

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**MİKRO KABARCIĞIN SİLİKA İLE KAPSÜLLENEREK
MUKAVEMETİNİN ARTIRILMASI**

Gizem SİVRİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARALIK 2021

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**MİKRO KABARCIĞIN SİLİKA İLE KAPSÜLLENEREK
MUKAVEMETİNİN ARTTIRILMASI**

Gizem SİVRİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARALIK 2021

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MİKRO KABARCIĞIN SİLİKA İLE KAPSÜLLENEREK
MUKAVEMETİNİN ARTTIRILMASI**

Gizem SİVRİ

KİMYA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

**Bu tez
Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından
FYL-2021-5550 nolu proje ile desteklenmiştir.**

ARALIK 2021

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MİKRO KABARCIĞIN SİLİKA İLE KAPSÜLLENEREK
MUKAVEMETİNİN ARTTIRILMASI

Gizem SİVRİ

KİMYA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

Bu tez 17/12/2021 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Murat AKARSU

Prof. Dr. Fatih Mehmet EMEN

Dr. Öğr. Üyesi Nadir KİRAZ

ÖZET

MİKRO KABARCIĞIN SİLİKA İLE KAPSÜLLENEREK MUKAVEMETİNİN ARTTIRILMASI

Gizem SİVRİ

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Murat AKARSU

Aralık 2021; 109 sayfa

Mikro kabarcıklar, oldukça küçük, içleri gaz ile dolu, çapları yaklaşık 1-10 µm arasında olan, kapsüllenmiş kabarcıklardır. Gazdan oluşan çekirdek kısımları, lipitler, proteinler, polimerler, sürfaktanlar ya da proteinlerle lipitlerin harmanlanmasıyla kapsüllenebilmektedir. Gaz halindeki çekirdeklerin sıkıştırılmasıyla birlikte, kılcal damarlar içinden kan geçerken ve ultrasona maruz bırakıldıkları zaman şekillerinde deformasyonlar gerçekleşmektedir. Ultrasona maruz bırakılan mikro kabarcığın kabuğunda büzülme ve genişlemeler olmaktadır. Bu da gelen ultrason radyasyonunda geri saçılmalara, kavitasyona veya mikro kabarcığın kabuğunda patlamalara sebep olduğundan dolayı, mikro kabarcıklar ultrasonik görüntülemeye kontrastı artıran ajan olarak ve hedefe ilaç salınımı / gen iletimi gibi uygulamalarda kullanılmaktadır. Mikro kabarcıkların ilaç salınımında kullanılabilmesi için, ses dalgalarının kapsülün eşik enerjisini aşması gerekmektedir. Ultrasonun eşik enerjisi kapsülün eşik enerjisine eşit veya daha altında ise kontrast sağlanmaktadır, ultrasonun eşik enerjisi kapsülün eşik enerjisinin üzerinde ise kapsülasyon kırılıp ilaç salınımı gerçekleşmektedir.

Literatür araştırmalarına göre, kapsülasyon daha önce silika ile yapılmamış olup lipit, protein, polimer ve sürfaktan ile yapılmıştır. Fakat bu kapsülasyon maddelerinin yapıya rijitlik katarak kontrastı engellemek, stabiliteyi azaltmak gibi çeşitli dezavantajları bulunmaktadır. Bu çalışmada, yüksek Q-değerine sahip perfloropropan gazından sentezlenen mikrokabarcığın, silika ile kapsülasyonu yapılarak mikrokabarcık stabilitesinin artırılması hedeflenmiştir.

Bu amaçla; mikro kabarcık elde edilirken sürfaktan miktarları ile kullanılan gazın miktarı değiştirilerek emülsiyon sistemi hazırlandı ve her adımda pH kontrolü yapıldı. Partikül boyutu ve zeta potansiyellerine bakılarak istenilen değerler elde edildikten sonra, TEOS hidroliz edilerek mikro kabarcığın silika (siloksan bağı) ile kapsülasyonu gerçekleştirildi.

Sentezlenen ve kapsüllenen mikro kabarcıkların karakterizasyon testlerinde ilk olarak; Zeta-Sizer Cihazı kullanılarak boyut analizi ve zeta potansiyel değerlerine bakıldı, sonraki adımda ise; mikro kabarcığın yüzey morfolojisini ve iç kısımlarını anlamak ve yorumlayabilmek için TEM (Geçirimli Elektron Mikroskobu) analizleri yaptırıldı.

ANAHTAR KELİMELEER: Emülsiyon, Kontrast, Mikro kabarcık, Mikro kapsül, Ultrason, Silika, Sol-Jel, Sürfaktan

JÜRİ: Doç. Dr. Murat AKARSU

Prof. Dr. Fatih Mehmet EMEN

Dr. Öğr. Üyesi Nadir KİRAZ



ABSTRACT

INCREASING THE STRENGTH OF THE MICROBUBBLE BY CAPSULATING WITH SILICA

Gizem SİVRİ

MSc in Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Murat AKARSU

December 2021; 109 pages

Microbubbles are very small encapsulated bubbles with a gas-filled interior, approximately 1-10 μm in diameter. Gaseous cores can be encapsulated by lipids, proteins, polymers, surfactants, or by blending lipids with proteins. With the compression of gaseous cores, deformations occur in their shape as blood passes through the capillaries and when they are exposed to ultrasound. There is shrinkage and expansion in the shell of the microbubble exposed to ultrasound. Since this causes backscattering, cavitation or bursting in the shell of the microbubble in the incoming ultrasound radiation, microbubbles are used as contrast enhancing agents in ultrasonic imaging and in applications such as drug release / gene delivery to the target. In order for microbubbles to be used in drug release, sound waves must exceed the threshold energy of the capsule. If the threshold energy of ultrasound is equal to or below the threshold energy of the capsule, contrast is provided, if the threshold energy of ultrasound is above the threshold energy of the capsule, the capsule is broken and the drug is released.

According to literature studies, encapsulation has not been done with silica before, but with lipid, protein, polymer and surfactant. However, these encapsulation materials have various disadvantages such as adding rigidity to the structure, preventing contrast and decreasing stability. In this study, it was aimed to increase the microbubble stability by encapsulating the microbubble synthesized from perfluoropropane gas with high Q-value with silica.

For this purpose; The emulsion system was prepared by changing the amount of surfactant and the amount of gas used while obtaining microbubbles, and pH control was performed at each step. After obtaining the desired values by looking at the particle size and zeta potentials, TEOS was hydrolyzed and the microbubble encapsulated with silica (siloxane bond).

In the characterization tests of the synthesized and encapsulated microbubbles, firstly; Dimension analysis and zeta potential values were analyzed using Zeta-Sizer Device, in the next step; TEM (Transmissive Electron Microscope) analyzes were performed to understand and interpret the surface morphology and inner parts of the microbubble.

KEYWORDS: Contrast, Emulsion, Microbubble, Microcapsule, Ultrasound, Silica, Sol-Gel, Surfactant

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Murat AKARSU

Prof. Dr. Fatih Mehmet EMEN

Asst. Prof. Dr. Nadir KİRAZ



ÖNSÖZ

Bu çalışmada sürfaktan, TEOS ve kullanılan gazın miktarları değiştirilerek mikro kabarcık emülsiyon sistemleri geliştirilmiştir. Çözeltilerin hazırlanmasında pH, karıştırma hızı ve partikül boyutu gibi parametreler kontrol altında tutulmuştur. Yapılan çalışmalar silika ile kapsüllenen mikro kabarcıkların Tıp alanında ultrasonik görüntüleme için kontrastı artıran ajan olarak kullanılabilmesi hususunda ışık sağlamıştır.

Öncelikle lisans eğitimimden bu yana bana farklı bakış açıları kazandıran, insani ve ahlaki değerlerini, başarılarını örnek edindiğim, ekibi ile çalışmaktan onur duyduğum, Akdeniz Üniversitesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Ertuğrul ARPAÇ' a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca beni yönlendiren, destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen, tecrübeleri ile çalışmama katkı sağlayan Akdeniz Üniversitesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi danışman hocam Doç. Dr. Murat AKARSU' ya,

Çalışmalarım esnasında bana her konuda destek olan Akdeniz Üniversitesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Esin AKARSU' ya ve Doç. Dr. Ömer KESMEZ' e,

Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Malzeme Bilim ve Mühendisliği Bölümü'nde FT-IR analizi yapmamı sağlayan Prof. Dr. Meltem ASILTÜRK'e,

Vakit ayırıp Tez Savunma Sınavıma katılan değerli Jüri Üyelerim; Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Fatih Mehmet EMEN'e ve Akdeniz Üniversitesi Kimya Bölümü Dr. Öğr. Üyesi Nadir KİRAZ'a

Birlikte çalışmaktan memnuniyet duyduğum üretken, azimli ekip arkadaşlarıma,

Her zaman için varlığını yanımda hissettiğim değerli aileme ve sevgili hayat arkadaşım Umut MOĞOL'a verdikleri destek, ilgi ve sabırdan dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarımı FYL-2021-5550 nolu proje numarası ile destekleyen Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	17
2. KAYNAK TARAMASI	19
2.1. Emülsiyon	19
2.1.1. Spesifik emülsiyon tipleri ve yapısı	21
2.1.2. Emülsiyon sistemlerinin üstünlüğü	22
2.1.3. Emülsiyon stabilitesi	23
2.1.3.1. Kremalaşma ve sedimentasyon	24
2.1.3.2. Flokülasyon	25
2.1.3.3. Birleşme (Koalesans)	26
2.1.3.4. Ostwald olgunlaşması	26
2.1.3.5. Faz ayrımı	27
2.1.4. Emülsiyonların karakterizasyonu	28
2.1.4.1. Zeta potansiyeli (ζ)	28
2.1.4.2. Damlacık boyutu ve dağılımı	28
2.1.4.3. Türbidite	29
2.1.4.4. Yüzey gerilimi	29
2.1.4.5. Reolojik özellikler	30
2.2. Sürfaktan (Yüzey Aktif Madde)	31
2.2.1. Yüzey aktif maddelerin sınıflandırılması	32
2.2.1.1. Non-iyonik sürfaktanlar	34
2.2.1.2. Anyonik sürfaktanlar	34
2.2.1.3. Katyonik sürfaktanlar	34
2.2.1.4. Amfolitik sürfaktanlar (Zwitter iyonik sürfaktanlar)	35
2.2.2. Misel oluşumu	35

2.3.	Sol – Jel Yöntemi	37
2.3.1.	Sol-jel tepkimeleri	38
2.4.	Mikrokabarcıklar	43
2.4.1.	Q-değerinin hesaplanması ve belirli bir gazın ultrason ajanı olarak kullanımının uygunluğu.....	44
2.5.	Sonikasyon İle Mikro Kabarcık Sentezi:	50
2.5.1.	Toplu sonikasyon ile mikro kabarcıkların sentezi:	50
2.5.2.	Sürekli sonikasyon ile mikro kabarcıkların sentezi:	51
2.5.3.	Dar boyut dağılımına sahip mikro kabarcık süspansiyonu oluşturmak için boyut izolasyonu:	52
2.5.3.1.	Flotasyon	52
2.5.3.2.	Diferansiyel santrifüj.....	53
2.5.3.3.	Sıkıştırılmış akış fraksiyonasyonu	53
2.5.3.4.	Akustik sıralama	53
2.5.4.	Mikro kabarcık üretiminde kullanılan akış odaklama cihazları	54
2.5.5.	Mikro kabarcıkların sonikasyon dışındaki sentez teknikleri.....	56
2.6.	Mikrokapsüller	57
2.7.	Ultrason Uygulamaları Ve İlaç Bariyerinin Açılışı.....	59
3.	MATERYAL VE METOT	63
3.1.	Materyal.....	63
3.2.	Metot.....	64
3.2.1.	Sol- jel yöntemi ile mikroemülsiyon oluşumu	64
3.2.1.1.	Sürfaktan ve katalizör çözeltisinin hazırlanması.....	64
3.2.1.2.	Sol-jel başlangıç maddesinin hazırlanması	64
3.2.1.3.	SiO ₂ ile kapsüllenmiş mikroemülsiyonun oluşumu	64
3.2.2.	Mikroemülsiyon oluşumu için farklı sürfaktan ve miktar denemesi	66
3.2.3.	Mikroemülsiyon oluşumu için n-pentan'ın miktar denemesi	67
3.2.4.	Mikroemülsiyon oluşumu için T85 ile miktar denemesi	68
3.2.5.	Mikroemülsiyon oluşumu için %SiO ₂ denemesi.....	68
3.2.6.	Kapsülasyon işlemi için katalizör denemesi	68
3.2.7.	C ₃ F ₈ gazının kullanıldığı sistemlerde miktar denemeleri	69
3.2.8.	Hazırlanan en ideal sistemler	70

4.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	72
4.1.	FT-IR Spektrumu	72
4.2.	Partikül Boyutu Ve Dağılımının Belirlenmesi	76
4.3.	Zeta Potansiyelleri.....	79
4.4.	Optik Mikroskop Ölçümleri.....	80
4.5.	TEM Analizi	88
5.	SONUÇLAR	93
6.	KAYNAKLAR.....	95
7.	EKLER.....	109
ÖZGEÇMİŞ		

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Mikro Kabarcığın Silika İle Kapsüllendirilerek Mukavemetinin Artırılması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

17/12/2021

Gizem SİVRİ

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μm	: Mikrometre
cm	: Santimetre
cm^{-1}	: Dalga sayısı
g	: Gram
kV	: Kilovolt
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
$^{\circ}\text{C}$	: Celsius derecesi

Kısaltmalar

C5	: n-Pentan
DLS	: Dinamik ışık saçılımı
FT-IR	: Fourier transform infrared spektrometresi
NH_3	: Amonyak
PFP	: Perfloropropan
T20	: Tween 20
T80	: Tween 80
T85	: Tween 85
TEM	: Transmission elektron mikroskobu
TEOS	: Tetraetoksi silan

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Gıda emülsiyonunun optik mikroskop görüntüsü (Coupland ve Sigfusson 2005)	19
Şekil 2.2. Sürekli ve dispers fazlara göre emülsiyonların sınıflandırması (Graeber 2013)	20
Şekil 2.3. Emülsiyon sistemlerindeki fiziksel kararsızlık olaylarının mekanizması, a) Birincil partiküller; b) Flokülasyon; c) Krema oluşumu; d) Birleşme (koalesans); e) Flokülasyon aşamasının az gerçekleşmesi durumunda oluşan yapı (Coupland ve Sigfusson 2005)	24
Şekil 2.4. Gıda emülsiyonlarında görülen kremalaşma olayının şekilsel gösterimi (McClements 2007)	25
Şekil 2.5. Stabil haldeki emülsiyon ile floküle olan emülsiyon sistemi arasındaki fark (McClements 1999)	25
Şekil 2.6. Emülsiyon sistemlerinde birleşme (koalesans) oluşum aşamaları.....	26
Şekil 2.7. Gıda emülsiyonlarında görülen Ostwald olgunlaşması olayının şematik gösterimi.....	27
Şekil 2.8. Bir y/s emülsiyonunun faz ayırımına uğrayarak s/y emülsiyona dönüşümü...	27
Şekil 2.9. Monodispers ve polidispers emülsiyonların şematik gösterimi	29
Şekil 2.10. Sürfaktanın genel yapısı	31
Şekil 2.11. Hava-su arayüzeyi.....	32
Şekil 2.12. Yüzey aktif maddelerin sınıflandırılması	33
Şekil 2.13. Misel oluşumunun şematik gösterimi	36
Şekil 2.14. Fiziksel özelliklerin kritik misel konsantrasyonundan sonra uğradığı belirgin değişiklikler (Geçgel 2008)	37
Şekil 2.15. Silisyum alkoksitin hidroliz reaksiyonu	38
Şekil 2.16. Su kondenzasyonu (Brinker ve Sherer 1990)	39
Şekil 2.17. Alkol kondenzasyonu (Brinker ve Sherer 1990)	39
Şekil 2.18. Asit katalizli hidroliz reaksiyonu	41
Şekil 2.19. Bazik katalizli hidroliz reaksiyonu	41
Şekil 2.20. Tipik bir mikro kabarcık şeması, PFC= perflorokarbon; SF ₆ = kükürt heksaflorür (Sirsi ve Borden 2009).....	44
Şekil 2.21. Bir gazın molekül ağırlığına göre Q-değerinin tahmin edilmesi (Sirsi ve Borden 2009).....	48

Şekil 2.22. Mikro kabarcıkların sonikasyon işlemi ile seri üretiminin şeması. a) Kapsülleyici bir gaz varlığında ham çözeltiyi sonike etmek için kullanılan tipik bir sonda sonikatörü; b) Ham solüsyonun prob sonikasyonuna maruz bırakılması nedeniyle oluşan kavitasyon fenomeni mikro kabarcık oluşumuna neden olur (Feshitan et al. 2009).....	51
Şekil 2.23. Mikro kabarcıkların sürekli üretimi için kullanılan düzeneğin şeması (Cerny et al. 1990)	52
Şekil 2.24. Çeşitli sıralama tekniklerinin şemalarını göstermektedir. a) Flotasyon yöntemi, delikli bir kolonun üstten sabit bir mesafede farklı boyutlardaki kabarcıkların çıkarılması için kullanılır (Kvale et al. 1996); b) Santrifüj boyut izolasyonu (Feshitan et al. 2009); c) Sıkıştırılmış akış fraksiyonasyon tekniği (Kok et al. 2015); d) Akustik sınıflandırma süreci (Segers ve Versluis 2014)	54
Şekil 2.25. Mikro kabarcıkların sentezinde kullanılan tipik bir T-bağlantısının şeması. a) T-bağlantısının akışkan akış yönlerine sahip mimari tasarımı; b) Deney düzeneğinin şeması; c) Çıkış bağlantısında formüle edilmiş kabarcıklar; d) T-bağlantısının içinde bir mikro-kabarcık oluşumu; e) Üretilen mikro kabarcıkların mikroskopik görüntüsü (Stride ve Edirisinghe 2008).....	55
Şekil 2.26. Mikro kabarcıklar üretmek için kullanılan koaksiyel elektrohidrokinamik atomizasyon (CEHDA) işleminin şeması. a) Mikro kabarcık üretimi sırasında CEHDA sistemi ve farklı CEHDA modları için temel kurulum; b) Mikro kabarcıkların damlaması. c) Koni oluşumu; d) Sürekli mikro kabarcık oluşumu (Stride ve Edirisinghe 2008; Farook et al. 2009)	56
Şekil 2.27. Mikrokapsül yapıları (Giro-Paloma et. al., 2016).....	58
Şekil 2.28. Kapsülleme işlemi (Kandemir 2020)	58
Şekil 2.29. Kabarcığın değişken ultrason yoğunluğuna sahip ultrason alanlarındaki davranışları. a); b) Ultrasonunun daha düşük olduğu yoğunlukta, kabarcık boyutunun değişmesine (ataletli olmayan kavitasyon) neden olan stabil kabarcık salınımı gerçekleşir; c) Daha yüksek yoğunluklarda, kabarcıklar daha yoğun bir şekilde salınır ve sonunda kabarcık bozulmasına ve püskürtmeye (eylemsiz kavitasyon) yol açar (Brujan et al. 2005)	60
Şekil 2.30. Hücre zarında gözenek oluşumu a) Ataletsiz kavitasyon, hücre zarına yakın kabarcıkların genişlemesi ve sıkışması; b) atalet kavitasyon, jetleme; c) kabarcıklar ve ultrason kullanılarak plazmid DNA iletiminin gösterimi. Bir hücreye yakın kabarcık kavitasyonu, pDNA'nın hücreye girmesine izin veren gözenek oluşumuna neden olur (Fan et al. 2017).....	61
Şekil 2.31. Tek bir baloncuğun kavitasyonu ile bir hücre üzerinde oluşturulan bir gözeneği gösteren SEM görüntüsü (Zhou et. al. 2012)	62

Şekil 3.1. Tween 85 sürfaktanı ile n-pentan'ın kullanıldığı reaksiyon basamakları	65
Şekil 3.2. Capstone FS-30 sürfaktanı ile perfloropropan gazının kullanıldığı reaksiyon basamakları.....	65
Şekil 3.3. TEOS'un hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonlarının gerçekleşmesiyle mikro kabarcığın kapsülasyonu	66
Şekil 4.1. TEOS'un FT-IR spektrumu	72
Şekil 4.2. n-pentan'ın FT-IR spektrumu	73
Şekil 4.3. 7B sisteminin başlangıçta, 1h, 3h ve 5h sonra çekilen FT-IR spektrumu (1000-2000 cm^{-1})	74
Şekil 4.4. 7B sisteminin başlangıçta, 1h, 3h ve 5h sonra çekilen FT-IR spektrumu (2000-4000 cm^{-1})	74
Şekil 4.5. Çözelti formundaki ve kurutulmuş 7B sistemine ait FT-IR spektrumları.....	75
Şekil 4.6. Çözelti formundaki ve kurutulmuş 11C sistemine ait FT-IR spektrumları....	76
Şekil 4.7. 7B, 7C, 7D ve 7E sistemlerinin hacimce partikül boyutu dağılımı	77
Şekil 4.8. 11B sisteminin 1. 3. ve 5. saat sonunda ölçülen hacimce partikül boyutu dağılımı	78
Şekil 4.9. 11C sisteminin 1. 3. ve 5. saat sonunda ölçülen hacimce partikül boyutu dağılımı	79
Şekil 4.10. Yüzdece %16,95 n-pentan/%16,95 SiO_2 içeren 3A sisteminin, yüzdece %19,11 n-pentan/%19,07 SiO_2 içeren 3B sisteminin, yüzdece %30 n-pentan/%30 SiO_2 içeren 3C sisteminin ve yüzdece %23 n-pentan/%46.77 SiO_2 içeren 3D sisteminin optik mikroskop görüntüsü	80
Şekil 4.11. %1 (a/a)'lık T85 sulu çözeltisinin sırasıyla %12, %9 ve %7 oranlarında bulunduğu 4A, 4B ve 4C sistemlerinin optik mikroskop görüntüsü	81
Şekil 4.12. T85'in çözelti içerisinde %7 oranında bulunduğu 5A sistemine ait farklı büyütmelerde çekilen optik mikroskop görüntüleri.....	82
Şekil 4.13. T85'in çözelti içerisinde %10 oranında bulunduğu 5B sistemine ait farklı büyütmelerde çekilen optik mikroskop görüntüleri.....	82
Şekil 4.14. T85'in çözelti içerisinde %15 oranında bulunduğu 5C sistemine ait farklı büyütmelerde çekilen optik mikroskop görüntüleri.....	83
Şekil 4.15. T85'in çözelti içerisinde %20 oranında bulunduğu 5D sistemine ait farklı büyütmelerde çekilen optik mikroskop görüntüleri.....	83
Şekil 4.16. T85 ve C5 kullanılarak hazırlanan 7B, 7C, 7D ve 7E ideal sistemlerinin optik mikroskop görüntüsü.....	85

Şekil 4.17. 1 cc C_3F_8 gazı içeren 11B sisteminin optik mikroskop görüntüsü (1cc=1ml)	86
Şekil 4.18. 11C sistemine ait zar yapısının odaklanmış optik mikroskop görüntüsü.....	86
Şekil 4.19. 1.5 cc C_3F_8 gazı içeren 11C sisteminin optik mikroskop görüntüsü.....	87
Şekil 4.20. 1.5 cc C_3F_8 gazı içeren 11C sisteminin 5 saat sonra çekilen optik mikroskop görüntüsü.....	87
Şekil 4.21. 7B sisteminin farklı büyütme ölçeklerinde çekilen TEM görüntüleri.....	89
Şekil 4.22. 7C sisteminin farklı büyütme ölçeklerinde çekilen TEM görüntüleri.....	90
Şekil 4.23. 7D sisteminin farklı büyütme ölçeklerinde çekilen TEM görüntüleri	91
Şekil 4.24. 7E sisteminin farklı büyütme ölçeklerinde çekilen TEM görüntüleri.....	91
Şekil 4.25. 11C sisteminin farklı büyütme ölçeklerinde çekilen TEM görüntüleri.....	92
Şekil 7.1. T85'in FT-IR spektrumu	109
Şekil 7.2 Capstone FS-30'un FT-IR spektrumu	109

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bazı yaygın kullanılan sürfaktanların polar baş gruplarının yapısına bağlı olarak sınıflandırılması.....	33
Çizelge 2.5. Su içindeki hava ile doymamış hava kabarcıklarının tam çözümünde zamana karşı veriler	45
Çizelge 2.6. Çeşitli gazların yoğunluk, çözünürlük, molar hacim ve Q-değerleri (Sirsi ve Borden 2009)	47
Çizelge 2.7. Farklı boyutlardaki dekaflorobütan gazından oluşan mikro kabarcıkların zaman verileri (Sirsi ve Borden 2009)	48
Çizelge 2.8. Molekül ağırlığına bağlı olarak Q-değerinin tahmin edilmesi (Sirsi ve Borden 2009).....	49
Çizelge 2.9. Q değerlerinin beşten büyük olduğu hesaplanan gazlar (Sirsi ve Borden 2009)	49
Çizelge 2.10. Ultrasonikasyon dışındaki mikro kabarcık sentez yöntemleri (Gupta et al. 2015)	57
Çizelge 3.1. Tween 20 sürfaktanı kullanılarak n-pentan ve TEOS miktar denemesinin yapıldığı farklı sistemler	66
Çizelge 3.2. Tween 80 sürfaktanı kullanılarak n-pentan ve TEOS miktar denemesinin yapıldığı farklı sistemler	67
Çizelge 3.3. Tween 85 sürfaktanı kullanılarak n-pentan ve TEOS miktar denemesinin yapıldığı farklı sistemler	67
Çizelge 3.4. %1'lik sulu çözeltisi hazırlanan T85 sürfaktanının ve TEOS'un oranları sabit tutularak yapılan n-pentan miktar denemeleri.....	67
Çizelge 3.5. T85 sürfaktanı ile yapılan denemeler	68
Çizelge 3.6. Farklı sistemlerde %SiO ₂ denemesi	68
Çizelge 3.7. Sistemler üzerinde NH ₃ katalizörünün miktar denemeleri	68
Çizelge 3.8. 8A, 8B, 8C ve 8D sistemleri üzerinde CH ₃ COOH katalizörünün miktar denemeleri	69
Çizelge 3.9. Capstone FS-30 sürfaktanının kullanıldığı sistemlerde NH ₃ katalizörünün miktar denemeleri	69
Çizelge 3.10. Capstone FS-30 sürfaktanı ve perfloropropan gazının miktar denemelerinin yapıldığı sistemler	69
Çizelge 3.11. İdeal sistemlerin numaraları ve her bir sistemde bulunan kimyasalların yüzde miktarı	70

Çizelge 3.12. Perfloropropan gazı ile çalışılan ideal sistemler	70
Çizelge 4.1. İdeal sistemlere ait zeta potansiyel değerleri	79



1. GİRİŞ

Mikro kabarcıkların, ultrason kontrast artırıcı madde ve hedefe ilaç salınımı gibi tıp alanındaki biyomedikal uygulamaları son yıllarda birçok patent ve literatür çalışmalarında aktif bir şekilde devamlılığını sürdürmektedir. Mikrokabarcıkların gaz halindeki çekirdekleri, kanın kılcal damarlar içinden geçtiği esnada ve ultrasona maruz bırakıldıkları sırada şekilleri deformasyona uğrar, kabuklarında büzülme ve genişlemeler meydana gelir. Bu da gelen ultrason radyasyonunda geri saçılmalara, kavitasyona veya mikro kabarcığın kabuğunda patlamalara sebep olduğundan dolayı, mikro kabarcıklar ultrasonik görüntülemeye kontrastı artıran ajan olarak ve hedefe ilaç salınımı / gen iletimi gibi uygulamalarda kullanılmaktadır. Ancak kan veya birçok sulu intravenöz çözelti gibi çözeltilerde serbest gaz halindeki kabarcıkların hızlı bir şekilde çözünmesi ve bu kabarcıkların boyutları bir ultrason kontrast artırıcı madde olarak kullanımlarını ciddi ölçüde sınırlamaktadır. Literatürde bazı tıp araştırmacıları, akciğerlerden geçecek kadar küçük olan bu serbest gaz halindeki kontrast artırıcı maddelerin hızlı çözülmesi nedeniyle, sol kalp görüntülemesini gerçekleştirmelerinin mümkün olmadığını bildirmişlerdir. Bunun sonucunda, mikro kabarcık karışımlarının geniş saçılma kesitleri sayesinde çözeltide stabil hale getirilerek geliştirilmesine büyük önem verilmiştir.

US 2004/0126321 A1 patentinde Quay'a göre biyo-uyumlu bir gazın yoğunluğu, çözünürlüğü ve molar hacminden yola çıkarak mikro kabarcığın stabilitesini belirleyecek olan Q-değerinin hesaplanmasını içeren matematiksel bir eşitlik türetilebileceği gösterilmiştir. Q-değerinin 5'ten büyük olduğu durumlarda, X gazından oluşan mikro kabarcıklar, mikro hava kabarcıklarından daha kararlı olup, çözelti içerisindeki hava kabarcıklarından daha uzun süre hayatta kalarak, ultrason görüntülemeye iyi bir kontrast ortamı sağlayacaktır. Bunun yanı sıra çekirdek kısmı gazdan oluşan mikro kabarcıkların stabilitesini arttırabilmek için kabuk kısımları çeşitli maddelerle (lipid, protein vb.) kapsüllenebilmektedir.

Bu çalışmada amaç sentezlenen mikro kabarcığın silika ile kapsüllenecek mukavemetinin arttırılması ve aynı zamanda kontrast ortamının sağlanmasıdır. Yapılan literatür araştırmalarına göre kapsülasyon daha önce silika ile yapılmamış olup lipid, protein, polimer ve sürfaktan ile yapılmıştır. Lipit harici protein, polimer ve sürfaktan kabuklarının çeşitli dezavantajları bulunmaktadır. Örneğin, sürfaktan kabukları kullanıldığı zaman seyreltilmiş mikro kabarcık çözeltilerinin stabilitesi azalır, polimer kabukları kullanıldığı zaman ise yapıya katılan rijitlik nedeniyle kabuğun kırılarak kontrast sağlanması engellenir. Bu çalışmanın amacında ise mikro kabarcığı silika ile kaplayarak hem stabilitesini (kararlılığını) arttırmak hem de uzun ömürlü bir mikro kabarcık sentezlenmesi hedeflenmektedir. Bunun için aşağıda yer alan basamaklar izlenmiştir:

- ❖ Mikro kabarcık sentezi
- ❖ Mikro kabarcığın kapsülasyonu
- ❖ Mikro kabarcık boyut analizi
- ❖ Mikro kabarcık morfolojik analizi

Mikro kabarcık elde edilirken sürfaktan miktarları ile kullanılan gazın miktarı değiştirilerek ve pH kontrolü yapılarak partikül boyutu değerleri belirlenmiştir. İstenilen partikül boyutu elde edildikten sonra TEOS hidroliz edilerek mikro kabarcığın kapsülasyonu yapılmıştır.

Sentezlenen ve kapsüllenen mikro kabarcığın karakterizasyon testlerinde ilk olarak Zeta-Sizer cihazı kullanılarak boyut analizine ve zeta-potansiyel değerlerine bakılmıştır. Sonraki adımda ise mikro kabarcığın yüzey morfolojisini ve iç kısımlarını anlamak ve yorumlayabilmek için TEM analizleri yaptırılmıştır.

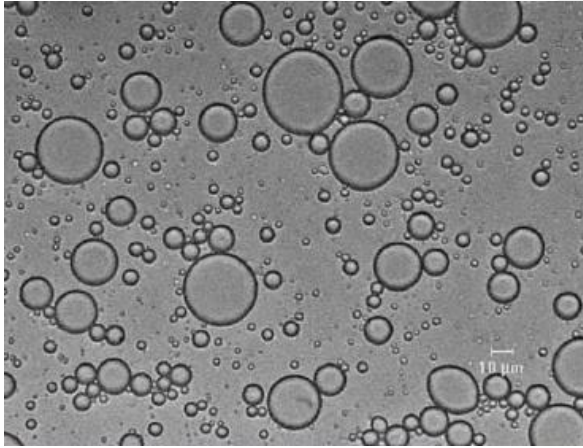


2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Emülsiyon

Emülsiyon sistemleri, birbirleri içinde çözünemeyen iki ayrı sıvının birbirleri içinde dağıldıkları damlacıkları (globül) içerir ve termodinamik açıdan kararsız olan homojen görünümdeki heterojen karışımlar olarak bilinirler (Dickinson ve Stainsby 1982; Martin et al. 1993) (Şekil 2.1). Genellikle su ve yağ fazlarından meydana gelen emülsiyon sistemleri, bu fazların birbirleri içerisindeki dağılımlarına bağlı olarak iki sınıfta incelenirler. Su fazının içinde dağılan yağ parçacıkları klasik emülsiyon sistemini oluşturur, bunlara y/s emülsiyonları denir. Yağ fazının içinde dağılan su damlacıkları ise ters emülsiyon emülsiyon sistemini oluşturur, bu sisteme de yağ içinde su (s/y) emülsiyonları denilmektedir (McClements 2004).

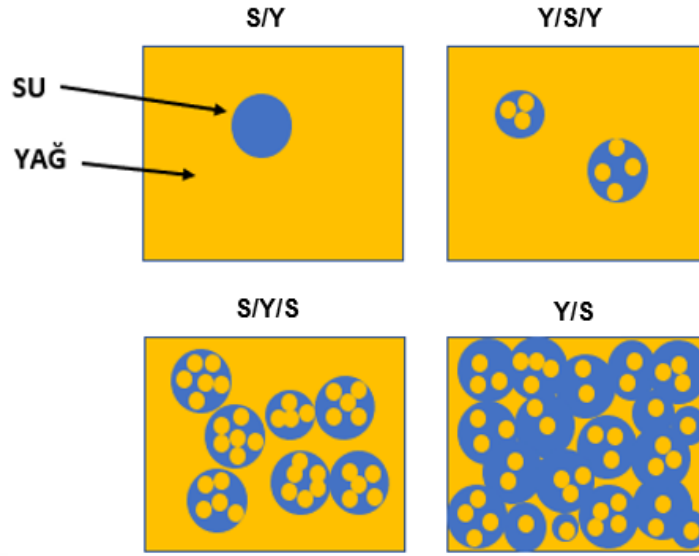
Su içinde çözünebilir bir emülgatörün bulunduğu sulu fazla yağ fazının homojen hale getirilmesiyle geleneksel tipte emülsiyon sistemleri hazırlanabilmektedir. Basit tipte karıştırıcılar, kolloid değirmenler, membran homojenizatörleri, yüksek basınçlı homojenizatörler ve titreşim cihazları gibi çok sayıda homojenizatör bu amaçla kullanılmaktadır (Walstra 2003; McClements 2005a; McCelement et al. 2007).



Şekil 2.1. Gıda emülsiyonunun optik mikroskop görüntüsü (Coupland ve Sigfusson 2005)

Kullanılmak istenen homojenizatörlerin seçilmesi ve işlem şartları, homojen hale getirilmek istenen maddenin ara yüzey gerilimleri, viskozite gibi bazı özelliklerine ve emülsiyonların damlacık konsantrasyonu, partikül boyutu gibi istenen diğer bazı özelliklerine bağlı olarak seçilir (McCelement et al. 2007).

Emülsiyon sistemlerinde sıvının içinde dağılan faza iç faz, dispers faz ve süreksiz faz gibi isimler verilirken emülsiyon ortamının içinde küçük damlaların dağılmış olduğu çevre sıvısına sürekli faz ya da dış faz ismi verilmektedir (McCelement et al. 2007). Su fazı, yağ fazı ve emülgatör gibi minimum üç bileşenin kullanılmasıyla s/y/s ve y/s/y gibi çoklu emülsiyon sistemleri oluşturulmaktadır (Garti ve Benichou 2004; Lawrence 1989) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Sürekli ve dispers fazlara göre emülsiyonların sınıflandırması (Graeber 2013)

Çoklu emülsiyon sistemlerinden s/y/s emülsiyonu iki basamakta hazırlanmaktadır; birinci basamak lipofilik özellikte sürfaktanın monodispers konsantre s/y emülsiyonuna ilave edilmesiyle hazırlanmakta olup, hazırlanan emülsiyonun hidrofilik özellikte sürfaktan bulunduran sulu fazda dağıtılmasıyla ikinci basamak oluşturulmaktadır. Klasik ve ters emülsiyonların tersine s/y/s emülsiyonu ile hazırlanan ürünler oldukça küçük su damlacıklarını içermekte ve genelde oluşturulan emülsiyon damlacıklarının yarıçapları eşit olan ve iyi sıralanan koloidal yapılar sergilemektedir (Graeber 2013).

Emülsiyon sistemleri iç fazdaki hacim oranlarına göre düşük, orta ve yüksek iç fazlı emülsiyonlar olarak üç sınıfa ayrılmaktadır. Düşük iç fazlı emülsiyonların iç faz hacimlerinin oranları toplamdaki emülsiyon hacmiyle kıyaslandığında %34 daha az, orta iç fazlı emülsiyonların iç faz hacimlerinin oranları %34-%74 aralığında, yüksek iç faz emülsiyonlarının iç faz hacimlerinin oranları ise %74'ten fazla olan emülsiyonlar olarak bilinmektedir (Graeber 2013). LIPE (Düşük İç Fazlı Emülsiyon), MIPE (Orta İç Fazlı Emülsiyon) ve HIPE (Yüksek İç Fazlı Emülsiyon) sistemleri su/yağ ve yağ/su emülsiyon türlerinde hazırlanabildiği gibi, tekrar su veya yağ sürekli fazlarında dağıtıldıklarında s/y/s ve y/s/y türlerinde çoklu emülsiyon sistemleri oluşturulabilmektedir.

Emülgatör kullanarak su/yağ ve yağ/su türünde emülsiyonların hazırlanmasının yanı sıra koloidal parçacıkların kullanılmasıyla emülgatöre gerek duyulmadan emülsiyon sistemleri hazırlanabilir. Emülgatörlerin kullanılmadığı bu tip koloidal partiküllerin varlığıyla kararlılığın sağlandığı emülsiyon sistemlerine Pickering emülsiyonları denilmektedir (Menner et al. 2008; Binks 2002). Pickering emülsiyonları hazırlanırken, y/s ara yüzeylerinde kuvvetli biçimde adsorplanan koloidal partiküller sayesinde oldukça stabil emülsiyon sistemleri oluşturulmaktadır. Çünkü koloidal partiküller sıvı/sıvı ara yüzeylerindeki alanın azalmasını sağlar ve yağ/su ara yüzeylerinde adsorplanabilmesi için emülgatörden az enerjiye gereksinim duyar (Werner et al. 2005; Dinsmore 2002; Chen 2001).

Birbirleriyle karışma eğilimi olmayan ve dispers haldeki sıvıların çalkalanmasıyla emülsiyon sisteminin bütün fazlarında küçük damlacıkların olduğu görülmektedir. Çalkalamanın sonlandırılmasıyla birlikte fazlardaki küçük damlalar hemen birleşerek kümelenme yapar ve iki sıvının yeniden ayrışmasına sebep olur. Emülgatör, damlacıkların iç fazlarda kalma zamanlarını artırır, böylece dayanıklılık sağlanarak, sıvıların birbiriyle homojenize halde karışması ve dağılması sağlanır (Martin et al. 1993; Remington et al. 2006).

Gıdalardaki y/s emülsiyon sistemlerinin davranışları, emülsiyondaki damlacıkların iç tarafını meydana getiren yağ fazı, lipid yüzeyiyle su fazı arasındaki ara yüzeyler ve sulu faz olmak üzere üç kısım sayesinde belirlenebilmektedir. Sürekli fazlarda dispers şekilde dağılan yağ damlacıklarının kompozisyonu, partikül boyut dağılımı, konsantrasyonu, fiziksel özellikleri ve hazırlanış şartları uygun bir biçimde seçilerek kontrolü sağlanabilmektedir. Yağ fazının bir kısmı veya tamamı kristallendirilebilir ve lipoliz, oksidasyon gibi birçok farklı kimsiyal reaksiyona uğrayabilmektedir. Yağ/su fazının ara yüzeyi, ester, protein, küçük molekül ağırlıklı sürfaktan, monoglisid, fosfolipid, polisakkarit veya karışımlarından oluşan emülgatörlerle oluşturulabilmektedir.

Hangi emülgatörün kullanılacağı, pH, ısıtma, kurutma, mekanik karıştırma, soğutma gibi birçok çevre faktörüne, homojenizasyonda oluşturulan damlacık büyüklüğüne, stabil emülsiyonlar oluşturmak için uygun miktarlar gözden geçirilerek karar verilir. Maliyete, kullanım kolaylığına, yasal durumlara, güvenilirliğe ve etiket uygunluğuna bağlı olarak gıda emülgatörlerinin seçimi birbirinden farklılıklar gösterir. Bundan dolayı tek bir tipte emülgatörün bulunmadığı, kullanılmak istenen ürünün tipine, bileşen türüne ve konsantrasyonuna, homojenizatörlerin tipine, çevre stres faktörlerine, polarlığına, ara yüzey kalınlığına, reolojisine, elektriksel yüküne, geçirgenliğine vb. daha çok fazla etkene bakılarak seçim yapılır (Guzey ve McClements 2006b; McClements 2010, 2012). Emülsiyon sistemindeki sulu faz, emülsiyon destabilizasyonuna neden olacak iyonları ve polisakkarit gibi makromolekülleri içerebilir. Bunların fonksiyonlarını anlamak için 6 emülsiyon sistemini meydana getiren bu üç bileşenin özellikleri de bilinmelidir (Dagleish 2006; McClements 2012).

2.1.1. Spesifik emülsiyon tipleri ve yapısı

Çoğu gıda emülsiyonlarında dağılan fazın damlacık çapları 0,1-100 µm aralığında değişen değerlerdedir (McClements 1999). Dağılan faz damlacıklarının boyutu dikkate alınarak emülsiyon sistemleri makroemülsiyon, nanoemülsiyon ve miniemülsiyon olmak üzere farklı şekillerde sınıflandırılırlar (Windhab et al. 2005).

- 1) Su/Yağ ve Yağ/Su Makroemülsiyonları: Genellikle 0,1–100 µm arasında ki boyutlara sahiptir.
- 2) Nanoemülsiyonlar: Genellikle 20–100 nm arasında ki boyutlara sahiptir. Yalnız kinetik kararlılık bakımından makroemülsiyonlara benzerler.
- 3) Mikro emülsiyonlar ve Misel emülsiyonları: Genellikle 5- 50 µm arasında ki boyutlara sahip olup, saydam, dayanıklı ve termodinamik açıdan kararlı özelliklerdeki emülsiyonlardır (Tadros 2013).
- 4) İki ya da daha çok faza sahip emülsiyonlar: Emülsiyon-emülsiyon karışımları da denilmekte olup, bunlara s/y/s ve y/s/y örnek olarak gösterilebilmektedir.

- 5) Karışım emülsiyonları: Karıştırılan sistem içinde karışmayan iki ayrı haldeki dağılmış damlacıkları bulunduran sistemlerdir.

Klasik ya da basit emülsiyon sistemlerinden daha karışık yapılı olan çoklu emülsiyon sistemleri (multiemülsiyon) geliştirilmekte olup, bunlara florokarbonemülsiyonlar, submikroemülsiyonlar, mikroemülsiyonlar ve kuru emülsiyonlar gibi farklı isimler verilmektedir. Çoklu yapıdaki emülsiyon sistemleri aynı anda su/yağ ve yağ/su tipinde emülsiyonlar bulundurmakta olup, s/y/s ya da y/s tipinde emülsiyonları oluşturmaktadır.

Bunların dışında, birçok yöntem ile veya adsorban maddelerinin eklenmesiyle katı hal alan kuru (dry) emülsiyonlar olarak bilinen emülsiyon tipleri de geliştirilmiştir. Kuru emülsiyon sistemleri, su içinde çözünabilen ve çözünemeyen taşıyıcı maddeleri içermekte olan y/s emülsiyonlarının kurutulması ile elde edilmektedirler. Kurutma işlemiyle birlikte sulu faz uzaklaşır ve katı haldeki taşıyıcı yağ fazının içerisine alınmaktadır. Toz halinde elde edilen emülsiyon sistemi invivo ortamlarda ya da su içeren çözeltiyle temas haline girdiğinde kolaylıkla y/s emülsiyonlarına dönüşürler. Çözünemeyen taşıyıcılara silika örnek verilirken, çözünabilen taşıyıcılara metilselüloz, mannitol, laktoz, glisin, hidroksipropilmetilselüloz ve maltodekstrin gibi maddeler örnek verilmektedir.

Kuru adsorbe emülsiyonları, s/y emülsiyonlarından hazırlanmakta olan ve partiküllerinin boyutu 100 ile 1000 pm arasında olan katı formdaki sistemler olarak tanımlanmaktadır. Sulu faza ve yağlı faza polaritesi uygun olan toz adsorbanlar eklenir ve sistemin stabil olması sağlanır. Daha sonra sert jelatin kapsül ya da tabletlerin içerisine konulabilmektedirler. Kuru adsorbe emülsiyon sistemlerinde alkil grup bağlı silika hidrofobik adsorban madde olarak kullanılırken, kitosan, silika ve pektin ise hidrofilik adsorbanlar olarak kullanılmaktadır. Klasik emülsiyon sistemlerine kıyasla dayanıklılığı daha fazla olan bu emülsiyonlar, yeniden sıvı forma kolay bir şekilde getirilebilmekte olup, kontrollü aktif madde salınımlarında da kullanılabilirler. Düşük çözünürlüğe sahip, ışık ve oksidasyona karşı korunulması gereken aktif madde formülasyonlarının kullanımı için uygun olmaktadır (Tuncer 2014).

2.1.2. Emülsiyon sistemlerinin üstünlüğü

Emülsiyon sistemlerinin geliştirilmesinde emülgatör, yağ fazı ve su fazı gibi minimum üç komponente gereksinim duyulmaktadır. Bunların yanında istenen amaca göre, koku, tat, mikrobiyolojik ve fizikokimyasal kararlılığı artıran özellikte bileşenlerde kullanılabilir. Birbiriyle karışmayan iki sıvının mekanik bir şekilde çalkalanmasıyla, iki faz içinde de damlacıklar oluşmaktadır. Çalkalamanın durdurulmasıyla damlacıklar hemen bir arada toplanarak yığılır ve sıvının ayrışması gerçekleşir. Dolayısıyla iki sıvının birbirleri içerisinde homojen karışmasının ve dağılmasının sağlanması için eklenen emülgatörler, damlacıkların iç fazdaki kalma sürelerini artırdığından dayanıklılık kazandırmaktadır (Tuncer 2014).

- ❖ Katı haldeki ilaçların şekline bağlı olarak etkin madde bileşenlerinin emilimi artırılabilir ve penetrasyon, yani hücre içine girme basamaklarının kontrolü sağlanabilmektedir.
- ❖ Çözelti stabilitesine kıyasla etkin maddeler kimyasal olarak stabil hale getirilebilir.

- ❖ Tatları ve kokusu rahatsız edici olan etkin madde bileşenlerinin oral yollarla kullanımında istenilmeyen koku ve tatlar maskelenebilmektedir. Hint yağı, yağda çözünebilen vitaminler (A, D, E ve K), balık yağı gibi maddelerin y/s tipindeki emülsiyonları kolay şekilde içilirler.

2.1.3. Emülsiyon stabilitesi

Emülsiyon sistemleri oldukça geniş yüzey arası alanlara ve bu alanlarla orantılı iç yüzey enerjilerine sahip olduklarından fiziksel özellikler bakımından kararsız yapılar olarak bilinmektedir. Birbirleriyle karışamayan iki sıvının karıştırılmasıyla, her bir sıvı molekülünün ayrılmasıyla oluşan kohezyon kuvvetlerinin, iki sıvının arasında oluşan adezyon kuvvetlerinden büyük olmasından dolayı, sıvıların birbirleri içerisinde artan toplam yüzey alanına göre damlacıklar şeklinde dağıldığı bilinmektedir. Emülsiyon fazlarının birbirleriyle karışmama derecelerinin artmasıyla birlikte yüzey geriliminde de bir artış söz konusu olur. Birbirleri içinde karışamayan iki sıvının karışmalarını sağlamak ve meydana getirilen emülsiyon dayanımlarını artırabilmek için serbest yüzey enerjilerinin azalması gerekmektedir. Yukarıda belirtilen durumu sağlamak için,

$$W = \gamma ds \quad (2.1)$$

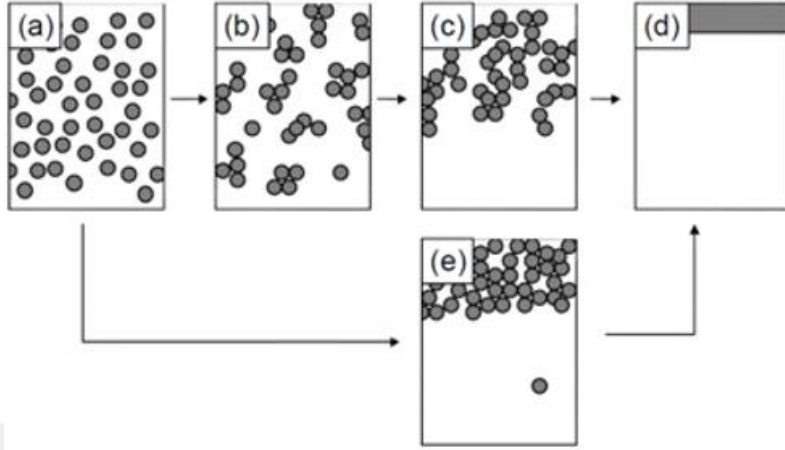
Denklem (2.1) eşitliğinden yararlanılmaktadır. Eşitlikte ds değişen yüzey alanını gösterirken, γ yüzey gerilimini ifade eder. Emülsiyon sistemindeki iki damlacığın birleşip bir damla oluşturmasıyla ara yüzey alanı küçülür, dolayısıyla emülsiyonun toplam yüzey enerjisinde de bir azalma gözlenir (Çelebi 2009). Emülsiyon sistemlerinde yağ içinde su damlaları veya su içinde yağ damlaları yeterince büyük boyutlardadır. Her bir damla başına düşecek yüzey alanının büyüklüğü fazla olduğu için, damlacıkların gerek duyduğu Gibbs serbest enerjisi, yüksek derecede negatif bir değer olmakta ve entropinin katkısıyla telafi edilmemektedir.

Ortamda bulunan dispers haldeki fazın homojenize bir şekilde dağılması emülsiyon sisteminin kararlılığını belirler. Termodinamik açıdan kararsız olan emülsiyon sistemlerini kararlı kılmak için, uzun zaman periyotlarında damlacık boyutu, sayısı ve dağılımları değişmeksizin sabit tutulmalıdır. Kararlılık sağlanan bu periyotlar, saniyeler gibi oldukça kısa sürelerle ifade edilebildiği gibi yıllara kadar uzayabilmektedir. Aynı zamanda kararlılık dispers ve sürekli fazların hacim oranına, yoğunluk farklarına, yapısına, sürekli fazın viskozitesine, emülgatörün türü ve konsantrasyonuna göre değişiklik göstermektedir (Elif 2016).

Emülsiyonlar gıda, kozmetik, tarım ve farmasötik endüstride yaygın olarak kullanılmakta olup, süt, dondurma, margarin, çikolata, mayonez, sosis ve baharat ekstraktı gibi çoğu gıda formülünü oluşturur ve bu emülsiyonların raf ömürlerinin uzun olması istenir. Emülsiyon kararlılık mekanizmalarının anlaşılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir. Raftaki ömrü boyunca dağılan fazlarda hiç ayrılmanın gözlenmediği, kolay akabilen ve çalkalanarak homojenize hale getirilebilen emülsiyonlar fiziksel açıdan dayanıklıdır (Eccleston 2007).

Kimyasal kararsızlıklar var olan moleküllerin çeşitlerinde değişime sebep olurken, fiziksel kararsızlıklar moleküllerin sistemdeki dağılım veya yapısal organizasyon değişiklikleriyle sonuçlanır. Kimyasal kararsızlıklara oksidasyon ve

hidroliz örnek verilirken, fiziksel kararsızlıklara kremalaşma ve sedimentasyon, kısmi birleşme, Ostwald olgunlaşması, birleşme (koalesans), flokülasyon ve faz ayrımı örnek verilebilmektedir (Fennema ve Tannenbaum 1996) (Şekil 2.3).

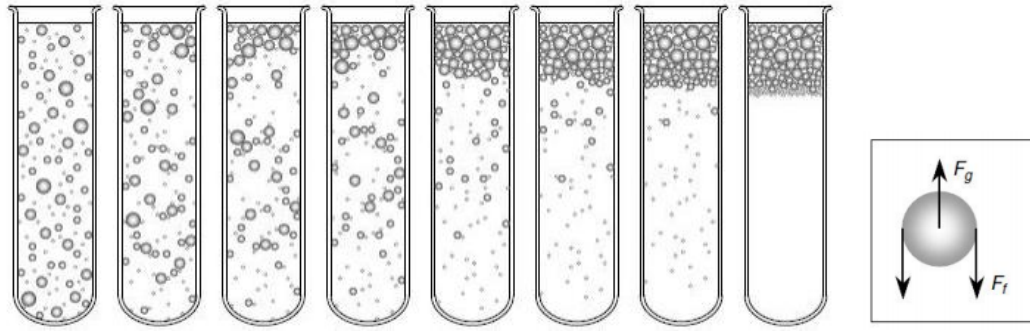


Şekil 2.3. Emülsiyon sistemlerindeki fiziksel kararsızlık olaylarının mekanizması, **a)** Birincil partiküller; **b)** Flokülasyon; **c)** Krema oluşumu; **d)** Birleşme (koalesans); **e)** Flokülasyon aşamasının az gerçekleşmesi durumunda oluşan yapı (Coupland ve Sigfusson 2005)

2.1.3.1. Kremalaşma ve sedimentasyon

Emülsiyon sistemi içindeki damlacık yoğunluğu genellikle onları çevrelemekte olan sıvının yoğunluğundan farklı olduğu için, genel çekim kuvvetleri bu bileşenlerin üzerinde etkili olmaktadır (Robins 2000). Damlacıkların yoğunluğu onları çevreleyecek olan sıvı yoğunluğundan daha küçükse, bunlar yukarı yönde hareket etmeye eğilimli olarak kremalaşmaya sebep olurlar (Şekil 2.4). Tam tersine damlacıkların yoğunluğu onları çevreleyecek sıvı yoğunluğundan daha büyükse, bunlar aşağı yönde hareket etmeye eğilimli hale geçerek sedimentasyona sebep olurlar.

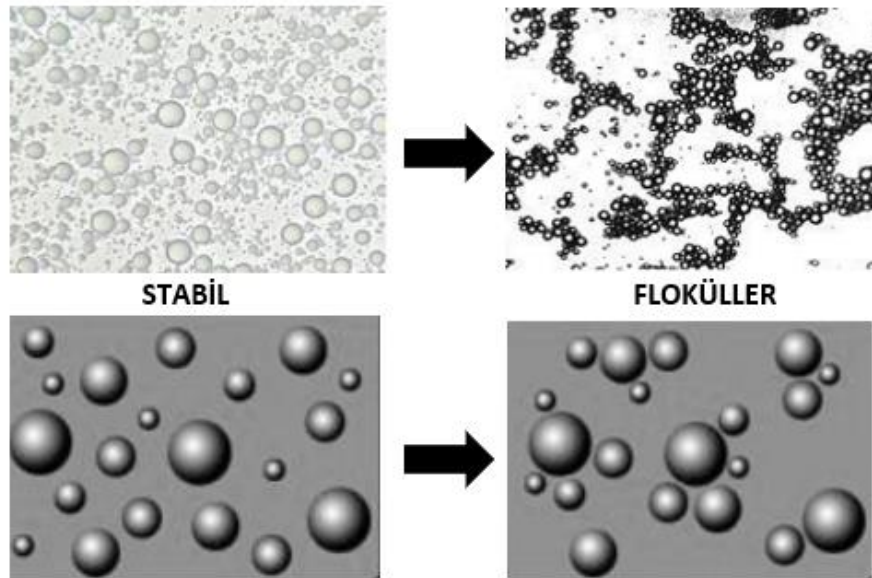
Gıda sektöründe kullanılmakta olan yenilebilir özellikteki çoğu yağların yoğunlukları suyun yoğunluk değerine kıyasla daha küçük olması sebebiyle, emülsiyon sistemi yüzeyinde yağ damlaları, alt kısımda ise su damlaları toplanma eğilimi gösterir. Mesela, yağ/su emülsiyonlarında yağ damlaları kremalaşmaya eğilimliyken; su/yağ emülsiyonlarında yağ damlaları sedimentasyon oluşturmaya eğilimlidir. Kremalaşmaya uğramış gıda ürünlerinin kalitesi, homojen görünümdeki gıda ürünlerine kıyasla tüketiciler tarafından tercih edilmemektedir. Viskozitesi yüksek zengin yağ tabakasına sahip bu bölgeler, ürünlerdeki tekstürel özellikler bakımından da etkilenmekte olup, emülsiyondan alınan bu bölgesel alandaki emülsiyon tadı ve ağızda bırakılan hissiyat da kremalaşmadan olumsuz yönde etkilenmektedir (McClements 2004).



Şekil 2.4. Gıda emülsiyonlarında görülen kremalaşma olayının şekilsel gösterimi (McClements 2007)

2.1.3.2.Flokülasyon

Emülsiyon sistemleri içinde bulunan bileşenlerin her biri, spesifik özelliklerini kaybetmeksizin birbirleriyle birleşirler, bu sürece flokülasyon süreci denilmektedir (Şekil 2.5). Emülsiyonların görünüm, tekstür, tat ve raf ömürleri gibi birçok özelliğinde flokülasyonun önemli bir etkisi bulunmaktadır (McClements 2004). Bunların avantajları ve dezavantajları ürünün doğasına bağlı bir şekilde değişiklik göstermektedir. Seyreltilmiş emülsiyonların flokülasyon sürecine girmesiyle yerçekimsel ayrışma oranı artar ve ürünlerin raf ömrünün kısalması gibi istenmeyen olaylara sebep olur (Tan et al. 2004). Flokülasyon, emülsiyonun viskozitesini artırarak jel oluşmasına neden olduğundan, düşük viskoziteli gıda ürünleri için dezavantaj haline gelebilmektedir. Bunun yanı sıra flokülasyonun kontrol altında tutulmasıyla, üründe istenilebilir yapılar oluşturularak bazı ürünler için belirli avantajlar sağlanabilmektedir (Demetriades et al. 1997).

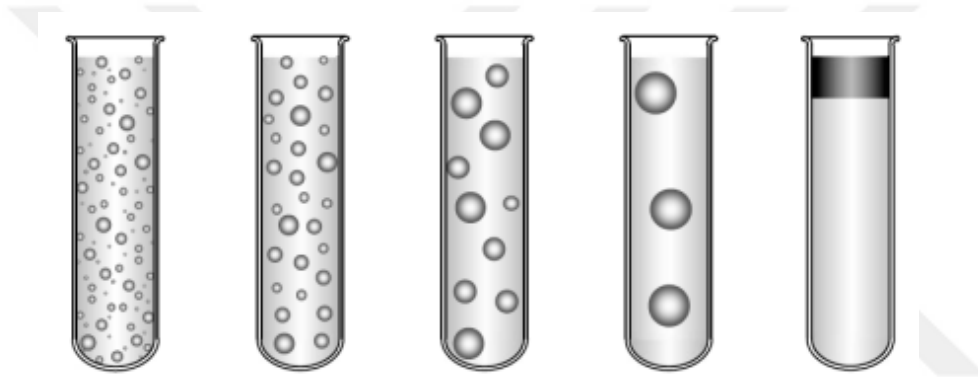


Şekil 2.5. Stabil haldeki emülsiyon ile floküle olan emülsiyon sistemi arasındaki fark (McClements 1999)

2.1.3.3. Birleşme (Koalesans)

Koalesans, emülsiyon sistemlerinde iki veya daha çok damlacığın birleşmesi durumunda yeni ve daha büyük parçacıkları oluşturmaya verilen isimdir. İki damlacığın birbiriyle ayrı durmasını sağlayan zar tabakasının yırtıldığı ve damlacıkların birbirleri ile oldukça yakın temasta bulunduğu zamanlarda görülmektedir. Koalesans sonucunda, ortalama damlacık çapı büyür ve bunun sonunda su ve yağ fazları ayrışır (Şekil 2.6).

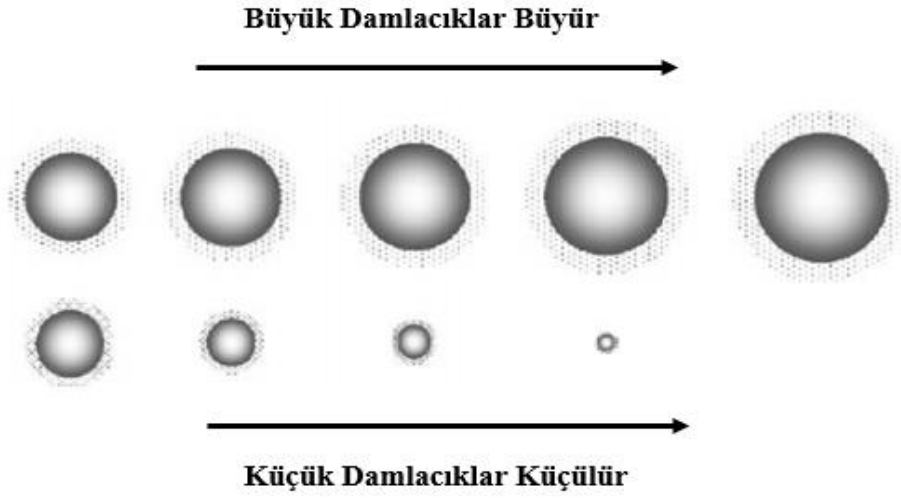
Temel prensip, emülsiyon sistemlerinin termodinamik açıdan en kararlı halde geçerek, su ve yağ fazları arasındaki temas alanını azaltmasıdır. Birleşmeyle beraber emülsiyon parçacıklarının çapları da büyür, dolayısıyla sediment oluşturma hassasiyeti ve kremalaşma düzeyinde de bir artış söz konusu olmaktadır. Yağ/su emülsiyonunda ürün yüzeyi üzerinde yağ tabakalarının oluşmasına sebep olan koalesans, su/yağ emülsiyonunda ise su fazlarının emülsiyon alt kısımlarında toplanmasına sebep olmaktadır (McClements 2004).



Şekil 2.6. Emülsiyon sistemlerinde birleşme (koalesans) oluşum aşamaları

2.1.3.4. Ostwald olgunlaşması

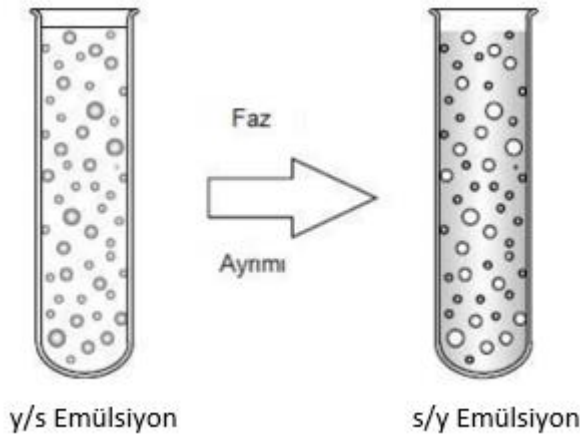
Emülsiyon sisteminde kütle transferi nedeniyle dağılmakta olan fazların sürekli fazdan difüze olmasına ve küçük damlacıklar yerine büyük damlaların daha fazla büyümesine Ostwald olgunlaşması denilmektedir (Weers 1998) (Şekil 2.7). Triaçilgliserol ve suyun birbirleri içinde çözünbilme seviyelerinin oldukça seyrek olması ve kütle transferlerinin önemli olmaması nedeniyle çoğu gıda emülsiyon sistemlerinde Ostwald olgunlaşması ihmal edilebilir düzeydedir (Dickinson 1982). Bunun yanında, su fazında alkol bulunuyorsa ya da yağ/su emülsiyonunda su içinde çözünabilen lipitleri (örneğin; aroma yağı gibi) fazla miktarda içeriyorsa Ostwald olgunlaşması önemli bir hal almaktadır (Weers 1998).



Şekil 2.7. Gıda emülsiyonlarında görülen Ostwald olgunlaşması olayının şematik gösterimi

2.1.3.5. Faz ayrımı

Emülsiyon sistemi içinde bulunan fazlar arasındaki dengenin değişmesiyle faz ayrımları gerçekleşmektedir. Mesela bir y/s emülsiyonunun s/y emülsiyonuna dönüşmesiyle faz ayrımı gerçekleşir (Onur 2010) (Şekil 2.8). Tereyağı ve margarinler gibi gıdaların üretilmesinde bu aşama önemlidir (Goff 1997). Bunun yanında gıdalarda görünüm, tat, tekstür ve kararlılıklarında ortaya çıkan olumsuzluklar istenilmeyen durumlardır (McClements 2004). Çoğunlukla faz ayrımları; mekanik çalkalama, emülgatörlerin türü ve konsantrasyonu, dağılan fazların hacimsel fraksiyonu ve sıcaklık gibi çevresel-oransal etkilerin değişmesiyle oluşmaktadır (Dickinson 1992).



Şekil 2.8. Bir y/s emülsiyonunun faz ayrımına uğrayarak s/y emülsiyona dönüşümü

2.1.4. Emülsiyonların karakterizasyonu

2.1.4.1. Zeta potansiyeli (ζ)

Emülsiyon sistemindeki damlacıkların dış yüzeylerinde meydana gelen elektrik yüklü tabaka, emülsiyonların zeta potansiyelini belirlemektedir. Milivolt (mV) birimiyle ifade edilen zeta potansiyeli, emülsiyon kararlılığı konusunda birçok bilgi vermektedir (Bouyer et al. 2012). Zeta potansiyel ölçümünün kontrol edilmesiyle, emülsiyon kararlılığının kontrolü sağlanmaktadır (Cho et al. 2012). Zeta potansiyelin büyüklük değeri elektriksel tabaka kalınlığıyla bağlantılıyken, yükü de elektriksel tabaka yüküne bağlı olmaktadır. Kararlı emülsiyonlar oluşturabilmek için zeta potansiyel değerinin -25 mV'den küçük ya da +25 mV'dan büyük bir değerde olması gerekir. Proteinlerin izoelektrik noktası sıfır noktasıyla belirtilmektedir. 31 proteinin kararlılığı, zeta potansiyeli sıfır olduğu pH değerine ulaşıldığında bozulur ve çökmeler gerçekleşir.

Zeta potansiyeli üzerinde negatif ve pozitif yönlerdeki artmalar emülsiyon stabilitesindeki artışları temsil etmektedir. Bu artışlar elektriksel tabakanın kalınlaştığını göstermekte olup, damlaların birleşerek flokülasyonunu engeller ve emülsiyon sisteminin daha uzun sürelerde stabil kalmasına yardımcı olur (Srinivasan et al. 2010). Zeta potansiyeli sıfır değerine yaklaştıkça emülsiyondaki damlalar birleşerek floküle olurlar ve serum ayrışmaları gerçekleşmeye başlar. Elektroforez, dinamik ve elektroakustik ışık saçılımı gibi yöntemler kullanılarak zeta potansiyelleri belirlenebilmektedir (McClements 1999).

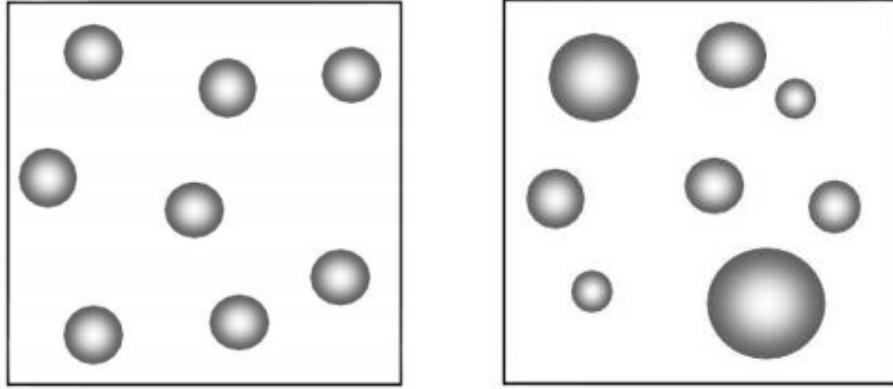
2.1.4.2. Damlacık boyutu ve dağılımı

Emülsiyon sistemlerinde dağılmakta olan fazın damlacık boyutu ile damlacık boyut dağılımları, emülsifikasyonla bağlantılı olarak emülsiyon kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir. Bunlar son ürünlerdeki aroma, stabilite, tekstür ve maliyet gibi birçok özelliğe etki etmektedir. Dağılan fazların damlacık boyutlarını belirleyebilmek için optik mikroskopla dinamik ışık saçılımı, lazer difraksiyonu gibi çeşitli teknikler kullanılabilir (Bouyer et al. 2012). Oldukça küçük boyutlardaki damlacıklar diğer yöntemlerle tespit edilemediğinden, dinamik ışık saçılım yöntemi karakterizasyonda en sık tercih edilen yöntemdir. Dinamik ışık saçılım yöntemiyle 3 nm – 3 µm arasında olan damlacıkların boyutları tespit edilebilmektedir.

Emülsiyon sistemi içerisinde dağılan bütün damlacıkların boyutları aynı boyuta sahip ise böyle emülsiyonlara monodispers emülsiyonlar, geniş boyut aralıklarına sahip ise polidispers emülsiyonlar denilmektedir (Şekil 2.9). Üretim sırasında kullanılmakta olan homojenizatörlere bağlı olarak damlacık boyutu genellikle 0,1-2 µm aralığındadır (McClements 1999). Emülsiyon sistemlerinin fiziksel özellik, kimyasal özellik ve mikrobiyolojik açıdan kararlı halde bulunmaları istenmektedir. Zaman içerisinde damlacık boyutunda ve fazlarında değişim gerçekleşmiyorsa emülsiyon fiziksel özellik bakımından kararlı halde bulunmaktadır.

Emülsiyon sistemlerinin kararlılığını artırmak için yüksek basınç ve ultrases homojenizatörleri kullanılabildiği gibi fazlardan emülsifiye eden bileşenler eklenerek damlacıkların boyutunda küçülme sağlanabilmektedir. Gıda üretim süreci süresince

damlacıklara uygulanan basınç etkisiyle ortaya çıkan flokülasyonu durdurmak için bütün damlacık boyutu eşit aralıklarda olan emülsiyon sistemleri üretilir (Schubert ve Engel 2004).



Şekil 2.9. Monodispers ve polidispers emülsiyonların şematik gösterimi

2.1.4.3. Türbidite

Emülsiyon sistemlerinin görünümünü etkilemekte olan türbidite bulanıklıkla ilgili bir parametre olup, gıda emülsiyonlarında damlacık boyutu, damlacık boyut dağılımı ve damlacık refraktif indeksine bağlı olarak değişen bir etkidir (McClements 1999). Genel olarak damlacık boyutu arttıkça doğru orantılı bir şekilde türbidite de artmaktadır (McClements 2002; Lee ve McClements 2010). Absorbans ölçümüyle türbidite aşağıdaki (2.2) formüle göre hesaplanabilmektedir;

$$T = 2,303.A.V/L \quad (2.2)$$

Formülde bulunan T türbiditeyi (m^{-1}), A belirli bir dalga boyunda ölçülmüş absorbans değerini, V dilüsyon faktörünü ve L ölçüm küveti yolunu (m) temsil etmektedir (Wang et al. 2010).

2.1.4.4. Yüzey gerilimi

Tensiyometre ile Wilhelmy Tabakası ve Du Nouy Halkası yöntemleri kullanarak emülsiyon sistemlerinin yüzey gerilimleri ölçülmektedir. Emülsiyon içine plaka ya da halka daldırılarak zıt yönde bir itme kuvvetinin uygulanmasıyla, yüzey gerilimi milinewton/metre (mN/m) birimi cinsinden elde edilmektedir (Bouyer et al. 2012). Yağ ve suyun ara yüzey gerilimi emülsifiye edici ajanlar tarafından düşürülerek, emülsiyon sisteminin yüzey geriliminin düşmesi sağlanmaktadır. Emülsifiye edici ajan konsantrasyonunun artırılmasıyla yüzey gerilimi düşerken, belli bir yere ulaştıktan sonra dağılan faz çeperlerindeki emülsifiye edici ajan max. seviyeye ulaşır ve yüzey geriliminde düşüş gerçekleşmez. Bu noktada yüzey gerilimi sabitleşir, dolayısıyla emülsiyonun doyunlaştığı emülsifiye edici ajan konsantrasyonu bulunabilmektedir (McClements 1999).

2.1.4.5. Reolojik özellikler

Reoloji, madde üzerine belirli bir kuvvetin uygulanmasıyla birlikte ortaya çıkan madde deformasyonunu ve madde akışındaki değişimleri inceleyen bilim dalıdır (Whorlow 1992; Macosko 1994). Gıda emülsiyonunun reolojisi oldukça önemli olduğundan bilinmesinde fayda vardır (McKenna ve Lyng 2003; Sherman 1982). Örneğin;

- ❖ Son ürünlerin reolojisine bağlı olan homojenizatördeki damlacıkların ayrılma etkinlikleri, bileşenlerin herbirinin viskozitesiyle de doğrudan ilişkilidir.
- ❖ Çoğu gıda emülsiyonlarının raf ömürleri, yağ/su emülsiyonunda bulunan yağ damlacığındaki kremalaşmanın su fazının viskozite değerine bağlı olduğu gibi, bileşen fazının reolojik özelliklerinden etkilenmektedir.
- ❖ Yöntem aşamalarında kullanılmakta olan ekstrüder, homojenizatör, pompa ve ısı değiştiriciler gibi aletlerin tasarımlarında gıda emülsiyonunun reolojik verileri gerekli olmaktadır.
- ❖ Emülsiyon sistemlerinin çoğu duysal özellikleri (örneğin; kalınlık, sertlik, kayganlık, pürüzlülük, sürülebilirlik ve akışkanlık) reolojiyle oldukça ilgili bir kavramdır.
- ❖ Reolojik ölçümler, kesme hızı karşısında viskozite değerleri ölçülerek damlacıkların arasında var olan kolloidal etkileşim gücünün tespiti gibi, emülsiyondaki bileşenlerin interaksiyonunu ve yapının organizasyonunu belirlemeye çalışan analitik bir araç olarak kullanılmaktadır.

Akışkanlığına göre sıvılar, Newtonian özellikte olan ve Newtonian özellikte olmayan akışkan grubu olarak iki temel başlıkta incelenmektedirler. Newtonian özellikteki akışkanların kesme stresi ve kesme hızları arasında bir bağlantı bulunmaktayken, bu gibi sıvıların viskozite değeri kesme hızından bağımsız haldedir. Kesme hızının artışıyla beraber kesme stresinin de doğrusal bir biçimde arttığı gözlenmektedir (Steffe 1996). Newtonian akışından farklı akış özelliğine sahip olan sıvılar, Newtonian özellikte olmayan sıvılar olarak isimlendirilmektedir. Bunlar ise kendi aralarında zamana bağımlı olan ve zamana bağımlı olmayan sıvılar olarak iki sınıfa ayrılırlar. Zamana bağımlı olmayan sıvılar, kesme hızıyla bağımlı olarak kesme koyulaşması ve kesme incilmesi olan sıvılar şeklinde iki farklı grupta incelenmektedirler (Steffe 1996).

Kesme hızının artışıyla birlikte kesme streslerinde azalmanın olduğu ve kesme incilmesi özelliğini gösteren Newtonian olmayan akışkanların çoğunda, kesme hızına bağlı biçimde viskozitelerde de azalma görülmektedir (Geankoplis 2003). Böyle akışkanların bir diğer ismi pseodö plastik akışkanlardır. Kesme koyulaşmasının gözlemlendiği sıvıların kesme hızının artmasıyla beraber viskozitelerinde de bir artma gerçekleşmektedir. Dilatant sıvılar olarak da isimlendirilen kesme koyulaşması, Newtonian olmayan akışkanların arasında oldukça az rastlanan akışkan türüdür (Steffe 1996). Yarı sıvı özellikteki maddeler ve sıvıların akışlarının belirlenmesi için Ostwal-de-Walle (üslü-yasa), Cason ve Bingham modelleri ve Hershel-Bulkey gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır.

$$\text{Üslü Yasa Modeli} \quad \sigma = K\gamma^n \quad (2.3)$$

$$\text{Hershel-Bulkey} \quad \sigma = KH\gamma^n + \sigma Y \quad (2.4)$$

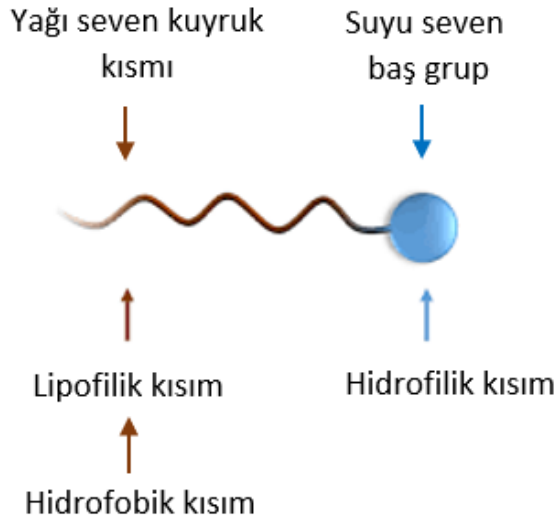
$$\text{Casson} \quad \sigma = KC\gamma^{0.5} + \sigma Y^{0.5} \quad (2.5)$$

$$\text{Bingham Modeli} \quad \sigma = \eta B\gamma + \sigma Y \quad (2.6)$$

Yukarıdaki eşitlikte σ kesme stresi (Pa), K kıvam katsayısı (Pa.s^n), n akış davranış indeksi, γ kesme hızı (s^{-1}) ve σY başlangıç stresidir. Gıdalardaki akış davranış özelliğinin belirlenmesi için sıklıkla Ostwal-de-Walle modeli kullanılmaktadır (Steffe 1996). Emülsiyon sistemleri yapı ve kompozisyon bakımından karmaşık özelliklere sahip yapılar olup viskoelastik jel (tatlı, yoğurt vb.), viskozitesi düşük sıvı türleri (meyve suyu, süt vb.) ve katı yağlar (tereyağı ve margarin vb.) gibi çeşitli reolojik özellikleri içerebilmektedirler.

2.2. Sürfaktan (Yüzey Aktif Madde)

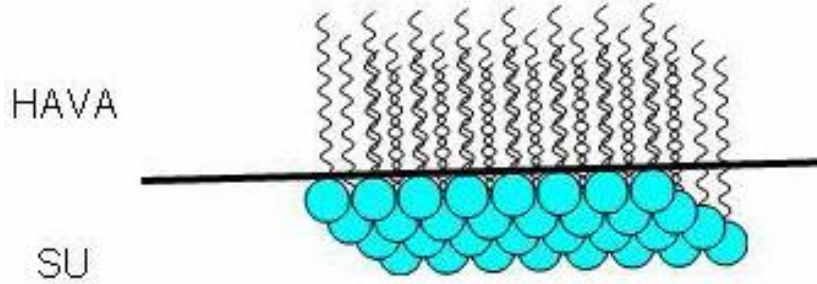
İngilizce anlamı ‘‘yüzey’’ olan ‘surface’ kelimesinin türemesiyle, ‘surface active agent’ sözcüklerindeki harflerin kısaltması olan ‘surfactant’, sözlüğe sürfaktan şeklinde geçmiş olup, yüzey aktif madde olarak kullanılmaktadır. Suda, su içeren çözeltilerde veya su içermeyen ortamlarda çözündükleri zaman, sıvının yüzeyini küçülterek, yüzey geriliminin azalmasını sağlayan maddeler olarak tanımlanmaktadır (Galioğlu 1991). Çözücü olarak su kullanılması durumunda, su seven hidrofilik baş grup ve su sevmeyen hidrofobik özellikteki kuyruk grubuna sahip, amfifilik (hidrofilik ve hidrofobik karakterdeki yapılar) özellikteki moleküllerdir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Sürfaktanın genel yapısı

Yüzey aktif maddelerin sulu çözeltideki davranışları, hidrofilik kısmın çözeltiliye yönelmesi ve hidrofobik kısmın çözeltiden ayrılması eğilimine göre tespit edilmektedir. Bu iki taraflı eğilimler nedeniyle, ara yüzeyler arasında sürfaktan adsorpsiyonu ve misel agregatlarının oluşumu sağlanmaktadır. Sürfaktanlar, sulu çözelti içerisinde ya da suda

çözündüğü zaman yüzey gerilimine etki eden, genellikle azaltma eğiliminde olan, kimyasal bileşiklerdir. Hidrofilik baş kısmı ve hidrofobik kuyruk kısmından meydana gelen sürfaktan molekülü, havayla suyun birleşmiş olduğu yerlerde yoğunlaşmaktadır. Yüzey aktif maddeler hava-su ara yüzeyinde adsorplandıklarında yüzey gerilimini düşürürler, bu onları birçok amfifillerden ayıran esas özelliktir (Şekil 2.11).

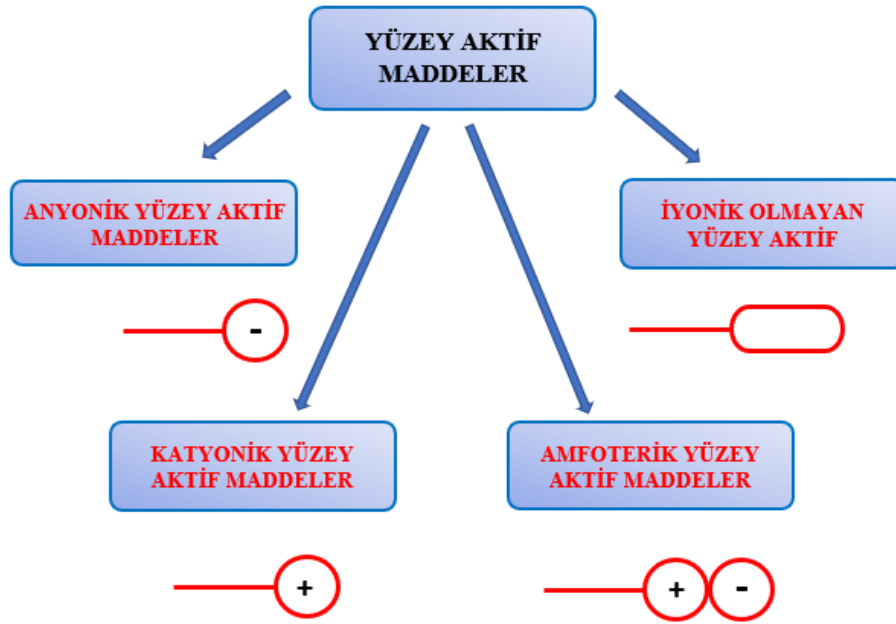


Şekil 2.11. Hava-su arayüzeyi

Bu moleküllerin, sudan uzakta bulunan su/hava ara yüzeyindeki hidrofobik grupları ve çözeltinin içerisindeki hidrofilik gruplar, adsorplandıklarından dolayı, ara yüzeyde bulunan su moleküllerinden bazılarının polar olmayan gruplarla ve hidrokarbonlarla yer değiştirdikleri görülmektedir. Sürfaktan molekülünün ara yüzeylerde yapmış olduğu adsorpsiyon sonucunda, su moleküllerinin arasındaki bağ etkileşim kuvvetleri azalır, böylece çözelti içerisinde meydana gelen yüzey gerilimi düşme eğilimi gösterir (Geçgel 2008).

2.2.1. Yüzey aktif maddelerin sınıflandırılması

Sürfaktanlar, oluşumları, iyonik yükleri ve polar baş grupların yapısına bağlı olarak farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.12). Oluşumları bakımından doğal sürfaktanlar ve sentetik sürfaktanlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Doğal sürfaktanlar; kolik ve deoksikolik asit safra asitleri, basit (örnek olarak, karboksil asit esterleri) ve kompleks (örnek olarak, şeker, azot ya da fosfor içeren yağ asitleri) lipidleri, doğal yollarla oluşan amfifilleri içermektedir (Taner, 2006). Sentetik sürfaktanlar; su seven hidrofilik özellikteki grupların yükü bakımından, moleküllerin yüzey aktif kısımlarıyla taşınmakta olan yüklere göre anyonik, amfoterik, non-iyonik ve katyonik şeklinde sınıflandırılmaktadır (Çizelge 2.1).



Şekil 2.12. Yüzey aktif maddelerin sınıflandırılması

Çizelge 2.1. Bazı yaygın kullanılan sürfaktanların polar baş gruplarının yapısına bağlı olarak sınıflandırılması

TÜR	İSİM
NON-İYONİK	Poli oksietilen alkol
	Alkilfenol etoksilat
	Polisorbat 80
	Penta etilenglikolmonodesil eter
ANYONİK	Sodyum dodesilsülfat
	Sodyum stearat
	Sodyum dodesilbenzensülfonat
	Potasyum n-oksalat
	Sodyum di-2-etilhekzil sülfosüksinat
KATYONİK	Setiltrimetilamonyum bromür
	Trimetildodesilamonyum klorür
	Oktadesiltrimetilamonyum bromür
	Laurilamin hidroklorür
AMFOTERİK	Dodesil betain
	Kokoamid-2-hidroksi-propil sülfobetain
	Zwittergent 3-14

2.2.1.1. Non-iyonik sürfaktanlar

Yüzey aktif maddelerin hidrofilik özellikteki baş kısımları iyonik yük içermiyorsa, bu tip sürfaktan moleküllerine non-iyonik sürfaktanlar denir. Bunlar ikinci önemli sürfaktan sınıfını oluşturmakta olup, tüm sürfaktan türleriyle uyumluluk gösterirler. İyonik sürfaktanlara kıyasla fizikokimyasal özellikleri, elektrolitlerden önemli ölçüde etkilenmemektedir. Non-iyonik sürfaktanların sert suya karşı duyarlılığı bulunmaz ve etoksilatlanan bileşiklerindeki fizikokimyasal özellikler sıcaklık değerine oldukça bağlı halde bulunur. İyonik bileşiklere göre bu sürfaktanlar, yüksek sıcaklıkta su içerisinde daha az miktarda çözünerek daha hidrofobik bir hal almaktadırlar.

Sürfaktanların polar grupları çoğunlukla, polihidroksil birimi veya oksietilen biriminden meydana gelen polieter kısımlarından oluşmaktadır. Su içeren ortamlarda çözündüğünde ve dağıldığında yüklü tanecikler meydana getirmezler. Su molekülleriyle hidrojen bağı oluşturup oluşturmadıklarına bağlı olarak hidrofiliklik eğilimleri değişmektedir. Yüksek polariteye sahip nötr grup ya da gruplarla uzun zincirli hidrofobik özellikteki bir alkil grubunun birleşmesiyle oluşmaktadır. Örnek olarak; karboksilat, sülfat ve sülfonat anyonları verilebilmektedir (Galioğlu 1991). Bu grubun en yaygın kullanıma sahip maddesi alkol etoksilatlarıdır. Örneğin; polioksietilen alkol, penta etilen glikol mono desil eter, sodyum dodesil sülfat (SDS), alkil fenol etoksilat vb. maddeler kullanılmaktadır.

2.2.1.2. Anyonik sürfaktanlar

Yüzey aktif maddenin hidrofilik özellikteki baş grupları negatif yük ile yüklenmişse, bu tip sürfaktan moleküllerine anyonik sürfaktanlar denilmekte olup, sürfaktanların büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Birçok sürfaktan sınıfına oranla daha fazla miktarlarda kullanılıyor olmasının sebebi ucuz temin edilebilir olması ve imalat aşamasındaki kolaylıklardır. Anyonik sürfaktanların polar hidrofilik baş grubunda, sülfat, fosfat, karboksilat ve sülfonat anyonları yer alırken, karşıt iyonlar olarak genellikle amonyum, sodyum, kalsiyum, potasyum ve değişik şekillerde protonlanan alkil aminler kullanılabilmektedir. Su içerisindeki çözünürlüğü sodyum ve potasyum, yağ içerisindeki çözünürlüğü kalsiyum ve magnezyum arttırmaktayken, yağda ve suda çözünebilir ürünleri amin/alkanol amin tuzları vermektedir.

Çoğu deterjan formülünde kullanılan anyonik özellikteki sürfaktanlar önemli düzeyde biyolojik aktivitede sergilemektedir. Örneğin; alkil benzen sülfonat (ABS), sabun vb. sürfaktanlar nişasta (Merta ve Stenius 1999), peptit, DNA (Marques et al. 2000) ve protein (Nielsen et al. 2000) gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip makro boyuttaki moleküle bağlanıp veya farklı çeşitlerde hücrelerin (fosfolipit hücre zarı vb.) içine girip buradaki bölgelerin fonksiyonlarında bozukluklara neden olmaktadır.

2.2.1.3. Katyonik sürfaktanlar

Hidrofilik baş grubu pozitif yük ile yüklenen katyonik sürfaktanlar, üçüncü önemli sürfaktan grubunu oluşturur. Yüzeylerde kuvvetli bir şekilde adsorplanmaları nedeniyle yüzey modifikasyonunda kullanımları yaygındır. Katyonik sürfaktanlarda genellikle, katyonik elektriksel yükleri taşımakta görevli olan azot atomları

bulunmaktadır. Aminlere ve kuarterner amonyuma dayanan fazla miktarda ürün vardır. Sadece protonlandığında sürfaktan özelliği gösteren aminler, pH'nın yüksek olduğu değerlerde kullanılmazlar. Kuarterner amonyum bileşikleri pH'a duyarlı değilken, kuarterner olmayan amonyum bileşikleri çok değerliye sahip anyon türleri karşısında fazla hassasiyet gösterirler. Bu sürfaktan sınıfı, iyonik olmayan ve amfolitik yüzey aktif maddeleriyle uyumluyken, anyonik yüzey aktif maddelerle uyumsuzdurlar (Rosen 1978). Örneğin;

- ❖ Setiltrimetilamonyum bromür (CTAB) ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$)
- ❖ Dodesilamin hidroklorür ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{NH}_3^+\text{Cl}^-$)
- ❖ Hekzadesiltrimetil amonyum bromür ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}(\text{CH}_3^+)\text{Br}^-$)

2.2.1.4. Amfolitik sürfaktanlar (Zwitter iyonik sürfaktanlar)

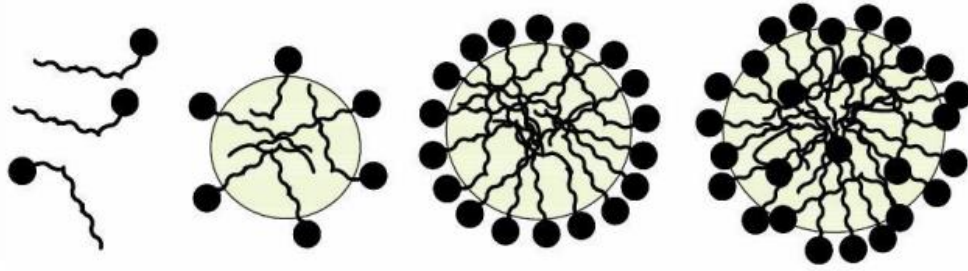
En küçük sürfaktan sınıfını oluşturan amfolitik sürfaktanlar, hidrofilik baş grubunda hem pozitif hem de negatif yük taşımaktadırlar. Amonyum pozitif yükün kaynağıyken, negatif yükün kaynağı genellikle karboksilat veya farklı maddeler olabilmektedir. Çoğunlukla asitler ve bazlarda kararlı halde bulunurlar. Göze ve deri yüzeyine önemli derecede zarar vermedikleri için çoğu kişisel bakım ürünüde veya şampuanlarda kullanılabilmektedir.

Zwitter iyonik sürfaktanın pH değeri düşükten yükseğe doğru gidildiğinde katyonik değerden anyonik değere doğru yol değiştirmektedir. Asit ve baz merkezleri sürekli olarak yüklü değildir. Sürfaktanın pH değişimiyle ortaya çıkan değişim, temizleme, ıslatma ve doğal yollarla köpük oluşumu gibi özellikleri etkilemektedir. Fizikokimyasal davranışlar izoelektrik noktada çoğunlukla non-iyonik sürfaktanlara benzer şekildedir. Anyonik ve katyonik karakterlere doğru geçişler, izoelektrik nokta altına ya da üstüne doğru gidildikçe olmaktadır.

Sürfaktan moleküllerinde bulunan hidrofobik kısımlar çoğunlukla hidrokarbon zincirleri olmakla birlikte, uzun zincirli alkil benzen grupları, dallanmış zincirli uzun alkil grupları, alkil naftalin grupları, düz zincire sahip uzun alkil grupları, polisiloksan grupları, reçine türevleri ve molekül ağırlığı yüksek olan propilen oksit polimerleri gibi çeşitli yapılar içerebilmektedir. Bu hidrofobik özellikteki grupların yapıları yüzey aktif maddelerin özelliklerini önemli ölçüde etkiler (Ünsal 2008).

2.2.2. Misel oluşumu

Sürfaktan moleküllerinde bulunan hidrofilik özellikli kısım dış yüzeylerde suyla temas ederken, hidrofobik özellikli kısım ise iç bölgelerde yer alır ve misel adı verilen kümeleşmeleri meydana getirirler (Şekil 2.13).

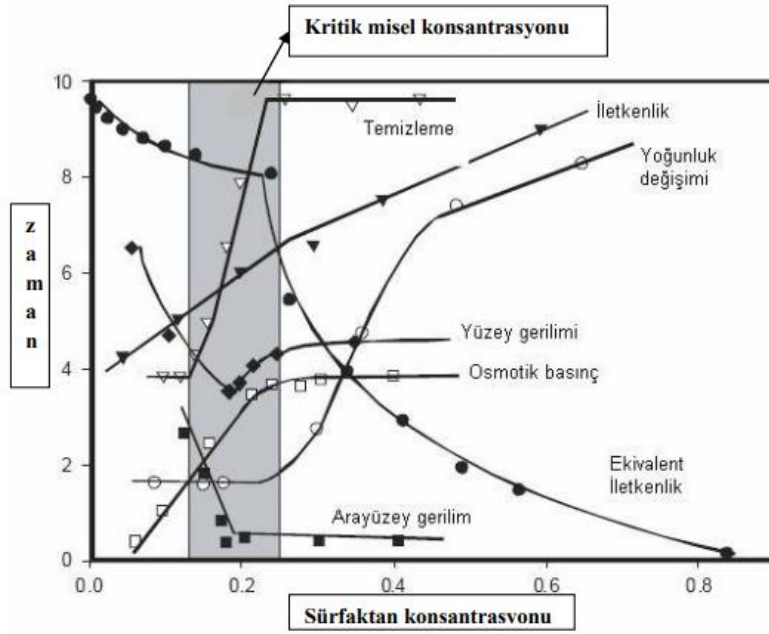


Şekil 2.13. Misel oluşumunun şematik gösterimi

Apolar madde suda çözündüğü zaman bu yapılanma artar ve serbest enerjide de yükselme söz konusu olur. Sürfaktan molekülleri bu yükseliş sonucunda sistemdeki serbest enerjiyi düşürebilmek üzere hava-su ara yüzeylerinde adsorplanır ya da miselleri meydana getirirler. Monomerler kümeleştikleri zaman hidrokarbonların etrafında var olan su yapılanmaları bozulur ve su moleküllerinin düzensiz bir hale geçtiği gözlenir. Bu da entropinin artmasına ve serbest enerjinin azalmasına sebep olmaktadır (Elworthy 1968).

Ara yüzeydeki amfifiller adsorplandıkça, yüzey (hava/su) ya da ara yüzey (yağ/su) gerilimleri azalır, dolayısıyla yüzey amfifillerle doyduğu zaman, Gibbs serbest enerjinin düşürülmesi gerekir. Çözelti içinden amfifil fazının ayrılması istenmeyen hidrokarbon/su temaslarını önleyebilmektedir. Mikrofazlardaki misel agregatları oluştuğu zaman, hidrofobik özellikteki alkil kuyruklar agregat merkezi içinde izole edilirken, hidrofilik özellikteki baş gruplar ise agregat kabuğunun oluşmasını sağlayarak suyla devamlı temas halinde bulunurlar (Geçgel 2008).

Sürfaktan molekülleri belirli bir derişime ulaştıklarında, yüzeyde adsorplanabilir bir yer bulamadıklarından dolayı çözelti içine doğru yönelerek miselleri oluşmaktadır. Yeteri kadar yüzey aktif madde çözelti içinde çözündüğü zaman çözeltinin, hidrokarbon çözünürlüğü, yüzey gerilimleri, iletkenliği vb. özellikleri önemli düzeyde değişir ve bunların gözlemlendiği minimum yüzey aktif madde konsantrasyonuna kritik misel konsantrasyonu ‘KMK’ denilmektedir. Yüzey gerilimi, difüzyon, ozmotik basınç, bulanıklık, iletkenlik, basınç, çözünürleştirme ve fluoresans yöntemleri kullanılarak, çözeltideki maddelerin monomer halde veya kümeleşmiş halde olduğuna bağlı olarak fiziksel özelliklerinin konsantrasyonla değişimi incelenir.



Şekil 2.14. Fiziksel özelliklerin kritik misel konsantrasyonundan sonra uğradığı belirgin değişiklikler (Geçgel 2008)

Derişik olmayan çözeltilerde yüzey aktif madde normal çözünen madde gibi davranırken, belli konsantrasyon değerlerinin üzerine çıkıldığında osmotik basınç, yüzey gerilimi, iletkenlik ve türbidite gibi büyüklüklerinde normal olmayan düzeyde sapmalar meydana gelir. Bu tip fiziksel özelliklere karşı sürfaktan derişimi grafiğe geçirildiğinde kritik misel konsantrasyonu kırılma noktası göstermektedir (Şekil 2.14).

2.3. Sol – Jel Yöntemi

Sol-jel yönteminin başlangıcı, 1846 yılında Ebelman tarafından atmosferde bulunan nemle tetraetoksi silanın yavaş bir şekilde hidroliz edilmesiyle jele dönüşümünün gözlemlenmesi sonucu gerçekleşmiştir. Bundan dolayı, cam özellikli bileşiklerde ilk çıkış maddesinin $\text{Si}(\text{OEt})_4$ olduğu bilinmektedir. Seramiklerde ve camların yapımında uygun olan çıkış maddeleri 1940'lı yıllarda kullanılmaya başlanmıştır. Sol-jel terim olarak, koloidal özellikteki süspansiyonların jelleştirilmesiyle katı fazların oluşması anlamına gelir (Sanchez ve Livagne 1990).

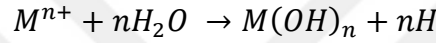
Brownian hareketleriyle süspansiyon halinde kalabildiği uygun büyüklükte partiküllerin, sıvı fazdaki dispersiyon karışımına “sol” denilmektedir. Sol karışımları, liyofilik (güçlü çözücü-partikül etkileşimi) ve liyofobik (güçsüz çözücü-partikül etkileşimi) gibi çözücü-partikül etkileşimine bağlı olarak iki gruba ayrılmaktadır. Jel ise, sıvıyı içeren bir katı olarak tanımlandığı gibi, sıvıyla katının yeterince iyi karışmış olduğu ağ yapısını ifade eder. Jel oluşumunda en spesifik kriter güçlü bir çözücü-partikül etkileşiminin olmasıdır (Turner 1991). Birçok sol-jel uygulamasında çıkış maddesi olarak çoğunlukla $\text{M}(\text{OR})_n$ şeklindeki alkoksitler (n : değerlik, M : metal, R : alkil, $\text{C}_x\text{H}_{2x-1}$) kullanılır. Bunlar anorganik monomer kaynakları olmakla birlikte, çoğu organik çözücülerde çözünebilirler (Schmidt 1988).

2.3.1. Sol-jel tepkimeleri

Temel prensip, anorganik polimerizasyon reaksiyonlarıyla “sol” karışımının jel fazına dönüşmesini içerir (Sanchez ve Livage 1990). Yöntem aşağıda bulunan adımlar üzerinden gerçekleşmektedir;

- ❖ İstenen özelliklerin sağlanabileceği uygun çıkış maddeleri homojen biçimde karıştırılması,
- ❖ Hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonlarıyla karışım öncelikle sol’e daha sonra jel’e dönüştürülebilmesi,
- ❖ Oluşturulan jel ile istenen malzeme için uygun olan toz üretme, film oluşturma gibi işlemlerin yapılması.

Sol-jel metodunda çıkış maddeleri hidroliz edilebilir tuzlar ve metal alkoksitler olabilmektedir. Hidroliz edilebilen tuzlar başlangıç maddesi olarak kullanıldığında metal katyonu hidrolizi;



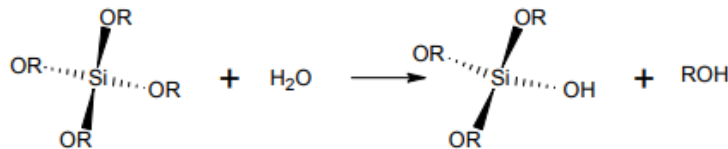
biçimindedir. Tepkimeyi ürünlerin yönüne doğru ilerletebilmek için çoğunlukla ortama baz eklenmektedir.

Metal alkoksitleri, hidroliz, kondenzasyon, katılma ve nükleofilik yer değiştirme gibi birçok reaksiyon vermektedir. Bunların reaktivlikleri, metal atomu elektronegatiflik değerine ve doymamışlık durumuna bağlı olmaktadır. Elektronegatifliğinin düşük olması ve tamamen dolu koordinasyon sayısı sebebiyle silisyum alkoksitleri, yaygın kullanılmakta olan tetravalent metal alkoksitlerine kıyasla daha düşük reaktivite göstermektedir (Sanchez ve Ribot 1994). Belli başlı tetravalent alkoksitlerinin reaktivite sıralaması aşağıda verilmiştir;



Silisyum içeren sistemlerin geçiş metallerine nispeten düşük reaktivliğe ve uygun çalışma imkanlarına sahip olması nedeniyle sol-jel mekanizmalarının çoğu anlaşılabilir. Silisyum alkoksitinin hidroliz reaksiyonu

Silika jeller genellikle, baz (NH_3) ya da mineral asit (örn. HCl) katalizörlerinin varlığında dört fonksiyona sahip Silisyum alkoksit monomerlerinin sentezlenmesiyle elde edilmektedir. Sol-jel yönteminin temelinde 2 reaksiyon bulunmakta olup, bunlar hidroliz ve kondenzasyon tepkimeleridir.



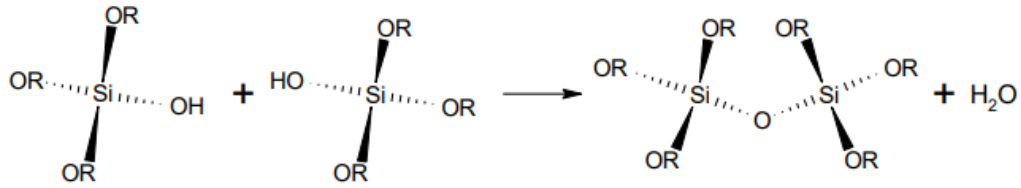
Şekil 2.15. Silisyum alkoksitin hidroliz reaksiyonu

Bazık ya da asidik ortamda suda ki oksijenin silisyuma nükleofilik etki ile bağlanmasıyla hidroliz reaksiyonu meydana gelir ve alkoksi gruplarıyla (-OR) hidroksil grupları (-OH) yer değiştirirler. Hidroliz reaksiyonunun tersi olan tepkime ise esterifikasyon tepkimeleridir. Alkoksisilanla su molekülleri birbirleriyle karışmadıkları için reaksiyonda genellikle alkol çözücülerini kullanılmaktadır.

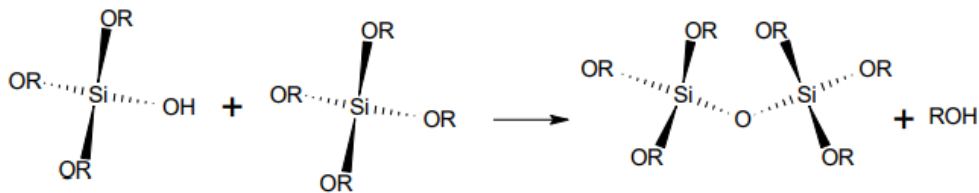
Metal alkoksitleri, M-O-C bağındaki yüksek polarite sebebiyle suyla kolay bir şekilde hidroliz olurlar. Hidroliz tepkimesi, S_N2 tepkime mekanizmasıyla birlikte metal atomlarına su molekülünde bulunan oksijen atomlarının nükleofilik olarak saldırması sonucu gerçekleşmektedir. Hidroliz tepkime hızı;

- ❖ Metal atomunda bulunan kısmi yük arttıkça artmaktadır,
- ❖ Uzaklaşan molekülün nükleofilik etkisi arttıkça artmaktadır,
- ❖ Metal atomunun doymamışlık derecesinin artmasıyla azalmaktadır,
- ❖ Metal atomunun merkezinde hacimli grupların artmasıyla azalmaktadır.

Silan gruplarının kondenzasyon reaksiyonu ile, siloksan (Si-O-Si) bağları oluşmaktadır. Böyle tepkimeler iki şekilde oluşabilmektedir. Su veren ileri yönlü reaksiyonla hidroliz olarak isimlendirilen ‘ters’ tepkime ya da alkol veren ileri yönlü reaksiyonla bu reaksiyonun tersi olan ‘alkoliz’ tepkimesidir. Çoğunlukla, hidroliz reaksiyonu bitmeden kondenzasyon reaksiyonu başlar (Brinker ve Sherer 1990).



Şekil 2.16. Su kondenzasyonu (Brinker ve Sherer 1990)

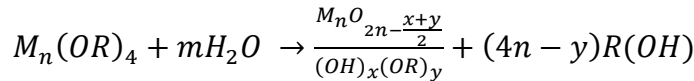


Şekil 2.17. Alkol kondenzasyonu (Brinker ve Sherer 1990)

Son yapı hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonlarının göreceli hızlarına göre belirlenmektedir. Reaksiyon toplamında 4 mol su harcanmakta olup, reaksiyon tamamlandığında yeniden 2 mol su kazanılmaktadır. 1 mol metal alkoksit, kondenzasyon tamamlandığında net 4 mol alkol oluşturur. Böylece, metal alkoksitler hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonlarına uğradıklarında kütlelerinde fazlaca bir düşüş olmaktadır. Üç ve üçten fazla fonksiyonlu monomerlerde, jelleşme noktasına ulaşmak için gerekli olan dönüşüm derecesi siloksandaki (doğrusal monomer) gibi %100 olmasına gerek yoktur. %40’lık dönüşümdeki kondenzasyon prosesi jelleşmeye sebep olabilmektedir.

Normal koşullarda, kinetik sebeplerden ötürü uç bağa sahip olmayıp sonsuz polimer zinciri oluşturan tipik sol-jel tepkimelerinde, bütün metal alkoksit dönüşümleri %90'ı geçmemektedir. Sonuçta, sol-jel yöntemi tamamlandığında, jelde bulunan silisyum atomları üzerinde henüz reaksiyona girememiş bölgeleri bulunmaktadır (Brinker ve Sherer, 1990).

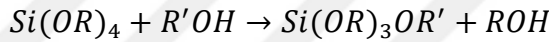
Quartzın ağ yapısına benzer şekilde oksit ağ yapılarını hidrolitik polikondenzasyon reaksiyonları oluşturur. Bu tip reaksiyonlar, uç grup doğasıyla konsantrasyonu, kimyasal kompozisyon çeşitliliği ve moleküler boyutları göz önünde tutularak şu şekilde yazılabilmektedir (Yoldas, 1986;1993;1994);



n= oksit ağında polimerize olmuş metal iyonlarının sayısı

x ve y= ağı çevreleyen OH ve OR gruplarının sayısı

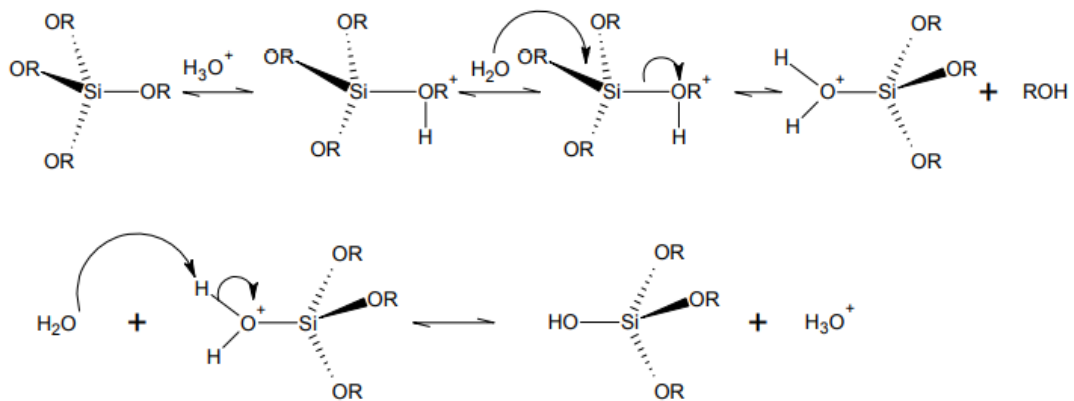
Hidroliz reaksiyonuyla birlikte transesterifikasyon, reesterifikasyon vb. yan reaksiyonlarda oluşmaktadır. Çıkış maddelerinin alkoksi gruplarından başka bir alkoksi grubu bulunduran alkol içerisinde hidrolizin gerçekleştiği durumlarda meydana gelen yan reaksiyona transesterifikasyon reaksiyonu denilmektedir. Bu tepkimelerin hızı tersiyer ve sekonder alkollerdeki gibi dallanan alkollerin olduğu çözücü sistemlerin kullanılmasıyla azaltılabilmektedir (Brinker ve Sherer, 1990).



-OH ve -OR'nin konsantrasyonları (su/alkoksit oranı) hidroliz koşullarına bağlı olarak birbiriyle etkileşimde olan moleküller arasında tepkime uzunluğu, tepkime ortamı, sıcaklık, ayrışma ve kataliz türü vb. özellikler metal alkoksit hidrolitik polikondenzasyonunu etkilemektedir. Bu özellikler ağ yapısını etkilemekte olup, doğrusal, siklik ya da çeşitli uç bağ ve uzunluklarda birçok dallanan yapıları oluşturmaktadır.

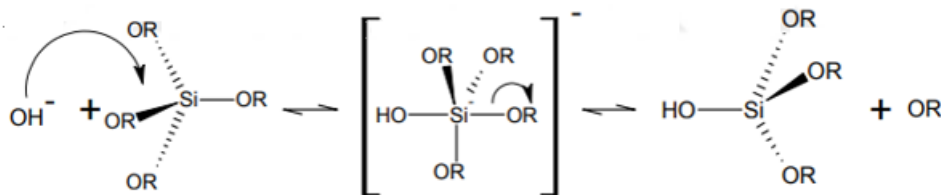
Morfolojiyle boyut dağılımlarının belirlenmesi ve poliorganosiloksan polimerinin oluşumunda, sisteme giriş yapan su konsantrasyonu oldukça önemli parametrelerdendir. Sıcaklık, katalizör vb. değişkenlere göre su, molekül yapısını meydana getiren ve kimyasal reaksiyonlara direk dahil olabilen bir bileşendir.

Hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları katalizör varlığında hızlanmaktadır. Genellikle, amonyak (NH₃) ve mineral asitler (HNO₃ ve HCl) katalizör olarak kullanılmakta olup, bu mineral asitlerinin eşdeğer konsantrasyonlardaki bazlara kıyasla oldukça etkin oldukları kanıtlanmaktadır.



Şekil 2.18. Asit katalizli hidroliz reaksiyonu

Asidik ortamda -OR grupları protonlanır ve bu basamak hızlı bir şekilde gerçekleşir. Protonlanan -OR grupları merkezdeki metal atomu elektron yoğunluğunun düşmesine sebep olarak elektrofilik özelliklerini artırır ve su molekülünde bulunan oksijen atomunun nükleofilik saldırılarını kolay hale getirir.



Şekil 2.19. Bazık katalizli hidroliz reaksiyonu

Bazik ortamda su molekülleri kolay ayrılarak hidroksil anyonlarını oluşturur. Ortaya çıkan bu hidroksil anyonları silisyum metaline nükleofilik reaksiyon ile saldırır ve -OR gruplarının ayrılmasına yardımcı olur.

Bazı çalışmalarda, silisyum alkoksitlerinin asidik hidroliz reaksiyonunda, hidrolizin kondenzasyona kıyasla daha hızlı bir biçimde gerçekleştiği, bazik katalizli hidroliz reaksiyonunda ise kondenzasyon reaksiyonunun daha hızlı gerçekleştiği görülmüştür. Böylece, asidik katalizörlü hidroliz reaksiyonlarında az dallanan uzun polimer zincirleri ortaya çıkarken, bazik katalizörlü hidrolizlerde çok dallanan kısa polimer zincirleri oluşmaktadır (Brinker ve Scherer 1985).

Herhangi bir parametreyi değiştirmeden sadece tepkime sisteminin seyreltilmesiyle moleküller arası ayrışma oranı değiştirilebilir.

Değişkenler sabit tutularak yalnızca reaksiyon sistemi seyreltildiği zaman moleküller arasındaki ayrışma oranları değiştirilebilmektedir. Seyreltilmiş sistemlerdeki çeşitli moleküllerin hareketlilikleri önemlidir. Reaksiyon sıcaklığının yüksek olması ve

reaksiyon süresinin uzunluğu moleküllerin boyut dağılımlarını artırmaktadır (Yoldaş, 1984; 1986).

İstenen özelliklerde bir ağ sentezleyebilmek için, su/alkoksit oranı, tepkime ortamı, tepkime süresi, çözelti derişimi, katalizör türü ve sıcaklık vb. çok sayıda değişkenin belirlenmesi gerekir (Kesmez 2010).

Sol-jel yönteminin başlıca avantajları;

- ❖ Sol-jel yönteminde başlangıç maddesinin ilk çözeltisi kullanılmakta olup, bu çözeltilerdeki viskozite değerleri küçük olduğu için moleküler düzeyde homojenlik hemen kazandırılmaktadır. Girenlerde homojenlik moleküler seviyede sağlandığından dolayı, oluşturulan jelde homojen olur (Mackenzie 1988).
- ❖ Bağ çözeltinin içinde olduğu için tam stokiometrinin meydana geldiği gözlenir (Dislich 1985).
- ❖ Düşük reaksiyon sıcaklıklarında (oda sıcaklığı), anorganik çözeltinin organik gruplar ile modifiyesi kolaylıkla gerçekleştirilebilmektedir. Bununla birlikte yeni türdeki hibrit malzemeler üretilir ve bu malzemelere hem organik hem de anorganik özellikler katılanmış olur (Schubert et al. 1995).
- ❖ Sol-jel çözeltilerinin kullanılmasıyla, fiberler ve ince filmler üretilebilmektedir (Mackenzie 1988). Bunların viskoziteleri düşük olduğu için püskürtme, daldırma vb. basit yöntemler ile istenen kalınlıklara sahip filmler de hazırlanabilir (Sanchez ve Ribot 1994).
- ❖ Isıtmanın kontrol altında tutulmasıyla, oluşturulan jellerden gözenekli seramik ve amorf yapıların eldesi sağlanabilir. Başlangıç maddesinin bileşimi değiştirildiğinde malzemelerin gözenek boyutları ayarlanabilmekte ve farklı gözenek boyutlarında malzemeler sentezlenebilmektedir (Mackenzie 1998).
- ❖ Yeteri kadar saf çıkış maddeleri kullanıldığından yüksek saflıkta ki malzemelerin sentezlenmesi mümkündür (Dislich 1985).

Sol-jel yönteminin başlıca dezavantajları;

- ❖ Başlangıç malzemeleri pahalıdır,
- ❖ Zaman içerisinde viskozite değişir,
- ❖ Yöntem süresi bazen oldukça uzun sürebilir,
- ❖ Oluşturulan malzemedeki istenmeyen hidroksil gruplarının ve organik madde kalıntılarının uzaklaştırılması zordur,
- ❖ Isıl işlem ve jelleşme esnasında malzemedeki büzülmeler prosesin en büyük dezavantajıdır (Kesmez 2010).

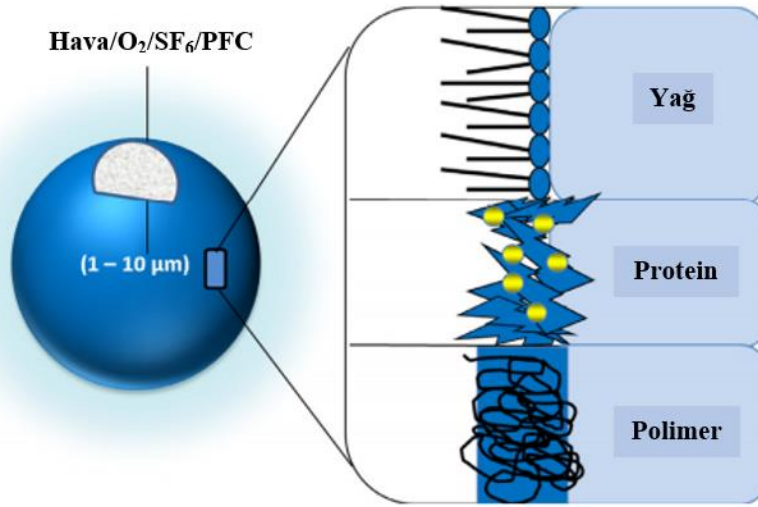
2.4. Mikrokabarcıklar

Mikro kabarcıklar, lipid veya protein gibi biyoyumlu malzemelerin oluşturduğu koruyucu bir kabuğun, oksijen, perflorokarbon veya kükürt heksaflorür gibi çeşitli gazları içeren gaz halindeki çekirdeği kapsüllemesiyle meydana gelmektedir. Genellikle 0.1-10 µm arasında bir çap değerine sahip olan bu koloidal mikro kabarcıklar, son yıllarda ultrasonik görüntülemeye kontrast artırıcı ajan olarak ve hedefe ilaç salınımı gibi birçok biyomedikal uygulamada daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Butler 1986). Aynı zamanda, ilaç ve genler için intravenöz O₂ verme ajanı olarak (Chowdhury et al. 2017), trombolik ajan (Birnbaum et al. 1998) ve kan-beyin bariyerini aşarak ilaç iletimi için dağıtım aracı olarak da kullanılmıştır (Burgess ve Hynynen 2016).

Gaz halindeki çekirdeklerin sıkıştırılmasıyla birlikte, kılcal damarlar içinden kan geçerken ve ultrasona maruz bırakıldıkları zaman şekillerinde deformasyonlar gerçekleşmektedir. Ultrasona maruz bırakılan mikro kabarcığın kabuğunda büzülme ve genişlemeler olmaktadır. Bu da gelen ultrason radyasyonunda geri saçılmalara, kavitasyona veya mikro kabarcığın kabuğunda patlamalara sebep olduğundan dolayı, mikro kabarcıklar ultrasonik görüntülemeye kontrastı artıran ajan olarak ve hedefe ilaç salınımı / gen iletimi gibi uygulamalarda kullanılmaktadır.

Biyomedikal alanda kullanıldıkları için, mikro kabarcığın boyutu, biyoyumluluğu ve stabilitesi gibi özelliklerinde bazı kısıtlamalar söz konusu olur (Kabalnov et al. 1998; Klibanov et al. 1999; Sirsi ve Borden 2009). İn-vivo kullanımda, çapları 10 µm'den küçük olan ve tercih olarak 3-5 µm'lik dar boyut aralığındaki kılcal damarların içinden güvenilir bir şekilde geçişi sağlayabilecek, kan hücreleriyle özdeş veya daha küçük olan mikro kabarcıklar gereklidir (Feshitan et al. 2009; Gorce et al. 2000; Sirsi et al. 2010). Dar boyut dağılımına sahip mikro kabarcıklar, dar ultrason frekans aralıklarında rezonansa girebilirler (Alter et al. 2009). Dikkat edilmesi gereken bir diğer önemli etken ise, *in-vivo* / *in-vitro* stabiliteleriyle karakterizasyonu yapılan mikro kabarcık stabilitesi ve raf ömrüdür.

Mikro kabarcığın bir depolama çözümü içinde yaşadığı süre olarak tanımlanmasına raf ömrü, mikro kabarcığın değişen pH, çözünen gazları bulunduran sulu ortam, arteriyel basınç ve immünojenik yanıt gibi şartlara maruz kalmasıyla, vücuda uygulandığı zaman ortaya çıkan mikro kabarcık kalıcılığına ise *in-vivo* stabilite denilmektedir (Blomley et al. 2001; Van Liew ve Raychaudhuri 1997). Mikro kabarcığın stabilite ve biyoyumluluğuna etki eden en önemli etkenler, kabuğun fizikokimyasal özelliği ve kapsüllenen çekirdek gazı ile çevreleyen sulu ortamın taşıma özelliğidir. Şekil 2.18, tipik bir mikro kabarcık şemasını göstermektedir (Ah et al. 1996).



Şekil 2.20. Tipik bir mikro kabarcık şeması, PFC= perflorokarbon; SF₆= kükürt heksaflorür (Sirsi ve Borden 2009)

Mikro kabarcığın kabuk kısmı, genellikle lipit ve proteinlerin kullanılmasıyla üretilmektedir (Chomas et al. 2001; Rahim et al. 2006). Tek bir katman veya birkaç tek katman kalınlığında (35 nm) meydana gelen lipit kabukları, oldukça esnek bir özelliğe sahip olup, ultrason akustik radyasyonuna çok iyi bir şekilde cevap vermektedir. Fakat kabuklarının ince olmasından dolayı ilaç yükleme kapasiteleri sınırlı haldedir.

Protein kabukları ise, protein moleküllerinin disülfid (-S-S-) bağlarıyla kovalent bir şekilde bağlanması sonucu oluşur ve kalınlıkları birkaç nm'den 10 nm'ye kadar değişmektedir (Sirsi ve Borden 2009). Protein kabuktan oluşan mikro kabarcıklara kıyasla, esnek yapısı sebebiyle lipit kabuğuna sahip mikro kabarcıkların ultrason radyasyonuna karşı tepkileri daha iyidir. Bunun yanında, kovalent bağlarla bağlanan protein kabukları kısmen daha kuvvetlidir ve lipit kabuklu mikro kabarcıklara oranla ilaç/gen yüklerini daha verimli bir halde taşımaktadır.

2.4.1. Q-değerinin hesaplanması ve belirli bir gazın ultrason ajanı olarak kullanımının uygunluğu

Gaz-sıvı sistemindeki değişkenleri ve bu değişkenlerden bir veya daha fazlası için bir değerin değiştirilmesiyle meydana gelen kabarcık kararlılığının etkisini tanımlayabilen matematiksel eşitlikler türetilmektedir. Başlangıçta T_0 'ın, R_0 yarıçaplı küresel bir gaz kabarcığını ifade eden X 'in, çözelti içinde çözünebilen X gazının başlangıçtaki derişiminin "sıfır" olduğu bir çözelti içine yerleştirildiği varsayılmaktadır. Belli bir zaman sonra, çözücü içerisinde X gazının kabarcıkları çözünür, bu esnada R yarıçapı sıfıra eşit olmaktadır.

Belirli bir gazla doymuş halde bulunan çözeltinin, sabit basınç ve sıcaklıkta çözünen gaz konsantrasyonu C_s olarak adlandırıldığında, T 'de, çözelti içindeki gaz derişimi sıfır olup, gazın daha hiçbiri çözülmemiş ve mevcut bütün gaz hala R_0 yarıçapına sahip baloncuk içerisinde bulunmaktadır. Zamanla, kabarcıkta bulunan gaz ile çözeltideki gazın derişimin de ortaya çıkan farklılıklar sebebiyle, meydana gelen gaz difüzyonu ve

kabarcığın sıvı içerisinde çözünmesi sonucunda büzülme eğilimi görülmektedir. Bir süre sonra, kabarcığın orijinal R_0 yarıçapından daha küçük bir değer olan R yarı çapına yapmış olduğu değişiklik, Denklem (2.7) ile belirtilmektedir,

$$\frac{R}{R_0} = \left[1 - \left(\frac{2DC_s}{\rho R_0^2} \right) T \right]^{1/2} \quad (2.7)$$

$R = T$ zamanındaki kabarcık yarıçapı

$D =$ sıvıdaki belirli gazın yayılma katsayısı

$\rho =$ kabarcığın olduğu belirli gazın yoğunluğu

Denklem (2.7)'den yola çıkarak, bir kabarcığın tamamıyla çözünmesi için gerekli olan T süresi, $R/R_0=0$ olarak ayarlanıp, T için çözüldüğünde belirlenebilmektedir:

$$T = \frac{R_0^2 \rho}{2DC_s} \quad (2.8)$$

Sonuçta, başlangıçtaki baloncuk boyutu (R_0) artırılarak ya da sıvı faz içerisinde daha yüksek yoğunluğa (ρ), daha düşük çözünürlüğe (C_s) veya daha düşük yayılma katsayısına (D) sahip olan bir gaz seçilerek baloncuk stabilitesi ve yaşam süreleri geliştirilebilmektedir. Sıvı içerisindeki bir gazın yayılma gücü (D), çözelti viskozitesine (η) ve gazın molar hacmine (V_m) bağlı olduğu Denklem (1.9)'da görülmektedir,

$$D = 13.26 \times 10^{-5} \cdot \eta^{-1.14} \cdot V_m^{-0.589} \quad (2.9)$$

Denklem (2.9)'daki D ifadesi Denklem (2.8)'e yerleştirildiğinde, daha büyük molekül ağırlığına sahip olabilme eğilimindeki daha yüksek molar hacimli V_m gazları ve daha büyük viskoziteye sahip sıvıların kullanılmasıyla baloncuk kararlılığı artırılmaktadır. Örneğin, bu yöntem ile seçilmiş gazlardan meydana gelen hava mikro kabarcıklarının ve mikro kabarcık kararlılıklarının karşılaştırılması yapılabilmektedir. Suda bulunan hava için 22 °C'deki ‘‘D’’ $2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ sn}^{-1}$ değerinde ve $C_s/\rho = 0.02$ oranında alındığı zaman, su içindeki hava ile doymamış hava kabarcıklarının tam çözümünde t süresi için veriler Çizelge 2.5’de belirtilmiştir:

Çizelge 2.2. Su içindeki hava ile doymamış hava kabarcıklarının tam çözümünde zamana karşı veriler

İLK KABARCIK ÇAPI, mikron	ZAMAN, milisaniye
12	450
10	313
8	200
6	113
5	78
4	50
3	28
2	13
1	3

Yalnızca ~8 µm veya daha da küçük boyutta olan mikro kabarcıklar akciğerlerin içerisinden geçebilecek küçüklükte olduğu kabul edilerek ve Pulmoner kılcıl damardan sol ventriküle kanın geçme süresi 2 sn veya daha fazla olduğu düşünüldüğünde, hiçbir mikro kabarcığın sol ventrikülü ultrason ile kontrastlı bir biçimde görüntüleyebilmesi için faydalı bir kontrast madde olabilecek kadar uzun çözelti ömrüne sahip olmadıkları açıkça görülmektedir. X gazı ile ifade edilen özel herhangi bir gazın özelliği havayla karşılaştırıldığında potansiyel açıdan faydalı gazların tanımlanması gerekmektedir.

Denklem (2.8) ve Denklem (2.9)'dan yola çıkılarak, sıvı içerisindeki X gazının oluşturduğu mikro kabarcık kararlılığını tanımlayabilen belli bir X gazının Q katsayısıyla formüle edilebilmesi mümkündür. Q katsayısı, normal havaya göre X gazının ultrason kontrast arttıran madde olarak kullanılabilir olup olmadığını belirleyebilmek amacıyla da kullanılır. Denklem (2.8)'den, çözeltinin sıcaklık koşulları aynı tutularak, aynı boyutta sıradan hava kabarcıklarına oranla X gazı kabarcıklarının tamamıyla çözüldükleri süreyi tanımlayabilen, X gazıyla havanın fiziksel özelliklerine ve çözeltinin viskozitesine göre yeni bir denklem ((2.10)) yazılabilmektedir,

$$T_x = T_{hava} \left[\frac{\rho_x}{\rho_{hava}} \right] \left[\frac{(C_s)_{hava}}{(C_s)_x} \right] \left[\frac{D_{hava}}{13.26 \times 10^{-5} \cdot \eta^{-1.14} \cdot (v_m)_x^{-0.589}} \right] \quad (2.10)$$

ya da X gazı için D biliniyorsa,

$$T_x = T_{hava} \left[\frac{\rho_x}{\rho_{hava}} \right] \left[\frac{(C_s)_{hava}}{(C_s)_x} \right] \left[\frac{D_{hava}}{D_x} \right] \quad (2.11)$$

oluşturulabilmektedir.

Denklem (2.11), X gazıyla havanın karşılaştırılması için “Q katsayısı” olacak şekilde formüllendiğinde denklem (2.12) elde edilir,

$$T_x = QT_{hava} \quad \text{burada} \quad Q = \left[\frac{\rho_x}{\rho_{hava}} \right] \left[\frac{(C_s)_{hava}}{(C_s)_x} \right] \left[\frac{D_{hava}}{D_x} \right] \quad (2.12)$$

Karşılaştırmada, 22 °C'de su çözeltisi için, çözelti içindeki havanın yoğunluğu, yayılması ve çözünürlük değeri gibi bilinen miktarlar, yukarıda bulunan denkleme eklenerek denklem (2.13) oluşturulur,

$$Q = 4.0 \times 10^{-7} \left[\frac{\rho_x}{(C_x)_x D_x} \right] \quad (2.13)$$

Denklem (2.9) difüzivitesinin (D_x), bilinmeyen gazlar için denklem (2.13)'e yerleştirilmesiyle ve 22 °C'de su için viskozitenin (η) ~ 1.0 cp'ye eşit olduğu varsayıldığında denklem (2.14) elde edilmektedir,

$$Q = 3.0 \times 10^{-3} \left[\frac{\rho_x}{(C_s)_x (v_m)_x^{-0.589}} \right] \quad (2.14)$$

Sonuç olarak, bir gazın molar hacmi, yoğunluğu ve çözünürlüğü bilindiği zaman, bu yöntemle Q katsayısı değerinin hesaplanması mümkündür. Q katsayısı 5'den az ise X gazı mikro kabarcıkları, belli bir çözücünde mikro hava kabarcıklarından daha az kararlı

olurken, Q katsayısı 5'den büyük olduğu zaman, X gazının oluşturduğu mikro kabarcıklar, mikro hava kabarcıklarına göre daha stabil olur ve çözeltide hava kabarcıklarına kıyasla daha uzun bir süre hayatta kalırlar.

Diğer bütün özellikler ise, belli bir mikro kabarcık boyutu için aynı olup, mikro kabarcık gazının (X) tam olarak çözünmesi için gerekli olan süre, Q katsayısıyla çarpılan herhangi bir hava mikro kabarcığının tam çözünmesi için gereken süreye eşit olmaktadır. Örnek olarak, Q değeri 10.000 olan X mikro kabarcık gazının, mikro hava kabarcığına oranla çözelti içerisinde 10.000 kat daha fazla süre hayatta kalacağı söylenebilmektedir. Genellikle, çoğu florlu gazlar su içerisinde oldukça düşük çözünürlük sergilemekte olup, kısmen yüksek molekül ağırlığına, yüksek yoğunluğa ve yüksek molar hacme sahiptirler. Gazların Q katsayıları belirlenirken, her bir gazın çözünürlüğü, yoğunluğu ve molar hacmi belirlenerek denklem (2.13) ve denklem (2.14)'de yerine koyulur.

Anlatılan hesaplamalarla bağlantılı olarak, Çizelge 2.6'da Q katsayısı değerleri verilmiştir,

Çizelge 2.3. Çeşitli gazların yoğunluk, çözünürlük, molar hacim ve Q-değerleri (Sirsi ve Borden 2009)

GAZ	YOĞUNLUK kg / m ³	ÇÖZÜNÜRLÜK Mikromol / Litre	MOLAR HACİM cm ³ / mol	Q
Argon	1.78	1500	17.9	20
n-Bütan	2.05	6696	116	5
Karbon dioksit	1.98	33000	19.7	1
Dekaflorobütan	11.21	32	73	13.154
Dodekafloropentan	12.86	4	183	207.437
Etan	1.05	2900	67	13
Etil eter	2.55	977.058	103	0.1
Helyum	0.18	388	8	5
Hekzafloroetan	8.86	2100	43	116
Hekzafloropropan	10.3	260	58	1299
Kripton	3.8	2067	35	44
Neon	0.90	434	17	33
Oktaflorosiklobütan	9.97	220	61	1531
Oktafloropropan	10.3	260	58	1299
Pentan	2	1674	113	58
Propan	2.02	2902	90	30
Sülfür hekzaflorid	5.48	220	47	722
Ksenon	5.90	3448	18	28

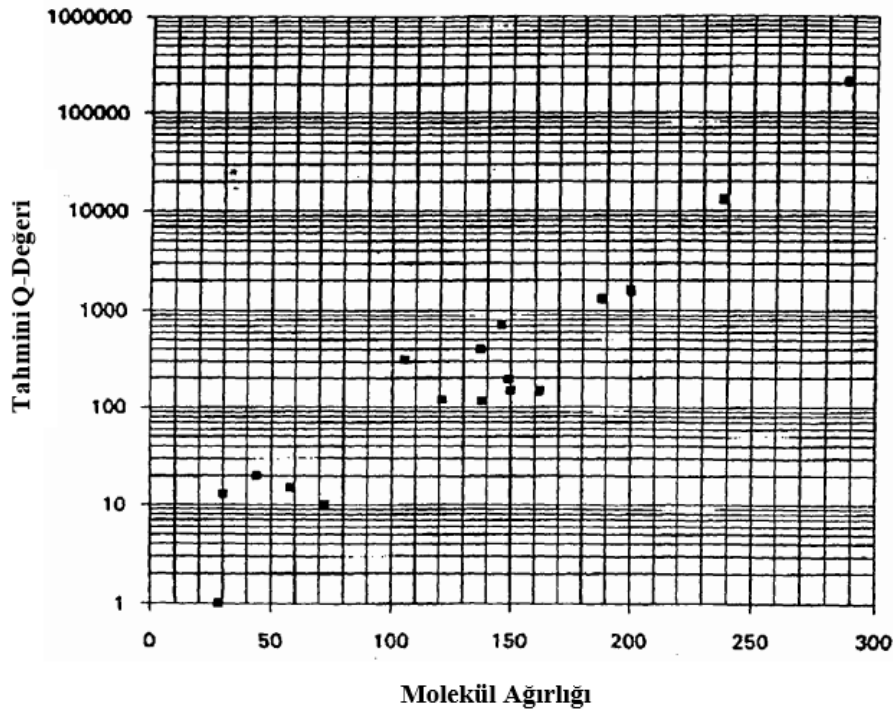
Q katsayısı hesaplandıktan sonra, Çizelge 2.5'de olduğu gibi, başka bir gazın ultrason kontrast arttırıcı madde olarak yararı, farklı boyutlardaki gazlardan ortaya çıkan mikro kabarcık koleksiyonlarının ömrü belirlenerek analiz edilebilmektedir. Örneğin, dekaflorobütan gazının Q katsayısı hesaplanarak ve farklı büyüklüklerdeki kabarcıkların su içerisinde çözünebilmesi için yeterli süre incelenerek, Çizelge 2.5'de yer alan her bir zaman değeri dekaflorobütan gazı için Q katsayısıyla çarpıldığında Çizelge 2.7'deki verilere ulaşılmaktadır,

Çizelge 2.4. Farklı boyutlardaki dekaflorobütan gazından oluşan mikro kabarcıkların zaman verileri (Sirsi ve Borden 2009)

İLK KABARCİK ÇAPI, mikron	ZAMAN, dakika
12	99
10	69
8	44
6	25
5	17
4	11
3	6.1
2	2.9
1	0.7

Çizelge 2.7'deki zaman değeri havadaki gibi milisaniye değil dakikalarla ifade edilmektedir. Örnek olarak verilen dekaflorobütan gazının mikro kabarcıkları, 1 μm kadar küçük olsada, periferik olarak enjekte edilip sol ventriküle ulaşması için gerekli olan ~10 sn süresi boyunca çözeltide çözülmemektedir. Daha büyük mikro kabarcıklarda akciğerler içinden geçebilirler ve miyokardiyal perfüzyonla dinamik abdominal organ görüntülenmesine imkan verebilecek kadar uzun zaman hayatta kalırlar.

Ultrason ajanı olarak belli bir gazın kullanımının uygunluğu, gazın molekül ağırlığı biliniyor, ölçülebiliyor veya hesaplanıyor ise hemen hemen tahmin edilebilmektedir. Q katsayısının logaritma değeri ile gazın moleküler ağırlığı arasındaki doğrusal ilişkinin olduğu aşağıdaki Şekil 2.16'dan anlaşılmaktadır,



Şekil 2.21. Bir gazın molekül ağırlığına göre Q-değerinin tahmin edilmesi (Sirsi ve Borden 2009)

Şekil 2.16'ya bağlı olarak Çizelge 2.8'deki yönergeler Q katsayısını belirlemede kullanılabilmektedir;

Çizelge 2.5. Molekül ağırlığına bağlı olarak Q-değerinin tahmin edilmesi (Sirsi ve Borden 2009)

MOLEKÜL AĞIRLIĞI	TAHMINİ Q-DEĞERİ
<35	<5
35-70	5-20
71-100	21-80
101-170	81-1000
171-220	1001-10.000
221-270	10.001-100.000
>270	>100.000

Aşağıdaki Çizelge 2.9, moleküler ağırlık ve tahmini Q değeriyle ilgili verileri içeren bir dizi gazı içermektedir. Bir gazın Q katsayısı ne kadar yüksek olursa gazın ultrason ajanı olarak kullanılması o kadar mümkün olur ve Q katsayısı 5'ten büyük olan gazlar için bu durum özellikle daha da ümit vericidir. Herhangi özel bir gazdan oluşturulan mikro kabarcıkların uzun ömre sahip olmasının yanında maliyet ve toksisite açısından da gerekli şartları sağlıyor olmasına dikkat edilmelidir.

Çizelge 2.6. Q değerlerinin beşten büyük olduğu hesaplanan gazlar (Sirsi ve Borden 2009)

KİMYASAL ADI	MOLEKÜL AĞIRLIĞI	TAHMINİ Q-DEĞERİ
Aseton, heksafloro	166.02	81-1000
Asetilen, izopropil	68	5-20
Hava	28.4	<5
Allene	40.06	5-20
Allene, tetrafloro	112.03	81-1000
Argon	39.98	5-20
Propan, perfloro	188.02	1001-10.000
Metan, (pentafluorothio) trifluoro	196.06	1001-10.000
n-Pentan	72.15	21-80
Siklobütan	56.11	5-20
1,3-Bütadien	54.09	5-20
1,3-Bütadien, 1,2,3-trikloro	157.43	81-1000
1,3-Bütadien, 2-floro	72.08	21-80
1,3-Bütadien, 2-metil	68.12	5-20
1,3-Bütadien, heksafloro	162.03	81-1000
Butadiyne	50.06	5-20
n-Bütan	58.12	5-20
Bütan, 1-floro	76.11	21-80
Bütan, 2-metil	72.15	21-80

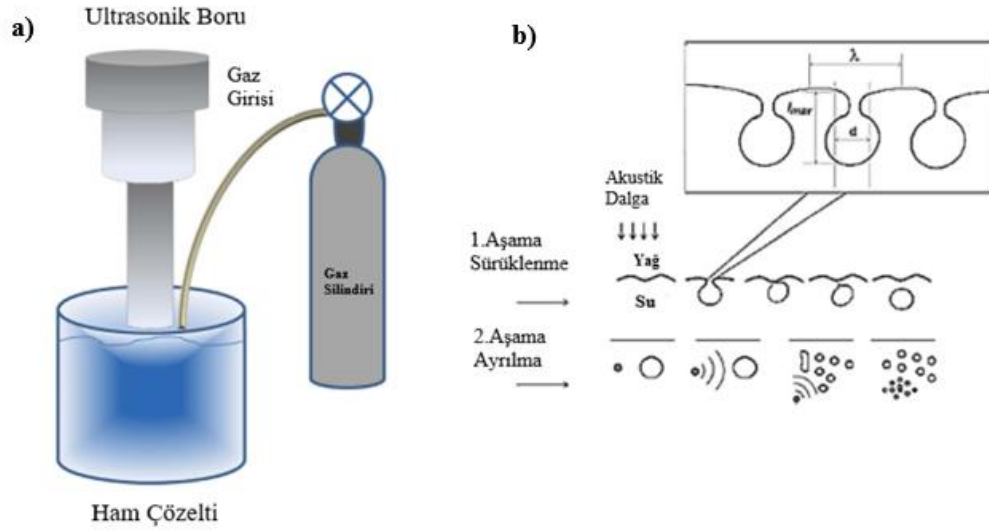
2.5. Sonikasyon İle Mikro Kabarcık Sentezi

Yüksek yoğunluğa sahip ultrasonik radyasyon dalgalarının sıvı içerisinde yayılması sonucunda meydana gelen kavitasyon, sonikasyon yöntemiyle oluşturulan mikro kabarcıklar için en önemli etkidir. Mikro kabarcıkların üretiminde kullanılan sonikasyon düzeneği, Şekil 2.17a'da şema olarak gösterilmektedir. Şekil 2.17b'de ise görüldüğü üzere, ultrasonik radyasyonlar sıvıyı sıkıştırır ve sıvının seyrelmesina sebep olurlar, böylece çözelti içerisinde küçük mikro kabarcıklar meydana gelmektedir. Sonikasyonun kullanılmasıyla mikro kabarcıkların üretimi, toplu mod ve sürekli mod olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleştirilebilir (Wiencek ve Feinstein 1993).

2.5.1. Toplu sonikasyon ile mikro kabarcıkların sentezi

Toplu sonikasyon işleminin ilk basamağı, numune çözeltisinin ön işlemlerini içermektedir. Örneğin, bir lipid çözeltisi camı geçiş sıcaklığına (Borden ve Longo 2002) denk ısıtılır veya bir protein çözeltisi başlangıç denatürasyon sıcaklığına (Grinstaff ve Suslick 1991) denk ısıtılarak ön işlemleri yapılır. Önceden işlenen numuneler sonrasında bir sonikatör borusuna temas ettirilerek, hava ya da istenen özel bir çekirdek gazıyla düşük yoğunluğa sahip ultrasonik ışına maruz bırakılırlar. Çözeltinin üstünden akan gazı emülsifiye edebilmek için, öncelikle düşük yoğunlukta çalkalama işlemi gerçekleştirilir. Sonrasında, bir kapsül malzemesinin ince bir filmi içinde emülsifiye edilen gazı hapseden boşlukları oluşturabilmek için, yüksek yoğunlukta ultrason ışınlanmasının yapılması gerekir (Şekil 2.17).

Sonikasyon yapılırken yüksek sıcaklığın etkisiyle, proteinlerin denatürasyonunun gerçekleşmesi veya lipid sıcaklığının cam geçiş sıcaklığının oldukça üzerine çıkması gibi kabuk malzemesinin moleküllerinde fizikokimyasal farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Ultrason dalgalarının açığa çıkardığı enerji nedeniyle kabuk daha güçlü bir hal almaktadır. Yüksek enerji ile birlikte süperoksitler oluşur, bu da proteinlerdeki (serum albümin) molekül içi -SH bağlarının azalmasına neden olarak moleküller arasındaki disülfür köprülerini meydana getirir ve tek tek protein moleküllerinin çapraz bağ oluşturmalarını kolaylaştırır (Grinstaff ve Suslick 1991, 1992).



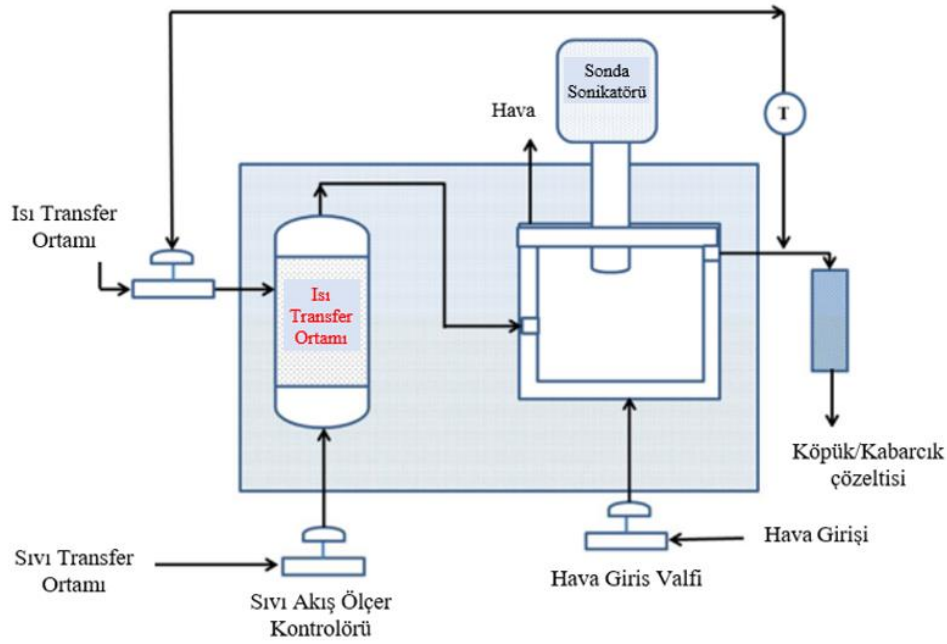
Şekil 2.22. Mikro kabarcıkların sonikasyon işlemi ile seri üretiminin şeması. **a)** Kapsülleyici bir gaz varlığında ham çözeltiyi sonike etmek için kullanılan tipik bir sonda sonikatörü; **b)** Ham solüsyonun prob sonikasyonuna maruz bırakılması nedeniyle oluşan kavitasyon fenomeni mikro kabarcık oluşumuna neden olur (Feshitan et al. 2009)

Ultrason yoğunluğu, gücü, frekansı ve süresi gibi ultrason parametreleri, mikro kabarcık boyutu, boyut dağılımı ve derişimini oldukça etkilemekte olup, üretilen mikro kabarcık özellikleri ve çeşitli ultrasonik değişkenler arasında net bir bağlantı kurulamamıştır (Grinstaff ve Suslick 1991).

2.5.2. Sürekli sonikasyon ile mikro kabarcıkların sentezi

Sonikasyonla protein moleküllerinden mikro kabarcık eldesi için detaylı bir sürekli üretim yöntemi Şekil 2.18'de gösterilmektedir (Cerny et al. 1990). Yöntem, yeterli süre zarfında ultrason başlığı altında çekirdek gazı akışıyla beraber sürekli bir ısıtılan protein çözeltisinin akışını gerektirmektedir. Böylece, protein molekülleri denatüre olarak, oldukça kısa bir süre içerisinde kapsüllenen mikro kabarcıkları meydana getirir.

Aparat, %5 (a/h)'lik insan serum albümin (HSA) çözeltisi için filtrelenen ve sonikasyon odasına (ısı transferi için kaplanır) beslenen sürekli bir beslenme tankından oluşmaktadır (Cerny et al. 1990). Mikro kabarcık kalış süresini, farklı zaman ve boyutlarda popülasyonlarının ayrılmasını kolay hale getirecek biçimde toplama odaları tasarlanabilmektedir. %5 (a/h)'lik insan serum albümin çözeltisi ve perfloropropan (PFP), perfloroetan (PFE), sülfür heksaflorür (SF₆) vb. çekirdek gazlarının kullanılmasıyla sürekli protein mikro kabarcıklarının sentezi için düzenekler kullanılmaktadır (Widder et al. 1998).



Şekil 2.23. Mikro kabarcıkların sürekli üretimi için kullanılan düzeneğin şeması (Cerny et al. 1990)

2.5.3. Dar boyut dağılımına sahip mikro kabarcık süspansiyonu oluşturmak için boyut izolasyonu

ABD Gıda ve İlaç İdaresi yönetmelikleri, mikro kabarcık ajanlarının, ortalama 1,1-3,3 μm aralığındaki bir çap değerine sahip olması ve numunenin 20 μm 'den büyük olan kabarcıkları içermemesi gerektiğini belirtmektedir (Talu et al. 2006). Sonikasyon yöntemiyle, mikro kabarcıklar oldukça polidisperse bir popülasyonla (6-50 μm veya daha büyük) üretilirken, biyomedikal uygulamalarda kullanılan mikro kabarcıklar 10 μm 'den küçük bir boyut dağılımına sahip olmalıdır.

Aynı zamanda, daha optimum sonuçlara ulaşabilmek için boyut dağılımlarının oldukça dar bir aralıkta olması (tercihen 4-5 μm) istenmektedir (Feshitan et al. 2009; Sirsi ve Borden 2009; Sirsi et al. 2010; Choi et al. 2010; Sirsi et al. 2010). Bundan dolayı, <10 μm olan bir mikro kabarcığın tek dağılıma sahip bir süspansiyonu üretilirken, sonikasyon yöntemi gerçek anlamda bir zorluk teşkil eder (Choi et al. 2010; Sirsi et al. 2010). Mikro kabarcığın boyut dağılımının ayarlanması için flotasyon (Kvale et al. 1996), diferansiyel santrifüj (Feshitan et al. 2009), sıkıştırılmış akış fraksiyonasyonu (Kok et al. 2015) ve akustik ayırma (Segers ve Versluis 2014) gibi teknikler kullanılmaktadır.

2.5.3.1. Flotasyon

Çeşitli boyutlardaki mikro kabarcıklar, bir süspansiyonun içerisinde tutuldukları zaman, kaldırma kuvvetinin etkisiyle (boyut dağılımlarına göre), değişik hızlarda çözeltinin üzerine doğru yükselirler. Büyük boyuttaki mikro kabarcıklar daha hızlı bir şekilde yükselirken, küçük boyuttakiler daha yavaş bir şekilde yükselmektedir. Buna bağlı olarak, süspansiyon uzun bir ayırma kolonu içinde tutularak, mikro kabarcık fraksiyonlarının farklı aralıklar ile kolonun farklı yüksekliklerinde toplanması sağlanır.

Kvale ve arkadaşları bu yöntemi kullanarak çeşitli boyutlardaki mikro kabarcıkların süspansiyonlarını ayırmak için tekrarlanabilirliği olan sonuçları elde etmişlerdir (Kvale et al. 1996). Bunun için çeşitli boyutlara sahip ($4-10\ \mu\text{m}$, $\geq 10\ \mu\text{m}$, $\geq 25\ \mu\text{m}$ ve $1 - 30\ \mu\text{m}$ arası) mikro kabarcık popülasyonlarının ayrılmasında Şekil 2.19a'daki gibi bir flotasyon kolonu kullanmışlardır. Flotasyon sütunundaki yükselme zamanı ve yüksekliğinin tayini için ise kullanılabilir bir matematiksel model geliştirilmiştir.

2.5.3.2. Diferansiyel santrifüj

Feshitan ve arkadaşları çeşitli dar boyutlardaki ($1-2\ \mu\text{m}$, $4-5\ \mu\text{m}$ ve $6-8\ \mu\text{m}$ gibi) mikro kabarcıkların ve ayrılan mikro kabarcıkların yükselme hızındaki farklılıklara bağlı olarak, ayrılmayı hızlandırmak amacıyla Şekil 2.19b'deki santrifüj tekniğini kullanmışlardır. Farklı sürelerde santrifüj yapılmasıyla süspansiyonlarda farklı boyutlardaki mikro kabarcıkların yükselme oranı aşağıdaki denklem ile hesaplanmaktadır,

$$u_i = \frac{2(\rho_2 - \rho_1)}{9\eta_2} R_i^2 g \quad (2.15)$$

i mikro kabarcık boyut sınıfını, R_i mikro kabarcık yarıçapını ve g RCF'de ölçülen yerçekimi ivmesini göstermektedir. Belirli bir boyut sınıfındaki (N_d) mikro kabarcıklar için etkili viskozite η_2^* şu şekilde verilmektedir,

$$\frac{\eta_2^*}{\eta_2} = 1 + 2.5\phi + 7.6\phi^2 \quad \text{ve} \quad \phi = \sum_{i=1}^{N_d} \phi_i \quad (2.16)$$

buradaki ϕ , belirli bir boyut için mikro kabarcık hacim oranını temsil etmektedir (Feshitan et al. 2009).

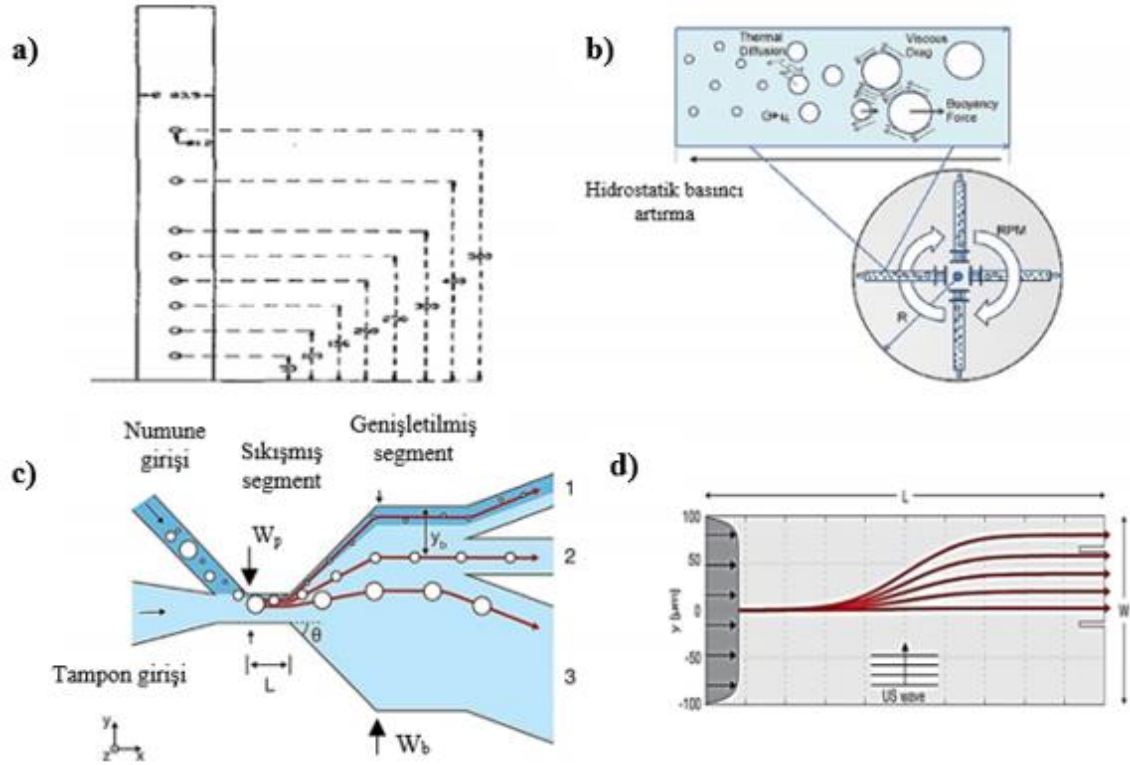
2.5.3.3. Sıkıştırılmış akış fraksiyonasyonu

Polidispers mikro kabarcık süspansiyonlarının ayrılması ve dar boyuta sahip mikro kabarcık popülasyonunu oluşturmak amacıyla kullanılmaktadır (Kok et al. 2015). Bu popülasyonları sınıflandırırken mikroakışkan cihaz üzerinde sıkıştırılan segment mimarisi kullanılmaktadır (Şekil 2.19c). Mikro kabarcıkları içeren tampon çözeltisi, daha geniş olan bir segmente genişleyebilen dar kanaldan sıkıştırılmış segment akacak şekilde yapılmaktadır. Boyutlarına göre mikro kabarcıkların içgelenmesi geniş segmentte farklılıklar göstermektedir. Daha büyük olan mikro kabarcıklar merkezden akarken, daha küçük mikro kabarcıklar daha geniş segmentin çevresine doğru itilmektedir. Çıkış kısmında, çeşitli boyutlarda olan kabarcıkların toplanabilmesi için farklı konumda bulunan birçok çıkış kanalı mevcuttur (Kok et al. 2015).

2.5.3.4. Akustik sıralama

Segers ve Versluis, çeşitli boyutlarda olan kabarcıkların akustik ışınlamaya karşı vermiş oldukları tepkilerin farklılıklarına göre sınıflandırma yapmak üzere yöntem geliştirmişlerdir (Segers ve Versluis 2014). Belli bir frekansta olan ultrason dalgalarına maruz bırakılan mikro kabarcıkların yer değiştirme ve rezonanslarına bağlı olarak kabarcıkları sıralayabilen bir akış odaklama cihazı Şekil 2.19d yapmışlardır. Kabarcığın

akışına ortogonal olan sürekli bir düşük basınçtaki akustik ultrasonik dalga, kabarcığın akışına yönlendirilmektedir. Rezonans özelliğine bağlı olarak çeşitli boyutlardaki kabarcıkların yerini akustik basınç almaktadır. Sürekli ultrasonik dalgalar mikro kabarcıkların yerini alsa da, belirli ultrasonik frekanslar, belirli boyutlardaki mikro kabarcıkların rezonansa girmesini sağlar. Rezonans kabarcıklar diğer kabarcıklara oranla daha çok yer değiştirir ve onların ayrılmasına sebep olurlar.



Şekil 2.24. Çeşitli sıralama tekniklerinin şemalarını göstermektedir. **a)** Flotasyon yöntemi, delikli bir kolonun üstten sabit bir mesafede farklı boyutlardaki kabarcıkların çıkarılması için kullanılır (Kvale et al. 1996); **b)** Santrifüj boyut izolasyonu (Feshitan et al. 2009); **c)** Sıkıştırılmış akış fraksiyonasyonu tekniği (Kok et al. 2015); **d)** Akustik sınıflandırma süreci (Segers ve Versluis 2014)

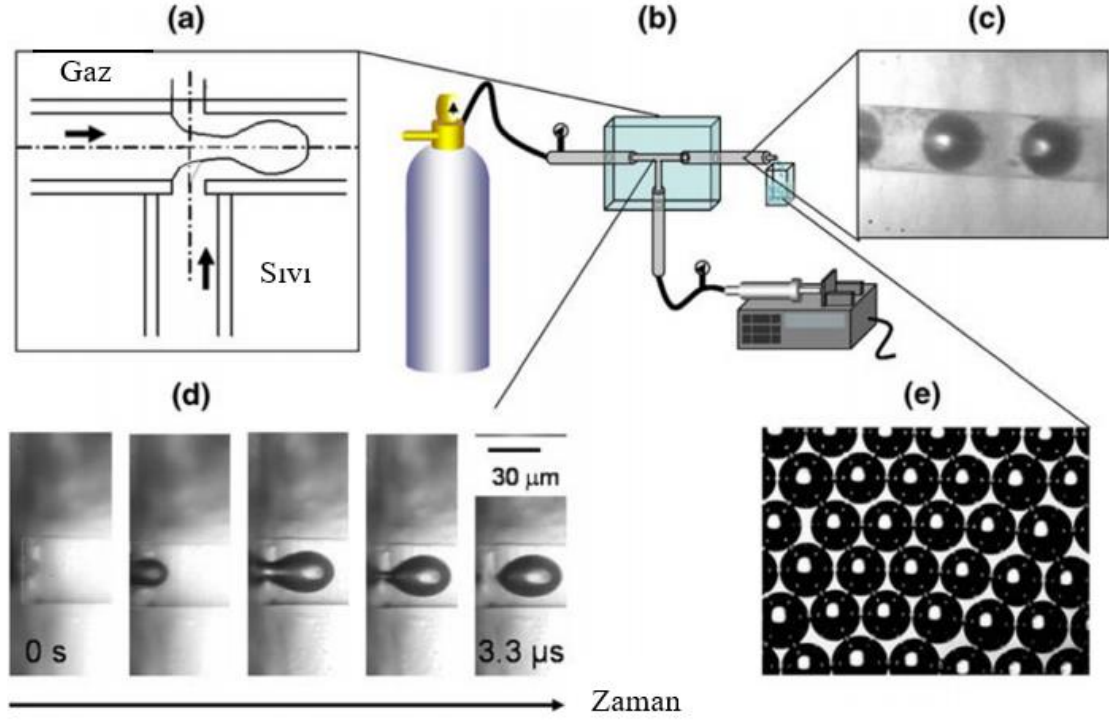
2.5.4. Mikro kabarcık üretiminde kullanılan akış odaklama cihazları

Yüksek ölçüde tek dağılıma sahip mikro kabarcıkların sentezi için tek adımda gerçekleşen yöntemlere gerek duyulmaktadır. Mikroakışkan cihazları veya T-bağlantı cihazlarının kullanılmasıyla tek dağılımlı kabarcıklar sentezlenebilir. Bu cihazlar ise, sıvı ve gazların farklı hız ve basınç değerlerinde akabilmesi için yapılmış olan çok bağlantılı basit akış odaklama cihazlarıdır. Süspansiyonlar (üründeki), kılcal açıklık sonunda toplanırlar. Mikroakışkan cihazlarında, mikro boyuttaki kanallar silikon, cam veya polimer gibi malzemeler üzerine oyulmaktadır. T-bağlantısı tipinde karıştırma, dağılık fazın kesintisiz bir faza kayma akışı kullanılan temel işlemlerdir.

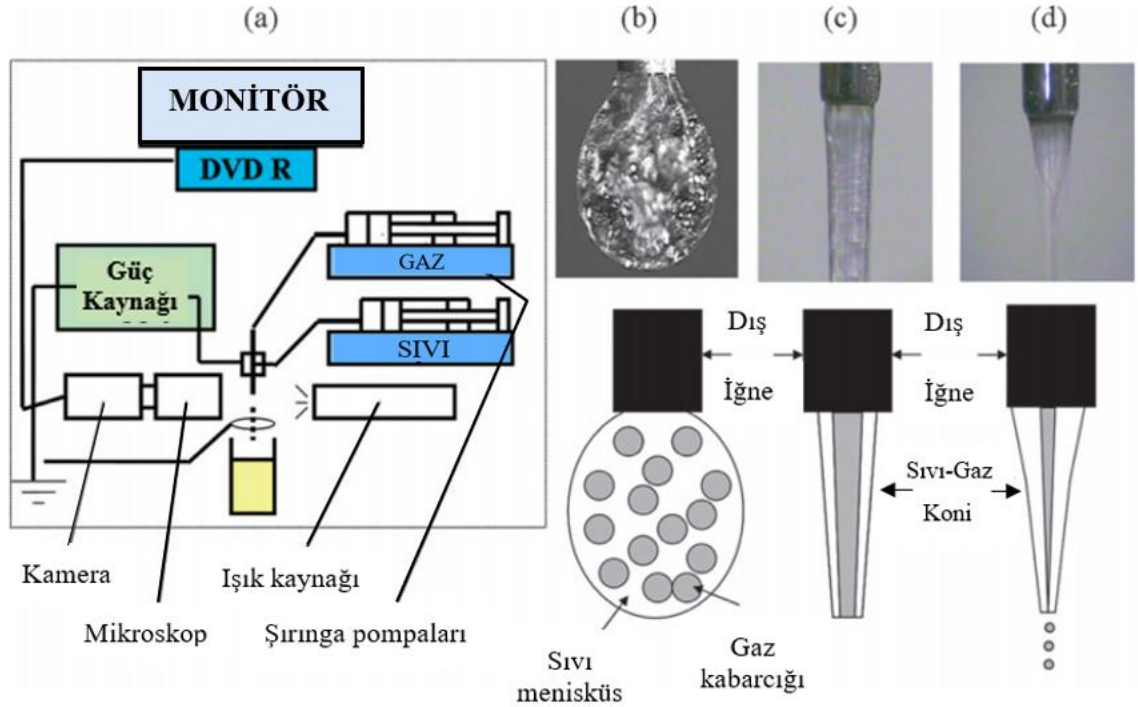
Şekil 2.20’de görülen T-bağlantı tipindeki bir sistem üzerinde, gaz dik bir kanaldan ana kanala devamlı bir şekilde beslenmektedir. Lipit, protein ya da başka bir kabuk malzemesi olan sıvı çözeltinin ana kanal içerisinden akması sağlanmaktadır (Stride

ve Edirisinghe 2008). Basınç gradyanı ve kesme gerilimindeki fark sebebiyle, gaz sıvının içerisinde hapsolür ve çıkış kanalı boyunca uzar. Bu uzama, bir kanalın çıkışında incelererek, sonunda ayrı ayrı mikro kabarcıkları verebilecek biçimde kırılmaktadır.

Mikro kabarcıkların sentezi için elektrohidrokinamik odaklamalı kılcal T-bağlantı cihazı (koaksiyel elektrohidrokinamik atomizasyon [CEHDA]) Şekil 2.21’da gösterilmektedir (Farook et al. 2009). CEHDA’daki elektriksel ve hidrokinamik kuvvetlerin mikro kabarcık oluşumunda önemi oldukça büyüktür.



Şekil 2.25. Mikro kabarcıkların sentezinde kullanılan tipik bir T-bağlantısının şeması. **a)** T-bağlantısının akışkan akış yönlerine sahip mimari tasarımı; **b)** Deney düzeneğinin şeması; **c)** Çıkış bağlantısında formüle edilmiş kabarcıklar; **d)** T-bağlantısının içinde bir mikro-kabarcık oluşumu; **e)** Üretilen mikro kabarcıkların mikroskopik görüntüsü (Stride ve Edirisinghe 2008)



Şekil 2.26. Mikro kabarcıklar üretmek için kullanılan koaksiyel elektrohidrokinamik atomizasyon (CEHDA) işleminin şeması. **a)** Mikro kabarcık üretimi sırasında CEHDA sistemi ve farklı CEHDA modları için temel kurulum; **b)** Mikro kabarcıkların damlaması. **c)** Koni oluşumu; **d)** Sürekli mikro kabarcık oluşumu (Stride ve Edirisinghe 2008; Farook et al. 2009)

2.5.5. Mikro kabarcıkların sonikasyon dışındaki sentez teknikleri

Mikro kabarcıkların sentezinde sonikasyon yöntemi yaygın olarak kullanılmasına rağmen, amalgamasyon, dondurarak kurutma ve salin çalkalama yöntemleri de klinik uygulamalarda kullanılmaktadır (Çizelge 2.10). Bu tekniklerin operasyonu kolay olup, amalgamasyon ve salin çalkalama yöntemleri oldukça dağınık mikro kabarcık süspansiyonlarını meydana getirir.

Amalgamasyon (birleştirme), bir kapsül/tüp içerisindeki gaz ile beraber, lipit gibi bir kabuk malzemenin (çözelti halinde) çalkalanmasıyla oluşturulan bir karıştırma yöntemidir.

Çizelge 2.7. Ultrasonikasyon dışındaki mikro kabarcık sentez yöntemleri (Gupta et al. 2015)

SENTEZ METODU	GAZ	KABUK MALZEMESİ
Birleşme	C ₄ F ₁₀	Lipitler
	C ₄ F ₁₀	DSPC, PEG40S
	C ₄ F ₁₀	DPPC, DPPA, DPPE-PEG2000
	C ₄ F ₁₀	DSPC, PEG-40S, DSPE-PEG2000, DSPE-PEG200-biyotin
	C ₄ F ₁₀	DSPC, 18:0 EPC, 18:0 PG, PEG 40S
Salin Sallama	Hava	Salin, Kan
	Hava	Salin
Dondurarak Kurutma	Siklodekan	Poli-laktid-ko-glikolid (PLGA)

Lipid çözeltisinin, lipid faz geçiş sıcaklığı üstüne kadar ısıtılması ve çözelti üzerindeki baş boşluğunun, mikro kabarcık içerisinde kapsüllenecek olan gaz ile değiştirilmesi sağlanır. Sonrasında tüp öngörülen süre boyunca çalkalama işlemine tabi tutularak mikro kabarcıkların üretimi gerçekleştirilir. Amalgamasyonla üretilen mikro kabarcıklar, ultrason görüntülemeye kontrast ajanı (Daeichin et al. 2016) ve ultrason aracılı gen transferinde (Kopechek et al. 2015, 2016; Tan et al. 2016) kullanılmaktadır.

Dondurarak kurutma ile mikro kabarcıkların sentezlenmesi için, sıvı haldeki mikro damlalar düşük sıcaklıklarda kurutulurlar. Sıvı, yüksek kesme akışına sahip emülsifikasyonun kullanılmasıyla, stabilizatör içeren bir sürekli sulu faz içerisinde dağıtılır. Karıştırma esnasında, dağınık fazla sürekli faz arasındaki ara yüzeyde stabilizatör molekülleri adsorbe olmaktadır. Meydana gelen emülsiyon damlalarının dondurarak kurutmayla mikro kabarcıklara dönüştürülmesi sağlanır (Lee et al. 2015).

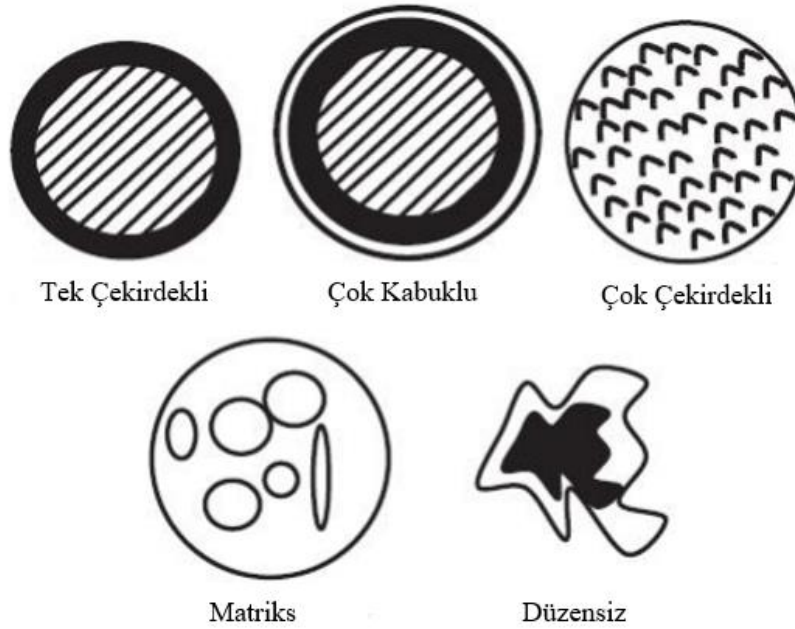
Salin çalkalama düzeneği, bir çift şırınga ve üç yollu bir musluktan oluşmaktadır. Şırıngalardan birine salin ve diğerine hava doldurularak, muslukların açılmasıyla karıştırılır. Salin çalkalamayla sentezlenen mikro kabarcıklar esas olarak ekokardiyografide kullanılmaktadır (Gupta et al. 2015; James et al. 2015; Passos et al. 2017; Porter et al. 2014; Schneider et al. 2011; Zhao et al. 2017)

2.6. Mikrokapsüller

Çekirdeğin zar ile kaplanması sonucunda oluşan mikrokapsüller, 5-500 µm aralığındaki bir partikül büyüklüğüne sahip dozajlama şekilleridir. Katı, sıvı ya da gaz formunda olan maddeler atıl durumdaki polimer bir maddeyle film (jel) biçiminde kaplandığı zaman mikrokapsülleme işlemi gerçekleştirilmiş olur. Etken maddeye "çekirdek" ismi verilirken, kaplama maddesine ise "çeper" adı verilmektedir.

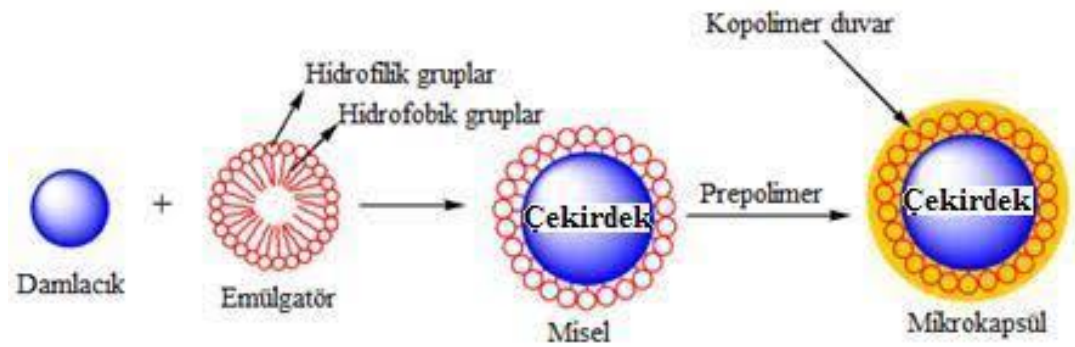
Mikrokapsülasyon yöntemi kapsüllenecek maddenin kimyasal ve fiziksel özelliklerinden etkilenmektedir. Birden fazla duvar yapısı bulunan mikrokapsüllerin iç malzemesi "iç faz, öz çekirdek veya dolgu" şeklinde adlandırılırken, duvar malzemesi "kaplama, membran veya kabuk" biçiminde ifade edilebilmektedir. Dolgu maddesi pürüzlü bir absorban partikülü, bir emülsiyon, bir kristal, katıların bir süspansiyonu ya da küçük kapsüllerden oluşan bir süspansiyon olabilmektedir. Çapları birkaç µm ile birkaç mm arasında bulunur (Gökmen vd. 2012).

Mikrokapsüllerin yapılarına göre üç ayrı ana gruba ayrıldığı Şekil 2.22’de görülmektedir. Sürekli faz değiştirebilen birden çok çekirdekten, tek çekirdekten ve dış çeper maddesinden oluşur. Dolgu ve kaplama arasındaki homojen dağılımı sağlayabilen mikrokapsüller bulunur (Giro-Paloma et al. 2016). Yapılar; madde, duvar ve duvar kalınlığının durumuna bağlı olarak değişiklik gösterirler.



Şekil 2.27. Mikrokapsül yapıları (Giro-Paloma et. al., 2016)

Dolgu ve kaplama mikrokapsüllerin oluşumu için oldukça önemli bir faktör olup, kullanım amaçlarına uygun bir biçimde tercih edilir. Genelde kozmetik, koku, ilaç, aktif enzim, faz değiştirebilen madde ve gıda maddeleri için kullanılmaktadırlar. Kapsülleme işlemi Şekil 2.23’te görülmektedir (Kandemir 2020).



Şekil 2.28. Kapsülleme işlemi (Kandemir 2020)

2.7. Ultrason Uygulamaları Ve İlaç Bariyerinin Açılışı

Ultrason, insanların duyabildikleri frekans değerinden oldukça yüksek frekans (>20 kHz) değerlerinde olan katı, sıvı ve gaz ortamlarında yayılarak ilerleyen mekanik titreşimli ses dalgalarına verilen isimdir (Ahmed et al. 2009). Doku ya da organa uygulanan güvenilir en fazla ultrason yoğunluğu $\sim 10.000-20.000 \text{ watt/m}^2$, en fazla ultrason frekansı ise $\sim 7.5-20 \text{ MHz}$ değerindedir.

Organ ya da doku etrafında, kontrastın sağlanması istenen bölgeler (kanser vb.) için, ultrason tekniklerinden birinci ultrason yoğunluğu kullanılmaktadır. Minimum sayıda olan (en az 1) mikro kapsülün eşik yoğunluğuna göre, birinci ultrason yoğunluğu daha düşük değere sahiptir. Organ ya da dokunun etrafında yapı var ise, daha sonrasında ultrasonda izlenerek tespiti yapılabilmektedir. Yük, yapı üzerine ikinci bir ultrason yoğunluğunun uygulanmasıyla yapıdan serbest bırakılmaktadır. İkinci ultrason yoğunluğuya, mikrokapsüllerin sızıntı eşik enerjisine eşit ya da daha fazladır ve güvenli bir biçimde maksimum ultrason yoğunluk değerine eşit ya da daha düşük olan doku-organı uygulanmaktadır.

Ultrason yöntemi hastalıkların tedavi edilmesinde de bir yöntem içermektedir. Mikrokapsül sulu çekirdeğine yerleştirilen minimum bir adet mikro kabarcığı içeren bir yapı kişiye uygulanır ve yapının bulunduğu yer birinci ultrason yoğunluğunun kullanılmasıyla izlenilebilir. İlaç salınımı için kapsülün eşik enerjisini, ses dalgalarının aşması gerekmektedir. İlaç bulunduran mikrokapsüllerin, normal fizyolojik basınçlara ya da hedefteki bölgelerde olmayan dokular üzerinden geçebilen ışının ultrason koşulları sonucunda, yırtılmaları ve istenmeyen ilaç salınımlarına karşı dayanımının iyi olması gerekmektedir. Kalp ve atardamardaki basınçlar ve kılcal damar vb. dar alanlardan geçebilen sıkıştırma basıncı dahil *in-vivo* basınçlara normal fizyolojik basınç denilmektedir.

Ultrason alanının içerisindeki mikro kabarcıklar, salınan kompresyon dalgalarından etkilenirler. Basıncın yüksek olduğu bölgelerde kabarcıklar sıkıştırılarak küçülürken, basıncın daha düşük olduğu bölgelerde kabarcıklar genişlemektedir (Şekil 2.24). Bu durum hücre zarının yeterince yakınında bir yerde gerçekleştiği zaman, zar üzerinde sonoporasyon adı verilen gözeneklerin oluşması söz konusu olmaktadır (Yang et al. 2008; Zhou et al. 2012; Bouakaz et al. 2016). Kabarcığın çökmesi gibi olgular (Kooiman et al. 2014; Ohl et al. 2006; Postema et al. 2005); bariyerin üstündeki mekanik basınca (Delalande et al. 2013), kabarcığın etrafındaki mikro akışa, hücre zarında kesmelere (Nejad et al. 2016; Collis et al. 2010; Wu, 2002) ve patlayan kabarcıkların jet akışlarına neden olabilmektedir. Bu gibi etkiler hücre zarına ya da endotel duvara yakın yerde gerçekleşirse, zarın açılmasında zorluklar ortaya çıkar (Zhou et al. 2012; Kooiman et al. 2014) (Şekil 2.25 ve Şekil 2.26).

Kabarcıkların salınımıyla birlikte, zarın üzerinde bulunan kesme kuvvetleri, yakınlardaki bir hücre zarını etkileyebilen mikro kabarcıkların çevresinde bir mikro akış meydana getirmektedir (Collis et al. 2010). Bu durum, etraftaki sıvının akmasına neden olan kabarcıkların boyutlarındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Zarın üstündeki kesme kuvvetleri, daha fazla geçirgenliğe sahip olan ve delikleri oluşturan bozulmuş lipid paketlemelerine sebep olabilir. Kabarcıklardaki tamamen çökmeyi ifade eden eylemsiz kavitasyon, hücre zarı üzerine doğrudan nüfuz edebildiği için jet akımlara neden olur, bu

da kabarcıkların üzerinde US insonasyonunun en radikal etkisini göstermektedir. Bireysel faktörlerin rolleri henüz tam anlamıyla anlaşılmamış olup, büyük ihtimalle kabarcık özelliğine ve ultrason insonasyon ayarlarına bağlıdır.

Bu durum, zar yakınlarında gerçekleşirse, kabarcık bozulması ve atalet kavitasyonları meydana gelerek gözeneklerin oluşmasına neden olabilir. Atalet kavitasyonu yüksek yoğunlukta olan ultrason sebebiyle gerçekleşir ve kabarcık patlaması hem basınç şok dalgalarıyla hem de jet akışıyla sonuçlanmaktadır (Brujan et al. 2005; Collis et al. 2010; Bouakaz et al. 2016; Postema et al. 2004) .

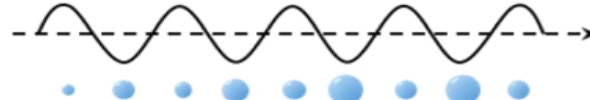
Ultrason (Sıkıştırma Dalgası)



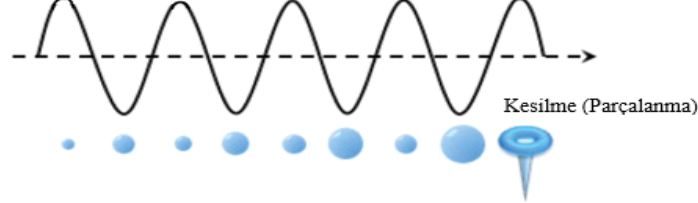
(a) Çok Düşük Yoğunluk



(b) Düşük Yoğunluklu

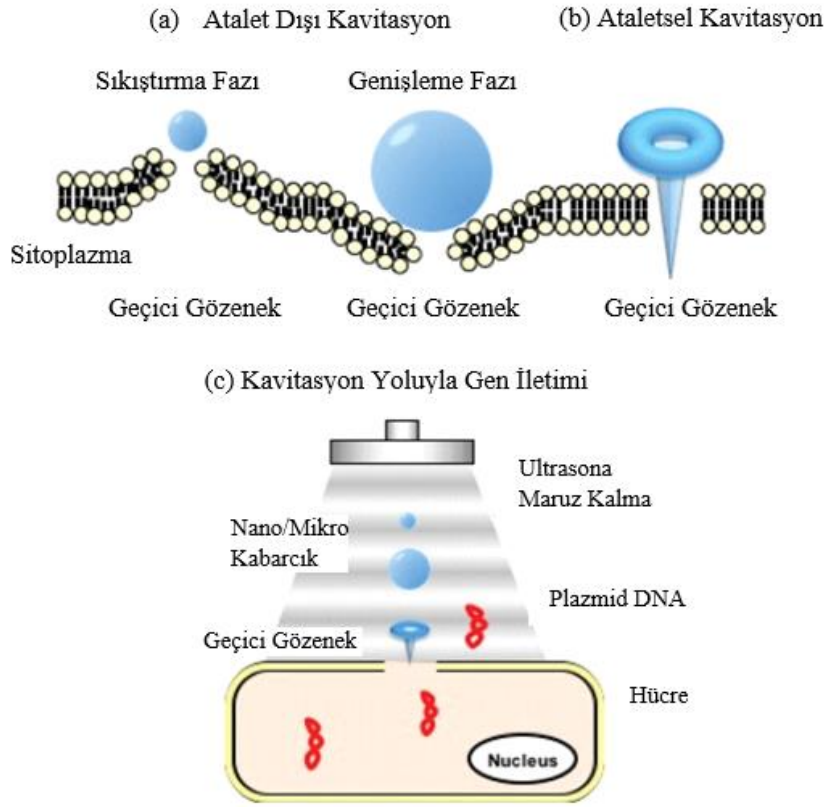


(c) Yüksek Yoğunluklu



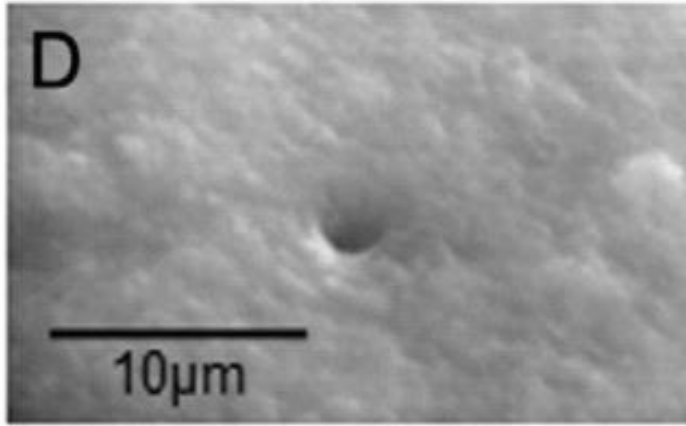
Şekil 2.29. Kabarcığın değişken ultrason yoğunluğuna sahip ultrason alanlarındaki davranışları. **a); b)** Ultrasonunun daha düşük olduğu yoğunlukta, kabarcık boyutunun değişmesine (ataletli olmayan kavitasyon) neden olan stabil kabarcık salınımı gerçekleşir; **c)** Daha yüksek yoğunluklarda, kabarcıklar daha yoğun bir şekilde salınır ve sonunda kabarcık bozulmasına ve püskürtmeye (eylemsiz kavitasyon) yol açar (Brujan et al. 2005)

Kabarcıkların ve ultrason dalgalarının bu etkisi, kan-beyin bariyerinin (BBB) açılması amacıyla kullanılmakta olup, bunların mekanizmaları kabarcık boyutuna ve kılcal boyutlarına bağlı haldedir. Bir kabarcık, kan damarının kabarcık salınımlarıyla benzer bir çap değerine sahip ise BBB'yi açabilir, ama daha küçük kabarcıklarda ataletsel kavitasyon gerekli olmaktadır (Tung et al. 2011). Bir duvarın yakınlarında genişleyen küçük bir kabarcığın genişlemesi, damarın duvarını açar veya hareket ettirerek boşluk yaratır. Nispeten bu durum damar içerisinde meydana gelirse, genişlemeye karşı oluşan direnç daha küçük olur.



Şekil 2.30. Hücre zarında gözenek oluşumu **a)** Ataletsiz kaviteasyon, hücre zarına yakın kabarcıkların genişlemesi ve sıkışması; **b)** atalet kaviteasyon, jetleme; **c)** kabarcıklar ve ultrason kullanılarak plazmid DNA iletiminin gösterimi. Bir hücreye yakın kabarcık kaviteasyonu, pDNA'nın hücreye girmesine izin veren gözenek oluşumuna neden olur (Fan et al. 2017)

Vücudun belirgin kısımlarına ultrasonun yönlendirilmesi ve mikro kabarcıkların ultrason basıncındaki (P) değişimlere hangi bölgede maruz kalacağını seçilmesiyle bölgesel uygulamalar yapılabilmektedir. Bunun gerçekleşmesi, odaklanmış ultrason veya odaklanmamış ultrasonunun kullanılmasıyla mümkündür. Fakat odaklanmış ultrasonda, odak hacminin küçük olması özgüllüğün yüksek olmasına sebep olmaktadır. Mikro kabarcık ve sonoporasyon etkisi, hücre döngüsünden (hücre gelişimi) etkilenmekte olup, hızlı büyüeyebilen kanser vb. hücreleri tedavi etmede oldukça önemlidir (Fan et al. 2017).



Şekil 2.31. Tek bir baloncuğun kavitasyonu ile bir hücre üzerinde oluşturulan bir gözeneği gösteren SEM görüntüsü (Zhou et. al. 2012)

Geri saçılma;

Ultrason dalgası vücut içerisinden geçerken, vücuttaki doku ya da organ gibi bir yapı ile karşılaştığı zaman, ultrason dalgasının bir kısmı yapı tarafından yansıtılmaktadır. Vücutta bulunan bu farklı yapıların, ultrason dalgasını (enerjisini) farklı biçimlerde ve değişen güçlerde yansıttığı görülmektedir. Yansıyan enerjinin tespit edilmesiyle birlikte, ultrason enerjisinin yapılar içerisinden geçerken ki görüntüleri oluşturulur. Ultrason görüntülerinde gözlenen kontrast, geri saçılmaya neden olan maddeler varlığında büyük ölçüde arttırılabilmektedir. Vücudun farklı bölümlerine böyle bir madde uygulandığı zaman, bu bölümlerdeki ultrason görüntüsüyle maddenin bulunmadığı çevre dokular arasındaki kontrastta artmaktadır. Fiziksel özellikleri nedeniyle farklı maddelerin değişken değerlerde geri saçılmaya neden oldukları anlaşılmaktadır. Bu nedenle, kontrastı artıran maddelerin araştırılmasında, toksik olmayan, stabil ve maksimum miktarda geri saçılma sergileyebilecek olan maddelere odaklanılmaktadır. Örneğin, diğer tüm faktörlerin eşit olduğu koşullarda, X maddesi Y maddesinden daha büyük ise, X maddesinin geri saçılma yeteneğinin Y maddesinden daha büyük olacağı bilinmektedir. İki madde de ultrason dalgasına maruz bırakıldığında, daha büyük olan maddenin daha büyük miktarlarda ultrason dalgası saçması beklenmektedir (Quay 2004).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada, silika ile kapsüllenmiş mikro kabarcıkları sentezlemek amacıyla; çekirdek kısmında stabiliteyi artırması beklenen n-pentan (C_5H_{12} , Merck) ve perfloropropan (C_3F_8 , ABCR) gazı kullanılmıştır. Sol-jel yöntemiyle kapsülasyon işlemi için başlangıç maddesi olarak tetraetoksi silan ($C_8H_{20}O_4Si$, A.Aesar), vücudun sodyum dengesini düzenlemek amacıyla sodyum klorür ($NaCl$, Merck), gaz ile TEOS'un birbiriyle karışmasını sağlamak amacıyla sürfaktan olarak soya yağı, D-Sorbitol ($C_6H_{14}O_6$, Sigma Aldrich), tween 85 ($C_{60}H_{108}O_8 \cdot (C_2H_4O)_n$, Merck), tween 80 ($C_{64}H_{124}O_{26}$, Merck), tween 20 ($C_{58}H_{114}O_{26}$, Merck) ve capstone FS-30 (Dupont), katalizör olarak amonyak (NH_3 , Birpa) ve asetik asit (CH_3COOH , Merck), seyreltme işleminde ve TEOS'un hidroliz reaksiyonunu gerçekleştirmek için ise ultra saf su kullanılmıştır.

Sentez esnasında karıştırma işlemlerinde IKA marka RCT basic model magnetik karıştırıcı ve IKA marka WERKE RO 15 power model çoklu karıştırıcı, JANKE & KUNKEL IKA-Labortechnik marka ULTRA-TURRAX T25 model homojenizatör, BRANSON marka SONIFIER 250 model ultrasonik homojenizatör kullanılmıştır. pH ölçümlerinde Mettler Toledo T50 model pH metre ve tartımlar için $\pm 0,001$ g hassasiyete sahip Precisa marka hassas terazi kullanılmıştır.

Sentezlenen mikrokabarcıkların yapısındaki fonksiyonel gruplar ve TEOS hidrolizinin takibi, Fourier transform infrared (FT-IR) spektrometresi ile yapılan ölçümlerle belirlenmiştir. FT-IR analizleri, Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Sol-Jel Laboratuvarı'nda bulunan BRUKER TENSOR 27 model FT-IR spektrometresiyle ve Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü'nde bulunan Perkin Elmer TWO model FT-IR spektrometresiyle $400-4000\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında sıvı ölçüm aparatı ve ATR tekniğiyle gerçekleştirilmiştir. Mikro kabarcıkların zeta potansiyelleri ve hidrodinamik çapları, Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Sol-Jel Laboratuvarı'nda bulunan Malvern Zeta sizer Nano series Nano-ZS cihazı ile dinamik ışık saçılımı (DLS) tekniğine göre ölçülmüştür. Optik mikroskop, mikro kabarcığın yapısı ve partikül çapını gözlemlemek amacıyla kullanılmıştır. Oluşturulan mikro kabarcıkların morfolojisi ve boyutları transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ölçümleri ile belirlenmiştir. TEM ölçümleri için Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Bölümü'nde bulunan Zeiss Leo 906E marka TEM cihazı kullanılmıştır. Ölçümler, karbon kaplı bakır gridler üzerine kaplanmış örnekler kullanılarak 80 kV'da gerçekleştirilmiştir. Elde edilen TEM görüntüleri ImageJ programı ile değerlendirilerek mikro kabarcıkların ortalama boyutları belirlenmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Sol- jel yöntemi ile mikroemülsiyon oluşumu

3.2.1.1. Sürfaktan ve katalizör çözeltisinin hazırlanması

a) 1,57 g Tween 85 (T85) sürfaktanı boş plastik kap içerisine hassas bir biçimde tartılmıştır. Üzerine 227,41 g ultra saf su eklenerek, homojenizatörde 8000 rpm hızla 10 dakika boyunca karıştırılmıştır.

b) 4,22 g Capstone FS-30 sürfaktanı boş plastik kap içerisine hassas bir biçimde tartılmıştır. Üzerine 25,77 g ultra saf su eklenerek, homojenizatörde 8000 rpm hızla 10 dakika boyunca karıştırılmıştır.

4,00 M'lık 50 ml amonyak (NH_3) çözeltisi hazırlamak üzere, balon joje içerisine az miktarda ultra saf su konulup üzerine %24'lük ($d=1,097 \text{ g/ml}$) NH_3 'ten 15,4 ml hassas bir biçimde eklenerek menisküs çizgisine kadar ultra saf su ile tamamlanmıştır.

3.2.1.2. Sol-jel başlangıç maddesinin hazırlanması

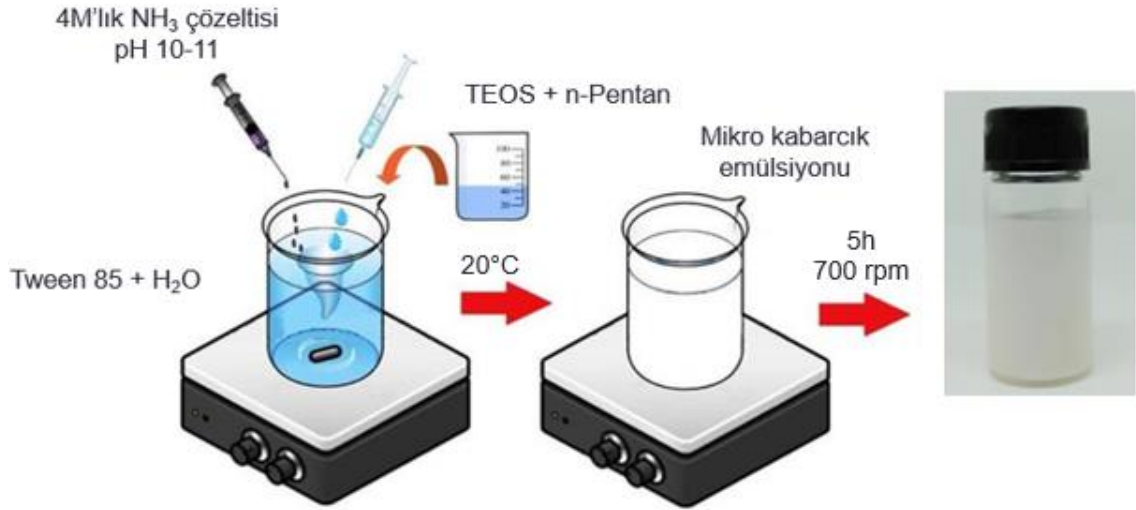
a) 12,72 g tetraetoksi silan (TEOS) boş plastik bir kaba tartılmış ve 700 rpm'de karıştırılırken üzerine 3,00 g n-pentan (C5) eklenerek üzeri folyo ile sıkıca kapatılmıştır. 36,1°C kaynama noktasına sahip olan n-pentan'ın ortamdan uzaklaşmasını önlemek amacıyla buz banyosu kullanılarak sistem sıcaklığı 20°C'ye sabitlenmiştir. Manyetik karıştırıcı üzerinde çözelti 700 rpm'de 10 dakika boyunca karıştırılmıştır.

b) 4,24 g tetraetoksi silan (TEOS) boş cam bir kaba tartılmış ve 700 rpm'de karıştırılırken üzerine 1,50 cc perfloropropan (PFP) gazı enjektör yardımıyla eklenerek üzeri folyo ile sıkıca kapatılmıştır. Manyetik karıştırıcı üzerinde çözelti 700 rpm'de 10 dakika boyunca karıştırılmıştır.

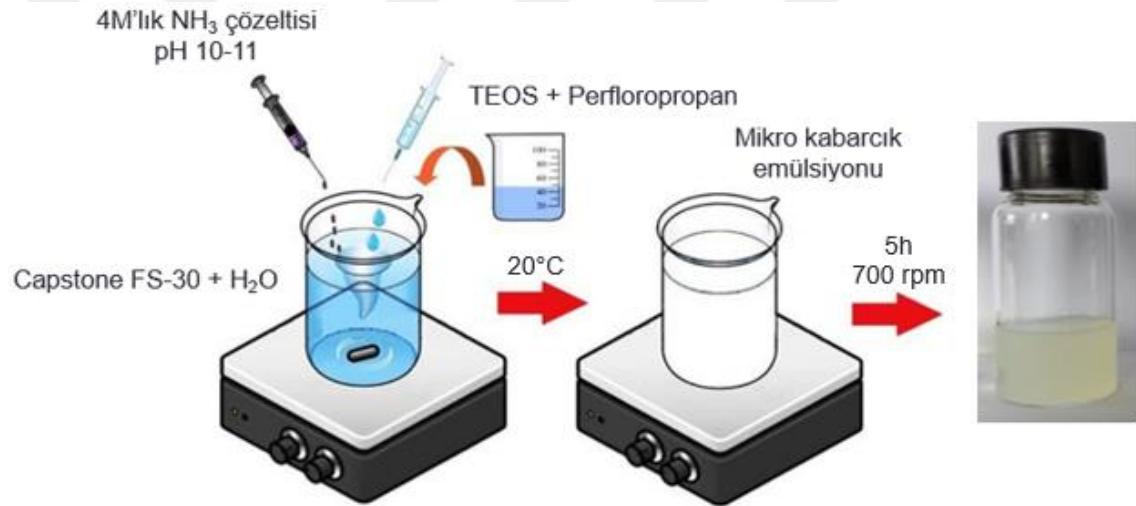
3.2.1.3. SiO_2 ile kapsüllenmiş mikroemülsiyonun oluşumu

3.2.1.1.'de hazırlanan a) sürfaktan çözeltisinin homojenizatördeki hızı 9500 rpm'e çıkartılarak üzerine 3.2.1.2.'de hazırlanan a) TEOS ve n-pentan karışımının tamamı yavaş yavaş (1 dakikada 15 damla) ilave edilmiştir. Plastik kabın ağzı folyo ile sıkıca kapatılarak 1 saat boyunca aynı hızda karıştırılmıştır. 1 saatin sonunda boş 4 ayrı plastik kabın her birine hazırlanan bu stok çözeltiden 60'ar gram olacak şekilde tartılmıştır. Birinci kabın üzerine 3,816 g, ikinci kaba 2,544 g, üçüncü kaba 1,908 g ve dördüncü kaba 1,272 g olacak şekilde 4M'lık NH_3 çözeltisinden eklenmiştir. Çözeltilerin hepsi oda sıcaklığında 700 rpm hızda 5 saat boyunca karıştırılmıştır.

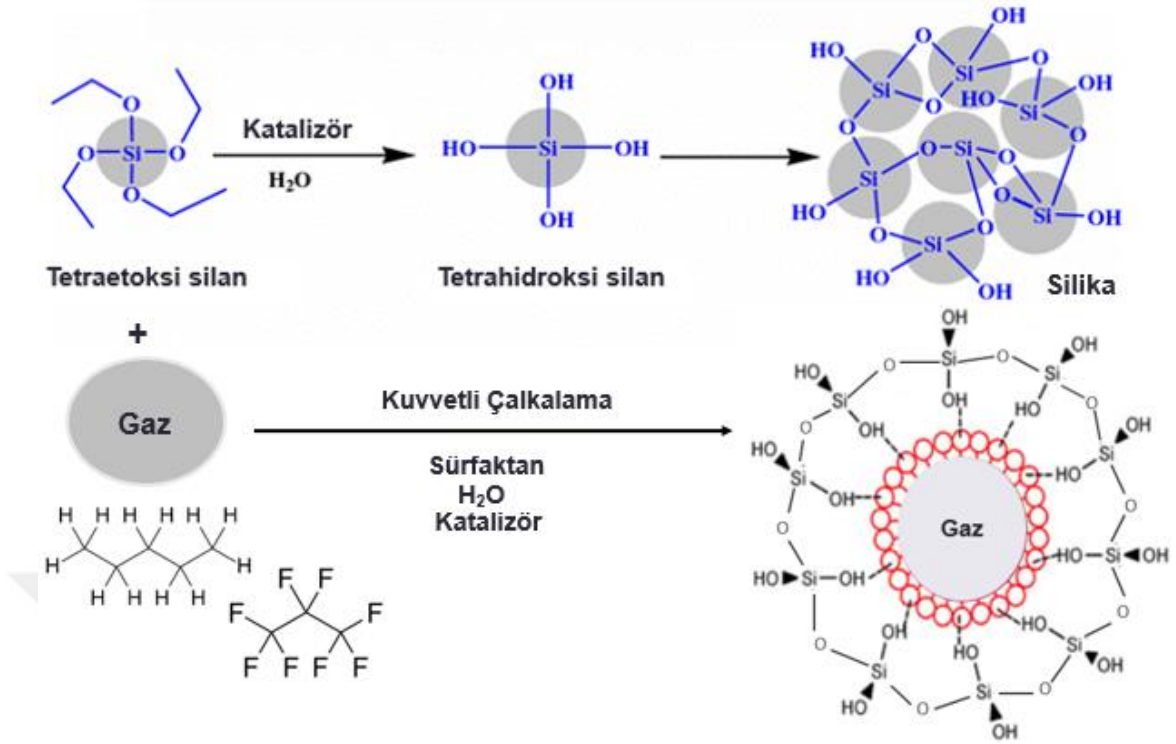
3.2.1.1.'de hazırlanan b) sürfaktan çözeltisinin homojenizatördeki hızı 9500 rpm'e çıkartılarak üzerine 3.2.1.2.'de hazırlanan b) TEOS ve PFP karışımının tamamı yavaş yavaş (1 dakikada 15 damla) ilave edilmiştir. Cam kabın ağzı folyo ile sıkıca kapatılarak 15 dakika boyunca aynı hızda karıştırılmıştır. 15 dakikanın sonunda üzerine 1,272 g 4M'lık NH_3 çözeltisinden eklenmiştir. Çözelti oda sıcaklığında 700 rpm hızda 5 saat boyunca karıştırılmıştır.



Şekil 3.1. Tween 85 sürfaktanı ile n-pentan'ın kullanıldığı reaksiyon basamakları



Şekil 3.2. Capstone FS-30 sürfaktanı ile perfloropropan gazının kullanıldığı reaksiyon basamakları



Şekil 3.3. TEOS'un hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonlarının gerçekleşmesiyle mikro kabarcığın kapsülasyonu

3.2.2. Mikroemülsiyon oluşumu için farklı sürfaktan ve miktar denemesi

Çizelge 3.1. Tween 20 sürfaktanı kullanılarak n-pentan ve TEOS miktar denemesinin yapıldığı farklı sistemler

NO								
1			2		3		4	
SİSTEM								
	1A	%	1B	%	1C	%	1D	%
T20 (g)	0.06	1.27	0.04	1.17	0.02	0.744	0.05	0.54
H ₂ O (g)	11.77	43.22	7.85	40.56	3.92	25.84	9.42	19.99
SORBITOL (g)	0.20	4.24	0.13	4.00	0.08	3.00	0.18	2.08
SOYA YAĞI (g)	0.71	15.04	0.47	13.99	0.24	8.92	0.57	6.54
C5 (g)	0.80	16.95	0.64	19.11	0.80	30	2	23.16
TEOS (g)	2.77	16.95	2.23	19.07	2.77	30	14	46.77
		(SiO ₂)		(SiO ₂)		(SiO ₂)		(SiO ₂)
NaCl (g)	0.11	2.33	0.07	2.10	0.04	1.50	0.08	0.92

Çizelge 3.2. Tween 80 sürfaktanı kullanılarak n-pentan ve TEOS miktar denemesinin yapıldığı farklı sistemler

NO								
5			6		7		8	
SİSTEM								
	2A	%	2B	%	2C	%	2D	%
T80 (g)	0.06	1.27	0.04	1.17	0.02	0.744	0.05	0.54
H ₂ O (g)	11.77	43.22	7.85	40.56	3.92	25.84	9.42	19.99
SORBITOL (g)	0.20	4.24	0.13	4.00	0.08	3.00	0.18	2.08
SOYA YAĞI (g)	0.71	15.04	0.47	13.99	0.24	8.92	0.57	6.54
C5 (g)	0.80	16.95	0.64	19.11	0.80	30	2	23.16
TEOS (g)	2.77	16.95	2.23	19.07	2.77	30	14	46.77
		(SiO ₂)		(SiO ₂)		(SiO ₂)		(SiO ₂)
NaCl (g)	0.11	2.33	0.07	2.10	0.04	1.50	0.08	0.92

Çizelge 3.3. Tween 85 sürfaktanı kullanılarak n-pentan ve TEOS miktar denemesinin yapıldığı farklı sistemler

NO								
9			10		11		12	
SİSTEM								
	3A	%	3B	%	3C	%	3D	%
T85 (g)	0.06	1.27	0.04	1.17	0.02	0.744	0.05	0.54
H ₂ O (g)	11.77	43.22	7.85	40.56	3.92	25.84	9.42	19.99
SORBITOL (g)	0.20	4.24	0.13	4.00	0.08	3.00	0.18	2.08
SOYA YAĞI (g)	0.71	15.04	0.47	13.99	0.24	8.92	0.57	6.54
C5 (g)	0.80	16.95	0.64	19.11	0.80	30	2	23.16
TEOS (g)	2.77	16.95	2.23	19.07	2.77	30	14	46.77
		(SiO ₂)		(SiO ₂)		(SiO ₂)		(SiO ₂)
NaCl (g)	0.11	2.33	0.07	2.10	0.04	1.50	0.08	0.92

Yukarıdaki çizelgelerde T20, T80 ve T85 sürfaktanları kullanılarak dört farklı emülsiyon sistemi denenmiş olup, n-pentan ve SiO₂ miktarlarının kendi aralarında yaklaşık %50-%50 ve iki katı olacak şekilde hesaplandığı oranlar gösterilmektedir.

T20 ve T80'in kullanıldığı sistemlerde miko kabarcıklar hava ile etkileştiğinde saniyeler içerisinde patlamış olup faz ayrımının gerçekleştiği gözlenmiştir. Dolayısıyla denemelere T85 sürfaktanı ile devam edilmiştir.

3.2.3. Mikroemülsiyon oluşumu için n-pentan'ın miktar denemesi

Çizelge 3.4. %1'lik sulu çözeltisi hazırlanan T85 sürfaktanın ve TEOS'un oranları sabit tutularak yapılan n-pentan miktar denemeleri

NO	SİSTEM	T85 (%1'lik) (g)	C5 (g)	C5 (%)	TEOS (g)	SiO ₂ (%)	4M NH ₃ (g)
13	4A	7.70	0.25	41	1	47	0.30
14	4B	7.70	0.50	58	1	33	0.30
15	4C	7.70	0.75	67	1	26	0.30

Yukarıdaki çizelgede T85'in %1'lik sulu çözeltisi hazırlanarak üç farklı sistemde denemeler yapılmıştır. Sürfaktan ve TEOS miktarları sabit tutularak 4A sisteminde C5'den 0,25 g, 4B sisteminde 0,50 g ve 4C sisteminde 0,75 g kullanılmıştır.

3.2.4. Mikroemülsiyon oluşumu için T85 ile miktar denemesi

Çizelge 3.5. T85 sürfaktanı ile yapılan denemeler

NO	SİSTEM	T85 (g)	T85 (%)	H ₂ O (g)	C5 (g)	C5 (%)	TEOS (g)	TEOS (%)	SiO ₂ (%)	NH ₃ (4M) (g)
16	5A	1.1	7	79.34	3	45	12.72	55	3.67	3.816
17	5B	1.57	10	78.894	3	45	12.72	55	3.67	3.816
18	5C	2.36	15	78.104	3	45	12.72	55	3.67	3.816
19	5D	3.14	20	77.324	3	45	12.72	55	3.67	3.816

Yukarıdaki çizelgede n-pentan ve TEOS kendi aralarında yüzdece %45-%55 oranlarında sabit tutularak, T85'in çözelti içerisinde %7, %10, %15 ve %20 olarak bulunduğu sistemler hazırlanmıştır. Çözeltilerde n-pentan, TEOS ve NH₃ miktarları sabit tutulmuştur.

3.2.5. Mikroemülsiyon oluşumu için %SiO₂ denemesi

Çizelge 3.6. Farklı sistemlerde %SiO₂ denemesi

NO	SİSTEM	T85 (g)	T85 (%)	H ₂ O (g)	C5 (g)	C5 (%)	TEOS (g)	TEOS (%)	SiO ₂ (%)	NH ₃ (4M) (g)
20	6A	1.57	10	101.194	3	45	12.72	55	3	3.816
21	6B	1.57	10	125.694	3	45	12.72	55	2.5	3.816
22	6C	1.57	10	162.394	3	45	12.72	55	2	3.816
23	6D	1.57	10	223.594	3	45	12.72	55	1.5	3.816

Yukarıdaki çizelgede sistem içerisinde %10 oranında T85 bulunmakta olup, C5 ve TEOS kendi aralarında %45-%55 oranlarında olmakta ve NH₃ miktarı sabit tutulmaktadır. 6A sistemi %3 SiO₂, 6B sistemi %2,5 SiO₂, 6C sistemi %2 SiO₂ ve 6D sistemi %1,5 SiO₂ içermektedir.

3.2.6. Kapsülasyon işlemi için katalizör denemesi

Çizelge 3.7. Sistemler üzerinde NH₃ katalizörünün miktar denemeleri

NO	SİSTEM	T85 (g)	T85 (%)	H ₂ O (g)	C5 (g)	C5 (%)	TEOS (g)	TEOS (%)	SiO ₂ (%)	NH ₃ (4M) (g)
24	7A	0.39	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	-
25	7B	0.39	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	3.816
26	7C	0.39	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	2.544
27	7D	0.39	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	1.908
28	7E	0.39	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	1.272

Yukarıdaki çizelgede sistem içerisinde %10 oranında T85 bulunmakta olup, C5 ve TEOS kendi aralarında %45-%55 oranlarında tutulmaktadır. SiO₂ miktarının %1.5 olduğu bu beş sistem üzerinde katalizör olarak kullanılan 4M'lık NH₃'ün miktar denemeleri yapılmıştır. 7B sisteminde 3.816 g NH₃, 7C'de 7B'nin 3'te 2'si kadar NH₃, 7D'de 7B'nin yarısı kadar NH₃ ve 7E'de 7B'nin 3'te 1'i kadar NH₃ eklenmiştir.

Çizelge 3.8. 8A, 8B, 8C ve 8D sistemleri üzerinde CH₃COOH katalizörünün miktar denemeleri

NO	SİSTEM	T85 (g)	T85 (%)	H ₂ O (g)	C5 (g)	C5 (%)	TEOS (g)	TEOS (%)	SiO ₂ (%)	CH ₃ COOH (4M) (g)
29	8A	0.39	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	3.816
30	8B	0.39	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	2.544
31	8C	0.39	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	1.908
32	8D	0.39	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	1.272

Yukarıdaki çizelgede sistem içerisinde %10 oranında T85 bulunmakta olup, C5 ve TEOS kendi aralarında %45-%55 oranlarında tutulmaktadır. SiO₂ miktarının %1.5 olduğu bu beş sistem üzerinde katalizör olarak kullanılan 4M'lık CH₃COOH'ın miktar denemeleri yapılmıştır. 8A sisteminde 3.816 g CH₃COOH, 8B'de 8A'nın 3'te 2'si kadar CH₃COOH, 8C'de 8A'nın yarısı kadar CH₃COOH ve 8D'de 8A'nın 3'te 1'i kadar CH₃COOH eklenmiştir.

3.2.7. C₃F₈ gazının kullanıldığı sistemlerde miktar denemeleri

Çizelge 3.9. Capstone FS-30 sürfaktanının kullanıldığı sistemlerde NH₃ katalizörünün miktar denemeleri

NO	SİSTEM	Capstone FS-30 (g)	Capstone FS-30 (%)	H ₂ O (g)	C ₃ F ₈ (cc)	C ₃ F ₈ (%)	TEOS (g)	TEOS (%)	SiO ₂ (%)	NH ₃ (4M) (g)
33	9A	0.1	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	3.816
34	9B	0.1	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	2.544
35	9C	0.1	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	1.908
36	9D	0.1	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	1.272

Yukarıdaki çizelgede sistem içerisinde %10 oranında Capstone-30 non-iyonik sürfaktanı bulunmakta olup, C₃F₈ ve TEOS kendi aralarında %45-%55 oranlarında tutulmaktadır. SiO₂ miktarının %1.5 olduğu bu beş sistem üzerinde katalizör olarak kullanılan 4M'lık NH₃'ün miktar denemeleri yapılmıştır. 9A sisteminde 3.816 g NH₃, 9B'de 9A'nın 3'te 2'si kadar NH₃, 9C'de 9A'nın yarısı kadar NH₃ ve 9D'de 9A'nın 3'te 1'i kadar NH₃ eklenmiştir.

Çizelge 3.10. Capstone FS-30 sürfaktanı ve perfloropropan gazının miktar denemelerinin yapıldığı sistemler

NO	SİSTEM	Capstone FS-30 (g)	H ₂ O (g)	C ₃ F ₈ (cc)	TEOS (g)	SiO ₂ (%)	NH ₃ (4M) (g)
37	10A	2.11	25.77	0.5	4.24	1.5	1.272
38	10B	2.11	25.77	1	4.24	1.5	1.272
39	11A	4.22	25.77	0.5	4.24	1.5	1.272
40	11B	4.22	25.77	1	4.24	1.5	1.272
41	11C	4.22	25.77	1.5	4.24	1.5	1.272
42	12A	6.33	25.77	1	4.24	1.5	1.272
43	12B	6.33	25.77	1.5	4.24	1.5	1.272

Yukarıdaki çizelgede 11B sistemi, 5D sistemindeki miktarlar göz önünde bulundurularak hazırlanmıştır. Bu sistemde C₃F₈ ve TEOS kendi aralarında yüzde %45-%55 oranlarında sabit tutulmuş ve Capstone-30'un sistem içerisinde %20 oranında

bulunduğu bir çözelti hazırlanmıştır. Diğer sistemlerde ise sürfaktan ve gaz oranları %50 artırılıp %50 azaltılarak denemeler yapılmıştır.

3.2.8. Hazırlanan en ideal sistemler

Çizelge 3.11. İdeal sistemlerin numaraları ve her bir sistemde bulunan kimyasalların yüzde miktarı

NO	SİSTEM	T85 (g)	T85 (%)	H ₂ O (g)	C5 (g)	C5 (%)	TEOS (g)	TEOS (%)	SiO ₂ (%)	NH ₃ (4M) (g)
25	7B	0.39	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	3.816
26	7C	0.39	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	2.544
27	7D	0.39	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	1.908
28	7E	0.39	10	55.693	0.75	45	3.17	55	1.5	1.272

Çizelge 3.12. Perfloropropan gazı ile çalışılan ideal sistemler

NO	SİSTEM	Capstone-30 (g)	H ₂ O (g)	C ₃ F ₈ (cc)	TEOS (g)	SiO ₂ (%)	NH ₃ (4M) (g)
40	11B	4.22	25.77	1	4.24	1.5	1.272
41	11C	4.22	25.77	1.5	4.24	1.5	1.272

Yukarıdaki çizelgede bulunan 4 ayrı sistem, hazırlanan çözeltiler arasında en başarılı olanlarıdır. 1'den 8'e kadar numaralandırılmış T20 ve T80 sürfaktanının kullanıldığı çözeltilerde faz ayrımı oldukça fazla oranda gözlenmiş olup mikro kabarcık stabilitesi oldukça düşüktür. 9-12 arasında numaralandırılmış T85'in kullanıldığı sistemlerde faz ayrımının çok daha az gerçekleştiği görülmüştür. Partiküller daha homojen bir biçimde dağıldığından dolayı T85 sürfaktanı ile denemelere devam edilmiştir. 13-15 arasında numaralandırılmış sistemlerde kademeli olarak C5 miktarı azaltılmıştır. C5 miktarı azaldıkça mikro kabarcıkların hava ile etkileşmesi sonucu kabarcıklar saniyeler içerisinde patlamıştır. 16-19 numaraları arasındaki denemelerde T85 sürfaktanı sistem içerisinde sırasıyla %7, %10, %15 ve %20 oranlarında bulunmaktadır. T85'in %10 oranında bulunduğu çözeltide homojen boyutta partiküller elde edilmiş olup bu çözelti 1 hafta boyunca sabit bir yerde bekletildiğinde kalıntı oranının en az olduğu gözlenmiştir. 20-23 numaralı sistemlerde çözelti içerisinde SiO₂ miktarı sırasıyla %3, %2.5, %2 ve %1.5'tir. SiO₂ miktarının %10 olduğu çözeltilerde çözelti viskozitesi, partikül boyutu, dağılımı ve optik mikroskop görüntüleri diğer sistemlere göre daha iyidir. 24-28 no'lu sistemlerde NH₃ katalizörün miktarı sırasıyla azaltılmıştır. Katalizör miktarının en yüksek miktarda bulunduğu sistemler en ideal çözelti olarak belirlenmiştir. Capstone FS-30 sürfaktanı ve C₃F₈ gazının kullanıldığı sistemlerde yukarıda en iyi sonuçların alındığı miktarlar üzerinden denemeler yapılmıştır. 33-36 numaralı sistemlerde NH₃ miktarının en az olduğu sistemde çözeltinin görünümü oldukça homojen bir şekildedir. 37-43 numaralı sistemlerde gaz ve sürfaktan oranı %50 oranında azaltılıp artırılmıştır. Gaz oranının %50 artırıldı 41 numaralı çözeltide stabilitesi oldukça iyileştirilmiş mikro kabarcıklar elde edilmiştir.

Sol- jel tekniğinin kullanılmasıyla hazırlanan bu emülsiyon sistemlerindeki varolan parçacıkların boyut değişimi, boyut dağılımları ve zeta potansiyellerinin hangi aralıkta olduğunun belirlenmesi için Malvern Zetasizer ZS cihazı kullanılmıştır. Çözeltilerden uygun miktarlarda bir quartz küvete konulup, 25°C sıcaklıkta hidrodinamik

çap (RH) ölçümleri yapılmıştır. Corelasyon Fonksiyonu ve Count Rate grafiklerindeki dalgalanmalar, düzgün ilerlemeler ölçüm esnasında değerlendirilmiştir.

Deney esnasında, kapsülasyon takibi için n-pentan piklerinin saate göre azalışı ve başlangıç maddesi olarak kullanılan TEOS'un hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonlarının tamamlandığını gösteren FT-IR spektrumları çekilerek karakterizasyon yapılmıştır.

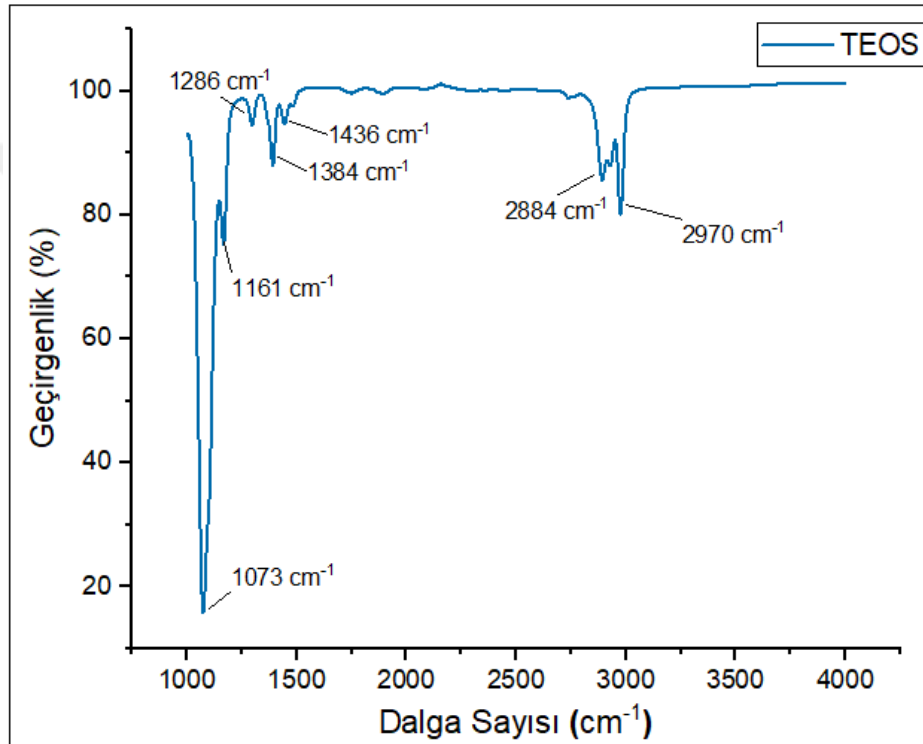
Bu sistemler optik mikroskop ve transmission elektron mikroskopu (TEM) ile incelenmiştir. OLYMPUS marka BX41M model mikroskopa bağlı OLYMPUS DP20 kamera ile lam üzerine damlatılan sıvı formdaki çözeltilerden görüntüler alınmış ve optik mikroskop ölçümleri yapılmıştır. Mikro kabarcıkların TEM görüntülerini almak için bulanık halde bulunan ve DLS ile hidrodinamik boyutu ölçülen bu karışımlardan 10 µL alınıp hızlı bir şekilde karbon kaplı gridlere damlatılarak kaplama işlemi yapılmıştır. Ölçümler 80 kV'da gerçekleştirilip elde edilen görüntülerin ImageJ programında değerlendirmesi yapılarak parçacık boyut dağılımları belirlenmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

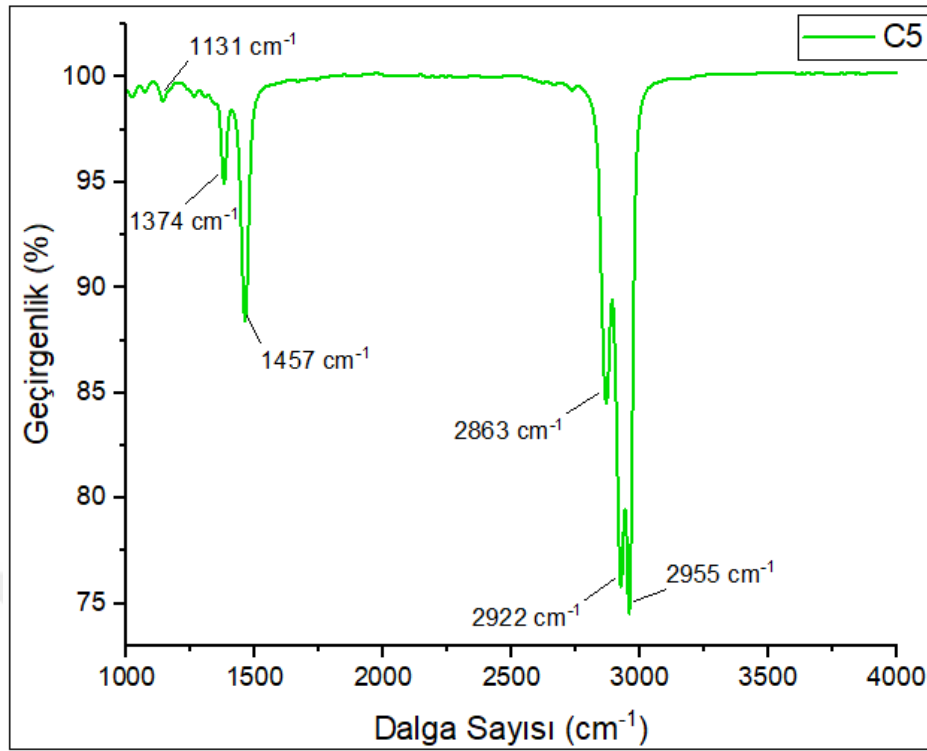
4.1. FT-IR Spektrumu

n-Pentan ve perfloropropan gazı, hazırlanan sistemler içerisinde kolayca uçtuğundan ve çözeltilerin konsantrasyonları oldukça seyreltik olduğu için FT-IR spektrumunda herhangi bir pik gözlenmemektedir. TEOS'un hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonunu incelemek üzere belirli saat aralıklarında FT-IR spektrumları çekilmiştir. Kapsüldeki organik çekirdek kısım ile inorganik kabuk arasında herhangi bir reaksiyon gerçekleşmez. Deneylerde hidrolizi sağlayacak olan su T85 ve Capstone FS-30 sürfaktanı ile birlikte kullanılmıştır.



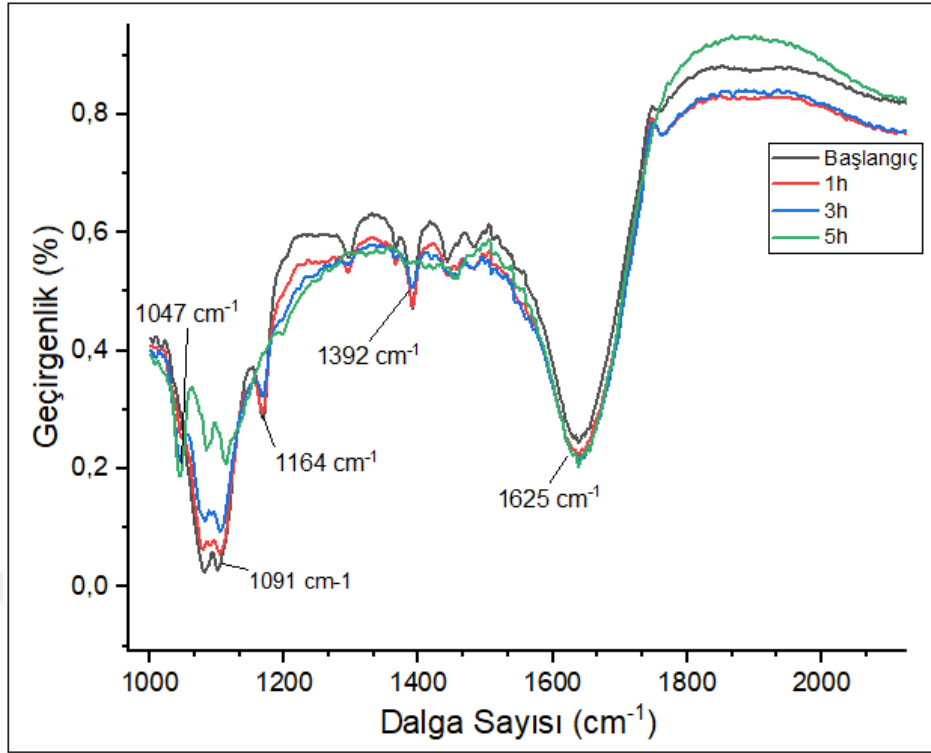
Şekil 4.1. TEOS'un FT-IR spektrumu

Şekil 4.1'de TEOS'a ait FT-IR spektrumu görülmekte olup 1073 cm^{-1} 'deki pik Si-O asimetrik gerilmesinden, 1161 cm^{-1} 'deki pik C-O asimetrik gerilmesinden, 1384 cm^{-1} 'deki pik simetrik C-H eğilmesinden, 1436 cm^{-1} 'deki pik asimetrik C-H eğilmesinden, 2884 cm^{-1} 'deki pik $-\text{CH}_2$ 'ye ait asimetrik C-H gerilmesinden, 2970 cm^{-1} 'deki pik ise $-\text{CH}_3$ 'e ait asimetrik C-H gerilmesinden kaynaklanmaktadır.

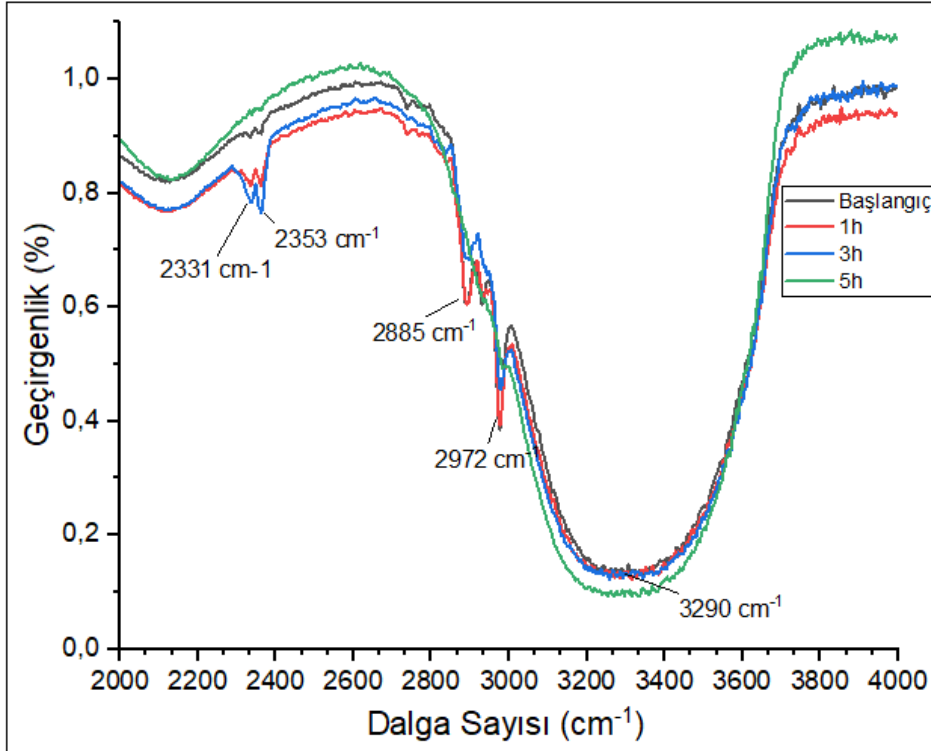


Şekil 4.2. n-pentan'ın FT-IR spektrumu

Şekil 4.2'de n-pentan'a ait FT-IR spektrumu görülmekte olup $\sim 2800\text{-}2955\text{ cm}^{-1}$ arasındaki pikler alifatik C-H asimetrik gerilme titreşimlerine, $\sim 1374\text{ cm}^{-1}$ 'deki pik simetrik C-H eğilme (sallanma) titreşimlerine, 1457 cm^{-1} 'deki pik ise simetrik C-H eğilme (makaslama) titreşimlerine aittir.

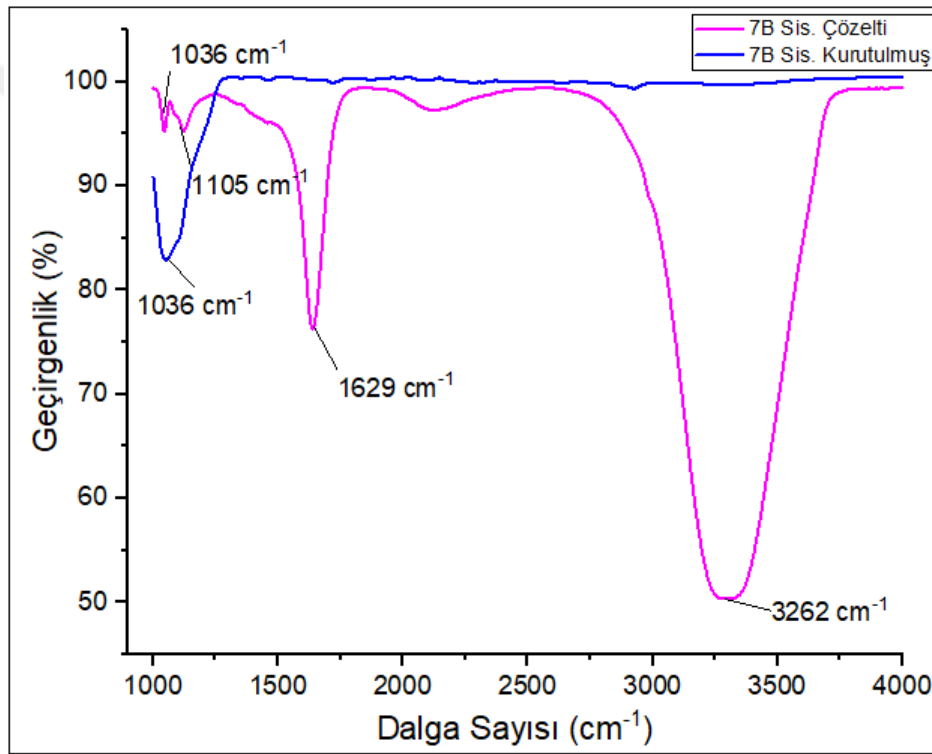


Şekil 4.3. 7B sisteminin başlangıçta, 1h, 3h ve 5h sonra çekilen FT-IR spektrumu (1000-2000 cm^{-1})

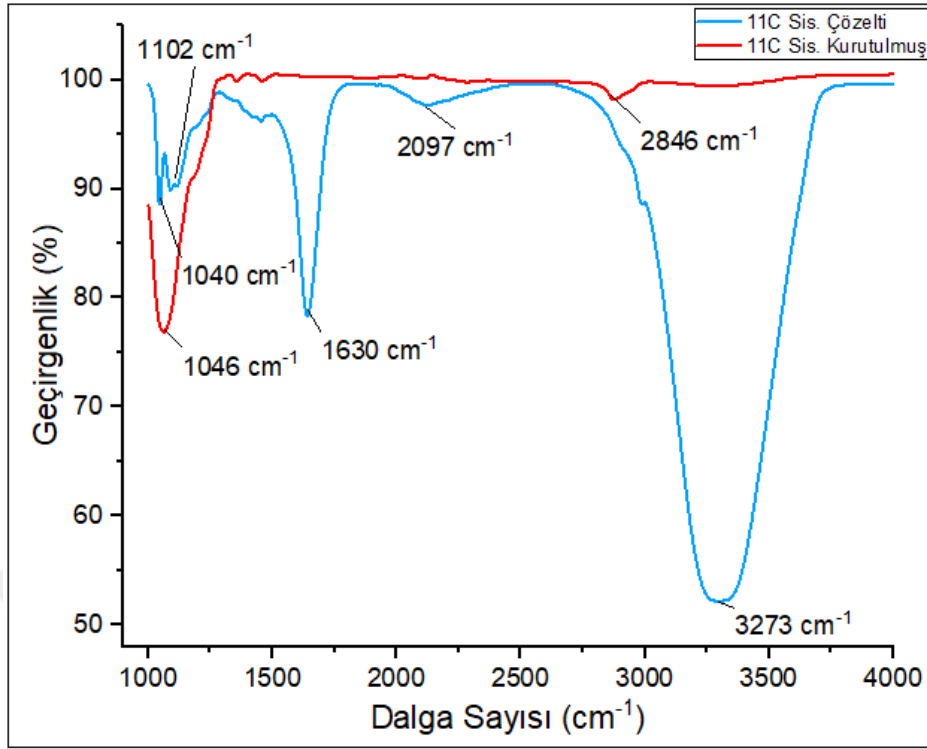


Şekil 4.4. 7B sisteminin başlangıçta, 1h, 3h ve 5h sonra çekilen FT-IR spektrumu (2000-4000 cm^{-1})

TEOS'un hidroliz reaksiyonuyla oluşan tetrahidroksi silan yapısı, kondenzasyon reaksiyonuyla birlikte silikayı meydana getirir. TEOS hidrolizi, 1091 cm^{-1} (Si-O asimetrik gerilmesi) bandındaki pik şiddetinin reaksiyon süresi boyunca azalması ile anlaşılmaktadır. Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'de görülen FT-IR spektrumları genel olarak incelendiğinde, reaksiyon süresinin artırılmasıyla 1047 cm^{-1} 'deki Si-O-Si pik şiddetinde bir artış gözlenmektedir. Ayrıca piklerin yeri değişmeyip, yalnızca pik şiddetlerinde farklılıklar olduğu görülmektedir. 1164 cm^{-1} 'deki pik Tween 85 yapısında bulunan C-O asimetrik gerilmesinden, 1392 cm^{-1} 'deki pik simetrik C-H eğilmesinden, 2885 cm^{-1} 'deki pik $-\text{CH}_2$ 'ye ait asimetrik C-H gerilmesinden, 2972 cm^{-1} 'deki pik $-\text{CH}_3$ 'e ait asimetrik C-H gerilmesinden kaynaklanmaktadır. 1635 cm^{-1} 'deki pik Tween 85 yapısında bulunan karbonil grubuna ait C=O asimetrik gerilmesinden ve ortamda bulunan $-\text{NH}_3$ katalizörüne ait N-H eğilmesinden, 3290 cm^{-1} 'deki pik ise H_2O 'daki $-\text{OH}$ asimetrik gerilmelerinden kaynaklı olarak görüldüğü düşünülmektedir.



Şekil 4.5. Çözelti formundaki ve kurutulmuş 7B sistemine ait FT-IR spektrumları



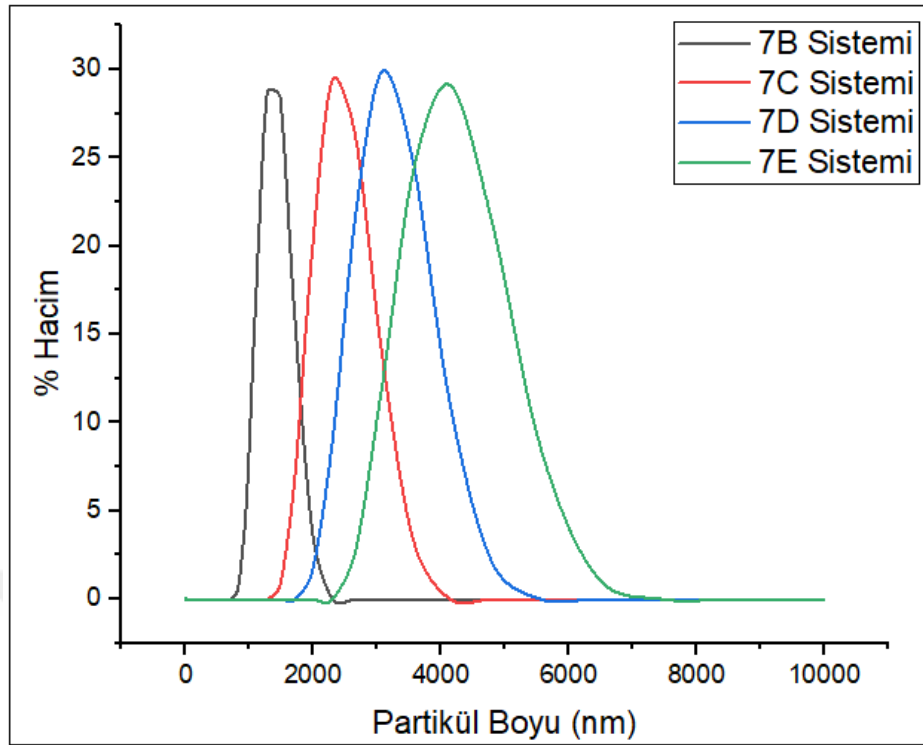
Şekil 4.6. Çözelti formundaki ve kurutulmuş 11C sistemine ait FT-IR spektrumları

Yukarıda ideal sistemlerden olan 7B ve 11C sistemlerinin hem çözelti halindeki hemde kurutulduktan sonraki spektrumları alınarak karşılaştırmalar yapılmıştır. Her iki spektrumda da, $\sim 1030\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$ arasındaki Si-O-Si pik şiddetleri görülmektedir.

4.2. Partikül Boyutu Ve Dağılımının Belirlenmesi

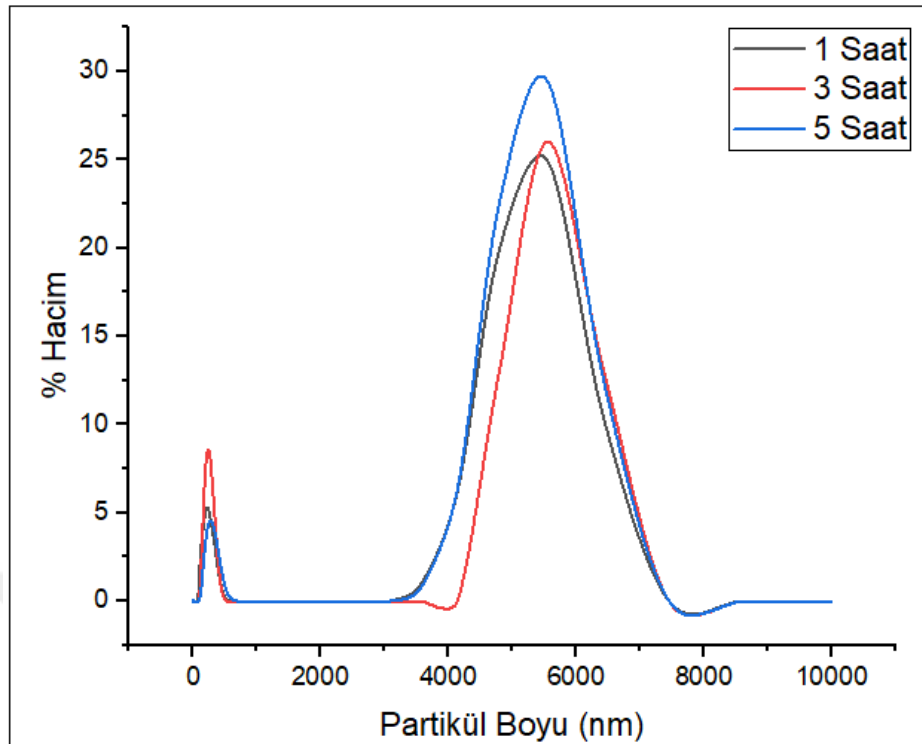
Parçacıkların hidrodinamik çapları DLS ölçümleri ve optik mikroskop görüntüleri ile belirlenmiştir. Silika ile kapsülasyonun yapıldığı mikrokabarcık partiküllerinin hacimsel dağılımını gösteren Şekil 4.7’ de, %10 oranında T85 bulunmakta olup, C5 ve TEOS kendi aralarında %45-%55 oranlarında tutulmuştur. SiO₂ miktarının %1.5 olduğu bu dört sistem üzerinde katalizör olarak kullanılan 4M’lık NH₃’ün miktar denemeleri yapılmıştır.

NH₃ katalizli mikrokabarcık sentezi sonrasında partikül boyut değişimi incelendiği zaman katalizör miktarı azaltıldıkça tane boyutunun büyüdüğü görülmektedir. 7B sisteminde 3.816 g NH₃, 7C’de 7B’nin 3’te 2’si kadar NH₃, 7D’de 7B’nin yarısı kadar NH₃ ve 7E’de 7B’nin 3’te 1’i kadar NH₃ bulunmaktadır. Tanecik boyutları sırasıyla, 1,281 μm , 2,305 μm , 3,091 μm ve 4,145 μm ’dir. Beyaz renkte homojen bir biçimde dağılmış halde görünen bu dört sistem, sabit bir yerde 15 gün boyunca bekletildiğinde herhangi bir çökme, jelleşme durumu gözlenmemiştir.



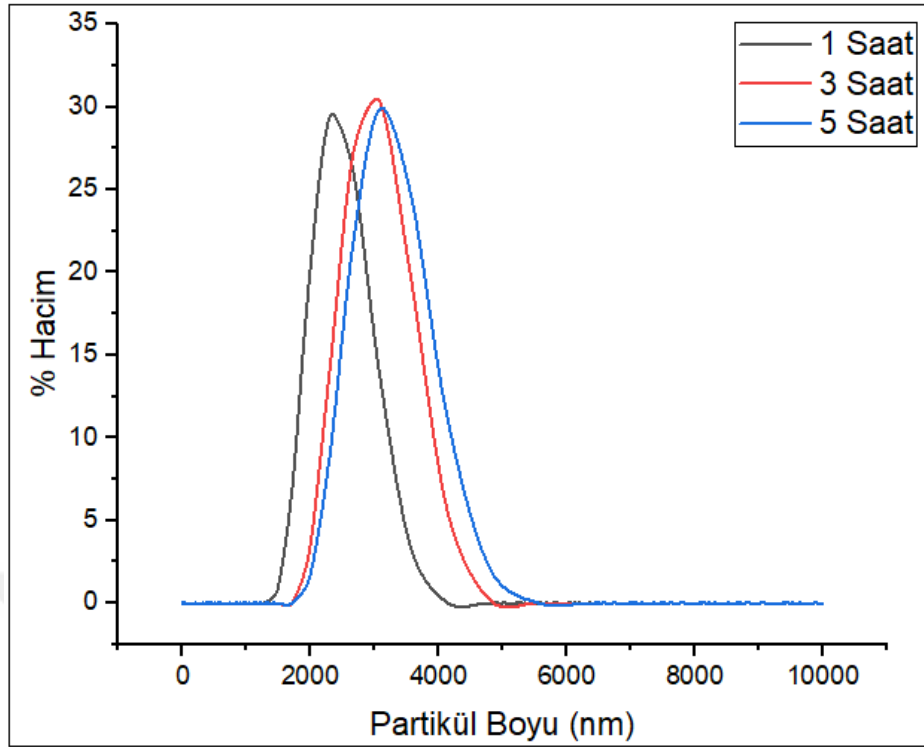
Şekil 4.7. 7B, 7C, 7D ve 7E sistemlerinin hacimce partikül boyutu dağılımı

11B sisteminde C_3F_8 ve TEOS miktarları kendi aralarında yüzde %45-%55 oranlarında sabit tutulmuş olup Capstone-30'un sistem içerisinde %20 oranında bulunduğu bir çözelti hazırlanmıştır. NH_3 katalizli mikrokabarcık sentezinin partikül boyut değişimi 1. saat, 3. saat ve 5. saat sonunda % hacim miktarlarına göre incelendiğinde, zamanla nano boyuttaki tanecik miktarının azalıp mikro boyuta ulaştığı görülmektedir. 1. saat, 3. saat ve 5. saatlerdeki tanecik boyutu sırasıyla, %5,3'ü 164,2 nm; % 24,9'u 5,554 μm , %8,5'u 255 nm; %26'sı 5,560 μm ve %4,5'u 295,3 nm; %29,4'ü 5,556 μm şeklindedir.



Şekil 4.8. 11B sisteminin 1. 3. ve 5. saat sonunda ölçülen hacimce partikül boyutu dağılımı

11B sisteminde C_3F_8 gazının oranı %50 oranında artırılarak 11C sistemi elde edilmiştir. Şekil 4.9’da gösterilen bu sistemin partikül boyut değişimi 1. saat, 3. saat ve 5. saat sonunda % hacim miktarlarına göre incelendiğinde, zamanla çok az miktarda büyüdüğü görülmektedir. 1. saat, 3. saat ve 5. saatlerdeki tanecik boyutu sırasıyla, %29,4’ü 2,305 μm , %30,3’ü 3,091 μm ve %29,9’u 3,095 μm şeklindedir. Perfloropropan gazı ile hazırlanan en ideal sistem olan 11C sisteminin çözeltisi 15 gün boyunca sabit bir yerde bekletildiğinde, çözeltide herhangi bir çökme veya kalıntı gözlenmemiştir.



Şekil 4.9. 11C sisteminin 1. 3. ve 5. saat sonunda ölçülen hacimce partikül boyutu dağılımı

4.3. Zeta Potansiyelleri

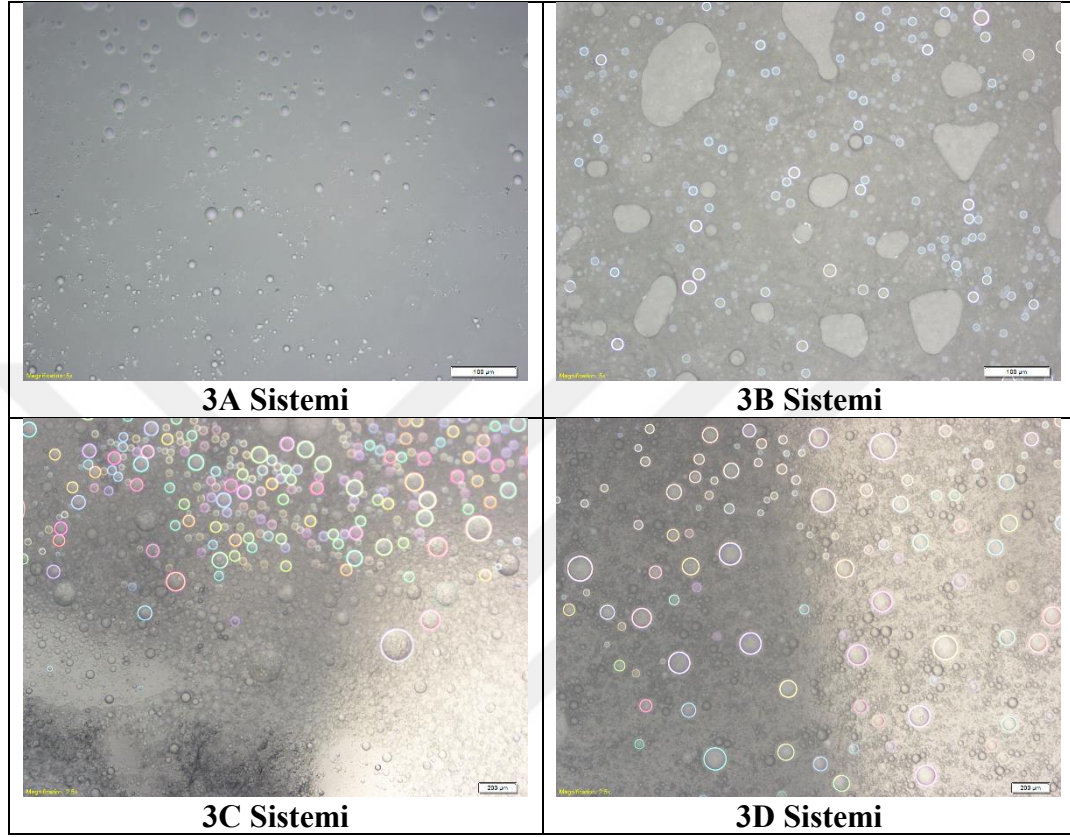
Zeta potansiyeli, bir çözeltideki potansiyel stabilitenin bir göstergesi olup partiküllerin belirli bir ortamda sahip olduğu toplam yükü ifade etmektedir. İdeal sistemler olarak belirlenen 7B, 7C, 7D, 7E, 11B ve 11C sistemleri negatif zeta potansiyel değerlerine sahiptir. -30 mV'dan daha negatif olan partiküllerin stabilitesi normal kabul edilmektedir. Dolayısıyla 7B, 7C ve 11C sistemleri zeta potansiyel değerleri göz önünde bulundurulduğunda diğer sistemlere göre daha stabildir.

Çizelge 4.1. İdeal sistemlere ait zeta potansiyel değerleri

SİSTEM	ZETA POTANSİYELİ (mV)	PARTİKÜL BOYUTU (µm)
7B	-39.1	1.3
7C	-35.8	2.5
7D	-30.9	3.4
7E	-29.7	4.5
11B	-21.2	5.6
11C	-41.9	3.2

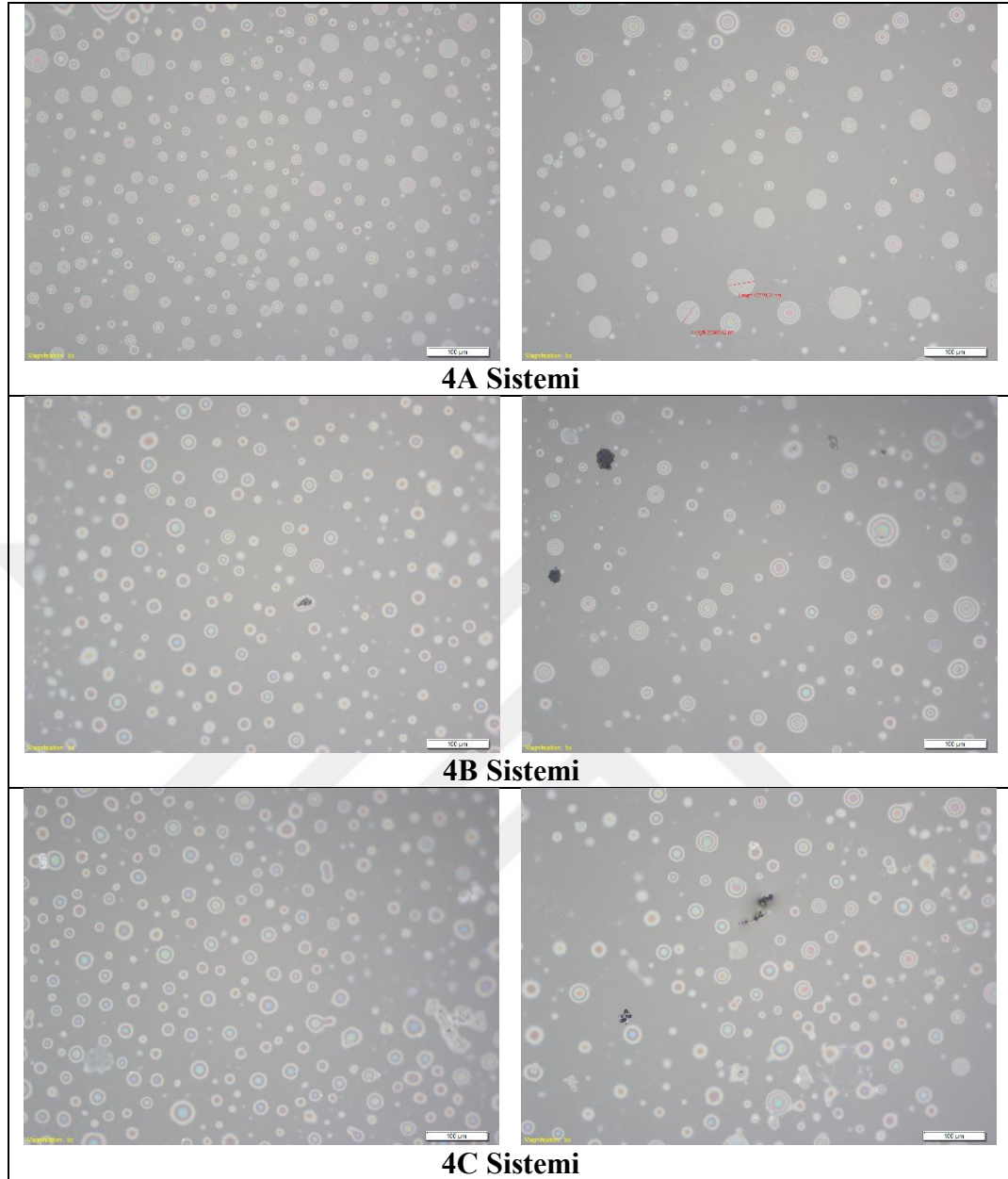
4.4. Optik Mikroskop Ölçümleri

DLS ölçümleriyle elde edilen çözelti fazında mikro kabarcık yapısının varlığını kanıtlayabilmek için sıvı formda bulunan kapsüllenmiş mikrokabarcık çözeltilerinden cam yüzey üzerine damlatılarak optik mikroskop görüntüleri alınmıştır.



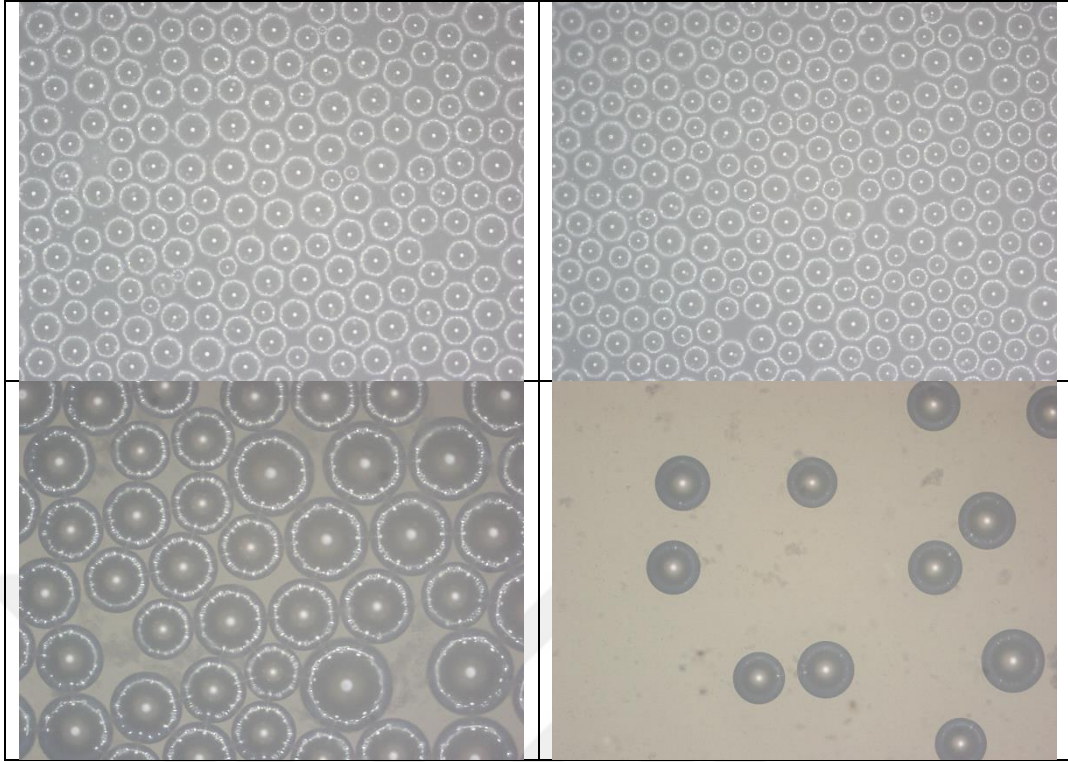
Şekil 4.10. Yüzdece %16,95 n-pentan/%16,95 SiO₂ içeren 3A sisteminin, yüzdece %19,11 n-pentan/%19,07 SiO₂ içeren 3B sisteminin, yüzdece %30 n-pentan/%30 SiO₂ içeren 3C sisteminin ve yüzdece %23 n-pentan/%46.77 SiO₂ içeren 3D sisteminin optik mikroskop görüntüsü

Şekil 4.10'da n-pentan ve SiO₂ miktarlarının kendi aralarında yaklaşık %50-%50 ve iki katı olacak şekilde hesaplandığı oranlar ile oluşturulan sistemlerin optik mikroskop görüntüleri gösterilmektedir. Bu sistemlerde sürfaktan olarak T85, sorbitol ve soya yağı karışımı kullanılmıştır. Kırılma indisi farkı sebebiyle çekirdekteki n-pentanın etrafındaki silika kapsülleri renkli şekilde bulunmakta ve 3 ± 2 μm çapa sahiptir. Mikrokabarcıklar optik mikroskop altında görüntü alınırken saniyeler içerisinde patlamaktadır. Gazların ultrason ajanı olarak kullanılabilmesi için Q katsayısının 5'ten büyük olması gerekmektedir. n-pentan sıvılaştırılmış gazının Q değeri literatürde 21-80 aralığında gösterilmekte olup yaklaşık yarım saat boyunca dayanım göstermesi beklenilmektedir. Dolayısıyla daha fazla silika katmanına sahip, kararlı sistemler elde etmek amacıyla denemelere devam edilmiştir.

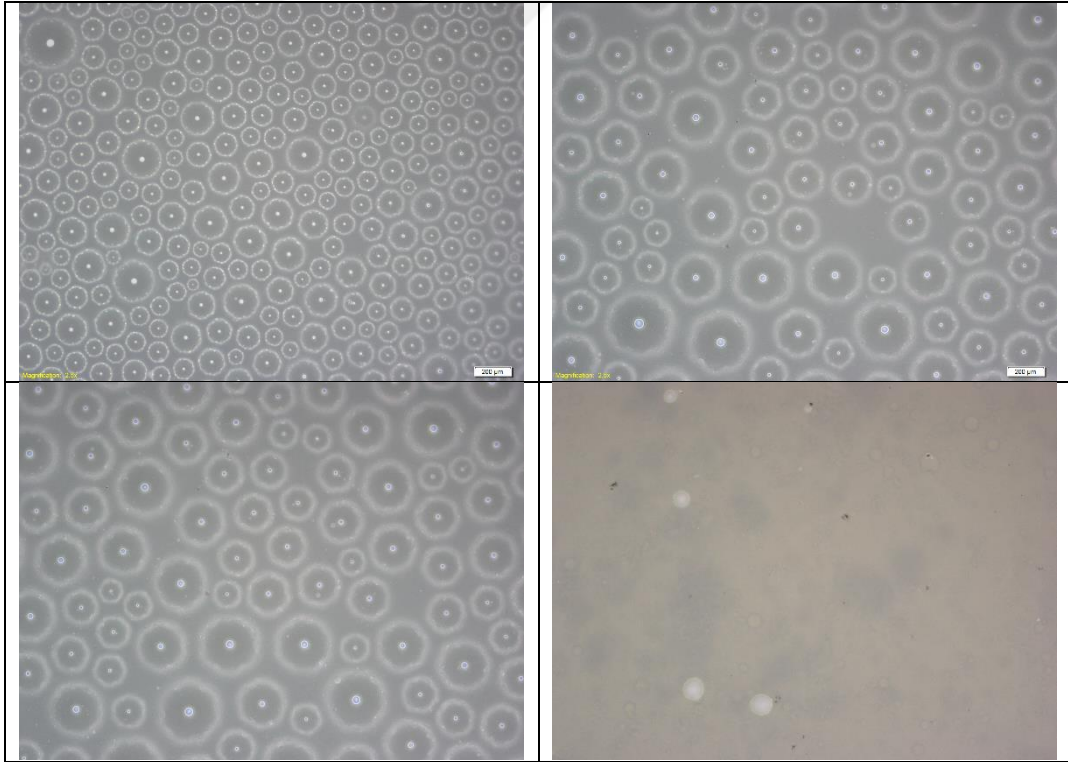


Şekil 4.11. %1 (a/a)'lık T85 sulu çözeltisinin sırasıyla %12, %9 ve %7 oranlarında bulunduğu 4A, 4B ve 4C sistemlerinin optik mikroskop görüntüsü

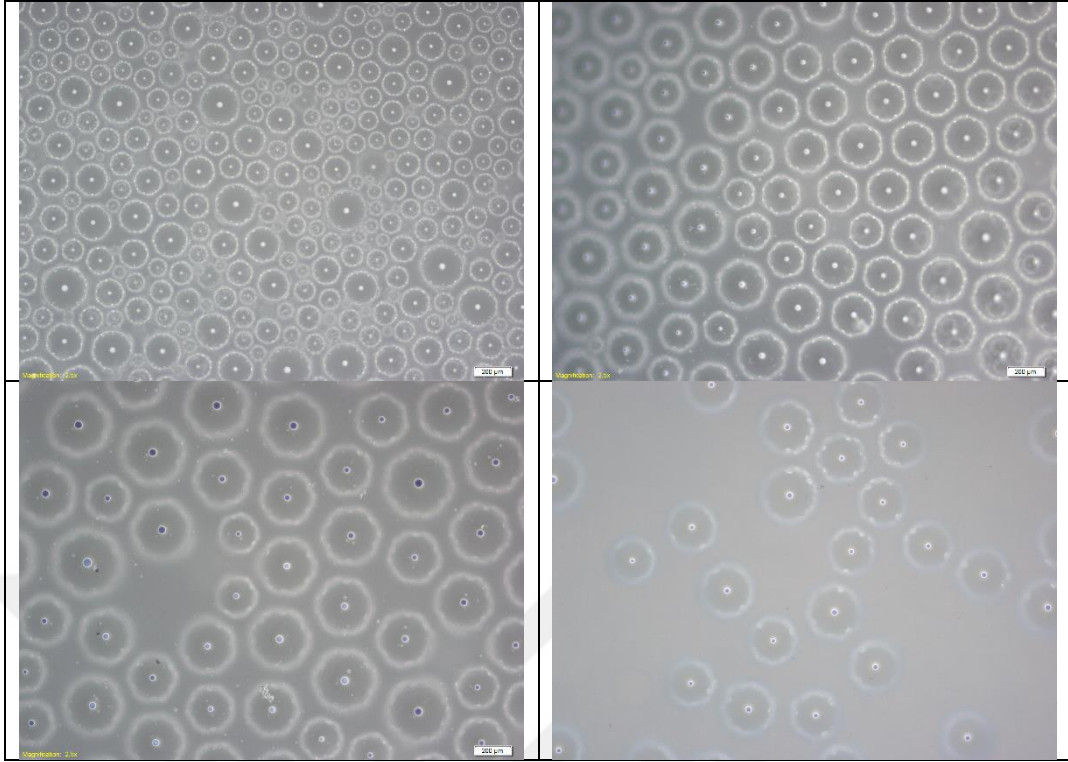
%1 (a/a)'lık T85 sulu çözeltisi kullanılarak miktar denemeleri yapılan 4A, 4B ve 4C sistemlerinin optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde, yaklaşık olarak 3 μm boyutlarına sahip mikrokabarcıkların olduğu görülmektedir. Kırılma indisi farkı sebebiyle n-pentan çekirdeğinin etrafındaki silika katmanları farklı renklerde gözükmemektedir. Sürfaktan oranının az geldiği düşünülen bu sistemler hava ile etkileştiği anda saniyeler içerisinde patlamaktadır. Dolayısıyla bu sistemlerin stabilitesi oldukça düşük olup kontrast artırıcı ajan olarak kullanılabilmesi uygun değildir. Daha kararlı ve yüksek stabiliteye sahip sistemleri elde edebilmek için denemelere devam edilmiştir.



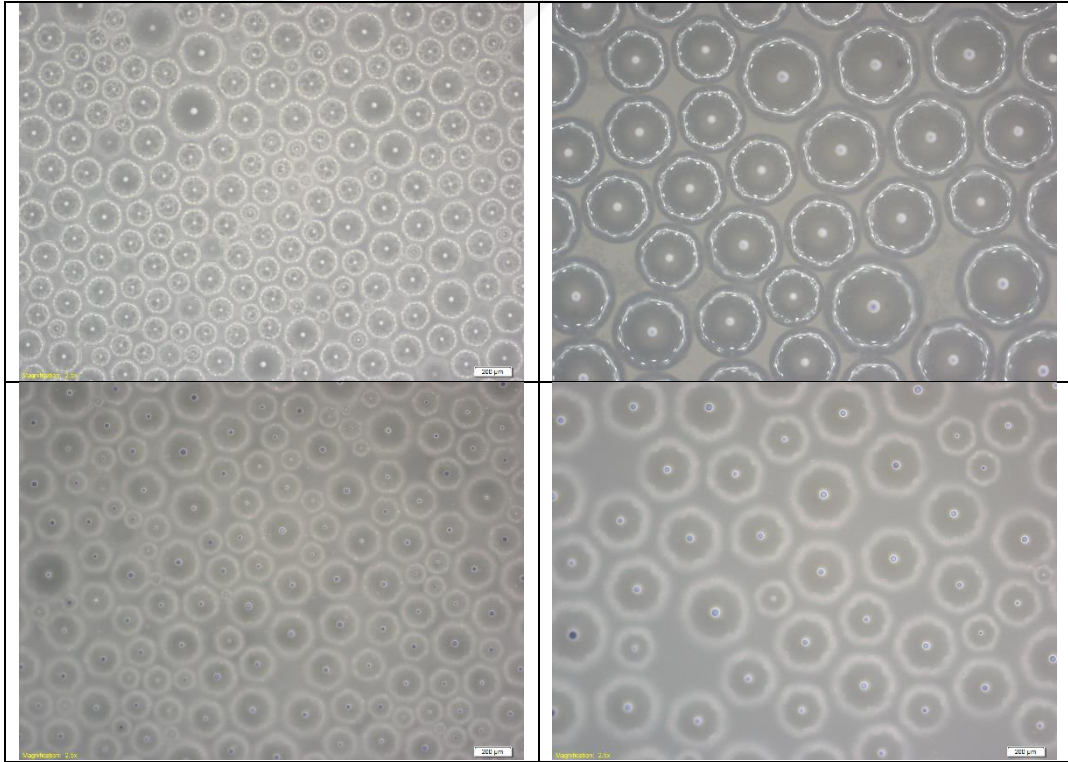
Şekil 4.12. T85'in çözelti içerisinde %7 oranında bulunduğu 5A sistemine ait farklı büyütmelerde çekilen optik mikroskop görüntüleri



Şekil 4.13. T85'in çözelti içerisinde %10 oranında bulunduğu 5B sistemine ait farklı büyütmelerde çekilen optik mikroskop görüntüleri



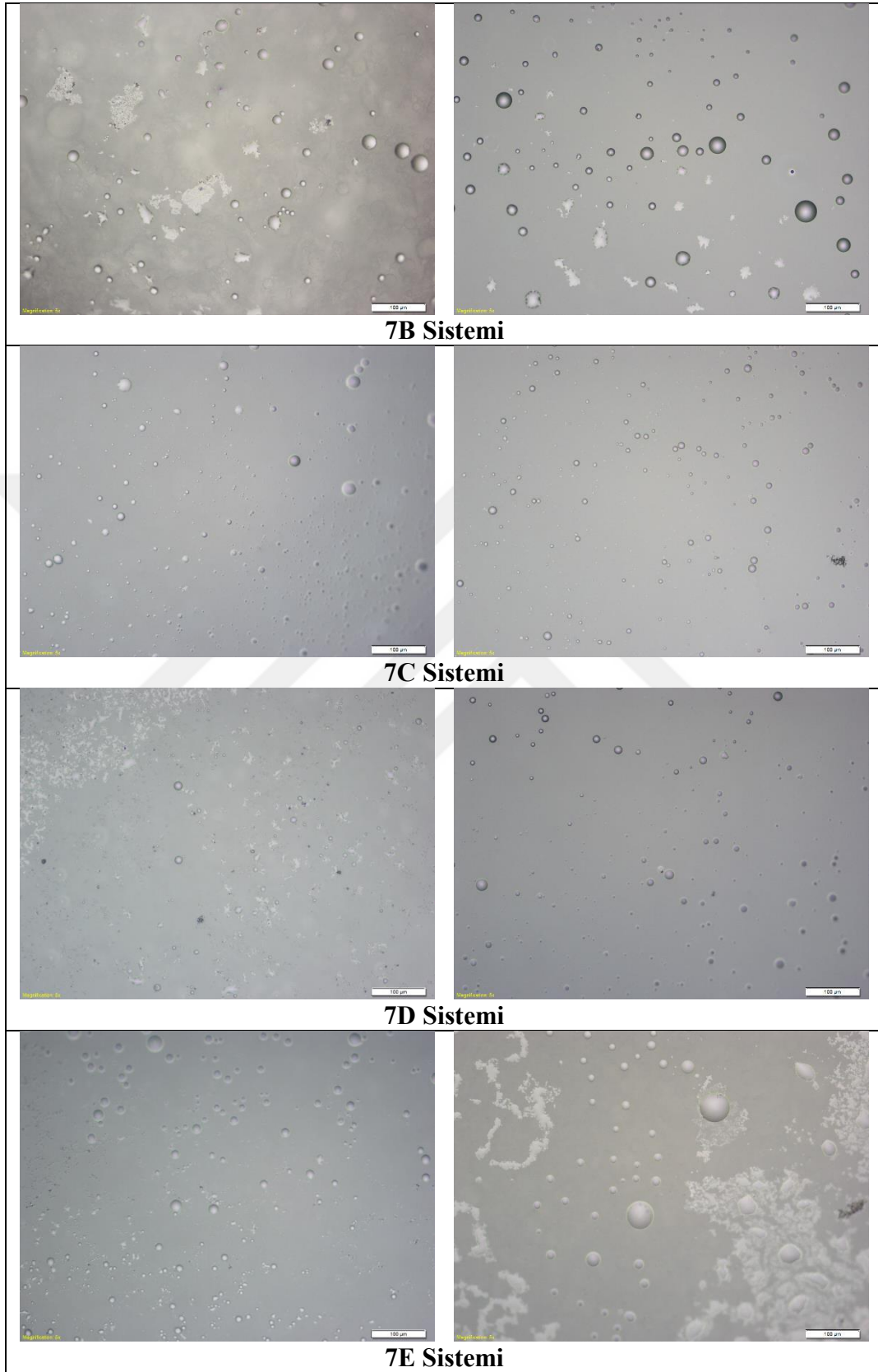
Şekil 4.14. T85'in çözelti içerisinde %15 oranında bulunduğu 5C sistemine ait farklı büyütmelerde çekilen optik mikroskop görüntüleri



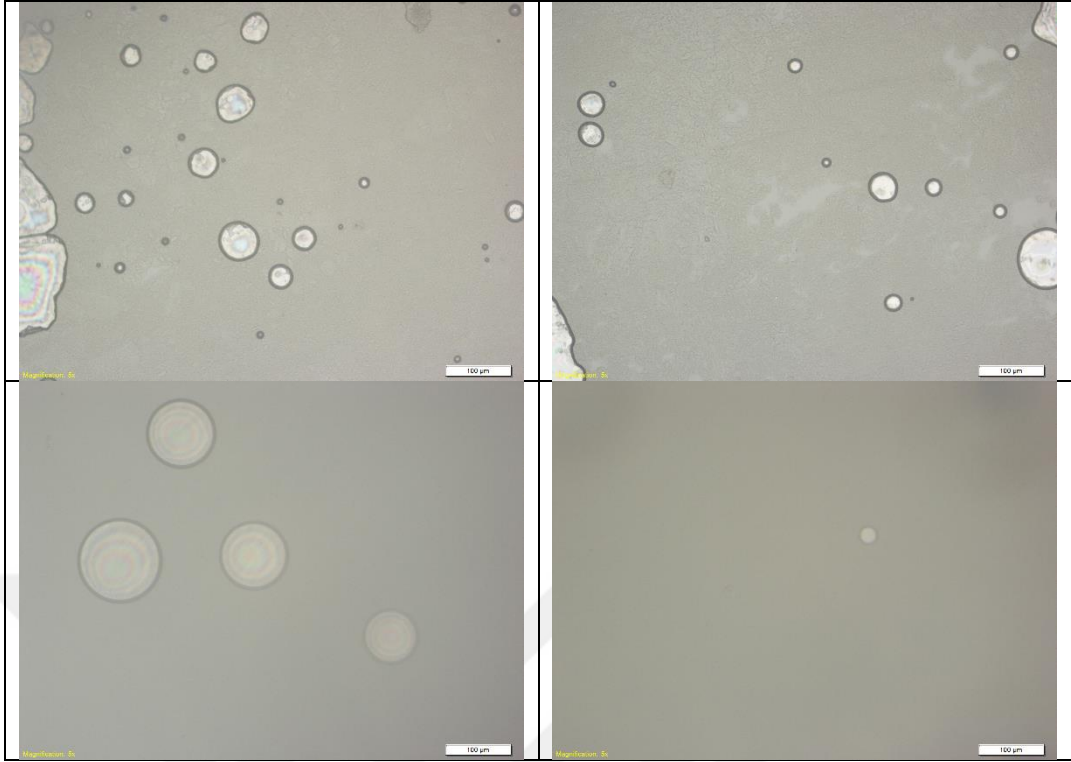
Şekil 4.15. T85'in çözelti içerisinde %20 oranında bulunduğu 5D sistemine ait farklı büyütmelerde çekilen optik mikroskop görüntüleri

T85 miktar denemesinin yapıldığı 5A, 5B, 5C ve 5D sistemlerinin optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde, kırılma indisi farkı sebebiyle orta kısmı n-pentandan kabuğu ise silikadan oluşan yapıların varlığı gözlemlenebilmektedir. Fakat bu sistemlerde birden fazla mikrokabarcık bir arada toplanarak aglomerasyona sebep olmuştur. Bu sistemlerin zayıf tarafı bir hafta boyunca sabit bir yerde bekletildiklerinde viskozite artışı ile birlikte topaklanarak çözeltinin dibinde gözle görülebilen kalıntılar oluşturmaktadır. En az kalıntının bulunduğu sistem 5B sistemi olup, bu sebeple 5B sistemi üzerinden denemelere devam edilmiştir.

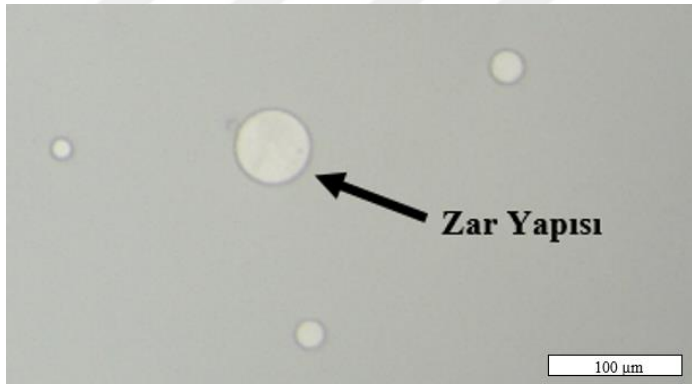
C5 kullanılarak hazırlanan ideal sistemlere ait optik mikroskop görüntüleri Şekil 4.16'da görülmektedir. Bu sistemlerden optik mikroskop görüntüsü alınırken hava ile etkileştiklerinde en az 10 dakikaya kadar dayanım göstererek patlamamışlardır. Hava almayan kapalı plastik bir kap içerisinde muhafaza edildiğinde ölçümlerin devamlılığı sağlanabilmektedir. Çekirdek kısmı n-pentandan, kapsül kısmı silikadan oluşan bu sistemlerde kırılma indisi farkı sebebiyle çeperler yeşil renktedir. 7B sisteminin partikül çapı 1-3 μm arasında olup homojen bir dağılım sağlamıştır. 7C ve 7D sistemlerinde partikül boyutu biraz daha küçük olup 1500 ± 500 nm aralığındadır. 7B sistemine göre hava etkileşimine karşı dayanımları biraz daha düşüktür. 7E sisteminde ise 3 μm 'den 6 μm 'ye kadar farklı boyutlarda mikrokabarcıklar bulunmaktadır.



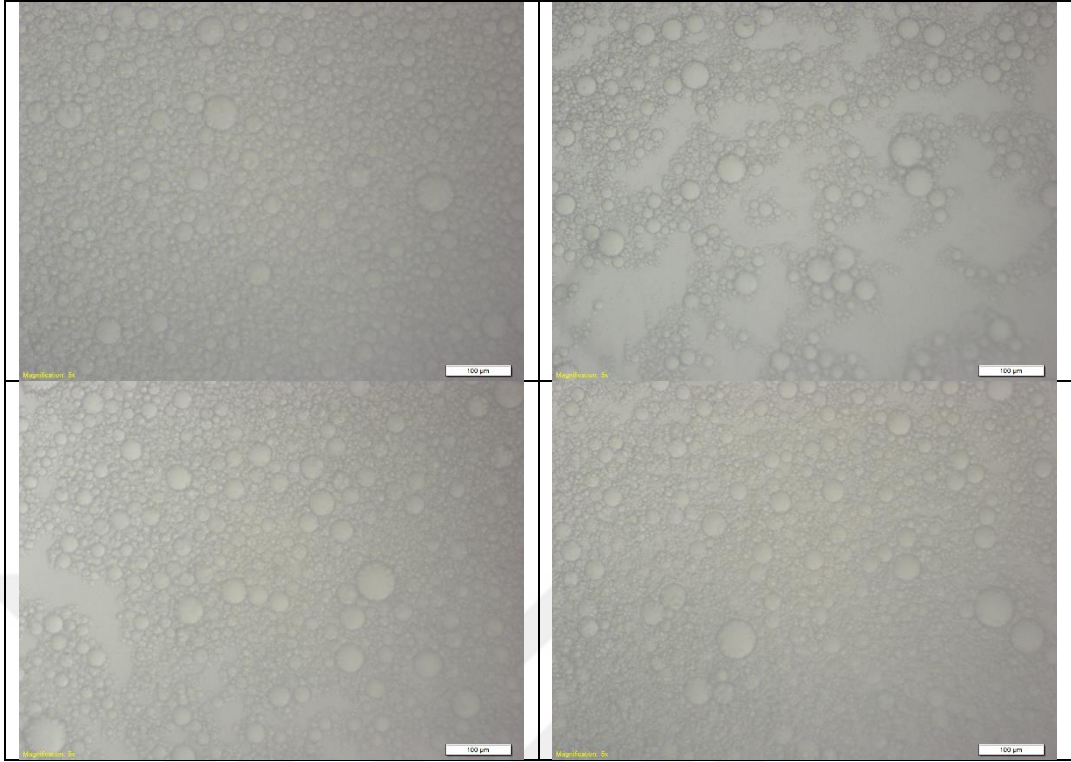
Şekil 4.16. T85 ve C5 kullanılarak hazırlanan 7B, 7C, 7D ve 7E ideal sistemlerinin optik mikroskop görüntüsü



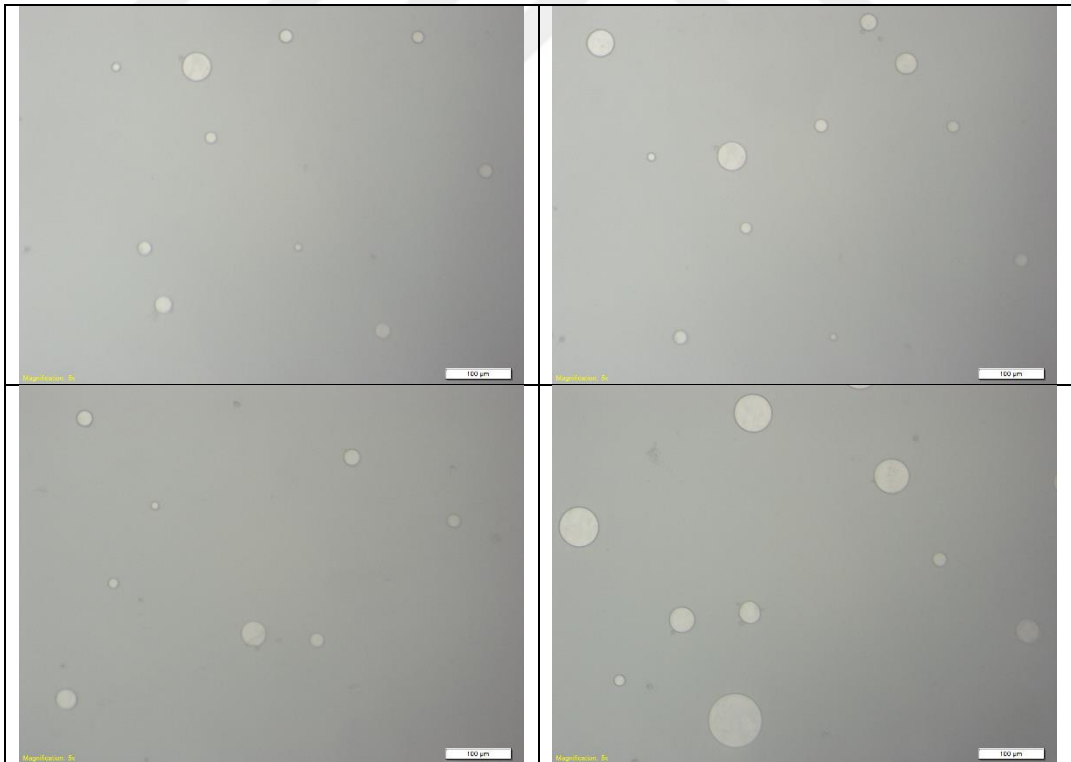
Şekil 4.17. 1 cc C_3F_8 gazı içeren 11B sisteminin optik mikroskop görüntüsü (1cc=1ml)



Şekil 4.18. 11C sistemine ait zar yapısının odaklanmış optik mikroskop görüntüsü



Şekil 4.19. 1.5 cc C₃F₈ gazı içeren 11C sisteminin optik mikroskop görüntüsü



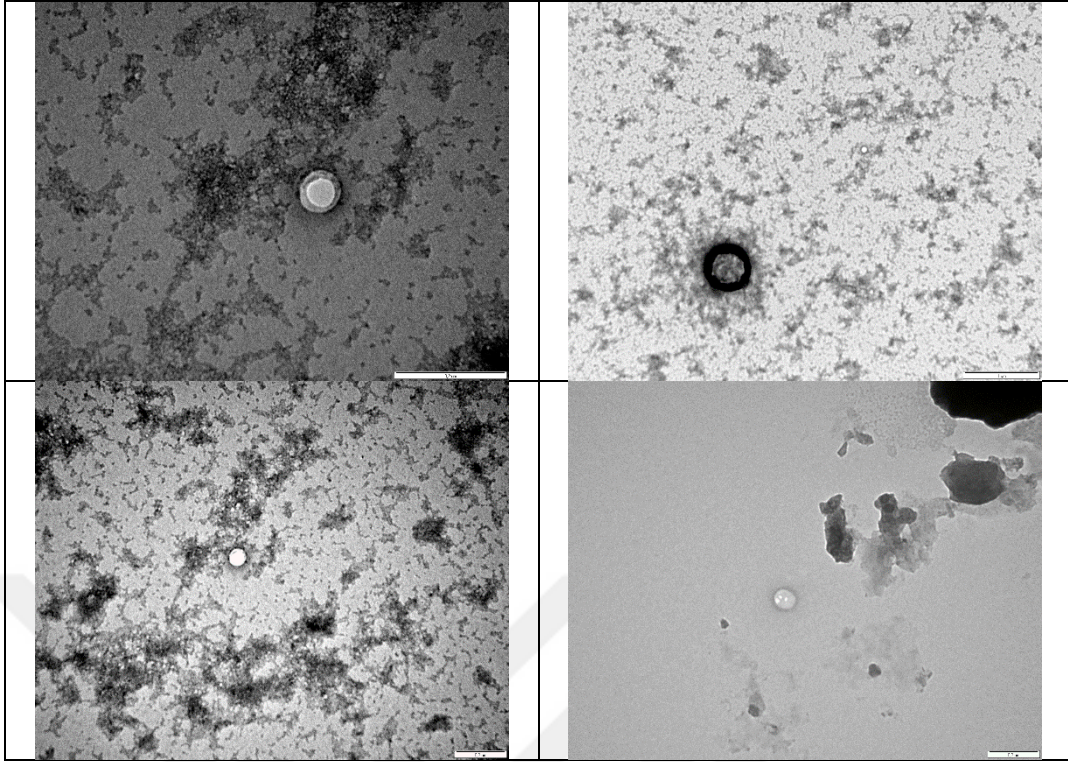
Şekil 4.20. 1.5 cc C₃F₈ gazı içeren 11C sisteminin 5 saat sonra çekilen optik mikroskop görüntüsü

Literatürde Q değeri 1001-10.000 arasında olan ve yüksek stabilite sağladığı bilinen C_3F_8 gazı kullanılarak hazırlanan 11B ve 11C ideal sistemlerine ait optik mikroskop görüntüleri yukarıdaki şekillerde görülmektedir. Şekil 4.17'deki 11B sistemine ait optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde 1000 ± 500 nm boyutlarındaki küresel yapıların yanı sıra küresel olmayan daha büyük boyutlarda 5000 ± 500 nm agregatların da olduğu görülmektedir. Bu da DLS ölçümleriyle belirlenen hidrodinamik çapların neden daha büyük boyutlarda çıktığını gösteren bir açıklamadır. Homojen olmayan bu mikrokabarcıkların hava ile etkileştikten 10 dakika sonra çeperlerden bozulmalar başlamaktadır.

Şekil 4.19'deki 11C sistemine ait optik mikroskop görüntüsü incelendiğinde ise mikrokabarcıkların daha homojen boyutlarda bulunduğu görülmektedir. Çapları 1-4 μm boyutlarına sahip bu kabarcıklar hava ile etkileştikten 15 dakika sonrasına kadar patlamamaktadır. 5 saat sonra alınan görüntülerde çeperleri oldukça net bir şekilde görünen kabarcıkların boyutları ± 2 μm büyümüş olup başka bir değişiklik gözlenmemiştir. Perfloropropan gazı ile çalışılan en iyi sistem olan 11C sisteminin daha fazla geliştirilerek Tıp alanında ultrasonik görüntüleme için kontrastı artıran ajan olarak kullanılabilmesi hususunda ışık sağlayacağı düşünülmektedir.

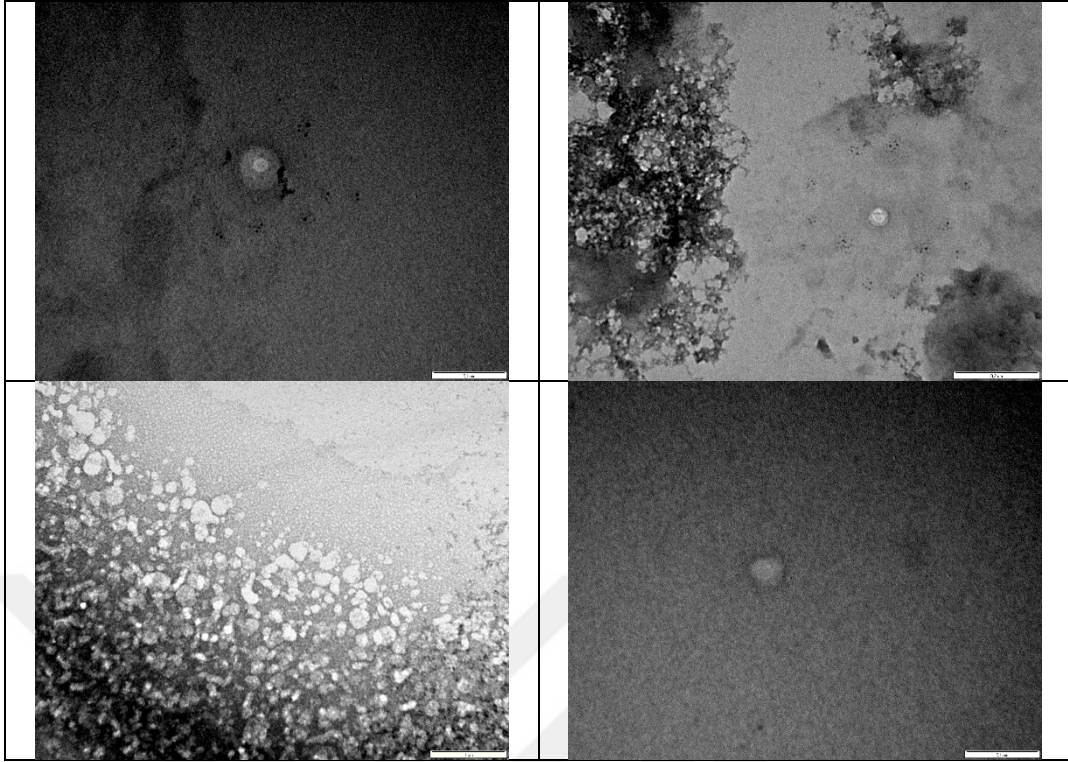
4.5. TEM Analizi

Silika ile kapsüllenmiş mikrokabarcık oluşumunu daha ayrıntılı bir şekilde çalışabilmek için, C_5 ve C_3F_8 gazının kullanıldığı en ideal sistemler seçilmiş olup, TEM analizi ile incelemeler yapılmıştır. Bu seçim, çözeltide herhangi bir seyreltme işlemi yapılmadan $25^\circ C$ sıcaklığında DLS tekniği kullanılarak parçacık boyutu ölçümlerinin alınmasıyla sağlanmıştır. 7B, 7C, 7D, 7E ve 11C ideal sistemlerine ait parçacık boyutu değerleri Şekil 4.7. ve Şekil 4.9.'da verilmiştir. DLS ölçüm sonuçları TEM sonuçlarıyla karşılaştırıldığında TEM sonuçlarından elde edilen parçacık boyutları DLS sonuçlarına kıyala daha küçük (100 ± 40 nm) boyutlardadır. Bunun nedeni, çözelti fazındayken iyi tanımlanmış, kararlı halde olan mikrokabarcık yapılarının, TEM ölçümü için gridlere damlatılarak kurutulması sonucunda, dehidrasyonla küçülüp büzülmesi, patlaması ve/veya dağılması sonucuna dayanmaktadır.



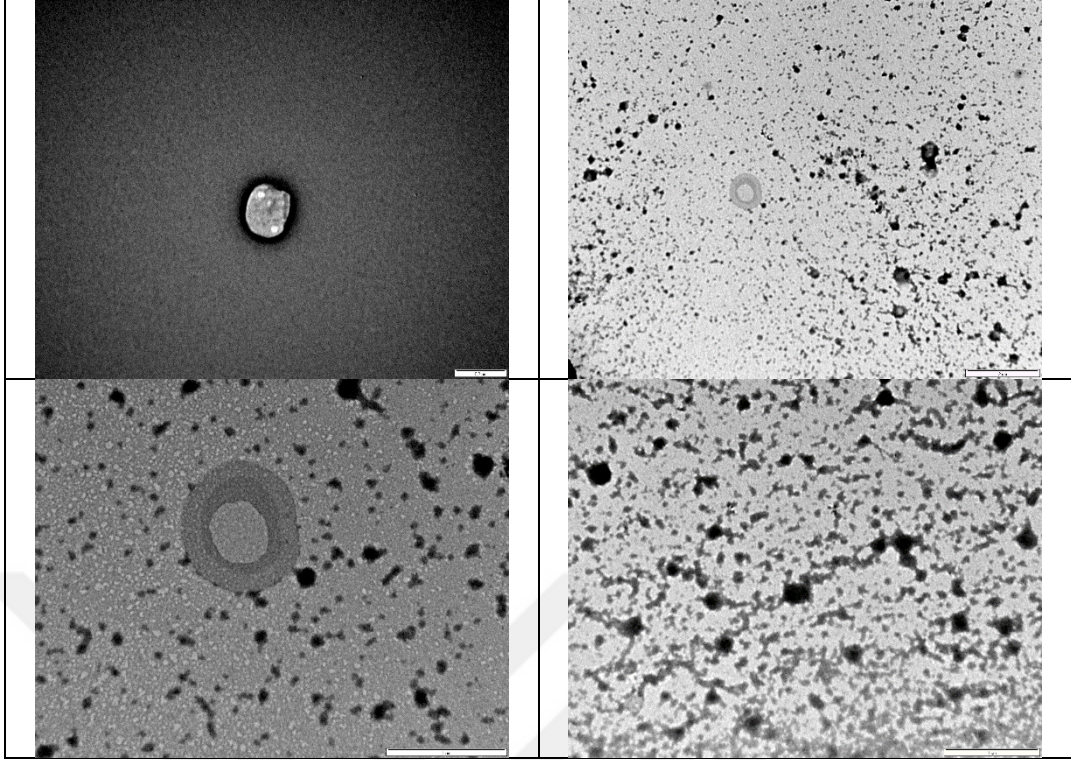
Şekil 4.21. 7B sisteminin farklı büyütmelerde çekilen TEM görüntüleri

7B, 7C, 7D ve 7E sistemleri arasında çözelti içerisinde amonyak miktarının en fazla oranda bulunduğu sistem 7B sistemidir. Bu çözeltilerin pH değerleri sırasıyla 11,65, 11,23, 10,89 ve 10,43'tür. Asidik pH değerlerinde yapılan 29, 30, 31 ve 32 numaralı denemeler sonucunda çözeltilerin viskozite değerleri oldukça hızlı bir şekilde artarak jelleştiği gözlenmiştir. Bazik pH değerlerindeki bu sistemlerde ise 15 gün sonrasında bile çökme, kalıntı ve jelleşme durumu gözlenmemiş olup oldukça kararlı halde bulunmaktadır. 7B sisteminin TEM görüntüsüne bakıldığında orta kısmı n-pentan'dan dış kapsülü ise SiO₂'ten oluştuğu düşünülen yuvarlak yapıda mikrokabarcıklar ve birbiriyle aglomere olmuş yapılar görülmektedir. Yapılan TEM analizi esnasında net görüntüler elde edebilmek için farklı oranlarda büyütme ölçütleri kullanılmıştır. Bu parçacıkların boyutu yaklaşık olarak 70 nm civarında olup, küçük kapsüllerin yanısıra daha büyük kapsüllerin oluştuğuda görülmüştür. Çözelti grid üzerinde kurutulduğu için havayla etkileştikçe mikrokabarcık yapılarında patlamalar ve bozulmalar gerçekleşmiştir.

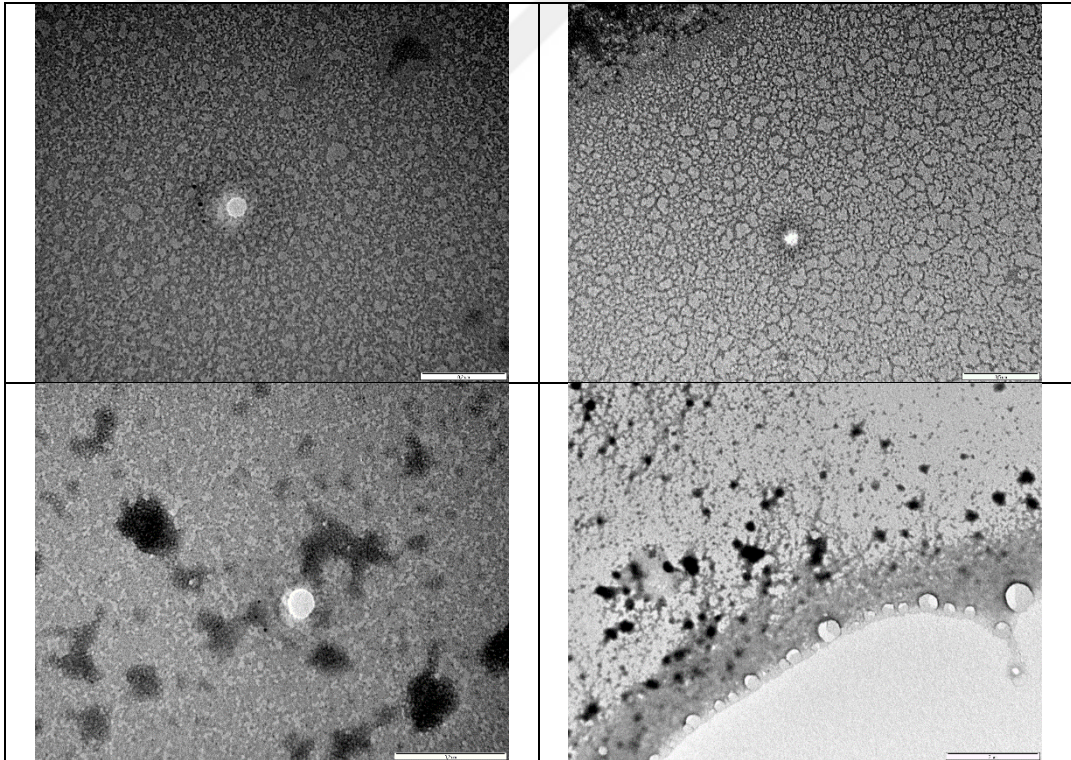


Şekil 4.22. 7C sisteminin farklı büyütmelerde çekilen TEM görüntüleri

Şekil 4.22’de 7C sisteminin TEM görüntüleri incelendiğinde aynı şekilde aglomerasyonların ve patlamaların olduğu açıkça görülmektedir. Bu nedenle mikrokabarcığın morfolojisi TEM ile net bir biçimde görüntülenememiştir. Gridin daha az yoğun olduğu kutucuklarından alınan görüntüler incelendiğinde yaklaşık olarak 50 nm boyutlarında parçacıkların olduğu gözlenmiştir.



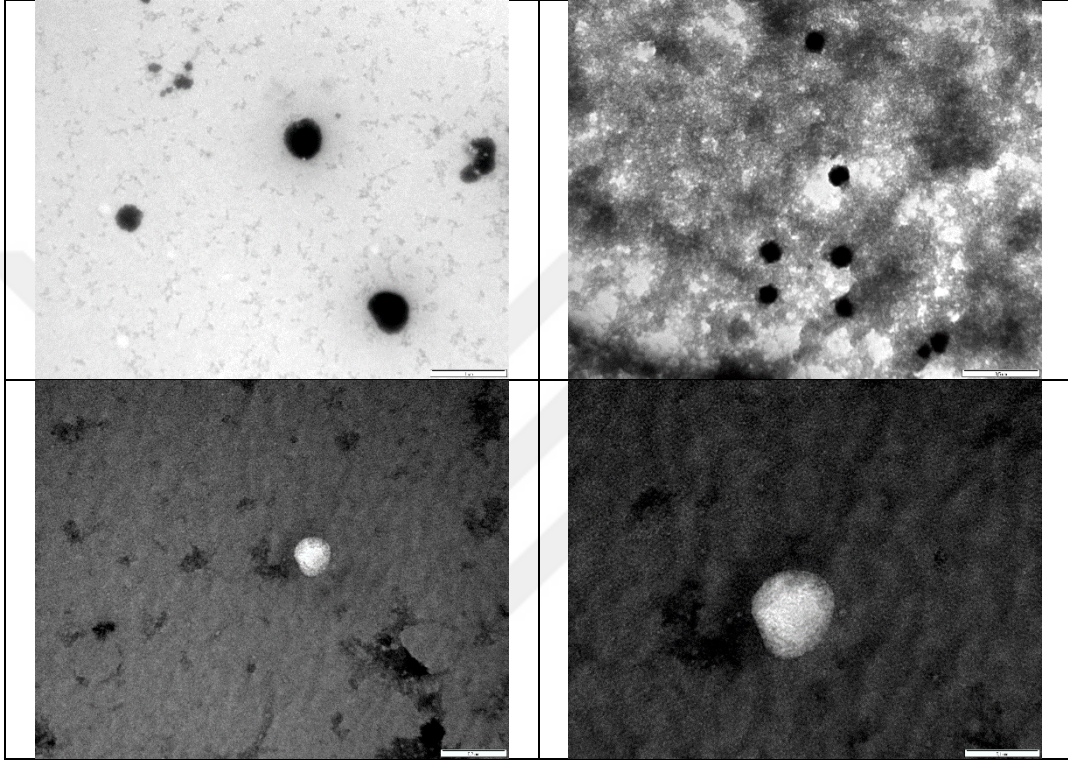
Şekil 4.23. 7D sisteminin farklı büyütme ölçeklerinde çekilen TEM görüntüleri



Şekil 4.24. 7E sisteminin farklı büyütme ölçeklerinde çekilen TEM görüntüleri

Şekil 4.23’de 7D sistemine ait kapsüller daha net bir biçimde gözlemlenebilmiştir. Farklı büyütme ölçütlerinde bakıldığında katmanların iki, üç katmanlı olduğu görülmüştür. Bu da yapıya sağlamlık katmaktadır. Parçacıkların boyutunun yaklaşık olarak 70 ± 20 nm değerinde olduğu anlaşılmaktadır.

Şekil 4.24’de 7E sisteminin TEM görüntüleri incelendiğinde ise patlayan mikrokabarcık boyutlarının daha homojen bir biçimde olduğu ve yaklaşık olarak 60 nm boyutlarına sahip misel oluşumlarının varlığını gösterdiği görülmektedir.



Şekil 4.25. 11C sisteminin farklı büyütmelerde çekilen TEM görüntüleri

Şekil 4.25’de perfloropropan gazı ile hazırlanan 11C sisteminin TEM görüntüleri görülmektedir. Çözeltide seyreltme işlemi emülsiyon sisteminin yapısını bozduğu için yapılamamaktadır. Dolayısıyla gridler üzerinde aglomere olmuş partikül yoğunluğu bulunduğu için, gridin daha serbest olduğu bölgelerden farklı büyütme yapılarak mikrokabarcıkların yapıları görüntülenmiştir. Grid üzerine damlatılan çözelti belirli bir süre kurumaması için bekletildiğinde hava ile etkileşim sonucu patlamalar olup çekirdek ve kapsüller net bir biçimde görüntülenememiştir. Partikül boyutu yaklaşık olarak 70 nm olarak gözlenmiştir.

5. SONUÇLAR

Bu tez kapsamında mikrokabarcıkların ultrason kontrast artırıcı madde ve hedefe ilaç salınımı gibi tıp alanındaki biyomedikal uygulamalara katkı sağlaması amacıyla, n-pentan ve perfloropropan sıvılaştırılmış gazları kullanılarak deneyler yapılmış olup farklı boyut, yapı ve stabilitelerde sentez işlemleri gerçekleştirilmiştir. Mikrokabarcıkların kan veya birçok sulu intravenöz çözelti içerisinde hızlı çözünmesi sebebiyle görüntüleme işlemi sağlanamadığı için dayanımlarının artırılması yönünde çalışmalar yapılmıştır. Bir gazın Q katsayısı ne kadar yüksek olursa gazın ultrason ajanı olarak kullanılması o kadar mümkün olur. Gazın molar hacmi, yoğunluğu ve çözünürlüğü bilindiği zaman, bu yöntemle Q katsayısı değerinin hesaplanması mümkündür. Q katsayısı 5'den az ise X gazı mikro kabarcıkları, belli bir çözücüde mikro hava kabarcıklarından daha az kararlı olurken, Q katsayısı 5'den büyük olduğu zaman, X gazının oluşturduğu mikro kabarcıklar, mikro hava kabarcıklarına göre daha stabil olur ve çözeltide hava kabarcıklarına kıyasla daha uzun bir süre hayatta kalırlar. Öncelikle bu bilgiler göz önünde bulundurularak, Q değeri 81-20 arasında olan n-pentan ve 1001-10.000 arasında olan, yüksek stabilite sağladığı bilinen C_3F_8 gazı tercih edilmiştir. Çekirdek etrafında inert, sert ve dayanıklı bir kapsül elde edebilmek için inorganik silika ağı sol-jel yöntemiyle oluşturulmuştur.

29, 30, 31 ve 32 numaralı sistemlere ait olan asit katalizli çözeltilerde jelleşme olduğu gözlenmiş olup, pH'ın 10-11 olduğu sistemlerde herhangi bir jelleşme, çökme durumu gözlenmemiştir. NH_3 katalizörü ile sentezlenen 7B, 7C, 7D, 7E, 11B ve 11C ideal mikroemülsiyon sistemleri için gerçekleştirilen DLS ölçümlerinde elde edilen hidrodinamik çaplar sırasıyla 1,281 μm , 2,305 μm , 3,091 μm , 4,145 μm , 5,554 μm ve 3,091 μm 'dir. Bu değerlerden $\pm 3 \mu m$ daha küçük ve daha büyük partiküllerde bulunmaktadır. Ticari olarak kullanılan kardiyovasküler ultrason kontrast ajanındaki mikrokabarcıkların ortalama çap ağırlığı 1.1-3.3 μm , %98'i 10 μm 'den az ve maksimum çapı 20 μm 'dir. Dolayısı ile sentezlenen bu sistemlerin partikül boyutları ticari olarak kullanılan ajanın partikül boyutu değerine yakın sayılmaktadır.

Kapsülasyon işlemi FT-IR spektrumları ile takip edilmiştir. n-Pentan ve perfloropropan gazı, hazırlanan sistemler içerisinden kolayca uçtuğundan ve çözeltilerin konsantrasyonları oldukça seyreltik olduğu için FT-IR spektrumunda herhangi bir pik gözlenememektedir. Kapsüldeki organik çekirdek kısım ile inorganik kabuk arasında herhangi bir reaksiyon gerçekleşmez. TEOS'un hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonunu incelemek üzere belirli saat aralıklarında FT-IR spektrumları çekilmiştir. Deneylerde hidrolizi sağlayacak olan su T85 ve Capstone FS-30 sürfaktanı ile birlikte kullanılmıştır. TEOS hidrolizi, 1091 cm^{-1} bandında yer alan pik şiddetinin reaksiyon süresi boyunca azalması ile anlaşılmaktadır. Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'de görülen FT-IR spektrumları genel olarak incelendiğinde, reaksiyon süresinin artırılmasıyla 1047 cm^{-1} 'deki Si-O-Si pik şiddetinde bir artış gözlenmektedir. Ayrıca piklerin yeri değişmeyip, yalnızca pik şiddetlerinde farklılıklar olduğu görülmektedir.

Optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde, kırılma indisi farkı sebebiyle mikrokabarcıkların kapsül kısımları renkli ve belirgin bir şekilde görülmektedir. Morfolojisini daha detaylı görebilmek adına TEM ölçümlerine bakılmıştır. Mikroemülsiyon yapısı su ile seyreltilmeden incelendiği için grid üzerinde aglomere olmuş yoğun bir görüntü elde edilmiştir. Kuruması için belirli bir süre beklendiğinde

mikrokabarcıklar hava ile etkileşerek patlamıştır. Yuvarlak görünümde olan bu kabarcıkların ortalama boyutu 70 nm civarında bulunmuştur.

Sonuç olarak literatürde mikro kabarcık kapsülasyonu silika ile daha önce hiç yapılmamış olup gerçekleştirilen bu denemelerde kovalent bağ özelliği gösteren kararlı silika ağ örgü yapısının yapıya sağlamlık ve uzun stabilite özelliği kattığı görülmüştür. Silikanın kırılma indisinin diğer organik kabuk malzemelerine kıyasla daha büyük olması sebebiyle kontrast performansının artması yönünde de olumlu etkileri bulunmaktadır. n-pentan ve perfloropropan gazları mikro kabarcıkların ömrünü artırmakla birlikte dakikalarca süren bir kabarcık ömrü sağlamış olup tezde hedeflenen amaca ulaşılmıştır.



6. KAYNAKLAR

- Agarwal, A., NG, W.J., Liu, Y. 2011. Principle and applications of microbubble and nanobubble technology for water treatment. *Chemosphere*, 84(9):1175-1180.
- Ah, M., Nicolaysen, H., Toft, K., Christiansen, C., Skotland, T. 1996. Structure and organization of albumin molecules forming the shell of air-filled microspheres: evidence for a monolayer of albumin molecules of multiple orientations stabilizing the enclosed air. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 24:145–153.
- Ahmed, J., Ramaswamy, H.S., Kasapis, S., Boye, J.I. 2009. Novel Food Processing: Effects on Rheological and Functional Properties. CRC Press, USA.
- Alter, J., Sennoga, CA., Lopes, DM., Eckersley, RJ., Wells, DJ. 2009. Microbubble Stability is a Major Determinant of the Efficiency of Ultrasound and Microbubble Mediated in vivo Gene Transfer. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 35:976–984.
- Anonymous 1: <http://www.bristol.ac.uk/chemistry/research/eastoe/what-are-surfactants/> [Son erişim tarihi: 14.10.2020].
- Anonymous 2: https://en.wikipedia.org/wiki/Sorbitan_monooleate
- Anonymous 3: https://en.wikipedia.org/wiki/Polysorbate_20
- Anonymous 4: https://en.wikipedia.org/wiki/Polysorbate_80
- Aslan, D. 2015. Ultrason tekniği ile farklı fonksiyonel yağlar kullanılarak yeni süt bazlı emülsiyonların geliştirilmesi. Yüksek lisans tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 103 s.
- Binks, B.P. 2002. Curr. Opin. *Colloid Interface Sci.*, 7, 21–41.
- Birnbaum, Y., Luo, H., Nagai, T., Fishbein, MC., Peterson, TM., Li, S., Kricsfeld, D., Porter, TR., Siegel, RJ. 1998. Noninvasive In Vivo Clot Dissolution Without a Thrombolytic Drug. *Circulation*, 97:130–134.
- Blomley, MJK., Sidhu, PS., Cosgrove, DO., Albrecht, T., Harvey, CJ., Heckemann, RA., Butler-Barnes, J., Eckersley, RJ., Basilico, R. 2001. Do Different Types of Liver Lesions Differ in Their Uptake of the Microbubble Contrast Agent SH U 508A in the Late Liver Phase? Early Experience¹. *Radiology*, 220:661–667.
- Borden, MA., Dayton, P., Shukui, Z., Ferrara, KW. 2004. Physico-chemical properties of the microbubble lipid shell [ultrasound contrast agents]. *Ultrasonics Symposium*, 2004 IEEE, 1:20–23 Vol 1.
- Borden, MA., Longo, ML. 2002. Dissolution Behavior of Lipid Monolayer Coated, Air-Filled Microbubbles: Effect of Lipid Hydrophobic Chain Length. *Langmuir*, 18:9225–9233.

- Bouakaz, A., Zeghimi, A., and Doinikov, AA. 2016. Sonoporation: Concept and Mechanisms. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 880: 175–189.
- Bouyer, E., Mekhloufi, G., Rosilio, V., Grossiord, J.L., Agnely, F. 2012. Proteins, polysaccharides and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field, *Intenational Journal of Pharmaceutics*, 436, 359-378.
- Brinker, C.J. and Sherer, G.W. 1990. *Sol-Gel Science, The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*. Academic Press, San Diego
- Brinker, C.S. and Scherer, G.W. 1985. Sol-gel Glass: I. Gelation and gel structure. *Journal of Non-Crystalline solids*, 100, 31-50.
- Brujan, EA., Ikeda, T., and Matsumoto, Y. 2005. Jet formation and shock wave emission during collapse of ultrasound-induced cavitation bubbles and their role in the therapeutic applications of high-intensity focused ultrasound. *Physics in Medicine and Biology*, 50: 4797–4809.
- Burgess, A., Hynynen, K. 2016. Microbubble-Assisted Ultrasound for Drug Delivery in the Brain and Central Nervous System. In: Escoffre JM, Bouakaz A, (eds). *Therapeutic Ultrasound*. Cham: *Springer International Publishing*, 293–308.
- Butler, BD. 1986. Production of microbubbles for use as echo contrast agents. *Journal of Clinical Ultrasound*, 14:408–412.
- Cachard, C., Bouakkaz, A., Gimenez, G. 1996. In vitro evaluation of acoustic properties of ultrasound contrast agents: experimental set-up and signal processing. *Ultrasonics*, 34:595–598.
- Cerny, DCV., Gary, J., Westkaemper, Peter J. 1990. Continuous sonication method for preparing protein encapsulated microbubbles. United States: Molecular Biosystems, Inc. (San Diego, CA).
- Chen, G.P., Ushida, T., Tateishi, T. 2001. Preparation of poly(L-lactic acid) and poly(DL-lactic-co-glycolicacid) foams by use of ice microparticulates. *Biomaterials*, 22(18): 2563-2567.
- Cho, D., Netravali, A.N., Joo, Y.L. 2012. Mechanical properties and biodegradability of electrospun soy protein isolate/PVA hybrid nanofibers, *Polymer Degradation and Stability*, 97, 747-754.
- Choi, JJ., Feshitan, JA., Baseri, B., Shougang, W., Yao-Sheng, T., Borden, MA., Konofagou, EE. 2010. Microbubble-Size Dependence of Focused Ultrasound-Induced Blood Brain Barrier Opening in Mice In Vivo. *Biomedical Engineering. IEEE Transactions on*, 57:145–154.
- Chow, AM., Cheung, JS., Wu, EX. 2009. Gas-filled microbubbles—a novel susceptibility contrast agent for brain and liver MRI. Conference proceedings: ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology

- Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Conference, 52:2009:4049.
- Chowdhury, SM., Lee, T., Willmann, JK. 2017. Ultrasound-guided drug delivery in cancer. *Ultrasonography*, 36:171–184.
- Cochran, MC., Eisenbrey, J., Ouma, RO., Soulen, M., Wheatley, MA. 2011. Doxorubicin and paclitaxel loaded microbubbles for ultrasound triggered drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 414:161–170.
- Collis, J., Manasseh, R., Liovic, P., Tho, P., Ooi, A., Petkovic-Duran, K., and Zhu, Y. 2010. Cavitation microstreaming and stress fields created by microbubbles. *Ultrasonics*, 50: 273–279.
- Coupland, J.N., Sigfusson, H. 2005. Handbook of Food Science, Technology, and Engineering, 4 Volume Set.
- Çelebi, N. 2009. Emülsiyonlar. Ankara Üniversitesi Yayınları, 276-299.
- Daeichin, V., Kooiman, K., Skachkov, I., Bosch, JG., Theelen, TL., Steiger, K., Needles, A., Janssen, BJ., Daemen, MJAP., van der Steen, AFW., de Jong, N., Sluimer, JC. 2016. Quantification of Endothelial v3 Expression with High-Frequency Ultrasound and Targeted Microbubbles: In Vitro and In Vivo Studies. *Ultrasound in medicine & biology*, 42:2283–2293.
- Dalgleish, D.G. 2006. Food emulsions-their structures and structure forming properties, *Food Hydrocolloids*, 20:415–422.
- Delalande, A., Kotopoulis, S., Postema, M., Midoux, P., and Pichon, C. 2013. Sonoporation: Mechanistic insights and ongoing challenges for gene transfer. *Gene*, 525: 191–199.
- Demetriades, K., Coupland, J., McClements, D. 1997. Physical properties of whey protein stabilized emulsions as related to pH and NaCl. *Journal of Food Science*, 62 (2): 342-347.
- Dewitte, H., Vanderperren, K., Haers, H., Stock, E., Duchateau, L., Hesta, M., Saunders, JH., Smedt, SCD., Lentacker, I. 2015. Theranostic mRNA-loaded Microbubbles in the Lymphatics of Dogs: Implications for Drug Delivery. *Theranostics*, 5:97–109.
- Dickinson, E., Stainsby, G. 1982. Colloids in food. Applied Science Publishers,
- Dickinson, E., Stainsby, G. 1982. Colloids in Foods. Elsevier, London, UK.
- Dickinson, E., Tanai, S. 1992. Temperature dependence of the competitive displacement of protein from the emulsion droplet surface by surfactants. *Food Hydrocolloids*, 6 (2): 163-171.

- Dinsmore, A.D., Hsu, M., Nikolaidis, M.G., M.F., Marquez, Bausch, A.R., Weitz, D.A. 2002. Colloidosomes: Selectively permeable capsules composed of colloidal particles. *Science*, 298:1006-1009.
- Dishlich, H. 1985. Sol-gel 1984-2004. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 73, 599–612.
- Eccleston, G.M. 2007. Emulsions and microemulsions. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 3: 1548-65.
- Elworthy, P.H., Florence, A.T., Macfarlane, C.B. 1968. Solubilization by Surface Active Agents, Chapman and Hall Ltd., 124-145.
- Fan, P., Zhang, Y., Guo, X., Cai, C., Wang, M., Yang, D., Li, Y., Tu, J., Crum, L.A., Wu, J., and Zhang, D. 2017. Cell-cycle-specific cellular responses to sonoporation. *Theranostics*, 7: 4894–4908.
- Farook, U., Stride, E., Edirisinghe, M. 2009. Stability of microbubbles prepared by coaxial electrohydrodynamic atomisation. *European Biophysics Journal*, 38:713–718.
- Feinstein, SB. 1989a. Assessment of Myocardial Perfusion Using Contrast Echocardiography. *Echocardiography*, 6:17–25.
- Feinstein, SB. 1989b. New Developments in Ultrasonic Contrast Techniques: Transpulmonary Passage of Contrast Agents and Diagnostic Implications. *Echocardiography*, 6:27–33.
- Fennema, O.R., Tannenbaum, S.R. 1996. Introduction to Food Chemistry, Food Chemistry, New York, NY.
- Feshitan, JA., Chen, C., Kwan, JJ., Borden, MA. 2009. Microbubble size isolation by differential centrifugation. *Journal of Colloid and Interface Science*, 329:316–324.
- Galioglu, A.O. 1991. Yüzey Aktif Maddeler , İTÜ-Fen Edebiyat Fakültesi Yayınları, İstanbul, 1-19.
- Garti, N., Benichou, A. 2004. Recent developments in double emulsions for food applications. *Food emulsions*, 353-412.
- Geankoplis, C. 2003. Transport processes and separation process principles (includes unit operations). Prentice Hall Press.
- Geçgel, Ü. 2008. Polimer-surfaktant etkileşimi. Doktora tezi, Trakya Üniversitesi, Edirne, 196 s.
- Gemici, R. 2011. Çeşitli sürfaktan karışımlarının yüzey gerilim ölçümlerinin ve dna üzerindeki etkilerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya, 82 s.

- Gerber, F., Waton, G., Krafft, MP., Vandamme, TF. 2007. Long Lived Microbubbles for Oxygen Delivery. *Artificial Cells, Blood Substitutes and Biotechnology*, 35:119–124.
- Gessner, R. and Dayton, P.A. 2010. Advances in molecular imaging with ultrasound. *Molecular Imaging*, Vol 9, No 3, pp 117–127.
- Giro-Paloma, J., Martínez, M., Cabeza, L.F., and Fernández, A.I. 2016. "Types, methods, techniques, and applications for microencapsulated phase change materials (MPCM): A review." *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 53, 1059–1075.
- Goff, H.D. 1997. Instability and Partial coalescence in whippable dairy emulsions. *Journal of Dairy Science*, 80 (10): 2620-2630.
- Gorce, J-M., Arditi, M., Schneider, M. 2000. Influence of Bubble Size Distribution on the Echogenicity of Ultrasound Contrast Agents: A Study of SonoVue(TM). *Investigative Radiology*, 35: 661–671.
- Gökmen, S., Palamutoğlu, R., ve Sarıçoban, C. 2012. “Gıda endüstrisinde enkapsülasyon uygulamaları.”, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7(1), 36-50.
- Graeber, N. 2013. A Study of Fundamentals in Emulsion Templating for the Preparation of Macroporous Polymer Foams, Imperial College London.
- Grinstaff Mark, W., Suslick Kenneth, S. 1992. Proteinaceous Microspheres. *Macromolecular Assemblies in Polymeric Systems: American Chemical Society*, 218–226.
- Grinstaff, MW., Suslick, KS. 1991. Air-filled proteinaceous microbubbles: synthesis of an echo-contrast agent. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 88:7708–7710.
- Gupta, SK., Shetkar, SS., Ramakrishnan, S., Kothari, SS. 2015. Saline Contrast Echocardiography in the Era of Multimodality Imaging—Importance of “Bubbling It Right”. *Echocardiography*, 32:1707–1719.
- Guzey, D. and McClements, D.J. 2006b. Influence of environmental stresses on o/w emulsions stabilized by β -lactoglobulin–pectin and β -lactoglobulin–pectin–chitosan membranes produced by the electrostatic layer-by-layer deposition technique, *Food Biophysics*, 1: 30–40.
- Hoff, L., Sontum, PC., Hoff, B. 1996. Acoustic properties of shell-encapsulated, gas-filled ultrasound contrast agents. *Ultrasonics Symposium. Proceedings*, 2:1441–1444 vol.
- Jame,s O. Green ,L., Houghton, AR., Campbell, J. 2015. A case of hepatopulmonary syndrome. *Echo research and practice*, 2(2):K25–K27.

- Kabalnov, A., Klein, D., Pelura, T., Schutt, E., Weers, J. 1998. Dissolution of multicomponent microbubbles in the bloodstream: 1. theory. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 24:739–749.
- Kandemir, İ. 2020. Mikrokapsülasyon ve sol-jel teknolojileri kullanılarak koku salımlı ve antibakteriyel kumaş geliştirilmesi. Yüksek lisans tezi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, 84 s.
- Kartal, C. 2014. Keten tohumu yağı kullanılarak çok tabakalı yağ/su emülsiyon oluşumu, karakterizasyonu ve stabilitesi. Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 135 s.
- Katiyar, A., Sarkar, K. 2009. Stability analysis of an encapsulated microbubble against gas diffusion. *Journal of Colloid and Interface Science*, 343:42–47.
- Katiyar, A., Sarkar, K., Jain, P. 2009. Effects of encapsulation elasticity on the stability of an encapsulated microbubble. *Journal of Colloid and Interface Science*, 336:519–525.
- Kazan, Z. 2014. Sürfaktan yardımıyla mezogözenekli tio₂ sentezi ve fotokatalitik etkinli. Yüksek lisans tezi, İnönü Teknik Üniversitesi, Malatya, 76 s.
- Kesmez, Ö. 2010. Sol jel yöntemi ile nano SiO₂ sentezi ve uygulamaları. Yüksek lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 95 s.
- Ketenoglu, O. 2010. Yüksek kayma hızında parçalanan bazı bitkisel liflerin emülsiyon stabilitesine etkisi. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 64 s.
- Kim, J., Lindsey, BD., Chang, WY., Dai, X., Stavas, JM., Dayton, PA., Jiang, X. 2017. Intravascular forward-looking ultrasound transducers for microbubble-mediated sonothrombolysis. *Scientific Reports*, 7:3454.
- Klibanov, A., Hughes, M., Villanueva, F., Jankowski, R., Wagner, W., Wojdyla, J., Wible, J., Brandenburger, G. 1999. Targeting and ultrasound imaging of microbubble-based contrast agents. *Magnetic Resonance Materials in Physics. Biology and Medicine*, 8:177–184.
- Kok, MP., Segers, T., Versluis, M. 2015. Bubble sorting in pinched microchannels for ultrasound contrast agent enrichment. *Lab on a Chip*, 15:3716–3722.
- Kooiman, K., Vos, HJ., Versluis, M., and De Jong, N. 2014. Acoustic behavior of microbubbles and implications for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 72: 28–48.
- Kopechek, JA., Carson, AR., McTiernan, CF., Chen, X., Hasjim, B., Lavery, L., Sen, M., Grandis, JR., Villanueva, FS. 2015. Ultrasound Targeted Microbubble Destruction-Mediated Delivery of a Transcription Factor Decoy Inhibits STAT3 Signaling and Tumor Growth. *Theranostics*, 5:1378–1387.

- Kopechek, JA., Carson, AR., McTiernan, CF., Chen, X., Klein, EC., Villanueva, FS. 2016. Cardiac Gene Expression Knockdown Using Small Inhibitory RNA-Loaded Microbubbles and Ultrasound. *PLOS ONE*, 11 e0159751.
- Krasovitski, B., Kimmel, E. 2006. Stability of an encapsulated bubble shell. *Ultrasonics*, 44:216–220.
- Kvale, S., Jakobsen, HA., Asbjansen, OA., Omtveit, T. 1996b Size fractionation of gas-filled microspheres by flotation. *Separations Technology*, 6:219–226.
- Lardo, AC., Fan, P., Nanda, NC., Cape, EG. 1995. Persistence of albumin echocardiographic contrast agents exposed to variable fluid stresses: Laser scattering studies. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 8:359.
- Lawrence, H. 1989. Emulsions and microemulsions, pp. 335-378. In: *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems*. (Eds: H., Lieberman, M., Rieger, G., Banker). Marcel Dekker Inc., New York, vol. 2.
- Lee, M., Lee, EY., Lee, D., Park, BJ. 2015. Stabilization and fabrication of microbubbles: applications for medical purposes and functional materials. *Soft Matter*, 11:2067–2079.
- Lee, M., Ping, M., Johnson, K., Mumper, RJ., Dayton, PA. 2011. Tumor treatment with microbubble enhanced low-intensity ultrasound and paclitaxel nanocapsules reduces drug dose required for therapeutic effect. 2011 IEEE International Ultrasonics Symposium, 1455–1458.
- Lee, S.J., McClements, D.J. 2010. Fabrication of protein stabilized nanoemulsions using combined homogenization and amphiphilic solvent dissolution evaporation approach, *Food Hydrocolloids*, 24, 560-559.
- Li, L., Wei, Q., Li, H-B., Wen, S., Teng, G-J. 2012. Evaluation of microbubbles as contrast agents for ultrasonography and magnetic resonance imaging. *PLoS One*, 7:e34644.
- Liao, A.H., Ho, H.C., Lin, Y.C., Chen, H.K., Wang, C.H. 2015. Effects of Microbubble Size on Ultrasound-Induced Transdermal Delivery of HighMolecular-Weight Drugs. *PLoS One*, 10 e0138500.
- Mackenzie, J.D. 1988. Applications of sol-gel process. *Journal of Non Crystalline Solids*, 100, 162-168.
- Macosko, C.W. 1994. *Rheology: Principles, Measurements, and Applications*. Wiley-VCH, New York, NY.
- Marques, E. Miguel, M., Dias, R., Melnikov, S., Khan, A., Lindman, B., 2000. Gel formation and association in systems of cationic surfactant vesicles and oppositely charged polymers., *Polym Prep.*, 8, 41-737.

- Martin, A., Busmante, P., Chun, A. H. C. 1993. Coarse Dispersion, In: Physical Pharmacy (Ed: Febiger, L. A.), Fourth Ed., Philadelphia, pp. 477- 511.
- Mayer, IV., Lazarov, MP., Utzinger, U., aU Freiburghaus, Hess, OM. 1995. Sonicated X-ray contrast agents for quantitative myocardial contrast echocardiography — a critical approach. *Heart and Vessels*, 10:96–105.
- McClements, D.J. 1999. Food Emulsions; Principles, Practice, and Techniques, Second Edition.
- McClements, D.J. 2004. Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques, Second Edition.
- McClements, D.J. 2005a. Food Emulsions Principles, Practices, and Techniques, CRC Pres, Florida, 608p.
- McClements, D.J. 2007. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47:611–649.
- McClements, D.J. 2010. Design of nano-laminated coatings to control bioavailability of lipophilic food components, *Journal Of Food Science*, 75(1):30-42.
- McClements, D.J. 2010. Emulsion design to improve the delivery of functional lipophilic components. Department of Food Science, Massachusetts, Amherst, pp., 242-250.
- McClements, D.J. 2012. Advances in fabrication of emulsions with enhanced functionality using structural design principles, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 17:235–245.
- McClements, D.J., Decker, E.A. and Weiss, J. 2007. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components, *Journal of Food Science*, 72(8):109-124.
- McClemets, D.J. 1999. Food Emulsions: Principles, Practice, and Techniques First Ed., CRC Press, Boca Raton, USA.
- McKenna, B. Lyng, J. 2003. Introduction to food rheology and its measurement. *Texture in Food*, 1: 130.
- Menner, A., Salgueiro, M.; Shaffer, M.S.P.; Bismarck, A. 2008. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 46, 5708.
- Merta, J., Stenius, P. 1999. Interactions between cationic starch and mixed anionic Surfactants, *Colloids Surf.*, (77), 149-367.
- Nejad, SM., Hosseini, H., Akiyama, H., and Tachibana, K. 2016. Reparable cell sonoporation in suspension: Theranostic potential of microbubble. *Theranostics*, 6: 446–455.

- Nielsen, A.D., Borch, K., Westh, P. 2000. Thermochemistry of the specific binding of C12 surfactants to bovine serum albumin., *Biochim Biophys Acta.*, 1479 (1-2), 321-331.
- Ohl, CD., Arora, M., Ikink, R., De, J.N., Versluis, M., Delius, M., and Lohse, D. 2006. Sonoporation from jetting cavitation bubbles. *Biophysical Journal*, 91: 4285–4295.
- Okutan, N. 2013. Elektrodöndürme yöntemiyle elde edilen jelatin nanoliflerinin emülsiyonlarda stabilize edici olarak kullanılması. Yüksek lisans tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, 163 s.
- Passos, R., Michel, R., Julio, N., Joao, G.R.R., Adelmo, V.L.O., Zilma, B., Rosseane, F., Conrado, G., Paulo, B., Pena, B., Jean, J.R. 2017. Agitated Saline Bubble-Enhanced Ultrasound for Assessing Appropriate Position of Hemodialysis Central Venous Catheter in Critically Ill Patients. *Kidney Int Rep*, 2:952–956.
- Porter, T.R., Abdelmoneim, S., Todd, B.J., McCulloch, M.L., Mulvagh, S.L., Olson, J.J., Porcelli, C., Tsutsui, J.M., Wei, K. 2014. Guidelines for the Cardiac Sonographer in the Performance of Contrast Echocardiography: A Focused Update from the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*, 27:797–810.
- Porter, TR., Abdelmoneim, S., Belcik, JT., McCulloch, ML., Mulvagh, SL., Olson, JJ., Porcelli, C., Tsutsui, JM., Wei, K. 2014. Guidelines for the Cardiac Sonographer in the Performance of Contrast Echocardiography: A Focused Update from the American Society of Echocardiography. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 27:797–810.
- Postema, M., Van, W.A., Lancee, C.T., and De Jong, N. 2004. Ultrasoundinduced encapsulated microbubble phenomena. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 30: 827–840.
- Postema, M., Van, W.A., Ten, C.FJ., and De Jong, N. 2005. High-speed photography during ultrasound illustrates potential therapeutic applications of microbubbles. *Medical Physics*, 32: 3707–3711.
- Quaia, E. 2007. Microbubble ultrasound contrast agents: an update. *Eur Radiol*, 17(8):1995-2008.
- Quay, S.C. 2004. Ultrasound contrastagents containing microbubbles of perfluoracarbon gasses. United States Patent Application Publication, Pub. No.:US 2004/0126321 A1.
- Quay, SC. 1994. Microbubble-based ultrasound contrast agentsThe role of gas selection in microbubble persistence. *J Ultrasound Med*, 13.
- Remington, J.P., Troy, D.B., Beringer, P. 2006. Remington: The science and practice of pharmacy. Lippincott Williams & Wilkins.
- Robins, M.M. 2000. Lipid emulsions. *Grasas y Aceites*, 51: 26-34.

- Rosen, M.J. 1978. Surfactants and Interfacial Phenomena, John Wiley&Sons, New York, 48-79.
- Rossi, S., Szijarto, C., Gerber, F. 2011. Fluorous materials in microbubble engineering science and technology-Design and development of new bubble preparation and sizing technologies. *Journal of Fluorine Chemistry*, 132:1102-1109.
- Rossi, S., Szijarto, C., Gerber, F. Waton, G., Krafft, MP. 2011. Fluorous materials in microbubble engineering science and technology-Design and development of new bubble preparation and sizing technologies. *Journal of Fluorine Chemistry*, 132:1102-1109.
- Sanchez, C. and Livage, J. 1990. Sol-gel chemistry from metal alkoxide precursors. *New journal of chemistry*, 18,1007-1047.
- Sanchez, C. Ribot, F. 1994. Design of hybrid organic – inorganic materials synthesized via sol-gel chemistry. *New Journal of Chemistry*, 16, 1014-1028.
- Sarkar, K., Katiyar, A. 2009. Dissolution and stabilization of contrast microbubble by its elastic shell. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 125:2681.
- Schmidt, H. 1988. Chemistry of Material Preparation by the Sol-Gel Process. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 100, 51-64.
- Schneider, A., Johnson, L., Goodwin, M., Schelleman, A., Bellomo, R. 2011. Bench-to-bedside review: Contrast enhanced ultrasonography - a promising technique to assess renal perfusion in the ICU. *Critical Care*, 15:157.
- Schneider, M., Bussat, P., Barrau, M.B., Arditi, M., Yan, F., Hybl, E. 1992. Polymeric Microballoons as Ultrasound Contrast Agents: Physical and Ultrasonic Properties Compared with Sonicated Albumin. *Investigative Radiology*, 27:134–139.
- Schubert, H., Engel, R. 2004. Product and formulation engineering of emulsions, *Chemical Engineering Research and Design*, 82(A9), 1137-1143.
- Schubert, U. Husing, N. and Lorenz, A. 1995. Hybrid inorganic – organic materials by metal alkoxide. *Chemistry of materials*, 2010–2027.
- Segers, T., Versluis, M. 2014. Acoustic bubble sorting for ultrasound contrast agent enrichment. *Lab on a Chip*, 14:1705–1714.
- Sennoga, CA., Kanbar, E., Auboire, L., Dujardin, P.A., Fouan, D., Escoffre, J.M., Bouakaz, A. 2017. Microbubble-mediated ultrasound drug-delivery and therapeutic monitoring. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 14:1031–1043.
- Shchukina, EM., Shchukin, DG. 2011. LbL coated microcapsules for delivering lipid-based drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63: 837–846.
- Sherman, P. 1982. Rheology of Emulsions. Marcel Dekker, New York, NY.

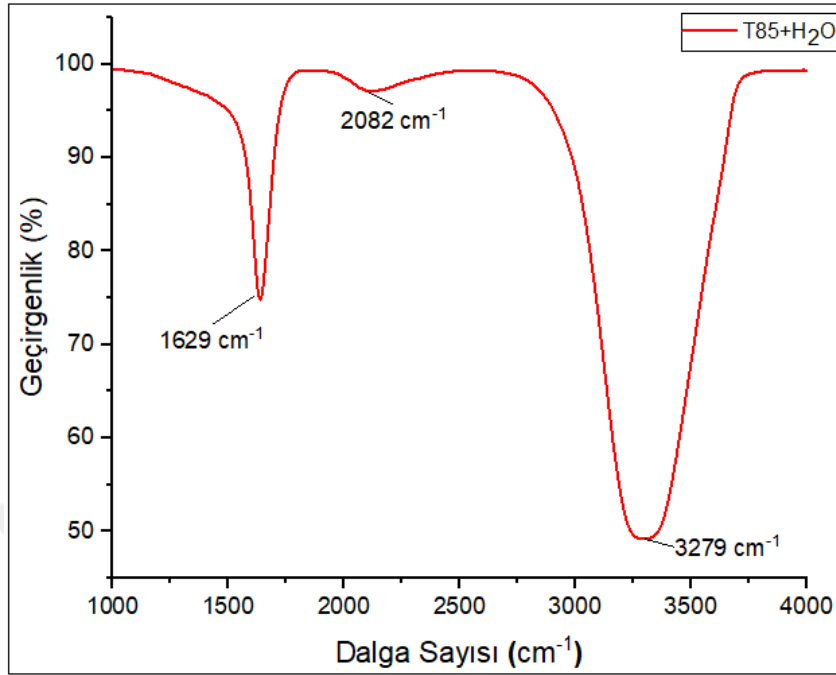
- Sheu, R., Peterson, C., Hall, M., Liu, M., Cormican, D. 2019. Ultrasonic Enhancing Agents for the Cardiothoracic Anesthesiologist: A Focused Review of the 2018 American Society of Echocardiography Guidelines Update. Department of Anesthesiology and Pain Medicine, University of Washington Medical Center, J Cardiothorac Vasc Anesth, 33(3): 755-767.
- Singhal, S., Moser, CC., Ma Wheatley. 1993. Surfactant-stabilized microbubbles as ultrasound contrast agents: stability study of Span 60 and Tween 80 mixtures using a Langmuir trough. *Langmuir*, 9:2426–2429.
- Sirsi, S., Feshitan, J, Kwan, J., Homma, S., Borden, M. 2010. Effect of Microbubble Size on Fundamental Mode High Frequency Ultrasound Imaging in Mice. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 36:935–948.
- Sirsi, SR., Borden, MA. 2009. Microbubble compositions, properties and biomedical applications. *Bubble Science. Engineering & Technology*, 1:3–17.
- Song, K.H., Fan, AC., Hinkle, JJ., Newman, J., Borden, MA., Harvey, BK. 2017. Microbubble gas volume: A unifying dose parameter in blood-brain barrier opening by focused ultrasound. *Theranostics*, 7:144–152.
- Sponheim, N., Hoff, L., Waaler, A. 1993. Alunex-a new ultrasound contrast agent. ... and Imaging, 1993:29–30.
- Steffe, J.F. 1996. Rheological methods in food process engineering. Freeman press.
- Stride, E., Edirisinghe, M. 2008. Novel microbubble preparation technologies. *Soft Matter*, 4:2350–2359.
- Sun, J., Yin, M., Zhu, S., Liu, L., Zhu, Y., Wang, Z., Xu, RX., Chang, S. 2016. Ultrasound-mediated destruction of oxygen and paclitaxel loaded lipid microbubbles for combination therapy in hypoxic ovarian cancer cells. *Ultrasonics Sonochemistry*, 28:319–326.
- Suslick, KS., Grinstaff, MW., Kolbeck, KJ., Wong, M. 1994. Characterization of sonochemically prepared proteinaceous microspheres. *Ultrasonics Sonochemistry*, 1:S65–S68.
- Swanson, E., Borden, M. 2010. Injectable oxygen delivery based on proteinshelled microbubbles. *Nano LIFE*, 01:215–218.
- Swanson, EJ., Mohan, V., Kheir, J., Borden, MA. 2010. Phospholipid-Stabilized Microbubble Foam for Injectable Oxygen Delivery. *Langmuir*, 26:15726–15729.
- Tachibana, K., Tachibana, S. 1995. Albumin Microbubble Echo-Contrast Material as an Enhancer for Ultrasound Accelerated Thrombolysis. *Circulation*, 92:1148–1150.
- Tadros, T.F. 2013. Emulsion Formation, Stability, and Rheology, ISBN: 978-3-527-31991-6 1-24 pages.

- Talu, E., Lozano, MM., Powell, RL., Dayton, PA., Longo, ML. 2006. Long-Term Stability by Lipid Coating Monodisperse Microbubbles Formed by a Flow-Focusing Device. *Langmuir*, 22:9487–9490.
- Tan, C.T., Friberg, S., Larsson, K., Sjöblom, J. 2004. Beverage emulsions. *Food Emulsions*, 4: 485-524.
- Tan, J.KY., Pham, B., Zong, Y., Perez, C., Maris, DO., Hemphill, A., Miao, CH., Matula, TJ., Mourad, PD., Wei, H., Sellers, DL., Horner, PJ., Pun, SH. 2016. Microbubbles and ultrasound increase intraventricular polyplex gene transfer to the brain. *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society*, 231:86–93.
- Tuncer, M. 2014. Evsineği (*Musca domestica* L.) kovucu kapsüllenmiş aktif maddeleri içeren kaplamalar. Yüksek lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 127 s.
- Tung, YS., Vlachos, F., Feshitan, JA., Borden, MA. and Konofagou, EE. 2011. The mechanism of interaction between focused ultrasound and microbubbles in blood-brain barrier opening in mice. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 130: 3059–3067.
- Turner, C. W. 1991. Sol-gel process principle and applications. *Seramic Bulletin*, 70,9.
- Unga, J. and Maruyama, K. 2020. Lipid bubbles and ultrasound for drug delivery. Faculty of Pharma-Sciences, Teikyo University, Handbook of Materials for Nanomedicine: Metal-Based and Other Nanomaterials, 301-307.
- Upadhyay, A. and Dalvi S.V. 2018. Microbubble formulations: synthesis, stability, modeling and biomedical applications. Chemical Engineering, Indian Institute of Technology Gandhinagar, Gandhinagar, India, 45: 1-11.
- Upadhyay, A. and Dalvi S.V. 2019. Microbubble Formulations: Synthesis, Stability, Modeling and Biomedical Applications. *Ultrasound Med Biol*, 45(2): 301-343.
- Upadhyay, A., Dalvi, SV. 2016. Synthesis, Characterization and Stability of BSA-Encapsulated Microbubbles. RSC Advances.
- Ünsal, H. 2008. Hibrit yüzey aktif maddeleri kullanılarak çok bölmeli misellerin elde edilmesi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 5-10.
- Van, L.HD., Raychaudhuri, S. 1997. Stabilized bubbles in the body: pressure-radius relationships and the limits to stabilization. *Journal of Applied Physiology*, 82:2045–2053.
- Walstra, P. 2003. Physical Chemistry of Foods, New York, NY.
- Walstra, P. 2003. Studying food colloids: Past, present and future, Food Colloids, Biopolymers and Materials, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 425p.

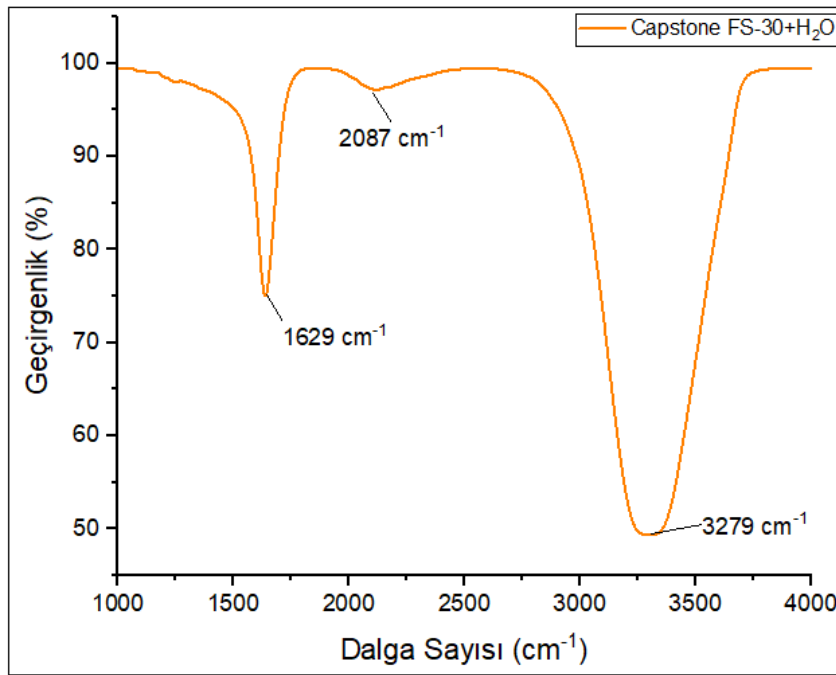
- Wang, B., Li, D., Wang, L.J., Adhikari, B., Shi, J. 2010. Ability of flaxseed and Soybean protein concentrates to stabilize oil-in-water emulsions, *Journal of Food Engineering*, 100, 417-426.
- Weers, J.G. 1998. Modern Aspects of Emulsion Science.
- Weller, G.E., Villanueva, F.S., Tom, E.M., Wagner, W.R. 2005. Targeted ultrasound contrast agents: in vitro assessment of endothelial dysfunction and multi-targeting to ICAM-1 and sialyl Lewisx. *Biotechnol Bioeng*, 92(6): 780-8.
- Werner, P., Verdejo, R., Wöllecke, F., Altstädt, V., Sandler, J.K.W., Shaffer, M.S.P. 2005. Carbonnanofibers allow foaming of semicrystalline poly(ether ether ketone), *Adv. Mater.*, 17: 2864-2869.
- Whorlow, R.W. 1992. Rheological Techniques, New York, NY.
- Widder, KJ., Levene, HB., Bales, GL. 1998. Method of ultrasonically quantitating myocardial perfusion using as intravenously injected tracer. USA: Molecular Biosystems, Inc. (San Diego, CA).
- Wiencek, JG., Feinstein, SB. 1993. Albumin spheres as contrast agents. In: Nanda NC, Scief R, (eds). *Advances in Echo Imaging Using Contrast Enhancement*: Springer-Science+Buisness Media, B.V., 57–70.
- Windhab, E.J., Dressler, M., Feigl, K., Fischer, P., Megias-Alguacil, D. 2005. Emulsion processing: From single drop deformation to design of complex processes and products, *Chemical Engineering Science* 60, 2101-2113.
- Wong, M., Suslick, KS. 1995. Sonochemically produced Hemoglobin Microbubbles. *Material Research Society Symp. Proc.*, 372.
- Wrenn, Steven, P. (Swarthmore, PA, US), Dicker, Stephen (Philadelphia, PA, US). 2010. Encapsulation of microbubbles within the aqueous core of microcapsules. International application published under the patent cooperation treaty (PCT), *Int. Pub. No: WO 2010/123918 A1*, Drexel University.
- Wu, J. 2002. Theoretical study on shear stress generated by microstreaming surrounding contrast agents attached to living cells. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 28: 125–129.
- Wu, S.K., Chu, P.C., Chai, W.Y., Kang, S.T., Tsai, C.H., Fan, C.H., Yeh, C.K., Liu, H.L. 2017. Characterization of Different Microbubbles in Assisting Focused Ultrasound-Induced Blood-Brain Barrier Opening. *Scientific Reports*, 7:46689.
- Xie, F., Tsutsui, JM., Lof, J., Unger, EC., Johanning, J., Culp, WC., Matsunaga, T., Porter, TR. 2005. Effectiveness of lipid microbubbles and ultrasound in declotting thrombosis. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 31:979–985.

- Yang, F., Gu, N., Chen, D., Xi, X., Zhang, D., Li, Y. and Wu, J. 2008. Experimental study on cell self-sealing during sonoporation. *Journal of Controlled Release*, 131: 205–210.
- Yoldas, B.E. 1984. Part IV. Preparation Techniques and Properties of Glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 63, 145-154.
- Yoldas, B.E. 1986. Hydrolytic Polycondensation of Si(OC₂H₅) and effect of
- Yoldas, B.E. 1993. Technological Significance of Sol-Gel Process and Process-Induced Variations in Sol-Gel Materials and Coatings. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 65-77. 74
- Yoldas, B.E. 1994. Molecular Design and Processing Effects on Sol-gel derived Thin Films. *Chimica Chronica, New Series*, 23,147-156.
- Yüce, E. 2016. Pickering emülsiyonlar ile hiyerarşik makrogözenekli polimer kompozitlerinin hazırlanması ve fotokatalitik uygulamaları. Yüksek lisans tezi, Yalova Üniversitesi, Yalova, 100 s.
- Zhao, E., Cheng, G., Zhang, Y., Li, Y., Wang, Y. 2017. Comparison of Different Contrast Agents in Detecting Cardiac Right-to-Left Shunt in Patients with a Patent Foramen Ovale during Contrast-Transthoracic Echocardiography. *BioMed Research International*, 2017:6.
- Zhou, Y., Yang, K., Cui, J., Ye, JY. and Deng, CX. 2012. Controlled permeation of cell membrane by single bubble acoustic cavitation. *Journal of Controlled Release*, 157: 103–111.
- Zhu, X., Guo, J., He, C., Geng, H., Yu, G., Li, J., Zheng, H., Ji, X., Yan, F. 2016. Ultrasound triggered image-guided drug delivery to inhibit vascular reconstruction via paclitaxel-loaded microbubbles. *Scientific Reports*, 6.

7. EKLER



Şekil 7.1. T85'in FT-IR spektrumu



Şekil 7.2 Capstone FS-30'un FT-IR spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

GİZEM SİVRİ

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2019-2021	Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı Başkanlığı, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2015-2019	Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Antalya