

**T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ELEKTROPÜSKÜRTME YÖNTEMİYLE PROPOLİS YÜKLENMİŞ POLİVİNİL  
ALKOL NANOPARTİKÜLLERİNİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

**BENAZİR SUBAŞI ZARBALİYEV**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN  
YRD. DOÇ. DR. FATİH TÖRNÜK**

**İSTANBUL, 2018**

**T.C.**  
**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ELEKTROPÜSKÜRTME YÖNTEMİYLE PROPOLİS YÜKLENMİŞ POLİVİNİL  
ALKOL NANOPARTİKÜLLERİNİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

Benazir SUBAŞI ZARBALİYEV tarafından hazırlanan tez çalışması 28.02.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı**

Yrd. Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK  
Yıldız Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri**

Yrd. Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. M. Zeki DURAK  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. A. Şükrü Demirci  
Namık Kemal Üniversitesi

---

---

---



Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2016-07-05-YL01 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

---

Tezimi hazırlama ve tamamlama sürecinde bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, yardımını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK'e, manevi anlamda her zaman desteğini hissettiğim, akademik yaşantım boyunca örnek alacağım kıymetli hocalarım Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ ve Prof. Dr. Muhammet ARICI'ya, özellikle elektro döndürme cihazı ile destek sağlayan Doç. Dr. M. Zeki DURAK'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Hayatım boyunca sevgisini esirgemeyen, hakkını asla ödeyemeyeceğim babam Muhammed Şirin SUBAŞI'na, anneme, kardeşlerime, çok sevdiğim eşime ve minik oğlum Mustafa Selim'e tüm kalbimle sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımnda yardımcı olan Arş. Gör. Perihan Kübra ÇİÇEK'e, yardımlarını esirgemeyen güzel arkadaşım Hatice Ebrar KIRTIL'a teşekkürlerimi sunarım.

2016-07-05-YL01 proje kapsamında araştırmanın mali problemlerinin aşılmasında katkı sağlayan Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Şubat, 2018

Benazir SUBAŞI ZARBALİYEV

## İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ .....	viii
KISALTMA LİSTESİ .....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ .....	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT .....	xiv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1    Literatür Özeti .....	1
1.2    Tezin Amacı .....	4
1.3    Hipotez .....	4
BÖLÜM 2	
KURUMSAL TEMELLER .....	5
2.1    Propolis .....	5
2.2    Polivinilalkol (PVA) .....	6
2.3    Nanoteknoloji .....	7
2.4    Nanoyapılar .....	8
2.5    Gıda Bazlı Nanoparçacıklar .....	9
2.6    Nanopartiküller .....	9
2.7    Nanoteknolojinin Gıda Alanındaki Uygulamaları.....	10
2.8    Enkapsülasyon .....	11
2.8.1    Nanoenkapsülasyon .....	12
2.8.2    Enkapsülasyon Yöntemleri .....	12
2.8.2.1    Püskürtürek Kurutma Yöntemi .....	12
2.8.2.2    Dondurarak Kurutma Yöntemi .....	13
2.8.2.3    Ekstrüzyon Yöntemi .....	13
2.8.2.4    Emülsifikasyon Yöntemi .....	14
2.8.2.5    Koaservasyon .....	14
2.8.2.6    Lipozom .....	15

2.8.2.7	Faz Ayrımı Yöntemi .....	15
2.8.2.8	Süperkritik Akışkan Tekniği .....	16
2.8.2.9	İyonotropik Jelasyon .....	16
2.8.2.10	Elektropüskürtme Metodu.....	17
2.8.2.11	Elektropüskürtme Metoduna Etki Eden Parametreler .....	19
2.9	Elektropüskürtme Yöntemiyle Elde Edilen Nanoyapıların Gıda Alanında Uygulama Alanları .....	23
2.10	Elektropüskürtme Yöntemiyle Elde Edilen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu .....	24

## BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM .....	25
3.1 Materyaller .....	25
3.2 Metot .....	25
3.2.1 Propolis Ekstraktının Temin Edilmesi .....	25
3.2.2 Kaplama Çözeltilisinin Standardizasyonu .....	26
3.2.2.1 Kaplama Çözeltilisinin Hazırlanması .....	27
3.2.2.2 PVA Nanopartiküllerinin Üretilmesi.....	28
3.2.2.3 Boş PVA Nanopartiküllerinin Boyut ve PDI Ölçümleri .....	28
3.2.3 Propolis İçeren PVA Nanopartiküllerinin Üretilmesi ve Karakterizasyonu .....	29
3.2.3.1 Propolis İçeren Boş PVA Nanopartiküllerinin Üretilmesi ve Karakterizasyonu.....	29
3.2.3.2 Zeta Potansiyel ve Boyut Analiz Ölçümleri .....	29
3.2.3.3 Enkapsülasyon Veriminin Belirlenmesi .....	30
3.2.3.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi.....	30
3.2.3.5 Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) Analizi .....	30
3.2.3.6 Antioksidan Aktivite (AA) Analizi.....	31
3.2.3.7 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi .....	31
3.2.3.8 Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizi.....	32
3.2.3.9 İstatistiksel Analizler .....	32

## BÖLÜM 4

SONUÇ VE ÖNERİLER .....	33
4.1 Kaplama Çözeltilisinin Standardizasyonu.....	33
4.2 Propolis İçeren PVA Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu.....	34
4.2.1 Zeta potansiyel ve Boyut Değerleri.....	34
4.2.2 Enkapsülasyon Veriminin Belirlenmesi.....	36
4.2.3 ATR- FTIR Spektroskopisi ile Moleküler Karakterizasyon .....	37
4.2.4 Nanopartiküllerin DSC ile Termal Karakterizasyonu.....	38
4.2.5 Nanopartiküllerin Antioksidan Aktivitesi .....	40
4.2.6 Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesi.....	41
4.2.7 Nanopartiküllerin SEM analizi.....	43

## BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER .....	45
KAYNAKLAR.....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	58



## SİMGE LİSTESİ

---

- $A_{kontrol}$  Kontrol absorbans değeri  
 $A_{örnek}$  Örnek absorbans değeri  
 $T_e$  Bitiş sıcaklık değeri  
 $T_g$  Camı geçiş sıcaklık değeri  
 $T_o$  Başlangıç sıcaklık değeri  
 $T_p$  Pik sıcaklık değeri  
 $\xi$  Zeta potansiyel  
P İstatistikte anlamlılık seviyesi

## KISALTMA LİSTESİ

---

AA Antioksidan aktivite  
ATR-FTIR Azaltılmış toplam reflektans-Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi  
DPPH 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl  
DSC Diferansiyel Taramalı Kalorimetre  
PVA Polivinilalkol  
PEX Propolis ekstraktı  
PPO Saf PVA nanopartikülleri  
PP0.4 %0.4 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri  
PP0.8 %0.8 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri  
PP1 %1 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri  
PP1.2 %1.2 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri  
SEM Taramalı Elektron Mikroskobu

## ŞEKİL LİSTESİ

---

	Sayfa
Şekil 2. 1 Polivinilalkol molekül yapısı .....	7
Şekil 2. 2 Polivinilalkol görünüşü .....	7
Şekil 2. 3 Nanometrik birimlerin fiziksel karşılaştırılması.....	8
Şekil 2. 4 Taylor konisi ve jet oluşumu .....	17
Şekil 3. 1 Ham propolis.....	26
Şekil 3. 2 Saflaştırılmış propolis .....	26
Şekil 3. 3 PVA - saf su çözeltisi.....	27
Şekil 3. 4 80 °C' de bekletilmiş PVA - saf su çözeltisi.....	27
Şekil 3. 5 Elektropüskürtme cihazı .....	28
Şekil 3. 6 Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış PVA propolis çözeltisi.....	29
Şekil 4. 1 Propolis ekstraktı ve nanopartiküllere ait FTIR grafiği.....	38
Şekil 4. 2 Nanopartiküllerin DSC diyagramları .....	39
Şekil 4. 3 Nanopartiküllere ait SEM görüntüsü .....	43

## ÇİZELGE LİSTESİ

---

	Sayfa
Çizelge 2. 1	Elektropüskürtme metoduna etki eden parametreler ..... 19
Çizelge 4. 1	Propolis yüklü nanopartiküllerin boyut, PDI ve zeta potansiyel değerleri ..... 35
Çizelge 4. 2	Propolis yüklü PVA nanopartiküllerine ait enkapsülasyon verimi ..... 36
Çizelge 4. 3	Propolis yüklü PVA nanopartiküllerinin antioksidan aktivitesi ..... 40
Çizelge 4. 4	Propolis yüklü PVA nanopartiküllerinin antimikrobiyal aktivitesi..... 42

## ELEKTROPÜSKÜRTME YÖNTEMİYLE PROPOLİS YÜKLENMİŞ POLİVİNİL ALKOL NANOPARTİKÜLLERİNİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

Benazir SUBAŞI ZARBALİYEV

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Fatih Törnük

Propolis; bal arıları tarafından çeşitli bitkilerin gamlarından üretilen, içerisinde flavonoidler, sinnamik asit ve türevleri, steroidler, aminoasitler ile uçucu aldehit ve ketonlar gibi çeşitli fitokimyasalları barındıran, antioksidan, antimikrobiyal ve antitümör gibi biyoaktif özellikleri ile karakterize edilen doğal bir maddedir. Propolisin suda çözünememesi nedeniyle gıdalarda fonksiyonel katkı maddesi olarak kullanımı sınırlıdır. Enkapsülasyon, suda çözünemeyen biyoaktif maddelerin çözünebilir hale getirilmesi amacıyla yaygın olarak kullanılan tekniklerden birisidir.

Bu araştırmada propolis ekstraktı, elektropüskürtme yöntemi kullanılarak suda çözünebilir bir polimer olan polivinil alkol (PVA) içerisine farklı konsantrasyonlarda (%0; %0,4; %0,8; %1; %1,2) nano ölçekte enkapsüle edilmiştir. Yapılan ön denemelerle elektropüskürtme şartları optimize edilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen propolis yüklü nanokapsüllerin boyutu ve zetapotansiyel değerleri, enkapsülasyon etkinliği, SEM, DSC ve FTIR karakteristikleri, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri analiz edilmiştir. Nanokapsüllerin zetapotansiyel değerleri ve partikül boyutları sırasıyla -5 ile +5 mV ve boyutları ise 104 nm ile 258 nm arasında bulunmuştur. Örneklere ait polidispersite indeks değerlerinin 0,357'nin altında olması, nanopartiküllerin boyut dağılımının homojen olduğunu göstermiştir. Üretilen nanopartiküllerin enkapsülasyon etkinliği %23'ün altında bulunmuştur. DSC ile yapılan termal karakterizasyon sonucunda PVA nanopartiküllerinin propolisin termal stabilitesini arttırdığı gözlenmiştir. Propolis yüklü PVA nanopartiküllerinin %80-%89 aralığında DPPH radikali

yakalama aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan antimikrobiyal aktivite testleri sonucunda, gram pozitif bakteri olan *S.aureus*'un düşük konsantrasyon oranlarında propolis içeren nanoyapılara karşı bile yüksek düzeyde inhibisyona uğradığı, gram negatif *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı etkinin ise sınırlı olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak bu çalışmayla, propolisin elektropüskürtme yöntemi ile nanoboyutta enkapsüle edilerek gıda endüstrisinde suda çözünür fonksiyonel bir katkı maddesi olarak kullanılabilceği ortaya konulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Enkapsülasyon, elektropüskürtme, PVA, propolis, nanopartikül



**PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF PROPOLIS LOADED POLIVINIL ALCOHOL NANOPARTICLES WITH ELECTROSPRAYING METHOD**

Benazir SUBAŞI ZARBALİYEV

Department of Food Engineering

MSc. Thesis

Adviser: Assist. Prof. Dr. Fatih Törnük

Propolis is a natural substance which is produced from gums of various plants by honeybees, possesses various phytochemicals such as flavonoids, cinnamic acid and derivatives, steroids and amino acids as well as volatile aldehydes and ketones and is characterized by several bioactive properties such as antioxidative, antimicrobial and antitumor. Due to insolubility of propolis in water, its use in foods as a functional additive is limited. Encapsulation is one of the techniques commonly used for making water-insoluble bioactive substances soluble in water.

In this study, propolis extract was encapsulated in polyvinyl alcohol (PVA), a water-soluble polymer, at nano scale at different concentrations (0%, 0.4%, 0.8%, 1%, 1.2%) by using electrospraying method. Electrospraying conditions were optimized with preliminary studies conducted. Size and zeta potential values, encapsulation efficiency, SEM, DSC and FTIR characteristics, antioxidant and antimicrobial activities of the propolis loaded nanocapsules obtained under optimal conditions were analyzed. The zeta potential values and particle sizes of the nanocapsules ranged from -5 to +5 mV and 104 nm to 258 nm, respectively. The polydispersity index values of the samples below 0.357 showed that the size distribution of the nanoparticles was homogeneous. Encapsulation efficiency of the nanoparticles was found below 23 %. As a result of thermal characterization with DSC, it was observed that the PVA nanoparticles

increased the thermal stability of propolis. It was determined that the PVA nanoparticles loaded with propolis showed DPPH radical scavenging activity in the range of 80% and 89%. As a result of the antimicrobial activity tests, it was determined that *S. aureus*, a gram-positive bacterium, was highly inhibited against propolis-containing nanocapsules even at low concentration ratios while the activity against gram-negative *Escherichia coli* O157: H7 was limited. As conclusion of this study, it is revealed that propolis could be used as a water soluble functional additive in the food industry by encapsulating in nano scale by electro spraying method.

**Keywords:** Encapsulation, electro spraying, PVA, propolis, nanoparticles



#### 1.1 Literatür Özeti

Biyoaktif bileşenler canlıların hayatta kalması ve sağlıklı bir şekilde yaşamını devam ettirebilmesi için besinlerden sağlanan ikincil metabolitlerdir [1]. Biyoaktif bileşenlerin hücresel aktiviteleri etkileyerek kanser, kalp ve damar hastalıkları, diyabet, obezite gibi hastalıklara karşı vücudu koruduğu belirtilmiştir [2]. Biyoaktif bileşiklerin vücutta çeşitli metabolizmalarda görev alması sağlığı olumlu yönde etkilemektedir. Faydalı bakteriler için fermantasyon substratı, zararlı bakteriler için inhibitör, toksik maddeler için yakalayıcı ajan, enzimatik reaksiyonlarda kofaktör, biyokimyasal reaksiyonlarda substrat bu metabolik reaksiyonlardan bazılarıdır [3]. Bitkisel kaynaklı gıdalar biyoaktif bileşenlerce zengin gıdalardır. Yapılan araştırmalarda sebze ve soya ağırlıklı beslenen Japonya'da ve zeytinyağı, meyve, sebze ve tahıl ağırlıklı beslenen Akdeniz bölgesi insanında diğer yerlerde yaşayan insanlara göre daha az kronik kalp rahatsızlıkları olduğu görülmüştür. Bunun nedeni bu gıdaların biyoaktif bileşenlerce zengin olmasından kaynaklanmaktadır [4]. Propolis, bal arıları tarafından üretilen, kovani mikrobik enfeksiyonlardan korumak, ısı yalıtımı sağlamak, kovanda çatlaklar veya açıklıkları doldurmak gibi çeşitli amaçlar için kullanılan doğal bir üründür [5]. Propolis antimikrobiyal, antifungal, antioksidan, anti-inflamatuar gibi temel biyoaktif özellikleri barındırmaktadır. Polifenoller, terpenoidler, amino asitler, uçucu organik asitler, ketonlar, kumarinler, kuinonlar, vitamin ve minerallerce zengindir. Balda bulunan 25 flavonoid propoliste de bulunmaktadır. Propolis C, E, B1, B2, B6 vitaminleri ile Mg, Ca, I, K, Na, Cu, Zn, Mn, Fe gibi minerallerce zengindir. İçerisinde yüksek miktarda yağ asidi,

asit fosfataz süksinik dehidrogenaz, glukoz-6-fosfataz, adenozin trifosfataz enzimerini de barındırır [6].

Polivinil alkol, polivinil asetatın hidrolizi sonucunda elde edilen suda çözünebilen sentetik bir polimerdir. Biyouyumlu olması, çok iyi kimyasal dayanım ve esneklik yapısına sahip olması, çok iyi mekanik özellikler barındırması nedeniyle tek başına veya diğer polimerlerle karıştırılıp mükemmel derecede partikül ve lif yapısı oluşturma özelliğine sahiptir [7].

Nanoteknolojinin ortaya çıkmasıyla nanoboyuta indirgenen maddeler makro boyutta gösterdiği özelliklerden oldukça farklı özellikler gösterebilmektedirler. Bu nedenle nanoteknoloji çağımızın en önemli araştırma ve uygulama bilimi haline gelmiştir. Hemen hemen her bilim dalında kullanılmaya başlanan nanobilimi, son yıllarda gıda ve ziraat alanında da oldukça önem kazanmış ve bu yönde birçok araştırma yapılmıştır. Gıda nanoteknolojisi alanında yürütülen en yaygın araştırma ve geliştirme alanlarından biri enkapsülasyon işlemidir. Enkapsülasyon, bir maddenin doğal veya sentetik bir kaplama materyalinin içine hapsedilmesi veya kapsüllenmesi olarak tanımlanabilir [5]. Gıda maddelerinin yapılarında doğal olarak bulunan biyoaktif maddeler, stabilitelelerinin artırılarak biyoyararlılıkların iyileştirilmesi için enkapsüle edilmektedirler. Vücut için gerekli bazı biyoaktif maddelerin günlük gıdalardan yeterince karşılanamadığı durumlarda çeşitli vitaminler, antioksidanlar, antimikrobiyallar vb. biyoaktif maddelerle gıda ürünlerini desteklemek bir gerekliliktir. Fakat bu biyoaktif maddelerin gerek gıda üretim aşaması ve depolama, gerekse vücuda alındıktan sonra sindirim sırasında stabilitelelerinde ya azalma meydana gelir ya da stabiliteleleri tamamen kaybolur [4-5]. Bu durum, biyoaktif maddelerin uygun bir taşıma sisteminin içine hapsedilmesiyle kısmen önlenir. Enkapsüle edilen biyoaktif maddelerin gıda üretimi sırasında fiziksel, kimyasal veya enzimatik olarak parçalanması önlenerek daha iyi korunmaları sağlanabilir [6]. Bu işlem sayesinde kapsüllenmiş biyoaktif bileşen içeren gıda maddesi ısı, sıcaklık, pH gibi dış faktörlerden daha iyi korunmuş olur.

Nanoparçacıklar genellikle 10-1000 nm partikül büyüklüğüne sahip katı, koloidal partiküller olarak tanımlanır. Nanoparçacık eldesinde hali hazırda pek çok teknik kullanılmaktadır. Bu teknikler; desolvasyon, çözücü buharlaştırma, tuzla çökeltme,

diyaliz, süperkritik sıvı teknolojisi, mikro-mini ve sürfaktansız emülsiyon ve arayüzey polimerizasyonu gibi yöntemleri içermektedir. Ancak son yıllarda bazı yeni teknikler geliştirilmiştir. Elektropüskürtme kaplama yöntemi bu tekniklerden bir tanesidir ve doğal, sentetik ve komposit solüsyonların elektrostatik kuvvet yardımıyla spreylenecek şekilde bir alt tabaka üzerinde nano boyutta toplanmalarını sağlayan bir nanoüretim prosesidir. Polimerik partiküller oluşturmak için desolvasyon, emülsifikasyon ve presipitasyon gibi çeşitli metotlar kullanılmıştır [7]. Daha çok kullanılan desolvasyon yönteminde, partikül boyutunu ve stabilitesini etkileyen pek çok üretim parametresi (karışım hızı, karışım zamanı, sonikasyon parametreleri, protein konsantrasyonu, çözücü anti çözücü oranı, sürfaktan miktarı vs.) mevcuttur. Monodispers (tekli dağılım) yapıda nanopartiküllerin oluşturulması için bu parametrelerin çok iyi bir şekilde kontrol altında tutulması ve optimize edilmesi gerekir. Elektropüskürtme kaplama yönteminde ise kontrol altına alınması ve optimize edilmesi gereken parametre sayısı daha azdır. Elektriksel kuvvetler vasıtasıyla gerçekleştirilen sıvı atomizasyonu yöntemini kullanan elektropüskürtme kaplama sistemi, geleneksel metotlara kıyasla, fonksiyonel bileşenlerin vücuda alınmasında yüksek verimlilik ve kendiliğinden disperse olabilme gibi çeşitli avantajlara sahiptir. Desolvasyon yönteminde, oluşacak partikül verimini arttırmak ve partikülleri stabil haline getirmek için tuz ve sürfaktan kullanımı söz konusudur. Buna karşın, elektropüskürtme kaplama sistemi ile sentezlenen nanopartiküller herhangi bir model veya sürfaktan gerektirmezler. Bu sistemin prensibi ise şu şekildedir: Bir enjektör içinde bulunan süspansiyon ile bir substrat arasında elektriksel gerilim uygulandığında, enjektörün ucundaki sıvı yüzey Coulomb kuvveti ile konik şekil olarak değiştirilir ve Coulomb kuvvetinin, sıvı yüzey geriliminden daha büyük olması nedeniyle konik şeklin üstünde ince bir jet oluşur. Bu jet, jet yüzeyindeki homopolar elektrik yükün itici kuvveti etkisiyle sıvıyı pek çok küçük damlacıklara ayırır. Damlacıklardaki solvent buharlaştırılır, daha sonra yüklü bir nanomateryal, atmosferde substrata bağlanmış bir elektrik hattı boyunca geçiş yapar. Nanomateryaller bu substrat üzerinde bağlanır, böylelikle itici elektrostatik kuvvetler sistemde tekli olarak hareket eden nanopartiküllerin bir araya gelmesini önleyerek stabil hale getirilir [8-9].

## **1.2 Tezin Amacı**

Bu çalışmayla propolisin nanoboyutta enkapsülasyonu sağlanarak biyoyararlılığının geliştirilip fonksiyonel bir ürün olarak kullanılabilmesi amaçlanmıştır. PVA içine güçlü bir antioksidan madde olan propolisin elektropüskürtme yöntemi ile farklı konsantrasyonlarda nano ölçekte enkapsüle edilmesi ve üretilen partiküllerin morfolojik, moleküler ve termal karakterizasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Bununla birlikte, nanopartiküllerin antibakteriyel, antioksidan aktivitelerinin incelenmesi de hedeflenmiştir.

## **1.3 Hipotez**

Enkapsülasyon, suda çözünemeyen biyoaktif maddelerin çözünebilir hale getirilmesi amacıyla yaygın olarak kullanılan tekniklerden birisidir. PVA suda çözünebilir sentetik biyobozunur bir polimerdir. Bu çalışmada elektropüskürtme tekniği ile gerçekleştirilen enkapsülasyon işlemi sayesinde, propolis gibi suda çözünmeyen biyoaktif maddelerin suda çözünürlüğü ile birlikte gıda içerisinde kullanımı sağlanmakta ve fonksiyonelliği arttırılmaktadır.

### KURUMSAL TEMELLER

#### 2.1 Propolis

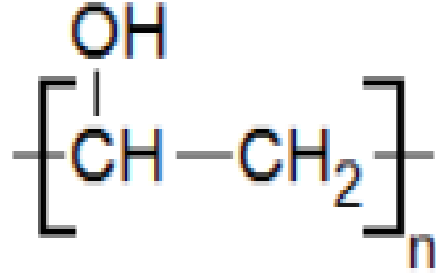
Propolis baları tarafından bitkilerden toplanıp mumla karıştırılarak, kovanda çeşitli amaçlar için kullanılan doğal bir üründür [10]. Özellikle kestane, kayın, huş ve bazı kozalak ağaçları iyi bilinen propolis kaynaklarıdır [8]. Bal arısı, kovanı mikrobik enfeksiyonlardan korumak, ısı yalıtımı sağlamak, kovanda çatlaklar veya açıklıkları doldurmak gibi çeşitli amaçlarla propolis kullanmaktadır [11]. Bal arıları; çiçeklerin ve tomurcukların koruyucu reçinelerini alt çeneleriyle kazıyarak propolisi topladıktan sonra, ağızlarında nemlendirip yumuşatırlar. Yumuşatma işleminden sonra bazı enzimler ekleyerek pelet haline getirir ve peleti arka bacaklarındaki polen sepetine aktarırlar [12-13].

Propolis, tarihte ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilmiştir. 1960'ların sonundan itibaren bilim adamları tarafından araştırılmaya başlanmıştır. Günümüzde propolisin farmakolojisi, kimyasal yapısı, terapötik kullanımı, biyolojik aktiviteleri üzerine pek çok araştırma mevcuttur [14]. Propolis eski zamanlardan beri çeşitli hastalıkları tedavi etmek için geleneksel tıpta yoğun şekilde kullanılmıştır. Özellikle son on yıldır, dünyanın farklı bölgelerinde üretilen propolis, antimikrobiyal, antifungal, antioksidan, anti-inflamatuar gibi temel biyoaktif özelliklerini ortaya çıkarmak için propolis kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Yapılan araştırmalarda propolisin antitumöral, immün modülatör, immün regülatör, antidiyabetik, antiülseratif ve antidepresan faaliyetleri incelenmiştir. Propolisin yapısı, içerdiği 25 flavonoidin balda da bulunması bakımından

bal ile benzerdir. Propolis, vitamin ve minerallerce zengin olup C, E, B1, B2 ve B6 vitaminleri ile Mg, Ca, I, K, Na, Cu, Zn, Mn ve Fe gibi mineralleri içermektedir. Aynı zamanda çok sayıda yağ asidi, asit fosfataz süksinik dehidrogenaz, glukoz-6-fosfataz, adenzin trifosfataz enzimerini de barındırır. Kovan içerisinde bulunan 50000 - 80000 larva ve arıların, propolisin antimikrobiyal özelliği sayesinde, kovan içerisindeki sıcaklık ve neme rağmen bakteri, virüs ve funguslardan korunduğu tespit edilmiştir [13]. Kovandan toplanan propolis hamdır ve kullanılmadan önce ekstrakte edilmesi gerekmektedir. Propolisin en iyi çözücüsü etil alkoldür. Propolis, eter, kloroform, aseton ve diğer organik çözücülerde kısmen çözünmektedir. Suda ise çözünmemektedir. Tıbbi uygulamalarda %70'lik etil alkolde çözündürülerek kullanılmaktadır [11].

## **2.2 Polivinilalkol (PVA)**

PVA; suda çözünebilir, kokusuz, tatsız, şeffaf, beyazdan kreme dönük granül veya toz halinde görünüme sahip sentetik bir polimerdir. Polivinil asetatın kısmen ve tamamen hidroliziyle elde edilir. Toksik veya kanserojen değildir. Elastik bir yapısı bulunmaktadır. Farklı sıcaklık ve pH aralığında kararlılık gösterir. 80 °C'de çözünürlüğü gerçekleşir.  $(C_2H_4O)_x$  formülüne sahiptir. Yoğunluğu 1,19–1,31 g/cm<sup>3</sup> ve erime sıcaklığı 230 °C dir. Biyobozunur, biyouyumlu ve suda çözünebilir hidroksi bir polimerdir. Çok iyi kimyasal ve mekanik dayanım özelliklerine sahiptir. Oda sıcaklığında ki kimyasal stabilitesi, fiziksel ve mekanik özellikleri sayesinde tek başına veya diğer polimerlerle karıştırılarak çok iyi nanopartikül ve lif oluşturma yeteneğine sahiptir. Bu yüzden bu üretim proseslerinde tercih edilen bir polimerdir. PVA'nın molekül yapısı (Şekil 2.1'de) ve görünüşü (Şekil 2.2'de) verilmiştir [15].



Şekil 2. 1 Polivinilalkol molekül yapısı



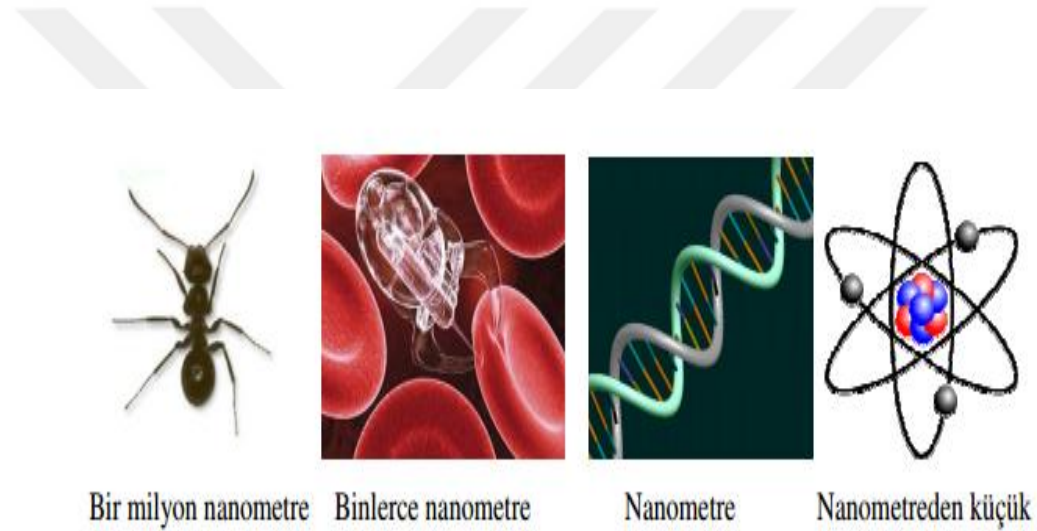
Şekil 2. 2 Polivinilalkol görünüşü

### 2.3 Nanoteknoloji

Nanometre(nm) bir ölçü birimidir ve 'nano' terimi fiziksel anlamda milyarda bir demektir. Nanometre ölçüsünün fiziksel karşılaştırılmasında ölçüm ise bir karıncanın başının genişliği  $10^6$  nm, vücuttaki bir kan hücresinin büyüklüğü 1000 nm, DNA molekülleri yaklaşık 2,5 nm, atomların çapları ise  $10^{-1}$  nm'dir. Nanometrik ölçüme verilecek en mükemmel örnek DNA tasarımlarıdır (Şekil 2.3). Maddeyi nanometre boyutunda inceleyen bilim ise nanoteknolojidir [16]. Nanoteknolojinin ortaya çıkmasıyla nanoboyuta indirgenen maddeler makro boyutta gösterdiği özelliklerden oldukça farklı özellikler gösterebilmektedirler. Bu tür farklılıklar, nanoteknolojinin daha küçük, daha hızlı, daha akıllı, daha ucuz, daha güvenli, daha temiz ve daha kesin çözümlere olanak sağlayacağı tüm alanlarda kullanımını sağlamaktadır [17]. Bu nedenle

nanoteknoloji günümüzün en ileri teknolojisi olarak kabul görmektedir [18]. Nanometre boyutunda, kütsel özellikler yerini kuantum özelliklerine bırakır. Boyut küçüldükçe yüzey atomları sayısı artar. Bu durum elementlerin ve parçacıkların birbiriyle olan etkileşimini etkiler. Bu sayede nanoparçacıkların kompozit malzemelerde kullanılması ile sertlik artırılabilir veya ağırlık düşürebilir, kimyasal ve termal dayanıklılık artırabilir ve ışıkla diğer ışınlarla olan etkileşimler değiştirebilir [19-20].

Nanoteknolojinin temelleri ilk defa ünlü Massachusetts Teknoloji Enstitüsü laboratuvarında atılmıştır. Foresight Enstitüsü'nün kurucusu Eric Drexler sistemlerden esinlenerek moleküler makineler yapılabileceğini önermiş ve nanoteknoloji bu sayede ilk defa gündeme gelmiştir [9].



Şekil 2. 3 Nanometrik birimlerin fiziksel karşılaştırılması

## 2.4 Nanoyapılar

Nanoyapılar, morfolojik yapılarına göre kendi aralarında gruplara ayrılmaktadır. En sık kullanılanlar; nanolifler, nanokapsüller ve nano tüplerdir. Bunlara ek olarak nanoyapılar aşağıdaki grupları içermektedir:

- Nanoemülsiyonlar
- Nanokatmanlar
- Nanoparçacıklar
- Nanopor malzemeler

- Nanotüpler
- Nanoteller
- Nanoçubuklardır [21].

## 2.5 Gıda Bazlı Nanoparçacıklar

Gıda kaynaklı proteinler, yağlar ve karbonhidratlar nanoemülsiyonlar, biyopolimerik nanoparçacıklar, nanokompozitler, nanolifler, nanotüpler ve nanosensörlerin oluşturulmasında kullanılabilirler.

Nanomülsiyon, birbiri içinde çözünmeyen ya da kısmi çözülen iki sıvıdan birinin diğeri içinde 50-200 nm boyutunda damlacıklar halinde dağılmasıyla oluşan bir karışım olarak tanımlanır. Nanoemülsiyonlar fonksiyonel ve biyoaktif ürünlerin enkapsülasyonu ve taşınmasının sağlanması amacıyla kullanılabilirler [22]. Ultrasonik çalkalama, yüksek basınçlı homojenizasyon ve mikroakışkan kanallar ile homojenizasyon gibi metotlarla üretilirler [23].

Nanoparçacıklar, biyoaktif bileşenlerin enkapsülasyonunda ve taşınımında sık sık kullanılmaktadır. Organik ve inorganik bileşenlerden elde edilen nanokompozitler ise daha çok ambalajlama sistemlerinde kullanılmaktadır. Bu kompozitlerin biyobozunur ve çevre dostu olması geleneksel ambalaj materyaline çok büyük bir alternatif olmasını sağlamıştır [24]. Gıda bazlı nanoliflerin ambalaj malzemeleri üretiminde, sentetik gıda matrisleri oluşturmada ve bakteri kültürü geliştirme ortamları üretmede kullanılacağı belirtilmiştir [25]. Nanotüpler ise enkapsülasyon, jelleşme ve vizkozite artırma amaçlı kullanılmaktadır [26]. Akıllı paketlenme sistemlerinde kullanılacak olan nanosensörlerin ise gıda patojenlerinin ve bozulmasının hızlı ve güvenilir şekilde tespitinin yapılması amacıyla gıda endüstrisinde yerini alacağı öngörülmektedir [27].

## 2.6 Nanopartiküller

Genel olarak, bir nanopartikülün boyutu 1 ile 100 nm aralığındadır. Partikül karakterististiğinin belirlenmesinde optik özelliklerin belirlenmesi önem taşımaktadır. Nanopartiküller, boyutlarının bu kadar küçük olmasından dolayı morfolojik ve fizikokimyasal özellikleri bakımından benzersiz yapılardır [28]. Nanopartiküllerin bir

diğer ismi de nanoküre ve nanokapsüldür. Nanokürede etkin madde matriks sistem içinde homojen olarak dağılmışken, nanokapsülde etkin madde bir polimerik membranla çevrilidir. Nanopartiküllerin öneminin her geçen gün artmasının nedeni kuantum boyut etkileri, elektronik yapısının boyut bağımlılığı, yüzey atomlarının benzersiz karakterleri ve yüksek yüzey/hacim oranıdır. Nanopartiküllerin hücreye girişi fagositoz yoluyla gerçekleşir. Hücreye girdikten sonra hücre içindeki lizozomal enzimler tarafından parçalanırlar. Nanopartiküllerin birikimi, karaciğer ve böbreklerde gerçekleşir. Bu yüzden karaciğeri kanserden korur ve paraziter hastalıkların da oluşmasını engeller [26], [29-30].

## **2.7 Nanoteknolojinin Gıda Alanındaki Uygulamaları**

Nanoteknoloji alanında yapılan çalışmalar hemen hemen birçok bilimi kapsamaktadır. Son yıllarda nanoteknoloji, gıda ve ziraat alanında da oldukça önem kazanmış ve bu yönde birçok araştırma yapılmıştır. Elektronik ve ilaç sektöründeki nanoteknoloji ile ilgili çalışmalar ciddi şekilde artmakta olup buradan elde edilen bilgilerin gıda endüstrisinde kullanımı amaçlanmaktadır [9].

Nanoteknolojinin gıda bilimi ve teknolojisi alanındaki uygulamalarını şu başlıklar altında toplayabiliriz:

- Gıdaların işlenmesi, yeni fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesi,
- Biyoaktif maddelerin taşınması ve kontrollü salımı,
- Patojenlerin tespiti,
- Yeni paketleme ürünlerinin geliştirilerek gıdalarda raf ömrünün uzatılması ve kalitenin geliştirilmesi.

Aroma, renk, besin değeri yüksek maddeler, enkapsüle edilerek bunların fonksiyonel özellikleri geliştirilebilmektedir. Örnek verilecek olursa, enkapsüle edilmiş antioksidan maddeler meyve suyu içinde dağılarak gıdanın kalitesini artırabilmektedir [22]. Polifenoller ve mineraller enkapsüle edildiğinde oksidasyondan korunarak oksidasyon reaksiyonu sonucunda oluşan kötü kokular engellenir ve gıda kalitesi artırılmış olur. Nanoteknolojide kullanılan yöntemler ile biyoaktif maddelerin taşınımını ve kontrollü

salımı gerçekleştirilebilmektedir. Vitaminlerin önemli bir kısmı, insan vücudunda emilim aşamasına gelene kadar midede fonksiyonelliğini kaybetmektedir, fakat enkapsülasyon işlemi ile bu biyoaktif bileşikler zarar görmeden kan dolaşımına taşınabilmektedir.

Nanoteknolojinin gıda endüstrisinde en sık kullanıldığı bölümlerden birisi de gıda ambalajlamadır. Geliştirilen akıllı paketleme sistemleri ile temas yüzeyine antimikrobiyal özellikte ve oksijeni hapseden nanopartiküller eklenebilmektedir. Aynı şekilde, eklenen bu nanoparçacıklar, gıdanın sıcaklık ve nem stabilitesini sağlamaktadır. Ambalaja gömülü biyosensörler ile ürün içerisindeki patojenlerin tespiti yapılabilmektedir. Biyosensör hücre, enzim ve antikor gibi biyolojik komponentlerden oluşur. Sensörler ambalaj içerisine gözle görülmeyecek bir çip şeklinde yerleştirildiği takdirde elektronik barkod gibi çalışır. Protein, polisakkarit, lipit gibi doğal veya sentetik polimerlerden yapılan yenilebilir kaplamalar, nanoteknolojinin gıda bilimi ve teknolojisindeki en yaygın çalışma alanlarından [31-33].

## **2.8 Enkapsülasyon**

Enkapsülasyon, bir maddenin bir kaplama materyalinin içine hapsedilmesi veya kapsüllenmesi olarak tanımlanabilir. Enkapsülasyon işleminde kaplanan materyal dolgu, iç faz veya aktif madde olarak isimlendirilirken, kaplama materyali ise zar, kabuk, kapsül, taşıyıcı materyal, dış faz veya matriks olarak isimlendirilir. Başka bir ifadeyle enkapsülasyon biyoaktif özellik taşıyan gıda bileşenlerinin, enzimlerin, hücrelerin ve mikroorganizmaların, karbonhidrat, protein, lipid gibi biyobozunur veya sentetik polimerlerle kaplanması prosesi olarak tanımlanabilmektedir. Bu işlem sayesinde kapsüllenmiş biyoaktif gıda maddesi ısı ve pH gibi dış faktörlerden fiziksel bir bariyer ile korunmuş olur. Ayrıca ürünün uzun süre stabilitesi devam ettirmesi ve vücut içerisinde hedef bölgeye kontrollü salımı sağlanır [34-36]. Enkapsülasyon işlemi ile önemli gıda bileşenleri kapsüllenerak gıdalara ilave edilmekte ve böylelikle fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş ve zenginleştirilmiş ürünler elde edilebilir. Örneğin omega-3 yağ asitleri enkapsüle edildikten sonra ekmeğe katılarak bu yağ asitlerince zenginleştirilmiş ürün elde edilir. Bu tekniğin bir diğer avantajı da arzu edilmeyen duyuusal özellikler

sergileyen tat ve koku bileşenlerinin de hapsedilebilmesidir [37-40]. Boyutlarına göre enkapsülasyon üç sınıfa ayrılmaktadır.

- Makroenkapsülasyon (5,000  $\mu\text{m}$ 'den büyük)
- Mikroenkapsülasyon (0,2-5,00  $\mu\text{m}$ )
- Nanoenkapsülasyon (200 nm = 0,2  $\mu\text{m}$ 'den küçük)

### **2.8.1 Nanoenkapsülasyon**

Nanoenkapsülasyon, nanometre boyutunda enkapsülasyonu tanımlar. Enkapsülasyonun nanoboyutta olması malzemeye daha homojen bir yapı kazandıracığı için enkapsülasyon etkinliğinin artmasına neden olmaktadır. Bunun yanı sıra ürüne daha iyi kimyasal ve fiziksel özellik kazandırır. Aktif madde koruyucu bir tabakanın içindedir ve bu tabaka nanoboyuttadır. Boyutun makrodan mikroya düşürülmesi enkapsülantların gıda üzerindeki etkisini minimum seviyeye indirir. Nanoenkapsülasyon tekniğiyle, polifenoller ve E vitamini gibi hassas maddelerin kontrol altında tutulması ve oksidasyonlarının engellenmesi sağlanır. Ayrıca bu bileşiklerin stabilitesini artırmak, kontrollü salımını gerçekleştirmek, uçucu bileşenlerin uzaklaşmasını engellemek gibi amaçlarla da gıda teknolojisi alanlarında kullanılabilir [41-42]. Nanoenkapsülasyonda taşıyıcı materyal olarak en uygun malzemeler biyobozunur ve gıda ile uyumlu olması açısından protein, lipit ve karbonhidrat bazlı olanlardır [42].

### **2.8.2 Enkapsülasyon Yöntemleri**

#### **2.8.2.1 Püskürtürek Kurutma Yöntemi**

Püskürtürek kurutma yöntemi, aktif bir maddenin materyal matriks içine hapsedilmesi ve bu maddenin kaplama çözeltisi içindeki emülsiyon ve dispersiyonuna dayanmaktadır [43]. Elde edilen materyal homojenize edildikten sonra kurutma odasına püskürtülür, ısınan su hemen buharlaşır ve ürün kurutulmuş olur. Püskürtürek kurutma ile suyun uzaklaştırılması yöntemi en çok kullanılan yöntemlerden birisidir. Bu yöntemin kullanılmasının birçok nedeni vardır. Bunlar aşağıdaki gibidir:

- Su aktivitesinin azaltılması ile ürünlerin mikrobiyolojik stabilitelerinin sağlanması,

- Kimyasal ve mikrobiyolojik bozulmaların önlenmesi,
- Depolama ve taşıma maliyetlerinin azaltılması,
- Ürünlerin spesifik özelliklerinin korunması.

Proses aşaması sırasında istenmeyen bazı değişimler meydana gelebilmektedir.

Bunlar:

- Yapışma tehlikesi,
- Oksidasyon,
- Renk ve aroma değişimidir.

Püskürterek kurutma, oldukça ucuz bir yöntem olmasına karşın şartların tamamen optimize edilememesi ve aktif maddenin yüksek sıcaklıktan dolayı bozulma riskinin oluşu bu yöntemin kullanılmasını kısıtlamaktadır [44-45]. Bu yöntemle süt tozu üretimi gerçekleştirilmiştir. Aktif madde olan süt yağı, süt proteinleri ve laktoz ile enkapsüle edilmiş ve böylece süt yağı acılaşması engellenmiştir [44]. Probiyotiklerin kaplanması da bu yöntemle yapılan bir diğer çalışmadır [46].

### **2.8.2.2 Dondurarak Kurutma Yöntemi**

Liyofilizasyon olarak da adlandırılan bu yöntem genellikle suda çözünen ısıya karşı duyarlı maddelere uygulanır [47]. Proses üç aşamalı şekilde gerçekleştirilir. İlk aşamada gıda içerisindeki su buz kristallerine dönüştürülür. İkinci aşamada süblimasyon ile buz kristalleri uzaklaşır ve son aşamada gıdada bulunan bağlı su uzaklaştırılır [48]. Bu yöntem genelde ısıya duyarlı maddelerin ve aroma maddelerinin dehidrasyonunda kullanılmaktadır. İşlem düşük basınç ve düşük sıcaklık altında yapıldığında aroma kaybı minimum seviyede tutulabilmektedir. Yüksek enerji gerektirmesi, maliyetinin yüksek olması ve işlem süresinin uzun olması yöntemin kullanımını sınırlandırmaktadır [46], [49].

### **2.8.2.3 Ekstrüzyon Yöntemi**

Bu yöntem genelde stabil olmayan ucucu tat ve aroma bileşenlerinin enkapsülasyonunda kullanılmaktadır [50]. Kaplama materyali olarak en sık karragenan

ve alginat kullanılır. Proses sırasında bariyer sistemi sayesinde atmosferin camsı haldeki karbonhidrat matriksine girişi yavaş ve kontrollü şekilde gerçekleşir. Bu yöntemin en büyük avantajı aroma ve lezzet bileşenlerinin oksidasyona karşı korunması ve böylece raf ömrünün daha uzun olmasıdır [51]. Yapılan bir çalışmada ucuçu yağların püskürterek kurutma yönteminde raf ömrünün bir sene olduğu belirtilirken, bu yöntemle raf ömrünün dört sene daha uzatılabildiği belirtilmiştir. Fakat işlemin çok yavaş sürmesi fazla ölçekli maddelerin kullanımını sınırlandırmaktadır. Küçük miktarda örnekler için avantajlı bir yöntem iken büyük miktarda maddelerin kullanımı için dezavantajlıdır [52-53].

#### **2.8.2.4 Emülsifikasyon Yöntemi**

Bu yöntemde sürekli faz ve sürekli olmayan faz olmak üzere iki farklı faz bulunmaktadır. Polimer çözeltisi sürekli olmayan faz iken biyoaktif bileşenler sürekli fazı oluşturmaktadır. Polimer çözeltisi sürekli faza eklenerek karıştırılır ve yağda su emülsiyonu oluşması için homojenize edilir. Suda çözünür polimer çözeltisinin sürekli faz içerisinde küçük jel formları oluşturması için çözünmez hale getirilmesi gereklidir. Kullanılan karragenan, keçiyoynuzu zamkı, selüloz asetat fitalat, aljinat, chitosan ve jelâtin gibi destekleyici maddeler fazın çözünmezliğini etkilemektedir. Elde edilen fazın boyutunun mümkün olduğu kadar küçük olması gerekmektedir. Böylece kapsüllerde bir o kadar küçük olacaktır. İşlemin son basamağında elde edilen kapsüller filtrasyonla sıvı çözeltiden ayrılmaktadır [54]. Bu yöntem, kolay olması bakımından avantajlıdır ve bu yöntemle enkapsüle edilen bakterilerin canlılıklarını korudukları tespit edilmiştir [55-57].

#### **2.8.2.5 Koaservasyon**

Bu yöntem, kullanılan ilk enkapsülasyon metodudur. İlk kez Green ve Scheicer tarafından 1955 yılında basınca duyarlı karbonsuz kopya kâğıdı yapımında kullanılmıştır [58]. Faz ayrımı olarak da isimlendirilir. Yöntemin prensibi, herhangi bir etki ile bir polimer çözeltisindeki polimerin çözünürlüğünün azaltılarak polimerce zengin damlacıkların ortamdan ayrılıp ortamlarla karışmayan ayrı bir faz oluşturmasıdır. Başka bir tarife göre kolloidal maddelerin çözeltiden çöktürülmesi ya da flokülasyonudur [59].

Kullanılan polimerlerin suda çözünmesi gerekmektedir [57]. İki tür koaservasyon bulunmaktadır: Basit koaservasyonda tek bir polimer çeşidi kullanılırken kompleks koaservasyon yönteminde birden fazla polimer kullanılabilir [60]. Polifenoller gibi çabuk yıkıma uğrayan hassas maddeler, balık yağı, uçucu aroma maddeleri ve vitaminler gibi biyoaktif bileşenlerin enkapsülasyonu için uygun bir methodur. Fakat pahalı ve karmaşık bir sistem olması, kullanımı bakımından dezavantaj oluşturmaktadır [45], [52], [59], [61].

#### **2.8.2.6 Lipozom**

İlk kez 1965 yılında Cambridge Üniversitesinde görevli araştırmacılar tarafından uygulanmıştır. Lipozomlar hem lipit hem de sulu faz içermektedir. Bu yüzden hem yağda hem de suda çözünen maddelerin enkapsülasyonu için uygun bir methodur [45]. Fosfolipidlerin suda çözünmesiyle meydana gelen küreciklere lipozom denir [62]. Lipozomların oluşum mekanizmasında fosfolipidler ve su arasında hidrofobik - hidrofilik interaksiyonlar oluşur. Lipozom yöntemiyle enkapsüle edilmiş materyal uzun süre muhafaza edilebilmekte ve salımı kontrol altında tutulabilmektedir. Özellikle biyoyararlığı yüksek maddelerin enkapsülasyonu ve gastrointestinal sistemde kontrollü salımın gerçekleştirilmesi bağırsak bioaktivitesi açısından son derece önemlidir [81]. Diğer bir deyişle lipozomlar sayesinde sağlığa faydalı maddelerin enkapsüle edilmesi ile zenginleştirilmiş besin ürünleri elde edilebilmekte ve bunların biyoyararlığı sağlanmaktadır [57], [63-64].

#### **2.8.2.7 Faz Ayrımı Yöntemi**

Bu yöntemde sistem üç fazdan oluşmaktadır. Bunlar; kaplama materyali, kapsüllenmiş materyal ve üretici çözücüsü bu fazları oluşturmaktadır. Yöntemin prensibi ilk olarak emülsiyonun oluşturulması ve ardından kesikli faz damlacıklarını saran sürekli fazın meydana getirilmesidir. Faz ayrımı yöntemi üç basamaktan oluşmaktadır. İlk olarak kontrollü şartlar altında karıştırarak çözünmeyen üç fazlı yapının oluşturulması, daha sonra özün etrafında kaplama materyalinin birikimi ve son olarak katı mikrokapsül oluşumu için sıvı kaplamanın büzülmesi ve katılaşması işleminin gerçekleştirilmesidir [65-66]. Basit faz ayrımında tek bir çözünen varken kompleks faz ayrımında birden fazla

çözünen bulunmaktadır. Basit faz ayırımına jelatin içinde turunçgil yağının enkapsülasyonu örnek olarak verilebilir. Bu çalışmada ilk olarak jelatin suda çözündürülmüş ardından turunçgil yağı eklenerek karıştırılmıştır. Jelatinin sudaki çözünürlüğü sıcaklık düşürülerek yavaş yavaş azaltılmıştır. Polimer kolloidler süspanse turunçgil yağ damlacıkları etrafını sarar, böylece küçük ve henüz stabil olmayan mikrokapsüller elde edilmiştir. Kaplama miktarının ayarlanması ve son üründeki tatlandırma gücünün kontrol edilebilmesi yöntemin avantajlarından biridir. Etkili bir yöntem olmasına rağmen maliyetinin yüksek olması ve gıdalla uyumlu kaplama materyalinin elde edilmesindeki problemler yüzünden kullanımı sınırlanmaktadır [50].

#### **2.8.2.8 Süperkritik Akışkan Tekniği**

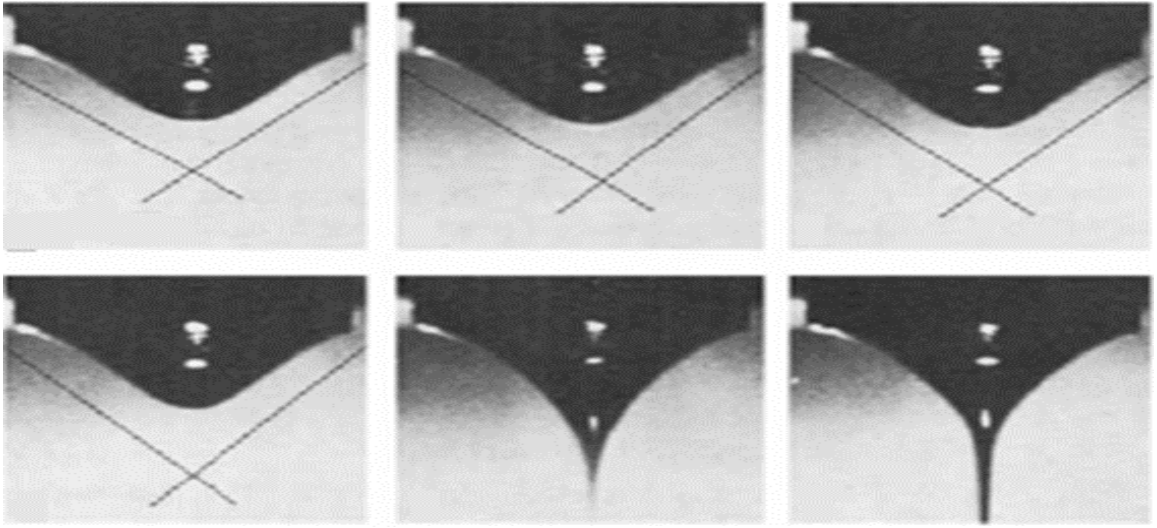
Süper kritik akışkan teknolojisi çevre dostu olması nedeniyle mevcut yöntemlere alternatif olmuştur. Fakat ileri teknoloji gerekliliği ve özel ekipman ihtiyacı kullanımını sınırlandırmaktadır [38]. Süper kritik akışkanlar, süper kritik sıcaklığın üzerinde, yüksek basınç varlığında faz değiştirmeyen sıvılar olarak tanımlanır. Bu sıvılar içerisinde en yaygın bilinen süper kritik sıvı CO<sub>2</sub>'dir. CO<sub>2</sub> ucuz olması, yanıcı ve toksik olmaması bakımından diğerlerine nazaran kullanıma uygundur. Süperkritik anti - solvent (SAS) ve kritik çözeltinin ani genişmesi (RESS) bilinen süper kritik teknoloji teknikleridir [67].

#### **2.8.2.9 İyonotropik Jelasyon**

Bu yöntemde sentetik polimerlerin yanı sıra aljinat, kitosan ve jelatin gibi hidrofilik polimerlerin kullanımı yaygındır. Özellikle kitosan polimeri kullanılmaktadır. Bu yöntemin prensibi zıt yüklü moleküller arasında meydana gelen kompleksleşmedir. Tripoli fosfat (TPF) kitosanla kolayca etkileşme girdiği için sıklıkla kullanılan çapraz bağlayıcıdır. Bu yöntemde ilk olarak, TPF ve kitosanın çözeltisi hazırlanmaktadır. Bu işlem sırasında TPF çözeltiye damla damla ilave edilmelidir. Zıt yüklü iyonların kompleksleşmesi sonucunda oluşan kürecikler nanopartiküllerin oluşumunu göstermektedir [68]. Yöntemin gerçekleştirilmesinin kolay olması ve fazla ekipmanlara ihtiyaç olmaması yöntemi avantajlı kılmaktadır [69].

### 2.8.2.10 Elektropüskürtme Metodu

Elektropüskürtme metodu ile nanopartikül üretimi elektrostatik kuvvetlere dayalı bir metottur. İlk keşfi Rayleigh tarafından 1897 yılında gerçekleştirilmiştir. 1960'lı yıllarda Taylor tarafından bu konuda çeşitli araştırmalar yapılmış ve elektrikleştirilmiş sıvılara ait temel teorik prensipleri açıklamıştır. Taylor, elektriksel kuvvetin yüzey gerilimine eşit olduğu anda kritik bir noktada bir koni (Şekil 2.4) oluştuğunu fark etmiştir. Elektropüskürtme metodunu etkileyen dört parametre (dielektrik katsayısı, viskozite, iletkenlik ve uçuculuk) bulunduğunu, belirtmiş ve bu yöntemin patentini almıştır [70].



Şekil 2. 4 Taylor konisi ve jet oluşumu [71].

1990 yılına kadar bu konuda çok kapsamlı çalışmalar yapılmamıştır. 1990'ların ortalarına gelindiğinde Reneker ve grubu bu metodla çok ince nanopartiküller üretebileceğini ve bunun üretimde seri olarak kullanılabilirliğini belirtmiştir ve bundan sonra bu konuda yapılan çalışmalar ivme kazanmıştır [72]. 2000'li yılların başına kadar bu konuda 60 tane patent alınmıştır [73].

Elektropüskürtme metodunda üç temel bileşen bulunmaktadır. Bunlar, polimer çözeltisi ile temas halinde bulunan bir elektrot, yüksek gerilim sağlayan düz akım güç kaynağı ve topraklanmış toplayıcı bir plakadır [5-7].

Sistemin işleyişi ise şu şekildedir. Polimer uygun bir çözücü içerisinde çözündürüldükten sonra bir şırınga içine konur. Polimer çözeltisi, sabit bir akış hızında besleme pompasından besleme borusuna pompalanır. Besleme çözeltisi şırınganın

ucuna geldiğinde ise temas halindeki elektrotlar yoluyla elektrik yükleriyle yüklenmiş olurlar [76]. Daha sonra toplayıcı plaka ve çözelti arasında uygun bir değerde voltaj uygulanır. Yüksek voltaj sağlayan güç kaynağının pozitif ucu, şırınganın metal ucu ile bağlantılıdır. Negatif ucu ise toplayıcı plakaya bağlıdır. Kapalı devre sistemi gibi çalışır. Uygulanan bu voltaj ile elektriksel gerilim oluşur. Besleme ünitesinde iğne ucunun ucundaki polimer damlacıkları, yüzey gerilimi kuvveti nedeniyle kritik voltaj değerine kadar küresel şekildedir. Polimer çözeltisinin yüzey gerilimi, elektriksel gerilime direnç gösterir. Kritik voltaj değerine ulaşıldığında polimer çözeltisinin yüzey gerilimi ile elektrostatik kuvvetler eşitlenir ve polimer damlası koni (Taylor konisi) şeklini alır. Elektriksel gerilim polimer çözeltinin yüzey gerilimini aştığı durumda nanopartiküller oluşur. Polimer çözeltisindeki çözücü ise bu esnada buharlaşarak ortamdan uzaklaşır [75].

Elektropüskürtme, nanoenkapsülasyon yöntemlerinden bir tanesidir ve elektrostatik kuvvet kullanılarak doğal, sentetik ve kompozit solüsyonların spreylenerek iletken bir alt tabaka üzerine çökelen nano yapıları kaplamaların (partikül) oluşumunu sağlayan bir nanoüretim prosesidir. Elektropüskürtme yönteminin diğer yöntemlere kıyasla avantajları bulunmaktadır. Bunlar şu şekildedir.

- Son ürünün farklı morfolojik yapılar göstermesi.

Bu morfolojik yapılar işlem parametrelerinin değiştirilmesi ile istenilen biçimde düzenlenebilmektedir. Örnek verilecek olursa polimer konsantrasyonunun düşürülmesi veya toplayıcı plakaya olan mesafenin artırılması ile daha küçük boyutta partiküller elde edilebilmektedir.

- Fonksiyonel veya yenilebilir polimerlerin kullanımına olanak sağlar.
- Biyoaktif madde dışındaki polimerlerin de kapsüllenmesine olanak sağlar.
- Kullanımı kolaydır.
- Cihazın kurulumu ucuz, hızlı ve kolaydır.
- Ticari üretime uygundur.
- Isıya duyarlı, hassas bileşenlerin enkapsülasyonuna uygundur.

Son yıllarda özellikle probiyotiklerin, antioksidan maddelerin, biyoaktif maddelerin elektropüskürtme tekniği ile enkapsüle edilmesi oldukça yaygın bir hal almıştır. Elektropüskürtme yöntemiyle elde edilen nanoyapıların kullanım alanları şunlardır.

- İlaçların kaplanması,
- Kontrollü salım,
- Membran üretimi,
- İzolasyon,
- Elektro-magnetik sistemler,
- Medikal ürünlerle ilgili alanlarda [77-78].

#### 2.8.2.11 Elektropüskürtme Metoduna Etki Eden Parametreler

Elektropüskürtme metoduna etki eden birçok parametre bulunur. Bu parametreler Çizelge 2.1’de gösterildiği gibi 3 ana grupta toplanır [76].

Çizelge 2. 1 Elektropüskürtme metoduna etki eden parametreler.

<b>1.Besleme çözeltisine ait özellikler</b>	Polimer çözeltisinin konsantrasyonu Çözücü özellikleri Çözücü iletkenliği Yüzey gerilimi Dielektrik sabiti ( $\epsilon$ )
<b>2.İşlem parametreleri</b>	Uygulanan voltaj Besleme ucu ve besleme borusuna ait özellikler Besleme ucu ve toplayıcı plaka arasındaki mesafe Toplayıcı plakaya ait özellikler Besleme debisi
<b>3.Çevresel faktörler</b>	Sıcaklık ve nem

#### • Polimer çözeltisinin konsantrasyonu ve çözücü özellikleri

Nonapartikül üretiminde kullanılan polimerin konsantrasyonu, işlemi etkileyen önemli bir parametredir. Uygun konsantrasyon belirlenemezse nanopartikül oluşumu gerçekleşmez. Yüksek konsantrasyon kullanıldığında elektriksel iletkenlik viskoziteyi aşamayacağından polimer akışı gerçekleşmez. Düşük konsantrasyon kullanıldığında ise

damlacık oluşumu gözlenir ve nanopartikül oluşması gözlenmez. Yüksek konsantrasyonlu polimer çözeltisi ile üretilen partiküllerin çapı da daha büyük olur [79]. Polimerin özellikleri kadar çözücünün özellikleri de işlemi etkileyen önemli bir etkidir. Genellikle çözücü olarak uçucu maddeler kullanılmaktadır. Uygun çözücünün işlem sırasında toplayıcı plakaya ulaşmadan hızlı bir şekilde buharlaşması gerekmektedir. Ayrıca kullanılan çözücünün özellikleri oluşan nanopartiküllerin çapını da etkiler [73].

#### • Çözücü iletkenliği

Elektropüskürtme ile nanopartikül üretim tekniği elektriksel gerilim prensibine dayandığı için elektriksel iletkenliğe sahip olmayan çözeltilerden üretim yapılması mümkün değildir. Elektriksel iletkenliğe sahip polimerler iyonik bileşenler içerir ve uygun bir çözücü içinde çözüldüğünde bu iyonik bileşenler açığa çıkacağından dolayı elektriksel iletkenlik artar. Konsantrasyon arttığı takdirde iyonik bileşenlere sahip polimer çözeltisinin elektriksel iletkenliğide artar. İçerisinde yeteri kadar iyonik bileşen bulunmayan çözeltilere de inorganik tuzlar eklenerek nanopartikül üretimi sağlanmaktadır. Elektriksel iletkenlik 5 mS/cm'a kadar olduğu takdirde nanopartikül oluşum verimi artmaktadır fakat bu iletkenlik değerinden sonra yapılan çalışmalarda nanopartikül üretimi gerçekleşmediği belirtilmiştir [75].

#### • Yüzey gerilimi

Sıvının yüzey tabakası esnek tabaka ile benzer özelliklere sahiptir. Bu benzerliklerin sonucunda oluşan etki yüzey gerilimi olarak ifade edilmektedir [76]. Elektropüskürtme işleminde, elektriksel potansiyele karşı uygulanan ilk kuvvet yüzey gerilimidir [74]. Yüzey gerilimi partiküllerin yapısını, damlacık oluşumunu etkiler. Diğer değişkenler sabit tutulduğu zaman yüzey geriliminin düşürülmesi daha pürüzsüz, damlacıksız ve küçük partiküller oluşumunu sağlar. Yüzey gerilimi polimer ve çözücünün özelliklerinden ve sıcaklıktan etkilenir. Polimer konsantrasyonu arttıkça yüzey gerilimi azalır. Tween 80, span 20 gibi sürfaktanların eklenmesi de yüzey gerilimini düşüreceğinden daha stabil partiküllerin oluşumunu sağlar ve uygulanması gereken minimum voltaj değerini azaltır [80].

- **Dielektrik sabiti:**

Dielektrik sabiti bir maddenin yapısında ne kadar elektriksel yük barındırabileceğini ifade eder. Birimi F / m (Farad / metre) 'dir. Dielektrik sabiti polimer ve çözücünün türüne göre değişmektedir. Dielektrik sabitinin yüksek olması, besleme çözeltisi içerisindeki elektriksel yüklerin daha düzgün ve homojen dağılımını sağlamaktadır. Bu yüzden dielektrik sabitinin artmasıyla daha kaliteli partikül oluşumu sağlanmaktadır. Aynı zamanda birim başına daha fazla partikül toplanacağından verim artışı da gerçekleşmiş olur. Katkı maddelerinin veya farklı çözücülerin eklenmesi de dielektrik sabitini değiştirir. Fakat partikül morfolojisinde meydana gelen bu değişim yalnızca dielektrik sabitinin değişmesinden kaynaklanmıyor olabilir. Bu maddelerin eklenmesi iletkenlik, yüzey gerilimi ve polimerin çözelti içindeki dağılımını da etkilemektedir [76], [79-80].

- **Voltaj**

Uygulanan gerilim, işlem sırasında besleme çözeltisinin elektriksel yüklerle yüklenmesini sağlar [76]. Üretilen malzemenin morfolojisi açısından voltaj değeri önemli bir etkiye sahiptir. Partikül üretimi kritik voltaj değeri aşıldıktan sonra gerçekleşmeye başlar. Uygulanan voltaj değeri arttıkça oluşan partikül çapının küçüldüğü bazı çalışmalarda belirtilmiştir [74], [81-82]. Genellikle, çözeltiliye uygulanan yüksek voltaj yüksek gerilime (bükülme) neden olur. Böylece partiküllerin çapı daralır ve çözücü hızlı bir şekilde buharlaşır. Damlacık oluşumun uygulanan voltaj değeri arttıkça arttığı rapor edilmiştir [74], [80-82]. Uygulanan voltaj değerinin partikül çapına olan etkisi incelenirken, diğer işlem parametreleri de göz önüne alınmalıdır. Voltaj değerinin arttırılması aynı zamanda daha hızlı partikül oluşumunu sağlar ve Taylor konisinin şeklini de etkiler. Taylor konisi normalde dışa dönük yapıda iken, içe dönük bir yapı kazanır ve bu durum damlacıklı ve düzensiz halde nanopartiküller oluşmasına neden olmaktadır [76].

- **Besleme ucu ve besleme borusuna ait özellikler**

Beslenme ucunun fiziksel özellikleri oluşturulan nanopartiküllerin çaplarını ve toplayıcı plaka üzerindeki alanın boyutunu etkilemektedir. Küçük beslenme uçlu şırınga kullanıldığında daha küçük çaplı nanopartiküller üretilmektedir. Fakat yüksek viskoziteli

polimer kullanıldığında bu durum şırınga ucunda tıkanıklığa neden olarak akışın kesilmesini sağlar. Ayrıca yapılan araştırmalarda beslenme ucu negatif yüke bağlandığı zaman daha büyük çapta nanopartiküller oluştuğu gözlemlenmiştir. Lif ve partikül çapına beslenme borusunun çapı da etki etmektedir. Büyük çaplı boru kullanılan işlemde daha büyük çapta ürün, küçük çaplı boru kullanılan işlemde ise daha küçük çapta ürün elde edildiği kaydedilmiştir. Beslenme borusu çapının en uygun olduğu değerin 4,5 mm olduğu belirtilmiştir. Gereğinden fazla büyük çapa sahip borularda damlacıklı yapı oluşmakta iken, gereğinden küçük çapa sahip borularda ise Taylor konisinin oluşmadığı belirtilmiştir [71], [76], [83].

#### • Besleme ucu ve toplayıcı plaka arasındaki mesafe

Beslenme ucunun toplayıcı plakaya olan uzaklık mesafesi oluşan nanopartiküllerin çapını ve morfolojisini etkilemektedir. Bu mesafe polimerin maruz kaldığı elektriksel alanın şiddetini ve çözeltideki çözücünün ne kadar zamanda uzaklaşacağını belirler. Aradaki mesafe arttıkça çözeltinin havada kalma süresi artar, daha uzun süre elektriksel alana maruz kalır ve çözücü daha çabuk uzaklaşır. Böylece oluşturulan partiküllerin çapıda azalır. Yapılan bir çalışmada örneğe 15 kV gerilim uygulamış ve toplayıcı plakaya olan mesafenin 5 cm'den 20 cm'ye çıkması ile birlikte nanopartikül çapının 1  $\mu\text{m}$ 'den 0,66  $\mu\text{m}$ 'ya istikrarlı bir düşüş gösterdiği gözlenmiştir. Mesafe az olduğu durumlarda nanopartiküller yaş olarak toplanır. Aynı zamanda kararsız Taylor konisinin oluşmasına ve kusurlu morfolojiye sahip partiküllerin oluşmasına neden olur [75], [83-84].

#### • Toplayıcı plakaya ait özellikler

Toplayıcı plakaya ait iki özellik üretilen nanopartiküllerin özelliklerini etkilemektedir. Bunlarda ilki kolektörün hangi materyalden yapıldığıdır. Bu materyalin dielektrik özelliği önemlidir. Nanopartiküller topraklanmış toplayıcı plakaya temas edince sahip olduğu elektriksel yükler sıfırlanmaktadır ve dışarıda kalan nanopartiküllerin yük boşalması daha yavaş gerçekleşmektedir. Bu durum da nanopartiküllerin morfolojisini ve yoğunluğunu etkilemektedir. İkinci önemli parametre ise toplayıcı plakanın geometrik şeklidir. Genelde sabit levhalı toplayıcılar kullanılmakla birlikte döner silindir, döner plaka, tel çerçeveler, halka şeklinde elektrotlar ve koni şeklinde toplayıcılar da kullanılmaktadır. Toplayıcı geometrileri nanopartiküllerin ne şekilde toplanacağını

belirlemede kullanılırken, hareketli toplayıcılar ise istenilen yoğunlukta nanopartiküllerin birikimini sağlamaktadır. İstenilen yoğunlukta nanopartikül toplanması partiküllerin daha homojen ve gözenekli, yapının daha stabil oluşmasını sağlamaktadır. Bu durum sensör uygulamalarında avantaj sağlamaktadır. Kollektör plakası alüminyum folyo gibi malzemelerle sarılır, böylece nanopartiküller kolayca toplanabilir. Alüminyum folyo yanında, iletken kâğıtlar, kumaşlar veya teller kullanılır. Yapılan bir araştırma, tellerin kullanılması, alüminyum folyoya oranla kolektör plakası yüzeyinden numune almak için daha iyi bir yol olduğunu göstermektedir [70], [75], [79].

#### • Besleme debisi

Besleme debisi, birim zamanda ne kadar polimer çözeltisinin nanopartiküle dönüşeceğini belirtmektedir. Besleme debisi ile polimer çözeltisinin miktarı uyumlu olmalıdır. Düşük debilerde Taylor Konisi oluşmamakta iken yüksek debilerde ise büyük çapta damlacıklı yapıda nanopartiküller oluşmaktadır. [75-76], [83].

#### • Çevresel Faktörler

Sıcaklık ve nem elektropüskürtme işlemini etkileyen çevresel etmenlerdir. Yapılan bir çalışmada sıcaklık arttıkça oluşan nanopartiküllerin çapı da azalmıştır. Bunun nedeninin de polimer çözeltisinin viskozitesinin azalışı olduğu belirlenmiştir. 25 – 57 °C sıcaklıkta ısıtılmış havanın sirkülasyonu ile çözücünün uzaklaşma hızında artmaktadır [83]. Ortamın nem değerinin partikül oluşma performansını, çap düzgünlüğünü ve yüzey özelliklerini önemli ölçüde etkilediği belirlenmiştir. Bu bakımdan en uygun nem değerinin % 27 olduğu belirtilmiştir [85].

## 2.9 Elektropüskürtme Yöntemiyle Elde Edilen Nanoyapıların Gıda Alanında

### Uygulama Alanları

Elektropüskürtme metodu ile elde edilen nanopartiküller gıda alanlarında uygulanmaktadır. Bunlar şu şekilde sıralanabilir:

- Oksidasyondan koruma,
- Kontrollü salım,

- Gıda güvenliđi,
- Gıda kalite sistemleri,
- İstenmeyen tat, lezzet ve koku bileşenlerini hapsetme,
- Patojenlerin tespiti,
- Akıllı ambalaj sistemlerin geliştirilmesi,
- Aktif paketlenme sistemlerinin oluşturulması,
- Antibakteriyel ambalajlar,
- Nanokatkılar,
- Proses boyunca ürün durumunu inceleme [9].

## **2.10 Elektropüskürtme Yöntemiyle Elde Edilen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu**

Elektropüskürtme metodu ile üretilen partikülleri karakterize etmek için birçok teknikten yararlanılır. Fiziksel ve kimyasal karakterizasyon için kullanılan teknikler farklıdır. Fiziksel karakterizasyonda ürünün yapısı ve morfolojisi belirlenmektedir. Bunun için taramalı elektron mikroskobu (SEM), alan emisyon taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM), transmisyon elektron mikroskobu (TEM), atomik kuvvet mikroskobu (AFM) kullanılmaktadır. Kimyasal karakterizasyon için Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), nükleer manyetik rezonans (NMR), dairesel dikroizm (CD), diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC), X-ışını kırınımı ve X-ışını saçılması kullanılmaktadır. Farklı koşullardaki partikül boyut dağılım ve stabilitelelerini belirlemek için zeta potansiyel analizleri kullanılmaktadır. Tüm bu analizlerin neticesinde üretilen materyalin gıda teknolojisi alanında kullanılıp kullanılmayacağına karar verilmektedir [79-80], [86-89].

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyaller

Bu çalışmada kullanılan propolis Arifoğlu Gıda'dan, poli(vinil alkol), etanol, metanol, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Sigma (Sigma Aldrich, Almanya)'dan dan temin edilmiştir.

#### 3.2 Metot

##### 3.2.1 Propolis Ekstraktının Temin Edilmesi

Ham propolisten (Şekil 3.1) saf propolisin elde edilmesi sırasında Busch ve arkadaşlarının metodundan yararlanılmıştır [90]. Bu amaçla ilk olarak, %80'lik etil alkol kullanılarak %8'lik propolis çözeltisi hazırlanmıştır. Çözelti, 1 saat homojenizatörde 15.000 rpm'de homojenize edilmiştir ve ardından 24 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Manyetik karıştırıcıdan alındıktan sonra 0,45 µm'lik filtre kağıdından geçirilmiştir. Ardından safsızlıkların uzaklaştırılması için ilk olarak 3 gün boyunca -20 °C'de bekletilmiş ve -5 °C de 4.200 rpm'de 2 kez 5 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatant kısmı 0,22 µm'lik filtrelerden geçirilerek steril hale getirilmiştir. Son olarak 50 °C'de vakum evaporatörde solvent uzaklaştırılarak propolis ekstraktı elde edilmiştir. Elde edilen propolis ekstraktı (Şekil 3.2), kullanılabildiği kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3. 1 Ham propolis



Şekil 3. 2 Propolis ekstraktı

### 3.2.2 Kaplama Çözeltisinin Standardizasyonu

Bu çalışmada, en uygun PVA konsantrasyonunun belirlenmesi ve elektropüskürtme şartlarının optimizasyonu amacıyla farklı PVA konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlanarak, elektropüskürtme cihazında farklı proses şartlarında nanopartiküller elde

edilmiştir. Elde edilen nanopartiküllerin boyut ve zetapotansiyelleri ölçülerek optimizasyon gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.2.1 Kaplama Çözeltisinin Hazırlanması

Kaplama materyali olarak PVA kullanılmıştır. En uygun konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla ilk olarak % 10'luk, % 6'lık ve % 5'lik PVA - saf su çözeltileri hazırlanmıştır. Her bir çözelti 2 saat boyunca 80 °C'de 100 rpm'de çalkalamalı su banyosunda karıştırılmıştır. Şekil 3.2 ve Şekil 3.3'te sırasıyla karıştırma öncesi ve sonrasındaki PVA çözeltilerinin görünümü verilmiştir.



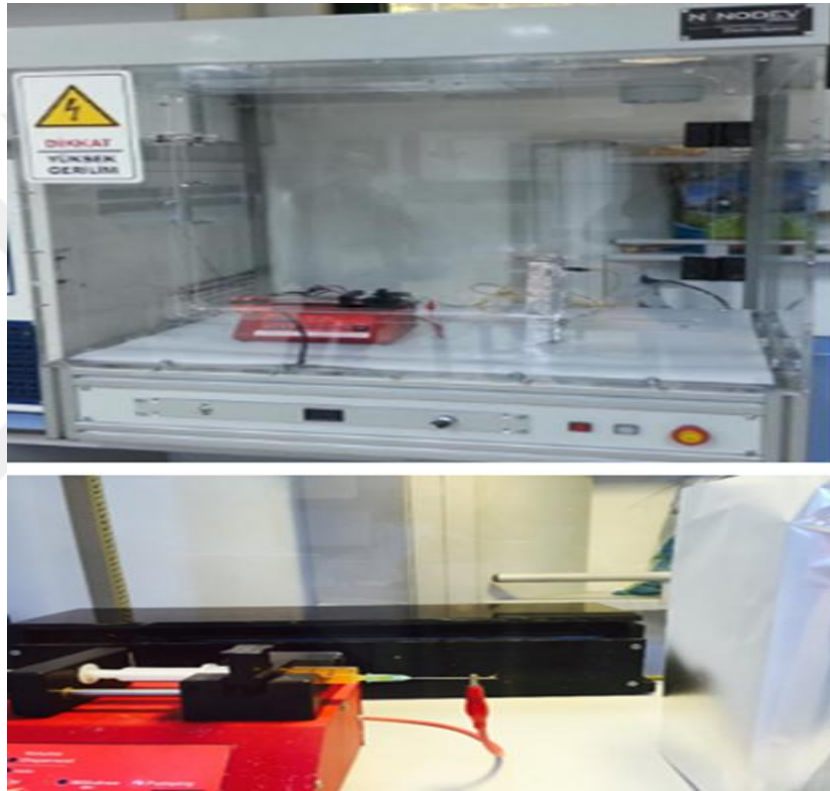
Şekil 3. 3 PVA - saf su çözeltisi



Şekil 3. 4 80 °C'de bekletilmiş PVA - saf su çözeltisi

### 3.2.2.2 PVA Nanopartiküllerinin Üretilmesi

Nanopartiküller, Şekil 3.5'te görülen elektropüskürtme cihazı (Nanodev, Türkiye) kullanılarak elde edilmiştir. Her bir besleme çözeltisi 5 ml hacimli 0.80x38 mm plastik şırıngalara konularak cihaz ünitesine (Nanodev, Türkiye) yerleştirilmiştir. Farklı voltaj ( 10 – 20 kV ), farklı akış hızı ( 0,3 – 0,4 – 0,5 ml/sa ), farklı plaka mesafesi ( 10 – 20 cm ), parametreleri elektropüskürtme prosesi boyunca uygulanmıştır. Bu parametrelerde üretilen nanopartiküllerin boyut değerleri ve mikroskop görüntüleri alınarak en uygun besleme çözeltisi konsantrasyonu belirlenmiştir.



Şekil 3. 5 Elektropüskürtme cihazı (Nanodev, Türkiye)

### 3.2.2.3 Boş PVA Nanopartiküllerinin Boyut ve PDI Ölçümleri

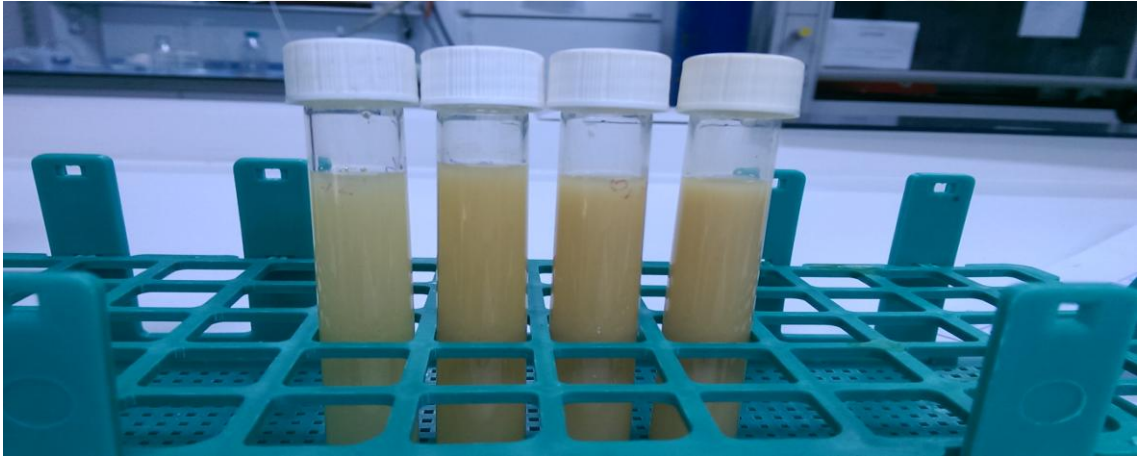
%5, %6, %10'luk boş PVA nanopartiküllerinin boyutlarını belirlemek amacıyla nanopartikül boyut ölçüm cihazı (Nano ZSP, Malvern Instruments Corp. Worcestershire, İngiltere) kullanılmıştır. Nanopartiküller saf su ile seyreltilmiş ve ardından sırasıyla 30 dk Ultraturax cihazında maruz bırakıldıktan ve 0,45  $\mu\text{m}$ 'lik

filtrelerden geçirildikten sonra ölçümler alınmıştır. Ölçümler 173 °lik açıyla yapılmıştır. Dinamik ışık saçılımı (DLS), ortalama partikül çapını belirlemek için kullanılmıştır.

### 3.2.3 Propolis İçeren PVA Nanopartiküllerinin Üretilmesi ve Karakterizasyonu

#### 3.2.3.1 Propolis İçeren Boş PVA Nanopartiküllerinin Üretilmesi ve Karakterizasyonu

Bu çalışmada, 5 farklı konsantrasyonda (% 0, % 0,4, % 0,8, % 1 ve % 1,2) propolis ekstraktı içeren PVA çözeltileri hazırlanmıştır. Bu amaçla, ilk olarak 10 ml hacimde % 6'lık PVA çözeltileri hazırlanmış ve çalkalamalı su banyosunda (Daihan, WUC-D10H, Kuzey Kore) 1 saat süreyle 80 °C'de karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Ardından her bir tüpe belirtilen konsantrasyonlarda propolis ekstraktı ilave edilerek tüpler 24 sa boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılmaya devam edilmiştir. Süre sonunda homojen hale getirilen çözeltiler (Şekil 3.6), 5 ml hacimli 0.80x38 mm plastik şırıngalara konularak elektrospüskürtme ünitesine yerleştirilmiştir. (15 kV voltaj, 10 cm plaka uzaklığı ve 0,5 ml/saat) akış hızı parametleri uygulanarak sistem çalıştırılmış ve nanopartiküller üretilmiştir.



Şekil 3. 6 Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış PVA - propolis çözeltileri

#### 3.2.3.2 Zeta Potansiyel ve Boyut Analiz Ölçümleri

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış PVA/propolis nanopartiküllerinin boyut ölçümlerini gerçekleştirmek amacıyla zetasizer cihazı (Nano ZSP, Malvern Instruments Corp. Worcestershire, İngiltere) kullanılmıştır. Nanopartiküller saf su ile seyreltilmiş ve ardından sırasıyla 30 dk Ultraturax cihazında maruz bırakıldıktan ve 0,45 µm'lik

filtrelerden geçirildikten sonra ölçüm alınmıştır. Ölçümler 173°'lük açıyla yapılmıştır. Dinamik ışık saçılımı (DLS), ortalama partikül çapını belirlemek için kullanılmıştır.

Zetasizer ölçüm cihazı (Nano ZSP, Malvern Instruments Corp. Worcestershire, İngiltere) kullanılarak PVA/propolis nanopartiküllerinin zetapotansiyelleri ölçülmüştür. Ölçümler 25 °C'de, elektrot içeren kapiler hücre kullanılarak, saf su içerisinde seyreltikten sonra gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar ilk 10 ölçümün ortalaması şeklinde kaydedilmiştir.

### 3.2.3.3 Enkapsülasyon Veriminin Belirlenmesi

Nanopartiküllerin enkapsülasyon etkinliği, Brahatheeswaran vd. (2012) tarafından uygulanan metoda göre belirlenmiştir [91]. İlk aşamada, nanopartiküller 10 ml saf su içerisinde 1 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. İyice disperse edilen nanopartiküller 5.000 rpm'de 5'er dakika 2 kere santrifüj cihazında (Thermo Scientific, Multifuge X3 FR, Almanya) santrifüj edilmiştir. Supernatant kısmı, kaba filtre kağıdından geçirildikten sonra, 450 nm'de spektrofotometre'de (Shimadzu, UV 1800, Japonya) absorbans ölçümü yapılmıştır. Enkapsüle olan propolis miktarı ve % enkapsülasyon etkinliği aşağıdaki belirtilen (3.1) ve (3.2) eşitlikleri kullanılarak belirtilmiştir.

$$\text{Propolis}_{\text{Enkapsüle}} = \text{Propolis}_{\text{Toplam}} - \text{Propolis}_{\text{Filtrat}} \quad (3.1)$$

$$\% \text{Enkapsülasyon} = (\text{Propolis}_{\text{enkapsüle}} / \text{Propolis}_{\text{toplam}}) \times 100 \quad (3.2)$$

### 3.2.3.4 Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi

FTIR (Bruker Tensor 27, Bremen, Almanya) spektroskopisiyle PVA/propolis nanopartiküllerinin ve propolis ekstraktının moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Ölçüm, 400-4000 cm<sup>-1</sup> arasındaki dalgaboyunda ve 4 cm<sup>-1</sup> çözünürlükte gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.3.5 Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) Analizi

PVA/propolis nanopartiküllerinin termal özellikleri DSC cihazı (DSC, Q100, TA Instruments Inc., New Castle, DE, ABD) kullanılarak belirlenmiştir.

Alüminyum kaplı DSC kapları içerisine 4-5 mg arasında nanopartikül örneği konulmuştur. Örnekler 10 °C/dk ısıtma hızında ve 40-400 °C sıcaklık aralığında N gazı atmosferinde ısıtılmıştır. Örneğe verilen enerji (mW), sıcaklık ve zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilmiştir.

### 3.2.3.6 Antioksidan Aktivite (AA) Analizi

Propolis yüklenmiş PVA nanopartiküllerinin antioksidan aktivitesi (AA), DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazin hidrat) radikali yakalama kapasiteleri ölçülerek gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, nanopartiküllerin etanolik ekstraktlarından 1,5 ml alınarak üzerine 1,5 ml DPPH çözeltisi eklenmiş ve karışım vorteksle (Stuart, BioCote, İngiltere) homojen hale getirildikten sonra 50 dk boyunca karanlık bir odada bekletilmiştir. Süre sonunda UV-vis spektrofotometre cihazında (Shimadzu, UV 1800, Japonya) 517 nm 'de absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir [92].

Elde edilen sonuçlara göre % AA, aşağıdaki (3.3) eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\%AA = ((A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}) \times 100 \quad (3.3)$$

Burada,  $A_{\text{kontrol}}$  nanopartikül içermeyen saf DPPH çözeltisinin ölçülen absorbans değerini,  $A_{\text{örnek}}$  ise nanopartikül içeren DPPH çözeltisinin absorbans değerini ifade etmektedir.

### 3.2.3.7 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Propolis yüklenmiş PVA nanopartiküllerin antibakteriyel aktiviteleri, Feyzioglu ve Tornuk (2016) tarafından açıklanan yöntem üzerinde çeşitli modifikasyonlar uygulanarak sıvı besiyeri dilüsyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir [93]. Test bakterisi olarak Gram pozitif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve Gram negatif *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 33150 teste tabi tutulmuştur. İlk olarak, stok bakteri suşları, Nutrient Broth (Merck, Almanya) içerisinde peş peşe 2 kez 37 °C'de 24 saat süreyle aktifleştirilmiş ve taze bakteriyel kültürler elde edilmiştir. Deney tüplerinde hazırlanan 7 mL'lik steril Nutrient Broth'lar içerisine  $\sim 10^8$  kob/mL düzeyinde bakteri inoküle edilmiş ve ardından her bir nanopartikül örneğinden % 2 oranında ilave edilerek test tüpleri 37 °C'de 5 saat çalkalamalı inkübatörde 140 rpm'de inkübasyona bırakılmıştır.

Kontrol örneğine herhangi bir nanopartikül ilavesi yapılmamıştır. İnkübasyon başlangıcı ve sonunda bakteri sayıları kültürel mikrobiyolojik yöntemler yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Bu amaçla Maximum Recovery Diluent (Merck, Almanya) ile hazırlanan örnek dilüsyonları Nutrient Agar (Merck, Almanya) içeren petri plakaları üzerine yayma ekim yapılarak 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda gelişen koloni sayısı tespit edilerek logaritmik değerlere çevrilmiştir [93].

### **3.2.3.8 Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizi**

Taramalı elektron mikroskobu (SEM, FEI, Quanta Feg 250, ABD) kullanılarak nanopartiküllerin morfolojik yapısı belirlenmiştir. Nanopartiküller, düşük vakum altında, 7.6 mm mesafede ve 20 kV voltaj kullanılarak analize tabi tutulmuştur.

### **3.2.3.9 İstatistiksel Analizler**

Veri analizleri JMP 6 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler arasındaki aritmetik ortalama ve standart sapmalar bulunmuştur. Değişkenler arasında fark olup olmadığı  $P < 0.05$  anlamlılık düzeyinde bağımsız "t" testi ve tek yönlü varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Araştırma en az iki tekerrürlü üç paralel olacak şekilde yapılmıştır.

### SONUÇ VE ÖNERİLER

#### 4.1 Kaplama Çözeltisinin Standardizasyonu

Bu çalışmada, enkapsülasyon işleminde kaplama materyali olarak PVA kullanılmıştır. En uygun konsantrasyonun belirlenmesi için farklı oranlarda PVA çözeltisi hazırlanmış ve elektropüskürtme tekniği ile üretilen nanopartiküllerin boyut ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla %5, %6, %10'luk PVA çözeltileri hazırlanmıştır. Elektropüskürtme uygulamasında farklı voltaj, plaka uzaklığı ve akış hızı parametreleri denenerek en uygun veriler elde edilmeye çalışılmıştır. Bu çalışmanın ön denemelerinde, ayrıca ultrases dalga şiddeti (50 Hz) uygulama süresi ve filtrasyon uygulamasının boyut analizi üzerindeki etkisi de incelenmiştir. Nanopartiküllerin boyut analizi dinamik ışık saçılımı metoduna göre belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre %10 PVA içeren nanopartiküllerin boyutları 212–255 nm arasında bulunurken %5 PVA içeren nanopartiküllerin boyut değerleri 144-180 nm arasında çıkmıştır. %6 PVA içeren nanopartiküllerin boyutları ise 86–106 nm arasında ölçülmüştür. Tüm konsantrasyonlarda çözelti hazırlama sırasında ultrases uygulama süresinin artması daha homojen partiküller elde edilmesini sağlamıştır. Sonuçlara bakıldığında, %6 oranında PVA ile hazırlanan nanopartiküllerin daha küçük boyut ve daha düşük PDI değerlerine sahip olması nedeniyle propolis yüklü PVA nanopartikülleri üretiminde %6'luk PVA çözeltisinin kullanımına karar verilmiştir. Test edilen bir çok elektropüskürtme parametreleri sonucunda ise optimum parametrelerin 15 kV, 0.5 ml/sa akış hızı, 10 cm plaka uzaklığı olduğu belirlenmiştir. Bu parametrelerde optimum

boyutta ve PDI değerinde nanopartiküller üretilmiştir ve bundan sonraki tüm nanopartikül üretiminde bu parametreler standart olarak kabul edilmiştir.

Aynı zamanda üretilen nanopartiküllerin mikroskopik görüntüleri incelenmiş, %10 oranında hazırlanan PVA çözeltisinin nanopartikülden ziyade nanolif oluşturduğu ve bu oluşumun konsantrasyon %7'ye düşene kadar devam ettiği gözlemlenmiştir. Diğer taraftan, %5 oranında hazırlanan PVA çözeltisinden ise elektropüskürtme metodu aşamasında nanopartiküller ile birlikte siyah damlacıkların oluştuğu, bu yüzden standardizasyon aşamasında % 6'lık PVA konsantrasyonunun en uygun olduğuna karar verilmiştir.

## **4.2 Propolis İçeren PVA Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu**

### **4.2.1 Zeta potansiyel ve Boyut Değerleri**

Bu çalışmada, %0,4 , %0,8 , %1 , %1,2 oranında propolis ekstraktı yüklenmiş ve yükleme yapılmamış (kontrol) PVA nanopartiküllerinin boyut ölçümleri gerçekleştirilmiş ve Çizelge 4.1' de verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi, nanopartiküllerin boyutları 104 nm ve 258 nm aralığında değişim göstermiştir. Nanopartiküller arasında en düşük ( $P<0.05$ ) boyut, boş PVA partiküllerinde belirlenmiştir. Yükleme yapılan propolis miktarı arttıkça nanoboyutta artış ( $P<0.05$ ) olduğu görülmektedir. Aynı örnek filtre edilmiş ve edilmemiş şekilde analiz edilmiş ve filtre edilen tüm örneklerde edilmeyene göre daha küçük PDI değerleri saptanmıştır. Literatüre bakıldığında Nascimento ve arkadaşlarının [94] yaptığı çalışmada propolis nanopartiküllerinin boyut sonuçlarının 200 nm - 280 nm arasında değişim gösterdiği belirtilmiştir. Rasso ve arkadaşlarının yaptığı propolisin nanotaşıyıcı olarak kullanıldığı çalışmada partikül boyutu 600 nm, PDI değeri ise 0.4 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada homojenizasyon süresinin partikül boyutu ve PDI üzerine etkisi de araştırılmış ve homojenizasyon süresinin 7 dakikadan 10 dakikaya çıkarılması durumunda partikül boyutunun 1331 nm'den 734 nm'ye düştüğü, PDI değerinin ise 0.884'ten 0.529'a düştüğü belirtilmiştir [95]. Endonezya propolisinin casein miselleri kullanılarak enkapsüle edildiği çalışmada propolis nanopartiküllerinin boyutu 254 nm – 500 nm aralığında bulunmuştur [113]. Jamakumar ve arkadaşları tarafından yapılan propolis nanopartiküllerinin antimikrobiyal ve antikanser

aktivitesinin araştırıldığı çalışmada propolis nanopartiküllerinin boyutu 80 – 150 nm aralığında bulunmuştur [115]. Elektropüskürtme metoduyla üretilen insülin nanopartiküllerin boyutu yapılan bir çalışmayla 98 - 117 nm aralığında bulunmuştur [96]. Zeta potansiyel, yüklü partiküller arasındaki elektrostatik itmeden dolayı nanopartiküllerin stabilitelerinin belirlenmesinde kullanılan bir kavramdır. Nanopartiküller aralarında oluşan elektriksel itmeden dolayı +30 mV ve -30 mV aralığı dışında zetapotansiyel değerlerinde stabil özellik gösterirler [97]. Çizelge 4.1’de propolis yüklü PVA nanopartiküllerinin zetapotansiyel değerleri görülmektedir. PVA; yapısında, ana zincirinde ve fonksiyonel gruplarında, artı veya eksi herhangi bir yük içermediği için iyonik olmayan polimerler sınıfı içerisinde yer almaktadır [98]. Bu yüzden aktif madde içermeyen PVA nanopartiküllerinin (kontrol) zeta potansiyel değerleri sıfıra oldukça yakın bir değerde çıkmıştır. Propolis yüklenmiş nanopartiküllerin zeta potansiyel değerleri -5 mV ve +5 mV arasında değişim göstermiştir. Zetapotansiyel değeri propolis yüklemesinden sonra pozitiften negatife doğru kaymıştır. Bunun nedeni, propolis yüklendikçe negatif iyonların artması ve bu yükler arttıkça negatif katmanın kalınlaşmasıdır. Propolis içeren kitosan esaslı nano – mikropartikül taşıyıcı sistemlerinin oluşturulduğu çalışmada, propolis yüklemesinin zeta potansiyel değerini 18.4 mV’den -3.17 mV’ye düşürdüğü belirtilmiştir. Bu değişimin propolisin içerdiği negatif iyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir [112]. Propolis konsantrasyonundaki artışın nanopartiküllerin zeta potansiyeli değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisinin olmadığı ( $P<0.05$ ) görülmüştür.

Çizelge 4.1 Propolis Yüklü Nanopartiküllerin Boyut, PDI ve Zetapotansiyel değerleri

Örnek	PDI	Boyut (nm)	Zeta Potansiyel (mV)
PP0	0,23 ± 0,16 <sup>bc</sup>	106,37 ± 14,84 <sup>c</sup>	3.09 ± 0.50 <sup>a</sup>
PP0.4	0,32 ± 0,16 <sup>ab</sup>	137,17 ± 61,82 <sup>b</sup>	2.77 ± 0.29 <sup>a</sup>
PP0.8	0,22 ± 0,03 <sup>c</sup>	186,75 ± 8,27 <sup>b</sup>	-0.24 ± 0,06 <sup>b</sup>
PP1	0,42 ± 0,12 <sup>a</sup>	258,51 ± 90,51 <sup>a</sup>	-2.44 ± 1.27 <sup>b</sup>
PP1.2	0,48 ± 0,08 <sup>a</sup>	249,33 ± 41,40 <sup>b</sup>	-0.11 ± 0,10 <sup>b</sup>

\* Kolondaki farklı harfler istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir ( $P < 0,05$ ).

\*\* PP0: Kontrol PVA nanopartikülleri, PP0.4: % 0.4 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP0.8 : % 0.8 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP1: %1 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP1.2: % 1.2 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri.

#### 4.2.2 Enkapsülasyon Veriminin Belirlenmesi

Propolis yüklü PVA nanopartiküllerine ait enkapsülasyon verimi Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi, nanopartiküllerin enkapsülasyon verimi % 5 ile % 23 arasında değişmektedir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak enkapsülasyon verimliliği % 1’lik konsantrasyona kadar artmış, daha sonra verim düşüşü gözlenmiştir. Bu durumda maksimum enkapsülasyon veriminin % 1 oranında propolis içeren PVA nanopartiküllerine ait olduğu görülmektedir. Bu sonuç, N.Duran ve arkadaşlarının [99] yaptığı mikroenkapsülasyon çalışması ile benzer sonuçlar göstermektedir. Yapılan bu çalışmada propolis, poly(e-kaprolakton) (PCL) duvar materyali kullanılarak emülsifikasyon tekniğiyle enkapsüle edilmiştir. Belirlenen enkapsülasyon etkinliği yaklaşık % 25 civarlarındadır. Bu sonuçlar çalışmamızın literatüre uyumluluğunu göstermektedir.

Çizelge 4.2 Propolis yüklü PVA nanopartiküllerine ait enkapsülasyon verimi

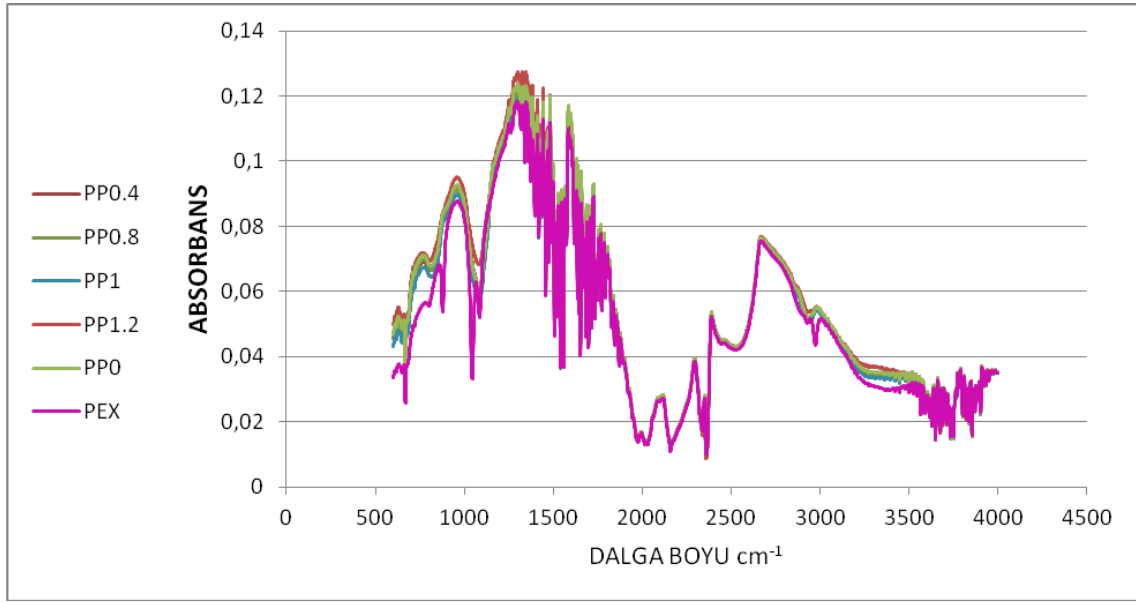
Örnek	Enkapsülasyon Verimi (%)
PP0.4	5,09 ± 0,37 <sup>d</sup>
PP0.8	19,43 ± 1,16 <sup>b</sup>
PP1	25,32 ± 0,32 <sup>a</sup>
PP1.2	18,15 ± 0,26 <sup>c</sup>

\* Kolondaki farklı harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ( $P < 0,05$ ).

\*\* PP0.4: % 0.4 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP0.8 : % 0.8 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP1: % 1 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP1.2: % 1.2 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri.

### 4.2.3 ATR- FTIR Spektroskopisi ile Moleküler Karakterizasyon

FTIR, Fourier dönüşümü yöntemi ile ışığın kızılötesi yoğunluğuna karşı dalga sayısını ölçen kimyasal analitik bir yöntemdir. Kızılötesi spektroskopisi sayesinde, yapıdaki kimyasal bileşimler ve bağ düzenlemelerinin karakterizasyonu yapılmaktadır. Bağlar arasındaki titreşimler ölçülerek fonksiyonel gruplar belirlenebilmektedir [98]. Bu çalışmada, propolis yüklü PVA nanopartiküllerinin moleküler karakteristiğini belirlemek amacıyla FTIR analizi yapılmıştır (Şekil 4.4). 2500 – 4000  $\text{cm}^{-1}$  frekans aralığı, C-H, O-H, N-H bağlarından kaynaklanan gerilmeleri karakterize etmektedir. Propolis ekstraktı örneğimiz için bu bölgelerde pik oluşumun gözlenmesi H bağının ve C, O ve N atomları arasındaki etkileşimi gösterir. 3552 – 4000  $\text{cm}^{-1}$  dalgaboyları arasında şiddetli titreşim olması fenolik madde içerisindeki hidroksil gruplarından kaynaklanmıştır. O-H bağları daha kısa dalga boyunda piklerin oluşumunu artırır. 2970  $\text{cm}^{-1}$  frekansında doymuş C-H bağları piki oluşmuştur. 2162  $\text{cm}^{-1}$ 'de oluşan pik C ve N atomları arasında gerçekleşen üçlü bağ geriliminden kaynaklanmıştır. 1500 - 1800  $\text{cm}^{-1}$  arasında çok fazla titreşim oluşması, karbonil gruplarının yoğun olması ve C atomlarının C, N elementleri ile arasında oluşturduğu çift bağların göstergesidir. 1043  $\text{cm}^{-1}$ 'de aromatik eter piki, 877  $\text{cm}^{-1}$ 'de ise alken gruplarının piki oluşmuştur [100]. Bu çalışmadaki elde edilen verilerin Nascimento ve arkadaşları [94] tarafından yapılan çalışma ile uyumlu olduğu görülmektedir. Aromatik eter ve alken gruplarının oluşturduğu pik bu çalışma ile tamamen aynıdır. 3336  $\text{cm}^{-1}$ 'de fenolik hidroksil gruplarının oluşturduğu pik ve 1725  $\text{cm}^{-1}$ 'de karbonil gruplarının oluşturduğu pik bu çalışma ile benzerdir [94]. Saf PVA nanopartiküllerinin spektrumunda oluşturduğu bantlar, propolis içeren nanopartiküllere ait spektrumda oluşan bantlarla benzerdir. Propolise ait spektrumda 1043  $\text{cm}^{-1}$ 'de oluşan pik nanopartiküllerin spektrumunda gözlemlenememiştir. Bu pikler büyük olasılıkla PVA'dan gelen bantlar ile baskılanmıştır. 1045  $\text{cm}^{-1}$  frekansında oluşan pik nanopartikül oluşumu sırasında 1083  $\text{cm}^{-1}$ 'e kaymıştır. Bunun haricinde propolis ekstraktına ait diğer tüm pikler nanopartiküllere ait spektrumlarda da oluşmuştur.



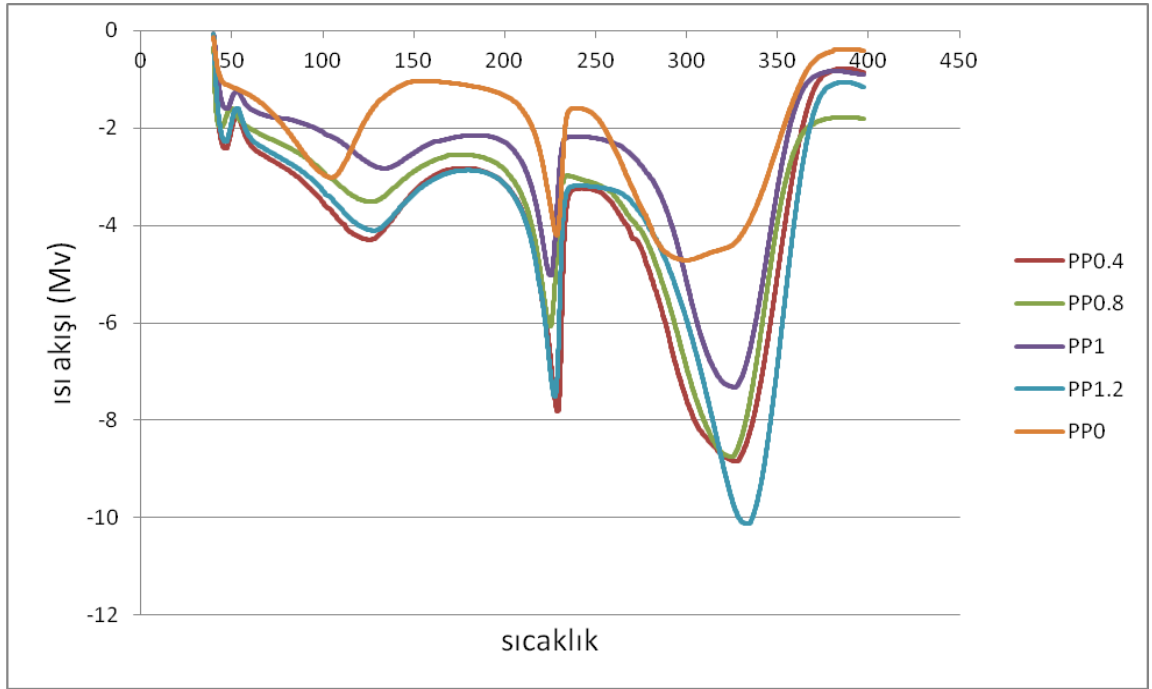
Şekil 4. 1 Propolis ekstarktı ve nanopartiküllere ait FTIR grafiği

\* Kolondaki farklı harfler istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir ( $P < 0,05$ ).

\*\* PPO: Kontrol PVA nanopartikülleri, PP0.4: % 0.4 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP0.8 : % 0.8 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP1: %1 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP1.2: % 1.2 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PEX: Propolis ekstraktı.

#### 4.2.4 Nanopartiküllerin DSC ile Termal Karakterizasyonu

Etken madde/polimer etkileşimini incelemek üzere saf PVA ve farklı oranlarda propolis yüklenmiş PVA nanopartiküllerinin DSC diyagramları incelenmiştir (Şekil 4.5). DSC diyagramında ilk pik kristalizasyon sıcaklığını gösterirken, ikinci pik ise bozulmanın başladığı sıcaklığı göstermektedir. DSC diyagramında ordinat ekseninin üst bölgesinde kalan pikler ekzotermik pikleri altta kalan pikler ise endotermik pikleri göstermektedir. Bu pik oluşumları meydana gelen fiziksel ve kimyasal olayların sonucudur [101].



Şekil 4. 2 Nanopartiküllerin DSC diyagramları

\* Kolondaki farklı harfler istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir ( $P < 0,05$ ).

\*\* PPO: Kontrol PVA nanopartikülleri, PP0.4: % 0.4 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP0.8 : % 0.8 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP1: %1 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP1.2: % 1.2 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri.

Şekil 4.2'de görülen DSC profillerine bakıldığında, saf PVA nanopartiküllerin 50 °C de camı geçiş sıcaklığı olduğu ve farklı oranlarda propolis yüklemesi yapıldığında bu geçişin kaybolduğu ve bu sıcaklıkta kristal yapının oluştuğu görülmektedir. Saf PVA nanopartikülleri için 105 °C'de erime sıcaklığını gösteren pik oluşmuştur. Bu sıcaklık dereceleri propolis yüklenmiş nanopartiküller için farklılık göstermiş ve PP0.4 için 126 °C, PP0.8 için 128 °C, PP1 için 137 °C, PP1.2 için 127 °C olarak bulunmuştur. Bu durum, propolis yüklenmiş nanopartiküllerde erime sıcaklığının kontrole göre daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu da enkapsülasyonun gerçekleştiğini göstermektedir. En yüksek erime sıcaklığının yüzde 1'lik konsantrasyonda gerçekleşmiş olmasının nedeninin enkapsülasyon veriminin bu konsantrasyonda da en yüksek olması olduğu düşünülmektedir [102]. Tüm nanopartiküllerin bozulma sıcaklığını gösteren pik ise 220 - 230 °C arasında görülmüştür. Yapılan çalışma sonucu propolis yüklenmiş PVA

nanopartiküllerinin boş PVA nanopartiküllere göre daha iyi termal stabilite gösterdiği belirlenmiştir.

#### 4.2.5 Nanopartiküllerin Antioksidan Aktivitesi

Antioksidan maddeler gıdalarda oksidatif bozulmaya engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmaktadır. Antioksidan maddeler gıdalarda oksijenle reaksiyona girerek gıdaların raf ömrünü azaltan, ransidite oluşumunu sağlayan ve gıdalarda kalite kaybına neden olan bileşenlerin oluşumunu engeller. Antioksidan maddelerce zengin olan veya sonradan bu maddelerle zenginleştirilmiş gıdaların daha yüksek oksidatif stabiliteye sahip oldukları bilinmektedir [103]. Propolisin antioksidan maddelerce zengin olduğu ve böylece yaşlanmayı ve birçok hastalığa neden olan serbest radikal oluşumunu engellediği belirtilmiştir [104]. Bu nedenle propolis, özellikle arı sütü ve E vitamini ile karıştırılarak çeşitli kremlerin ve temizleyici kozmetik ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır [104]. DPPH radikali yakalama yeteneğinin belirlenmesi metoduna [92] göre yapılan çalışmada farklı oranlarda propolis içeren PVA nanopartiküllerinin antioksidan özellikleri belirlenmiş olup sonuçlar Çizelge 4.3'te belirtilmiştir.

Çizelge 4.3 Propolis yüklü PVA nanopartiküllerinin antioksidan aktivitesi

Örnek	Antioksidan aktivite (%)
PP0	0,00± 0,00 <sup>d</sup>
PP0.4	78,13 ± 0,43 <sup>c</sup>
PP0.8	85,09 ± 2,82 <sup>b</sup>
PP1	87,32 ± 0,21 <sup>a</sup>
PP1.2	89,25 ± 1,22 <sup>a</sup>

\* Kolondaki farklı harfler istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir ( $P < 0,05$ ).

\*\* PP0: Kontrol PVA nanopartikülleri, PP0.4: % 0.4 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP0.8 : % 0.8 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP1: %1 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP1.2: % 1.2 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri.

Yapılan analiz sonucunda propolis içermeyen PVA nanopartiküllerinin (kontrol) hiçbir antioksidan madde içermediği tespit edilmiştir. Farklı oranlarda propolis içeren PVA nanopartiküllerinin ise %80 - %90 aralığında antioksidan aktivite gösterdiği, konsantrasyon artışına bağlı olarak antioksidan aktivitede bir değişim olmadığı ( $P<0.05$ ) gözlenmiştir.

Nascimento ve arkadaşları [100] tarafından yapılan çalışmada, farklı oranlarda propolis içeren PKL nanopartiküllerinin %76-80 arasında antioksidan özellik gösterdiği belirlenmiştir. Silva ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise propolis farklı oranlarda arap gamı ve nişasta ile enkapsüle edilmiş ve oluşturulan partiküllerin DPPH metoduyla yapılan antioksidan analizi sonucunda % 89'a kadar antioksidan özellik gösterdiği tespit edilmiştir [105]. Nascimento ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada, enkapsüle edilmemiş propolis ekstraktının DPPH metodu kullanarak antioksidan aktivitesi incelenmiş ve % 98 antioksidan aktivite olduğu belirlenmiştir [94]. Propolisin antioksidan aktivitesini nano boyutta koruduğu gözlemlenmiştir. Literatür göz önünde alındığında, bu çalışmada elde edilen sonuçların literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

#### **4.2.6 Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesi**

Propolisin güçlü bir antimikrobiyal madde olduğu belirtilmiş ve bugüne kadar bu konuda birçok araştırma yapılmıştır. Propolisin antimikrobiyal aktivitesinin aromatik asitler, esterler ve flavonoidlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Propolisin içerdiği pinosembrin, galangin ve kafeik asit fenil ester karışımlarının bakterinin RNA polimerazını inhibe ettiği belirtilmiştir [106-107].

Çizelge 4.4'de propolis yüklü PVA nanopartiküllerinin *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktiviteleri görülmektedir. İnkübasyon öncesi bakteri sayıları *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* için sırasıyla 7,99 ve 8,18 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Gram negatif patojen olan *E. coli* O157:H7 üzerinde herhangi bir antibakteriyel etki gözlemlenmemiştir. Bununla birlikte, propolis yüklü PVA nanopartiküllerinin *S. aureus* üzerinde etkili olduğu ve enkapsüle edilen propolis düzeyi arttıkça *S. aureus* üzerindeki antibakteriyel aktivitenin nispi olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. *S. aureus* sayısı 5

saatlik inkübasyon süresi sonunda % 0,8, % 1 ve % 1,2 propolis enkapsüle edilmiş PVA nanopartiküllerinin etkisiyle sayılabilir sınırların altına inmiştir.

Çizelge 4.4 Propolis yüklü PVA nanopartiküllerinin antimikrobiyal aktivitesi

Antibakteriyel Aktivite (log kob/mL)						
	Kontrol	PP0	PP0.4	PP0.8	PP1	PP1.2
<b><i>E.coli</i> O157:H7</b>	8.20±0.10 <sup>a</sup>	8.52±0.09 <sup>a</sup>	8.15±0.17 <sup>b</sup>	8.25±0.11 <sup>b</sup>	8.03±0.19 <sup>c</sup>	8.12±0.09 <sup>b</sup>
<b><i>S. aureus</i></b>	8.24±0.08 <sup>a</sup>	8.06±0.07 <sup>a</sup>	4.37±0.33 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>

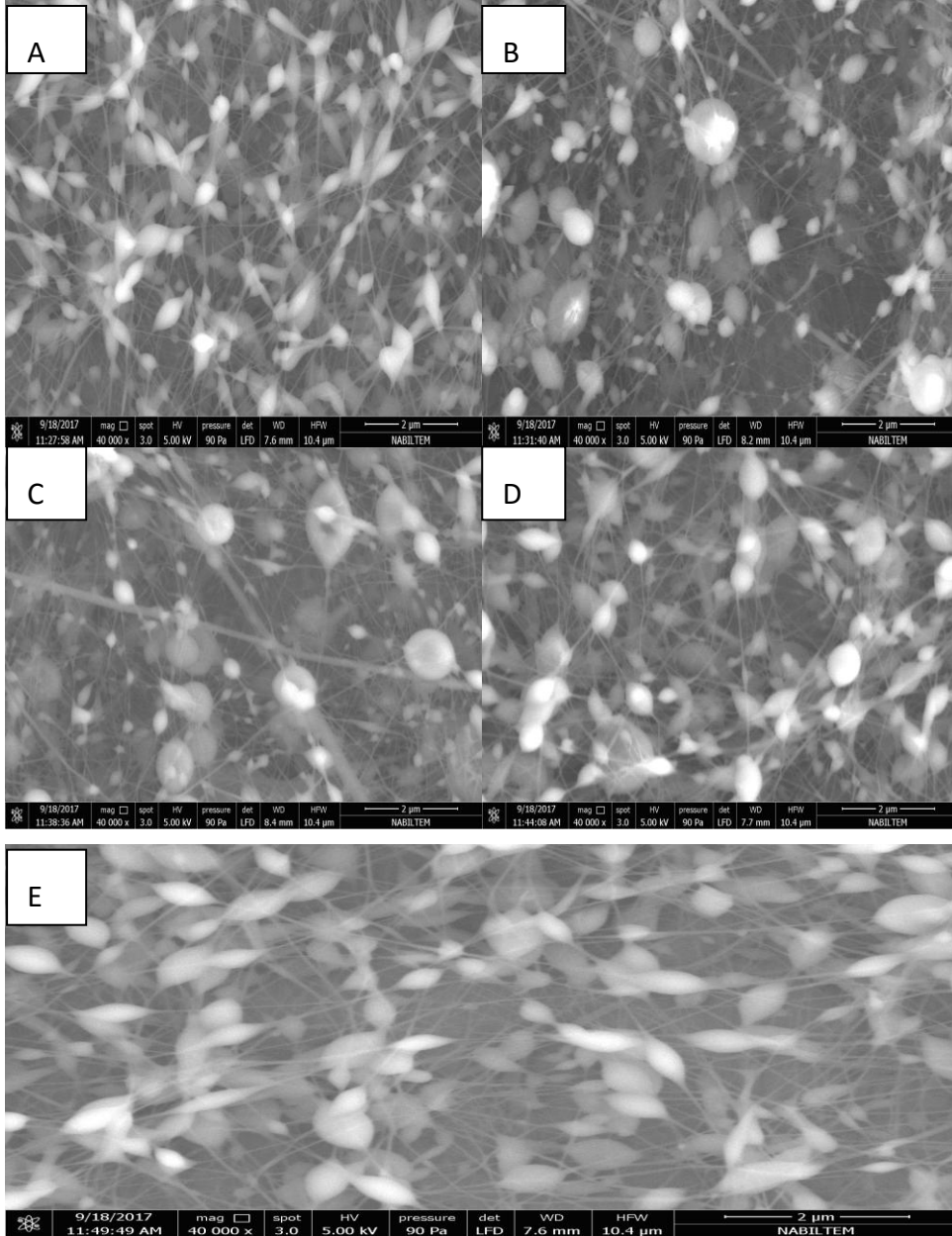
\* Kolondaki farklı harfler istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir ( $P < 0,05$ ).

\*\* PP0: Kontrol PVA nanopartikülleri, PP0.4: % 0.4 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP0.8 : % 0.8 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP1: %1 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, PP1.2: % 1.2 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri.

Propolisin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda propolisin sadece gram pozitif bakteriler ile funguslara karşı etkili olduğu, gram negatif bakterilere karşı etkisinin zayıf olduğu belirtilmiştir [108]. Yine bir başka çalışmada gram pozitiflerin gram negatif bakterilere kıyasla propolise karşı daha hassas olduğu belirtilmiştir [108-110]. Çalışmada, gram pozitif bakteri olan *S.aureus*'ün düşük konsantrasyon oranlarında propolis içeren nanoyapılara karşı bile yüksek düzeyde inhibisyona uğradığı belirlenmiştir. Propolisin antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı çalışmada propolisin 1:20 oranında hazırlanan dilüsyonunun *S.aureus*'ün gelişimini tamamen engellediği belirtilmiştir [111]. Yapılan bir diğer çalışmada propolisin etanolik ekstraktının 11 farklı *S.aureus* suşunun koagülaz aktivitesini inhibe ettiği belirtilmiştir [114]. Enkapsüle edilmiş nanoboyutta propolisin antimikrobiyal aktivitesini koruduğu belirlenmiştir. Doğal bir ürün olan propolisin içerdiği bileşenlerin patojenlere karşı inhibe edici özelliği bu ürünün gıda endüstrisi ve tıp alanında kullanılabileceğini göstermektedir. Propolis nanokapsüllerinin gıda alanında kullanılması halinde daha sağlıklı ve fonksiyonel ürünler elde edilmesi ve gıdaların raf ömrünün uzatılabilmesi gibi avantajlar sağlayabileceği düşünülmektedir.

#### 4.2.7 Nanopartiküllerin SEM analizi

Nanoölçekli yapıların boyut analizi ve morfolojisi SEM analizi ile belirlenebilmektedir [71]. Şekil 4.3’de, sırasıyla propolis içermeyen ve dört farklı konsantrasyonda propolis içeren PVA nanopartiküllerine ait SEM görüntüsü verilmektedir. Her görüntünün 40 K x objektif değerinde SEM görüntüsü verilmektedir.



Şekil 4.3 Nanopartiküllere ait SEM görüntüsü

\* A: Boş pva nanopartikülleri, B: %0.4 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, C : %0.8 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, D: %1 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri, E: %1.2 oranında propolis içeren PVA nanopartikülleri.

Şekillere bakıldığında nanopartiküllerle birlikte nanolif morfolojisindeki yapıların da oluştuğu gözlenmektedir. Bu durum kaplama materyali olarak kullanılan PVA konsantrasyonun ve elektropüskürtme ünitesinde uygulanan voltajın yüksek olmasından kaynaklanabilmektedir. Yüzey geriliminin ve iletkenliğin yüksek olması toplayıcı plaka ve iğne ucu arasında ilerleyen jet boyunca boncuksu yapıların oluşmasına neden olabilmektedir [75]. Farklı konsantrasyonlarda propolis yüklenmiş PVA nanopartiküllerin düzgün bir yüzey meydana getirdiği görülmektedir. Tüm örneklerde 100-250 nm arasında partikül oluşumu gözlenmektedir. Bu boyut sonuçları, zeta sizer'da yapılan boyut analizi ile uyumludur. SEM görüntülerinde partikül homojen bir dağılım göstermemektedirler. Fakat Zetasizer'da yapılan analiz sonucunda oldukça homojen ve düşük PDI'da nanopartiküller elde edilmiştir. Bunun nedeni partiküllerin oldukça hassas bir yapıda olması, hızlı bir şekilde nem kapması ve kümeleşmeye uğrayarak daha büyük boyutlarda partiküllermiş gibi görünmesinden kaynaklanmaktadır.

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, zengin bir besin bileşimi ve yüksek biyoaktiviteye sahip propolis ekstraktının farklı konsantrasyonlarda (%0,4, %0,8, %1, %1,2) elektropüskürtme yöntemiyle PVA kapsül malzemesi içerisine nano ölçekte enkapsülasyonu ve enkapsüle edilen nanopartiküllerin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

- Kovandan toplanan propolis hamdır ve içerisinde birçok safsızlık içermektedir. Propolisin yüksek verimde ve kalitede enkapsüle edilebilmesi için mutlaka bu safsızlıkların giderilmesi gerekir. Propolisin en iyi çözücüsü etil alkoldür. Bu tez çalışmasında %80'lik etil alkol çözeltisi kullanılarak % 8'lik propolis ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir.
- Propolisin suda çözünür olmaması ve etil alkolde çözünmesi, gıda endüstrisinde kullanımı açısından önündeki en büyük engel olarak görülmektedir. Bu çalışma ile propolis nano ölçekte enkapsüle edilerek suda çözünür bir gıda katkı maddesi olarak kullanılabilir hale getirilmiştir.
- Kaplama materyali olarak sentetik bir biyobozunur polimer olan PVA kullanılmıştır. Uygun PVA konsantrasyonunun ve nanopartikül üretim koşullarının belirlenmesi amacıyla optimizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. %8 ve daha yüksek konsantrasyonlarda partikülden ziyade lif oluşumu gözlenmiştir. Bununla birlikte, %5 ve altındaki konsantrasyonlarda ise damlacık oluşumu gözlenmiştir. Bu amaçla en uygun konsantrasyonun % 6 PVA-saf su çözeltisi olduğuna karar verilmiştir.

- Propolis içermeyen PVA nanopartikülleri elektropüskürtme metodu ile üretilmiş ve optimum elektropüskürtme parametreleri belirlenmiştir. Optimizasyonda düşük boyut ve polidisperslik indeksi (PDI) değerleri elde edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmalar sonucunda optimum elektropüskürtme parametrelerinin 15 kV voltaj, 0.5 ml/sa akış hızı ve 10 cm plaka uzaklığı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, hazırlanan çözeltiye elektropüskürtme öncesinde uygulanan filtrasyon işlemi ve 5.000 rpm 50 Hz şiddette ultrases elektropüskürtme işlemi sonucunda elde edilen nanopartiküllerin daha küçük boyutta ve homojen boyut dağılımında olmasını sağlamıştır.
- Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (%0,4, % 0,8, % 1, %1,2) propolis içeren PVA nanopartiküllerinin Zeta Sizer'da boyut analizi gerçekleştirilmiştir. Üretilen partiküllerin 106 ve 258 nm aralığında ortalama boyuta sahip oldukları belirlenmiştir.
- PVA ve propolis nanopartiküllerinin Zeta Sizer'da zetapotansiyel değerlerine bakılmıştır. Boş PVA nanopartiküllerinin zeta potansiyeli 0'a yakın bir değerdeyken, propolis yüklendikten sonra -5/+5 mV aralığında zetapotansiyeli ölçümü alınmıştır. Propolis konsantrasyonundaki artışın nanopartiküllerin zeta potansiyeline anlamlı bir etkisi belirlenmemiştir.
- Spektroskopik yöntemle nanopartiküllerin enkapsülasyon verimi (etkinliği) ölçülmüştür. Farklı konsantrasyonlarda propolis içeren PVA nanopartikülleri içerisinde en yüksek verim %23 ile % 1 oranında propolis içeren örnekte elde edilmiştir.
- Üretilen nanopartiküllerin ATR-FTIR spektroskopisi ile moleküler karakterizasyonu yapılmış, kontrol PVA nanopartikülleri ile propolis yüklü PVA nanopartiküllerinin benzer spektrum oluşturduğu görülmüştür. Bu duruma propolisin PVA içerisinde etkili bir şekilde enkapsüle olması veya propolisten gelen piklerin PVA bantlarının baskılanmasının neden olduğu düşünülmüştür.
- Üretilen nanopartiküllerin DSC ile termal karakterizasyonu yapılmıştır. Saf PVA nanopartiküllerinde polimerden kaynaklı karakteristik bir camsı geçiş sıcaklığı gözlenirken, propolis yüklendikten sonra bu partiküllerin camsı geçiş özelliği

göstermediği ve kristal bir yapının oluştuğu görülmüştür. Aynı zamanda propolis yüklenmiş nanopartiküllerin daha yüksek derecede endotermik pik oluşturduğu ve daha yüksek sıcaklıkta erimeye başladığı belirlenmiştir.

- Propolis yüklü PVA nanopartiküllerinin antioksidan aktivitesi, DPPH radikal yakalama yeteneklerinin belirlenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçta, nanopartiküllerin DPPH yakalama aktiviteleri %80 - %89 aralığında bulunmuştur.
- Propolisin gram pozitif ve gram negatif bakterilere (*E. coli* O157:H7 ve *S. aureus*) karşı antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir. Gram negatif olan *E. coli* O157:H7'ye karşı antimikrobiyal etki saptanmamış, bununla birlikte propolis yüklü PVA nanopartiküllerinin konsantrasyona bağlı olarak Gram pozitif olan *S. aureus* üzerinde bakteriyostatik ve bakterisidal etkisi gözlemlenmiştir.
- Nanopartiküllerin boyut ve morfolojilerini belirlemek amacıyla SEM görüntüleri alınmıştır. Boyut ölçümleri Zeta sizer'da alınan ölçümler ile uyumlu bulunmuştur. Fakat bazı partiküller arasında oluşan kümeleşmeden dolayı daha büyük boyutta sonuçlar gözlenmiştir. Bunun nedeninin, SEM analizi uygulamadan önce örneklerde kümeleşme ve agregasyon sonucu homojen yapının bozulmasının olduğu düşünülmüştür. Ayrıca, SEM analizinde partiküllerle beraber ara ara lifli yapılar gözlenmiştir. Bu duruma elektropüskürtme aşamasında uygulanan parametrelerin ve kullanılan PVA konsantrasyonunun neden olduğu düşünülmektedir.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda şu hususlar gözden geçirilmeli ve dikkat edilmelidir:

- Ham propolis içerisinde çok fazla safsızlık bulunmaktadır. Bu yüzden ekstraksiyon aşaması çok dikkatli yapılmalıdır. Bu maddeler tam olarak uzaklaştırılmadığı takdirde enkapsülasyon işlemi başarısız olacak ve verim düşecektir.
- Kaplama materyali olarak kullanılan PVA konsantrasyonu çok iyi standardize edilmelidir. Konsantrasyonun düşük olması partikül oluşmamasına, yüksek olması ise lifli yapıların oluşmasına neden olabilecektir.
- Elektropüskürtme işleminde voltaj, akış hızı, polimer konsantrasyonu ve toplama plakasının uzaklığı gibi birçok parametre söz konusu olup daha yüksek

enkapsülasyon verimliliğinin elde edilmesi için bu parametrelerin optimizasyonu büyük önem arz etmektedir.

- Propolis sahip olduğu zengin bileşim bileşimler sayesinde güçlü antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahiptir. Bununla birlikte propolisin suda çözünmemesi ve etil alkol gibi organik solventlere ihtiyaç duyulması, günlük hayatta ve gıda endüstrisinde kullanımı önündeki en büyük engel olarak görülmektedir. Diğer taraftan sahip olduğu bileşenler, ısı, ışık ve oksijen gibi etkenler ile bozulmakta ve propolisin düşük stabiliteye sahip olmasına neden olmaktadır. Propolisin PVA gibi hem suda çözünür hem de biyobozunur özellik taşıyan bir polimer içerisinde enkapsüle edilmesi ile gıda endüstrisinde kullanım potansiyeli yüksek bir ürün eldesi mümkün olmuştur. Farklı polimerler ya da enkapsülasyon yöntemleri ile daha yüksek enkapsülasyon etkinliği yakalanabilir.
- Propolisin gıda kaynaklı patojenlere karşı gösterdiği yüksek antimikrobiyal aktivite sayesinde propolis içeren PVA nanopartiküllerini gıda kaynaklı zehirlenmelerin azaltılmasında, gıdaların raf ömrünün uzatılmasında kullanılabilir.
- Ülkemiz arıcılık yönünden oldukça gelişmiştir. Bu yüzden propolis eldesi oldukça kolay ve ucuzdur. Fakat bir arı ürünü olan propolis hakkında yeterince araştırma mevcut değildir. Sahip olunan bu doğal kaynaktan gıda ve biyomedikal alanlarında daha çok kazanım elde etmek için daha fazla araştırma yapılması önerilebilir.

## KAYNAKLAR

---

- [1] Harborne, J., (1982). Introduction to ecological biochemistry. Academic Press: London, 278, 388-91.
- [2] De Vos, P., Faas, M.M., Spasojevic, M. ve Sikkema, J., (2010). "Encapsulation for Preservation of Functionality and Targeted Delivery of Bioactive Food Components", International Dairy Journal, 20(4):292–302.
- [3] Kris-Etherson, P.M., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M., Binkoski, A.E., Hilpert, K.F., Griel, A.E. ve Etherton, T.D. (2002) "Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer", American Journal of Medicine, 113: 71-83.
- [4] Verschuren, W. M., Jacobs, D. R., Bloemberg, B. P., Kromhout, D., Menotti, A. Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Dontas, A. S. ve Fidanza, F., (1995). "Serum total cholesterol and long-term coronary heart disease mortality in different cultures: Twenty-five—year follow-up of the seven countries study", 274, 131-136.
- [5] Laskar, R. A., I., Roy, N. ve Begum, N A., (2010). "Antioxidant activity of Indian propolis and its chemical constituents", Food Chemistry, 122, 233-237.
- [6] Krell, R., (1996). "Value-Added Products from Beekeeping", FAO Agricultural Services Bulletin No: 124 Food and Agriculture Organization of the United Nation Rome, 395: 85-89.
- [7] Supaphol, P. ve Chuangchote ,S., (2008). " On the electrospinning of poly(vinyl alcohol) nanofiber mats: A revisit ", Journal of Applied Polimer Science, 969-978.
- [8] Kozanoğlu, S., (2006). Elektrospinning Yöntemiyle Nanolif Üretim Teknolojisi, Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul
- [9] Dursun, S., Erkan, N. ve Yeşiltaş, M., (2010). "Doğal Biyopolimer Bazlı (Biyobozonur) Nanokompozit Filmler ve Su Ürünlerindeki Uygulamaları", 4(1):50—77.
- [10] Bankova, V., de Castro, S.L. ve Marcucci, M.C., (2000). Propolis:recent advances in chemistry and plant origin. Apidologie 31, 3–15.
- [11] Pietta, P G., Gardana, C. ve Pietta A. M., (2002) "Analytical methods for quality control of propolis", Fitoterapia, 73 Suppl 1, S7-20

- [12] Ghisalberti, E. L., (1979). "Propolis: A review", Bee World, 60, 59-84.
- [13] Hernandez- Ledesma, B., Amigo, L., Recio, I. ve Bartolome, B., (2007). "ACE-inhibitory and Radical-scavenging Activity of Peptides Derived from beta-Lactoglobulin f(19-25). Interactions with ascorbic acid", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55:3329–97.
- [14] Burdock GA., (1998). "Review of the biological properties and toxicity of bee propolis", Food Chem Toxicol, 36:347-63.
- [15] Lee., Y. W. ve G., Kim. (2007) " Linking groundwater-borne nutrients and dinoflagellate red-tide outbreaks in the southern sea of Korea using a Ra tracer". Estuar. Coast. Shelf Sci. 71: 309–317.
- [16] Sharifzadeh, M., Nanotechnology Sector Report, Cronus Capital Markets, 1st Quarter, 2006..
- [17] Merkle, R. C., (1999). "Biotechnology as a route to nanotechnology", Trends in Biotechnology, 17(7): p. 271-274.
- [18] Fernandez, A., Torres-Giner, S. ve Lagaron, J., (2009). "Novel Route to Stabilization of Bioactive Antioxidants by Encapsulation in Electrospun Fibers of Zein Prolamine", Food Hydrocolloids, 23:1427–1432.
- [19] TÜSİAD,(2008). Uluslararası Rekabet Teknolojileri: Nanoteknoloji ve Türkiye.
- [20] Nakamura, H., Yamaguchi, Y., Miyazaki, M., Maeda, H., Uehara, M. ve Mulvayev, P., (2002). Nanobilim ve Nanoteknoloji Stratejileri, TÜBİTAK Vizyon 2023 Projesi Nanoteknoloji Strateji Grubu
- [21] Kumru, A., (2013). Elektroüretimle Nanolif Eldesine Etki Eden Faktörlerin ve Jelatin-Pektin İçeren Nanoliflerin Model Gıdaların Reolojik Özelliklerine Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [22] Chen, H., Weiss, J. ve Shadidi, F., (2006). "Nanotechnology in Nutraceuticals and Functional Foods", Food Technology, 60(3): 30-36.
- [23] Mason, TG., Wilking, JN., Meleson, K., Chang, CB. ve Graves, SM., (2006). "Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties", J Phys.: Condens. Matter, 18: 635– 666.
- [24] Sorrentino, A., Gorrasi, G. ve Vittoria V., (2007). Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. Trends in Food Sci & Tech, 18: 84-95.
- [25] Weiss, J., Takhistov, P. ve McClements, DJ., (2006). " Functional materials in food nanotechnology", J Food Sci, 71 (9): 107-116.
- [26] Soppimath, KS., Aminabhavi, TM., Kulkarni, AR. ve Rudzinski WE., (2001). "Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices", J Control Release 70: 1-20.
- [27] Sozer, N., ve Kokini, JL., (2008). "Nanotechnology and its applications in the food sector", Trends in Biotechnol, 27 (2): 82-89

- [28] Capaldi Arruda S, C., Diniz Silva A, L., Moretto G, R., Antunes, A. R. Zezzi. ve Arruda, M. A., (2015). "Nanoparticles applied to plant science: a review", *Talanta* 131, 693–705.
- [29] Liechty, W.B. ve Peppas., N. A. (2012), "Responsive polymer nanoparticles in cancer therapy", *Eur J Pharm Biopharm*, 80(2): p. 241-6
- [30] Gref, R., Minamitake, Y., Peracchia, MT., Trubetskoy, V., Torchilin, V. ve Langer, R., (1994). "Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres", *Science* 263(5153):1600–3. pmid:8128245.
- [31] Chaudhr, Q., (2009). "Nanotechnology for food applications: current status and consumer safety concerns", *Aaas Annual Meeting: Nanofood For Healthier Living?*, Chicago 16 February 2009.
- [32] Gök, V., (2007). "Gıda paketlenme sanayinde akıllı paketlenme teknolojisi", *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1, 45-58.
- [33] Joseph, T. ve Morrison, M., (2006). "Nanotechnology in agriculture and food", *A Nanoforum report*, May. pp. 1-14.
- [34] Neethirajan, S. ve Jayas, D.S., (2010). "Nanotechnology for the Food and Bioprocessing Industries", *Food Bioprocessing Technology* 4(1):3947.
- [35] Khare, A. ve Vasisht, N., (2014). "Microencapsulation in the Food Industry", Chapter 14, USA.
- [36] Zaidel, D., Sahat, N., Jusoh, Y. ve Muhamad, I., (2014). "Encapsulation of Anthocyanin from Roselle and Red Cabbage for Stabilization of Water-in-Oil Emulsion", *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2:82-89.
- [37] Betz, M. ve Kulozik, U., (2011). "Microencapsulation of Bioactive Bilberry Anthocyanins by Means of Whey Protein Gels", *Procedia Food Science*, 1: 2047 – 2056.
- [38] Besir, A., (2015). Formation of Polymeric Micro/Nano Particles and Fibers Including Bitter Melon (*Momordica charantia* L.) Extract by Electrospinning Method, Yüksek lisans tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- [39] Reverchon, E. ve Della Porta, G., (2001). "Supercritical fluids-assisted micronization techniques; Low impact routes for particle production", *Pure Appl Chem*. 2001; 73: 1293 –97.
- [40] Soliman, E. A., El-moghazy, A. Y., El-din, M. S. M. ve Massoud, M. A., (2013). "Microencapsulation of Essential Oils within Alginate: Formulation and in Vitro Evaluation of Antifungal Activity", *J. Encapsulation Adsorpt. Sci.* 2013, 48–55.
- [41] Gaonkar, A. G., Vasisht, N., Khare, A. R. ve Sobel, R. (2014). "Microencapsulation in the food industry: a practical implementation guide", Retrieved from doi: 10.1016/B978-0-12-404568-2.00014-5

- [42] Fathi, F., Mart, A. ve McClements, D.J., (2014). "Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems", *Trends in Food Science & Technology*, 39(1), 18-39.
- [43] Hsieh, W. C., Chang, C. P. ve Gao, Y. L., (2006). "Controlled release properties of Chitosan encapsulated volatile Citronella Oil microcapsules by thermal treatments", *Colloids Surf. B. Biointerfaces* 53, 209–14 .
- [44] Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. ve Saurel, R., (2007). "Application of Spray-Drying in Microencapsulation of Food Ingredients: An Overview", *Food Research International*, 40: 1107-1121.
- [45] Fang, Z. ve Bhandari, B., (2010). "Encapsulation of Polyphenols a Review", *Trends in Food Science & Technology*, 21(10): 510-523.
- [46] Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M. ve Scher, J., (2011). "Encapsulation of Probiotic Living Cells: From Laboratory Scale to Industrial Applications", *Journal of Food Engineering*, 104(4):467–483.
- [47] Jaworek, A. ve Sobczyk, AT., (2008). "Electrospraying route to nanotechnology: An overview", *Journal of Electrostatics*, 66(3), 197-219.
- [48] Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S. ve Bugarski, B., (2011). "An Overview of Encapsulation Technologies for Food Applications", *Procedia Food Science*, 1: 1806-1815.
- [49] Heinzelmann, K., Franke, K., Jensen, B. ve Haahr, A., (2000). "Protection of Fish Oil from Oxidation by Microencapsulation Using Freeze-drying Techniques", *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102(2):114–121.
- [50] Barbosa-Canovas, G.V., Ortega-Rivas, E., Juliano, P. ve Yan, H., (2005). "Food Powders; Physical Properties, Processing and Functionality, Kluwer Academic", New York, 199-219.
- [51] Reineccius, G.A., (1991). "Carbohydrates for Flavor Encapsulation", *Food Technology Chicago*, 45: 144-147.
- [52] Gouin, S., (2004). "Microencapsulation: Industrial Appraisal of Existing Technologies and Trends", *Trends in Food Science and Technology*, 15(7–8):330–347.
- [53] Koski, K., Yim, K. ve Shivkumar S., (2004) "Effect of molecular weight on fibrous pva produced by electrospinning", *Materials Letters*. 58: 493-497.
- [54] Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H., (2003). "Evaluation of Encapsulation Techniques of Probiotics For Yoghurt: A Review", *International Dairy Journal*, 13(1), 3-23.
- [55] Chen, M.J. ve Chen, K.N., (2007). "Applications of Probiotic Encapsulation in Dairy Products", Wiley- Blackwell, USA.
- [56] De Vos, P., Faas, M.M., Spasojevic, M. ve Sikkema, J., (2010). "Encapsulation for Preservation of Functionality and Targeted Delivery of Bioactive Food Components", *International Dairy Journal*, 20(4):292–302.

- [57] Kailasapathy, K., (2009). "Encapsulation Technologies for Functional Foods and Nutraceutical Product Development", CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 4 (33).
- [58] Soper, J. C., (1995). Utilization of Coacervated Flavors, Pp. 104–112. ACS Symposium Series 590. Washington, DC: American Chemical Society.
- [59] Desai, K. ve Park, H.J., (2005). "Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients", Drying Technology, 23 (7):1361–1394.
- [60] Gonnet, M., Lethuaut, L., ve Boury, F., (2010). "New Trends in Encapsulation of Liposoluble Vitamins", Journal of Controlled Release, 146: 276-290.
- [61] Peker, H. ve Arslan, S., (2011). "Mikroenkapsülasyon ve Süt Teknolojisinde Kullanım Alanları", Akademik Gıda, 9(6): 70-80.
- [62] Teschke, O. ve Souza, F., (2002). "Liposome Structure by AFM: Verification of Improved Liposome Stability During Adsorption of Multiple Aggregated Vesicles", Langmuir, 18(17):6513–6520.
- [63] Jafari, S.M., Assadpoor, E., He, Y. ve Bhandari, B., (2008). "Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils During Drying", Drying Technology, 26(7):816–835.
- [64] Kim S., Cho S.Y., Kim S.H., Song O., Shin S., Cha D.S. ve Park H.J., (2008). "Effect of Microencapsulation on Viability and Other Characteristics in *Lactobacillus acidophilus* ATCC- 43121", LWT-Food Science Technology, 41(3):493–500
- [65] Bansode, S.S., Banarjee, S.K., Gaikwad, D.D., Jadhav, S.L. ve Thorat, R.M., (2010). "Microencapsulation: A Review. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research", 1(2), 38-43. Food Research International, 40: 1107–1121.
- [66] Jyothi, N.V.N., Prasanna, M., Prabha, S., Seetha-Ramaiah, P., Srawan, G. ve Sakarkar, S.N., (2009). "Microencapsulation Techniques, Factors Influencing Encapsulation Efficiency: A Review", The Internet Journal of Nanotechnology, 3(1).
- [67] Sun, Y., Mezian, M., Pathak, P. ve Qu, L., (2005), "Polymeric nanoparticles from rapid expansion of supercritical fluid solution", Chemistry, 11: 1366-1373.
- [68] Aktas, Y., Andrieux, K., Alonso, M.J., Calvo, P., Gürsoy, R. N., ve Couvreur P., (2005) "Preparation and in vitro evaluation of chitosan nanoparticles containing a caspase inhibitor", Int J Pharm 2005;298(2):378-83.
- [69] Y, Kawashima., T, Handa., H, Takenaka., S, Lin. ve Y, Ando., (1985). "Novel method for the preparation of controlled-release theophylline granules coated with a polyelectrolyte complex of sodium polyphosphate-chitosan", J Pharm Sci, 74(3):264–8.
- [70] Bhardwaj, N. ve Kundu, S. C., (2010). "Electrospinning: a Fascinating Fiber Fabrication Technique", Biotechnology Advances, 28:325-347.

- [71] Suwantong, O., Opanosopit, P., Ruktanonchai, U. ve Supaphol, P., (2007). "Electrospun Cellulose Acetate Fiber Mats Containing Curcumin and Release Characteristics of the Herbal Substance", *Polymer*, 48:7546-7557.
- [72] Reneker ve Chun, Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning. *Nanotechnology* 7 (1996) 216.
- [73] P, Zhuang. ve D, A. Butterfield., (1992). "Structural and enzymatic characterizations of papain immobilized onto vinyl alcohol/vinyl butyral copolymer membrane", *J. Membr. Sci.* 66-247
- [74] Terzi, P., (2013). Elektrodöndürme Yöntemiyle Elde Edilen Jelatin Nanoliflerin Gıdalarda Kıvam Verici Olarak Kullanılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [75] Andrady, A. L., (2008). *Science and Technology of Polymer Nanofibers*, Birinci Baskı, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey
- [76] Okutan, N., (2013). Elektrodöndürme Yöntemiyle Elde Edilen Jelatin Nanoliflerinin Emülsiyonlarda Stabilize Edici Olarak Kullanılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [77] Badıllı, U. ve Tarımcı, N., (2009). "Elektropüskürtme Yöntemi ve Nanoteknolojideki Uygulamaları", *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 38(2):117-135.
- [78] López-Rubio, A., Sanchez, E., Wilkanowicz, S., Sanz, Y. ve Lagaron, C., (2012). "Electrospinning as a Useful Technique for the Encapsulation of Living Bifidobacteria in Food Hydrocolloids", *Food Hydrocolloids*, 28:159-167.
- [79] Kulkarni, A., Bambole, V. ve Mahanwar P., (2010) " Electrospinning of Polimers Their Modeling and Applications", *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 49(5):427-441.
- [80] Sener, A., (2011). Elektro Üretim Yöntemiyle Sodyum Aljinat ve Mısır Nişastası İçeren Nanolif Eldesine Etki Eden Faktörlerin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [81] Ding, B., Wang, M., Wang, X., Yu, J. ve Sun, G., (2010). "Electrospun Nanomaterials for Ultrasensitive Sensors", *Materials Today*, 13(11):16-27.
- [82] Miyoshi, T., Toyohara, K. ve Minematsu, H., (2005). "Preparation of Ultrafine Fibrous Zein Membranes via Electrospinning", *Polymer International*, 54:1187–1190.
- [83] Bhardwaj, N. ve Kundu, S. C., (2010). "Electrospinning: a Fascinating Fiber Fabrication Technique", *Biotechnology Advances*, 28:325-347.
- [84] İkiz, Y., (2009). "Elektro Çekim Yöntemi İşlem Parametrelerinin PVA Nanolif Morfolojisine Etkileri", *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 363369.
- [85] Cengiz, F., Jırsak, O. ve Dayık, M., (2009). "Ortam Rutubetinin Silindirik Elektrolif Çekim Yöntemi ile Nano Lif Üretimi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi", *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 21-32

- [86] Ghorani, B., ve Tucker, N., (2015). "Fundamentals of Electrospinning as a Novel Delivery Vehicle for Bioactive Compounds in Food Nanotechnology", *Food Hydrocolloids*, 51:227-240.
- [87] Sunguc, C., (2013). Encapsulation of Sarcopoterim Spinosum Extract in Zein Particle by Using Electrospray Method, Yüksek Lisans Tezi, İzmir İleri Teknoloji Enstitüsü Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- [88] Kriegel, C., Arrechi, A., Kit, K., McClement, D. ve Weiss, J., (2008). "Fabrication, Functionalization, and Application of Electrospun Biopolymer Nanofibers" ,*Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48:775–797.
- [89] Nuansing, W., (2014). Electrospinning of Biomolecules, PhD Thesis, Univesidad del Pais Vasco, Departamento de Fisica de Materiales, Spain.
- [90] Bruschi, M. L., Cardoso, M. L. C., Lucchesi, M. B. ve Gremia, M. P. D., (2003) "Gelatin microparticles containing propolis obtained by spray-drying technique: Preparation and characterization", *Int J Pharm* 264: 45–55.
- [91] Brahatheeswaran, C. Gupta., (1993) "Internal stress in a cured epoxy resin system", *Polymer* 1993; 34: 289–294.
- [92] Gökmen, S., Palamutoğlu, R. ve Sariçoban, C., (2012), Gıda Endüstrisinde Enkapsülasyon Uygulamaları, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7(1), 36-50.
- [93] Feyzioglu, G. C. ve Tornuk, F., (2016). "Development of chitosan nanoparticles loaded with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for antimicrobial and antioxidant delivery applications", *LWT - Food Science and Technology*, 70, 104-110.
- [94] T, G. do Nascimento., P, F. da Silva. ve L, F. Azevedo., "Polymeric Nanoparticles of Brazilian red propolis extract: preparation, characterization, antioxidant and leishmanicidal activity," *Nanoscale Research Letters*, vol. 11, no. 1, article 301, 2016.
- [95] R assu, G., Cossu, M., Langasco, R., Carta, A., Cavalli, R., Guinchedi, R. ve Gavini,E., " Propolis as lipid bioactive nanocarrier for topical nasal drug delivery" *Colloids and surfaces B:Biointerfaces*,908-917(2015)
- [96] Gomez, A., Bingham, D., de Juan, L. ve Tang, K., (1998) "Production of protein nanoparticles by electrospray drying", *J Aerosol Sci.* 29:561–74. doi: 10.1016/S0021-8502(97)10031-3.
- [97] Clogston, J. D., ve Patri, A. K., (2011 ). Zeta potential measurement. *The Methods in Molecular Biology*, 697: 63-70.
- [98] Skoog, D. A., Holler, F. J. ve Nieman T. A., (1998). *Principles of Instrumental Analysis*. 5th Edition. Kılıç E, Köseoğlu F, Yılmaz H (çeviri) Bilim Yayıncılık, Ankara,. s. 850
- [99] Durán, N., Marcato, P. D., Buffo, C. M., De Azevedo, M. M. ve Espósito, E., (2007), "Poly (epsilon-caprolactone)/propolis extract: microencapsulation and antibacterial activity evaluation", *Pharmazie* 62, 287–290.
- [100] *Principles of Instrumental Analysis*, D.A.Skoog, D.M. West, II. Ed. 1981

- [101] Mangolim, C. S., Moriwaki, C., Nogueira, A. C., Sato, F., Baesso, M. L. ve Neto, A. M., (2014). "Curcumin-beta-cyclodextrin Inclusion Complex: Stability, Solubility, Characterisation by FT-IR, FT-Raman, X-ray Diffraction and Photoacoustic Spectroscopy, and Food Application", *Food Chemistry*, 153, 361–370.
- [102] Kittur, F. S., Harish Prashanth, K. V., Udaya Sankar, K. ve Tharanathan, R. N., (2002). "Characterization of Chitin, Chitosan and Their Carboxymethyl Derivatives by Differential Scanning Calorimetry", *Carbohydrate Polymers*, 49(2): 185-193.
- [103] Bjelakovic, G., Nikolova, D., Gluud, L.L., Simonetti, R.G. ve Gluud, C., (2007). "Antioxidant Supplements for Primary and Secondary Prevention Systematic Review and Meta-analysis", *Journal of the American Medical Association*, cilt 297, s. 842-857.
- [104] Erdem, G. B., (2002), "Propolisin Diş Çürüklüğü Oluşumuna Etkisinin Sıçan Dişlerinde Araştırılması". *Teknik Arıcılık*, 77, 27-28.
- [105] Donsi, F., Sessa, M., Mediouni, H., Mgaidi, A. ve Ferrari, G., (2011), "Encapsulation Of Bioactive Compounds In Nanoemulsionbased Delivery Systems", *Procedia Food Science*, v. 1, p. 1666 – 1671.
- [106] Ivanovska N. D., Dimov V. D., Bankova V. S. ve Popov S. S., (1995) "Immunomodulatory action of propolis. VI. Influence of a water soluble derivative on complement activity in vivo", *Journal of Ethnopharmacology* 47, 145± 147.
- [107] Takaisi-Kikuni, N. B. ve Schilcher, H., (1994), "Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance" *Planta Med.*, 60, 222–227.
- [108] Mirzoeva, O. K., Grishanin, R. N. ve Calder, P. C., (1997), "Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria" *Microbiol. Res.*, 152, 239–246.
- [109] Marcucci, M. C., (1995), "Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity" *Apidologie*, 26, 83–89.
- [110] Nieva, M. M. I., Isla, M. I., Cudmani, N.G., Vattuone, M. A. ve Sampietro, A. R., (1999) "Screening of antibacterial activity of Amaicha del Valle (Tucuman, Argentina) propolis" *J. Ethnopharmacol.*, 68, 97–102.
- [111] Feller, M. J., Parent, J. ve Strachan, A. A., (1989). "Microscopic analysis of honey from Manitoba", *Canada. J. Apicultural Research*, 28(1): 41-49.
- [112] Elbaz, N., Khalil, I. ve Abd-Rabou A, El-Sherbiny., (2006). "Chitosan-based nano-in-microparticle carriers for enhanced oral delivery and anticancer activity of propolis", *Int J Biol Macromol*, 92:254–269.
- [113] M, Sahlan. ve T, Supardi., (2013). "Encapsulation Of Indonesian Propolis By Casein Micelle", *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 4 -297.

- [114] Scazzocchio F., D'Auria F.D., Alessandrini, D. ve Pantanella F., (2006), "Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis", *Microbiological Research* 161, 327–333.
- [115] R, Jayakumar., C, Ramya., P, S, Kumar., K, S, Snima., V, K, Lakshmanan. ve S, V, Nair., (2013). "In vitro anticancerous and antimicrobial activity of propolis nanoparticles", *J.Nanopharm. Drug Deliv.* 1-150 – 156.



## ÖZGEÇMİŞ

---

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Benazir SUBAŞI ZARBALİYEV

**Doğum Tarihi ve Yeri** : 01.01.1990

**Yabancı Dili** : İngilizce

**E-posta** : benazirsbs@gamil.com

### ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Gıda müh.	Yıldız Teknik Üniv	Halen
Lisans	Gıda müh.	Hacettepe Üniv.	2013
Lise	Fen	Konya Ereğli Ana.Lisesi	2008

## YAYINLARI

### Bildiri

1. Subasi , B. ve Törnük, F., (2017). “Elektrospin Yöntemiyle Pva Kaplı Propolis Nanopartiküllerinin Üretilmesi Ve Karakterizasyonu”, 1. Uluslararası Katılımlı XV. Spektroskopi Kongresi, 17-19 Mayıs 2017, Yalova.
2. Akgün, B. N., Subasi, B., Cicek, P. K. ve Yılmaz, T. M., (2016). “Production Of Gliadin Nanoparticle Using Electrospray Deposition System”, 15<sup>th</sup> International Cereal and Bread Congress, 18-21 April, 2016, Istanbul