

Koloidosomi - nova vrsta mikrokapsula

Keser, Sabina; Filipović-Grčić, Jelena; Jug, Mario

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2019, 75, 723 - 733**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:575864>

Rights / Prava: [In copyright](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2022-01-29**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Koloidosomi – nova vrsta mikrokapsula

SABINA KESER, JELENA FILIPOVIĆ-GRČIĆ, MARIO JUG

Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet,

Zavod za farmaceutsku tehnologiju, Domagojeva 2, 10 000 Zagreb

Uvod

Kontinuirani napredak te primjena novih materijala i tehnologija rezultira razvojem suvremenih terapijskih sustava, čija primjena vodi prema učinkovitijoj i sigurnijoj terapiji lijekovima dostupnim u kliničkoj praksi. Vodeći cilj je savladati ograničenja povezana s primjenom konvencionalnih oblika. To u prvom redu obuhvaća osiguravanje kemijske stabilnosti djelatne tvari prije i nakon primjene sprječavajući njenu razgradnju posredovanu različitim čimbenicima kao što su svjetlo, kisik, vlaga, nepovoljan pH te enzimska razgradnja u organizmu nakon primjene. Daljnji cilj je postizanje najprikladnije brzine i opsega apsorpcije te ciljane distribucije lijeka u organizmu do mjesta djelovanja kako bi se postigao optimalan terapijski učinak lijeka uz smanjenje učestalosti i intenziteta nuspojava. Mnogi od navedenih ciljeva ostvareni su primjenom tehnologije mikrokapsuliranja (1–3). Mikrokapsule su spremišni tip terapijskog sustava u kojem je djelatna tvar smještena u jezgri koja je obavijena ovojnicom. Pri tome, djelatna tvar može biti prisutna u krutom, otopljenom ili dispergiranom stanju, a ovojnica je načinjena od različitih, najčešće makromolekularnih tvari, prirodnog ili sintetskog podrijetla. Mikrokapsulirani produkti zastupljeni su u mnogim područjima, od farmaceutke, kozmetike, dodataka prehrani i funkcionalne hrane, tehnologije ispisa, tekstilne industrije, do vojne industrije i istraživanja svemira (3). U farmaceutskoj industriji istraživanje i primjena mikrokapsula započela je sredinom 1970-ih. Osim već navedenih prednosti, mikrokapsule omogućuju i odvajanje inkompatibilnih sastavnica pripravka, prevođenje tekućina u čvrste čestice, prikrivanje neugodnih mirisa i okusa te sprječavanje hlapljenja pojedinih sastavnica (2). Sve navedeno pridonosi značajnom povećanju funkcionalnosti ljekovitih oblika kao i produljenju roka trajanja gotovog pripravka na tržištu (1).

Koloidosomi

Koloidosomi su posebna vrsta mikrokapsula s ovojnicama izrađenim od samoorganiziranog monosloja koloidnih čestica (slika 1.), koje mogu biti od veoma različitih materijala. Razlikujemo koloidosome s ovojnicom građenom od mineralnih čestica, načinjenih od netopljivih anorganskih soli (primjerice, barijev sulfat i kalcijev karbonat), modificiranog silicijevog dioksida te različitih glina (bentonit,

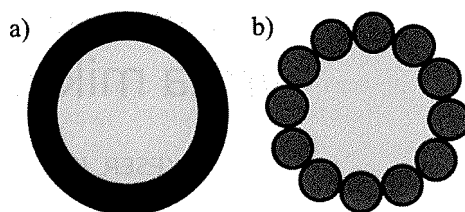
hidrofobni derivat bentonita, derivat laponita). Također, opisani su koloidosomi stabilizirani polimernim česticama koje su građene od prirodnih polimera (primjerice, alginat i kitozan), te od sintetskih polimera (kao što su polistiren, politetrafluoroetilen, polivinilalkohol, polimetilmetakrilat) (4, 5). Zanimljivo je spomenuti da su u razvoju posebnih funkcionalnih koloidosoma za detekciju ohratoksina korištene čak i nanočestice zlata (6).

Najčešći raspon veličina koloidosoma je između 5–40 μm , ali ti sustavi mogu biti i u obliku 'superstruktura' velikih i po 500 μm . Ta velika razlika u veličini proizlazi upravo iz navedene raznolikosti čestica koje se mogu koristiti za izradu ovojnica, čija veličina ovisi o materijalu iz kojega je izrađena (7–9).

Prvi put se strukture slične koloidosomima spominju 1996. godine, u nizu od tri rada koje su objavili Velev i suradnici u kojima su opisani različiti načini nakupljanja i samoorganiziranja polistirenom modificiranih lateks čestica oko kapljica emulzija (10–12). Dinsmore i suradnici su 2002. godine objavili zapaženi rad u časopisu *Science*, gdje su opisali način stabilizacije ovojnice građene od koloidnih čestica. Pri tome, analogno liposomima, koji su građeni od fosfolipidnih dvosloja, pripremljene čestice su nazvali 'koloidosomi' (7).

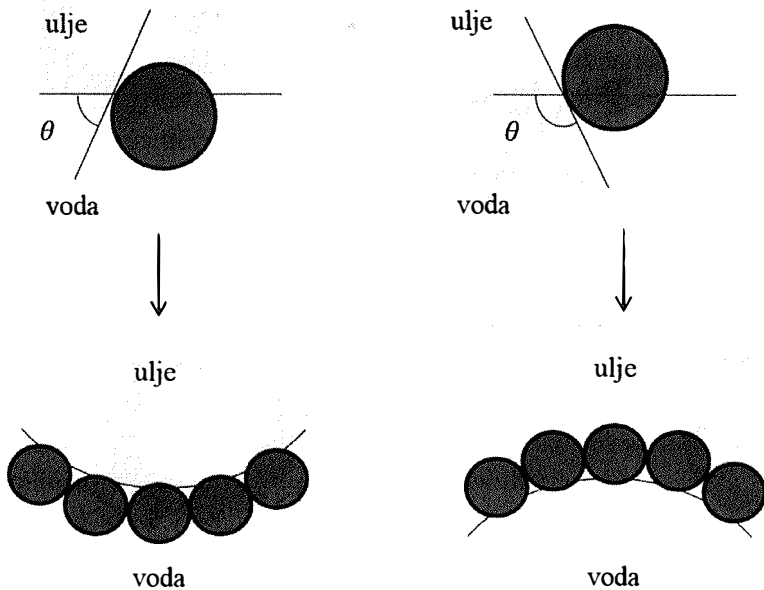
Izrada koloidosoma

Izrada koloidosoma se temelji na nakupljanju koloidnih čestica na međupovršini dviju tekućina koje se međusobno ne miješaju (4). U tu svrhu potrebno je najprije izraditi emulziju stabiliziranu čvrstim česticama (engl. *Pickering emulsion*) (13). Takve vrste emulzija, kao i konvencionalne emulzije stabilizirane površinski aktivnim tvarima, mogu biti tipa ulja u vodi (U/V) ili vode u ulju (V/U), a čvrste čestice se orijentiraju na međupovršini tih dviju faza. Taj proces je ireverzibilan te rezultira učinkovitijom stabilizacijom emulzije u odnosu na onu ostvarenu primjenom površinski aktivnih tvari (5, 14).



Slika 1. ► Shematski prikaz poprečnog presjeka mikrokapsule s polimernom ovojnicom (a) te koloidosoma s ovojnicom građenom od samoorganiziranog monosloja koloidnih čestica (b).

Odabir vrste čestica koje će se koristiti kao stabilizator takvih emulzija ovisi o podložnosti čestica močenju određenom tekućinom, a to je definirano kutom močenja. Svaka čestica koja može ostvariti zadovoljavajući kut močenja se može koristiti kao stabilizator. O kutu močenja čestice ovisit će tip emulzije koji se s tom česticom može izraditi. Ukoliko je kut močenja, θ , manji od 90° , čestica se više nalazi u vodi te rezultira nastajanjem emulzije tipa U/V. U slučaju kuta močenja većeg od 90° , čestica se više nalazi u ulju te rezultira emulzijom tipa V/U (slika 2.) (5).



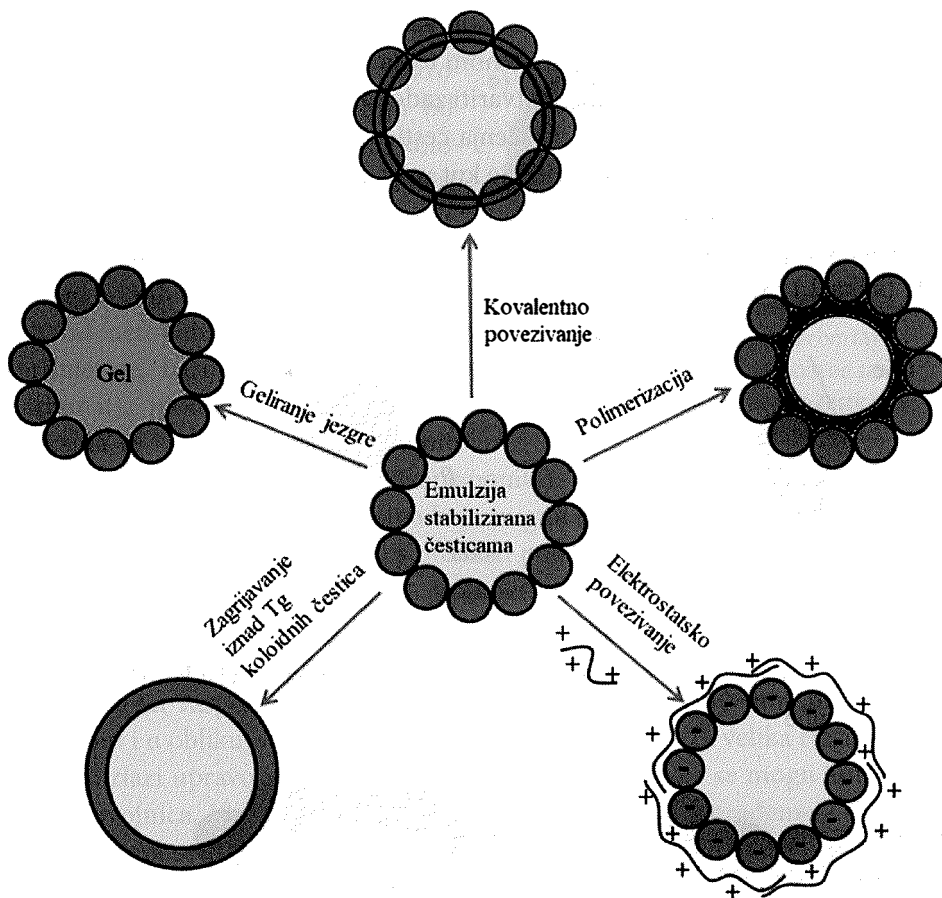
Slika 2. ► Prikaz smještaja koloidnih čestica na granici faza ovisno o kutu močenja

Osim odabirom vrsta čestica, na konačnu veličinu koloideosoma može se utjecati i u prvom koraku njegove izrade. To se postiže kontrolom veličine kapljice unutarnje faze emulzije (7).

Veličina kapljice, odnosno njezin promjer, smanjit će se:

- ♦ povećanjem koncentracije čestica kojima stabiliziramo emulziju
- ♦ smanjenjem veličine čestica kojima stabiliziramo emulziju
- ♦ povećanjem volumena vanjske faze emulzije (15, 16).

Nakon pripreme emulzije stabilizirane čvrstim česticama, potrebno je učvrstiti čestice smještene na međupovršini faza (slika 3). Ukoliko se čestice dobro ne učvrste, struktura će se raspasti ako ju pokušamo centrifugiranjem odvojiti iz vanjske faze (4).



Slika 3. ► Primjeri načina učvršćivanja koloidnih čestica u svrhu dobivanja koloidosoma (Tg – temperatura staklišta)

Dobivenu strukturu moguće je učvrstiti na više načina:

1. **Zagrijavanjem iznad temperature staklišta (Tg) materijala od kojeg su izrađene koloidne čestice.** Izrađena stabilna emulzija se zagrijava tek nešto iznad T_g čestica, da bi se one mogle stopiti. Što je zagrijavanje dulje, veličina pora će biti manja i površina glađa (4).
2. **Geliranjem jezgre.** Prvo je potrebno napraviti emulziju pri višoj temperaturi, s vodom kao unutarnjom fazom. U vodu se obično dodaje gelirajuća tvar koja se hlađenjem gelira. Geliranjem unutarnje vodene faze nastaje čvrsta struktura koja podupire koloidne čestice koje su se orijentirale na granici faza (4).

3. **Polimerizacijom.** Stabilnost koloidosoma se postiže dodatkom monomera i umreživača u unutarnju ili vanjsku fazu emulzije, ovisno gdje želimo reakciju polimerizacije (4).
4. **Kovalentnim povezivanjem koloidnih čestica.** Pri izradi emulzije treba odabrati čestice koje se, dodatkom umreživača, imaju sposobnost međusobno povezati kovalentnim vezama. Kao i u slučaju polimerizacije, umreživač se može dodati u vanjsku ili unutarnju fazu emulzije, ovisno gdje želimo reakciju, ali u ovom slučaju nije potreban dodatak monomera (4).
5. **Elektrostatskim povezivanjem.** Stabilna emulzija se izradi pomoću koloidnih čestica određenog naboja. Zatim se dodaje polimer suprotnih naboja. Ovisno koliko se dodaje slojeva suprotno nabijenih polimera postoji mogućnost kontrole debljine ovojnice i konačnog naboja koloidosoma (4).

Nakon učvršćivanja čestica i izrade stabilne ovojnice, ako želimo, koloidosome možemo odvojiti iz otapala centrifugiranjem te dispregirati u drugom otapalu, pri čemu njihova struktura ostaje sačuvana (4, 7).

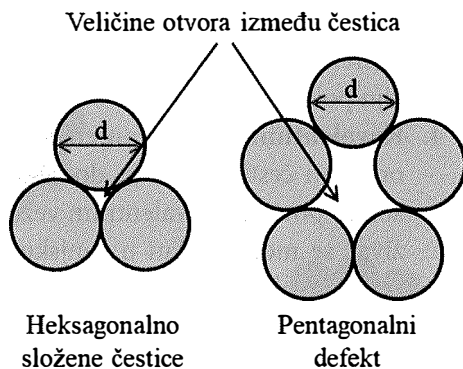
Uklapanje i kontrolirano oslobađanje tvari

Koloidosome karakterizira izuzetna čvrstoća i stabilnost, te visoka učinkovitost uklapanja tvari koja se može postići zahvaljujući velikom izboru otapala, čije se karakteristike mogu prilagoditi fizikalno-kemijskim svojstvima tvari koju želimo uklopiti (7). Prednost koloidosoma je i niska toksičnost, zbog toga što se u njihovoj izradi umjesto površinski aktivnih tvari, koje same mogu imati potencijalno toksičan učinak, koriste čestice izrađene od kemijski inertnih, biokompatibilnih materijala (8, 9, 10). Odabirom različitih vrsta i veličina čestica kao gradivnih jedinica ovojnice, te prilagodbom njezine debljine oblaganjem polimerima, možemo precizno podešavati karakteristike pripremljenih koloidosoma, mijenjajući propusnost ovojnice te utječući na njezinu mehaničku čvrstoću (20).

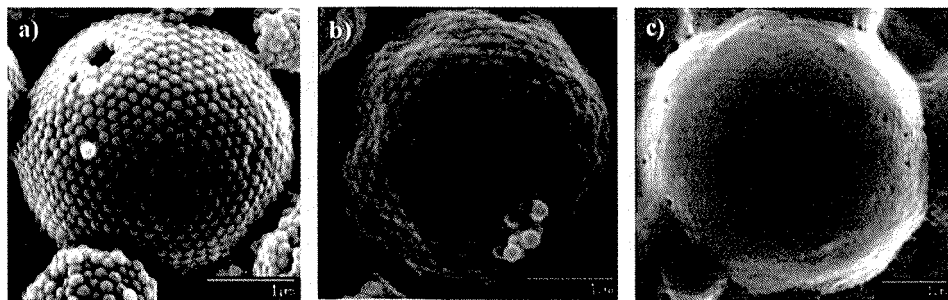
Propusnost koloidosoma definirat će veličina pora koje ostaju između koloidnih čestica koje grade ovojnicu (4). Idealan raspored čestica u ovojnici je onaj koji rezultira najmanjim dimenzijama pora između susjednih čestica. To se postiže heksagonalnim rasporedom čestica, pri čemu se između susjednih čestica određenog promjera (d) nalaze otvori veličine otprilike $0,15 \times d$. S obzirom na činjenicu da je koloidosom sferična struktura, slaganje čestica nije uvijek idealno, nego dolazi do pentagonalnih defekata. U tom je slučaju veličina pore između čestica znatno veća te iznosi oko $0,70 \times d$ (slika 4.) (4). Iz toga proizlazi da će samo tvari čije su dimenzije veće od $0,70 \times d$ sigurno biti zadržane u koloidosomu, dok će manje slobodno difundirati iz koloidosoma zavisno o koncentracijskom gradijentu (4).

Prisutnost pora u strukturi ovojnice je ujedno i najveći problem kod uklapanja tvari u koloidosome. Iako se nekim načinima učvršćivanja koloidosoma dimenzije tih pora mogu smanjiti (primjerice, duljim zagrijavanjem ili oblaganjem s više različitih slojeva polimera), njihovu prisutnost u ovojnici ne možemo u potpunosti izbjeći (4, 7). Premda su postignuti napreci u uklapanju malih molekula u koloidosome, još uvijek je potrebno razviti sustav koji će moći zadržati uklopljenu tvar kroz duži vremenski period (4).

Na primjeru koloidosoma izrađenih od modificiranih polistirenskih čestica pokazano je da se variranjem tehnoloških parametara može na odgovarajući način modificirati propusnost nastale ovojnice te tako osigurati uspješnije zadržavanje fluorescein natrija, hidrofilne boje, u strukturi koloidosoma. Ovojnica izrađena od modificiranih polistirenskih čestica stabilizirana je zagrijavanjem sustava na 49 °C, tijekom različitih vremenskih perioda. Analiza skenirajućom elektronskom mikroskopijom pokazala je da se duljim vremenom zagrijavanja postiže učinkovitije sljubljivanje polistirenskih čestica pri čemu nastaje ovojnica glađe površine (slika 5.). Pri tome, promijenila se i njezina permeabilnost. Kod koloidosoma termički tretiranih 5 i 30 minuta, ovojnica je relativno propusna te se posljedično uklopljeni fluorescein natrij oslobađa u potpunosti tijekom prvog sata. S druge strane, zagrijavanje tijekom 60 minuta značajno je smanjilo



Slika 4. ► Shematski prikaz slaganja koloidnih čestica ovojnice koloidosoma.



Slika 5. ► Prikaz promjene strukture ovojnice koloidosoma zavisno o trajanju termičkog tretmana. Sva tri uzorka tretirana su na 49 °C, u trajanju od 5 minuta (a), 30 minuta (b) i 60 minuta (c) (preuzeto i prilagođeno iz (18) uz suglasnost *American Chemical Society*).

propusnost ovojnice te je oslobađanje uklopljenog fluorescein natrija sporije i odvija se tijekom 24 sata (21).

Značajno učinkovitije zadržavanje unutar strukture koloideosoma se postiže za tvari i biološke sustave čije su dimenzije veće od veličine pora prisutnih u ovojnici. Pri tome, koloideosomi su se pokazali kao izrazito pogodne strukture za uklapanje živih stanica, kao što su stanice kvasaca te *Lactobacillus* bakterije (22, 23). Važno je istaknuti da su stanice kvasaca zadržale metaboličku aktivnost te sposobnost dijeljenja unutar koloideosoma s ovojnicom izrađenom od modificiranih polimetilmetakrilatnih čestica, dok im je glukoza potrebna za opstanak osigurana difuzijom kroz pore u ovojnici (22).

Sustav s uklopljenim *Lactobacillus crispatus* bakterijama je dobar primjer zaštitne uloge koloideosoma. Uklapanjem u koloiosome bakterije su zadržale metaboličku aktivnost te su pokazale otprilike 53 puta veću sposobnost preživljavanja u uvjetima prisutnim u želucu. I u ovom slučaju, ovojnica koloideosoma bila je izrađena od modificiranih polimetilmetakrilatnih čestica, koje su agregirane dodatkom malih količina etanola. Pri tome je izbjegnuto izlaganje koloideosoma povišenim temperaturama kao i upotreba agresivnih kemikalija, što ovu metodu čini izrazito prikladnom za uklapanje proteina i živih stanica (23).

Valja istaknuti potencijal koloideosoma kao terapijskih sustava s kontroliranim oslobađanjem uklopljene tvari. Koloideosomi načinjeni od kitozanom obloženih alginatnih čestica ispitani su kao potencijalni terapijski sustav za oralnu primjenu inzulina (20). Pri tome, inzulin je bio uklopljen u jezgru koloideosoma načinjenu od kopolimera mliječne i glikolne kiseline. Postignuta je odlična učinkovitost uklapanja inzulina od čak 96,7 % u koloiosome veličine 9,1 μm te pH-ovisno oslobađanje inzulina. Čestice su pokazale izuzetnu stabilnost u kiselom mediju (pH 1,2), a nastala struktura učinkovito je spriječila oslobađanje uklopljenog inzulina u uvjetima prisutnim u želucu. Porastom pH-vrijednosti na 6,8 dolazi do odvajanja koloidnih čestica s površine koloideosoma te selektivnog oslobađanja inzulina u uvjetima koji odgovaraju onima prisutnim u tankom crijevu. pH-ovisni profil oslobađanja inzulina i odgovarajući hipoglikemički učinak nakon oralne primjene potvrđen je i *in vivo* ispitivanjem na animalnom modelu.

Bolja kontrola oslobađanja uklopljenih tvari može se postići i dodavanjem više slojeva polimera na površinu ovojnice koloideosoma. To se u pravilu postiže uzastopnim dodavanjem polimera suprotnog naboja, koji se međusobno elektrostatski povezuju. Na primjeru koloideosoma s ovojnicom izrađenom od čestica laponita modificiranog polietileniminom, pokazano je da se uzastopnim nanošenjem alginata (negativno nabijeni polimer) i kitozana (pozitivno nabijeni polimer)

uspješno može kontrolirati permeabilnost ovojnice i time spriječiti neželjeno oslobađanje uklopljenog ibuprofena (11).

Novija istraživanja predlažu koloidosome s ovojnicom obloženu zlatom kao novi terapijski sustav za ciljanu dostavu citostatika. Pri tome, zlato na površini koloidosoma osigurava potpunu nepropusnost ovojnice za uklopljene citostatike, kao što je doksorubicin, a intaktni koloidosomi su u potpunosti biokompatibilni i netoksični. Ciljano oslobađanje uklopljenog doksorubicina osigurava se primjenom ultrazvuka, pri čemu dolazi do fragmentacije zlatne ovojnice. Oslobođeni citostatik te fragmenti zlata djeluju citotoksično u stanicama tumora. Funkcionalnost zlatom obloženih koloidosoma može se dalje unaprijediti vezanjem antigena na površinu čestica, čime se ciljano usmjerava njihovo djelovanje (24). Zlatom ili srebrom obloženi koloidosomi ispituju se i kao potencijalni terapijski sustav za primjenu antibiotika, pri čemu je oslobađanje uklopljenog antibiotika također posredovano primjenom ultrazvuka, a prisutni fragmenti čestica zlata ili srebra pridonose antimikrobnom učinku lijeka (25).

U današnjem vremenu, koloidosomi sve veću primjenu nalaze i u području analitičke kemije, biokemije i laboratorijske dijagnostike, a neki od primjera uspješne primjene uključuju upotrebu koloidosoma s ovojnicom od nanočestica silicijevog dioksida modificiranog fluorom u digitalnoj lančanoj reakciji polimeraze (26), pri čemu se izbjegavaju trenutna ograničenja metode povezane s uporabom tenzida. Nadalje, primjenom koloidosoma načinjenih od nanočestica plemenitih materijala ostvareno je snižavanje limita detekcije u spektroskopiji površinski pojačanog Ramanovog raspršenja (27). Također, ispituje se potencijalna upotreba koloidosoma kao ultraosjetljivih elektrokemijskih imunosenzora te su zanimljivi primjeri sustava izrađenih od oktaedarskih nanočestica zlata za detekciju ohratoksina A (6) te od nanočestica olovnog sulfida za detekciju biomarkera raka (28).

Zaključak

■ Koloidosomi su nova vrsta spremišnih sustava koja se intenzivno razvija, a svoju primjenu pronalaze u različitim područjima, od farmaceutike do analitičke kemije, biokemije i laboratorijske dijagnostike. Ovojnica koloidosoma građena je od samoorganiziranog monosloja koloidnih čestica, a njezine karakteristike mogu se precizno kontrolirati odabirom tipa materijala i naknadnom tehnološkom modifikacijom. Koloidosomi su prikladni za uklapanje lijekova, proteina i živih stanica, a njihove karakteristike mogu se precizno prilagođavati s ciljem razvoja visoko funkcionalnih i biokompatibilnih sustava, širokog spektra primjene.

10
2019

Colloidosomes – a newly emerging type of microcapsules

Sabina Keser, Jelena Filipović-Grčić, Mario Jug

Abstract Colloidosomes are microcapsules whose shells are composed of self-assembled colloidal particles. The first step of their production is the development of a stabile Pickering emulsion, stabilized with colloidal particles. Such emulsion can be either water-in-oil or oil-in-water type. Any particle that can achieve the needed contact angle and has sufficient wettability with both phases of the emulsion can be used as a Pickering emulsion stabilizer.

After obtaining the Pickering emulsion precursor, there are several mechanisms for shell reinforcement in order to achieve a robust microcapsule. These mechanisms include thermal annealing, gel trapping, polymerization, covalent cross-linking, and polyelectrolyte complexation.

The application for colloidosomes includes encapsulation and controlled release of various components. However, there is still a challenge to encapsulate small molecules, which can escape the colloidosome through the gaps between the neighboring particles. A solution to this problem could be adding additional layers of polymers to the colloidosome surface in order to fill the gaps. Completely impermeable colloidosomes could be prepared by adding an additional coating layer composed of silver or gold and such formulation has a potential application for targeted delivery and release of cytostatics and antibiotics, after being activated by ultrasound. But even if the problem of encapsulating small molecules is still challenging, colloidosomes bear the potential for encapsulation of biological macromolecules or living cells, which are too big to pass through the gaps in the shell. An increasing amount of research is also directed toward the use of colloidosomes as tools in development and sensitivity enhancement of different analytical methods. The versatile functionality of colloidosomes is related to the wide range of colloidal materials that can be used for their construction, thereby specifically tailoring their characteristics for each intended application, resulting in an inert and non-toxic carrier with multipurpose application.

1. Lam PL, Gambari R. Advanced progress of microencapsulation technologies: In vivo and in vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries. *J Control Release*. 2014; 178(1):25–45.
2. Singh MN, Hemant KSY, Ram M, Shivakumar HG. Microencapsulation: A promising technique for controlled drug delivery. *Res Pharm Sci*. 2010; 5(2):65–77.
3. Dubey R. Microencapsulation Technology and Applications. *Def Sci J*. 2009; 59(1):82–95.
4. Thompson KL, Williams M, Armes SP. Colloidosomes: Synthesis, properties and applications. *J Colloid Interface Sci*. 2014; 447:217–228.
5. Aveyard R, Binks BP, Clint JH. Emulsions stabilised solely by colloidal particles. *Adv Colloid Interface Sci*. 2003; 100–102:503–546.
6. Zhang T, Xing B, Han Q, et al. Electrochemical immunosensor for ochratoxin A detection based on Au octahedron plasmonic colloidosomes. *Anal Chim Acta*. 2018; 1032:114–121.
7. Dinsmore AD, Hsu MF, Nikolaidis MG, Marquez M, Bausch AR, Weitz DA. Colloidosomes: Selectively permeable capsules composed of colloidal particles. *Science (80-)*. 2002; 298(5595):1006–1009.
8. Lu J, Liang M, Li Z, Zink JI, Tmanoi F. Biocompatibility, Biodistribution, and Drug-Delivery Efficiency of Mesoporous Silica Nanoparticles for Cancer Therapy in Animals. *Small*. 2010; 6(16):1794–1805.
9. Gautam R, Singh RD, Sharma VP, Siddhartha R, Chand P, Kumar R. Biocompatibility of polymethylmethacrylate resins used in dentistry. *J Biomed Mater Res Part B*. 2012; 100B:1444–1450.
10. Massaro M, Colletti CG, Lazzara G, RIELA S. The Use of Some Clay Minerals as Natural Resources for Drug Carrier Applications. *J. Funct. Biomater*. 2018; 9(4):58.
11. Liu H, Gu X, Hu M, Hu Y, Wang C. Facile fabrication of nanocomposite microcapsules by combining layer-by-layer self-assembly and Pickering emulsion templating. *RSC Adv*. 2014; 4(32):16751–16758.
12. Liu H, Wang C, Gao Q, Liu X, Tong Z. Fabrication of novel core-shell hybrid alginate hydrogel beads. *Int J Pharm*. 2008; 351(1–2):104–112.
13. Velev OD, Furusawa K, Nagayama K. Assembly of Latex Particles by Using Emulsion Droplets as Templates. 1. Microstructured Hollow Spheres. *Langmuir*. 2002; 12(10):2374–2384.
14. Velev OD, Furusawa K, Nagayama K. Assembly of Latex Particles by Using Emulsion Droplets as Templates. 2. Ball-like and Composite Aggregates. *Langmuir*. 2002; 12(10):2385–2391.
15. Velev OD, Nagayama K. Assembly of Latex Particles by Using Emulsion Droplets. 3. Reverse (Water in Oil) System. *Langmuir*. 2002; 13(6):1856–1859.
16. Yow HN, Routh AF. Formation of liquid core-polymer shell microcapsules. *Soft Matter*. 2006; 2(11):940–949.

17. Yang Y, Fang Z, Chen X, et al. An Overview of Pickering Emulsions: Solid-Particle Materials, Classification, Morphology, and Applications. *Front Pharmacol.* 2017; 8(May):287.
18. Binks BP, Whitby CP. Silica Particle-Stabilized Emulsions of Silicone Oil and Water: Aspects of Emulsification. *Langmuir.* 2004; 20(4):1130–1137.
19. Binks BP, Whitby CP. Nanoparticle silica-stabilised oil-in-water emulsions: Improving emulsion stability. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp.* 2005; 253(1–3):105–115.
20. Nan F, Wu J, Qi F, Fan Q, Ma G, Ngai T. Preparation of uniform-sized colloidosomes based on chitosan-coated alginate particles and its application for oral insulin delivery. *J Mater Chem B.* 2014; 2(42):7403–7409.
21. Yow HN, Routh AF. Release profiles of encapsulated actives from colloidosomes sintered for various durations. *Langmuir.* 2009; 25(1):159–166.
22. Keen PHR, Slater NKH, Routh AF. Encapsulation of yeast cells in colloidosomes. *Langmuir.* 2012; 28(2):1169–1174.
23. Keen PHR, Slater NKH, Routh AF. Encapsulation of lactic acid bacteria in colloidosomes. *Langmuir.* 2012; 28(46):16007–16014.
24. Sun Q, Du Y, Hall EAH, Luo D, Sukhorukov GB, Routh AF. A fabrication method of gold coated colloidosomes and their application as targeted drug carriers. *Soft Matter.* 2018; 14(14):2594–2603.
25. Sun Q, Zhao Z, Hall EAH, Routh AF. Metal Coated Colloidosomes as Carriers for an Antibiotic. *Front Chem.* 2018; 6:196.
26. Yin K, Zeng X, Liu W, et al. Stable Colloidosomes Formed by Self-Assembly of Colloidal Surfactant for Highly Robust Digital PCR. *Anal Chem.* 2019; 91(9):6003–6011.
27. Wang K, Feng L, Li X, Wang W. Fabrication of 3D wax/silica/Ag(Au) colloidosomes as surface-enhanced Raman spectroscopy substrates based on Pickering emulsion and seed-mediated growth method of noble metal nanoparticles. *J Mater Res.* 2019:1–9.
28. Han X, Zhang H, Zheng J. Ultrasensitive Electrochemical Immunoassay Based on Cargo Release from Nanosized PbS Colloidosomes. *Anal Chem.* 2019; 91(3):2224–2230.

Primljeno 16. srpnja 2019.