

**T.C.**  
**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ELEKTROPÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE GIDA**  
**TEKNOLOJİSİNDE KULLANIM POTANSİYELİNE SAHİP**  
**NANOPARTİKÜL ÜRETİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BERNA GÜNGÖRDÜ**

**DENİZLİ, NİSAN - 2024**

**T.C.**  
**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**



**ELEKTROPÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE GIDA**  
**TEKNOLOJİSİNDE KULLANIM POTANSİYELİNE SAHİP**  
**NANOPARTİKÜL ÜRETİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BERNA GÜNGÖRDÜ**

**DENİZLİ, NİSAN - 2024**

**Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
tarafından 2022FEBE046 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.**

**BERNA GÜNGÖRDÜ**

## ÖZET

**ELEKTROPÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE GIDA TEKNOLOJİSİNDE  
KULLANIM POTANSİYELİNE SAHİP NANOPARTİKÜL ÜRETİMİ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BERNA GÜNGÖRDÜ  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. SAMİ GÖKHAN ÖZKAL)**

**DENİZLİ, NİSAN - 2024**

Doğal koruyucular arasında uçucu yağlar, gelişmiş biyolojik özellikleri nedeniyle sentetik gıda katkı maddelerinin ideal bir alternatifi haline gelmiştir. Öte yandan, uçucu yağların çevresel etkenlerden etkilenmeleri, duyu özelliklerinde istenmeyen etkilere sahip olmaları ve uçuculukları gibi çeşitli kısıtlamalar gıdalarda kullanımlarını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle uçucu yağların korunması, salınımlarının iyileştirilmesi, kararlılıklarının ve biyoyararlılıklarının artırılması için kapsülleme teknolojileri kullanılmaktadır. Tez çalışması kapsamında elektropüskürtme yöntemi kullanılarak defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülleri üretilmiştir. Yapılan ön deneme çalışmaları sonucunda optimum çözelti ve işlem parametreleri belirlenmiştir. Farklı voltaj, mesafe ve uçucu yağ konsantrasyonunun nanopartiküller üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çözelti karakterizasyonları incelendiğinde elektriksel iletkenlikteki düşüşün ve viskozitedeki artışın partikül çapını arttırdığı gözlemlenmiştir. Nanopartiküllerin Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskopu (FE-SEM), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi (FTIR), Termogravimetrik Analiz (TGA), Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC), toplam fenolik madde, DPPH (2,2 Difenil-1-pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) antioksidan aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir. Partikül morfolojilerinin küresel formda olduğu ve ortalama çaplarının 105 nm ile 155 nm aralığında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Uçucu yağ konsantrasyonunun artması ile ortalama partikül çapı artmıştır. FTIR sonuçları, defne uçucu yağı ve kitosan nanopartikülleri arasında olumlu bir etkileşim olduğunu, TGA ve DSC sonuçları ise kapsüllenmiş uçucu yağın termal stabilitesi ve salınımı ile uçucu yağın nanopartikül içerisinde başarılı bir şekilde kapsüllendiğini doğrulamaktadır. Nanopartiküllerin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi uçucu yağ konsantrasyonu ile doğru orantılı şekilde artmıştır. Sonuç olarak defne uçucu yağı, kitosan nanopartikülleri içerisinde başarılı bir şekilde kapsüllenmiş olup gıda ürünlerinde doğal bir koruyucu olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir.

### **ANAHTAR KELİMELER:**

Kitosan, defne uçucu yağı, nanopartikül, elektropüskürtme, nanoenkapsülasyon

## ABSTRACT

### PRODUCTION OF NANOPARTICLE WITH POTENTIAL USE IN FOOD TECHNOLOGY BY ELECTROSPRAYING METHOD

MSC THESIS

BERNA GÜNGÖRDÜ

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

FOOD ENGINEERING

(SUPERVISOR: PROF. DR. SAMİ GÖKHAN ÖZKAL)

DENİZLİ, APRIL 2024

Among natural preservatives, essential oils have become an ideal alternative to synthetic food additives due to their enhanced biological properties. On the other hand, various limitations such as environmental exposure, undesirable effects on sensory properties and volatility of essential oils make their use in foods difficult. Therefore, encapsulation technologies are used to protect essential oils, improve their release, increase their stability and bioavailability. Within the scope of the thesis study, chitosan nanoparticles loaded with *Laurus nobilis* essential oil were produced using the electrospraying method. Optimum solution and process parameters were determined as a result of preliminary experiments. The effects of different voltage, distance and essential oil concentration on nanoparticles were investigated. When the solution characterizations were examined, it was observed that the decrease in electrical conductivity and increase in viscosity increased the particle diameter. Field Emission Scanning Electron Microscopy (FE-SEM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Thermogravimetric Analysis (TGA), Differential Scanning Calorimetry (DSC), total phenolic matter, DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) antioxidant activity analysis of the nanoparticles were performed. Particle morphologies were found to be spherical and average diameters varied between 105 nm and 155 nm. The average particle diameter increased with increasing essential oil concentration. FTIR results showed a positive interaction between *Laurus nobilis* essential oil and chitosan nanoparticles, while TGA and DSC results confirmed the thermal stability and release of encapsulated essential oil and the successful encapsulation of essential oil in the nanoparticles. The total phenolic content and antioxidant activity of the nanoparticles increased in direct proportion to the essential oil concentration. In conclusion, *Laurus nobilis* essential oil was successfully encapsulated in chitosan nanoparticles and can be used as a natural preservative in food products.

#### KEYWORDS:

Chitosan, *Laurus nobilis* essential oil, nanoparticle, electrospraying, nanoencapsulation

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
ŞEKİL LİSTESİ .....	v
TABLO LİSTESİ .....	vii
SEMBOL LİSTESİ .....	viii
ÖNSÖZ.....	ix
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1 Gıda Endüstrisinde Nanoteknoloji ve Nanoenkapsülasyon .....	3
1.2 Uçucu Yağlar ve Enkapsülasyonu.....	5
<b>2. ELEKTROPÜSKÜRTME.....</b>	<b>8</b>
2.1 Elektropüskürtme Tarihi.....	8
2.2 Elektropüskürtme Yöntemi .....	9
2.3 Elektropüskürtme Yönteminde Etkili Parametreler .....	12
2.3.1 Çözelti Parametreleri .....	13
2.3.1.1 Polimer Türü .....	13
2.3.1.2 Çözücü Türü.....	14
2.3.1.3 Konsantrasyon ve Viskozite.....	15
2.3.1.4 Yüzey Gerilimi.....	15
2.3.1.5 Elektriksel İletkenlik .....	16
2.3.2 İşlem Parametreleri .....	16
2.3.2.1 Voltaj.....	16
2.3.2.2 Akış hızı .....	17
2.3.2.3 Mesafe .....	17
2.3.3 Çevresel Koşullar.....	18
2.3.3.1 Sıcaklık ve Bağıl Nem .....	18
2.4 Kitosan.....	18
2.5 Defne Uçucu Yağı .....	20
2.6 Literatürde Yapılan Bazı Elektropüskürtme Çalışmaları .....	22
<b>3. MALZEME VE YÖNTEM .....</b>	<b>26</b>
3.1 Malzemeler .....	26
3.2 Yöntem .....	26
3.2.1 Defne Uçucu Yağının Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi.....	26
3.2.2 Püskürtme Çözeltilerinin Hazırlanması .....	26
3.2.3 Püskürtme Çözeltilerinin Karakterizasyonu .....	28
3.2.3.1 Viskozite .....	28
3.2.3.2 Elektriksel İletkenlik .....	28
3.2.4 Elektropüskürtme İşlemi ile Nanopartikül Üretimi .....	29
3.2.5 Nanopartiküllerin Morfolojik, Moleküler ve Termal Karakterizasyonu .....	30
3.2.5.1 Nanopartikül Morfolojisi ve Boyutu (FE-SEM).....	30
3.2.5.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR).....	30
3.2.5.3 Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) .....	31
3.2.5.4 Termogravimetrik Analiz (TGA).....	31

3.2.6	Nanopartiküllerin Toplam Fenolik Madde ve Antioksidan Aktivite İçerikleri.....	31
3.2.6.1	Toplam Fenolik Madde Tayini.....	32
3.2.6.2	DPPH ile Antioksidan Aktivite Analizi.....	32
3.2.6.3	ABTS ile Antioksidan Aktivite Analizi.....	33
3.2.7	İstatistiksel Analiz.....	33
<b>4.</b>	<b>BULGULAR .....</b>	<b>34</b>
4.1	Defne Uçucu Yağının Kimyasal Bileşimi .....	34
4.2	Nanopartikül Üretimi Ön Deneme Aşamaları ve Belirlenen Koşullara Ait Çalışmalar .....	36
4.3	Püskürtme Çözeltilerinin Karakterizasyonu.....	41
4.4	Nanopartiküllerin Morfolojik, Moleküler ve Termal Karakterizasyonuna Ait Bulgular .....	42
4.4.1	Partikül Morfolojisi ve Boyutu .....	42
4.4.2	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi.....	49
4.4.3	Nanopartiküllerin Termal Özellikleri .....	53
4.4.3.1	Termogravimetrik analiz.....	53
4.4.3.2	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre .....	57
4.4.4	Nanopartiküllerin Toplam Fenolik Madde ve Antioksidan Aktivite İçeriklerine Ait Bulgular.....	59
4.4.4.1	Toplam Fenolik Madde İçeriği .....	59
4.4.4.2	Antioksidan Madde İçeriği.....	61
<b>5.</b>	<b>SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>65</b>
<b>6.</b>	<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>67</b>
<b>7.</b>	<b>EKLER.....</b>	<b>83</b>
<b>8.</b>	<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>86</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

<b>Şekil 2.1:</b> Elektropüskürtme kurulumu.....	10
<b>Şekil 2.2:</b> Elektropüskürtme yönteminde etkili parametreler .....	13
<b>Şekil 2.3:</b> Kitosanın kimyasal yapısı (Kırtel ve diğ. 2017).....	20
<b>Şekil 3.4:</b> Çözeltiler içerisine defne uçucu yağı ekledikten sonra manyetik karıştırma (a) ve sonikasyon işlemi (b).....	28
<b>Şekil 4.5:</b> Ön çalışma aşamalarına ait püskürtme görüntüleri ve damla atması .....	38
<b>Şekil 4.6:</b> Elektropüskürtme işlemi farklı koşullarda üretilmiş nanopartiküllerin toplayıcı plaka üzerindeki görüntüleri .....	39
<b>Şekil 4.7:</b> (a) Elektropüskürtme işlemi sırasında toplayıcı plaka (b) İğne ucundaki Taylor konisi oluşumu .....	40
<b>Şekil 4.8:</b> Toz nanopartikül görüntüsü .....	40
<b>Şekil 4.9:</b> 1. Koşul boş kitosan nanopartikülüne ait (K-P1) farklı büyütme oranlarının FE-SEM görüntüleri a) 25 KX b) 40 KX c) boyut dağılım histogram grafiği.....	45
<b>Şekil 4.10:</b> 2. Koşul boş kitosan nanopartikülüne ait (K-P2) farklı büyütme oranlarının FE-SEM görüntüleri a) 25 KX b) 40 KX c) boyut dağılım histogram grafiği.....	45
<b>Şekil 4.11:</b> 1. Koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülüne ait (K-D50-P1) farklı büyütme oranlarının FE-SEM görüntüleri a) 25 KX b) 40 KX c) boyut dağılım histogram grafiği.....	47
<b>Şekil 4.12:</b> 2. Koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülüne ait (K-D50-P2) farklı büyütme oranlarının FE-SEM görüntüleri a) 25 KX b) 40 KX c) boyut dağılım histogram grafiği.....	47
<b>Şekil 4.13:</b> 1. Koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülüne ait (K-D75-P1) farklı büyütme oranlarının FE-SEM görüntüleri a) 25 KX b) 40 KX c) boyut dağılım histogram grafiği.....	48
<b>Şekil 4.14:</b> 2. Koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülüne ait (K-D75-P2) farklı büyütme oranlarının FE-SEM görüntüleri a) 25 KX b) 40 KX c) boyut dağılım histogram grafiği.....	48
<b>Şekil 4.15:</b> Defne uçucu yağı (DUY), kitosan (K), 1. Koşul boş kitosan nanopartikülü (K-P1), 2. koşul boş kitosan nanopartikülü (K-P2), 1. koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D50-P1), 2. koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D50-P2), 1. koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D75-P1), 2. koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerine (K-D75-P2) ait FTIR spektrumları.....	52
<b>Şekil 4.16:</b> 1. Koşul boş kitosan nanopartikülü (K-P1), 2. koşul boş kitosan nanopartiküllerine (K-P2) ait TGA/DTG termogramları .....	54
<b>Şekil 4.17:</b> 1. koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D50-P1), 2. koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D50-P2), 1. koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D75-P1), 2. koşul %75 defne uçucu	

yağı yüklü kitosan nanopartiküllerine (K-D75-P2) ait TGA/DTG termogramları ..... 55

**Şekil 4.18:** 1. Koşul boş kitosan nanopartikülü (K-P1), 2. koşul boş kitosan nanopartikülü (K-P2), 1. koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D50-P1), 2. koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D50-P2), 1. koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D75-P1), 2. koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerine (K-D75-P2) ait DSC termogramı ..... 58



## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 3.1:</b> Püskürtme çözeltilerinin farklı konsantrasyon oranları .....	27
<b>Tablo 3.2:</b> Elektropüskürtme işleminde uygulanan proses parametreleri .....	29
<b>Tablo 4.3:</b> Defne uçucu yağının kimyasal bileşenlerinin yüzdesi.....	35
<b>Tablo 4.4:</b> Püskürtme çözeltilerine ait elektriksel iletkenlik ve viskozite değerleri.....	42
<b>Tablo 4.5:</b> Defne uçucu yağı içeren ve içermeyen nanopartiküllere ait ortalama partikül çapları ve homojenlik katsayıları .....	46
<b>Tablo 4.6:</b> Çözelti ve nanopartiküllere ait toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite içerikleri .....	61
<b>Tablo 7.7:</b> %50 (w/w) asetik asit - %1,5 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait koşul denemeleri .....	83
<b>Tablo 7.8:</b> %50 (w/w) asetik asit - %2 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait koşul denemeleri .....	83
<b>Tablo 7.9:</b> %50 (w/w) asetik asit - %1 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait koşul denemeleri .....	83
<b>Tablo 7.10:</b> %30 (w/w) asetik asit - %1 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait koşul denemeleri .....	84
<b>Tablo 7.11:</b> %90 (w/w) asetik asit - %1 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait koşul denemeleri .....	84
<b>Tablo 7.12:</b> %70 (w/w) asetik asit - %1 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait koşul denemeleri .....	85

## SEMBOL LİSTESİ

<b>%</b>	: Yüzde
<b>°C</b>	: Santigrat derece
<b>µL</b>	: Mikrolitre
<b>µmol</b>	: Mikromol
<b>µS</b>	: Mikro Siemens
<b>cm</b>	: Santimetre
<b>g</b>	: Gram
<b>GAE</b>	: Gallik asit eşdeğeri
<b>GC-MS</b>	: Gaz kromatografisi – Kütle spektrometresi
<b>h</b>	: Saat
<b>KM</b>	: Kuru madde
<b>kV</b>	: Kilovolt
<b>m</b>	: Metre
<b>mg</b>	: Miligram
<b>mL</b>	: Mililitre
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>Pa</b>	: Pascal
<b>s</b>	: Saniye
<b>TE</b>	: Troloks eşdeğeri
<b>v/v</b>	: Hacimce yüzde
<b>w/w</b>	: Ağırlıkça yüzde

## ÖNSÖZ

Tez çalışması sürecimde her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen, bilgisiyle ve tecrübeleriyle bana yol gösteren değerli danışman hocam Prof. Dr. Sami Gökhan ÖZKAL'a içten teşekkürlerimi sunuyorum ve aynı zamanda ilgi ve alakasıyla bana yardımcı olan sayın Dr. Öğretim Üyesi Ayşe ÖZKAL'a teşekkür ederim.

Zorlu süreç boyunca her zaman yanımda olduğunu hissettiren, deneyimlerini ve tecrübelerini benimle paylaşmaktan hiç tereddüt etmeyen sevgili Dr. Arş. Gör. Özlem ZAMBAK'a sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim. Hem hocalık hem de manevi destek konusunda bana bir abla gibi rehberlik ettiği için minnettarım.

Tez çalışmam kapsamında sundukları laboratuvar imkanları için Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne ve bölümün araştırma görevlilerine teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte tez çalışmamı yürütürken her zaman destekleriyle, neşeleriyle moral ve motivasyon sağlayan arkadaşlarım, değerli Öğretim Görevlisi Duygu TOPALOĞLU'na, Betül KAYA'ya ve Hüseyin ÖZTÜRK'e ne kadar teşekkür etsem az.

Yüksek lisans sürecine birlikte adım attığım yol arkadaşım, her türlü desteğini ve fedakarlığını bir gün dahi eksik etmeyen, motivasyon kaynağım çok kıymetli Arş. Gör. Alperen SOYER'e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu zamana kadar beni destekleyen, bugünlere gelmem için her türlü desteğini, fedakarlığını ve sevgisini esirgemeyen çok kıymetli aileme teşekkür ediyorum.

# 1. GİRİŞ

Nanoteknoloji, tüketicilerin doğal, besleyici ve yüksek kaliteli gıdalara yönelik artan taleplerini karşılamak için gıda bilimi ve teknolojisi alanında hızla gelişen bir araştırma alanıdır. Günümüzde tüketiciler, artan sağlık bilinciyle birlikte yaşam tarzlarına ve diyetlerine daha fazla özen göstermektedirler. Bu sayede yaşam kalitelerini iyileştirmeye, kronik hastalıkların önüne geçmeye, fiziksel ve zihinsel zindeliklerini destekleyebilecek fonksiyonel gıdalara yönelmektedirler. Bu doğrultuda gıda endüstrisi, biyoaktif bileşenler içeren fonksiyonel gıda matrisleri geliştirmek için nanoteknolojiden faydalanmaktadır (Coelho ve diğ. 2021).

Doğal bileşenler, sentetik muadillerine kıyasla daha güvenli ve doğal olmalarına rağmen işleme koşullarına ve depolama sırasında çevresel faktörlere bağlı olarak endüstriyel ölçekte kullanımları sınırlıdır. Endüstriyel üretimlerde doğal bileşenlerin özelliklerini kaybetmeden, kalitelerinin ve sağlıklı bileşenlerinin korunmasını sağlayarak ön plana çıkan nanoenkapsülasyon teknolojisi, bu problemlerin önüne geçmek için kritik önem taşımaktadır. Nanoenkapsülasyon ile doğal bileşenler, koruyucu bir malzeme içerisinde kapsülленerek fiziksel ve kimyasal özelliklerinin değişmesi engellenmekte, kararlılıkları, çözünürlükleri ve biyoyararlılıkları artırılmaktadır. Bu sayede ışık, ısı ve nem gibi çevresel faktörlere karşı hassasiyetleri de önlenen nanoenkapsüle edilmiş yapılar, gıdaların üretimi, işlenmesi, paketlenmesi ve taşınması gibi farklı alanlarda da önemli avantajlar sunmaktadır (Bakry ve diğ. 2016; Pisoschi ve diğ. 2018; Taouzin et al. 2023).

Genellikle hidrofobik ve düşük çözünürlüğe sahip olan fenolik bileşenler, karotenoidler, uçucu yağlar ve suda çözünmeyen vitaminler gibi biyoaktif bileşenler insan sağlığı için oldukça önemlidirler (Yang ve diğ. 2023). Doğal koruyucular arasında, bitkisel kaynaklı uçucu yağlar çeşitli biyoaktif profilleri, gelişmiş antioksidan ve antimikrobiyal gibi biyolojik özellikleri nedeniyle hem ilgi çekici hem de ticari gıda ürünlerinde sentetik gıda katkı maddelerinin ideal bir alternatifi haline gelmiştir. Fakat uçucu yağların gıda alanında kullanılması konusunda ısı, ışık, nem ve oksijene maruz kalması gibi çevresel etkenlerden etkilenmeleri, duyu özelliklerinde

istenmeyen etkilere sahip olmaları ve bozulma ihtimallerinin olması kullanım alanında sınırlamalar meydana getirmektedir. Bu nedenle uçucu yağların korunması, kararlılıklarının artırılması, kontrollü salınımlarının iyileştirilmesi ve biyoyararlılıklarının artırılması için kapsülleme teknolojileri kullanılarak uçucu yağların özellikleri korunup iyileştirilebilmektedir. Ayrıca kapsülleme teknolojileri, gıdaların raf ömürlerinin iyileştirilmesi ve kullanılması gereken uçucu yağ konsantrasyonunun en aza indirgenmesi bakımından oldukça faydalı yöntemlerdir (de Souza ve diğ. 2021; Noori ve diğ. 2023).

Son yıllarda enkapsülasyon teknolojileri içerisinde bulunan elektropüskürtme yöntemi, yüksek sıcaklıklar kullanılmadığı için biyoaktif bileşenleri koruma açısından oldukça faydalı bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Kurulumu temel olarak güç kaynağı, toplayıcı plaka, şırınga pompası ve paslanmaz çelik bir iğneden oluşmaktadır. Hazırlanan polimer çözeltisine uygulanan yüksek voltaj ile elektriksel alan oluşturularak şırınga ucundaki damla, kendinden daha küçük damlacıklara parçalanmakta ve mikro ölçekten nano ölçüğe kadar partiküller elde edilebilmektedir (Drosou ve diğ. 2017). Elde edilen partiküller yüksek yüzey/hacim oranlarına ve iyi derecede mekanik özelliklere sahiptir. Elektropüskürtme yöntemi, son derece hassas olan uçucu yağlar gibi biyoaktif bileşenlerin polimer içerisinde enkapsülasyonuna imkan sağlayarak kararlılıklarını ve biyoyararlılıklarını artırırken, çevresel faktörlere karşı koruma da sunmaktadır (Tomadoni ve diğ. 2022). Nanopartikül ve mikropartikül üretiminde sağladığı çeşitli avantajlar sebebiyle son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca günümüzdeki popüleritesine ek olarak uygun parametre optimizasyonu yapıldığında geleneksel yöntemlere göre önemli avantajlar elde edilebilmektedir (Assadpour ve Jafari 2019).

Bu tez çalışmasının amacı, elektropüskürtme yöntemi kullanılarak farklı konsantrasyonlarda defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülleri elde etmektir. Elektropüskürtme yönteminde farklı parametrelerin etkisini incelemek amacıyla farklı voltaj, mesafe ve defne uçucu yağı konsantrasyonları kullanılarak nanopartiküller üretilmesi hedeflenmiştir. Tez kapsamında belirlenen en uygun işlem koşullarında üretilen nanopartiküllerin gıda endüstrisinde kullanım potansiyelini araştırmak için; morfolojik özellikleri FE-SEM, termal özellikleri DSC ve TGA, kimyasal özellikleri FTIR, toplam fenolik madde, antioksidan aktiviteleri ise DPPH ve ABTS yöntemleri

kullanarak belirlenmiştir. Yapılan literatür araştırmalarına göre, bu tezin elektropüskürtme yöntemi kullanılarak defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerinin üretimine ilişkin ilk çalışma olduğu düşünülmektedir.

### **1.1 Gıda Endüstrisinde Nanoteknoloji ve Nanoenkapsülasyon**

Nanoteknoloji, gıda endüstrisinin de içerisinde bulunduğu mekanikten ilaç sektörüne kadar büyük potansiyele sahip gelişen bir devrimdir. Tipik olarak  $10^{-9}$  m ölçeğindeki yapıların, cihazların ve sistemlerin planlandığı, üretime geçildiği ve uygulandığı bir alan olmakla beraber malzemenin boyut ve şekil kontrolünü içermektedir. Nanoteknoloji, gıda endüstrisinde depolama, işleme, paketleme, taşıma, işlevsellik ve gıda güvenliği alanlarında önemli bir rol oynamaktadır ve bu alanda yapılan çalışmaların sayısı da her geçen gün artmaktadır (Bazana ve diğ. 2019). Nanoteknoloji, gıda endüstrisinde önemli gelişmelere ve araştırmalara yol açmaktadır. Bunlardan bazıları, gelişmiş mekanik dayanıklılığa sahip ve uzun süreli gıda paketleme materyalleri, gıda bileşenlerinin ve katkı maddelerinin taşınması ve depolanması sırasında gıda kalitesini kontrol etmek için biyosensörler ve antimikrobiyal ambalajlar yoluyla gıda güvenliğini artırmaktır. Bu gelişmeler, gıdanın tadını, aromasını, rengini, dokusunu ve raf ömrünü geliştirmeye yardımcı olurken, biyoaktif bileşenlerin emilimini de artırır (Sahani ve Sharma 2021).

Kapsülleme işlemi, biyoaktif bir bileşiğin sıvı, katı veya gaz formundaki bir matris veya polimer malzeme içerisine yerleştirilmesine dayanır. Nanokapslleme, biyoaktif bileşiğleri korumak, biyoyararlanımlarını ve kararlılıklarını arttırmak amacıyla çevresel koşullara karşı koruma sağlamak için kullanılan, bu sayede gıda ve farmasötik alanlarındaki uygulamalara destek sağlayan uygun bir alternatiftir. Nanoenkapsülasyon uygulamasının sağladığı homojenlik, kapsülleme verimliliğine, fiziksel ve kimyasal özelliklerine fayda sağlamaktadır. Kapsülleme ayrıca, hassas malzemeleri istenmeyen durumlardan veya oksidatif koşullardan kaynaklanan bozulmalardan korumak için umut verici yöntemler arasındadır. Bunlara ek olarak maddelerin toksik etkilerinin karakterizasyonu, yeşil sentez gibi insan sağlığını koruyan ve çevreye katkı sağlayan yöntemler de günümüzde çok daha önemli bir hale gelmektedirler. Yeşil teknolojilerde çevresel sorunlara ışık tutacak nano ürünler elde

etmek ve insan sağlığına veya çevreye verilecek zararı en aza indirecek nanomalzemelerin veya nanomalzeme içeren ürünlerin üretilmesini teşvik etmek ve desteklemek oldukça önemlidir (Pisoschi ve diğ. 2018; Pateiro ve diğ. 2021; Bazana ve diğ. 2019).

Nanopartikül kısaca benzersiz özelliklere ve işlevlere sahip olan, yeni bir aktivite seviyesi oluşturan ve bütün bir birim olarak hareket eden küçük bir parçacık olarak tanımlanmaktadır. Nanopartikül boyutu gıda endüstrisi için 1 ile 1000 nm aralığındaki küçük yapılar olarak kabul edilmektedir. Yüksek yüzey alanı ve kütle transfer hızlarına sahip olan nanopartiküllerin, aynı bileşimin büyük partikül boyutlarına kıyasla daha iyi kimyasal ve biyolojik aktivite, enzimatik reaktivite, geçirgenlik, katalitik davranış ve kuantum özellikleri oluşturduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda partikül boyutlarının küçülmesiyle gıdaların duyuasal özelliklerinin de iyileştirilmesi mümkündür (Pateiro ve diğ. 2021; Sahoo ve diğ. 2021).

Nanoenkapsle gıda bileşenleri arasında vitaminler, uçucu yağlar, aromalar, mineraller, antimikrobiyal ajanlar, doğal gıda renklendiricileri, antioksidanlar, polifenoller vb. gibi çeşitli biyoaktif bileşenler bulunmaktadır. Biyoaktif bileşenlerin kapsüllenmesi bir dizi avantaj sağlayarak uçuculuğu azaltırken kimyasal ve termal kararlılığı arttırmaktadır. Oksijen, ışık ve nem gibi faktörlere karşı koruma sağlarken, hoş olmayan tat ve aromayı gizler, kontrollü salınımı iyileştirir, sulu ortamda lipofilik bileşiklerin znrlğn arttırır ve besinlerin uzun süreli emilimini kolaylaştırır. Ayrıca antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahip ambalaj ürünlerinin geliştirilmesine imkan tanır. Tüm bu bahsedilen avantajlar nanopartiküllerin boyutunun azaltılması sonucunda oluşan yüksek yüzey/hacim oranına bağlı olarak mümkün olmaktadır (Bazana ve diğ. 2019).

Nanoenkapsülasyon teknolojileri genellikle "yukarıdan aşağıya" ve "aşağıdan yukarıya" olmak üzere iki temel mekanizmaya ayrılır. Yukarıdan aşağıya yönteminde kapsülleme ile partikül boyutu küçültülürken, aşağıdan yukarıya yönteminde ise partikül boyutu arttırılır. Yukarıdan aşağı sentez yöntemiyle çeşitli boyut küçültme yöntemleri kullanılarak makro boyuttaki malzemeleri, nano boyuta getirme yöntemidir. Burada, üretilen malzemelerin özellikleri, boyut küçültme sürecinden ve süreç boyunca takip edilen kontrol parametrelerinden büyük ölçüde etkilenmektedir. Yukarıdan aşağıya yaklaşımı takip eden teknikler arasında emülsifikasyon,

emülsifikasyon çözücü buharlaştırma, elektropüskürtme ve elektroğirme yer almaktadır. Aşağıdan yukarı sentez yöntemi ise en az hata içeren, daha homojen dokuda ve kristal ağ boyunca ayarlanabilir boyutta tek tip nanoyapılar elde etmek amaçlanmaktadır. Aşağıdan yukarı yaklaşımı, malzemelerin iyonik gücü, sıcaklığı, pH ve konsantrasyonu gibi faktörlerden etkilenmektedir. Aşağıdan yukarı sentezleme yöntemi ile nanomalzemeler elde etmek için kullanılan yöntemler arasında sol-jel yöntemi, nanoçöktürme, kendi kendine birleşme, moleküllerin kendi kendine organizasyonu ve koaservasyon bulunmaktadır. Genel olarak hem yukarıdan aşağıya hem de aşağıdan yukarıya yaklaşımları takip eden nanoenkapsülasyon teknikleri arasında ultrasonikasyon, püskürtmeli kurutma ve dondurarak kurutma yer almaktadır (Shani ve Sharma 2021; Pateiro ve diğ. 2021; Awuchi ve diğ. 2022).

## **1.2 Uçucu Yağlar ve Enkapsülasyonu**

Uçucu yağların kimyasal bileşimleri ve verimleri bitkinin gelişimi, hasat edilmesi, meteorolojik koşul değişiklikleri, coğrafi farklılıklar, genetik farklılıklar, sentezlenme yöntemleri, kurutma şekli ve destilasyon süresi gibi çeşitli faktörlerden doğrudan etkilenmektedirler (Jugreet ve diğ. 2020). Uçucu yağ bileşenlerin miktarları bitkinin çiçek, yaprak, tohum, meyve, sap gibi çeşitli bölgelerine göre değişebilmektedir (Ribeiro-Santos ve diğ. 2017). Uçucu yağların, uçucu ve uçucu olmayan bileşenleri genel olarak terpenler, terpenoidler, fenilpropanoidler ve oksijenli türevleri olmak üzere dört farklı grupta incelenmektedir (Silvestre ve diğ. 2019). Kimyasal açıdan ise terpenler ve fenilpropanoidler olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Terpen ailesi baskın olmakla beraber fenilpropanoidler ise karakteristik tat ve kokulardan sorumludurlar (Dhifi ve diğ. 2016). Uçucu yağlar üçyüzün üzerinde farklı bileşen içerebilmektedirler fakat bunlar arasında en baskın bileşenler ana (majör) bileşen olarak adlandırılmaktadır. Bazı araştırmacılar uçucu yağların etkinliğinden sadece ana bileşenlerin sorumlu olduğunu söylerken bazı araştırmacılar ise sadece ana bileşenler değil onları etkileyen ve birlikte sinerji oluşturan alt (minör) bileşenlerin de etkin rol oynadığını belirtmektedirler (Grande-Tovar ve diğ. 2018). Uçucu yağların ezici bir üstünlükle çoğunluğu monoterpen, seskiterpen, hidrokarbonlar, alifatik aldehitler, alkoller ve esterler gibi uçucu bileşenler içerirken geriye kalan azınlıktaki

uçucu yağlar ise alifatik asitler, sterol, karoten, kumarin ve flavonlar gibi uçucu olmayan bileşenler içermektedirler (Zhu ve diğ. 2021).

Uçucu yağlar kokulu, uçucu ve aromatik yağlardır. Uçucu olmaları nedeniyle havayla kolaylıkla karışabilirler ve bitkilerin de yaydıkları kokulardan sorumludurlar. Genellikle 20-60 arasında aromatik bileşenlere sahiptirler ve bu sayede uçucu yağın karakteristik olan tadı ve aroması oluşmuş olur. Oda sıcaklığında sıvı formdadırlar ve genellikle yoğunlukları sudan az olmakla beraber renkli bir yapıya sahiptirler. Organik çözücülerde yüksek çözünürlüğe sahipken, sudaki çözünürlükleri çok azdır. Sudaki çözünürlüğü az olmasına rağmen her bir uçucu yağ bileşeninin sulu çözünürlüğü polaritelerine göre değişmektedir (Chahal ve diğ. 2017).

Son zamanlarda uçucu yağlara, antioksidan ve antibakteriyel özelliklerinden kaynaklı artan bir yönelim bulunmaktadır. Ayrıca uçucu yağlar doğal olmakla beraber gıda ve ilaç dairesine (FDA) göre genellikle güvenli kabul edildikleri için (GRAS) kullanımlarına olan ilgi oldukça artmaktadır (Ribeiro-Santos ve diğ. 2017). Hidrofobik yapılarından kaynaklanan suda sınırlı çözünürlükleri ve düşük biyoyararlanımları bulunmaktadır. Yüksek uçuculukları ve kolay okside olmaları nedeniyle kararsızdırlar ve bu nedenle depolanmaları zordur. Uçucu yağlar gıdaların duyu kalitesi üzerindeki etkileri nedeniyle gıda formülasyonlarına doğrudan ilave edilmelerini sınırlayan hoş olmayan tat ve aromaya sahiptirler. Oksijene, ışığa ve sıcaklığa duyarlılıklarından kaynaklanan düşük stabiliteye sahip olan hassas bileşiklerdir. Uçucu yağın büyük bir kısmı hidrofobik gıda bileşenleri ile bağlandığından diğer gıda bileşenleri ile etkileşime girebilir ve bunların fonksiyonel performansını değiştirebilirler. Ayrıca işlenmesi, taşınması, saklanması ve tüketilmesi esnasında meydana gelebilecek bozunmalar ile etkisini yitirebilmekte hatta zararlı ve zehirli bileşenler oluşturabilmektedirler. Bu sorunların üstesinden gelmek ve uçucu yağların korunmasını sağlamak için son yıllarda nanoteknoloji alanında fazla sayıda çalışma yapılmaktadır ve bunlardan en yaygın kullanılanı ise nanoenkapsülasyon yöntemleridir (Lammari ve diğ. 2020; Liao ve diğ. 2021; Reis ve diğ. 2022).

Uçucu yağların kapsüllemesinde doğru duvar malzemelerinin seçimi ile istenilen yere uygun oranda biyoaktif bileşiklerin kontrollü salınımı sağlanabilir ve sulu ortamda lipofilik bileşiklerin çözünürlüğü geliştirilebilir. Kapsülleme ile sıvı, katı bir faza dönüştürülerek uygulanmaları kolaylaştırılır. Ayrıca bozulmaya karşı etkili

koruma, yoğun tat ve kokuların maskelenmesi, raf ömrünü uzatması ve kapsüllenmiş malzemelerin biyoyararlanımını ve lezzetini artırabilmesi gibi avantajlar da sağlanabilmektedir. Makro, mikro ve nanoenkapsülasyon boyutları arasında nanoenkapsülasyon diğerlerine göre polimer matrisi ile daha uyumlu ve kararlı olan küçük nanoparçacıklarından dolayı daha etkili olmaktadır. Serbest uçucu yağlarla karşılaştırıldığında kapsülleme, uçucu yağların suda çözünürlüğünü iyileştirebilir ve uçucu yağ damlacıklarının boyutu nanometre seviyesine ulaştığında kütle transfer direncini azaltmaya yardımcı olur. Kapsülleme ayrıca gıdalardaki oksijen ve su gibi diğer bileşenlerle uçucu yağların istenmeyen reaksiyonlarını azaltabilir veya önleyebilir (Lenetha ve diğ. 2022; Nair ve diğ. 2022). Aynı şekilde uçucu yağların ve biyoaktif bileşenlerin, doğal bir polimer içerisinde kapsüllemesi GRAS bir yöntem olarak kabul edildiği için uçucu yağların doğal polimerler içerisinde kapsüllemesiyle alakalı çalışmaların sayısı da artmaktadır (Chaudhari ve diğ. 2021).

## 2. ELEKTROPÜSKÜRTME

### 2.1 Elektropüskürtme Tarihçesi

Elektropüskürtme yöntemi diğer bir adıyla elektrohidrokinamik atomizasyon, elektroğirme yönteminin farklı bir çeşididir. Elektropüskürtme yönteminin temelleri ilk olarak 1600 yılında William Gilbert'in elektromanyetizma çalışmaları sırasında keşfedilmiştir (Gibert 1600). Bu çalışmasıyla su damlacıklarının, oluşturulan elektriksel alan etkisi ile mesafeye bağlı olarak bir koni veya jet olarak hareket ettiğini gözlemlemiştir. Ardından Lord Rayleigh elektrik yüküne maruz kalan damlacıkların üzerine etkiyen elektrik kuvveti (voltaj) ile yüzey gerilim kuvveti şeklinde iki farklı kuvvetin etki ettiğini bulmuştur (Rayleigh 1879). Voltajın, yüzey gerilimini yendiği durumlarda ise damlaların, jet konisine ayrılarak hareket ettiğini gözlemlemiştir. Yani bu durumda bir jetin oluşabilmesi için yüksek voltaj ile yüzey geriliminin aşılması ya da farklı yöntemlerle yüzey geriliminin düşürülmesi gerekmektedir. 1887 yılında ilk elektropüskürtme aparatı Charles Vernon Boys tarafından lif üretimi için üretilmiştir (Boys 1887). Aparat yalıtılmış ve elektrikli bir makineye bağlı küçük bir çanaktan oluşmaktaydı. 19. yüzyılın başlarında John Francis Cooley (Cooley 1900; Cooley 1902) ve William James Morton (Morton 1902) elektroğirme prosesine ait patentleri almışlardır. Ardından Anton Formhals, elektropüskürtme yöntemine dair önemli gelişmelere öncü olmuş ve en az 22 adet patente sahip olmuştur (Anton 1934).

19. yüzyılda ilk kez püskürtme prosesinin çözücünün ve çözeltilinin türüne, voltaja ve akış hızına bağlı fonksiyonlar olduğu belirlenmiştir. Sonrasında 1952 yılında Vonnegut ve Neubauer elektroğirme cihazını mikropartikül üretmek için kullanmışlardır ve bu işlem daha sonrasında elektropüskürtme yöntemi olarak adlandırılacaktır (Vonnegut ve Neubauer 1952). 1964 yılında Sir Geoffrey Ingram, elektropüskürtme ve elektroğirme yöntemlerinin teorik olarak işleyiş mekanizmasını daha iyi açıklayabilmek için deformasyon konisinin şeklini tanımlamıştır ve bu koni sonrasında Taylor konisi olarak adlandırılacaktır (Taylor 1964). 19. yüzyılın sonlarına doğru elektropüskürtme ve elektroğirme yöntemlerine dair çalışmalar birçok araştırmacının dikkatini çekmiş ve yıldan yıla yapılan çalışmaların sayısı da artmıştır. Günümüzde ise elektropüskürtme ve elektroğirme alanında yapılan çalışmaların

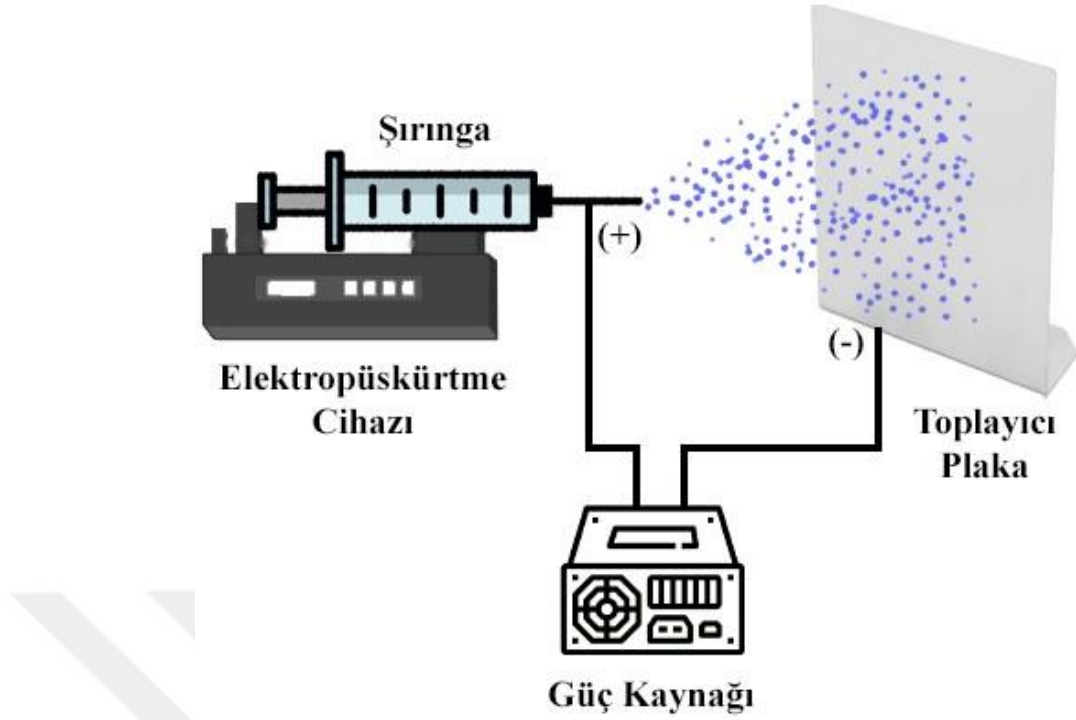
farklı disiplinlerde kendine yer edinmesi ile son derece önemli çalışmalar ortaya çıkmaktadır.

## 2.2 Elektropüskürtme Yöntemi

Elektrohidrodinamik atomizasyon yöntemleri elektropüskürtme ve elektroğirme olarak ikiye ayrılmaktadır. Elektrohidrodinamik atomizasyon adı elektrik kuvveti ile sıvıyı atomize edip böylece mikro boyuttan nano boyuta kadar küçük damlacıklar elde edilmesinden gelmektedir. Elektropüskürtme yönteminin mantığı temel olarak oluşturulan elektriksel alan ile damlaların daha küçük damlacıklara parçalanması ve kontrol parametrelerinin de etkisi ile mikro ya da nano ölçekte partiküller elde edilmesine dayanmaktadır (Jaworek ve Sobczyk 2008).

Elektropüskürtme ve elektroğirme yöntemleri birbirlerine çok yakın yöntemler olarak gözükseler de polimer çözeltisi konsantrasyonu, çözelti viskozitesi ve elde edilen ürün yapıları bakımından birbirlerinden farklı yöntemlerdir. Elektroğirme yönteminde lifler elde edilirken, elektropüskürtme yönteminde ise kapsüllenmiş partiküller elde edilmektedir. İki yöntem de temel olarak aynı kurulumlara sahiptir. Elektropüskürtme kurulumu Şekil 2.1’de verilmiştir. Bu kurulum genelde 1-30 kV arasında değişen yüksek voltaj, paslanmaz çelikten yapılmış bir iğne ucu veya kılcal bir uç, şırınga pompası ve topraklaması sağlanmış düz bir toplayıcı plaka veya dönen bir tamburdan oluşmaktadır. Toplayıcı plaka genellikle metalik bir plakadan oluşmakta ve püskürtülen partiküllerin daha iyi toplanabilmesi için literatürde çoğunlukla yüksek elektrik iletkenliği, ucuzluğu ve hafif oluşu nedeniyle alüminyum folyo gibi yüzeyler tercih edilmektedir (Wang ve diğ. 2012).

Elektropüskürtme yönteminde üretilen partiküllerin daha küçük çapta olması için üç adım gerekmektedir. İlk olarak Taylor konisinin oluşmasını etkileyen faktörlerin yüzey gerilimi, yerçekimi ivmesi, elektriksel gerilim, atalet ve viskoz gerilmeler olduğu vurgulanırken, düzenli Taylor konisi oluşturmak için çözeltinin belirlenen akış hızında dinamik olması gerekmektedir. İkinci olarak çözelti Taylor konisinde bozunarak küçük damlacıklar haline gelmelidir. Son olarak oluşturulan küçük damlacıkların, toplayıcı plaka yüzeyinde toplanması gerektiği belirtilmektedir (Hartman ve diğ. 1999).



Şekil 2.1: Elektropüskürtme kurulumu

Elektropüskürtme yönteminde polimer çözeltisi, yüzey geriliminin etkisiyle iğnenin ucunda tutulmaktadır. Polimer çözeltisi, uygulanan yüksek voltaj sayesinde yüzey gerilimine karşı koyan güçlü elektrostatik kuvvetler tarafından yüklenmiş durumdadır. İğnenin ucundaki polimer çözeltisi, yüksek voltaj ile yüklendiğinde Coulomb elektrostatik itme kuvveti oluşur. Damlanın çok daha küçük ve daha kararlı damlacıklar oluşturması durumu, damlacıkların Coulomb bölünmesi olarak tanımlanmıştır. Elektrostatik yükleme limiti ise Rayleigh yükleme limiti ile ifade edilirken sıvı damlacıklarının oluşum koşullarını açıklamaktadır (Rayleigh 1882). Elektrostatik alan kritik noktaya ulaştığında polimer çözeltisi damlasının şekli küresel yapıdan konik bir yapıya dönüşmektedir. Bu sayede Taylor konisi adı verilen jet oluşmaktadır. Ardından oluşturulan elektrostatik alan, yüzey gerilimini aştıktan sonra Taylor konisinin ucundan voltaj yüklü bir jet açığa çıkar. Yüzey gerilimini aşan damlacık, belirli bir akış hızında pompalanarak nano ya da mikro damlacıklara parçalanır. Son olarak, yüksek yüzey/hacim oranına sahip püskürtülmüş çözelti buharlaşırken, kapsüllenmiş partiküller toplayıcı plakada biriktirilir (Gómez-Mascaraque ve diğ. 2019; Coelho ve diğ. 2021).

Elektropüskürtme işleminde damlama ve mikro damlamalar genellikle düşük voltajdan, çözeltinin yeterince viskoz olmamasından ve yüzey geriliminin fazla olmasından kaynaklanmaktadır (Luo ve diğ. 2012). Taylor konisi yer çekimi, yüzey gerilimi, sıvı yüzeyi, atalet, viskoz kuvvetler ve elektriksel kuvvetlerinin dengede olduğu bir durumdur (Dhiman ve diğ. 2022). Kullanılan akış hızı, uygulanan voltajla orantılı olmadığı zaman kararsız bir koni jet oluşumu gözlemlenmektedir ve bu nedenle iğne ucunda düzensiz bir kütle akışına neden olmaktadır. Aynı sonuç, voltajın çok fazla olduğu ve korona deşarjının iğne ucundaki damlacıkta kararlı bir koni jet oluşturmak için yeterli voltaj yükü biriktiremediği durumda da meydana gelebilmektedir (Xie ve Wang 2007). Elektropüskürtme yönteminde koni jet, çoklu jetler, salınımlı jet ve dallanmış jet gibi birden fazla jet oluşumu görülebilmektedir. Bu jet oluşumları arasında koni jet, en düzenli jet oluşumu olmakla birlikte çok dar aralıkta küçük partikül dağılımının elde edilmesini sağlayan ve en yaygın kullanım alanına sahip olan jet modu olarak bilinmektedir (Jaworek 2008).

Elektropüskürtme yönteminde gıda biyoaktifleri için koruyucu bir tabaka olarak kullanılan polimerler toksik olmamalı, biyobozunur olmalı, gıdaya uygun olmalı ve toksik olmayan çözücülerde iyi derecede çözünebilir olmalıdırlar. Yöntemde kitosan, alijenat, nişasta, peyniraltı suyu, dekstran ve modifiye selüloz gibi polisakkaritlerin işlenebilirlikleri, fonksiyonel gruplarına, modifikasyon derecelerine ve moleküler ağırlıklarına bağlıdır (Soares ve diğ. 2018). Elektropüskürtme yönteminin kolay bir şekilde uygulanabildiği polimer çözeltileri genellikle düşük moleküler ağırlıklı polimerlerden, düşük konsantrasyonlu çözeltilerden ve çözelti içerisinde dağıldığında küçük yapıya sahip olan polimerlerden hazırlanan çözeltilerden oluşmaktadır (Jian ve Rutledge 2006).

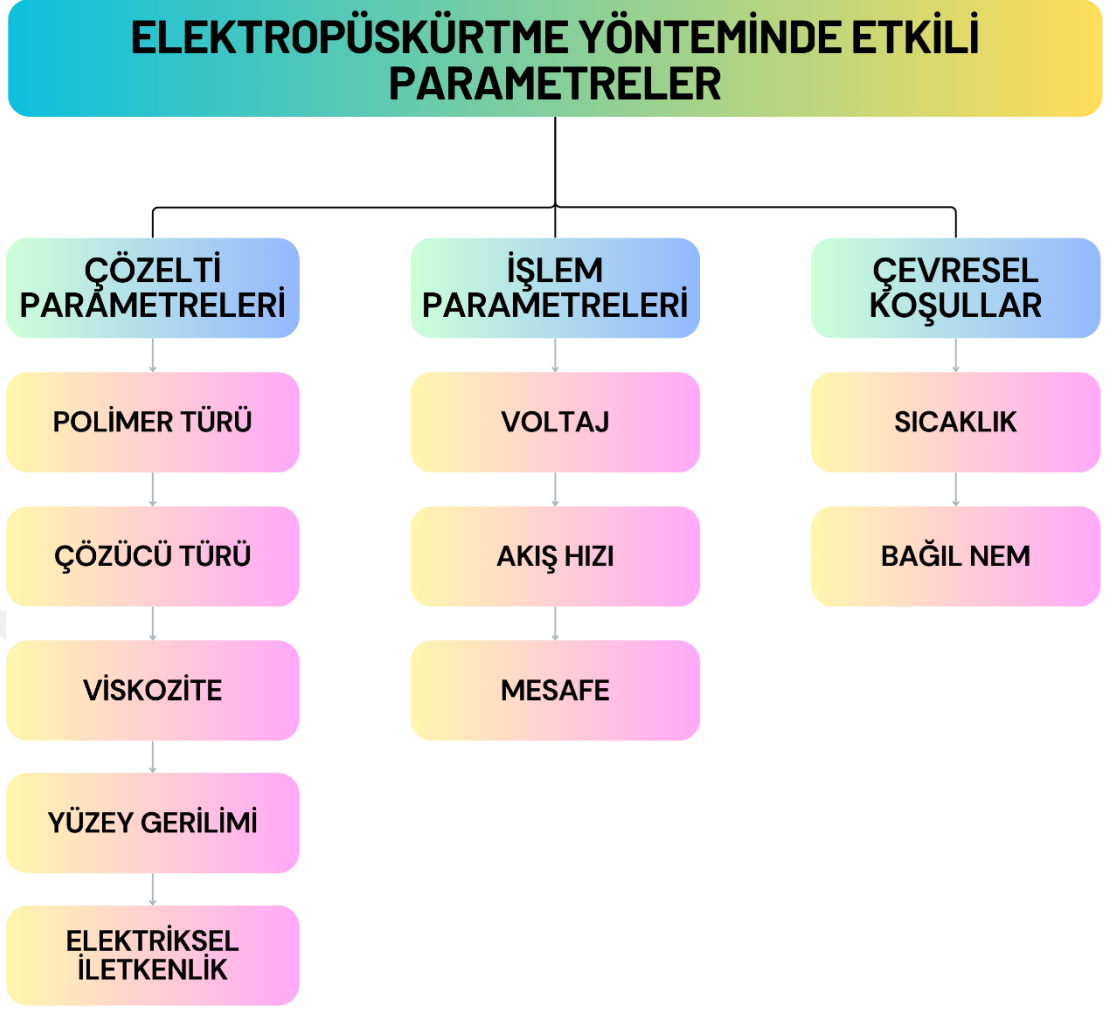
Elektropüskürtme yöntemi ile üretilen partiküllerin boyutu küçüktür ve çapları genellikle mikronun altındadır. Yüklü damlacıklar birbirini iter ve bu sayede toplanmazlar. Partiküllerin morfolojilerinin kontrol edilmesi kolaydır. Elektropüskürtme yöntemi ile gelişmiş enkapsülasyon verimliliğine sahip daha esnek polimer yapıları elde edilirken düzgün dağılımlarda partiküller elde edilebilmektedir. Biyoaktif bileşenlerin aktivitesi, kimyasal yapısı ve fiziksel özellikleri değiştirilmeden etkin bir şekilde korunur. Bu avantajlar, biyoaktif bileşikler çevresel etkenlerden korumakta önemli bir rol oynar. Elektropüskürtme, kapsüllenmiş partiküllerin üretimi

için uygun maliyetli ve ölçeklenebilir bir yöntemdir. İşlem, yüksek sıcaklık içermez ve uygulanması basittir. Bu nedenle partiküller içine kapsüllenen biyoaktif bileşenler fonksiyonlarını koruyabilirler (Zamani ve diğ. 2013; Niu ve diğ. 2020). Bunlara ek olarak elektropüskürtme ile enkapsülasyon sayesinde istenmeyen tat ve kokuların maskelenmesi, biyoyararlılık ve kontrollü salınım gibi özellikleri iyileştirirken, biyoaktif bileşenlerin buharlaşmasını ve uçuculuğunu da azaltmaktadır (Niu ve diğ. 2020).

Elektropüskürtme yönteminin diğer enkapsülasyon yöntemlerine göre avantajları arasında; elde edilen partiküllerin boyutlarının mikron seviyesinin altında olması, boyut dağılımının neredeyse aynı olması (monodispers), voltajla yüklenmiş damlacıkların birbirlerini itmesi sayesinde yığılma olmaması, üretilen partiküllerin morfolojilerini kontrol etmenin nispeten kolay olması, biyoaktif bileşenlerin aktivitelerinin kimyasal yapıları ve fiziksel özellikleri değiştirilmeden etkili bir şekilde korunması ve uygulanmasının kolay olması bulunmaktadır (Shemesh ve diğ. 2016).

### **2.3 Elektropüskürtme Yönteminde Etkili Parametreler**

Elektropüskürtme yönteminde elde edilen partiküllerin yapıları, morfolojileri ve sahip oldukları karakteristik özellikler, başlıca çözelti, işlem ve çevresel koşullar olmak üzere birden çok faktöre bağlıdır (Rostami ve diğ. 2019). Günümüzde gelişen teknolojiler ve yapılan çalışmalar ile üretilen partiküllerin boyutlarına etki eden parametreler daha geniş alanda incelenmiş olup, partiküller elde etmek için dikkat edilmesi gereken parametrelerin sayısı artmış ve daha detaylı bir şekilde irdelenmesi gerekmektedir. Elektropüskürtme yöntemi ile partiküller elde ederken dikkat edilmesi gereken çözelti parametreleri; polimer türü, çözücü türü, viskozite, yüzey gerilimi ve elektriksel iletkenlik, işlem parametreleri; voltaj, akış hızı ve toplayıcı plaka ile iğne ucu arasındaki mesafe ve çevresel koşullar; bağıl nem ve sıcaklık etki etmektedir ve Şekil 2.2’de verilmiştir.



Şekil 2.2: Elektropüskürtme yönteminde etkili parametreler (Rostami ve diğ. 2019)

### 2.3.1 Çözelti Parametreleri

#### 2.3.1.1 Polimer Türü

Kullanılacak polimer türünün, elektropüskürtme işleminin ilk aşamalarında belirlenmesi gerekmektedir. Partiküllerin elektropüskürtme yöntemi ile üretilmesinde, polimer seçimi, partiküllerin sahip olacağı özelliklerin önemli bir belirleyicisidir. Polimer türleri; üretilcek partiküllerin hedef kullanım amaçlarına göre, biyoaktif bileşenlerin çözünürlüğünü arttırmak, dağıtım sistemlerini veya kontrollü salınımlarını kontrol etmek gibi amaçlarla belirlenmelidir. Kullanılacak polimer belirlendiğinde ise, sonraki adım olarak hangi çözücüler içerisinde çözünebildiği incelenip, böylece çözelti özellikleri belirlenmiş olacaktır. Kullanılacak polimerler sentetik veya doğal

olabilirler. Her iki polimer türünün de elektropüskürtme yönteminde belirli avantajları bulunmaktadır. Genellikle doğal polimerler, GRAS (Genel olarak güvenli kabul edilen) sınıfına girmeleri nedeniyle gıda ve biyomedikal alanlarında kullanılmaya daha uygundurlar. Sentetik polimerler ise polimer zincirlerinin güçlü olması, viskoelastik olmaları ve bozunma oranlarının geniş bir aralıkta ayarlanabilmesi gibi çeşitli avantajlarından dolayı farklı alanlarda kullanılabilirler (Rostami ve diğ. 2019; Niu ve diğ. 2020).

### 2.3.1.2 Çözücü Türü

Çözücüler, partiküllerin üretim süreçleri ve karakteristik özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir. Elektropüskürtme çözeltisi, polimerin çözücüde çözünür olması koşuluyla elde edilebilir. Elektropüskürtme işleminde kullanılacak çözücünün türü, kullanılacak polimere göre belirlenir. İyi bir polimer çözeltisi elde edilmesi için kullanılan çözücünün uçuculuğunun yüksek olması, ortalama bir buharlaşma basıncı ve kaynama noktasına sahip olması gerekmektedir. Elektropüskürtme yönteminde partikül elde etmeyi etkileyen en önemli faktörler ise çözünen maddenin çözücüler içerisindeki çözünabilirliği ve çözücünün kuruma kinetiğidir (Park ve Lee 2009). Damlacıkların toplayıcıya doğru uçuşu sırasında çözücünün tam olarak buharlaşması gerekmektedir. Çözücünün yavaş buharlaştığı durumda gereken süre fazla olacağından dolayı üretilen partiküllerin morfolojileri küresel olacaktır. Aynı şekilde damlacık uçuşu sırasında çözücü yeterince buharlaşmamışsa, toplayıcıdaki püskürtülmüş partiküllerin ıslak olması muhtemeldir ve partikül yığılması meydana gelebilir. Yüksek uçuculuğa sahip çözücüler ise Taylor konisi oluşumunu zorlaştırarak elektropüskürtme işlemini kararsız hale getirebilir. Bu nedenle, uygun çözücü seçimi elektropüskürtme yönteminde kritik öneme sahiptir. Polimer zincirleri kıvrılabildiğinden dolayı önemli polimer-polimer etkileşimleri çok az çözünen çözeltilerde daha yaygındır. Daha uyumlu bir çözücü ortamda polimer-çözücü etkileşimleri daha güçlü hale gelerek polimer zincirlerinin daha uzamış bir halde kalmasına imkan sağlar (Shenoy ve diğ. 2005; Niu ve diğ. 2020). En yaygın kullanılan çözücüler, GRAS listesinde bulunan su ve asetik asittir (Rostami ve diğ. 2019).

### 2.3.1.3 Konsantrasyon ve Viskozite

Viskozite, kullanılan polimerin moleküler ağırlığına, konsantrasyonuna, polimerik zincir yapısına ve çözücü türü ile arasındaki etkileşimlere doğrudan bağlıdır (Yao ve Song 2007). Düşük molekül ağırlıklı polimerlerden partikül üretmek için yüksek konsantrasyon gereklidir. Ayrıca yüksek molekül ağırlıklı polimer ile düşük konsantrasyonlarda bile partiküller oluşturabilmektedir. İşlemin optimize edilmesi için polimer çözeltilisinin viskozitesi göz önünde bulundurulmalıdır (Khoshnoudi-Nia ve diğ. 2020; Coelho ve diğ. 2021). Çözeltinin viskozitesi, elektropüskürtme ve elektroğirme arasındaki geçişi kontrol eder. Yüksek viskoziteye sahip çözeltilerde, polimerik zincirler arasında daha yüksek kohezyon kuvveti ve moleküler dolaşıklık oluşur. Elektroğirme yönteminde kohezyon kuvvetleri ve moleküler dolaşıklık, jetin damlacıklara ayrılmasını engeller ve bu sayede düzenli bir jet oluşumu ile lif yapıları elde edilmesini sağlar. Elektropüskürtme yönteminde ise düşük viskozite nedeniyle düzensiz bir jet oluşur ve jetin parçalanması sonucunda partiküller elde edilir. Özetle, yüksek çözelti viskozitesi veya polimer çözeltilisinin konsantrasyonu lif oluşumuna, düşük çözelti viskozitesi veya polimer çözeltilisinin konsantrasyonu ise partikül oluşumuna yol açar (Ghorani ve Tucker 2017).

### 2.3.1.4 Yüzey Gerilimi

Yüzey gerilimi, elektropüskürtme yönteminde iğne ucundan çıkan damlacıkların nihai boyutunu belirleyen önemli bir faktördür. Yüksek voltaj tarafından üretilen elektrostatik kuvvetlere karşı koyan ana faktör olduğundan dolayı yüzey gerilimi, polimerik çözeltilerin püskürtülebilirliğini etkileyen temel parametredir (Neo ve Perera 2018). Düşük yüzey gerilimine sahip çözeltilerde oluşturulması gereken elektriksel alan kuvveti daha düşük olmakla beraber bu durumun her zaman doğrusal bir ilişkiye sahip olmadığından da bahsetmekte fayda vardır (Haghi ve Akbari 2007). Düşük yüzey gerilimine sahip polimerler, daha küçük boyutlu damlacık oluşumuna yol açar (Coelho ve diğ. 2021).

### 2.3.1.5 Elektriksel İletkenlik

Elektriksel iletkenlik, elektropüskürtme yönteminde kritik bir rol oynar. Sıvı çözeltilerin yüzeyini elektrik yükü ile yüklemek için çözeltilerin iletken olması gerekmektedir. Yeterli iletkenliğe sahip olmayan çözeltilerde elektropüskürtme işlemi gerçekleşemez. Yüksek elektriksel iletkenliğe sahip çözeltiler daha kısa sürede voltaj ile yüklendiğinden, daha homojen ve küçük partiküller elde edilmesini sağlar (Aceituno-Medina ve diğ. 2013). Çözeltinin yüksek bir elektriksel iletkenliğe sahip olduğu durumda, polimer ağında daha çok çözünme oluşması nedeniyle püskürtülen partiküllerin çapları da daha küçük olacaktır. Gereğinden fazla elektriksel iletkenlik birden fazla jet oluşumuna yol açarken, elektrik akımının ekipmana geri akması ile insan sağlığına ve deney düzeneğine zarar verebilecek elektrik şoku veya hasar oluşumuna neden olabilir, ayrıca uzamış partiküllere ve Coulomb bölünmesine de sebep olacaktır. Bu nedenle istenilen partikül boyutunu elde etmek için iletkenlik ayarlanırken çok dikkatli olunmalıdır (Hayati ve diğ. 1987).

### 2.3.2 İşlem Parametreleri

#### 2.3.2.1 Voltaj

Çözeltiye uygulanan voltaj, üretilen partiküllerin boyutunu ve dağılımını önemli ölçüde etkileyen kritik bir parametredir. Taylor konisi oluşturmak, sıvıyı hızlandırmak, damlacıklar üretmek ve polimerin iğne ucundaki yüzey gerilimini aşmak için yeterli bir voltaj uygulanmalıdır (Gómez-Mascaraque ve diğ. 2019). Karimi ve diğ. (2020) damlacık üzerine uygulanan voltajın, polimer zincirlerinde dolaşıklık oluşmadan önce Rayleigh limitine ulaştığı durumda Coulomb bölünmesi meydana gelebileceğini ve bunun da damlacıkların kendinden çok daha küçük damlacıklara bölünmesine neden olacağını söylerken bu sayede daha küçük çaplarda nanopartiküller üretilebileceğini belirtmişlerdir. Öte yandan, gereğinden fazla voltaj uygulanması durumunda küresel partiküllerin şekilleri, aşırı elektrik yüklü partiküllerde meydana gelen gerilme nedeniyle uzamış partiküllere ve hatta polimer çözeltisinin konsantrasyonu yüksek ise boncuk şeklindeki liflere bile dönüşebilir (Niu

ve diğ. 2020). İdeal voltaj miktarı, kullanılan polimere ve akış hızına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Khan ve diğ. 2012).

### **2.3.2.2 Akış hızı**

Akış hızı, jet hızını ve birim zamanda iğne ucundan transfer edilen çözelti miktarını kontrol eden önemli bir parametredir. Püskürtme çözeltisinin yüksek voltajla yüklenmiş iğne ucuyla temas süresini ve iğne ucunda kalma süresini belirlemede önemli rol oynar. Ayrıca püskürtme çözeltisinin iğne ucunda kalma süresi arttıkça, daha uzun süre voltajla yüklenmiş olur ve bu da daha küçük damlacıklar oluşmasına imkan sağlar. Ancak bu ilişki tamamen doğrusal değildir. Püskürtme çözeltisi kritik bir akış hızı eşiğinin altında kaldığında, düzenli bir jet oluşumu elde etmek zordur. Püskürtme işlemi boyunca Taylor konisini düzenli halde tutmak için iğnenin ucundaki akış hızının kontrol altında olması gerekmektedir (Pham ve diğ. 2006). Akış hızı, yeterli bir uçuş mesafesi ile çözücünün buharlaşması için yeterli zaman sağlayacak kadar düşük olmalıdır. Optimum akış hızı aralığı, çözücünün uçuculuğuyla önemli ölçüde ilişkilidir (Gómez-Mascaraque ve diğ. 2019). Düşük akış hızları, daha küçük çapta partikül oluşumunu sağlarken, bu durumun tam tersi de mümkündür. Yani daha yüksek akış hızlarına çıkıldığı durumda da daha küçük çapta partiküller elde edilebilir (Niu ve diğ. 2020).

### **2.3.2.3 Mesafe**

Elektropüskürtme yönteminde iğne ucu ile toplayıcı plaka arasındaki mesafe, üretilen partikül morfolojisi üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. İğne ucu ile toplayıcı plaka arasındaki mesafe arttıkça partiküllerin plakaya ulaşma süreleri artar ve jetin gerilip uzaması için daha fazla zaman tanınır. Ayrıca oluşturulan elektriksel alan zayıflar ve Taylor konisi büyür. Gereğinden kısa mesafelerde ise çözücünün buharlaşma süresi yetersiz kalacağından toplayıcı plaka üzerindeki partiküllerin birleşmesine ve toplanmasına yol açacağı için istenmeyen bir durum oluşmaktadır. Yanlış seçilmiş mesafe, partikülün boyut ve morfolojisini değiştirebilen çözücü buharlaşmasını etkiler (Jafari 2017; Nguyen ve diğ. 2016). Toplayıcı plaka arasındaki

mesafe ile çözeltilerin buharlaşması arasında bahsedilen ilişkiye göre hızlı bir buharlaşma meydana gelirse partiküller daha gözenekli veya boş morfolojilerde oluşmaktadır. Buharlaşmanın daha yavaş gerçekleştiği durumda ise çözücünün buharlaşması için daha fazla zaman olacağından üretilen partiküllerin şekilleri daha küresel olmaktadır (Park ve Lee 2009).

### **2.3.3 Çevresel Koşullar**

#### **2.3.3.1 Sıcaklık ve Bağıl Nem**

Sıcaklık ve bağıl nem, elektropüskürtme yöntemiyle üretilen partiküllerin morfolojisini doğrudan etkileyen çevresel parametrelerdir. Bağıl nem, sıcaklık ve ortam basıncına göre değişkenlik göstermektedir. Bağıl nem yükseldikçe, oluşan jetin buharlaşma oranı azalmaktadır ve bu nedenle jet uzamaya devam eder (Pelipenko ve diğ. 2013). Bununla birlikte bağıl nemin morfoloji üzerindeki etkisi, kullanılan polimerin kimyasal yapısına bağlıdır. Sıcaklık arttığında ise çözeltilerin buharlaşma oranını arttırmakla beraber çözeltilerin viskozitesini de düşürmektedir. Yine aynı şekilde bu durum çözücünün ve polimerin türüne de bağlıdır (De Vrieze ve diğ. 2009). Sıcaklığın arttığı durumda moleküllerin hızı ve çözücünün buharlaşma oranı artarken, çözeltilerin viskozitesi ve yüzey gerilimi düşer. Bahsedilen bu olaylar, üretilen partiküllerin çapında azalma meydana getirir (Niu ve diğ. 2020). Bağıl nemle ilişkili bir başka parametre ise akış hızıdır. Yüksek bağıl nemde, çözücünün tamamen buharlaşabilmesi için akış hızının düşük olması önerilmektedir. Aksi halde yüksek akış hızı, polimerin çözücü ile toplayıcı plakada toplanmasına ve yığılmaya yol açacaktır (Jafari 2017).

## **2.4 Kitosan**

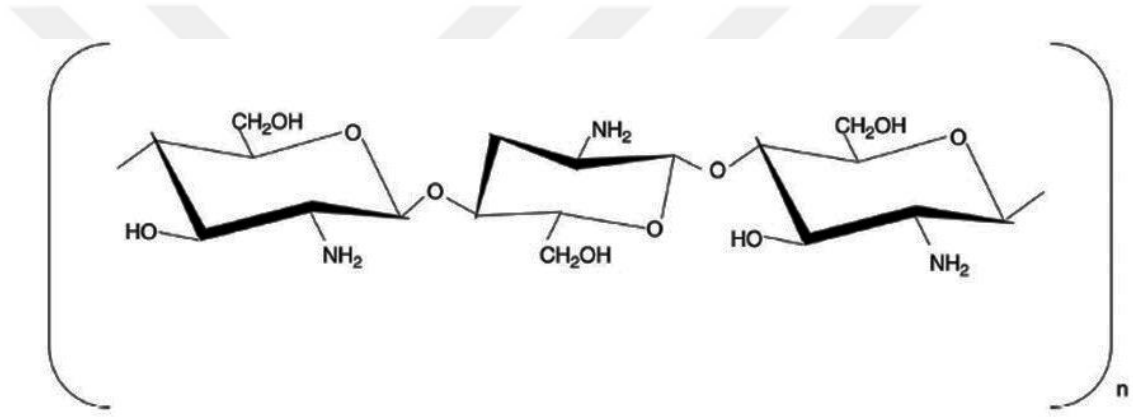
Karbonhidrat bazlı polimerlerin nanoenkapsülasyonu gıda bileşenleri için oldukça iyi sonuçlar vermektedir. Nişasta, pektin, selüloz, aljinat, kitosan vb. gibi karbonhidrat bazlı polimerler gıda uygulamalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. Termal hassasiyeti olan bileşiklerin korunması için termal

stabiliteeri yüksek olan protein ve lipid bazlı polimerlerle enkapsüle edilmeleri sayesinde birden çok avantaj elde edilebilmektedir. Polisakkarit bazlı polimerler alg (karragenan ve aljinat), mikrobiyal (ksantan sakızı ve dekstran), bitkisel (nişasta, pektin, selüloz, hemiselüloz ve guar sakızı) ve hayvansal (kitosan) gibi farklı elde edileme kaynaklarına göre sınıflandırılmaktadırlar (Awuchi ve diğ. 2022).

nemli bir yapısal polimer olarak bilinen kitin, böceklerin ve kabukluların dış iskeletinin büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Kitin, selülozdan sonra doğada en yaygın olarak bulunan biyopolimerdir. Kitosan ise doğada çok daha az miktarda bulunmaktadır. Kitinin alkali koşulda kısmi deasetilasyonu ile kitosan elde edilmektedir. Kitin ve kitosan arasındaki temel fark asetilasyon derecesidir. N-asetil-D-glukozamin miktarı %50'den fazla olduğunda kitin olarak adlandırılırken, D-glukozamin seviyesi %50'den fazla olduğunda kitosan elde edilmektedir (de Souza ve diğ. 2021).

Kitosanın biyobozunurluğu, biyoyuymumluluğu, antioksidan, antifungal, antibakteriyel, partikül ve film oluşturma yeteneği, yenilenebilir olması, toksik ve allerjik olmaması nedeniyle son zamanlarda yapılan çalışmalarda oldukça yaygın bir şekilde kullanılmakla birlikte biyoaktif bileşenlerin korunması için yararlı olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca kabuklu deniz canlıları olmak üzere birçok deniz atıklarından elde edildiği için hem çevreci hem de düşük maliyetli bir polimerdir. Kitosanın kimyasal yapısı şekil 2.3'te görüleceği üzere  $\beta$ -1,4 bağlarla birbirine doğrusal bir şekilde bağlanmış D-glukozamin ve N-asetil-D-glukozamin olmak üzere iki alt birimden meydana gelmektedir. Kitosan molekülü  halkadan oluşmaktadır. Birincil ve ikincil hidroksil grupları ve amin grupları olmak üzere üç fonksiyonel grup, her kitosan molekülünde bulunmaktadır. Bu fonksiyonel gruplar kitosanın kimyasal modifikasyon yeteneğini arttırırken mekanik özellikleri ve çözünürlüğü gibi bazı fizikokimyasal özellikleri bakımından da önemlidir. Kitosan znrlğ sayesinde tıp, biyomedikal, kozmetik, gıda endüstrisi, tarımda ve malzeme bilimi gibi birçok alanda kullanım potansiyeli bulmuştur. Gıda teknolojisinde kalitenin iyileştirilmesi, gıdaların raf ömrünün arttırılması, yiyecek ve içeceklerin muhafazası ve kaplama malzemesi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca biyolojik olarak parçalanamayan ve yenilenemeyen polimerlerin yerine alternatif olarak kullanılmaktadır. Kitosanın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri deasetilasyon derecesine, molekül ağırlığına,

çözünürlüğüne ve fiziksel formuna bağlı olarak önemli ölçüde değişmektedir. Kitosan zincirinde serbest amin gruplarının bulunması nedeniyle, kitinden farklı olarak seyreltilmiş asidik çözücülerde çözünebilmektedir (Kırtel ve diğ. 2017; Divya ve diğ. 2018; Mujtaba ve diğ. 2019; Minh ve diğ. 2020; Shahbaz ve diğ. 2022). Düşük moleküler ağırlık, yüksek moleküler ağırlığa göre daha iyi biyoaktivite göstermektedir (Kou ve diğ. 2021). Kitosan polimerinden nanopartikül sentezi için güvenli organik çözücülerin kullanılması, kontrollü salınım ve diğer polimerik malzemelere kıyasla kolay kullanım gibi birden çok avantaja sahiptir. FDA tarafından onaylı GRAS kabul edilmektedir. Ayrıca nutrasötik ve biyoaktif bileşenlerin kapsüllemesinde oldukça yaygın kullanım potansiyeli bulmuştur (Gómez-Mascaraque ve diğ. 2016; Awuchi ve diğ. 2022).



Şekil 2.3: Kitosanın kimyasal yapısı (Kırtel ve diğ. 2017)

## 2.5 Defne Uçucu Yağı

Defne geçmişten günümüze kadar toplumda oldukça önemli yer edinmiş bir bitkidir. Geçmiş zamanlarda defne yaprağından yapılmış taç, kralların başlarına zaferin sembolü ve olimpiyat oyunlarını kazanan kişilere ödül olarak takılmaktaydı. Roma döneminde paraların yüzeylerinde defneden çelenkler bulunmaktaydı. Ayrıca defne yaprağını yanında taşımanın insanları koruduğuna dair Roma döneminde yaygın bir inanış hakimdi (Karık ve diğ. 2015).

Akdeniz defnesi, hoş kokulu, tüm mevsimlerde yeşil rengini koruyabilen yaprakları olan ve bir çalı türüdür. Defnenin asıl yayılma bölgesi Akdeniz Havzası ve Küçük Batı Asya'dır. Dünya'da defne üretimini en başta Türkiye çekerken Kanarya

Adaları, Meksika, Fransa, Cezayir, Yunanistan, Fransa, Portekiz ve İspanya gibi çeşitli ülkelerde de yetiştirilmektedir. Defne Türkiye'nin tüm kıyı şeritlerinde yetişmekle beraber en yaygın bulunduğu iller ise İzmir, Antalya, Muğla, Mersin, Sinop, Maraş, Rize, Trabzon, Hatay, Kastamonu, İstanbul, Zonguldak, Yalova, Balıkesir ve Bursa'dır. Türkiye'de defneye ait *Laurus Nobilis L.* türü bulunmaktadır. Defne bitkisi yazın sıcak ve nemli, kışın ise yağışlı ve ılıman iklimlerde iyi bir şekilde gelişmektedir. İlk dönemlerinde don olayına karşı zayıf olan defne bitkisi bu nedenle Akdeniz Bölgesinde çok rahat bir şekilde yetiştirilebilmektedir. Ülkemizde defne yaprağı üretimi, bölgenin özelliklerine göre değişmekle beraber haziran ortası ve temmuz başında başlayıp eylül ayının sonuna kadar devam etmektedir. Dünya defne yaprağı ihracatında Türkiye ilk sırada bulunmaktadır ve ihraç edilen defnenin %90'ını Türkiye'den temin etmektedir (Yılmaz ve Çiftçi 2021).

Defne bitkisinin yaprakları baharat ve aromatik tatlandırıcı olarak kullanılmakla beraber içerdiği uçucu yağlar açısından da çok önemlidir ve yaygın olarak Akdeniz defnesinin yapraklarından uçucu yağ üretilmektedir (Dobroslavić ve diğ. 2022). Defne yapraklarından %0,5 ile %4,69 aralığında uçucu yağ elde edilebilmektedir. Ayrıca defne uçucu yağının ana bileşeninin 1,8-sineol olduğu bildirilmiştir (Taban ve diğ. 2018). Defne uçucu yağı üzerine yapılan çalışmalar sonucunda ana bileşenlerinin genellikle; 1,8-sineol (%30-50),  $\alpha$ -pinen (%7-12),  $\beta$ -pinen (%4-10), sabinen (%2-4), limonen (%1-3) ve linalol (%0,2-0,4) aralığında olduğu belirlenmiştir (Razaei ve diğ. 2019). Defne uçucu yağı gıdaların muhafazası, etin kırmızı renginin korunması, antibakteriyel, antimikrobiyal, antifungal ve antioksidan gibi farklı biyoaktif özelliklere sahiptir. Lipofilik bir bileşen olan defne uçucu yağı, hidrofilik bir kapsülleme maddesi içerisinde kapsülünerek, sulu bir ortamda kullanılabilir hale getirilebilmektedir (Reis ve diğ. 2019). Defne uçucu yağında antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerden sorumlu bileşenler arasında monoterpen hidrokarbonlar ( $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen ve sabinen), oksijenli monoterpen hidrokarbonlar (1,8-sineol,  $\alpha$ -terpinil asetat, linalol,  $\alpha$ -terpinol ve  $\gamma$ -terpinol) ve aromatik bileşenler (öjenol ve metil öjenol) bulunmaktadır (Chahal ve diğ. 2017). Ayrıca defne uçucu yağı; kozmetik sektöründe krem, parfüm ve sabun olarak, tarım sektöründe böcek öldürücü ve koruyucu, sağlık sektöründe ise romatizma ağrılarının hafifletilmesi, kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivite, kas kasılmalarını giderme

ve sindirim bozukluklarını önlemede yaygın olarak kullanılmaktadır (Taban ve diğ. 2018).

## 2.6 Literatürde Yapılan Bazı Elektropüskürtme Çalışmaları

Oikonomopoulou ve diğ. (2022) yaptıkları çalışmada elektropüskürtme yöntemi ile sprey kurutma yöntemini karşılaştırmışlar ve elektropüskürtme yöntemi ile elde edilen stevia yüklü maltodekstrin nanopartiküllerin çaplarının, sprey kurutmaya göre 4,5 kat daha küçük olduğunu gözlemlemişlerdir. Polimer konsantrasyonunun %10'dan %15'e çıkarılması ile partikül çapında %60'lık bir artış meydana gelmiştir. Aynı durumu polimer konsantrasyonu ve akış hızının artması ile partikül çapında artış meydana gelmesiyle ifade etmişlerdir. Ayrıca iğne ucu ile toplayıcı plaka arasındaki mesafenin artması ile partikül çaplarında azalma meydana geldiğini belirtirken, bunun nedeninin damlacıklara uygulanan elektriksel alanda daha uzun uçuş sürelerinin olması ile Coulomb bölünmesi ve sıvı buharlaşması için daha fazla zamanın olmasından kaynaklandığını düşünmektedirler. Böylece artan uçuş süresi ile polimer zincirleri damlacık içerisine daha rahat dağılılabirirken homojenlik artmaktadır. FTIR spektrumlarına bakıldığında ise maltodekstrin ile saf steviaya ait karakteristik piklerin değişmediğini saptamışlardır. Bu durumu polimer matrisi ile stevia arasında herhangi bir kimyasal bağ bulunmadığını ve enkapsülasyon işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğinin bir göstergesi olarak belirtmişlerdir.

Cetinkaya ve diğ. (2021) çalışmalarında kafirin ve balık yağı kullanarak nanopartiküller elde etmişlerdir. Ağırlıkça %10 kafirin ve kafirin ağırlığına göre %20 balık yağı çözeltileri üzerinde, 0,5-1 mL/h arasında değişen akış hızlarında ve 20-25 kV voltaj aralığında çalışmalar yaparak 552 ve 861 nm boyutlarında nanopartiküller üretmişlerdir. Nanopartiküllerin ortalama çapı üzerinde akış hızı ve voltajın önemli ölçüde bir farka yol açmadığını bildirmişlerdir.

Soleimanifar ve diğ. (2020) çalışmalarında, elektropüskürtme yöntemi ile zeytin yaprağı ekstraktı yüklü peynir altı suyu konsantresi kullanarak nanopartiküller üretmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre nanopartiküllerin boyutlarının peynir altı suyu konsantresi ve zeytin yaprağı ekstraktı oranlarına son derece bağımlı olduğunu, enkapsülasyon verimliliğinin polimer ve ekstrakt oranlarının artması ile önemli ölçüde

arttığını saptamışlardır. FTIR sonuçlarına göre enkapsüle edilmiş partiküllerde herhangi bir yeni pik gözlemlenmediğini ve partikül çaplarının 232-659 nm aralığında heterojen yapıda olduğunu belirtmişlerdir. Polimer çözeltisinin konsantrasyonu iki katına çıkartıldığında ise daha yüksek enkapsülasyon verimliliğinde daha küçük boyutta nanopartiküller elde etmişlerdir. Ayrıca zeytin yaprağı ekstraktının farklı konsantrasyon oranlarında eklenmesi ile partikül çaplarında artış meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak zeytin yaprağı ekstraktını, peynir altı suyu konsantresi içerisinde başarılı bir şekilde enkapsüle etmişlerdir.

Rodrigues ve diğ. (2020) çalışmalarında elektropüskürtme yöntemi ile  $\beta$ -karoten yüklü peyniraltı suyu izolatu kullanarak 227-283 nm aralığında küresel şekillerde nanopartiküller elde etmişlerdir. Farklı etanol konsantrasyonları kullanarak (%5, %10 ve %15) partiküllerin morfolojileri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre etanol miktarının artması ile ortalama partikül çaplarında bir artış meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca etanol çözücü konsantrasyonunun artması ile  $\beta$ -karoten gibi lipofilik bileşenlerin çözünürlüğü artarken elektropüskürtme prosesinin veriminin de arttığını gözlemlemişlerdir. Nano boyutta partiküllerin elde edilmesi ile yüksek yüzey/hacim oranları elde edilirken gıdalara uygulanması esnasında gıdaların doku ve görünümünü de değiştirmeyecek ölçekte olduğunu vurgulamışlardır.

Karimi ve diğ. (2020) yaptıkları çalışmada elektropüskürtme yöntemi kullanarak ursolik asit yüklü jelatin nanopartikülleri üretmişlerdir. Morfoloji analizlerinde ursolik asit kullanmadan üretilen jelatin nanopartiküllerinin yüzeylerinin pürüzsüz ve ortalama çaplarının 570 nm olduğunu belirtirken ursolik asit eklendiğinde ise üretilen nanopartiküllerin yüzeylerinin düzensiz olduğunu ve ortalama çaplarının 752 nm'ye yükseldiğini gözlemlemişlerdir. Nanopartiküllerin karakterizasyon analizlerine bakıldığında ursolik asitin nanopartiküller içerisinde uyum sağladığı ve kararlılığını 90 °C'ye kadar koruyabildiğini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak kapsüllenmiş ursolik asitin fiziksel ve kimyasal stabilitesinin ve suda çözünürlüğünün iyileştirilmesine katkıda bulunduğunu göstermişlerdir.

Schmatz ve diğ. (2020) fikosiyanın gibi ısı hassasiyeti olan antioksidan bileşenlerin enkapsüle edilebilmesi için elektropüskürtme yönteminin kullanılabilirliğini belirtmektedirler. Çalışmalarında 395 nm çaplarında fikosiyanın

yüklü polivinil alkol nanopartikülleri elde etmişlerdir ve biyoaktif bileşenlerin elektropüskürtme yöntemi ile başarılı bir şekilde enkapsüle edilebileceğini göstermişlerdir. Bu sayede ısıl hassasiyeti olan fikosiyaninin, polivinil alkol içerisinde kapsüllemesi sonucunda termal kararlılığının 216 °C'ye yükseldiğini ve bu sıcaklığa kadar antioksidan aktivitesini koruyabildiğini bildirmişlerdir.

Jayan ve diğ. (2019) yaptıkları çalışmada suda düşük çözünürlüğü, düşük biyoyararlanımı ve UV ışık hassasiyeti nedeniyle gıda uygulamaları kısıtlı olan resveratrolü elektropüskürtme yöntemiyle zein polimeri içerisine kapsülleyerek bu kısıtlamaların üstesinden gelmeye çalışmışlar ve oda sıcaklığında başarıyla 230-330 nm aralığında küresel morfolojiye sahip nanopartiküller üretmişlerdir. Nanopartiküllerin küresel morfolojiye sahip olma nedenini, polimer konsantrasyonunun yeterli seviyeye ulaştığında polimer zinciri içerisinde meydana gelen moleküler dolaşıklardan kaynaklandığını belirtmişlerdir. Ayrıca az miktarda resveratrol eklenmesinin çözelti viskozitesini arttırdığını ve bu nedenle partikül çaplarında az da olsa artış meydana getirdiğini gözlemlemişlerdir. FTIR sonuçlarında ise resveratrolün, zein polimer matrisine kapsüllemesi nedeniyle resveratroldeki bağların bükülme ve gerilmelerinin azaldığını ve bu nedenle resveratrole ait çoğu karakteristik pikin nanoenkapsüllemiş formunda kaybolduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca resveratrolün zein polimeri içerisinde enkapsüle edilmesi ile antioksidan aktivitesinin korunduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak üretilen nanopartiküllerin gıda uygulamaları için fonksiyonel bir aday olarak kullanılabilirliğini vurgulamışlardır.

Khoshakhlagh ve diğ. (2018) yaptıkları çalışmada farklı parametre koşulları altında D-limonen ve *Alyssum homolocarpum* tohumu sakızını kullanarak elektropüskürtme yöntemi ile nanopartiküller üretmişlerdir. FE-SEM sonuçlarına göre çok düşük viskozite değerlerine sahip emülsiyonlarda düzgün elektropüskürtme yapıları elde edememişlerdir. Bunun nedeninin ise kapsül düzeni için gerekli zincir dolaşıklığının sağlanamaması olduğunu düşünmektedirler ve yetersiz viskozitenin sonucu olarak elektropüskürtme işlemi esnasında toplayıcı plaka üzerinde gözlemlenen su damlacıkları ile bu durumu doğrulamışlardır. Çözelti konsantrasyonunu optimum seviyeye ayarladıklarında düzgün küresel nanopartiküller elde ederken, çözelti konsantrasyonunun çok fazla olduğu durumda ise elektriksel

iletkenliğin artmasıyla birlikte küresel-lif karışımı nanopartiküller elde edildiğini gözlemlemişlerdir.

Bhushani ve diğ. (2017) çalışmalarında yeşil çay kateşini yüklü zein nanopartikülleri üretmişlerdir. Polimerik çözelti konsantrasyonunun %4 w/w'den az olduğu durumda polimer zincirlerinde dolaşıklık oluşmamasından dolayı düzensiz şekillerde partiküller elde ederken polimer konsantrasyonunun optimum olduğu durumda (%4-5 w/w) düzgün ve küresel şekilde ortalama 157,5 nm çapında nanopartiküller elde etmişlerdir. Polimer çözeltisine 1:5, 1:10 ve 1:50 oranlarında yeşil çay kateşini ekledikleri durumda ise sırasıyla 174, 187 ve 188 nm çaplarında nanopartikül oluşumu gözlemlemişlerdir.

Gómez-Mascaraque ve diğ. (2017) çalışmalarında elektropüskürtme yöntemi kullanarak yeşil çay ekstraktı yüklü polimerlerden (zein ve jelatin) mikropartiküller üreterek bisküvi hamuruna ilave etmişlerdir. Ürettikleri nanopartiküllerin çoğu mikron çapların altında ve küresel morfolojiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yeşil çay ekstraktı yüklü polimerlerle, boş polimerler arasında önemli bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre mikropartiküllerin, bisküvinin işlenmesi sürecinde kayda değer bir koruma sağladığını gözlemleyememişlerdir ve mikroenkapsülasyon davranışlarının gerçek gıda işleme koşullarında dikkate alınması gerektiğinin üzerinde durmuşlardır.

Gómez-Estaca ve diğ. (2012) çalışmalarında kurkumin ve zein polimeri kullanarak 175 ile 900 nm arasında nanopartiküller elde etmişlerdir. Yaptıkları farklı koşullardaki çalışmalarla partikül boyutlarını etkileyen başlıca parametrelerin polimer konsantrasyonu, akış hızı ve uygulanan voltaj olduğunu tespit etmişlerdir. Polimer konsantrasyonu arttıkça partikül çapının arttığını ve daha büyük çaplarda küresel olmayan morfolojilere sahip partiküller elde edildiğini belirtmişlerdir. Akış hızı parçacıkların boyutunu etkilerken, yüksek voltajlarda ise partiküllerin boyut dağılımının arttığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca çalışmalarında zein çözeltilerinin elektroegirme ile elektropüskürtme arasındaki geçişinin büyük ölçüde çözeltinin viskozitesine bağlı olduğunu saptamışlardır.

## **3. MALZEME VE YÖNTEM**

### **3.1 Malzemeler**

Polimer olarak düşük moleküler ağırlıklı kitosan (448869, Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Taze defne yapraklarından elde edilen defne uçucu yağı, Özer Bal EPHECUS Tıbbi ve Aromatik Bitki ve Yağları Üretim ve Ticareti (Seferihisar, İzmir) firması tarafından hediye edilmiştir. Ayrıca tez çalışmasında DPPH (Sigma-Aldrich, Almanya), asetik asit (Isolab, Türkiye), Folin-Ciocalteu ayracı (Carlo Erba, Almanya), methanol (Merck, Almanya), etanol (Merck, Almanya), sodyum karbonat (Isolab, Türkiye), ABTS ve potasyum persülfat (Carlo Erba, Almanya) temin edilerek kullanılmıştır.

### **3.2 Yöntem**

#### **3.2.1 Defne Uçucu Yağının Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi**

Defne uçucu yağının kimyasal bileşimi, Özer Bal EPHECUS Tıbbi ve Aromatik Bitki ve Yağları Üretim ve Ticareti firması tarafından Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma ile Uygulama Merkezinde çevre ve gıda analizleri laboratuvarlarında GC-MS cihazı ile analizi yaptırılarak, defne uçucu yağı ile birlikte gönderilmiştir. Sonuçlar, % bileşim olarak ifade edilmiştir.

#### **3.2.2 Püskürtme Çözeltilerinin Hazırlanması**

Elektropüskürtme yöntemi ile nanopartikül üretimi için püskürtme çözeltisi olarak kitosan çözeltisi ve defne uçucu yağı içeren kitosan çözeltileri hazırlanmıştır. Kitosan çözeltisi, %1 (w/w) konsantrasyonda kitosan polimeri içerecek şekilde %70 (w/w) sulu asetik asit (%70/30:asetik asit/saf su w/w) içerisinde çözündürülerek manyetik karıştırıcı (Daihan MSH-20A, Güney Kore) üzerinde homojen hale gelene kadar oda sıcaklığında karıştırılarak hazırlanmıştır. Defne uçucu yağı içeren kitosan

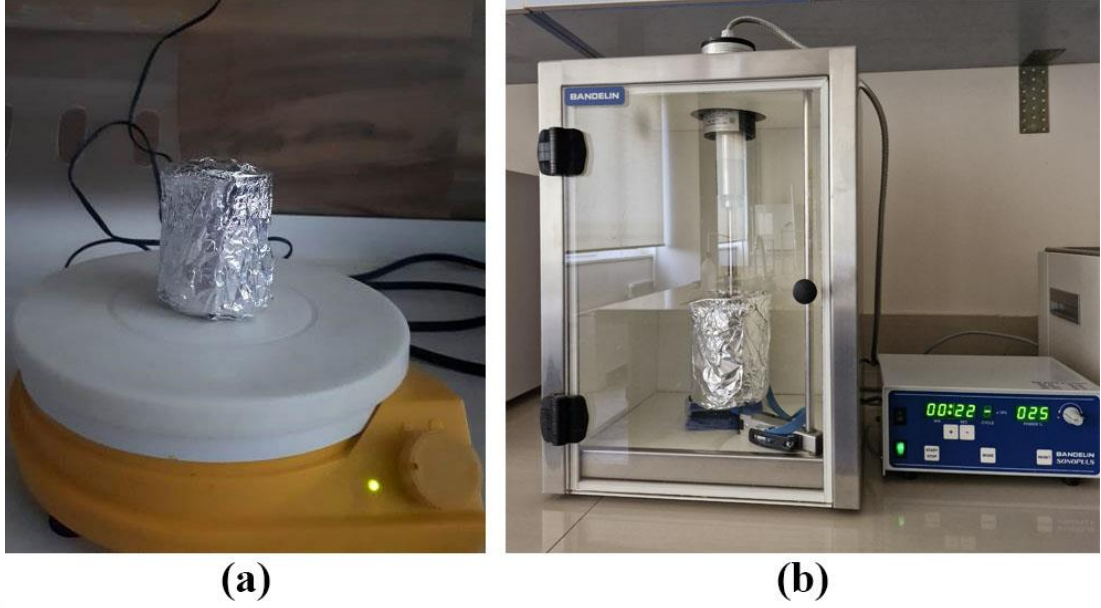
çözeltilerini hazırlamak için ise kitosan çözeltisi içerisindeki kitosan ağırlığına göre %50 ve %75 (w/w) konsantrasyonlarında defne uçucu yağı ilave edilmiştir. Nanopartikül üretimi için hazırlanan püskürtme çözeltilerine ait farklı konsantrasyon oranları Tablo 3.1’de verilmiştir.

Defne uçucu yağı, tamamen çözünmüş ve homojen hale getirilmiş kitosan çözeltisine manyetik karıştırıcı üzerindeyken yavaşça eklenmiştir. Şekil 3.4-a’da görüldüğü gibi defne uçucu yağı eklenen çözelti ışıktan izole edilerek manyetik karıştırıcı üzerinde bir saat daha karıştırılmıştır. Süre sonunda uçucu yağın kitosan çözeltisi içerisinde homojen bir şekilde dağılmasını sağlamak amacıyla sonikasyon işlemi uygulanmıştır. Şekil 3.4-b’de görüleceği üzere çözelti, %25 genlikte 30 saniyelik iki tekrar halinde, tekrarlar arasında 2 dakikalık aralar verilerek homojenize edilmiştir. Sonikasyon işlemi sırasında sıcaklık artışını engellemek için çözelti, işlem öncesinde 5-6 dakika buzlu su içerisinde bekletilmiş ve işlem boyunca buzlu su banyosunda tutulmuştur. Son aşamada çözelti, 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılmış ardından çözeltildeki hava kabarcıklarının giderilmesi için dinlendirilmeye bırakılmıştır.

**Tablo 3.1:** Püskürtme çözeltilerinin farklı konsantrasyon oranları

<b>Polimer Çözelti Kodu*</b>	<b>Kitosan Konsantrasyonu (%w/w)</b>	<b>Çözücü Konsantrasyonu (asetik asit, %w/w)</b>	<b>Defne Uçucu Yağı (kitosan ağırlığına göre, %w/w)</b>
K-Ç	1	70	0
K-D50-Ç	1	70	50
K-D75-Ç	1	70	75

\*K-Ç: Kitosan çözeltisi, K-D50-Ç: %50 defne uçucu yağı içeren kitosan çözeltisi, K-D75-Ç: %75 defne uçucu yağı içeren kitosan çözeltisi



Şekil 3.4: Çözeltiler içerisinde defne uçucu yağı ekledikten sonra yapılan manyetik karıştırma (a) ve sonikasyon (b) işlemleri

### 3.2.3 Püskürtme Çözeltilerinin Karakterizasyonu

#### 3.2.3.1 Viskozite

Püskürtme çözeltilerin viskoziteleri Brookfield RVDV-II model viskozimetre cihazı ile ölçülmüştür. Viskozite değerlerinin sabit sıcaklıkta ölçülmesi için sirkülasyonlu su banyosu kullanılarak 20 °C’de, SC4-21 başlık (spindle) kullanılarak ölçümler gerçekleştirilmiştir. Akış eğrileri 0-200 s<sup>-1</sup> kayma hızlarında elde edilmiştir. Tüm ölçümler üç tekrarlı şekilde gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2.3.2 Elektriksel İletkenlik

Püskürtme çözeltilerinin elektriksel iletkenlikleri, Jenco-3177, ABD model elektriksel iletkenlik cihazı kullanılarak ölçülmüştür.

### 3.2.4 Elektropüskürtme İşlemi ile Nanopartikül Üretimi

Elektropüskürtme kurulumu çözeltinin akış hızını kontrol eden şırınga pompası, iğne ucu (0,7 mm çap), toplayıcı plaka ve güç kaynağından oluşmaktadır. Nanopartiküller alüminyum folyo üzerinde toplanmıştır. Güç kaynağının pozitif elektrodu iğne ucuna, negatif elektrodu ise alüminyum folyo ile kaplanmış toplayıcı plakaya bağlanmıştır.

Nanopartikül üretimlerinden önce proses parametrelerinin belirlenmesi için farklı voltaj, mesafe, akış hızı, polimer ve çözücü konsantrasyonları üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Elektropüskürtmede uygulanan proses parametreleri, Taylor konisi oluşumunun görsel olarak gözlemlenmesine ve toplayıcı plaka üzerinde damlacık olmamasına dayanarak seçilmiştir. Ön denemeler sonucunda tez çalışması kapsamında farklı defne uçucu yağı konsantrasyonu (%0, %50 ve %75 olacak şekilde üç farklı polimer çözeltisi) ile farklı mesafeler (11 ve 15 cm) ve farklı voltajlar (14,3 ve 16,8 kV) olacak şekilde iki farklı üretim koşulu belirlenerek üretimler gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.2).

**Tablo 3.2:** Elektropüskürtme işleminde uygulanan proses parametreleri

	Nanopartikül Kodu	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)	Akış Hızı (mL/h)	Sıcaklık (°C)	Bağıl Nem (%)
1. Koşul	K-P1					
	K-D50-P1	15	16,8			
	K-D75-P1			0,1	22 ± 1	30-34
2. Koşul	K-P2					
	K-D50-P2	11	14,3			
	K-D75-P2					

Alüminyum folyo üzerine püskürtülerek üretilen defne uçucu yağı içeren ve içermeyen partiküllerin neminin giderilmesi amacıyla örnekler bir gece boyunca desikatörde tutulmuştur. Ardından folyo üzerinde biriken partiküller spatül ile kazandıktan sonra toplanarak kullanılmıştır.

### 3.2.5 Nanopartiküllerin Morfolojik, Moleküler ve Termal Karakterizasyonu

#### 3.2.5.1 Nanopartikül Morfolojisi ve Boyutu (FE-SEM)

Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu, partikülleri morfolojik olarak karakterize etmek için, Pamukkale Üniversitesi İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (PAÜ İLTAM) laboratuvarında hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. Görüntüleme işleminden önce görüntü netliğini sağlamak için folyo üzerinde toplanan örneklerden 1x1 cm<sup>2</sup> kesilerek %80 altın ve %20 paladyum oranında kaplama işlemi yapılmıştır. Rastgele seçilen 100 nanopartikülün çapları ImageJ programı kullanılarak ölçülmüş ve ortalama çap hesaplanmıştır. Nanopartiküllerin boyut dağılım histogram grafikleri Origin Pro 2024 yazılımı kullanılarak çizilmiştir. Nanopartiküllerin homojenlik katsayıları Denklem 1 ve Denklem 2 ile hesaplanmıştır.

$$A_n = \sum \frac{n_i d_i}{n_i} \quad (1)$$

$$A_w = \sum \frac{n_i d_i^2}{n_i d_i} \quad (2)$$

Denklemlerde  $d_i$  nanopartikül çapını,  $n_i$  partikül sayısını,  $\frac{A_w}{A_n}$  oranı ise nanopartikül homojenlik katsayısını ifade etmektedir. Homojenlik katsayısı 1'e yaklaştıkça nanopartiküllerin homojenliği de artmaktadır (Özkal ve diğ. 2020; Zambak 2023).

#### 3.2.5.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Defne uçucu yağı, kitosan polimeri, boş kitosan nanopartikülleri ve defne uçucu yağ yüklü kitosan nanopartikülleri arasında meydana gelen etkileşimleri belirlemek için Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi analizi PAÜ İLTAM laboratuvarında hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır. Numunelerin FTIR spektrumları, 4 cm<sup>-1</sup> çözünürlükte [400-4000 cm<sup>-1</sup>] dalga boyunda, spektrum başına 16 tarama

yapılacak şekilde gerçekleştirilmiştir. FTIR spektrumları Origin Pro 2024 yazılımı kullanılarak çizilmiştir.

### **3.2.5.3 Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)**

Diferansiyel taramalı kalorimetri analizi PAÜ İLTAM laboratuvarında Synchronous Thermal Analyzer (STA 449 F5 Jupiter, Netzsch, Almanya) cihazı ile hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır. Partikül numunelerinin sıcaklığın fonksiyonu olarak ısı akışı miktarını belirlemek amacıyla 25-600 °C sıcaklık aralıklarında 5 °C/dk artış hızında nitrojen gazı atmosferi altında analizleri gerçekleştirilmiştir. DSC termogramları Origin Pro 2024 yazılımı kullanılarak çizilmiştir. Nanopartiküllerin DSC termogramındaki endotermik ve ekzotermik pikler incelenerek partiküllerin buharlaşma ve bozunma sıcaklıkları tespit edilmiştir.

### **3.2.5.4 Termogravimetrik Analiz (TGA)**

Termogravimetrik analiz partiküllerin termal kararlılığını belirlemek için PAÜ İLTAM laboratuvarında Synchronous Thermal Analyzer (STA 449 F5 Jupiter, Netzsch, Almanya) cihazı ile hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır. 25-800 °C sıcaklık aralıklarında 5 °C/dk artış hızında nitrojen gazı atmosferi altında sıcaklık artışına karşı ağırlık kaybı ölçümü gerçekleştirilmiştir. TGA-DTG termogramları Origin Pro 2024 yazılımı ile çizilmiştir.

### **3.2.6 Nanopartiküllerin Toplam Fenolik Madde ve Antioksidan Aktivite İçerikleri**

Nanopartikül örnekleri ve polimer çözeltileri, fenolik madde ve antioksidan aktivite analizlerini gerçekleştirmek için metanolde çözülmüştür. Nanopartikül örneği için 0,0050 g örnek, 5 mL metanol içinde manyetik karıştırıcı kullanılarak çözülmüştür. Polimer çözeltisi için ise 1 g polimer çözeltisine 10 mL metanol eklenerek aynı yöntemle çözülmüştür. Daha sonra elde edilen çözeltiler, 11000 rpm hızında 4 °C'de 20 dakika boyunca santrifüj edilerek ekstraktlar hazırlanmıştır.

Hazırlanan ekstraktlar üzerinde toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.6.1 Toplam Fenolik Madde Tayini**

Polimer çözeltileri ve nanopartiküllerden elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri, Singleton ve diğ. (1999) tarafından tanımlanan spektrofotometrik yöntemde bazı değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Folin-Ciocalteu ayracı hacmen 1:10 (v/v) oranında saf su kullanılarak seyreltilmiştir. Sodyum karbonat çözeltisi %7,5 (w/v) oranında hazırlanmıştır. 300 µL örnek üzerine 1500 µL Folin-Ciocalteu ayracı ilave edilmiştir. Reaksiyon 5-8 dakika arasında bekletildikten sonra üzerine 1200 µL Sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir. Tüpler parafilmle kapatılıp vorteks cihazında homojen hale getirildikten sonra 120 dakika ışıktan izole edilmiş bir ortamda bekletilmiştir. Süre sonunda UV-VIS spektrofotometrede absorbans 760 nm'ye ayarlanarak örneklerin absorbans değerleri kaydedilmiştir. Sonuçlar mg GAE/g KM cinsinden verilmiştir.

### **3.2.6.2 DPPH ile Antioksidan Aktivite Analizi**

Polimer çözeltileri ve nanopartiküllerden elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi, Thaipong ve diğ. (2006) tarafından tanımlanan DPPH serbest radikalini indirgeme yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. DPPH stok çözeltisi metanol ile son absorbansı 1,1 olacak şekilde seyreltilmiştir. 150 µL örnek üzerine 2850 µL DPPH çözeltisi eklenmiştir. Tüpler parafilmle kapatılıp vorteks cihazında karıştırıldıktan sonra 60 dakika ışısız ortamda bekletilmiştir. Ardından UV-VIS spektrofotometrede dalga boyu 515 nm'ye ayarlanarak örneklerin absorbans değerleri kaydedilmiştir. Sonuçlar µmol trolox eşdeğeri (TE)/g KMcinsinden verilmiştir.

### **3.2.6.3 ABTS ile Antioksidan Aktivite Analizi**

Polimer çözeltileri ve nanopartiküllerden elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi, Thaipong ve diğ. (2006) tarafından tanımlanan ABTS antioksidan analizi yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. 7,4 mM ABTS ve 2,6 mM potasyum persülfat çözeltileri saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan bu iki çözelti eşit oranda karıştırılarak bir stok çözeltisi elde edilmiş ve bu stok çözeltisi 12-16 saat aralığında karanlık ortamda ve oda sıcaklığında reaksiyona bırakılmıştır. Reaksiyondan sonra son absorbans değerinin 1,1'e ayarlanması için metanol ile seyreltme yapılmıştır. Daha sonra 150 µL örnek üzerine 2850 µL ABTS radikali eklenmiştir. Tüpler parafilmle kapatılıp vorteks cihazında karıştırıldıktan sonra 120 dakika ışısız ortamda bekletilmiştir. Ardından UV-VIS spektrofotometrede absorbans 734 nm dalga boyuna ayarlanarak örneklerin absorbans değerleri kaydedilmiştir. Sonuçlar µmol TE/g KM cinsinden verilmiştir.

### **3.2.7 İstatistiksel Analiz**

Analiz sonuçları IBM SPSS 26 programı kullanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar arasındaki farkı belirlemek için Duncan testi uygulanırken, iki farklı grup arasındaki farkın belirlenmesi için eşleştirilmiş t-testi uygulanmıştır ( $p < 0,05$ ). Analizlerin tamamı üç tekrar ve iki paralel olacak şekilde yapılmıştır. Elde edilen bulgular ortalama  $\pm$  standart sapma olacak şekilde verilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Defne Uçucu Yağının Kimyasal Bileşimi

Defne uçucu yağının kimyasal bileşimine ait GC-MS analiz sonuçları Tablo 4.3'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre defne uçucu yağının toplamda %98,59'u tanımlanmıştır. Defne uçucu yağında 31 bileşen belirlenmiştir. %1'in üzerinde olan ana bileşenleri sırasıyla 1,8-sineol (%51,05),  $\alpha$ -terpinil asetat (%13,46), sabinen (%7,64),  $\alpha$ -pinen (%5,59), terpinen-4-ol (%4,23),  $\beta$ -pinen (%4,09), p-simen (%2,38), limonen (%1,60) ve  $\gamma$ -terpinen (%1,23) olarak tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında kullanılan defne uçucu yağına ait ana bileşenler literatürdeki çalışmalarla uyum içerisindedir. Chelaru ve diğ. (2014), çalışmalarında Hatay'dan toplanan defne yapraklarından elde ettikleri defne uçucu yağına ait GC-MS sonuçlarına göre ana bileşenleri sırasıyla 1,8-sineol (%54,10),  $\alpha$ -terpinil asetat (%10,93), sabinen (%7,96),  $\alpha$ -pinen (%4,68),  $\beta$ -pinene (%3,44), p-simen (%1,34) ve limonen (%1,22) olarak belirlerken, Özogul ve diğ. (2022) ise defne uçucu yağının ana bileşenlerini 1,8-sineol (%29,58),  $\alpha$ -terpinil asetat (%18,08),  $\alpha$ -terpinol (%11,78) ve terpinen-4-ol (%10,32) olarak belirlemişlerdir. Ozcan ve diğ. (2010) çalışmalarında Türkiye'nin Akdeniz bölgesindeki farklı yerlerinden toplanılmış defne yapraklarından elde ettikleri defne uçucu yağına ait en yüksek 1,8-sineol oranının %46,6 ile %59,9 aralığında olduğunu bildirmişlerdir.

Literatürdeki çalışmalarla karşılaştırıldığında, elde edilen sonuçlarda gözlenen bileşen ve oran farklılıkları birden fazla faktöre bağlıdır. Uçucu yağların kimyasal bileşimleri ve verimleri; bitkinin gelişimi, hasat edilmesi, meteorolojik koşul değişiklikleri, coğrafi farklılıklar, genetik farklılıklar, sentezlenme yöntemleri, kurutma şekli ve destilasyon süresi gibi çeşitli faktörlerden doğrudan etkilenmektedir (Misharina ve Polshkov 2005; Jugreet ve diğ. 2020).

**Tablo 4.3:** Defne uçucu yağının kimyasal bileşenlerinin yüzdesi

<b>Kimyasal Bileşenler</b>	<b>% Bileşen</b>
1,8-cineole	51,05
$\alpha$ -terpinenyl acetate	13,46
sabinene	7,64
$\alpha$ -pinene	5,59
terpinen-4-ol	4,23
$\beta$ -pinene	4,09
p-cymene	2,38
limonene	1,6
$\gamma$ -terpinene	1,23
linalool	0,8
eugenol metyl ether	0,67
$\delta$ -terpineol	0,63
$\alpha$ -terpinene	0,61
$\beta$ -myrcene	0,55
eugenol	0,38
$\alpha$ -phellandrene	0,31
cis-sabinol	0,31
trans-pinocarveol	0,29
myrtenal	0,28
trans-caryophyllene	0,27
neryl acetate	0,26
cis-sabinene hydrate	0,25
$\alpha$ -terpinolene	0,24
camphene	0,21
caryophyllene oxide	0,21
trans-sabinene hydrate	0,21
pinocarvone	0,18
bornyl acetate	0,17
terpinen-1-ol	0,17
cis-limonen oxide	0,17
myrtenol	0,15
<b>Toplam</b>	<b>98,59</b>

## 4.2 Nanopartikül Üretimi Ön Deneme Aşamaları ve Belirlenen Koşullara Ait Çalışmalar

Tez çalışması kapsamında kullanılacak en uygun parametre koşullarını belirlemek için ön deneme çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda, uygulanacak polimer ve çözücü konsantrasyonları ile işlem parametreleri de belirlenmiştir. Polimer konsantrasyonu (%1, %1,5 ve %2), çözücü konsantrasyonu (%30, %50, %70 ve %90), voltaj (10-18 kV) ve mesafe (9-20 cm) aralıklarında değiştirilerek elektropüskürtme işleminin başarılı ve başarısız olduğu koşullar tespit edilmiştir. %50 (w/w) asetik asit ve %1,5 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait ön deneme sonuçları Tablo 7.7’de, %50 (w/w) asetik asit ve %2 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait sonuçlar Tablo 7.8’de, %50 (w/w) asetik asit ve %1 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait sonuçlar Tablo 7.9’da, %30 (w/w) asetik asit ve %1 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait sonuçlar Tablo 7.10’da, %90 (w/w) asetik asit ve %1 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait sonuçlar Tablo 7.11’de ve %70 (w/w) asetik asit ve %1 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait sonuçlar ise Tablo 7.12’de verilmiştir. Ayrıca ön çalışma aşamalarına ait püskürtme görüntüleri Şekil 4.5’te gösterilmiştir.

Başlangıç aşamasında, %1,5 kitosan ve %50 asetik asit konsantrasyonları içeren bir kitosan çözeltisi test edilmiş ve partikül üretiminin gerçekleşmediği gözlemlenmiştir. Bu başarısızlığın nedeninin tam olarak anlaşılabilmesi nedeniyle, polimer konsantrasyonunun etkisini incelemek amacıyla polimer konsantrasyonu %2’ye yükseltilmiştir. Fakat bu denemelerde de partikül üretimi gerçekleşmemiştir. Duyusal gözlemlere göre, polimer konsantrasyonunun artmasıyla birlikte çözeltinin viskozitesinin de arttığı görülmüştür. Çözelti viskozitesinin artması, yüzey geriliminde de artışa yol açmıştır. Bu durum, uygulanan voltajın yetersiz kalmasına ve kararlı bir elektropüskürtme modunun yakalanamamasına neden olmuştur. Daha sonra polimer konsantrasyonu %1’e düşürülerek denemeler tekrarlanmıştır. Bu konsantrasyonda, sadece 18 kV voltaj, 12 cm mesafe ve 0,1 mL/h akış hızında partikül üretimi elde edilmiştir. Polimer konsantrasyonunun azaltılmasıyla birlikte çözeltinin viskozitesi ve yüzey geriliminin de azaldığı gözlemlenmiştir. 18 kV’den düşük voltajlarda püskürtme işleminin başarısız olma nedeni, elektriksel alanın yetersizliği ve damla atmalarının göz ardı edilemeyecek kadar fazla olmasıdır. Bu durum, kararlı bir püskürtme modunun oluşmamasıyla sonuçlanmıştır. Ayrıca akış hızının artırılmasıyla

damlamaların da arttığı, mesafe arttırıldığında ise uygulanan elektriksel alanın etkisinin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle, sadece bir koşulda başarılı püskürtme modu elde edilebilmiştir. Sonuç olarak, polimer konsantrasyonu %1'de sabit tutularak farklı çözücü konsantrasyonları için çalışmalar yapılması gerektiği belirlenmiştir.

İlk olarak %30 asetik asit konsantrasyonunda denemeler yapılmıştır ve başarısız sonuçlar elde edilmiştir. Asetik asit konsantrasyonunun düşmesi ile çözeltinin elektriksel iletkenliğinin düştüğü düşünülmektedir. Bu nedenle voltaj arttırılsa dahi kararlı bir püskürtme modunun oluşması için yeterli elektriksel alan oluşamamakla birlikte damlamaların sayısı da oldukça artmıştır. Elektriksel alanın oluşmadığı ve voltajın yeterli gelmediği durumda damlalar, kendinden daha küçük damlacıklara parçalanamamış ve damla atmaları meydana gelmiştir. Ardından çözücü konsantrasyonu %90'a arttırılarak denemeler yapılmıştır ve benzer şekilde tüm sonuçlar başarısız olarak belirlenmiştir. Çözücü konsantrasyonunun artması ile kitosan polimeri tam olarak çözelti içerisinde çözünmemiştir ve duyuşsal olarak gözlemlenebilecek viskoz bir çözelti elde edilmiştir. Homojen bir çözünme sağlanamadığı için püskürtme modu yakalansa dahi iğne ucunda çözünmemiş polimerden kaynaklı tıkanmalar ve damla atmaları meydana gelmiştir. Son olarak, %70 asetik asit konsantrasyonu ile denemeler yapılmıştır ve birden fazla başarılı püskürtme koşulu elde edilmiştir.

Başarılı koşullar için işlem parametreleri belirlenmiş ve tez çalışmasında %1 kitosan ve %70 asetik asit konsantrasyonları içeren bir kitosan çözeltisi kullanılacağına karar verilmiştir. Ardından çözeltiye defne uçucu yağı, kitosan polimeri ağırlığına göre %50 ve %75 (w/w) konsantrasyonlarında eklenmiştir. Uçucu yağ yüklü partiküller üretilmiş ve nanopartiküllerin üretimlerine ait toplayıcı plaka görüntüleri Şekil 4.6'da sunulmuştur. Elektropüskürtme işlemi sırasında toplayıcı plaka ve iğne ucundaki Taylor konisine ait görseller Şekil 4.7'de verilirken, toz nanopartikül görüntüsü ise Şekil 4.8'de verilmiştir.



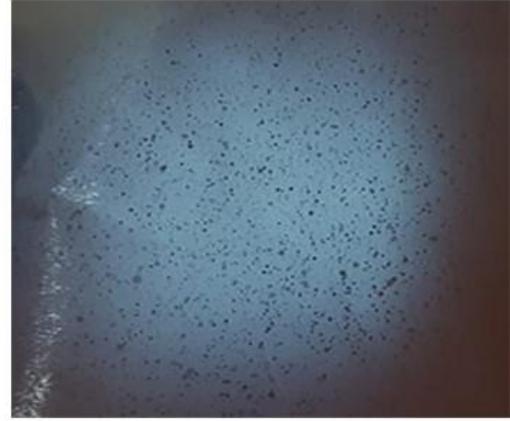
**%1,5 kitosan - %50 asetik asit  
0,1-0,3 mL/h akış hızı  
9-20 cm mesafe  
10-18 kV**



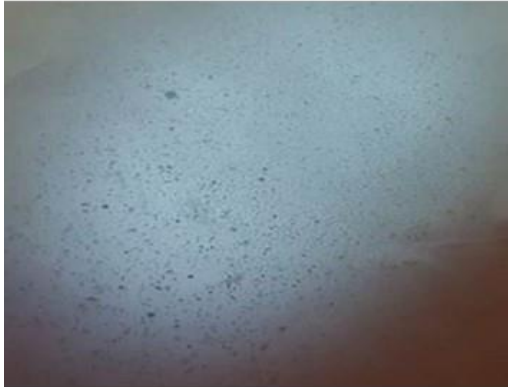
**%2 kitosan - %50 asetik asit  
0,1-0,5 mL/h akış hızı  
9-18 cm mesafe  
10-18 kV**



**%1 kitosan - %50 asetik asit  
0,1 mL/h akış hızı  
12 cm mesafe  
18 kV**



**%1 kitosan - %30 asetik asit  
0,1-0,3 mL/h akış hızı  
10-20 cm mesafe  
10-18 kV**

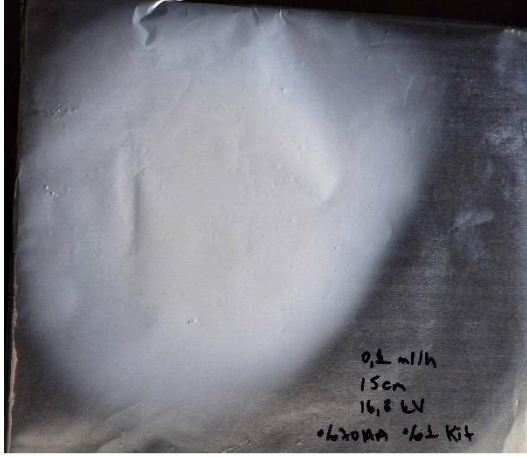


**%1 kitosan - %90 asetik asit  
0,1-0,3 mL/h akış hızı  
10-16 cm mesafe  
10-18 kV**

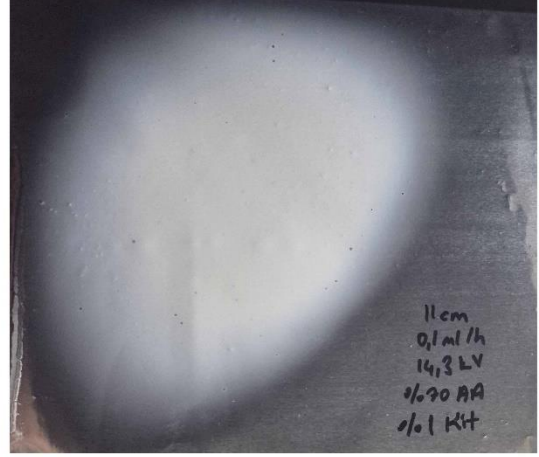


**Damlama**

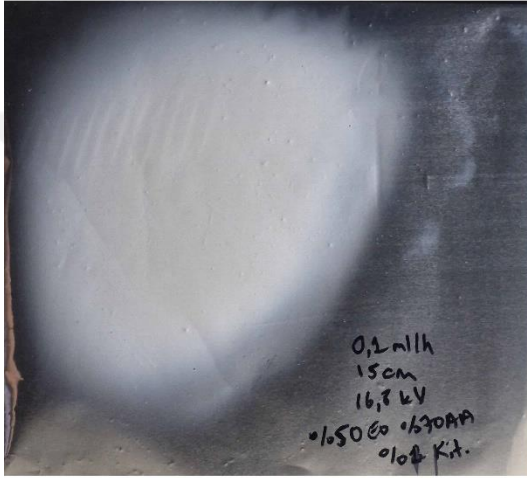
**Şekil 4.5: Ön çalışma aşamalarına ait püskürtme görüntüleri ve damla atması**



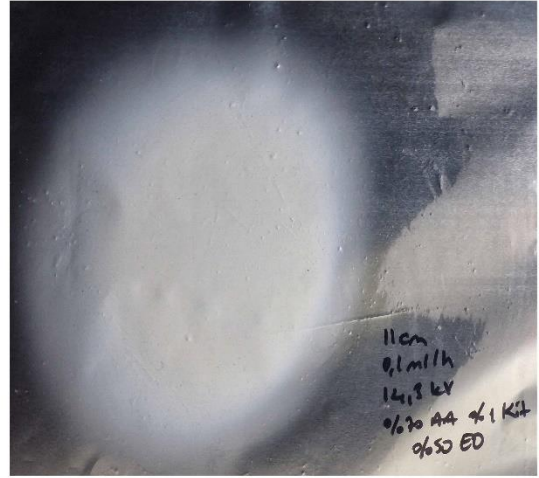
**K-P1**



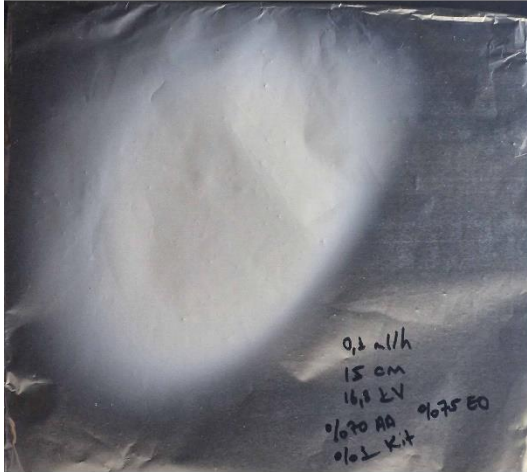
**K-P2**



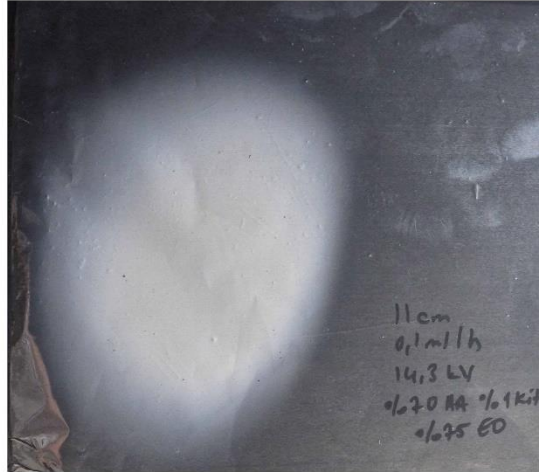
**K-D50-P1**



**K-D50-P2**

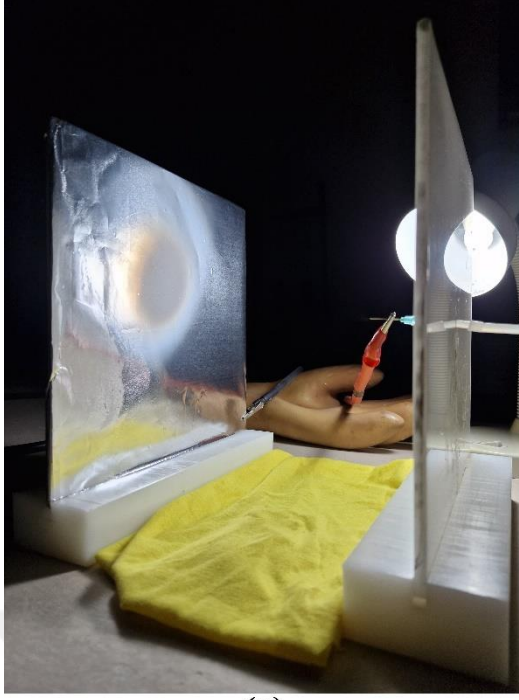


**K-D75-P1**

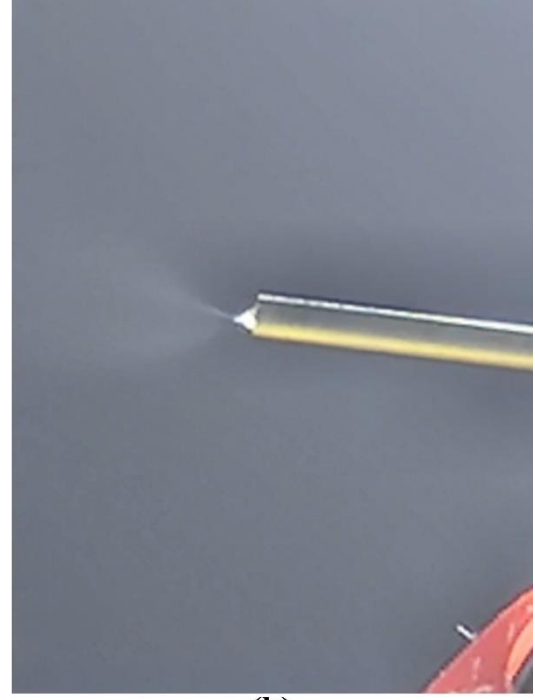


**K-D75-P2**

**Şekil 4.6:** Elektropüskürtme işlemi farklı koşullarda üretilmiş nanopartiküllerin toplayıcı plaka üzerindeki görüntüleri

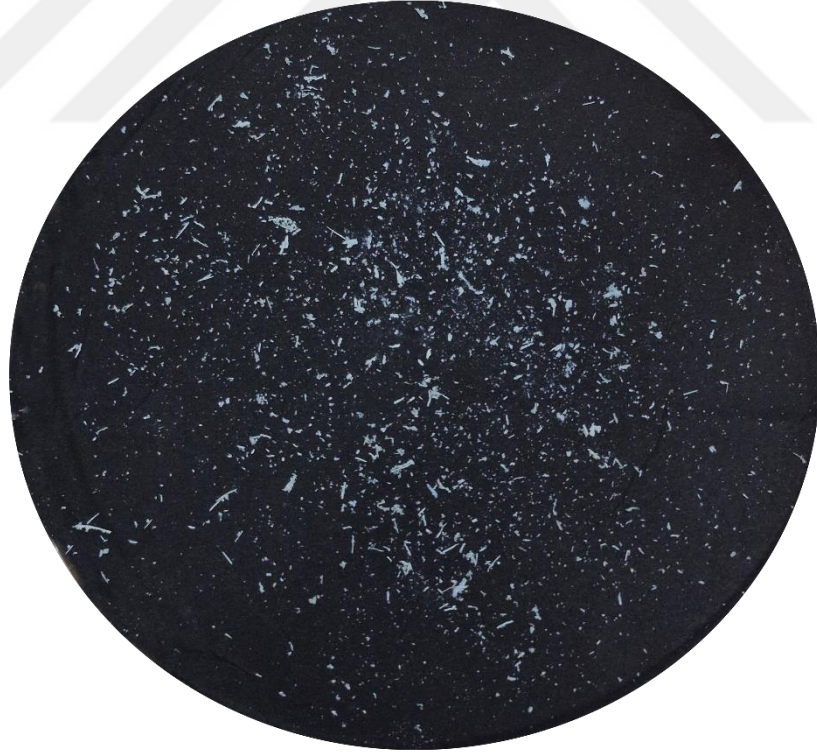


(a)



(b)

Şekil 4.7: (a) Elektropüskürtme işlemi sırasında toplayıcı plaka (b) İğne ucundaki Taylor konisi oluşumu



Şekil 4.8: Toz nanopartikül görüntüsü

### 4.3 Püskürtme Çözeltilerinin Karakterizasyonu

Kitosan çözeltisi (K-Ç) ve farklı konsantrasyonlarda defne uçucu yağı içeren kitosan çözeltilerinin (K-D50-Ç ve K-D75-Ç) elektriksel iletkenlik ve viskozite değerleri Tablo 4.4'te verilmiştir.

Elektropüskürtme yöntemi ile üretilen partiküllerin morfolojisi üzerinde etkili olan püskürtme çözeltilerinin temel özellikleri viskozite ve elektriksel iletkenliktir. Bu özellikler, kullanılan polimerin türüne, moleküler ağırlığına, konsantrasyonuna, kullanılan çözücüye ve diğer maddelerin eklenmesine bağlıdır (Gómez-Mascaraque ve diğ. 2019). K-Ç, K-D50-Ç ve K-D75-Ç çözeltilerinin elektriksel iletkenlik değerleri sırasıyla 555, 549 ve 546  $\mu\text{S cm}^{-1}$  olarak ölçülmüştür. Kitosan çözeltisine defne uçucu yağı eklenmesi ile elektriksel iletkenlik değerinde anlamlı bir fark oluşurken ( $p < 0,05$ ), %50 ve %75 defne uçucu yağı konsantrasyonuna sahip çözeltilerin elektriksel iletkenlik değerleri arasında anlamlı bir fark oluşmamıştır ( $p > 0,05$ ). Püskürtme çözeltilerinde elektriksel iletkenliğin, partikül çapı üzerinde büyük bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Optimum elektriksel iletkenliğin sağlandığı durumda, püskürtülen nanopartiküllerin morfolojilerinin düzgün ve Taylor konisinin kararlı olduğu belirtilmiştir (Soleimanifar ve diğ. 2020). Çalışmamızın bulguları literatürde yer alan bulgularla uyum sağlamaktadır. Bulgular, defne uçucu yağı konsantrasyonunun artması ile elektriksel iletkenliğin azaldığını ve partikül çaplarında bir artış meydana geldiğini göstermektedir. Bu durum, daha önce yapılan birçok çalışmada da gözlemlenmiştir. Rasteh ve diğ. (2024) çalışmalarında elektropüskürtme yöntemi kullanarak zein polimeri ile uçucu yağ kapsüllemişlerdir. Zein çözeltisine eklenen uçucu yağ konsantrasyonu arttıkça elektriksel iletkenlik değerlerinin azaldığını ve partikül boyutunu etkilediğini belirtmişlerdir. En küçük partikül çapını, en yüksek elektriksel iletkenlik değerine sahip çözeltiden elde etmişlerdir. Hosseini ve diğ. (2021) yaptıkları çalışmada benzer şekilde uçucu yağ konsantrasyonunun artması ile elektriksel iletkenliğin azaldığını tespit etmişlerdir.

Çözeltilerin viskozite değerleri K-Ç için 0,12 Pa.s iken K-D50-Ç ve K-D75-Ç çözeltilerinin viskozite değerleri 0,13 Pa.s olarak hesaplanmıştır. Kitosan çözeltisine farklı konsantrasyonlarda defne uçucu yağı eklenmesi sonucunda çözeltilerin viskozitelerinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Bu durum ise püskürtme

sırasında damlacıkların boyutuna etki ederek partikül çaplarında artışa neden olmuştur. Benzer şekilde Zhang ve Kawakami (2010) çalışmalarında çözelti viskozitesinin artması ile partikül boyutunun arttığını saptamışlardır. Sonuç olarak elektriksel iletkenliğin ve viskozitenin partikül çapı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Elektriksel iletkenliğin azalması ve viskozitenin artması ile partikül çapının arttığı sonucuna varılmıştır.

**Tablo 4.4:** Püskürtme çözeltilerine ait elektriksel iletkenlik ve viskozite değerleri

Çözelti Kodu	Elektriksel İletkenlik ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	Viskozite (Pa.s)
K-Ç	555±0,57 <sup>a</sup>	0,12±0,00 <sup>b</sup>
K-D50-Ç	549±2,51 <sup>b</sup>	0,13±0,00 <sup>a</sup>
K-D75-Ç	546±0,57 <sup>b</sup>	0,13±0,00 <sup>a</sup>

Aynı sütundaki farklı harflendirmeler, birbirleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ( $p<0,05$ ). Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapmalarıyla birlikte verilmiştir.

#### 4.4 Nanopartiküllerin Morfolojik, Moleküler ve Termal Karakterizasyonuna Ait Bulgular

##### 4.4.1 Partikül Morfolojisi ve Boyutu

Boş kitosan nanopartikülleri ve defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerinin morfolojik özelliklerini ve partikül boyut dağılımını incelemek amacıyla farklı büyütme oranlarında (25 ve 40 KX) FE-SEM analizi gerçekleştirilmiştir. Defne uçucu yağı içeren ve içermeyen nanopartiküllere ait ortalama partikül çapları ve homojenlik katsayıları Tablo 4.5'te verilmiştir.

Düzgün ve homojen bir yüzey, elektropüskürtülmüş nanopartiküllerin yapısına yüklenen biyoaktif bileşiklerin korunması ile ilişkilidir. Böylece yapının olumsuz çevresel faktörlere karşı geçirgenliğini azaltmaktadır (Charles ve diğ. 2022). Nanopartiküllerin boyut ve morfolojisi aynı zamanda, kapsüllenmiş biyoaktif bileşenlerin salınım kinetiği üzerinde de oldukça etkilidir. Küresel partiküllerde biyoaktif bileşenlerin homojen dağılımının, düzensiz şekildeki partiküllere göre daha uygun olduğu belirtilmektedir. Çünkü küresel şekildeki partiküllerde homojenlik daha

iyi şekilde sağlandığı için biyoaktif bileşenlerin korunması ve oksidatif stabilitesi artmaktadır. Boyut ve morfoloji, çözelti özelliklerinden (viskozite, polimer konsantrasyonu, polimerin moleküler ağırlığı, yüzey gerilimi ve iletkenlik), işlem parametrelerinden (voltaj, mesafe ve akış hızı) ve çevresel faktörlerden (sıcaklık ve bağıl nem) önemli ölçüde etkilenmektedir (Drosou ve diğ. 2017; Coelho ve diğ. 2021).

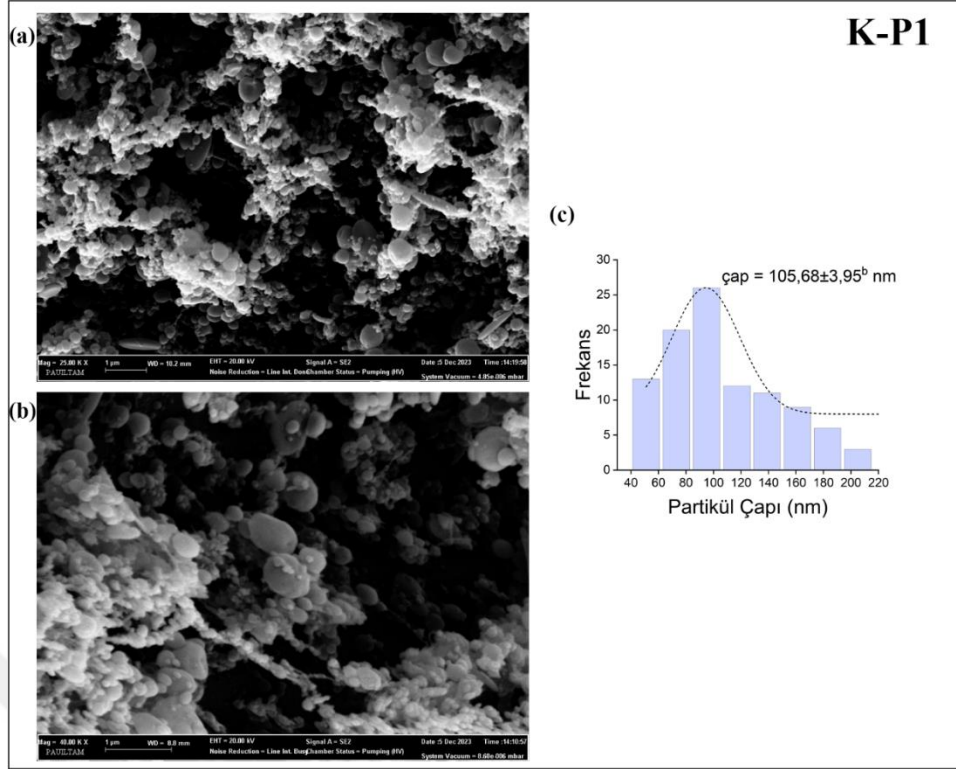
Çalışma sürecinde polimer çözeltilerden nanopartikül elde edilirken iki farklı işlem koşulu üzerinde çalışıldığı daha önce belirtilmişti. Bu koşullarda akış hızı (0,1 mL/h), polimer (%1 w/w) ve çözücü konsantrasyonu (%70 w/w) sabit tutulmuştur. Farklı voltaj, mesafe ve uçucu yağ konsantrasyonlarının nanopartikül üzerindeki etkisini incelemek amacıyla üretimler gerçekleştirilmiştir. Üretimlerin ilk koşulunda, toplayıcı plaka ile iğne ucu arasındaki mesafe 15 cm ve voltaj 16,8 kV olarak ayarlanmıştır. Bu koşulda üretilen K-P1, K-D50-P1 ve K-D75-P1 kodlu nanopartiküllerin ortalama çaplarının 105 nm ile 139 nm arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Üretimlerin ikinci koşulunda ise mesafe 11 cm'ye düşürülmüş ve voltaj 14,3 kV'ye ayarlanmıştır. Bu değişiklik sonucunda üretilen K-P2, K-D50-P2 ve K-D75-P2 kodlu nanopartiküllerin ortalama çaplarının 122 nm ile 155 nm aralığında olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, toplayıcı plaka ile iğne ucu arasındaki mesafenin ve voltajın nanopartiküllerin ortalama çapı üzerinde önemli bir etkisi olduğu tespit edilmiştir. Vehapi ve diğ. (2020) benzer şekilde kitosan nanopartiküllerin üretiminde mesafenin ve voltajın artması ile partikül çaplarında bir azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Üretilen nanopartiküllerin FE-SEM görüntüleri incelendiğinde, kitosan nanopartiküllerinin küresel morfolojide, çatlak içermeyen ve pürüzsüz bir yüzeye sahip olduğu görülmüştür. Görüntülerde boş alanların olmamasının, uçucu yağın oksidatif stabilitesini arttırdığı için olumlu bir özellik olduğu belirtilmiştir (Onsaard ve diğ. 2018). Sonuçlarımızla uyumlu olarak Biduski ve diğ. (2019) çalışmalarında elektropüskürtme yöntemi ile biberiye uçucu yağı yüklü partiküller üretmişlerdir. Üretilen partiküllerin pürüzsüz ve küresel bir yapıya sahip olduğunu ve duvar malzemesinde herhangi bir görünür çatlak gözlemlenmediğini tespit etmişlerdir. Düzenli morfolojilerin, uçucu bileşenlerin buharlaşarak kaybolmasını engellemek için önemli olduğunu vurgulamışlardır.

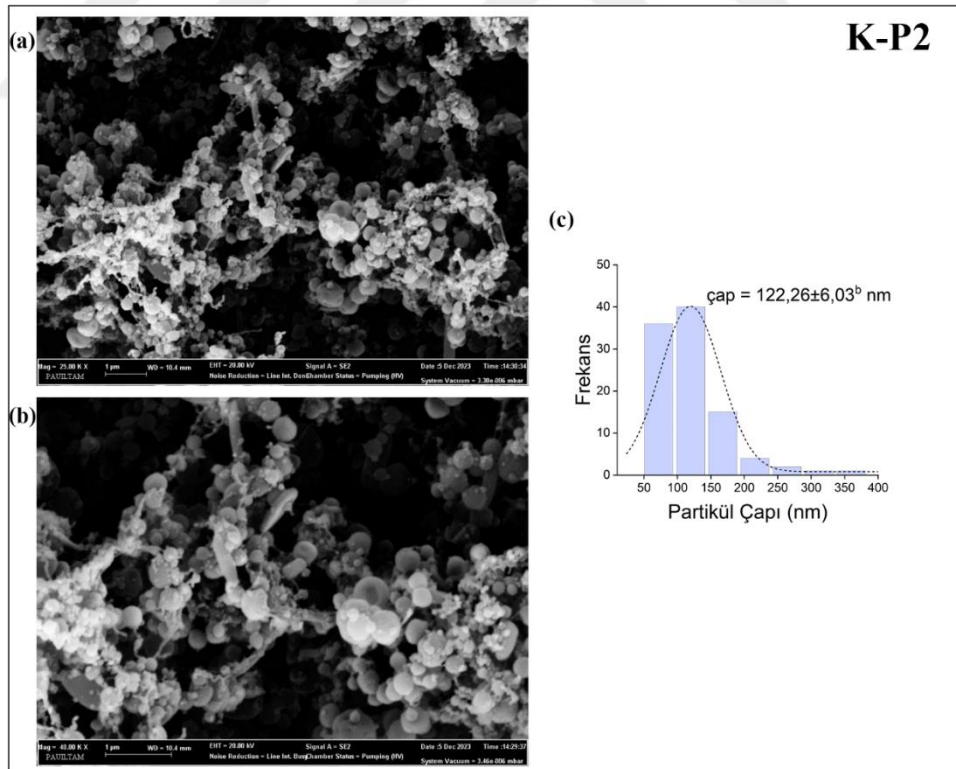
Boş kitosan nanopartiküllerine ait FE-SEM görüntüleri ve boyut dağılım histogram grafikleri Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da verilmiştir. K-P1'e ait görüntülerde, ortalama partikül çapı 105,68 nm ölçülürken, K-P2'ye ait görüntülerde ise ortalama partikül çapı 122,26 nm olarak ölçülmüştür. Voltaj ve mesafe değişiminin boş kitosan nanopartiküllerinin boyutu üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ). Homojenlik katsayıları sırasıyla 1,138 ve 1,241 olarak hesaplanmıştır. Ardila ve diğ. (2018) çalışmalarında %70 asetik asit içerisinde çözünmüş %1 kitosan polimeri çözeltisinden ürettikleri nanopartiküllerin (0,2 mL/h akış hızı, 33 kV voltaj ve 11 cm mesafe) ortalama çaplarını 194 nm olarak belirlemişlerdir. Abyadeh ve diğ. (2017), yüksek molekül ağırlıklı kitosanı %50 asetik asit içerisinde çözerek farklı parametrelerin partikül çapları üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışmalarında farklı polimer konsantrasyonu, akış hızı, voltaj ve mesafe kullanmışlardır. Elde ettikleri kitosan nanopartiküllerinin çapları 105 nm ile 171 nm arasında değişkenlik göstermiştir.

%50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerine ait FE-SEM görüntüleri ve boyut dağılım histogram grafikleri incelendiğinde K-D50-P1 nanopartikülünün ortalama çapı 115 nm iken K-D50-P2 ise 145,85 nm olarak ölçülmüştür ve Şekil 4.11 ve 4.12'de sunulmuştur. Voltaj ve mesafe değişiminin %50 defne uçucu yağı konsantrasyonuna sahip nanopartiküllerin morfolojisi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Homojenlik katsayıları sırasıyla 1,154 ve 1,223 olarak hesaplanmıştır. Boş kitosan nanopartikülleri ile %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülleri arasında K-D50-P1 için partikül boyutunda fark yok iken ( $p>0,05$ ), K-D50-P2 için anlamlı bir fark bulunmaktadır ( $p<0,05$ ).

%75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerinin morfolojileri incelendiğinde ise K-D75-P1 nanopartiküllerinin ortalama çapı 139 nm iken K-D75-P2 için 155 nm olarak ölçülmüştür. Partikül boyutları üzerinde voltaj ve mesafenin etkisi olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ). Homojenlik katsayıları ise sırasıyla 1,213 ve 1,133 olarak hesaplanmıştır. FE-SEM ve histogram grafikleri Şekil 4.13 ve Şekil 4.14'te verilmiştir.



**Şekil 4.9:** 1. Koşul boş kitosan nanopartikülüne ait (K-P1) farklı büyütme oranlarının FE-SEM görüntüleri a) 25 KX b) 40 KX c) boyut dağılım histogram grafiği



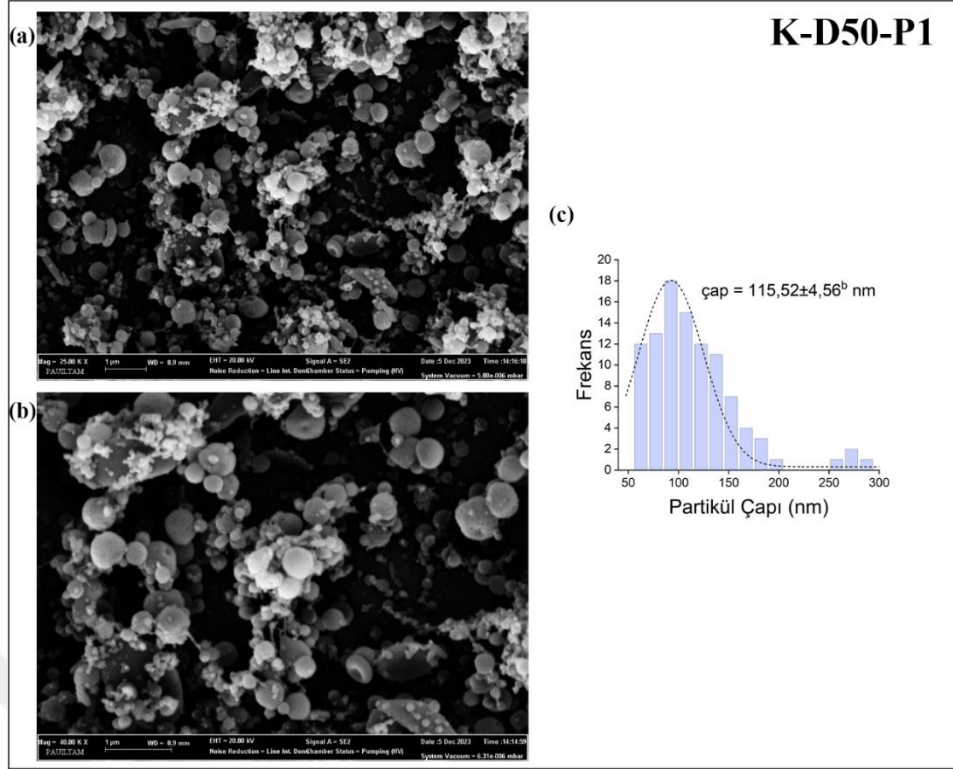
**Şekil 4.10:** 2. Koşul boş kitosan nanopartikülüne ait (K-P2) farklı büyütme oranlarının FE-SEM görüntüleri a) 25 KX b) 40 KX c) boyut dağılım histogram grafiği

Yapılan çalışmalar sonucunda, uçucu yağ yüklü kitosan nanopartiküllerin ortalama çapları, boş kitosan nanopartiküllerine göre bir artış göstermiştir. Kapsüllenmiş uçucu yağ miktarının artması, partikül çaplarında da doğrusal bir artışa neden olmaktadır. Ayrıca uçucu yağların kararlılıkları ve çözünürlükleri düşük olduğundan, kapsüllendiklerinde kararlılıklarının arttığı düşünülmektedir. Çalışmamıza ait sonuçlar, literatürde yapılan çalışmalarla uyum sağlamaktadır. Nazari ve diğ. (2023) tarafından elektropüskürtme yöntemi ile üretilen boş kitosan nanopartikülünün ortalama çapının 248 nm, uçucu yağ yüklü kitosan nanopartikülünün ise 267 nm olduğu bildirilmişlerdir. Erarslan ve diğ. (2023) ise farklı adaçayı uçucu yağ konsantrasyonlarında ürettikleri polivinil alkol/kitosan nanopartikülleri için 156,6 nm ile 742 nm arasında değişen partikül çapları elde etmişlerdir. En düşük partikül çapını uçucu yağ yüklenmemiş nanopartikülde gözlemlemişler ve kapsüllenmiş uçucu yağ miktarının artması ile partikül çaplarında da bir artış olduğunu saptamışlardır. Bu artışı, nanoyapılar içerisinde daha fazla uçucu yağ kapsüllenmesiyle ilişkilendirmişlerdir. Yılmaz ve diğ. (2019) tarafından farklı kekik uçucu yağı konsantrasyonlarında üretilen kitosan nanopartiküllerinin çaplarının uçucu yağ konsantrasyonu ile doğrusal bir şekilde arttığı ve 290 nm ile 483 nm arasında değişkenlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Uçucu yağ konsantrasyonları arttıkça partikül çaplarında artış meydana gelmesi durumunu da kapsül yapısı içerisinde kapsüllenmiş uçucu yağ bileşenlerinin artması ile açıklamışlardır. Bu sonuçlara dayanarak defne uçucu yağının, kitosan nanopartikülleri içerisinde başarılı bir şekilde kapsüllendiği doğrulanmıştır.

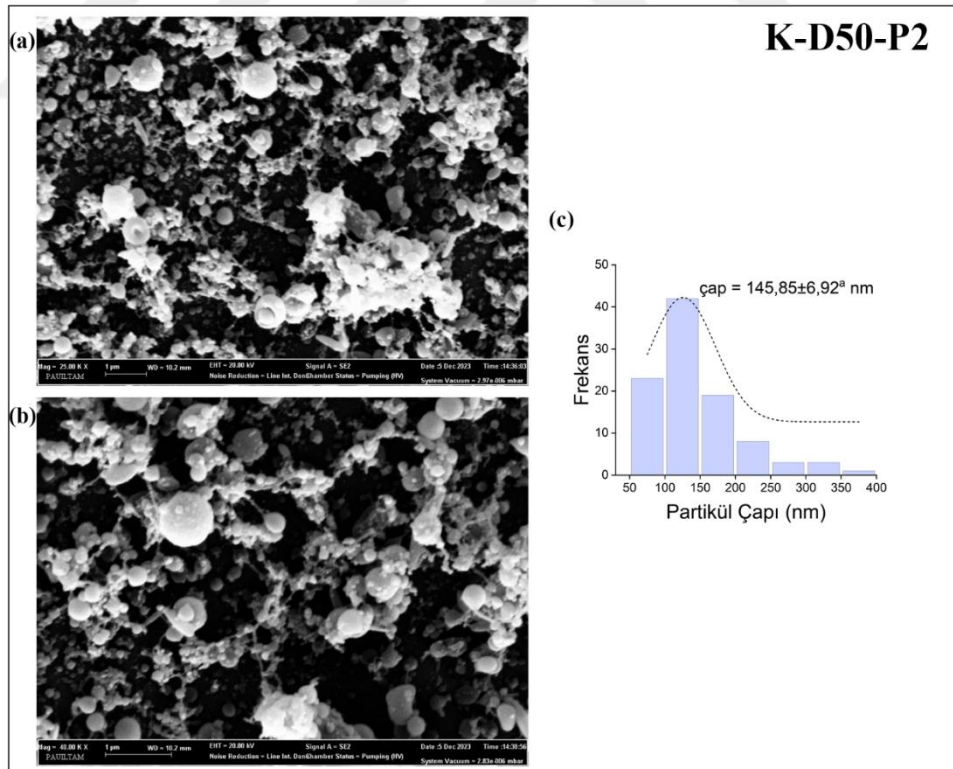
**Tablo 4.5:** Defne uçucu yağı içeren ve içermeyen nanopartiküllere ait ortalama partikül çapları ve homojenlik katsayıları

Nanopartikül Kodu	Nanopartikül Çapı (nm)	Nanopartikül Homojenlik Katsayısı
K-P1	105,68±3,95 <sup>b</sup>	1,138
K-D50-P1	115,52±4,56 <sup>b</sup>	1,154
K-D75-P1	139,91±6,49 <sup>a</sup>	1,213
K-P2	122,26±6,03 <sup>b</sup>	1,241
K-D50-P2	145,85±6,92 <sup>a</sup>	1,223
K-D75-P2	155,28±5,69 <sup>a</sup>	1,133

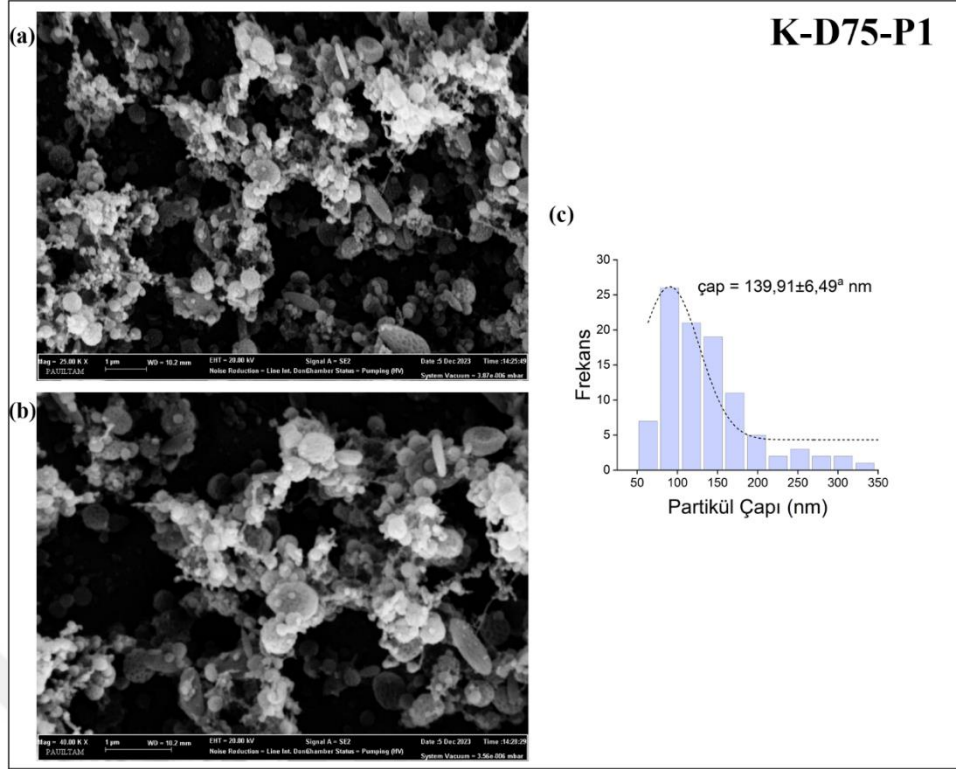
Aynı sütundaki farklı harflendirmeler, birbirleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ( $p < 0,05$ ). Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapmalarıyla birlikte verilmiştir.



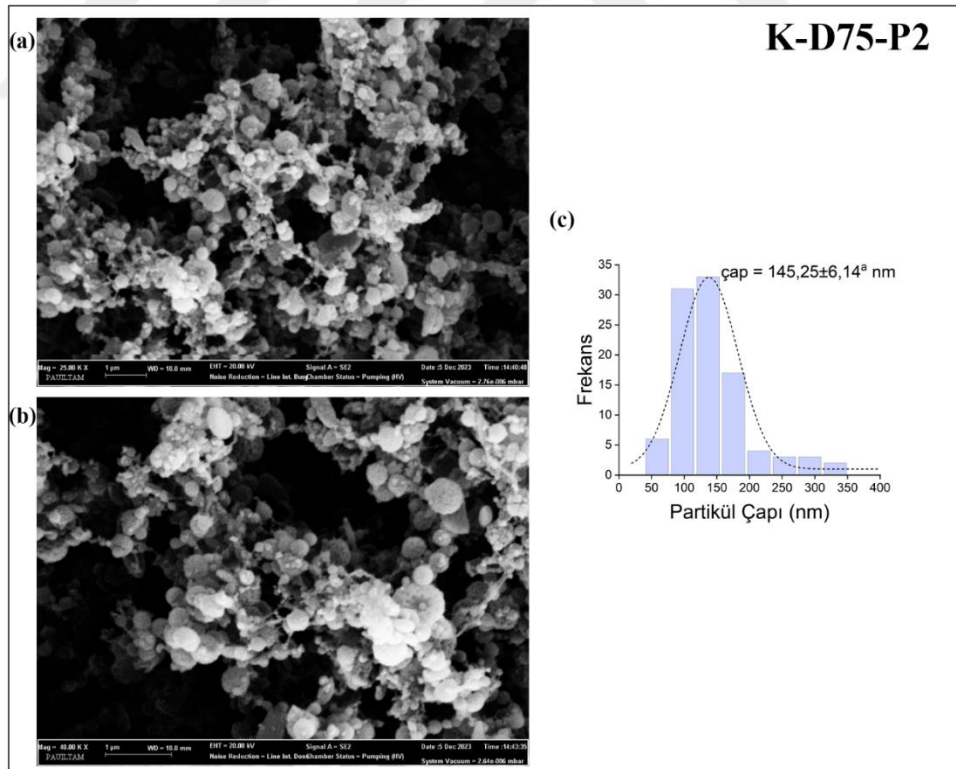
**Şekil 4.11:** 1. Koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülüne ait (K-D50-P1) farklı büyütmeye oranlarının FE-SEM görüntüleri a) 25 KX b) 40 KX c) boyut dağılım histogram grafiği



**Şekil 4.12:** 2. Koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülüne ait (K-D50-P2) farklı büyütmeye oranlarının FE-SEM görüntüleri a) 25 KX b) 40 KX c) boyut dağılım histogram grafiği



**Şekil 4.13:** 1. Koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülüne ait (K-D75-P1) farklı büyütme oranlarının FE-SEM görüntüleri a) 25 KX b) 40 KX c) boyut dağılım histogram grafiği



**Şekil 4.14:** 2. Koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülüne ait (K-D75-P2) farklı büyütme oranlarının FE-SEM görüntüleri a) 25 KX b) 40 KX c) boyut dağılım histogram grafiği

#### 4.4.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

Kitosan polimerine, defne uçucu yağına, boş kitosan nanopartiküllerine ve defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerine ait FTIR spektrumları Şekil 4.15'te verilmiştir.

Kitosan polimerine ait spektrumlar incelendiğinde karakteristik bantlar sırasıyla 3290, 2873, 1647, 1558, 1418, 1374, 1313, 1151, 1059, 1023 ve 895  $\text{cm}^{-1}$  dalga boylarında belirlenmiştir. Belirlenen karakteristik bantlar literatürde yapılan çalışmalar ile uyum göstermektedir. 3290  $\text{cm}^{-1}$  bölgesindeki güçlü ve geniş bir şekilde gözlemlenen bant, N-H ve O-H gerilmesiyle birlikte molekül içerisindeki hidrojen bağlarıyla ilişkilendirilmektedir. 2873  $\text{cm}^{-1}$  civarındaki absorpsiyon bandı C-H gerilmesi ile ilişkilendirilmektedir. Bu bant polisakkaritler için karakteristik bir özelliktir. N-asetil gruplarının varlığı 1647  $\text{cm}^{-1}$  Amid-I'in karbonil grubu (C=O gerilmesi) ve 1313  $\text{cm}^{-1}$  Amid-III'ün C-N gerilmesine atfedilmektedir. Ayrıca 1558  $\text{cm}^{-1}$ , Amid-II'nin N-H bükülmesine karşılık gelen küçük bir bant olmakla beraber N-asetil gruplarının karakteristik üçüncü bandıdır. 1374  $\text{cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen absorpsiyon bandı kitosanın  $\text{CH}_3$  bükülmesini temsil ederken, 1418  $\text{cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen bant ise  $\text{CH}_2$  simetrik deformasyonunu temsil etmektedir. 1151  $\text{cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen absorpsiyon bandı C-O-C köprüsünün asimetrik gerilmesi ile ilişkilendirilirken, 1023  $\text{cm}^{-1}$  ve 1059  $\text{cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen bantlar ise birincil ve ikincil alkolün C-O gerilmesine karşılık gelmektedir. 895  $\text{cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik ise monosakkaritlerin halka düzleminin dışarısına doğru CH bükülmesine karşılık gelmektedir (Queiroz ve diğ. 2014; Mohsenabadi ve diğ. 2018; Sethi ve diğ. 2021; Suryani ve diğ. 2022; Pereira ve diğ. 2023).

Defne uçucu yağı incelendiğinde ise 2966, 2923, 1731, 1515, 1465, 1374, 1306, 1256, 1234, 1214, 1167, 1131, 1079, 1053, 1016, 984, 920, 887, 864, 842, 814 ve 764  $\text{cm}^{-1}$  spektrumları tespit edilmiştir. 600-1500  $\text{cm}^{-1}$  bölgesi, uçucu yağ bileşenlerinin parmak izi için önemlidir. 1375, 1214, 1079 ve 984  $\text{cm}^{-1}$ 'de görülen pikler, metil bükülmesi ( $\text{CH}_3$ ) ve C-O-C asimetrik ve simetrik gerilmeleriyle ilişkilendirilen 1,8-sineol'ün varlığını kanıtlamaktadır. 1731  $\text{cm}^{-1}$ 'deki C=O gerilmesi  $\alpha$ -terpinil asetat'a ait belirgin bir piktir. 3463  $\text{cm}^{-1}$ 'deki O-H gerilmesi, linalol ve terpineol'e ait karakteristik piktir. 2966 ve 2923  $\text{cm}^{-1}$  civarında görülen pikler alken

grupları (asimetrik CH<sub>2</sub>), simetrik CH<sub>3</sub> ve CH<sub>2</sub> gerilmesiyle ilişkilendirilmiştir. 864 cm<sup>-1</sup>'de görülen pik benzen halkasının C-H titreşim absorpsiyonuna atfedilmiştir. 1515 ve 1465 cm<sup>-1</sup>'de görülen bantlar ise metil öjenol'den kaynaklanan aromatik halkaları temsil etmektedir ve GC-MS sonuçlarını doğrulamaktadır (Fernández ve diğ. 2019; Ordoudi ve diğ. 2020; Hojatoleslami ve diğ. 2022; Zarenezhad ve diğ. 2022).

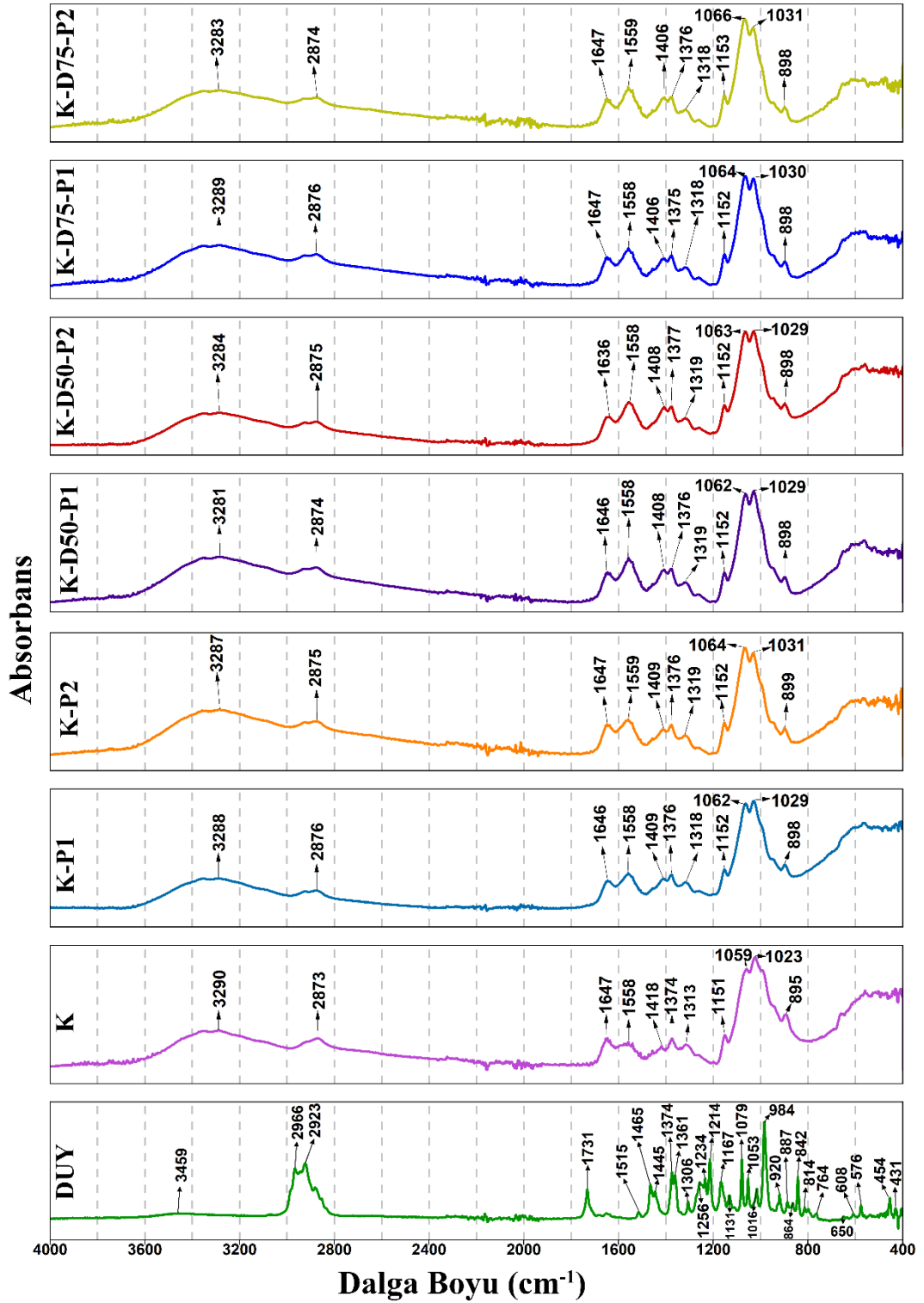
Kitosan polimeri ve boş kitosan nanopartiküllerinin FTIR spektrumlarında piklerin Amid-I, Amid-II ve Amid-III ile aynı aralıkta olmaları, üretilen partiküllerin kitosana benzer olduğunu doğrulamaktadır (İbrahim ve diğ. 2021).

Çalışmamıza ait FTIR spektrumları incelendiğinde literatür ile uyumlu olarak uçucu yağ yüklü nanopartiküllerde defne uçucu yağına ait karakteristik pik veya yeni ek pikler gözlemlenmemiştir. Charles ve diğ. (2023) biyoaktif bileşik yüklenen nanopartiküllerin yapısında yeni veya ek bağların oluşmamasının, kapsülleyici polimer ile biyoaktif bileşikler arasında olumsuz etkileşimlerin meydana gelmemesiyle ilgili olduğunu belirtmişlerdir.

Boş kitosan nanopartikülleri ve defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerine ait FTIR spektrumları karşılaştırıldığında aralarında belirgin bir fark görülmemektedir. Bazı bantlarda küçük kaymalar ve pik yoğunluklarında değişim olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun ise uçucu yağ konsantrasyonunun çok az miktarlarda kullanıldığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Uçucu yağ yüklü nanopartiküllerin spektrumlarında, uçucu yağ içermeyen örneklere göre küçük farklılıklar gözlemlenmiştir. Benzer şekilde Singh ve diğ. (2023) çalışmalarında uçucu yağ yüklü nanopartikülün, yüklenmemiş nanopartiküle göre spektrumlarını incelediklerinde pik yoğunluklarında artış ve piklerde kaymalar gözlemlenmişlerdir. Bu durumun defne uçucu yağının kitosan matrisine dahil edilmesinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Örnek olarak, K-P1 nanopartikülüne ait spektrumda 1062 cm<sup>-1</sup> dalga boyunda görülen pik, K-D75-P2'de pik yoğunluğunda artış göstererek dalga boyu 1066 cm<sup>-1</sup>'e kaymıştır. K-P2 spektrumunda 1647 cm<sup>-1</sup> dalga boyunda görülen pik, K-D50-P2 spektrumunda 1636 cm<sup>-1</sup>'e kayarak pik yoğunluğunu arttırmıştır. Kringel ve diğ. (2020) yaptıkları çalışmaya ait FTIR spektrumları incelendiğinde uçucu yağ konsantrasyonundan bağımsız olarak tüm örneklerde uçucu yağa ait karakteristik piklerin kaybolduğunu ve uçucu yağ içermeyen örneklere göre küçük farklılıklar olduğunu gözlemlenmişlerdir. Bu farklılıkları, 1651 cm<sup>-1</sup> dalga

boyunun  $1645\text{ cm}^{-1}$ 'e,  $1539\text{ cm}^{-1}$  ise  $1531\text{ cm}^{-1}$ 'e hafifçe kaymasına bağlamışlardır. Bu durumun polimer ve uçucu yağ molekülleri arasındaki hidrojen bağlarının oluşumuna ve bileşenler arasındaki uyumluluğu kanıtlar nitelikte olduğunu belirtmişlerdir. Kitosan polimeri için  $3290\text{ cm}^{-1}$  dalga boyunda gözlemlenen pikte, defne uçucu yağı eklenmesi sonucunda pik yoğunluğunda değişiklikler ve az miktarda kaymalar meydana geldiği gözlemlenmiştir. Bu durum defne uçucu yağının, kitosan polimerinin O-H ve N-H gerilmelerini etkilediğini düşündürmektedir. Benzer şekilde Barzegar ve diğ. (2016) çalışmalarında kekik uçucu yağının, kitosan nanopartiküllerine dahil edilmesi ile O-H ve N-H gerilmeleri sonucunda piklerde çok az miktarda kaymalara neden olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca uçucu yağın ait piklerin kaybolduğunu, uçucu yağ yüklü kitosan nanopartikülüne ait spektrumda yeni piklerin oluşmadığını, uçucu yağ ve kitosanın birbirlerine fiziksel olarak bağlı olduklarını tespit etmişlerdir.

Uçucu yağın kitosan nanopartikülleri içerisinde başarılı bir şekilde enkapsüle edilebilmesi için, enkapsülasyonun fiziksel veya kimyasal etkileşimlerinin incelenmesi gerekmektedir. Fiziksel etkileşim durumunda piklerde değişim olmaması veya çok az miktarda kayma meydana gelmesi beklenirken, kimyasal etkileşim varlığında ise dalga boylarında önemli bir değişim meydana gelmesi beklenmektedir (Shetta ve diğ. 2019). Sonuç olarak üretilen nanopartiküllerde defne uçucu yağı ve kitosan polimeri arasında fiziksel bir etkileşim meydana geldiği düşünülmektedir.



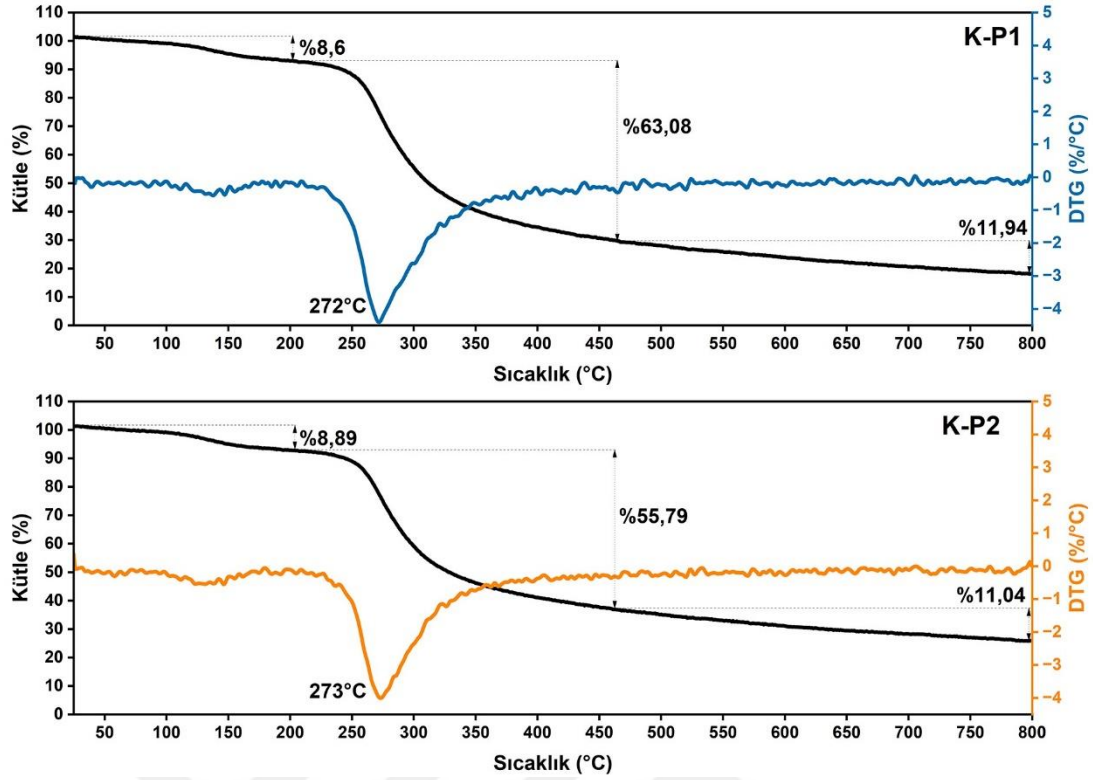
**Şekil 4.15:** Defne uçucu yağı (DUY), kitosan (K), 1. Koşul boş kitosan nanopartikülü (K-P1), 2. koşul boş kitosan nanopartikülü (K-P2), 1. koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D50-P1), 2. koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D50-P2), 1. koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D75-P1), 2. koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerine (K-D75-P2) ait FTIR spektrumları

### 4.4.3 Nanopartiküllerin Termal Özellikleri

#### 4.4.3.1 Termogravimetrik analiz

Termogravimetrik analiz, bir malzemenin ağırlık kaybını sıcaklık veya zamanın bir fonksiyonu olarak gözlemlemek için yapılan yararlı bir tekniktir. Malzemenin en yüksek oranda ağırlık kaybına maruz kaldığı sıcaklığa maksimum bozunma hızı sıcaklığı ( $T_d$ ) denilmektedir ve diferansiyel termogravimetri termogramı (DTG) olarak bilinen ağırlık değişiminin maksimum eğimindeki TGA eğrisinin birinci türevi ile hesaplanmaktadır. TGA/DTG termogramları sıcaklık artışı ile, boş kitosan nanopartikülleri ve defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerinin kütledeki değişim oranına göre partiküllerin termal kararlılıkları belirlenmektedir.

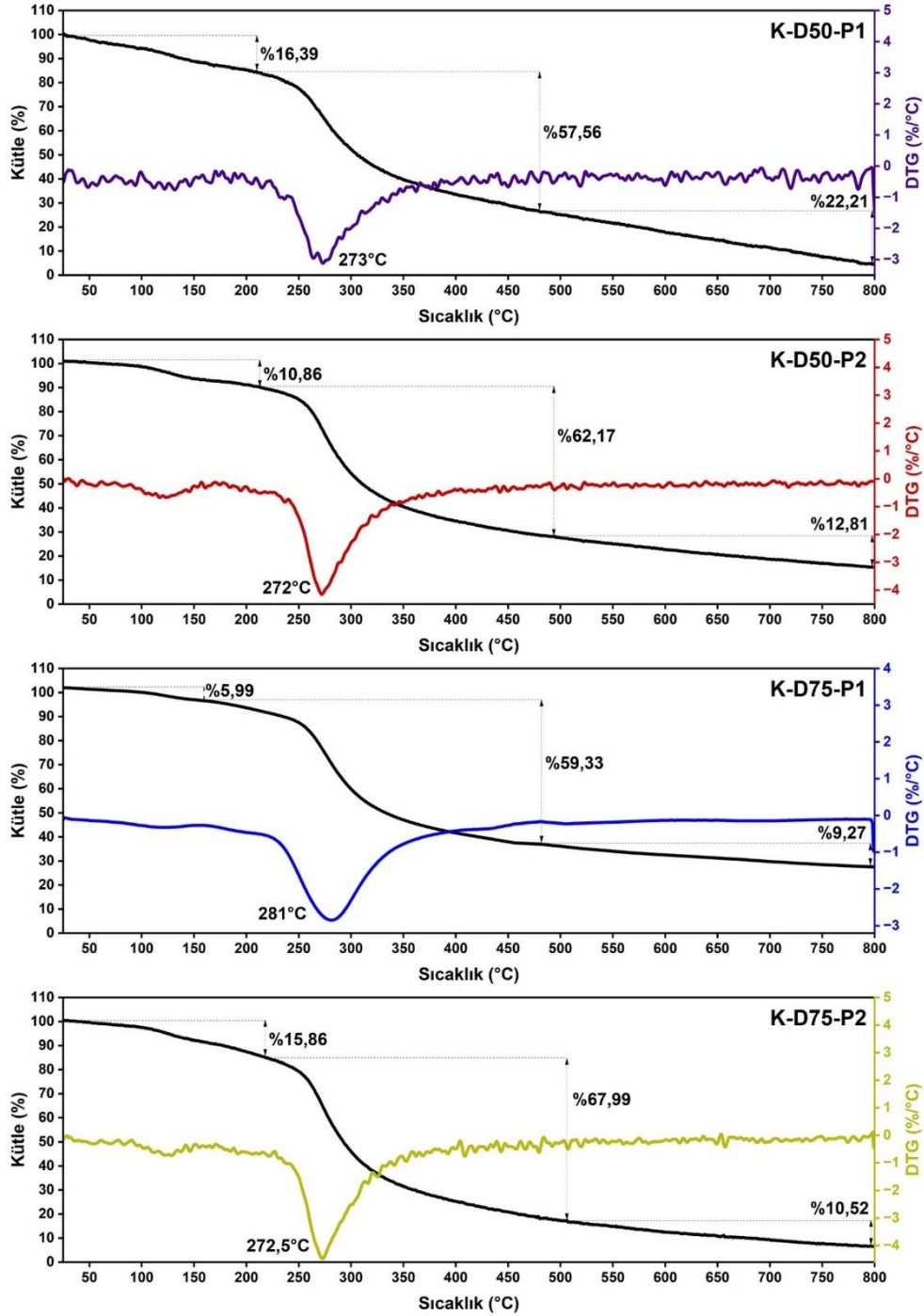
Şekil 4.16'da boş kitosan nanopartiküllerine (K-P1 ve K-P2) ait termogramlar incelendiğinde termal bozunma üç aşamada gözlemlenmiştir. Boş kitosan nanopartikülleri için ilk kütle kayıpları 96 °C ile 176 °C aralığında gerçekleşmiştir ve bu düşüş yapıdaki absorbe edilen suyun ve kalıntı asetik asidin buharlaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. K-P1 için ilk kütle kaybı %8,6 iken K-P2 için %8,89 olarak belirlenmiştir. İkinci aşamada gerçekleşen kütle kayıpları 202 °C ile 464 °C aralığında gerçekleşmiştir ve bu düşüşün kitosan matrisinin termal bozunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. K-P1 için ikinci kütle kaybı %63,08 iken K-P2 için %55,79 olarak belirlenmiştir. İkinci aşamada meydana gelen kütle kaybı, birinci aşamada gerçekleşen kütle kaybının tam tersi şeklinde görülmektedir. Bunun nedenin ise üretim koşullarının farklılığı sonucu oluşan morfolojik değişimlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Üçüncü aşamada gerçekleşen kütle kayıpları ise 464 °C'den sonra gerçekleşmiş olup kitosan polimerinin zincir yapılarının kırılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. K-P1 için üçüncü kütle kaybı %11,94 ve K-P2 için %11,04 olarak belirlenmiştir. DTG termogramında en yüksek kütle kaybını gösteren sıcaklık değeri  $T_d$ , K-P1 için 272 °C ve K-P2 için 273 °C'de meydana geldiği gözlemlenmiştir. Ayrıca kalıntı miktarları ise K-P1 ve K-P2 için sırasıyla %16,38 ve %24,28 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.16: 1. Koşul boş kitosan nanopartikülü (K-P1), 2. koşul boş kitosan nanopartiküllerine (K-P2) ait TGA/DTG termogramları

Şekil 4.17’de K-D50-P1, K-D50-P2, K-D75-P1 ve K-D75-P2’ye ait termogramlar incelendiğinde termal bozunma boş kitosan nanopartiküllerine benzer şekilde üç basamakta gözlemlenmiştir. K-D50-P1 ve K-D50-P2 için ilk kütle kayıpları 91 °C ve 169 °C aralığında gerçekleşirken, K-D75-P1 ve K-D75-P2 için 90-156 °C aralığında gerçekleşmiştir. Bu düşüşler yapıdaki absorbe edilen suyun, kalıntı asetik asidin ve partikül yüzeyine yapışan eser miktarda uçucu yağın buharlaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. K-D50-P1 ve K-D50-P2 için ilk kütle kayıpları sırasıyla %16,39 ve %10,86 olarak belirlenirken, K-D75-P1 ve K-D75-P2 için ise sırasıyla %5,99 ve %15,86 olarak belirlenmiştir. İkinci aşamada gerçekleşen kütle kayıpları K-D50-P1 ve K-D50-P2 için 210 °C ile 495 °C aralığında gerçekleşirken, K-D75-P1 ve K-D75-P2 için 160-506 °C aralığında gerçekleşmiştir. Bu düşüşlerin kitosanın matrisinin termal bozunmasından ve uçucu yağın bozunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. İkinci kütle kayıpları K-D50-P1 ve K-D50-P2 için %57,56 ve %62,17 olarak belirlenirken, K-D75-P1 ve K-D75-P2 için ise %59,33 ve %67,99 olarak belirlenmiştir. Üçüncü aşamada K-D50-P1 ve K-D50-P2 için gerçekleşen kütle kayıpları 495 °C’den sonra gerçekleşirken, K-D75-P1 ve K-D75-P2 için ise 506 °C’den sonra gerçekleşmiştir ve bu kütle düşüşlerinin kitosan polimerinin

zincir yapılarının kırılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. K-D50-P1, K-D50-P2, K-D75-P1 ve K-D75-P2 için üçüncü kütle kayıpları sırasıyla %22,21, %12,81, %9,27 ve %10,52 olarak belirlenmiştir.



**Şekil 4.17:** 1. koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D50-P1), 2. koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D50-P2), 1. koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D75-P1), 2. koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerine (K-D75-P2) ait TGA/DTG termogramları

DTG termogramlarında en yüksek kütle kaybını gösteren sıcaklık değeri  $T_d$  değerleri K-D50-P1 için 273 °C, K-D50-P2 için 272 °C, K-D75-P1 için 281 °C ve K-D75-P2 için ise 272,5 °C olarak gözlemlenmiştir. Kalıntı miktarları ise sırasıyla %4,33, %14,16, %25,41 ve %5,93 olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda elde edilen bulgularla uyumlu olarak, Erarslan ve diğ. (2023) elektropüskürtme yöntemi ile ürettikleri adaçayı uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerine ait TGA eğrilerinde meydana gelen termal bozunmaların üç aşamada gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Birinci aşamada meydana gelen kütle kaybının kalıntı asetik asit ve su kaybından, ikinci aşamada meydana gelen kütle kaybının kitosan polimer matrisinin bozunmasından ve üçüncü aşamada meydana gelen kütle kaybının ise kitosan polimer zincirlerinin kırılmasından dolayı meydana geldiğini vurgulamışlardır. Yılmaz ve diğ. (2019) çalışmalarında, elektropüskürtme yöntemi ile kekik uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülleri ürettikleri çalışmalarında partiküllerin termal bozunma sıcaklık sonuçlarında %56 kütle kaybının meydana geldiği 140 °C ile 368 °C bozunma hızı sıcaklığı aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Vehapi ve diğ. (2021) ise çalışmalarında elektropüskürtme yöntemi ile ürettikleri boş kitosan nanopartikülleri ile zeytinyağı-kekik uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülleri arasındaki TGA eğrilerinde gözlemlenen farkın nanopartiküllerdeki yağın varlığını kanıtladığını doğrulamışlardır.

Özet olarak boş kitosan nanopartikülleri ile defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülleri arasında meydana gelen kütle kayıpları farklılık göstermiştir. Kitosan nanopartiküllerinin 800 °C'de kalıntı miktarları incelendiğinde en yüksek kalıntı miktarına sahip örneğin %25,41 oranı ile K-D75-P1, en düşük kalıntı miktarı ise %4,33 oranı ile K-D50-P1 olduğu tespit edilmiştir. Pires ve diğ. (2022) aynı kurkimin oranına sahip partiküller ve lifler ürettikleri çalışmada, %35,35 olan partikül kalıntısının %32,13 lif kalıntısından daha yüksek olduğunu belirleyerek partiküllerin termal kararlılıklarının daha iyi olduğunu vurgulamışlardır. Defne uçucu yağının kitosan içerisine kapsüllemesi ile kitosan bariyer görevi görerek uçucu yağ bileşenlerinin buharlaşmasına karşı koruma sağladığı ve termal stabiliteyi arttırdığı düşünülmektedir.

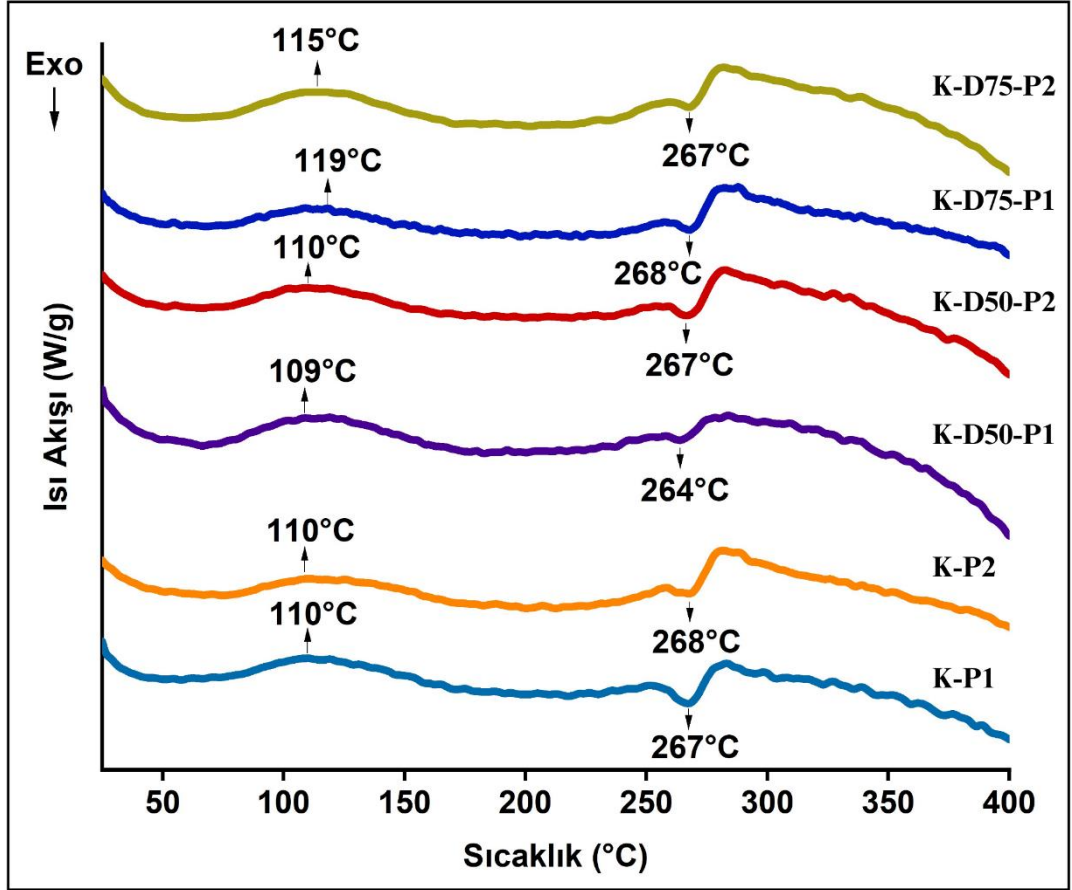
#### 4.4.3.2 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre

Diferansiyel taramalı kalorimetre bir numunenin sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ısı alma (endotermik) veya ısı verme (ekzotermik) eğilimini ve ısı akışı miktarını ölçen termal bir analizdir. Boş kitosan nanopartikülleri ve defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerine ait DSC termogramı Şekil 4.18’de verilmiştir. Üretilen tüm nanopartiküller endotermik ve ekzotermik pik göstermiştir.

K-P1 ve K-P2 nanopartiküllerinde 110 °C’de meydana gelen endotermik pik, suyun buharlaşmasını gösterirken sırasıyla 267 °C ve 268 °C’de meydana gelen ekzotermik pikler nanopartiküllerin bozunmasını göstermektedir. %50 defne uçucu yağı yüklü K-D50-P1 ve K-D50-P2 nanopartikülleri için su buharlaşması sırasıyla 109 °C ve 110 °C’de meydana gelirken, bozunmaları ise 264 °C ve 267 °C’de gerçekleşmiştir. %75 defne uçucu yağı yüklü K-D75-P1 ve K-D75-P2 nanopartiküllerinde ise suyun buharlaşması sırasıyla 119 °C ve 115 °C’de görülürken, bozunmaları ise 268 °C ve 267 °C’de tespit edilmiştir.

K-P1, K-P2, K-D50-P1 ve K-D50-P2 nanopartiküllerinde endotermik pikler benzer sıcaklıklarda meydana gelirken, uçucu yağ oranınının %75’e arttırıldığı K-D75-P1 ve K-D75-P2 nanopartiküllerinin endotermik pik sıcaklıklarında belirgin bir artış meydana gelmiştir. Bu artışın nedeninin ise artan uçucu yağ konsantrasyona bağlı olarak su ve kitosan polimeri arasında daha güçlü etkileşim meydana gelmesi ve su emme kapasitesinin artmasıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir (Yılmaz ve diğ. 2019).

Ekzotermik piklere bakıldığında ise boş kitosan nanopartikülleri ve defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülleri arasında belirgin bir fark görülmemektedir. Bu durumun, uçucu yağ konsantrasyonunun çok az miktarda kullanıldığından kaynaklandığı düşünülmektedir. K-D50-P1 nanopartikülünde bozunma sıcaklığı diğer nanopartiküllere göre daha düşük sıcaklığa kaymıştır. Bunun sebebinin, uçucu yağın kitosana yüklenmesi sırasında polimer ve uçucu yağ arasında daha düşük seviyede bir etkileşim meydana geldiğinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Paula ve diğ. 2011).



**Şekil 4.18:** 1. Koşul boş kitosan nanopartikülü (K-P1), 2. koşul boş kitosan nanopartikülü (K-P2), 1. koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D50-P1), 2. koşul %50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D50-P2), 1. koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülü (K-D75-P1), 2. koşul %75 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerine (K-D75-P2) ait DSC termogramı

Tez çalışması kapsamında DSC termogramlarından elde edilen sonuçlar literatürle uyum sağlamaktadır. Soltanzadeh ve diğ. (2021) çalışmalarında limon otu uçucu yağı ve kitosandan elde ettikleri nanopartiküle ait DSC grafiği incelendiğinde 261 °C civarında meydana gelen ekzotermik pikte bozunduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Kaboudi ve diğ. (2023) çalışmalarında uçucu yağ yüklü kitosan nanopartiküllerinin 260 °C’de bozunduğunu bildirmişlerdir.

Kapsüllemiş biyoaktif bileşenlerin polimer matrisi içerisine dahil edilemediği durumda DSC termogramlarında biyoaktif bileşen ve polimere ait ayrı ayrı pikler gözlemleneceği belirtilmiştir. Defne uçucu yağı yüklü nanopartiküllerde ise defne uçucu yağın ait yeni bir endotermik ve ekzotermik piklerin görülmemesi de kapsülleme işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini kanıtlamaktadır (Feyzioglu ve Tornuk 2016; Yılmaz ve diğ. 2019; Soltanzadeh ve diğ. 2022).

Benzer şekilde Hadidi ve diğ. (2020) çalışmalarında karanfil uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülleri elde etmişlerdir. DSC sonuçlarına göre karanfil uçucu yağının kitosan polimeri içerisinde başarılı bir şekilde kapsüllendiğini belirtmişlerdir. Ayrıca karanfil uçucu yağının, kitosan polimeri içerisinde başarılı bir şekilde kapsüllenmemesi durumunda ise DSC termogramlarında kitosan ve uçucu yağa ait piklerin ayrı ayrı gözlemleneceğini bildirmişlerdir.

En yüksek bozunma sıcaklığını K-D75-P1 ve K-P2 nanopartikülleri gösterirken, en düşük bozunma sıcaklığı K-D50-P1 nanopartikülünde görülmüştür. Bu sonuçlar TGA sonuçlarını doğrular niteliktedir.

#### **4.4.4 Nanopartiküllerin Toplam Fenolik Madde ve Antioksidan Aktivite İçeriklerine Ait Bulgular**

Defne uçucu yağı içeren ve içermeyen polimer çözeltilerine ve nanopartiküllere ait fenolik madde içeriği (mg GAE/g KM), DPPH ve ABTS antioksidan aktivite ( $\mu\text{mol TE/g KM}$ ) analiz sonuçları Tablo 4.6'da verilmiştir.

##### **4.4.4.1 Toplam Fenolik Madde İçeriği**

%50 defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerinin toplam fenolik madde içeriği, çözeltilerine (K-D50-Ç) göre K-D50-P2 nanopartikülünde fark olmadığı tespit edilirken ( $p>0,05$ ), K-D50-P1 nanopartikülünün ise %6,83 daha düşük fenolik madde içeriğine sahip olduğu gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). Nanopartiküller arasında voltaj ve mesafenin etki ettiği koşullar karşılaştırıldığında K-D50-P2 nanopartikülü 7,28 mg GAE/g KM iken K-D50-P1 nanopartikülü ise 6,82 mg GAE/g KM ile daha düşük toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğu istatistiksel olarak hesaplanmıştır ( $p<0,05$ ). %75 defne uçucu yağı içeriğine sahip K-D75-P1 ve K-D75-P2 nanopartiküllerinin toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 7,81 ve 9,57 mg GAE/g KM olarak belirlenmiştir ve aralarında fark olduğu görülürken, K-D75-Ç çözeltisi ile kıyaslandıklarında ise toplam fenolik madde içeriklerinde benzer şekilde farklılık olduğu tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ).

Ayrıca içerisinde defne uçucu yağı bulundurmayan K-Ç çözeltisinin ve K-P1 ile K-P2 nanopartiküllerinin toplam fenolik madde içeriklerinin aynı olduğu tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ). Fenolik madde içeriğinde uçucu yağ konsantrasyonunun artması ile bir artış gözlemlenmiştir. En yüksek fenolik madde içeriğine sahip nanopartikülün K-D75-P2 olduğu belirlenmiştir.

Elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu olarak, Shetta ve diğ. (2019) çalışmalarında kitosan nanopartikülleri ve yeşil çay uçucu yağı içeren nanopartiküller arasında kitosan nanopartiküllerinin fenolik madde içeriğini 0,06 mg GAE olarak belirlerken, yeşil çay uçucu yağı içeren kitosan nanopartiküllerinin ise 7,39 mg GAE'ye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Benzer şekilde kitosanın içeriğinde fenolik bileşik bulunmamasına rağmen analiz sonucunda kitosan nanopartiküllerinde fenolik madde içeriği gözlemlenmiştir. Bu durumun nedenini spektrofotometre ile tespit edilen kromojen oluşumundan kaynaklı olduğunu düşünmektedirler. Das ve diğ. (2019) yaptıkları çalışmada kitosan nanoemülsiyonunun toplam fenolik madde içeriğini 1,01  $\mu\text{g}$  GAE olarak belirlerken, kapsüllenmiş uçucu yağ nanoemülsiyonunun ise fenolik madde içeriğini 8,23  $\mu\text{g}$  GAE olarak belirlemişlerdir. Benzer şekilde kitosan nanopartiküllerinde kromojen oluşumundan kaynaklandığı düşünülen fenolik madde içeriği olduğunu vurgulamışlardır.

Nanopartikül örneklerinde koşulların değiştirilmesi, toplam fenolik madde içeriğinde farklılığa neden olmuştur. Bu durumun koşullar arasındaki voltaj ve mesafe farklılığının fenolik madde miktarında az da olsa etkisinin olduğundan kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca FE-SEM sonuçları ile tespit edilen partiküllerin boyut farklılığından kaynaklı olabileceği de düşünülmektedir. Soleimanifar ve diğ. (2020) çalışmalarında daha küçük boyutlara sahip nanopartiküllerin fenolik bileşen içeriğini tamamen kapsayamadıkları için azaldığını ve elektropüskürtme sırasında hassas bileşenlerin yok edilmesinden kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir. Nano boyutta malzemelerin özellikleri değişmektedir. Bunun nedeninin ise üretildikleri örneğe göre artan yüzey/hacim oranlarından dolayı beklenmedik özelliklerin ortaya çıkması ile ilişkilendirilmektedir (Divya ve Jisha 2018).

**Tablo 4.6:** Çözelti ve nanopartiküllere ait toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite içerikleri

Örnek Kodları	Toplam Fenolik (mg GAE/g KM)	DPPH ( $\mu$ mol TE/g KM)	ABTS ( $\mu$ mol TE/g KM)
K-Ç	3,68 $\pm$ 0,06 <sup>f</sup>	2668,14 $\pm$ 26,15 <sup>g</sup>	3714,76 $\pm$ 75,73 <sup>g</sup>
K-P1	3,67 $\pm$ 0,05 <sup>f</sup>	2806,75 $\pm$ 55,10 <sup>g</sup>	4960,72 $\pm$ 16,87 <sup>f</sup>
K-P2	3,67 $\pm$ 0,03 <sup>f</sup>	2968,31 $\pm$ 30,61 <sup>f</sup>	5607,97 $\pm$ 40,26 <sup>e</sup>
K-D50-Ç	7,32 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>	3452,30 $\pm$ 44,24 <sup>e</sup>	6093,01 $\pm$ 24,76 <sup>d</sup>
K-D50-P1	6,82 $\pm$ 0,05 <sup>e</sup>	5583,95 $\pm$ 72,64 <sup>c</sup>	6302,85 $\pm$ 107,81 <sup>c</sup>
K-D50-P2	7,28 $\pm$ 0,05 <sup>d</sup>	5688,30 $\pm$ 44,65 <sup>c</sup>	6804,87 $\pm$ 21,52 <sup>b</sup>
K-D75-Ç	10,34 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	3964,47 $\pm$ 42,59 <sup>d</sup>	7334,40 $\pm$ 66,43 <sup>a</sup>
K-D75-P1	7,81 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>	6140,35 $\pm$ 82,64 <sup>b</sup>	6102,38 $\pm$ 32,29 <sup>d</sup>
K-D75-P2	9,57 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	6394,34 $\pm$ 13,48 <sup>a</sup>	7289,87 $\pm$ 19,04 <sup>a</sup>

Aynı sütundaki farklı harflendirmeler, birbirleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ( $p < 0,05$ ). Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapmalarıyla birlikte verilmiştir.

#### 4.4.4.2 Antioksidan Madde İçeriği

Antioksidan aktivite arttığında, DPPH çözeltisinin mor rengi solmaya başlarken ABTS radikal katyonunun ise mavi-yeşil rengi değişmeye başlar. Renk değişim miktarları antioksidan konsantrasyonu ile orantılı olarak değişmektedir.

Çözeltilerin ve nanopartiküllerin DPPH antioksidan aktivite içerikleri belirlenmiştir. Kitosan çözeltisi ve bu çözeltiden elde edilen nanopartiküllerin antioksidan aktiviteleri değerlendirildiğinde, K-Ç için 2668,14  $\mu$ mol TE/g KM ve K-P1 nanopartikülü için 2806,75  $\mu$ mol TE/g KM olarak ölçülen değerler arasında fark yok iken ( $p > 0,05$ ), K-P2 nanopartikülünde 2968,31  $\mu$ mol TE/g KM içeriği ile bir artış olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). Kitosan, antioksidan bir ajan olarak kabul edilmesine rağmen antioksidan özellikleri büyük ölçüde moleküler ağırlığı ve deasetilasyon derecesi ile ilişkilidir. Daha düşük moleküler ağırlık ve daha yüksek deasetilasyon derecesi daha iyi antioksidan özellikler ile sonuçlanmaktadır (Anis 2022; Kulawik ve diğ. 2023). Bu durum kitosanın amino gruplarının DPPH çözeltisine hidrojen verip, serbest radikallerle etkileşime girmesiyle açıklanabilmektedir (Esmaceli ve Asgari 2015).

Tablo 4.6’da görüldüğü üzere çözeltilerin defne uçucu yağı konsantrasyon oranı arttıkça antioksidan aktivitelerinde bir fark olduğu görülürken, aynı zamanda hem %50 (K-D50-Ç) hem de %75 (K-D75-Ç) defne uçucu yağı içeren çözeltilere kıyasla nanopartiküllerin antioksidan aktivitelerinde de bir artış olduğu gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). K-D50-P1 ve K-D75-P1 nanopartiküllerinin antioksidan aktiviteleri sırasıyla 5583,95 ve 6140,35  $\mu\text{mol TE/g KM}$  olarak tespit edilirken, K-D50-P2 ve K-D75-P2 nanopartiküllerinin antioksidan aktiviteleri ise sırasıyla 5688,30 ve 6394,34  $\mu\text{mol TE/g KM}$  olarak belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). K-D50-P1 ve K-D50-P2 nanopartikülleri arasında antioksidan aktivite açısından bir fark olduğu görülmezken ( $p>0,05$ ), K-D75-P1 ve K-D75-P2 arasında anlamlı bir fark görülmektedir ( $p<0,05$ ).

Belirlenen sonuçlar, defne uçucu yağı konsantrasyonunun artmasıyla antioksidan aktivitenin arttığını göstermektedir. Vehapi ve diğ. (2021) yaptıkları çalışmada uçucu yağ yüklü nanopartiküllerde, uçucu yağ konsantrasyonu arttıkça antioksidan aktivitenin de arttığını belirtirken, benzer şekilde Soleimanifar ve diğ. (2021) ürettikleri nanopartiküllerde ekstrakt konsantrasyonunun iki katına çıkması ile antioksidan aktivitesi %35’ten %45’e yükseldiğini gözlemlenmiştir.

ABTS antioksidan aktivite değerleri incelendiğinde, kitosan çözeltisi ve nanopartiküllerin aktiviteleri arasında artış şeklinde bir fark bulunmaktadır ( $p<0,05$ ). Antioksidan aktivite değerleri K-Ç çözeltisi için 3714,76  $\mu\text{mol TE/g KM}$ , K-P1 ve K-P2 nanopartikülleri için sırayla 4960,72 ve 5607,97  $\mu\text{mol TE/g KM}$  olarak belirlenmiştir. K-D50-Ç çözeltisi ile K-D50-P1 ve K-D50-P2 nanopartikülleri kıyaslandığında, çözeltilere göre antioksidan aktivitede bir artış olduğu görülürken nanopartiküller kıyaslandığında ise K-D50-P2 nanopartikülü 6804,87  $\mu\text{mol TE/g KM}$  oranıyla K-D50-P1 nanopartikülüne göre daha fazla antioksidan aktivite göstermiştir ( $p<0,05$ ). K-D75-Ç çözeltisi ile K-D75-P1 ve K-D75-P2 nanopartikülleri kıyaslandığında ise 7289,87  $\mu\text{mol TE/g KM}$  oranıyla K-D75-P2 nanopartikülü ile fark görülmediği ( $p>0,05$ ), K-D75-P1 nanopartikülü ile azalma şeklinde bir fark olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).

K-D75-P1 nanopartikülüne ait ABTS antioksidan aktivite sonucunun, K-D75-P2 ve K-D75-Ç örneklerine göre daha düşük çıkmasının nedeninin defne uçucu yağının kitosan nanopartikülü içerisinde daha kararlı olduğundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Daha önce belirtildiği gibi karakterizasyon analizinde bu

nanopartikülün termal stabilitesinin diğer nanopartiküllere göre daha iyi çıkması da bu sonucu desteklemektedir. Ayrıca ABTS analizinin reaksiyon süresinin arttığı durumda antioksidan aktivitenin de artacağı düşünülmektedir. Noori ve diğ. (2023) uçucu yağların kitosan ile kapsüllendikten sonra daha düşük antioksidan aktivite gösterebileceğini belirtmişlerdir. Bu durumun olası nedeninin uçucu yağların kitosan yapısında kararlı bir şekilde tutulması ile ilişkili olduğunu düşünmektedirler. Ayrıca nanopartiküllerin çözündüğü ortamda polimer kabuğunun bozulması ile biyoaktif bileşenlerin salınımları artmakta ve bu nedenle antioksidan aktivitelerinde de bir artış meydana gelmektedir. Gıda ürünlerinde antioksidanların salınımının uzun sürede gerçekleşmesi, gıda uygulamalarında önemli bir avantaj sağlayabilmektedir (Schmatz ve diğ. 2020).

Tez çalışması kapsamında üretilen nanopartiküllerin, ABTS radikal süpürme kapasitesinin, DPPH radikal süpürme kapasitesinden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir ve bu sonuçlar literatürde yapılan çalışmalar ile uyum içerisindedir. Pires ve diğ. (2022) çalışmalarında, kapsüllenmiş kurkuminin antioksidan aktivitesini DPPH ve ABTS radikali ile karşılaştırarak değerlendirmişlerdir. Kurkimin konsantrasyonunun artırılması ile antioksidan aktivitelerinde artış gözlemlemişlerdir. Nanopartiküllerin DPPH radikaline kıyasla ABTS radikali ile daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirtmişler ve bunun nedenini ABTS radikalinin daha hassas olması ve daha hızlı reaksiyon kinetiği sunması ile ilişkilendirmişlerdir. Benzer şekilde Schmatz ve diğ. (2020) çalışmalarında, fikosiyanın yüklü nanopartiküller üretmişlerdir. Nanopartiküllere fikosiyanın eklenmesi ile partiküllerin antioksidan aktiviteleri artmıştır. Partiküllerin ABTS radikal süpürme kapasitesinin, DPPH radikal süpürme kapasitesinden daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bu farklılığın temel nedeninin ABTS'nin nanopartiküllerle etkileşime girdiği ortam çözünürlüğünün farklılığından ortaya çıkmış olabileceğini ve bunun sonucu olarak ABTS radikalinin örneklerle daha fazla etkileşime girmesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Kitosan, serbest -NH<sub>2</sub> grupları içeren bir polimerdir. Bu gruplar, uçucu yağda bulunan fenolik bileşikler gibi antioksidanlar ile reaksiyona girebilir ve onları serbest radikallerden korumaya yardımcı olabilir ve bu sayede yüksek antioksidan aktivite sağlar (Chaudhari ve diğ. 2023). Nanopartiküller içerisinde bulunan defne uçucu

yağının ana kimyasal bileşenlerinin serbest radikal yakalama kapasitelerinin yüksek olmasından dolayı antioksidan aktivitede önemli bir artış meydana getirdiği de bildirilmektedir (Wu ve diğ. 2019). Kitosan ve uçucu yağların birlikte kullanımı, antioksidan aktivitede önemli bir artış sağlayabilmektedir. Bunun nedeni, bu iki bileşenin sinerjik bir etki oluşturması ve uçucu yağların kitosan matrisinden kontrollü bir şekilde salınmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (Noori ve Hossaeini 2023).

Antioksidan aktivite sonuçlarına göre en yüksek antioksidan aktivite değerine sahip nanopartikülün K-D75-P2 olduğu sonucuna varılmıştır. Enkapsülasyon yöntemi uçucu yağlarda, uçucu bileşenlerin buharlaşma oranlarını azaltmakla beraber çevresel koşullardan koruduğu için biyoaktif bileşenlerin antioksidan aktivitelerini, serbest formlarına göre daha da arttırmaktadır (Hadidi ve diğ. 2020).

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında, elektropüskürtme yöntemi kullanılarak farklı konsantrasyonlarda defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülleri elde edilmiştir. Elektropüskürtme yöntemiyle nanopartiküller elde edilirken, farklı parametrelerinin etkisini incelemek amacıyla farklı voltaj, mesafe ve defne uçucu yağı konsantrasyonları kullanılarak altı farklı nanopartikül üretimi gerçekleştirilmiştir. Boş kitosan nanopartikülleri ve defne uçucu yağ yüklü kitosan nanopartiküllerinin karakterizasyonu için FE-SEM, FTIR, TGA ve DSC, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite analizleri gerçekleştirilmiş ve aşağıda verilen sonuçlara varılmıştır.

- Defne uçucu yağının kimyasal bileşimini belirlemek için GC-MS analizi gerçekleştirilmiş ve ana bileşenin %51,05 oranında 1,8-sineol olduğu belirlenmiştir.
- Kitosan çözeltisi ve farklı konsantrasyonlarda (%50 ve %75) defne uçucu yağı içeren kitosan çözeltilerinin elektriksel iletkenlik ve viskozite değerleri ölçülmüştür. Defne uçucu yağının eklenmesi ile elektriksel iletkenlikte anlamlı bir düşüş ve viskozitede anlamlı bir artış meydana gelmiştir ( $p < 0,05$ ). Sonuç olarak uçucu yağ konsantrasyonunun artması ile elektriksel iletkenlikteki düşüşün ve viskozitedeki artışın partikül çapını arttırdığı sonucuna varılmıştır.
- Nanopartiküllerin FE-SEM görüntüleri incelendiğinde iki farklı işlem koşulunda üretilen nanopartiküllerin boyut ve morfolojilerinin küresel ve çatlak içermeyen pürüzsüz bir yapıya sahip olduğu gözlemlenmiştir. Boyutlarının ise 105 nm ile 155 nm arasında değiştiği belirlenmiştir. En düşük ortalama çap K-P1 nanopartikülünde belirlenirken, en yüksek ise K-D75-P2 nanopartikülünde olduğu tespit edilmiştir. Uçucu yağ konsantrasyonunun artması ile partikül boyutunun arttığı ve farklı voltaj ve mesafe kullanımının da boyutu etkilediği gözlemlenmiştir.
- FTIR sonuçları incelendiğinde ise üretilen nanopartiküllerde defne uçucu yağı ve kitosan polimeri arasında fiziksel bir etkileşim meydana geldiği düşünülmektedir.
- TGA ve DSC termogramları incelendiğinde uçucu yağın kapsülendiğini ve uçucu yağın varlığını doğrulayan sonuçlar elde edilmiştir. En yüksek bozunma

sıcaklığı (268 °C) ve kalıntı miktarı (%25,41) K-D75-P1 nanopartikülüne aitken, en düşük bozunma sıcaklığı (264 °C) ve kalıntı miktarının (%4,33) ise K-D50-P1 nanopartikülüne ait olduğu belirlenmiştir.

- Nanopartiküllerin toplam fenolik madde içeriğinin 3,67-9,57 mg GAE/g KM aralığında değiştiği tespit edilmiştir. En yüksek fenolik madde içeriğine sahip nanopartikülün K-D75-P2 olduğu belirlenirken, en düşüğün ise boş kitosan nanopartiküllerine ait olduğu belirlenmiştir. Uçucu yağ konsantrasyonunun artması ile fenolik madde içeriğinde artış gözlemlenmiştir.
- Antioksidan madde içeriği nanopartiküllerin DPPH ve ABTS radikallerine karşı antioksidan aktiviteleri incelendiğinde, DPPH için 2668-6394 µmol TE/g KM aralığında değişirken, ABTS için 3714-7289 µmol TE/g KM aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Uçucu yağ konsantrasyonu arttıkça antioksidan aktivite artmıştır. Partiküllerin ABTS radikal süpürme kapasitesi, DPPH radikal süpürme kapasitesinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerinin üretimi, kimyasal veya ısı kullanmadan gerçekleştirildiği için yeşil teknolojiye uygundur. Kitosan ve defne uçucu yağı, GRAS olarak kabul edilmektedir ve yüksek biyolojik aktiviteye sahiptir. Bu nedenle, üretilen nanopartiküllerin potansiyel doğal bir gıda katkı maddesi olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir. Bir sonraki aşamada, gıda ürünlerine uygulama çalışmaları yapılabilir. Defne uçucu yağı yüklü kitosan nanopartikülleri, gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmak, mikrobiyal kontaminasyonu önlemek ve besin değerini korumak gibi çeşitli faydalar sağlayabilir. Bu nanopartiküllerin et ve süt ürünleri, meyve ve sebzeler ve işlenmiş gıdalar gibi farklı gıda ürünlerine uygulanabilirliği araştırılabilir. Farklı uçucu yağlar, ekstraktlar, çözücüler ve işlem koşulları da denenerek nanopartiküllerin fizibilite ve etkileri araştırılmalıdır.

## 6. KAYNAKLAR

Abyadeh, M., Zarchi, A. A. K., Faramarzi, M. A. and Amani, A., "Evaluation of factors affecting size and size distribution of chitosan-electrosprayed nanoparticles", *Avicenna J. Med. Biotechnol.*, 9(3), 126, (2017).

Aceituno-Medina, M., Lopez-Rubio, A., Mendoza, S. and Lagaron, J. M., "Development of novel ultrathin structures based in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) protein isolate through electrospinning", *Food Hydrocolloids*, 31(2), 289-298, (2013).

Alehosseini, A., Ghorani, B., Sarabi-Jamab, M. and Tucker, N., "Principles of electrospaying: A new approach in protection of bioactive compounds in foods", *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 58(14), 2346-2363, (2018).

Anis, A., "Essential oils and chitosan based polymeric edible films and coatings as alternative to chemical preservatives", *Polym.-Plast. Technol. Mater.*, 61(10), 1130-1152, (2022).

Anton, F., U.S. Patent No. 1,975,504. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office, (1934).

Ardila, N., Ajji, Z., Heuzey, M. C. and Ajji, A., "Chitosan electrospaying: Mapping of process stability and micro and nanoparticle formation", *J. Aerosol Sci.*, 126, 85-98, (2018).

Assadpour, E. and Mahdi Jafari, S., "A systematic review on nanoencapsulation of food bioactive ingredients and nutraceuticals by various nanocarriers", *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 59(19), 3129-3151, (2019).

Awuchi, C. G., Morya, S., Dendegh, T. A., Okpala, C. O. R. and Korzeniowska, M., "Nanoencapsulation of food bioactive constituents and its associated processes: A revisit", *Bioresour. Technol. Rep.*, 19, 101088, (2022).

Bakry, A. M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M. Y., Mousa, A. and Liang, L., "Microencapsulation of oils: A comprehensive review of benefits, techniques, and applications", *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 15(1), 143-182, (2016).

Barzegar, M., Ghaderi Ghahfarokhi, M., Sahari, M. A. and Azizi, M. H., "Enhancement of thermal stability and antioxidant activity of thyme essential oil by encapsulation in chitosan nanoparticles", *J. Agric. Sci. Technol.*, 18(7), 1781-1792, (2016).

Bazana, M. T., Codevilla, C. F. and de Menezes, C. R., “Nanoencapsulation of bioactive compounds: Challenges and perspectives”, *Curr. Opin. Food Sci.*, 26, 47-56, (2019).

Bhushani, J. A., Kurrey, N. K. and Anandharamakrishnan, C., “Nanoencapsulation of green tea catechins by electrospraying technique and its effect on controlled release and in-vitro permeability”, *J. Food Eng.*, 199, 82-92, (2017).

Biduski, B., Kringel, D. H., Colussi, R., dos Santos Hackbart, H. C., Lim, L. T., Dias, A. R. G. and da Rosa Zavareze, E., “Electrosprayed octenyl succinic anhydride starch capsules for rosemary essential oil encapsulation” *Int. J. Biol. Macromol.*, 132, 300-307, (2019).

Boys, C. V., “On the production, properties, and some suggested uses of the finest threads”, *Proc. Phys. Soc. London*, 9(1), 8, (1887).

Cetinkaya, T., Mendes, A. C., Jacobsen, C., Ceylan, Z., Chronakis, I. S., Bean, S. R. and García-Moreno, P. J., “Development of kafirin-based nanocapsules by electrospraying for encapsulation of fish oil”, *Lwt*, 136, 110297, (2021).

Chahal, K. K., Kaur, M., Bhardwaj, U., Singla, N. and Kaur, A., “A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L. essential oil”, *J Pharmacogn Phytochem*, 6(4), 1153-1161, (2017).

Charles, A. P. R., Mu, R., Jin, T. Z., Li, D., Pan, Z., Rakshit, S. and Wu, Y., “Application of yellow mustard mucilage and starch in nanoencapsulation of thymol and carvacrol by emulsion electrospray”, *Carbohydr. Polym.*, 298, 120148, (2022).

Chaudhari, A. K., Das, S., Dwivedi, A. and Dubey, N. K., “Application of chitosan and other biopolymers based edible coatings containing essential oils as green and innovative strategy for preservation of perishable food products: A review”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 253, 127688, (2023).

Chaudhari, A. K., Singh, V. K., Das, S. and Dubey, N. K., “Nanoencapsulation of essential oils and their bioactive constituents: A novel strategy to control mycotoxin contamination in food system”, *Food Chem. Toxicol.*, 149, 112019, (2021).

Chelaru, C., Albu, M. G., Kaya, D. A., Meghea, A., Madalina, I., Öztürk, Ş. and Dinca, L., “Synthesis and characterisation of microcapsules based on

natural biopolymers and laurel essential oil”, *In The 5th International Conference on Advanced Materials and Systems*, (p. 165), (2014).

Coelho, S. C., Estevinho, B. N. and Rocha, F., “Encapsulation in food industry with emerging electrohydrodynamic techniques: Electrospinning and electrospraying—A review”, *Food Chem.*, 339, 127850, (2021).

Cooley, J. F., “Improved methods of and apparatus for electrically separating the relatively volatile liquid component from the component of relatively fixed substances of composite fluids”, *United Kingdom Patent*, 6385, 19, (1900).

Cooley, J. F., U.S. Patent No. 692,631. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office, (1902).

Das, S., Singh, V. K., Dwivedy, A. K., Chaudhari, A. K., Upadhyay, N., Singh, P. and Dubey, N. K., “Encapsulation in chitosan-based nanomatrix as an efficient green technology to boost the antimicrobial, antioxidant and in situ efficacy of *Coriandrum sativum* essential oil”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 133, 294-305, (2019).

de Souza, E. J. D., Kringel, D. H., Dias, A. R. G. and da Rosa Zavareze, E., “Polysaccharides as wall material for the encapsulation of essential oils by electrospun technique”, *Carbohydr. Polym.*, 265, 118068, (2021).

De Vrieze, S., Van Camp, T., Nelvig, A., Hagström, B., Westbroek, P. and De Clerck, K., “The effect of temperature and humidity on electrospinning”, *J. Mater. Sci.*, 44, 1357-1362, (2009).

Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N. and Mnif, W., “Essential oils’ chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review”, *Medicines*, 3(4), 25, (2016).

Dhiman, A., Suhag, R., Singh, A. and Prabhakar, P. K., “Mechanistic understanding and potential application of electrospraying in food processing: A review”, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 62(30), 8288-8306, (2022).

Divya, K. and Jisha, M. S., “Chitosan nanoparticles preparation and applications”, *Environ. Chem. Lett.*, 16, 101-112, (2018).

Dobroslavić, E., Repajić, M., Dragović-Uzelac, V. and Elez Garofulić, I., “Isolation of *Laurus nobilis* leaf polyphenols: A Review on current techniques and future perspectives”, *Foods*, 11(2), 235, (2022).

Drosou, C. G., Krokida, M. K. and Biliaderis, C. G., “Encapsulation of bioactive compounds through electrospinning/electrospraying and spray drying: A comparative assessment of food-related applications”, *Drying Technol.*, 35(2), 139-162, (2017).

Erarslan, A., Karakas, C. Y., Bozkurt, F. and Sagdic, O., “Enhanced antifungal activity of electrosprayed poly (vinyl alcohol)/chitosan nanospheres loaded with sage essential oil on the viability of *aspergillus niger* and *botrytis cinerea*”, *ChemistrySelect*, 8(21), e202300296, (2023).

Esmacili, A. and Asgari, A., “In vitro release and biological activities of *Carum copticum* essential oil (CEO) loaded chitosan nanoparticles”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 81, 283-290, (2015).

Fernández, N. J., Damiani, N., Podaza, E. A., Martucci, J. F., Fasce, D., Quiroz, F. and Gende, L. B., “*Laurus nobilis* L. extracts against *Paenibacillus larvae*: antimicrobial activity, antioxidant capacity, hygienic behavior and colony strength”, *Saudi J. Biol. Sci.*, 26(5), 906-912, (2019).

Feyzioglu, G. C. and Tornuk, F., “Development of chitosan nanoparticles loaded with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for antimicrobial and antioxidant delivery applications”, *Lwt*, 70, 104-110, (2016).

Ghayempour, S. and Mortazavi, S. M., “Antibacterial activity of peppermint fragrance micro–nanocapsules prepared with a new electrospraying method”, *J. Essent. Oil Res.*, 26(6), 492-498, (2016).

Ghorani, B., Alehosseini, A. and Tucker, N., *Nanocapsule formation by electrospinning*, In Nanoencapsulation technologies for the food and nutraceutical industries, Academic Press, (pp. 264-319), (2017).

Gibert, W., *On the magnet, magnetick bodies also, and on the great magnet the earth; a new Physiology, demonstrated by many arguments & experiments (De magnete)*, Latin, London: Facsimile of Peter Short, (1600).

Gómez-Estaca, J., Balaguer, M. P., Gavara, R. and Hernandez-Munoz, P., “Formation of zein nanoparticles by electrohydrodynamic atomization: Effect of the main processing variables and suitability for encapsulating the food coloring and active ingredient curcumin”, *Food Hydrocolloids*, 28(1), 82-91, (2012).

Gómez-Mascaraque, L. G. and Lopez-Rubio, A., *Production of food bioactive-loaded nanoparticles by electrospraying.*, In Nanoencapsulation of food ingredients by specialized equipment: Academic Press, (pp. 107-149), (2019).

Gómez-Mascaraque, L. G., Hernández-Rojas, M., Tarancón, P., Tenon, M., Feuillère, N., Ruiz, J. F. V. and López-Rubio, A., “Impact of microencapsulation within electrosprayed proteins on the formulation of green tea extract-enriched biscuits”, *LWT Food Sci. Technol.*, 81, 77-86, (2017).

Gómez-Mascaraque, L. G., Sanchez, G. and López-Rubio, A., “Impact of molecular weight on the formation of electrosprayed chitosan microcapsules as delivery vehicles for bioactive compounds”, *Carbohydr. Polym.*, 150, 121-130, (2016).

Grande-Tovar, C. D., Chaves-López, C., Serio, A., Rossi, C. and Paparella, A., “Chitosan coatings enriched with essential oils: Effects on fungi involved in fruit decay and mechanisms of action”, *Trends Food Sci. Technol.*, 78, 61-71, (2018).

Hadidi, M., Pouramin, S., Adinepour, F., Haghani, S. and Jafari, S. M., “Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities”, *Carbohydr. Polym.*, 236, 116075, (2020).

Haghi, A. K. and Akbari, M., “Trends in electrospinning of natural nanofibers”, *Phys. Status Solidi A*, 204(6), 1830-1834, (2007).

Hartman, R. P. A., Brunner, D. J., Camelot, D. M. A., Marijnissen, J. C. M. and Scarlett, B., “Electrohydrodynamic atomization in the cone-jet mode physical modeling of the liquid cone and jet”, *J. Aerosol Sci.*, 30(7), 823-849, (1999).

Hayati, I., Bailey, A. L. and Tadros, T. F., “Investigations into the mechanism of electrohydrodynamic spraying of liquids: II. mechanism of stable jet formation and electrical forces acting on a liquid cone”, *J. Colloid Interface Sci.*, 117(1), 222-230, (1987).

Hojatoleslami, M., Ahari, H., Larijani, K. and Sharifan, A., “Preservation effect of *Lippia citriodora* and *Laurus nobilis* nanoemulsions incorporated with polylactic acid composite film for rainbow trout fillet packaging”, *Food Sci. Technol.*, 42, e83921, (2022).

Hosseini, F., Miri, M. A., Najafi, M., Soleimanifard, S. and Aran, M., “Encapsulation of rosemary essential oil in zein by electrospinning technique”, *J. Food Sci.*, 86(9), 4070-4086, (2021).

Ibrahim, A., Moodley, D., Uche, C., Maboza, E., Olivier, A. and Petrik, L., “Antimicrobial and cytotoxic activity of electrosprayed chitosan nanoparticles against endodontic pathogens and Balb/c 3T3 fibroblast cells”, *Sci. Rep.*, 11(1), 24487, (2021).

Jafari, S. M. (Ed.), *Nanoencapsulation technologies for the food and nutraceutical industries*, Academic Press, (2017).

Jaworek, A., “Electrostatic micro- and nanoencapsulation and electroemulsification: a brief review”, *J. Microencapsulation*, 25(7), 443-468, (2008).

Jaworek, A. T. S. A. and Sobczyk, A. T., “Electrospraying route to nanotechnology: An overview”, *J. Electrostat.*, 66(3-4), 197-219, (2008).

Jayan, H., Leena, M. M., Sundari, S. S., Moses, J. A. and Anandharamakrishnan, C., “Improvement of bioavailability for resveratrol through encapsulation in zein using electrospraying technique”, *J. Funct. Foods*, 57, 417-424, (2019).

Jian, H. Y., Fridrikh, S. V. and Rutledge, G. C., “The role of elasticity in the formation of electrospun fibers”, *Polymer*, 47(13), 4789-4797, (2006).

Jugreet, B. S., Suroowan, S., Rengasamy, R. K. and Mahomoodally, M. F., “Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils”, *Trends Food Sci. Technol.*, 101, 89-105, (2020).

Kaboudi, Z., Peighambaroust, S. H., Nourbakhsh, H. and Soltanzadeh, M., “Nanoencapsulation of chavir (*Ferulago angulata*) essential oil in chitosan carrier: Investigating physicochemical, morphological, thermal, antimicrobial and release profile of obtained nanoparticles”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 237, 123963, (2023).

Karık, Ü., Çiçek, F., Tutar, M. ve Fırat, A. Y. A. S., “Türkiye defne (*Laurus nobilis* L.) populasyonlarının uçucu yağ bileşenleri”, *Anadolu ETAE*, 25(1), 1-16, (2015).

Karimi, A., Askari, G., Yarmand, M. S., Salami, M. and EmamDjomeh, Z., “Development, modification and characterization of ursolic acid-loaded gelatin nanoparticles through electrospraying technique”, *Food Bioprod. Process.*, 124, 329-341, (2020).

Khan, M. K. I., Schutyser, M. A., Schroën, K. and Boom, R., “The potential of electrospraying for hydrophobic film coating on foods”, *J. Food Eng.*, 108(3), 410-416, (2012).

Khoshakhlagh, K., Mohebbi, M., Koocheki, A. and Allafchian, A., “Encapsulation of D-limonene in *Alyssum homolocarpum* seed gum nanocapsules by emulsion electrospraying: Morphology characterization and stability assessment”, *Bioact. Carbohydr. Dietary Fibre*, 16, 43-52, (2018).

Khoshnoudi-Nia, S., Sharif, N. and Jafari, S. M., “Loading of phenolic compounds into electrospun nanofibers and electrosprayed nanoparticles”, *Trends Food Sci. Technol.*, 95, 59-74, (2020).

Kırtel, O., Avşar, G., Erkorkmaz, B. A. and Öner, E. T., *Microbial polysaccharides as food ingredients*, In *Microbial production of food ingredients and additives*: Academic Press, (pp. 347-383), (2017).

Kou, S. G., Peters, L. M. and Mucalo, M. R., “Chitosan: A review of sources and preparation methods”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 169, 85-94, (2021).

Kringel, D. H., Biduski, B., da Silva, W. M. F., Lim, L. T., Dias, A. R. G. and da Rosa Zavareze, E., “Electrospinning vs. electrospraying: a comparative assessment of the two techniques for orange essential oil encapsulation”, *Braz. J. Food Res.*, 11(2), 104-123, (2020).

Kulawik, P., Jamróz, E., Kruk, T., Szymkowiak, A., Tkaczewska, J., Krzyściak, P. and Milosavljević, V., “Active edible multi-layer chitosan/furcellaran micro/nanoemulsions with plant essential oils and antimicrobial peptides: Biological properties and consumer acceptance”, *Food Control*, 150, 109767, (2023).

Lammari, N., Louaer, O., Meniai, A. H. and Elaissari, A., “Encapsulation of essential oils via nanoprecipitation process: Overview, progress, challenges and prospects”, *Pharmaceutics*, 12(5), 431, (2020).

Lenetha, G. G., “A Brief Overview On The Essential Oils’ Encapsulation With Biodegradable Polymers”, *Nat. Vol. Essent. Oil*, 415-422, (2022).

Liao, W., Badri, W., Dumas, E., Ghnimi, S., Elaïssari, A., Saurel, R. and Gharsallaoui, A., “Nanoencapsulation of essential oils as natural food antimicrobial agents: an overview”, *Appl. Sci.*, 11(13), 5778, (2021).

Luo, C. J., Loh, S., Stride, E. and Edirisinghe, M., “Electrospraying and electrospinning of chocolate suspensions”, *Food Bioprocess Technol.*, 5, 2285-2300, (2012).

Minh, N. C., Van Hoa, N. and Trung, T. S., *Preparation, properties, and application of low-molecular-weight chitosan*, In Handbook of Chitin and Chitosan: Elsevier, (pp. 453-471), (2020).

Misharina, T. A. and Polshkov, A. N., “Antioxidant properties of essential oils: autoxidation of essential oils from laurel and fennel and of their mixtures with essential oil from coriander”, *Appl. Biochem. Microbiol.*, 41, 610-618, (2005).

Mohsenabadi, N., Rajaei, A., Tabatabaei, M. and Mohsenifar, A., “Physical and antimicrobial properties of starch-carboxy methyl cellulose film containing rosemary essential oils encapsulated in chitosan nanogel”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 112, 148-155, (2018).

Morton, W. J., U.S. Patent No. 705,691. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office, (1902).

Mujtaba, M., Morsi, R. E., Kerch, G., Elsabee, M. Z., Kaya, M., Labidi, J. and Khawar, K. M., “Current advancements in chitosan-based film production for food technology; A review”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 121, 889-904, (2019).

Nair, A., Mallya, R., Suvarna, V., Khan, T. A., Momin, M. and Omri, A., “Nanoparticles—Attractive carriers of antimicrobial essential oils”, *Antibiotics*, 11(1), 108, (2022).

Nazari, M., Majdi, H., Gholizadeh, P., Kafil, H. S., Hamishehkar, H., Zarchi, A. A. K. and Khoddami, A., “An eco-friendly chitosan/cellulose acetate hybrid nanostructure containing *Ziziphora clinopodioides* essential oils for active food packaging applications”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 235, 123885, (2023).

Neo, Y. P., Ray, S. and Perera, C. O., *Fabrication of functional electrospun nanostructures for food applications*, Role of materials science in food bioengineering, 109-146, (2018).

Nguyen, D. N., Clasen, C. and Van den Mooter, G., “Pharmaceutical applications of electrospraying”, *J. Pharm. Sci.*, 105(9), 2601-2620, (2016).

Niu, B., Shao, P., Luo, Y. and Sun, P., “Recent advances of electrosprayed particles as encapsulation systems of bioactives for food application”, *Food Hydrocolloids*, 99, 105376, (2020).

Noori, S. M. A. and Hossaeini Marashi, S. M., “Chitosan-based coatings and films incorporated with essential oils: applications in food models”, *J. Food Meas. Charact.*, 17(4), 4060-4072, (2023).

Oikonomopoulou, V., Stramarkou, M., Plakida, A. and Krokida, M., “Optimization of encapsulation of stevia glycosides through electrospraying and spray drying”, *Food Hydrocolloids*, 131, 107854, (2022).

Onsaard, E., Putthanimon, J., Singthong, J. and Thammarutwasik, P., “Oxidation stability of sesame oil encapsulated by spray drying”, *Int. Food Res. J.*, 25(2), 784-792, (2018).

Ordoudi, S. A., Papapostolou, M., Kokkini, S. and Tsimidou, M. Z., “Diagnostic potential of FT-IR fingerprinting in botanical origin evaluation of *Laurus nobilis* L. essential oil is supported by GC-FID-MS Data”, *Molecules*, 25(3), 583, (2020).

Ozcan, B., Esen, M., Sangun, M. K., Coleri, A. and Caliskan, M., “Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil”, *J. Environ. Biol.*, 31(5), 637-641, (2010).

Özkal, A. and Çallıoğlu, F. C., “Effect of nanofiber spinning duration on the sound absorption capacity of nonwovens produced from recycled polyethylene terephthalate fibers”, *Appl. Acoust.*, 169, 107468, (2020).

Özogul, Y., El Abed, N. and Özogul, F., “Antimicrobial effect of laurel essential oil nanoemulsion on food-borne pathogens and fish spoilage bacteria”, *Food Chem.*, 368, 130831, (2022).

Park, C. H. and Lee, J., “Electrosprayed polymer particles: effect of the solvent properties”, *J. Appl. Polym. Sci.*, 114(1), 430-437, (2009).

Pateiro, M., Gómez, B., Munekata, P. E., Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B. and Lorenzo, J. M., “Nanoencapsulation of promising bioactive compounds to improve their absorption, stability, functionality and the appearance of the final food products”, *Molecules*, 26(6), 1547, (2021).

Paula, H. C., Sombra, F. M., de Freitas Cavalcante, R., Abreu, F. O. and de Paula, R. C., “Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippia sidoides* essential oil”, *Mater. Sci. Eng., C*, 31(2), 173-178, (2011).

Pelipenko, J., Kristl, J., Janković, B., Baumgartner, S. and Kocbek, P., “The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers”, *Int. J. Pharm.*, 456(1), 125-134, (2013).

Pereira, S., Costa-Ribeiro, A., Teixeira, P., Rodríguez-Lorenzo, L., Prado, M., Cerqueira, M. A. and Garrido-Maestu, A., “Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan nanoparticles against *Listeria monocytogenes*”, *Polymers*, 15(18), 3759, (2023).

Pham, Q. P., Sharma, U. and Mikos, A. G., “Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: a review”, *Tissue Eng.*, 12(5), 1197-1211, (2006).

Pires, J. B., Fonseca, L. M., Siebeneichler, T. J., Crizel, R. L., Dos Santos, F. N., dos Santos Hackbart, H. C. and Dias, A. R. G., “Curcumin encapsulation in capsules and fibers of potato starch by electrospraying and electrospinning: Thermal resistance and antioxidant activity”, *Food Res. Int.*, 162, 112111, (2022).

Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C., Turcuş, V., Predoi, G. and Iordache, F., “Nanoencapsulation techniques for compounds and products with antioxidant and antimicrobial activity-A critical view”, *Eur. J. Med. Chem.*, 157, 1326-1345, (2018).

Queiroz, M. F., Teodosio Melo, K. R., Sabry, D. A., Sasaki, G. L. and Rocha, H. A. O., “Does the use of chitosan contribute to oxalate kidney stone formation?”, *Mar. Drugs*, 13(1), 141-158, (2014).

Rasteh, I., Pirnia, M., Miri, M. A. and Sarani, S., “Encapsulation of *Zataria multiflora* essential oil in electrosprayed zein microcapsules: Characterization and antimicrobial properties”, *Ind. Crops Prod.*, 208, 117794, (2024).

Rayleigh, L., “On the capillary phenomena of jets”, *Proc. R. Soc. London*, 29(196-199), 71-97, (1879).

Rayleigh, L., “XX. On the equilibrium of liquid conducting masses charged with electricity”, *The London, Edinburgh, and Dublin Philos. Mag. and J. Sci.*, 14(87), 184-186, (1882).

Reis, D. R., Ambrosi, A. and Di Luccio, M., “Encapsulated essential oils: A perspective in food preservation”, *Future Foods*, 5, 100126, (2022).

Reis, P. M. L., Mezzomo, N., Aguiar, G. P. S., Senna, E. M. T. L., Hense, H. and Ferreira, S. R., “Ultrasound-assisted emulsion of laurel leaves essential oil

(*Laurus nobilis L.*) encapsulated by SFEE”, *J. Supercrit. Fluids*, 147, 284-292, (2019).

Rezaei, A., Fathi, M. and Jafari, S. M., “Nanoencapsulation of hydrophobic and low-soluble food bioactive compounds within different nanocarriers”, *Food hydrocolloids*, 88, 146-162, (2019).

Ribeiro-Santos, R., Andrade, M. and Sanches-Silva, A., “Application of encapsulated essential oils as antimicrobial agents in food packaging”, *Curr. Opin. Food Sci.*, 14, 78-84, (2017).

Rodrigues, R. M., Ramos, P. E., Cerqueira, M. F., Teixeira, J. A., Vicente, A. A., Pastrana, L. M. and Cerqueira, M. A., “Electrosprayed whey protein-based nanocapsules for  $\beta$ -carotene encapsulation”, *Food Chem.*, 314, 126157, (2020).

Rostamabadi, H., Falsafi, S. R., Rostamabadi, M. M., Assadpour, E. and Jafari, S. M., “Electrospraying as a novel process for the synthesis of particles/nanoparticles loaded with poorly water-soluble bioactive molecules”, *Adv. Colloid Interface Sci.*, 290, 102384, (2021).

Rostami, M., Yousefi, M., Khezerlou, A., Mohammadi, M. A. and Jafari, S. M., “Application of different biopolymers for nanoencapsulation of antioxidants via electrohydrodynamic processes”, *Food Hydrocolloids*, 97, 105170, (2019).

Sagiri, S. S., Anis, A. and Pal, K., “Review on encapsulation of vegetable oils: strategies, preparation methods, and applications”, *Polym. Plast. Technol. Eng.*, 55(3), 291-311, (2016).

Sahani, S. and Sharma, Y. C., “Advancements in applications of nanotechnology in global food industry”, *Food Chem.*, 342, 128318, (2021).

Sahoo, M., Vishwakarma, S., Panigrahi, C. and Kumar, J., “Nanotechnology: Current applications and future scope in food”, *Food Front.*, 2(1), 3-22, (2021).

Schmatz, D. A., da Silveira Mastrantonio, D. J., Costa, J. A. V. and de Moraes, M. G., “Encapsulation of phycocyanin by electrospraying: A promising approach for the protection of sensitive compounds”, *Food Bioprod. Process.*, 119, 206-215, (2020).

Sethi, A., Ahmad, M., Huma, T., Khalid, I. and Ahmad, I., “Evaluation of low molecular weight cross linked chitosan nanoparticles, to enhance the bioavailability of 5-flourouracil”, *Dose-Response*, 19(2), 15593258211025353, (2021).

Shahbaz, U., Basharat, S., Javed, U., Bibi, A. and Yu, X. B., “Chitosan: a multipurpose polymer in food industry”, *Polym. Bull.*, 1-23, (2022).

Shemesh, R., Krepker, M., Nitzan, N., Vaxman, A. and Segal, E., “Active packaging containing encapsulated carvacrol for control of postharvest decay”, *Postharvest Biol. Technol.*, 118, 175-182, (2016).

Shenoy, S. L., Bates, W. D., Frisch, H. L. and Wnek, G. E., “Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: good solvent, non-specific polymer–polymer interaction limit”, *Polymer*, 46(10), 3372-3384, (2005).

Shetta, A., Kegere, J. and Mamdouh, W., “Comparative study of encapsulated peppermint and green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 126, 731-742, (2019).

Silvestre, W. P., Livinalli, N. F., Baldasso, C. and Tessaro, I. C., “Pervaporation in the separation of essential oil components: A review”, *Trends Food Sci. Technol.*, 93, 42-52, (2019).

Singh, A., Das, S., Chaudhari, A. K., Soni, M., Yadav, A., Dwivedy, A. K. and Dubey, N. K., “*Laurus nobilis* essential oil nanoemulsion-infused chitosan: a safe and effective antifungal agent for masticatory preservation”, *Plant Nano Biology*, 5, 100043, (2023).

Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R. M., “ Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent”, *Methods enzymol.*, 299, 152-178, (1999).

Soares, R. M., Siqueira, N. M., Prabhakaram, M. P. and Ramakrishna, S., “Electrospinning and electrospray of bio-based and natural polymers for biomaterials development”, *Mater. Sci. Eng., C*, 92, 969-982, (2018).

Soleimanifar, M., Jafari, S. M. and Assadpour, E., “Encapsulation of olive leaf phenolics within electrosprayed whey protein nanoparticles; production and characterization”, *Food Hydrocolloids*, 101, 105572, (2020).

Soleimanifar, M., Jafari, S. M., Assadpour, E. and Mirarab, A., “Electrosprayed whey protein nanocarriers containing natural phenolics; thermal and antioxidant properties, release behavior and stability”, *J. Food Eng.*, 307, 110644, (2021).

Soltanzadeh, M., Peighamardoust, S. H., Ghanbarzadeh, B., Amjadi, S., Mohammadi, M., Lorenzo, J. M. and Hamishehkar, H., “Active gelatin/cress seed gum-based films reinforced with chitosan nanoparticles encapsulating pomegranate peel extract: Preparation and characterization”, *Food Hydrocolloids*, 129, 107620, (2022).

Soltanzadeh, M., Peighamardoust, S. H., Ghanbarzadeh, B., Mohammadi, M. and Lorenzo, J. M., “Chitosan nanoparticles encapsulating lemongrass (*Cymbopogon commutatus*) essential oil: Physicochemical, structural, antimicrobial and in-vitro release properties”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 192, 1084-1097, (2021).

Suryani, S., Chaerunisaa, A. Y., Joni, I. M., Ruslin, R., Ramadhan, L. O. A. N., Wardhana, Y. W. and Sabarwati, S. H., “Production of low molecular weight chitosan using a combination of weak acid and ultrasonication methods”, *Polymers*, 14(16), 3417, (2022).

Taban, A., Saharkhiz, M. J. and Niakousari, M., “Sweet bay (*Laurus nobilis* L.) essential oil and its chemical composition, antioxidant activity and leaf micromorphology under different extraction methods”, *Sustainable Chem. Pharm.*, 9, 12-18, (2018).

Taouzinet, L., Djaoudene, O., Fatmi, S., Bouiche, C., Amrane-Abider, M., Bougherra, H. and Madani, K., “Trends of Nanoencapsulation Strategy for Natural Compounds in the Food Industry”, *Processes*, 11(5), 1459, (2023).

Taylor, G. I., “Disintegration of water drops in an electric field”, *Proc R Soc Lond A Math Phys Sci*, 280(1382), 383-397, (1964).

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. and Byrne, D. H., “Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts”, *J. Food Compos. Anal.*, 19(6-7), 669-675, (2006).

Tomadoni, B., Fabra, M. J., Méndez, D. A., Martínez-Abad, A. and López-Rubio, A., “Electrosprayed agar nanocapsules as edible carriers of bioactive compounds”, *Foods*, 11(14), 2093, (2022).

Vehapi, M., Yilmaz, A. and Özçimen, D., “Fabrication of oregano-olive oil loaded PVA/chitosan nanoparticles via electrospraying method”, *J. Nat. Fibers*, 18(9), 1359-1373, (2021).

Vonnegut, B. and Neubauer, R. L., “Production of monodisperse liquid particles by electrical atomization”, *J. Colloid Sci.*, 7(6), 616-622, (1952).

Wang, M., Rutledge, G. C., Myerson, A. S. and Trout, B. L., “Production and characterization of carbamazepine nanocrystals by electrospaying for continuous pharmaceutical manufacturing”, *J. Pharm. Sci.*, 101(3), 1178-1188, (2012).

Wang, P., Ding, M., Zhang, T., Wu, T., Qiao, R., Zhang, F. and Zhong, J., “Electrospaying technique and its recent application advances for biological macromolecule encapsulation of food bioactive substances”, *Food Rev. Int.*, 38(4), 566-588, (2022).

Wu, Z., Zhou, W., Pang, C., Deng, W., Xu, C. and Wang, X., “Multifunctional chitosan-based coating with liposomes containing laurel essential oils and nanosilver for pork preservation”, *Food Chem.*, 295, 16-25, (2019).

Xie, J. and Wang, C. H., “Electrospray in the dripping mode for cell microencapsulation”, *J. Colloid Interface Sci.*, 312(2), 247-255, (2007).

Yang, Y., Aghbashlo, M., Gupta, V. K., Amiri, H., Pan, J., Tabatabaei, M. and Rajaei, A., “Chitosan nanocarriers containing essential oils as a green strategy to improve the functional properties of chitosan: A review”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 236, 123954, (2023).

Yao, C., Li, X. and Song, T., “Electrospinning and crosslinking of zein nanofiber mats”, *J. Appl. Polym. Sci.*, 103(1), 380-385, (2007).

Yilmaz, A. ve Çiftçi, V., “Türkiye’de defne (*Laurus nobilis L.*) bitkisinin durumu”, *EJOSAT*, (22), 325-330, (2021).

Yilmaz, M. T., Yilmaz, A., Akman, P. K., Bozkurt, F., Dertli, E., Basahel, A. and Sagdic, O., “Electrospaying method for fabrication of essential oil loaded-chitosan nanoparticle delivery systems characterized by molecular, thermal, morphological and antifungal properties”, *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 52, 166-178, (2019).

Zamani, M., Prabhakaran, M. P. and Ramakrishna, S., “Advances in drug delivery via electrospun and electrospayed nanomaterials”, *Int. J. Nanomed.*, 2997-3017, (2013).

Zambak, Ö., “Bitkisel Ekstraktlı Nanoliflerin Elektro-Eğirme Yöntemi İle Üretimi ve Sosis Kaplamada Kullanımı”, Doktora, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Denizli, (2023).

Zarenezhad, E., Ranjbar, N., Firooziyan, S., Ghoorkhanian, M. and Osanloo, M., “Promising larvicidal effects of chitosan nanoparticles containing *Laurus nobilis* and *Trachyspermum ammi* essential oils against *Anopheles stephensi*”, *Int. J. Trop. Insect Sci.*, 42(1), 895-904, (2022).

Zhang, S. and Kawakami, K., “One-step preparation of chitosan solid nanoparticles by electrospray deposition”, *Int. J. Pharm.*, 397(1-2), 211-217, (2010).

Zhu, Y., Li, C., Cui, H. and Lin, L., “Encapsulation strategies to enhance the antibacterial properties of essential oils in food system”, *Food Control*, 123, 107856, (2021).





# **EKLER**

## 7. EKLER

### EK A Nanopartikül Üretimi Ön Deneme Koşulları

**Tablo 7.7:** %50 (w/w) asetik asit - %1,5 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait koşul denemeleri

Voltaj (kV)	Mesafe (cm)	Akış Hızı (mL/h)	Sıcaklık/Bağıl nem	Sonuç
10-18	18	0,1-0,3	17 °C - %36	Başarısız
10-18	14	0,1-0,2	17 °C - %36	Başarısız
10-18	10	0,1-0,2	17 °C - %36	Başarısız
10-18	20	0,1	17 °C - %33	Başarısız
10-18	17	0,1	17 °C - %33	Başarısız
10-18	15	0,1	17 °C - %33	Başarısız
10-18	12	0,1	17 °C - %33	Başarısız
10-18	9	0,1	17 °C - %33	Başarısız

**Tablo 7.8:** %50 (w/w) asetik asit - %2 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait koşul denemeleri

Voltaj (kV)	Mesafe (cm)	Akış Hızı (mL/h)	Sıcaklık/Bağıl nem	Sonuç
10-18	18	0,1-0,5	17 °C - %34	Başarısız
10-18	15	0,1-0,5	17 °C - %34	Başarısız
10-18	12	0,1-0,5	17 °C - %34	Başarısız
10-18	9	0,1-0,5	17 °C - %34	Başarısız

**Tablo 7.9:** %50 (w/w) asetik asit - %1 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait koşul denemeleri

Voltaj (kV)	Mesafe (cm)	Akış hızı (mL/h)	Sıcaklık/Bağıl Nem	Sonuç
10-17	10	0,1	23 °C - %37	Başarısız
10-18	10	0,2-0,3	23 °C - %37	Başarısız
10-17	11	0,1	23 °C - %38	Başarısız
15-18	11	0,2 - 0,3	23 °C - %38	Başarısız
10-17	12	0,1	24 °C - %37	Başarısız
18	12	0,1	24 °C - %37	Başarılı
10-18	12	0,2 - 0,3	24 °C - %37	Başarısız
10-17	13	0,1	24 °C - %37	Başarısız
10-18	13	0,2 - 0,3	24 °C - %37	Başarısız
10-18	14	0,1	24 °C - %37	Başarısız
10-18	14	0,2 - 0,3	24 °C - %37	Başarısız
10-18	15	0,1	24 °C - %37	Başarısız
10-18	15	0,2 - 0,3	24 °C - %37	Başarısız
15-18	16	0,1	24 °C - %37	Başarısız
18	16	0,2	24 °C - %37	Başarısız
15-17	17	0,1	24 °C - %37	Başarısız
15-18	18	0,1	24 °C - %38	Başarısız

18	18	0,2	24 °C - %38	Başarısız
15-18	20	0,1	24 °C - %38	Başarısız

**Tablo 7.10:** %30 (w/w) asetik asit - %1 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait koşul denemeleri

<b>Voltaj (kV)</b>	<b>Mesafe (cm)</b>	<b>Akış hızı (mL/h)</b>	<b>Sıcaklık/Bağıl Nem</b>	<b>Üretim Durumu</b>
10-18	10	0,1	23 °C - %35	Başarısız
10-18	11	0,1	23 °C - %35	Başarısız
10-18	12	0,1	23 °C - %35	Başarısız
10-18	13	0,1	23 °C - %35	Başarısız
10-18	14	0,1	23 °C - %35	Başarısız
10-18	15	0,1	24 °C - %34	Başarısız
10-18	16	0,1	24 °C - %34	Başarısız
10-18	17	0,1	24 °C - %34	Başarısız
10-18	18	0,1	24 °C - %34	Başarısız
16-18	20	0,1	24 °C - %34	Başarısız

**Tablo 7.11:** %90 (w/w) asetik asit - %1 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait koşul denemeleri

<b>Voltaj (kV)</b>	<b>Mesafe (cm)</b>	<b>Akış hızı (mL/h)</b>	<b>Sıcaklık/Bağıl Nem</b>	<b>Sonuç</b>
10-15	10	0,1	22 °C - %40	Başarısız
10-15	10	0,2	22 °C - %40	Başarısız
10-16	10	0,3	22 °C - %40	Başarısız
10-15	12	0,1	22 °C - %40	Başarısız
10-16	12	0,2	23 °C - %39	Başarısız
10-17	12	0,3	23 °C - %39	Başarısız
10-18	14	0,1	23 °C - %39	Başarısız
10-18	14	0,2	23 °C - %39	Başarısız
16-18	14	0,3	23 °C - %39	Başarısız
10-14	16	0,1	23 °C - %39	Başarısız

**Tablo 7.12:** %70 (w/w) asetik asit - %1 (w/w) kitosan konsantrasyonlarına ait koşul denemeleri

<b>Voltaj (kV)</b>	<b>Mesafe (cm)</b>	<b>Akış hızı (mL/h)</b>	<b>Sıcaklık/Bağıl Nem</b>	<b>Sonuç</b>
10-12	10	0,1	23 °C - %34	Başarısız
12-14	10	0,2	23 °C - %34	Başarısız
10-12	11	0,1	23 °C - %35	Başarısız
14	11	0,2	23 °C - %35	Başarısız
14-16	11	0,3	23 °C - %35	Başarısız
10-13	12	0,1	23 °C - %34	Başarısız
14-15	12	0,1	23 °C - %34	Başarılı
16	12	0,3	23 °C - %34	Başarısız
18	12	0,4	23 °C - %34	Başarısız
10-13	13	0,1	23 °C - %35	Başarısız
15-18	13	0,2	23 °C - %35	Başarısız
18	13	0,3	23 °C - %35	Başarısız
10-13	14	0,1	23 °C - %33	Başarısız
15-16	14	0,3	23 °C - %33	Başarısız
10-14	15	0,1	23 °C - %35	Başarısız
15-16	15	0,1	23 °C - %35	Başarılı
10-15	15	0,2	24 °C - %33	Başarısız
13-17	15	0,3	24 °C - %33	Başarısız
13-18	15	0,4	24 °C - %33	Başarısız
10-13	16	0,1	23 °C - %34	Başarısız
14-15	16	0,2	23 °C - %34	Başarısız
17-18	16	0,3	23 °C - %34	Başarısız
10-15	17	0,1	24 °C - %34	Başarısız
17-18	17	0,2	24 °C - %34	Başarısız
10-16	18	0,1	23 °C - %34	Başarısız
10-18	18	0,2	23 °C - %34	Başarısız
15-18	18	0,3	23 °C - %34	Başarısız
10-16	19	0,1	24 °C - %33	Başarısız
18	19	0,2	24 °C - %33	Başarısız
10-17	20	0,1	23 °C - %34	Başarısız
18	20	0,2	23 °C - %34	Başarısız