

## OMEGA-3 YAĞ ASİDİ NANOEMÜLSİYONLARININ FARKLI KOŞULLARDA FİZİKSEL STABİLİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Z. Merve ABACI<sup>a</sup>, Sibel ULUATA<sup>b\*</sup>

<sup>a</sup> Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, İnönü Üniversitesi, Malatya, Türkiye

<sup>b</sup> Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İnönü Üniversitesi, Malatya, Türkiye

Geliş / *Received*: 11.03.2022; Kabul / *Accepted*: 27.06.2022; Online baskı / *Published online*: 25.07.2022

Abacı, Z.M., Uluata, S. (2022). Omega-3 yağ asidi nanoemülsiyonlarının farklı koşullarda fiziksel stabilitelerinin belirlenmesi. *GIDA* (2022) 47 (4) 616-629 doi: 10.15237/ gida.GD22031

*Abacı, Z.M., Uluata, S. (2022). Determination of physical stability of omega-3 fatty acid nanoemulsions at different conditions. GIDA (2022) 47 (4) 616-629 doi: 10.15237/ gida.GD22031*

### ÖZ

Bu çalışmada, omega-3 yağ asitlerince zengin balık yağı (%5) ve Tween 80 (T80), Quillaja Saponin (QS), Gam Arabik (GA) sürfaktanları (%1) kullanılarak mikroakışkanlaştırıcı yardımı ile su içinde yağ (Y/S) nanoemülsiyonları hazırlanmıştır. Nanoemülsiyonların fiziksel stabilite; pH (4-7), sıcaklık (40-80°C) ve iyonik şiddet (0-500 mM NaCl) etkisi ile belirlenmiştir. Nanoemülsiyonların partikül boyutlarının  $125\pm 0.40$  ile  $542\pm 0.45$  nm ve partikül yüklerinin  $-12.80\pm 0.63$  ile  $-69.1\pm 0.14$  mV aralığında olduğu tespit edilmiştir. T80 ve QS ile stabilize edilen nanoemülsiyonların farklı pH, sıcaklık ve iyonik şiddet koşullarında fiziksel stabilitelerinin değişmediği görülmüştür. GA ile stabilize edilmiş nanoemülsiyonların ise pH, sıcaklık ve iyonik şiddet etkisine nispeten hassas olduğu ancak fiziksel stabilitesinde önemli bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak, omega-3 ile zenginleştirilmiş fiziksel olarak stabil nanoemülsiyonlar hem sentetik (T80) hem de doğal (QS ve GA) sürfaktanlar kullanılarak üretilmiştir. Elde edilen bu sonuçların omega-3 yağ asidi ile zenginleştirilmiş gıda üretimi ile ilgili çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Omega-3 yağ asitleri, nanoemülsiyon, emülsifiyer, fiziksel stabilize

## DETERMINATION OF PHYSICAL STABILITY OF OMEGA-3 FATTY ACID NANOEMULSIONS AT DIFFERENT CONDITIONS

### ABSTRACT

In this study, physical stability of omega-3 oil-in-water emulsion was investigated at different environmental conditions. Omega-3 oil (5%) and Tween 80 (T80), Quillaja Saponin (QS), Gam Arabic (GA) (1%) were used to produce oil-in water nanoemulsions. The physical stability of nanoemulsions were examined at different pH (4-7), temperature (40-80°C) and ionic strength (0-500 mM NaCl). The particles size of nanoemulsions were  $125\pm 0.40$  to  $542\pm 1.70$  nm, and the charge were  $-12.80\pm 0.63$  and  $-69.10\pm 0.14$  mV. It was observed that nanoemulsions containing T80 and QS were kinetically stable and the particle size/zeta potential did not change at different pH, temperature and salt concentrations. However, there was a small changes in the particle size of nanoemulsion containing GA at different conditions. As a result, physically stable nanoemulsions enriched with omega-3 were produced using both synthetic and natural surfactants. These results will be useful for the production of food enriched with omega-3 oils.

**Keywords:** Omega-3 fatty acid, nanoemulsion, emulsifier, physical stability

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*

✉: sibel.uluata@inonu.edu.tr

☎: (+90) 422 377 3790

☎: (+90) 422 377 3822

Z. Merve Abacı; ORCID no: 0000-0002-5082-2104

Sibel Uluata; ORCID no: 0000-0002-7451-9791

### GİRİŞ

Balık yağı, Eikosapentaenoik asit (EPA) ve Dokosapentaenoik asit (DHA) gibi uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri açısından çok zengin bir kaynaktır (Maki vd., 2014). EPA'nın kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde önemli bir yeri olduğu, DHA'nın ise beyin ve sinir sistemi gelişimi için gerekli olduğu uzun yıllardır bilinmektedir (Patch ve Brown, 2008; Shahidi ve Ambigaipalan, 2018; Walker vd., 2015). EPA ve DHA ayrıca astım, kistik fibroz ve romatoid artrit gibi enflamatuvar hastalıkların önlenmesi ve bu hastalıkların olası tedavisinde kullanılmaktadır (Ruxton vd., 2004; Tur vd., 2012). DHA, insan sinir sisteminde yüksek miktarda bulunduğu için eksikliği sinir sistemi hastalıklarıyla ilişkilendirilmiştir (Ruxton vd., 2004).

Omega-3 yağ asitlerinin, bebeklerde beyin gelişimi ve çalışmasında görevli olduğu, yüksek zeka katsayısı (IQ) ve görme keskinliğini arttırdığı yönünde araştırmalar mevcuttur (Helland vd., 2003; Ruxton vd., 2004). Ayrıca, omega-3 yağ asidi tüketiminin, dikkat eksikliği, hiperaktivite bozukluğu, Alzheimer ve Demans dahil olmak üzere zihinsel sağlık durumları ile bağlantısı rapor edilmiştir (Ruxton vd., 2004). Ayrıca omega-3 yağ asitleri, Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL) miktarını azaltarak ve Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL) miktarını arttırarak, kan lipit profilinde olumlu etkiler sağlamaktadır (Din vd., 2008; Pottel vd., 2014; Tur vd., 2012).

Son yıllarda balık ve balık yağının insan sağlığına olumlu etkilerinin olması konusunda farkındalık artmıştır. Ancak, yüksek balık maliyeti, denizde bulunan ağır metallerin toksik etkisi ve birçok tüketicinin deniz ürünü tüketmekten hoşlanmaması gibi faktörlere bağlı olarak tüketicilerin çoğu hala önerilen EPA ve DHA miktarı alımına sahip değildir (Deckelbaum, 2007; Nielsen vd., 2007). Bu ve buna benzer nedenlerden dolayı, omega-3 yağ asidi takviyeli gıdalara ilgi giderek artmaktadır. Gıda endüstrisi tüketicilere fonksiyonel gıdalar sunarak omega-3 yağ asidi alımını arttırmaya yönelik çalışmalar yapmaktadır (McClements vd., 2007; Nielsen vd., 2007; Walker vd., 2015; Walker vd., 2017). Omega-3 yağ asitleri ile zenginleştirilmiş

fonksiyonel ürünler arasında özellikle içecekler oldukça talep görmektedir (Walker vd., 2015).

Omega-3 yağ asitlerinin sudaki düşük çözünürlükleri, zayıf kimyasal stabiliteleri ve biyoyararlanımlarının değişken olması nedeniyle bunları çoğu gıda ürününe fonksiyonel olarak dâhil etmede önemli zorluklar vardır. Omega-3 yağ asitlerinin muhafazası, koruması ve serbest bırakılması için uygun dağıtım sistemleri geliştirilmektedir (Haahr ve Jacobsen, 2008; Uluata vd., 2015; Vellido-Perez vd., 2021; Walker vd., 2015). Nanoemülsiyonlar; hazırlanma kolaylığı, küçük partikül boyutları ( $d < 200$  nm), nispeten yüksek stabiliteleri ve yüksek biyoyararlanımları nedeniyle giderek daha popüler hale gelen sistemlerdir (Acosta, 2009; McClements, 2013).

Gıda endüstrisinde nanoemülsiyonların en önemli odak noktası, nano yapıdaki çeşitli biyoaktif maddeleri (omega-3 yağ asitleri, aroma maddeleri vb) kapsülleyerek korumak, salınımlarını kontrol etmektir (Acosta, 2009; McClements vd., 2007; Waraho vd., 2011). Nanoemülsiyonlar, omega-3 ile zenginleştirilmiş yiyecek ve içecek ürünleri geliştirmeye ilişkin zorlukların üstesinden gelmek için büyük bir potansiyele sahiptir.

Nanoemülsiyon sistemleri mikroemülsiyonların aksine termodinamik olarak stabil olmayan sistemlerdir (Riquelme et al., 2019). Günümüzde bu sistemlerin tasarımları geliştirilerek fiziksel ve kimyasal stabilitelerini arttırmak ve bu sistemlerden yüksek biyoyararlanım sağlamak mümkün olmaktadır (Anton ve Vandamme, 2009; Walker vd., 2015). Nanoemülsiyonlar, yüksek veya düşük enerjili yöntemlerle üretilir. Düşük enerjili yöntemler ile hazırlanan nanoemülsiyon sistemleri ortam koşulları kontrollü olarak değiştirilerek kendiliğinden damlacık oluşumu esasına dayalı sistemlerdir (McClements ve Rao, 2011). Yüksek enerjili yöntemler ile hazırlanan nanoemülsiyon sistemlerinde ise partikül boyutunu küçültmek için mikroakışkanlaştırıcı, yüksek basınçlı valf homojenleştirici veya sonikatör gibi özel mekanik cihazlar kullanılır (McClements ve Rao, 2011; Tadros vd., 2004; Walker vd., 2015). Ayrıca

nanoemülsiyonların fiziksel stabilitesini sağlamak üzere alternatif yollar araştırılmıştır.

Uluata ve arkadaşlarının (2015) yapmış olduğu bir çalışmada lesitin, QS, T80 ve sodyum dodesil sülfat (SDS) kullanılarak omega-3 yağ asitlerince zengin, stabil su içinde yağ emülsiyonları (YIS) oluşturulmuş ve omega-3 yağ asitlerinin hem doğal hem de sentetik sürfaktanlar kullanılarak stabilize edilebileceklerini rapor etmişlerdir. Peynir altı suyu proteini izolatu ve ksantan zamkı kullanılarak hazırlanan su içinde yağ emülsiyonlarının fiziksel stabilitesi ve reolojik özellikleri üzerine farklı koşulların (iyonik şiddet ve sıcaklık) etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise izoelektrik noktanın (pI) altındaki pH değerlerinde emülsiyonların flokülasyona daha meyilli olduğu ancak pH değeri pI'den yüksek olan emülsiyonlarda tam tersi bir eğilim gözlemlendiği ve yüksek iyonik kuvvete kıyasla düşük iyonik kuvvette daha az kremalaşma sergilediği raporlanmıştır (Sriprablom vd., 2019). Riquelme ve arkadaşlarının (2019) sentetik bir emülgatör olan T80 yerine doğal kökenli bir emülgatör olan QS kullanarak hazırladığı avokado yağı bazlı nanoemülsiyonların fiziksel stabilitesi üzerindeki etkisini araştırdıkları bir çalışmada quilla saponinin nanoemülsiyonlara dâhil edilmesi ile nanoemülsiyonların termal stabilitesinin arttığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmanın amacı, omega-3 yağ asitleri bakımından zengin balık yağının su bazlı ürünlerde kullanımını sağlamak amacıyla doğal (QS ve GA) ve sentetik (T80) sürfaktanlar kullanılarak emülsiyonlar hazırlanması, elde edilen bu emülsiyonların farklı koşullar altında fiziksel ve oksidatif stabilitelerinin araştırılmasıdır. Elde edilen bu nanoemülsiyonların uygun şartlar altında gıda sistemlerine dâhil edilebileceği ve böylece potansiyel omega-3 yağ asidi kaynağı olabilecek fonksiyonel ürünlerin geliştirilebileceği öngörülmektedir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Emülsiyon hazırlama

Su içinde yağ emülsiyonu hazırlamak için, %5 oranında omega-3 yağ asitlerince zengin (%19 EPA, %12 DHA) balık yağı (MEG-3 1812 TG 3a Food Oil) (DSM Nutritional Products Ltd., Basel,

Switzerland), %1 oranında sürfaktan içeren fosfat tamponu (pH 7.0) ile karıştırılmıştır. Sürfaktan olarak T80, QS ve GA kullanılmıştır. GA, fosfat tamponu (pH 7.0) içinde 24 sa. boyunca 4°C'de 400 rpm'de çoklu manyetik karıştırıcıda (Velp Scientifica, Italy) karıştırılarak hazırlanmıştır. Ön emülsiyonlar, balık yağının ayrı ayrı T80, QS ve GA çözeltilerine eklenerek yüksek hızlı homojenizatörde (IKA T18 digital, Staufen, Germany) 14000 rpm'de 4'er dak boyunca homojenize edilmesiyle hazırlanmıştır. Hazırlanan bu ön emülsiyonlar 10000 psi basınç altında mikroakışkanlaştırıcıdan (LM20 Microfluidizer, Microfluidics Co., MA, USA) 3 defa geçirilerek son emülsiyonlar elde edilmiştir. Tüm bu işlemler 4°C'de gerçekleştirilmiştir.

### Partikül boyutu ve partikül yükü ölçümleri

Üretilen su içinde yağ (Y/S) emülsiyonlarının partikül boyutu ve yükü, dinamik ışık saçınım spektrofotometresi (DLS) (Nano-ZS, model ZEN3600, Malvern Instruments, Worcestershire, UK) ile belirlenmiştir. Sonuçlar ortalama partikül çapı ve zeta ( $\zeta$ ) potansiyeli olarak kaydedilmiştir.

### Termal stabilite

Su içinde yağ (Y/S) emülsiyonlarının termal stabilitesinin araştırılması için Uluata vd. (2005) yönteminde minör değişiklikler yapılarak emülsiyonlar 40, 50, 60, 70 ve 80°C'lerde sıcak su banyosunda 10'ar dakika ısıl işleme tabi tutulmuş ardından oda koşullarında 24 sa. bekletilmiştir. Emülsiyonlar fosfat tamponu (pH 7.0) ile 500 kat seyreltilip, partikül boyutları ve zeta potansiyelleri dinamik ışık saçınım spektrofotometresi (Nano-ZS, model ZEN3600, Malvern Instruments, Worcestershire, UK) cihazı kullanılarak ölçülmüştür.

### İyonik şiddet stabilitesi

Farklı tuz konsantrasyonlarının emülsiyon stabilitesine etkisinin ölçülmesi amacıyla NaCl (100-500 mM) içeren emülsiyonlar hazırlanarak cam test tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra 25°C'de 24 sa. karanlıkta bekletilen su içinde yağ emülsiyonları fosfat tamponu (pH 7.0) ile 500 kat seyreltilip partikül boyutları ve zeta potansiyelleri dinamik ışık saçınım spektrofotometresi (Nano-ZS, model ZEN3600, Malvern Instruments,

Worcestershire, UK) cihazı kullanılarak ölçülmüştür (Qian vd., 2011; Uluata vd., 2015).

### pH stabilitesi

Y/S emülsiyonlarının stabilitesinin değişen pH koşullarında araştırılması için Uluata vd. (2005) yönteminde minör değişiklikler yapılarak emülsiyonların pH'ları 1 M HCl ve 1 M NaOH kullanılarak 4.0, 5.0, 6.0 ve 7.0'ye ayarlanmış ve oda sıcaklığında 24 sa. karanlıkta bekletilmiştir. Emülsiyonların her biri fosfat tamponu (pH 7.0) ile 500 kat seyreltilerek dinamik ışık saçınım spektrofotometresi cihazı (Nano-ZS, model ZEN3600, Malvern Instruments, Worcestershire, UK) kullanılarak ölçülmüştür.

### Bulanıklık (Türbidite) ölçümleri

Emülsiyonların bulanıklığı, 600 nm dalga boyunda UV-VIS spektrofotometre (UV-1800, SHIMADZU, Kyoto, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Absorbans okumalarını uygun bir aralığa düşürmek için, örnekler pH'sı 7.0 olan fosfat tamponu ile 500 kat seyreltilmiştir.

### Kremalaşma indeksi

Emülsiyonların kremalaşmaya karşı duyarlılığı test tüpünün üstündeki opak damlacık açısından zengin serum katmanı ile emülsiyonun toplam yüksekliği ölçülerek denklem (1) yardımı ile belirlenmiştir (McClements, 2005).

$$CI = 100 \times (H_S/H_T) \quad (1)$$

CI = Kremalaşma indeksi

H<sub>S</sub> = Serum fazının yüksekliği

H<sub>T</sub> = Emülsiyonun toplam yüksekliği

### İstatistiksel analizler

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak SPSS 16.0 paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler arasındaki farkların ( $P < 0.05$ ) belirlenmesi için "One way ANOVA (Analysis of variances - tek yönlü varyans analizi)" testi ve istatistiksel önem düzeyleri arasındaki farkların karşılaştırılması "DUNCAN" çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

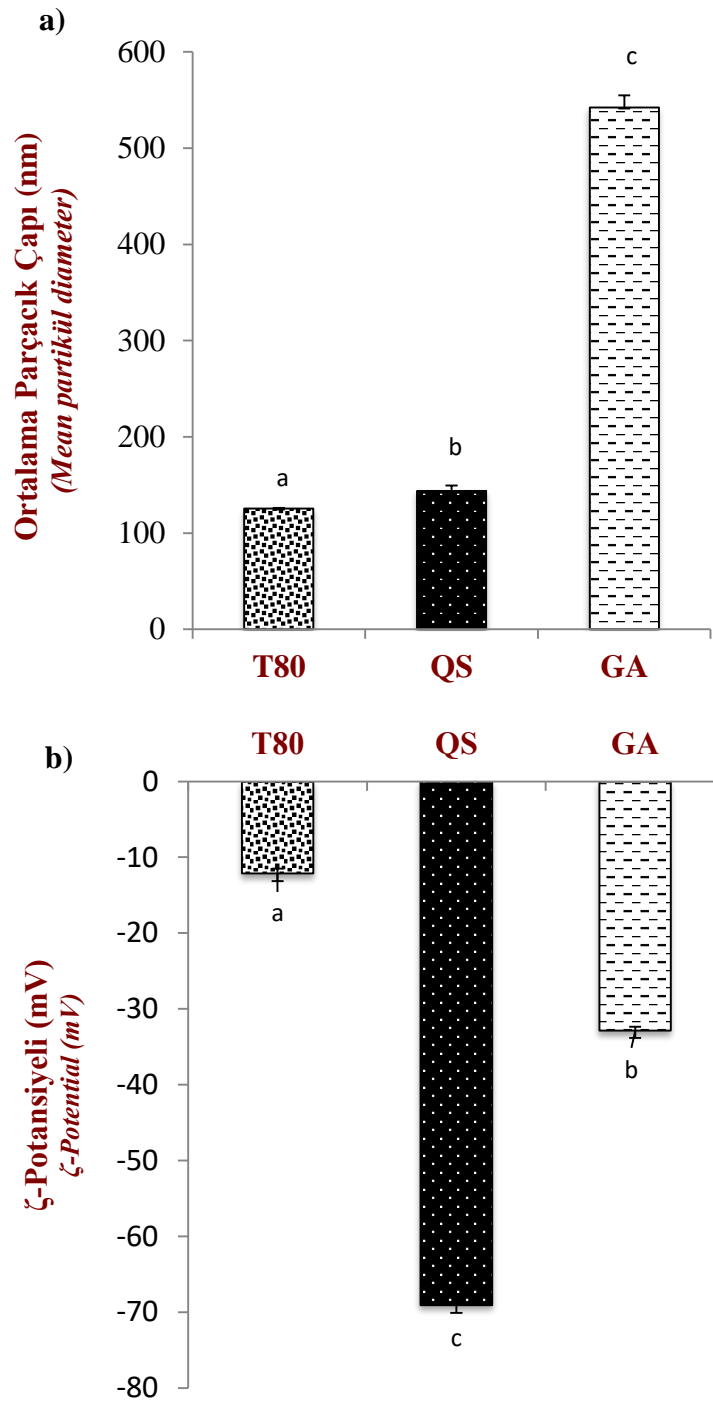
### ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

**Partikül boyutu, dağılımı ve Zeta potansiyeli** Mikroakışkanlaştırıcı ile homojenize edilerek üretilen tüm emülsiyonların ortalama partikül

boyutları T80, QS ve GA için sırasıyla  $125 \pm 0.40$  nm,  $147 \pm 0.45$  nm ve  $542 \pm 1.70$  nm olarak ölçülmüştür (Şekil 1a). Elde edilen sonuçlara göre en küçük partikül boyutu T80 ile stabilize edilen emülsiyondur. GA gibi polisakkarit yapıdaki emülsifiyerlerin daha kalın ara yüzey oluşturdukları rapor edilmiştir (McClements ve Gumus, 2016). Bu da GA ile emülsifiye edilen emülsiyonların daha büyük partikül boyutuna sahip olmasını açıklamaktadır. Partikül yükü ölçümü sonuçlarına göre tüm emülsiyonların damlacık yükünün negatif olduğu ve büyükten küçüğe sıralandığında ise T80 ( $-12.15 \pm 0.63$  mV) < GA ( $-32.85 \pm 0.28$  mV) < QS ( $-69.10 \pm 0.14$  mV) şeklinde sıralandığı gözlenmiştir (Şekil 1b). Elde edilen sonuçlara göre, en küçük partikül yükü T80 ile stabilize edilen emülsiyonlarda, en büyük partikül yükü ise QS ile stabilize edilen emülsiyonlarda görülmüştür. Non-iyonik sürfaktanlar tarafından stabilize edilen lipit damlacıklarının, sürfaktan ya da yağ içinde serbest yağ asidi mevcudiyetinden veya OH<sup>-</sup> adsorbsiyonu nedeniyle nötr pH'da negatif bir yüke sahip oldukları bildirmiştir (Chang ve McClements, 2016). T80'de non-iyonik bir yüzey aktif maddedir ve yağ damlacıkları tarafından çok iyi absorbe edilir (Izquierdo vd., 2002). pH 7'de QS ve GA içerdikleri karboksilik asit grupları nedeniyle negatif yüke sahiptir (Bai vd., 2017; Uluata vd., 2015; Yang vd., 2013)

Ortalama damlacık boyutu azaldıkça emülsiyonların daha az bulanık veya şeffaf hale gelmesi beklenir. Damlacık boyutu ışığın dalga boyu ile eşit ya da büyük olduğunda emülsiyonlar opak görünürler. Tam tersi damlacık boyutları ışığın dalga boyutundan küçük olduğunda ise emülsiyonun hafif bulanık ya da şeffaf olması beklenir. T80, QS ve GA ile stabilize edilmiş emülsiyonların opak görünüme sahip olduğu görülmüştür (Şekil 2).

T80, QS ve GA kullanılarak üretilmiş emülsiyonların partikül dağılımları Şekil 3'te gösterilmiştir. Partikül boyutu dağılımları incelendiğinde tüm emülsiyonların düzgün bir partikül boyutu dağılımına sahip olduğu görülmektedir. Bu da emülsiyonların iyi bir fiziksel stabiliteye sahip olduğunun bir göstergesidir.

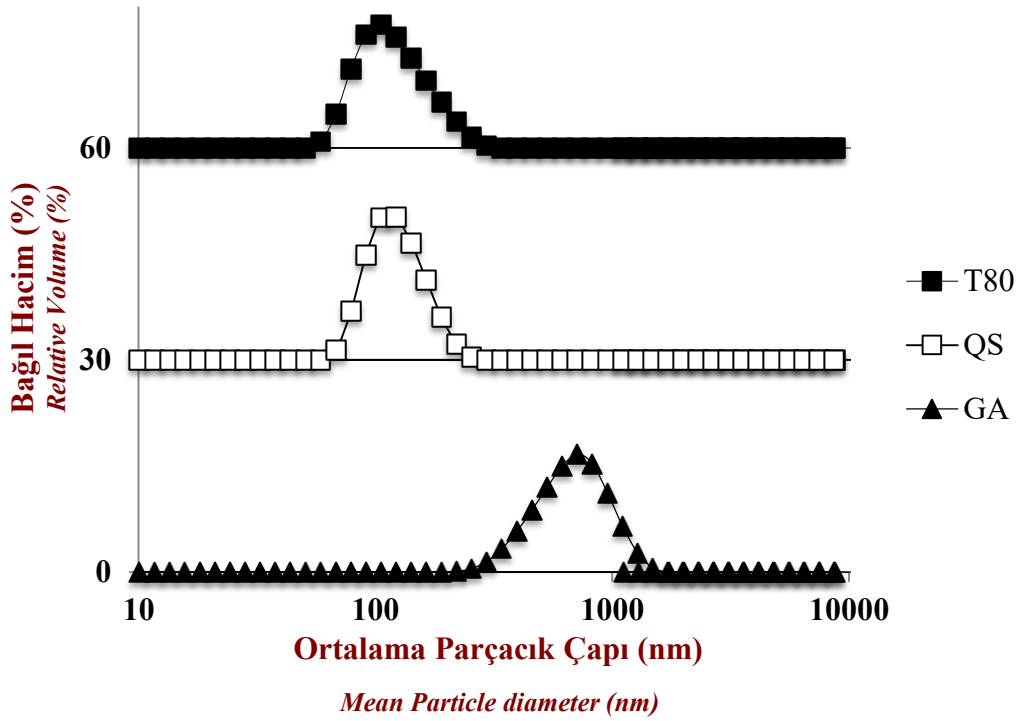


Şekil 1. Sürfaktan türlerinin ağırlıkça %1 Omega-3 yağ asidi içeren sudaki yağ emülsiyonlarının (a) ortalama partikül boyutu (b) zeta potansiyeline etkisi. Aynı sütundaki farklı harfler (a, b, c) ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıkları gösterir ( $P < 0.05$ ).

Figure 1. The effect of emulsifier types on the (a) mean particle diameter (b) zeta potential of oil in water emulsions containing 1 wt% Omega-3 fatty acid homogenized at 20 kpsi. The small letters (a, b, c) on the bars indicate the difference between the samples ( $p < 0.05$ ).



Şekil 2. T80, QS ve GA ile stabilize edilmiş ağırlıkça %5 omega-3 yağ asidi emülsiyonlarının görünümü.  
 Figure 2. Appearance of 1 wt% omega-3 fatty acid emulsions stabilized by T80, QS and GA.

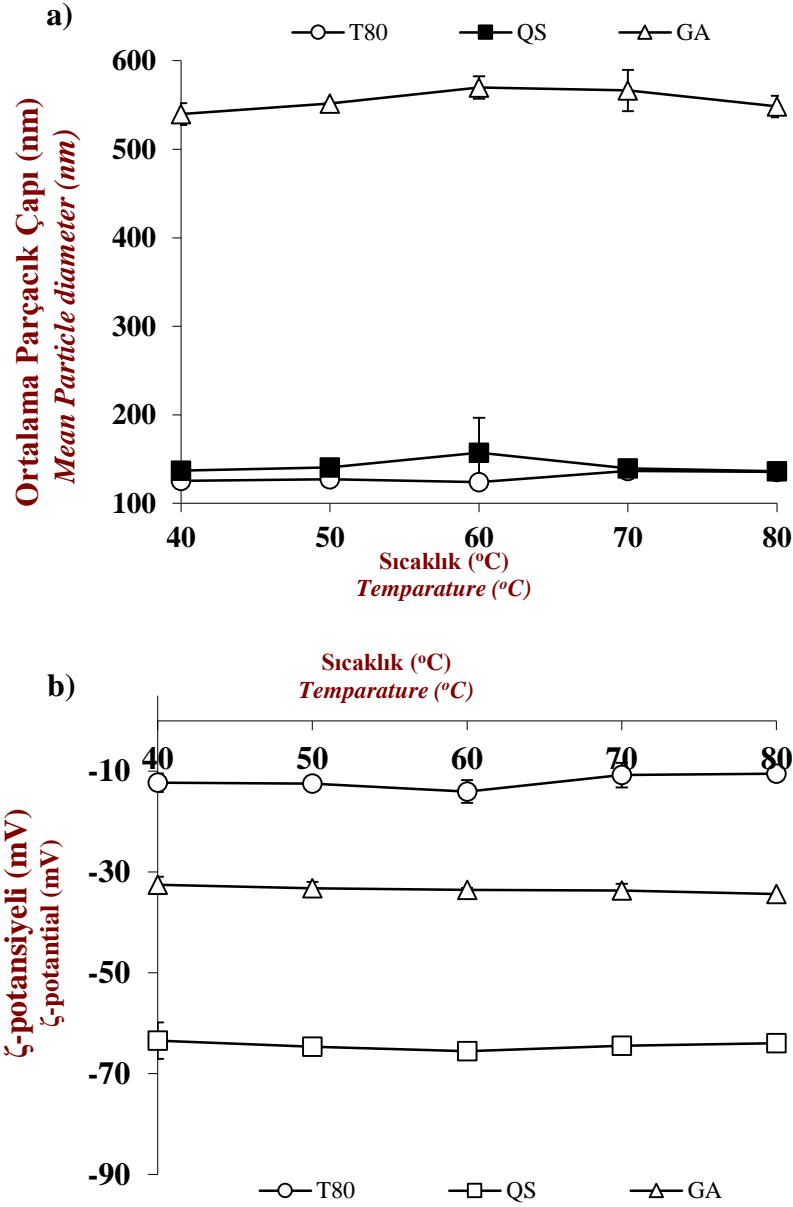


Şekil 3. T80, QS ve GA ile stabilize edilmiş ağırlıkça %1 omega-3 yağ asidi emülsiyonlarının partikül boyutu dağılımları.  
 Figure 3. Particle size distribution of 1 wt % omega-3 fatty acid emulsions stabilized by T80, QS and GA

**Termal stabilite**

Sıcaklık değişimi ile emülsiyonların ortalama damlacık büyüklüğünde meydana gelen değişim Şekil 4a'da gösterilmiştir. Bu çalışmada farklı sıcaklıklarda, partikül boyutlarında belirgin bir değişim olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca partikül yükleri incelendiğinde emülsiyonların elektriksel yüklerinde de istatistiksel olarak önemli bir

değişiklik olmadığı görülmüştür (Şekil 4b). Bu da hazırlanan tüm emülsiyonların iyi bir termal stabiliteye sahip olduğunu göstermektedir. Daha önce de aynı surfaktanlar kullanılarak yapılan çalışmalarda tüm emülsiyonlarda partiküller arasında güçlü bir elektrostatik ve sterik itmenin olduğu belirtilmiştir (Ozturk vd., 2014; Uluata vd., 2015).



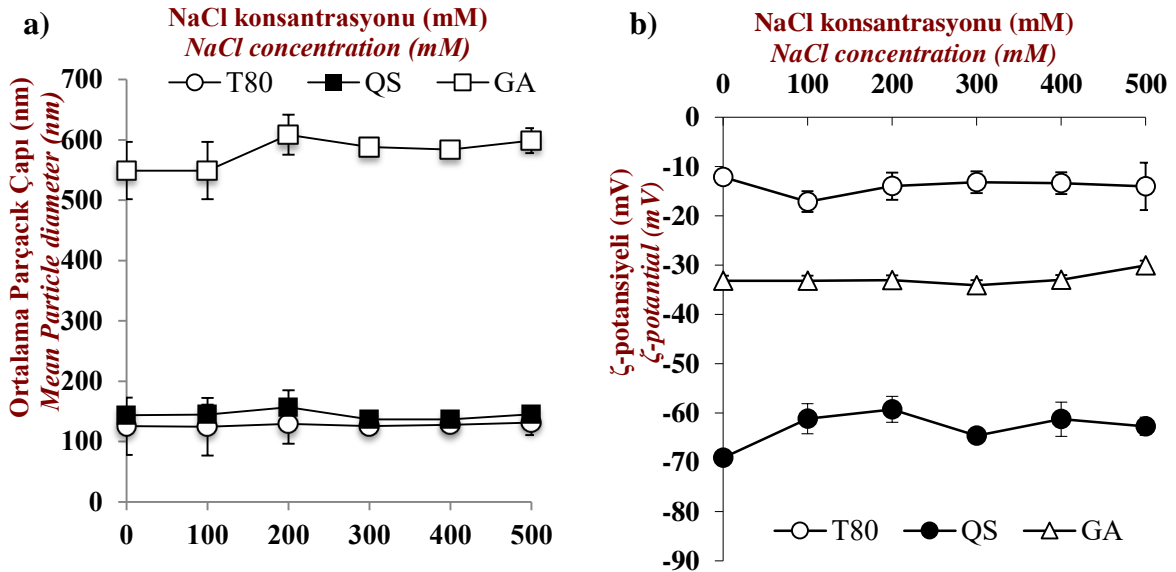
Şekil 4. Sıcaklığın (a) ortalama parçacık çapı (b) zeta potansiyeli üzerindeki etkisi.

Figure 4. Effect of temperature (a) on mean particle diameter (b) zeta potential.

**İyonik şiddetin fiziksel stabilite üzerine etkisi**  
Emülsiyon sistemlerinde iki damlacık arasındaki elektrostatik etkileşimlerin büyüklüğü arttıkça damlacıkların yüzeylerinde karşı iyon birikmesine neden olur. Bu durumda damlacıkların bir araya gelme eğilimi göstermelerine yol açmaktadır. Elektrostatik etkileşimler, emülsiyon partiküllerini çevreleyen pozitif yükteki iyonların konsantrasyonu arttıkça daha da belirgin hale gelmektedir (McClements, 2005). Emülsiyon sistemlerine NaCl ilave edildikçe sulu fazdaki pozitif iyonlar ( $\text{Na}^+$ ), elektrostatik çekim nedeniyle protein yüzeyinde negatif yüklü gruplar ( $\text{COO}^-$ ) etrafında birikir ve böylece net yüklerini daha da azaltır (Charoen vd., 2011; McClements, 2005).

Bu çalışmada başlangıçta da düşük partikül yüklerine sahip olan emülsiyonlara NaCl ilavesi ile

elektrostatik etkileşiminin artması sonucunda emülsiyonların partikül boyutları ve yüklerinde değişimler gözlenmiştir (Şekil 5a ve 5b). T80 ve QS ile kaplı lipit partikülleri içeren emülsiyonların, NaCl ilavesinden sonra partikül büyümesine karşı GA kaplı lipit partiküllerine göre nispeten daha kararlı olduğu bulunmuştur. GA ile stabilize edilmiş emülsiyonlar 100 mM'yi aştığında partikül boyutlarında hafif derecede bir artış olduğu ancak daha yüksek NaCl konsantrasyonlarında nispeten kararlı olduğu gözlenmiştir. Her üç emülsiyonda artan NaCl konsantrasyonu ile partikül yüklerinde ufak çaplı değişimler olmuştur. Farklı tuz konsantrasyonlarında emülsiyon stabilitesinin değişmemesi bu emülsiyonların farklı gıda sistemlerinde, özellikle içecek sistemlerinde kullanılabilirliklerini göstermektedir.



Şekil 5. İyonik derişimin (a) ortalama parçacık çapı (b) zeta potansiyeli üzerindeki etkisi.  
Figure 5. Effect of ionic concentration (a) on mean particle diameter (b) on zeta potential.

### pH stabilitesi

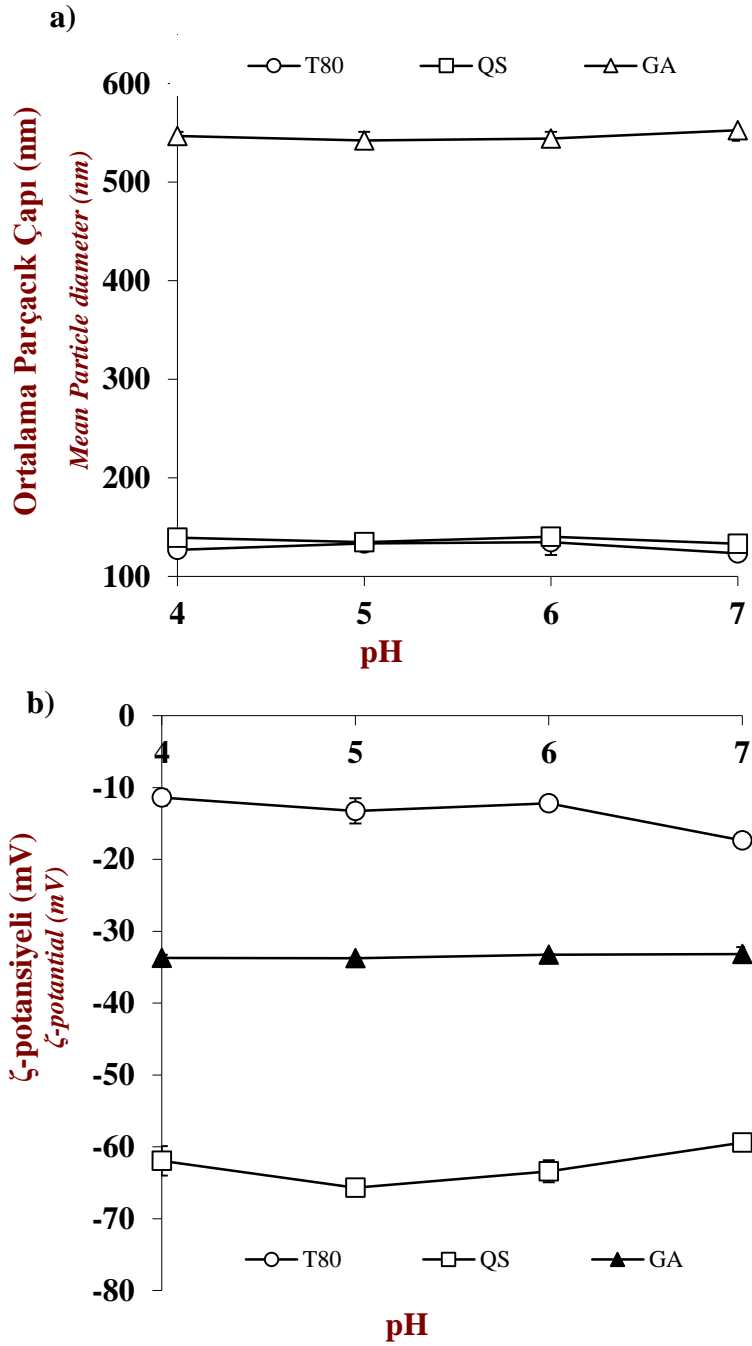
Emülsiyon örneklerinin partikül büyüklüğü ve zeta potansiyeli değerlerinde pH'ya bağlı değişim sırasıyla Şekil 6a ve 6b'de gösterilmiştir. T80, QS ve GA içeren emülsiyonların partikül boyutlarında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik göstermemiştir ( $P > 0.05$ ). Bu durum damlacık birleşmesinin meydana gelmediğini göstermektedir. T80 ile hazırlanmış emülsiyonun

zeta potansiyeli pH arttıkça azalma eğilimi göstermiştir ( $P < 0.05$ ) (Şekil 6b). QS ile hazırlanmış emülsiyonda ise pH azaldıkça önce bir azalma ve daha sonra bir artış gözlenmiştir. pH değerindeki azalma, damlacıkların yüzeyine daha yakın yerlerde daha yüksek pozitif iyon konsantrasyonuna ( $\text{H}^+$ ) yol açmıştır bu durum da partikül yüklerinde artışa neden olmuştur. Wu vd. (2016)'nin başka bir anyonik sürfaktan olan lesitin



ile yapmış olduğu bir çalışmada da bu duruma benzer sonuçlar görülmüştür. GA ile hazırlanmış emülsiyonun partikül yükünde ise herhangi bir değişim olmamıştır. GA polisakkarit yapısındadır ve lipit damlacıklarının etrafında kalın bir

hidrofilik kaplama olarak görev yapmaktadır. Bu sayede de güçlü bir sterik itme gücüne sahiptir ve pH değişimlerinden çok daha az etkilenme eğilimindedir (McClements ve Gumus, 2016).



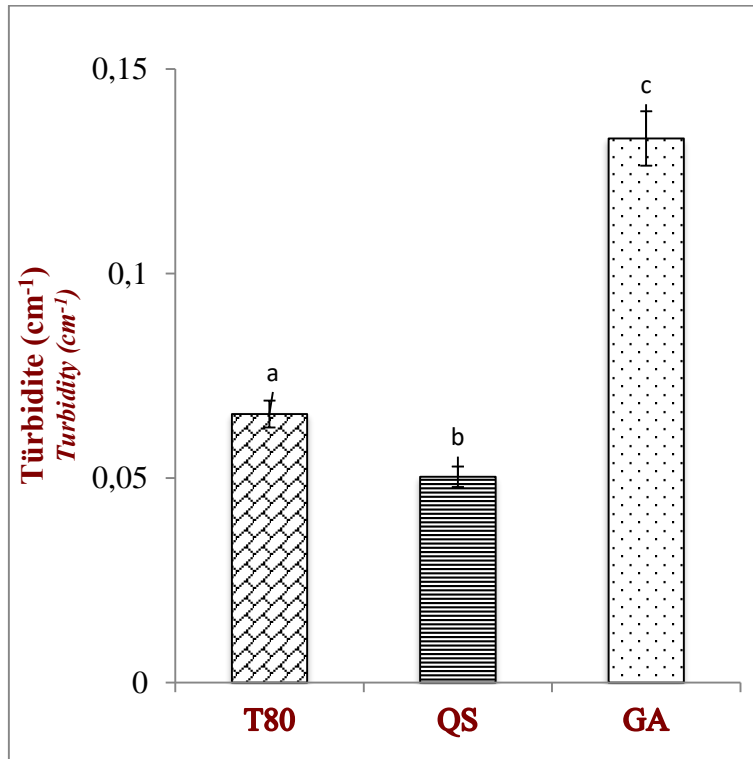
Şekil 6. pH'nin (a) ortalama parçacık çapı (b) zeta potansiyeli üzerindeki etkisi.

Figure 6. Effect of pH (a) on mean particle diameter (b) on zeta potential.

**Bulanıklık (Türbidite)**

Emülsiyonların türbidite sonuçları Şekil 7'de verilmiştir. Emülsiyonlar aynı konsantrasyonlarda sürfaktan içermesine rağmen T80 ve QS içeren emülsiyonlar, GA içerenlere göre daha küçük partikül boyutuna sahip olduğundan daha az bulanıklığa sahiptir. Işık dalgalarının emülsiyondaki damlacıklar tarafından saçılması emülsiyonun bulanıklığı, opaklığı ve açıklığı gibi karakteristik özelliklerini belirlediğinden

emülsiyonun arzu edilebilirliğini etkiler. Emülsiyonların bulanıklığı, mevcut damlacıkların konsantrasyonu ve boyutuna bağlıdır (McClements, 2005). Daha küçük partikül boyutuna sahip T80 ile stabilize edilen emülsiyonda bulanıklık QS ile stabilize edilen emülsiyona göre daha yüksektir. Bu durum partikül dağılımı grafiklerinden görüldüğü gibi emülsiyonların polidispers yapıda olmaları ile açıklanmaktadır.



Şekil 7. T80, QS ve GA ile stabilize edilmiş ağırlıkça %1 omega-3 yağ asidi emülsiyonlarının bulanıklığı.

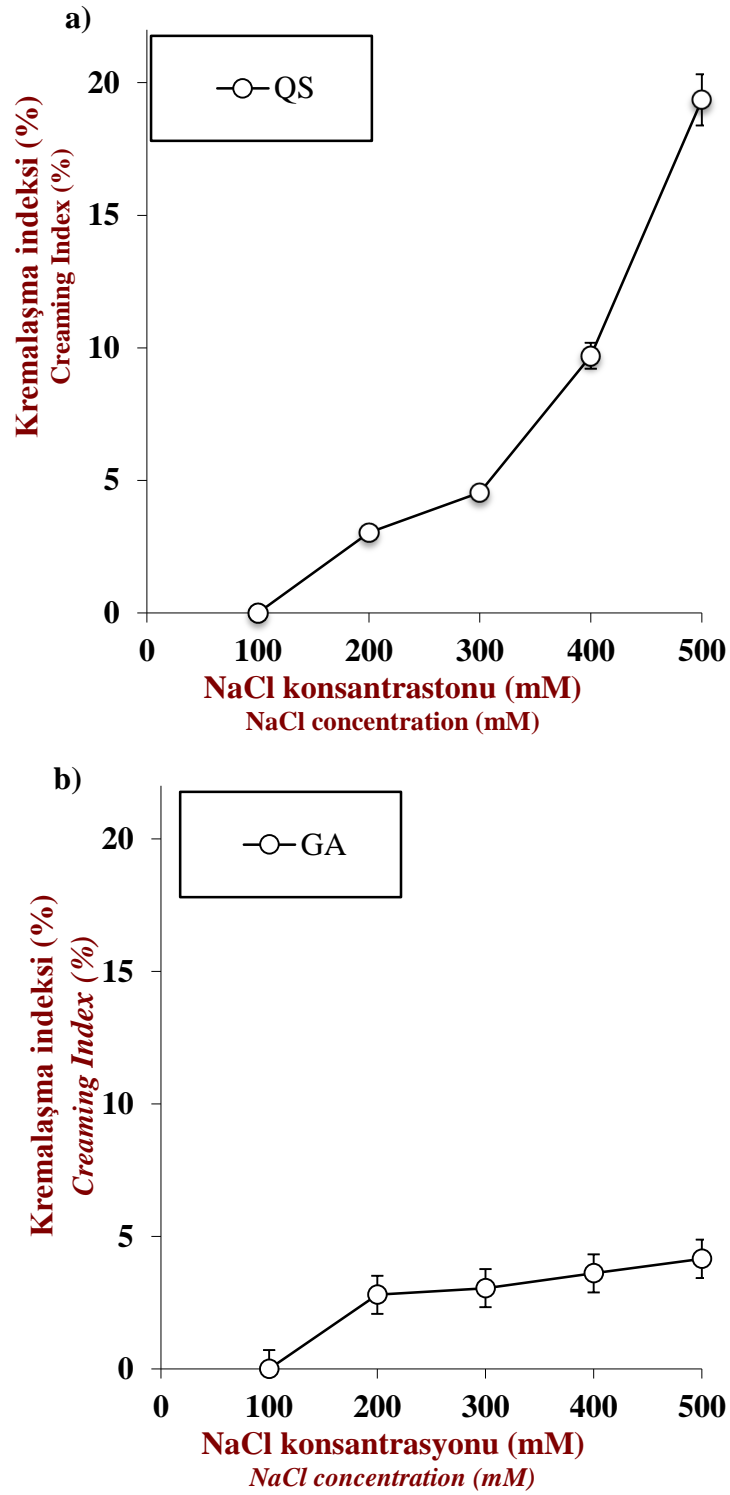
Aynı sütundaki farklı harfler (a, b, c) ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıkları gösterir ( $P < 0.05$ ).

Figure 7. (a) Turbidity of 1 wt % omega-3 fatty acid emulsions stabilized by T80, QS and GA. Small letters (a, b, c) on bars represent the difference between samples ( $P < 0.05$ ).

**Kremalaşma indeksi**

QS ve GA ile hazırlanmış emülsiyonlarda iyonik şiddet değiştirildikçe partikül boyutunda istatistiksel olarak önemli bir artış meydana gelmemesine rağmen yüzeyde kremalaşma gözlenmiştir ( $P > 0.05$ ). Bu kremalaşma partikül yüklerindeki dalgalanma ile ilişkilendirilmiştir. İyonik şiddet stabilitesi bölümünde de bahsedildiği gibi NaCl konsantrasyonu arttıkça emülsiyon damlacıkları etrafındaki pozitif yük

artması ve partiküllerin birbirine yaklaşması beklenmektedir (Charoen vd., 2011; McClements, 2005). Bu nedenle QS ve GA ile hazırlanmış emülsiyonlarda NaCl konsantrasyonları arttıkça üst katmanda krem tabakasının oluşmasının nedeninin yük dengesindeki değişimden kaynaklandığı tahmin edilmektedir (Şekil 8a ve 8b). T80 ile hazırlanmış emülsiyonlarda kremalaşma gözlenmemiştir.



Şekil 8. QS ve GA ile stabilize edilmiş ağırlıkça %1 omega-3 yağ asidi emülsiyonlarının kremleşme indeksi.

Figure 8. Creaming index of 1 wt % omega-3 fatty acid emulsions stabilized by QS and GA.

**SONUÇ**

Bu çalışmada elde edilen emülsiyonlar nanoemülsiyon boyutundadır ve en küçük partikül boyutuna sahip emülsiyonlar T80 ile stabilize edilen emülsiyonlardır. Nanoemülsiyonların partikül dağılımlarının düzenli olması, iyi bir fiziksel stabiliteye sahip olduklarını göstermektedir. Başlangıçta farklı sürfaktanlar (T80, QS, GA) kullanılarak stabilize edilen nanoemülsiyonlar küçük ve anyonik lipid partiküllerine sahip olsa da farklı koşulların değiştirilmesinin nanoemülsiyonların stabilitesi üzerindeki etkileri incelendiğinde QS ile stabilize edilmiş nanoemülsiyonlarda pH ve sıcaklık değişimlerinin etkisi görülmezken, NaCl konsantrasyonu arttırıldıkça emülsiyon stabilitesinde azalma olmuştur. Yine iyonik şiddet değişimine bağlı olarak QS ve GA ile stabilize edilmiş nanoemülsiyonlarda partikül yükünde hafif bir dalgalanma olmasına bağlı olarak 200 mM NaCl konsantrasyonundan itibaren kremalaşma görülmüştür. Farklı pH, sıcaklık ve tuz konsantrasyonlarında diğer nanoemülsiyonlara göre en çok GA ile stabilize edilmiş emülsiyonların etkilendiği tespit edilmiştir ancak emülsiyon stabilitesinde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik olmamıştır ( $P > 0.05$ ). En küçük partikül boyutuna sahip olan T80 ile stabilize edilmiş emülsiyonların ise farklı koşullardan etkilenmediği görülmüştür. Sonuç olarak, Omega-3 yağ asidince zengin olan balık yağı ile zenginleştirilmiş fiziksel olarak stabil nanoemülsiyonlar hem sentetik (T80) hem de doğal (QS ve GA) sürfaktanlar kullanılarak üretilebilir. Bu çalışma Omega-3 yağ asidince zengin olan balık yağı ile zenginleştirilmiş gıda ürünlerin hazırlanmasına katkı sağlayacaktır.

**ÇIKAR ÇATIŞMASI**

Yazarların, bu çalışmada başka kişi ya da kurum ve kuruluşlar ile bir çıkar çatışması olmadığını bildirmektedir.

**YAZARLARIN KATKISI**

Zeynep Merve ABACI, laboratuvar çalışmalarını, literatür taramasını ve makale hazırlığını, Sibel ULUATA araştırma planı, literatür taraması, metodların seçimi, finansman desteği ve makale hazırlığına katkı sağlamıştır.

**TEŞEKKÜR**

Bu çalışma FLY-2019-1348 nolu proje ile İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

**KAYNAKLAR**

Acosta, E. (2009). Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. In *Current Opinion in Colloid and Interface Science* (Vol. 14, Issue 1, pp. 3–15). <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2008.01.002>

Anton, N., Vandamme, T. F. (2009). The universality of low-energy nano-emulsification. *International Journal of Pharmaceutics*, 377(1–2), 142–147. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.05.014>

Bai, L., Liu, F., Xu, X., Huan, S., Gu, J., McClements, D. J. (2017). Impact of polysaccharide molecular characteristics on viscosity enhancement and depletion flocculation. *Journal of Food Engineering*, 207, 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.021>

Chang, Y., McClements, D. J. (2016). Influence of emulsifier type on the in vitro digestion of fish oil-in-water emulsions in the presence of an anionic marine polysaccharide (fucoidan): Caseinate, whey protein, lecithin, or Tween 80. *Food Hydrocolloids*, 61, 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.047>

Charoen, R., Jangchud, A., Jangchud, K., Harnsilawat, T., Naivikul, O., McClements, D. J. (2011). Influence of Biopolymer Emulsifier Type on Formation and Stability of Rice Bran Oil-in-Water Emulsions: Whey Protein, Gum Arabic, and Modified Starch. *Journal of Food Science*, 76(1). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01959.x>

David Julian McClements. (2005). Food Emulsions Principles, Practices, and Techniques. In *Journal of Chemical Information and Modeling*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Deckelbaum, R. A. R. and R. J. (2007). Sources of the very-long-chain unsaturated omega-3 fatty acids: Eicosapentaenoic acid and

- docosahexaenoic acid. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 10(2), 123–128.
- Din, J. N., Harding, S. A., Valerio, C. J., Sarma, J., Lyall, K., Riemersma, R. A., Newby, D. E., Flapan, A. D. (2008). Dietary intervention with oil rich fish reduces platelet-monocyte aggregation in man. *Atherosclerosis*, 197(1), 290–296. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2007.04.047>
- Haahr, A., Jacobsen, C. (2008). Emulsifier type, metal chelation and pH affect oxidative stability of n-3-enriched emulsions. *European Journal of Lipid Science and Technology*. (Vol. 110). 949–961. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800035>
- Helland, I. B., Smith, L., Saarem, K., Saugstad, O. D., Drevon, C. A. (2003). Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age. *Pediatrics*, 111(1). <https://doi.org/10.1542/peds.111.1.e39>
- Izquierdo, P., Esquena, J., Tadros, T. F., Dederen, C., Garcia, M. J., Azemar, N., Solans, C. (2002). Formation and stability of nano-emulsions prepared using the phase inversion temperature method. *Langmuir*, 18(1), 26–30. <https://doi.org/10.1021/la010808c>
- Maki, K. C., Yurko-Mauro, K., Dicklin, M. R., Schild, A. L., Geohas, J. G. (2014). A new, microalgal DHA- and EPA-containing oil lowers triacylglycerols in adults with mild-to-moderate hypertriglyceridemia. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 91(4), 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2014.07.012>
- McClements, D. J., Decker, E. A., Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science*, 72(8), 109–124. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00507.x>
- McClements, David Julian. (2013). Edible lipid nanoparticles: Digestion, absorption, and potential toxicity. *Progress in Lipid Research*, 52(4), 409–423. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.04.008>
- McClements, David Julian, Gumus, C. E. (2016). Natural emulsifiers — Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance. *Advances in Colloid and Interface Science*, 234, 3–26. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.03.002>
- McClements, David Julian, Rao, J. (2011). Food-Grade nanoemulsions: Formulation, fabrication, properties, performance, Biological fate, and Potential Toxicity. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 51, Issue 4, pp. 285–330). <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.559558>
- Ozturk, B., Argin, S., Ozilgen, M., McClements, D. J. (2014). Formation and stabilization of nanoemulsion-based vitamin e delivery systems using natural surfactants: Quillaja saponin and lecithin. *Journal of Food Engineering*, 142, 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.06.015>
- Patch, C. S., Brown, I. L. (2008). Long-chain omega-3 PUFAs and their role in healthy ageing. *Chemistry in Australia*, 75(10), 14–16.
- Pottel, L., Lycke, M., Boterberg, T., Foubert, I., Pottel, H., Duprez, F., Goethals, L., Debryne, P. R. (2014). Omega-3 fatty acids: Physiology, biological sources and potential applications in supportive cancer care. *Phytochemistry Reviews*, 13(1), 223–244. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9309-1>
- Qian, C., Decker, E. A., Xiao, H., McClements, D. J. (2011). Comparison of biopolymer emulsifier performance in formation and stabilization of orange oil-in-water emulsions. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(1), 47–55. <https://doi.org/10.1007/s11746-010-1658-y>
- Riquelme, N., Zúñiga, R. N., Arancibia, C. (2019). Physical stability of nanoemulsions with emulsifier mixtures: Replacement of tween 80 with quillaja saponin. *Lwt*, 111(May), 760–766. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.067>
- Ruxton, C. H. S., Reed, S. C., Simpson, M. J. A., Millington, K. J. (2004). The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: A review of the evidence. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 17(5), 449–459. <https://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2004.00552.x>

- Shahidi, F., Ambigaipalan, P. (2018). Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Health Benefits. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9, 345–381. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-111317-095850>
- Skall Nielsen, N., Debnath, D., Jacobsen, C. (2007). Oxidative stability of fish oil enriched drinking yoghurt. *International Dairy Journal*, 17(12), 1478–1485. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.04.011>
- Sriprabhom, J., Luangpituksa, P., Wongkongkatep, J., Pongtharangkul, T., Suphantharika, M. (2019). Influence of pH and ionic strength on the physical and rheological properties and stability of whey protein stabilized o/w emulsions containing xanthan gum. *Journal of Food Engineering*, 242(August 2018), 141–152. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.08.031>
- Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., Solans, C. (2004). Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108–109, 303–318. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.023>
- Tur, J. A., Bibiloni, M. M., Sureda, A., Pons, A. (2012). Dietary sources of omega 3 fatty acids: Public health risks and benefits. *British Journal of Nutrition*, 107(SUPPL. 2). <https://doi.org/10.1017/S0007114512001456>
- Uluata, S., McClements, D. J., Decker, E. A. (2015). Physical Stability, Autoxidation, and Photosensitized Oxidation of  $\omega$ -3 Oils in Nanoemulsions Prepared with Natural and Synthetic Surfactants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(42), 9333–9340. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03572>
- Vellido-Perez, J. A., Ochando-Pulido, J. M., Brito-de la Fuente, E., Martinez-Ferez, A. (2021). Novel emulsions-based technological approaches for the protection of omega-3 polyunsaturated fatty acids against oxidation processes – A comprehensive review. *Food Structure*, 27(December 2020), 100175. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2021.100175>
- Walker, R., Decker, E. A., McClements, D. J. (2015). Development of food-grade nanoemulsions and emulsions for delivery of omega-3 fatty acids: Opportunities and obstacles in the food industry. In *Food and Function* (Vol. 6, Issue 1, pp. 42–55). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c4fo00723a>
- Walker, R. M., Gumus, C. E., Decker, E. A., McClements, D. J. (2017). Improvements in the formation and stability of fish oil-in-water nanoemulsions using carrier oils: MCT, thyme oil, lemon oil. *Journal of Food Engineering*, 211, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.05.004>
- Waraho, T., McClements, D. J., Decker, E. A. (2011). Mechanisms of lipid oxidation in food dispersions. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 22, Issue 1, pp. 3–13). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.11.003>
- Yang, Y., Leser, M. E., Sher, A. A., McClements, D. J. (2013). Food Hydrocolloids Formation and stability of emulsions using a natural small molecule surfactant: *Food Hydrocolloids*, 30(2), 589–596. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.08.008>