



## Nanoteknolojik Tekniklerle Karotenoid Bileşenlerin Enkapsülasyonundaki Son Gelişmeler

Nuray İnan-Çinkır<sup>1\*</sup>, Erdal Ağçam<sup>2</sup>, Asiye Akyıldız<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Kadirli Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Bölümü, 80750 Osmaniye, Türkiye

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 01330 Adana, Türkiye

### MAKALE BİLGİSİ

### Ö Z

#### Derleme Makale

Geliş 19 Nisan 2018  
Kabul 22 Haziran 2018

#### Anahtar Kelimeler:

Nanoteknoloji  
Nanoenkapsülasyon teknikleri  
Karotenoid bileşenler  
Nanokapsül  
Enkapsülasyon

#### \*Sorumlu Yazar:

E-mail: nurayinan@osmaniye.edu.tr

Gıda ve sağlık endüstrisi açısından karotenoid bileşenler önemli bir potansiyele sahiptir. Karotenoid bileşenler işlem ve depolama koşullarına bağlı olarak çevresel koşulların etkisiyle oksidasyona ve izomerasyona uğramaktadır. Ayrıca, sindirim sırasında gıda matrisinden tam olarak serbest kalamaması, parçalanması ve hidrofobik özellikte olması biyoyararlılığını da azaltmaktadır. Enkapsülasyon, istenmeyen çevresel koşullara karşı koruyucu fiziksel bir bariyer oluşturarak biyoaktif bileşenleri uygun kaplama materyalleri ile kaplanmasını sağlayan etkili bir işlem olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda karotenoidlerin dayanımını, işlenmesini ve biyoyararlılığını geliştirmek için nanoteknolojinin gelişmesiyle beraber nanoenkapsülasyon teknolojisinin kullanımı giderek artmaktadır. Yapılan çalışmalar, nanoenkapsülasyonun, mikroenkapsülasyona göre daha fazla yüzey alanı sağlaması, yüksek enkapsülasyon etkinliği ve verimi, suda çözünürlüğü artırması ve kontrollü salınımı geliştirmesi gibi özelliklere sahip olma potansiyelinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu derlemede, karotenoid bileşenlerin dayanımını arttırmak amacıyla kullanılan nanoenkapsülasyon tekniklerinin etkinliği ve bu alandaki son gelişmeler üzerinde durulmuştur.

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 6(8): 1066-1082, 2018

### Recent Developments in Encapsulation of Carotenoid Components by Nanotechnological Techniques

### ARTICLE INFO

### ABSTRACT

#### Review Article

Received 19 April 2018  
Accepted 22 June 2018

#### Keywords:

Nanotechnology  
Nanoencapsulation techniques  
Carotenoid components  
Nanocapsule  
Encapsulation

#### \*Corresponding Author:

E-mail: nurayinan@osmaniye.edu.tr

Carotenoid components have a significant potential in terms of the food and health industry. They are undergone oxidation and isomerization with the influence of unfavourable environmental conditions depending on process and storage conditions. In addition, their bioavailability is reduced due to inexactly release from food matrix, degradation during digestion, and to be hidrofobic properties. Encapsulation is defined as a effective process that provides bioactive components coated with suitable coating materials by creating of a protective physical barrier against undesirable conditions. In recent years, nanoencapsulation technology together with development of nanotechnology has been gradually increased in order to improve the resistance, processing and bioavailability of the carotenoids. Studies showed that nanoencapsulation has high potential for having features such as providing more surface area, high encapsulation efficiency-yield, solubility enhancement and developing controlled release compared to microencapsulation. In this review, it is emphasized on the efficiency of using the nanoencapsulation techniques to increase stability of carotenoid components, and the recent developments.

DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v6i8.1066-1082.1978>

## Giriş

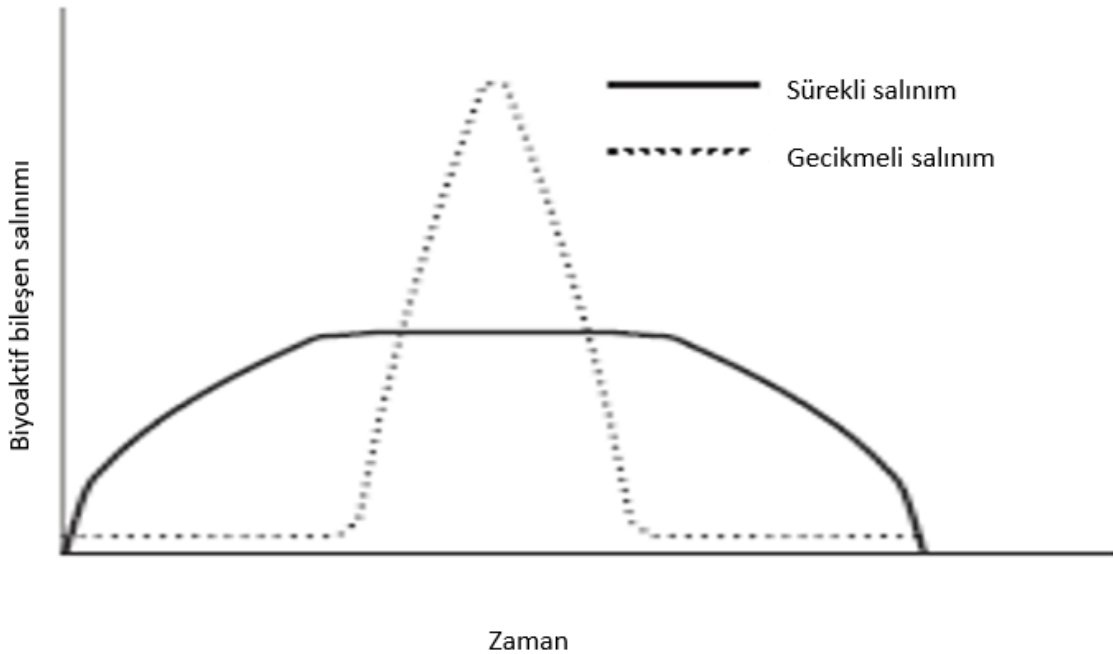
Nanoteknoloji, 100 nm altındaki atomik ya da moleküler seviyede üretilen malzemelerin üretimi, karakterizasyonu ve modifikasyonu ile ilgili multidisipliner bir alandır (Weiss ve Gibis, 2013). Nanoteknolojik uygulamalar tıp, kozmetik, tarım ve gıda gibi birçok alanda yer almaktadır. Gıda alanında nanoteknoloji; tat, renk, tekstür ve yapıyı iyileştirme, biyoyararlılığı artırma, yeni paketleme materyalleri/nanosensörleri geliştirme ve biyoaktif bileşenlerin enkapsülasyonunda kullanılmaktadır (Mozafari ve ark., 2008a; Neethirajan ve Jayas, 2011).

Bitki, alg ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve lipofilik karakter gösteren karotenoid bileşenler kloroform, benzen, petrol eteri, alkol karbon disülfid gibi organik çözücülerde çözünmektedir. Çoklu doymamış bir yapıya sahip olan karotenoidler, ısıya karşı dayanıklı olmakla birlikte çevresel koşulların etkisiyle proses ve depolama sırasında oksidasyona ve izomerizasyona uğramaktadır (Krinsky ve Johnson, 2005; Sanchez ve ark., 2014). Karotenoidlerin oksidasyonuyla birçok parçalanma ürünleri (epoksitler ve karbonil bileşikler vb.) oluşmaktadır. Bu ürünler, gıda ürünlerinde istenmeyen tat-koku oluşumuna sebep olabilmektedir. Ayrıca, enzimatik aktivite özellikle lipoksigenaz aktivitesi, sülfid ve metal iyonları varlığı, su buharı veya pH değişimi gibi istenmeyen çevresel koşullar da karotenoid bileşenlerin parçalanmasını hızlandırmaktadır (Koca, 2006).

Gıda endüstrisi için karotenoidler gıdaların renklendirilmesi ve zenginleştirilmesinde önemli bir potansiyele sahiptir. *In vivo* ve *in vitro* testler, antioksidan özelliğe sahip karotenoid bileşenlerin prostat kanseri, koroner kalp, sinir sistemi ve göz ile ilgili rahatsızlıkları azalttığını göstermiştir. Nanoenkapsülasyon, bu bileşenlerin dayanımını, işlenmesini ve biyoyararlılığını

geliştirmek için alternatif bir yoldur (Gutiérrez ve ark., 2013; Chen ve ark., 2014). Nanoenkapsülasyon, bazı teknikler kullanarak biyoaktif bileşenlerin kaplama matrisi içinde tutulmasını sağlayan nano ölçekte yapılan enkapsülasyon teknolojisi olarak tanımlanmaktadır (Ezhilarasi ve ark., 2013). Mikroenkapsülasyon yöntemlerinin, partikül boyutu kontrolü, morfoloji, ısıya hassas biyoaktif bileşenlerin parçalanması, düşük enkapsülasyon etkinliği gibi bazı olumsuz özellikleri bulunmaktadır (Franceschi ve ark., 2008). Nanokapsüller, mikrokapsüllerle karşılaştığında daha fazla yüzey alanı sağlaması, yüksek enkapsülasyon etkinliği-verimi, çözünebilirliği artırma, biyoyararlılığı ve kontrollü salınımı geliştirme açısından potansiyeli yüksektir. Kontrollü salınımda genel olarak, gecikmeli ve sürekli olmak üzere iki adet mekanizma bulunmaktadır. Gecikmiş salınımda, gastrointestinal sistemde istenilen yer ve zamana kadar salınımı geciktirilmektedir. Örneğin bu mekanizma, biyoaktif bileşeni mide koşullarda koruyarak bağırsaklarda salınımını sağlamaktadır. Sürekli salınım ise hedef noktada (mide veya bağırsak) biyoaktif bileşenin sabit konsantrasyonda serbest kalmasıdır (Şekil 1) (Fathi ve ark., 2012).

Nanoenkapsülasyon tekniklerinde kullanılan kaplama materyalleri: peynir altı suyu protein konsantresi, gluten, aljinat, zein, jelatin, kazein, yumurta albümini, serum albümini gibi proteinler; pullulan, kitosan, selüloz, dekstran ve guar gam gibi polisakkaritler, enzimler, fosfolipit ve DNA gibi doğal bileşenlerdir (Vega-Lugo ve Lim, 2009; Wongsasulak ve ark., 2010; Anu Bhushani ve Anandharamakrishnan, 2014). Ayrıca, polikaprolakton (PCL), poliglikolik asit (PGA), poli-D,L-laktik asit (PLA), polietilen-oksit (PEO), polivinil asetat (PVA) gibi sentetik materyallerin gıdalarda kullanımı söz konusudur.



Şekil 1 Nanokapsüllerden biyoaktif bileşenlerin salınım mekanizmaları  
Figure 1 Release mechanisms of bioactive components from nanocapsules

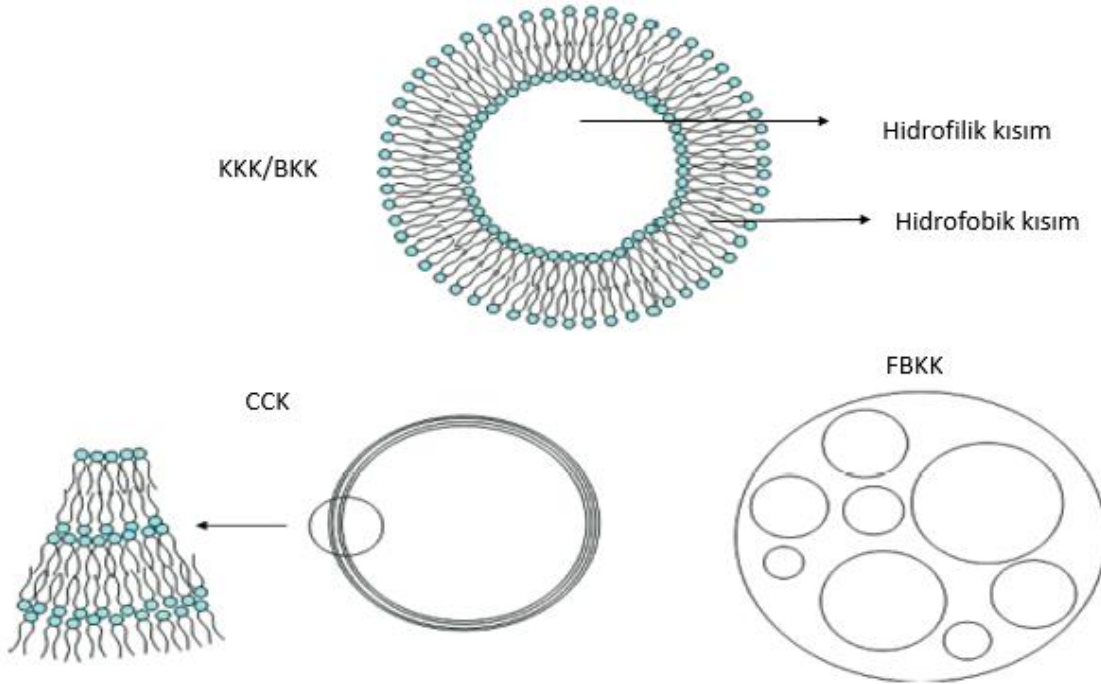
Bu çalışmada, önemli bir potansiyeli olan karotenoid bileşenlerin çevresel koşullara karşı dayanımını sağlamak için lipozom, niozom, nanoemülsiyon, süperkritik akışkan ve elektrohidrodinamik işlemler gibi nanoenkapsülasyon tekniklerinin gıda alanında kullanım potansiyeli ve son gelişmeler hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır

### Nanoenkapsülasyon Teknikleri

#### Lipozom ile Enkapsülasyon

Lipozomlar, su ve fosfolipitlerin hidrofobik-hidrofilik etkileşimler ile çift katmanlı polar lipid keselerdir (Soukoulis ve Bohn, 2018). Polar lipitlerin su gibi polar bir ortamda dispers edilmeleri sonucunda

oluşurlar (Taylor ve ark., 2005; Gibis ve ark., 2012). Polar lipit olarak lesitinlerden, çoğunlukla da yumurta lesitininden yararlanılmaktadır. Lipozomlar, hidrofobik ve hidrofilik fazlara sahip olması nedeniyle hidrofobik, hidrofilik ve amfilik materyallerin ve aynı anda çiftli enkapsülasyon yapılmasında kullanılmaktadır. Biyobozunur, biyoyumlu ve toksik etkiye sahip olmaması enkapsülasyon amaçlı kullanımda etkilidir (Mozafari ve ark., 2006; Mozafari ve ark., 2008a; Chun ve ark., 2013; Kırtıl ve Öztop, 2014; Tan ve ark., 2014; Xia ve ark., 2015; Soukoulis ve Bohn, 2018). Lipozomlar, özellikle lipofilik bileşiklerin enkapsülasyonunda önemli bir potansiyele sahiptirler (Toniazzo ve ark., 2014).



Şekil 2 Küçük veya büyük tek katmanlı kese (KKK/BKK), birden fazla kese içeren kese (FBKK) ve çok katmanlı kesenin (CCK) yapıları

Figure 2 Small or large single-layered vesicle (KKK / BKK), vesicle containing multiple vesicle (FBKK) and multilamellar vesicle (CCK)

Lipozomlar biyoaktif bileşeni enzim, reaktif kimyasal, yüksek sıcaklık, pH ve iyon konsantrasyonu gibi çevresel koşullara karşı koruyarak dayanımını artırmaktadır. Buna ek olarak, lipozomlar lipofilik bileşenlerin sulu sistemlerde çözünürlüğünü de artırmaktadır. Lipozomların fonksiyonel özellikleri, boyutları, kompozisyonu eklenen gıdaya ve/veya çevresel etmenlere bağlıdır. Lipozomların boyutları, 20-200 nm'den 1-3 µm'ye kadar değişen boyutlarda olabilmektedir (Taylor ve ark., 2007). Başlıca avantajları, enkapsüle edilmiş materyalin uygun yer ve zamana kadar saklanabilmeleri ve salınım oranının kontrol edilebilir olmasıdır (Fang ve Bhandari, 2010). Lipozomlar, hücre membranına yapısal benzerlik göstermesiyle kanla taşınımı sonucunda hücreler arasına girebilmektedir. Bu sayede, enkapsüle edilen biyoaktif bileşenlerin kontrollü ve hedefe yönelik salınımı sağlanmaktadır (Kırtıl ve Öztop, 2014). Peng ve ark. (2010), astaksantin lipozomal enkapsülasyonu ile elde edilen lipozomların *in vitro* koşullarda biyoyararlılığı arttırdığını bildirmişlerdir.

Lipozomları elde etmek için sisteme mekanik veya mekanik olmayan enerji verilmesi gerekmektedir. Bu sebeple serbest enerji artışı olacağından termodinamik olarak değil, kinetik olarak dayanıklıdır. Termodinamik dayanım, sistemde reaksiyon gerçekleşip gerçekleşmeyeceğini ifade ederken, kinetik dayanım ise sistemde reaksiyon gerçekleşirse hangi oranda ilerleyeceğini ifade etmektedir (Tan ve ark., 2013). Mekanik enerji olarak; yüksek şiddetli ultrasonikasyon, mikroakışkanlaştırıcı (yüksek basınç homojenizatörü), membran ekstrüzyon teknikleri kullanılırken; mekanik olmayan enerji olarak ters farz buharlaştırma ve ince film kurutma-sulandırma (prolipozom yöntemi) diğer bir adıyla Bangham yöntemi kullanılmaktadır (Taylor ve ark., 2005; Lesoin ve ark., 2011). Prolipozom tekniğinde biyoaktif bileşen içeren fosfolipitler püskürtülerek veya dondurarak kurutma ile kurutulmaktadır. Kuru fosfolipitler, tekrardan sulandırılarak ve yapıya kalınlaştırıcı ajanların (gam vb.) eklenip yapılandırılması ile lipozomlar elde edilmektedir (Moraes ve ark., 2013;

Elhissi ve Taylor, 2005). Endüstriyel ölçekte üretimi olan prolipozom gıda endüstrisinde kullanılmaktadır (Alves ve ark., 2004; Elhissi ve Taylor, 2005).

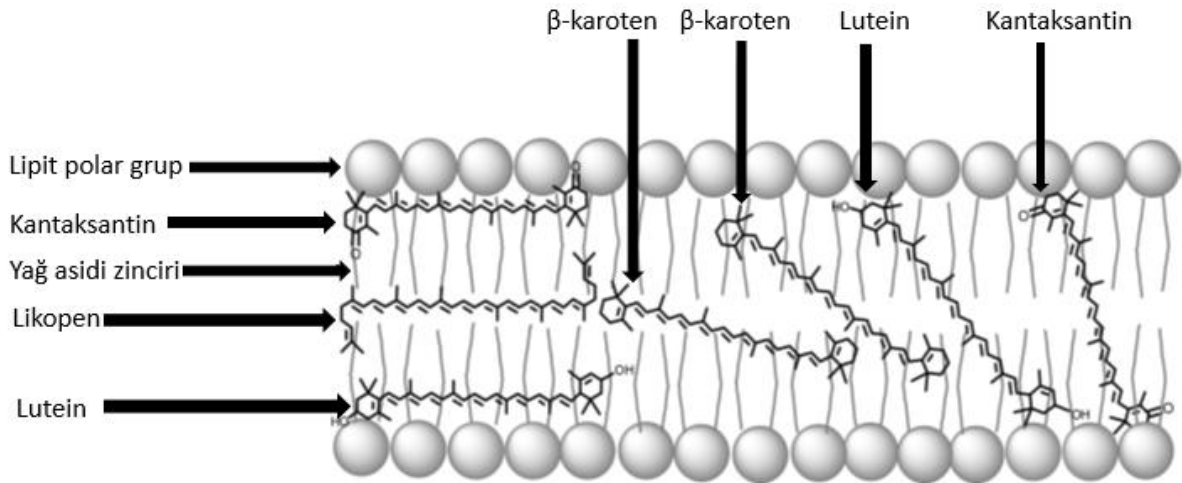
Lipozomlar bir veya birden fazla katmanlı fosfolipidlerden oluşmaktadır. Boyutlarına göre; küçük tek katmanlı kese (KKK, 100 nm' den küçük), büyük tek katmanlı kese (BKK, 100 nm'den büyük), birden fazla katmanlı kese (FBKK) ve iki adet çift katman üst üste yerleşmesiyle çok katmanlı kese (CCK) olarak ayrılmaktadır (Şekil 2) (Taylor ve ark., 2005; Mozafari ve ark., 2008). CCK, BKK'ye mekanik enerji (membran ekstrüzyonu, ultrasonikasyon, yüksek basınç homojenizasyonu) uygulanmasıyla ve ince film kurutma-sulandırma yöntemine göre elde edilmektedir. KKV, CCK ve BKK' ye mekanik enerji uygulanmasıyla elde edilmektedir (Mozafari ve ark., 2008a).

Genel olarak, lipozomlar arası itici kuvvetler (elektrostatik veya sterik) artırılarak çökme ve birleşmeye karşı dayanım da artırılmaktadır. Lipozom üretiminde kullanılan fosfolipitlerin negatif yüklü olmasıyla dayanımı artırmak için kullanılacak olan kaplama materyalinin elektrostatik adsorbsiyon yöntemine göre pozitif yüklü olması gerekmektedir (Tan ve ark., 2013; Mozafari ve ark., 2008a). Lipozomların hidroliz, oksidasyon, çökme ve birleşmeye karşı sınırlı düzeyde olan fiziksel ve kimyasal dayanımı polimerlerle birlikte yüzey aktif maddeler ve antioksidanlar eklenerek artırılmaktadır. Ksantan ve guar gibi gıamlar, kitosan, pektin ve polietilen glikol (PGA) bu amaçla çalışmalarda tercih edilmektedir (Mozafari ve ark., 2006; Elhissi ve Taylor, 2005; Tan ve ark., 2013; Chun ve ark., 2013; Toniazzo ve ark., 2014). Lipozom sistemlerinde diğer önemli bir nokta jelden sıvı kristal fazına dönüşüm sıcaklığıdır ( $T_m$ ). Bu sıcaklıkta hidrokarbon zincirlerinde erime meydana geldiği için yapısal bütünlük bozulmaktadır. Bu problemi azaltmak için yapıya kolesterol eklenerek membran sağlamlığı artırıldığı,  $T_m$  ve dönüşüm entalpisi azaltıldığı gözlenmiştir (Taylor ve ark., 2005). Ayrıca, kolesterol içeren lipozomlar hücrel membrana benzerlik göstermesiyle biyoyararlılık

açısından önemli bir potansiyeli bulunmaktadır.

Tan ve ark., (2014), prolipozom yöntemi ile lutein, likopen,  $\beta$ -karoten ve kantansaktin içeren lipozomların antioksidan aktivitelerini (DPPH, FRAP ve lipid peroksidasyonu önleme kapasitesi) değerlendirmişlerdir (Şekil 3). Enkapsülasyonla birlikte DPPH ve FRAP aktivitesi artmıştır. En yüksek antioksidan aktivite sırasıyla lutein,  $\beta$ -karoten, likopen ve kantansaktin içeren lipozomlarda görülmüştür. Junghans ve ark., (2000), karotenoid bileşen ( $\beta$ -karoten ve lutein) ve glutatyon içeren lipozomların lipid peroksidasyonuna karşı direnç gösterdiğini belirtmiştir. Barros ve ark., (2001), çeşitli oksidan bileşik ( $H_2O_2$ , ter-bütillhidroperoksit, askorbat ve  $Fe^{+2}$ : EDTA) yüklü astaksantin ve peridinin içeren lipozomların (CCK) lipid peroksidasyonuna karşı dayanımını belirlemişlerdir. Sonuç olarak, özellikle astaksantin içeren lipozomlar lipid peroksidasyonunun ilerlemesinde daha etkili inhibisyon etkisi sağlamıştır. Bunlara ilaveten astaksantin, peridinin göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir.

Toniazzo ve ark., (2014),  $\beta$ -karoten içeren lipozomları kalınlaştırıcı ajanlar (ksantan ve guar gam) ile dayanıklı hale getirilerek yoğurda eklenmiştir. Lipozomlar, 95 gün boyunca  $\beta$ -karotenin %90' nın parçalanmasını önlemiştir. Eklenen lipozomların yoğurdun fizikokimyasal özelliklerini geliştirmesinin de mümkün olduğu ifade edilmektedir. Tan ve ark. (2016), likopen,  $\beta$ -karoten, lutein ve astaksantin içeren lipozomları (CCK) kitosanla kaplamıştır. Karotenoid yüklü lipozomların; yüksek sıcaklığa dayanımı, çözünürlüğü ve kontrollü salınımı geliştirilmiştir.  $\beta$ -karoten ve lutein içeren lipozomlar daha yüksek dayanım göstermiştir. Xia ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada doğal fosfolipid (yumurta lesitini) ve Tween 80' den oluşan lipozomların yapısına en iyi nüfuz olan karotenoidlerin sırasıyla lutein,  $\beta$ -karoten, likopen, ve astaksantin olduğunu vurgulamışlardır. Karotenoidler, lipozomların morfolojik yapısında ve hidrofobik özelliğinde değişime sebep olarak lipozomların çökmesine veya birleşmesine sebep olduklarını ifade etmişlerdir.



Şekil 3 Yumurta lesitinin elde edilen lipozomlarda karotenoidlerin yerleşimi

Figure 3 Location of carotenoids in liposomes from egg lecithin

Chun ve ark. (2013), pozitif yüklü kitosan ve negatif yüklü yüksek metoksilli pektin veya  $\lambda$ -karragenan kullanarak çok katmanlı (6 katmana kadar) lipozom elde etmişlerdir. Lipozom boyutu 80 nm' den birkaç  $\mu\text{m}$ ' ye ulaşmıştır. 24 saatlik depolama sonucunda 3 katmandan sonra çökme problemi oluşmuştur.  $\lambda$ -karragenan içeren lipozomlarda daha az çökme meydana gelmiştir. Moraes ve ark. (2013),  $\beta$ -karoteni prolipozom yöntemine göre enkapsüle etmişlerdir. Kalınlaştırıcı olarak ksantan gam kullanılmıştır.  $\beta$ -karoten yüklü lipozomlar, suda yüksek çözünürlük göstermiştir. Oda koşullarında depolamaya göre vakum altında 4°C' de depolanan lipozomlarda  $\beta$ -karotenin %90'nı 60 gün boyunca korunmuştur. Lipozomların boyut aralığı, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli değerleri 100 gün depolama boyunca mevcut durumlarını korumuştur

#### *Niozom ile Enkapsülasyon*

Niozom (iyonik olmayan yüzey aktif madde kesesi), sulu ortamlarda iyonik olmayan yüzey aktif maddelerin bir araya gelerek bağ oluşturması ile elde edilen çift katmanlı yapılar (Şahin, 2007; Junyaprasert ve ark., 2008; Abae ve Madadlou, 2016). Niozomların fiziksel yapıları ve üretim yöntemleri lipozomlara benzemektedir (Junyaprasert ve ark., 2008). Lipozomlara benzer olarak hidrofilik ve hidrofobik bölgeleri bulunmaktadır (Palozza ve ark., 2006; Gandhi ve ark., 2012). Yüksek kimyasal dayanımı, homojen bileşim, maliyetinin makul olması, depolama ve yüzey aktif madde çeşitliliği gibi nedenlerden dolayı lipozomlara göre daha avantajlıdır. Niozomun dayanımını sağlamak için yapıya çoğunlukla lipit özelliği gösteren kolesterol eklenmektedir (Palozza ve ark., 2006; Junyaprasert ve ark., 2008; Gandhi ve ark., 2012; Abae ve Madadlou, 2016). Kolesterol, yüzey aktif maddelerin hidrofilik kısımlarıyla hidrojen bağı oluşturmaktadır. Bu şekilde, niozomun yapısını ve çevresel etmenlere karşı fiziksel özelliklerini (enkapsülasyon etkinliği, uzun süreli dayanım, kontrollü salınım) geliştirmektedir (Selecı ve ark., 2016).

Niozomal yapılarla ilgili uygulamalar daha çok ilaç ve kozmetik sektöründe yapılmaktadır. Niozomla kaplı ilaçların enkapsülasyonu ilaçların toksitesini düşürebilmekte, ilaçların absorpsiyonunu artırmakta ve ilacın kontrollü salınımı sebebiyle ilacın vücuttan atılmasını geciktirmektedir (Palozza ve ark., 2006; Pando ve ark., 2015a). Bu sistemlerin gıda alanında kullanımı yaygın değildir.

Palozza ve ark. (2006),  $\beta$ -karoteni, niozom kaplama yöntemi ile enkapsüle etmişlerdir.  $\beta$ -karoten içeren niozomların; güneş ışığı, yüksek sıcaklık ve oksidatif koşullara oldukça dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, niozomların suda çözünür olduklarını da belirtmişlerdir.

Gouranton ve ark., (2008), likopenin yağ hücrelerinde çözünürlüğünü artırmak için Palozza ve ark., (2006)' nın kullandığı enkapsülasyon yöntemini uygulamışlardır. Ancak hücrelerde likopenin çözünürlüğünün çok düşük veya hiç çözünemediğini bildirmişlerdir. Bu durumun niozom ile kaplama sırasında uygulanan işlemlerin, likopenin parçalanmasına sebep olabileceğini vurgulamışlardır.

Ravaghi ve ark. (2016), *Dietzia natronolimnaea* HS-1 tarafından üretilen kantaksantini niozom kaplama

yöntemine göre enkapsüle ederek dayanım testleri yapmışlardır. Niozomlar, Tween 60 ve kolesterol eklenerek hazırlanmıştır. Tween 60:kolesterol (1:1) ile hazırlanan niozomların enkapsülasyon etkinliğinin en yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Kolesterol eklenerek hazırlanan niozomların sıcaklık ve ışığa karşı dayanımının yüksek olması sebebiyle kantaksantin parçalanmasının minimum düzeyde kaldığını rapor etmişlerdir.

Pando ve ark. (2015), yoğurt katkısı olarak resveratrol içeren niozomlar elde etmişlerdir. Yüzey aktif madde olarak Span 60 veya Maisine 35-1, yardımcı yüzey aktif madde olarak ise dodekanol kullanılmıştır. Üretilen niozomların boyutu 200 nm civarındadır. Niozomlar, yüksek enkapsülasyon etkinliği ve iyi dayanım göstermişlerdir. Niozomlar, yoğurtların tekstürel özelliklerinde değişime sebep olmamıştır. Sonuç olarak, süt ürünlerine katılabilecek uygun katkı maddesi olabileceği belirtilmiştir.

Gutiérrez ve ark., (2016), demir yüklü niozomların yoğurda ilave edilmesiyle yoğurdun fonksiyonel olarak zenginleştirilmesini sağlamışlardır. Niozomlar, yüzey aktif madde olarak gliserol monooleat, poligliserol-3-dioleat veya sorbitan monooleat; yardımcı yüzey aktif madde olarak dodekanol kullanılarak formüle edilmiştir. Niozom eklenmiş yoğurtların duyu, reolojik ve dayanım testleri, kontrol örneğiyle benzer özellik göstermiştir.

#### *Nanoemülsiyon ile Enkapsülasyon*

Nanoemülsiyonlar, yüksek enerjili (yüksek basınç homojenizasyon, sonikasyon, mikroakışkan) veya düşük enerjili (faz dönüşüm sıcaklığı, çözgen yer değiştirme) emülsifikasyon yöntemleri kullanılarak elde edilen 50-200 nm boyutunda transparan görünümli damlacıklardır (Solans ve ark., 2005; Huang ve ark., 2010). Dayanımını artırmak için yapısına yüzey aktif maddeler eklenmektedir (Onwulata, 2012). Nanoemülsiyonlar konvensiyonel emülsiyonlarla (1-10  $\mu\text{m}$ ) karşılaştırıldığında emülsiyon damlacıklarının birleşmesi, çökme veya faz ayrımı gibi durumlara karşı yüksek dayanım göstermesi, yüksek optik berraklık ve lipofilik bileşiklerin biyoyararlılığını artırma gibi avantajları bulunmaktadır. Ancak, küçük damla boyutu ve yüksek yüzey alan-hacim oranına sahip olması ile biyoyararlılığı artırırken konvensiyonel emülsiyonlarla karşılaştırıldığında düşük kimyasal dayanıma sebep olabilmektedir (Yi ve ark., 2015; Yi ve ark., 2015a).

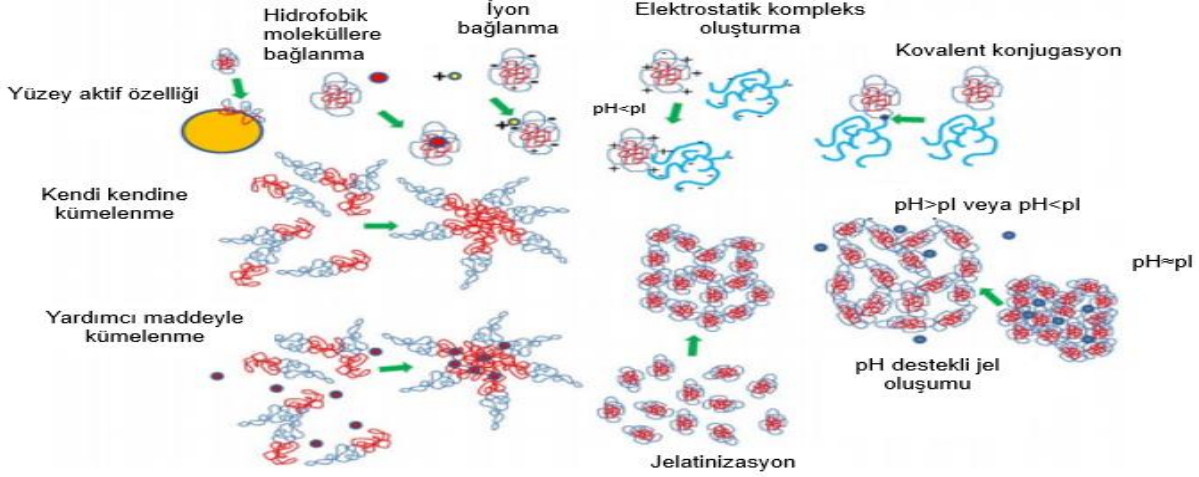
Nanoemülsiyonlar, karotenoid bileşenleri enkapsüle etmek için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Emülsifikasyon ve depolama sırasında karotenoidlerin dayanımını; karotenoid tipi/konsantrasyonu, lipid fazının tipi/konsantrasyonu, yüzey aktif madde tipi/konsantrasyonu, antioksidan maddelerin varlığı, prooksidan maddeleri püskürtücüler, partikül boyutu ve çevresel etmenler etkilemektedir (Soukoulis ve Bohn, 2018). Nanoemülsiyonlar, enkapsülasyon sonrası ıslak formunda veya kurutma işlemlerine tabi tutularak kullanılmaktadır (Solans ve ark., 2005).

Nanoyapıda kapsüller elde etmek için birçok nanoemülsiyon yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemler aşağıda sıralanmıştır:

*Proteinlerin kendi kendine kümelenmesi ile elde edilen nanokapsüller:* Süt proteinleri (kazein ve  $\beta$ -laktoglobulin); ucuz, doğal, biyoyumlu, biyoparçalanabilir,

GRAS (genel olarak güvenli olan) statüsünde olup birçok yapısal ve fonksiyonel özelliğe sahiptirler (Sáiz-Abajo ve ark., 2013; Ye ve Harte, 2013). Hidrofobik bileşenleri bağlama, kendi kendine veya yardımcı maddeler vasıtasıyla kümelenme, zıt yüklü polisakkaritlerle kompleks oluşturma, iyon, asit veya ısıyla jelatinizasyon,

pH destekli gel oluşumu, Maillard reaksiyonu aracılığıyla kovalent konjugatlar oluşturma gibi fonksiyonel özelliklere sahip olmasıyla enkapsülasyon ve kontrollü salınım çalışmalarında tercih edilmektedir (Şekil 4) (Livney, 2010).



Şekil 4 Kaplama materyali olarak kullanılan süt proteinlerinin fonksiyonel özellikleri  
 Figure 4 Functional properties of milk proteins used as coating material

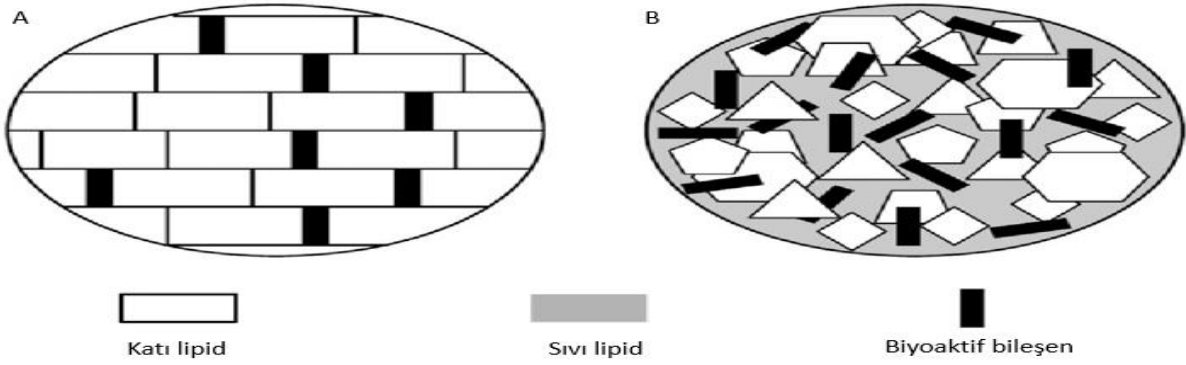
Kazein miselleri ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ -kazein), hidrofobik ve serin-kalsiyum köprüleri sayesinde dayanımı sağlamaktadır. Karotenoid bileşenlerin kazein nanokapsülleri içinde enkapsülasyonu etanol, ısı veya yüksek basınç homojenizasyonu ile kazein misellerinin kümelenmesi ve karotenoidlerin misellere bağlanması ve tekrardan düzenlenmesiyle sağlanmaktadır (O'Connel ve ark., 2003; Zimet ve Livney, 2009; Trejo ve Harte, 2010; Ye ve Harte, 2013). Saiz-Abajo ve ark., (2013),  $\beta$ -karoten yüklü kazein nanokapsüllerinin (ort. 100 nm) 1-45°C sıcaklıkta, pH 2,4-4,2 ve pH 6-8 aralığında yüksek dayanım gösterdiğini ifade etmişlerdir. Ayrıca, yapılan çalışmada sterilizasyon, pastörizasyon, fırında pişirme ve yüksek basınç uygulamalarına karşı kazein nanokapsülleri  $\beta$ -karoteni korumuştur.

$\beta$ -laktoglobulinin, pH, ısı ve asit koşullarına bağlı olarak jelleşme ve emülsiyon oluşturma özelliği en önemli özelliklerindedir (Gunasekaran ve ark., 2007). Kendine özgü merkezi boşluk yapısı karotenoidler için ligand (bağlanma yeri) olarak görev yapmaktadır (Mensi ve ark., 2013). Mensi ve ark. (2013), çalışmasında emülsifikasyon yöntemlerinden yüksek basınç homojenizasyon uygulaması (200 veya 600 MPa, 20°C) ile  $\beta$ -karoten içeren  $\beta$ -laktoglobulin nanokapsülleri elde etmişlerdir. Depolama ve gastrointestinal koşullarında yüksek basınç uygulamasının  $\beta$ -karoten üzerine etkisini irdelemişlerdir. En yüksek enkapsülasyon etkinliği (%89-99) düşük pH ve iyonik kuvvetlerde elde edilmiştir. Nanokapsüllerin depolama (4°C, 6 gün) dayanımının yüksek olduğunu ve *in vitro* gastrointestinal sindirimde, peptik ve pankreatik sindirim sonrası  $\beta$ -karotenin sırasıyla %12 ve %33'ünün serbest kaldığını bildirmişlerdir.

Yi ve ark. (2015),  $\beta$ -laktoglobulin (BLG) ve serbest radikal metoduyla üretilen BLG-kateşin kompleks bileşikleri ile  $\beta$ -karoten içeren nanoemülsiyonlar hazırlayarak farklı depolama sıcaklıklarında (4, 25 ve

50°C) depolamışlardır. Nanoemülsiyonların boyutları 160-170 nm arasındadır. Nanoemülsiyonların boyut artışı ve toplam karotenoid kaybı 50°C depolamada 4 ve 25°C'ye göre daha fazla olmuştur. 50°C' de 30 gün depolandıktan sonra BLG ve BLG-kateşin kompleks bileşikleri içeren nanoemülsiyonların  $\beta$ -karoten dayanımı sırasıyla %27,8 ve %48,6 olarak belirlenmiştir. BLG-kateşin kompleks bileşiklerin karotenoid dayanımını geliştirdiği ifade edilmiştir. Polifenol-protein kompleks bileşiklerinin, düşük dayanıma sahip biyoaktif bileşikleri kaplamada uygun bir materyal olabileceği vurgulanmıştır.

*Katı lipid ve nano lipid bazlı nanotaşıyıcılar:* Lipid bazlı nanotaşıyıcılar; mikroemülsiyon, nanoemülsiyon, lipozom, katı lipid nano taşıyıcılar (KLN) ve nano yapıda sıvı lipid taşıyıcılardan (NLC) oluşmaktadır. KLN ve NLC diğer lipid bazlı sistemlere göre yüksek enkapsülasyon etkinliği, düşük organik çözügen kullanımı, daha fazla dayanım ve biyoyararlılıkta artış sağlaması sebebiyle daha avantajlıdır (Şekil 5) (Yoon ve ark., 2013). KLN, kısmen veya tamamen kristalize olmuş lipid fazından oluşmaktadır. KLN, kristal yapının oluşumuna bağlı olarak düşük kaplama etkinliği ve depolama sırasında düşük dayanım gibi bazı olumsuz özelliklere sahip olabilmektedir. Bu sebeple, KLN'in yapısı değiştirilerek yeni bir nano taşıyıcı sistem olan NLC geliştirilmiştir. NLC, yapısında hem katı hem de sıvı lipid fazını içermektedir. Lipid tipi, enkapsülasyon etkinliğini ve dayanımını etkilemektedir. Dayanımı artırmak için yüzey aktif maddelerden de yararlanılmaktadır. NLC yapısı itibarıyla sulu sistemlerde düşük çözünürlüğe sahip biyoaktif bileşenlerin enkapsülasyonunda, fiziko-kimyasal dayanımın ve kontrollü salınımın artırılmasında ve gıdaların zenginleştirilmesinde potansiyeli bulunmaktadır (Hentschel ve ark., 2008; Liu ve Wu, 2010; Qian ve ark., 2013; Lacatusu ve ark., 2013; Hejri ve ark., 2013; Tamjidi ve ark., 2013).

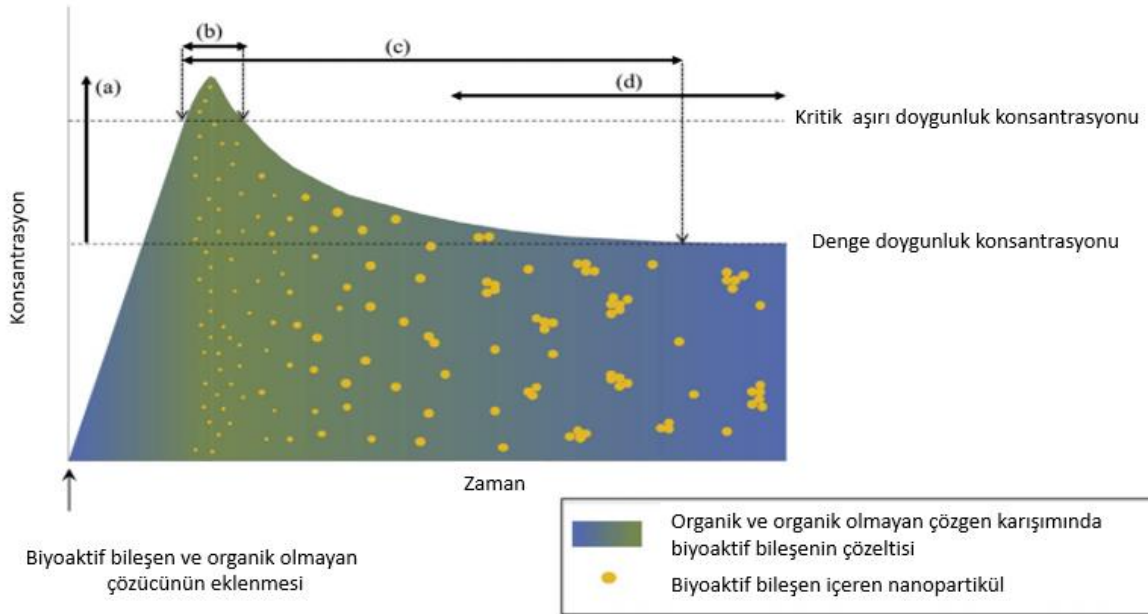


Şekil 5 Katı lipid nano taşıyıcılar (KLN) ve nano yapıda sıvı lipid taşıyıcıların (NLC) yapısı  
Figure 5 The structure of solid lipid nanocarriers (SLN) and nanostructured liquid carriers (NLC)

Cornacchia ve Roos (2011), KLN yöntemine göre  $\beta$ -karoteni enkapsüle etmişlerdir. Kristal oluşumuna bağlı olarak  $\beta$ -karotenin dayanımının azaldığı belirlenmiştir. Helgason ve ark. (2009),  $\beta$ -karoten yüklü KLN' nin elde edilmesinde kullanılan yüzey aktif maddenin (lesitin veya Tween 60) miktarı arttıkça  $\beta$ -karotenin oksidasyona karşı dayanımının arttığını vurgulamışlardır. Zhang ve ark. (2013), çalışmasında  $\beta$ -karoten içeren NLC nanokapsüllerinin çökme ve Ostwald olgunlaşmasına karşı dayanımı yüksek bulunmuştur. Depolama sırasında,  $\beta$ -karotenin parçalanma hızının düşük olduğunu ifade etmişlerdir

*Organik çözügen ile yer değiştirme tekniği (organik olmayan çözügen ile çöktürme):* Kaplama materyali ve biyoaktif bileşenin etrafındaki organik çözügenin organik olmayan bir çözügenle yer değiştirme ilkesine dayanmaktadır. Bu teknik, aşırı doyumluk, çekirdeklenme, partiküllerin büyümesi ve çökme (koagülasyon) aşamalarından oluşmaktadır (Şekil 6) (Joye ve McClements, 2013). Organik çözügen olarak etanol veya asetondan, organik olmayan çözügen olarak sudan

yararlanılmaktadır (Soukoulis ve Bohn, 2018). Nanopartiküllerin oluşumu, biyopolimer çözeltisi ve biyoaktif bileşen içeren karışımdan organik çözügenin hızlı difüzyonuyla sağlanmaktadır. Çözügenin difüze edilmesiyle kaplama materyalinin kendiliğinden kümelenerek biyoaktif bileşenin enkapsüle edilmesi sağlanmaktadır (Joye ve McClements, 2013). Yapıya eklenen yüzey aktif maddeler (Tween 20 vb.) su-yağ arayüzeyine tutunarak yüzey gerilimini düşürmekte çökme ve partikül büyümesine etki etmektedir (Chu ve ark., 2007). Bu teknikte önemli olan, kritik çözügen konsantrasyonuna ulaşım aşırı doyumluk sağlamaktır. Aşırı doyumluk ve yüzey aktif madde kullanımına bağlı düşük yüzey gerilimi, kritik enerji bariyerini aşarak hızlı çekirdeklenmeye sebep olarak daha küçük boyutta partikül oluşumunu sağlamaktadır. Aşırı doyumluk itici güç olarak davranarak enkapsülasyon etkinliğini, boyut, morfoloji ve kristaliteyi belirlemektedir. Ayrıca kaplama materyalinin sertliği, polaritesi ve hidrofobik özelliği partikül büyümesini önlemede önemli rol oynamaktadır (Joye ve McClements, 2013).



Şekil 6 Organik çözügen ile yer değiştirme tekniğinin şematize hali. a) aşırı doyumluk b) çekirdeklenme, c) partiküllerin büyümesi, d) çökme (koagülasyon)

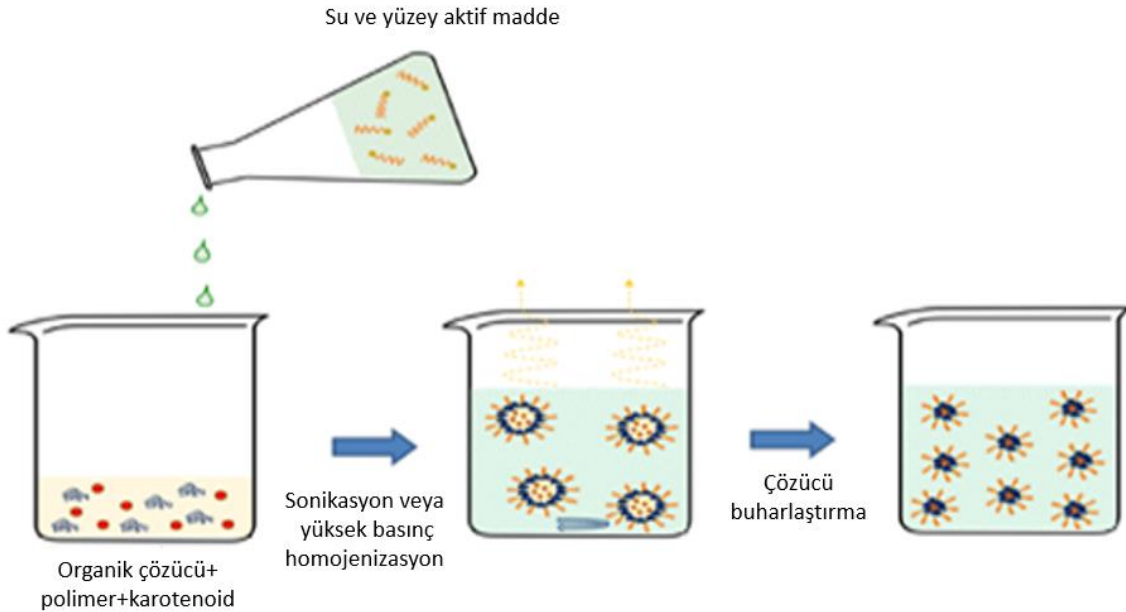
Figure 6 Schematic representation of the anti-solvent process: a) supersaturation, b) nucleation, c) particle growth, d) coagulation

Çözgen yer değiştirme tekniği suda çözünebilen organik çözgenlerin kullanımını sınırlandırdığı için uygun çözgen bulma problemi bulunmasına rağmen, düşük enerji uygulamaları ile yüksek enkapsülasyon etkinliği sağlamaktadır (Chu ve ark., 2007). Yapılan çalışmalarda kaplama materyali olarak süt proteinleri, jelatin, poli-D,L-laktik (PLA), poli-D,L-laktik-ko-glikolik (PLGA), poli-ε-kaprolakton (PCL) ve arabik gam kullanılmaktadır (Chu ve ark., 2007; Ribeiro ve ark., 2008; Lobato ve ark., 2013). Lobato ve ark. (2013), bixsini çözgen yer değiştirme tekniği ile enkapsüle ederek ortalama 195±27 nm çapında nanokapsüller elde etmişlerdir. Kaplama materyali olarak PCL-sorbitan monostearat kullanmışlardır. %100' e yakın enkapsülasyon etkinliği sağlanırken, nanokapsüllerin 119 gün oda koşullarında depolama sırasında fiziksel olarak dayanıklı olduğu belirtilmiştir.

**Emülsiyon-buharlaştırma:** Emülsiyon-buharlaştırma yöntemi; organik bir çözgünde çözünen biyoaktif bileşen çözeltisinin, yüzey aktif madde içeren sulu çözelti ile emülsifiye edilmesinden ve oluşan y/s (suda yağ) emülsiyonlardan çözgenin buharlaştırılması ile nanodispersiyonlara (nanokapsül) dönüştürülmesi ilkesine dayanmaktadır.(Şekil 7) (Soukoulis ve Bohn, 2018). Buharlaştırma sırasında çözünürlük sınırına ulaşıldığında çevresel koşullara dayanıklı biyoaktif bileşen kristalleri elde edilmektedir (Anarjan ve ark., 2011; Chu ve ark., 2007). Yüzey aktif maddeler, nanokapsül oluşumunda ya tek başına ya da kombinasyonları halinde önemli rol oynamaktadır. Ara yüzey gerilimini düşürdükleri için çökme veya birleşme problemini en aza indirerek nanokapsül oluşumunu sağlamaktadırlar (Silva ve ark., 2011). Chu ve ark. (2007a), β-karoten nanokapsülleri elde etmek için süt proteinlerini (sodyum kazeinat ve peynir altı suyu türevleri) kullanmışlardır. Sodyum kazeinatın, nanokapsül dağılımı (ort. 17 nm) açısından en etkili emülsifiyer olduğu belirtilmiştir.

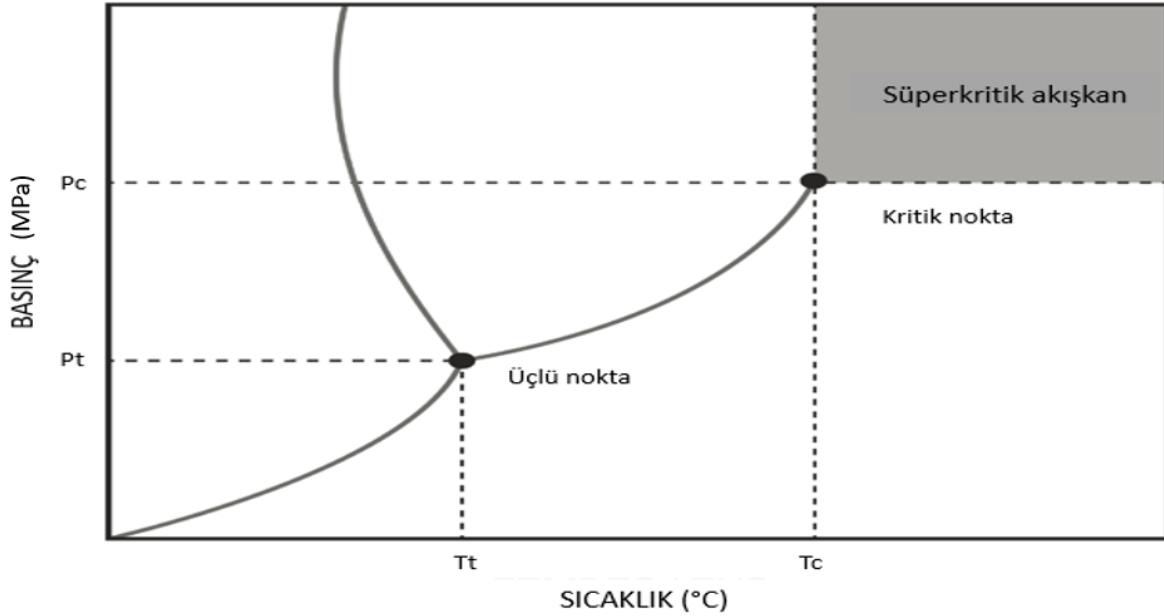
Nanoemülsiyon oluşumunda yüksek enerjili homojenizasyon yöntemlerin kullanılması yaygındır. Tan ve Nakajima (2005), β-karoteni enkapsüle etmek için emülsiyon-buharlaştırma yöntemini kullanmışlardır. β-karoten nanokapsüllerinin eldesinde iki farklı homojenizatör (konvensiyonel homojenizatör ve mikroakışkanlaştırıcı) kullanmışlardır. Konvansiyeye göre mikroakışkanlaştırıcı, daha küçük ve homojen görünümlü nanokapsüller (60-140 nm) elde etmede etkilidir. Mikroakışkanlaştırıcıda artan homojenizasyon basıncı ve döngüleri, kapsül boyutu ve dağılımı üzerine önemli bir etkiye sahipken, işlemler sonrasında %1-8 arasında β-karoten kaybı olmuştur. Anarjan ve ark. (2011), yaptığı çalışmada astaksantin kaybına (%4-45) homojenizasyon basıncı ve döngüsünün buharlaştırma sıcaklığından daha etkili olduğunu vurgulamıştır. Silva ve ark., (2011), yüksek enerjili emülsifikasyon-buharlaştırma yöntemini kullanarak 9-280 nm boyutunda nanokapsüller elde etmişlerdir. Nanokapsüllerin, 21 gün boyunca fiziksel olarak dayanımı yüksek olmasına rağmen depolama boyunca kimyasal olarak dayanıklı olmadığı ifade edilmiştir.

Yi ve ark. (2015a), emülsifikasyon-buharlaştırma yöntemi ile β-karoteni üç farklı kaplama materyali (sodyum kazeinat, peynir altı suyu proteini ve soya proteini) kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Sodyum kazeinat-β-karoten, peynir altı suyu proteini-β-karoten ve soya proteini-β-karoten nanokapsülleri elde edilmiştir. Nanokapsüllerin, *in vitro* koşullarda biyoyararlılığı irdelenmiştir. Nanokapsüllerin, bağırsak epitel (Caco-2) hücrelerine uygulanarak hücresel antioksidan aktivitesi (HAA) değerlendirilmiştir. β-karotenin serbest haline (%45) göre nanokapsüllerin HAA değeri (%60) daha yüksek bulunmuştur. Peynir altı suyu protein-(β-karoten) nanokapsülleri, diğer nanokapsüllere göre daha avantajlı kontrollü salınım özelliği göstermiştir.



Şekil 7 Emülsiyon-buharlaştırma yöntemi  
Figure 7 Emulsion- evaporation method





Şekil 8 Saf bileşenler için sıcaklık-basınç faz diyagramı  
Figure 8 Temperature-pressure phase diagram for pure components

#### Süperkritik Akışkan ile Enkapsülasyon

Süperkritik akışkan ile enkapsülasyon tekniği, sıcağa karşı hassas bileşenlerin parçalanmasını önlemek, homojen partikül dağılımı sağlamak ve enkapsülasyon etkinliğini arttırmak için diğer konvansiyonel enkapsülasyon tekniklerine alternatif olarak geliştirilmiştir (Cocero ve ark., 2009; Santos ve Meireless, 2010; Silva ve Meireles, 2014). Çizelge 1’de süperkritik akışkan ile enkapsülasyon tekniğine göre karotenoid bileşenlerin enkapsülasyonu ile ilgili çalışmalar verilmiştir. Süper kritik akışkan ile enkapsülasyonda, süperkritik akışkanın kritik nokta civarında sıfıra yakın yüzey gerilimi, yüksek difüzyon hızı ve çözücü gücüne sahip olması dikkat çeken özelliklerindedir. Süper kritik akışkanın çözücü veya çözücü olmayan özelliği; partikül boyutunu, boyut dağılımını ve morfoloji gibi materyal özelliklerini değiştirme imkanı sağlamaktadır (Franceschi ve ark., 2008). Bu tekniğin diğer olumlu özellikleri ise çöktürme/enkapsülasyon sonrası kapsüllerden çözücü ve çözücü olmayan maddelerin ayırımı, son üründe çözücü kalıntısını önlemesi ve çözücü/çözücü olmayan maddelerin tekrardan kullanım olanağıdır (Rantakyla ve ark., 2002)

Süperkritik bölgede ılımlı basınç ve sıcaklığı ( $P_c=7.38$  MPa,  $T_c=31.07^\circ\text{C}$ ) sağlayabildiği için karbondioksit ( $\text{CO}_2$ ), enkapsülasyonda en uygun akışkan olarak kullanılmaktadır (Şekil 8) (Silva ve Meireles, 2014). Karbondioksit, düşük toksik özellik, oda sıcaklığına yakın sıcaklıklarda çalışma imkanı, düşük maliyet, kolay bir şekilde uzaklaştırılabilmesi ve patlayıcı olmaması sebebiyle tercih edilmektedir (Martin ve ark., 2007; Cocero ve ark., 2009). Süperkritik  $\text{CO}_2$  ( $\text{SCO}_2$ ) polar olmayan bir çözücü olduğu için polar olmayan bileşenlerdeki çözünürlüğü daha yüksektir.  $\text{SCO}_2$ ’in çözücü özelliği etanol, metanol ve hekzan gibi yardımcı çözümler eklenerek de artırılabilir (Silva ve Meireles, 2014).

Süperkritik akışkanın fonksiyonuna göre çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Bu teknikler; süperkritik akışkanın hızlı yayılım (RESS) tekniği, çözücü olmayan

gaz (GAS) tekniği, gazla doydurulmuş çözümlerden elde edilen partikül (PGSS) tekniği, emülsiyonların süperkritik akışkan ile ekstraksiyonu (SFEE) olarak sıralanmaktadır (Mattea ve ark., 2009; Gomes ve ark., 2012).

Gıda alanında en çok kullanılanlar kısaca özetlenirse; RESS yöntemi, çözücü özelliği temel alarak geliştirilmiştir. Bu teknikte, biyoaktif bileşen ve kaplama materyalleri  $\text{SCO}_2$  ile homojen bir çözümlü haline getirilmektedir. Sonrasında atmosferik basınçta uygun bir püskürtücü ile yayılmaktadır. Ani basınç değişimi sebebiyle  $\text{SCO}_2$ , çözücü gücünü kaybederek kapsüller çökelti halinde elde edilmektedir (Santos ve Meireless, 2010; Silva ve Meireles, 2014).  $\text{SCO}_2$ ’in çözücü olarak süperkritik akışkan enkapsülasyonda kullanılması gıda alanında sınırlıdır.  $\text{SCO}_2$ , sadece katı yağ, bitkisel yağlar ve vitaminlerde iyi bir şekilde çözümlenebilmektedir (Santos ve Meireless, 2010).

GAS yöntemi, kesikli bir işlem olarak biyoaktif bileşen-kaplama materyali uygun bir organik çözümlü çözümlenmektedir. Elde edilen çözümlü üzerine  $\text{SCO}_2$ ’nin çözücü olmayan özelliği kullanılarak kapsül elde sağlanmaktadır. GAS yöntemini uygulamak için çözücü olmayan  $\text{SCO}_2$ , organik çözümlüde çok iyi çözünürlüğe sahipken, biyoaktif bileşende ise çok az veya hiç çözünmemesi gerekmektedir. Organik çözümlüde çözümlen biyoaktif bileşen ve kaplama materyali karışımı çözünürlüğü yoğun bir gaz veya süperkritik akışkan (çözücü olmayan) ile karıştırılmasıyla çözümlünün yayılımı azaltılmaktadır. İstenilen basınca gelindiğinde,  $\text{SCO}_2$ ’nin yüksek difüzyon hızı ve çözümlünün azalan viskozitesi sayesinde çözücü olmayan  $\text{SCO}_2$  doygunluğa ulaşmaktadır. Aşırı doygunluğa ulaştığında çekirdeklenme ve partikül (kapsül) oluşumu meydana gelmektedir (Mattea ve ark., 2009). Bu tekniğin en önemli özelliği, polar bileşenlerin enkapsülasyonunu sağlayabilmesidir. GAS yöntemi birçok süperkritik akışkan ile enkapsülasyon yönteminin geliştirilmesine temel teşkil etmiştir. Bunlar: süperkritik çözücü olmayan  $\text{SCO}_2$  (SAS), sıkıştırılmış çözücü olmayan  $\text{SCO}_2$ ’den

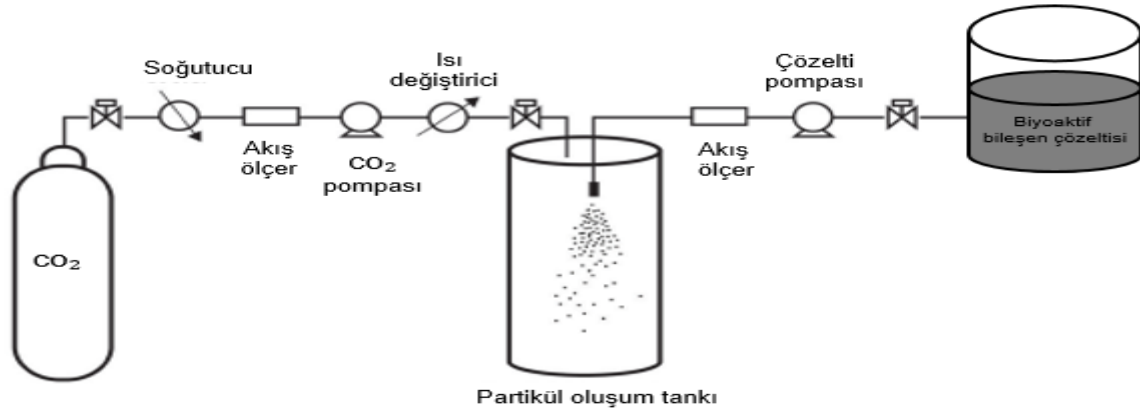
elde edilen partiküller (PCA), süperkritik akışkan tarafından yayılımı artırılmış çözelti (SEDS) aerosol çözgen ekstraksiyon sistemi (ASES), arttırılmış kütle transferi ile süperkritik çözgen olmayan SCO<sub>2</sub> ile çöktürme, (SAS-EM), çözgen ekstraksiyonu için püskürtülmüş hızlı enjeksiyon (ARISE) olarak sıralanmaktadır (Shariati ve Peters, 2003).

SAS yöntemi, yarı sürekli sistem olarak GAS yönteminin geliştirilmiş halidir (Santos ve Meireless, 2010). Bu yöntem üç aşamadan oluşmaktadır. İlk olarak süperkritik akışkan çöktürme tankında istenilen sıcaklık ve basınca ulaşip ve sabit bir değerde kalıncaya kadar üretilmektedir. Sonrasında tanka, biyoaktif bileşen+kaplama+organik çözgen içeren çözelti belli akış oranı ile aktarılmaktadır. Son olarak, süperkritik akışkan sabit akış hızı ile organik çözgen uzaklaştırılana kadar tanka aktarılırken, biyoaktif bileşen içeren nanopartiküller elde edilmektedir (Şekil 9) (Silva ve Meireles, 2014). SAS tekniğinin çökmeye bağlı olarak istenilmeyen boyutlarda nanopartikül elde etme problemi de bulunmaktadır (Şekil 10) (Mattea ve ark., 2009).

SFEE yöntemi ise, SAS yönteminin daha kapsamlı olanıdır. Emülsifikasyon ve süperkritik akışkan teknolojisinin birleştirilmesiyle elde edilmektedir. Emülsiyon teknolojisinde fazla miktarda çözgen kullanımı ve çözgeni uzaklaştırmak için yüksek enerji

tüketimi olmaktadır. Süperkritik akışkan enkapsülasyonda ise boyut kontrolü problemi oluşabilmektedir. Bu iki teknolojinin birleşmesiyle bu problemler azaltılabilmektedir (Cocero ve ark., 2009). Bu yöntemde, çözgen olmayan SCO<sub>2</sub>, organik çözgünde çözünen biyoaktif bileşen+kaplama materyali çözeltisinden nanopartikül elde ederken organik çözgeni yapıdan ekstrakte etmektedir. Elde edilen nanopartiküllerin boyut kontrolü sağlanabilirken aynı zamanda emülsiyonun yapısında bulunan yüzey aktif maddeler sayesinde çökme önlenmektedir. Ancak elde edilen nanopartiküller ıslak formdadır. SFEE işleminden sonra uygun bir kurutma yöntemi uygulanarak su uzaklaştırılmaktadır (Gomes ve ark., 2012).

PGSS tekniği, süperkritik akışkan ile sıvı çözgünde çözünmüş veya doyurulmuş çözünenden oluşmaktadır. Gazla doyurulmuş çözelti püskürtücü sayesinde atmosferik koşullarda yayılmaktadır. Yayılım sırasında SCO<sub>2</sub> buharlaşmakta ve sonrasında Joule-Thomson etkisi ile soğumaktadır. Bu durum, çözünenleri katılaştırmak için itici güç olmaktadır. PGSS, püskürterek veya dondurarak kurutma yöntemine alternatif olabilmektedir. Düşük sıcaklıklarda (40-80°C) kuru partikül elde edilmesi mümkündür (de Paz ve ark., 2012a). Karotenoidlerin enkapsülasyonu için en çok SAS ve SEDS tekniği kullanılmaktadır.



Şekil 9 SAS prosesi  
Figure 9 SAS process



Şekil 10 SAS tekniği ile elde edilen farklı partikül şekilleri (A: kristal, B: iğne, C: yaprak benzeri)  
Figure 10 Different particle shapes obtained by SAS technique (A: crystal, B: needle, C: leaf-like)

**Çizelge 1 Süperkritik akışkan tekniğine göre karotenoid bileşenlerin enkapsülasyonu ile ilgili yapılan çalışmalar**  
**Table 1 Studies on the encapsulation of carotenoid components by supercritical fluid techniques**

Süper kritik akışkan tekniği	Karotenoid	Kaplama materyali	Sonuç ve gözlemler	Kaynak
SAS	$\beta$ -karoten Biksin	Polietilen glikol (PEG)	$\beta$ -karoten yüklü PEG'in proses parametrelerine bağlı olarak boyutu istenen düzeyde azaltılamamıştır. Biksin ise başarılı bir şekilde enkapsüle edilmiştir. 33±2 $\mu$ m boyutunda biksin kapsülleri elde edilmiştir. Her iki karotenoid bileşik için EE <sup>1</sup> %5-80 arasındadır.	Santos ve Meireles, 2013
SAS	Astaksantin	Pluronik F127	SAS yöntemi mikropartikül elde etmek için yeterlidir. En yüksek EE; 10 MPa basınç, 308.15 K sıcaklık, CO <sub>2</sub> akış oranı 1mL/dk olan işlem parametrelerine bağlı olarak %74 civarındadır.	Mezzomo ve ark. 2012
SEDS	$\beta$ -karoten	PHBV (poli(3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksivalerat))	Proses koşullarına bağlı olarak artan $\beta$ -karoten ve PHBV konsantrasyonu ile homojen bir şekilde karıştırılması enkapsülasyon etkinliğini artırmıştır.	Priamo ve ark. 2010
SEDS	Astaksantin	PHBV	Çökme basıncı kapsül boyutuna etki eden en önemli parametre olmuştur. Optimum pH'da (10 MPa) elde edilen en küçük partikül 0,128 $\mu$ m boyutundadır.	Machado Jr ve ark. 2014
SEDS	Lutein	Zein	Küçük ve eşit boyutta küre yapısında lutein-zein nanokapsülleri elde edilmiştir. Kontrollü salınımda, salınım hızı kontrol grubuna (saf lutein, lutein-zein emülsiyonu) göre nanokapsüllerde daha yavaştır.	Hu ve ark. 2012
SEDS	$\beta$ -karoten	PHBV	En küçük kapsül boyutu (3,2 $\mu$ m) 313 K sıcaklığında, 8 MPa basıncında, 1 cm <sup>3</sup> /dk çözelti akış oranında ve 39 g/dk SCO <sub>2</sub> akış oranında belirlenmiştir. Düzensiz yapıda küreye benzer kapsüller elde edilmiştir. En yüksek EE %34,7' dir.	Franceschi ve ark. 2008
SEDS	Likopen	$\beta$ -siklodekstrin	Çözgen olarak dimetilformit kullanılarak likopen yüklü küreden yığına kadar farklı morfolojide kapsüller elde edilmiştir. Düşük akış oranı, yüksek sıcaklık ve basınçta en düşük partikül boyutu 38 nm' dir.	Nerome ve ark. 2013
PGSS	$\beta$ -karoten	Soya lesitini	EE, %60 civarındadır. 10-500 $\mu$ m boyutunda $\beta$ -karoten yüklü çok katmanlı lipozomlar elde edilmiştir. Lipozomlar, yığın halinde elde edilmiştir.	de Paz ve ark. 2012a
PGSS	$\beta$ -karoten	Poly-( $\epsilon$ -kaprolakton)	270-650 $\mu$ m boyutunda kapsüller elde edilmiştir. Geniş boyut aralığının sebebi, işlem koşulların ve polimerin SCO <sub>2</sub> 'deki çözünürlüğüne ve polimerin vizkozitesine bağlıdır.	de Paz ve ark. 2012
SFEE	Astaksantin	Hi-Cap 100 (modifiye nişasta)	0,7±0,1 $\mu$ m boyutunda kapsüller elde edilmiştir. En düşük kapsül boyutu 100 bar basınçta, 313,15 K sıcaklıkta, SCO <sub>2</sub> çözeltisinin ve astaksantin belli akış oranında (sırasıyla 4 kg/sa 4 mL/dk ve 6 mg/ml) elde edilmiştir. EE, %93,1' dir.	Mezzomo ve ark. 2012
SFEE	$\beta$ -karoten, likopen	OSA (modified nişasta)	EE, %34-89 arasındadır. Kapsül boyutu 344-366 nm' dir. İzomerasyon oranı %0,02-15 arasındadır. $\beta$ -karotenin izomerasyon oranı likopene göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir.	Santos ve ark. 2012

<sup>1</sup>EE: Enkapsülasyon Etkinliği

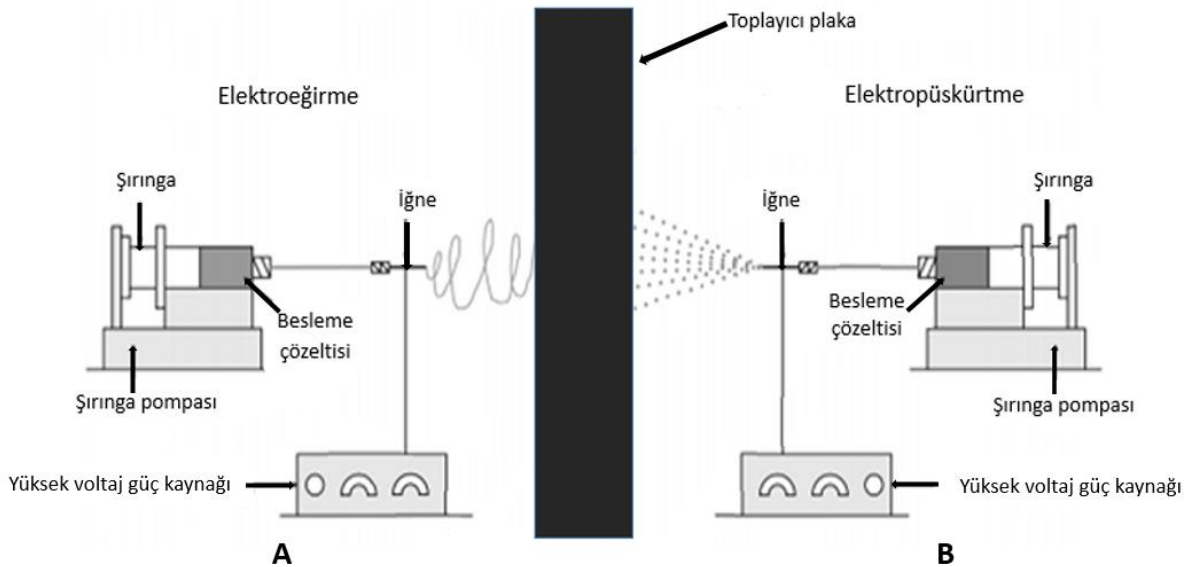
## Elektrohidrodinamik İşlemler ile Enkapsülasyon

Elektrohidrodinamik işlemler (elektropüskürtme ve elektroğirme), mikrondan küçük ve nano boyuta kadar lif ya da partikül yapısında kapsüller elde etmek amacıyla yüksek voltajlı elektrik alanın (1-30 kV) uygulandığı basit ve etkili tekniklerdir (Vaquette ve ark., 2008; Homayoni ve ark., 2009; Fernandez ve ark., 2009; Chen ve ark., 2011; López-Rubio ve ark., 2012; Gomez-Estaca ve ark., 2012; Neo ve ark., 2013). Elde edilen kapsül boyutları neredeyse monodispers bir dağılım göstermektedir (Jaworek ve Sobczyk, 2008). Bu teknikler, en küçük birimin kontrolünü sağlayarak, istenen gıdanın üretimini sağlayabilme potansiyelini barındırmaktadır (Sözer ve Kokini, 2008).

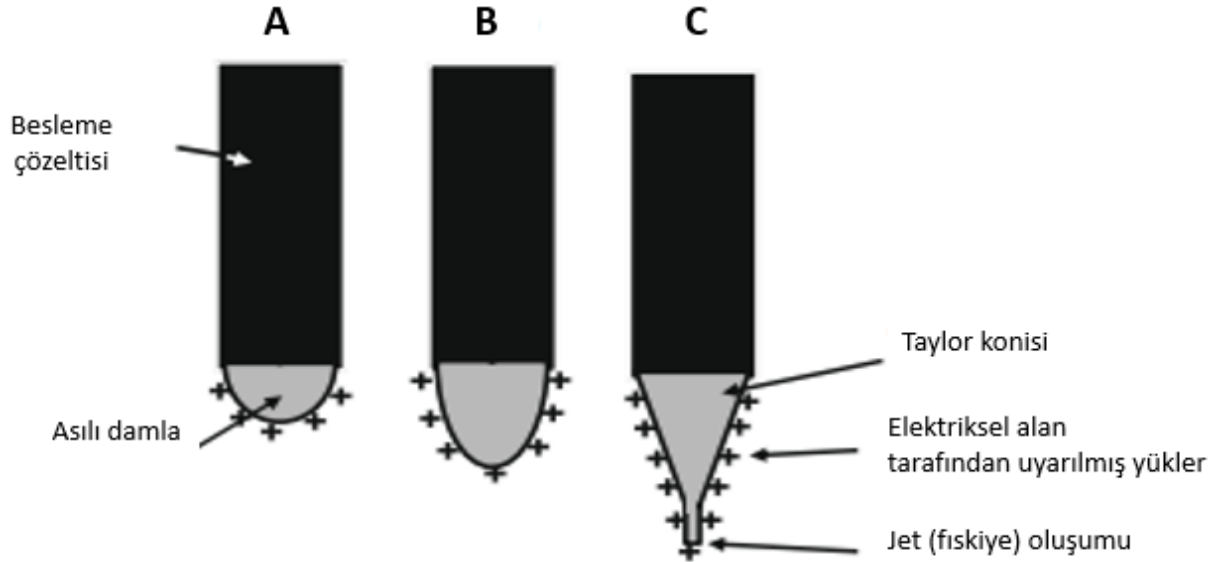
Bir elektrohidrodinamik düzeneğinde temel olarak; yüksek voltaj güç kaynağı, besleme ünitesi (şırınga, metal iğne vs), topraklanmış bir toplayıcı (plaka, silindir) bulunmaktadır (Şekil 11) (Chen ve Elabd, 2017). Kaplama materyali+biyoaktif bileşen (besleme) çözeltisi sabit bir debi ile besleme pompasından besleme borusuna pompalanmakta ve yüksek voltaj güç kaynağı vasıtası ile besleme çözeltisine çok yüksek değerlerde (50 kV'ya kadar) voltaj uygulanmaktadır (Kumru, 2013). Böylece, besleme ucu ve toplayıcı plaka arasında elektriksel alan oluşmaktadır. Bu elektriksel alan iğne ucundaki besleme çözeltisinin yüzey yüklerini uyarmaktadır. Yeterli viskoziteye sahip besleme çözeltisinin yüzey gerilimi, oluşan bu elektriksel alana karşı koymaktadır (Okutan, 2013). Uygulanan voltaj kritik bir değere ulaşıncaya kadar iğne ucundaki besleme çözeltisi asılı damla şeklinde bulunmaktadır. Voltaj arttıkça damla uzamaya başlamaktadır. Voltaj kritik bir değere ulaştığında, iğne ucundaki uzayan damla itme ve yüzey gerilim kuvvetlerini yendiğinde koni (Taylor konisi) biçimini

almaktadır (Kriegel ve ark., 2008; Baji ve ark., 2010; Anu Bhushani ve Anandharamakrishnan, 2014). Taylor konisi oluşumunun şematize hali Şekil 12'de verilmiştir (Baji ve ark., 2010). Elektroğirme tekniğinde, Taylor konisi oluşumundan sonra besleme ucundan fıskiye (jet) oluşmaya başlamaktadır. Bu yapı önce kararlı daha sonra kararsız bir yol izleyerek karşısında bulunan topraklanmış toplayıcıya doğru hareket eder. Bu sırada toplama plakasına ulaşana kadar çözücü de buharlaşmakta ve kuru formda nano boyutta lifler elde edilir (Kumru, 2013). Elektropüskürtme tekniğinde ise Taylor konisi oluşumundan sonra toplayıcı plakada kuru partiküller elde edilmektedir (Drosou ve ark., 2017).

Elektropüskürtme ve elektroğirme teknikleri birbirine çok yakın tekniklerdir. Bu iki tekniğin arasındaki farklılık besleme çözeltisinin konsantrasyonudur. Elektroğirme tekniğinde konsantrasyon yüksek olduğundan, Taylor konisinin dengeye gelmesinden sonra jet oluşumu ve ardından lif oluşumu gerçekleşmektedir. Elektropüskürtmede ise düşük konsantrasyon ve kararsızlığa bağlı olarak jet dengeye ulaşamayacağından partiküller oluşacaktır. Yüksek elektrik yüklü partiküller veya lifler havada kendi kendine yayılacağı için çökme veya birleşme önlenmektedir (Anu Bhushani ve Anandharamakrishnan, 2014). Elektrohidrodinamik işlemler, besleme çözeltisinin konsantrasyonu, molekül ağırlığı, elektriksel iletkenliği, yüzey gerilimi, reolojik ve dielektrik özelliklerinden; üretim aşamasında elektriksel alan, plaka mesafesi, akış oranından etkilenmektedir. Bunlara ilaveten, oda sıcaklığı, basınç, gaz bileşimi ve nem gibi çevresel koşullardan da etkilenmektedir (Okutan ve ark., 2014). Çizelge 2'de elektroğirme ve elektropüskürtme tekniğine göre karotenoid bileşenlerin enkapsülasyonu ile ilgili çalışmalar verilmiştir.



Şekil 11 Elektroğirme (A) ve elektropüskürtme cihazı (B)  
Figure 11 The device of electrospinning (A) and electrospray (B)



Şekil 12 Taylor konisi oluşumun şematize hali: A) elektriksel alana bağlı olarak besleme çözeltisindeki yüzey yüklerin uyarılması B) asılı damlanın uzaması C) Taylor konisi ve sonrasında jet (fiskiye) oluşumu

Figure 12 Schematic illustration of the Taylor cone formation: A) Surface charges are induced in the polymer solution due to the electric field, B) Elongation of the pendant drop, (C) The formation of Taylor cone and jet

Çizelge 2 Elektroğirme ve elektropüskürtme tekniğine göre karotenoid bileşenlerin enkapsülasyonu ile ilgili çalışmalar  
Table 2 Studies on the encapsulation of carotenoid components by electrospinning and electrospray techniques

Enkapsülasyon tekniği	Karotenoid	Kaplama materyali	Sonuç ve gözlemler	Kaynak
Elektropüskürtme-Püskürterek kurutma	Likopen	Peyniraltı suyu (PAS) proteini, dekstran, kitosan	Elektropüskürtme yöntemiyle elde edilen kapsüllerin, püskürterek kurutma yöntemine göre EE <sup>1</sup> daha yüksek tespit edilmiştir. PAS proteini diğer kaplama materyallerine göre likopeni ısı ve neme karşı daha iyi korumuştur.	Perez-Masia ve ark. 2015
Elektropüskürtme	β-karoten	Peyniraltı suyu (PAS) proteini, zein	En yüksek EE, zein içeren kapsüllerde belirlenirken, peynir altı suyu proteini içeren kapsüller de β-karotenin biyoyararlığı daha fazla arttırmıştır.	Gomez-Mascaraque ve ark. 2017
Elektroğirme	β-karoten	Polietilen oksit (PEO)	Elde edilen nanoliflerin termal, oksijen ve UV dayanımı yüksek olduğu belirlenmiştir. PEO, kaplama materyali olarak gıdalar için iyi bir potansiyel olduğu vurgulanmıştır.	Peinado ve ark. 2016.
Elektroğirme	β-karoten	Zein prolamin	Nanoliflerin morfolojisi homojen dağılım göstermemiştir. Enkapsüle edilen bileşenin oksidasyona karşı dayanımı oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir	Fernandez ve ark. 2009
Elektroğirme	β-karoten	PVOH, PEO	Hibrid kapsüllerin (β-karoten içeren nanolipozomlardan elde edilen nanolif) UV'ye karşı dayanımı yüksektir. PVOH daha etkin kaplama sağlamıştır. Hibrid kapsüller endüstriyel uygulamalar için potansiyel taşımaktadır.	Freitas Zômpero ve ark. 2015

<sup>1</sup>EE: Enkapsülasyon Etkinliği

Elektrohidrodinamik işlemlerde yüzey aktif maddelerin etkisi irdelendiğinde, yüzey gerilimi ve elektriksel iletkenliği değiştirerek işlem koşullarını kolaylaştırdığı ve nanolif yapısını olumlu etkilediği belirlenmiştir. Wongsasulak ve ark. (2010) çalışmasında selüloz asetat ve yumurta albümini karışımından nanolif eldesinde yapıya Tween 40 vb. yüzey aktif madde eklenmesi ile elektriksel iletkenliği ve yüzey gerilimini düşürerek nanolif oluşumunu kolaylaştırdığını belirlemişlerdir. Kriegel ve ark. (2009) kitosan ve polietilen oksit (PEO) nanoliflerinin üretiminde farklı yüzey aktif maddeler (polietilen glikol dodesil eter, anyonik dodesil sülfat) kullanmışlardır. Yüzey aktif madde kullanımı vizkozite, iletkenlik ve yüzey gerilimini değiştirerek, lif yapısında oluşabilen boncuk yapısını büyük ölçüde azaltmış ve nanolif üretimini geliştirmiştir. Deng ve ark. (2017) elektroçirme tekniğini kullanarak kurkumin yüklü jelatin nanolifleri elde etmişlerdir. Nanolif oluşumu, nanoliflerin antioksidan-antimikrobiyal aktivitesi ve kontrollü salınımı üzerine farklı yüzey aktif maddelerin (Tween 80, anyonik sodyum dodesil sülfat (SDS) ve katyonik setiltrimetil amonyum bromid (KTAB)) etkisi irdelenmiştir. Yüzey aktif maddelerin eklenmesiyle pürüzsüz yapıda nanolif eldesi sağlanmıştır. SDS içeren nanolifler kontrollü salınımı engellerken, KTAB ve Tween 80 içeren nanolifler kontrollü salınımı kolaylaştırmıştır. SDS ve Tween 80 içeren nanoliflerin antioksidan aktivitesi daha yüksek tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*' a karşı denenmiştir. Antimikrobiyal aktivite açısından etkili yüzey aktif madde KTAB olarak belirlenmiştir. KTAB içeren nanoliflerin inhibisyon etkisi, *S. aureus* üzerine *E. coli*' den daha fazladır.

## Sonuç

Günümüzde enkapsülasyon teknolojisinde nanoteknolojinin gelişmesine bağlı olarak mikroenkapsülasyondan nanoenkapsülasyona geçiş söz konusudur. Nanoenkapsülasyon, mikroenkapsülasyon yöntemi ile karşılaştırıldığında birçok avantajı bulunmaktadır. Bunlar; daha yüksek enkapsülasyon etkinliği ve verimi, kaplama materyallerinin çeşitliliği, biyoyararlılığın artması, kontrollü salınımın geliştirilmesi, çevresel etmenlere karşı daha fazla dayanım olarak sıralanabilmektedir. Yapılan çalışmalarda çeşitli kaplama materyalleri ile birlikte kullanılan yüzey aktif maddelerin yüzey gerilimini düşürdüğü ve bu nedenle daha dayanıklı emülsiyonlar sağladığı ifade edilmektedir. Buna bağlı olarak kapsüllerin yapısı iyileştirilmekte ve enkapsülasyon etkinliği de artmaktadır. Karotenoid bileşenlerin nanoenkapsülasyonu ile ilgili çalışmalar kullanılan enkapsülasyon tekniklerin etkinliği ve bileşenlerin dayanımı üzerine yoğunlaşmıştır. Biyoyararlılığı, kontrollü salınımı ve gıdalara eklenerek zenginleştirme üzerine yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Biyoyararlılık ve kontrollü salınımı üzerine yapılan çalışmalarda enkapsülasyonun ümit verici olduğu vurgulanmaktadır. Ayrıca, geliştirilen nanoenkapsülasyon teknikleriyle laboratuvar ölçekli yapılan enkapsülasyon çalışmaları endüstriyel üretime geçebilecek niteliktedir.

## Kaynaklar

- Abae A, Madadlou A. 2016. Niosome-loaded cold-set whey protein hydrogels. *Food Chemistry*. 196: 106–113.
- Alves GP, Santana MHA. 2004. Phospholipid dry powders produced by spray drying processing: structural, thermodynamic and physical properties. *Powder Technology*. 145:139-148.
- Anarjan N, Mirhosseini H, Baharin BS, Tan CP. 2011. Effect of processing conditions on physicochemical properties of sodium caseinate-stabilized astaxanthin nanodispersions. *LWT-Food Sci. Technol.* 44: 1658–1665.
- Anu Bhushani J, Anandharamakrishnan C. 2014. Electrospinning and electrospraying techniques. Potential food based applications. *Trends in Food Science and Technology*. 38(1): 21–33.
- Baji A, Mai Y-W, Wong S-C, Abtahi M, Chen P. 2010. Electrospinning of polymer nanofibers: Effects on oriented morphology, structures and tensile properties. *Composites Science and Technology*. 70, 703–718.
- Barros MP, Pinto E, Colepicolo P, Pedersen M. 2001. Astaxanthin and Peridinin Inhibit Oxidative Damage in Fe<sup>2+</sup>-Loaded Liposomes: Scavenging Oxyradicals or Changing Membrane Permeability?. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 288: 225–232.
- Chen H, Huang J, Yu J, Liu S, Gu P. 2011. Electrospun chitosan-graft-poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/poly ( $\epsilon$ -caprolactone) cationic nanofibrous mats as potential scaffolds for skin tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*. 48(1): 13–19.
- Chen L, Bai G, Yang R, Zang J, Zhou T, Zhao G. 2014. Encapsulation of  $\beta$ -carotene within ferritin nanocages greatly increases its water-solubility and thermal stability. *Food Chemistry*. 149:307–312.
- Chen T, Elabd Y, 2017. Hybrid-Capacitors with Polyaniline/Carbon Electrodes Fabricated via Simultaneous Electrospinning/Electrospraying. *Electrochimica Acta*, 229: 65–72.
- Chu BS, Ichikawa S, Kanafusa S, Nakajima M. 2007. Preparation and characterization of  $\beta$ -carotene nanodispersions prepared by solvent displacement technique. *J. Agric. Food Chem.* 55: 6754–6760.
- Chu BS, Ichikawa S, Kanafusa S, Nakajima M. 2007a. Preparation of protein-stabilized  $\beta$ -carotene nanodispersions by emulsification-evaporation method. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 84: 1053–1062.
- Chun JY, Choi MJ, Min SG, Weiss J. 2013. Formation and stability of multiple-layered liposomes by layer-by-layer electrostatic deposition of biopolymers. *Food Hydrocolloids*. 30(1): 249-25.
- Cocero MJ, Martín A, Mattea F, Varona S. 2009. Encapsulation and co-precipitation processes with supercritical fluids: Fundamentals and applications, *J. Supercrit. Fluids*. 47: 546-555.
- Cornacchia L, Roos YH. 2011. State of dispersed lipid carrier and interface composition as determinants of beta-carotene stability in oil-in-water emulsions. *J. Food Sci.* 76: 1211–1218.
- Deng L, Kang X, Yuyu L, Feng F, Zhang H. 2017. Effects of surfactants on the formation of gelatin nanofibres for controlled release of curcumin. *Food Chemistry*. 231: 70–77.
- de Paz E, Martín Á, Duarte CMM, Cocero MJ. 2012. Formulation of  $\beta$ -carotene with poly-( $\epsilon$ -caprolactones) by PGSS process. *Powder Technology*. 217: 77–83.
- de Paz E, Martín Á, Cocero MJ. 2012a. Formulation of  $\beta$ -carotene with soybean lecithin by PGSS (Particles from Gas Saturated Solutions)-drying. *Journal of Supercritical Fluids*. 72: 125–133.

- Drosou C.G, Krokida MK, Biliaderis CG. 2017. Encapsulation of bioactive compounds through electrospinning/electrospraying and spray drying: A comparative assessment of food-related applications. *Drying Technology*. 35(2): 139–162.
- Elhissi AMA, Taylor KMG. 2005. Delivery of liposomes generated from proliposomes using air-jet, ultrasonic, and vibrating-mesh nebulisers. *J Drug Deliv Sci Technol*. 15(4): 261–265.
- Ezhilarasi PN, Karthik P, Chhanwal N, Anandharamakrishnan C. 2013. Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. *Food and Bioprocess Technology*. 6(3): 628–647.
- Fang Z, Bhandari B. 2010. Encapsulation of polyphenols - A review. *Trends in Food Science and Technology*. 21(10): 510–523.
- Fathi M, Martín Á, McClements DJ. 2014. Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. *Trends in Food Science and Technology*. 39(1): 18–39.
- Fernandez A, Torres-Giner JML. 2009. Novel route to stabilization of bioactive antioxidants by encapsulation in electrospun fibers of zein prolamine, *Food Hydrocoll*. 23: 1427–1432.
- Franceschi E, De Cesaro AM, Feiten M, Ferreira SRS, Dariva C, Kunita MH, Oliveira JV. 2008. Precipitation of  $\beta$ -carotene and PHBV and co-precipitation from SEDS technique using supercritical CO<sub>2</sub>. *Journal of Supercritical Fluids*. 47(2): 259–269.
- Freitas Zômpero RH, López-Rubio A, De Pinho SC, Lagaron JM, Torre LG. 2015. Hybrid encapsulation structures based on  $\beta$ -carotene-loaded nanoliposomes within electrospun fibers, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 134: 475–482.
- Gandhi A, Sen SO, Paul A. 2012. Current trends in niosome as vesicular drug delivery system. *Asian Journal of Pharmacy and Life Science*. 2(2): 339–353.
- Gomes MTMS, Santos DT, Meireles MA. 2012. Trends in Particle Formation of Bioactive Compounds Using Supercritical Fluids and Nanoemulsions. *Food and Public Health*. 2(5):142–152.
- Gomez-Mascaraque LG, Perez-Masia R, Gonzalez-Barrio R, Periago MJ, Lopez-Rubio A. 2017. Potential of microencapsulation through emulsion-electrospraying to improve the bioaccessibility of  $\beta$ -carotene. *Food Hydrocolloids*. 73: 1–12.
- Gouranton E, Yazidi C, El Cardinault N, Amiot MJ, Borel P, Landrier JF. 2008. Purified low-density lipoprotein and bovine serum albumin efficiency to internalise lycopene into adipocytes. *Food and Chemical Toxicology*. 46(12): 3832–3836.
- Gutiérrez FJ, Albillos SM, Casas-Sanz E, Cruz Z, García-Estrada C, García-Guerra A, Mussons ML. 2013. Methods for the nanoencapsulation of  $\beta$ -carotene in the food sector. *Trends in Food Science and Technology*. 32(2): 73–83.
- Gutiérrez G, Matos M, Barrero P, Pando D, Iglesias O, Pazos C. 2016. Iron-entrapped niosomes and their potential application for yogurt fortification. *LWT - Food Science and Technology*. 74: 550–556.
- Gunasekaran S, Ko S, Xiao L. 2007. Use of whey proteins for encapsulation and controlled delivery applications. *Journal of Food Engineering*. 83(1): 31–40.
- Hejri A, Khosravi A, Gharanjig K, Hejazi M. 2013. Optimisation of the formulation of  $\beta$ -carotene loaded nanostructured lipid carriers prepared by solvent diffusion method. *Food Chem*. 141:117–123.
- Helgason T, Awad TS, Kristberg K, Eric AD, David JMA, Jochen W. 2009. Impact of surfactant properties on oxidative stability of  $\beta$ -carotene encapsulated within solid lipid nanoparticles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(17): 8033–8040.
- Hentschel A, Gramdorf S, Muller RH, Kurz T. 2008.  $\beta$ -carotene-loaded nanostructured lipid carriers. *J. Food Sci*. 73: 1–6.
- Homayoni H, Ravandi SAH, Valizadeh M. 2009. Electrospinning of chitosan nanofibers: Processing optimization. *Carbohydrate Polymers*. 77(3): 656–661.
- Hu D, Lin C, Liu L, Li S, Zhao Y. 2012. Preparation, characterization, and *in vitro* release investigation of lutein/zein nanoparticles via solution enhanced dispersion by supercritical fluids. *Journal of Food Engineering*. 109(3): 545–552.
- Huang Q, Yu H, Ru Q, 2010. Bioavailability and Delivery of Nutraceuticals Using Nanotechnology. *Journal of Food Science*. 75 (1): 50–57.
- Jaworek A, Sobczyk AT. 2008. Electrospinning route to nanotechnology: An overview. *Journal of Electrostatics*. 66: 197–219.
- Joye IJ, McClements DJ. 2013. Production of nanoparticles by anti-solvent precipitation for use in food systems. *Trend Food Sci. Technol*. 34: 109–123.
- Junghans A, Sies H, Stahl W. 2000. Carotenoid-containing unilamellar liposomes loaded with glutathione: a model to study hydrophobic-hydrophilic antioxidant interaction. *Free Radical Research*. 33(6): 801–808.
- Junyaprasert VB, Teeranachaiidekul V, Supapern T. 2008. Effect of charged and non ionic membrane additives on physicochemical properties and stability of niosomes. *AAPS PharmSciTech*. 9(3): 851–859.
- Kırtıl E, Öztöp MH. 2014. Enkapsülasyon Maddesi Olarak Lipozom ve Gıdalarda Kullanımı: Yapısı, Karakterizasyonu, Üretimi ve Stabilitesi. *Akademik Gıda*. 12: 41–57.
- Koca N. 2006. Havuçlarda (Daucus Carota L.) Karotenoidler Ve Antioksidan Aktivite. Doktora Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Kriege C, Arrechi A, Kit K, McClements DJ, Weiss AJ. 2008. Fabrication, Functionalization and Application of Electrospun Biopolymer Nanofibers, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 48: 775–797.
- Kriegel C, Kit KM, McClements DJ, Weiss AJ. 2009. Electrospinning of chitosan–poly(ethylene oxide) blend nanofibers in the presence of micellar surfactant solutions. *Polymer*. 50: 189–200.
- Krinsky NI, Johnson EJ. 2005. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*. 26: 459–516.
- Kumru A. 2013. Elektroüretimle nanolif eldesine etki eden faktörlerin ve jelatin-pektin içeren nanoliflerin model gıdaların reolojik özelliklerine etkilerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- Lacatusu I, Mitrea E, Badea N, Stan R, Oprea O, Meghea A. 2013. Lipid nanoparticles based on omega-3 fatty acids as effective carriers for lutein delivery. Preparation and *in vitro* characterization studies. *J. Funct. Food*. 5: 1260–1269.
- Lesoin L, Crampon C, Boutin O, Badens E. 2011. Preparation of liposomes using the supercritical anti-solvent (SAS) process and comparison with a conventional method. *J Supercrit Fluids*. 57(2):162–174.
- Livney YD. 2010. Milk proteins as vehicles for bioactives. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 15: 73–83.
- Livney YD., 2015. Nanostructured delivery systems in food: latest developments and potential future directions *Current Opinion in Food Science*. 3: 125–135
- Liu C, Wu C. 2010. Optimization of nanostructured lipid carriers for lutein delivery. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. 353: 149–156.
- Lobato KBDS, Paese K, Forgearini JC, Guterres SS, Jablonski A, Rios ADO. 2013. Characterisation and stability evaluation of bixin nanocapsules. *Food Chem*. 141: 3906–3912.

- López-Rubio A, Sanchez E, Wilkanowicz S, Sanz Y, Lagaron JM. 2012. Electrospinning as a useful technique for the encapsulation of living bifidobacteria in food hydrocolloids, *Food Hydrocolloids*. 28(1): 159–167.
- Machado Jr FRS, Reis DF, Boschetto DL, Burkert JFM, Ferreira SRS, Oliveira JV, Burkert Carlos AV, 2014. Encapsulation of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* in PHBV by means of SEDS technique using supercritical CO<sub>2</sub>. *Industrial Crops and Products*. 54: 17-21.
- Martín A, Mattea F, Gutiérrez, L, Miguel F, Cocero MJ. 2007. Co-precipitation of carotenoids and bio-polymers with the supercritical anti-solvent process. *Journal of Supercritical Fluids*. 41(1): 138–147.
- Mattea F, Martín Á, Cocero MJ. 2009. Carotenoid processing with supercritical fluids. *Journal of Food Engineering*. 93(3): 255–265.
- Mensi A, Choiset Y, Haertle T, Reboul E, Borel P, Guyon C, de Lamballerie M, Chobert JM. 2013. Interlocking of  $\beta$ -carotene in  $\beta$ -lactoglobulin aggregates produced under high pressure. *Food Chem*. 139: 253–260.
- Mezzomo N, Paz E, de Maraschin M, Martín Á, Cocero MJ, Ferreira SRS. 2012. Supercritical anti-solvent precipitation of carotenoid fraction from pink shrimp residue: Effect of operational conditions on encapsulation efficiency. *Journal of Supercritical Fluids*. 66: 342–349.
- Moraes M, Carvalho JMP, Silva CR, Cho S, Sola MR, Pinho SC. 2013. Liposomes encapsulating  $\beta$ -carotene produced by the proliposomes method: Characterisation and shelf life of powders and phospholipid vesicles. *International Journal of Food Science and Technology*. 48(2): 274–282.
- Mozafari MR, Flanagan J, Matia-Merino L, Awati A, Omri A, Surrente ZE, Singh H, 2006. Recent trends in the lipid-based nanoencapsulation of antioxidants and their role in foods. *J. Sci Food Agric*. 86: 2038–2045.
- Mozafari MR, Khosravi-Darani K, Borazan GG, Cui J, Pardakhty A, Yurdugul S, 2008. Encapsulation of Food Ingredients Using Nanoliposome Technology. *Int. J. Food Prop*. 11: 833–844
- Mozafari MR, Johnson C, Hatziantoniu S, Demetzos C. 2008a. Nanoliposomes and Their Applications in Food Nanotechnology. *J. Liposome Res*. 18: 309–327.
- Neethirajan S, Jayas DS. 2011. Nanotechnology for the Food and Bioprocessing Industries. *Food and Bioprocess Technology*. 4(1): 39–47.
- Neo YP, Swift S, Ray S, Gizdavic-Nikolaidis M, Jin J, Perera CO. 2013. Evaluation of gallic acid loaded zein submicron electrospun fiber mats as novel active packaging materials, *Food Chemistry*. 141(3): 3192-3200.
- Nerome H, Machmudah S, Wahyudiono FR, Higashiura T, Youn YS, Goto M. 2013. Nanoparticle formation of lycopene/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex using supercritical antisolvent precipitation. *Journal of Supercritical Fluids*. 83: 97–103.
- O’Connell JE, Steinle S, Reiter F, Auty MAE, Kelly AL, Fox PF. 2003. Properties of casein micelles reformed from heated mixtures of milk and ethanol. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 213(2–3): 265–273.
- Okutan N. 2013. Elektrodöndürme yöntemiyle elde edilen jelatin nanoliflerinin emülsiyonlarda stabilize edici olarak kullanılması. Yüksek Lisans Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- Okutan N, Terzi P, Altay F. 2014. Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. *Food Hydrocolloids*. 39: 19-26.
- Onwulata CI. 2012. Encapsulation of New Active Ingredients. *Annu. Rev. Food Sci. Technol*. 3: 183–202.
- Palozza P, Muzzalupo R, Trombino S, Valdannini A, Picci N. 2006. Solubilization and stabilization of  $\beta$ -carotene in niosomes: Delivery to cultured cells. *Chemistry and Physics of Lipids*. 139(1): 32–42.
- Pando D, Beltrán M, Gerone I, Matos M, Pazos C. 2015. Resveratrol entrapped niosomes as yoghurt additive. *Food Chemistry*. 170, 281–287.
- Pando D, Matos M, Gutiérrez G, Pazos C. 2015a. Formulation of resveratrol entrapped niosomes for topical use. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 128: 398–340.
- Peinado I, Mason M, Romano A, Biasioli F, Scampicchio M. 2016. Stability of  $\beta$ -carotene in polyethylene oxide electrospun nanofibers, *Applied Surface Science*. 370: 111–116.
- Pérez-Masiá R, Lagaron JM, Lopez-Rubio A. 2014. Morphology and stability of edible lycopene-containing micro- and nanocapsules produced through electro spraying and spray drying, *Food and Bioprocess Technology*. 8: 459–470.
- Peng CH, Chang CH, Peng RY, Chyau CC. 2010. Improved membrane transport of astaxanthine by liposomal encapsulation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 75(2): 154–161.
- Priamo WL, De Cezaro, AM, Ferreira SRS, Oliveira JV. 2010. Precipitation and encapsulation of  $\beta$ -carotene in PHBV using carbon dioxide as anti-solvent. *Journal of Supercritical Fluids*. 54(1), 103–109.
- Qian C, Decker, EA, Xiao H, McClements DJ. 2013. Impact of lipid nanoparticle physical state on particle aggregation and  $\beta$ -carotene degradation: Potential limitations of solid lipid nanoparticles. *Food Res. Int*. 52: 342–349.
- Rantakyla M, Jantti M, Aaltonen O, Hurme M. 2002. The effect of initial drop size on particle size in the supercritical antisolvent precipitation (SAS) technique, *J. Supercrit. Fluids*. 24: 251-263
- Ravagli M, Razavi SH, Mousavi SM, Sinico C, Fadda AM. 2016. Stabilization of natural canthaxanthin produced by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 by encapsulation in niosomes. *LWT - Food Science and Technology*. 73: 498–504.
- Ribeiro HS, Chu BS, Ichikawa S, Nakajima M. 2008. Preparation of nanodispersions containing b-carotene by solvent displacement method. *Food Hydrocolloid*. 22: 12–17.
- Santos DT, Meireles MA. 2010. Carotenoid Pigments Encapsulation: Fundamentals, Techniques and Recent Trends. *The Open Chemical Engineering Journal*. 4(2): 42–50.
- Santos DT, Martín Á, Meireles MAA, Cocero MJ. 2012. Production of stabilized sub-micrometric particles of carotenoids using supercritical fluid extraction of emulsions. *Journal of Supercritical Fluids*. 61: 167–174.
- Santos DT, Meireles MAA. 2013. Micronization and encapsulation of functional pigments using supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Process Engineering*. 36(1): 36–49.
- Saiz-Abajo MJ, Gonzalez-Ferrero C, Moreno-Ruiz A, Romo-Hualde A, Gonzalez-Navarro CJ. 2013. Thermal protection of  $\beta$ -carotene in re-assembled casein micelles during different processing technologies applied in food industry. *Food Chem*. 138:1581–1587.
- Sanchez C, Baranda, AB, De Marañon, IM. 2014. The effect of High Pressure and High Temperature processing on carotenoids and chlorophylls content in some vegetables. *Food Chemistry*. 163: 37–45.
- Shariati A, Peters CJ. 2003. Recent developments in particle design using supercritical fluids, *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. 7 (4–5): 371-383.
- Seleci DA, Seleci M, Walter JG, Stahl F, Scheper T. 2016. Niosomes as Nanoparticulate Drug Carriers: Fundamentals and Recent Applications. *Journal of Nanomaterials*. Volume 2016, Article ID 7372306, 13 p.
- Silva EK, Meireles MAA. 2014. Encapsulation of Food Compounds Using Supercritical Technologies: Applications of Supercritical Carbon Dioxide as an Antisolvent. *Food and Public Health*. 4(5): 247-258.



- Silva HD, Cerqueira MA, Souza WSB, Ribeiro C, Avides, MC, Quintas MAC, Coimbra JSR, Carneiro-da-Cunha MG, Vicente AA. 2011. Nanoemulsions of  $\beta$ -carotene using a high-energy emulsification–evaporation technique. *Journal of Food Engineering*.102: 130–135.
- Soukoulis C, Bohn T. 2018. A comprehensive overview on the micro- and nano-technological encapsulation advances for enhancing the chemical stability and bioavailability of carotenoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 58(1): 1-36.
- Şahin NÖ. 2007. Niosomes As Nanocarrier Systems. *Nanomaterials and Nanosystems For Biomedical Applications (Chapter 4)*. Editor: M. Reza Mozafari. 67-81. doi: 10.1007/978-1-4020-6289-6.
- Solans C, Izquierdo P, Nolla J, Azemar N, Garcia-Celma MJ. 2005. Nano-emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 10: 102-110.
- Sozer N, Kokini JL. 2009. Nanotechnology and its applications in the food sector, *Trends in Biotechnology*. 27(2): 82-89.
- Tamjidi F, Shahedi M, Varshosaz J, Nasirpour A. 2013. Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. *Innov. Food Sci. Emerg.* 19: 29–43.
- Tan CP, Nakajima M. 2005.  $\beta$ -Carotene nanodispersions: Preparation, characterization and stability evaluation. *Food Chem.* 92: 661–671.
- Tan C, Xia S, Xue J, Xie J, Feng B, Zhang X. 2013. Liposomes as vehicles for lutein: Preparation, stability, liposomal membrane dynamics, and structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61(34): 8175–8184.
- Tan C, Xue J, Abbas S, Feng B, Zhang X, Xia S. 2014. Liposome as a Delivery System for Carotenoids: Comparative Antioxidant Activity of Carotenoids As Measured by Ferric Reducing Antioxidant Power, DPPH Assay and Lipid Peroxidation. *J. Agric. Food Chem.* 62: 6726–6735.
- Tan C, Feng B, Zhang X, Xia W, Xia S. 2016. Biopolymer-coated liposomes by electrostatic adsorption of chitosan (chitosomes) as novel delivery systems for carotenoids. *Food Hydrocolloids*. 52: 774–784.
- Taylor TM, Weiss J, Davidson PM, Bruce BD. 2005 Liposomal Nanocapsules in Food Science and Agriculture. *Crit Rev Food Sci Nutr*.45(7-8): 587-605.
- Taylor TM, Gaysinsky S, Davidson PM, Bruce BD, Weiss J. 2007.Characterization of antimicrobial-bearing liposomes by zeta-potential, vesicle size, and encapsulation efficiency. *Food Biophys*. 2: 1–9.
- Toniazzo T, Berbel IF, Cho S, Fávoro-Trindade CS, Moraes ICF, Pinho SC. 2014.  $\beta$ -carotene-loaded liposome dispersions stabilized with xanthan and guar gums: Physico-chemical stability and feasibility of application in yogurt. *LWT - Food Sci Technol*. 59: 1265-1273.
- Trejo R, Harte F. 2010. The effect of ethanol and heat on the functional hydrophobicity of casein micelles. *J Dairy Sci*. 93: 2338–2343.
- Vaquette C, Babak VG, Baros F, Boulanouar O, Dumas D, Fievet P, Wang X. 2008. Zeta-potential and morphology of electrospun nano- and microfibers from biopolymers and their blends used as scaffolds in tissue engineering, *Mendeley Communications*, 18(1): 38–41.
- Vega-Lugo AC, Lim LT. 2009. Controlled release of allylthiocyanate using soy protein and poly (lactic acid) electrospun fibers, *Food Research International*. 42(8), 933-940.
- Weiss J, Gibis M. 2013. Nanotechnology in the Food Industry. *Ernaehrungs Umschau International*. 4: 44-51.
- Wongsasulak S, Patapeejumrswong M, Weiss J, Supaphol P, Yoovidhya T. 2010. Electrospinning of food-grade nanofibers from cellulose acetate and egg albumen blends. *Journal of Food Engineering*. 98(3): 370–376.
- Xia S, Tan C, Zhang Y, Abbas S, Feng B, Zhang X, Qin F. 2015. Modulating effect of lipid bilayer-carotenoid interactions on the property of liposome encapsulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 128: 172–180.
- Ye R, Harte FM. 2013. Casein maps: effect of ethanol, pH, temperature, and CaCl<sub>2</sub> on the particle size of reconstituted casein micelles. *Journal of Dairy Science*. 96(2): 799-805.
- Yi J, Zhang Y, Liang R, Zhong F, Ma J. 2015.  $\beta$ -Carotene Chemical Stability in Nanoemulsions was Improved by Stabilized with Beta-Lactoglobulin–Catechin Conjugates through Free Radical Method. *J. Agric. Food Chem.* 63: 297–303.
- Yi J, Lam TI, Yokoyama W, Cheng LW, Zhong F. 2015a.  $\beta$ -carotene encapsulated in food protein nanoparticles reduces peroxy radical oxidation in Caco-2 cells. *Food Hydrocolloids*. 43: 31–40.
- Yoon G, Park JW, Yoon I. 2013. Solid lipid nanoparticles (SLNs) and nanostructured lipid carriers (NLCs): recent advances in drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Investigation*. 43: 353–362.
- Zhang L, Hayes DG, Chen G, Zhong Q. 2013. Transparent dispersions of milk-fat-based nanostructured lipid carriers for delivery of  $\beta$ -carotene. *J. Agric. Food Chem.* 61: 9435–9443.
- Zimet P, Livney YD. 2009.  $\beta$ -lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Food Hydrocolloid*. 23: 1120–1126.