



**ELEKTROSPİN YÖNTEMİ İLE NAR ÇEKİRDEĞİ YAĞININ DEKSTRAN-
JELATİN LİFLERİNE NANOENKAPSÜLASYONU**

Müjgan Gizem ABUŞOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ŞUBAT 2021

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Müjgan Gizem ABUŞOĞLU

03/02/2021

ELEKTROSPİN YÖNTEMİ İLE NAR ÇEKİRDEĞİ YAĞININ DEKSTRAN-JELATİN LİFLERİNE NANOENKAPSÜLASYONU

(Yüksek Lisans Tezi)

Müjgan Gizem ABUŞOĞLU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Şubat 2021

ÖZET

Bu çalışmanın amacı elektrospın yöntemiyle, dekstran ve jelatin polimerlerinden elde edilen nanoliflere nar çekirdeği yağının (NÇY) uygun ve verimli bir şekilde enkapsüle edilmesidir. Öncelikle elektrospın yönteminde uygulanacak parametrelerin belirlenmesi için farklı çözelti derişimlerinde lif üretimi gerçekleştirilmiştir. NÇY enkapsülasyonu için en uygun çözelti derişimi kütlece %30 polimer ve polimer içerisinde %50 dekstran %50 jelatin olarak belirlenmiştir. Homojen, pürüzsüz ve küçük çaplı nanoliflerin üretimi için elektrospın parametreleri, 21 kV voltaj, 15 µl/dk akış hızı ve 12,5 cm iğne ucu – toplayıcı mesafesi olarak ayarlanmıştır. Sonrasında, %10, %20 ve %30 derişimlerde NÇY ile enkapsülasyon işlemi yapılmıştır. Üretilen nanoliflerin morfolojik karakterizasyonun belirlenmesi için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Nanoliflerin çaplarının artan NÇY derişimi ile artmış olduğu tespit edilmiştir. FTIR analiz sonuçları, NÇY'nin dekstran-jelatin nanoliflerine uygun bir şekilde enkapsüle edildiği göstermiştir. Enkapsüle edilmemiş olan NÇY'nin DPPH radikali giderme aktivitesi değeri enkapsüle edilmiş NÇY ile kıyaslanmış ve enkapsülasyon işleminin 1,1 difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) yöntemiyle hesaplanan DPPH radikali giderme aktivitesi değerini arttırmış olduğu görülmüştür. NÇY derişiminin artmasıyla DPPH radikali giderme aktivitesi değeri artmış, ancak lif çapının artmasının etkinliğin azalmasına sebep olduğu görülmüştür. Elektrospın yöntemiyle yapılan enkapsülasyon işlemi yaklaşık %92 verimle gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma ile gıda endüstrisinde yaygın bir kullanım alanına sahip olan yapay antioksidan malzemelerin yerini alabilecek doğal, biyoyoumlu ve antioksidan etkinliği yüksek bir ürün elde edilmiştir.

Bilim Kodu : 91215

Anahtar Kelimeler : Nanoenkapsülasyon, Nar Çekirdeği Yağı, Elektrospın, Dekstran, Jelatin

Sayfa Adedi : 63

Danışman : Prof. Dr. Ufuk GÜNDÜZ

NANOENCAPSULATION OF POMEGRANATE SEED OIL INTO DEXTRAN- GELATIN FIBERS BY ELECTROSPINNING METHOD

(M. Sc. Thesis)

Müjgan Gizem ABUŞOĞLU

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

February 2021

ABSTRACT

The aim of this study to encapsulate pomegranate seed oil (PSO) into nanofibers that are obtained from dextran and gelatin polymers by electrospinning method appropriately and efficiently. First of all, fiber production in different solution concentrations was carried out in order to determine the parameters to be applied in the electrospinning method. The optimal solution concentration for PSO encapsulations was specified as 30% polymer by mass and 50% dextran and 50% gelatin in the polymer. For the production of homogeneous, smooth and small diameter nanofibers, the electrospin parameters were set as 21 kV voltage, 15 µl/min flow rate and 12,5 cm needle tip to collector distance. Afterward, the encapsulation process was studied with 10%, 20% and 30% concentrations with pomegranate seed oil. scanning electron microscope (SEM) device was used to understand the morphological characterization of the produced nanofibers. It was found that the diameters of the nanofibers diameter increased with increased PSO concentration. FTIR analysis results showed that PSO was encapsulated into dextran-gelatin nanofibers suitably. The DPPH radical scavenging activity value of unencapsulated PSO was compared with the encapsulated the DPPH radical scavenging activity value calculated by the 1,1 diphenyl-2-picrihydrazyl (DPPH) method. DPPH radical scavenging activity value increased with the increase in PSO concentration, but it was observed that increasing fibre diameter caused a decrease in efficiency. The encapsulation process with electrospinning method was carried out with approximately 92% efficiency. With this study, natural, biocompatible and high antioxidant product has been obtained that can replace artificial antioxidant materials that have a widespread use in the food industry.

Science Code : 91215

Key Wored : Nanoencapsulation, Pomegranate Seed Oil, Electrospinning, Dextran, Gelatin

Page Number : 63

Supervisor : Prof. Dr. Ufuk GÜNDÜZ

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca birikimiyle bana yol gösteren danışmanım Prof. Dr. Ufuk GÜNDÜZ'e,

Tez savunmasında yer alan hocalarım, Prof. Dr. Deniz ÜNER'e ve Prof. Dr. Ayla ALTINTEN'e

Gazi Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği bölüm başkanlığına,

Farklı bilimsel projeler ile çeşitli moleküler ağırlıktaki biyopolimerlerin satın alınmasını destekleyen ve sağlayan Gazi Üniversitesi BAP Müdürlüğüne,

Deneyisel çalışmalarımda bana destek olan Arş. Gör. Alpay ŞAHİN hocama,

Deneyisel çalışmalarım için bana kapılarını açan Gaziantep Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği bölüm başkanlığına,

Lisans ve yüksek lisans öğrenimlerime her zaman destek olan, bilgi ve birikimini esirgemeyen, çok değerli hocalarım Doç. Dr. K. Bülent BELİBAĞLI'ya ve Dr. Tuğba İNANÇ HORUZ'a,

Ayrıca çalışmalarım boyunca yanımda olan dostlarım Arş. Gör. Pınar ORUÇ'a, Tuğçe GÜR'e ve Yeşim DEMİRÖLMEZ'e

Manevi destekleriyle her zaman yanımda olan aileme ve en kıymetli destekçilerim eşim ve oğlum Osman Batur'a,

Sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	3
3. KAVRAMSAL TEMELLER.....	9
3.1. Nanoteknolojinin Keşfi ve Gelişimi.....	9
3.2. Gıda ve Nanoteknoloji	10
3.3. Nanolifler	11
3.3.1. Nanolif üretim yöntemleri.....	12
3.4. Elektros핀 Yöntemi	15
3.4.1. Çözelti özellikleri	17
3.4.2. Proses değişkenleri.....	17
3.4.3. Çevre koşulları	18
3.4.4. Taylor konisi	19
3.4.5. Elektros핀 çözeltilerinin hazırlanması.....	20
3.5. Biyoaktif Bileşenler	20
3.6. Nar Çekirdeği Yağı	21
3.7. Elektros핀 Yönteminde Kullanılan Biyopolimerler	23

	Sayfa
3.7.1. Dekstran	23
3.7.2. Jelatin	23
3.7.3. Poli	24
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	27
4.1. Materyal	27
4.2. Metot	27
4.2.1. Dekstran-jelatin-asetik asit çözeltilerinden nanolif üretimi	27
4.2.2. Nar çekirdeği yağının nanoenkapsülasyonu	30
5. BULGULAR VE TARTIŞMA	35
5.1. Dekstran-Jelatin Nanolifleri	35
5.1.1. Polimer nanoliflerinin morfolojik karakterizasyonu	35
5.1.2. Polimer çözeltisi karakterizasyonu	37
5.2. Nar Çekirdeği Yağı Nanolifleri.....	43
5.2.1. Nar çekirdeği yağı nanolif karakterizasyonu	43
5.2.2. Nar çekirdeği yağı çözelti karakterizasyonu	48
6. SONUÇLAR.....	51
KAYNAKLAR	53
EKLER.....	59
EK-1. Enkapsüle Edilen Nar Çekirdeği Yağı Absorbans Değerleri ve %DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Hesaplaması.....	60
EK-2. Nar Çekirdeği Yağı Absorbans Değerleri ve %DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Hesaplaması	61
EK-3. Enkapsülasyon Verimi Hesaplaması İle İlgili Yapılan Tartım Sonuçları	62
ÖZGEÇMİŞ	63

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Nanoteknolojinin gıda sektöründeki potansiyel uygulamaları	11
Çizelge 3.2. Nanolif üretim yöntemlerinin karşılaştırılması.....	12
Çizelge 3.3. Nar çekirdeğinin kimyasal bileşimi	21
Çizelge 3.4. Nar çekirdeği yağının yağ asidi kompozisyonu.....	22
Çizelge 3.5. Nar çekirdeğinin bazı mineral madde içerikleri	22
Çizelge 3.6. Nar çekirdeği yağı kırılma indisi ve verimi	23
Çizelge 4.1. Polimer çözeltisi içerisindeki malzeme miktarları ve oranları	28
Çizelge 4.2. Polimer çözeltisi içerisindeki nar çekirdeği yağı derişimi ve miktarları	31
Çizelge 5.1. Dekstran-jelatin-asetik asit nanoliflerinin ortalama çap (nm) değerleri	37
Çizelge 5.2. Dekstran-jelatin-asetik asit çözeltisi viskozite ölçüm sonuçları	38
Çizelge 5.3. Dekstran-jelatin-asetik asit çözeltisi yüzey gerilimi ölçüm sonuçları	40
Çizelge 5.4. Dekstran-jelatin-asetik asit çözeltisi elektriksel iletkenlik ölçüm sonuçları	41
Çizelge 5.5. P30D50 ve nar çekirdeği yağı karışımlarından üretilen nanoliflerin ortalama çap (nm) değerleri	44
Çizelge 5.6. Dekstran-jelatin nanoliflerine enkapsüle edilen nar çekirdeği yağının %DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri	46
Çizelge 5.7. Nar çekirdeği yağının %DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri.....	46
Çizelge 5.8. Nar çekirdeği yağı ve polimer çözeltisi karışımı viskozite ölçüm sonuçları	49
Çizelge 5.9. Nar çekirdeği yağı ve polimer çözeltisi karışımı yüzey gerilimi ölçüm sonuçları	49
Çizelge 5.10. Nar çekirdeği yağı ve polimer çözeltisi karışımı elektriksel iletkenlik ölçüm sonuçları	50

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Elektrospin yöntemiyle üretilen nanoliflerin biyolojik ve teknolojik nesnelerle karşılaştırılması	12
Şekil 3.2. Çekme yöntemi ile nanolif üretimi	13
Şekil 3.3. Peptit moleküllerinin kendiliğinden tutunma yöntemiyle peptit iskeleyi oluşturması	14
Şekil 3.4. Eriyik üfleme yönteminin ayrıntılı şeması	15
Şekil 3.5. Elektrospin cihazının basit şematik gösterimi	16
Şekil 3.6. Taylor konisinin oluşumuna etki eden kuvvetlerin şematik gösterimi	20
Şekil 3.7. Poli (etilen glikol) yapısı	24
Şekil 4.1. Dekstran-jelatin polimerlerinden nanolif üretimi şeması	30
Şekil 4.2. Nar çekirdeği yağının nanoenkapsülasyon işlemi akış şeması	32
Şekil 4.3. DPPH radikali ve antioksidan madde ile indirgenme reaksiyonu	33
Şekil 5.1. % Dekstran derişimi (a/a) - % toplam polimer derişimi - yüzey gerilimi değerleri 3 boyutlu grafikte gösterimi	40
Şekil 5.2. %Dekstran derişimi (a/a) - % toplam polimer derişimi - elektriksel iletkenlik değerleri 3 boyutlu grafikte gösterimi	42
Şekil 5.3. P30N10, P30N20, P30N30, P30D50 nanoliflerinin ve nar çekirdeği yağının FTIR-ATR sonuçları	44
Şekil 5.4. Enkapsüle nar çekirdeği yağı derişimi-%DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçları	46
Şekil 5.5. Enkapsüle edilmemiş nar çekirdeği yağı derişimi-%DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçları	47
Şekil 5.6. Enkapsüle nar çekirdeği yağı ile enkapsüle edilmemiş nar çekirdeği yağının %DPPH radikali giderme aktivitesi karşılaştırma sonuçları	47

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Jelatin ile yapılmış nanolifin SEM görüntüsü	11
Resim 3.2. CVD yöntemi ile üretilen karbon nanoliflerin SEM görüntüleri.....	14
Resim 3.3. İğne ucunda Taylor konisinin oluşumunu gösteren bir resim	19
Resim 5.1. Dekstran-jelatin polimer nanoliflerinin SEM görüntüleri	36
Resim 5.2. P30D50 ve nar çekirdeği yapı karışımlarından üretilen nanoliflerin SEM görüntüleri.....	43



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

°C	Derece Santigrat
µl/min	Mikrolitre/Dakika
cm	Santimetre
g	Gram
kg	Kilogram
kV	Kilovolt
m	Metre
m/s	Metre/Saniye
mg	Miligram
mPa	Milipaskal
nm	Nanometre
s ⁻¹	1/Saniye

Kısaltmalar

Açıklamalar

A ₀	Kontrol Reaksiyonun Absorbans Değeri
A ₁	Numunenin Absorbans Değeri
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ATR	Zayıflatılmış Toplam Yansıma
BSA	Bovin Serum Albümin
CVD	Kimyasal Buhar Biriktirme Yöntemi
DMF	Dimetilformamid
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	1,1 Difenil-2-Pikrihidrazil
EV	Enkapsülasyon Verimi
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometresi

Kısaltmalar	Açıklamalar
NÇY	Nar Çekirdeği Yağı
Rpm	Bir Dakikadaki Devir Sayısı
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
UV	Ultraviyole



1. GİRİŞ

Hızla gelişen teknoloji dünyasına “nanoteknoloji” terimi en önemli araştırma ve geliştirme alanlarından biri olarak giriş yapmıştır. Keşfi çok uzun yıllar öncesine dayanan nanoteknoloji, elektronik, malzeme, tekstil, ilaç ve gıda sanayi gibi birçok alanda uygulanabilir hale gelmiştir. Gıda endüstrisinde ise; gıda işleme, yeni fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesi, biyoaktif maddelerin taşınması, patojenlerin tespiti ve yeni paketleme ürünlerinin geliştirilerek raf ömrünün uzatılması gibi uygulamalarda nanoteknoloji yerini almıştır.

Nanolif, çapı 100 nm’nin altında olan liftir. Bu boyutu anlayabilmek için farklı uzunluk ölçülerini fiziksel olarak karşılaştırsak; bir saç telinin çapı yaklaşık 100 000 nm’dir, bir virüsün ortalama boyutu 25 nm’den 300 nm’ye kadar değişebilir veya bir DNA molekülü yaklaşık 2,5 nm’dir [1].

Nanolifler birçok alanda sağladığı avantajlar sebebiyle son zamanlarda araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Bu avantajların başında yüksek yüzey alanı hacim oranına sahip olması, yüzeyel işlevlerde esneklik ve üstün mekanik performans sağlaması gelir [2].

Başlıca nanolif üretim yöntemleri; kimyasal buhar biriktirme, çekme, şablon sentezleme, faz ayırma, eriyik üfleme, kendiliğinden tutunma ve elektrospin yöntemidir. Elektrospin yöntemi nanolif üretim yöntemleri arasında en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntem basit, kolay uygulanabilir, ucuz ve birçok polimer çeşidi için uygun bir yöntem olduğu için avantajlıdır. Ancak, düşük verimli olması elektrospin yönteminin endüstriyel üretimini sınırlar. Buna ek olarak, elektrospin yöntemin ile biyoaktif bileşenlerin başarılı bir şekilde enkapsüle edilebilmesi için yöntemin genel parametrelerini belirlemek, deneysel birçok parametrenin belirlenmesi, uygun çözücü ve polimer seçimi yapılması gerekir. Bu da elektrospin yönteminin zorluklarından biridir.

Bu çalışma temel olarak 2 aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada, dekstran ve jelatin polimerlerinden elektrospin yöntemiyle nanolif üretimi gerçekleştirilmiş ve nar çekirdeği yağının enkapsülasyonu için en uygun çözelti özellikleri belirlenmiştir. İkinci aşamada ise,

nar çekirdeği yağının, biyopolimerlerden elde edilen nanoliflere elektrospin yöntemiyle enkapsülasyonu yapılmıştır.

Bu çalışma ile, gıda endüstrisine doğal, antioksidan etkinliği yüksek ve oksidatif reaksiyonları engelleyerek oksidatif bozulmayı geciktiren bir malzeme katabilmek amaçlanmıştır.



2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Horuz ve Belibağlı (2017), yaptıkları bir çalışmada elektrospin yöntemiyle jelatin nanolifi üretmişlerdir. Bunun için toksik olmayan bir çözücü olan asetik asidi kullanmışlar ve Taguchi'nin ortogonal yöntemiyle deney tasarımı yapmışlardır. Yapılan çalışma ile elektrospin yönteminde temel olan dört faktörün, voltaj, akış hızı, iğne ucu ve toplayıcı arasındaki mesafe ve çözelti derişiminin elde edilen nanoliflerin karakteristik özellikleri üzerindeki etkilerini belirlemişlerdir. Sonuç olarak liflerin morfolojik karakteristikleri üzerinde en baskın etkiye hazırlanan çözeltide kullanılan asetik asit çözücünün derişimi olduğunu tespit etmişlerdir. Küçük çaplı, pürüzsüz ve boncuksuz lif üretimini düşük asetik asit derişimine sahip çözeltiden elde edilmiştir. Sistemde uygulanan voltajın ise üretilen liflerin morfolojik karakteristikleri üzerinde en etkili ikinci faktör olduğunu belirlemişlerdir. Ancak bütün olarak değerlendirme yapıldığında, bu dört faktörün bir arada elektrospin yöntemi üzerinde etkili olduğu bu sebeple optimum koşulların sağlanması gerektiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlara göre ağırlıkça %24 jelatin derişimine sahip olan çözeltiye boncuksuz, istenilen yapıda lifler elde edilmiş ancak artan derişim ile birlikte üretilen liflerin çapları da artırmıştır. Düşük derişimli çözeltiye boncuksuz liflerde ise boncuklu yapı görülmüş, düzgün bir lif üretimi sağlanamamıştır. Bu çalışmada, jelatinden elektrospin yöntemiyle nanolif üretimi için optimum koşullar; 18 kV voltaj, 15 µl/min akış hızı ve %24 asetik asit derişimli çözelti olarak belirlenmiştir [3].

Haghi ve Akbari (2007); elektrospin yöntemiyle nanolif üretimine etki eden başlıca parametreleri incelemişlerdir. Temelde üçe ayırdıkları parametreler; çözelti özellikleri, çevresel koşullar ve ortam koşullarıdır. Her bir parametre üretilen nanolifin morfolojik karakterizasyonunu etkilemektedir. Çözelti değişkenleri, viskozite, derişim, uçuculuk, iletkenlik ve yüzey gerilimi, proses değişkenleri ise, elektriksel alan kuvveti, akış hızı ve elektrotlar arasındaki mesafedir. Yapılan çalışmada düşük molekül ağırlığındaki polimerlerden nanolif üretememişler ancak yüksek molekül ağırlıklı polimerlerden üretimi gerçekleştirmişlerdir. Ancak bu üretim esnasında boncuklu yapılar gözlemlenmiştir. Yüzey gerilimi sebebiyle üretim esnasında kırılmanın buna sebep olduğunu söylemişlerdir. Çözelti iletkenliğinin ise nanolif çapını etkileyen önemli bir diğer parametre olduğunu gösteren bu çalışmada, sisteme verilen voltajın büyüklüğünün ayarlanması ile bu durumun uygunluğunun sağlanabileceğini söylemişlerdir [4].

Horuz ve Belibağı (2019), domates kabuğundan ekstrakt ettikleri likopeni elektrospin yöntemiyle zein polimerine enkapsüle ederek, ısı kararlılığını, depolama kararlılığını ve antioksidan aktivitesini geliştirmeyi hedeflemişlerdir. Ayrıca, ürettikleri nanoliflerin morfolojik yapılarını, enkapsülasyon verimini ve bileşenlerin bu durumdaki uyumluluğunu da araştırmışlardır. Oda sıcaklığında yapılan elektrospin işleminin optimum parametrelerini, 12 kV voltaj, 15 µl/min akış hızı ve 10 cm toplayıcı-iğne ucu arasındaki mesafe olarak belirlemişlerdir. SEM cihazı ile inceledikleri nanoliflerin morfolojik karakterizasyonunda zein nanolifleri ve zeine domates kabuğu ekstraktı enkapsüle ettikleri nanolifler arasında bir fark olmadığını ancak enkapsüle edilen domates kabuğu ekstraktı oranının artmasıyla üretilen liflerin çaplarının da artış gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca domates kabuğu ekstraktı eklenen çözeltilerin viskozite değerleri artarken, yüzey gerilimi ve elektriksel iletkenlik değerlerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Yüzey gerilimindeki değişimin liflerin morfolojisine ciddi bir etkisi olmadığını ancak artan viskozite ile lif çaplarının arttığını söylemişlerdir. Enkapsüle edilmiş olan ekstraktın termal stabilitesinin artmış olduğu, aynı koşullarda enkapsülasyon işlemi yapılmamış olan ekstrakt ile kıyaslandığında ise antioksidan aktivitesinin ve likopen tutuş kapasitesinin daha fazla olduğunu ispatlamışlardır. Bu çalışmada, domates kabuğundan ekstrakt edilmiş olan likopenin zein polimerlerine elektrospin yöntemiyle enkapsüle edilmesi, ekstraktın antioksidan aktivitesini yaklaşık 11 kat arttırmış, depolama ve termal stabilitesini fark edilir ölçüde arttırmış ve bu sayede gıda sektörüne fonksiyonel bir gıda katkısı sağlanması amaçlanmıştır [5].

Li ve Wang (2013), farklı birçok çalışmayı derleyerek elektrospin prosesinin etkileyen parametreleri inceleyen bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada, çözelti parametreleri ve proses parametreleri ayrı başlıklar altında incelenmiştir;

Derişim çözelti parametreleri başlığı altında incelenen parametrelerden biridir. Düşük derişimde nanolif üretimi gözlemlenmediği, biraz yüksek derişimde boncuklu lifler üretildiği, uygun derişimde sulu çözeltisi düzgün, boncuksuz ve küçük çaplı lifler elde edildiği ancak çok yüksek derişimde lif çapları büyüdüğü için nano boyutta lif üretimin sağlanamadığını göstermişlerdir.

Üretilen nanolifin morfolojik özelliklerini etkileyen en önemli faktörlerden biri de viskoziteyi etkilediği için molekül ağırlığıdır. Yapılan çalışmada elde edilen verilere göre; düşük molekül ağırlığa sahip polimerlerden pürüzlü ve boncuk yapılı lifler üretilmiş, uygun

molekül ağırlığında istenilen yapıya sahip lifler üretilmiş, yüksek molekül ağırlığında ise lif çapı oldukça büyük lifler üretilmiştir.

Aynı çalışmaları viskozite ve yüzey gerilimi için yaptıklarında da istenilen morfolojik karaktere sahip nanolif üretimi için en uygun koşulların belirlenmesi gerektiğini tespit etmişlerdir.

Proses koşulları olarak; voltaj, akış hızı, toplayıcı ve iğne ucu arasındaki mesafenin nanolifin morfolojik karakterini etkileyen önemli parametreler arasında olduğunu söyleyen çalışmada hiçbir koşulun bir diğerinden bağımsız olmadığı, sürecin bir bütün olarak değerlendirilmesi gerektiği ve optimum koşulların belirlenmesi durumunda istenilen nanoliflerin elektrospın yöntemiyle üretilebileceği sonucuna varmışlardır [6].

Wang ve arkadaşları (2017), elektrospın yöntemiyle yaklaşık %100 verimle kurkumin biyoaktif bileşeninin, zeinden ürettikleri nanoliflere enkapsüle ederek, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı serberst bırakma kinetiği ve antibakteriyel aktivite özelliklerini hesaplamışlardır. Kütlece %20, %30 ve %40 kurkumin derişimleri ile hazırladıkları etanol-kurkumin çözeltilerini zein nanoliflerine enkapsüle ettikten sonra yaptıkları morfolojik karakterizasyon analizleri sonucunda, kurkumin olmayan çözelti için yaklaşık 295 mPa.s olan viskozite değerinin, kurkumin derişiminin artması ile artış gösterdiğini (%40 kurkumin derişiminde yaklaşık 487 mPa.s), üretilen nanoliflerin ortalama çaplarının da kurkumin derişimi ile arttığını tespit etmişlerdir. Kurkumin içermeyen çözeltiden üretilen liflerin ortalama yarıçap değeri yaklaşık 615 nm iken bu değer kurkumin derişiminin %40 olduğu noktada 785 nm'ye kadar yükselmiştir. Ancak çözeltilerin elektriksel iletkenliklerinde ciddi bir değişiklik olmadığını söylemişlerdir. Çözeltilerdeki elektriksel iletkenlik değerleri kurkumin içermeyen çözelti ve %20, %30, %40 kurkumin derişimine sahip çözeltiler için sırasıyla; 125,1 ms/cm, 108,4 ms/cm, 101,6 ms/cm ve 99,7 ms/cm'dir. Bunun sebebini ise yüksek viskoziteye sahip çözeltinin aynı elektriksel alanda damlacıkların daha zor bölünmesi olarak açıklamışlardır. FTIR analizi sonucunda kurkumin için karakteristik pikin 3505 cm^{-1} de olduğunu tespit etmişlerdir. Yine bu analiz ile kurkumin ile hazırladıkları çözeltiyi zein nanoliflerine uygun bir şekilde enkapsüle ettiklerini de göstermişlerdir. Sonuç olarak, salınım modellerine bakıldığında birinci mertebe modelin diğer difüzyon modellerine göre daha uyumlu olduğunu, kurkumin derişimi fazla olan çözeltilerin antibakteriyel özelliklerinin daha fazla olduğunu, hücre zarı modellerindeki

farklılık sebebiyle geliştirilen antibakteriyel özelliğin *Staphylococcus aureus* üzerinde daha etkili olduğunu ve zein-kurkumin çözeltilerinden elde edilmiş olan nanoliflerin patojenlere karşı geliştirilen gıda ambalajları için umut verici bir çalışma olduğunu söylemişlerdir [7]. Fernandez ve arkadaşları (2009), gıda endüstrisinde önemli bir yere sahip olan fonksiyonel bileşenlerin, ışığa ve oksijene duyarlılığı sebebiyle sektörde kullanımının kısıtlanmasının önüne geçmek için elektrospin yöntemiyle bu bileşenlerden biri olan β karoteni enkapsüle etmişler ve ürettikleri nanoliflerin morfolojik karakterizasyonunu, enkapsülasyon verimini ve ışığa duyarlılığını incelemişlerdir. Yaptıkları çalışma ile, β karoteni elektrospin yöntemi ile zein polimerlerine uygun bir şekilde enkapsüle etmiş, düzgün, boncuksuz yapıda lifler elde etmişlerdir. Ancak morfolojik ve topolojik incelemelerin sonucunda sınırlı çözünürlük sebebiyle β karotenin çözelti içinde homojen bir dağılım göstermediğini Raman spektrofotometresiyle yaptıkları analizle göstermişlerdir. Çalışmanın bir diğer amacı olan enkapsülasyon işlemi ile oksijene duyarlılığı azaltma konusunda ise UV-görünür ışığı altında yaptıkları analizle destekleyerek bu konuda başarılı olduklarını ispatlamışlardır. Bu çalışma ile, elektrospin yönteminin biyoaktif gıda ambalajları ve gıda işleme endüstrisi için iyi bir potansiyele sahip, katma değerli, mikro ve nano boyutta lifler üretebilen yeni bir teknoloji olduğu fikrini desteklemişlerdir [8].

Wu ve arkadaşları (2012), timol ve karvakrol uçucu yağlarını zein polimerinden elde ettikleri nanoliflere enkapsüle ederek antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerini koruyup, çözünürlüklerini arttırmayı hedeflemişlerdir. Ayrıca aynı kimyasal yapıya sahip olan bu iki uçucu yağ ile hazırlanan çözeltilerin farklı pH ve çözelti özelliklerinin elektrospin prosesine etkisini incelemişlerdir. Enkapsülasyon verimi, morfolojik özellik, antioksidan aktivitesi, FTIR analizi, çözünürlük testi ve antimikrobiyal analiz sonuçlarını kıyaslamalı olarak değerlendirmişlerdir. Zein nanoliflerine enkapsüle edilmiş olan timol ve karvakrol uçucu yağlarının enkapsülasyon verimleri arasında ciddi bir fark olmadığını ve enkapsülasyon işlemini gerçekleştirebildiklerini tespit etmişlerdir. Ayrıca her iki yağ için nanoliflere enkapsüle edildiğinde suda çözünürlüğünün artmış olduğunu gözlemlemişlerdir. Üretilen nanoliflerin SEM analizlerine bakıldığında, farklı pH değerlerindeki çözeltilerden farklı morfolojik yapıda nanolifler elde edilmiştir. Asidik çözeltilerden üretilen liflerin yarıçapları daha düşük iken nötr ve bazik çözeltilerden 100-500nm arasında yarıçap değerlerine sahip nanolifler üretmişlerdir. FTIR analizi sonuçları da her iki uçucu yağın zein nanoliflerine herhangi bir kimyasal işlem uygulanmadan enkapsüle edilmiş olduğunu, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin korunmuş olduğunu doğrular nitelikte olmuştur. Çözünürlük

özelliklerine bakıldığında ise, çözeltinin pH değerinin oldukça etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Artan pH değeri enkapsüle edilmil timin uçucu yağı için çözünürlüğü arttırmış ancak karvakrol için durum aynı olmamış, maksimum çözünürlüğe 6,5 pH değerinde ulaşmıştır. Karşılaştırılan antioksidan aktivitesi değerlerine bakıldığında ise enkapsülasyon işleminin antioksidan aktivitesi değeri üzerinde fazla bir etkisinin olmadığı ancak timol uçucu yağının karvakrolünkinden daha yüksek olduğu bunun muhtemel sebebinin ise timol fenolik grubunun sterik etkisi olduğunu söylemişlerdir. Sonuç olarak bu çalışma ile suda çözünürlük özelliğine sahip olmayan bu sebeple gıda endüstrisinde koruyucu olarak kullanımı kısıtlı durumda olan iki önemli uçucu yağın zein nanolifleri enkapsülasyonu ile suda çözünürlüğünü ve gıdada koruyucu olarak kullanılabilirliğini sağlamışlardır [9].

Jiang ve arkadaşları (2004), suda ve organik çözücülerde çözünebilir olan dekstran biyopolimeri ile farklı çözücüler kullanarak hazırladıkları çözeltiden üretilen nanoliflerin morfolojik karakteri üzerinde sistem parametrelerinin etkilerini incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre; uygun sistem parametrelerinde, su ile hazırlanan çözeltiden, su+dimetil sülfoksit (DMSO) ile hazırlanan çözeltiden ve dimetil sülfoksit (DMSO)+ dimetil formamid (DMF) ile hazırlanan dekstran (molekül ağırlığı: 64.000-76.000 g/mol) çözeltilerinden düzgün, boncuksuz ve homojen nanolif üretimini gerçekleştirebilmişlerdir. Su ile hazırladıkları çözelti için, dekstran derişiminin artmasıyla çözelti viskozitesinin de artmış olduğunu tespit etmişlerdir. Proses şartları sabit tutularak 4 farklı dekstran derişimlerinde üretilen nanoliflerin morfolojik karakterizasyonu SEM’de incelendiğinde 25kV voltajda, 20µl/min akış hızında ve 15cm toplayıcı iğne ucu arası mesafede en düzgün, homojen dağılımlı ve boncuksuz yapıda nanoliflerin 0,75g/ml dekstran derişiminde üretilbildiğini görmüşlerdir. Üretilen dekstran nanoliflerine doğrudan enkapsüle edebilmek için model protein kullanmışlardır. Bunun için Bovin Serum Albumin (BSA) ve Lizozom proteinlerini seçmişlerdir. Kütlece %10’a kadar BSA’yı elektrospin parametrelerine müdahale etmeden dekstran nanoliflerine enkapsüle etmeyi başarmışlardır. Üretilen lifler nanolif özelliği göstermiştir. Ayrıca BSA’nın üretilen lif çapları üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu gösteren veriler elde etmişlerdir. Kütlece %5 BSA derişimindeki çözeltiden üretilen nanoliflerin çaplarının 2,5 µm’den 500 nm’ye kadar ciddi bir şekilde düştüğünü göstermişlerdir. Bunun sebebini ise, ortama eklenmiş olan amfoterik proteinler sayesinde net yüklerin artması ve böylece sistemde çözeltiden nanolif üretimini destekleyen elektriksel kuvvetlerin oluşan jetlere daha yüksek kuvvetler uygulaması olduğunu söylemişlerdir. Bu çalışma ile dekstran ile hazırlanan su, su+DMSO ve DMSO+DMF çözeltilerinden düzgün,

boncuksuz ve homojen nanolifler üretilbildiğini ayrıca bu liflere %10'a kadar BSA veya lizozom proteinlerinin doğrudan katılabileceğini göstermişlerdir. Böylece, dekstranın geniş çözücü yelpazesine sahip olduğunu ve biyoaktif maddeleri enkapsüle etmek için güzel bir alternatif polimer olduğunu destekleyen bir çalışma yapmışlardır [10].



3. KAVRAMSAL TEMELLER

3.1. Nanoteknolojinin Keşfi ve Gelişimi

Nanoteknoloji; atom ve molekül boyutunda bulunan maddeleri kontrol edebilmeyi ve üzerinde küçük değişiklikler yapabilmeyi mümkün kılan bir bilim dalıdır. Nanoteknoloji terimi, ilk defa Tokyo Bilim Üniversitesi'nden Norio Taniguchi tarafından kullanılmıştır. Taniguchi'ye göre Nano-teknoloji, genel olarak malzemelerin atom ya da molekül boyutunda işlenmesi, ayrılması, birleştirilmesi ve bozulmasıdır [11]. Nano boyut olarak adlandırılan ölçek, bir metrenin milyarda biridir (10^{-9} m). Nanoteknoloji 21. yüzyılın en önemli ve en yenilikçi teknolojilerden biridir. Nanoteknoloji ile yeni ürünler geliştirilebilir veya yeni buluşlar yapılabilir, bir malzemeye ya da uygulamaya farklı fonksiyon ve özellikler katılabilir.

R. Feynman, "aşağıda daha çok yer var" adlı konuşmasında atomları ve molekülleri kontrol edebileceğinden ve bunu yapabilmek için de yeni cihazlara ihtiyaç duyulacağından bahsetmiştir. Ayrıca atomik boyuta inildikçe yer çekimi kuvvetinin öneminin azalacağından, Van der Waals gibi zayıf kuvvetlerin öneminin artacağından söz etmiştir [12]. Eric Drexler, herhangi bir maddenin içerisinde bulunan atomların, nanoteknoloji ile dizilerek nanorobotların yapabileceğini ispat etmeye çalışmıştır [13]. Nanoteknolojinin asıl gelişimini sağlayan buluş ise 1937 yılında Manfred von Ardenne tarafından keşfedilen taramalı elektron mikroskopudur (SEM) [14].

Nanoteknolojinin ilgi çekmesini sağlayan en önemli nedenlerden biri malzemelerin nano boyutta makro dünyadan farklı davranmalarıdır. 1986 yılında fullerenlerin ve karbon nanotüplerin gelişiminin hızla devam etmesiyle, 2000'li yıllardan sonra nanoteknoloji daha büyük öneme sahip olmuş ve Dünya'nın birçok ülkesinde nanoteknoloji ile ilgili çeşitli araştırmalar başlamıştır [1].

Nanoteknolojik ürünlerin kullanımı aslında çok daha eski dönemlere dayanmaktadır. En eski nanoteknolojik ürünün 1600 yaşında olan Lycurgus Kupası olarak bilinmektedir. Lycurgus Kupası'nın hikayesi şöyledir; bu kupa önden aydınlatıldığında yeşil, arkadan aydınlatıldığında kırmızı rengini alır. Bunun nedeni kupa içerisinde bulunan %1 oranındaki

altın ve gümüş malzemelerinin, 50-100 nm büyüklüğündeki partikülleri içermesidir [15]. Bu durum, kupa çok eski dönemlere ait olmasına rağmen ancak 1990 yılında keşfedilebilmiştir.

Nanoteknoloji yapılan çeşitli araştırmalar ve geliştirmelerle şu an askeri, sağlık, çevre, enerji, malzeme, elektronik ve gıda gibi pek çok alanda kullanılmaktadır.

Bu tezin amacı da nanoteknolojinin gıda endüstrisindeki uygulama alanlarından biri olan nanoenkapsülasyon uygulamasını yapmak ve sağlanacak katkıları göstermektir.

3.2. Gıda ve Nanoteknoloji

Günlük hayatta insanlar, sürekli olarak nanopartiküllere maruz kalmaktadır. Sindirim sistemindeki enzimler ile gıda maddeleri etkileşime girerek nano boyutta parçacıklar oluşturur ve bu parçacıklar hücrelere gönderilerek, hücre içerisindeki beslenme sağlanır [16].

Nanopartiküller doğada var olduğu gibi, geleneksel gıda elde etme işlemleriyle de üretilabilmektedir. Örneğin, normalde bir arada bulunamayan yağ ve su maddeleri, mayonezin içerisinde nano boyutta bir arada bulunabilmektedir [17]. Başka bir örnek ise, ABD'de bazı bira üreticileri, gaz sızıntısını ve havanın içeri girmesini engellemek için nanoteknolojik çalışmalar kullanmaktadır. Bira şişelerinin yapısına nanopartikül ekleyerek şişenin fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirip bu sorunu ortadan kaldırmışlardır [18].

Gıda endüstrisinde nanoteknolojinin yaygın olarak kullanımı daha başlangıç aşamasındadır. Gelecekte yiyeceklerin iyileştirilmesinde, besinlerde bulunan istenmeyen aromaların maskelenmesinde, vitaminlerin veya enzimlerin daha kolay emiliminin sağlanmasında nanoteknoloji kullanılabilir [17,18]. Bir besin maddesinin içerisindeki bir malzemenin 'nano' olması, madde içine eklenen kimyasallardan daha riskli olduğu anlamına gelmez [18]. Nanoteknolojinin sunduğu potansiyel faydalara rağmen, gıda endüstrisinde uygulanmasının güvenilirliği ve nanoparçacıkların gıdaya dahil edilmesi konusundaki araştırmalar devam etmektedir [19,20].

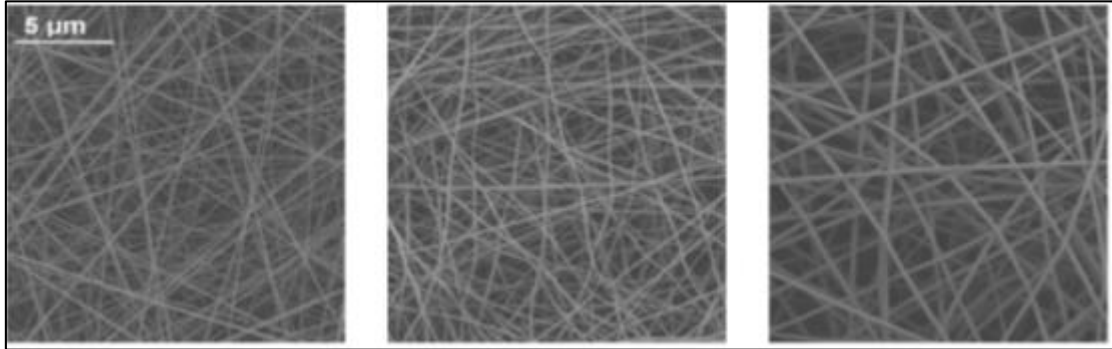
Çizelge 3.1'de, nanoteknolojinin gıda sektöründeki potansiyel uygulamalarına yer verilmiştir [17,18].

Çizelge 3.1. Nanoteknolojinin gıda sektöründeki potansiyel uygulamaları

Paketleme	• Daha dayanıklı besinler • Daha hafif besinler • Isıya, neme ve ortam koşullarına daha dirençli besinler
Hijyen ve Güvenilirlik	• Antibakteriyel kaplama pişirme kapları • Renk değiştiren kontaminasyon sensörü
Fonksiyonel Gıdalar	• Daha kolay emilim sağlayan besinler • Daha düşük yağ, şeker ve tuz içerikli besinler • Geliştirilmiş tat ve yapı
Gıda Takibi	• Besini tanımlamak ve takibini sağlamak için nanobarkod kullanımı

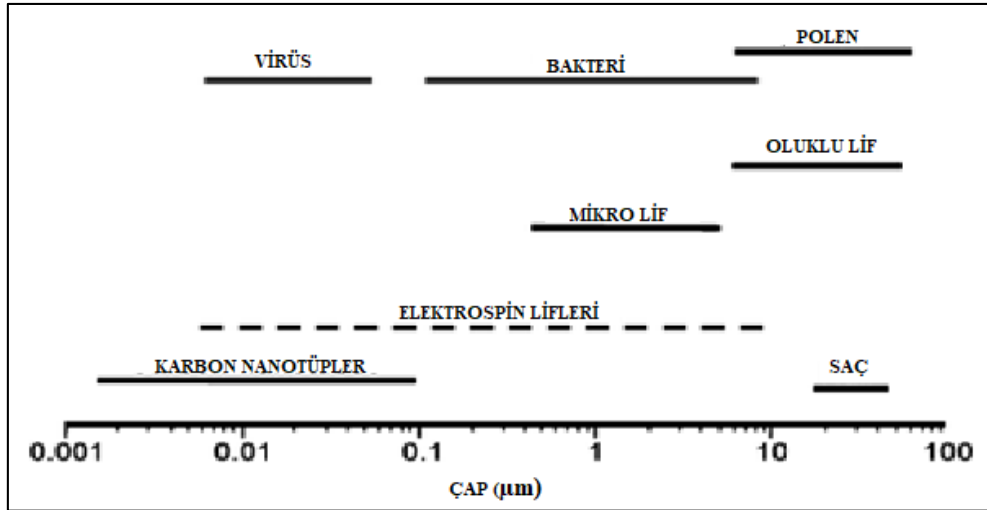
3.3. Nanolifler

Mikrondan daha küçük çapa sahip olan lifler olarak adlandırılan nanolifler farklı üretim yöntemleriyle üretilir ve sahip olduğu iyi mukavemet/birim ağırlık ve yüksek ağırlık/hacim özellikleri sayesinde oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir [21]. Nanolifler; kompozit uygulamaları, filtrasyon membran yapımı, savunma sanayi, biyomedikal malzemeler, çevre uygulamaları, gıda ve tarım uygulamaları ve doku mühendisliği gibi birçok alanda kullanılmaktadır [22]. Resim 3.1’de jelatin ile üretilmiş nanoliflerin SEM görüntüleri verilmiştir.



Resim 3.1. Jelatin ile yapılmış nanolifin SEM görüntüsü [3]

Bir yüzeyin nano boyutta yapılanması lotus etkisi (kendi kendini temizleme) gibi olağanüstü etkilere yol açabilir [23]. Nano boyutun biyolojik sistemler içinde önemli bir etkisi vardır. Proteinler, virüsler ve bakterilerin boyutları nano boyut aralığında yer alır. Şekil 3.1’ de nano boyutun geniş bir aralığı kapsadığı görülmektedir [24].



Şekil 3.1. Elektroselin yöntemiyle üretilen nanoliflerin biyolojik ve teknolojik nesnelerle karşılaştırılması [24]

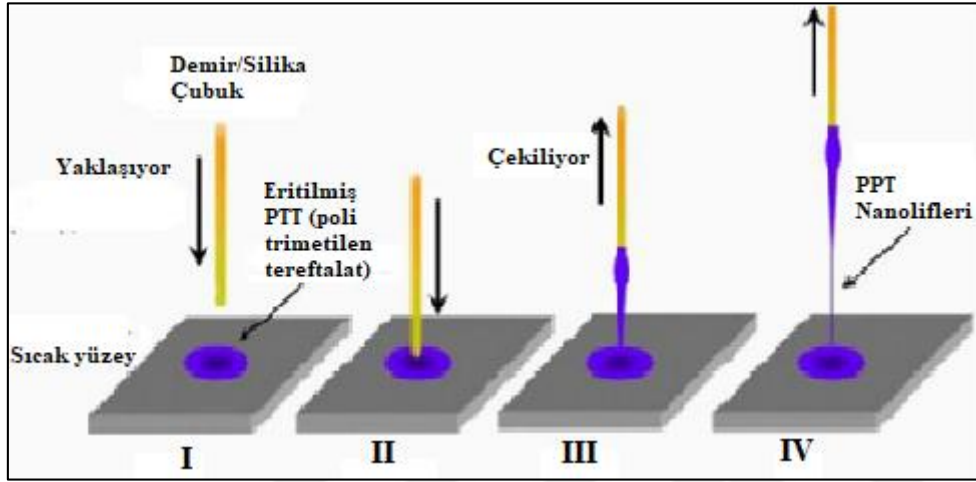
3.3.1. Nanolif üretim yöntemleri

Başlıca nanolif üretim yöntemleri; çekme yöntemi, faz ayırma yöntemi, kendiliğinden tutunma yöntemi, kimyasal buhar biriktirme yöntemi, şablon (template) sentezleme yöntemi, eriyik üfleme yöntemi ve yapılan tez çalışmasında kullanılan elektroselin yöntemidir. Alt başlıklarda detayları anlatılan bu yöntemlerin avantaj ve dezavantajları kıyaslaması Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Nanolif üretim yöntemlerinin karşılaştırılması

YÖNTEM ADI	AVANTAJ	DEZAVANTAJ
Çekme	Basit	Sınırlı polimer kullanımı Kesintili üretim
Faz Ayırma	Basit	Sınırlı polimer kullanımı Kesintili üretim
Kendiliğinden Tutunma	Küçük boyutta lif üretimi	Pahalı ve karmaşık
Kimyasal Buhar Biriktirme	Yüksek kalitede ve yüksek büyüme hızında lif üretimi	Zor ve karmaşık
Şablon (template) Sentezleme	Farklı şablonları kullanarak lif çapı değişikliği yapabilmek	Karmaşık
Eriyik Üfleme	Uzun ve devamlı lif üretimi, yüksek verim	Sınırlı polimer kullanımı Üretim esnasında termal bozulma
Elektroselin	Basit, ucuz, kolay bulunabilir, uzun ve devamlı lif üretimi	Düşük verim Düzensiz jet oluşumu

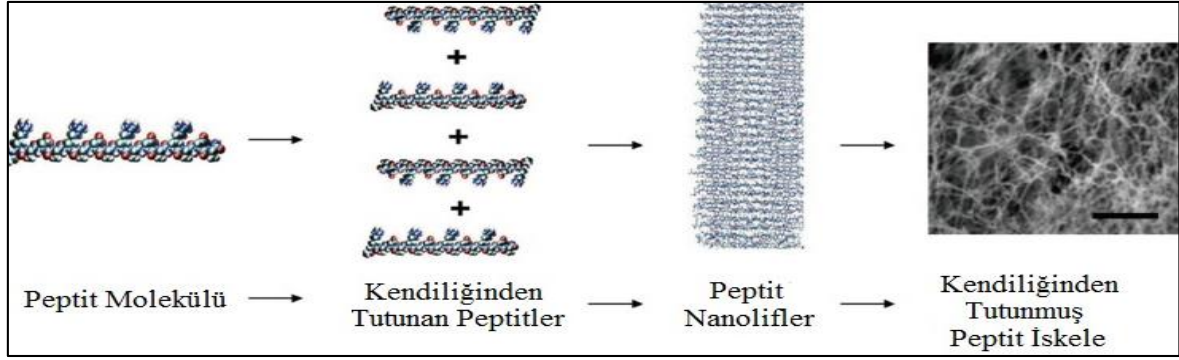
Çekme yöntemi: Bu yöntem, birkaç mikrometre çapa sahip bir mikropipet ve erimiş bir polimer ile gerçekleştirilir. Mikro pipet polimer damlacığına daldırılır ve 0,1- 0,001 m/s hızla çekilir. Böylece nanolif elde edilir [25]. Çekme yönteminde ortamın sıcaklığı, polimeri çekme hızı, polimerin viskozitesi ve mikropipetin çapı oldukça önemli parametrelerdir [26]. Şekil 3.2’de çekme yöntemi ile nanolif üretimi gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Çekme yöntemi ile nanolif üretimi [27]

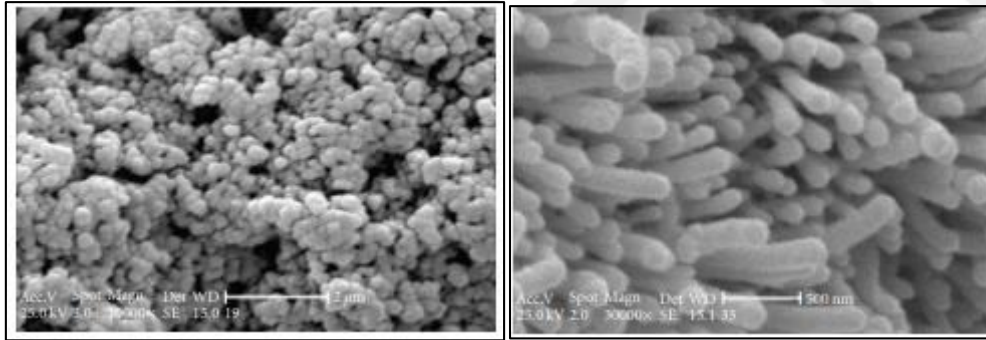
Faz Ayırma Yöntemi: Bu yöntemde polimer uygun bir çözücünde çözündürülür. İçerisine jelleşmeyi sağlamak için gerekli kimyasal eklenir. Daha sonra çözücü uzaklaştırılıp elde edilen jel dondurulur. Dondurulan jel soğuk kurutma yapılır ve nanolif elde edilir [28].

Kendiliğinden Tutunma Yöntemi: Bu yöntemde moleküller arasındaki bağlar uygun bir atomda kendiliğinden oluşur. Küçük moleküller kendi arasında bağ yaparak dizilirler. Bu bağların yan yana birleşmesi ile oluşan yapı nanolifleri oluşturur. Şekil 3.3.’te görüldüğü gibi peptit molekülleri sodyum iyonu zengin bir ortamda kendiliğinden birleşerek nanolifleri oluşturur. Bu nanolifler de kendi aralarında bağ yaparak IV’de görüldüğü gibi peptit iskelesini meydana getirir [25].



Şekil 3.3. Peptit moleküllerinin kendiliğinden tutunma yöntemiyle peptit iskeleyi oluşturmaları [29]

Kimyasal Buhar Biriktirme (CVD) Yöntemi: Bu yöntem, özellikle karbon nanotüp ve nanolif üretiminde kullanılan bir yöntemdir. CVD yönteminde kaynaktan çıkan gaz formdaki karbon atomları gözenekli bir şablon malzemesine (genellikle alumina) doldurulur böylece nanolif veya tüp üretimi gerçekleştirilir. Bu yöntemle üretilmek istenen lifin boyutu kolaylıkla ayarlanabilir ve ucuz bir yöntemdir [30]. Resim 3.2’de CVD yöntemi ile üretilen karbon nanoliflerin SEM görüntüleri verilmiştir.

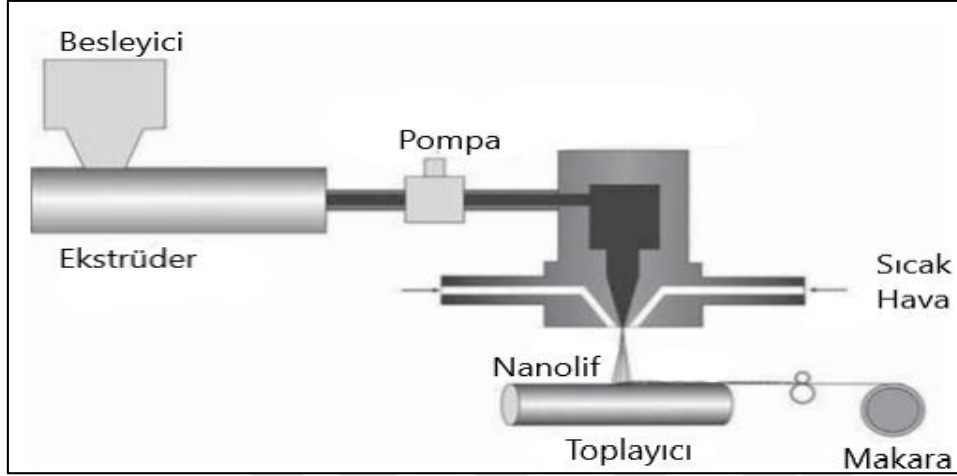


Resim 3.2. CVD yöntemi ile üretilen karbon nanoliflerin SEM görüntüleri [31]

Şablon (template) Sentezleme Yöntemi: Yaygın olarak kullanılan diğer bir nanolif üretme yöntemi olan şablon sentezleme genellikle inorganik nanolif (karbon nanotüpler ve nanolifler vb.) veya iletken polimer lifleri (polianilin, polipirol vb.) üretimi için kullanılmaktadır [32]. Bu yöntemde gözenek çapları nano boyutta olan metal oksit membranlar kullanılır. Hazırlanan çözelti bu membrana uygun koşullarda dökülür ve kurutulur. Daha sonra membrandan çıkarılır ve nanolifler elde edilir [33].

Eriyik Üfleme: Eriyik üfleme yöntemiyle nanolif elde etmek için kullanılacak polimerlerin erime indeksi 1000 veya daha fazla olmalıdır [34]. Şekil 3.4’de görüldüğü gibi

polimerler besleyiciden ekstrüdere alınır, eritilir ve pompa ile polimer kaba alınır. Kalıptan çıkarken yüksek hızla sıcak hava üflenir ve toplayıcıda nanolifler biriktirilir. Daha sonra bir makara yardımıyla nanolifler sarılır [35]. Eriyik üfleme yönteminin şematik gösterimi Şekil 3.4’de verilmiştir.



Şekil 3.4. Eriyik üfleme yönteminin ayrıntılı şeması [35]

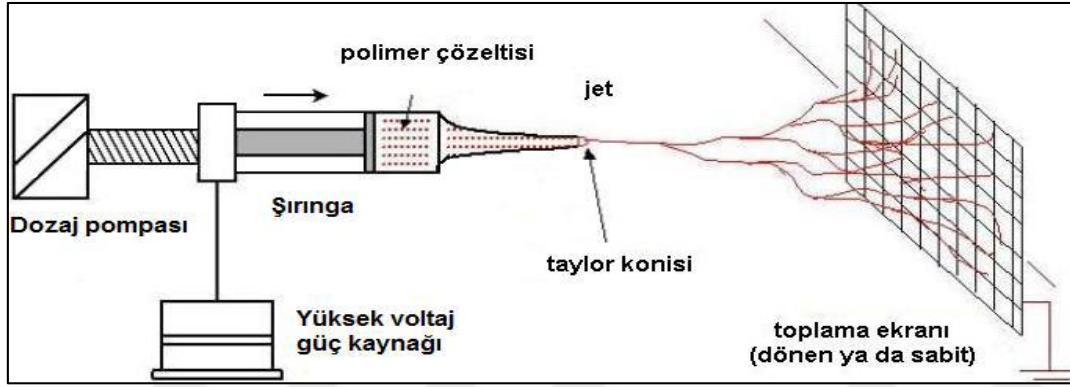
Elektrospın (Elektro eğirme) yöntemi: Bu yöntemde, belirli elektrik alan altında şırınga ucundaki çözeltiden toplayıcı yüzeye doğru oluşan akış ile nanolif üretimi gerçekleşir. Bu yöntemle uzun, ince ve homojen çapta nanolifler elde etmek mümkündür[36].

3.4. Elektrospın Yöntemi

Polimerler çözeltilerinden nanolif üretimi için kullanılan en yaygın yöntemlerden biri elektrospın (elektroeğirme) yöntemidir. Elektrospın yöntemi, kimya, fizik, elektrik fiziği gibi birçok disiplini bir arada bulunduran multidisipliner bir yöntemdir. Bu yöntem ile çapları 100nm’nin altında polimer yapılar elde etmek mümkündür. Elektrospın yönteminin temel prensibi, sistemde oluşan elektrostatik kuvvetler ile yüzey gerilimi ve yer çekimi kuvvetlerinin arasındaki farkın eşik değere ulaşarak elektriksel alanda nano boyutta lifler oluşturmaktır. Elektrospın yöntemi için gerekli deney düzeneği (Şekil 3.6) üç ana bölümden oluşmaktadır.

Elektrospın yöntemi ile polimer çözeltisinden nano boyutta lif üretimi, yüksek voltajlı bir güç kaynağı sayesinde ortamda yaratılan elektriksel kuvvetlerle sağlanır. Sistemde kullanılan şırınganın ucundaki polimer çözeltisine yüzey gerilimi ve yer çekimi kuvvetleri etki eder,

sistemdeki elektriksel kuvvetin bu kuvvetleri yenmesiyle çapları 10 nm den yüzlerce nanometreye kadar değişen lifler elde edilir. Bu yöntemle küçük çaplarda, boncuksuz ve homojen dağılımlı lif elde edilebilmesi başarılı bir sonuç elde edildiğini gösterir. Bunun için kullanılacak çözeltinin uygun derişimde hazırlanması ve iletkenlik, viskozite ve yüzey gerilimi özelliklerinin uygun koşulları sağlaması gerekir. Buna ek olarak, uygulanan voltaj gücü, akış hızı, sıcaklık, nem ve iğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe gibi sistem parametreleri de başarılı bir lif üretimi için uygun koşulları sağlamalıdır. Bu parametrelerin hepsi kullanılan polimer-çözücü sistemlerine göre değişiklik gösterir. Bu yüzden yapılan her çalışmada en iyi sonucu alabilmek için uygun koşulların belirlenmesi gereklidir.



Şekil 3.5. Elektrospın cihazının basit şematik gösterimi [37]

Elektrospın yöntemi 3 temel bölümden oluşmaktadır;

1. Yüksek voltaj güç kaynağı,
2. Besleme ünitesi (şırınga, metal iğne vb.),
3. Toplayıcı (iletken plaka, döner silindir vb.).

Elektrospın yönteminin prosedürü ise şu şekildedir; lif üretimi için kullanılacak olan polimer ve uygun bir çözücü ile gerekli şartlar (ısıtma, karıştırma vs.) sağlanarak çözelti hazırlanır ve şırıngaya alınır. Ardından, toplayıcı levha ve şırınga ucu arasında yüksek gerilim sağlanır (sisteme voltaj verilir). Besleyici ünite içindeki iğne ucunda bulunan polimer çözeltisi, sistemdeki kuvvet dengesi sağlandığında koni şeklini alır (Taylor konisi). Daha sonra polimer çözeltisinden üretilen lifler toplayıcı plakada toplanır [37].

Çözelti özellikleri, proses değişkenleri ve çevre koşulları elektrospın yöntemine etki eden üç temel parametredir.

3.4.1. Çözelti özellikleri

Elektrospın yöntemini ile işlenecek olan çözeltinin özellikleri, çözelti hazırlığında kullanılan polimerin sahip olduğu başlıca özellikler ile ilişkilidir. Polimerin sahip olduğu molekül ağırlığı bu özelliklerin başında gelmektedir. Çok düşük molekül ağırlığı boncuksu yapı oluşumuna, çok yüksek molekül ağırlığı ise kalın çaplı lif üretimine sebep olur. Ayrıca, polimerin molekül ağırlığı çözelti viskozitesini de etkilemektedir. Molekül ağırlığı yüksek olan polimerlerin viskozitesi yüksektir ve bu yüzden üretilen liflerin çapları kalındır [38]. Lif üretiminde etkin olan bir diğer parametre ise kullanılacak olan çözeltilerin yüzey gerilim özellikleridir. Yüzey gerilim yüksek olan çözeltilerle üretilen nanoliflerde boncuksu yapılar gözlenmektedir [39]. Bunlara ek olarak elektrospın yönteminde büyük bir öneme sahip olan elektriksel iletkenlik özelliği de üretilen nanolif çapını ciddi derecede etkileyen bir parametredir. Çözeltinin iletkenliği; çözeltinin elektrik akımı taşıma kabiliyeti olarak tanımlanabilir. Bundan dolayı iletkenlik bir polimer çözeltisinin elektrospın sırasında hareket oranını etkiler [38]. Yapılan çalışmalarda, elektriksel iletkenliği yüksek olan çözeltilerden üretilen liflerin daha ince olduğu görülmüştür.

3.4.2. Proses değişkenleri

Elektrospın yönteminde nanolif oluşumu “Taylor Konisi” ile başlar. [40]. Sisteme uygulanan voltaj ile, elektrostatik kuvvet yüzey geriliminin üstesinden gelir ve Taylor konisi oluşur. Jet neredeyse düz bir çizgi halinde damladan ayrılmaya başlar ve diğer şekillerde değişir. Çözücü uçar ve geriye katı nanolif kalır [38]. Taylor konisinin oluşumu nanolif üretiminin başlangıcıdır.

Sistemde nanolif üretimi üzerinde etkili olan bir diğer parametre ise akış hızıdır. Akış hızı çözeltinin elektrospın işlemindeki oluşumunun miktarını belirler. Akış hızı çok yüksek ise toplamaya ulaşmadan önce hızla kuruma gerçekleşir ve düşük gerilme kuvveti sebebiyle kalın çaplı ve boncuklu lifler oluşur [6]. Kısacası akış hızı arttırıldığında lif çapı ve boncuklu yapı artar [38].

Elektrospın yönteminde süreci etkileyen diğeri bir önemli değışken ise çözelti sıcaklığıdır. Elektrospın yönteminde nanolif oluşumu polimer çözeltisindeki çözücünün buharlaşması ile gerçekleşir. Eğer çözelti sıcaklığı yüksek ise lif üretimi sırasında buharlaşma hızını artar ve viskozite azalır. Yüksek sıcaklığa sahip çözeltilerden daha düzgün nanolifler elde edilir [25].

Elektrospın işleminde çözeltinin uçuş zamanı da elektrik alan kuvveti kadar etkilidir. İğne ucu ve toplayıcı arasındaki değışen mesafe elektrik alan kuvveti ve uçuş zamanı üzerinde doğrudan etkisi vardır. İğne ucuyla toplayıcı arasındaki mesafe azaltıldığında, jet toplayıcıya ulaşmadan önce daha kısa bir mesafeden geçer ve elektriksel alan kuvveti artar. Böylece jetin toplayıcıya gitme hızı ivmelenerek artar. Ancak bazı durumlarda, iğne ucu ve toplayıcı arasındaki mesafenin üretilen nanoliflerin çapı üzerinde önemli bir etkisi olmaz. Fakat yapılan çalışmalarda bu mesafenin çok kısa olması durumunda nanoliflerin boncuksu bir yapı oluşturduğu görülmüştür [38].

3.4.3. Çevre koşulları

Bu yöntem ile üretilen nanoliflerin özelliklerini etkileyen proses parametrelerinden birisi de çevresel koşullar başlığı altında değıerlendirdiğimiz “sıcaklık” tır. Sıcaklığın artışı çözücünün buharlaşmasını hızlandırır, viskoziteyi düşürür ve çözünürlüğü artırır. Böylece polimer jetinin uzaması kolaylaşır ve eş dağılımlı fiber elde edilirler [39].

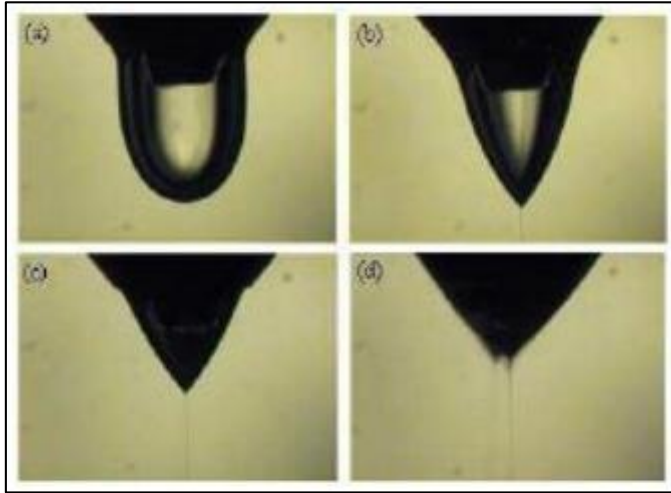
Bir diğeri çevresel etki ise nemdir. Yüksek nem koşullarında, normal atmosfer şartlarından farklı olarak üretilen nanolifin üzerinde su yoğunlaşabilir. Bunun yanı sıra yüksek nem lif üzerinde gözenekler oluşmasına neden olabilir [38].

Genellikle elektrospın işleminde atmosferik basınçla çalışılır. Basınç atmosferik basıncın altında olduğunda iğne içerisindeki polimer dışarı akmak için büyük bir eğilim gösterecek ve sürekli olmayan bir jet oluşturacaktır [38].

Elektrospın yönteminde farklı gazlar yüksek elektrostatik kuvvet altında farklı davranışlar sergiler [25].

3.4.4. Taylor konisi

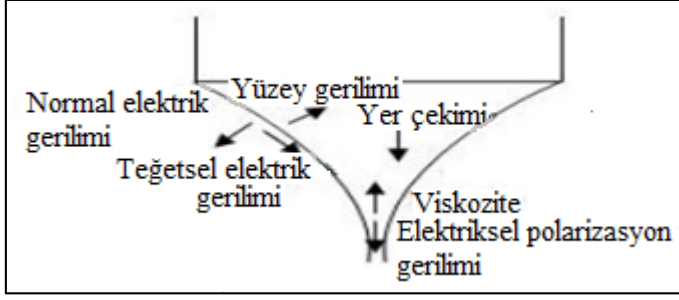
Taylor 1969 yılında iğne ucunda elektrik alan sebebiyle koni şeklini alan polimer damlacığı ile ilgili çalışmalar yapmıştır. Daha sonra polimer damlacığının konik şekli araştırmacılar tarafından Taylor konisi olarak adlandırılmaya başlanmıştır [41]. Resim 3.3’de Taylor konisinin oluşumu gösterilmiştir.



Resim 3.3. İğne ucunda Taylor konisinin oluşumunu gösteren bir resim; a) Yarı küresel polimer yüzey şekli, b) Taylor konisi oluşumu, c) Stabil polimer çıkışı, d) Stabil olmayan polimer çıkışı [42]

Elektrospin işleminde iğne ucundan çıkan polimer çözeltisi damlacığına etki eden üç temel kuvvet yerçekimi, yüzey gerilmesi ve elektriksel gerilmedir. Taylor konisi bu kuvvetler dengelendiğinde oluşur. Ardından sıvı jet oluşarak spin işlemi başlar.

Elektriklenmiş olan jet hızla uzayarak uzun ve ince ipliksi bir yapı oluşturur. Sıvı jetin devamlı olarak uzarken, çözücüsünün buharlaşması sonucunda lif çapı mikrometre seviyesinden yüz nanometreden daha küçük değerlere düşmektedir. Böylece nanolif üretimi gerçekleşir [43]. Taylor konisinin oluşumuna etki eden kuvvetlerin şematik gösterimi Şekil 3.6’de verilmiştir.



Şekil 3.6. Taylor konisinin oluşumuna etki eden kuvvetlerin şematik gösterimi [25]

3.4.5. Elektrosprin çözeltilerinin hazırlanması

Elektrosprin işleminde polimerin lif olarak taşınması için sıvı halde olması veya polimer çözeltisi şeklinde olması gerekmektedir. Polimer ve çözücüsü oda sıcaklığında karıştırılır ve homojen bir polimer çözeltisi hazırlanır. Daha sonra bu çözelti şırıngaya enjekte edilir. Pompa yardımıyla şırıngadan metal iğneye sabit bir hızla gönderilir. Metal iğnenin ucunda damlacık koni şeklini aldığı anda yüksek voltaj kaynağı açılır. Polimer damlacığı elektriklenir ve indüklenmiş olan damlacık toplayıcı altlık yüzeyine eşit olarak dağılır [43].

3.5. Biyoaktif Bileşenler

Karakteristik olarak biyoaktif bileşenler bitkilerde diğer bileşenlerle bir arada bulunurlar. Bu bileşenler bitkinin kısımlarına (yapraklar, gövde, çiçek ve meyve gibi) göre tanımlanabilir ve karakterize edilebilirler [44].

Genel olarak bitkilerin biyoaktif bileşenleri ikincil metabolitler olarak üretilir [45]. Tek hücreli bir bakteriden milyon hücreli bir bitkiye kadar her canlı hayatta kalmak ve yaşamını sürdürmek için çeşitli kimyasal bileşikler işler. Biyolojik sistemdeki bütün bileşenler birincil metabolitler ve ikincil metabolitler olarak temelde ikiye ayrılır. Birincil metabolitler, karbonhidratlar, amino asitler, yağlar ve proteinler gibi büyüme ve gelişme için tüketilen kimyasallardır. İkincil metabolitler ise; birincil metabolitlerin çevresel zorluklara karşı direncinin artmasına yardım eden, yaşamsal faaliyetleri destekleyen yardımcı metabolitlerdir [46]. Bir başka deyişle, ikincil metabolitler, genelde büyümenin ardından tek bir fazda oluşan, hayatta kalma fonksiyonuna sahip olmasına rağmen büyümede bir işlevi olmayan, bazı taksonomik mikroorganizmalar tarafından üretilen kimyasal yapılardır [47]. İkincil metabolitler arasında biyolojik sistemler üzerinde etkili olan bileşenlere ‘biyoaktif

bileşenler' denir. Basit tanımıyla biyoaktif bileşenler, insan ve hayvanlar üzerinde morfolojik ve toksikolojik etkileri ortaya çıkaran ikincil bitki metabolitleridir.

Biyoaktif bileşenler kimyasal yapı ve fonksiyonlarına göre değişiklik gösterirler. Örneğin fenolik birleşik içeren biyoaktif bileşenlerin çoğu antioksidan özellik gösterir. Bu bileşenlerin sağlık üzerindeki olumlu etkilerini gösteren birçok çalışma yapılmıştır [48].

Biyoaktif bileşenler duyuşal ve beslenme özelliklerini geliştirmek, gıdaların tüketici sağlığı üzerindeki olumlu etkisini arttırmak amacıyla gıda ürünlerinde yaygın olarak bulunurlar. Ancak bu bileşenlerin kullanımını sınırlayan bazı özellikleri vardır. Sulu fazlarda düşük çözünürlük, gıda ürünlerinde yüksek kararsızlık ve düşük biyoyararlanım bunlara örnek olarak verilebilir. Biyoaktif bileşiklerin kapsüllenmesi, bu tür biyoaktif bileşenleri stabilize etmek, bunların salımlarını kontrol etmek ve biyoyararlanımlarını arttırmak için potansiyel yaklaşımlar olarak önerilmiştir [49]. Karotenoidler, uçucu yağlar, antioksidanlar veya tatlandırıcılar gıdalarda bulunan biyoaktif bileşenlere örnek olarak verilebilir.

3.6. Nar Çekirdeği Yağı

Nar (*Punica granatum*) Punicaceae ailesinden çok yıllık bir bitki olup, genellikle tropik ve subtropik bölgelerde yetiştirilmektedir [50]. Nar taze olarak tüketilmesinin yanı sıra, meyve suyundan şarap üretimine kadar geniş bir tüketim alanına sahiptir. Bu ürünlerin üretiminden sonra posa olarak çıkan kısmın önemli bir bölümünü nar çekirdeği oluşturmaktadır. Nar çekirdeğinin yapısındaki yağ miktarı, narın yetiştirildiği şartlara ve iklime göre %6,63-19,3 arasında değişebilir [51].

Nar meyvesi, yetiştiği ortam ve şartlara göre 1kg'ında 40 gr ve 100 gr arasında değişiklik gösteren çekirdek miktarına sahiptir. Soğuk sıkımla elde edilmiş nar çekirdeği yağının (NÇY) antioksidan aktivitesi değeri oldukça yüksektir.

Çizelge 3.3. Nar çekirdeğinin kimyasal bileşimi [52]

Bileşen (g/100 g)	Ortalama
Kuru madde (%)	50,93 ± 0,56
Yağ	21,25 ± 0,93
Protein	37,10 ± 0,82
İnorganik madde	2,44 ± 0,08
Fenolik madde (mg/g)	7,20 ± 0,08

Çizelge 3.4. Nar çekirdeği yağının yağ asidi kompozisyonu [52]

Yağ Asidi	Ortalama
Palmitik (C16:0)	4.62±0.48
Stearik (C18:0)	2.77±0.22
Oleik (C18:1)	6.83±0.58
Oleik (C18:1)	6.83±0.58
Linoleik (C18:2)	5.81±0.37
Punikik (C18:3)	78.83±2.61
Araşidik (C20:0)	1.14±0.01

Çizelge 3.5. Nar çekirdeğinin bazı mineral madde içerikleri [52]

Element	Ortalama (mg/kg)
Fosfor	3306 ± 66,85
Kalsiyum	2207 ± 75,05
Magnezyum	949 ± 36,64
Potasyum	949 ± 37,25
Sodyum	240 ± 13,79
Demir	67,12 ± 3,25
Çinko	48,01 ± 2,11
Bakır	35,04 ± 2,60
Mangan	22,94 ± 0,64

Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.5’de nar çekirdeğinin kimyasal bileşimi ile bazı mineral madde içerikleri verilmiştir. Çizelge 3.4’de ise nar çekirdeği yağına ait yağ asidi kompozisyonu gösterilmiştir. Bu tabloda da görüldüğü gibi nar çekirdeği yağı yapısında bulunan yaklaşık %78 oranında punikik asit bulundurulur. Punikik asit nar çekirdeği yağının antioksidan etkinliğini fazla olmasını sağlar [53].

Her maddenin kendine özgü kaynama noktası, erime noktası, yoğunluğu gibi fiziksel özellikleri vardır. Gıda endüstrisinde önemli bir yere sahip olan yağlar için kırılma indisi değeri de fiziksel özelliklerden biridir. Kırılma indisi ışığın boşluktaki hızının madde içerisindeki hızına oranı olarak tanımlanabilir [52]. Bu değer yağların yapısı ile ilgili doymuş ve doymamış yağ asidi zincirleri ile ilgili, madde içerisindeki katı madde miktarı ile ilgili bilgi verir [52]. Kırılma indisinin ölçülmesi için farklı refraktometre cihazları vardır. Bu çalışmada, Abbe refraktometresi kullanılmıştır. NÇY’nin kırılma indisi 1.522 olarak belirlenmiştir. Bu değer diğer bitkisel yağların kırılma indisi değerlerinden daha yüksektir. Bu da nar çekirdeği yağının karakteristik özelliklerinden biri olarak ortaya çıkmaktadır. Nitekim yağ asitleri bileşimi de oldukça farklı sayılabilecek bir dağılım göstermektedir.

Çizelge 3.4.'de literatürde yapılmış bir çalışmaya ait NÇY'nin kırılma indisi değeri ve verim gösterilmiştir. Bu çalışma için kullanılan nar İtalya'nın güneyindeki Campanie bölgesine aittir.

Çizelge 3.6. Nar çekirdeği yağı kırılma indisi ve verimi [54]

Çekirdek Yağı	Kırılma İndisi	Verim (g/kg)
Nar	$1,515 \pm 0,002$	$177,0 \pm 16,5$

3.7. Elektrospın Yönteminde Kullanılan Biyopolimerler

3.7.1. Dekstran

Dekstran temelde α -1,3 ve α -1,6 da uzun dallı zincirlere bağlanan glikoz moleküllerinden oluşan biyolojik olarak parçalanabilen bir polisakkarittir. Hidrofilik yapıya sahip olan dekstran suda ve organik çözücülerde çözünabilir, biyolojik sistemlerde taşıyıcı göreviyle kullanılabilir, hücre canlılığını etkilemez ve sistemlerde plazma genişletici olarak kullanılabilir [55]. Bakteriyel bir polisakkarit olan dekstran biyolojik olarak parçalanabilir ve biyo uyumlu olması sebebiyle çeşitli biyomedikal uygulamalarda da kullanılmaktadır [10]. Suda çözünabilir olması ve suda çözünabilen diğer polimerlere göre daha ucuz ve kolay bulunabilir olması kullanım alanını çeşitlendirmiştir. Biyoteknoloji ve biyoayırma işlemleri bu alanların başında gelmektedir [55,56].

3.7.2. Jelatin

Jelatin, deri, kas kemik gibi hayvansal dokulardan kollojenin kısmi hidrolizi ile elde edilen biyoyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilen bir polimerdir [58]. Hidroliz metoduna göre, tip A ve tip B olmak üzere iki farklı jelatin türü vardır. Asit prosesi ile üretilen jelatin türü tip A, alkali proses ile üretilen jelatin türü ise tip B'dir. Bu iki farklı jelatin tipinin amino asit bileşimi, polipeptid düzeni, bloom değerleri, yoğunlukları ve köpüklenme kapasiteleri farklılık gösterir [59].

Bloom değeri, jel direnci veya sertliğine bağlı olarak jelatinin endüstriyel olarak kalitesini ifade eden bir özelliktir. Bu değer, jelatin jel sertliği veya direnciyle ilgilidir. Bloom değeri yüksek olan (220 ve üzeri) jelatinler pazar değeri yüksek olan jelatinlerdir. Jelatin üretimi

sırasında uygulanan kimyasal işlemler yüksek sıcaklık ve uzun sürede gerçekleşirse jelatinin bloom değeri düşer [60].

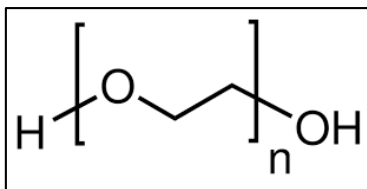
Jelatin yüksek protein bileşimine sahiptir. Ayrıca su tutma kapasitesi, jel oluşumu, emülsiyon oluşturma ve stabilize edebilme gibi fonksiyonel özellikleri sayesinde gıda endüstrisinde büyük ölçüde talep görmektedir [61].

Jelatin suda çözünebilir bir biyopolimerdir ancak düşük uçuculuk ve yüksek yüzey gerilimi nedeniyle sulu çözeltilerden elektrospın yöntemiyle lif üretimine uygun olmadığı bilinmektedir. Bu sebeple jelatin çözeltilerinden uygun bir şekilde lif üretebilmek için çözeltilere agresif ve toksik çözücüler eklenmektedir. Bu durum gıda ve biyomedikal uygulamalarında sıkıntı yaratmaktadır [62].

Ancak elektrospın yöntemiyle jelatinden nanolif üretimi için kullanılan bu çözücülerin yerine alternatif toksik olmayan çözücülerle de çalışmalar yapılmaktadır. Bu konuda %20 asetik asit ve %25 asetik asidin çözücü olarak kullanıldığı jelatin çözeltilerinden elektrospın yöntemiyle nanolif üretimini başarmış olan çalışmalar mevcuttur [63].

3.7.3. Poli (etilen glikol) (PEG)

Polietilen Glikol (PEG), toksik etkisi düşük ve biyouyumlu bir polieter bileşiğidir [64]. Çeşitli molekül ağırlıklarına sahip olan bir polimer olan PEG hidrofilik yapıya sahiptir suda ve organik çözücülerin çoğunda çözünür [65].



Şekil 3.7. Poli (etilen glikol) yapısı

Diğer polimerlerle ikili fazlı sistemler oluşturan, immünojenik ve antijenik etkiler gösteren PEG aktif protein veya hücrelerle doğrudan etkileşime girdiğinde bile zarar vermez. Ayrıca PEG ile kaplanan veya birleştirilen moleküller PEG'in sahip olduğu özellikleri gösterir. Örneğin, PEG kaplı bir yüzey suda çözünebilir [66]. Sıradışı biyolojik özelliklere sahip

nötral polietilerlerden biri olan PEG biyoteknik ve biyomedikal alanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [67]. Sahip olduğu molekül ağırlığına göre farklı özellikler gösteren PEG türevlerinin molekül ağırlığı 1000'den küçükse akışkan olmayan ve renksiz sıvılardır, molekül ağırlığı 1000'den büyükse mumsu beyaz katılardır [68].

PEG, sağladığı avantajlar sebebiyle başta ilaç endüstrisi olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır.





4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Bu çalışmada; dekstran ve jelatin polimerlerinden, elektrospin yöntemiyle nanolif üretilmiştir ve NÇY'nın üretilen nanoliflere enkapsülasyonunu sağlanmıştır. Ayrıca, viskozite, yüzey gerilimi, derişim ve iletkenlik gibi çözelti özelliklerinin üretilen lifler üzerindeki etkilerini gözlemlenmiş, boncuksuz, homojen dağılımlı ve küçük çaplı liflerin elde edildiği çözelti derişimi belirlenmiş ve dekstran-jelatin polimerleriyle nanolif üretiminde elektrospin yöntemi için uygun sistem parametreleri belirlenmiştir.

4.1. Materyal

Bu çalışmada kullanılan materyaller; yerel bir marketten alınan sığır derisi jelatini (200 bloom) ve Botalife marka nar çekirdeği yağı, Sigma Aldrich'ten alınan dekstran (Leconostoc mesenteroides, ortalama molekül ağırlığı 35,000-45,000) (lot #44H0568), saf asetik asit (>%99,85), 1,1- difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), metanol, hekzan ve saf sudur.

4.2. Metot

İki aşamadan oluşan bu çalışmada, birinci aşamada elektrospin yöntemi ile nanolif üretimi gerçekleştirilmiştir. İkinci aşamada ise morfolojik karakter özelliklerine göre en uygun nanolif belirlenip, elektrospin yöntemiyle enkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

4.2.1. Dekstran-jelatin-asetik asit çözeltilerinden nanolif üretimi

Nanolif üretimi için kullanılan polimerler dekstran ve jelatindir. Bu aşamada farklı polimer derişimlerinde (a/a) çözeltiler hazırlanmış ve en uygun koşullar belirlenmiştir.

Çözeltilerin hazırlanması

Hazırlanacak çözeltilerin polimer (jelatin ve dekstran) derişimleri kütlece %25, %30 ve %35 olarak belirlenmiştir. Çözücü olarak kullanılan %20'lik asetik asit çözeltisi ise; saf asetik asit ve saf su (20:80 ml) karıştırılarak hazırlanmıştır.

Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi farklı oranlarda jelatin ve dekstran %20’lik asetik asit çözeltisi ile karıştırılarak toplam 9 adet çözelti hazırlanmıştır. Numuneler içerisindeki polimer derişimi ve dekstran oranı baz alınarak adlandırılmıştır.

P25D20 adlandırmasını örnek olarak açıklarsak, bu çözeltinin içerisindeki toplam polimer derişimi ağırlıkça %25’dir. Polimerlerden dekstranın oranı %20 iken jelatinin oranı %80’dir. Kısacası, tartılan toplam 5gr polimerden 1gr’ı dekstran, 4gr’ı jelatindir.

Dekstran ve jelatin Çizelge 4.1’deki değerlere göre tartılıp üzerine %20’lik asetik asit çözeltisi eklenerek 20 grama tamamlanmıştır.

Çizelge 4.1. Polimer çözeltisi içerisindeki malzeme miktarları ve oranları

Numune adı	Toplam polimer derişimi (%)		Toplam polimer miktarı (g)	
	Dekstran oranı (%)	Jelatin oranı (%)	Dekstran miktarı (g)	Jelatin miktarı (g)
P25D20	25		5	
	20	80	1	4
P25D50	25		5	
	50	50	2,5	2,5
P25D80	25		5	
	80	20	4	1
P30D20	30		6	
	20	80	1,2	4,8
P30D50	30		6	
	50	50	3	3
P30D80	30		6	
	80	20	4,8	1,2
P35D20	35		7	
	20	80	1,4	5,6
P35D50	35		7	
	50	50	3,5	3,5
P35D80	35		7	
	80	20	5,6	1,4

Polimer çözeltileri, 40°C- 600 rpm’de erlen içerisinde 4 saat karıştırılarak elde edilmiştir.

Çözeltilerin karakterizasyonu

Hazırlanan çözeltiler için viskozite, iletkenlik ve yüzey gerilim ölçümleri yapılmıştır. Çözeltilerin viskoziteleri 24⁰C’de Haake Rheostress RS1 (Karslsruhe, Almanya) yüzey-yüzey sensörü (çap: 35 mm, boşluk: 1 mm) olan cihaz ile ölçülmüştür. Viskozite ölçümü boyunca kayma oranı 60 saniyede 0 ile 200 s⁻¹ aralığında değiştirilmiştir.

Çözeltilerin yüzey gerilim ölçümleri, Krüss Tensiometer (Krüss K6, Almanya) cihazıyla oda sıcaklığında yapılmıştır. Çözeltilerin iletkenliği ise, HANNA (HI 8733, Almanya) iletkenlik ölçer cihazı ile oda sıcaklığında ölçülmüştür.

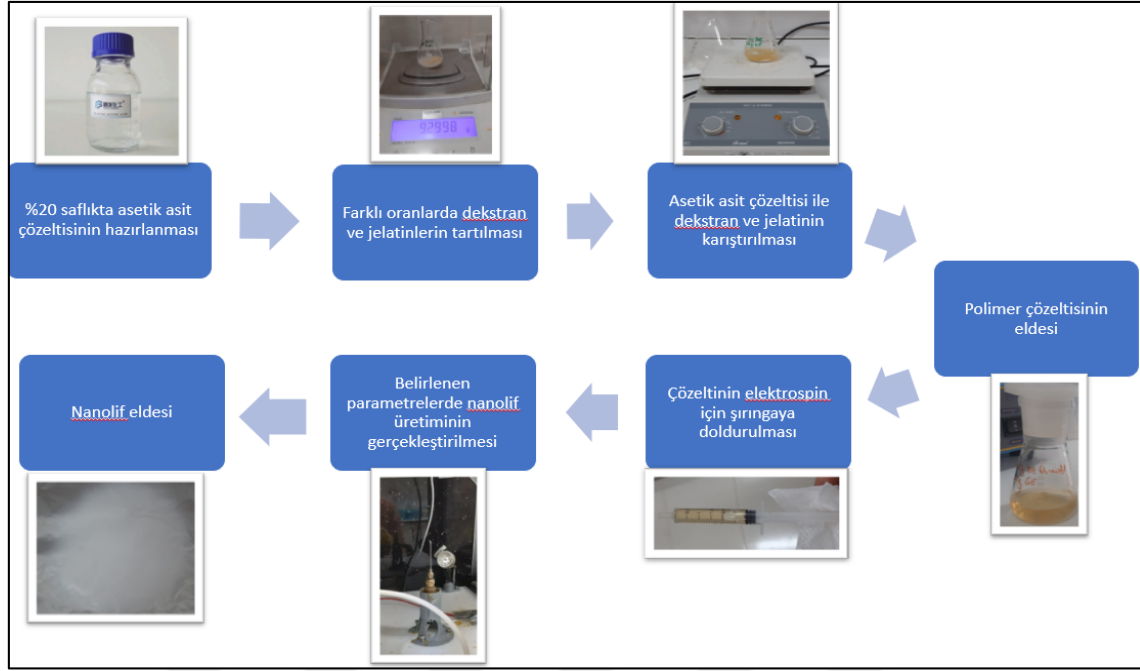
Elektrospın yöntemiyle nanolif üretimi

Hazırlanan çözeltilerden lif üretimi için Nanotel (NTEE 80-1, Türkiye) elektrospın cihazı kullanılmıştır. Cihaz şırınga pompası, yüksek voltaj kaynağı ve alüminyum folyo ile kaplanmış toplayıcı plakadan oluşmaktadır.

En iyi sonucu elde etmek için voltaj, akış hızı ve iğne ucu- toplayıcı mesafesi gibi parametreler değiştirilerek en uygun değerler belirlenmiştir. Çözeltilerden lif elde etmek için bu parametreler; 21 kV voltaj, 15 µl/dk akış hızı ve 12,5 cm iğne ucu – toplayıcı mesafesi olarak ayarlanmıştır. Her bir şırınga 5 ml çözelti ile doldurulmuştur. Çözelti iğne ucunun sonuna geldiğinde sisteme voltaj verilmiş ve pompalama başlatılmıştır. Her çözelti için 2 saatlik bir elektrospın işlemi gerçekleştirilmiştir. Üretilen lifler alüminyum tabaka üzerinde toplanmıştır.

Prosedür özeti

20 ml asetik asit 100 ml’ye saf su ile tamamlanarak asetik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Toplam polimer derişimine ve dekstran-jelatin oranlarına göre farklı miktarlarda dekstran-jelatin numuneleri asetik asit çözeltisiyle ısıtıcılı karıştırıcıda yaklaşık 4 saat karıştırılmıştır. Elde edilen çözeltilerden elektrospın işleminden önce 5 ml’lik şırıngalara çekilmiş ve belirlenen parametrelerde (21 kV voltaj, 15 µl/dk akış hızı ve 12,5 cm iğne ucu – toplayıcı mesafesi) elektrospın uygulaması yapılmıştır. Üretilen lifler alüminyum tabaka üzerinde toplanmıştır. Şekil 4.1’de dekstran-jelatin polimerlerinden nanolif üretim şeması verilmiştir.



Şekil 4.1. Dekstran-jelatin polimerlerinden nanolif üretimi şeması

Nanoliflerin morfolojik karakterizasyonu

Liflerin morfolojisi ve çaplarının belirlenebilmesi için Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (ZEISS, GeminiSEM 300, Almanya) cihazı kullanılmıştır. 1, 2 ve 10 μm 'lik görüntüler alınmıştır. Her deney için lif çapları yaklaşık 100 lif kullanılarak, ImageJ programı ile hesaplanmıştır. Ortalama çaplar ve standart sapma belirlenmiştir.

4.2.2. Nar çekirdeği yağının nanoenkapsülasyonu

Çalışmanın bu aşamasında dekstran ve jelatinden üretilen nanoliflere, elektrospin yöntemiyle nar çekirdeği yağının nanoenkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir.

Çözeltilerin hazırlanması

Enkapsülasyon için belirlenen P30D50 çözeltisinin içerisine Çizelge 4.2'deki gibi %10, %20 ve %30 derişimlerde NÇY eklenerek oda sıcaklığında 600 rpm'de yaklaşık 2 saat karıştırılarak nar çekirdeği yağı polimer çözeltisine enkapsüle edilmiştir.

Çizelge 4.2. Polimer çözeltisi içerisindeki nar çekirdeği yağı derişimi ve miktarları

Numune adı	Polimer derişimi (%)	NÇY derişimi (%)	Polimer miktarı (g)	NÇY miktarı (g)
P30N10	30	10	6	0,6
P30N20	30	20	6	1,2
P30N30	30	30	6	1,8

Çözeltilerin karakterizasyonu

Polimerler ve NÇY ile hazırlanan çözeltiler için viskozite, iletkenlik ve yüzey gerilim ölçümleri yapılmıştır.

Bu ölçümler 4.2.1. çözelti karakterizasyonu prosedürü ile aynı şekilde yapılmıştır.

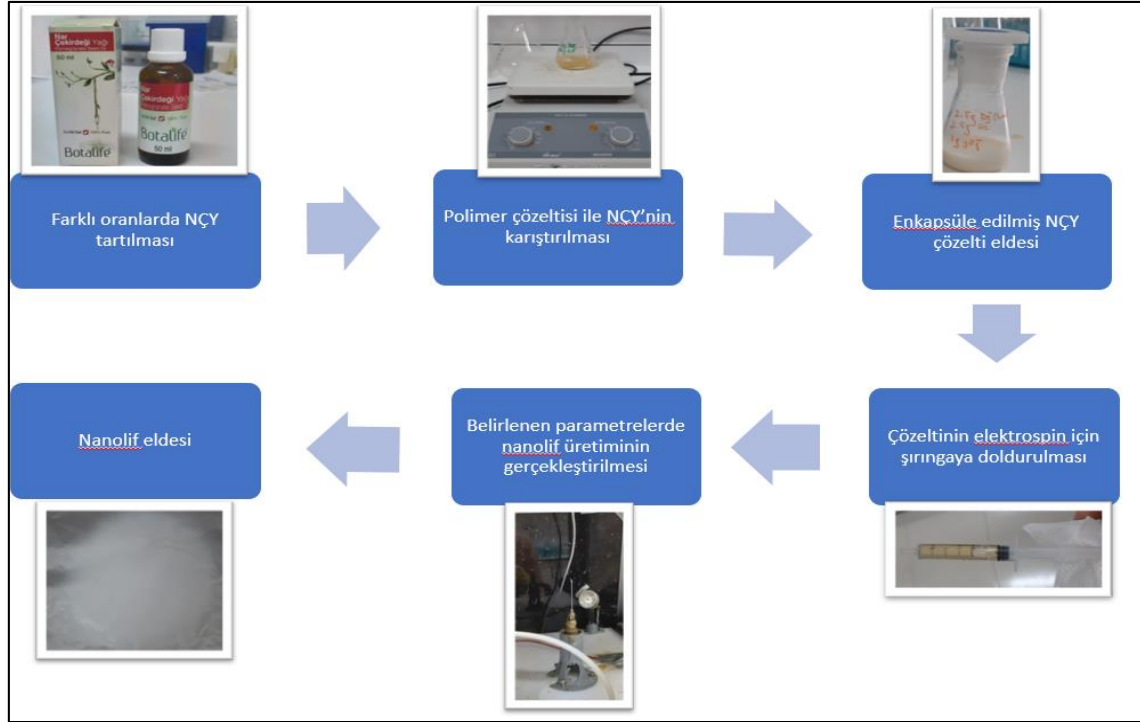
Elektrospin yöntemiyle nanolif üretimi

Elde edilen çözeltilerden elektrospin yöntemi için uygun parametreler kullanılarak lif üretimi gerçekleştirilmiştir.

Prosedür Özeti

1. Belirlenen derişim oranlarına göre farklı miktarlarda NÇY tartılır.
2. Tartılan NÇY P30D50 çözeltisi ile ısıtıcılı mikserde yaklaşık 2 saat karıştırılır.
3. Elde edilen çözeltilerden elektrospin işleminden önce 5 ml'lik şırıngalara çekilir.
4. Belirlenen parametrelerde elektrospin uygulaması yapılır.
5. Üretilen lifler alüminyum tabaka üzerinde toplanır.

NÇY'nin nanoenkapsülasyon prosedürü akış şeması Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Nar çekirdeği yağının nanoenkapsülasyon işlemi akış şeması

Nanoliflerin morfolojik karakterizasyon

Bu ölçümler 4.2.1. nanoliflerin morfolojik karakterizasyonu prosedürü ile aynı şekilde yapılmıştır.

ATR-FTIR analizi

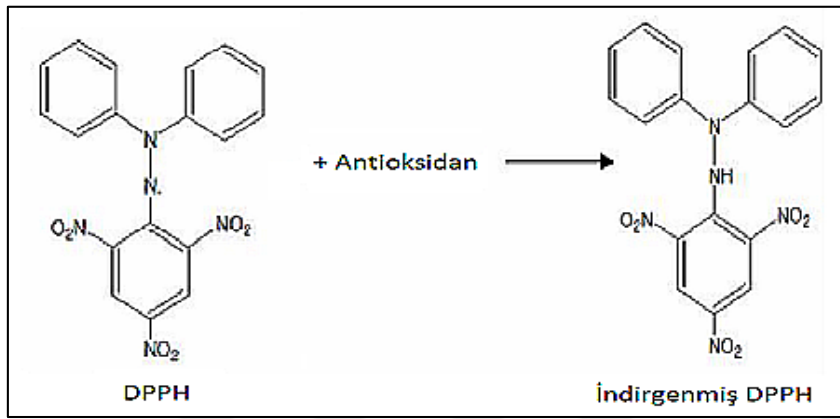
Üretilen liflerin ve NÇY'nin fonksiyonel grup analizleri için ATR-FTIR (Perkin Elmar Spectrum 100, Hollanda) spektrofotometresiyle $600-4000\text{ cm}^{-1}$ arası numuneler taranarak incelenmiştir. Yapılan her ölçüm 4 cm^{-1} çözünürlükte yaklaşık 32 taramaya aittir.

DPPH radikali giderme aktivitesi hesabı

Üretilen her malzeme için DPPH radikali giderme aktivitesi hesabı 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) deneme metodu kullanılarak hesaplanmıştır [69]. Bu çalışmada, NÇY ve enkapsüle edilmiş NÇY liflerinin DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri karşılaştırılmıştır. Bu sonuçlara göre antioksidan etkinlikleri yorumlanmıştır.

Prosedür ve hesaplama

DPPH serbest bir radikaldır. Bu yöntemde antioksidan madde DPPH radikaline proton vererek çözeltinin indirgenmesine sebep olur ve çözeltinin sahip olduğu mor renk açık sarıya döner. UV-spektrofotometre ile 517 nm’de yapılan absorbans ölçümlerine göre DPPH radikali giderme aktivitesi hesaplanır. DPPH çözeltisinin renginin mordan sarıya dönmesi antioksidan maddenin varlığını gösterir, bu renk ne kadar açık olursa antioksidan etkinlik o kadar fazladır [70].



Şekil 4.3. DPPH radikali ve antioksidan madde ile indirgenme reaksiyonu

DPPH çözeltisi hazırlamak için 0,0012 gr DPPH balon jojede metanol ile 50 ml' ye tamamlanır. Hazırlanan DPPH çözeltisi folyo ile sarılıp buzdolabında bekletilir.

P30N10, P30N20 ve P30N30 nanoliflerinden 100 mg tartılır ve 4 ml DPPH çözeltisi eklenir. Aynı işlem NÇY için de tekrarlanır. DPHH çözeltisi ile metanol çözeltisinin birbirleriyle etkileşiminin gerçekleşmesi için yarım saat karanlık bir ortamda bekletilir. Ardından 517 nm’de absorbans değerleri ölçülerek %DPPH giderme aktivitesi değerleri hesaplanır. Ölçülen absorbans değerleri EK-1’de verilmiştir [69].

$$\%DPPH \text{ Giderme Aktivitesi} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (4.1)$$

A_0 : kontrol reaksiyonunun absorbans değeri

A_1 : numunenin absorbans değeri

Enkapsülasyon verimi hesabı

Enkapsülasyon verimi, enkapsülasyon kalitesi hakkında bilgi veren bir parametredir. Yapılan çalışmada, P30N10, P30N20 ve P30N30 nanoliflerinin enkapsülasyon verimi hesaplanmıştır.

Enkapsülasyon verimi hesabı, Moomand ve Lim (2014)'in yaptığı çalışmadaki metoda göre yapılmıştır. Bu metot enkapsüle edilememiş ekstrakt miktarına bağlıdır [71].

Prosedür ve hesaplama

Öncelikle 6 tane test tüpünün içerisine P30N10, P30N20 ve P30N30 nanolifler sırayla konulur. Ardından her bir test tüpüne 2,5 ml hekzan eklenir ve yaklaşık 30 saniye bekletildikten sonra lifler sırayla test tüplerinden çıkarılır. Bu sırada liflerin içerisindeki enkapsüle edilememiş NÇY'nin, hekzan içerisinde çözülmesi beklenir. Daha önceden darası alınmış olan 6 tane beherin içerisine test tüplerinde kalan hekzan eklenir ve 70°C'de etüvde sabit tartıma gelene kadar bekletilir. Sabit tartıma geldikten sonra alınan sonuçlara göre enkapsülasyon verimi hesaplanır. Sonuçların doğruluğunu kesinleştirmek için çalışma iki kez tekrarlanmıştır.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1. Dekstran-Jelatin Nanolifleri

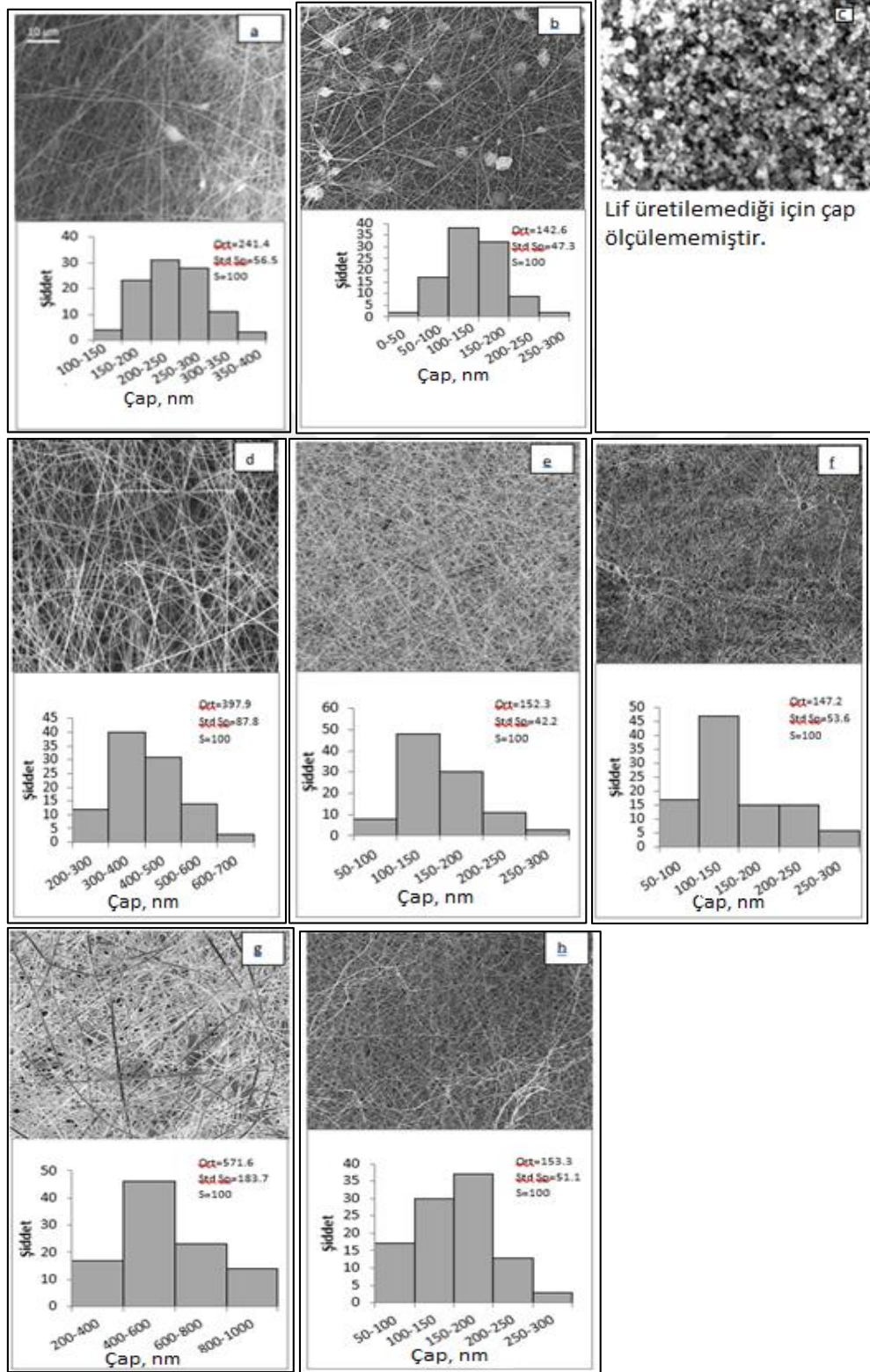
5.1.1. Polimer nanoliflerinin morfolojik karakterizasyonu

Elektrospın yöntemiyle üretilen nanoliflerin morfolojik karakterini etkileyen birçok parametre vardır. Uygun nanolif üretimini gerçekleştirebilmek için optimum koşulların sağlanması önemlidir.

Bu çalışma ile üretilen nanoliflerin SEM görüntüleri alınmış ve sonuçlar Resim 5.1.'de verilmiştir. Aynı resim üzerinde liflere ait ortalama yarıçap dağılımı ve ortalama yarıçap değerleri de verilmiştir. Buna göre, Resim 5.1. a, b ve c 'deki SEM görüntülerine sahip olan çözeltilerin polimer derişimi diğer çözeltilere göre daha düşüktür. SEM görüntüleri incelendiğinde bu çözeltilerle üretilen liflerin boncuklu bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. Ancak, Resim 5.1. d, e ve f'deki SEM görüntülerinde sahip liflerin üretildiği çözeltilerde polimer derişimi daha yüksektir ve boncuksuz yapıda lif üretimi yapılabilmektedir. Ayrıca ortalama yarıçap değerlerine bakıldığında, artan çözelti derişimi ile ortalama lif çaplarının da arttığı gözlemlenmiştir. Farklı dekstran-jelatin derişimlerine göre hazırlanan çözeltilerde, dekstran ve jelatin oranlarının da lif çaplarını etkilediği görülmektedir. Örneğin Resim 5.1. d'de çözeltideki dekstran oranı %20, jelatin oranı %80 ve liflerin ortalama yarıçapı $397,9 \pm 87,8$ nm iken, Resim 5.1.e'de dekstran oranı %50, jelatin oranı %50 ve liflerin ortalama yarıçapı $152,3 \pm 42,2$ nm'dir. Resim 5.1. f'de ise dekstran oranı %80, jelatin oranı %20 ve liflerin ortalama yarıçapı $147,2 \pm 53,6$ nm'dir. Resim 5.1.g ve Resim 5.1.h kıyaslandığında her iki çözelti içinde toplam polimer derişimi aynı ancak dekstran-jelatin oranları farklıdır. Jelatin oranı fazla, dekstran oranı az olan çözeltiden elde edilen liflerin (Resim 5.1.h) ortalama yarıçapları Resim 5.1.g'deki liflerin ortalama yarıçaplarından daha büyüktür. Bu durum, çözeltideki dekstran ve jelatin oranlarının üretilen nanolifin yarıçaplarının büyüklüğünü etkilediğini göstermiştir.

P35D20 çözeltisinden lif üretimi yapılamadığı için, bu çözeltinin SEM görüntüsü bulunmamaktadır. Resim 5.1.c'de lif üretiminin yapılamadığı ve boncuklu yapı oluştuğu görülmektedir. Bu yüzden bu numune için yarıçap ölçümü de yapılamamıştır.

Elde edilen SEM görüntülerinden Resim 5.1.e 'de en düzgün (bitsiz), ortalama çapı en düşük olan liflerin elde edildiği ve enkapsülasyon için en ideal çözelti kombinasyonunun bu olduğu görülmektedir.



Resim 5.1. Dekstran-jelatin polimer nanoliflerinin SEM görüntüleri; a) P25D20, b) P25D50, c) P25D80, d) P30D20, e) P30D50, f) P30D80, g) P35D50 ve h) P35D80

Çizelge 5.1’de elde edilen SEM görüntülerine göre polimer nanoliflerinin ortalama yarıçap (nm) değerleri verilmiştir.

Çizelge 5.1. Dekstran-jelatin-asetik asit nanoliflerinin ortalama çap (nm) değerleri

Numune	Ortalama çap (nm)
P25D20	241,4 ± 56,5
P25D50	142,6 ± 47,3
P25D80	Lif üretilmemiştir.
P30D20	397,9 ± 87,8
P30D50	152,3 ± 42,2
P30D80	147,2 ± 53,6
P35D20	571,6 ± 183,7
P35D50	153,3 ± 51,1
P35D80	Lif üretilmemiştir.

5.1.2. Polimer çözeltisi karakterizasyonu

Viskozite

Elektrospın yöntemiyle nanolif üretimi için kritik olan parametrelerden birisi de kullanılan çözeltilerin viskozite değerleridir. Literatürde yapılan çalışmalarda, genellikle düşük viskozite ve çok yüksek viskozite değerine sahip olan çözeltilerle boncuksuz lif üretimi yapılamadığı görülmüştür [72]. Lif üretimini gerçekleştirebilmek için uygun viskozite değerinin belirlenmesi gerekmektedir.

Bir akışkanın reolojik olarak davranış biçimi zamana karşı kayma hızına göre belirlenir. Temel olarak iki tip akışkan vardır. Bunlar; newtonyan ve newtonyan olmayan akışkanlardır. Bu çalışmada, viskozite hesaplamaları, Power Law modellemesine göre yapılmıştır. Bu modelleme newtonyan ve newtonyan olmayan akışkanların her ikisi için de viskozite hesaplamasında kullanılan bir yöntemdir. Viskozite hesaplamaları aşağıdaki denkleme göre yapılmıştır.

$$\mu = K\dot{\gamma}^{n-1} \quad (5.1)$$

Bu denklemde $\dot{\gamma}$ kayma hızını (1/s), K tutarlılık endeksini (mPa.s⁻ⁿ), n akışkanın sapma derecesini, μ ise akışkanın görünür viskozitesini (mPa.s) gösterir.

Bu çalışmada kullanılan çözeltilerin viskozitelerini etkileyen parametreler asetik asit çözeltisinin miktarı ve dekstran-jelatin oranlarıdır. n değerlerine göre çözeltilerin çoğunun newtonyan akışkan özelliği gösterdiği belirlenmiştir ($n=1,00 \pm 0,125$). Ancak, P35D20 ve P35D80 çözeltilerinin n değerinin <1 olduğu ve bu çözeltilerin psödoplastik akışkan davranışı gösterdiği gözlemlenmiştir. Viskozite ölçümleri üç kez tekrarlanarak yapılmış ve ortalama değer hesaplanmıştır.

Yapılan çalışmada elde edilen dekstran-jelatin çözeltilerinin viskozite ölçüm sonuçları Çizelge 5.2’de verilmiştir.

Çizelge 5.2. Dekstran-jelatin-asetik asit çözeltisi viskozite ölçüm sonuçları

Numune	Viskozite (μ) (mPa.s)
P25D20	$231 \pm 0,003$
P25D50	$351 \pm 0,002$
P25D80	$826 \pm 0,070$
P30D20	$3570 \pm 0,062$
P30D50	$1085 \pm 0,095$
P30D80	$1115 \pm 0,050$
P35D20	$1252 \pm 0,000$
P35D50	$1351 \pm 0,694$
P35D80	$1426 \pm 0,443$

P30D20 çözeltisi için yapılan viskozite ölçümü hatalı sonuç verdiği için değerlendirmeye alınmamıştır.

Literatürde sadece dekstran ile yapılan çalışmalar incelendiğinde, çözeltideki dekstran oranının artmasının viskoziteyi arttırdığı tespit edilmiştir [56]. Dekstranın (moleküler ağırlığı: 64000-76000Da) sulu çözeltisinin ağırlıkça %40-%56 arasında farklı derişimlerde viskozite değerlerinin hesaplandığı bir çalışmada, çözelti derişiminin artmasıyla viskozite değerinin arttığı gözlemlenmiştir. %50 çözelti derişimde viskozite değeri 2021 mPa.s olarak hesaplanmıştır [73].

Sadece jelatin ile yapılan bir çalışmada; jelatinin ağırlıkça 1-20 derişimlerde hazırlanan sulu çözeltilerinin viskozite değerleri hesaplanmıştır. Bu çalışmada çözelti derişimi %3 iken viskozite değeri 2 ila 20 cP arasında değişiklik gösterirken, derişim %20 olduğunda bu değer 46-480 cP’ ye yükselmiştir. Bu çalışmada da beklenen bir sonuç olarak çözelti derişimi arttıkça viskozite değeri de artış göstermiştir [74].

Yapılan çalışmada, elde edilen verilere göre; toplam polimer derişimi arttıkça çözeltinin viskozitesi artmıştır. Literatür ile karşılaştırıldığında bu beklenen bir durumdur [10]. Ayrıca toplam polimer derişimi aynı, dekstran ve jelatin oranları değişen çözeltiler değerlendirildiğinde çözeltideki dekstran oranı arttıkça viskozite değerinin de arttığı görülmektedir. Bu durum, yukarıdaki literatür örneklerini destekleyen bir sonuçtur. Ayrıca, dekstran ile yapılan çalışmalarda çözeltideki dekstran oranının artmasının viskoziteyi arttırdığını gösteren farklı çalışmalar da mevcuttur [56].

Yapılan çalışmada enkapsülasyon işlemi için uygun olarak belirlenen çözeltinin viskozite değeri $1085 \pm 0,095$ mPa.s'dir.

Yüzey gerilimi

Hazırlanan çözeltinin yüzey gerilimi, elektrospin yöntemiyle üretilen nanoliflerin morfolojik karakterizasyonu üzerinde etkisi olan önemli parametrelerden biridir. Bu çalışmada elde edilen dekstran-jelatin çözeltilerinin yüzey gerilimi ölçüm sonuçları Çizelge 5.3'de verilmiştir.

Çizelge 5.3. incelendiğinde, polimer derişiminin artmasıyla yüzey gerilimlerinin arttığı gözlemlenmiştir. Bunun muhtemel sebebinin ise, çözelti derişimindeki artışın sıvı/hava ara yüzeyindeki su moleküllerinin kohezyon kuvvetini arttırması olduğu düşünülmektedir [58].

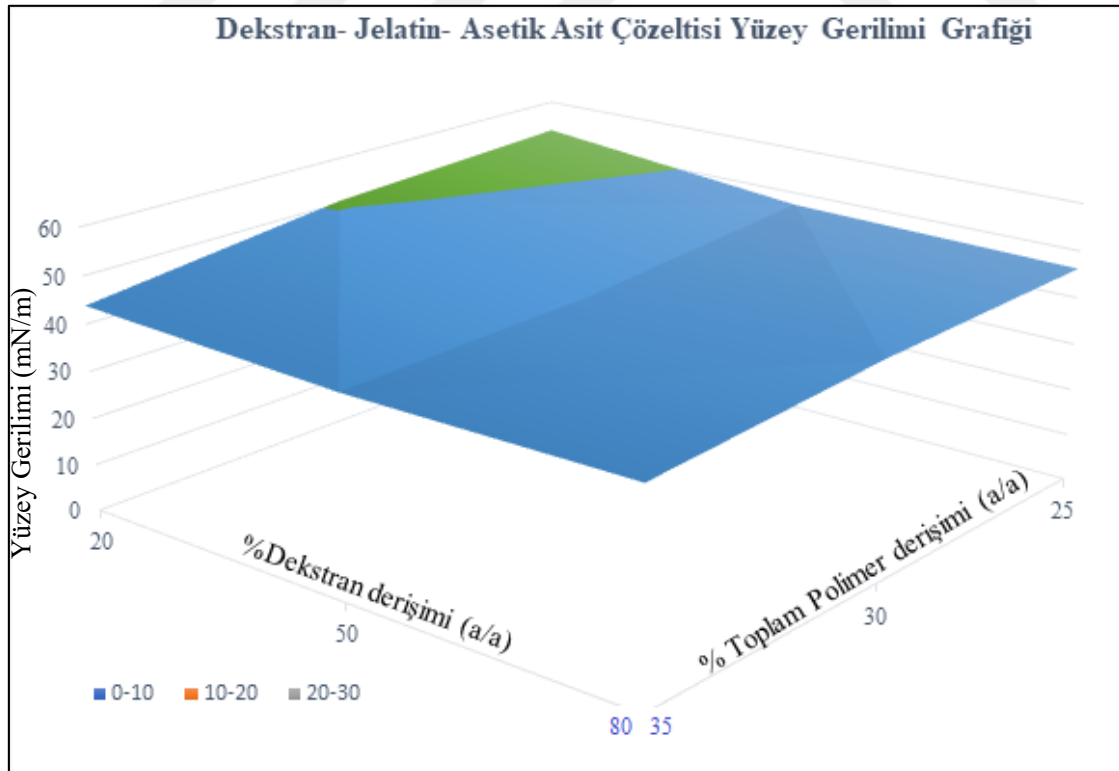
Çizelge 5.3.'de görüldüğü gibi dekstran oranının en düşük, jelatinin oranının en yüksek olduğu çözeltilerde yüzey gerilimi ölçümleri yüksektir. Örneğin; P35D20 çözeltisinin yüzey gerilimi değeri $53,2 \pm 0,60$ mN/m iken P35D80 çözeltisinin yüzey gerilim değeri $46,2 \pm 0,20$ mN/m'dir. Benzer farklar diğer iki polimer çözelti derişimi için de geçerlidir.

Literatürde sadece dekstran ile yapılan çalışmalarda dekstran oranı arttıkça yüzey geriliminin azaldığı gözlemlenmiştir [76]. Ancak bu çalışmada, yüzey gerilimini en çok etkileyen parametrenin jelatin miktarı olduğu görülmüştür. Çünkü diğer çalışmaların aksine, bu çalışmada çözeltideki polimer miktarının artmasıyla yüzey geriliminin arttığı görülmüştür.

Çizelge 5.3. Dekstran-jelatin-asetik asit çözeltisi yüzey gerilimi ölçüm sonuçları

Numune	Yüzey Gerilimi (mN/m)
P25D20	$43,8 \pm 0,20$
P25D50	$41,8 \pm 0,60$
P25D80	$42,3 \pm 0,20$
P30D20	$50,5 \pm 0,40$
P30D50	$43,0 \pm 0,40$
P30D80	$45,2 \pm 0,60$
P35D20	$53,2 \pm 0,60$
P35D50	$47,3 \pm 0,50$
P35D80	$46,2 \pm 0,20$

Şekil 5.1’ de tabloda verilen değerlerin 3 boyutlu grafik üzerinde gösterimi mevcuttur. Grafik dekstran derişimi, toplam polimer derişimi ve yüzey gerilim ölçüm sonuçlarını bir arada göstermektedir. Grafikteki tepe noktasında da görüldüğü gibi en yüksek yüzey gerilimi değerine sahip olan çözelti %30 toplam polimer derişimindeki P30D20 çözeltisidir. Bu grafikte de çözeltideki dekstran oranının artmasının yüzey gerilimini azalttığı, toplam polimer derişiminin artmasının ise yüzey gerilimini arttırdığı daha net gözlemlenebilmektedir.



Şekil 5.1. % Dekstran derişimi (a/a) - % toplam polimer derişimi - yüzey gerilimi değerleri 3 boyutlu grafikte gösterimi

Nanolif üretimi için en uygun çözelti olarak belirlenen P30D50 çözeltisinin yüzey gerilim değeri ($43,0 \pm 0,40$ mN/N) elde edilen diğer ölçüm sonuçlarına göre ne çok yüksek ne de çok düşük bir değerdir. Ayrıca viskozite ve yüzey gerilimi arasındaki ilişkiye bakıldığında bu çözelti için literatürdeki çalışmaları destekler nitelikte bir durum söz konusudur [66]. Genel olarak deneysel çalışmalara bakıldığında viskozite değeri yüksek yüzey gerilimi değeri düşük olan bir çözeltiden boncuksuz, homojen dağılımlı ve lif çapı en küçük nanolif üretimi gerçekleştirilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada sulu çözeltideki dekstran derişimi arttıkça viskozite değeri artarken yüzey gerilimi değeri azalma göstermektedir [73].

Elektriksel iletkenlik

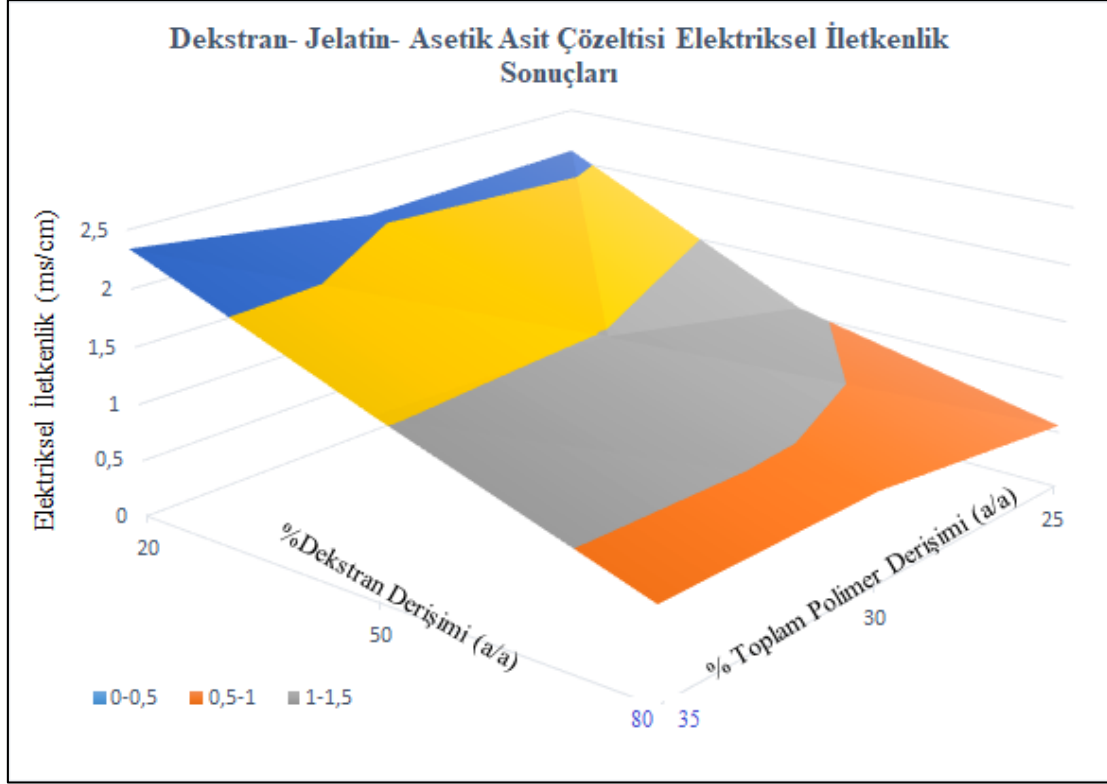
Çözelti iletkenliği içerdği polimerlerin türlerine, çözücü türüne ve eklenen tuz türüne göre değişiklik gösterir [6]. Bu çalışmada kullanılan polimerler doğal polimerlerdir. Doğal polimerler yapay polimerlere göre elektriksel bir alanda daha zayıf lifler oluşturur [68]. Çözücü olarak kullanılan asetik asit ile çözelti iletkenliğinin artırılması amaçlanmıştır.

Çizelge 5.4.'de çalışmada kullanılan çözeltilerin elektriksel iletkenlik değerleri verilmiştir. Bu değerlere göre aynı polimer derişimindeki; P25D20 çözeltisinin elektriksel iletkenlik değeri $2,34 \pm 0,05$ ms/cm iken P25D80 çözeltisinde bu değer $0,79$ ms/cm'ye düştüğü, P30D20 çözeltisinin elektriksel iletkenlik değeri $2,04$ ms/cm iken P30D80 çözeltisinde bu değer $0,80$ ms/cm'ye düştüğü ve P35D20 çözeltisinde için $2,10$ ms/cm olan elektriksel iletkenlik değerinin P35D80 çözeltisinde $0,56$ ms/cm'ye düştüğü görülmüştür. Sonuç olarak; çözeltilerde dekstran oranı arttıkça elektriksel iletkenlik değerleri azalmıştır.

Çizelge 5.4. Dekstran-jelatin-asetik asit çözeltisi elektriksel iletkenlik ölçüm sonuçları

Numune	Elektriksel İletkenlik (ms/cm)
P25D20	$2,34 \pm 0,05$
P25D50	$1,54 \pm 0,02$
P25D80	$0,79 \pm 0,00$
P30D20	$2,04 \pm 0,00$
P30D50	$1,48 \pm 0,00$
P30D80	$0,80 \pm 0,00$
P35D20	$2,10 \pm 0,00$
P35D50	$1,06 \pm 0,00$
P35D80	$0,56 \pm 0,00$

Şekil 5.2’de tabloda verilen değerler 3 boyutlu grafik üzerinde gösterilmiştir. Grafikte incelenen değerler; dekstran derişimi, toplam polimer derişimi ve elektriksel iletkenlik ölçüm sonuçlarıdır. Grafikteki tepe noktası değeri toplam polimer derişiminin %25 dekstran oranının ise %20 olduğu P25D20 çözeltisine aittir. Minimum değerin ise P35D80 çözeltisine ait olduğu net bir şekilde görülmektedir.



Şekil 5.2. %Dekstran derişimi (a/a) - % toplam polimer derişimi - elektriksel iletkenlik değerleri 3 boyutlu grafikte gösterimi

Yapılan ölçüm sonuçlarına göre; belirlenen en uygun çözelti için, sahip olduğu iletkenlik değerinin ortalama viskozite, derişim değerleriyle birlikte yüksek bir değere sahip olduğu görülmektedir. Literatür örneklerinde nanolif üretimi için kullanılan yüksek iletkenlik özelliğine sahip olan çözeltiden üretilen liflerin boncuksuz ve homojen yapılı olduğu görülmüştür [68].

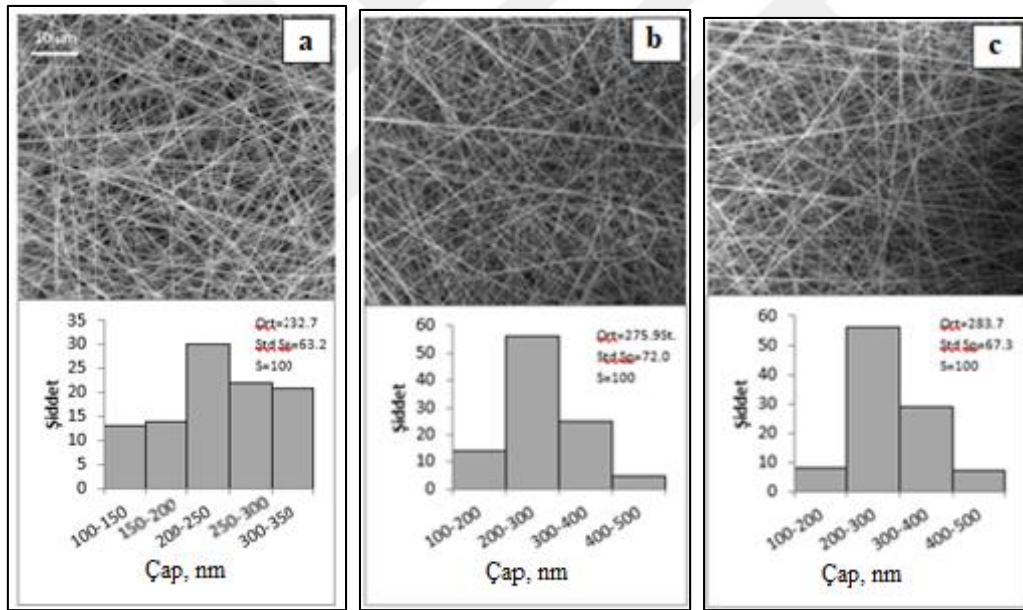
Bu çalışmada, nanolif üretimi için kullanılan çözeltilerde, elektriksel iletkenliği sağlayan etkilerin asetik asit çözücüsü ve jelatin oranlarındaki değişimler olduğu görülmüştür.

5.2. Nar Çekirdeği Yağı Nanolifleri

5.2.1. Nar çekirdeği yağı nanolif karakterizasyonu

SEM

Farklı oranlarda nar çekirdeği yağının uygun polimer çözeltisine eklenmesiyle elde edilen karışımlardan üretilen liflerin SEM görüntüleri Resim 5.2’de verilmiştir. Bu sonuçlara göre beklendiği gibi nar çekirdeği yağının derişiminin artması üretilen liflerin ortalama çaplarının da artmasına sebep olmuştur. Resim 5.2.a’daki liflerin ortalama çapları $232,7 \pm 63,2$ nm iken nar çekirdeği yağı derişiminin en fazla olduğu karışımdan elde edilen liflerin SEM görüntülerinde (Resim 5.2.c) ortalama çapların $283,7 \pm 67,3$ nm’ ye çıktığı görülmektedir.



Resim 5.2. P30D50 ve nar çekirdeği yapı karışımlarından üretilen nanoliflerin SEM görüntüleri; a) P30N10, b) P30N20, c) P30N30

Çizelge 5.5’de elde edilen SEM görüntülerine göre P30D50 ve NÇY karışımlarından üretilen nanoliflerin ortalama çap (nm) değerleri verilmiştir.

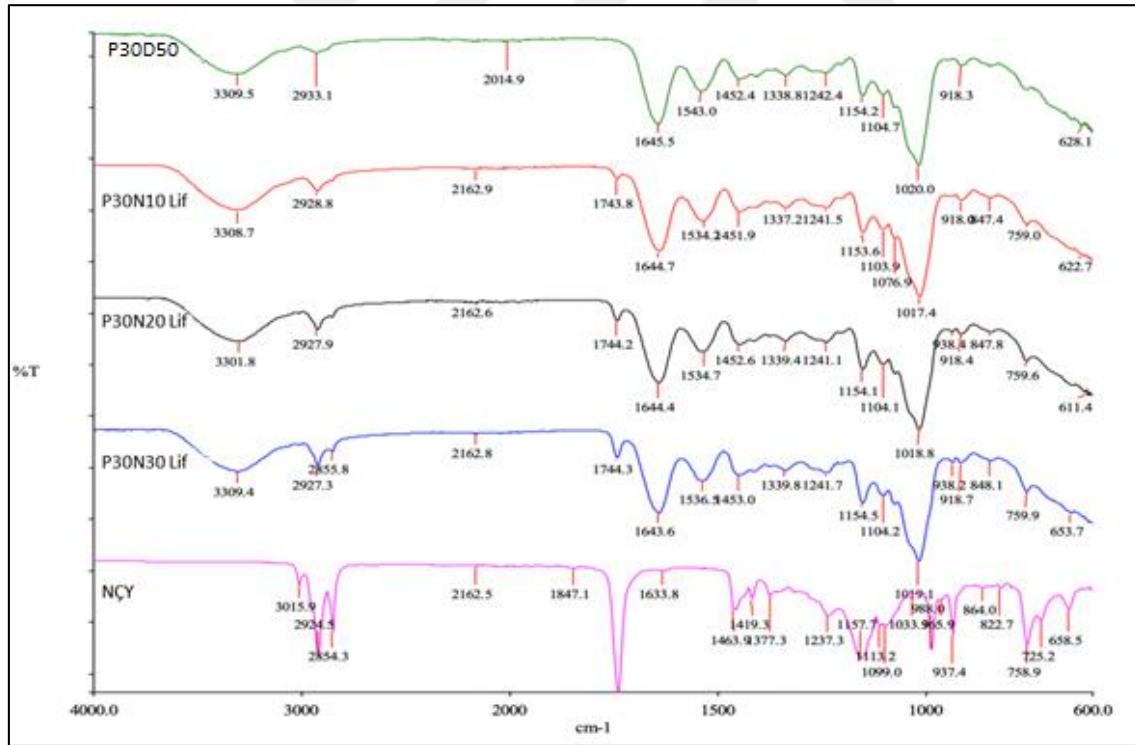
Çizelge 5.5. P30D50 ve nar çekirdeği yağı karışımlarından üretilen nanoliflerin ortalama çap (nm) değerleri

Numune	Ortalama çap (nm)
P30D50	241,4 ± 56,5
P30N10	232,7 ± 63,2
P30N20	275,9 ± 72,0
P30N30	283,7 ± 67,3

FTIR

Yapılan çalışmada enkapsülasyon işleminin uygun bir şekilde gerçekleştiğini gözlemleyebilmek için üretilen liflerin ve NÇY'nin geçirkenlik özelliklerini gösteren ATR-FTIR analizi yapılmıştır.

Şekil 5.3'de nanoliflerin ve NÇY'nin FTIR-ATR sonuçları verilmiştir.



Şekil 5.3. P30N10, P30N20, P30N30, P30D50 nanoliflerinin ve nar çekirdeği yağının FTIR-ATR sonuçları

P30D50 lifinin majör pikleri 3324,68 cm⁻¹ (C-H bağı), 1657,77 cm⁻¹ (C=O gerilme titreşmesi), 1542,77 cm⁻¹ (C=N bağı), 1025,94 cm⁻¹ (C-O bağı)'dir. P30N20 ve P30N30 liflerinin majör piklerinde ise bu piklerin dışında NÇY'ye ait karakteristik majör piklerini

içerdiği gözlemlenmiştir. NÇY'ye ait görülen bazı pikler; $2923,56\text{ cm}^{-1}$ (C-H gerilme titreşmesi), $1450,21\text{ cm}^{-1}$ (fenil) ve $1149,37\text{ cm}^{-1}$ (C-O)'dir.

Şekil 5.3.'de okunan piklere göre, %10 NÇY derişimindeki lif (P30N10) ile NÇY içermeyen lifin (P30D50) majör pikleri hemen hemen aynı aralıkta çıkmıştır. NÇY karakteristik pikleri P30N20 ve P30N30'da daha belirgin görülmektedir. Aynı zamanda piklerin yoğunluğu da sırasıyla P30N30, P30N20 ve P30N10 çözeltilerinde artış göstermiştir. Beklenildiği gibi bu sonuçlarda da NÇY derişimindeki artış ile pik yoğunluğu artmıştır.

DPPH radikali giderme aktivitesi hesabı

Yüzeylerde meydana gelen oksijen kaynaklı hasarların, substrat kompozisyonu, oksijen, prooksidanlar ve antioksidan aktivitesi gibi birçok sebebi vardır [69]. Kontrol edilmeyen oksidasyon, proteinlerle, nükleik asitlerle reaksiyona girerek hücrel hasara yol açabilir [69].

Anitoksidan aktivitesi tayini için kullanılan yöntemler in vitro ve in vivo olmak üzere temelde ikiye ayrılır [70]. Yapılan çalışmada kullanılan yöntem in vitro yöntemlerden birisi olan DPPH yöntemidir. Bu yöntemle hesaplanan DPPH radikali giderme aktivitesi kullanılan malzemenin antioksidan etkinliği hakkında bilgi verir. DPPH radikali giderme aktivitesi ne kadar yüksekse, antioksidan etkinliği de o kadar yüksektir [81].

DPPH radikali giderme aktivitesi hesaplamaları için $6\mu\text{M}$ DPPH'in derişiminde metanol çözeltisi kullanılmıştır. Absorbans ölçümleri oda sıcaklığında 517 nm 'de yapılmıştır.

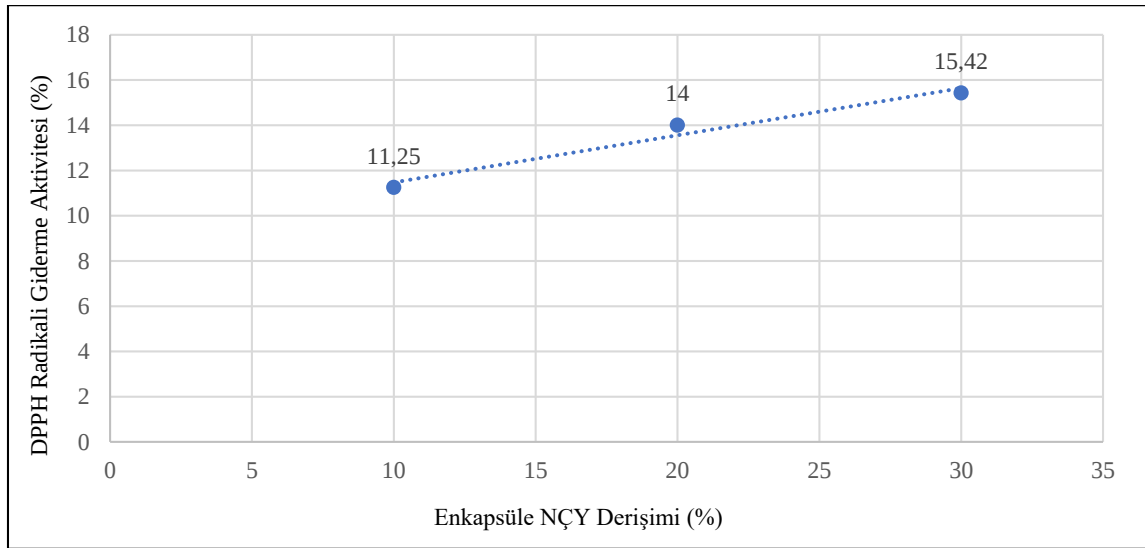
%DPPH radikali giderme aktivitesi hesaplamaları için kullanılan absorbans değerleri ve detaylı hesaplama işlemi EK-1. ve EK-2.'de verilmiştir.

Çizelge 5.6'de farklı oranlarda enkapsüle edilen NÇY-lif derişimleri ve DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri gösterilmektedir. NÇY derişiminin artmasıyla birlikte radikal giderme etkisinin de artması beklenen bir durumdur. Bu sonuç aynı zamanda artan NÇY derişimi ile birlikte antioksidan etkinliğinin de arttığını gösterir.

Çizelge 5.6. Dekstran-jelatin nanoliflerine enkapsüle edilen nar çekirdeği yağının %DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri

Numune Adı	%DPPH Radikali Giderme Aktivitesi
P30N10	11,25 ±1,78
P30N20	14,00 ±0,46
P30N30	15,42 ±1,06

Şekil 5.4’de NÇY/lif derişimine karşı %DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri gösterilmiştir. Bu grafiğe göre NÇY/lif derişimi arttıkça %DPPH radikali giderme aktivitesi de doğrusal olarak artış göstermektedir.



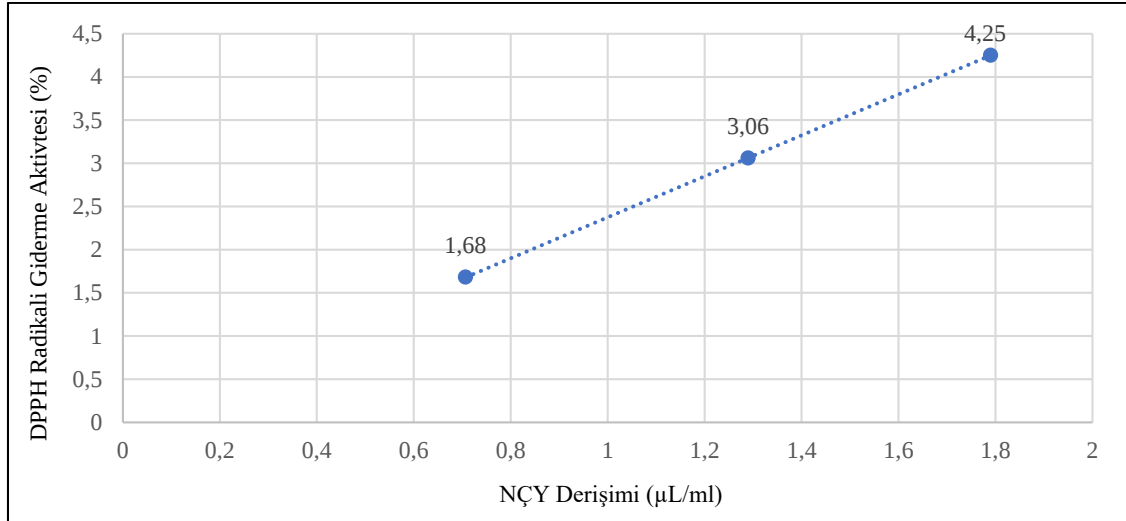
Şekil 5.4. Enkapsüle nar çekirdeği yağı derişimi-%DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçları

Çizelge 5.7’de %10, %20 ve %30 derişimlerde NÇY’nin %DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri verilmiştir.

Çizelge 5.7. Nar çekirdeği yağının %DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri

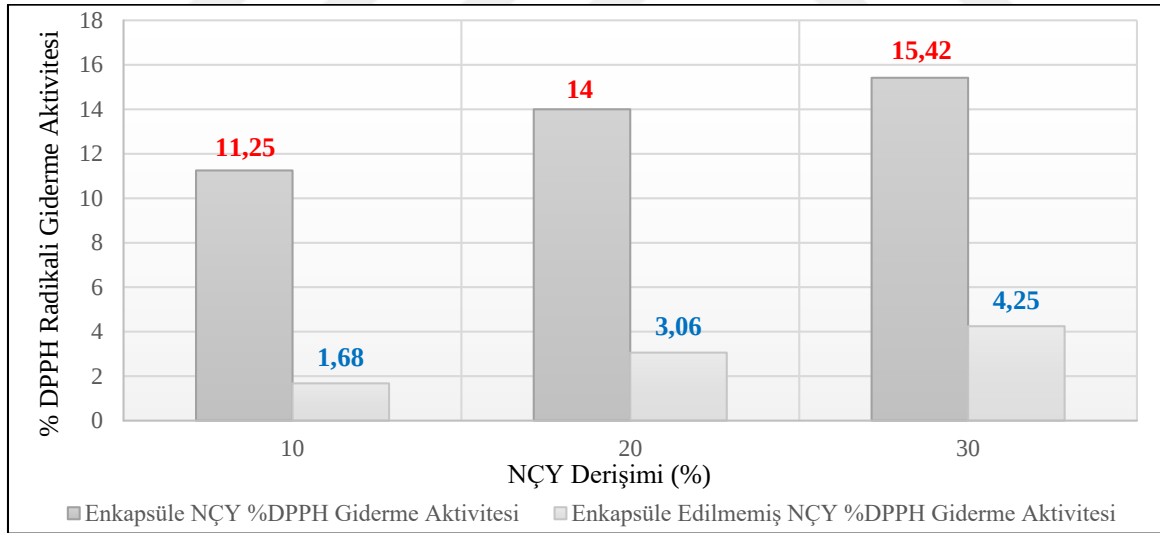
NÇY derişimi (%)	%DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri
10	1,68 ± 0,40
20	3,06 ± 0,73
30	4,25 ± 1,01

Şekil 5.5’de enkapsüle edilmemiş NÇY derişimine karşı %DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri gösterilmiştir. Grafikte de görüldüğü gibi NÇY derişiminin artışıyla %DPPH radikali giderme aktivitesi değeri de doğrusal bir artış göstermiştir.



Şekil 5.5. Enkapsüle edilmemiş nar çekirdeği yağı derişimi-%DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçları

Enkapsüle edilmemiş olan NÇY'nin DPPH radikali giderme aktivitesi değeri ile farklı oranlarda enkapsüle edilmiş olan NÇY'nin DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır. Bu sonuçlara göre antioksidan etkinlikleri yorumlanmıştır



Şekil 5.6. Enkapsüle nar çekirdeği yağı ile enkapsüle edilmemiş nar çekirdeği yağının %DPPH radikali giderme aktivitesi karşılaştırma sonuçları

Elde edilen verilere bakılarak, DPPH metoduna göre; P30N10 nanolifinin DPPH radikali giderme aktivitesi, 6,70 kat, P30N20 nanolifinin DPPH radikali giderme aktivitesi 4,57 kat ve P30N30 nanolifi için bu değer 3,63 kat artmıştır.

Bu sonuçlar, aynı zamanda nanoenkapsülasyon ile NÇY'nin antioksidan etkinliğinin de artmış olduğunu gösterir. Ayrıca, NÇY derişimi arttıkça antioksidan etkinlik de artmıştır.

Enkapsülasyon verimi

Bu çalışma ile enkapsülasyon verimi hesabı yapılarak, NÇY'nin, polimerlerden üretilen nanoliflere uygun bir şekilde enkapüsüle edildiği bilgisi desteklenmiştir.

Enkapsülasyon verimi hesabı Eşitlik (5.1) kullanılarak yapılmıştır.

$$\%EV = \frac{\text{lif içerisindeki NÇY miktarı} - \text{enkapsüle edilmemiş NÇY miktarı}}{\text{lif içerisindeki NÇY miktarı}} \times 100 \quad (5.2)$$

Yapılan tartım sonuçlarına göre hesaplanan enkapsülasyon verimi (%EV) değerleri sırasıyla; %92,07, %92,36 ve %91,97 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar NÇY'nin P30D50 nanolifine oldukça verimli bir şekilde enkapüsüle edildiğini göstermektedir.

Lif içerisindeki NÇY miktarı teorik olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada enkapsülasyon verimi için kullanılan yöntemin literatür örneğinde, balık yağının farklı derişimlerde ve çözücülerde (etanol ve izopropanol) hazırlanan zein polimerine nanoenkapsülasyonu yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre enkapsülasyon verimi değerleri farklı derişimler için %92 ve %96 arasında değişiklik göstermiştir [71].

Enkapsülasyon verimi için yapılan tartım ve hesaplamalar EK-3'te detaylı bir şekilde gösterilmiştir.

5.2.2. Nar çekirdeği yağı çözelti karakterizasyonu

Viskozite

NÇY ve polimer çözeltisi karışımı için viskozite ölçümleri yapılmış ve sonuçlar Çizelge 5.9'da verilmiştir.

Polimerler ile hazırlanan çözeltilere NÇY'nin eklenmesi ile çözelti derişimi ve buna bağlı olarak viskozitesi artış göstermiştir.

Çizelge 5.8. Nar çekirdeği yağı ve polimer çözeltisi karışımı viskozite ölçüm sonuçları

Numune Adı	Viskozite (μ) (mPa.s)
P30D50	$1085 \pm 0,095$
P30N10	$1134 \pm 0,421$
P30N20	$1176 \pm 0,143$
P30N30	$1229 \pm 0,204$

Çizelge 5.8’de görüldüğü gibi, P30D50 çözeltisine eklenen NÇY çözeltinin viskozitesini arttırmıştır. NÇY ile hazırlanan çözeltilerin viskozite değerleri arasında ciddi bir artış görülmemiştir ancak çözelti derişimindeki artış ile viskozite değerinin de arttığı tespit edilmiştir.

NÇY ile hazırlanan çözeltilerden P30N10 ve P30N30 çözeltilerinin n değerinin <1 olduğu ve bu çözeltilerin psödoplastik akışkan davranışı gösterdiği gözlemlenmiştir. P30N20 çözeltisi ise newtonyan akışkan özelliği göstermiştir. Viskozite ölçümleri bu çözeltiler için de üç kez tekrarlanarak yapılmış ve ortalama değer hesaplanmıştır.

Yüzey gerilimi

NÇY ve polimer çözeltisi karışımı için yüzey gerilimi ölçümleri yapılmış ve sonuçlar Çizelge 5.10’da verilmiştir.

Çözeltilerin yüzey gerilimi değerleri viskozite değerleri ile ters orantılı olarak bir artış göstermiştir. En yüksek viskozite değerine sahip olan P30N20 çözeltisinin yüzey gerilimi değeri en düşüktür. Literatürde yapılan bazı çalışmalarda da viskozite artışı ile yüzey geriliminin azaldığı bilgisi desteklenmektedir [6]. P30D50 çözeltisi için ise bu durum tam tersi olmuştur. Bunun sebebinin ise bu çalışmada kullanılan dekstran polimerinin çözeltinin viskozite ve yüzey gerilimine etkisi olduğu düşünülmüştür.

Çizelge 5.9. Nar çekirdeği yağı ve polimer çözeltisi karışımı yüzey gerilimi ölçüm sonuçları

Numune	Yüzey Gerilimi (mN/m)
P30D50	$43,0 \pm 0,4$
P30N10	$46,3 \pm 0,5$
P30N20	$48,5 \pm 0,0$
P30N30	$48,2 \pm 0,2$

Çizelge 5.9’da NÇY’nin eklenmesiyle çözeltinin yüzey geriliminin arttığı görülmektedir. En yüksek yüzey gerilimi değerine sahip çözelti P30N20 çözeltisidir. P30N10 çözeltisi ise NÇY eklenmiş çözeltiler arasında en düşük yüzey gerilimi değerine sahiptir. Bu durum viskozite ve çözelti derişimi ile ilişkilendirilebilir.

Elektriksel iletkenlik

Çözeltilerin elektriksel iletkenlik özelliği üzerinde etkili olan parametrelerin arasında derişim ve kullanılan polimerin türü olduğu yukarıda örnekler ile açıklanmıştır. Bu çalışmanın sonucu da bu açıklamaları destekler niteliktedir.

NÇY ve polimer çözeltisi karışımı için elektriksel iletkenlik ölçüm sonuçları Çizelge 5.10’da verilmiştir.

NÇY çözeltileri için elde edilen bu bulgulara göre; viskozite ve yüzey gerilimi çözelti derişimiyle doğrusal bir değişim göstermemektedir. Ancak bu iki parametre birbirine ters orantılı değerlere sahiptir. Viskozite değeri en yüksek olan P30N10 çözeltisi en düşük yüzey gerilimi değerine sahipken, viskozite değeri en düşük olan P30N20 çözeltisi en yüksek yüzey gerilimi değerine sahiptir. Çözeltilerin elektriksel iletkenlik değerleri ise derişimin artmasıyla doğrusal bir azalma göstermektedir.

Çizelge 5.10. Nar çekirdeği yağı ve polimer çözeltisi karışımı elektriksel iletkenlik ölçüm sonuçları

Numune	Elektriksel İletkenlik (ms/cm)
P30D50	1,48 ± 0,00
P30N10	1,37 ± 0,00
P30N20	1,21 ± 0,00
P30N30	1,20 ± 0,00

Çizelge 5.11’de NÇY derişiminin artmasıyla elektriksel iletkenliğin azaldığı görülmektedir. NÇY ile hazırlanan çözeltiler arasında en düşük elektriksel iletkenlik değeri P30N30 çözeltisinde görülürken bu değer P30N10 çözeltisi için en yüksektir.

6. SONUÇLAR

Yapılan tez çalışmasında elektrospin yöntemi ile enkapsülasyon, bu yöntemde etkili olan temel parametreler ve nanoteknolojinin gıda endüstrisine sağlayabileceği katkılara yer verilmiştir.

Nanolif üretimi için kullanılan biyopolimerlerden, dekstran biyoteknoloji, biyoayırma, biyokimya, ilaç sanayi ve gıda sanayisi gibi birçok alanda kullanılmakta olan bir polimerdir. Aynı şekilde jelatin de elektrospin yöntemiyle lif üretimi için sağladığı avantajlar ve biyo yararlılık sebebiyle sektörde kullanımı yaygın bir polimerdir. Çözelti için kullanılan asetik asit çözücüsü de gıda endüstrisinde kullanıma müsait bir çözücüdür. Enkapsüle edilen NÇY ise antioksidan aktivitesi değeri yüksek ve yapısında fenolik bileşenler bulunduran bir bileşendir.

Yapılan çalışmada, dekstran ve jelatinden üretilen nanoliflerin karakterizasyonu SEM analizleriyle incelenmiş ve uygun polimer derişimi belirlenmiştir. Buna göre en uygun çözelti derişimi ağırlıkça %30 polimerlerden oluşmaktadır. Bu polimerlerin ağırlıkça %50 si dekstran %50 si ise jelatindir. Bu çözelti ile üretilen nanolifler diğerlerine göre en küçük çapa sahip, pürüzsüz ve homojen yapıdadır. Image J programı ile yapılan ölçüm sonucunda üretilen nanoliflerin çapı ortalama $152,3 \pm 42,2$ nm'dir.

Çözeltilerin karakteristik özellikleri incelendiğinde; çözelti derişiminin artmasıyla viskozite değerinde de artışı gözlemlenmiştir. Nanolif üretiminin en uygun şekilde gerçekleştirildiği P30D50 çözeltisinin viskozite değeri $1085 \pm 0,095$ mPa.s'dir. Yüzey gerilim ölçümlerine göre, çözeltideki jelatin miktarının artmasıyla yüzey gerilimi artmaktadır ve yine buradaki sonuçlara bakıldığında da yüzey geriliminin $43,0 \pm 0,40$ mN/m olduğu değerde nanolif üretimi istenilen şartlarda sağlanabilmiştir. Toplam polimer derişimi arttıkça iletkenlik değeri azalmıştır.

NÇY'nin uygun çözelti olarak belirlenen P30D50 çözeltisine enkapsülasyonu işlemi %10-%20 ve %30 olmak üzere 3 farklı derişimde nar çekirdeği yağı ile yapılmıştır. Yapılan ATR-FTIR analizi sonucunda, NÇY'nin dekstran-jelatin liflerine başarılı bir şekilde enkapsüle edildiği görülmüştür.

DPPH metoduna göre elde edilen veriler, P30N10 nanolifinin %DPPH radikali giderme aktivitesi değeri 6,70 kat, P30N20 nanolifinin %DPPH radikali giderme aktivitesi değeri 4,57 kat ve P30N30 nanolifi için 3,63 kat artmış olduğunu göstermektedir. Buna paralel olarak antioksidan özellik de artmıştır. Ancak lif çapı küçüldükçe etkinlik azalmıştır bu durumda nano boyutun amaç ve önemine tam olarak destek olan bir sonuç olmuştur.

Elde edilen veriler bu tezin amacına ulaşmış olduğunu desteklemiş ve literatüre katkı sağlayabilecek niteliktedir.



KAYNAKLAR

1. Erkoç, S. (2007). *Nanobilim ve nanoteknoloji*. (İkinci Baskı). Ankara: ODTÜ Yayıncılık, 7-11.
2. Huang, Z. M., Zhang, Y. Z., Kotaki, M., and Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, 3(15), 2223-2253.
3. Horuz, T. İ., and Belibağlı, B. K. (2017). Production of electrospun gelatin nanofibers: An optimization study by using Taguchi's methodology. *Materials Research Express*, 4(1), 1-9.
4. Haghi, A. K., and Akbari, M. (2007). Trends in electrospinning of natural nanofibers. *Physica Status Solidi Applications and Materials Science*, 204(6), 1830-1834.
5. Horuz, T. İ., and Belibağlı, K. B. (2019). Nanoencapsulation of carotenoids extracted from tomato peels into zein fibers by electrospinning. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(2), 759-766.
6. Li, Z., and Wang, C. (2013) *Effects of working parameters on electrospinning. one-dimensional nanostructures*. (First Edition). Berlin: Springer, 15-28.
7. Gómez, E. J., Gavara, R., and Hernández, M. P. (2015). Encapsulation of curcumin in electrosprayed gelatin microspheres enhances its bioaccessibility and widens its uses in food applications. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29(1), 1-6.
8. Fernandez, A., Torres, G. S., and Lagaron, J. M. (2009). Novel route to stabilization of bioactive antioxidants by encapsulation in electrospun fibers of zein prolamine. *Food Hydrocoll*, 23(5), 1427-1432.
9. Wu, Y., Luo, Y., and Wang, Q. (2012). Antioxidant and antimicrobial properties of essential oils encapsulated in zein nanoparticles prepared by liquid-liquid dispersion method. *LWT - Food Science and Technology*, 48(2), 283-290.
10. Jiang, H., Fang, D., Hsiao, B. S., Chu, B., and Chen. W. (2004). Optimization and characterization of dextran membranes prepared by electrospinning. *Biomacromolecules*, 5(2), 326-333.
11. Nunes, D., Santos, L., Pereira, L., Martins, R., Pimental, A., Barquinha, P., and Fortunato, E. (2019). *Metal oxide nanostructures*. (First Edition). United Kingdom: Elsevier, 1-19.
12. Feynman, R. (1959). *Plenty of room at the bottom*. American Physical Society Meeting, December 29, Caltech.
13. Drexler, K. E. (1986). *Engines of creation 2.0 the coming era of nanotechnology*. (Twentieth Edition). Los Angeles: WOWIO Book, 557-558.
14. Chatti, S., Laperriere, L., Reinhart, S., and Tolio, T. (Editörler). (2014). *CIRP Encyclopedia of production engineering*. Berlin: Springer, 1085-1089.

15. Ersöz, M., Işıtan, A. ve Balaban, M. (Editörler). (2018). *Nanoteknoloji 1 nanoteknolojinin temelleri*. Denizli: Bilal Ofset, 19-21.
16. Ateş, M., Demir, V. ve İmamoğlu, H. (2013). Nanoparçacıkların özellikleri ve akuatik çevreye etkisi. *Ziraat Mühendisliği*, 360(2), 52-59.
17. Amenta, V., Aschberger, K., Arena, M., Bouwmeester, H., Botelho, M. F., Brandhoff, P., Gottardo, S., Marvin, H., Pseudo, Q. L., Rauscher, H., Schoonjans, R., Vettori, V. M., Viegel, S., and Peters, J. R. (2015). Regulatory aspects of nanotechnology in the agri/feed/food sector in EU and non-EU countries. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(1), 463-476.
18. Peters, R., Brandhoff, P., Weigel, S., Marvin, H., Bouwmeester, H., Aschberger, K., Rauscher, H., Amenta, V., Arena, M., Moniz, B. F., Gottardo, S., and Mech, A. (2014). Inventory of nanotechnology applications in the agricultural, feed and food sector. *EFSA Supporting Publications*, 11(7), 10-15.
19. Iles, D., Martinovic, G., and Kozak, D. (2011). Review of potential use, benefits and risks of nanosensors and nanotechnologies in food. *Strojarstvo*, 53(2), 127-136.
20. Benford, D., Halldorson, T., Hardy, A., Jeger, M. J., Knutsen, H. K., More, S., Younes, M., Naegeli, H., Noteborn, H., Ockleford, C., Ricci, A., Rycken, G., Schlatter, J. R., Silano, V., Solecki, R., and Turck, D. (2018). Guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain. *EFSA Journal*, 16(7), 15-18.
21. Fang, J., Niu, H. T., Lin, T., and Wang, X. G. (2008). Applications of electrospun nanofibers. *Chinese Science Bulletin*, 53(15), 2265-2286.
22. Süpüren, G., Kanat, Z. E., Çay, A., Kırıcı, T., Gülümser, T. ve Tarakçıoğlu, I. (2007). Nano lifler (Bölüm 2). *Tekstil ve Konfeksiyon*, 17(2), 83-89.
23. Zhou, C. J., Tian, D., and He, J. H. (2018). What factors affect lotus effect?. *Thermal Science*, 22(4), 1737-1743.
24. Greiner, A., and Wendorff, H. (2007). Electrospinning: A fascinating method for the preparation of ultrathin fibers. *Angewandte Chemie*, 46(30), 5670-5703.
25. Süslü, A. (2009). *Elektro-eğirme yöntemi ile nanofiber ve nanotip üretimi*. Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 4-5.
26. Ondarcuhu, T., and Joachim, C. (1998). Drawing a single nanofibre over hundreds of microns. *A Letters Journal Exploring The Frontiers of Physics*, 42(2), 215-220.
27. Xing, X., Wang, Y., and Li, B. (2008). Nanofibers drawing and nanodevices assembly in poly(trimethylene terephthalate). *Optics Express*, 16(14), 10815-10822.
28. Ma, P. X., and Zhang, R. (1999). Synthetic nano-scale fibrous extracellular matrix. *Journal of Biomedical Materials Research*, 46(1), 60-72.
29. Lim, H., Sardinha, J. P., and Myers, S. (2014). Nanotechnology biomimetic cartilage regenerative scaffolds. *Archives of Plastic Surgery*, 41(3), 231-240.

30. Che, G., Lakshmi, B. B., Martin, C. R., Fisher, E. R., and Ruoff, R. S. (1998). Chemical vapor deposition based synthesis of carbon nanotubes and nanofibers using a template method. *Chemical Materials*, 10(1), 260-267.
31. Manafi, S. A., and Badiie, S. H. (2008). Production of Carbon nanofibers using a CVD method with lithium fluoride as a supported cobalt catalyst. *Research Letters in Materials Science*, 1(1), 1-5.
32. Yang, H., Yan, Y., Liu, Y., Zhang, F., Zhang, R., Meng, Y., Li, M., Xie, S., Tu, B., and Zhao, D. (2004). A simple melt impregnation method to synthesize ordered mesoporous carbon and carbon nanofiber bundles with graphitized structure from pitches. *Journal of Physical Chemistry*, 108(45), 17320–17328.
33. Li, X., Tian, S., Ping, Y., Kim, D. H., and Knoll, W. (2005). One-step route to the fabrication of highly porous polyaniline nanofiber films by using PS-b-PVP diblock copolymers as templates. *Langmuir*, 21(1), 9393-9397.
34. Hagewood J. (2004). Production of polymeric nanofibers. *International Fiber Journal*, 19(1), 48-50.
35. Hassan, M. A., Yeom, B. Y., Wilkie, A., Pourdeyhimi, B., and Khan, S. A. (2013). Fabrication of nanofiber meltblown membranes and their filtration properties. *Journal of Membrane Science*, 427(2), 336-344.
36. Li, D., and Xia, Y. (2019). Electrospinning of nanofibers: Reinventing the wheel?. *Advanced Materials*, 16(14), 1151-1170.
37. Güçlü, S. (2012). *İki farklı polimerden simultane olarak elektrosynnig yöntemiyle nanolif ve membran üretimi*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 118.
38. Yener, F., Jirsak, O., and Gemci, R. (2010, Spring). *Effect of polymer concentration on Electrospinning system*. Paper presented at Fiber Society International Conference, Bursa, 205.
39. Çakmakçı, E. (2009). *Elektrosynnig Yöntemi ile Yeni Polimerik Malzemelerin Sentezi ve Karakterizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 152.
40. Jun-Jye, N., and Supaphol, P. (2018). Rotating-disk electrospinning: needleless electrospinning of poly(caprolactone), poly(lactic acid) and poly(vinyl alcohol) nanofiber mats with controlled morphology. *Journal of Polymer Research*, 25(155), 1-9.
41. Subbiah, T., Bhat, G. S., Tock, R. W., Parameswaran, S., and Ramkumar, S. S. (2005). Electrospinning of nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*, 96(2), 557-569.
42. Mei, F., and Chen, D. R. (2008). Operational modes of dual-capillary electrospraying and the formation of the stable compound cone-jet mod. *Aerosol and Air Quality Research*, 8(2), 218-232.

43. Sigmund, W., Yuh, J., Park, H., Maneeratana, V., Pyrgiotakis, G., Daga, A., Taylor, J., and Nino, C. J. (2006). Processing and structure relationships in electrospinning of ceramic fiber systems. *Journal of the American Ceramic Society*, 89(2), 395-407.
44. Azmir, J., Zaidul, M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. A., Ghafoor, K., Nourilini, N. A., and Omar, A. K. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436.
45. Bernhoft, A. (2010). *Bioactive compounds in plants - benefits and risks for man and animals*. Paper presented at The Norwegian Academy of Science and Letters, Committee of Geomedicine, November 13-14, Oslo, 152.
46. Harborne, J. B. (1992). *Introduction to ecological biochemistry* (Third Edition). USA: Academic Press, 765.
47. Martin, J. F., and Demain, A. L. (1980). Control of antibiotic biosynthesis. *Microbiological Reviews*, 44(2), 232-234.
48. Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., Griel, A. D., and Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medicine*, 113(9), 71-88.
49. Mahfoudhi, N., Ksouri, R., and Hamdi, S. (2016). Nanoemulsions as potential delivery systems for bioactive compounds in food systems: preparation, characterization, and applications in food industry. A. M. Grumezescu (Ed.), In *Emulsions*. USA: Elsevier, 365-403.
50. Schubert, S. Y., Lansky, E. P., and Neeman, I. (1999). Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology*, 66(1), 11-17.
51. Fadavi, A., Barzegar, M., Hossein, A. M. (2006). Determination of fatty acids and total lipid content in oilseed of 25 pomegranates varieties grown in Iran. *Journal of Food Composition Analysis*, 19(6), 676-680.
52. Gölükcü, M., Tokgöz, H. ve Çelikyurt, M. A. (2005). Nar çekirdeğinin bazı özellikleri ve nar çekirdeği yağının yağ asiti bileşimi. *Derim*, 22(2), 33-40.
53. Orhan, E. İ. (2016, Şubat). *Omega-5, -7 ve konjuge linoleik asit (CLA)*. Sektör- Eczacı Buluşması 1 Sempozyumunda sunuldu, Ankara, 122.
54. Siano, F., Straccia, M. C., Paolucci, M., Fasulo, G., Boscaino, F., and Volpe, M. G. (2016). Physico-chemical properties and fatty acid composition of pomegranate, cherry and pumpkin seed oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(5), 1730-1735.
55. Kim, I. S., and Oh, I. J. (2005). Drug release from the enzyme-degradable and pH-sensitive hydrogel composed of glycidyl methacrylate dextran and poly(acrylic acid). *Archives of Pharmacol Research*, 28(8), 983-987.

56. Gündüz, U. (1996). Evaluation of viscosities of polymer - water solutions used in aqueous two-phase systems. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 680(1-2), 263–266.
57. Gündüz, U., and Korkmaz, K. (2000). Bovine serum albumin partitioning in an aqueous two-phase system: Effect of pH and sodium chloride concentration. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 743(1-2), 255-258.
58. Hermanto, S., Sumarlin, L. O., and Fatimah, W. (2013). Differentiation of bovine and porcine gelatin based on spectroscopic and electrophoretic analysis. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 1(3), 68-73.
59. Choktaweasap, N., Arayanarakul, K., Aht-Ong, D., Meechaisue, C., and Supaphol, P. (2007). Electrospun gelatin fibers: Effect of solvent system on morphology and fiber diameters. *Polymer Journal*, 39(6), 622-631.
60. Erge, A. ve Zorba, Ö. (2016). Jelatin ve fizikokimyasal özellikleri. *Akademik Gıda*, 14(4), 431-440.
61. Schmidt, M. M., Dornelles, R. P., Mello, R. O., Kubota, E. H., Mazutti, M. A., Kempka, A. P., and Demiate, I. M. (2016). Collagen extraction process. *International Food Research Journal*, 23(3), 913-922.
62. Huang, Z. M., Zhang, Y. Z., Ramakrishna, S., and Lim, C. T. (2004). Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers. *Polymer*, 45(15), 5361-5368.
63. Erencia, M., Cano, F., Tornero, J. A., Fernandes, M. M., Tzanov, T., Macanás, J., and Carrillo, F. (2015). Electrospinning of gelatin fibers using solutions with low acetic acid concentration: Effect of solvent composition on both diameter of electrospun fibers and cytotoxicity. *Journal of Applied Polymer Science*, 132(25), 1-11.
64. Llorens, E., Ibañez, H., Del, V. J., and Puiggalí, J. (2015). Biocompatibility and drug release behavior of scaffolds prepared by coaxial electrospinning of poly(butylene succinate) and polyethylene glycol. *Material Science and Engineering C*, 49(2), 472-484.
65. Chen, J., Spear, S. K., Huddleston, J. G., and Rogers, R. D. (2005). Polyethylene glycol and solutions of polyethylene glycol as green reaction media. *Green Chemistry*, 7(2), 64-82.
66. Alcantar, N. A., Aydil, E. S., and Israelachvili, J. N. (2005). Polyethylene glycol-coated biocompatible surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research*, 51(3), 343–351.
67. Çetin, F. N. (2020). *Polietilenglikol esash blok kopolimerin sentezi ve karakterizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 142.
68. Bailey, F. E., and Koleske, J. V. (1976). *Poly (ethylene oxide)*. USA: Academic Press, 305.
69. Neo, Y. P., Ray, S., Jin, J., Gizdavic, N. M., Nieuwoudt, M. K., Liu, D., and Quek, Y. S. (2013). Encapsulation of food grade antioxidant in natural biopolymer by electrospinning

- technique: A physicochemical study based on zein-gallic acid system. *Food Chemistry*, 136(2), 1013-1021.
70. Haida, Z., and Hakimian, M. A. (2019). Comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. *Food Science and Nutrition*, 7(5), 1555-1563.
 71. Moomand, K., and Lim, L.T. (2014). Oxidative stability of encapsulated fish oil in electrospun zein fibres. *Food Research International*, 62, 523-532.
 72. Sukigara, S., Gandhi, M., Ayutsede, J., Micklus, M., and Ko, F. (2003). Regeneration of Bombyx mori silk by electrospinning - Part 1: Processing parameters and geometric properties. *Polymer*, 44(19), 5721-5727.
 73. Ritcharoen, W., Thaiying, Y., Saejeng, Y., Jangchud, I., Rangkupan, R., Meechaisue, C., and Supapol, P. (2008). Electrospun dextran fibrous membranes. *Cellulose*, 15(3), 435–444.
 74. Kalkandelen, C., Ozbek, B., Ergul, N. M., Akyol, S., Moukbil, Y., Oktar, F. N., Ekren, N., Kılıc, O., and Gunduz, O. (2017). *Effect of temperature, viscosity and surface tension on gelatine structures produced by modified 3D printer*. International Conference on Smart Material Research, December 15-17, Melbourne, 86.
 75. Choktaweasap, N., Arayanarakul, K., Aht-Ong, D., Meechaisue, C., and Supaphol, P. (2007). Electrospun gelatin fibers: Effect of solvent system on morphology and fiber diameters. *Polymer Journal*, 6(39), 622-631.
 76. Cengiz C. F. (2014). Dextran nanofiber production by needleless electrospinning process. *E-Polymers*, 14(1), 5-13.
 77. Yang, Q., Zhenyu, L. I., Hong, Y., Zhao, Y., Qiu, S., Wang, C. E, and Wei, Y. (2004). Influence of solvents on the formation of ultrathin uniform poly(vinyl pyrrolidone) nanofibers with electrospinning. *Journal of Polymer Science Part B Polymer Physics*, 42(20), 3721-3726.
 78. Zong, X., Kim, K., Fang, D., Ran, S., Hsiao, B. S., and Chu, B. (2002). Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer*, 43(16), 4403-4412.
 79. Baublis, A. J., Lu, C., Clydesdale, F. M., and Decker, E. A. (2000). Potential of wheat-based breakfast cereals as a source of dietary antioxidants. *Journal of American Collage of Nutrition*, 19(3), 308-311.
 80. Büyüktuncel E. (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 2(17), 93-103.
 81. Seyhan, S. A. (2019). DPPH antioksidan analizinin yeniden değerlendirilmesi. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 9(2), 125–135.



EKLER

EK-1. Enkapsüle Edilen Nar Çekirdeği Yağı Absorbans Değerleri ve %DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Hesaplaması

Ölçümlerin doğruluğunu sağlamak için absorbans değeri ölçümü tek seferde aynı şartlarda (sıcaklık ve zaman) 4 kez tekrarlanmış ve ortalama değeri alınmıştır. Tablo 1.1’de gösterilmiştir.

Tablo 1.1 Nar çekirdeği yağı-lif derişimi ve absorbans değerleri

Enkapsüle NÇY derişimi (%)	1. ölçüm	2. ölçüm	3. ölçüm	4. ölçüm
DPPH (6µM)	0,845	0,849	0,844	0,848
10	0,749	0,755	0,77	0,731
20	0,726	0,73	0,732	0,724
30	0,725	0,725	0,702	0,712

%DPPH giderme aktivitesi değerleri Eşitlik 4.1. kullanılarak hesaplanmıştır. Absorbans ölçüm sonuçlarının ortalama değerlerine göre hesaplanan % DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri Tablo 1.2’de gösterilmiştir.

Tablo 1.2. Enkapsüle nar çekirdeği yağı derişimi ve hesaplanan %DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri

Enkapsüle NÇY derişimi (%)	% DPPH radikali giderme aktivitesi				Ortalama
10	11,36	11,07	8,76	13,79	11,25± 1,78
20	14,08	14,01	13,27	14,62	14,00± 0,80
30	14,2	14,6	16,82	16,03	15,42± 1,06

EK-2. Nar Çekirdeği Yağı Absorbans Değerleri ve %DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Hesaplaması

Lif içerisindeki NÇY derişimi ile enkapsüle edilmemiş olan NÇY'nin %DPPH radikali giderme aktivitesinin birebir kıyaslamasını yapabilmek için kullanılması gereken NÇY miktarı enkapsülasyon verimi ile hesaplanmıştır. Bu değerler %10, %20 ve %30 NÇY derişimleri için sırasıyla; 0,707 µl, 1,29 µl ve 1,79 µl'dir. Mikropipet yardımıyla bu miktarlarda NÇY alabilmek mümkün olmadığı için absorbans değerleri 5 µl, 15 µl, 25 µl ve 50 µl için ölçülmüş %DPPH radikali aktivitesi bu değerlere göre hesaplanmış. 0,707 µl, 1,29 µl ve 1,79 µl miktarlarındaki NÇY için %DPPH aktivitesi giderme değeri oran-orantı yöntemiyle belirlenmiştir.

Çalışmanın bu basamağında da absorbans ölçümleri aynı şartlarda (sıcaklık ve zaman) 4 kez tekrarlanmış daha doğru sonuç elde edebilmek için ortalama değeri belirlenmiştir.

Tablo 2.1. Nar çekirdeği yağı derişimi ve absorbans değerleri

NÇY Derişimi (µl)	1. ölçüm	2. ölçüm	3. ölçüm	4. ölçüm
DPPH (6µM)	0,762	0,764	0,763	0,774
5	0,640	0,630	0,648	0,660
15	0,549	0,546	0,556	0,556
25	0,256	0,255	0,260	0,261
50	0,074	0,065	0,074	0,07

Yapılan oran-orantı hesabından sonra 0,707 µl, 1,29 µl ve 1,79 µl derişimindeki NÇY için hesaplanan %DPPH radikali giderme aktivitesi değerleri Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Nar çekirdeği yağı derişimi ve %DPPH radikali giderme aktivitesi

NÇY Derişimi (µl)	% DPPH radikali giderme aktivitesi				Ortalama
0,707	1,28	1,88	1,32	2,24	1,68± 0,40
1,29	2,34	3,42	2,40	4,09	3,06± 0,73
1,79	3,25	4,75	3,33	5,67	4,25± 1,01

EK-3. Enkapsülasyon Verimi Hesaplaması İle İlgili Yapılan Tartım Sonuçları

Tablo 3.1’de enkapsülasyon verimi hesaplaması için kullanılan, tartılan lif miktarı, teorik olarak hesaplanan lif içerisindeki NÇY miktarı ve enkapsüle edilmemiş NÇY miktarı hesabı için yapılan ilk tartım ve son tartım değerleri gösterilmiştir. Hesaplamanın doğruluğu için paralel çalışma yapılmıştır.

Tablo 3.1. Toplam lif miktarı- teorik hesaplanan nar çekirdeği yağı miktarı-ilk tartım ve son tartım

Numune	Toplam lif miktarı	Lif içerisindeki teorik yağ miktarı (g)	İlk tartım,g	Son tartım, g
P30N10	0,045	0,0045	48,3805	48,3809
P30N10	0,043	0,0043	56,9317	56,932
P30N20	0,0225	0,0045	47,8747	47,8751
P30N20	0,0235	0,0047	55,6996	55,6999
P30N30	0,0156	0,0047	48,7759	48,7763
P30N30	0,0176	0,0053	53,0755	53,0759

P30N10 çözeltisi için örnek %EE hesaplaması (Eşitlik 5.1 kullanılarak yapılmıştır.);

$$\%EV = \frac{(0,045 \times \frac{10}{100}) - (48,3809 - 48,3805)}{0,045 \times 10 / 100} \times 100 = \% 91,1$$



GAZİ GELECEKTİR...