



Mikro-Kabarcığın Silika ile Kapsüllenecek Mukavemetinin Artırılması

Gizem Mogol¹ , İbrahim Emre Gultakti^{1*} , Murat Akarsu¹ 

ÖZET

Mikro-kabarcıklar (MKlar) tıbbi ultrason görüntülemeye yüksek kontrast sağlayabilme yetenekleri ile dikkat çekmektedir. MKlar gaz çekirdeklerinin sıkıştırılması ve kanın ultrasonla etkileşimi sonucu deforme olarak, MKların kabuğundaki büzülme-genleşme hareketleri ile yaygın bir kontrast ajanı olarak kullanılmaktadır. MKların çekirdek ve kapsül yapısı, kabarcığın stabilitesini ve bununla beraber etkinlik süresine etki etmektedir. Literatürdeki çalışmalar, farklı Q değerlerine sahip gaz çekirdek yapıları MKların lipit, protein, polimer ve sürfaktan gibi malzemelerle kapsüllendiğini göstermektedir. Bu kapsülasyon malzemeleri ile oluşturulan MKların ise tıbbi ultrasonik görüntülemeye kullanılabilmesi için yeterli yapısal stabiliteye, etkin parçacık boyutuna ve yüksek kontrasta aynı anda sahip olması beklenmektedir. Bu çalışmada ise daha önce literatürde çalışılmamış olan n-pentan (C₅) ve perfloropropan (C₃H₈) gazlarının sol-jel yöntemiyle silika (SiO₂) kapsülasyonu yapılarak, stabil MKlar elde edilmesi ve kontrast ajanı olarak kullanılması hedeflenmiştir. İdeal olarak belirlenen SiO₂-C₅ sistemleri, emülsiyon içinde 7 gün, hava ile etkileşiminde ise 10 dakika boyunca stabilitesini koruduğu görülmüştür. SiO₂-C₃H₈ sistemleri için, çekirdek yapı miktarı olan C₃H₈'in 1,5 kat artırılması ile ortalama hidrodinamik parçacık boyutunun 5,556 µm'den 1,281 µm'ye düştüğü ve zeta potansiyel değerlerinin sırasıyla -21,2 mV ve -41,9 mV olduğu görülmüştür. İdeal SiO₂-C₃H₈ sisteminin 15 güne kadar emülsiyon içinde, 15 dakika da hava ile etkileşimi sonrasında stabilitesini koruduğu görülmüştür.

MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş

21 Ocak 2024

Kabul

28 Mart 2024

ANAHTAR KELİMELER

Kontrast ajanı,
Mikro kabarcık,
Mikrokapsül,
Silika,
Sol-Jel

Increasing the Strength of the Micro-bubble by Encapsulating with Silica

Microbubbles (MKs) have garnered attention in medical ultrasound imaging due to their ability to provide high contrast. These MKs deform when the gas core is compressed and when they interact with blood in the capillaries under ultrasound exposure. The deformation of MKs, characterized by the contraction-expansion movements of the MKs shell, has made them a widely used contrast agent. The core and shell structure of MKs significantly influence their stability and, consequently, their effectiveness. Studies in the literature have shown that MKs with gas cores having different Q values are encapsulated with materials such as lipids, proteins, polymers, and surfactants. These encapsulated MKs are expected to possess structural stability, effective particle size, and high contrast simultaneously to be suitable for medical ultrasound imaging. In this study, previously unexplored n-pentane (C₅) and perfluoropropane (C₃H₈), were encapsulated within silica (SiO₂) using the sol-gel method to obtain stable MKs for use as contrast agents. The ideally determined SiO₂-C₅ systems have been observed to maintain their stability for 7 days within the emulsion and for 10 minutes in interaction with air. For SiO₂-C₃H₈ systems, increasing the amount of the core structure, C₃H₈, by 1.5 times resulted in a reduction of the average hydrodynamic particle size from 5.556 µm to 1.281 µm, and the zeta potential values were observed to be -21.2 mV and -41.9 mV, respectively. The ideal SiO₂-C₃H₈ system was observed to maintain its stability for up to 15 days within the emulsion, and for 15 minutes after interaction with air.

ARTICLE HISTORY

Received

21 January 2024

Accepted

28 March 2024

KEY WORDS

Contrast agent,
Micro bubble,
Micro capsule,
Silica,
Sol-Gel

¹ Akdeniz University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Antalya/ Turkey.

*Corresponding Author: İbrahim Emre Gultakti, e-mail: iemregultakti@gmail.com

Giriş

Tıbbi çalışmalarda, vücutta etkin ve stabil kontrast ajanlarının geliştirilmesi için, jelatinle kapsüllenmiş mikro kabarcıklar (MKlar) [1], gazla birleştirilmiş lipozomlar [2], sonikasyon ile denatüre olmuş proteinler [3], florlarmış organik bileşikler içeren emülsiyonlar [4] gibi birçok farklı alanda kapsamlı araştırmalar yapılmıştır. Gaz halindeki çekirdeklerin sıkıştırılması sonucu, kılcal damarlar içinden geçen kan ultrason ile hızlıca deforme olabilmektedir. Bu deformasyonlar, ultrasona maruz bırakılan sıkılaştırılmış ve kapsüle edilmiş gaz olan MKların kabuğunda büzülme ve genişlemelere neden olarak, ultrason görüntüleme sırasında daha yüksek kontrast sağlamasına ve hedefe ilaç salınımı veya gen iletimi gibi uygulamalarda kullanılmasına olanak tanımaktadır [5, 6].

MKlar genellikle kullanım alanlarına göre 0,1-10 µm arasında boyutlara sahip olup, son yıllarda ultrason görüntüleme kontrast artırıcı ajan ve güdümlü ilaç salınımı gibi birçok farklı biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır [7]. Aynı zamanda, ilaç ve genler için intravenöz O₂ verme ajanı olarak [8], trombolik ajan olarak ve kan-beyin bariyerini aşarak ilaç iletimi için dağıtım aracı olarak da kullanım alanları mevcuttur [9]. MKların biyomedikal uygulamalardaki kullanımları, kabarcık boyutu, biyoyumluluk ve stabilite gibi faktörlere bağlıdır. Özellikle in-vivo kullanımda, MKların çapı tercihen 1-5 µm arasında dar bir boyut aralığında olmalıdır. Ayrıca, MKların stabilitesi ve raf ömrü de endüstriyel üretim açısından önem arz etmektedir. Bu faktörler kabuğun fiziko-kimyasal özelliği ve kapsüllenen gaz ile çevreleyen sulu ortamın taşıma özelliği ile etkileşime girebilmekte ve buna göre değişkenlik gösterebilmektedir [10, 11, 12, 13].

Bir gazın yoğunluğu, çözünürlüğü ve molar hacminden yola çıkarak, MKların stabilitesini Denklem 1' de verilen matematiksel bir ifade ile hesaplanabilmekte ve kabarcık boyutu-hayatta kalma zamanı, gaz molekül ağırlığına göre tahmini Q değeri gibi bulunabilmektedir [11]. Q değeri 5'ten büyükse, X gazından oluşan MKlar, mikro hava kabarcıklarına göre daha kararlı ve çözelti içinde daha uzun süre hayatta kalabilirler. Q değeri ne kadar artarsa kabarcıkları daha kararlıdır ve daha uzun bir şekilde patlamadan stabil kalabilirler. Bu, tıbbi uygulamalarda daha uzun süreli ve iyi bir kontrast sağlamaktadır [14].

$$Q = 4,0 \times 10^{-7} [p_x / c_x \times D_x] \quad (1)$$

Literatürde MKlar lipid, protein, polimer gibi koruyucu bir kabuğun, oksijen, perflorokarbon veya kükürt heksaflorür gibi çeşitli gazları kapsüllemesiyle meydana gelmektedir. Lipid, protein, polimer kapsülasyonları MK yapısına fazla rijitlik kazandırarak, kontrastı ve stabiliteyi düşürme gibi çeşitli dezavantajlar taşımaktadır [11].

Bu çalışma, literatürde çalışılmamış olan yüksek bir Q-değerine sahip perfloropropan ile daha düşük bir Q-değerine sahip n-pentan kullanılarak sentezlenen MKların, silika ile kapsülленerek, biyomedikal alanda kullanılması amacıyla 1-5 µm aralığında stabil SKMK (silika kapsül mikro kabarcık) emülsiyonlarının oluşturulması hedeflenmiştir.

Materyal ve Metot

Malzemeler ve karakterizasyon

Çekirdek stabilizasyonu için perfloropropan (%99 saf) (C₃F₈) ABCR' den ve n-pentan (%99 saf) (C₅H₁₂) Merck'ten temin edilmiştir. Silis kaynağı tetraetoksisilan (%99 saf) (C₃H₂₀O₄Si) Alfa Aesar' dan temin edilmiştir. Sürfaktan olarak tween 85 (C₆₀H₁₀₈O₈·(C₂H₄O)_n, Merck'ten, capstone FS-30 Dupont'dan, D-sorbitol (C₆H₁₄O₆) Sigma Aldrich'den temin edilmiştir. Katalizör olarak kullanılan amonyak (NH₃) (%24 saf) Birpa' dan temin edilmiştir.

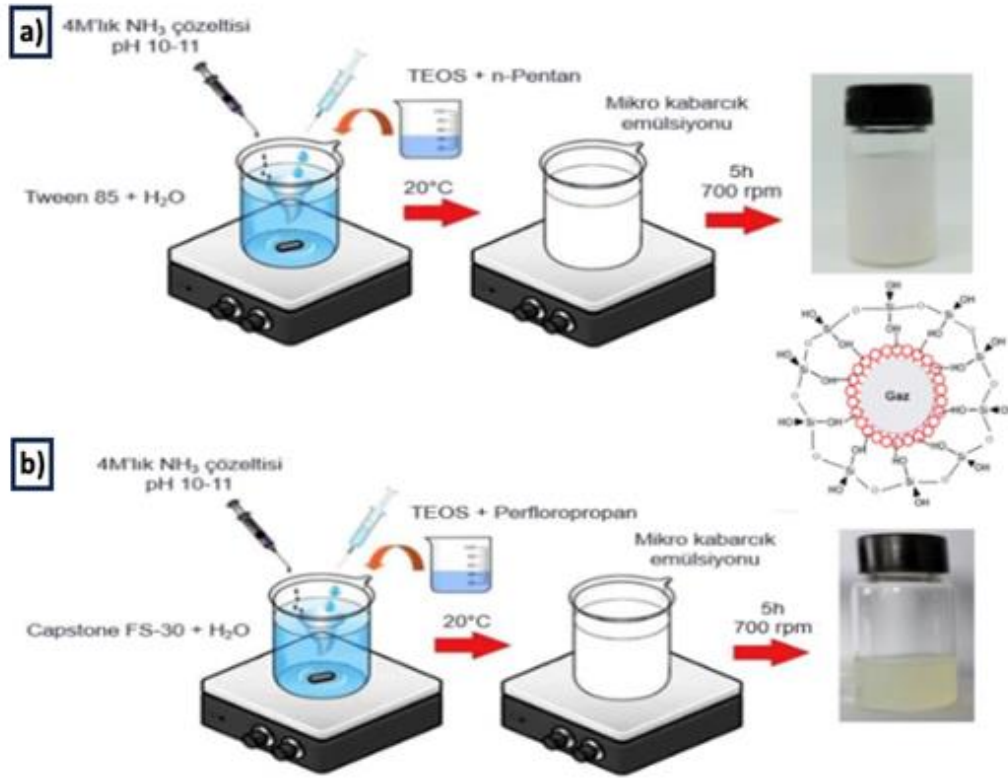
SKMK dispersiyonlarının zeta potansiyelleri ve hidrodinamik çapları Malvern Zetasizer Nano ZS serisi karakterizasyon cihazı ile belirlenmiştir. FT-IR spektrometresiyle, oluşturulan SKMKların yapısındaki fonksiyonel gruplar ve TEOS hidroliz takibi, Perkin Elmer TWO model FT-IR spektrometresiyle 400–4000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında sıvı ölçüm aparatı ve ATR tekniğiyle gerçekleştirilmiştir. OLYMPUS-BX41M model mikroskoba bağlı OLYMPUS-DP20 kamera sistemi yardımıyla lam üzerine damlatılan dispersiyonlardan görüntüler alınmış ve mikron boyutlu yapıların partikül çapı ve yapısı incelenmiştir. Dispersiyon pH değerleri XS Instruments pH 60 VioLab pH metre ve CS 201T pH elektrotu ile ölçülmüştür. Zeiss Leo 906E marka geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ile 80kV' da sentezlenen SKMKların morfolojisi ve boyutları karakterize edilmiştir.

Metot ve yöntem

T85 ve n-pentan (C₅) sisteminin hazırlanması

Farklı miktarlardaki ultra saf suya farklı miktarlarda T85 sürfaktanı eklenerek 10 dakika boyunca homojenizatörde karıştırılmıştır. İkinci bir kap içerisine 12,72 g TEOS eklenmiş ve karışım halindeyken

üzerine 3 g n-pentan (C_5) (Q değeri = 21-80) kaba hızlıca eklenmiştir. 36,1°C kaynama noktasına sahip olan n-pentan'ın ortamdaki uzaklaşmasını önlemek amacıyla buz banyosu kullanılarak sistem sıcaklığı 20°C'ye sabitlenmiş ve kap gaz çıkışı olmayacak şekilde, manyetik karıştırıcıda 700 rpm'de 10 dakika boyunca karıştırılmıştır. Karışım sonunda ikinci kaptaki TEOS ve n-pentan çözeltisi T85 sürfaktanı içeren çözeltiliye damla damla (20 μ L/dakika) eklenmiştir. Sistem 1 saat boyunca karıştırılmış ve daha sonra farklı miktarlarda katalizör eklenerek 5 saat boyunca 700 rpm'de sol-jel yöntemi ile SiO_2 kapsüllü MK emülsiyonu oluşumu için karıştırılmaya bırakılmıştır (Şekil 1a). İlgili veriler Tablo 1'de verilmiştir. Katalizör olarak kullanılan amonyak çözeltisi (NH_3) %24'lük ($d=1,097$ g/ml), 4,00 M'lık hazırlanmıştır.



Şekil 1 (a) T85 / C_5 , (b) FS-30 / C_3H_8 sistemlerinin hazırlanışının şematik gösterimi

Figure 1 Schematic representation of the preparation of (a) T85 / C_5 , (b) FS-30 / C_3H_8 systems

FS-30 ve perfloropropan (C_3F_8) sisteminin hazırlanması

25,77 g ultra saf suya farklı miktarlarda florosürfaktan olan FS-30 eklenerek 10 dakika boyunca homojenizatörde karıştırılmıştır. İkinci bir kap içerisine 4,24 g TEOS eklenmiş ve karışım halindeyken üzerine farklı hacimlerde perfloropropan (C_3F_8) (Q değeri = 1001-10000) enjekte edilerek gaz çıkışı olmayacak şekilde, manyetik karıştırıcıda 700 rpm'de 10 dakika boyunca karıştırılmıştır. Karışım sonunda ikinci kaptaki TEOS ve perfloropropan çözeltisi FS30 sürfaktanı içeren çözeltiliye damla damla (20 μ L/dakika) eklenmiş ve sistem 1 saat boyunca karıştırılmıştır. Karışıma 1,27 g amonyak katalizörü eklenerek 5 saat boyunca 700 rpm'de karıştırılarak Şekil 1b'de görüldüğü gibi SKMK emülsiyonu oluşumu için karıştırılmaya bırakılmıştır.

Tablo 1 T85 / C_5 sistemi ve FS-30 / C_3H_8 sistem sentezleri

Table 1 Syntheses of the T85 / C_5 system and the FS-30 / C_3H_8 system

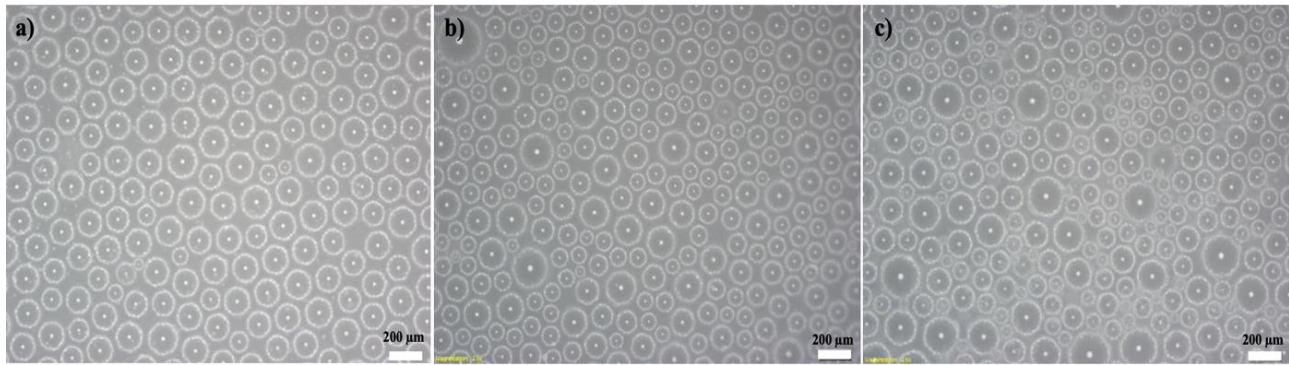
Kullanılan Kimyasallar

Sistem Numarası	T85 (g)	H ₂ O (g)	C ₅ (g)	TEOS (g)	SiO ₂ (%)	NH ₃ (4M) (g)
1A	1,10	79,36	3	12,72	3,67	3,82
1B	1,57	79,89	3	12,72	3,67	3,82
1C	2,36	78,10	3	12,72	3,67	3,82
2A	1,57	223,59	3	12,72	1,5	3,82
2B	1,57	223,59	3	12,72	1,5	2,54
2C	1,57	223,59	3	12,72	1,5	1,90
2D	1,57	223,59	3	12,72	1,5	1,27

	FS30 (g)	H ₂ O (g)	C ₃ H ₈ (cc)	TEOS (g)	SiO ₂ (%)	NH ₃ (4M) (g)
3A	4,22	25,77	1	4,24	1,5	1,27
3B	4,22	25,77	1,5	4,24	1,5	1,27

Tartışma

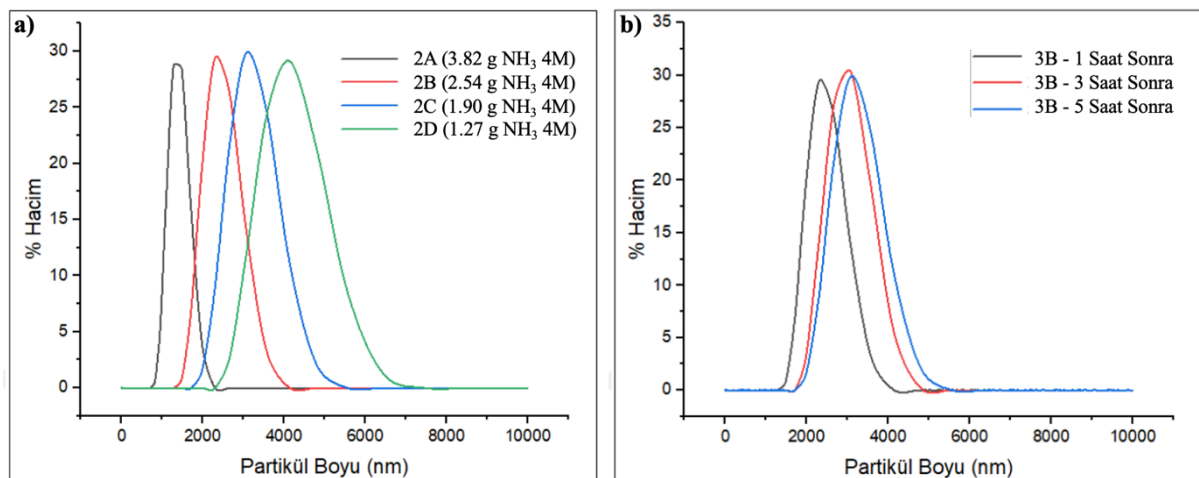
T85 sürfaktan miktarı optimizasyonunda 1A, 1B ve 1C sistemlerine ait optik mikroskop görüntüleri Şekil 2'de gösterilmiştir. Kırılma indisi farkı ile çekirdeği oluşturan n- pentandan, inorganik kabuk yapısını oluşturan SiO₂ yapıların varlığı gözlemlenebilmektedir. Sistem 1'de üretilen tüm SKMKlar düşük stabiliteye sahip olup, MKlar sentezlendikten sonra hava ile etkileşime girerek hızlıca aglomere olmuştur (Şekil 2). SKMKların dispersiyonu, sentezlendikten sonra 7 gün boyunca sabit ve ışık almayan bir ortamda bekletilmiş ve SKMKlar dispersiyon dibine çökerek gözle görülebilir bir aglomerasyona uğramışlardır. En az dip kalıntı olan dispersiyon, 1,57 g (ağırlıkça %10) T85 sürfaktanı eklenmiş 1B sisteminde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2 T85 sürfaktanı ve n-pentan ile hazırlanan sistemlerin optik mikroskop görüntüleri, (a) 1A, (b) 1B, (c) 1C sistemleri

Figure 2 Optical microscope images of systems prepared with T85 surfactant and n-pentane, (a) System 1A, (b) System 1B, (c) System 1C

2A, 2B, 2C ve 2D sistemlerinde NH₃ katalizör miktarının azalmasıyla parçacık boyutunun büyüdüğü gözlemlenmiştir. Şekil 3'te verilen DLS verilerine göre, sırasıyla 3,82 g (pH=11,65), 2,54 g (pH=11,23), 1,90 g (pH=10,89), ve 1,27 g (pH=10,43) olacak şekilde azaltılan NH₃ katalizör miktarı ile hidrodinamik parçacık boyutu sırasıyla 1,281 µm, 2,305 µm, 3,091 µm ve 4,145 µm ölçülmüştür (Şekil 3a). 2A, 2B, 2C ve 2D sistemlerinin sırasıyla zeta potansiyeli; -39,1 mV, -35,8 mV, -30,9 mV, -29,7 mV olarak ölçülmüştür (Tablo 2). Sistem 2'de üretilen tüm parçacıklar stabil olup, 15 gün stabilite testinden sonra herhangi bir dip kalıntı gözlemlenmemiştir. 2A, 2B ve 2C sistemleri stabil silika zeta potansiyeli -30mV'un altında olup en stabil sistem ve en düşük parçacık boyutuna sahip olan sistem olarak seçilmiştir [15, 16].



Şekil 3 (a) 2A, 2B, 2C, 2D sistemlerinin hacimce partikül boyut dağılım grafiği, (b) 3B sisteminin 1. 3. ve 5. Saat sonunda ölçülen hacimce hidrodinamik partikül boyut dağılım grafiği

Figure 3 (a) Volumetric particle size distribution graph of the systems 2A, 2B, 2C, 2D, (b) Volumetric hydrodynamic particle size distribution graph measured after 1, 3, and 5 hours for the 3B system

C_3H_8 ' in miktarları değiştirilerek incelenene 3A ve 3B sistemlerinde, 1 mL C_3H_8 eklenmiş 3A sisteminde homojen bir dağılım olmadığı DLS ile belirlenmiştir. 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 şeklinde olup zeta potansiyeli; -21,2 mV'dur. Şekil 3b'de görülen 1,5 mL C_3H_8 kullanılarak elde edilen 3B sisteminde, SKMKlar dispersiyon içerisinde tekil dağılıma sahip olup, 1. saat, 3. saat ve 5. saatlerdeki tanecik boyutu sırasıyla 2,305 μm , 3,091 μm ve 3,095 μm şeklindedir. 3A sistemine göre daha ideal bir sistem olan 3B dispersiyonun zeta potansiyeli; -4,9 mV olup, SKMK dispersiyonunda 15 günlük stabilite testi sonunda herhangi bir dip kalıntı gözlenmemiştir.

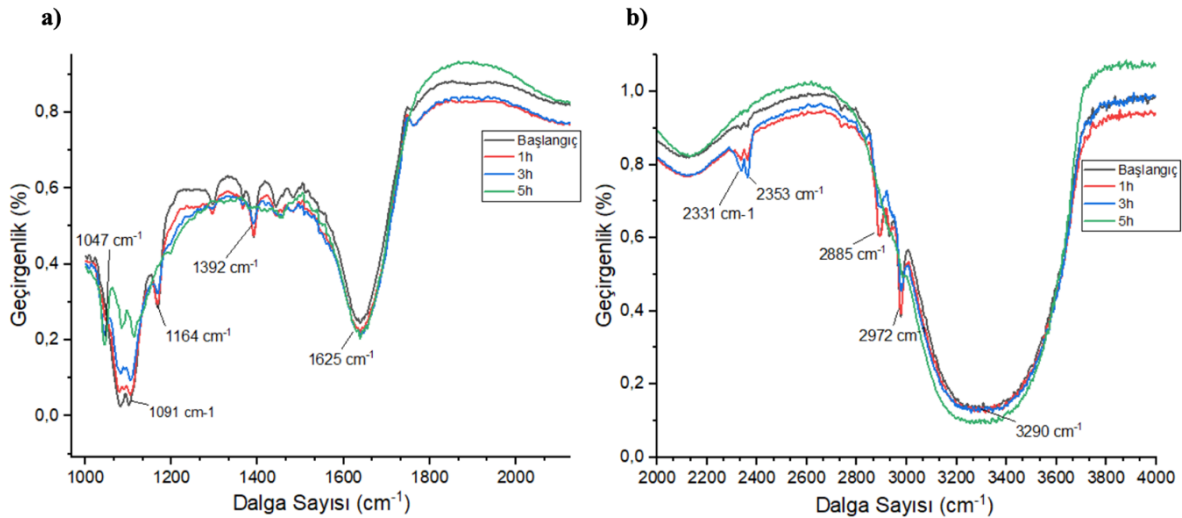
Tablo 2 T85/ C_5 sistemi ve FS30/ C_3H_8 ile hazırlanan sistemlerinin ortalama hidrodinamik partikül boyutları ve zeta potansiyelleri

Table 2 Average hydrodynamic particle sizes and zeta potentials of the systems prepared with T85/ C_5 and FS-30/ C_3H_8

<u>Sistem Numarası</u>	<u>Hidrodinamik Partikül Boyutu (μm)</u>	<u>Zeta Potansiyeli (mV)</u>
2A	1,281	-39,1
2B	2,305	-35,8
2C	3,091	-30,9
2D	4,145	-29,7
3A	5,556	-21,2
3B	3,095	-41,9

Bazik karakterli amonyak (NH_3) katalizörüne ek olarak, 4M asetik asit (CH_3COOH) katalizörü ile de farklı parametreler denenmiş olup, asit katalizli yapılan tüm sistemlerde jelleşme olduğu gözlemlenmiştir.

2A sistemi olan SiO_2 çeperli C_5 çekirdek yapıları SKMKların, başlangıç (taze sentez), 1. 3. ve 5. saat sonra FT-IR spektrumu çekilmiştir. TEOS hidrolizi sonucunda oluşan tetrahidroksisilan yapısı, kondenzasyon reaksiyonları ile SiO_2 çeper yapısını meydana getirmektedir. TEOS hidrolizi, 1091 cm^{-1} ($Si-O$ asimetrik gerilmesi) bandındaki pik şiddetinin reaksiyon süresi boyunca azalması ile anlaşılmaktadır. Şekil 4'te görülen FT-IR spektrumları incelendiğinde, reaksiyon süresinin artırılmasıyla 1047 cm^{-1} 'deki $Si-O-Si$ pik şiddetinde bir artış gözlemlenmektedir [17]. 1164 cm^{-1} 'de görülen pik T85 yapısında bulunan $C-O$ asimetrik gerilmesinden [16], 1392 cm^{-1} 'deki pik simetrik $C-H$ eğilmesinden, 2885 cm^{-1} 'deki pik $-CH_2$ asimetrik $C-H$ gerilmesinden, 2972 cm^{-1} 'deki pik $-CH_3$ 'e ait asimetrik $C-H$ gerilmesinden kaynaklanmaktadır. 1635 cm^{-1} 'deki pik T85 yapısında bulunan karbonil grubuna ait $C=O$ asimetrik gerilmesinden ve ortamda bulunan NH_3 katalizörüne ait $N-H$ eğilmesinden, 3290 cm^{-1} 'deki pik ise H_2O 'daki $-OH$ asimetrik gerilmelerinden kaynaklanmaktadır [19, 20].

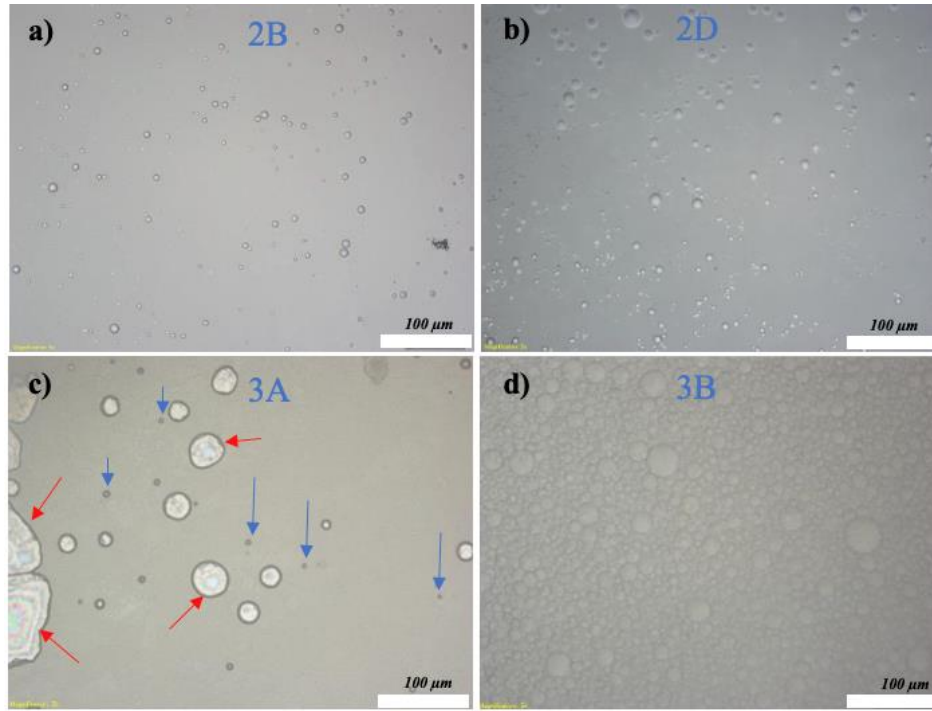


Şekil 4 2A sisteminin başlangıç (taze sentez), 1, 3 ve 5 saat sonraki FT-IR spektrumu; (a) $1000-2000\text{ cm}^{-1}$, (b) $2000-4000\text{ cm}^{-1}$

Figure 4 FT-IR spectrum of the 2A system at the initial (fresh synthesis) after 1, 3, and 5 hours; (a) $1000-2000\text{ cm}^{-1}$, (b) $2000-4000\text{ cm}^{-1}$

Ölçümlerin devamlılığı ve stabilizasyon için SKMK dispersiyonu hava almayan kaplarda muhafaza edilmiştir. 10 dakikayı geçen sürelerde ise hava ile etkileşime girerek SKMKlar patlamıştır. Hava almayan kapalı plastik bir kap içerisinde muhafaza edildiğinde ise 2. ve 3. sistemlerdeki SKMK dispersiyonlarının

hepsi, 7 günden fazla stabilitesini korumaktadır. Şekil 5'te optik mikroskobu ile alınan tüm ölçümlerde SKMK dispersiyonu lam üzerinde kuruma ve hava ile etkileşim sürecine girdiğinden dolayı partikül boyutları DLS verilerine göre büyük gözlemlenmiştir. 2A, 2B, 2C ve 3B sistemleri en stabil sistemlerdir. Ancak bu sistemlerde bile dispersiyon içerisinde alınan numunelerde aglomerasyon kinetikleri ile genişleyen C_5 ve C_3H_8 zamanla partikül boyutlarının büyümesine neden olmaktadır [21, 22].



Şekil 5: T85/ C_5 ile hazırlanan SKMKlara ait optik mikroskobu görüntüleri, (a) 2B sistemi, (b) 2D sistemi; FS-30/ C_3H_8 ile hazırlanan SKMKlara ait optik mikroskobu görüntüleri, (c) 3A sistemi, (d) 3B sistemi

Figure 5 Optical microscope images of SMKs prepared with T85/ C_5 , (a) System 2B, (b) System 2D; optical microscope images of SMKs prepared with FS-30/ C_3H_8 , (c) System 3A, (d) System 3B

Şekil 5'te verilen optik mikroskobu görüntüleri incelendiğinde, çekirdek yapısı n-pentan ve çeperi silika olan 2 numaralı sistemlerde kırılma indisi farkı sebebiyle çeperler net olarak optik mikroskobunda görülmektedir. 2B, 2C ve 2D sistemlerindeki NH_3 konsantrasyonunun giderek azaltılması, SKMKların partikül boyutunu arttığı görülmüştür [23] (Şekil 5a, 5b, 5c).

Şekil 5d, 5e ve 5f'de literatürde Q değeri 1001-10.000 arasında olan ve yüksek stabilite sağladığı bilinen C_3F_8 çekirdek yapıları 3 numaralı sistemlerin optik mikroskobu görüntüleri verilmiştir. Şekil 5d'de 3A sistemine ait optik mikroskop görüntülerinde mavi oklar ile gösterilen $\sim 5 \mu m \pm 2 \mu m$ yapıların yanı sıra kırmızı ok ile gösterilen küresel ve küresel olmayan daha büyük boyutlarda sahip agregasyonların olduğu görülmektedir. Homojen olmayan bu SKMKlar hava ile etkileşime girdikten sonra çeperlerden bozulmalar başlamaktadır. Şekil 5e'de 3B sistemine ait optik mikroskop görüntüsü incelendiğinde, SKMKların 3A sistemine göre daha homojen boyutlarda olduğu görülmektedir. Bu sistemdeki SKMKlar hava ile etkileştikten sonra 15 dakika boyunca stabil halde kalabilmektedir.

Sonuç

Bu çalışmada, ultrason kontrast ajanı olarak tıbbi ultrason görüntüleme için kullanılması amacıyla SKMKlar sentezlenmiştir. Literatürde daha önce çalışılmamış çekirdek/kapsül malzemesi sistemleri olarak, Q değeri 21-80 olan n-pentan (C_5) ve Q değeri 1001-10000 olan perfloropropan (C_3F_8), sırasıyla Tween 85 (T85) ve Capstone FS-30 sürfaktanları kullanılarak sol-jel yöntemi ile silika kapsülasyonu sağlanmıştır. İki farklı sistem üzerinde yapılan optimizasyon çalışmaları ile ideal sürfaktan miktarının C_5 sistemleri için ağırlıkça %10 olduğu saptanmıştır. Ayrıca NH_3 katalizörünün ~ 3 kat artırılması ile ortalama hidrodinamik partikül boyutunun $4,145 \mu m$ 'den $1,281 \mu m$ 'ye düştüğü ve zeta potansiyel değerinin ise sırasıyla $-29,7 mV$ ve $-39,1 mV$ olduğu görülmüştür. İdeal olarak belirlenen sistemlerin 7 gün boyunca emülsiyonda stabil olarak kaldığı ve hava ile etkileşimi esnasında ise 10 dakikaya kadar stabil kaldığı gözlemlenmiştir. C_3H_8 sistemlerinde C_3H_8 miktarının 1,5 kat artırılması ile zeta potansiyel değerleri sırasıyla $-21,2 mV$ ve $-41,9 mV$ olup, ortalama hidrodinamik parçacık boyutunun ise $5,556 \mu m$ 'den $3,095 \mu m$ 'ye düştüğü belirlenmiştir. İdeal C_3H_8

sistemi ile oluşturulan SKMKların 15 güne kadar emülsiyon içerisinde, 15 dakika da hava ile etkileşimi sonunda stabilitesini koruduğu gözlemlenmiştir.

Abbreviations/Kısaltmalar

MK: Mikro kabarcık; MKs: Mikro kabarcıklar; SKMK: Silica kapsül mikro kabarcık; SKMKs: Silica kapsül mikro kabarcıklar, T85: Polyoxyethylenesorbitan trioleate; FS-30: Capstone FS-30 floro surfactant

Acknowledgments / Teşekkürler

We would like to thank the administrators and staff of Akdeniz University for their valuable support.

Akdeniz Üniversitesi yönetimi ve personeline bu çalışmadaki değerli destekleri için teşekkür ederiz.

Funding / Fon desteği

This research was funded by Akdeniz University Scientific Research Project Coordination Unit with the project number FYL-2021-5550.

Bu araştırmanın fonu, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2021-5550 proje numarası ile desteklenmiştir.

Data Availability statement / Veri Kullanılabilirliği bildirimi

The author confirms that the data supporting this study are cited in the article.

Yazar, bu çalışmayı destekleyen verilere makalede atıfta bulunulduğunu onaylamaktadır.

Compliance with ethical standards / Etik standartlara uyum

Conflict of interest / Çıkar çatışması

The author declare no conflict of interest.

Yazar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

Ethical standards / Etik standartlar

The study is proper with ethical standards.

Çalışma etik standartlara uygundur.

Authors' contributions / Yazar katkıları

This research paper is derived from Gizem Moğol's master's thesis, for which she conducted the research and experiments. İbrahim Emre Gültaktı assisted in the research and co-authored the paper with Murat Akarsu.

Bu araştırma makalesi, Gizem Moğol'un yüksek lisans tezinden türetilmiş olup araştırma ve deneylerini yapmıştır. İbrahim Emre Gültaktı araştırmalarda yardımda bulunmuş olup Murat Akarsu ile beraber makalenin yazarıdır.

Kaynaklar

1. Meltzer R. S., Klig V., and Teichholz L.E., Generating precision microbubbles for use as an echocardiographic contrast agent, Journal of the American College of Cardiology, 1985. 5(4): p. 978-82. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(85\)80443-5](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(85)80443-5)
2. Paul S., et al., Encapsulated microbubbles and echogenic liposomes for contrast ultrasound imaging and targeted drug delivery, Computational Mechanics., 2014. 53(3): p. 413-435. <https://doi.org/10.1007/s00466-013-0962-4>
3. Rudakovskaya PG., et al., Microbubbles Stabilized by Protein Shell: From Pioneering Ultrasound Contrast Agents to Advanced Theranostic Systems, Pharmaceutics, 2022. 14(6): p.12-36. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061236>
4. Holman,R. et al., Perfluorocarbon Emulsion Contrast Agents: A Mini Review, Frontiers in Chemistry. 2022. 9:810029. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.810029>
5. Stride E., and Saffari N. Microbubble ultrasound contrast agents: a review. Proc Inst Mech Eng H. 2003. 217(6): p. 429-47. <https://doi.org/10.1243/09544110360729072>
6. S. Unnikrishnan, and A. L. Klivanov, Microbubbles as ultrasound contrast agents for molecular imaging: preparation and application, American journal of roentgenology, 2012. 199(2), p. 292-9. <https://doi.org/10.2214/AJR.12.8826>
7. Butler, BD., Production of microbubbles for use as echo contrast agents, Journal of Clinical Ultrasound, 1986, 14(5): p. 408-412. <https://doi.org/10.1002/jcu.1870140517>
8. Chowdhury, SM., Lee, T., and Willmann, JK, Ultrasound-guided drug delivery in cancer, Ultrasonography, 2017. 36(3): p. 171-184. <https://doi.org/10.14366/usg.17021>
9. Burgess A., and Hynynen K, Microbubble-Assisted Ultrasound for Drug Delivery in the Brain and Central Nervous System. In: Escoffre JM, Bouakaz A, Editors. 2019, Therapeutic Ultrasound. Cham: Springer International Publishing, p. 293-308 https://doi.org/10.1007/978-3-319-22536-4_16
10. Kabalnov, A., et al., Dissolution of multicomponent microbubbles in the bloodstream: 1. Theory, Ultrasound in Medicine & Biology, 1998. 24(5): p. 739-49. [https://doi.org/10.1016/S0301-5629\(98\)00034-9](https://doi.org/10.1016/S0301-5629(98)00034-9)
11. Sirsi S., and Borden M., Microbubble compositions, properties and biomedical applications, Bubble science engineering and technology, 2009. 1(1-2): p. 3-17. <https://doi.org/10.1179/175889709X446507>
12. Blomley, MJK., et al., Do different types of liver lesions differ in their uptake of the microbubble contrast agent SH U 508A in the late liver phase? Early experience, Radiology, 2001. 220(3): p. 661-7. <https://doi.org/10.1148/radiol.2203992044>

13. Van, L.H.D., and Raychaudhuri S., Stabilized bubbles in the body: pressure-radius relationships and the limits to stabilization, *Journal of Applied Physiology*, 1993. 82(6): p. 2045–2053. <https://doi.org/10.1152/jappl.1997.82.6.2045>
14. Quay, S.C., Ultrasound contrastagents containing microbubbles of perfluorocarbon gasses. United States Patent Application Publication, 2004. Pub. No.:US 2004/0126321 A1.
15. Jain A.K., Thareja S. In vitro and in vivo characterization of pharmaceutical nanocarriers used for drug delivery. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* 2019;47:524–539. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1561457>
16. Hamamoto S., Takemura T., Suzuki K., Nishimura T. Effects of pH on nano-bubble stability and transport in saturated porous media. *J. Contam. Hydrol.* 2018;208:61–67. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2017.12.001>
17. Herth E., Zeggari R., Rauch JY., Remy-Martin F., Boireau W. Investigation of amorphous SiO_x layer on gold surface for Surface Plasmon Resonance measurements. *Microelectron. Eng.* 163, C (September 2016), 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.mee.2016.04.014>
18. Chen BH, Liu JZ, Yuan JF, Zhou JH, Cen KF. Adsorption Behaviour of Tween 85 on Nano-Aluminium Particles in Aluminium/JP-10 Suspensions. *J Nanosci Nanotechnol.* 2019 Apr 1;19(4):2108-2115. <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.15803>
19. M. Jackson, H. Mantsch, *Medical Science Applications of IR, Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Second Edition) 1999*, Pages 1494-1502. ISBN-10:0122266811, ISBN-13:978-0122266812
20. A. B. Nandiyanto, R. Oktiani, R. Ragadhita, How to Read and Interpret FTIR Spectroscopy of Organic Material, *Indonesian Journal of Science & Technology* ,07 Mar 2019-Vol. 4, Iss: 1, pp 97-118. <https://doi.org/10.17509/ijost.v4i1.15806>
21. Park B, Yoon S, Choi Y, Jang J, Park S, Choi J. Stability of Engineered Micro or Nanobubbles for Biomedical Applications. *Pharmaceutics.* 2020 Nov 13;12(11):1089. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12111089>
22. Quay, Steven C. Edmonds, Use of selected perfluorocarbons for the preparation of diagnostic ultrasound contrast agents, European Patent Application, 27.09.2000, Pub. No. EP 1 038 535 A2
23. Zeng D, Zhang H, Wang B, Sang K, Yang J. Effect of Ammonia Concentration on Silica Spheres Morphology and Solution Hydroxyl Concentration in Stober Process. *J Nanosci Nanotechnol.* 2015 Sep;15(9):7407-11. <https://doi.org/10.1166/jnn.2015.10595>