

FENOLİK BİLEŞİKLERİN ENKAPSÜLASYONU

Eylem Atak¹, Esmâ Yıldız¹, Mehmet Emin Uslu^{1*}

ÖZET

Enkapsülasyon teknolojisi günümüzde hem akademik hem endüstriyel alanda çokça başvurulan bir yöntemdir. Aktif maddenin kararlılığının korunması, etkinliğinin artırılması, dış etkilerden korunması ve yavaş salımı için kullanılan enkapsülasyon işlemi aktif bir maddenin başka bir maddeyle kaplanması yada hapsedilmesiyle oluşan sistemlerdir. Boyutlarına göre nano ve mikro olarak ikiye ayrılır. Enkapsülasyon işleminin uygulandığı birçok teknik mevcuttur. Bunlardan bazıları; püskürterek kurutma, püskürterek soğutma, ekstraksiyon, koaservasyon, liyofilizasyon ve emülsifikasyondur. Bu tekniklerden uygun olan tercih edilirken, uygulanacak proses, çekirdeği oluşturan aktif maddenin yapısı, mikro veya nanokapsül için uygulanması, elde edilmesi istenen parçacık boyutu, çekirdek ve çekirdeği kaplayan duvarın fiziksel ve kimyasal özellikleri, serbest salım mekanizması, üretim ölçeği ve maliyet gibi faktörler göz önünde bulundurulur. Çeşitli yöntemlerle elde edilen nano/mikro boyutlu kürelerin boyut ve yüzey analizlerinin yapılması, hedeflenen ürüne ulaşması konusunda yol göstericidir. Fenoller bitkiler tarafından salgılanan canlılar için birçok açıdan yararlı olan hidroksil grubuna sahip benzen halkalarıdır. Eczacılık, tıp, kimya alanlarında ve endüstride sıkça kullanılan bir aktif bileşendir. Isı, ışık, oksijen, vücutta kalma süresi, vücut içindeki diğer besin maddeleri fenollerin etkinliğini azalttığı için literatürde fenollerin enkapsülasyonu çalışmalarına sıkça rastlanılmaktadır

Anahtar Sözcükler: Fenolik bileşikler, Enkapsülasyon, Mikrokapsülasyon, Nanoenkapsülasyon,

ABSTRACT

Encapsulation technology is a frequently applied method both in academic and industrial fields today. The encapsulation process used to protect the stability of the active substance, increase efficiency, protect from external influences and slow down will be integrated by covering or imprisoning an active substance with another substance. Encapsulation is divided into nano and micro according to their sizes.

There are many techniques in which the encapsulation process is applied. Some of these techniques are spray drying, spray cooling, extraction, coevaporation, lyophilization and emulsification. When the appropriate one of these techniques is preferred, these factors are taken into account; the structure of the active substance forming the core, the application of the microcapsule or nanocapsule, the desired particle size to be obtained, the physical and chemical properties of the core and core wall, the release mechanism, taken. The size and surface analysis of nano / micro-sized spheres obtained by various methods is a guide for reaching the target product. Phenols are benzene rings with a hydroxyl group useful in many

¹ Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Manisa

* Öğr.Gör.Dr. , E-posta: emin.uslu@cbu.edu.tr Yazışmaların Yapılacağı Yazar.

respects for organisms secreted by plants. It is an essential compound used in encapsulation applications and used in the fields of pharmacy, medicine, chemistry and the industry.

Keywords: Phenolics, Encapsulation, Micro-encapsulation, Nano-encapsulation

1. GİRİŞ

Enkapsülasyon, katı, sıvı veya gaz halindeki aktif maddelerin farklı bir madde ve sistemle kaplanması işlemidir (Gökmen ve ark., 2012). Küçük çekirdek malzemesinin bir duvar malzemesi içinde hapsediği ve kapsül oluşturduğu sistemlerdir (Ezhilarasi ve ark., 2012). Enkapsülasyon işlemleri, aktif maddeyi dış etmenlerden korumayı, aktif bileşenin kararlı olmasını ve yavaş salımını amaçlar (Andrade ve ark., 2015; Gökmen ve ark., 2012). Aktif bileşenin doğru zamanda ve doğru yerde salımı ürünün işlevselliğini artırır (Ezhilarasi ve ark., 2012). Bu anlamda kapsülleme teknolojisi gıda, kimya, tıp, eczacılık, veterinerlik, biyoteknoloji ve kozmetik gibi birçok alanda sıkça başvurulan bir yöntem haline gelmiştir (Gökmen ve ark., 2012). Enkapsülasyon işlemleri etkin maddenin aktif izolasyonu, kaplanması, muhafazası ve kontrollü salımı olarak sıralanabilir (Andrade ve ark., 2015). Aktif maddenin ve taşıma sisteminin fonksiyonunun korunması için dikkat edilmesi gereken bazı unsurlar vardır. Bu hususlar aşağıdaki gibidir;

- Amaca uygun aktif maddenin belirlenmesi,
- Aktif maddeye uygun kaplama malzemesinin belirlenmesi,
- Uygun kaplama yönteminin belirlenmesi,
- Aktif maddenin ve kaplama malzemesinin fiziko-kimyasal özellikleri,
- Aktif maddeye ve kaplama malzemesine uygun işlem koşulları,
- Aktif maddenin muhafaza süresi,
- Enkapsülasyon işleminden sonraki depolama koşulları,
- Parçacık boyutu ve yoğunluğu,
- Maliyeti (Gökmen ve ark., 2012)

Enkapsülasyon çeşitleri boyutlarına göre ikiye ayrılır.

1.1 Micro-enkapsülasyon

Mikro-kapsülasyon uygun etken maddeden meydana gelen mikro boyutta bir çekirdek ve onu çevreleyen bir kabuktan oluşur. Kabuk aktif bileşiği ortamın etkilerinden korur ve uygun oranda salımına izin verir. Mikro-kapsüller boyutları 0.2 µm'den daha büyük salıma izin veren kabuk ve çekirdekten oluşur.(Paulo ve Santos, 2017). Mikro-kapsüller farklı şekillere sahip olabilirler. Şekilleri aktif maddeye ve kaplama metoduna göre değişir. Aktif maddenin şekline göre düzensiz ve tam bir küre şeklinde olabilir. Çok çekirdekli, tek çekirdekli yada matris yapısına sahip olabilirler.

1.2 Nano-enkapsülasyon

Nano-kapsülasyon, boyutları 10 ile 1000 nm arasında olan aktif maddenin çekirdek içinde çözünür halde olduğu yada yüzeye bağlanmış halde bulunan küçük parçacıklardır (Derman ve ark., 2013). Hazırlama yöntemlerine göre nanoküre ve nanokapsül olarak iki gruba ayrılırlar (Demir, 2013). Hücre içi alımına bakıldığında nano boyutlu kapsüller micro boyutlu kapsüllere göre daha avantajlıdır. Derman ve arkadaşları Caco-2 hücreleriyle yaptıkları çalışmalarında nano boyutlu kapsüllerin mikro boyutlu kapsüllere oranla neredeyse 6 kat daha fazla alımını göstermişlerdir. (Derman ve ark., 2013)

Nanokapsüllerde aktif bileşen bir kaplama metaryeli ile hapseldilmiş ve bir boşlukla sınırlanmış veziküler sistemlerdir. **Nanoküreler**, küre içinde aktif bileşenin fiziksel ve homojen olarak dağılmış matriks sistemleridir (Hamidi ve ark., 2008).

2. NANOKAPSÜLASYONUN AVANTAJLARI

- Sterilizasyonları kolaydır.
- Fiziksel olarak parçalanabilirler ve çıkan ürün toksik değildir.
- Etkin maddeyi hapsedme kapasiteleri yüksektir. Bu sayede hücre içine etkin maddenin çok miktarda salımı yapılabilir.
- Biyolojik alanlarda birçok uygulamada kolaylık sağlarlar.
- Boyutları küçük olduğundan hücre içine alımı daha kolaydır.
- Etkin maddenin kararlılığını ve verimini artırır.
- Üretim teknikleri basit ve kolay uygulanabilir.
- Hedef bölgeye yüksek etkinlik gösterdiğinden diğer bölgelerde toksinliği azaltır (Derman ve ark., 2013).

3. FENOLİK BİLEŞİKLER VE KAPSÜLENMESİ

Fenolik bileşikler benzen halkasına bağlı bir veya birden fazla hidroksil ve fonksiyonel gruba sahip maddelerdir. Doğal antioksidanların en aktif üyeleridir (Güleşci ve Aygül, 2016). Fenolik bileşiklerin başlıca kaynağı bitkilerdir. Fenolik bileşikler bitkilerin sekonder metabolitleridir. Her bitki kendisini korumak amaçlı birçok fenolik bileşiği farklı nitelik ve miktarlarda üretirler. Fenolik bileşikler bitkilerde en çok bulunan maddedir ve günümüze kadar 5000 den fazla fenol bileşiğinin yapısı tanımlanmıştır. Fenoller bitkilerin metabolizmasında sürekli olarak bulunanları olmakla birlikte örneğin meyve/sebze yapısında tat ve renk vermekte görevli olanlar, stres altında bitkinin korunma amaçlı ürettiği metabolitler olabilirler örneğin resveratrol (Nizamlioğlu ve Nas,2010).

Sahip olduğu özelliklerinden dolayı ilaç endüstrisinde, gıda endüstrisinde, eczacılık ve tıp alanlarında son zamanlarda polifenoller araştırılmasında artış sağlanmıştır. Polifenoller bitkinin hemen hemen her yerinde üretilen ve antioksidan, anti-inflantuar, anti-viral etkilerinden dolayı insan sağlığı açısından çok önemli bir yere sahiptir. Birçok araştırma bize polifenollerin kardiovasküler hastalıkların etkisinin azaltılmasında, kanser, ilerlemesini önemli düzeyde yavaşlatılmasında, diyabetik hastalıkların engellenmesinde ve osteoporoz riskini azalttığını göstermektedir (Fang ve Bhandari, 2010).

Ancak polifenolun *in vitro* etkinliği *in vivo* etkinliğinden daha yüksek seviyededir. Eczacılık alanındaki uygulamalarında; bağırsaklardaki düşük geçirgenlik, gastrik olarak kalış süresinin yetersizliği, düşük çözünürlük sebeplerinden dolayı oral alımı takiben molekülün çok az bir kısmı vücut içerisinde kalmaktadır. Hastalıkların önlenmesinde aktif maddenin etkinliği çok önemlidir. Ayrıca sıcaklık, oksijen, ışık, pH, enzimler, diğer besin maddelerinin varlığı da polifenollerin aktivitesini kısıtlamaktadır. Polifenoller gibi maddelerin aktifliğini korumak amacıyla çeşitli mekanizmalar sağlanmalıdır (Fang ve Bhandari, 2010).

4. ENKAPSÜLASYON TEKNİKLERİ

Enkapsülasyon uygulamalarında sıkça kullanılan bazı teknikler mevcuttur. Bu teknikler, uygulanacak prosese bağlı olarak, çekirdeği oluşturan aktif maddenin yapısına, mikro veya

nanokapsül için uygulanmasına, elde edilmesi istenen parçacık boyutuna, çekirdek ve çekirdeği kaplayan duvarın fiziksel ve kimyasal özelliklerine, istenen serbest salım mekanizmasına, üretim ölçeğine ve maliyet hesaplamasına göre tercih edilir. Başlıcaları; püskürterek kurutma, püskürtme soğutma, ekstraksiyon, koaservasyon, liyofilizasyon ve emülsifikasyondur (Caballero ve ark., 2003).

4.1 Püskürterek Kurutma

Bu yöntem kapsüllenecek bir aktif maddenin ve kaplama materyalinin bulunduğu bir solüsyonun kullanılması ile oluşur. Oluşan solüsyon, içerisinde sıcak havanın dolaştığı bir kurutma makinesinde nebulizasyon işlemine tabi tutulur. Solüsyon içerisindeki su, sıcak hava ile karşılaştığında buharlaşarak uzaklaşır. Ortamda sadece istenen iki madde bırakılmış olur. Kaplama yapacak materyal aktif maddeyi içine alır. Bu yöntemde büyük ölçekli ekipmanlarla çalışmak uygundur. Çeşitli kaplama materyali kullanma konusunda avantaja sahiptir. Yöntemin işleyişi basit ve maliyeti düşüktür. Böylece yüksek verimde ve düşük maliyetle işlem gerçekleştirilir. Bunların yanındaki handikap, elde edilen ürünlerin eşit ebatlara sahip olmamasıdır (Laohasongkram, 2011).

Bu metot, enkapsülasyon prosesi için en çok tercih edilenlerdendir. Uzun yıllar boyunca, pigmentleri, yağları ve çeşitli aromaları kapsüllemek için uygulanmıştır. Fakat metot içerisinde kurutma kullanıldığından ve bu yüksek sıcaklıkta uygulandığından, çoğu termo duyarlı mikroorganizma ve uçucu yağlar için kullanımı sınırlıdır. Oluşacak ürünün buharlaşması ve mikroorganizmaya zarar vermesi gibi sonuçlar doğurabilir (Madene ve ark., 2006).

4.2 Püskürterek Soğutma

Sprey soğutmalı kapsülleme tekniği, partiküllerin soğuk havaya maruz bırakılarak katılaşmasına dayanır. Mikropartiküller, aktif maddenin bulunduğu çekirdek (core) ve kaplama malzemesinin (wall) bulunduğu bir solüsyon içerisinde bulunur. Bu karışım, kurutma makinesi ile nebulizasyon işlemine tabi tutulur. Sonraki adım olarak, havanın düşük sıcaklıktaki sirkülasyonu ile ortamdaki sıcaklık düşürülür. Sıcaklığın azalması ile, malzeme katılaşmaya başlar; core madde, duvar malzemesi tarafından içine alınarak kapsülленir (Champagne ve Fustier, 2007).

Püskürterek soğutma tekniği, düşük sıcaklıklarda yapılması planlanan kapsüllemeler için uygundur. Bunun yanında, ölçeklendirme yapıma konusunda büyük avantaja sahip olduğu gibi, ayrıca maliyetinin ucuz olması nedeniyle de tercih edilen metotlar arasında bulunur. Dezavantajları ise, malzeme içerisine alınan core maddenin kapasitesi düşük olabilmektedir ya da çekirdeğin doğrudan dışarı atılması söz konusu olabilmektedir. Bu teknik, esasen mineral ve vitamin kapsüllemesi konusunda kullanılmıştır (Rathore ve ark., 2013).

4.3 Ekstraksiyon (Özütleme)

Bu yöntemde, çok değerlikli bir iyon ile temas ettiğinde çekirdeği hareketsiz bırakan bir polisakkarit jeli kullanılır. Örneğin, core madde sodyum alginat çözeltisi içine bırakılır. İndirgenmiş kalibreli bir pipet yardımı ile sertleştirme çözeltisi (örneğin kalsiyumklorid) çözelti içerisine damla damla bırakılarak özümsemeye tabi tutulur (Swarbrick, 2004).

Bu yöntemin en önemli tercih edilme sebebi, oksijene karşı neredeyse tamamen bir bariyer sağlanması ve oluşan ürünün oksijenle temas kurmamış olması sebebiyle raf ömrünün uzun

olmasıdır. Bunun yanında yöntemin dezavantajı ise ağızda hissedilecek kadar büyük parçacıklar oluşturmasıdır, yaklaşık olarak oluşan ürünün boyutları 500-1000 nm arasındadır. Diğer bir dezavantaj ise, yöntemin uygulanışına bağlı olarak, tercih edilebilecek duvar malzemesinin sınırlı oluşudur.

4.4 Koaservasyon

Koaservasyon, ortamdaki fizikokimyasal özelliklerin değiştirilmesi ile (örneğin sıcaklık, pH, iyonik kuvvet, polarite) duvar malzemesi olacak polimerin çekirdeğin etrafında çökmesini amaçlayan bir yöntemdir (Azeredo, 2005). Proses, tek bir makromolekül bulundursa basit koaservasyon; karşı yüklerin iki ya da daha fazla molekülü olduğunda ise kompleks koaservasyon olarak adlandırılır.

Koaservasyon işlemi, yüksek sıcaklık veya organik çözeltileri gerektirmediğinden, oldukça basit ve maliyeti düşük bir yöntem olarak bilinir. Genellikle aroma içeren yağların kapsüllemesinde bu yöntem kullanılır (Oliveira et al., 2007). Yöntemin içerdiği tek dezavantaj, ortam koşulları değiştirilmesine dayalı bir yöntem olduğundan, sınırlı pH, elektrolit ve kolloid konsantrasyonlarında çalışılması gerekmektedir (Comunian ve ark., 2013).

4.5 Liyofilizasyon

Liyofilizasyon, materyalin vakum yardımıyla süblimasyon işlemine maruz bırakılarak dondurulması ve dehidrasyonunun sağlanması prensibine dayanır. Bu işlem, yüksek sıcaklıklar ihtiyacı duymadan materyalden suyun uzaklaştırılmasını sağladığında uygulanabilirliği yüksektir (Chen ve Wang, 2007).

Yöntemin geliştirme amacı, yüksek sıcaklığın getirdiği değişimleri en az seviyede tutarak yüksek kalitede ürünler ortaya çıkarılmasıdır. Liyofilizasyon, genellikle esans ve tatlandırıcı kapsülleme işlemlerinde yaygın olarak kullanılır. Ticari yönden uygulanabilirliği, yüksek maliyet gerektirmesi ve prosesin uzun zaman gerektirmesi sebebiyle düşüktür (Marques ve ark., 2006).

4.6 Emülsifikasyon

Bu yöntemde, çekirdeği oluşturacak core madde, duvar malzemesinin içeren organik çözücü içerisine bırakılır. Emülsiyon oluşturması için emülsiyon stabilizeri olan su veya yağ ile karışım karıştırılır. Sonraki adım olarak, organik çözücü ortamdan buharlaştırma yöntemi ile ayrılır. Organik maddenin uzaklaşmasıyla, duvar malzemesi ile core madde etkileşime geçer ve duvar malzemesi polimeri çekirdeği içine alarak globül oluşumunu gerçekleştirir (Zanetti, 2001).

Bu teknik, nano ve mikro boyutta partikül üretiminde, yöntemin basitliği, hazırlama koşullarındaki malzemelerin çeşitli şekilde farklılaştırılması, formülasyonun kolaylığı gibi nedenlerle sıkça tercih edilmiştir. Emülsifikasyon, yaygın olarak enzimleri, mineralleri, vitaminleri ve mikroorganizmaları kapsülleme proseslerinde kullanılmıştır (Azeredo, 2005).

5. KONTROLLÜ SALIM MEKANİZMASI VE SALIMI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Kontrollü salım, enkapsülasyon uygulamalarında en önemli parametrelerden ve istenen karakteristik özelliklerden biridir. Salım oranını etkileyen başlıca faktörler aktif maddenin

bulunduğu matris yapısı ve kullanılan duvar materyali ile aktif maddenin kimyasal özellikleri arasındaki ilişkidir. Çekirdekdeki (core) aktif maddenin yavaş bozulan bir matris içerisine enkapsülasyonu, maddenin yavaş ve kontrollü salımı için olanak sağlar. Maddenin polimerin bozunması ile salımının gerçekleştirilmesinin yanı sıra, polimerin sertleşmesi sırasında oluşan gözeneklerden geçişi ile oluşan difüzyon kontrollü salım da mevcuttur. Örneğin, nükleofilik grup içeren maddeler (elektronca zengin maddeler), polimer matrisinden zincir kopmasına sebep olabilir ve yapıda daha çabuk bir bozunum gözlenir. Bu durum, ilaç salım oranının artmasında etkilidir. Polimerin moleküler ağırlığı, yapısal olarak farklı polimerlerin karıştırılması, porozite, kristallik gibi faktörler salım mekanizmasının kontrolünde etkilidir (Freiberg ve Zhu, 2004).

Salım profilinin en istenen hali, zamanla sabit bir salım oranının yakalanmasıdır. Diğer durumda, serbest salım mekanizması daha komplekstir ve kontrolü daha karmaşıktır. Genellikle uygulanan iki farklı salım mekanizması şu şekildedir:

1. Kürenin yüzeyinden aktif maddenin ilk patladığı ana bağlı ve serbest hızla gerçekleştiren salım sistemi,
2. Daha sabit bir hızla gerçekleşen difüzyon ve bozunmaya bağlı salım sistemi (Freiberg ve Zhu, 2004).

Yang ve arkadaşlarının (2000) bu iki farklı salım mekanizmasını, ilk patlama ve difüzyona bağlı salımı, incelediği çalışmaya ait grafik aşağıda gösterilmiştir (Yang ve ark., 2000). Çalışmalarında, DLPLA ve DLPGA mikrokürelerinden sığır serum albümininin serbest bırakma profillerini elde etmişlerdir. Sıcaklığı da parametre olarak kabul ettiklerinde, düşük sıcaklıktaki mikrokürelerin hızlı bir patlama yarattığı ve sonrasında yavaş serbest salım profili verdiğini gözlemişlerdir. Yüksek sıcaklıkta oluşan mikroküreler ise en hızlı salım oranına sahip olmanın yanı sıra, küreler içindeki büyük üniform gözeneklerin etkisiyle sabit hızlı salım gerçekleştirmiştir (Yang ve ark., 2000).

Bu konu üzerine çalışmış diğer araştırmacıların sonuçlarına göre, ilk patlamadan sonra sabit hızlı salım oranları elde edilebilmiştir. Bir diğer sonuçlara göre, herhangi bir patlama gerçekleşmeden, zero-order kinetiğine yakın salım profilleri elde etmeyi başarmıştır. İstenen prosese bağlı olarak daha karmaşık sonuçların olduğu fakat ayarlanabilir mekanizmalara sahip çalışmalar da mevcuttur (Narayani ve Rao, 1996; Makino ve ark., 2000; Yang ve ark., 2000; Berkland ve ark., 2002; Kakish ve ark., 2002).

5.1 Polimerin Moleküler Ağırlığı

Partikülleri oluşturan polimerin sahip olduğu moleküler ağırlık (MW), yapının bozunması ile doğrudan ilişkilidir. Bu konu üzerine yapılan çalışmalardan en son yapılanlar gösteriyor ki, düşük moleküler ağırlık içeren partiküller, aktif maddeyi daha hızlı serbest bırakmaktadır. PLA ve PLGA polimerleri üzerinde, MW ile ilgili yapılan testler başarıya ulaşmıştır (Tuncay ve ark., 2000; Ravivarapu ve ark., 2000).

5.2 Yapısal Olarak Farklı Polimerlerin Karıştırılması

Farklı yapılarıdaki iki polimerin fiziksel olarak harmanlanması, kürelerin salım mekanizmasında değişikliğe neden olabilir. Bu konuda yapılan son çalışmalara bakıldığında, Mi ve arkadaşları (2002), hidrofobik yapıdaki iki polimeri, kitin ve PLGA, karıştırıp bu sistemin hidrasyonunu incelemiştir. Bozunum kitinde daha hızlı gerçekleşmiş ve yüksek miktarda kitin içeriğine sahip küreler daha hızlı salım yapmıştır. PLGA ise daha yüksek

hidrofobisiteye sahip olduğundan, salımı yavaş şekilde gerçekleştirmiştir. Bu iki farklı polimeri içeren sistem, iki aşamalı salım profiline sahip olmuştur. Küre bozunumunda, öncelikle kitinin hızlı bozunması sebebiyle hızlı bir salım gerçekleşirken, ardından PLGA içeriği yüksek partiküller salımı yavaşlatmıştır (Mi ve ark., 2002).

5.3 Kristallik

Kürelerdeki oluşan kristal yapı genellikle X-ışınımı kırınımı (XRD) ya da Differential Scanning Calorimetry (DSC) ile araştırılmaktadır. Oluşan kristal yapının salım üzerine etkisi çeşitli araştırmacılar tarafından çalışılmıştır. Son yapılan çalışmalardan birine bakıldığında, Edlund ve Albertsson'un çalışması şunu göstermektedir: öncelikli olarak amorf kürelerde oluşan bozunma, kristal bölgelerde oluşan daha yavaş bir bozunma ile devam etmiştir. Bu gözleme dayalı olarak, polimer zincirini etkileyen kristalleşme derecesi, bozunum oranını etkilemektedir. Bunun yanısıra, kürelerin bozunmasının başında, kristalleşme düzeyi artış göstermiştir. Bu durum, bozulmuş zincirlerin kristalleşmesi ya da amorf bölgelerin tercihe bağlı bozunması olarak öngörülmüştür (Edlund ve Albertsson, 2002).

5.4 Porozite (Gözeneklilik)

Kürelerin oluşumunda sertleşme aşamasında açığa çıkan gözenekler, organik çözücü uzaklaştıkça belirginleşir. Küre hazırlama aşamasındaki tekniklerle, küre gözenekliliği kontrol edilebilir ve böylece gözenekte oluşan farklılıklar salım kinetiğini değiştirir. Yang ve arkadaşları gözeneklilik konusunda yaptığı araştırmalar sonucunda şu sonuca ulaşmıştır: oldukça gözenekli olan bir matris, kendisi gibi eşdeğer bir küre olup gözenekliliği az olan bir matristen daha fazla salım yapabilmıştır (Yang ve ark., 2000). Diğer araştırmacılar da bu durumun serbest bırakma profilinde de gözlemlendiği sonucuna varmışlardır Chung ve ark., 2001).

5.5 Boyut Dağılımı

Salım profillerinin bağlı olduğu diğer bir etmen kürelerin boyutlarıdır. Küre boyutunun artması ile aktif maddenin salım oranının azaldığı çok önceden saptanmıştır (Narayani ve Rao, 1996). Bu bilgiye dayanarak, farklı boyutlardaki küreleri karıştırması farklı bir kontrol mekanizması ortaya çıkarabildiği söylenebilir. son yapılan çalışmalar bu düşüncüyü desteklemektedir. Berkland ve arkadaşları, farklı boyutlardaki (1-35 µm) mikroküreleri karıştırarak zero-order kinetiğine sahip salım profili elde etmişlerdir (Berkland ve ark. 2001, 2002).

5.6 pH Kontrollü Salım

Kontrollü salımın gerçekleştirilmesindeki diğer faktörlerden biri, pH ayarlamasıdır. pH'a duyarlı gruplara sahip olan mikrokürelere, istenilen biyolojik ortamlarda salım yapması hedef olarak konulabilir. (Gupta ve Kumar, 2001) Lynn ve arkadaşları (2001) hücrelerarası pH'larda mikrokürelerin yaptığı salım profilini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada, 7.0-7.4 pH aralığında kararlı, pH 6.5'e düşürüldüğünde ise çözünebilir bir poly(-aminoester) kullanmışlardır. Test sonuçlarına göre, pH 7.4'te serbest salım profilinin çok yavaş olduğu gözlenmiştir. Ardından, pH 5.1'e düşürüldüğünde ise tam ve ani bir salım profili gözlenmiştir. Bu sonuçlar, hedeflenen ortam, organ veya bölge için iyi bir malzeme olabileceğini göstermektedir (Lynn ve ark., 2001).

6. NANO/MİKROKÜRELERİ KARAKTERİZASYONU

Çeşitli yöntemler ile elde edilen nano/mikrokürelerin analiz edilmesinde birçok cihaz ve yöntem kullanılabilir. Bu teknikler partiküllerin yüzey modifikasyonunu, parçacık boyutunu, yüzey morfolojisini ve yüzeyde oluşan yükü belirlemede yardımcı olurlar. Bunlardan bazıları; FTIR spektroskopisi, Foton korelasyon Fourier spektroskopisi, Zeta potansiyel tayini, Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)' dir. Kumar ve arkadaşlarının (2004) DNA taşıyıcı özelliği bulunan PLGA nanokürelerinin karakterizasyonunu yaptığı çalışmada bu cihazlar kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir:

6.1 FTIR Spektroskopisi

Polimer yüzeyinin modifikasyonunu değerlendirmek için FTIR spektrometresi kullanılabilir. Kumar ve arkadaşları, FT-IR (ATR) spektrometresi (Perkin Elmer sistemi 2000) cihazını kullanarak, oluşturdukları nanokürelerin polimer yüzeyini incelemiştir. Ölçüm için, çözelti içerisindeki partikülleri ATR kristaline yaymışlardır. Azot akımı ile suyu uzaklaştırması sonucunda partiküllerin analizi yapılmıştır (Kumar ve ark., 2004).

6.2 Foton Korelasyon Fourier Spektroskopisi

Oluşan kürelerin parçacık boyutunun saptanmasında, Foton korelasyon Fourier spektroskopisi kullanılabilir. Kumar ve arkadaşları, oluşturdukları nanoküreleri, 90° saçılma açısı olan Photon Correlation Spectroscopy ALV 5000 (Laser Vertriebsgesellschaft mbH, Langen, Germany) cihazı ile incelemiştir. Ölçüm için tüm numuneleri mineralize etmişler ve seyreltme uygulamışlardır. Böylece, katkı maddelerinin etkisi en aza indirmeyi sağlamışlardır (Kumar ve ark., 2004).

6.3 Zeta Potansiyel Tayini

Nano/mikrokürelerin yüzeylerinde oluşturduğu yükü tayin edebilmek için kullanılan bir yöntem olan Zeta potansiyel tayini, Kumar ve arkadaşlarının çalışmalarında kullandığı bir yöntemdir. Mettler DL 25 (Mettler-Toledo, Giessen, Almanya) otomatik titratörüne bir akış ölçüm hücresi ile bir Malvern Zetasizer 2000 HS'de (Malvern, Birleşik Krallık) zeta potansiyeli ölçümü ile belirlenmiştir. Nanopartiküller öncelikle demineralize su ile seyreltilmiş, ardından uygun pH değerlerinde titrasyon işlemine tabi tutulmuştur (Kumar ve ark., 2004).

6.4 Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)

AFM, nano/mikroparçacıkların yüzey morfolojisini ve büyüklüğünü tespit etmekte sıkça tercih edilir. Kumar ve arkadaşları, Atomic force microscopy (AFM) Nanoscope IV Bioscope (Digital Instruments, Veeco) cihazını tapping modda kullanarak parçacık analizini yapmıştır (Kumar ve ark., 2004).

7. SONUÇ

Enkapsülasyon tekniği incelendiğinde, bir aktif madde ve duvar malzemesinin birbiri ile etkileşerek oluşturduğu nano ve mikro boyutlu küreler karşımıza çıkar. Bu tekniği uygulanma sebeplerinden en önemlisi, kontrollü bir mekanizma ile aktif maddenin istenilen salım hızıyla ve istenilen zamanda maddenin akışını sağlamaktır. Tekniğin basit ve uygulanabilirliği yüksek olması sebebiyle, gıda, kimya, tıp, eczacılık, veterinerlik, biyoteknoloji ve kozmetik gibi birçok

alandaki kullanımı süregelmektedir. Günümüzde, özellikle yararları birçok çalışma tarafından onaylanmış olan fenolik bileşiklerin kapsülleme uygulamaları göz önünde olan çalışma alanlarıdır. Enkapsülasyon oluşumunda, birçok tekniğin uygulanması ve duvar malzemelerin fenolik bileşikler için fazla miktarda bulunması sebebiyle araştırma konusu olarak dikkat çekmektedir.

8. KAYNAKLAR

- Andrade, B., Song, Z., Li, J., Zimmerman, S. C., Cheng, J., Moore, J. S., ... & Katz, J. S. (2015). New frontiers for encapsulation in the chemical industry. *ACS applied materials & interfaces*, 7(12), 6359-6368.
- Azeredo, H.M.C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. *Alimentos e Nutrição*, v.16, n.1, p.89-97, 2005.
- Berkland, C., Kim, K., Pack, D.W., 2001. Fabrication of PLG microspheres with precisely controlled and monodisperse size distributions. *J. Control Release* 73, 59–74
- Berkland, C., King, M., Cox, A., Kim, K., Pack, D.W., 2002. Precise control of PLG microsphere size provides enhanced control of drug release rate. *J. Control Release* 82, 137–147.
- Caballero, B. et al. *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. 2.ed. New York: Academic, 2003. 6000 p.
- Champagne C.P.; Fustier P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology*, v.18, n.2, p.184-190, 2007.
- Chen, G.; WANG, W. Role of freeze drying in nanotechnology. *Drying Technology*, v.25, n.1, p.29-35, 2007.
- Chung, T.-W., Huang, Y.-Y., Liu, Y.-Z., 2001. Effects of the rate of solvent evaporation on the characteristics of drug loaded PLLA and PDLLA microspheres. *Int. J. Pharm.* 212, 161–169
- Comunian, T.A. et al. Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release. *Food Research International*, v.52, n.1, p.373-379, 2013.
- Demir, D. (2013). Dosetaksel İçeren Nanopartiküllerin Formülasyonu ve in Vitro Değerlendirilmesi.
- Derman, S., Kızılbey, K., Akdeste, Z. M. (2013). Polymeric nanoparticles. *Sigma*, 31, 107-120.
- Edlund, U., Albertsson, A.-C., 2002. Degradable polymer microspheres for controlled drug delivery. *Adv. Polym. Sci.* 157, 67–112
- Eyüpoglu, S., Kut, D. (2016). Mikrokapsülasyon Teknolojisi Ve Tekstil Sektöründe Kullanımı/Microencapsulation Technology And The Use Of Microencapsulation Technology In Textile Industry. *Istanbul Ticaret Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 15(29), 9.
- Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), 628-647.
- Fairhurst, D., Loxley, A. (2008). Micro-and nano-encapsulation of water-and oil-soluble actives for cosmetic and pharmaceutical applications. *Science and Applications of Skin Delivery Systems*. Allured Publishing Corporation, 313-336.
- Fang, Z., Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(10), 510-523.
- Freitas, S. et al. Microencapsulation by solvent extraction/ evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. *Journal of Controlled Release*, v.102, n.2, p.313-332, 2005.
- Freiberg, S., & Zhu, X. X. (2004). Polymer microspheres for controlled drug release. *International journal of pharmaceutics*, 282(1), 1-18.

- Gamboa, O.D. et al. Microencapsulation of tocopherols in lipid matrix by spray chilling method. *Procedia Food Science*, v.1, p.1732-1739, 2011.
- Goun, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, v.15, n.7-8, p.330-347, 2004.
- Gökmen, S., Palamutoğlu, R., Sarıçoban, C. (2012). Gıda endüstrisinde enkapsülasyon uygulamaları. *Electronic Journal of Food Technologies*, 7(1), 36-50.
- Gupta, K.C., Kumar, M.N.V.R., 2001. pH dependent hydrolysis and drug release behavior of chitosan/poly(ethylene glycol) polymer network microspheres. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 12, 753–759.
- Güleşçi, N., Aygül, İ. (2016). Beslenmede Yer Alan Antioksidan ve Fenolik Madde İçerikli Çerezler. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5, 109-129.
- Hamidi, M., Azadi, A., Rafiei, P. (2008). Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 60(15), 1638-1649.
- Kakish, H.F., Tashtoush, B., Ibrahim, H.G., Najib, N.M., 2002. A novel approach for the preparation of highly loaded polymeric controlled release dosage forms of diltiazem HCl and diclofenac sodium. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 54, 75–81
- Karabulut, A. B. (2008). Resveratrol ve Etkileri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 28(6), 166-169.
- Kumar, MNV Ravi, U. Bakowsky, and C. M. Lehr. "Preparation and characterization of cationic PLGA nanospheres as DNA carriers." *Biomaterials* 25.10 (2004): 1771-1777.
- Laohasongkram, K. et al. Microencapsulation of Macadamia oil by spray drying. *Procedia Food Science*, v.1, p.1660-1665, 2011.
- Lynn, D., Amiji, M., Langer, R., 2001. pH-responsive polymer microspheres: rapid release of encapsulated material within the range of intracellular pH. *Angev. Chem. Int. Ed.* 40, 1707–1710.
- Madene, A. et al. Flavor encapsulation and controlled release - a review. *International Journal of Food Science and Technology*, v.41, n.1, p.1-21. 2006..
- Makino, K., Mogi, T., Ohtake, N., Yoshida, M., Ando, S., Nakajima, T., Ohshima, H., 2000. Pulsatile drug release from poly(lactide-co-glycolide) microspheres: how does the composition of the polymer matrixes affect the time interval between the initial burst and the pulsatile release of drugs? *Colloid. Surf. B: Biointerfaces* 19, 173–179.
- Marques, L.G. et al. Freeze-drying characteristics of tropical fruits. *Drying Technology*, v.24, n.4, p.457-463, 2006. Available from: . Accessed: Jul. 03, 2012. doi: 10.1080/07373930600611919.
- Mi, F.-L., Chen, C.-T., Tseng, Y.-C., Kuan, C.-Y., Shyu, S.-S., 1997. Iron(III)-carboxymethylchitin microsphere for the pH-sensitive release of 6-mercaptopurine. *J. Control Release* 44, 19–32.
- Narayani, R., Rao, K.P., 1996. Gelatin microsphere cocktails of different sizes for the controlled release of anticancer drugs. *Int. J. Pharm.* 143, 255–258
- Nizamlioğlu, N. M., Sebahattin, N. A. S. (2010). Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Electronic Journal of Food Technologies*, 5(1), 20-35.
- Oliveira, A.C. et al. Stability of microencapsulated *B. lactis* (BI 01) and *L. acidophilus* (LAC 4) by complex coacervation followed by spray drying. *Journal of Microencapsulation*, v.24, n.7, p.685-693, 2007.
- Paulo, F., Santos, L. (2017). Design of experiments for microencapsulation applications: A review. *Materials Science and Engineering: C*.
- Rathore, S. et al. Microencapsulation of microbial cells. *Journal of Food Engineering*, v.116, n.2, p.369-381, 2013.
- Ravivarapu, H.B., Burton, K., DeLuca, P.P., 2000. Polymer and microsphere blending to alter the release of a peptide from PLGA microspheres. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50, 263–270.

Swarbrick, J. Encyclopedia of pharmaceutical technology. 2.ed. New York: Informa Healthcare, 2004. 5536 p.

Tuncay, M., Calis, S., Kas, H.S., Ercan, M.T., Peksoy, I., Hincal, A.A., 2000. Diclofenac sodium incorporated PLGA (50:50) microspheres: formulation considerations and in vitro/in vivo evaluation. *Int. J. Pharm.* 195, 179–188

Yang, Y.-Y., Chung, T.-S., Bai, X.-L., Chan, W.-K., 2000. Effect of preparation conditions on morphology and release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion method. *Chem. Eng. Sci.* 55, 2223–2236.

Zanetti, B.G. Desenvolvimento de microesferas de carbamazepina visando ao prolongamento da liberação do fármaco. 2001. 100f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.