



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

D VİTAMİNİNİN ENKAPSÜLASYONUNDA
***CEDRUS LIBANI* POLENLERİ, KİTOSAN VE**
ALJİNAT MİKROKAPSÜL SİSTEMİNİN
KULLANILMASI

Gölnur DUYSAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyokimya Anabilim Dalı

Eylöl-2023
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Glnur DUYSAK tarafından hazırlanan “D Vitamininin Enkapslasyonunda *Cedrus Libani* Polenleri, Kitosan ve Aljinat Mikrokapsül Sisteminin Kullanılması” isimli tez çalışması 06/09/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliğı / oy okluğı ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri yeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Glřin ARSLAN

.....

Danışman

Doç. Dr. İdris SARGIN

.....

ye

Doç. Dr. Talat BARAN

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ömer Faruk YÜKSEL
FBE Müdürü

Bu tez alışması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatrlğı tarafından 23201018 numaralı proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tez içerisindeki yapılan tüm çalışmalar etik davranış ve akademik kurallar içerisinde elde edilmiştir. Tez yazım kuralları dikkate alınarak hazırlanan bu çalışmamda bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

All activities carried out in this thesis have been achieved within ethical behavior and academic rules. In this study, the basic principles of thesis writing rules are my complete perspective on all data sources that do not belong to me.

Gülnur DUYSAK

06.09.2023

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

D VİTAMİNİNİN ENKAPSÜLASYONUNDA CEDRUS LİBANİ POLENLERİ, KİTOSAN VE ALJİNAT MİKROKAPSÜL SİSTEMİNİN KULLANILMASI

Gülnur DUYSAK

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İdris SARGIN

2023, 65 Sayfa

Doç. Dr. İdris SARGIN
Prof. Dr. Gülşin ARSLAN
Doç. Dr. Talat BARAN

Güneş ışığına maruz kalmanın yetersiz olması veya besin yoluyla vitaminin eksik alınması ile D vitamini yetersizliği küresel bir sorun olmaya devam etmektedir. Oluşan bu küresel sorun halk sağlığı için önem arz etmekte ve problemin çözümü için araştırmalar devam etmektedir. Sporopollenin eksin mikrokapsülleri polenlerin dış kabuğundan ekstrakte edilen mikrokapsüllerdir. Sporopolleninin kararlılığı, toksik olmamaları, boyutları sebebiyle ilaç kapsüllemelerinde kullanılabilen biyolojik bir malzemedir. Kitosan yenilebilir bir polisakkarittir ve doğal biyopolimer olarak bilinir. Özellikleri sayesinde birçok farklı sektörde kullanım alanı olduğu görülmüştür. Aljinat poliüronik bir polisakkarit olmakla birlikte düşük maliyetli, biyouyumlu ve parçalanabilir bir polimer olarak bilinmektedir. Bu çalışmada, *Cedrus libani* polenlerinden ekstrakte edilen sporopollenin eksin mikrokapsülleri kullanılarak D vitamini (D₂ ve D₃ vitamini) mikrokapsüle edilmiş bir formu oluşturulmuştur. D₂ (ergokalsiferol) ve D₃ (kolekalsiferol) vitamini, insan vücudunda önemli bir işleve sahiptir. D vitamini eksin mikrokapsüllere yüklendikten sonra, yenilebilir, biyouyumlu, mukoadeziv özellikte bir polisakkarit olan kitosan ve aljinat (E401 kodlu gıda katkı ajanı) ile mikrokapsüllerin kaplaması yapılmıştır. Eksin mikrokapsüller mikrodalga ısıma destekli kimyasal yöntemle ekstrakte edilmiş ve eksin yapılarının yapısal ve morfolojik incelemesi FT-IR, TGA, SEM ve SEM-EDX analizleriyle yapılmıştır. Etanol ortamında D vitamini eksin mikrokapsüllere yüklendikten sonra kalsiyum klorür çözelti ortamında aljinat maktriği içine immobilize edilmiştir. Bu şekilde oluşturulan mikrokapsüller ince kitosan tabaka ile kaplandıktan sonra zamana ve sıcaklığa bağlı D vitamini salınım performansları incelenmiştir. D vitamini moleküllerinin kitosan ve aljinat içinde enkapsüle edilmesi; enkapsülasyon matrisinin bozucu çevresel şartlara karşı bir bariyer oluşturması ve böylelikle D vitamini biyolojik aktivite kaybının önlenmesi, D vitamini diyet katkılarının saklama, depolama ve pazarlama koşullarının iyileştirilmesine katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Aljinat, *Cedrus Libani*, D₂ vitamini, D₃ vitamini, eksin, kitosan, mikrokapsülasyon

ABSTRACT

MS THESIS USING CEDRUS LIBANI POLENS, KITOSAN AND ALGINAT MICROCAPSULE SYSTEM IN ENCAPSULATION OF VITAMIN D

Gölnur DUYSAK

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN BIOCHEMİSTRY**

Advisor: Assoc. Prof. Dr. İdris SARGIN

2023, 65 Pages

**Jury
Assoc. Prof. Dr. İdris SARGIN
Prof. Dr. Gölşin ARSLAN
Assoc. Prof. Dr. Talat BARAN**

With insufficient exposure to sunlight or a deficiency of the vitamin through food, vitamin D deficiency remains a global problem. This global problem is important for public health and continues to be investigated for the solution of the problem. Exine microcapsules of sporopollenin are microcapsules extracted from the outer shell of pollen. Sporopollenin is a biological material that is determined in drug encapsulations with its stability, non-toxicity and size indicator. Chitosan is an edible polysaccharide and is known as a natural biopolymer. Thanks to its features, there are many different product usage areas. Alginate is known as a low strength, biocompatible and degradable polymer with a polyuronic polysaccharide. This is possible. A microencapsulated formula of vitamin D (vitamins D2 and D3) has been created using sporopollenin exine microcapsules extracted from the pollen of *Cedrus libani*. Vitamins D2 (ergocalciferol) and D3 (cholecalciferol) have an important function in the human body. After the vitamin D exine was loaded into microcapsules, the microcapsules were coated with chitosan and alginate (food additive coded E401), an edible, biocompatible, mucoadhesive polysaccharide. Structural and morphological examination of exine microcapsules, microwave irradiation supported, extracted and exine structures were performed by FT-IR, TGA, SEM and SEM-EDX analyzes. After the vitamin D excine in ethanol medium was loaded into microcapsules, it was immobilized into matrices in calcium solution medium. In this way, after the microcapsules are coated with a thin chitosan layer, time and temperature dependent vitamin D release performance properties. Encapsulation of vitamin D molecules in chitosan and alginate; The formation and emergence of a barrier against growth factors of the encapsulation matrix may contribute to the prevention of biological activity loss of vitamin D, the preservation, storage and marketing of vitamin D dietary supplements.

Keywords: Alginate, *Cedrus Libani*, vitamin D₂, vitamin D₃, exine, chitosan, microencapsulation

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmalarım boyunca yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen değerli danışmanım sayın Doç. Dr. İdris SARGIN'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmamda desteklerini esirgemeyen 2. danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Egemen FOTO'ya teşekkür ederim.

Tezimi ve deneylerimi geliştirmemde yardımcı dokunan, bilgilerini esirgemeyen ve desteleyen Prof. Dr. Gülşin ARSLAN'a çok teşekkür ederim.

Son olarak daima yanımda olan desteklerini, sevgilerini ve varlıklarını esirgemeyen, bugünlere gelmemde maddi ve manevi bana en büyük desteği sunan annem Fatma DUYSAK'a ve babam Hüseyin DUYSAK'a ayrıca teşekkür ederim.

Gülnur DUYSAK
KONYA-2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. D Vitamini	1
1.1.1. D vitamini sentezi	1
1.1.1.2. D vitamini sentezini etkileyen faktörler.....	2
1.1.3. D vitamini kaynakları	3
1.1.4. D ₂ ve D ₃ vitamini.....	3
1.1.5. D vitamini yetersizliği	4
1.1.5.1. D vitamini yetersizliği için risk faktörleri ve prevalansı	4
1.1.5.1. D vitamini yetersizliği ile ilgili olumsuz sonuçlar.....	5
1.1.5.2. D vitamini yetersizliğinin klinik, radyolojik ve biyokimyasal bulguları.....	7
1.2. Obezite	9
1.2.1. Obezitenin etiyolojisi	10
1.2.2. Obezitenin patofizyolojisi.....	11
1.3. Obezite ve D vitamini	14
1.4. D vitamini ve obezite ilişkisinin mekanizması	14
1.4.1. Obez bireylerde D vitamini eksikliğinin nedenleri.....	16
1.5. Kitosan	17
1.5. Kitin ve kitosan kaynakları	17
1.5.1. Kitosanın üretimi	17
1.5.2. Kitosanın çözünürlüğü.....	18
1.5.3. Kitosanın kullanım alanları.....	18
1.5.3.1. Biyouyumluluk ve biyobozunurluk özelliği	18
1.5.3.2. Biyoyapışkanlık özelliği.....	19
1.5.3.2. Antimikrobiyal özelliği.....	20
1.5.3.3. Yenilebilir film olarak kullanımı	20
1.6. Kitosan ve D vitamini	21
1.7. Polen	22
1.8. Sporopollenin.....	22
1.9. <i>Cedrus libani</i>	24
1.10. Aljinat	25
1.10.2. Aljinatın özellikleri	26
1.10.2.1. Çözünürlük.....	26
1.10.2.2. Seçici iyon bağlama	26

1.11. Mikroenkapsülasyon.....	27
1.11.1. Enkapsülasyon ve mikroenkapsülasyon	27
1.11.2. Gıda endüstrisinde mikroenkapsülasyon	27
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	28
2.1. Kullanılan Cihazlar ve Kullanım Amaçları	28
2.2. Kullanılan Sarf Malzemeler	29
2.3. <i>C. libani</i> polenlerinin temini	29
2.4. <i>C. libani</i> polenlerinden eksin mikrokapsüllerinin eldesi	29
2.5. Ekstrakte edilen eksin mikrokapsüllere D vitamini moleküllerinin yüklenmesi ve vitamin yükleme verimlerinin hesaplanması	31
2.6. D vitamini yüklenmiş sporopollenin eksin mikrokapsüllerin aljinat ve kitosanla kaplanması	32
2.7. D vitamini-eksin mikrokapsül-aljinat-kitosan sisteminin salınım şartlarının belirlenmesi.....	35
3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	36
3.1. Eksin Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu	36
3.2. Mikrokapsüllerden D ₂ veya D ₃ vitamini salınımı.....	44
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	48
4.1 Sonuçlar	48
4.2 Öneriler	48
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	56

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

% : Yüzde
°C : Santigrat Derece
g : Gram
dk : Dakika
mg : Miligram
nm : Nanometre
cm : Santimetre
mL : Mililitre

Kısaltmalar

7-DHC : 7-dehidrokolesterol
BKİ : Beden Kitle İndeksi
POMC : Proopiomelanokortin

1. GİRİŞ

1.1. D Vitamini

Vitamin, bir organizmanın metabolik faaliyetlerini düzenli bir şekilde yürütebilmesi için gerekli olan, temel bir mikro besindir (AVŞAR ve ŞAHİNER, 2020). D vitamini ise sağlık açısından önem arz eden, hormona benzeyen fonksiyonları olan yağda çözünen bir vitamindir. D vitamini böbrek, kemik, ince bağırsak aracılığıyla kalsiyum ve fosfor metabolizmasını düzenler (Erbay ve ark., 2019). En önemli etkisi kalsiyum metabolizması ve kemik sağlığı üzerine olmakla birlikte, vücutta bulunan birçok sistemi etkiler ve birçok hücrel ve metabolik döngüde yer alır (Doğan, 2021). Aynı zamanda otoimmün hastalıklar, alerji, kanser, Tip 1 diyabet (DM), depresyon, kardiyovasküler hastalıklar, gebelik komplikasyonları gibi birçok hastalık üzerinde de önemli etkileri bulunmaktadır (AVŞAR ve ŞAHİNER, 2020).

D vitamini reseptörü (VDR) vücutta çoğu doku ve hücrede bulunur (Chlebowski ve ark., 2012; Nair ve Maseeh, 2012). $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, hücre proliferasyonunu inhibe etme ve terminal farklılaşmayı indüklemeye, anjiyogenezi inhibe etme gibi çok çeşitli biyolojik etkilere sahiptir. İnsülin üretimini uyarır, renin üretimini engeller ve makrofaj katelisinin üretimini uyarır (Stolzenberg-Solomon ve ark., 2009; Chlebowski ve ark., 2012; Nair ve Maseeh, 2012). Ayrıca $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'nin yerel üretimi, D vitamini için bildirilen pleiotropik sağlık yararlarının birçoğunu kolaylaştırabilen 200'e kadar genin düzenlenmesinden sorumludur (Young ve ark., 1997; Medicine, 1999; Chlebowski ve ark., 2008; Nair ve Maseeh, 2012; Choo ve ark., 2020).

1.1.1. D vitamini sentezi

D vitamini bir prohormon olup bitkilerde ergokalsiferol hayvanlarda ise kolekalsiferol olarak bulunmaktadır. Kolekalsiferol insan vücudunda 7-dehidrokolesterolden (7-DHC) sentez edilir ve 7-DHC en fazla bulunduğu yer cilt olarak bilinmektedir (Çimen ve Çimen, 2016; AVŞAR ve ŞAHİNER, 2020). 7-DHC 290–315 nm dalga boyunda UV-B güneş ışınlarına maruz kalarak, fotokimyasal dönüşümü yardımıyla kolekalsiferol oluşturabilmektedir (Çimen ve Çimen, 2016).

D vitamini molekülleri hidrofobiktirler ve kan dolaşımında D vitamini bağlayıcı proteine (VDBP) bağlanırlar. VDBP'ye bağlanan D vitamini molekülleri dolaşımdaki D vitamini moleküllerinin %85-90'ını oluşturur. %10-15'lik kısmı ise albümine gevşek olarak bağlanır. VDBP'ye bağlı olmayan bu serbest kısım, serbest D vitamini olarak

tanımlanır. Bu fark serum D vitamini düzeyinin doğru belirlenmesinde önemli bir ölçüttür (BALCI ve TOKTAŞ; Çimen ve Çimen, 2016).

D₃ vitaminin sentezi birkaç aşamada gerçekleşmektedir. Önce 7-dehidrokolesterol güneş ışığının etkisi ile deride öncü D vitaminine dönüşmekte daha sonra kolekalsiferol oluşturmaktadır ancak oluşan kolekalsiferol aktif değildir. Kolekalsiferolün aktifleşebilmesi için ilk olarak karaciğerde 25-hidroksilaz enzimi ile 25-hidroksikolekalsiferole 25(OH)D dönüştürülmesi gerekir (Şekil 1.1). Buna vücutta vitamin deposu şekli de denilmektedir. İkinci aşamada ise böbreklerde 1 α -hidroksilaz enzimi aracılığıyla 1,25 dihidroksikolekalsiferole 1,25(OH)₂D dönüştürülmesidir. Bu da D vitamininin aktif formu olarak bilinir (BALCI ve TOKTAS; ÖZYİĞİTOĞLU, 2020)

süre, deride prekürsör 7-dehidrokolesterol varlığı gibi birçok faktör D vitaminin dermal sentezini etkilediği görülmektedir. Yeterince ultraviyole ışının alınmaması ve bu ışınların deriyle temasının engellenmesi D vitamininin yetersiz sentezlenmesine neden olmaktadır (TERLİ ve ark., 2019).

1.1.3. D vitamini kaynakları

Bazı gıdalar yeterince D vitamini içerir. Bu gıdalara daha çok yüksek yağ oranına sahip balık türleri örnek verilebilir. Özellikle sardalye, alabalık (somon), ringa, uskumru ve morina balık türleri sayılabilir. Balık türleri dışında diğer önemli D vitamini kaynakları et, süt ve yumurtadır. D vitamini ısıya ve pişirilmeye dayanıklı bir vitamindir ve gıdalarda düşük miktarlarda bulunur ve bu yüzden eksikliği çok görülür. Bu nedenle gıdaların D vitaminince zenginleştirilmesi ve takviyeler yapılması gerekmektedir (Tarakçı ve Dervişoğlu).

Mayalar ve mantarlar da yüksek miktarda ergosterol içerir ve güneş ışığına maruz kaldıklarında D₂ vitamini ürettikleri görülmektedir (ÖZYİĞİTOĞLU, 2020).

1.1.4. D₂ ve D₃ vitamini

D₂ ve D₃ vitaminlerinin kimyasal yapıları benzerdir ancak aynı değildir. D₃ vitamini ek bir çift bağa ve metil grubuna sahiptir ve bu farklı yapının D₃ vitamininin D vitamini metabolizmasının çeşitli aşamalarında tercih edilen substrat olmasından kaynaklanmaktadır (Holmberg ve ark., 1986; Cheng ve ark., 2004).

Kaynağından bağımsız olarak D₂ ve D₃ vitaminlerinin her ikisi de venöz dolaşım sisteminden iki aşamalı bir hidroksilasyon işlemi olan aynı metabolizma sürecine girer. İlk olarak D₂ ve D₃ vitaminleri, D vitamini bağlayıcı protein tarafından karaciğere taşınır ve burada 25-hidroksilazın etkisiyle sıra ile 25(OH)D₂ ve 25(OH)D₃'e dönüştürülür. Bunlar daha sonra yine D vitamini bağlayıcı protein tarafından böbreklere taşınır ve burada 1- α -hidroksilazların etkisiyle D vitamininin aktif formu dediğimiz (1,25(OH)₂D) dönüştürülür (Holmberg ve ark., 1986; Cheng ve ark., 2004). D vitamininin iki formunun yan zincirlerindeki farklılıkların karaciğerde D vitamini hidroksilasyonu oranını doğrudan etkilediğini öne süren veriler vardır ve D₃ vitamininin hepatik 25-hidroksilaz için tercih edilen substrat olduğu düşünülmektedir (Holmberg ve ark., 1986; Cheng ve ark., 2004). D₃ vitamini ve metabolitleri ayrıca D vitamini bağlayıcı proteine D₂ vitamininden daha yüksek bağlanma afinitesine sahiptir (Houghton ve Vieth, 2006).

D vitamininin iki formu arasındaki bu metabolik farklılıklara ek olarak, D₃ vitamininin degradasyonu, D₂ vitaminininkine ilave bir adım işlem gerektirir, bu da D₂ vitamininin degradasyon oranının D₃ vitamininin degradasyon oranından daha yüksek olabileceğini düşündürür (Horst ve ark., 1986).

Sonuç olarak, 25(OH)D konsantrasyonlarını yükseltmede ve sürdürmede D₃ vitamininin D₂ vitamininden daha büyük bir kapasiteye sahip olabileceği kanıtlanmıştır (Houghton ve Vieth, 2006).

1.1.5. D vitamini yetersizliği

Şehirleşme ile birlikte güneş ışığından yeterince faydalanmamak günümüzde D vitamini eksiliğinin önemli problemleri arasında yer almaktadır. Kapalı giyinme, güneş koruyucu kem ve spreyleerin aşırı kullanımı, ulaşım için yürümenin tercih edilmeyip daha çok otomobil veya toplu taşıma araçlarının kullanılması D vitamini eksikliğine neden olmaktadır (TERLİ ve ark., 2019).

Besinlerden alınan D vitamini alımının yetersiz miktarda olması ve böbrek rahatsızlıklarında D vitaminin aktif hale dönüştürecek mekanizmanın bozulması, karaciğer hastalıklarında vitaminin dönüştürülememesi eksikliğin başlıca sebepleri olarak gösterilebilir. Pankreas enzimlerinde oluşan eksiklik, çeşitli obezite tedavisinde kullanılan zayıflama ve bağırsak ameliyatları da D vitamini emilimini bozabildiği görülmüştür. Kullanılan epilepsi ilaçları da D vitamini yetersizliğine neden olabildiği görülmektedir (TERLİ ve ark., 2019).

D vitamini eksikliği sonucunda bazı hastalıklar görülebilir. Bu eksikliklere; rikets, bebeklerde fontanellerin geç kapanması, astım, bazı otoimmün hastalıklar, alerji, kardiyovasküler hastalıklar ve mental hastalıkların oluşması gibi pek çok sağlık sorunu örnek olarak verilebilir (Erbay ve ark., 2019).

D vitamini yetersizliği veya eksikliği yönünden yüksek risk taşıyanlara; yaşlılar, gebeler ve çocuklar gibi güneş ışığını sınırlı alanlar örnek olarak verilebilir. D vitamini eksikliğinin belirtilerinin, yaşa, eksikliğin ve yetersizliğin şiddetine bağlı olarak değişebildiği görülmektedir (Ersoy ve Ersoy, 2017).

1.1.5.1. D vitamini yetersizliği için risk faktörleri ve prevelansı

D vitamini eksikliği için risk faktörleri, erken ve olgunlaşmamış doğum, pigmentli cilt, düşük güneş ışığına maruz kalma, obezite, malabsorpsiyon ve ileri yaştır, çünkü yaşlı cilt genç insanlara göre çok daha az D vitamini üretir. D vitamini eksikliği, yaşlılarda

yetişkinlere göre özellikle huzurevinde kalan hastalarda ve kalça kırığı olan hastalarda daha yüksektir (Lips, 2001). D vitamini eksikliği prevalansı Avrupa'da Asya, Avustralya veya ABD'ye göre çok daha yüksektir. Avrupa'da, serum 25(OH)D, beklenenin aksine, enlem ile pozitif olarak ilişkilidir (Lips ve ark., 2001). En yüksek serum 25(OH)D düzeyleri İskandinav ülkelerinde gözlenirken en düşük düzeyler Güney Avrupa'da bulunmuştur. Bunun nedeni kuzey ülkelerinde yüksek güneş maruziyeti, açık ten ve multivitamin kullanımı olabilirken, Akdeniz ülkelerinde gölge arama davranışı ve koyu ten daha yaygındır. D vitamini eksikliği yaşlılarda, özellikle bakımevinde kalanlarda %75'e varan bir ora çok yaygındır (Holick, 1994). D vitamini yetersizliği prevalansı, yüksek pigmentli derinin ultraviyole ışığı çok daha az etkili hale getirdiği Afro-Amerikalılarda da yüksektir (Holick, 1994). Örneğin, Hollanda'daki batılı olmayan göçmenlerde yüksek bir D vitamini eksikliği prevalansı bildirilmiştir (Grootjans-Geerts, 2001) ve benzer veriler, Orta Doğu için de rapor edilmiştir (Gannagé-Yared ve ark., 2000).

1.1.5.1. D vitamini yetersizliği ile ilgili olumsuz sonuçlar

Kas-iskelet sistemi

Artan güneş ışığına maruz kalmanın, insandaki çoğu raşitik sendromun (yumuşak kemikler ve proksimal kas zayıflığı) düzeltilmesinde kritik bir faktör olduğunu neredeyse yüzyıllardır bilinmektedir (Rajakumar ve ark., 2007). Örneğin, NHANES III sonuçları, (Bischoff-Ferrari ve ark., 2009) hem erkeklerde hem de kadınlarda kalçadaki düşük kemik yoğunluğunun, o bölgedeki kırık riskinin olduğunu, doğrudan serum 25(OH)D seviyesi ile ilişkili olduğunu, ancak konağın diyet kalsiyum alımı ile ilgisi olmadığını açıklamıştır. Ayrıca, Kadın Sağlığı Girişimi'nden elde edilen veriler (Cauley ve ark., 2008), serum 25(OH)D seviyesindeki her 10 ng/mL düşüş için, kalça kırığı riskinin olasılık oranında önemli bir artış eğilimi olduğunu ve neredeyse iki katına çıktığını göstermektedir. Serumun 25(OH)D seviyesi D vitamini eksikliği aralığında (<20 ng/mL) ise, bu durum, artmış osteoklastogenez ve bunun sonucunda osteoblasta yönelik kemik oluşumunu aşan artmış kemik rezorpsiyonu ile kalıcı bir sekonder hiperparatiroidizm durumuna yol açabilir.

Kardiyovasküler hastalıklar

Düşük 25(OH)D düzeylerinin bir süredir kolon kanseri mortalitesi ile ilişkili olduğu bilinmesine rağmen (Wu ve ark., 2007), D vitamini eksikliğinin popülasyonlarda tüm nedenlere bağlı mortalite ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu gösteren veriler ancak yakın zamanda ortaya çıkmıştır (Wu ve ark., 2007).

NHANES III veri tabanı şunları açıkça göstermektedir

- 1) Özellikle kadınlarda serum 25(OH)D düzeyi 30 ng/mL'den düşük olduğunda tüm nedenlere bağlı mortalitede artış;
- 2) 35–40 ng/mL aralığında 25(OH)D seviyesi ile ölüme karşı yüksek koruma.

Aslında, tüm nedenlere bağlı ölümlerdeki artışın çoğu, bu popülasyondaki kardiyovasküler hastalık ölümlerine bağlanabilir. Koroner arter hastalığı, ve periferik arter hastalığı prevalansı, serum 25(OH)D seviyesi 30'un altına ve ardından 20 ng/mL'ye düştükçe kademeli olarak önemli ölçüde artar (Wu ve ark., 2007).

Kanser

Göğüs, kolon ve prostat kanseri hücreleri ve lösemik hücreler dahil olmak üzere birçok farklı kanser hücresi D vitamini reseptörlerini eksprese eder ve kalsitriol [1,25(OH)₂D] bu hücreler üzerinde inhibitör etkiye sahiptir (Holick, 2003). Etki mekanizmaları tam olarak açıklanmamıştır ancak hücre döngüsünün düzenlenmesini, farklılaşmanın uyarılmasını, büyüme uyarılarının bozulmasını, anjiyogenezin inhibisyonunu ve kötü huylu hücrelerin artan apoptozunu içermektedir (Van den Bemd ve Chang, 2002; Zittermann, 2003).

Bununla birlikte, D vitamini ve metabolitlerinin kötü huylu kanser hastalıklarla ilgili ana etkisi, malignite gelişimini önlemek olabilir. Epidemiyolojik çalışmalar, ultraviole B radyasyon yoğunluğunun artmasıyla bir dizi hastalığın ölüm oranının azaldığını ortaya koymuştur. Ultraviole B maruziyetindeki değişiklik, kentleşme veya ikamet edilen enlem ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (Garland ve Garland, 1980; Grant, 2002).

Tip 2 diyabet

Birkaç büyük ölçekli kohort ve vaka kontrol çalışması, çocukluk döneminde D vitamini takviyesinin tip 1 diyabet riskini azalttığını göstermiştir (Group, 1999; Hyppönen ve ark., 2001; Stene ve ark., 2003). Ayrıca, D vitamini eksikliği insülin sekresyonunu inhibe eder (Norman ve ark., 1980; Boucher, 1998) ve lipolizi modüle eder (Zemel ve ark., 2000).

D vitamini takviyesi, D vitamini eksikliği olan hayvanlarda (Boucher, 1998) ve insanlarda insülin sekresyonunu ve glikoz toleransını iyileştirir (Gedik ve Akahn, 1986). Plazma 25(OH)D düzeylerinin tip 2 diyabette azaldığı ancak tip 1 diyabette azalmadığı bildirilmektedir (Pietschmann ve ark., 1988; Andonovic ve Ivanova, 2014). Yeni Zelanda'da 40-64 yaş arası 5677 bireyi içeren geniş kesitsel bir çalışmada, yakın zamanda bozulmuş glikoz toleransı (IGT) ve tip 2 diyabet tanısı almış insanlarda obezite, cinsiyet, yaş, etnik köken için düzeltme yapıldıktan sonra 25(OH)D seviyeleri düşmüştür (Gedik ve Akahn, 1986).

Tip 2 diyabette glisemik kontrol mevsime bağlıdır ve en düşük HbA1C seviyeleri yaz aylarında olduğu tespit edilmiştir (Ishii ve ark., 2001). Ayrıca sağlıklı yetişkinlerde ultraviole B ışınlaması plazma 1,25(OH)₂D ve insülin sekresyonunu arttırdığı görülmüştür (Colas ve ark., 1989; Mosekilde, 2005).

1.1.5.2. D vitamini yetersizliğinin klinik, radyolojik ve biyokimyasal bulguları

D vitamini yetersizliği çocuklarda rikets, erişkinlerde ise osteomalaziye neden olmaktadır. Yetişkinlerde oluşan osteomalazide en çok görülen belirtiler; pelvis, omurga ve kostaları kapsayan yaygın ağrılardır (Fidan ve ark., 2014). Bunun dışında osteomalazinin görülebilecek diğer klinik bulguları da antalgik yürüyüş veya yürüme güçlüğüne sebep olan kas güçsüzlüğü belirtileridir. Hastalar ayağa kalkarken destek alamaz ve kalkmakta zorluk çekebildiği görülmektedir. Kronik olarak geçen osteomalazide ilk belirti ise kırık olabildiği görülmektedir (Fidan ve ark., 2014). Osteomalazide biyokimyasal değerler olarak bakılacak olursa; serum kalsiyum normal veya düşük değerlerde, serum fosfor düşük, PTH yüksek, ALP yüksek, 25(OH)D düşük, 1,25(OH)₂D normal veya yüksek olabildiği görülmektedir (Fidan ve ark., 2014).

Osteomalazi nedenleri

- Güneş ışınları aracılığıyla deri üzerinde D vitamini sentezinin azalması: Güneş ışınlarından yeterince faydalanamama, 70 yaş üzerinde bulunan bireyler, teni koyu olan bireyler.
- Vücutta biyoyararlanımın azalması: Emilim bozuklukları (postgastrektomi, gluten enteropatisi, pankreatik yetersizlik, vs.), obez bireyler
- Yıkım olaylarının arttığını gösteren durumlar: Glikokortikoid
- 25(OH)D sentezinin vücutta azalması: Karaciğer yetmezliği
- 25(OH)D vücuttan atılımının artması: Nefrotik sendrom
- 1,25(OH)₂D vitamini sentezinin vücutta azalması: Kronik böbrek yetmezliği,
- Tümörlerden kaynaklı osteomalazi: Tümörün fibroblast growth faktör 23 salgılaması (Fidan ve ark., 2014).

Erişkinlerde belirlenen ölçüt şu şekildedir. D vitamini eksikliği için 25(OH)D değerinin 50 nmol/L'nin (25 ng/mL) altında olması, D vitamini yetersizliğinde ise 25(OH)D değerinin 50-80 nmol/L (25-32 ng/mL) arasında olması olarak tanımlanmaktadır. D vitamini 150 ng/mL'den (375 ng/mL) yüksek ise toksik durum olarak kabul görmektedir (1 ng/mL = 2.5 nmol/L) (Yeşiltepe-Mutlu ve Hatun, 2011; Çimen ve Çimen, 2016).

D vitamini yetersizliğini önleme

Bireylerde D vitamini durumunu iyileştirmenin birkaç yolu vardır: gıda takviyesi, yıllık D vitamini enjeksiyonları, D vitamini ve kalsiyum içeren tabletler bunlardan birkaçı olabilir (Holick ve ark., 1989; Holick, 1999).

Yiyeceklerin D vitamini ile zenginleştirilmesi

Zenginleştirme birçok gelişmiş ülkede kullanılmaktadır (Holick ve ark., 1989). Özellikle Avrupa'da margarin, bitkisel yağ ve süt zenginleştirilirken, ABD'de un, mısır gevreği ve meyve suyu zenginleştirmesi kullanılmaktadır (Scanlon ve ark., 1995).

Yeterli bir takviye programı, yaşlılara günde yaklaşık 20 µg D vitamini (800 IU) sağlamalıdır. Ekmek ve yenilebilir katı yağlar (tereyağı, sıvı yağ ve margarin), bu nüfus grubuna ulaşmak için zenginleştirilmesi gereken bariz gıda maddeleri olmalıdır. Bununla

birlikte, 4 ila 10 yaş arası çocuklar için, böyle bir takviye 14–18 µg/gün D vitamini sağlanması güvenli kabul edilmektedir (Scanlon ve ark., 1995).

D vitamini ile yıllık enjeksiyonlar

Daha yüksek enlemlerde, sonbaharın sonlarında yapılan yıllık enjeksiyonlar, kış aylarında plazma 25(OH)D'deki düşüşü önleyebilir. Pratik bir bakış açısından, bu enjeksiyonlar, makul bir uyum sağlayarak yıllık grip aşısı ile birlikte verilebilir. Yaşlılar arasında Finlandiya'da yapılan bir araştırma, yılda 3.75 mg (150.000 IU) D vitamini enjeksiyonunun periferik kırıkların %20-30'unu önleyebileceğini göstermiştir (Heikinheimo ve ark., 1992). Ancak, 7000'den fazla yaşlı katılımcıyı içeren yakın tarihli bir Birleşik Krallık çalışmada, yılda bir kez verilen 300.000 IU'nun kırık riski üzerinde herhangi bir etki gösterememiştir (Smith, 2004).

D vitamini ve kalsiyum içeren tabletlerle takviye

Bakım evlerinde veya diğer geriatri kurumlarında zayıf, yaşlı bireyler arasında düşme ve kırıkları önlemek için, sonuçlara dayalı olarak 1000–12.000 mg kalsiyum ile kombinasyon halinde 20 µg (800 IU) D vitamini ile genel bir takviyeyi destekleyen bulgular vardır (Chapuy ve ark., 1992; Chapuy ve ark., 2002; Bischoff ve ark., 2003). Bu, plazma 25(OH)D'yi yükseltecek, plazma parathormonu baskılayacak, kemik dönüşümünü azaltacak, kas kuvvetini iyileştirecek, salınımı ve düşme eğilimini azaltacak, kemik gücünü artıracak ve kırıkları önleyecektir (Chapuy ve ark., 1992; Chapuy ve ark., 2002; Bischoff ve ark., 2003)

1.2. Obezite

Obezite, vücuda besinler yolu ile alınan enerjinin, harcanan enerjiden fazla olmasından kaynaklanan ve vücutta bulunan yağ kütesinin, yağsız vücut kütesine oranla artması ile oluşan kronik bir hastalık olarak bilinir (Altunkaynak ve Özbek, 2006). Obezitenin meydana gelmesinde genetik, çevresel, sosyokültürel ve davranışsal faktörler rol aldığı görülmektedir (Gülcan ve Özkan, 2006). Obezitenin derece olarak belirlenmesi için Beden Kitle İndeksi (BKİ) parametresi kullanılmıştır. Bu parametre dikkate alınarak Dünya Sağlık Örgütü'nün kabul gördüğü bazı ölçütler vardır (Çizelge 1.1) (Gülcan ve Özkan, 2006).

Çizelge 1.1. Dünya Sağlık Örgütü'nün kabul gördüğü BKİ tablosu (Gülcan ve Özkan, 2006).

Kategori	BKİ (kg/m ²)
Zayıf	< 18.5
Normal	18.5-24.9
Fazla kilolu	25.0-29.9
Sınıf 1 (orta) obez	30.0-34.9
Sınıf 2 (şiddetli) obez	35.0-39.9
Sınıf 3 (çok şiddetli) obez	>=40

Obezite yağın bulunduğu bölgeye göre 2 çeşide ayrılmaktadır: Bunlar android ve jinekoid obezite şeklinde ayrılabilir. Bu ikisini ayırt etmede bel çevresi ölçümünün kalça çevresi ölçümüne oranı belirlemektedir. Bu oranın kadında 0.9 ve erkekte 1.0'den düşük olması 'jinekoid tipi obezite' olduğunu, yüksek olması ise 'android tipi obezite' olduğunu göstermektedir. Ayrıca bel çevresine göre erkekte 102 cm ve kadında 88 cm üzerinde olması sentral obezite, altında olması periferik obezite olarak tanımlandığı görülmektedir (Gülcan ve Özkan, 2006).

1.2.1. Obezitenin etiyolojisi

Obezite, enerjinin alıp vermedeki dengesizliği ile sonuçlanan ve vücutta aşırı yağ birikimine neden olan genetik, davranışsal, çevresel, fizyolojik, sosyal ve kültürel faktörlerin bir sonucudur. Bu faktörlerin her birinin göreceli katkısı kapsamlı bir şekilde incelenmiştir ve genler vücut ağırlığının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamasına rağmen, Dünya Sağlık Örgütü Obezite Danışmanlığı davranışsal ve çevresel faktörlerin etkisinin daha etkili olduğunu rapor etmiştir. Racette ve arkadaşları (2003) genetik faktörlerin BKİ'deki değişkenliğin %50 ila %90'ını açıkladığını ileri sürmüştür (Racette ve ark., 2003).

Genotip-çevre etkileşimlerinin de obezite gelişiminde rol aldığı görülmüştür (Ravussin ve Bogardus, 2000). Aşırı beslenmeye tepki olarak kazanılan yağ dağılımının yanı sıra vücut ağırlığı ve kazanılan yağ miktarının, ikiz çiftler arasında olduğundan daha fazla benzerliğe sahip olduğunu, ayrıca aşırı kilolu veya obez olma eğiliminin kalıtsallığını desteklediğini göstermiştir (Racette ve ark., 2003).

Genotipin vücut ağırlığını etkilediği mekanizmalardan biri de enerji harcamasının düzenlenmesidir. Günlük enerji harcamasındaki değişimin yaklaşık %40 'ının (yoğun fiziksel aktivite hariç) genotipe atfedilebileceği tahmin edilmektedir (Bouchard ve Tremblay, 1990). Bu sebeple, genetiğin vücut ağırlığının düzenlenmesindeki rolüne işaret eden önemli kanıtlar vardır (Racette ve ark., 2003).

Obezitenin gelişimi, uzun bir zamanda enerji alımı ve enerji harcaması arasındaki dengesizliğe bağlıdır. Bunun nedeni, günlük enerji harcamasına göre fazla enerji alımı veya günlük enerji alımına göre düşük enerji harcaması olarak görülebilmektedir. Enerji dengesine ancak enerji alımı ve enerji harcaması eşit olduğunda ulaşılabileceğini göstermektedir (Racette ve ark., 2003).

Termodinamiğin birinci yasasına göre (enerji; yoktan var edilemez veya yok edilemez), fazla enerji yağ dokusunda triaçilgliseroller olarak depolanır. Adipositlerin birincil işlevleri, kalori fazla olduğunda enerji depolamak ve enerji ihtiyacı alımı aştığında (örneğin, diyet ve açlık sırasında) bu triagliserol deposundan enerjiyi harekete geçirmektir (Fruhbeck ve ark., 2001; Racette ve ark., 2003).

Günde 10 fazla kalori kadar küçük bir dengesizlik, her yıl 0.45 kg kilo alımına yol açar ve bu, onlarca yıl devam ederse klinik olarak önemli hale gelebilir. Yetişkinlik dönemindeki kilo alımı, ağırlıklı olarak adiposit hipertrofisi ile karakterize edilir; bu, adipositlerin lipid depolamasındaki büyük artışları karşılamak için hacimlerini birkaç bin kat artırabildiği bir süreçtir. Evrimsel bir bağlamda, fazla enerjiyi yağ dokusunda depolama yeteneği hayatta kalmak için gereklidir, çünkü kıtlık zamanlarında bu depodan enerji çekilebildiği görülmüştür (Fruhbeck ve ark., 2001). Diğer taraftan bu hayatta kalma özelliği, yiyecek bol ve lezzetli olduğunda dezavantajlı bir duruma dönüşebilmektedir (McCrory ve ark., 2000; Racette ve ark., 2003).

1.2.2. Obezitenin patofizyolojisi

a. Pasif yaşam tarzı ve diyet alışkanlıklarında değişiklikler

Genel olarak obezitenin en sık sebepleri olarak görülmektedir. Bazı batı toplumlarında sadece %20 kadarının düzenli egzersiz yaptığı görülmüştür. Bir başka çalışmada ise televizyon önünde geçirilen sürenin obezite ve diyabet riskini arttırdığı görülmüştür. Her televizyon önünde geçirilen sürenin 2 saat artışı durumunda %14 kadar diyabet riskini %23 kadar ise obezite riskini arttırdığı görülmüştür (Runge ve Greganti, 2008).

Kırsal alandan kentlere yapılan göçlerde ise pasif yaşam tarzının daha çok arttığı görülmüştür. Yağlı ve karbonhidrat içeriği yüksek olan besinler, hızlı yemek yeme kültürü, gece yemek yeme alışkanlıkları obeziteye katkıda bulunmuştur (Runge ve Greganti, 2008).

a.1. Enerji dengesi

Obezite uzun bir dönemde alınması gereken kaloriden daha fazla miktarda alınmasıyla ve alınan bu kalorinin vücutta yağ olarak depolanmasıyla oluştuğu görülmektedir. Örneğin gün içerisinde alınan 250-300 kalori fazlalık bir yılda 5 kilo kadar bir kilo alımına neden olabildiği tespit edilmiştir (Vidal-Puig ve ark., 1999). Obezite için alınan fazla kalori ve pasif yaşam tarzı, enerji dengesizliğine neden olmaktadır (Pekkolay, 2018).

b. Hormonlar

b.1. Leptin:

Leptin ilk ortaya çıktığı zamanlarda bilim dünyasında obezitenin tedavisi olarak görülmüştür. Daha sonraki çalışmalarda ise sadece leptin eksikliği olan bireylerde obezite tedavisinde yararlı olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda leptin düzeyi normal hatta yüksek olanlarda obezite durumu olduğu gözlenmiştir ve araştırmalara yeni bir kavram olan leptin direnci tanımı dahil edilmiştir (Kelesidis ve ark., 2010).

Leptin adipositlerden (yağ dokudan) sentezlenen miktarı adiposit kütesinin artması ile birlikte artan, vücutta bulunan enerji depolarının belirteci olan bir hormondur. Ayrıca leptin zenginlik hormonu olarak da bilinir. Leptin miktarı arttıkça enerji alımının azaldığı, enerji tüketimini arttığı görülmüştür. Leptin eksikliği iştahı arttırmakta ve obeziteye, diyabete sebep olmaktadır. Leptin beyinde iştahın azalmasına sebep olan Proopiomelanokortin'i (POMC) arttırdığı, iştahı arttırmaya sebep olan Nöropeptid Y'yi baskıladığı tespit edilmiştir (Considine ve ark., 1996).

b.2. Ghrelin:

Bir diğer adı açlık hormonu olarak bilinen ghrelin mideden salınır, beyinde iştahı arttırdığı tespit edilmiştir. Vücutta kalori alımını fazlasıyla artırır. Termogenezi baskılayarak enerji kaybını azaltır. Fakirlik hormonu olarak adlandırılabilir. Açken yüksek olan ghrelin seviyesinin yemek yedikçe azaldığı tespit edilmiştir (Considine ve ark., 1996).

c. Çevresel Etmenler ve Genler:

Vücut boyutu, genetik, çevresel, endokrin, psikolojik, davranışsal ve gelişimsel faktörler arasındaki etkileşimler belirlemektedir. Çevrenin vücut ağırlığı üzerindeki etkisinin örnekleri evrensel olarak bildirilmiştir (Pratley, 1998).

c.1. Ebeveyn obezitesi:

Ebeveynleri obez olan bireylerin obez olma ihtimalleri normal bireylere göre iki kat daha fazladır (Pekkolay, 2018).

c.2. Emzirme:

Çocukluk çağındaki obeziteyi ve erişkinlerde obezite riskini azaltır. Anne sütü hem çocuklukta hem de yetişkinlikte enerji dengesinin düzenlenmesini programlanmasını etkileyerek, yenidoğan döneminde, bebeklikte büyüme ve iştah kontrolünde yer aldığı görülmüştür (Marseglia ve ark., 2015).

c.3. Perinatal dönem:

Annenin sigara kullanması ve diyabetinin olması obezite riskini arttırmıştır. Maternal obezite ve gestasyonel kilo artışı çocukluk çağı obezitesi ile ilişkilidir ve bu etki yetişkinliğe kadar uzanır. Çocukluk çağında obezitenin meydana gelmesi, daha sonraki yaşam obezitesini, dolayısıyla tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalık riskini artırır (Santangeli ve ark., 2015).

d. Obezite ve genetik:

Yapılan genom çalışmalarında obeziteyi ilgilendiren 140 ve üzeri gen bölgesinin olduğu tespit edilmiştir (Fall ve ark., 2017). Aynı çevrede yaşayıp aşırı kalori alanlar ve sedanter yaşam tarzında olan bireylerin bir kısmında obezite olmasına rağmen bir kısmında olmaması obezite ve genetiğin kolayca ilişkilendirilebileceğini göstermiştir (Huvenne ve ark., 2016).

e. İlaçlar ve Obezite

Antipsikotikler, antidepresanlar, antiepileptik ilaçları kullanan hastaların kilo alma potansiyellerinin yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca steroidler, oral kontraseptifler, antihistaminikler, bazı diyabet ilaçları ve antihipertansiflerin kilo artışına sebep olabileceği rapor edilmiştir (Güngör, 2014).

Endokannabinoid gıda alımının güçlü bir düzenleyicisidir, enerji tüketimini azaltmakla birlikte karaciğerde yağ birikimini arttırmaktadır (Bowles ve ark., 2015).

e.1. Diyabet ilaçları:

İnsülin ve glitazonlar plasebo etkisine göre bireylerde kilo artışına sebep olan antidiyabetik ajanlardır (Bowles ve ark., 2015).

e.2. Beta antagonistler:

Kilo alınmasını engelleyerek metabolizmanın hızı yavaşlatır ve yağ yıkımını engelleyerek artırır (Welle ve ark., 1991).

e.3. Antipsikotik ilaçlar:

Dopaminin vücutta azalması iştahı artırır, prolaktinin vücutta artışı ise iştahı arttırmakla birlikte kilo alımını da artırır. Antipsikotiklerin çoğu antihistaminik etkiler gösterir, iştahı arttırmakla birlikte kilo alımını kolaylaştırır (Silverstone ve ark., 1988).

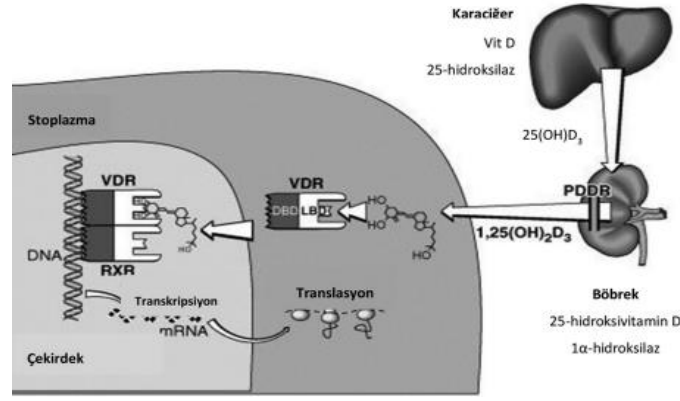
1.3. Obezite ve D vitamini

Obez bireylerde serum 25(OH)D₃ seviyesinin normal ağırlıklı olan bireylere göre daha düşük olduğu çalışmalarda tespit edilmiştir. Oluşan geniş yağ dokusu D vitamini birikmesine neden olup ve bu bireylerde 25(OH)D₃ seviyesinin normal bireylere göre daha düşük olduğu görülmüştür (Çimen ve Çimen, 2016).

D vitamini yetersizliği, obezitenin artması ile birlikte artabilmektedir. D vitamini reseptörleri daha çok adipozit dokuda üretilmektedir. Vücut yağ kütlesinin artması ile beden kütle indeksinde görülen artış ile birlikte serum 25(OH)D seviyesi arasında ters bir ilişki vardır. Beden kütle indeksindeki her bir birimlik azalma serum 25(OH)D konsantrasyonunda %1.15'lik artışa denk gelmektedir. Obez bireylerde ağırlık kaybından sonra D vitamini ek alımı olmaksızın dolaşımda bulunan 25(OH)D konsantrasyonu arttığı görülmektedir (Özkan, 2019).

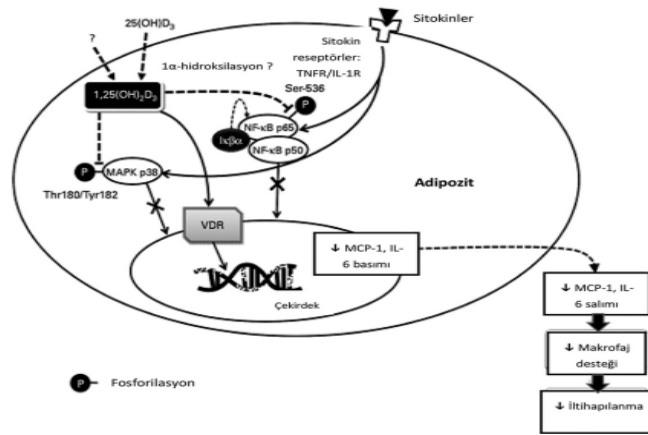
1.4. D vitamini ve obezite ilişkisinin mekanizması

D vitamini çekirdek ve membran reseptörlerinin yağ dokuda varlığının gösterilmesi yağ dokunun yanıt verebildiğini gösterir (Altıntaş, 2018).



Şekil 1.2. Adipoz dokunun D vitaminine yanıtı (Altıntaş, 2018).

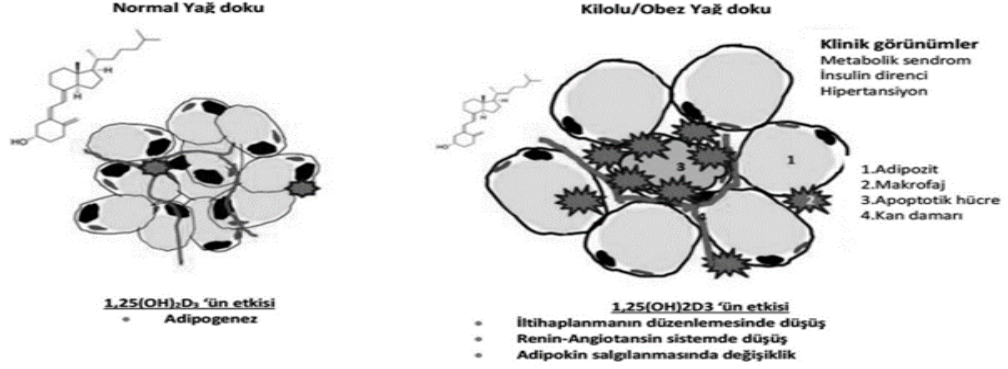
Obezite, yağ dokunun iltihaplanması olarak geçmektedir. Önceden fizyolojik olarak pasif olduğu düşünülen yağ dokusu daha sonraları büyük bir endokrin organ olduğu keşfedilmiştir. D vitamini adipozit doku üzerinde inflamatuvar sitokin salınımı ve inflamatuvar oluşumu üzerinde etkilidir (Şekil 1.2). Dolaşımdan ya da komşu hücrelerden alınan vitaminin yağ doku hücrelerine transferi sağlanır. Alınan vitaminler burada 1α -hidroksilazla $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'e dönüşür. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, yağ dokuda p65'in fosforilasyonunu önleyerek p NF- κ B sinyalizasyonunu inhibe ettiği görülür. Sonuç olarak yağ hücreleri tarafından proinflamatuvar aracılardan gen ifadesi ve protein salımı ile monosit/makrofaj desteği ve yağ doku iltihaplanması yavaşlar (Altıntaş, 2018; Çimen ve Çimen, 2016).



Şekil 1.3. Adipozitlerde D_3 vitamininin sinyal mekanizması (Altıntaş, 2018).

D vitamini, serum PTH düzeyinin önemli belirleyicisi olarak görev alır ve artan PTH yağ dokuda 1-alfa hidroksilazı artırarak $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sentezi ve hücreye Ca girişini arttırmakla birlikte yağlanmaya neden olduğu görülmektedir. Ayrıca PTH kas

hücrelerinde lipidlerin oksidasyonunu da baskılayarak mekanizmaya katkısı olduğu görülmüştür (Çimen ve Çimen, 2016).



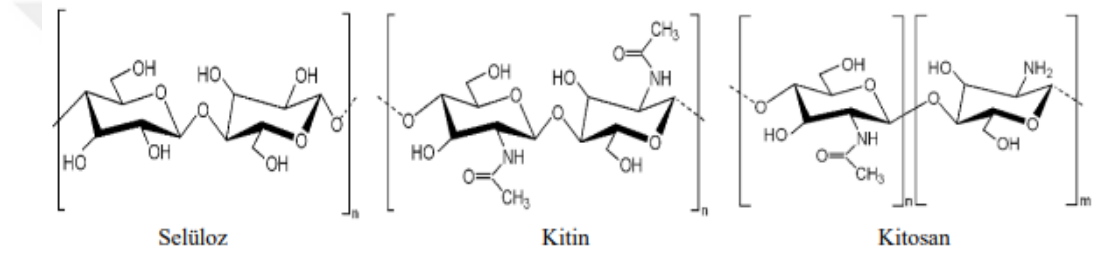
Şekil 1.4. Normal bireyler ve obez bireylerde adipoz doku üzerine 1,25 (OH)₂D₃'ün etki mekanizması (Çimen ve Çimen, 2016).

1.4.1. Obez bireylerde D vitamini eksikliğinin nedenleri

- Harekette kısıtlılık ve sosyal aktivitenin az olması,
- Güneş ışığına yeterine maruz kalmama,
- Obez bireylerin daha çok kapalı kıyafetler giymeleri,
- Beslenme alışkanlıklarında yetersizlik (balık süt et tüketiminde yetersizlik),
- D vitamininden fakir daha çok fast food gıdalarla beslenme,
- Siyahi ve Asyalı bireylerde laktoz intoleransına bağlı olarak gelişen diyet farklılıkları,
- Parathormonun yükselmesi ile 25(OH)D₃ sentezinin baskılanması,
- Hepatik yağlanmaya bağlı olarak karaciğerde 25(OH)D₃ sentezinin azalması gibi birçok neden sayılabilir (Çimen ve Çimen, 2016).

1.5. Kitosan

Karides, yengeç ıstakoz gibi kabuğu olan deniz hayvanlarının dış iskelet sistemlerinde ve küf ve mantar gibi mikroorganizmaların hücre duvarında bulunan kitin, bir polisakkarit olup selülozdan sonra doğada en çok bulunan biyopolimerdir (Şekil 1.5). Kitosan ise kitinin alkali koşullar altında (%40-50'lik sodyum hidroksit, NaOH) 90-150°C'de 4-5 saat süreyle kısmi olarak veya tamamıyla deasetilasyonu ya da kitin deasetilaz enzimi (EC 3.5.1.4) vasıtasıyla enzimatik deasetilasyonu ile elde edilen düz zincirli bir kopolimerdir. Potasyum hidroksite (KOH) göre çok daha fazla etkin olduğu için deasetilasyon işlemlerinde genellikle NaOH tercih edilir (Kuzgun ve İnanlı, 2013; Yıldırım ve ark., 2015).



Şekil 1.5. Selüloz, kitin, kitosanın yapısı (Yıldırım ve ark., 2015).

Kitosan yenilenebilir bir polisakkarittir ve doğal bir biyopolimerdir. Üstün özellikleri sayesinde birçok farklı sektörde kullanım alanı bulunduğu görülmüştür (Kuzgun ve İnanlı, 2013).

1.5. Kitin ve kitosan kaynakları

Kitin daha çok deniz yosunları, tek hücreliler (kamçılılar, amip kirpikliler vs.), böcekler ve bazı bitkilerde bulunmaktadır. En zengin kitosan kaynakları ise; karides, yengeç, kerevit kabuklarıdır (Kuzgun ve İnanlı, 2013).

1.5.1. Kitosanın üretimi

Kitosan üretimi iki temel yöntemle gerçekleştirir. Bunlar kimyasal ve biyolojiktir. Kimyasal yöntemlerde asidik ve bazik hidroliz önemli bir aşama olarak bilinir. Kitosanın mikrobiyal sentezinde, *Mucor rouxii*, *Phycomyces blakesleeanus* gibi çeşitli organizmaların hücre kültürleri kullanıldığı görülmüştür. Bu kültürlerden alınan ürün *Aspergillus niger*'in kültür ortamına ilave edilmesiyle geliştirilmektedir. Böylece bu

üretim mekanizması kitinin deasetilasyonuna da yol açmaktadır ve kuluçka süresinden sonra kitosan elde edilmektedir. Biyolojik yöntem olarak proteolitik enzimlerin protein gideriminde kullanılması sayılabilir (Özdemir, 2014).

1.5.2. Kitosanın çözünürlüğü

Kitin zayıf asitlerde ve birçok organik çözücülerde çözünmemektedir. Bunun sebebi molekül içinde ve arasında kuvvetli hidrojen bağlarının bulunmasıdır. Kitin yarı kristalin yapıda bir polimer olarak bilinmektedir. Kitosan ise katyonik yapısı sayesinde asidik ortamda kolayca çözünmektedir. Kitosanın çözünürlüğünü belirleyen asıl etmen ise deasetilasyon derecesidir (Özdemir, 2014).

1.5.3. Kitosanın kullanım alanları

Kitosan, gıda, tarım, atık yönetimi ve tıp gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılır. Bir kompozit malzeme olarak incelenmiştir. Çeşitli özellikleri (antimikrobiyal özellikler, geçirgenlik ve çözünürlük) gıda ve ilaç ambalajları, antimikrobiyal film hazırlama ve taze meyvelerin kaplamaları gibi olası uygulamalar için kitosan çok uygun bir malzemedir (Martău ve ark., 2019).

1.5.3.1. Biyoyumluluk ve biyobozunurluk özelliği

Kitosanın özellikle biyoyumluluk ve biyobozunurluk gibi işlevlerinden dolayı biyomalzeme olarak kullanımı son zamanlarda üzerinde durulan konulardan biridir (Kuzgun ve İnanlı, 2013).

Kitosanın yüksek kolesterolü azalttığı ve diyet yardımcısı olarak kullanıldığı çalışmalarda görülmüştür. Böylece kitosanın katyonik yapısından dolayı bağırsakta lipitlerde tutulduğu gözlemlenmiştir. Biyomedikal alanda yapılan analizler, bunun yüksek oranda biyoyumlu olduğunu ortaya koymuştur. Aynı zamanda kitosan, belirli insan enzimleri, özellikle lizozim tarafından metabolize edilir ve biyolojik olarak parçalanabilir olarak kabul edilir (Kuzgun ve İnanlı, 2013).

Kitosan, biyoyumluluk, biyobozunurluk ve mukoadhezyon gibi biyolojik özelliklere sahiptir. Aynı zamanda antikolesterolemik, antimikrobiyaldır ve geçirgenliği artırıcı etkiler sergiler. Bu özellikler, antibakteriyel/biyokirlenme önleyici kaplamalar, kontrollü salımlı kaplamalar ve mikrokapsüller, nanofiltrasyon, ilaç dağıtım hidrojelleri, gen teslimi ve doku mühendisliği yapı iskeleleri gibi farklı uygulamalarda kullanımının artmasına yol açmıştır. *In vivo* testlere ulaşmayı amaçlayan biyomedikal uygulamalar

için, hayvan dışı kaynaklardan elde edilen kitosan tercih edilmektedir (Kuzgun ve İnanlı, 2013; Martău ve ark., 2019).

Kitosan, birçok bitki türünde büyümenin düzenlenmesinde ve savunmanın ortaya çıkarılmasında önemli bir rol oynayabilir. Bununla birlikte, bitkilerin kitosana tam metabolik tepkisi hala net değildir. Kitosanın deasetilasyon derecesinin çözünürlük ve antimikrobiyal aktivite gibi özellikler üzerindeki etkisi çok sayıda makalede incelenmiştir. Kitosan, düşük toksisitesi ve iyi biyouyumluluğu nedeniyle potansiyel olarak yararlı bir farmasötik malzemedir (Martău ve ark., 2019).

1.5.3.2. Biyoyapışkanlık özelliği

Büyüyen bir diğer ilgi alanı, kitosanın biyoyapışkan bir malzeme olarak kullanılmasıdır. Ticari olarak temin edilebilen birçok kitosan, *in vitro* olarak oldukça iyi mukoadeziv özellikler sergiler. Kitosanın mukoadeziv özellikleri, *in vitro* olarak domuz mide mukozasına yapışma kabiliyeti ile gösterilmiştir ve bu nedenle bölgeye özgü ilaçların uygulanması için yararlı olabilir. Formülasyonların ilaç etki veya absorpsiyon bölgelerinde kalma süresinin kitosan ile uzatılabileceği öne sürülmüştür. Kitosanın mide, ince bağırsak gibi gastrointestinal sistemin belirli bölgelerine vitamin, mineral veya diğer ilaçların taşınması için değerli olabileceği de önerilmiştir. Yanak mukozası kitosanın şişmiş haldeki adeziv özelliklerinin, kitosan ve substratın tekrarlanan temasları sırasında iyi bir şekilde devam ettiği gösterilmiştir, bu da, hidrasyon yoluyla adezyona ek olarak, hidrojen bağı ve iyonik etkileşimler gibi diğer birçok mekanizmanın olduğu anlamına gelir. Kitosandaki negatif yüklü mukus jel tabakası ile pozitif yüklü amino grupları arasındaki iyonik etkileşimin çok önemli bir etki mekanizması olduğu öne sürülmüştür. Kitosan ve mukus arasındaki etkileşimlerde, moleküler seviyede birincil etki mekanizmasının elektrostatik olduğu bulunmuştur. Etkileşimler, kitosanın yük yoğunluğunun yüksek olduğu asidik ve hafif asidik pH seviyelerinde güçlüdür. Kitosanın moleküler ağırlığındaki artış, daha güçlü yapışma ile sonuçlanır (Martău ve ark., 2019).

Kitosanın çapraz bağlanma yoğunluğu daha düşük olduğunda (yani, kitosandaki serbest amino gruplarının sayısı daha yüksek olduğunda) bağırsağa yapışan kitosan mikrokürelerinin miktarlarının en yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu aynı zamanda kitosanın adeziv özelliklerinin deasetilasyon derecesi arttıkça artması gerektiğini, çapraz bağlanmanın ise kitosanın mukoadeziv etkilerini azalttığını düşündürür (Martău ve ark., 2019).

1.5.3.2. Antimikrobiyal özelliği

Kitosanın bazı çalışmalar sonucunda antimikrobiyal olarak kullanıldığı da görülmüştür. Antimikrobiyal madde olarak kullanılmasına bakteri ve küf gelişimini önleyici olması örnek olarak verilebilir. Ayrıca küf kontaminyasyonunu engellediği de çalışmalarda görülmüştür (Kuzgun ve İnanlı, 2013). Kitosanın antimikrobiyal mekanizması tam olarak bilinmemekte birlikte bazı teoriler öne sürülmüştür. Kitosanın antimikrobiyal etkisi bazı iç faktörlerden etkilenmektedir. Bunlar: deasetilasyon ve polimerizasyon derecesi, çevre koşulları gibi faktörlerdir (Taştan ve Baysal, 2013).

Kitosanın daha fazla yük yoğunluğu ve daha fazla çözünürlüğü sebebiyle yüksek oranda antimikrobiyal özelliği olduğu tespit edilmiştir. Deasetilasyon derecesi arttıkça hücre zarına elektrostatik bağlanma ve geçirgenlik etkisi artmaktadır. Ayrıca kitosanın antibakteriyel aktivitesinin temas süresi ile arttığı belirlenmiştir (Çizelge 1.2) (Taştan ve Baysal, 2013).

Çizelge 1.2. Kitosanın kullanım alanları (Kuzgun ve İnanlı, 2013).

Potansiyel biyomedikal uygulamalar	Ana karakteristik
Ameliyat dikişi	Biyoyumluluk
Diş implantı	Biyobozunurluk
Yapay deri	Yenilenebilme
Kemiğin yeniden inşası	Film oluşumu
Kornea kontakt lensleri	Hidratlama ajanı
İnsanlar ve hayvanlar için zamana bağlı ilaç salımı	Toksik olmayan, biyolojik tolerans
Malzemelerin kapsül kaplaması	Yara iyileşme özellikleri

1.5.3.3. Yenilebilir film olarak kullanımı

Kitosanın film oluşturma özelliği sebebiyle gıda ambalajlama da kullanılmaktadır. Kitosan yarı geçirgendir ve bu özelliği sayesinde sıvı kaybını azaltarak meyvelerin olgunlaşmasını geciktirir. Ayrıca yarı geçirgen olması dayanıklı esnek kolay kolay yırtılmayan bir yapı olmasını sağlar. Kitosan ile kaplama gıdaların duysal özelliklerinin iyileştirilmesinde etkilidir. Polifenol oksidaz enzimi inhibe ettiği ve meyveler üzerinde birçok etkisinin olduğu görülmüştür (Tokatlı ve Demirdöven, 2015).

Gıdalarda raf ömrünün uzatılmasında antimikrobiyal etkisi önemlidir. Kitosanın antimikrobiyal aktivitesini tanımlayan farklı mekanizmaların varlığı mevcuttur. Bunlardan biri kitosanın hücre zarının geçirgenliğini değiştirerek gıda maddelerinin hücre içerisine geçişinin engellenmesidir. Diğer mekanizma ise kitosanda bulunan pozitif yüklü amino gruplarının bakteri hücresinde bulunan negatif yüklü karboksil gruplarına

bağlanarak hücre yüzey kısmında yüklerin dağılımının değiştirmesi böylece membranın stabilitesini bozarak geçirgenliğini değiştirmesidir (Tokatlı ve Demirdöven, 2015).

Kitosan genellikle mantarlardan ziyade bakterilere karşı daha kuvvetli antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Kitosanın ve kitosan oligomerlerinin antibakteriyel aktivitesi üzerine yapılan araştırmalar, kitosanın bakteri büyümesini engellemede kitosan oligomerlerinden daha etkili olduğunu ortaya koymuştur (No ve ark., 2007).

Öte yandan kitosan filmler, gıda yüzeyinde mikrobiyal büyümeyi engelleyen bir tür aktif paketleme sağlar. Yüzey mikrobiyal stabilitesi, gıda ürünlerinin raf ömrünün önemli bir belirleyicisidir. Kitosan, polimerik yapısı nedeniyle yarı geçirgen bir film oluşturma kabiliyetine ek olarak birçok biyolojik özelliğe sahiptir. Antifungal etkinliği kanıtlanmıştır (Agulló ve ark., 2003).

Gıda endüstrisinde kullanılan kitosan ise gıda ve çevre arasında nem geçişlerinin kontrolünü sağlar. Besleyici maddelerin tatlandırıcıların ve ilaçların ortaya çıkışını kontrol eder. Meyvelerde enzim etkisiyle kararmayı kontrol eder (Kuzgun ve İnanlı, 2013).

Gıda katkı maddesi olarak kullanılan kitosan içeceklerin ve meyvelerin asitlendirilme işlemlerinde, meyve sularının seyreltilme işlemlerinde, doğal tatlandırıcılarda kalınlaştırıcı ve stabilize edici madde olarak kullanılmaktadır (Kuzgun ve İnanlı, 2013).

1.6. Kitosan ve D vitamini

Kitosan toksik olmama, biyoyumumluluk ve biyobozunma özellikleri gibi başlıca çekicilikleri nedeniyle, ilaç endüstrisinde bir eksipiyen olarak, kontrollü salınımlı dozaj formlarının üretimi için bir tablet bütünleyici olarak doğrudan tablet sıkıştırmada yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Son yıllarda, bağırsak seçici ilaç, antikanser ajanlar ve mukoadezif ilaç verme sistemleri, vb. gibi bölgeye özgü ilaç iletimi için kitosan mikroküreleri geliştirilmiştir (Shi ve Tan, 2002).

D vitamini, kalsiyum ve fosforun *in vivo* metabolizmasının düzenlenmesinde önemli etkiye sahiptir ve D vitamini mikrokapsüller, gıda işleme ve muhafaza için uygundur. D vitamini bağırsakta absorbe olduğu için bazı çalışmalarda model ilaç olarak kullanılmıştır (Bilbao-Sainz ve ark., 2017).

Kitosan ve D vitamini kullanılarak mikrokapsülleme çalışmaları yapılmaktadır. Bir çalışmada enterik polimer içinde hapsolmuş kitosan mikro çekirdeklerinden oluşan bir sistem araştırılmaktadır. Model ilaç olarak kullanılan D₂ vitamini, püskürterek

kurutma kullanılarak kitosan mikro çekirdeklerinde etkili bir şekilde hapsedilerek ve etilselüloz kaplamasıyla mikrokapsüllenmiştir. Bu çalışma, kitosan mikro çekirdekleri tarafından hazırlanan bir bağırsak ilaç dağıtım sistemini açıklamaktadır. Bu sistemin ilaç yüklemesinin %86'dan fazla olduğu görülmüştür. Kapsüllenmiş ilacın bağırsak ortamında uzun bir süre kaldığı tespit edilmiştir (Shi ve Tan, 2002).

1.7. Polen

Polen taneleri, kapalı tohumlularda ve açık tohumlularda bulunan, bir yumurta hücreesindeki dişi çekirdekle döllenme için bir erkek çekirdeği içeren bitki parçalarıdır. Sporlar, üreme süreci biraz farklı olsa da eğrelti otları ve yosunların eşdeğer parçalarıdır. Polen ve sporlar genellikle geniş bir terim olan 'palinoloji' içinde birlikte düşünülür. Polen anterlerde, genellikle yumurtalardan farklı çiçeklerde (bazen farklı bitkilerde) üretilir. Farklı bitki taksonları poleni farklı şekillerde dağıtır, ancak çoğu polen ya rüzgarla dağılır (anemofil) ya da böceklerle dağılır. Dağılan polenlere sahip bitkiler, böceklerle dağılan polenlere göre daha fazla üretme eğilimindedir. Polen taneleri genellikle küresel veya eliptiktir ve çapları türlere bağlı olarak değişir (Bennett ve Willis, 2001).

Polen tanelerinin duvarları, selüloz ve sporopollenin adı verilen karmaşık bir madde karışımından yapılmıştır. Sporopolleninin kesin moleküler yapısı belirsizdir, ancak doymuş ve doymamış hidrokarbonlar ve fenolikler içeren bir polimerdir. Sporopollenin, oksidasyon dışında çoğu kimyasal (enzimatik dahil) ve fiziksel bozunmaya karşı alışılmadık derecede dirençlidir. Bunun önemli sonuçları vardır, ilk olarak polen anaerobik ortamlarda süresiz olarak korunabilir ve ikincisi, tortunun diğer bileşenlerini uzaklaştırmak için güçlü kimyasallar kullanılabilir, böylece polen yoğunlaştırılır ve analiz kolaylaştırılır.

Polen, çeşitli taksonomik düzeylerde tanımlanabilir. Polen tanelerinin dış duvarları, taksona bağlı olarak farklı şekil ve desenlere sahiptir. Bu, tanımlama için kesinlik derecesi biraz farklılık gösterse de tanelerin menşei oldukları taksona göre tanımlanmasını mümkün kılar. Tanımlama, bilinmeyen fosil taneciklerinin tanımlanmış bitkilerin çiçeklerinden toplanan polen referans materyali ile karşılaştırılmasıyla elde edilir (Bennett ve Willis, 2001).

1.8. Sporopollenin

Sporopollenin, sporların ve polenlerin dış duvarında bulunan doğal bir biyomakromolekül olarak bilinir. Dış polen duvarı olan eksin, yüksek bitkilerde en

karmaşık duvar sistemlerinden biridir. Yosun, mantar ve eğrelti otu spor duvarları da sporopolleninden oluşur. Bu madde asetoliz dahil oksidatif olmayan fiziksel, biyolojik ve kimyasal bozunma prosedürlerine karşı son derece dirençlidir. Bu direnci nedeniyle, kesin kimyasal yapısı ve sentezinde yer alan biyokimyasal yollar henüz net değildir ve jeolojik katmanlarda milyonlarca yıl boyunca morfolojisini koruyabilir. Kimyasal doğasını ortaya çıkarmak için birçok analitik teknik uygulanmıştır. Bununla birlikte, bazı çalışmalar sporopolleninin esas olarak fenolik ve aromatik gruplara veya konjuge yan zincirlere sahip alifatik bir polimer olduğunu göstermiştir. Esas olarak karotenoidden oluşan bir makromolekül olarak kabul edilir. Bununla birlikte, bazı çalışmalar sporopolleninin fenolik ve aromatik gruplara veya konjuge yan zincirlere sahip alifatik bir polimer olduğunu göstermiştir (Domínguez ve ark., 1999a; Sargin ve Arslan, 2015).

Bitki polenlerinin eksinlerinde (dış kaplama) meydana gelen sporopollenin genetik içeriğini korur. Bu yapısal makromoleküler malzeme, sert asidik, alkali ve termal işlemlere dayanıklılığı nedeniyle doğal polimerler arasında en esnek biyo bazlı malzeme olarak zaten kabul edilmiştir. Sporopollenin mikrokapsülleri ayrıca yüksek termal kararlılık ve gözenekli yüzey yapısı sergiler (Baran ve ark., 2017; Sargin ve ark., 2017).

Sporopollenin yenilenebilir ve bol miktarda bulunan bir malzemedir. Sporopollenin basit kimyasal işlemlerle kolayca elde edilir, sporopollenin taneleri ekstraksiyon işleminde yapısal bütünlüklerini koruyabilirler, gözenekli morfolojiye sahiptirler ve boyut dağılımında yeknesaktır. Kimyasal ve biyolojik saldırılara karşı dirençlidir. 470 °C'ye kadar termal olarak kararlıdır ve daha da önemlisi asılı reaktif hidroksil grupları kimyasal modifikasyonlara olanak tanır (Baran ve ark., 2017).

Sporopollenin üzerindeki hidroksil gruplarının sililasyonu, amino grupları taşıyan ajanlar kullanılarak üretilebilir. Amin işlevli sporopollenin, çeşitli aldehit ve ketonlarla schiff bazları oluşturarak, daha da işlevselleştirilebilir. İmin gruplarındaki nitrojen atomları, metal iyonları ile koordinasyon halinde elektron donörleri olarak görev yapar (Baran ve ark., 2017).

Bitki polenlerinden ekstrakte edilen sporopollenin kabukları, ilaç dağıtımı için ümit vaat eden mikro taşıyıcılar olarak ortaya çıkmıştır. Termal kararlılıkları, toksik olmamaları, kimyasal ve biyolojik ajanlara dayanıklılıkları, boyut ve gözenekli yüzey morfolojisindeki tek düzelikleri, sporopollenin mikro kafeslerini ilaç yüklemesi için uygun malzeme haline getirir. Bilindiği gibi, doğada bitkiler tarafından binlerce farklı

polen üretilir ve her bir polen tipi morfoloji ve fizikokimyasal yapılarında ince farklılıklar gösterebilir (Mujtaba ve ark., 2017).

Son zamanlarda bazı bitkilerin polenlerinden sporopollenin eksin kapsülleri izole edilmiş ve kontrollü ilaç salınımında mükemmel performans göstermişlerdir. Örneğin hurma ağacı *Phoenix dactylifera* polenlerinin eksinlerinden elde edilen sporopollenin kapsülleri, ibuprofenin verilmesinde kullanılmıştır. Başka bir çalışmada, *P. dactylifera*'dan ekstrakte edilen sporopollenin ekzin kapsülleri parasetamolün *In vitro* kontrollü iletiminde kullanılmıştır. *Lycopodium clavatum* sporlarından elde edilen kemoterapötik ajan 5-florourasil yüklü sporopollenin, gastrointestinal kansere karşı kontrollü salım formülasyonlarında başarıyla kullanılmıştır (Sargin ve ark., 2017).

Çeşitli bitkilerin polenleri farklı kimyasal yapıya, yüzey özelliklerine ve boyuta sahiptir. Morfolojilerindeki ince farklılıklar nedeniyle, her bir bitkinin özünde bulunan sporopollenin materyali, terapötik ihtiyaçları karşılamak için ilaç salım sistemlerinde ayırt edici özellikler sergileyebilir (Sargin ve ark., 2017).

Sporopollenin kabuklarının çeşitli özellikleri, onları sentetik kapsülleyicilerden ayırır. Bunlar arasında tutarlı biyouyumluluk, mukoadezif şekil ve boyutta tekdüzelik, kapsüllemeyi sağlayan geniş iç boşluklara sahip olma, sert kimyasal ortamlara direnç, termal kararlılık, yenilenebilir doğası, 20 µm boyutu ve yüzey özellikleri ayırt edici özellikleri arasındadır. Özellikle, sporopollenin mikrokapsüllerinin gastrointestinal sistemdeki koşullara karşı kimyasal inertliği ve sağlamlığı önceki raporlarda zaten kabul edilmiştir. Bu özellikler göz önüne alındığında, sporopollenin mikrokapsülleri farmasötikler için çekici dağıtım ajanları olarak kullanılabilir (Akyuz ve ark., 2017).

1.9. *Cedrus libani*

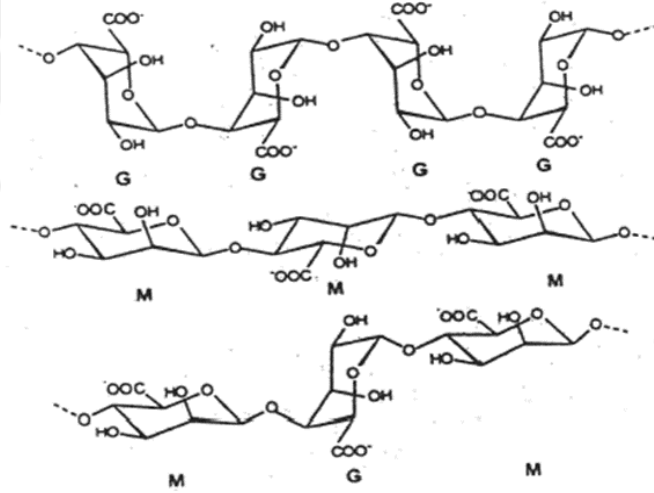
Lübnan sediri (*Cedrus libani*) tarihi, kültürel, bilimsel ve ekonomik açıdan önemlidir. Günümüzde geniş ve muhteşem ormanlara sahip olan Türkiye'nin Toros Dağları'nda bulunur. Tarihsel kayıtlar ayrıca Suriye ve Lübnan'da geniş ve görkemli ormanlara işaret etmektedir. Ancak son 5000 yıldır ağaç kesme, yakma ve keçi otlatma bu ülkelerde sadece küçük popülasyonlar bırakmıştır. Aynı rahatsızlıklar Anadolu'da devam etse de Toros Dağları'nın neredeyse ulaşılmaz topografyası Lübnan sedirinin yok olmasını engellemiştir (Boydak, 2003).

Toros Dağları'ndaki Lübnan sediri genellikle ortalama yüksekliklerde bulunur, Sultandağı-Afyon gibi Anadolu'nun diğer bölgelerinde bazı dağınık popülasyonlarda da bulunabilir (Evcimen, 1963; Saatçioğlu, 1976; Boydak, 1986; Atalay,

1987; Boydak, 1996; Çalışkan, 1998). Ancak karışık meşcereleri, aşırı derecede bozulmuş meşcereleri ve Lübnan sedirinin bozulmasından sonra oluşan çıplak karstik arazileri ile birlikte bu türün yayılış alanı Türkiye'de yaklaşık 600.000 ha'lık bir alanı kaplamaktadır (Saatçioğlu, 1976; Çalışkan, 1998; Boydak, 2003).

1.10. Aljinat

Aljinatlar, kahverengi deniz yosunlarının hücre duvarlarından izole edilen, bazı toprak bakteriler tarafından bir ekstraselüler matriks olarak üretilen, poliüronik bir polisakkarit olarak bilinir. Düşük maliyetlidir, biyouyumlu ve parçalanabilir bir polimer olarak bilinmektedir. Stanford tarafından isimlendirilen aljinat aljinik asidin bir bileşeni olarak keşfedilmiştir. Daha sonra ise α -L-guluronik ve β -D-mannuronikten oluşan ikili kopolimer olarak isimlendirilmeye başlanmıştır (Şekil 1.6) (Demir ve Demirdöven, 2019; Gökbulut ve Öztürk, 2018).



Şekil 1.6. Aljinatın moleküler yapısı (Tønnesen ve Karlsen, 2002).

Stabilizör, kapsülleme, jel film zar oluşturma gibi işlevlerde kullanılabilir. En yaygın olarak kullanılan aljinat ise sodyum aljinat olarak bilinir (Gökbulut ve Öztürk, 2018).

Aljinat yara pansumanları fizyolojik olarak nem miktarı yüksek bir mikro ortam sağlar, yara bölgesindeki bakteriyel enfeksiyonu en aza indirir ve yara iyileşmesini kolaylaştırır (Lee ve Mooney, 2012). Ek olarak, aljinat jelleri, farmasötik alanda kapsamlı uygulamalara izin veren minimal invaziv bir şekilde ağızdan uygulanabilir veya vücuda

enjekte edilebilir. Aljinat jelleri ayrıca doku mühendisliğinde hücre nakli için umut vericidir. Doku mühendisliği, bir organ veya doku kaybı yaşayan hastalara insan yapımı doku ve organ replasmanları sağlamayı amaçlar. Bu yaklaşımda hidrojel, hücreleri istenen bölgeye ulaştırmak, yeni doku oluşumu için alan sağlamak ve tasarlanmış dokunun yapısını ve işlevini kontrol etmek için kullanılır (Lee ve Mooney, 2012).

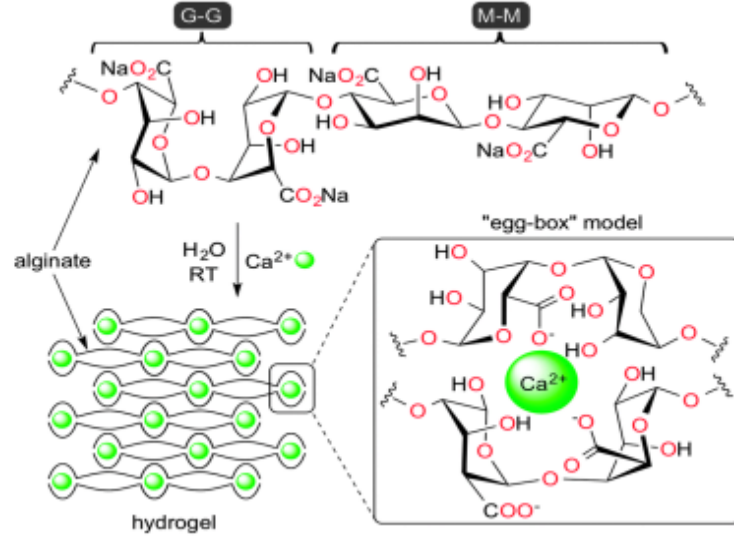
1.10.2. Aljinatın özellikleri

1.10.2.1. Çözünürlük

Aljinatın sudaki çözünürlüğü, çözücünün pH'sına, ortamın iyonik şiddetine ve çözücü içerisinde jelleştirici iyonların bulunmasına bağlıdır. Ortamın değişen iyonik şiddeti zincir uzamasını, polimer konformasyonunu, viskoziteyi ve bu nedenle de çözeltinin çözünürlüğünü etkilediği görülmektedir (Demir ve Demirdöven, 2019; Gökbulut ve Öztürk, 2018).

1.10.2.2. Seçici iyon bağlama

Aljinatın özelliklerinden biri jel oluşturabilmek için gerekli olan çok değerlikli katyonları seçerek bağlamasıdır. Genellikle kalsiyum aljinat jeli oluşturmak için CaCl_2 kullanılmakta ancak Ca^{2+} hızlı bir şekilde aljinat ile reaksiyona girdiği görülsede homojen bir hidrojel oluşturması zordur. Kalsiyum iyonu veya diğer iki veya çok değerlikli katyon içeren sulu çözeltilere aljinat solüsyonunun damla damla ilave edilmesi küresel bir jel yapı oluşumuna sebep olmaktadır. Jelleşme kapasitesi buradaki G bloklarının miktarı ile doğru orantılıdır. Bu reaksiyon hızlı bir şekilde gerçekleşir yumurta kafes adı verilen jel yapıya dönüşür. Bu jel yapının stabilitesi G bloklarının uzunluğuna, çözeltisi içerisine eklenen iyon miktarına bağlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1.7) (Gökbulut ve Öztürk, 2018).



Şekil 1.7. Aljinatın yumurta-kafes modeli (Gökbulut ve Öztürk, 2018).

1.11. Mikroenkapsülasyon

Mikroenkapsülleme işlemi, küçük parçaların veya damlaların bir kaplama ile kaplandığı homojen veya heterojen bir matris içine gömülü olduğu bir işlemdir (Poshadri ve Aparna, 2010).

1.11.1. Enkapsülasyon ve mikroenkapsülasyon

Enkapsülasyon yöntemi, kabuk veya matris içerisinde maddelerin korunmasını sağlar. Bu yöntem sonucu oluşan kapsüllerde sıvı formlar katı formlara dönüşmekte, çevre etmenlerinden korunabilmekte ambalajlama işlemlerinde birtakım kolaylıklar sağlanabilmektedir. Gıda bileşenlerinin enkapsülasyonu için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Gökbulut ve Öztürk, 2018).

Enkapsülasyondan farklı olarak mikroenkapsülasyon ise mikrometreden milimetreye değişen boyut aralığında mikrokapsül oluşumuna olanak sağlamaktadır (Gökbulut ve Öztürk, 2018).

1.11.2. Gıda endüstrisinde mikroenkapsülasyon

Mikroenkapsülasyon tekniği, gıda sektöründe ince bir film içine gömülerek kullanılan bir teknik olarak bilinir. Bu sistemlerde kullanım amacı ise çevre etkileşimini azaltarak bozulmalara karşı içteki çekirdeği korumaktır. Fiziksel bir duvar olarak kullanılan duvar materyali, aralarında oluşan kütlenin aktarımını sağlamaktadır (Gökbulut ve Öztürk, 2018).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Cihazlar ve Kullanım Amaçları

Tez çalışması süresince kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Kullanılan cihazlar ve kullanım amacı.

Adı / Modeli	Kullanım Amacı
Taramalı Elektron Mikroskopu: SEM / ZEISS EVO-LS10 (ZEISS)	Polenlerin ilaç yüklenmeden ve ilaç yüklendikten sonra karakterizasyonu için kullanılmıştır.
ATR Fourier Transform İnfrared Spektroskopi / Perkin Elmer 100 FT-IR	Polen eksin üzerinde bulunan fonksiyon gruplarını belirlemek için kullanılmıştır.
Termogravimetrik Analiz (TGA) / Mettler Toledo TGA/DSC2 Star System	Kütle kaybı ve kazanımlarının belirlenmesinde kullanılmıştır.
Mikrodalga fırın / MARS CEM, Xtraction C	Polenlerden eksin mikrokapsül eldesi için kullanılmıştır.
Manyetik karıştırıcı / WiseStir	Çözeltiler hazırlandıktan sonra homojen bir yapıya sahip olması için kullanılmıştır.
Analitik terazi / And	Tartımlar 0.0001 g duyarlıktaki analitik terazide yapılmıştır.
pH metre / Machery-Nagel	Polenler işlemlerden geçirildikten sonra nötrleşip nötrleşmediğine bakmak için kullanılmıştır.
Etüv / Memmert	Numunelerin kurutulması için kullanılmıştır.
Vortex / DWB	Hazırlanan çözeltilerin homojenize edilmesi için kullanılmıştır.
Çalkalayıcı / SI-300R	Numunelerin homojenize karışması için kullanılmıştır.
Ultraviyole Görünür Alan Spektrofotometresi (UV) / Shimadzu	D vitamini mikrokapsülleme işleminde kullanılmıştır.
Soxhlet ekstraksiyon cihazı	Etil alkol ile polenlerin temizlenmesi için kullanılmıştır.

2.2. Kullanılan Sarf Malzemeler

Tez çalışması süresince kullanılan sarf malzemeler Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2 Kullanılan sarf malzemeler.

Kullanılan Sarf Malzemeler	Kullanım Amacı
Distile Su (H ₂ O)	Çözeltilerin hazırlanması ve yıkama işlemleri için kullanılmıştır.
Hidroklorik asit (HCl)	Polenlerin demineralizasyon işlemi için kullanılmıştır.
Sodyum hidroksit (NaOH)	Polenlerin deproteinizasyon işlemi için kullanılmıştır.
Metanol	Polenlerin depigmentasyon işlemi için kullanılmıştır.
Kloroform	Polenlerin depigmentasyon işlemi için kullanılmıştır.
Ergokalsiferol (D ₂ vitamini)	Kapsülleme işlemi için kullanılmıştır.
Kolekalsiferol (D ₃ vitamini)	Kapsülleme işlemi için kullanılmıştır.
Kalsiyum klorür (CaCl ₂)	Aljinat kapsüllerin oluşmasını sağlamak için kullanılmıştır.
Etil alkol	Polenleri temizlemek ve UV-vis spektrofotometrede vitaminin salınımına takip etmek için kullanılmıştır.
Kitosan	Vitamin yüklü mikrokapsülleri kaplamak için kullanılmıştır.
Aljinat	Polen ve vitaminleri kapsüllemek için kullanılmıştır.
Whatman filtre kâğıdı	Numuneleri süzmek için kullanılmıştır.

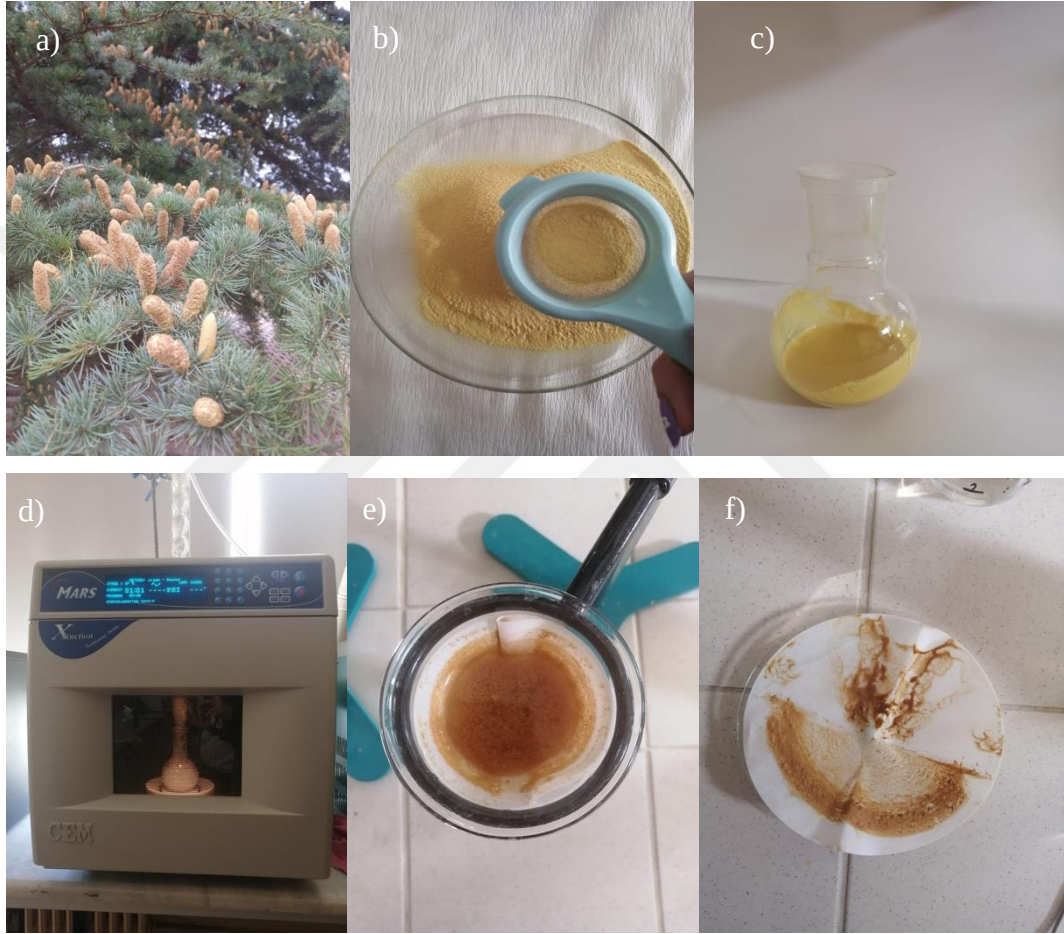
2.3. *C. libani* polenlerinin temini

Bu çalışmada kullanılan polenler Selçuk Üniversitesi Alaeddin Keykubad Yerleşkesinden Ekim 2022’de toplanmıştır. Polenlerin *C. Libani* ağacından elde edildiğini Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesinden yardım alınarak belirlenmiştir. Daha sonra temiz kağıtların üzerine yayılarak, bulaşmayı önlemek için kağıtla kapatılmış ve bir hafta oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan erkek kozalaklardan polenlerin sallanarak dökülmesi sağlanmıştır. Elde edilen polenler toz ve diğer istenmeyen partiküllerden arındırılmak üzere elenmiştir.

2.4. *C. libani* polenlerinden eksin mikrokapsüllerinin eldesi

Sporopollenin eksin kapsülleri ekstraksiyonu işleminde, polenler; demineralizasyon, deproteinizasyon ve depigmentasyon için asit, baz ve kloroform/metanol/su solüsyonu ile muamele edilmiştir. Demineralizasyon işleminde 1.0 g polen 4.0 M derişiminde 20.0 mL HCl solüsyonu kullanılarak mikrodalga fırında 400 Watt’ta 3 dakika muamele edilmiştir. Daha sonra numuneler, Whatman filtre kâğıdı ile süzülüp ardından pH nötral oluncaya kadar saf su ile yıkama yapılmıştır.

Deproteinizasyon için örnekler 4.0 M NaOH 20.0 mL solüsyonu ile mikrodalga fırında 400 Watt'ta 3 dakika muamele edilmiştir. İnkübasyonu takiben, numuneler Whatman filtre kâğıdı kullanılarak süzölmüş ve pH nötral oluncaya kadar saf su yıkanmıştır. Asit ve baz ile muamele edilmiş polen numuneleri daha sonra oda sıcaklığında kloroform/metanol/su solüsyonunda (4:2:1 hacimce) 400 Watt'ta 3 dakika muamele edilmiştir. Son olarak, sporopollenin örnekleri saf su ile iyice yıkanmıştır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. a) *C. libani* ağacı b) *C. libani* ağacının polenleri c) Polenlerin kimyasallarla muamelesi d) Mikrodalgada muamele edilmesi e) İşlem görmüş polenlerin saf su ile yıkanması f) İşlem görmüş polen.

Sporopollenler yukarıda bahsedilen işlemlerden geçtikten sonra Soxhlet sistemi içerisinde etil alkol ortamında temizlenmiştir ve burada amaç polenlerin temiz olmasını sağlamaktır. Bu işlem de çözücü olan etil alkol ısıtılarak buharlaştırılır. Etil alkolün sıcak buharı yoğunlaştırıcıya doğru ilerler ve yoğunlaşarak polenlerin üzerine düşer. Numunedeki ekstraksiyon tütünün bulunduğu yer yoğunlaşarak etil alkol ile tam dolduğunda, bypass kolunun seviyesine ulaşır ve sifon oluşarak etil alkol tekrar cam

balona ulaşır. Soxhlet sisteminde polenler temizlendikten sonra kurutulmuştur (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Soxhlet sistemi

2.5. Ekstrakte edilen eksin mikrokapsüllere D vitamini moleküllerinin yüklenmesi ve vitamin yükleme verimlerinin hesaplanması

Ayrı ayrı her kapsülleme işleminde 100.0 mg sporopollenin eksin mikrokapsüllere 2.0 mL etanol ve 40.0 mg D₂ veya D₃ vitamini solüsyon ile karıştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir ve hafif karıştırma ile homojen bir karışım haline getirilmiştir. Eksin mikrokapsüllerin nano-gözenekli duvarı boyunca vitaminin yüklenmesini kolaylaştırmak için vortexde yaklaşık 10 dakika kadar karıştırılmıştır (Şekil 2.3).

Etanol içerisindeki D₂ veya D₃ konsantrasyonunun hesaplanmasında UV-Görünür Alan Spektroskopisi kullanılmıştır. Vitamini örnekleri farklı konsantrasyonda hazırlanarak vitaminlerin 265 nm'de UV-Görünür Alan Spektroskopisi ile D₂ ve D₃ absorbansına karşı D₂ ve D₃ vitamini konsantrasyonu için kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur (Shi ve Tan, 2002).

Absorbansa karşı konsantrasyonun doğrusal regresyon analizi Microsoft Excel kullanılarak elde edilmiştir.

D₂ ve D₃ vitamininin eksin mikrokapsüllere yükleme verimleri hesaplanmıştır. Yükleme verimlerinin hesaplanması kütle ölçümlerine dayanılarak yapılmıştır. Yükleme verimini hesaplamak için öncelikle mikrokapsüller yükleme yapıldıktan sonra tartılmıştır.

Analitik terazi de tartılan mikrokapsüllerin yükleme veriminin gerçeğe daha yakın bir sonuç verebilmesi için 3 tekrar yapıp ortalaması alınarak hesaplanmıştır. D₂ vitamini için tartım sonuçlarının ortalaması 131.5 g olarak bulunmuştur. Aynı şekilde D₃ vitamini içinde tartımlar yapılmıştır. Tartım sonuçlarının ortalaması 116.0 g olarak bulunmuştur.

Başlangıçta bulunan 40.0 mg D₂ ve D₃ vitaminlerinin sırasıyla 31.5, 16.0 g yüklendiği sonucuna varılmıştır. Burada D₂ vitaminin eksin mikrokapsüllere %78.75 oranında yüklendiği, D₃ vitaminin ise %40 oranında yüklendiği görülmüştür.



Şekil 2.3. D₂ vitamini yüklenmiş eksin mikrokapsüller.

2.6. D vitamini yüklenmiş sporopollenin eksin mikrokapsüllerin aljinat ve kitosanla kaplanması

2.5 g sodyum aljinatın 50.0 mL saf su içinde çözünmesini sağlamak için 30 dakika oda sıcaklığında 1000 rpm’de karıştırılmıştır. Karışıma D₂ ve D₃ vitaminleri ayrı aljinat kaplarında ilave edildikten sonra homojenliği sağlamak için 30 dakika karıştırılmıştır. Karıştırma sırasında hava ile teması azaltmak için karıştırma kapalı bir kapta gerçekleştirilmiştir. Karışım bir bürete aktarılıp, 100.0 mL su ve 5.0 g CaCl₂ içeren çözeltiye damlatılarak kapsüller oluşturulmuştur (Şekil 2.4). Kalsiyum klorür çözeltisi içindeki mikrokapsüller filtrasyonla ortamdan alınarak ve bir kez saf su ile yıkadıktan sonra oda şartlarında kurutulmuştur. Kurutulan mikrokapsüller cam şişelerde muhafaza edilmiştir (Gökbulut ve Öztürk, 2018).



Şekil 2.4. D₂ ve D₃ vitamininden mikrokapsül eldesi.

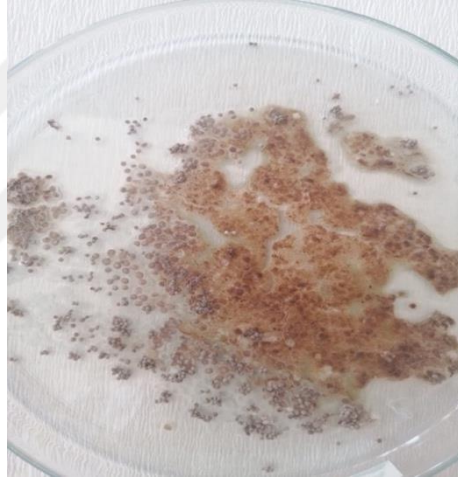
D vitamini yüklenmiş sporopollenin eksin aljinat mikrokapsüller daha sonra kitosan çözeltisine (2.0 g kitosan 100 mL %2'lik asetik asit çözeltisinde) eklenerek 1 saat bekletilmiştir (Şekil 2.5). Daha sonra mikrokapsüllerin yapışmasını önlemek için pensle teker teker ayırma işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.6). Çözeltiden çıkarılıp süzülen mikrokapsüller NaOH çözeltisine (5.0 g NaOH 100 mL saf su içinde) daldırma yöntemi ile daldırılıp çıkarıldıktan sonra kitosanla kaplanmıştır. Fakat bu işlemde mikrokapsüllerin yapısını koruyamadığı görülmüştür (Şekil 2.7). Yapısını koruyabilmek amacıyla 5.0 g CaCl₂ 100 mL suda çözünmesiyle hazırlanan çözeltiyle mikrokapsüller yıkanmıştır. Bunun sonucunda yapısını koruyabildiği fakat üzerinde bulunan CaCl₂'den dolayı vitamin salınımının olmadığı görülmüştür (Şekil 2.8). İşlemlerden sonra kitosanla kaplamanın NaOH çözeltisi ile olamayacağı ancak kitosan çözeltisine daldırıp çıkardıktan sonra kurumasıyla elde edildiği görülmüştür.



Şekil 2.5. Mikrokapsüllerin kitosanla kaplanması.



Şekil 2.6. Mikrokapsüllerin ayrılması.



Şekil 2.7. NaOH çözeltisine daldırılmış mikrokapsüller.



Şekil 2.8. CaCl_2 çözeltisi ile yıkanmış mikrokapsüller.

Yapısal olarak kararlı formülasyondaki mikrokapsüllerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri alınarak yüzey özellikleri, boyutları ve boyut dağılımları belirlenmiştir.

2.7. D vitamini-eksin mikrokapsül-aljinat-kitosan sisteminin salınım şartlarının belirlenmesi

Salınım testlerini yapabilmek için öncelikle kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Grafikleri oluşturmak için ayrı ayrı 2.0 mL etil alkol içerisine 40.0 mg D₂ veya D₃ vitaminleri eklenerek vortexde karıştırılmıştır. Daha sonra ise bu karışıma 100.0 mg sporopollenin eklenip vortexde tekrardan karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımdan 10.0 mg alınıp daha sonra üzerine tekrardan 10.0 mL etil alkol eklenip karışım seyreltilmiştir. Seyreltilen karışımdan 1.0 mL daha alınıp üzerine 1.0 mL etil alkol eklenip seyreltme işlemi bu şekilde sonlandırılmıştır (Shi ve Tan, 2002)..

Karışımlar UV-Görünür Alan Spektroskopisi ile ölçüldükten sonra absorbansları alınıp kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Bu eğrilerden faydalanılarak mikrokapsüllerin salınımları ölçülmüştür.

Mikrokapsüller hazırlandıktan sonra farklı sıcaklık (4, 20 ve 37°C), ve farklı sürelerde (30, 60, 120, 240 dk) salınım testleri yapılmıştır. Salınım süresini belirlemek için oda sıcaklığında 20 °C'da 15.0 mg mikrokapsül 3.0 mL etil alkol içerisinde 100 rpm'de çalkayıcıda karıştırılmıştır. Süre belirlendikten sonra farklı sıcaklıkların etkisi çalışılmıştır.

3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

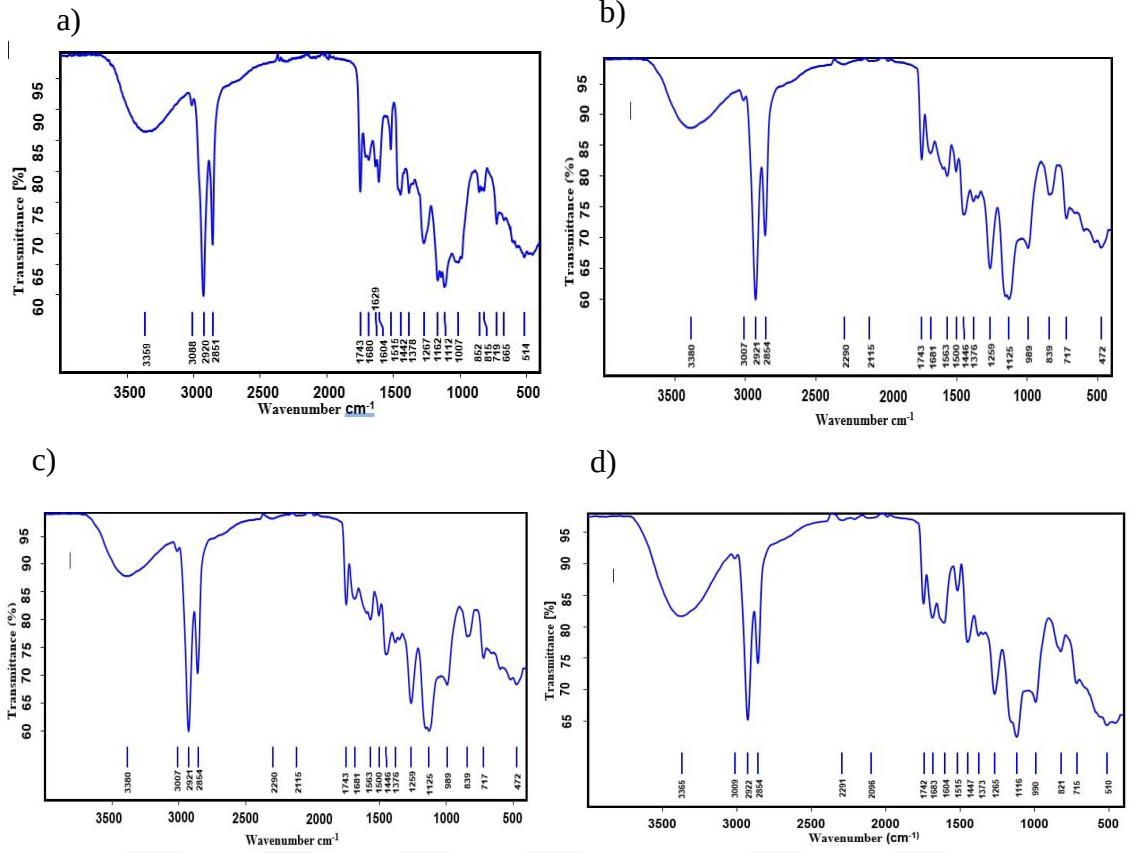
3.1. Eksin Karakterizasyonu

FT-IR spektrumu:

İşlem görmemiş ve kimyasal işlemlere maruz kaldıktan sonraki polenin ile FT-IR spektrumları alınmıştır (Şekil 3.1 a-d). Spektrumlar, ekstraksiyondan önce asit muamelesi yapılmıştır. Asit muamelesinden sonra polenin spektrumunda absorpsiyon bant değerlerinde farklılaşma ve kaymalar gözlemlenmiştir (Şekil 3.1 a-b). Asit sonrası, alkali işlem muamele edilmiştir, fakat spektrumlarda belirgin bir fark gözlemlenmemiştir (Şekil 3.1 b-c). Bu durum ekstraksiyon işleminin yüzey fonksiyonel gruplarda gözlemlenebilir bir fark oluşturmadığı şeklinde yorumlanabilir. Son işlem basamağında numuneler kloroform+metanol+su karışımında mikrodalga ışımaya maruz bırakılarak eksin yapılar izole edilmiştir. Bu basamak sonrasında FT-IR spektrumunda farklılaşmalar gözlemlenmiştir (Şekil 3.1 c-d).

C. libani poleni spektrumunda moleküller arası -OH bağ piki 3359 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. 2920 ve 2851 cm^{-1} 'de kaydedilen iki pik, alifatik C-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. -CNH bağlarının absorpsiyon piki ise 2851 cm^{-1} 'de gözlemlenmiştir. 1112 cm^{-1} 'de ortaya çıkan pik, selülozun C-O-C gerilme titreşimi ile ilişkilendirilebilir (Şekil 3.1 a) (Akyuz ve ark., 2017).

Sporopolleninin kimyasal yapısı kesin olarak tanımlanmamıştır. Bununla birlikte, bazı araştırma grupları, uzun zincirli yağ asitleri ve aromatik gruplar gibi bazı fonksiyonel sporopollenin gruplarını ortaya çıkarmış ve bunların nitrojen içermediği bulunmuştur (Domínguez ve ark., 1999b; Watson ve ark., 2007; Diego-Taboada ve ark., 2014). Ekstrakte edilmiş *C. libani* sporopollenin spektrumunda, işlem görmemiş *C. libani* polenin spektrumu ile karşılaştırıldığında, bazı pik değerlerinde değişiklikler gözlenmiştir (Şekil 3.1 d). Ayrıca eksin (sporopollenin) spektrumunda yeni pikler ortaya çıkmıştır. Polen spektrumundaki geniş -OH bağ piki noktası 3365 cm^{-1} 'ye kaymıştır. 1447 cm^{-1} 'deki bant, C-O-H deformasyon titreşimi ile ilişkilendirilebilir. 2922 ve 2854 cm^{-1} 'deki keskin pikler, doymamış yağ asitlerinin alifatik C-H gerilmesinden kaynaklandığı şeklinde yorumlanabilir. Sporopollenin yapılarının alifatik C=C gerilme bandı 1604 cm^{-1} 'de tespit edilmiştir (Akyuz ve ark., 2017). Literatürdeki spektrum karşılaştırmaları *C. libani* polenlerinden izole edilen eksin yapılarının sporopolleninden oluştuğunu desteklemektedir (Muhtaba ve ark., 2022).

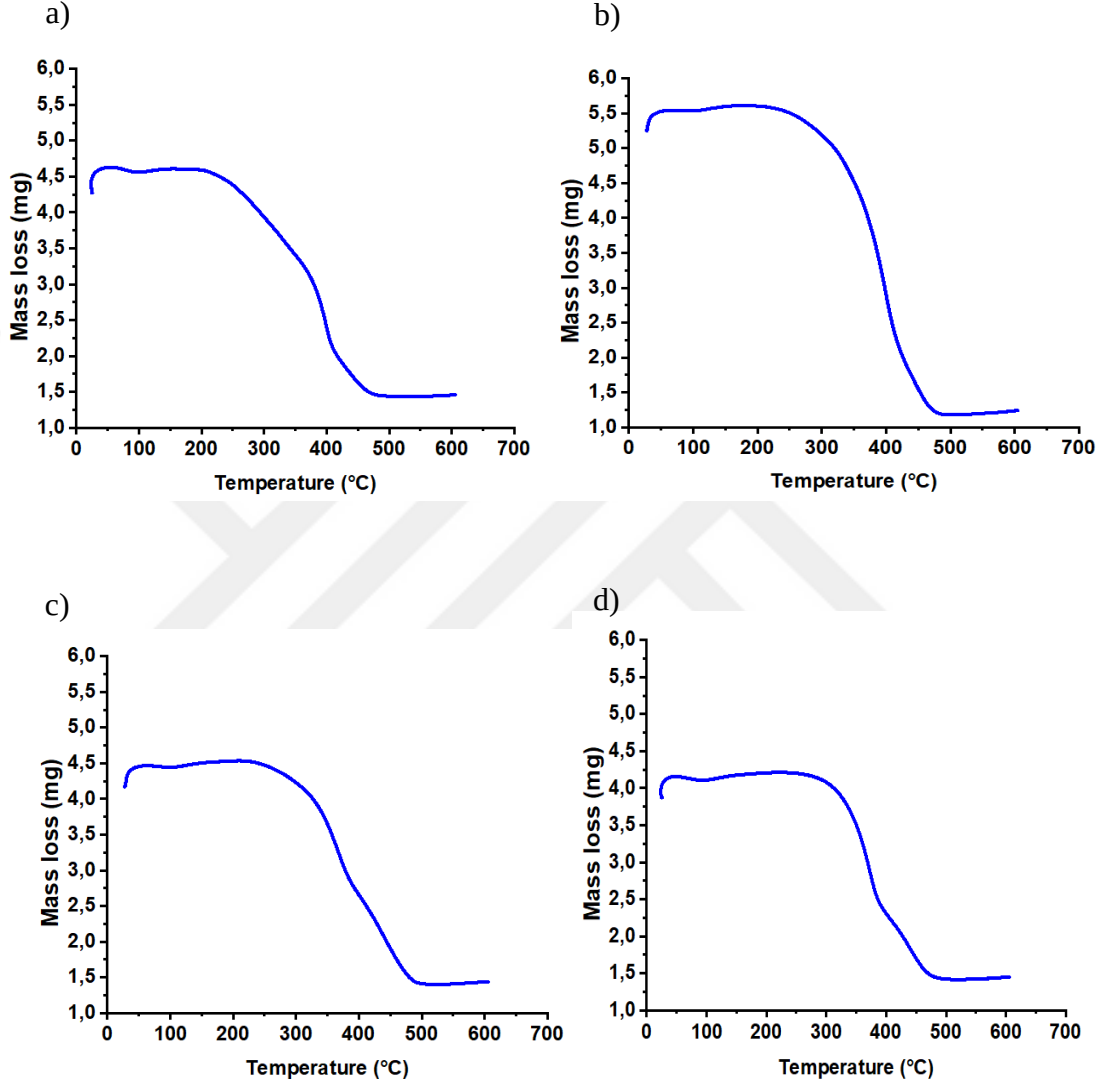


Şekil 3.1. a) Saf polenin FT-IR spektrumu b) Asit ile muamele edilmiş polenin FT-IR spektrumu c) Asit+baz ile muamele edilmiş polenin FT-IR spektrumu d) Asit+baz+kloroform+metanol+su muamele edilmiş polenin FT-IR spektrumu.

TGA analizleri:

Çalışmada kullanılan polen ve izole edilen eksinin termal kararlılıklarının değerlendirilmesi Termal Gravimetrik Analiz (TGA) ile gerçekleştirilmiştir. Analizde işlenmemiş polenin yaklaşık 250°C'ye kadar kütleini koruduğu 250°C'den sonra kütle kaybının gerçekleştiği, kütledeki kaybın yaklaşık 450°C'ye kadar devam ettiği görülmüştür. Daha sonra eksin izolasyonu aşamasında asit ile muamele edildikten sonra polendeki kütle kaybının 300°C'den sonra başladığı görülmüştür. Bu durum saf halde bulunan polenin düşük sıcaklıklarda ayrışabilen organik yapılar içerdiği ve yapılan asit işlemi sonucu içeriğindeki bu yapıların uzaklaştırıldığı şeklinde yorumlanabilir. Baz ve kloroform/metanol/su ile muamelesinden sonra ise bir organik bileşik kaybından dolayı kütle kaybının gittikçe yüksek sıcaklıklarda başladığı görülmüştür (Şekil 3.2). Eksinlerin ekstrakte edildikleri polenlerden daha yüksek termal kararlılık göstermeleri literatürde farklı çalışmalarda da rapor edilmiştir (Mujtaba ve ark., 2017; Sargin ve ark., 2017). Bu

çalışmalar eksin yapısının temel bileşenin sporopollenin olduğunu rapor etmiştir. Sporopolleninin termal ve mekanik kararlılığı yüksek ve aynı zamanda kimyasal ataklara ve biyolojik etkilere karşı dirençli bir polimer olduğu bilinmektedir (Li ve ark., 2019; Atalay ve ark., 2022).



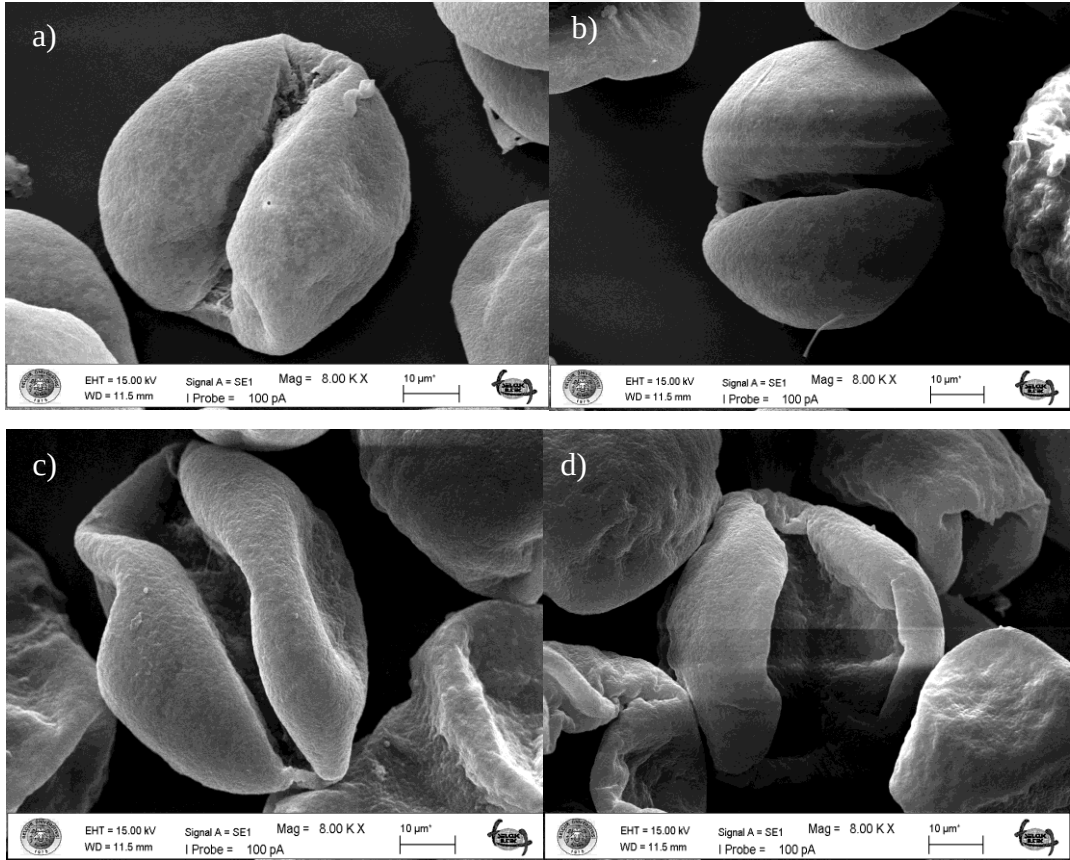
Şekil 3.2. a) Saf polenin TGA analizi b) Asit ile muamele edilmiş polenin TGA analizi
c) Asit+baz ile muamele edilmiş polenin TGA analizi d) Asit+baz+kloroform+metanol+su muamele edilmiş polenin TGA analizi.

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM):

Eksin yapılar:

C. libani polenlerinin (Şekil 3.3 a) ve ekstrakte edilen eksin yapılarının (Şekil 3.3 b-d) Taramalı Elektron Mikroskobundaki görüntüsü alınarak kimyasal ekstraksiyon işleminin polen yapılarının morfolojik özelliklerine etkisi incelenmiştir. Ekstraksiyon

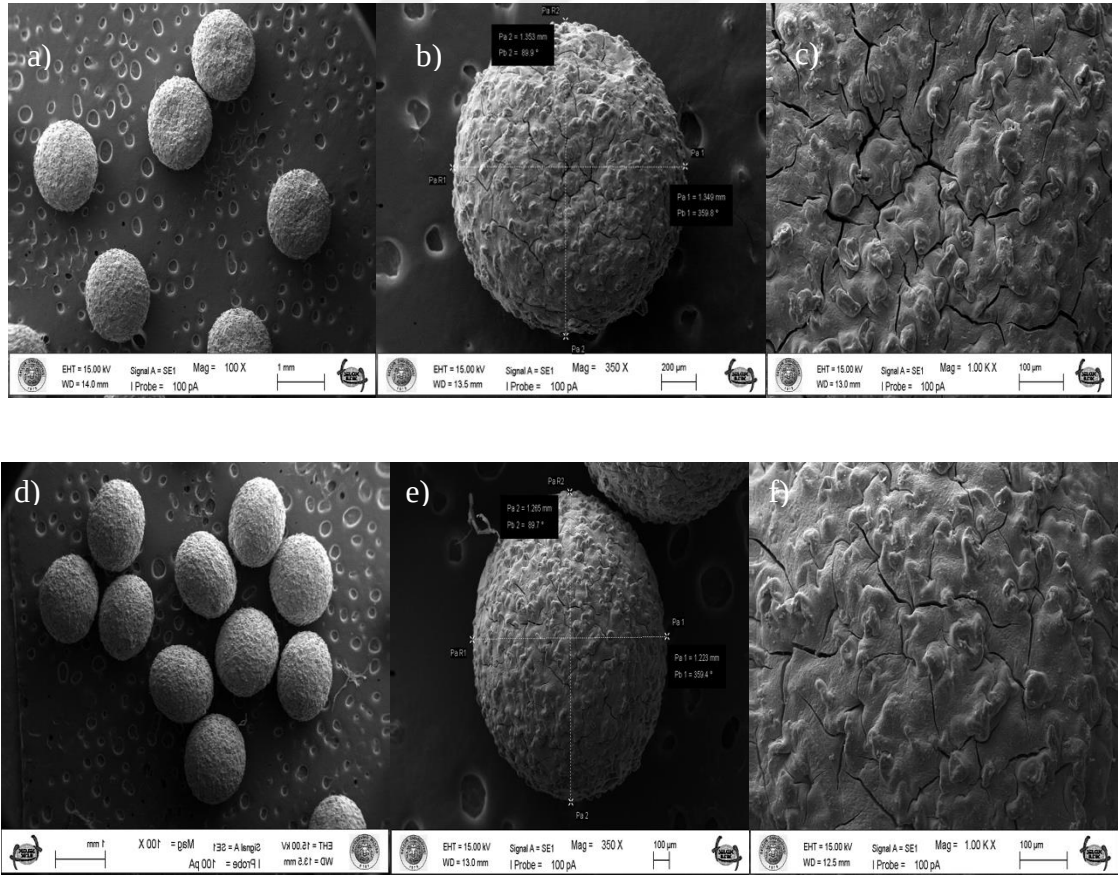
işlemi polenler asit ile mikrodalga ışıma altında muamele edilerek başlamıştır. Bu işlem sonrasında polenin yüzeyinde çıkıntılar oluştuğu görülmüş ve mineraller uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.3 b). Daha sonra baz aşamasına geçildi ve işlem sonucunda polen üzerinde çıkıntıların arttığı gözlemlenmiştir. Bu durum alkali işlemin polen yapısındaki protein benzeri yapıların ulaştırma da etkili olduğunu göstermiştir (Şekil 3.3 c). En son aşama da ise metanol, kloroform, su karışımı kullanılarak polenlerin tamamıyla içi boşaltılmış yapıdaki pigmentler ve yağimsı moleküller uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.3 d). İçi boşaltılan aynı zamanda da yapısal bütünlüğü korunan eksin yapılar vitamin yüklemeye hazır hale getirilmiştir. Tez çalışmasında *C. libani* polenlerinden eksin yapıların ekstraksiyonunda literatürde rapor edilen kimyasal işlemler takip edilmiştir (Mujtaba ve ark., 2017; Sargin ve ark., 2017). Ekstraksiyondaki ısı işlemler yerine mikrodalga fırın kullanılarak 400W enerji seviyesinde 3 dakika süresince mikrodalga ışımaya polenler maruz bırakılarak literatürden farklı bir yol izlenmiştir. Böylece saatlerce süren işlemler yerine mikrodalga ışıma yardımı ile ekstraksiyon işlemlerinin daha kısa sürede olabildiği gözlemlenmiştir.



Şekil 3.3. a) Saf polen b) Asit ile muamele edilmiş polen c) Asit+baz ile muamele edilmiş polen d) Asit+baz+kloroform+metanol+su ile muamele edilmiş polen.

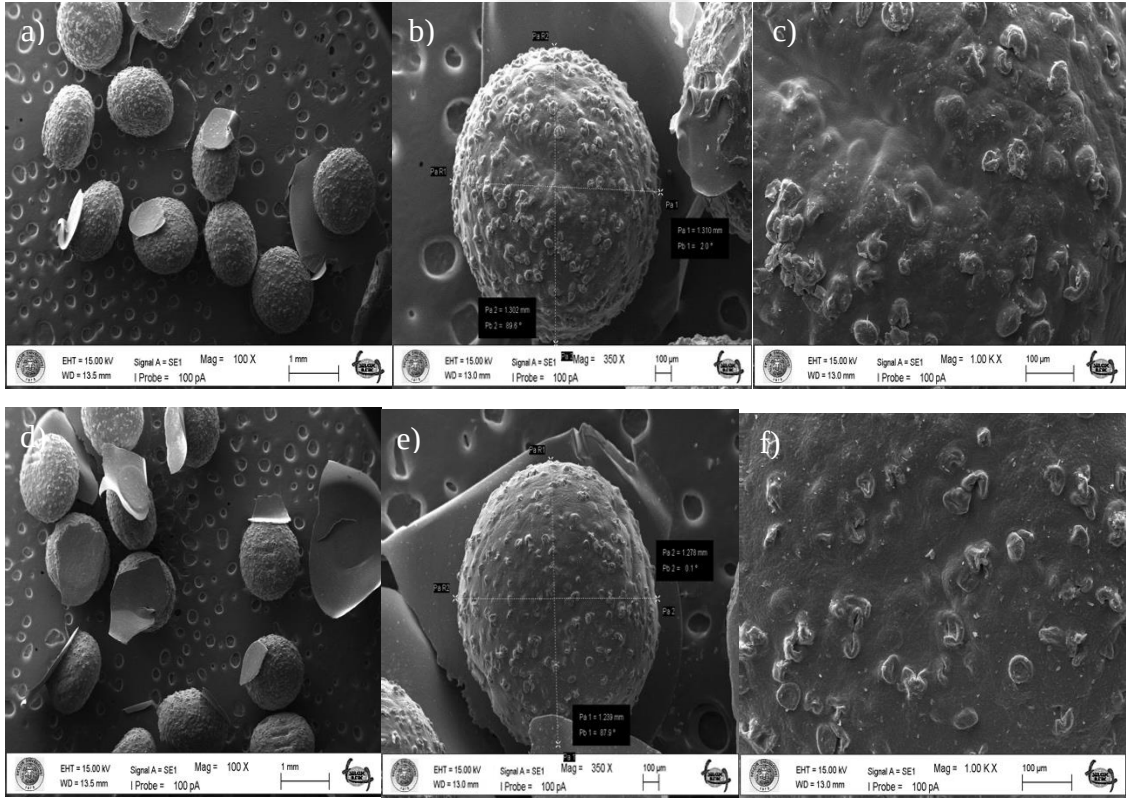
Eksin mikrokapsüllere vitamin yüklendikten sonra aljinat ile kaplama yapılmıştır. Oluşturulan mikrokapsüllere 100X, 350X, 1.000X boyutlarda SEM ile yüzey morfolojisi belirlenmiştir (Şekil 3.4). D₂ ve D₃ vitamini yüklü eksin taneciklerinin aljinat matriks içerisine gömüldüğü ve eksin kapsüllerin mikroküre üzerinde heterojen bir dağılım gösterdiği gözlemlenmiştir. Aynı zamanda eksin-aljinat mikrokapsüllerin şeklinin küreselliğe yakın olduğu (Şekil 3.4 a-d) ve boyutlarının birbirine yakın olduğu görülmüştür. D₂-eksin-aljinat kürelerinin ve D₃-eksin-aljinat kürelerinin boyutlarının yaklaşık 1.3 mm olarak tespit edilmiştir (Şekil 3.4 b-e).

Mikrokapsüllerin yüzeylerine yüksek magnifikasyonlarda çatlakların olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.4 c-f). Çatlakların kuruma aşamasında oluştuğu değerlendirilmiştir. Bu durum D₂ veya D₃ yüklü eksin mikrokapsüllerin sadece aljinat matriksle beraber kullanıldığı zaman çatlak oluşumundan dolayı mikrokapsüllerin salınım özellikleri öngörülebilir olmayabilir. Bu durumda kapsüllerin vitamin desteği olarak kullanımını kısıtlayabileceği düşünülmektedir.



Şekil 3.4. D₂ (a, b ve c) ve D₃ (d, e ve f) vitamini yüklü eksin-aljinat mikrokapsüller.

Çalışmamızda D vitamini eksin aljinat mikrokapsül yapıları oluşturulduktan sonra kitosan ile muamele edilerek yüzeyleri kaplanmıştır (Şekil 3.5). Kitosanla kaplanan mikrokapsüllerin şekillerinin küreselliğe yakın olduğu, boyutlarının birbirine yakın olduğu ve üzerinde kitosanın ince bir tabaka halinde varlığını gösterdiği (Şekil 3.5 a ve d) görülmüştür. Yapılan kaplama ile vitamin yüklü mikrokapsüllerin boyutlarının yaklaşık 1.3 mm olduğunu ve aljinat ile kaplamaya göre boyutlarında fazla bir değişiklik olmadığını, kitosanla kaplanan mikrokapsüllerde kitosanın fazlasının mikrokapsüllerin kurutulması aşamasında yüzeyinden sızarak zemine yayıldığı ve orada kuruduğu SEM görüntüsünden belirlenmiştir (Şekil 3.5 b ve e). D vitamini-eksin-aljinat mikrokapsüllerin yüzeyindeki çatlaklar kitosan ile kaplama sonrasında kapanmıştır (Şekil 3.5 c ve f). Kitosanla kaplama yapılmasına rağmen yüzeydeki D vitamini-eksin mikrokapsüllerin görünür olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.5 c ve f).

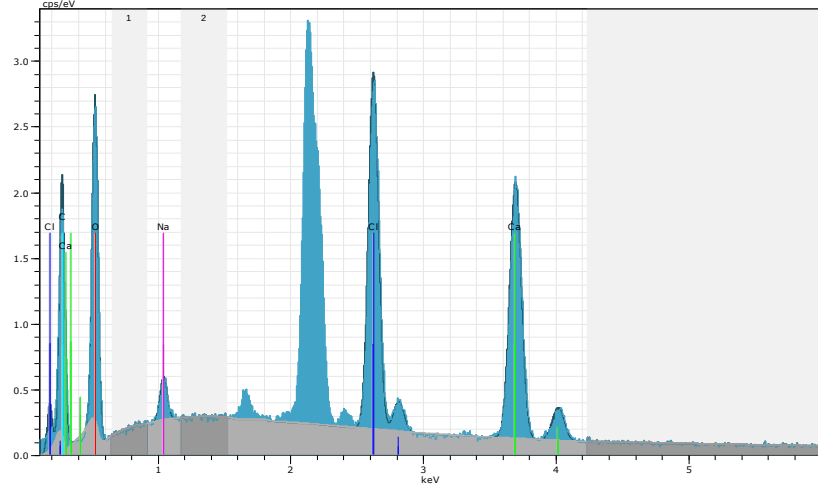


Şekil 3.5. D₂ (a, b ve c) ve D₃ (d, e ve f) vitamini yüklü eksin-aljinat-kitosan mikrokapsüller.

SEM-EDX analizi:

Çalışmada hazırlanan mikrokapsüllerin SEM-EDX analizi ile yüzey kimyasal kompozisyonları aydınlatılmaya çalışılmıştır. Yapılan analiz sonucunda sadece aljinat ile kaplanan mikrokapsüllerin O, Ca, Cl, C, Na içerdiğini ve ağırlıkça daha fazla O içerdiği

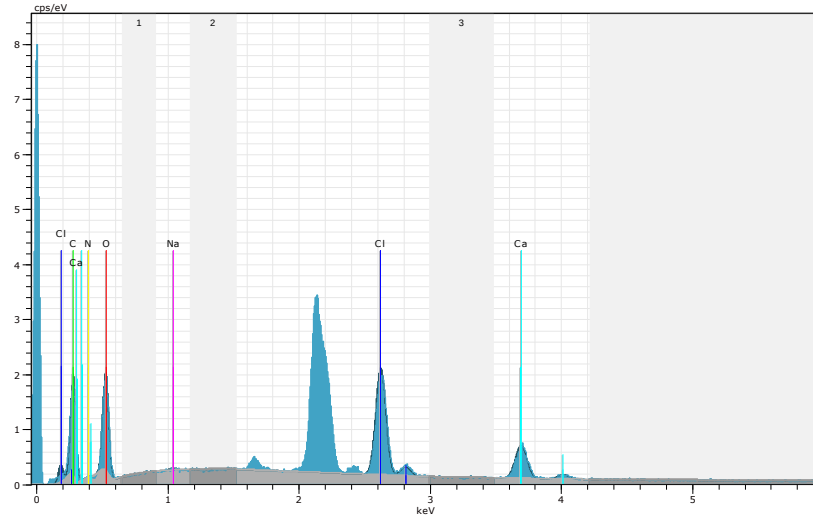
görülmüştür (Çizelge 3.1 ve 3.3). Kitosanla kaplandıktan sonra ise mikrokapsüllerin N içerdiği tespit edilmiştir. Eksin mikrokapsüllerin yapısını oluşturan sporopollenin yapısında N içeren gruplar olmadığından, tespit edilen N varlığının kitosandan kaynaklandığı yorumu yapılabilir (Çizelge 3.2 ve 3.4). SEM-EDX analiz sonuçları D₂ veya D₃ vitamini yüklü eksin-aljinat mikrokapsüllerin kitosanla kaplandığını göstermektedir.



Şekil 3.6. D₂ vitamini-eksin-aljinat mikrokapsülleri SEM-EDX profilleri.

Çizelge 3.1. D₂ vitamini-eksin-aljinat mikrokapsüllerin SEM-EDX analiz sonuçları.

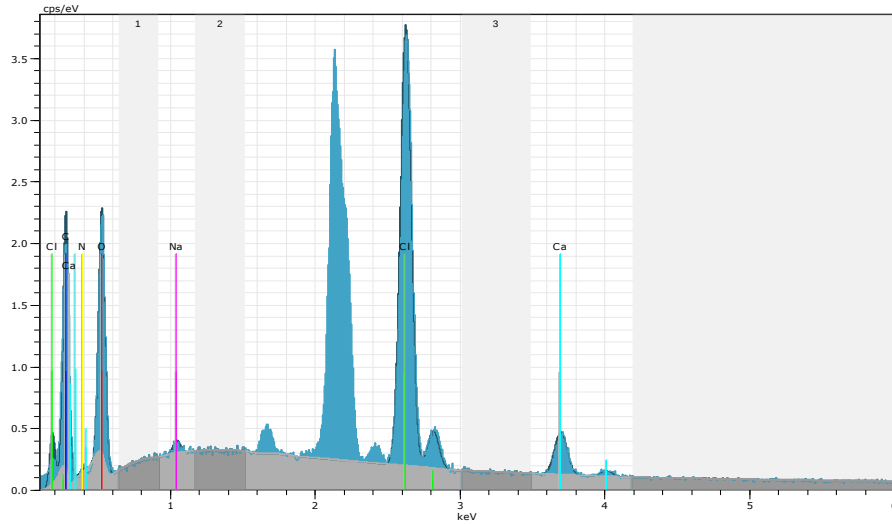
Element	Ağırlık [%]	Atomik [%]	Hata [%]
Oksijen	65.92	65.41	9.6
Kalsiyum	6.39	2.53	4.1
Klor	4.83	2.16	17.3
Karbon	22.37	29.56	0.1
Sodyum	0.49	0.34	0.2



Şekil 3.7. D₂ vitamini-eksin-aljinat-kitosan mikrokapsülleri SEM-EDX profilleri.

Çizelge 3.2. D₂ vitamini-eksin-aljinat-kitosan mikrokapsüllerin SEM-EDX analiz sonuçları.

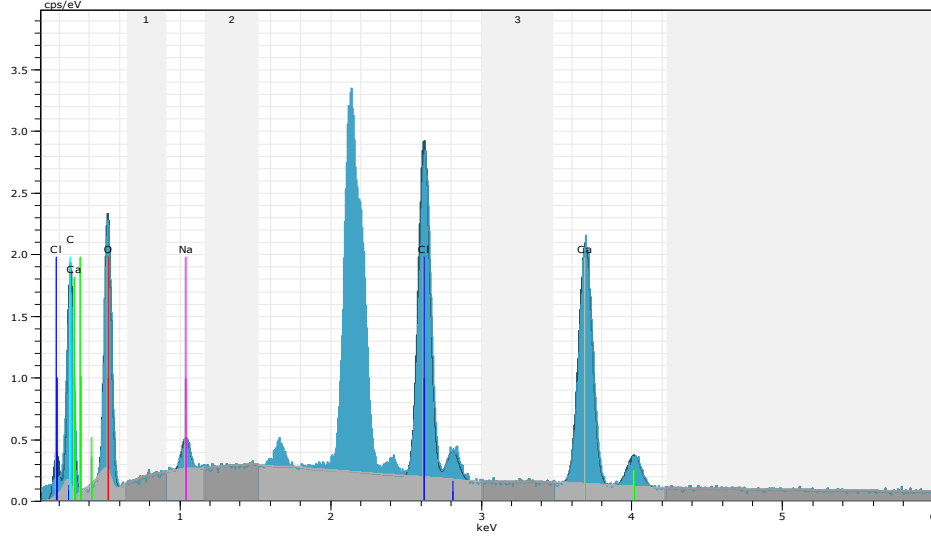
Element	Ağırlık [%]	Atomik [%]	Hata [%]
Oksijen	65.77	62.16	21.2
Kalsiyum	2.01	0.76	0.1
Klor	3.61	1.54	0.1
Karbon	26.07	32.83	9.0
Sodyum	0.06	0.04	0.0
Azot	2.47	2.67	1.8



Şekil 3.8. D₃ vitamini-eksin-aljinat mikrokapsülleri SEM-EDX profilleri.

Çizelge 3.3. D₃ vitamini-eksin-aljinat mikrokapsüllerin SEM-EDX analiz sonuçları.

Element	Ağırlık [%]	Atomik [%]	Hata [%]
Oksijen	65.28	64.48	21.3
Kalsiyum	5.98	2.36	0.2
Klor	5.07	1.54	0.1
Karbon	23.28	30.63	8.4
Sodyum	0.39	0.27	0.1



Şekil 3.9. D₃ vitamini-eksin-aljinat-kitosan mikrokapsülleri SEM-EDX profilleri.

Çizelge 3.4. D₃ vitamini-eksin aljinat-kitosan mikrokapsüllerinin SEM-EDX analiz sonuçları.

Element	Ağırlık [%]	Atomik [%]	Hata [%]
Oksijen	653.80	60.82	20.6
Kalsiyum	1.10	0.42	0.1
Klor	6.12	2.63	0.2
Karbon	25.56	32.46	8.9
Sodyum	0.13	0.09	0.0
Azot	3.29	3.58	2.2

3.2. Mikrokapsüllerden D₂ veya D₃ vitamini salınımı

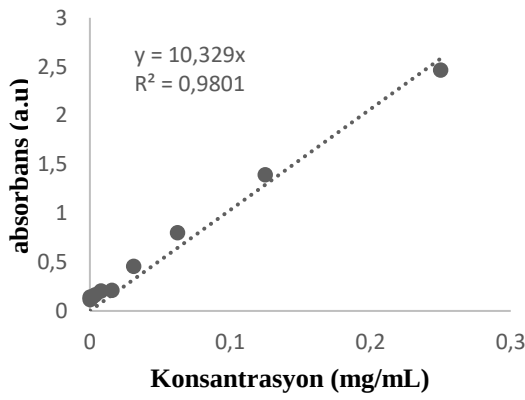
Vitamin yüklü mikrokapsüllerden D₂ veya D₃ salınımı UV-Görünür Alan Spektroskopisi ile incelenmiştir. D₂ veya D₃ vitaminleri sulu ortamda ve su alkol karışımında kollodial parçacıklar oluşturarak opak bir görünüm sergilediğinden UV-Görünür Alan Spektroskopisi ile absorbans ölçümlerinin yapılması mümkün değildir. D₂ ve D₃ vitaminleri suda çözünmediği için etil alkol ortamında salınım çalışmaları

yapılmıştır. (Şekil 3.10). Salınım çalışmalarından önce kalibrasyon grafiği oluşturulmuş ve salınım testleri sırasındaki ölçümlerde bu kalibrasyon grafikleri referans alınmıştır.

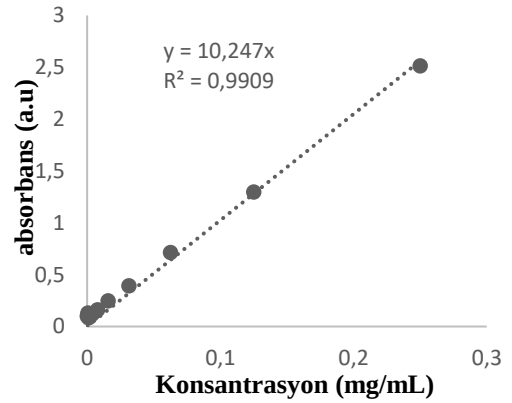


Şekil 3.10. D₂ molekülünün sulu ortamda su-alkol karışımı.

Salınım çalışmaları farklı süre ve sıcaklıklarda sıcaklık ayarlı çalkalayıcıda yapılmıştır.



Şekil 3.11. D₂ vitamini kalibrasyon eğrisi.



Şekil 3.12. D₃ vitamini kalibrasyon eğrisi.

Zamana göre salınım:

Mikrokapsüllerden zamana göre D₂ ve D₃ salınım 30, 60, 120 ve 240 dakikada 37°C’de test edilmiştir. Zamana bağlı absorbans değerleri ve absorbans değerlerinden hesaplanan salınım yüzdeleri Çizelgeler 3.5 ve 3.6’da verilmiştir. Oluşturulan tablolardan vitamin salınımının her iki vitamin içinde sürenin artmasına bağlı olarak arttığı görülmüştür.

Çizelge 3.5. D₂ vitaminin zamana göre salınımı.

Zaman [dk.]	Absorbans [a.u.]	İlaç Salınımı [%]
30	0.269	2.6
60	0.324	3.1
120	0.451	4.3
240	0.513	4.9

Çizelge 3.6. D₃ vitaminin zamana göre salınımı.

Zaman [dk.]	Absorbans [a.u.]	İlaç Salınımı [%]
30	0.202	1.8
60	0.238	2.3
120	0.463	4.4
240	0.524	5.0

Sıcaklığa göre salınım:

Sıcaklığa bağlı olarak ilaç salınımları ise 120 dakika baz alınıp 4, 20, 37°C’de yapılmıştır (Çizelgeler 3.7 ve 3.8). En yüksek salınımı her iki vitamin için 37°C olarak tespit edilmiştir.

Salınım çalışmalarında hem D₂ hem de D₃ için düşük salınım değerleri gözlemlendi. Çalışmada D₂ hem de D₃ vitaminleri önce eksin mikrokapsüllere yüklendi, sonrasında eksin mikrokapsüller aljinat matriks içinde dağıtılarak enkapsüle edildi ve nihayetinde yüzeyi kitosanla kaplandı. Hem aljinat hem de kitosan sulu ortamda çözünebilen, alkolde çözünemeyen biyopolimerlerdir. Kitosan özellikle düşük pH’larda sulu ortamda daha kolay çözünür. Salınım çalışmaları sulu ortam yerine alkolde yapıldığından kitosan kaplama ve altındaki aljinat matriks çözülmeden kaldı. Bu durum, aljinat matriks içinde gömülü olan D₂ ve D₃ vitaminleri yüklü eksin mikrokapsüllere çözücünün ulaşmasını ve aynı zamanda kısmen olan çözünmüş D₂ ve D₃ vitaminlerinin ortama salınımını engellediği şeklinde değerlendirilebilir.

Çizelge 3.7. D₂ vitaminin sıcaklığa göre salınımı.

Sıcaklık [°C]	Zaman [dk.]	Absorbans [a.u.]	İlaç Salınımı [%]
4	120	0.336	3.2
20	120	0.420	4.0
37	120	0.451	4.3

Çizelge 3.8. D₃ vitaminin sıcaklığa göre salınımı.

Sıcaklık [°C]	Zaman [dk.]	Absorbans [a.u.]	İlaç Salınımı [%]
4	120	0.082	0.80
20	120	0.090	0.86
37	120	0.463	4.40

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

4.1 Sonuçlar

Yapılan tez çalışması *C. libani* polenlerinden eksin mikrokapsüllerin mikrodalga destekli kimyasal yöntemle ekstrakte edilebileceğini göstermiştir. Çalışmada ısı enerjisi yerine mikrodalga kullanılması işlem süresini ve enerji tüketimini azaltmada etkili olmuştur. *C. libani* polenlerinden izole edilen eksin mikrokapsüller mikrodalga muamelesinden sonra yapısal bütünlüklerini muhafaza etmiştir. *C. libani* polenlerinden eksin mikrokapsüllere etanol ortamında ağırlıklarının yaklaşık 1/3'ü kadar D₂ ve D₃ vitaminlerini başarılı bir şekilde yüklenebilmiştir. Aljinatın, D₂ ve D₃ vitaminleri yüklenmiş eksin mikrokapsülleri enkapsüle etmek için uygun bir matriks olduğu görülmüştür. D₂ veya D₃ vitaminleri yüklenmiş eksin-aljinat mikrokapsülleri kitosanla kaplanarak yapısal kararlılıkları artırılmıştır. D₂ veya D₃ vitaminleri eksin-aljinat-kitosan mikrokapsül sistemlerinden D₂ veya D₃ vitaminlerinin salımının farklı süre ve sıcaklıklarda gerçekleştiği görülmüştür.

4.2 Öneriler

D₂ veya D₃ vitaminleri eksin-aljinat-kitosan mikrokapsül sistemleri hazırlamada *C. libani* polenleri yerine farklı polenler kullanılabilir. D₂ veya D₃ vitaminleri eksin-aljinat-kitosan mikrokapsül sistemlerinin fizyolojik ortamda etkinliğinin *in vivo* hayvan testlerinde araştırılması gereklidir. *In vivo* testlerin sonucuna göre D₂ veya D₃ vitaminleri eksin-aljinat-kitosan mikrokapsül sistemler için klinik testler gerçekleştirilebilir. Ayrıca bu D vitamini sistemleri farklı çiftlik hayvanlarının yem varyasyonlarında test edilebilir.

KAYNAKLAR

- Agulló, E., Rodríguez, M. S., Ramos, V. ve Albertengo, L., 2003, Present and future role of chitin and chitosan in food, *Macromolecular bioscience*, 3 (10), 521-530.
- Akyuz, L., Sargin, I., Kaya, M., Ceter, T. ve Akata, I., 2017, A new pollen-derived microcarrier for pantoprazole delivery, *Materials Science and Engineering: C*, 71, 937-942.
- Altıntaş, A., Vitamin D Yetersizliği ve Obezite, *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 58 (2), 108-116.
- Altunkaynak, B. Z. ve Özbek, E., 2006, Obezite: nedenleri ve tedavi seçenekleri, *Van Tıp Dergisi*, 13 (4), 138-142.
- Andonovic, Z. ve Ivanova, V., 2014, Grape pomace application in environmental studies: from waste to natural food preservative and source of biofuel.
- Atalay, F. E., Culum, A. A., Kaya, H., Gokturk, G. ve Yigit, E., 2022, Different plant sporopollenin exine capsules and their multifunctional usage, *ACS Applied Bio Materials*, 5 (3), 1348-1360.
- Atalay, İ., 1987, Sedir Ormanlarının yayılış gösterdiği alanlar ve yakın çevresinin genel ekolojik özellikleri ile sedir tohum transfer rejyonlaması, *OGM Yayın* (663).
- Avşar, E. ve Şahiner, D. L., 2020, D Vitamini? ne Genel Bir Bakış, *Akdeniz Tıp Dergisi*, 6 (2), 168-174.
- Balcı, C. ve Toktaş, N., D Vitamini Sentezi, Metabolizması Ve Sağlık Üzerine Etkileri, *Gazi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6 (1), 34-47.
- Baran, T., Sargin, I., Kaya, M., Menteş, A. ve Ceter, T., 2017, Design and application of sporopollenin microcapsule supported palladium catalyst: Remarkably high turnover frequency and reusability in catalysis of biaryls, *Journal of Colloid and Interface Science*, 486, 194-203.
- Bennett, K. D. ve Willis, K. J., 2001, Pollen, In: Tracking Environmental Change Using Lake Sediments: Terrestrial, Algal, and Siliceous Indicators, Eds: Smol, J. P., Birks, H. J. B., Last, W. M., Bradley, R. S. ve Alverson, K., *Dordrecht: Springer Netherlands*, p. 5-32.
- Bilbao-Sainz, C., Chiou, B.-S., Williams, T., Wood, D., Du, W.-X., Sedej, I., Ban, Z., Rodov, V., Poverenov, E. ve Vinokur, Y., 2017, Vitamin D-fortified chitosan films from mushroom waste, *Carbohydrate polymers*, 167, 97-104.
- Bischoff, H. A., Stähelin, H. B., Dick, W., Akos, R., Knecht, M., Salis, C., Nebiker, M., Theiler, R., Pfeifer, M. ve Begerow, B., 2003, Effects of vitamin D and calcium supplementation on falls: a randomized controlled trial, *Journal of Bone and Mineral Research*, 18 (2), 343-351.
- Bischoff-Ferrari, H. A., Kiel, D. P., Dawson-Hughes, B., Orav, J. E., Li, R., Spiegelman, D., Dietrich, T. ve Willett, W. C., 2009, Dietary calcium and serum 25-hydroxyvitamin D status in relation to BMD among US adults, *Journal of Bone and Mineral Research*, 24 (5), 935-942.
- Bouchard, C. ve Tremblay, A., 1990, Genetic effects in human energy expenditure components, *International journal of obesity*, 14, 49-55; discussion 55.
- Bouchard, C., Tremblay, A., Després, J.-P., Nadeau, A., Lupien, P. J., Thériault, G., Dussault, J., Moorjani, S., Pinault, S. ve Fournier, G., 1990, The response to long-term overfeeding in identical twins, *New England Journal of Medicine*, 322 (21), 1477-1482.
- Boucher, B., 1998, Inadequate vitamin D status: does it contribute to the disorders comprising syndrome 'X'?, *British Journal of Nutrition*, 79 (4), 315-327.

- Bowles, N. P., Karatsoreos, I. N., Li, X., Vemuri, V. K., Wood, J.-A., Li, Z., Tamashiro, K. L., Schwartz, G. J., Makriyannis, A. M. ve Kunos, G., 2015, A peripheral endocannabinoid mechanism contributes to glucocorticoid-mediated metabolic syndrome, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112 (1), 285-290.
- Boydak, M., 1986, Lübnan (Toros) Sedirinin (*Cedrus libani* A. Rich.) Yayılışı, Ekolojik ve Silvikültürel Nitelikleri, Doğal ve Yapay Gençleştirme Sorunları (Occurrence, Ecological and Silvicultural Characteristics of *Cedrus libani* A. Rich., and Its Natural and Artificial Re, *Ormancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 32 (2).
- Boydak, M., 1996, Ecology and silviculture of cedar of lebanon (*Cedrus libani* A. Rich.) and conservation of its natural forests.
- Boydak, M., 2003, Regeneration of Lebanon cedar (*Cedrus libani* A. Rich.) on karstic lands in Turkey, *Forest Ecology and Management*, 178 (3), 231-243.
- Cauley, J. A., LaCroix, A. Z., Wu, L., Horwitz, M., Danielson, M. E., Bauer, D. C., Lee, J. S., Jackson, R. D., Robbins, J. A. ve Wu, C., 2008, Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and risk for hip fractures, *Annals of internal medicine*, 149 (4), 242-250.
- Chapuy, M., Pamphile, R., Paris, E., Kempf, C., Schlichting, M., Arnaud, S., Garnero, P., Garnero, P. ve Meunier, P., 2002, Combined calcium and vitamin D3 supplementation in elderly women: confirmation of reversal of secondary hyperparathyroidism and hip fracture risk: the Decalyos II study, *Osteoporosis International*, 13, 257-264.
- Chapuy, M. C., Arlot, M. E., Duboeuf, F., Brun, J., Crouzet, B., Arnaud, S., Delmas, P. D. ve Meunier, P. J., 1992, Vitamin D₃ and calcium to prevent hip fractures in elderly women, *New England Journal of Medicine*, 327 (23), 1637-1642.
- Cheng, J. B., Levine, M. A., Bell, N. H., Mangelsdorf, D. J. ve Russell, D. W., 2004, Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101 (20), 7711-7715.
- Chlebowski, R. T., Johnson, K. C., Kooperberg, C., Pettinger, M., Wactawski-Wende, J., Rohan, T., Rossouw, J., Lane, D., O'Sullivan, M. J. ve Yasmeeen, S., 2008, Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of breast cancer, *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 100 (22), 1581-1591.
- Chlebowski, R. T., Pettinger, M. ve Kooperberg, C., 2012, Caution in reinterpreting the Women's Health Initiative (WHI) Calcium and Vitamin D Trial breast cancer results, *The American journal of clinical nutrition*, 95 (1), 258-259.
- Choo, J., Nam, G. E., Park, J., Park, C. M., Lee, S. J., Lee, M., Kim, J., Shin, J. H., Huh, Y. ve Kim, W., 2020, Associations of physical activity and sitting time with serum vitamin D status in korean adults: results from the 2014 korea national health and nutrition examination survey, *Korean Journal of Family Practice*, 10 (2), 123-128.
- Colas, C., Garabedian, M., Fontbonne, A., Guillozo, H., Slama, G., Desplanque, N., Dauchy, F. ve Tchobroutsky, G., 1989, Insulin secretion and plasma 1, 25-(OH) 2D after UV-B irradiation in healthy adults, *Hormone and metabolic research= Hormon-und Stoffwechselforschung= Hormones et metabolisme*, 21 (3), 154-155.
- Considine, R. V., Sinha, M. K., Heiman, M. L., Kriauciunas, A., Stephens, T. W., Nyce, M. R., Ohannesian, J. P., Marco, C. C., McKee, L. J. ve Bauer, T. L., 1996, Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans, *New England Journal of Medicine*, 334 (5), 292-295.

- Çalışkan, T., 1998, Hızlı gelişen türlerle ilgili rapor, *Hızlı Gelişen Türlerle Yapılan Ağaçlandırma Çalışmalarının Değerlendirilmesi ve Yapılacak Çalışmalar Workshop*.
- Çimen, M. B. Y. ve Çimen, Ö. B., 2016, Obezite ve D vitamini, *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 9 (2), 102-112.
- Demir, B. ve Demirdöven, A., Aljinat ve Meyve-Sebze Ürünlerindeki Uygulamaları, *Journal of New Results in Engineering and Natural Sciences* (9), 20-34.
- Diego-Taboada, A., Beckett, S. T., Atkin, S. L. ve Mackenzie, G., 2014, Hollow pollen shells to enhance drug delivery, *Pharmaceutics*, 6 (1), 80-96.
- Doğan, Y., 2021, D vitaminin Kognisyon, Fiziksel Fonksiyon ve Ultrasonografik Cilt, Cilt Altı Yağ Dokusu ve Kas Ölçümleri Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi.
- Domínguez, E., Mercado, J. A., Quesada, M. A. ve Heredia, A., 1999a, Pollen sporopollenin: degradation and structural elucidation, *Sexual Plant Reproduction*, 12 (3), 171-178.
- Domínguez, E., Mercado, J. A., Quesada, M. A. ve Heredia, A., 1999b, Pollen sporopollenin: degradation and structural elucidation, *Sexual Plant Reproduction*, 12, 171-178.
- Erbay, E., Mersin, S. ve İbrahimoğlu, Ö., 2019, D Vitamini ve vücut sistemleri üzerine etkisi, *Sağlık Akademisyenleri Dergisi*, 6 (3), 201-206.
- Ersoy, N. ve Ersoy, G., 2017, D vitamini yetersizliği ve depresyon: Ne yapabiliriz, *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 4 (3), 1-14.
- Evcimen, B. S., 1963, Türkiye Sedir ormanlarının ekonomik önemi, hasılat ve amenajman esasları.
- Fall, T., Mendelson, M. ve Speliotes, E. K., 2017, Recent advances in human genetics and epigenetics of adiposity: pathway to precision medicine?, *Gastroenterology*, 152 (7), 1695-1706.
- Fidan, F., Alkan, B. M. ve Tosun, A., 2014, Çağın pandemisi: D vitamini eksikliği ve yetersizliği, *Türk Osteoporoz Dergisi*, 20 (2), 71-74.
- Fruhbeck, G., Gómez-Ambrosi, J., Muruzábal, F. J. ve Burrell, M. A., 2001, The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation, *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 280 (6), E827-E847.
- Gannagé-Yared, M. H., Chemali, R., Yaacoub, N. ve Halaby, G., 2000, Hypovitaminosis D in a sunny country: relation to lifestyle and bone markers, *Journal of Bone and Mineral Research*, 15 (9), 1856-1862.
- Garland, C. F. ve Garland, F. C., 1980, Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer?, *International journal of epidemiology*, 9 (3), 227-231.
- Gedik, O. ve Akahn, S., 1986, Effects of vitamin D deficiency and repletion on insulin and glucagon secretion in man, *Diabetologia*, 29, 142-145.
- Gökbulut, İ. ve Öztürk, F. S., 2018, Gıda mikrokapsülasyonunda aljinat kullanımı, *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 8 (1/2), 16-28.
- Grant, W. B., 2002, An ecologic study of dietary and solar ultraviolet-B links to breast carcinoma mortality rates, *Cancer*, 94 (1), 272-281.
- Grootjans-Geerts, I., 2001, Hypovitaminosis D: a veiled diagnosis, *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde*, 145 (43), 2057-2060.
- Group, E. S. S., 1999, Vitamin D supplement in early childhood and risk for Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus, *Diabetologia*, 42 (1), 51-54.
- Gülcan, E. ve Özkan, A., 2006, Obezite, *Journal of Science and Technology of Dumlupınar University* (010), 185-194.

- Güngör, N. K., 2014, Overweight and obesity in children and adolescents, *Journal of clinical research in pediatric endocrinology*, 6 (3), 129.
- Heikinheimo, R. J., Inkovaara, J. A., Harju, E. J., Haavisto, M. V., Kaarela, R. H., Kataja, J. M., Kokko, A. M.-L., Kolho, L. A. ve Rajala, S. A., 1992, Annual injection of vitamin D and fractures of aged bones, *Calcified tissue international*, 51, 105-110.
- Holick, M., Matsuoka, L. ve Wortsman, J., 1989, Age, vitamin D, and solar ultraviolet, *The Lancet*, 334 (8671), 1104-1105.
- Holick, M. F., 1994, McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D—new horizons for the 21st century, *The American journal of clinical nutrition*, 60 (4), 619-630.
- Holick, M. F., 1999, Evolution, biologic functions, and recommended dietary allowances for vitamin D, *Vitamin D: molecular biology, physiology, and clinical applications*, 1-16.
- Holick, M. F., 2003, Evolution and function of vitamin D, *Vitamin D analogs in cancer prevention and therapy*, 3-28.
- Holmberg, I., Berlin, T., Ewerth, S. ve Björkhem, I., 1986, 25-Hydroxylase activity in subcellular fractions from human liver. Evidence for different rates of mitochondrial hydroxylation of vitamin D₂ and D₃, *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 46 (8), 785-790.
- Horst, R., Reinhardt, T., Ramberg, C., Koszewski, N. ve Napoli, J., 1986, 24-Hydroxylation of 1, 25-dihydroxyergocalciferol. An unambiguous deactivation process, *Journal of Biological Chemistry*, 261 (20), 9250-9256.
- Houghton, L. A. ve Vieth, R., 2006, The case against ergocalciferol (vitamin D₂) as a vitamin supplement, *The American journal of clinical nutrition*, 84 (4), 694-697.
- Huvenne, H., Dubern, B., Clément, K. ve Poitou, C., 2016, Rare genetic forms of obesity: clinical approach and current treatments in 2016, *Obesity facts*, 9 (3), 158-173.
- Hyppönen, E., Läärä, E., Reunanen, A., Järvelin, M.-R. ve Virtanen, S. M., 2001, Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study, *The Lancet*, 358 (9292), 1500-1503.
- Ishii, H., Suzuki, H., Baba, T., Nakamura, K. ve Watanabe, T., 2001, Seasonal variation of glycemic control in type 2 diabetic patients, *Diabetes care*, 24 (8), 1503-1503.
- Kelesidis, T., Kelesidis, I., Chou, S. ve Mantzoros, C. S., 2010, Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications, *Annals of internal medicine*, 152 (2), 93-100.
- Kuzgun, N. K. ve İnanlı, A. G., 2013, Kitosan üretimi ve özellikleri ile kitosanın kullanım alanları, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* (2), 16-21.
- Lee, K. Y. ve Mooney, D. J., 2012, Alginate: Properties and biomedical applications, *Progress in Polymer Science*, 37 (1), 106-126.
- Li, F.-S., Phyto, P., Jacobowitz, J., Hong, M. ve Weng, J.-K., 2019, The molecular structure of plant sporopollenin, *Nature plants*, 5 (1), 41-46.
- Lips, P., 2001, Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications, *Endocrine reviews*, 22 (4), 477-501.
- Lips, P., Duong, T., Oleksik, A., Black, D., Cummings, S., Cox, D., Nickelsen, T. ve Group, M. O. o. R. E. S., 2001, A global study of vitamin D status and parathyroid function in postmenopausal women with osteoporosis: baseline data from the multiple outcomes of raloxifene evaluation clinical trial, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86 (3), 1212-1221.

- Marseglia, L., Manti, S., D'Angelo, G., Cuppari, C., Salpietro, V., Filippelli, M., Trovato, A., Gitto, E., Salpietro, C. ve Arrigo, T., 2015, Obesity and breastfeeding: The strength of association, *Women and Birth*, 28 (2), 81-86.
- Martău, G. A., Mihai, M. ve Vodnar, D. C., 2019, The use of chitosan, alginate, and pectin in the biomedical and food sector—biocompatibility, bioadhesiveness, and biodegradability, *Polymers*, 11 (11), 1837.
- McCrory, M. A., Fuss, P. J., Saltzman, E. ve Roberts, S. B., 2000, Dietary determinants of energy intake and weight regulation in healthy adults, *The Journal of nutrition*, 130 (2), 276S-279S.
- Medicine, I. o., 1999, Food and nutrition board, National Academies Press Washington, DC.
- Mosekilde, L., 2005, Vitamin D and the elderly, *Clinical endocrinology*, 62 (3), 265-281.
- Mujtaba, M., Sargin, I., Akyuz, L., Ceter, T. ve Kaya, M., 2017, Newly isolated sporopollenin microcages from *Platanus orientalis* pollens as a vehicle for controlled drug delivery, *Materials Science and Engineering: C*, 77, 263-270.
- Mujtaba, M., Yilmaz, B. A., Cansaran-Duman, D., Akyuz, L., Yangın, S., Kaya, M., Çeter, T. ve Khawar, K. M., 2022, Newly isolated sporopollenin microcages from *Cedrus libani* and *Pinus nigra* as carrier for Oxaliplatin; xCELLigence RTCA-based release assay, *Polymer Bulletin*, 1-22.
- Nair, R. ve Maseeh, A., 2012, Vitamin D: The “sunshine” vitamin, *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 3 (2), 118-126.
- No, H., Meyers, S. P., Prinyawiwatkul, W. ve Xu, Z., 2007, Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review, *Journal of food science*, 72 (5), R87-R100.
- Norman, A. W., Frankel, B. J., Heldt, A. M. ve Grodsky, G. M., 1980, Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin, *Science*, 209 (4458), 823-825.
- Özdemir, Z., 2014, Kitin, kitosanın fonksiyonel özellikleri ve kullanım alanları, *Türkiye Kimya Derneği, (October 2014)*, 104, 117.
- Özkan, G. Ö., D Vitamini'nin Obezite Üzerine Etkileri, *Beslenme Ve Obezite*, 93.
- Özyiğitoğlu, G., 2020, D Vitamininin Biyolojisi ve Doğal Kaynakları, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11 (1).
- Pekkolay, Z., 2018, Obezite Patogenezi, *Fırat Tıp Dergisi*, 23, 5-8.
- Pietschmann, P., Schernthaner, G. ve Woloszczuk, W., 1988, Serum osteocalcin levels in diabetes mellitus: analysis of the type of diabetes and microvascular complications, *Diabetologia*, 31, 892-895.
- Poshadri, A. ve Aparna, K., 2010, Microencapsulation technology: a review, *Journal of Research ANGRAU*, 38 (1), 86-102.
- Pratley, R. E., 1998, Gene–environment interactions in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus: lessons learned from the Pima Indians, *Proceedings of the nutrition society*, 57 (2), 175-181.
- Racette, S. B., Deusinger, S. S. ve Deusinger, R. H., 2003, Obesity: overview of prevalence, etiology, and treatment, *Physical therapy*, 83 (3), 276-288.
- Rajakumar, K., Greenspan, S. L., Thomas, S. B. ve Holick, M. F., 2007, SOLAR ultraviolet radiation and vitamin D: a historical perspective, *American journal of public health*, 97 (10), 1746-1754.
- Ravussin, E. ve Bogardus, C., 2000, Energy balance and weight regulation: genetics versus environment, *British Journal of Nutrition*, 83 (S1), S17-S20.
- Runge, M. S. ve Greganti, M. A., 2008, Netter's internal medicine, Elsevier Health Sciences, p.

- Saatçioğlu, F., 1976, Silvikültürün biyolojik esasları ve prensipleri, *İÜ Orman Fakültesi Yayın* (222).
- Santangeli, L., Sattar, N. ve Huda, S. S., 2015, Impact of maternal obesity on perinatal and childhood outcomes, *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 29 (3), 438-448.
- Sargin, I., Akyuz, L., Kaya, M., Tan, G., Ceter, T., Yildirim, K., Ertosun, S., Aydin, G. H. ve Topal, M., 2017, Controlled release and anti-proliferative effect of imatinib mesylate loaded sporopollenin microcapsules extracted from pollens of *Betula pendula*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 749-756.
- Sargin, İ. ve Arslan, G., 2015, Chitosan/sporopollenin microcapsules: Preparation, characterisation and application in heavy metal removal, *International Journal of Biological Macromolecules*, 75, 230-238.
- Scanlon, K. S., Blank, S., Sinks, T., Lett, S., Mueller, P., Freedman, D. S., Serdula, M. ve Falk, H., 1995, Subclinical health effects in a population exposed to excess vitamin D in milk, *American journal of public health*, 85 (10), 1418-1422.
- Shi, X.-Y. ve Tan, T.-W., 2002, Preparation of chitosan/ethylcellulose complex microcapsule and its application in controlled release of Vitamin D2, *Biomaterials*, 23 (23), 4469-4473.
- Silverstone, T., Smith, G. ve Goodall, E., 1988, Prevalence of obesity in patients receiving depot antipsychotics, *The British Journal of Psychiatry*, 153 (2), 214-217.
- Smith, H., 2004, Effect of annual intramuscular vitamin D supplementation on fracture risk: population-based, randomised, double-blind, placebo-controlled trial, *Osteoporos Int*, 15, S8.
- Stene, L. C., Joner, G. ve Group, N. C. D. S., 2003, Use of cod liver oil during the first year of life is associated with lower risk of childhood-onset type 1 diabetes: a large, population-based, case-control study, *The American journal of clinical nutrition*, 78 (6), 1128-1134.
- Stolzenberg-Solomon, R. Z., Hayes, R. B., Horst, R. L., Anderson, K. E., Hollis, B. W. ve Silverman, D. T., 2009, Serum vitamin D and risk of pancreatic cancer in the prostate, lung, colorectal, and ovarian screening trial, *Cancer research*, 69 (4), 1439-1447.
- Tarakçı, Z. ve Dervişoğlu, M., Vitamin D, Beslenme Önemi ve Gıdalarda Zenginleştirilmesi, *Türkiye*, 9, 24-26.
- Taştan, Ö. ve Baysal, T., 2013, Meyve-sebze işleme endüstrisinde kitosan kullanımı, *Gıda*, 38 (3), 175-182.
- Terli, E. P., Mutlu, F., Uluçay, C., İrem Kılıç, N., Akkır, M., Atılğan, O., ÖZGÜN, E. ve KABADERE, S., 2019, D Vitamini: Yapısı, Sentezi Ve Çeşitli Hastalıklardaki Önemi, *Türk Tıp Öğrencileri Araştırma Dergisi*, 1 (1), 1-6.
- TOKATLI, K. ve Demirdöven, A., 2015, Kitosan ve kitosan bazlı yenilebilir film uygulamaları, *Akademik Gıda*, 13 (4), 348-353.
- Van den Bemd, G. ve Chang, G., 2002, Vitamin D and vitamin D analogs in cancer treatment, *Current drug targets*, 3 (1), 85-94.
- Vidal-Puig, A., Rosenbaum, M., Considine, R. C., Leibel, R. L., Dohm, G. L. ve Lowell, B. B., 1999, Effects of obesity and stable weight reduction on UCP2 and UCP3 gene expression in humans, *Obesity research*, 7 (2), 133-140.
- Wang, T. J., Pencina, M. J., Booth, S. L., Jacques, P. F., Ingelsson, E., Lanier, K., Benjamin, E. J., D'Agostino, R. B., Wolf, M. ve Vasan, R. S., 2008, Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease, *Circulation*, 117 (4), 503-511.
- Watson, J. S., Sephton, M. A., Sephton, S. V., Self, S., Fraser, W. T., Lomax, B. H., Gilmour, I., Wellman, C. H. ve Beerling, D. J., 2007, Rapid determination of spore

- chemistry using thermochemolysis gas chromatography-mass spectrometry and micro-Fourier transform infrared spectroscopy, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 6 (6), 689-694.
- Welle, S., Schwartz, R. G. ve Statt, M., 1991, Reduced metabolic rate during β -adrenergic blockade in humans, *Metabolism*, 40 (6), 619-622.
- Wu, K., Feskanich, D., Fuchs, C. S., Willett, W. C., Hollis, B. W. ve Giovannucci, E. L., 2007, A nested case-control study of plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations and risk of colorectal cancer, *Journal of the National Cancer Institute*, 99 (14), 1120-1129.
- Yeşiltepe-Mutlu, G. ve Hatun, Ş., 2011, Perinatal D vitamini yetersizliği, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 54, 87-98.
- Yıldırım, Z., Öncül, N. Ve Yıldırım, M., 2015, Kitosan ve antimikrobiyal özellikleri, *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 5 (1), 19-36.
- Young, V., Erdman, J., King, J., Allen, L., Atkinson, S. ve Dwyer, J., 1997, Dietary Reference Intakes: For Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride, *Washington, DC: Food and Nutrition Board*.
- Zemel, M. B., Shi, H., Greer, B., Dirienzo, D. ve Zemel, P. C., 2000, Regulation of adiposity by dietary calcium, *The FASEB Journal*, 14 (9), 1132-1138.
- Zittermann, A., 2003, Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence?, *British Journal of Nutrition*, 89 (5), 552-572.

ÖZGEÇMİŞ

