

KEKİK ve KAKULE YAĞLARININ TEK ve EŞ EKSENLİ NANOLİF İLE ENKAPSÜLASYONU

Saide Başak Arıkan, Nagihan Okutan, Filiz Altay*

İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul

Geliş tarihi / Received: 14.09.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 28.12.2015

Kabul tarihi / Accepted: 10.01.2015

Özet

Kekik ve kakule yağı gibi uçucu antimikrobiyal yağlar içerdikleri biyoaktif bileşenler ile mikroorganizmaların hücrelerine zarar verir. Biyoaktif bileşenlerin arzulanan etkilerini gerçekleştirebilmeleri için proses ve depolama koşullarındaki dış etkenlerden korunması gerekmektedir. Bu nedenle biyoaktif maddelerin enkapsülasyonu, etkinlikleri açısından önem taşımaktadır. Nanoliflerle enkapsülasyon, diğer yöntemlere göre daha etkin bir metottur. Çalışmanın amacı kekik ve kakule yağlarının tek ve eş eksenli nanoliflerle enkapsüle edilebilirliğinin araştırılmasıdır. Tek eksenli nanoliflerin eldesi için, jelatin %20 asetik asit-su çözeltisi (v/v) içinde çözülüp %20'lik jelatin (w/v) çözeltisi hazırlanmıştır. Jelatin çözeltisi 9:1 oranında kekik veya kakule yağıyla karıştırılarak elektroçizme cihazına beslenmiştir. Eş eksenli nanolif elde etmek için ise; aynı antimikrobiyal yağların her biri tek başına iç kısımda, %20 jelatin çözeltisi (w/v) ise dış kısımda olacak şekilde iki farklı mikropompa ile cihaza beslenmiştir. Kekik yağı içeren örneklerle nanolif yapısı elde edilebilmiş, kakule içeren örneklerde bu yapı gözlenmemiştir. İlerideki çalışmalarda kakule yağı içeren örnekler için farklı elektroçizme parametreleri kullanılabilir. Her iki uçucu yağın başarıyla enkapsülasyonundan sonra farklı ürünlerde ve farklı amaçlar için kullanımları açısından, değişik koşullar altındaki salım kinetiklerinin araştırılması çalışmaları yürütülebilir. Bu inceleme ileride yapılacak bu çalışmalara ışık tutacaktır.

Anahtar kelimeler: Elektroçizme, nanolif, enkapsülasyon, kekik yağı, kakule yağı.

UNIAXIAL and COAXIAL NANOFIBER ENCAPSULATION of THYME and CARDAMOM OIL

Abstract

Volatile antimicrobial oils like thyme oil or cardamom oil containing bioactive ingredients adversely affect microorganism's cells. Bioactive ingredients should be protected from ambient conditions of processing and storage to exhibit their desired effects during consumption. Therefore, encapsulation of bioactive ingredients plays an important role in terms of their efficiency. Nanofiber encapsulation offers lots of advantages compared to the other encapsulation methods. In this study, the objective was to investigate that whether thyme oil or cardamom oil can be electrospun uniaxially or coaxially. To obtain uniaxial nanofiber, 20% gelatin-acetic (w/v) acid solution was prepared by gelatin dissolved in 20 % acetic acid-water solvent (v/v). The feed solutions were prepared by mixing of gelatin solution and thyme or cardamom oils (9:1). For coaxial geometry, same antimicrobial oils were encapsulated with 20% gelatin-acetic acid solution (w/v). The core was only the oil and the shell was the gelatin solution, which each was pumped by two different micropumps. Nanofiber structure was obtained for the samples containing thyme oil whereas no fiber formation was attained for the samples with cardamom oil. In the future, different electrospinning process parameters may be applied to obtain nanofibers containing cardamom oil. In addition, the release kinetics of nanofiber encapsulated oils may be studied at different conditions for various objectives. The outcome of this study will help such studies that will be conducted in the future.

Keywords: Electrospinning, nanofiber, encapsulation, thyme oil, cardamom oil.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ lokumcu@itu.edu.tr,

☎ (+90) 212 285 6948,

☎ (+90) 212 285 7333

GİRİŞ

Güçlü bir antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu bilinen kekik bitkisinin yağında timol (%50 civarında), karvakrol, borneol, pimen, tanen gibi bileşenler bulunmaktadır (1). Kakule yağının içerdiği önemli bileşenler ise a-terpinil asetat, linalol, linalil asetat, geraniol, limonen, a-terpinen, safrol, metilöjanol ve öjanol gibi maddeleridir (2). Esansiyel yağların içerdiği bileşenler hücre duvarından ve zarından geçerek hücrede sitoplazma koagülasyonuna, lipid ve protein hasarı gibi zararlara neden olmaktadır. Ayrıca hücre duvarına ve sitoplazmik membrana verdikleri tahribat ile makromoleküllerin hücre duvarından ve membrandan geçişinde bozulmaya neden olurlar (3).

Kekik ve kakule bitkileri pek çok biyoaktif bileşen içermektedir (1, 2). Biyoaktif bileşenlerin arzulanan etkilerini gerçekleştirebilmeleri için proses ve depolama süresince korunmalıdırlar. Enkapsülasyon işlemi ile korunmak istenilen maddeler bir matriks içerisinde ambalajlanır. Böylece hassas bileşenler ısı, ışık, nem, pH gibi pek çok etkenden, bileşenlerin serbest kalması istenilen zamana kadar korunmuş olurlar. Ayrıca gıdaya eklenilmek istenilen ve bunun için enkapsüle edilen bileşen, eklenildiği gıdada enkapsülasyonun maskeleyici etkisi sayesinde daha az tat değişimine neden olur (4).

Nanoenkapsülasyon işlemi hedef materyalin nano boyutta enkapsüle edilmesiyle gerçekleştirilebilir. Nano boyutta yapılan enkapsülasyon, oksidasyondan koruma, kontrollü salım, tat ve biyoyararlılık açısından pek çok fayda sağlamaktadır. Özellikle mikroenkapsülasyon tekniğiyle karşılaştırıldığında nanoenkapsülasyonun potansiyel faydalarının daha yüksek olduğu görülür. Artan enkapsülasyon etkinliği ve materyalde düzgün dağılım gibi avantajlar nanoenkapsülasyon yönteminin üstünlüklerinden bir kaçıdır. Nanoenkapsülasyon uygulamaları aktif maddeyi çevresel etmenlerden koruyuşu, biyoyararlılığı iyileştirici ve enkapsüle maddenin uyum sorununu azaltıcı etkileriyle etkin sonuçlar vermektedir (5).

Elektroegirme nanolif eldesi için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemle üretilen ve çapı nanometre mertebelerinde olan lif şeklindeki yapılar büyük bir yüzey alanına sahip olurlar. İşlem için polimer uygun bir çözücüde çözülür veya sıcaklıkla eriyik haline getirilir. Bu besleme çözeltisi bir mikropompa

yardımıyla yüksek gerilim uygulanan bir uca pompalanır. Besleyici ünitedeki iğnenin ucunda asılı durumda duran polimer çözelti damlası kritik bir voltaj değerine kadar küresel bir biçimde bulunur. Uygulanan potansiyel fark bir eşik değerine ulaştığı anda polimer damlası şekil değiştirerek koni biçimini alır. Bu koniye Taylor konisi denir. Polimer damlası Taylor Konisi halini aldıktan sonra polimer fiskeye şeklinde koni ucundan fıskırır ve toplayıcı plakaya ilerler (6). Eş eksenli nanolif eldesinde ise birbirine karışmayan iki ayrı besleme çözeltisi vardır. Bu çözeltilerden bir tanesi iç kısmı diğeri ise dış kaplamayı oluşturmak üzere elektroegirme sistemine beslenir. Bu işlemle birlikte birbiri içine geçmiş iki silindir yapı elde edilmiş olur (7).

Elektroegirmeyi etkileyen pek çok parametre vardır. Elektroegirme işleminde besleme ucu ve toplayıcı plaka arasındaki mesafe, toplayıcı plakanın yapısı ve yüzeyi işlemi etkileyen faktörlerdendir (8). Besleme hızı da elektroegirme işlemi etkilemektedir. Yüksek debilerde nanolif çapı artarken, nanoliflerde boncuklu yapının görülme ihtimali artar. Düşük debilerde ise nanolif çapı azalırken, çözücü maddenin toplama plakasına varana kadar uçuşması için gerekli süre kazanılır (9). Çözelti özelliklerinden elektriksel iletkenlik ve yüzey gerilimi işlemi etkileyen parametrelerdendir. Elektroegirme işlemi sırasında elektrik yüklerinin transferinden yararlandığı için elektrik iletkenliği prosesi etkiler. Sıfır elektrik iletkenliği olan bir maddeden nanolif elde edilemez. Yüzey gerilimi ise uygulanan voltaja direnen bir etki yaratır. Bu nedenle çözeltinin yüzey gerilimi, nanolif elde edilip edilemeyeceği konusunda oldukça etkilidir. Ancak voltaj ve yüzey gerilimi arasındaki ilişki her zaman doğrusal değildir (10). Çözelti konsantrasyonu da nanolif eldesini etkileyen etmenlerdendir. Çok düşük konsantrasyonlarda polimer nanolif haline gelmeden yüzeye damlacıklar halinde düşmekte, çok yüksek konsantrasyonlarda ise polimer akışı elektriksel kuvvetlerin yüzey gerilimini ve vizkoziteyi yenememesinden gerçekleşmemektedir (11).

Asetik asit ile hazırlanan çözeltilerde, asetik asit konsantrasyonunun artması ile birlikte çözeltinin yüzey geriliminin düştüğü bildirilmektedir. Yüzey geriliminin düşmesi, elektroegirme işlemi etkiler. Boncuklu lif yapısı çözeltide artan asetik asit konsantrasyonu ile yüzey geriliminin azalması sonucu düzgün bir yapı haline gelir (12). Jelatin,

elektroçizme yöntemiyle nanolif elde edilebilen polimerlerden bir tanesidir. Kullanılacak olan jelatin çözeltisinin konsantrasyonu oldukça önemlidir (13).

Bu çalışmanın amacı, içerdikleri biyoaktif maddeler sayesinde antimikrobiyal özellik gösteren kekik ve kakule yağlarının dış etkenlere karşı korunması için tek ve eş eksenli nanolif ile enkapsülasyonunu gerçekleştirmektir.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Bu çalışmada jelatin (Sigma- Aldrich, G9382-500G, ABD), %100 asetik asit (Sigma- Aldrich, 27225, ABD) ve saf su kullanılmıştır. Kakule yağı ve kekik yağı ise IFF Global Headquarters (Amerika)'ten temin edilmiştir.

Metot

Besleme çözeltilerinin hazırlanması

Çizelge 1'de besleme çözeltilerinin bileşimleri verilmiştir. Tüm çözeltiler 35 °C'de bir karıştırıcıda (Yellowline, MSH Basic) 2 saat karıştırılarak hazırlanmıştır.

Çizelge 1. Besleme çözeltilerinin hazırlanması
Table 1. Preparation of feed solutions

Örnek No Sample No	Elektroçizme Geometrisi Electrospinning geometry	İç Kısım Core composition	Dış kısım (Shell composition)
1	Tek eksenli Uniaxial	-	%20 jelatin - sulu asetik asit çözeltisi, kekik yağı 20% gelatin - aqueous acetic acid solution, thyme oil 9:1
2	Tek eksenli Uniaxial	-	%20 jelatin - sulu asetik asit çözeltisi, kakule yağı 20% gelatin - aqueous acetic acid solution, cardamom oil 9:1
3	Eş eksenli Coaxial	Kekik Yağı %100 Thyme oil 100%	%20 jelatin - sulu asetik asit çözeltisi 20% gelatin - aqueous acetic acid solution
4	Eş eksenli Coaxial	Kakule Yağı %100 Cardamom oil 100%	%20 jelatin - sulu asetik asit çözeltisi 20% gelatin - aqueous acetic acid solution

Çizelge 2. Elektroçizme işlem parametreleri
Table 2. Process parameters of electrospinning

Örnek No Sample No	İç Kısım Beslenen Yağ Debisi ml/sa Flow rate of core material ml/h	Dış Kısım Beslenen Polimer Debisi ml/sa Flow rate of shell material ml/h	Uygulanan Gerilim Applied Voltage kV
1	-	0.5	18
2	-	0.5	18
3	0.1	0.9	13
4	0.1	0.9	13

Toplayıcı plaka uzaklığı 10 cm'dir.
The collector distance was 10 cm.

Besleme çözeltilerinin özelliklerinin belirlenmesi

Çözeltilerin elektriksel iletkenlikleri oda sıcaklığında iki tekrarlı olacak şekilde ölçülmüştür (WTW LF95, Almanya).

Çözeltilerin yüzey gerilimleri bir tensiyometre (Dataphysics DCAT, Almanya) ile oda sıcaklığında iki tekrarlı olacak şekilde ölçülmüş, sonuçlar bir yazılım programı (Dataphysics SCAT, Almanya) ile değerlendirilmiştir.

Çözeltilerin reolojik karakterizasyonu 25 °C'de, 0 ile 200 1/s, kayma hızı aralığında ve paralel plaka sensörü (çap= 35 mm, gap= 1 mm) ile iki tekrarlı olacak şekilde yapılmış, sonuçlar bir yazılım ile değerlendirilmiştir (RheoWin3 Data Manager, Almanya). Çözeltilerin viskoziteleri psödoplastik akışkanlar için kullanılan üslü yasa modeli ile hesaplanmıştır:

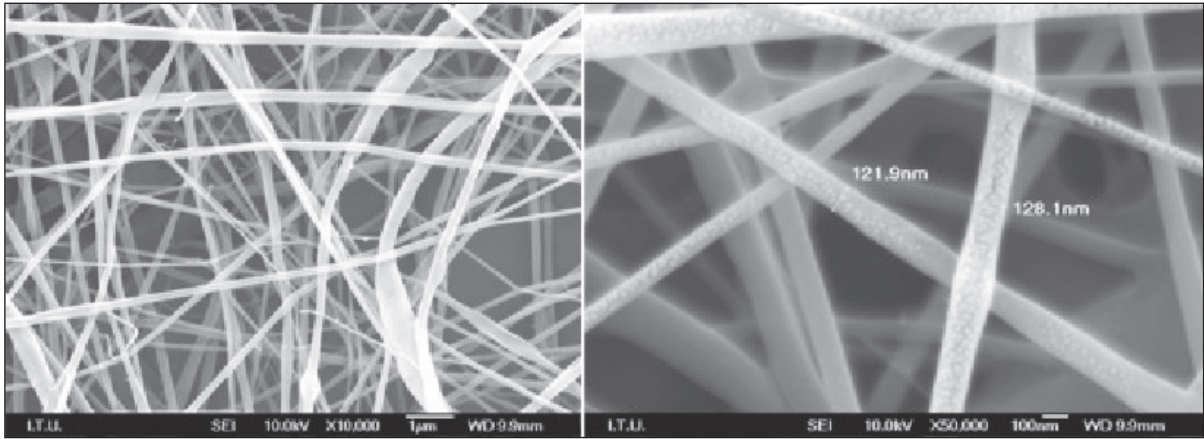
$$\tau = K (\dot{\gamma})^n \quad (1)$$

Bu denklemde τ kayma gerilimini (Pa), K kıvam indeksini (Pa.sⁿ), $\dot{\gamma}$ kayma hızını (1/s) ve n akış davranış indeksini (-) göstermektedir. Modelmeden sonra görünen veya anlık viskozite μ (Pa.s) aşağıdaki denklemden hesaplanmıştır:

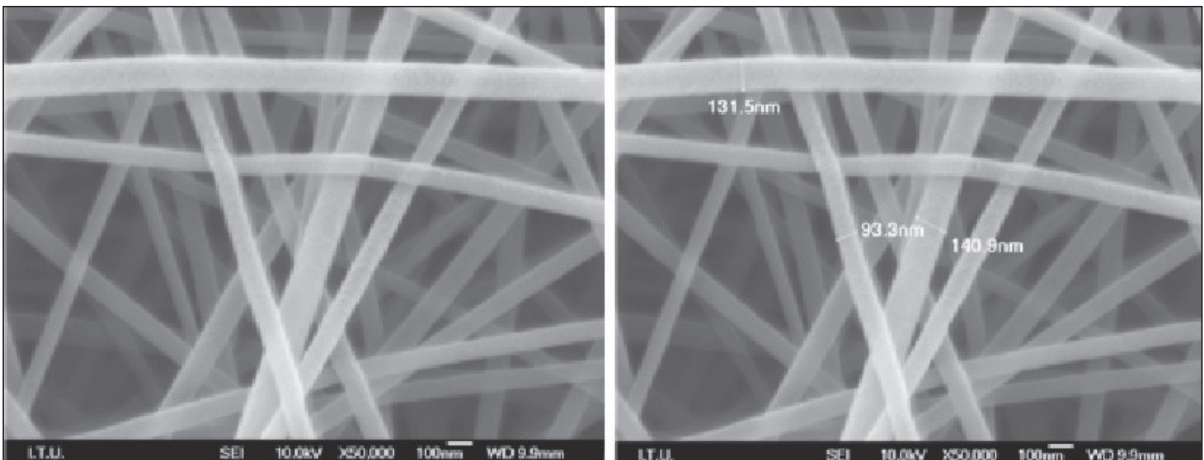
$$\mu = K (\dot{\gamma})^{n-1} \quad (2)$$

Çizelge 3. Besleme çözeltilerinin özellikleri
Table 3. Properties of feed solutions

Örnek Sample	Elektriksel İletkenlik Electrical conductivity mS/cm	Yüzey Gerilimi Surface Tension mN/m	Reolojik Özellikler Reological Parameters		
			K Pa.s ^o	n -	μ Pa.s, 100 1/s'de at 100 1/s
%20 jelatin - asetik asit çözeltisi 20% gelatin - aqueous acetic acid solution	4.22 ± 0.02	36.90 ± 0.03	0.77 ± 0.02	0.56 ± 0.01	0.102
Kekik yağı Thyme oil	0.00 ± 0.00	24.15 ± 0.02	0.18 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.004
Kakule yağı Cardamom oil	0.00 ± 0.00	24.62 ± 0.02	0.18 ± 0.03	0.21 ± 0.03	0.004
%20 jelatin - sulu asetik asit çözeltisi, kekik yağı, Örnek No:1 9:1 20% gelatin - aqueous acetic acid solution, thyme oil, Sample No:1	3.24 ± 0.03	34.67 ± 0.02	0.77 ± 0.05	0.52 ± 0.09	0.084
%20 jelatin - sulu asetik asit çözeltisi, kakule yağı, Örnek No:2 9:1 20% gelatin - aqueous acetic acid solution, cardamom oil, Sample No:2	3.26 ± 0.04	32.11 ± 0.02	0.87 ± 0.03	0.56 ± 0.01	0.115



Şekil 1. Jelatin-kekik yağı içeren (9:1) tek eksenli nanoliflerin SEM görüntüsü (Örnek No:1) -
Figure 1. SEM images of uniaxial nanofibers containing gelatin-thyme oil (9:1) (Sample No:1)



Şekil 2. Jelatin-kekik yağı içeren eş eksenli nanoliflerin SEM görüntüsü (Örnek No :3)
Figure 2. SEM images of coaxial nanofibers containing gelatin-thyme oil (9:1) (Sample No:3)

Elektroegirme cihazında nanolif eldesi

Elektroegirme işlemi bir elektroegirme cihazı (İnovento NE100, İstanbul, Türkiye) ile yürütülmüştür. Elektroegirme işleminde her bir örnek için kullanılan işlem parametreleri Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2

Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Elektroegirme cihazından alınan örneklerin morfolojik özellikleri taramalı elektron mikroskobu (Jeol JSM- 7000F, Japonya) ile incelenmiştir.

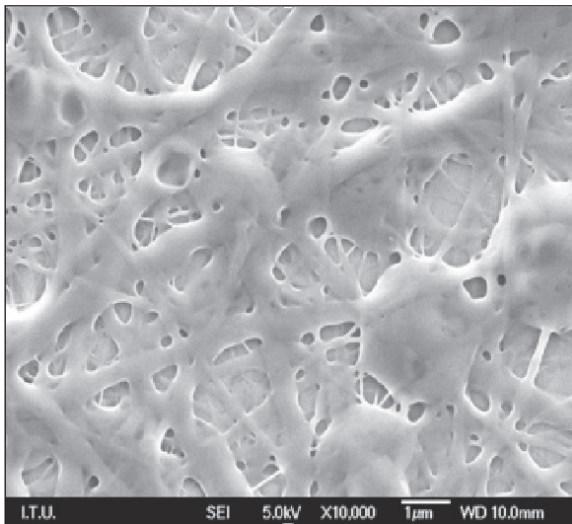
BULGULAR*Besleme çözeltilerinin özellikleri*

Besleme çözeltilerinin özellikleri Çizelge 3'te verilmiştir.

Elektroegirme işlemi ve örneklerin SEM ile incelenmesi

Kekik yağı içeren tek ve eş eksenli nanolif örneklerinin SEM görüntüleri Şekil 1 ve 2'de verilmiştir.

Kakule içeren tek eksenli örneğin SEM görüntüsü Şekil 3'te verilmiştir. Kakule yağı içeren sistemden eş eksenli geometride örnek eldesi mümkün olmamıştır.



Şekil 3. Jelatin-kakule yağı içeren (9:1) çözeltilerden elektroegirme ile elde edilen yapının SEM görüntüsü (Örnek No:2)

Figure 3. SEM images of uniaxial nanofibers containing gelatin-cardamom oil (9:1) (Sample No:2)

SONUÇ ve DEĞERLENDİRME

Elektroegirme cihazına beslenecek çözeltiler hazırlanırken ve elektroegirme işlemi boyunca kekik ve kakule yağı içeren örneklerde herhangi bir ayrışma gözlemlenmemiştir. Bu durumun jelatinin emülsifiye edici özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yağların damlacıklar halinde çözelti içinde dağıldığı ve jelatin polimerinin karışımı stabilize edici olarak davrandığı tahmin edilmektedir.

Elektroegirme ile tek eksenli nanolif eldesi için besleme çözeltisinin sıfırdan farklı bir elektriksel iletkenliğe sahip olması gerekmektedir. Kekik yağı tek başına iletken değilken, jelatin-asetik çözeltisi ilave edildiğinde elde edilen karışım iletkenlidir. Bu şekilde elektroegirme işleminin kekik yağı ile uygulanması mümkün olmuştur. Eş eksenli nanolif eldesinde iç kısım dış kısmın sahip olduğu elektriksel iletkenliğe bağlı olarak elektriksel alan kuvvetiyle lif şeklinde çekildiği için, iç kısmın elektriksel iletkenliği olmayan materyallerden oluşması sorun teşkil etmemektedir. Aynı durum kakule yağı içeren karışım için de geçerlidir, ancak nanolif yapısı elde edilememiştir. Bunun elektroegirmede etkili diğer bir parametre olan viskoelastik kuvvetlerle ilgisi olduğu düşünülmektedir.

Elektroegirme tekniği için önemli diğer bir parametre besleme çözeltilerinin reolojik özellikleridir. Reolojik ölçümlere göre bütün besleme çözeltileri psödoplastik özellik (n<1) göstermektedir. Başka bir deyişle çözeltilerin tek bir viskozite değeri olmamaktadır. Bu durumda kıvam indeksi (K) değerlerine bakılarak değerlendirme yapılabilir. Kakule yağı içeren örneğin (Çizelge 1'de verilen örnek 2) hem K değeri hem de 100 1/s'deki viskozite değeri, diğer bütün örneklerden büyük çıkmıştır (Çizelge 3). Bu da elektroegirmede uygulanması gereken voltajın daha yüksek olması anlamına gelmektedir. Çalışmada uygulanan elektroegirme parametreleriyle, kakule yağı içeren örnekten nanolif eldesi mümkün olmamıştır. Ancak viskoz kuvvetleri yenecek miktara karşılık gelecek şekilde daha yüksek voltaj uygulamalarında, kekik yağı gibi kakule yağı da enkapsüle edilebilir.

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan morfolojik incelemelerde, kekik yağı ve jelatin çözeltilerinden elde edilen nanoliflerin düzgün

ve boncuksuz yapı oluşturabildiği görülmüştür. Bu tek eksenli nanoliflerin çapları 121.9 ile 128.1 nm arasında değişmektedir (Şekil 1). Eş eksenli elektroğirme uygulanan kekik yağlı örneklerden nanolif yapısı elde edilmiştir. Bu nanoliflerin çapları ise 93.3 ile 140.9 nm arasında değişmiştir (Şekil 2). SEM sonuçlarına göre tek eksenli elektroğirme tekniği ile üretilen nanolifler daha homojen çaplara sahiptir. Kakule yağı içeren çözüldüden düzgün nanolif yapısının elde edilemediği belirlenmiştir (Şekil 3). Eş eksenli elektroğirmeden jelatin - kakule yağı örneği için toplama plakasına doğru fiske oluşumu gözlenmemiştir. Bu sonuçlar kakule yağı içeren örneklerin kıvam indeksinin yüksek olması nedeniyle, daha yüksek voltaj uygulanması gerektiği şeklinde yorumlanabilir. Buna ilaveten farklı kaplama polimerleri denenebilir.

Oda koşullarında gerçekleştirilebildiği, enkapsülasyon için doğal polimerler kullanıldığı, toksik çözümler gerektirmediği ve kısa bir sürede gerçekleştirilebildiği için kekik yağının aktif bileşenlerinin enkapsülasyonunda elektroğirme yönteminin oldukça avantajlı olduğu görülmektedir. Ancak bu aktif bileşenlerin nanolifle enkapsülasyonundan sonra etkinliklerinin ve stabiliteilerinin analiz edilmesi gereklidir. Nanoliflerle enkapsülasyon ile kekik yağı bileşenlerinin kontrollü salımı da sağlanabilir. Bu çalışma, gelecekte nanolifler ile enkapsüle edilmiş kekik yağının gıda ve gıda ambalajları alanında uygulanabilirliği konusunda yapılacak çalışmalar için kaynak olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Benli M, Yiğit N. 2005. Ülkemizde yaygın kullanımı olan Kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyol Derg*, 3(8), 1-8.
2. Kubo İ, Himejima M, Muroi H. 1991. Antimicrobial activity of flavor components of Cardamom *Elattaria cardamomum* (Zingiberaceae) Seed. *J Agric Food Chem*, 39(11), 1984-1986.
3. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils a review. *Food Chem Toxicol*, 46(2), 446-475.
4. Augustin M, Hemar Y. 2009. Nano-and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chem Soc Rev*, 38(4), 902-912.
5. Xiao Z, Li W, Zhu G, Zhou R, Niu Y. 2013. The nanocapsulation research progress in food industry. *Appl Mech and Mater*, 395, 144-148.
6. Subbiah T, Bhat G, Tock R, Parameswaran S, Ramkumar S. 2005. Electrospinning of nanofibers. *J Appl Polym Sci*, 96(2), 557- 569.
7. Diaz J, Fernandez-Nieves E, Barrero A, Marquez E, Loscertales I. 2008. Fabrication of structured micro and nanofibers by coaxial electrospinning. *J Phys: Conference Series*, 127(1).
8. Arslan Y. 2007. Elektroğirme tekniğiyle polimer nano-liflerin memeli hücresi etkileşimlerinin incelenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 51 s.
9. Bhardwaj N, Kundu S. 2010. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnol Adv*, 28(3), 325-347.
10. Okutan N, Terzi P, Altay F. 2014. Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. *Food Hydrocoll*, 39, 19-26.
11. İkiz Y. 2009. Elektro çekim yöntemi işlem parametrelerinin PVA nanolif morfolojisine etkileri. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri dergisi*, 15(3), 363-369.
12. Geng X, Kwon O, Jang J. 2005. Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials*, 26(27), 5427-5432.
13. Nieuwland M, Geerdink P, Brier P, Van Den Eijnden P, Henket J, Langelaan M, Stroeks N., Deventer H., Martin A. 2013. Food-grade electrospinning of proteins. *Innov Food Sci & Emerg Technol*, 20, 269-275.