]

본 실험의 캡슐화 공정은 유화형 고분자 (polymer)가 천연색소 표면 층에 잘 흡착되도록 천연색소와 유화제의 친화도가 천연색소와 물의 친화도보다는 높게 조절하는 것이 필요하다. 이때, 유화제를 통한 천연색소와 물의 친화도와의 차이를 조절하지 못하는 경우, 물에 의한 젖음 (wetting)이 충분하지 않아 색상구현이 어려울 수 있다. 또한, 천연색소를 둘러싼 유화형 고분자 (polymer)의 흡착층은 분산시스템 상 개별 입자들의 steric effect에 의해 안정화되도록 하는데 있어 유리하다.[21-28] Fig. 2에는 분산의 3성분계에 대한 간단한 모식도에 대한 그림을 나타내었다.

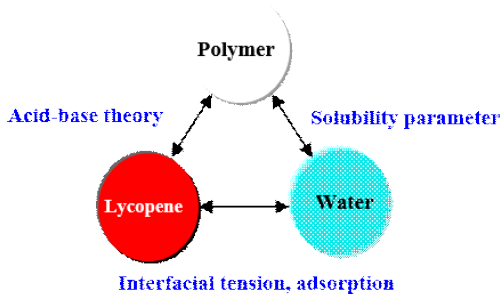


Fig. 2. 3-component system of dispersion.

Table 1. HLB of emulsifiers

Name	HLB
Polysorvate 20	16.7
Polysorvate 80	15.0
Lecithin	4.0
Sucrose fatty acid ester (P90)	18.0
Glycerin fatty acid ester (Almax 1800)	4.0
Glycerin fatty acid ester (Almax 9060)	12.0
Glycerin fatty acid ester (Almax 9080)	14.5
Glycerin fatty acid ester (Almax 9081)	13.0
Glycerin fatty acid ester (Almax 9280)	7.5

따라서 본 연구에서 사용한 식물성 천연색소인 Carotenoid계 lycopene 색소는 입자크기가 크고, 크기분포가 broad하기 때문에, 색상이 흐리고, 색 재현성이 떨어지는 단점이 있다. 또한, 열이나 빛에 의해, 색이 쉽게 퇴색되어 버리는 결점이 있다.[11]

위의 문제점을 해결하기 위하여, lycopene을 polymer로 nano-coating하는 분산실험(nano-encapsulation)을 이용하여[17, 29], 대체가능성을 확인했다. 먼저 Ball-milling을 이용하여 크기를 균일하게 만든 후 asymmetric flow field-flow fractionation (AsFFFF)을 이용하여 크기를 측정하고 특성분석을 수행하였다.

2. 실험방법

2.1. 시료

본 연구에 사용된 천연색소는 Lycored사 (Be'er Sheva 84102, Israel)의 TR2% NG와 SDBNI(Gyeonggi-do, 445-912, Korea)의 치자황색소를 사용하였으며 용제로는 증류수, 프로필렌글리콜(SDBNI), 글리세린(SDBNI)을 사용하였다. 또한 유화제로는 식품에 사용되는 polysorvate(SDBNI), lecithin(SDBNI), sucrose fatty acid ester(SDBNI), glycerin fatty acid ester(SDBNI)를 사용하였다. Table 1에 실험에 사용한 유화제[30]의 종류 및 HLB값을 간단한 표로 나타내었다.

2.2. 기기

각 물질의 기본적인 물성을 측정하기 위하여 Optical microscopy (OM, System Microscopes BX51M, Olympus, China), pH meter (3510 pH Meter, Jenway, UK), Dynamic light Scattering (DLS, Horiba-LA-960, Horiba, Japan)를 사용하였다. 제조한 색소 분산액의 입자크기를 일정하게 만들기 위하여 Ball-milling (2-places “BML-2”, DAIHAN Scientific Thailand Co., Ltd, Thailand)을 이용하였으며, 제조한 색소 분산액의 물성을 평가하기 위하여 OM, pH meter, DLS, Asymmetric flow - field flow fractionation (AsFFFF, Wyatt Tech, Europe GmbH, Dernbach, Germany), Color meter (CR-400, KONICA MINOLTA, Japan), 등을 이용하였다.

2.3. 유화제 선택

색소분산액을 만들기 위하여, 증류수, 프로필렌글리콜, 글리세린, 등 3 가지 수용성 용제에 잘 용해되는 유화제를 선택하기 위한 실험을 진행하였다. 실험은 용제 38 mL에 유화제 2 mL을 넣고 교반하였다. 용제에 유화제를 넣고 교반시 응집 유무를 육안과 OM으로 확인하였다. 그 후 24 시간 후까지 침전물이나 응집물이 생기는지 여부를 확인하였다.

2.4. 유화제 양 조절

천연색소 TR2%NG에 위에서 선택한 유화제를 각각 다른 양으로 첨가하여 교반한 후, OM

으로 분산 상태를 확인하였다.

2.5. Lycopene - 치자황색소 분산액 제조

실험에 사용할 색소 분산액을 제조하기 전, 먼저 두 가지 용액을 제조하였다. 유화제와 증류수를 혼합하여 용액-1을 준비하였고, 치자황색소와 증류수를 혼합하여 용액-2를 준비하였다. 실험1에서는 TR2%NG에 유화제를 넣고 교반하여 Lycopene 색소를 제조하였고, 실험2에서는 실험1용액에 추가로 치자황색소 용액을 넣고 교반하여 제조하였다. Table 2에 용액 제조에 필요한 g 수를 나타내었다. 실험은 온도를 주지 않고 상온에서 교반기를 사용하여 25 °C에서 300 rpm의 조건으로, 1시간 진행하였다.

2.6. Ball-milling

색소의 크기를 균일하게 만들기 위해서 기계적 분쇄인 ball-milling을 사용하였다. Ball-milling 처리는 Table 3에 간단히 나타내었다. Ball-milling 조건은 25 °C에서 300 rpm으로 30분간 실험을 진행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 유화제 선정

세가지 종류의 수용성 용제인 증류수, 프로필렌글리콜, 글리세린에서의 용해도가 높은 유화제를 선택하기 위하여 Table 1의 유화제들을 이용하여, 각 용제에 대한 용해도를 확인하였다. 혼

Table 2. Lycopene - Gardenia yellow suspension

	Lyco	Lyco + Ga
Lycopene(TR2%NG) (g)	85	75
Emulsifier (g)	8.1	7.5
Water (g)	15	10
Gardenia yellow (g)	-	18.75
Total (g)	108.1	111.25

Table 3. Ball-mill experiment

0.3mm beads (g)	Sample (g)	DI-Water (g)	Bottle (ml)
116	9	10	60

합 시 유화제가 응집되지 않고 용제에 잘 용해되는 유화제를 선택하였다.

용제에 따라 유화제는 각각 다른 결과를 나타내었다. 용제가 증류수일 경우, HLB값이 13.0이하인 lecithin, Almax1800, Almax9060, Almax9280은 응집이 되었다. 프로필렌글리콜의 경우, lecithin과 sucrose fatty acid ester는 육안상으로 응집물 없이 용해되는데 녹는 시간이 2시간 이상 소모되었으며, glycerin fatty acid ester에서는 Almax1800, Almax9060, Almax9080, Almax9280은 응집이 되는 것을 확인할 수 있었다. 마지막으로 글리세린은 Almax9060과 Almax9280은 완전히 용해되는데 2시간 이상 소모되었고 lecithin, sucrose fatty acid ester, Almax1800, Almax9080은 응집이 되는 것을 확인하였다. 육안상으로는 완전 용해가 되었지만 OM결과 대부분 침상형의 입자가 존재하는 것을 확인하였다. 따라서 이 실험에서는 2시간 이내에 녹는 유화제를 기준으로 24시간 이후에도 침전이 생기지 않은 유화제인 Sorvate 20, Sorvate 80, Almax 9081을 최종적으로 선정하였다.

Fig. 3과 같이, 안정성을 확인하기 위하여, lycopene crystal을 유화제 용액에 첨가하여 Tip sonication을 이용, 10,000 rpm으로 고속 혼합한 결과, OM상으로 Sorvate 80분산이 다른 유화제에 비해, 가장 안정한 것을 확인하였다.

3.2. 유화제 조절

앞서 선택된 유화제인 polysorbate 80을 TR 2%NG와 각각 다른 비율로 교반하였다. 그 후, OM으로 분산상태를 확인한 결과를 Fig. 4에 나타내었다.

결과적으로 reference (JP) 색 (a)과 가장 유사한 것으로 확인되는 (c)를 기본조건으로 다음 실험을 진행하였다.

3.3. lycopene입자의 크기변화

Ball-milling이 진행됨에 따라 초기보다 lycopene 입자의 크기가 작아지는 것을 DLS로 확인하였다. 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다.

따라서 ball-milling을 이용하여 분쇄시킨 lycopene 입자는 nano크기로 크기가 작아져 일정하게 유지되는 것을 확인 할 수 있었다. 또한, 동일한 lycopene 입자를 AsFIFFF로 크기와 크기분포를 측정하였다. 그 결과는 Fig. 6과 Table 4에 나타내었다.

DLS입도분석결과와 비슷한 크기분포를 나타내었다. 그러나, AsFIFFF결과를 살펴보면, lycopene 입자는 ball-milling 전에는 크고 넓은 크기분포를 가지고 있었지만, ball-milling 후에는 작은 크기를 가지는 것을 좀 더 명확하게 확인할 수 있었다. 또한 ball-milling 시간이 증가함에 따라 좁은 입자 분포를 가지는 것을 확인할 수 있었다. AsFIFFF 결과가 DLS결과에 비해, 천연색소 크기분포에 관리에 있어서, 더 엄격한 정보를 제공하는 것을 확인할 수 있었다.

3.4. Lycopene 분산액의 분산상태, 색 확인

Fig. 7은 ball-milling 전, 후의 lycopene분산액을 OM으로 확인하였다. OM상으로도 ball-milling 전, 후의 차이가 확실하게 나타났다. Ball-milling 전에는 lycopene입자의 크기가 커서 어두운 붉은색을 보였지만, ball-milling 후에는 밝은 색을 띄는 것을 확인할 수 있었고 또한, 입자크기가 작아진 것도 볼 수 있었다.

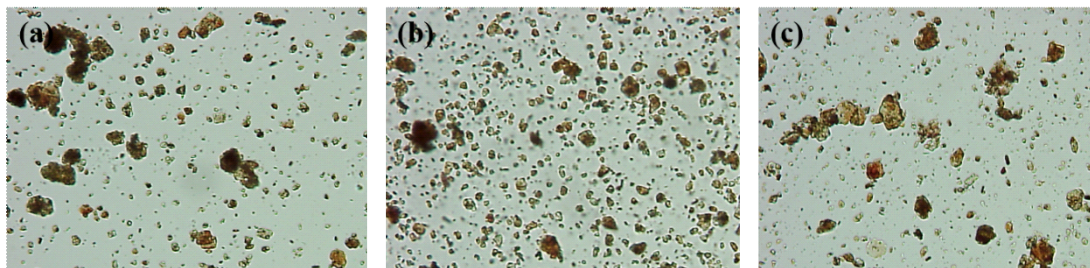


Fig. 3. OM photography of emulsifiers lycopene suspension by Tip sonication(10,000 rpm) (X200)
(a) Polysorbate 20, (b) Polysorbate 80, (c) Almax 9081.

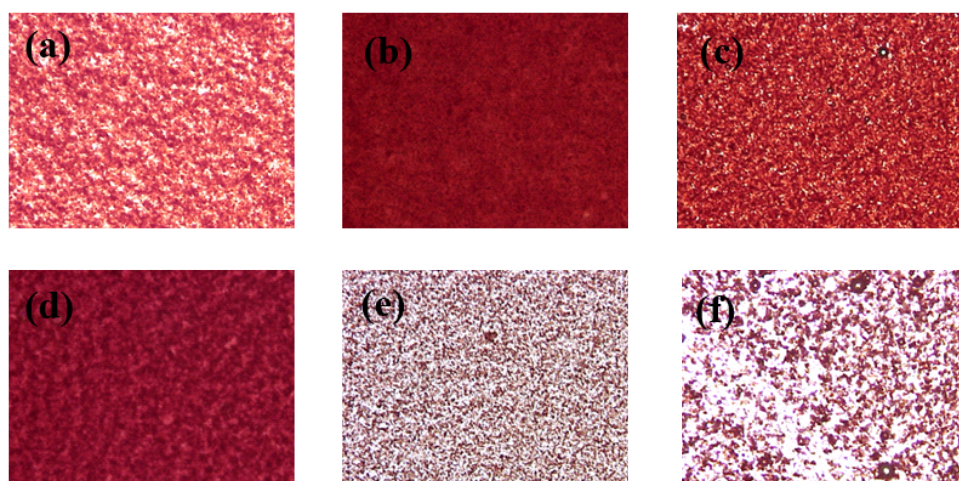


Fig. 4. OM of different ratios lycopene suspension (X200) (a) JP, (b) TR2%NG, (c) TR2%NG : Polysorvate 80 = 10 : 1 (d) TR2%NG : Polysorvate 80 = 10 : 5, (e) TR2%NG : Polysorvate 80 = 10 : 10, (f) TR2%NG : Polysorvate80 = 10 : 20.

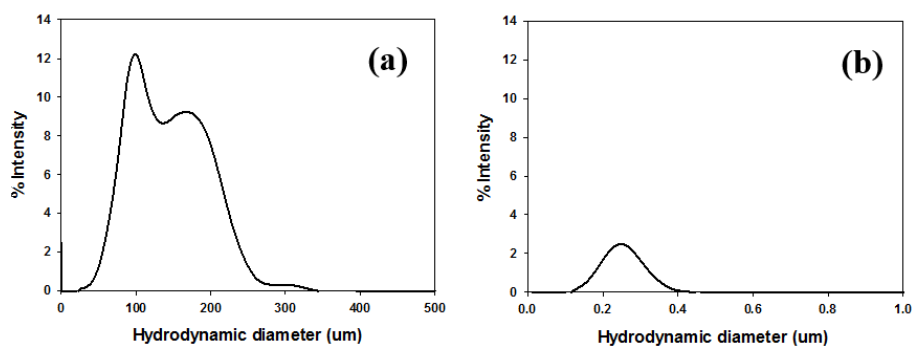


Fig. 5. DLS of lycopene suspension after ball-milling (a) before ball-milling, (b) after ball-milling

Table 4. AF4 diameter of lycopene suspension after ball-milling

	Mean diameter (nm)			
	Lyco	Lyco + Ga	Lyco_15h	Lyco + Ga_25h
AF4	176.37	160.39	94.45	79.23

Carrier liquid: 0.1% FL-70 + 0.02% NaN₃, *F_{total}*: 2.0 mL/min, Cross-flow rate : 1.0 mL/min, Wavelength: 254 nm, Injection: 50μL, Sample conc.: 0.1%

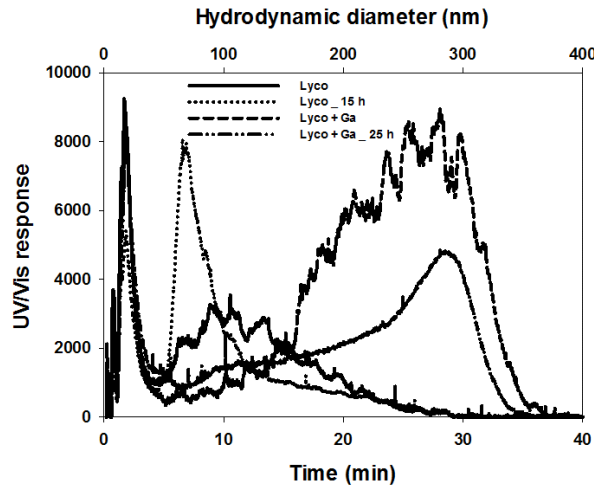


Fig. 6. AF4 of lycopene suspension after ball-milling.

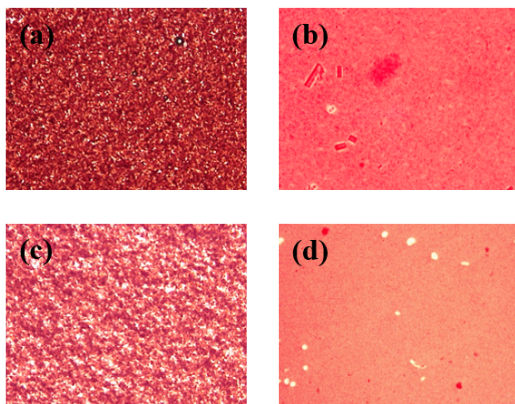


Fig. 7. OM pictures of lycopene suspension before and after ball-milling (a)Lyco, (b)Lyco_15h, (c) Lyco+Ga, (d)Lyco+Ga_25h

3.5. Lycopene 분산액의 색차계, pH

Ball-milling 진행 후에 color meter와 pH를 측정하여 Table 5에 나타내었다.

$$dE^*_{ab} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

Table 5의 L*, a*, b*는 각각 L(lightness)은 명도를 나타내고, a는 적색도를 나타내며, b는 황색도를 나타내며 +a는 redish, -a는 greenish, +b는 yellowish, -b는 bluish를 나타낸다. 또한, dE*_{ab} 는 기준샘플인 JP와의 색차이를 나타낸다. 위 해석을 기초로 하여 Table 5의 결과를 살펴 보면, L, a, b값이 전체적으로 증가하는 것을 보아, 색소 입자의 크기가 작아짐에 따라 색이 밝아지는 것을 확인 할 수 있었다. 또한 분산 시간이 길어지면서, 크기가 점점 작아지게 되고, pH 4.0[31]의 산성표면을 띤 lycopene 입자들이

Table 5. Color meters and pH results of lycopene suspension after ball-milling

Data Name	L*	a*	b*	dE* _{ab}	pH
JP	34.46±0.09	34.66±0.39	18.91±0.28	-	4.21
Lyco	33.68±0.54	25.26±0.44	10.74±0.02	13.00±0.36	6.07
Lyco_15h	34.94±0.01	26.21±0.03	13.45±0.02	10.66±0.04	5.71
Lyco + Ga_25h	37.19±0.07	32.73±0.07	16.81±0.12	4.39±0.14	5.63

많아지게 됨에 따라, 표면적이 증가하게 되어 점점 pH가 낮아지는 경향을 나타내는 것을 예측할 수 있었다. 이러한 이유로 Ga를 첨가하지 않은 Lyco_15h 에서도 적색도와 황색도가 증가하는 결과를 나타내었다.

4. 결론

본 연구는 코치닐 추출색소를 대체하기 위하여 Caroteniod계 적색의 식물성 색소인 토마토 추출물인 lycopene을 ball-milling을 이용하여 색소 입자크기를 균일하게 한 후, AsFIFFF와 DLS를 이용하여 lycopene입자의 크기와 크기분포를 정확하게 측정하고 색소분산액의 물성을 측정하기 위한 연구를 진행하였다.

우선 실험에 사용되는 색소들에 대한 분석을 진행하였고 그에 따른 특성을 이용하여 색소에 알맞은 유화제를 선택하였다. 또한 색소입자의 균일한 크기를 재현하기 위해 ball-mill을 이용하였고 이를 통해 작고 균일한 크기를 갖는 색소입자를 얻을 수 있었다. 크기가 작아짐에 따라 색이 밝아지고 pH가 낮아지는 것을 확인할 수 있었다.

본 연구를 통하여 개발된 천연색소는 염착력이 우수하고, 유화안정성이 탁월하며, 상용성이 양호하고 색의 밝기가 뚜렷하여 색 구현이 용이한 장점이 있다. 또한, 온도, 빛, pH 및 유기산 등에 의한 색소의 색상변화를 최소화함으로써 다양한 분야에 적용이 가능하고, 인체에 무해하며 입자크기의 균일도가 높아 신뢰성을 확보할 수 있다는 장점이 있다.

따라서, 본 연구를 통하여 개발된 lycopene 색소분산액은 식품, 화장품, 제약산업 등에 다양하게 적용되어 안정성 높은 제품으로 활용할 수 있을 것으로 기대된다. 또한, AsFIFFF 결과가 DLS결과에 비해 천연색소 크기분포에 관리에 있어서 더 엄격한 정보를 제공하는 것을 확인할 수 있었다.

감사의 글

This work was supported by 2017 Hannam University Research Fund. Authors acknowledge the support from Hannam

University.

References

1. H. J. Shin, "A Trend in Research and Development of Natural Gardenia Pigments", KSBB, Vol.22, No.5 pp. 271-277 (2007).
2. T. S. Lee, Y. J. Lee, Y. K. Kwon, J. S. Park, H. S. Ko, K. C. Sim, J. Y. Lee, J. W. Shin, J. W. Song and C. W. Lee, "Studies on the Determination Method of Monascus Pigment in Foods", Korean J. Food Sci. TECHNOL, Vol.33, No.5 pp. 641-644 (2001).
3. N. H. Lee, S. R. Oh, "Studies on the Stability of Red Pigment In the Opuntia ficus-indica Fruit", Cheju Journal of life Science, Vol.4, No.- pp. 57-65 (2001).
4. S. Xianquan, J. Shi, Y. Kakuda, and J. Yueming, "Stability of lycopene during food processing and storage", J Med Food, Vol.8, No.4 pp. 413-422 (2005).
5. M. T. Lee, B. H. Chen, "Stability of lycopene during heating and illumination in a model system", Food Chem, Vol.78, No.4 pp. 425-432 (2002).
6. G. P. Blanch, M. L. R. del Castillo, M. del Mar Caja, M. Pérez-Méndez, and S. Sánchez-Cortés, "Stabilization of all-trans-lycopene from tomato by encapsulation using cyclodextrins", Food Chem, Vol.105, No.4 pp. 1335-1341 (2007).
7. H. O. Boo, S. J. Hwang, C. S. Bae, S. H. Park and W. S. Song, "Antioxidant Activity According to Each Kind of Natural Plant Pigments", Korean J. Plant Res, Vol.24, No.1 pp. 105-112 (2011).
8. P. P. dos Santos, K. Paese, S. S. Guterres, A. R. Pohlmann, A. Jablonski, S. H. Flôres, and A. O. Rios, "Stability study of lycopene-loaded lipid-core nanocapsules under temperature and photosensitization", LWT - Food Sci. Technol, Vol.71,

- No. September pp. 190–195 (2016).
9. I. S. Kim, S. K. Jin, S. N. Kang, I. C. Hur, and S. Y. Cho, "Effect of Olive–Oil Prepared Tomato Powder (OPTP) and Refining Lycopene on the Physicochemical and Sensory Characteristics of Seasoned Raw Pork During Storage", *Korean J. Food Sci. Ani. Resour*, Vol.29, No.3 pp. 334–339 (2009).
 10. D. S. Kim, J. S. Han, M. H. Kim, "The Changes of Components by Maturity Stage of Tomato II", *Korean J. Food Culture*, Vol.19, No.6 pp. 605–610 (2004).
 11. D. W. Lee, Y. H. Kim, E. J. Jung, S. G. Lee, and H. B. Pyo, "A Study for Polyol-in-Oil Type Lip Makeup Cosmetics with Natural Pigments", *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, Vol.39, No.1 pp. 65–73 (2013).
 12. S. H. Ko, "Nanodispersion and Nanoparticle Using Food-Grade Materials", *Kosfost*, Vol. 41, No.1 pp. 25–32 (2008).
 13. D. J. Park, "Nanotechnology and food industry", *Kosfost*, Vol.35, No.4 pp. 35–40 (2002).
 14. D. J. Park, B. K. Kim, "Food Nanoparticles", *Kosfost*, Vol.41, No.1 pp. 17–24 (2008).
 15. O. Degant, D. Schwechten, Weizenmehle mit erhöhter Wasseraufnahmefähigkeit, sowie Verfahren und Vorrichtung zu deren Herstellung, Google Patents (2002).
 16. T. Shibata, Method for producing green tea in microfine powder, Google Patents (2002).
 17. H. Shin, S. Lee, H. S. Jung, and H. B. Kim, "Effect of ball size and powder loading on the milling efficiency of a laboratory-scale wet ball mill", *Ceram Int*, Vol.39, No.8 pp. 8963–8968 (2013).
 18. F. M. Katubilwa, M. H. Moys, "Effect of ball size distribution on milling rate", *Minerals Eng*, Vol.22, No.15 pp. 1283–1288 (2009).
 19. S. J. Kim, J. Y. Chio, S. H. Shin, "Design and Analysis of Mixture Experiments for Ball Mix Selection in the Ball Milling", *J Korean Soc Qual Manag*, Vol.42, No.4 pp. 579–589 (2014).
 20. A. S. Erdem, S. L. Ergün, "The effect of ball size on breakage rate parameter in a pilot scale ball mill", *Minerals Engineering*, Vol.22, No.7–8 pp. 660–664 (2009).
 21. H. Fessi, F. Puisieux, J. Ph. Devissaguet, N. Ammoury, and S. Benita, "Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement", *Int J Pharm*, Vol.55, No.1 pp. 1–4 (1989).
 22. S. S. Guterres, H. Fessi, G. Barratt, J. P. Devissaguet, F. Puisieux, "Poly (DL-lactide) nanocapsules containing diclofenac: I. Formulation and stability study", *Int J Pharm*, Vol.113, No.1 pp. 57–63 (1995).
 23. J. Flanagan, H. Singh, "Microemulsions: A potential delivery system for bioactives in food", *Crit Rev Food Sci Nutr*, Vol.46, No.3 pp. 221–237 (2006).
 24. C. J. H. Porter, N. L. Trevaskis, and W. N. Charman, "Lipids and lipid-based formulations: Optimizing the oral delivery of lipophilic drugs", *Nat. Rev. Drug Discov.*, Vol.6, No.3 pp. 231–248 (2007).
 25. C. W. Pouton, C. J. Porter, "Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: materials, methods and strategies", *Adv Drug Deliv Rev*, Vol.60, No.6 pp. 625–637 (2008).
 26. D. J. McClements, J. Rao, "Food-Grade nanoemulsions: Formulation, fabrication, properties, performance, Biological fate, and Potential Toxicity", *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, Vol.51, No.4 pp. 285–330 (2011).
 27. D. J. McClements, "Advances in fabrication of emulsions with enhanced functionality using structural design

- principles", *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, Vol.17, No.5 pp. 235-245 (2012).
28. D. J. McClements, "Nanoemulsions versus microemulsions: Terminology, differences, and similarities", *Soft Matter*, Vol.8, No.6 pp. 1719-1729 (2012).
29. A. R. Patel, K. P. Velikov, "Colloidal delivery systems in foods: A general comparison with oral drug delivery", *LWT - Food Sci. Technol.*, Vol.44, No.9 pp. 1958-1964 (2011).
30. C. T. Kim, C. J. Kim, Y. J. Cho, Y. H. Kim, I. H. Kim, and A. J. Chio, "Novel Fabrication Technology of Food Nanoemulsions", *Kosfost*, Vol.41, No.1 pp. 33-45 (2008).
31. F. A. Dousa, A. A. Neves, M. E. L. R. Queiroz, G. P. Pinho, R. Teófilo, F. F. Heleno, "Influence of ripening stages of tomatoes in the analysis of pesticides by gas chromatography", *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol.25, No.8 pp. 1431-1438 (2014).