

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KURKUMİNİN SUDAKİ ÇÖZÜNÜRLÜĞÜNÜN ARTTIRILMASI
ULTRASES ORTAMINDA ALJİNAT - KURKUMİN KOMPLEKSLERİ
HAZIRLANMASI VE KÜRECİK ELDESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nil Erge AKKAYA

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

MAYIS 2014

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KURKUMİNİN SUDAKİ ÇÖZÜNÜRLÜĞÜNÜN ARTTIRILMASI
ULTRASES ORTAMINDA ALJİNAT - KURKUMİN KOMPLEKSLERİ
HAZIRLANMASI VE KÜRECİK ELDESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Nil Erge AKKAYA
(509121021)**

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Huceste GİZ

MAYIS 2014

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 509121021 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi, **Nil Erge AKKAYA**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**KURKUMİNİN SUDAKİ ÇÖZÜNÜRLÜĞÜNÜN ARTTIRILMASI ULTRASES ORTAMINDA ALJİNAT - KURKUMİN KOMPLEKSLERİ HAZIRLANMASI VE KÜRECİK ELDESİ**” başlıklı tezini, aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Huceste GİZ**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Candan ERBİL**
İstanbul Teknik Üniversitesi

: **Doç. Dr. Sevim İŞÇİ TURUTOĞLU**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Teslim Tarihi : **2 Mayıs 2014**
Savunma Tarihi : **29 Mayıs 2014**

Aileme,

ÖNSÖZ

Üniversite hayatım boyunca değerli bilgileriyle beni yönlendiren, desteğini her zaman hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Huceste GİZ'e,

Tez çalışmam sırasında, ölçüm ve analizler konusunda yardımlarını aldığım Prof. Dr. Bedia ERİM BERKER, Prof. Dr. Bahire Filiz ŞENKAL, Doç. Dr. Sevim İŞÇİ TURUTOĞLU ve Doç. Dr. Oğuzhan GÜRLÜ'ye,

Değerli arkadaşlarım Esra TAŞ, Gülay ATALAY ve Tamer ONUR'a,

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen aileme, annem Sergül AKKAYA, babam Ergün AKKAYA, kardeşim Ezgi AKKAYA'ya, teyzem ve eşi Serpil ve İsmail GÜZEL'e ve teyzem Şengül BAŞ'a

gösterdikleri sevgi, sabır ve anlayışlarından dolayı yürekten teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Mayıs 2014

Nil Erge AKKAYA

Kimyager

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
SEMBOL LİSTESİ.....	xxi
ÖZET.....	xxiii
SUMMARY	xxv
1. GİRİŞ	1
2. TEORİ.....	3
2.1 Antioksidanlar	3
2.1.1 Antioksidan çeşitleri	4
2.1.2 Oksidatif stres	5
2.1.3 Meyve ve sebzelerde antioksidan kapasitesi	6
2.1.4 Antioksidan kapasite tayin yöntemleri	8
2.2 Kurkumin	8
2.2.1 Biyo-aktivitesi / biyo-yararlılığı	11
2.2.2 Çözünürlüğü	12
2.2.3 Kurkumin çözeltisi stabilitesi	12
2.2.4 pH etkisi.....	13
2.2.5 Günlük doz / toksisite	16
2.2.6 Tıbbi uygulamaları	16
2.3 Enkapsülasyon.....	17
2.3.1 Mikrokapsüller	18
2.3.2 Enkapsülasyon verimi	19
2.3.3 Zeta-potansiyel	19
2.4 Aljinat.....	20
2.4.1 “Yumurta kutusu” modeli.....	22
2.4.2 Aljinat küre eldesi.....	23

2.5 Ultrases	25
2.5.1 Kimyada ultrases	26
2.5.2 Polimerlerde ultrases etkisi	27
2.5.3 Ultrasonik bozunmanın karakteristiği	28
2.5.4 Sodyum aljinat çözeltisine ultrases etkisi	29
3. DENEYSEL KISIM	29
3.1 Kullanılan Cihazlar	31
3.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler	31
3.3 US Ortamında Kurkuminin Sudaki Çözünürlüğünü Arttırma Çalışmaları	31
3.3.1 pH 7’de aljinat çözeltisinde kurkumin çözünürlüğü tayini	31
3.3.2 pH 2,4’de aljinat çözeltisinde kurkumin çözünürlüğü tayini	32
3.4 Kalibrasyon	32
3.5 Kurkumin Yüklenmiş Kürecik Eldesi	32
3.6 Kurkumin Yüklenmiş Küreciklerin Enkapsülasyon Verimi Hesabı	32
3.7 Nano Boyutta Küre Üretimi	33
3.7.1 Aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması	33
3.7.2 CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması	33
3.7.3 Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması	33
3.7.4 Seyreltik koşullarda CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması	34
3.8 pH Ölçümü	34
3.9 Zeta-Potansiyel ve Viskozite Ölçümü	34
3.10 Nano-Boyuttaki Küreciklerin Boyut Analizi	34
4. SONUÇLAR VE YORUMLAR	37
4.1 Kalibrasyon	37
4.2 US Ortamında pH ve Aljinat Konsantrasyonlarının Kurkumin Çözünürlüğüne Etkisi	40
4.3 US Ortamında Hazırlanmış Aljinat-Kurkumin Çözeltilerinden Elde Edilmiş Küreler	48
4.4 Kurkumin Yüklenmiş Kürelerin Enkapsülasyon Verimleri	49
4.5 US Ortamında Hazırlanmış Nano-Boyut Küreler ve US Süresinin Etkisi	50
4.5.1 Nano-boyut aljinat küreciklerinin optik mikroskop görüntüleri	51
4.5.1.1 Aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri	51
4.5.1.2 CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisinin damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri	52
4.5.1.3 Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri	52

4.5.1.4 Seyreltik koşullarda CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisinin damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri	53
4.5.2 Nano-boyut aljinat küreciklerinin SEM görüntüleri.....	53
4.5.2.1 Aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri	53
4.5.2.2 CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisinin damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri	55
4.5.2.3 Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri	57
4.5.2.4 Seyreltik koşullarda CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisinin damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri	59
4.6 Aljinat Çözeltilerinin pH Değerleri	61
4.7 US Ortamında ve US Olmayan Ortamda Hazırlanmış Alj-Kur Çözeltilerinin Viskozite ve Zeta-Potansiyel Değerleri	61
4.8 Yorumlar ve Öneriler	65
KAYNAKLAR	69
EKLER.....	71
ÖZGEÇMİŞ.....	85

KISALTMALAR

US	: Ultrases
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RNS	: Reaktif azot türleri
HAT	: Hidrojen atomu transferine dayalı antioksidan kapasite tayin yöntemi
ET	: Elektron transferine dayalı antioksidan kapasite tayin yöntemi
ORAC	: Oksijen radikal absorbans kapasitesi
TRAP	: Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi
Cur (KUR)	: Kurkumin
Alg (ALJ)	: Aljinat

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Antioksidan çeşitleri.....	5
Çizelge 2.2 : ROS ve RNS türleri.....	6
Çizelge 2.3 : Bazı meyve ve sebzelerin antioksidan kapasiteleri.....	7
Çizelge 2.4 : Zerdeçalın tıbbi uygulamaları.....	9
Çizelge 2.5 : Çeşitli pH değerlerinde, kurkuminin k sabitleri ve yarılanma ömürleri.	14
Çizelge 3.1 : Aljinat çözeltisine CaCl_2 damlatılması için hazırlanan çözeltiler.....	33
Çizelge 3.2 : CaCl_2 çözeltisine aljinat damlatılması için hazırlanan çözeltiler.....	33
Çizelge 3.3 : Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl_2 damlatılması için hazırlanan çözeltiler.....	34
Çizelge 3.4 : Seyreltik koşullarda CaCl_2 çözeltisine aljinat damlatılması için hazırlanan çözeltiler.....	34
Çizelge 4.1 : Aljinat çözeltileri için kalibrasyon denklemleri ve R^2 değerleri.....	40
Çizelge 4.2 : pH 7’de aljinat (Aldrich) çözeltilerinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.....	41
Çizelge 4.3 : pH 7’de aljinat (Cargill) çözeltilerinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.....	42
Çizelge 4.4 : pH 2,4’te aljinat çözeltisinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.....	44
Çizelge 4.5 : pH 2,4 ve pH 7’de aljinat çözeltilerinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.....	45
Çizelge 4.6 : pH 2,4 ve pH 7’de mg aljinatta elde edilmiş ortalama kurkumin çözünürlüğü.....	47
Çizelge 4.7 : Kürecikler dışındaki kurkumin miktarları (Aldrich).....	50
Çizelge 4.8 : Küreciklerde enkapsülasyon verimi (Aldrich).....	50
Çizelge 4.9 : Kürecikler dışındaki kurkumin miktarları (Cargill).....	50
Çizelge 4.10 : Küreciklerde enkapsülasyon verimi (Cargill).....	50
Çizelge 4.11 : Deiyonize su ile hazırlanmış aljinat çözeltileri pH değerleri.....	61
Çizelge 4.12 : 1 M CH_3COOH ile hazırlanmış aljinat çözeltileri pH değerleri.....	61
Çizelge 4.13 : US ortamında % 0,05’lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi ve seyreltmelerinin viskozite ve zeta-potansiyel değerleri.....	62
Çizelge 4.14 : US ortamında % 0,1’lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi ve seyreltmelerinin viskozite ve zeta-potansiyel değerleri.....	63

- Çizelge 4.15 :** US ortamında % 0,5'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi ve seyreltmelerinin viskozite ve zeta-potansiyel değerleri. 64
- Çizelge 4.16 :** US olmadan % 0,5'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi ve seyreltmelerinin viskozite ve zeta-potansiyel değerleri..... 64

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), C-vitmini (L-askorbik asit), E-vitmini (α -tokoferol), polifenolik bileşikler (flavon, flavonol, flavanol ve izoflavon).....	4
Şekil 2.2 : Kurkumin ve türevlerinin kimyasal yapısı.	9
Şekil 2.3 : Kurkumin ve türevlerinin yapıları.	10
Şekil 2.4 : β -karotenin kimyasal yapısı.	11
Şekil 2.5 : 0,1 M fosfat tampon çözeltisinde kurkumin degradasyonu sonucu oluşan ürünler, pH 7,2 - 37°C.	12
Şekil 2.6 : Fizyolojik koşullar altında kurkumin tautomerleşmesi, bis-keto formu (üstte) ve enolat formu (altta).....	13
Şekil 2.7 : 1:1 etanol-su çözeltisindeki kurkuminin farklı pH değerlerinde absorbanı.	15
Şekil 2.8 : Farklı pH değerlerinde kurkumin yapısı.	15
Şekil 2.9 : Modern teknolojiye dayanarak kurkuminin potensiyel uygulama alanları.	17
Şekil 2.10 : Mikrokapsüller.	19
Şekil 2.11 : Aljinat biyopolimerinin yapısı: (a) aljinat monomerleri: guluronik asit (G) ve mannuronik asit (M), (b) zincir yapısı, (c) blok dağılımı.	21
Şekil 2.12 : “Yumurta kutusu” modeli.	23
Şekil 2.13 : Aljinat küre eldesi.	24
Şekil 2.14 : Çapraz bağlama tekniğinin şematik gösterimi (A) immersiyon (IM), (B) basınç yardımlı difüzyon (PD).	25
Şekil 2.15 : Ses frekans aralıkları.	26
Şekil 2.16 : % 1’lik polistiren çözeltilerinin ultrasonik bozunması.....	28
Şekil 2.17 : Farklı konsantrasyonlar ve farklı sürelerde ultrasese maruz bırakılmış aljinat çözeltilerinin US diyagramı.	29
Şekil 4.1 : % 0,05’lik (w/w) aljinat çözeltisi için hazırlanmış kurkumin kalibrasyon grafiği.	38
Şekil 4.2 : % 0,1’lik (w/w) aljinat çözeltisi için hazırlanmış kurkumin kalibrasyon grafiği.	38
Şekil 4.3 : % 0,5’lik (w/w) aljinat çözeltisi için hazırlanmış kurkumin kalibrasyon grafiği.	39

Şekil 4.4 : % 1'lik (w/w) aljinat çözeltisi için hazırlanmış kurkumin kalibrasyon grafiği.	39
Şekil 4.5 : % 2'lik (w/w) aljinat çözeltisi için hazırlanmış kurkumin kalibrasyon grafiği.	40
Şekil 4.6 : pH 7'de aljinat (Aldrich) çözeltilerinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.	41
Şekil 4.7 : pH 7'de aljinat (Aldrich) çözeltisinde elde edilmiş ortalama kurkumin çözünürlüğü ve standart sapmaları.	42
Şekil 4.8 : pH 7'de aljinat (Cargill) çözeltilerinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.	43
Şekil 4.9 : pH 7'de aljinat (Cargill) çözeltilerinde elde edilmiş ortalama kurkumin çözünürlüğü ve standart sapmaları.	43
Şekil 4.10 : pH 2,4'te aljinat çözeltisinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.	44
Şekil 4.11 : pH 2,4'te aljinat çözeltisinde elde edilmiş ortalama kurkumin çözünürlüğü ve standart sapmaları.	45
Şekil 4.12 : pH 2,4 ve pH 7'de aljinat çözeltilerinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.	46
Şekil 4.13 : pH 2,4 ve pH 7'de aljinat çözeltilerinde elde edilmiş ortalama kurkumin çözünürlüğü ve standart sapması.	46
Şekil 4.14 : pH 2,4 ve pH 7'de mg aljinatta elde edilmiş ortalama kurkumin çözünürlüğü.	47
Şekil 4.15 : % 1'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış kurkumin kürecikleri.	48
Şekil 4.16 : % 2'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış kurkumin kürecikleri.	49
Şekil 4.17 : Aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin 30 dk US'e maruz bırakıldıktan sonraki optik mikroskop görüntüleri.	51
Şekil 4.18 : CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin 30 dk US'e maruz bırakıldıktan sonraki optik mikroskop görüntüsü.	52
Şekil 4.19 : Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin 30 dk US'e maruz bırakıldıktan sonraki optik mikroskop görüntüsü.	52
Şekil 4.20 : Seyreltik CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin 30 dk US'e maruz bırakıldıktan sonraki optik mikroskop görüntüsü.	53
Şekil 4.21 : Aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüsü (damlatma esnasında 30 dk US'e tabi).	53
Şekil 4.22 : Aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (aljinat çözeltileri damlatma öncesi 2 saat ve damlatma esnasından itibaren 30 dk US'e tabi).	54
Şekil 4.23 : CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (damlatma esnasında 30 dk US'e tabi). ..	55

Şekil 4.24 : CaCl ₂ çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (aljinat çözeltisi damlatma öncesi 2 saat ve damlatma esnasından itibaren 30 dk US'e tabi).	56
Şekil 4.25 : Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl ₂ çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (damlatma esnasında 30 dk US'e tabi).	57
Şekil 4.26 : Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl ₂ çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (aljinat çözeltisi damlatma öncesi 2 saat ve damlatma esnasından itibaren 30 dk US'e tabi).	58
Şekil 4.27 : Seyreltik koşullarda CaCl ₂ çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (damlatma esnasında 30 dk US'e tabi).	59
Şekil 4.28 : Seyreltik koşullarda CaCl ₂ çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (aljinat çözeltisi damlatma öncesi 2 saat ve damlatma esnasından itibaren 30 dk US'e tabi).	60
Şekil 4.29 : US ortamında % 0,05'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi C- η_{sp} /C grafiği.	63
Şekil 4.30 : US ortamında % 0,1'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi C- η_{sp} /C grafiği.	63
Şekil 4.31 : US ortamında % 0,5'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi C- η_{sp} /C grafiği.	64
Şekil 4.32 : US olmadan % 0,5'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi C- η_{sp} /C grafiği.	65
Şekil A.1 : pH 7, aljinat (Aldrich) çözeltilerin UV-Vis spektrumları.	73
Şekil A.2 : pH 7, aljinat (Cargill) çözeltilerinin UV-Vis spektrumları.	73
Şekil A.3 : pH 2,4, aljinat çözeltilerinin UV-Vis spektrumları.	74
Şekil B.1 : pH 7, % 0,05'lik alj (Aldrich)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	75
Şekil B.2 : pH 7, % 0,1'lik alj (Aldrich)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	75
Şekil B.3 : pH 7, % 0,5'lik alj (Aldrich)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	76
Şekil B.4 : pH 7, % 1'lik alj (Aldrich)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	76
Şekil B.5 : pH 7, % 2'lik alj (Aldrich)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	77
Şekil B.6 : pH 7, % 0,05'lik alj (Cargill)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	77
Şekil B.7 : pH 7, % 0,01'lik alj (Cargill)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	78
Şekil B.8 : pH 7, % 0,5'lik alj (Cargill)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	78
Şekil B.9 : pH 7, % 1'lik alj (Cargill)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	79
Şekil B.10 : pH 7, % 2'lik alj (Cargill)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	79
Şekil B.11 : pH 2,4, % 0,1'lik alj-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	80
Şekil B.12 : pH 2,4, % 0,5'lik alj-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	80
Şekil B.13 : pH 2,4, % 1'lik alj-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	81

Şekil B.14 : pH 2,4, % 2'lik alj-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.	81
Şekil C.1 : pH 7, % 1'lik alj (Aldrich)-kur çözeltisinin kürecik enkapsülasyon verimi UV-Vis spektrumu.	82
Şekil C.2 : pH 7, % 2'lik alj (Aldrich)-kur çözeltisinin kürecik eldesi sonrası enkapsülasyon verimi UV-Vis spektrumu.	82
Şekil C.3 : pH 7, % 0,05 - 1 ve 2'lik alj (Cargill)-kur çözeltisinin kürecik eldesi sonrası enkapsülasyon verimi UV-Vis spektrumu.	83

SEMBOL LİSTESİ

λ	: Dalgaboyu
ϵ	: Dielektrik sabiti
ζ	: Zeta potansiyeli
$f(Ka)$	: Henry fonksiyonu
U_E	: Elektrostatik potansiyel enerji
η	: Çözeltinin viskozitesi
η_0	: Çözücünün viskozitesi
η_{sp}	: Spesifik viskozite
η_{rel}	: Relatif viskozite
$[\eta]$	: İntrinsik viskozite
k'	: Huggins sabiti
K, a	: Mark Houwink sabitleri

KURKUMİNİN SUDAKİ ÇÖZÜNÜRLÜĞÜNÜN ARTTIRILMASI ULTRASES ORTAMINDA ALJİNAT - KURKUMİN KOMPLEKSLERİ HAZIRLANMASI VE KÜRECİK ELDESİ

ÖZET

Günümüzün en popüler araştırma konularından biri, kurkuminin sudaki çözünürlüğünü arttırmak ve bunu takiben antioksidan özellik gösteren bu biyo-aktif maddenin biyo-yararlılığını geliştirmektir. Kurkumin antioksidanının, antikanserojen, antitümör davranışlar göstermesi, ayrıca antiinflamatuvar, antibakteriyel ve antiviral özellikleri olması biyo-yararlılığını iyileştirmede dikkate alınan en önemli özellikleridir. Bu çalışmanın amacı, kurkuminin sudaki çözünürlüğünün artırılması, ultrases ortamında aljinat - kurkumin kompleksleri hazırlanması ve kürecik eldesidir.

Kurkuminin sudaki çözünürlüğünün artırılması amacıyla, doğal bir polimer olan aljinat seçilmiştir. Aljinat, anyonik bir biyopolimerdir ve yüksek biyo-uyumluluğu, toksik olmayışı, biyolojik ortamda bozunabilir olması, jelleşme ve film oluşturma özellikleri sayesinde mikro ve nano kapsüllerin hazırlanmasında ilgi çekmektedir. Boyutları 2 mm ile 100 nm arasında değişen aljinat kapsülleri ilaç salım sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Ultrases (US) ortamında yürütülen çalışmalarda farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış aljinat çözeltilerinde kurkuminin sudaki çözünürlüğündeki değişimler gözlenmiştir.

Çalışmada aljinat polimeri iki farklı amaç doğrultusunda seçilmiştir. Biraz önce bahsedildiği gibi suda çözünürlüğü nispeten olmayan doğal antioksidan kurkuminin çözünürlüğünü arttırmaya yönelik bir ajan olarak seçilmesi birinci amaç doğrultusundadır. Diğer amaç ise aljinatın kapsülleme matrisi olarak kullanımı ve mikro ve nano boyutta küreler oluşturmaktır. Doğal bir polisakkarit olan aljinat polimeri ile enkapsülasyon gerçekleştirilerek kurkumin ve benzeri biyo-aktif bileşikler çevresel zararlı etkenlerden korunur, kontrollü bir şekilde çözündürülür ve salımı yapılır.

Yapılan çalışmalar sonucunda US ortamında hazırlanan % 2'lik (w/w) aljinat çözeltisinde kurkumin çözünürlüğü $0,6035 \pm 0,0861$ mg/mL'ye kadar arttırılmıştır (pH 7, 25°C). Hazırlanan çözeltilerin CaCl₂ çözeltisine damlatılması ile aljinat-kurkumin kürecikleri elde edilmiştir. Elde edilen aljinat - kurkumin kürecikleri için hesaplanan enkapsülasyon verimi % $96,66 \pm 1,57$ 'dir.

1 mm yarıçapına sahip aljinat-kurkumin kürecikleri in-vivo çalışmalar için uygun değildir. Bu nedenle çalışmanın son aşamasında aljinat küreciklerinin boyut ayarı üzerine çalışmalar yapılmıştır. Farklı konsantrasyonda aljinat ve CaCl₂ çözeltileri hazırlanarak 25°C'de US ortamında damlatma yapılmış ve aljinat küreciklerinin boyutu Optik Mikroskop ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile saptanmıştır. Elde edilen veriler etkin bir şekilde nano-boyutlu aljinat kürecikleri oluşturulduğunu ve küre boyutlarında $9,77$ nm'ye kadar inildiğini göstermiştir.

IMPROVING THE WATER SOLUBILITY OF CURCUMIN BY ULTRASONICALLY PREPARED ALGINATE - CURCUMIN COMPLEXES AND ALGINATE NANO-BEADS

SUMMARY

Curcumin (bis- α,β -unsaturated β -diketone), is a natural phenolic compound, well known for its antioxidant properties, originally isolated from turmeric, a rhizome used in India for centuries as a spice and medicinal agent. Curcumin has a wide variety of bioactivities, including chemopreventive, antiinflammatory, antioxidant as well as antitumor properties. Substantial evidences indicate that curcumin exhibits cancer growth inhibition both in vitro and in vivo: it suppresses cell proliferation in various cell lines and inhibits tumorigenesis.

Curcumin is a very safe agent to human being. A survey revealed that no treatment-related toxicity was observed when the patients took 8000 mg/day dosage of curcumin orally for 3 months. Although curcumin has an evident anti-cancer activity, the low water solubility has been highlighted as the major problem for its applications. For this reason increasing its water solubility and consequently increasing its bioavailability is an important research topic.

The aim of this work is to increase the water solubility of curcumin. Ultrasonic processing is preferred in order to increase interaction with curcumin and alginate and following that to be able to prepare alginate - curcumin complexes. Another reason to take advantage of ultrasonic degradation is to ensure homogeneity of the polymer chain length and facilitate to obtain nano-sized alginate microspheres by breaking alginate polymer chains. In liquids irradiated with high-intensity ultrasound, acoustic cavitation (the formation, growth, and collapse of bubbles) provides the primary mechanism for sonochemical effects. During cavitation, bubble collapse produces intense local heating, high pressures with very short lifetimes. These transient, localized hot spots drive high-energy chemical reactions. Irradiation of liquids with ultrasound can cause solely physical changes from acoustic streaming, such as rapid mixing. Also the degradation (meaning an irreversible lowering of the chain length caused by cleavage, and not necessarily any chemical change) of polymer chains in solution was one of the first reported effects of high-intensity ultrasound.

For further studies to increase the solubility and stability of curcumin in water curcumin filled alginate beads were prepared and their encapsulation efficiency was calculated. Their diameters were 1 mm and not suitable for in-vivo studies. The last chapter of the study is about nano-bead preparation for in-vivo studies.

Alginate is an anionic biopolymer, a natural polysaccharide, used for improving the bioavailability of curcumin and related substances in drug release and food supplement applications. It is of interest as a biopolymer to prepare nanocapsules owing to its good biocompatibility, biodegradability, non-toxicity, gelation and film formation properties. Alginate consists of linear chains of α -L-guluronic acid (G) and β -D-mannuronic acid (M) residues joined by 1,4 linkages. Soluble sodium alginate

can be cross-linked using calcium chloride, with formation of insoluble calcium alginate particles on a nanometer scale depending on the concentrations of sodium alginate and calcium chloride. Alginate has been widely studied for particle formation in the size range of 100 nm to 2 mm for drug delivery systems.

In this work alginate is selected as the agent to increase the water solubility of curcumin. The studies are carried out in the ultrasound environment with different alginate concentrations and the water solubility of curcumin is observed with alginate addition. It is also aimed to create micro and nano-sized particles, using alginate as the encapsulation matrix. By encapsulation, a bioactive compound can be protected from environmental destructive factors, and then can be solubilised and delivered in a controlled manner.

At 25 °C, in neutral conditions, examples that were subjected to ultrasound for 2 hours, at lower alginate concentrations (0,05 - 0,1 - 0,5 % w/w) curcumin solubility was changed from $0,0622 \pm 0,0058$ mg/mL to $0,1789 \pm 0,0060$ mg/mL. If the alginate concentration was up to 1 percent, curcumin resolution was $0,2878 \pm 0,0528$ mg/mL and if it was 2 percent, curcumin resolution was increased to $0,6035 \pm 0,0861$ mg/mL. Under acidic conditions, the highest solubility of curcumin was observed in the samples containing 0,5 % alginate and the value was $0,1632 \pm 0,0033$ mg/mL.

In the same samples, the amount of curcumin per mg of alginate was calculated, in both neutral and acidic conditions, the maximum solubility increases with decreasing concentration of alginate in solution. Curcumin's highest solubility at pH 7, in 0,05 % alginate solution was 0,2521 mg curcumin/mg alginate.

Alginate - curcumin beads were prepared by dropping them into CaCl_2 solution using an injector. Microspheres of a diameter of about 2 mm, after drying at room conditions were around approximately 1 mm. For the first set, calculated encapsulation efficiency for microspheres was $96,66 \pm 1,57$ % and the second set was found $96,64 \pm 2,09$ %. From these results, it is understood that alginate microspheres that containing curcumin - alginate complexes have been obtained successfully.

When doses of 1 g of the dried microspheres were supplemented to foods or medications, the calculated amounts of curcumin to be taken are 2,92 mg/g dry microspheres and 2,73 mg/g dry microspheres, respectively.

Before and after ultrasound viscosity measurements of curcumin - alginate solutions have shown that viscosity values after ultrasound was found to be reduced by half compared to before. Here it is seen that the ultrasonic degradation of alginate polymers was carried out effectively. $C - \eta_{sp}/C$ was plotted with viscosity measurements and with increase of alginate concentrations, η_{sp}/C values are lowered, with the result that in aqueous solutions both (-) loaded alginate and curcumin's formed complexes were preserved alginate's polyelectrolyte property.

Providing information about the electrostatic potential of the particles in the solution, zeta-potential measurements were studied. Samples that were not subjected to ultrasound were compared with samples that were subjected to ultrasound samples. While error rate of samples that were not exposed to ultrasound was $\pm 22,4$, samples prepared in ultrasound medium were shown to have $\pm 8,9$, $3,3$ and $4,6$ error ratio. From these results, it is shown that samples exposed to ultrasound have more homogeneous polymer chain distribution but samples untreated with ultrasound show nonhomogeneous distribution.

As a part of the investigation on size control, alginate capsules were formed under different concentrations of alginate and CaCl_2 solutions with ultrasound, 25°C , and size of capsules was determined by Optic Microscope and Scanning Electron Microscope (SEM).

As known, in ultrasound media cavitation bubbles form and collapse and polymers chains subject to compression and relaxation. These movements in the polymer solution cause breakage in weak bonds and degradation of polymers. By using this effect, nano-sized alginate beads were obtained in the ultrasound media.

Optic microscope images show that beads obtained about 100 nm in size, but a precise size analysis was not possible. For more effective size precision, before SEM analysis, solutions were subjected to freeze-drying and concentration of the microspheres in the solution was increased. From SEM images, data show that nano-sized alginate beads were efficiently formed with diameters as small as 9,77 nm.

In the size control investigations, two sets of experiments were carried out. The first set of experiments was subjected to 30 min ultrasound from the moment of dropping. Alginate solutions of the second set were subjected to 2 hours ultrasound and then solutions were subjected 30 min ultrasound from the moment of dropping. In general it can be said that longer ultrasound treatment causes smaller diameter spheres.

1. GİRİŞ

Yaşamın önemli çelişkilerinden biri oksijen molekülüdür. Aerobik yaşamı temin eden oksijen, hem solunum yani enerji metabolizması için mutlak gerekli element olarak bilinmekte; hem de birçok hastalığın sebebi olarak görülmektedir.

Doğal, kaliteli ve dengeli beslenmeyle birlikte günümüzde bazı hastalıkların önlenmesi ve hatta tedavisi oldukça mümkündür. Gıdalar; protein, yağ, karbonhidrat, mineral ve vitaminlerle birlikte farklı oranlarda antioksidan maddelerden bir veya birçoğunu içermektedir.

Serbest radikal, dış orbitallerinde çiftlenmemiş tek elektron içeren atom ya da moleküllere verilen isimdir. Başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine girebilen bu moleküllere "oksidan moleküller" veya "reaktif oksijen partikülleri" de denmektedir. Antioksidanlar hücrelere zarar veren bu reaksiyon sistemlerini inhibe ederek toksik olmayan ürünlere çevirmektedir.

Antioksidanca zengin bir beslenme ile serbest radikallerin ve aktif oksijenin meydana getirdiği oksidatif hasar engellenebilmektedir. Gıdalardaki antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu engelleyici veya mevcut olan serbest radikalleri etkisiz hale getirici özelliğe sahiptir.

Kurkumin, lipid peroksidasyonunu baskılayan ve reaktif oksijen türlerini süpürerek inflamatuvar (iltihaba neden olan) bileşiklerin oluşumunu azaltan ayrıca antitümör ve kanseri önleyici gibi geniş kapsamlı biyo-aktivite gösteren bir antioksidandır [1]. Ancak kurkumin, biyo-aktivitelerinin çeşitliliğine ve hastalıkları önleme ve tedavi etme potansiyeline rağmen düşük çözünürlüğü ve sulu çözeltilerdeki kararsızlığı nedeniyle düşük biyo-yararlılık gösterir ve bu da sağlığı geliştirici bir ajan olarak kullanılmasını engelleyen en önemli problemi oluşturur [2,3]. Bu amaçla kurkuminin biyo-yararlılığını iyileştirmek için miseller, nanopartiküller, fosfolipid-kompleksleri, hidrojel bazlı kapsülleme mikroemülsiyonlar ve amorf katı dispersiyona dayanan formülasyonlar gibi çok sayıda yaklaşım kullanılmıştır [2,3].

2. TEORİ

2.1 Antioksidanlar

İnsan vücudunda normal fizyolojik işlemler esnasında ve dış etkenlerle birlikte serbest radikaller ve diğer aktif oksijen formları oluşmaktadır. Serbest radikaller ve aktif oksijen formlarının kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi hastalıkların gelişiminde önemli faktör olduğu düşünülmektedir [4].

Gıda antioksidanları; “İnsanlarda fizyolojik şartlarda oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) veya reaktif azot türlerinden (RNS) birinin ya da her ikisinin de olumsuz etkilerini azaltabilen maddelerdir” şeklinde tanımlanabilir [5]. Daha genel bir tanımla antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek okside olabilir materyallerin oksidasyon başlangıcını geciktiren veya hızını azaltan moleküllerdir. Oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir denge olması hayat için esastır.

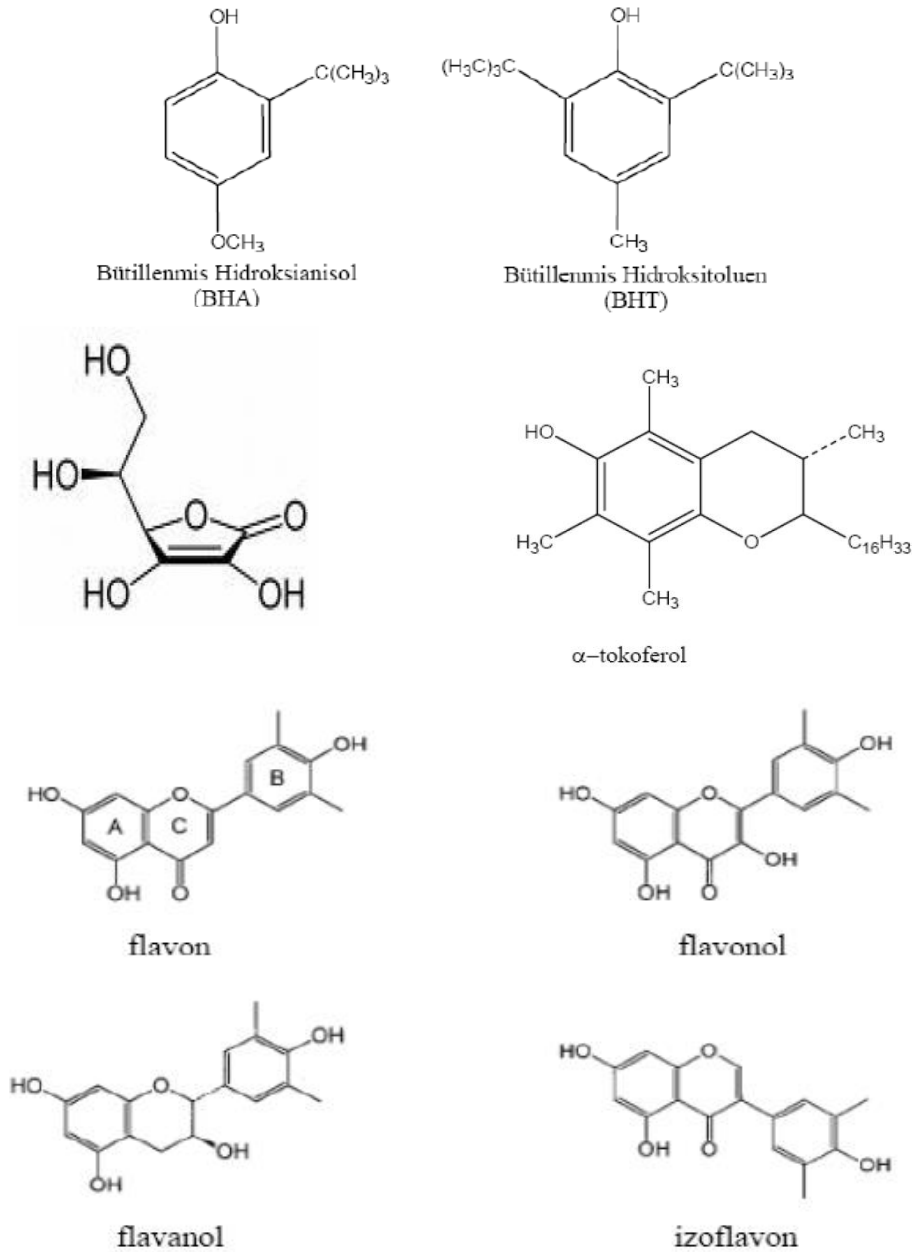
Antioksidan terimi genel bir ifade olup, gıdaların antioksidan içerikleri ve antioksidanların biyo-yararlılıkları gıda maddesinin cinsine, hasat zamanı ve hasat yöntemlerine, iklime, depolama ve muhafaza ortamının ısisına, nemine, ışığına, gıdanın hazırlanması, hatta kişi ve toplumların tüketim alışkanlıklarına göre de değişebilmektedir [5].

Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler, kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı/aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir. Bunun sonucunda doğal antioksidanlara ilgi her geçen gün artmaktadır. Literatürde doğal maddelerin önemli antioksidan etki gösterdiklerine ilişkin çok sayıda rapor bulunmaktadır [6].

Bazı gıda antioksidanlarının oksidasyonu engelleyerek, damar sertleşmesi, malarya, ve diyabette faydalı olabileceğı, antitümör, antimetastatik, antiülser, antikanserojen, hipertansiyonu önleyici ve pıhtılaşmayı önleyici ayrıca antibakteriyel, antiviral, antiaging etkileri de olduğu yapılan *in-vivo* (canlının içinde) çalışmalarla belirlenmiştir.

Antioksidanların, enzimler kadar membranlardan geçememeleri, kısa yarılanma ömürlü olmaları, sabit kalamamaları gibi zayıf biyofarmasötik sorunları vardır.

2.1.1 Antioksidan çeşitleri Antioksidan savunma sistemleri enzimatik ve enzimatik olmayan olarak iki kategoride incelenebilir. Aşağıdaki Şekil 2.1’de ise bazı antioksidanların kimyasal yapıları, Çizelge 2.1’de antioksidan çeşitleri ve bunlara örnekler görülmektedir.



Şekil 2.1 : Bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), C-vitamini (L-askorbik asit), E-vitamini (α-tokoferol), polifenolik bileşikler (flavon, flavonol, flavanol ve izoflavon).

Çizelge 2.1 : Antioksidan çeşitleri.

Enzimatik Antioksidanlar	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	
	Doğal	Sentetik
Süperoksit dismutaz (SOD)	Vitamin C	Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)
Selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (GPx)	α - tokoferol	Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)
Glutatyon-S-transferaz (GST)	Polifenolik bileşikler	Gallik asit türevleri
Katalaz	Karotenoidler	Tersiyer bütildihidrokinon (TBHQ)
Glutatyon redüktaz (GR)		Nordihidroguareyetik asit (NDGA)

2.1.2 Oksidatif stres

Dengelenmemiş serbest radikal saldırısı ve hücre zarının tahribatı “oksidatif stres” olarak adlandırılır. Oksidatif stres, oksidatif lezyonlara, doku hasarına, mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açabilen reaktif oksijen ve reaktif azot türlerinin (çoğunlukla serbest radikallerin) aşırı üretimiyle tetiklenir.

ROS organizmada, enerjetik, reaktif ve metabolik olmak üzere üç ana mekanizmayla oluşmakta, metabolik reaksiyonlar en önemli ROS kaynağı olarak karşımıza çıkmakta, oluşan ROS yüksek derecede reaktif olmasından dolayı da hücrelerde zararlı etkiler meydana getirmektedir.

İnsan metabolizmasında farklı etmenler sonucunda oluşan ROS ve RNS, süperoksit (O_2^-), hidroksil ($OH^\cdot$), peroksil ($ROO^\cdot$), alkoksil ($RO^\cdot$), semiquinon ($Q^\cdot$), nitrik oksit ($NO^\cdot$) kökleri ile hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksinitrit ($ONOO^\cdot$) ve singlet oksijen (1O_2) olarak örneklendirilebilir [4,7]. Çizelge 2.2’de ROS ve RNS türleri görülmektedir.

Radyasyon, gazlar, ağır metaller, herbisitler, pestisitler gibi çevre kirleticiler ile tedavi amacıyla alınan birçok ilaç vücutla etkileşime girerek serbest radikal oluşumuna neden olmaktadır.

Oksidatif stres, metabolik faaliyetlerin devamı için gerekli aktif oksijen-antioksidan dengesini aktif oksijen lehine bozar. Buna bağlı olarak lipidler, proteinler, enzimler, karbonhidratlar ve DNA zarar görebilmekte, membranlardaki hasarın neticesinde

Çizelge 2.2 : ROS ve RNS türleri.

Reaktif Oksijen Türleri (ROS)		Reaktif Azot Türleri (RNS)	
Radikaller	Nonradikaller	Radikaller	Nonradikaller
Süperoksit	Hidrojen peroksit	Nitrik oksit	Nitröz asit
Hidroksil	Hipokloröz Asit	Azot dioksit	Nitrozil katyonu
Peroksil	Hipobromöz Asit		Nitroksil anyonu
Alkoksil	Ozon		Diazot tetroksit
Hidroperoksil	Singlet Oksijen		Diazot trioksit
			Peroкси nitrit
			Peroкси nitröz asit
			Nitronyum katyonu
			Alkil peroksinitritler

DNA zincirlerinde rastgele kırılmalar ve bağlanmalar meydana gelebilmekte, enzim ve yapısal proteinlerin zarar görmesi hücrenin ölmesiyle sonlanabileceği gibi bu olgular kanser, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar ile diyabet ve otoimmün bozuklukların gelişiminde moleküler temeli oluşturabilmektedir.

Bu olayların engellenmesi bakımından vücutta antioksidanların varlığı ve miktarı önemlidir. Antioksidan maddeler, aktif oksijen oluşumunu engelleyerek ya da oluşan aktif oksijenleri oksidasyonun neden olduğu zararları hücresel düzeyde engelleyerek hastalıkların oluşumunu engellediği bilinmektedir.

Hava kirliliği, sigara kullanımı, kötü beslenme alışkanlıkları (alkol tüketimi, yetersiz ve kalitesiz beslenme) ve stres de ROS oluşumunu artırmaktadır [5].

2.1.3 Meyve ve sebzelerde antioksidan kapasitesi

Amerika Birleşik Devletleri Milli Kanser Araştırmaları Enstitüsü kimyasal önleme ya da engellemeyi; “İlaç, vitamin veya diğer ajanları kullanarak kanser gelişim riskini geciktirmek, engellemek ya da ortadan kaldırmak” olarak tanımlamaktadır [5]. Bu ön kimyasal engelleyiciler arasında sebze ve meyvelerle alınan antioksidanlar başta gelmektedir. Özellikle kanser tedavilerinde kullanılan ilaçlardan beklenen en önemli bir diğer yarar ise hasarlı olmayan doku ve hücrelerin korunmasıdır ve bu etkiyi en iyi sağlayabilen ajanların başında da meyve antioksidanları gelmektedir.

Çizelge 2.3 : Bazı meyve ve sebzelerin antioksidan kapasiteleri.

Antioksidan kapasite				Antioksidan kapasite			
	Trolox eşdeğeri/ 100 g	ORAC (ROO-) nmol trolox eşdeğeri/μl	ORAC (ROO-) μmol trolox eşdeğeri/g		Trolox eşdeğeri/ 100 g	ORAC (ROO-) nmol trolox eşdeğeri/μl	ORAC (ROO-) μmol trolox eşdeğeri/g
Sebze				Meyve			
Domates	200	0,45	1,89	Kırmızı erik	2200	-	9,49
Kırmızı lahana	1400	-	-	Üzüm	1700	1,24	7,39
Sarımsak	1300	5,15	19,4	Kırmızı elma	1400	0,49	2,18
Ispanak	500	1,94	12,6	Yeşil üzüm	1200	-	
Brüksel lahanası	500	1,73	-	Muz	1100	0,46	2,21
Tatlı mısır	500	-	-	Kivi	1000	1,08	6,02
Patates	400	-	-	Ananas	1000	-	-
Bezelye	300	-	-	Kiraz	800	-	-
Karnabahar	200	0,79	3,8	Portakal	600	1,97	-
Havuç	200	0,34	2,1	Armut	600	0,46	1,34
Yeşil fasulye	200	-		Kavun	100	0,2	0,97
Soğan	200	1,2	4,5	Böğürtlen	5500	-	-
Marul	150	0,4	-	Ahududu	5100	-	-
Kereviz	50	-	-	Çilek	3100	2,68	15,36
Kırmızı biber	-	2,39	-	Bektaşı üzümü	1900	-	-
Patlıcan	-	0,9	3,9	Yaban mersini	3300	-	15,9-64,4
Kara lahana	-	2,7	17,7				

Bitkiler, önemli doğal antioksidan kaynağı olup 8000 kadar farklı yapıdaki bitki fenolikleri literatürde kaydedilmiştir [7]. Çizelge 2.3'te bazı meyve ve sebzeler ve onların antioksidan kapasiteleri belirtilmiştir.

2.1.4 Antioksidan kapasite tayin yöntemleri

Antioksidan kapasite tayin yöntemleri, reaksiyon mekanizmasına bağlı olarak Hidrojen Atomu Transferine Dayalı Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri (HAT) ve Elektron Transferine Dayalı Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri (ET) olarak iki sınıfa ayrılmaktadır.

Redoks reaksiyonuna dayanan HAT esaslı analiz yöntemlerinin başında, Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC) ve Total Radikal Yakalama Antioksidan Kapasitesi (TRAP) tayin yöntemleri gelmektedir. ET esaslı analiz yöntemleri, antioksidan maddenin indirgendiğinde renk değiştiren bir oksidan maddeyi indirgeme kapasitesinin ölçümüne dayanır. ET esaslı analiz yöntemlerinden başlıcaları, Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC) ölçümü ve FRAP (Demir (III) İndirgeme Antioksidan Kapasitesi) Yöntemidir.

2.2 Kurkumin

Kurkumin, lipid peroksidasyonunu baskılayan ve reaktif oksijen türlerini süpürerek inflamatuvar (iltihaba neden olan) bileşiklerin oluşumunu azaltan bir antioksidandır [1].

Curcuma longa L.'nin (zerdeçal) ana bileşeni olan kurkumin, ilk kez Vogel ve Pelletier tarafından 1815 yılında izole edilmiştir. 1870 yılında Daube tarafından kristalize edilmiş ve daha sonra sentezini gerçekleştirecek olan Lampe ve çalışma arkadaşları, 1910 yılında yapısını açıklığa kavuşturmuşlardır.

Geleneksel doğu tıbbında özellikle Hindistan, Çin ve Tayland'da geniş bir alanda kullanılan zerdeçalın ana vatanı Doğu Hindistan'dır. Geleneksel olarak anoreksi, öksürük, diabetik yaralar, karaciğer hastalıkları, romatizma ve sinüzit ve harici deri yaralanmalarının önlenmesi ve tedavisi gibi birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [8]. Çizelge 2.4'te zerdeçalın tıbbi uygulamaları görülmektedir.

Çizelge 2.4 : Zerdeçalın tıbbi uygulamaları.

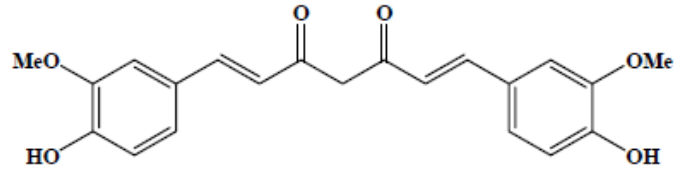
Zerdeçalın

tıptaki kullanım alanları

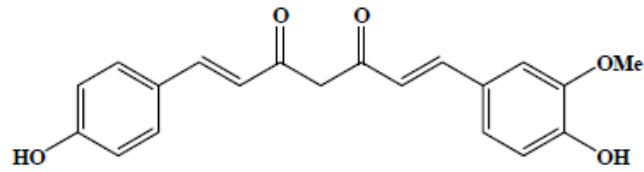
Anemi, ateroskleroz, diyabet, ödem, hemoroid, hepatit, histeri, hazımsızlık, iltihap, cilt hastalığı, üriner hastalık, yara ve çürük iyileşmesi, sedef hastalığı, anoreksi, öksürük, karaciğer hastalıkları, romatizma, sinüzit

Zerdeçal, sarı çiçekli, büyük yapraklı ve rizomlu çok yıllık otsu bir bitkidir. Bitkinin toprak altındaki ana rizomları yumru şeklinde, yan rizomları parmak şeklindedir. Rizomların üst yüzeyi kahverengimsi, içi sarı veya kırmızımsı sarı renktedir.

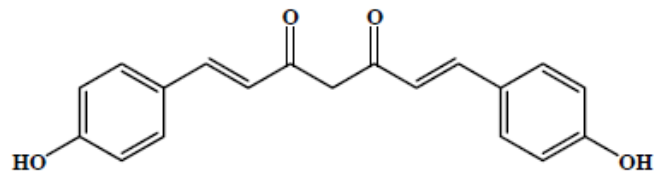
Zerdeçal, Linnaeus tarafından *C. longa* olarak tanımlanmıştır. Yabani zerdeçal *Caromatica*, yerel türleri ise *C. Longa* olarak adlandırılır [8]. Zerdeçal bitkisi yapısında, protein (% 6,3), yağ (% 5,1), mineraller (% 3,5), karbonhidratlar (% 69,4) ve su (% 13,1) bulundurur.



Curcumin (curcumin I)



Demethoxycurcumin (curcumin II)



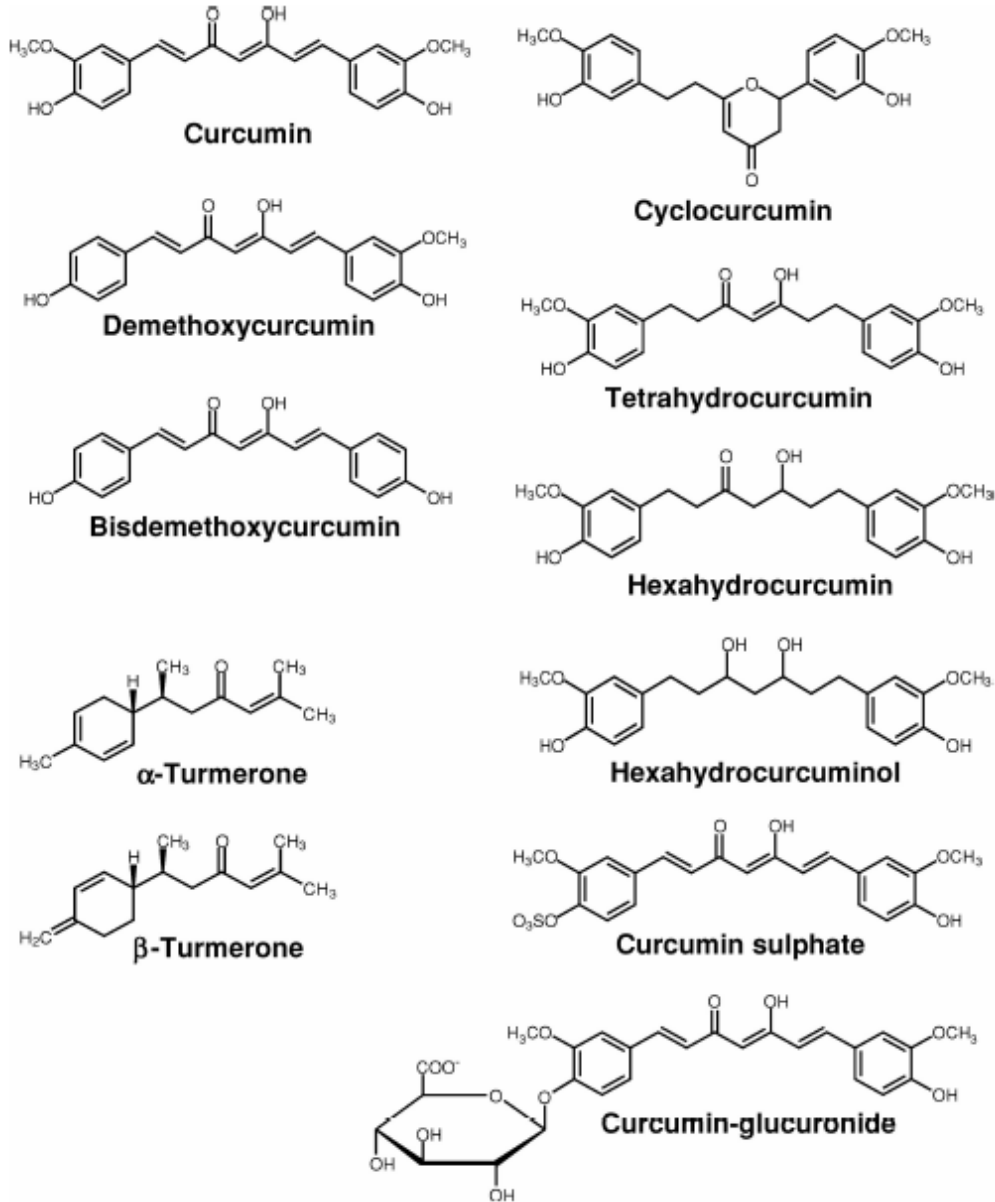
Bisdemethoxycurcumin (curcumin III)

Şekil 2.2 : Kurkumin ve türevlerinin kimyasal yapısı.

Zencefil ailesine ait zerdeçalın biyo-aktif ana bileşeni olan kurkumin (diferulolmetan) (% 3 - % 4) bitkinin sarı renginin kaynağıdır ve kurkumin I (% 94), kurkumin II (% 6) ve kurkumin III'ten (% 0,3) oluşmaktadır (Şekil 2.2) [8].

Molekül ağırlığı 368,37 g/mol ve erime noktası 183°C'dir. Organik solvante bağlı olarak UV-Vis spektrofotometrik araştırmalarda, kurkuminin maksimum ışık absorbansı 400-430 nm arasında görülmektedir.

Ticari kalitedeki kurkumin, dimetoksikurkumin (Mw 338 g/mol, genellikle % 10-20) ve bisdimetoksikurkumin (Mw 308 g/mol, genellikle % 5'ten az) kurkuminoidlerini içerir (Şekil 2.3) [7].



Şekil 2.3 : Kurkumin ve türevlerinin yapıları.

2.2.1 Biyo-aktivitesi / biyo-yararlılığı

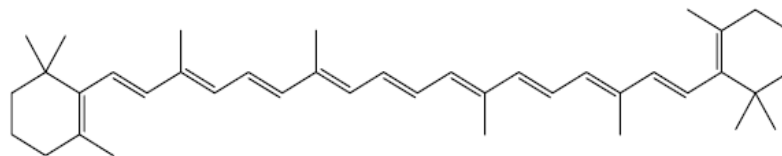
Biyo-aktif bir molekülün aktivitesi, çözünürlüğüne, kararlılığına, absorpsiyonuna ve biyo-yararlılığına bağlıdır [2]. Farmakolojik olarak geniş kapsamlı biyo-aktiviteye sahip olan kurkumin, antikanserojen, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, hipoglisemik, antioksidan ve Alzheimer'ı önleyici rol oynar [2,3]. Ancak kurkuminin biyo-aktivitelerinin çeşitliliğine ve hastalıkları önleme ve tedavi etme potansiyeline rağmen düşük çözünürlüğü ve sulu çözeltilerdeki kararsızlığı nedeniyle düşük biyo-yararlılık gösterir ve bu nedenle sağlığı geliştirici bir ajan olarak kullanılmasını engelleyen en önemli problemi oluşturur [2,3].

Kurkuminin biyo-yararlılığını iyileştirmek için çok sayıda yaklaşım kullanılmıştır. Miseller, nanopartiküller, fosfolipid-kompleksleri, hidrojel bazlı kapsülleme mikroemülsiyonlar ve amorf katı dispersiyona dayanan formülasyonlar geliştirilmiştir [2,3].

Biyo-aktif bileşiklerin gıda prosesi esnasında ve mide-bağırsak sisteminde (pH, enzimlerin ve diğer besinlerin varlığı) karşılaşılan koşullara karşı korunması büyük önem taşımaktadır. Kapsüllenme sayesinde, biyo-aktif bileşik çevresel zararlı etkenlerden korunur, kontrollü bir şekilde çözündürülür ve salımı yapılır [2].

İki aromatik halka arasındaki bağlantı olan heptadiendion zincirin, kurkuminin anti-tümör aktivitesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. İn-vivo ve in-vitro yapılan birçok çalışma kurkumin ayrıca kanser büyümesini engelleyici etkisi olduğunu göstermiştir [11].

Kurkumin (1,7-bis-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-2,5-dion) ve bağlı olduğu kurkuminoid ailesi, fenil yerine sikloheksil halkası içermesine rağmen, enol formunda uç halkalar ile konjuge bölümü olan β -karotenle (Şekil 2.4) benzerlik göstermektedir [8].



Şekil 2.4 : β -karotenin kimyasal yapısı.

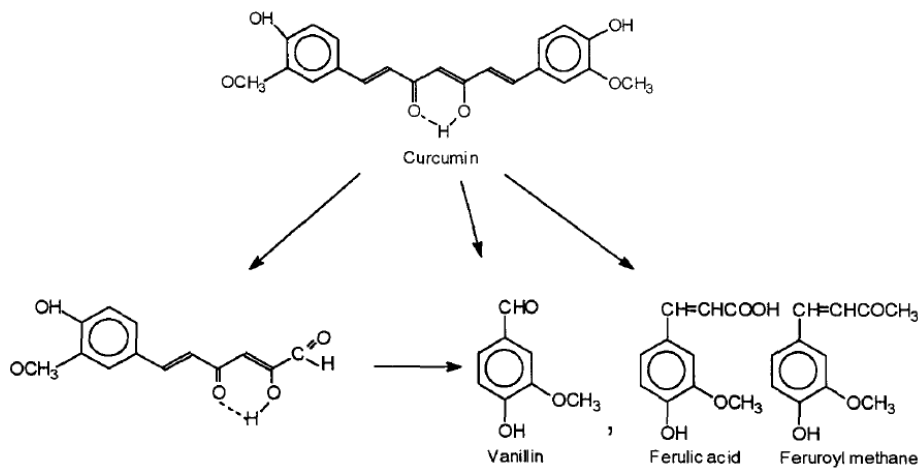
Heptadiendion kısmın keto-enol-enolat dengesi kurkuminin fizikokimyasal ve antioksidan özelliklerini belirler. Fenolik hidroksil grupları kurkumin antioksidan aktivitesi üzerinde önemli rol oynayarak, katkıda bulunabilecek karbonil, metoksi ve hidroksil grupları ile kurkumini fenolik antioksidan kategorisine yerleştirir [12].

2.2.2 Çözünürlüğü

Kurkumin nispeten suda çözünmez. Sulu tampon çözeltide (pH 5,0) maksimum kurkumin çözünürlüğü 11 ng/mL olarak bildirilmiştir, nötral pH'da ise konsantrasyon ölçmek için çok düşüktür. Kurkumin ayrıca nötral ve alkali tampon çözeltide çok hızlı bir şekilde indirgenir. Bu nedenle, kurkuminin çözünürlüğünü ve kimyasal kararlılığını arttıracak ilaç salım sistemleri, insan sağlığını geliştirici önemli hedeflerdir. Öte yandan, başta metanol olmak üzere aseton, etanol, tetrahidrofuran, asetilaseton, kloroform, asetik asit, benzen toluen ve CCl₄ gibi solventlerde iyi çözünür [13].

2.2.3 Kurkumin çözeltisi stabilitesi

Tonnesen ve Wang, kurkuminin bazik pH'da kararsızdır, alkali (yüksek pH) bir çözeltiye maruz kaldığında ise alkalik hidrolize uğradığını rapor etmişlerdir. In-vitro fizyolojik durumlarda (fosfat tamponu, pH 7,2) bile hidrolitik bozunma rapor edilmiştir. Hem çözelti içinde hem de katı formda ışığa maruz bırakıldığında fotodegradasyona uğramaktadır. Bu rapora göre, bazik pH çözeltide, kurkumin 30 dakika içerisinde trans-6-(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-2,4-diokso-5-heksanal, ferulik asit, feruloilmetan ve vaniline bozunmuştur (Şekil 2.5).

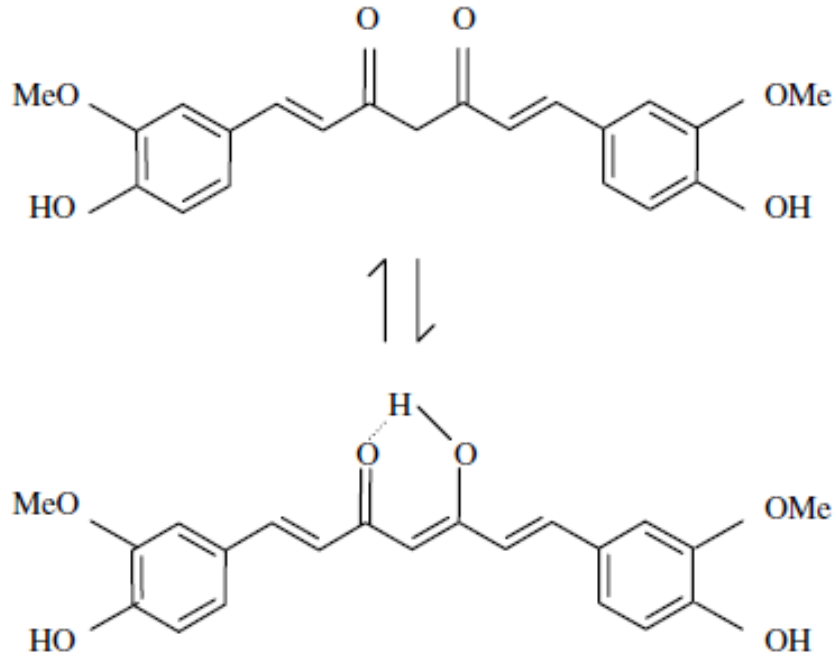


Şekil 2.5 : 0,1 M fosfat tampon çözeltisinde kurkumin degradasyonu sonucu oluşan ürünler, pH 7,2 - 37°C.

Asidik koşullarda, kurkuminin bozunması daha yavaş olmuştur, 1 saat içerisinde toplam kurkuminin % 20'den daha azı bozunmuştur [1,8,14].

2.2.4 pH etkisi

Kurkumin, bis- α,β -doymamış β -diketondur, enol tautomeri ile dengede bulunur (Şekil 2.6). Bis-keto formu asidik ve nötral sulu çözeltilerinde ve hücre zarında baskın olmaktadır. pH 3-7 arasında kurkumin oldukça kuvvetli bir H atom donörü olarak davranır. Bunun nedeni, keto formda, iki metoksifenol halkası arasındaki heptadienon bağlantısının oldukça aktif bir karbon atom içermesi ve bu karbondaki C-H karbon bağlarının komşu oksijendeki eşleşmemiş elektronların delokalizasyonundan ötürü fazlaca zayıf olmasıdır. Tersine pH 8'in üstünde heptadienon zincirin enolat formu baskındır ve kurkumin elektron donörü olarak davranır. Fenolik antioksidanların süpürme aktivitesi için daha uygun bir mekanizma Jovanovic ve çalışma arkadaşları tarafından önerilmiştir [8,13,14,15].



Şekil 2.6 : Fizyolojik koşullar altında kurkumin tautomerleşmesi, bis-keto formu (üstte) ve enolat formu (altta).

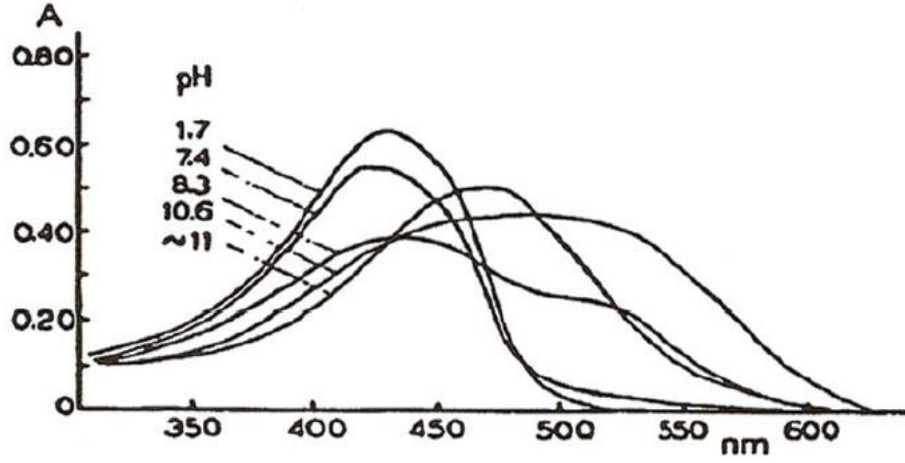
Belirli bir pH değerinde, çözelti içindeki mevcut kurkumin konsantrasyonu zamanın bir fonksiyonu olarak belirlenmiş ve sırasıyla tüm bozunma reaksiyonları üzerinden k değerleri (oran sabitleri) ve kurkumin yarı ömürleri saptanmıştır (Çizelge 2.5) [16].

Çizelge 2.5 : Çeşitli pH değerlerinde, kurkuminin k sabitleri ve yarılanma ömürleri.

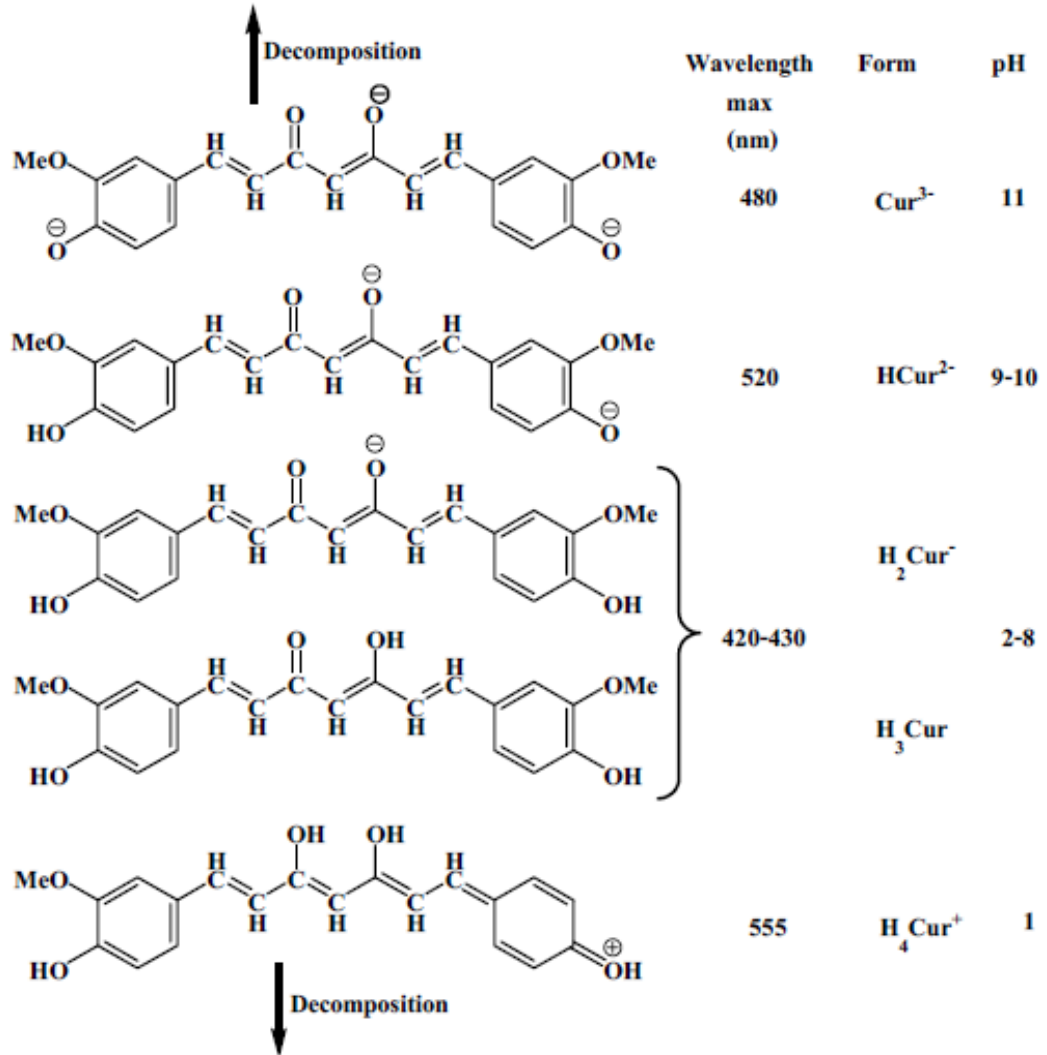
pH	k (M ⁻¹ s ⁻¹)	t _{1/2} (s)	pH	k (M ⁻¹ s ⁻¹)	t _{1/2} (s)
1,23	2,8	6,6×10 ³	8,08	8,6×10 ⁴	2,1×10 ⁻¹
3,21	5,2	3,5×10 ³	8,20	6,3×10 ⁴	2,9×10 ⁻¹
5,97	4,4	4,2×10 ³	8,45	6,0×10 ⁴	3,1×10 ⁻¹
6,94	1,2×10 ³	1,5×10 ¹	8,55	9,8×10 ⁴	1,9×10 ⁻¹
7,00	1,2×10 ³	1,5×10 ¹	8,60	1,2×10 ⁵	1,5×10 ⁻¹
7,30	4,0×10 ³	4,6	8,75	1,6×10 ⁵	1,2×10 ⁻¹
7,75	2,2×10 ⁴	8,4×10 ⁻¹	9,01	3,9×10 ⁵	4,8×10 ⁻²
7,81	3,2×10 ⁵	5,8×10 ⁻²	9,15	6,2×10 ⁵	3,0×10 ⁻²
7,84	2,2×10 ⁵	8,4×10 ⁻²	9,44	8,5×10 ⁵	2,2×10 ⁻²
7,98	5,2×10 ⁵	3,5×10 ⁻²	10,84	7,4×10 ⁵	2,5×10 ⁻²

Dyrssen ve çalışma arkadaşları sulu etanolik ortamdaki kurkuminin asidik iyonlaşma sabiti üzerine çalışmışlardır. Şekil 2.7’de 1×10⁻⁵ mol/L konsantrasyondaki kurkumin çözeltisinin farklı pH değerlerinde 1:1 etanol-su çözeltisindeki UV-Vis spektrumunu göstermektedir. Maksimum absorbans dalga boylarındaki kaymalar birçok asit-baz dengesinin mevcut olduğunu göstermektedir. pH 3-7 arasında nötral formda (H₃Cur) absorbans 430 nm’de maksimuma sahiptir. Daha fazla asit eklendiğinde, maksimum absorbans bandı 555 nm’ye kayar ve 470 nm’de izobestik nokta oluşur. Onun yerine nötral çözeltiye alkali ilave edildiğinde, 520 nm’de başka bir maksimum absorbans bandı ortaya çıkar. Bozunmadan ötürü, alkali maksimum absorbansı daha kısa dalgaboyu olan 480 nm’ye kaydırır, kurkumin oldukça kararsız hale gelir [8]. Kurkuminin farklı pH değerlerindeki yapısı Şekil 2.8’de görülmektedir.

Enol formda kurkumin, enol gruba ve iki fenolik gruba karşılık gelen üç iyonize protona sahiptir. Shen ve Ji tarafından yapılan teorik çalışmalarda enol form için hesaplanan maksimum absorbans 419 nm’dedir, diketon formu karşılaştırıldığında bu absorpsiyon kırmızıya kaymıştır. Enolik protonun iyonlaşması için hesaplanan maksimum absorpsiyon yaklaşık 429 nm’dedir. Öte yandan, fenolik protonun iyonlaşması batokromik kaymaya neden olur, 531 nm’de maksimum absorbans gösterir.



Şekil 2.7 : 1:1 etanol-su çözeltisindeki kurkuminin farklı pH değerlerinde absorbanısı.



Şekil 2.8 : Farklı pH değerlerinde kurkumin yapısı.

Kurkuminin asidik ve bazik ortamlardaki davranışı Bernabè-Pineda ve çalışma arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Bazik ortamdaki kurkumin, kırmızı renktedir, 463 ve 261 nm'deki maksimum absorbans bantlarının yanı sıra, 360 nm'de omuz benzeri bir sinyal gözlenmiştir. Asidik medyada iken, sarı renktedir ve maksimum absorbans bandları hipsokromik kayma gösterir, bazik ortamda 463 nm'deki ana band asidik ortamda 422 nm'ye kaymıştır.

Jasim ve Ali, 12 farklı polar ve apolar organik solventte (metanol, aseton, NAMK, etanol, THF, asetilaseton, kloroform, asetik asit, DMS, benzen, toluen ve CCl₄) kurkuminin UV-Vis spektrumlarını incelemişlerdir. pH'a karşılık $\lambda_{\max}$ grafiği çizildiğinde pH 5,5-7,5 arasında tüm sistemlerin kararlı olduğu görülmüştür.

2.2.5 Günlük doz / toksisite

Asyada bir insanın günlük ortalama zerdeçal tüketimi 0,5 ile 1,5 g arasında değişmektedir ve bu miktar hiçbir toksik belirti göstermez. Erkek ve dişi sıçan, domuz ve maymunlar normalde bir insanın tüketebileceğinden çok daha yüksek dozlarda (2,5 g/kg vücut ağırlığı) zerdeçal ile beslendiğinde, böbrek, karaciğer ve kalbin görünüş ve ağırlıklarında hiçbir değişim olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca patolojik ve davranışsal anomalikler farkedilmemiş ve ölüm görülmemiştir. Her iki cinsiyetteki sıçan, domuz ve maymuna 300 mg/kg vücut ağırlığı dozunda kurkumin verildiğinde, hiçbir patolojik ve davranışsal anomalik farkedilmemiş, öldürücülük gözlenmemiştir. Alyuvar, akyuvar ve hemoglobin gibi kanın bileşenlerinin üretimi ve seviyesinde olumsuz etki gözlenmemiştir [8].

İnsanlar üzerindeki faz I klinik çalışmaları, günde 12 g'a kadar alınan kurkumin dozlarının güvenli olduğunu ve önemli bir toksisite göstermediğini doğrulamıştır [13]. Ayrıca yapılan bir çalışmaya göre, 3 ay süreyle 8000 mg/gün dozunda oral olarak kurkumin aldığı tedaviye bağlı toksisite gözlenmediği belirtilmiştir [11].

2.2.6 Tıbbi uygulamaları

Kurkuminin sağlık amaçlı kullanımı yeni değildir. Antiseptik, anti-inflamatuar ve antioksidan olmak üzere kurkumin kullanımı üzerine uzun bir liste oluşturulabilir. Şekil 2.9, tıptaki kurkumin kullanım alanlarını göstermektedir [7].



Şekil 2.9 : Modern teknolojiye dayanarak kurkuminin potensiyel uygulama alanları.

2.3 Enkapsülasyon

Enkapsülasyon, taşıyıcı bir madde (matris) içerisine aktif bileşenlerin hapsedilmesi işlemidir. Aktif bileşikler, kullanımı, taşımayı veya başka bileşenlerin içine katılmasını kolaylaştırmak üzere sıvıdan katı forma dönüştürmek gibi çeşitli nedenlerle kapsüllenirler. Gıda endüstrisinde kapsüllenmiş maddelerin çok sayıda muhtemel yararı vardır. Enkapsülasyon işlemi biyo-aktif moleküller (örneğin antioksidanlar, mineraller, vitaminler, yağ asitleri) ile canlı hücrelerin (örneğin probiyotikler) gıdalara takviyesini iyileştirmede yararlı bir araçtır. Diğer nedenler içinde, tat/koku maskeleyme, buharlaşmadan ve oksidasyondan korunma ve kontrollü salım uygulamaları bulunmaktadır [17,18,19]

Koruyucu kabuğun tasarımında kullanılan materyaller, gıdalarda kullanılabilir olmalıdır, ayrıca biyo-bozunur olabilir ve iç faz ile çevresi arasında bariyer oluşturabilir özellikte olmalıdır [19]. Tüm malzemeler arasından, gıda uygulamalarında kapsülleme için en yaygın olarak polisakkaritler kullanılmaktadır.

Enkapsülasyonu gerçekleştirilmiş madde, etken madde haricinde, çekirdek, dolgu, aktif, iç ya da yüklü faz olarak adlandırılır. Kapsülleyici madde genellikle, kaplama, membran, kabuk, kapsül, taşıyıcı madde, dış faz ya da matris olarak adlandırılır. Üretilen parçacıkların çapları genellikle birkaç mm ile birkaç nm arasında değişir [18,19].

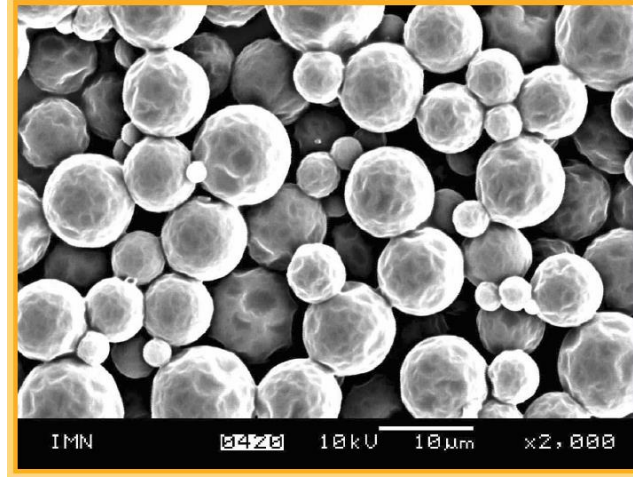
Enkapsülasyon işlemi ile biyo-aktif bileşiklerin proses ve depolama esnasında kararlılığını korumak ve gıda matrisi ile istenmeyen etkileşimleri engellemek amaçlanır. Enkapsülasyon ile ürüne, bozunma prosesini (örneğin oksidasyon veya hidroliz) yavaşlatmak veya istenilen bölgeye ulaşana kadar bozunmayı engellemek gibi olanaklar sunulur. Böylece biyo-aktif bileşik tamamen işlevsel bir şekilde tutulur. Ayrıca bu teknoloji, hassas biyo-aktif maddeler ile çevresi arasında bariyer oluşturarak tat ve aroma ayrımını sağlar, kötü tatları veya kokuları maskeler, gıda bileşenlerine kararlılık sağlar veya biyo-yararlılıklarını artırır [18].

2.3.1 Mikrokapsüller

Mikroküreler, çapları 50 nm ile birkaç milimetre arasında değişen partiküllerdir. Parçacık formundaki bu malzemeler, diğer malzemeler ya da hücreler ile etkileşim için geniş yüzey alanı sağlayabilir. Doku tamiri ve rejenerasyonu için taşıyıcı hücre olarak kullanılabilirler. İlaçları içinde veya yüzeyinde taşıyarak ilaç salım sistemlerinde kullanılabilirler [20].

Dağılmış emülsiyon damlacıkları farklı işlemler ile mikrokapsüllere dönüştürülebilir (Şekil 2.10) [21].

Gıda endüstrisinde kullanılan başlıca yöntem koaservasyondur. Bu yöntemde ilk olarak yağ fazı polimer çözeltisi içerisinde dağıtılması ve daha sonra damlacıkların arayüzeyindeki polimerlerin çökmesini kapsar.



Şekil 2.10 : Mikro kapsüller.

2.3.2 Enkapsülasyon verimi

Mikro/nano partiküllerin içerdiği aktif bileşen miktarı farklı yöntemler ile hesaplanabilir. Enkapsülasyon verimini ifade eden denklem aşağıda görülmektedir:

$$\text{Enkapsülasyon verimi (\%)} = \frac{\text{Mikrokapsül içerisindeki aktif bileşen miktarı}}{\text{Aktif bileşenin başlangıç miktarı}} \times 100 \quad (2.1)$$

Aktif bileşenin başlangıç miktarı, hesaplanan toplam miktardır buna hazırlama esnasında beherdeki kayıp ve çözelti içerisindekiler dahildir.

Bu ifadeden yola çıkarak enkapsülasyon verimi için farklı bir denklem türetmek mümkündür:

$$\text{Enkapsülasyon verimi (\%)} = \frac{\text{Aktif bileşenin başlangıç miktarı} - \text{Çözelti içinde kalan miktar}}{\text{Aktif bileşenin başlangıç miktarı}} \times 100 \quad (2.2)$$

Çözelti içinde kalan miktar, kapsüllerin uygun bir filtre ile toplanması sonrası çözelti içinde kalan serbest haldeki aktif bileşen miktarıdır [22].

2.3.3 Zeta-potansiyel

Zeta potansiyel tanecikler arasındaki itme veya çekme değeri ölçümüdür. Çözelti içindeki partiküllerin elektrostatik potansiyeli ve bunun yanı sıra kolloidal stabilitesi hakkında bilgi verir.

Belli bir yükteki tane, süspansiyon içerisindeki karşı yükteki iyonları çeker, sonuç olarak, yüklü tanenin yüzeyinde güçlü bir bağ yüzeyi oluşur ve daha sonra da yüklü

tanenin yüzeyinden dışa doğru yayılmış bir yüzey oluşur. Yayılmış bu yüzey içerisinde "kayma yüzeyi" diye adlandırılan bir sınır bulunur. Yüklü tane ve onun etrafında bulunan iyonların kayma yüzey sınırına kadar olan kısım tek bir parça olarak hareket eder. Bu kayma yüzeyindeki potansiyel zeta potansiyeli olarak isimlendirilir ve hem tanenin yüzey yapısından hem de içinde bulunduğu sıvının içeriğinden etkilenir. Tanelerin polar sıvılar içerisindeki davranışlarını yüzeylerindeki elektrik yükü değil, zeta potansiyel değerleri belirler. Sıfıra yakın bir değer kararsızlık ve hızlı koagülasyon anlamına gelir.

Zeta potansiyel, çözeltiye elektrik alan uygulandığında taneciklerin hızlarının ölçülmesi ile bulunur. Henry'nin denkleminde görülebileceği gibi bu hız zeta potansiyele bağlıdır:

$$U_E = \frac{2\varepsilon\zeta f(Ka)}{3\eta} \quad (2.3)$$

Burada ε dielektrik sabiti, ζ zeta potansiyeli, $f(Ka)$ Henry fonksiyonu (1,0 veya 1,5'e eşit) ve η viskozitedir [22].

2.4 Aljinat

Biyo-malzemelerin geliştirilmesi, hem doku mühendisliği alanında hem ilaç salım cihazlarında hem de sürekli implant malzemesi olarak kullanımı açısından büyük bir araştırma alanıdır. Hidrojeller, büyük miktarda suyu emebilme ve tutabilme yeteneğine sahip olmaları ve hidratlanmış dokuların özelliklerini taklit edebilmeleri sayesinde birçok biyomedikal uygulamada tercih edilen malzemelerdir. Çapraz bağlı hidrofilik polimerlerden oluşan hidrojeller, üç boyutlu elastik ağ yapısındadır ve bu ağ yapı hidrojellerin sulu fazda çözünmesini engeller. Hidrojeller bu yapıları sayesinde % 90 - % 99 oranında içine su alabilen boşluklara sahiplerdir ve insan vücuduna uyarlanabilir özellik gösteren ilk bio-uyarlı malzeme olarak kabul edilmektedirler [23,24].

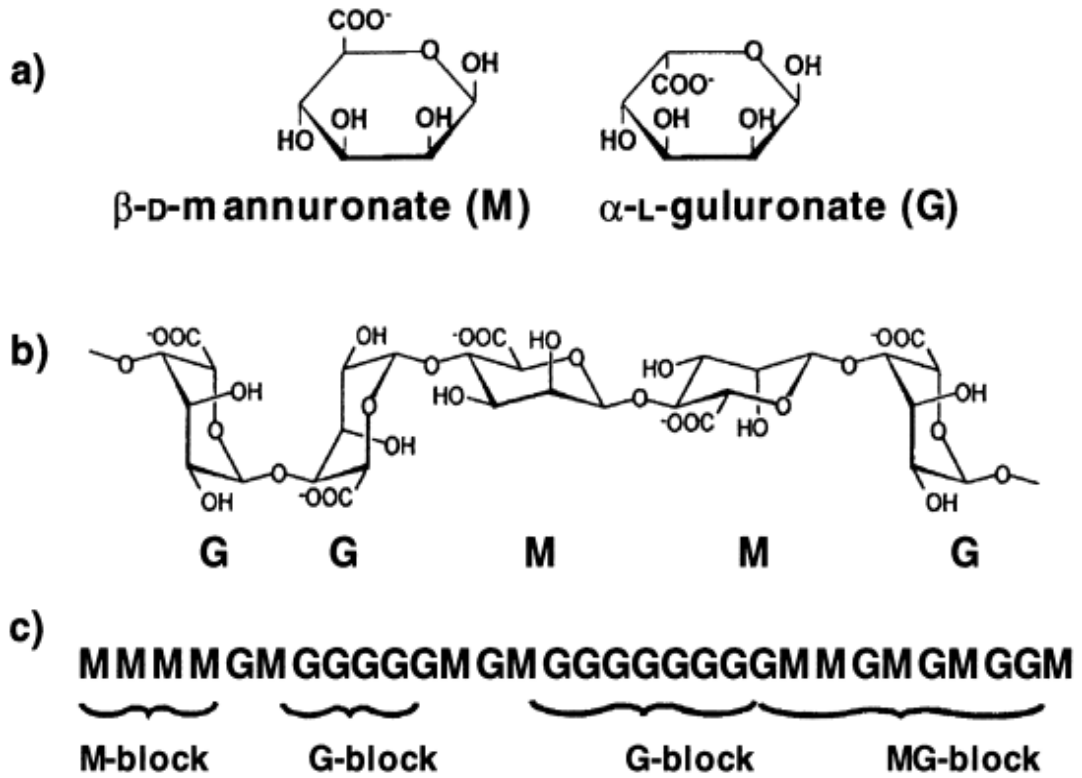
Doğal kaynaklardan elde edilen polimerler, ilaç ve gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu polimerler arasından polisakkaritler, yüksek biyo-yararlılıkları, biyo-bozunabilir olmaları ve düşük toksisiteleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır [9].

Aljinatlar, hidrojel bazlı biyo-malzeme uygulamalarında kullanılan, yosun veya bakterilerden elde edilen, suda çözünür biyopolimerlerdir [24].

Aljinatın kimyasal ve biyolojik malzemelerin farklı kapsülleme sistemlerinde immobilizasyonu veya izolasyonu gibi endüstri ve tıp alanında birçok uygulaması mevcuttur [25].

Macrocystis, *Laminaria*, *Ascophyllum*, *Fucus*, *Eklonia* ve *Pelvetia* gibi kahverengi deniz alglerinden üretilmektedir. *Azotobacter vinelandii* ve *Pseudomonas* gibi mikroorganizmalar da farklı bileşimlerde aljinat sentezlerler [25].

Aljinatlar, doğal polisakkaritler ailesindendir. Aljinat molekülü lineer yapıda β -(1-4) bağlı D-mannuronik asit (M) ve α -(1-4) bağlantılı L-guluronik asit (G) ünitelerinden oluşmaktadır (Şekil 2.11).



Şekil 2.11 : Aljinat biyopolimerinin yapısı: (a) aljinat monomerleri: guluronik asit (G) ve mannuronik asit (M), (b) zincir yapısı, (c) blok dağılımı.

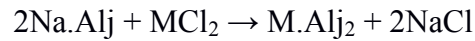
Her iki polisakkaritin eşsiz biyolojik, kimyasal ve fiziksel özelliklerinden dolayı çeşitli alanlarda birçok endüstriyel uygulaması bulunmaktadır. Örneğin, aljinat gıda stabilizatörü, hücreler ve enzimler için kapsülleme matrisi, jelleşme ajanı, bitki büyüme uyarıcısı, yara pansuman malzemesi olarak kullanılmaktadır [26].

Aljinatlar doğrusal ikili kopolimerlerdir, M ve G ünitelerinin değişen kompozisyonlarda ve dizilerdeki bloklarından oluşurlar (örneğin: MMMM, GGGG ve GMGMGM). Monomerlerin glikozidik bağ ile bağlanması sonucu oluşan polimerik yapı geniş bir moleküler ağırlık yelpazesine sahiptir (50 - 100000 ünite).

Aljinatın fizikokimyasal özellikleri, M/G oranına ve ayrıca kopolimer içindeki monomer dağılımına ve sırasına da bağlıdır. Yosun türüne, polisakkaritin ekstrakte edildiği yosun doku tipine ve yosunun toplandığı mevsime bağlı olarak mannuronik asit biriminin oranı ve sırası değişmektedir. Guluronik asit miktarı arttıkça jel mekanik olarak daha dayanıklı olur ve jel oluşumunu bozan asitlere ve şelat yapıcı bileşiklere karşı daha kararlı hale gelir. Ayrıca yüksek guluronik asit içeren jellerin gözenekliliği daha yüksektir. Mannuronik asit içeriği arttıkça ise jel daha yumuşak ve elastik olur. Jel oluşumu sırasında daha çok büzüşme meydana geldiği ve jelin gözenekliliğinin azaldığı belirtilmiştir [24].

Guluronik asitçe zengin aljinatlarda bağlanma daha güçlüdür. Bunun sebebi, guluronik asit yapısındaki karboksil ve hidroksil gruplarının arasındaki mesafenin mannuronik aside göre daha kısa olmasından dolayı iki değerlikli katyon ile guluronik asit arasında bağlanma gerçekleşmesidir. Guluronik asitçe zengin aljinatlar yüksek porozite özelliği gösterirler ve ısıya dayanıklı, sert fakat kolaylıkla kırılabilen jel oluştururlar. Jel oluşumu sırasında büzülme azdır ve kuruduktan sonra fazla şişme görülmez. Oluşan jel daha katıdır ve daha hızlı jel oluşumu gözlenmektedir. Aljinat ile katyon arasındaki tepkime oda sıcaklığında veya soğukta olabilir. Yüksek sıcaklıklarda ise jel oluşumu daha yavaş gerçekleşir. Yüksek polimerizasyon derecesine sahip aljinatlar, daha az miktarda katyon ile reaksiyona girerken, düşük polimerizasyon dereceli aljinatlar daha çok miktarda katyon ile reaksiyona girer.

Katyon tuzu ve aljinat çözeltisi arasındaki tepkime aşağıda gösterilmiştir:

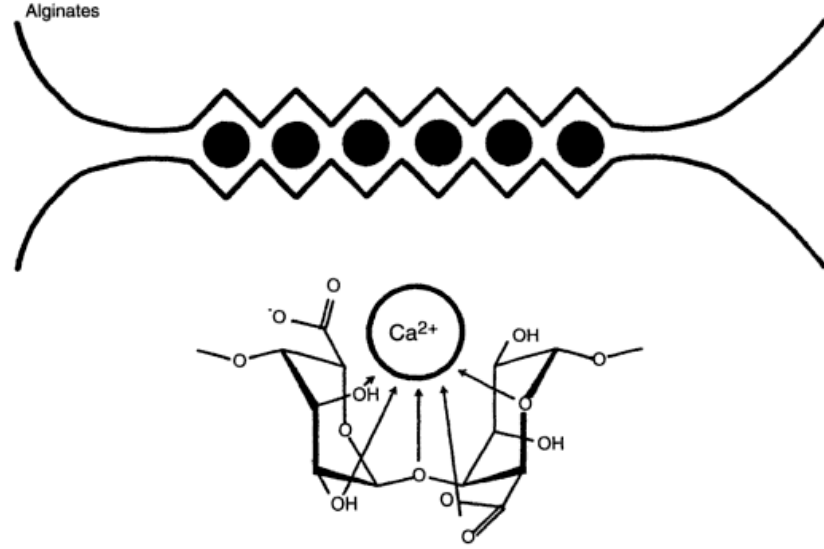


M: İki değerli katyon

2.4.1 “Yumurta kutusu” modeli

“Yumurta kutusu” yapısal modeli aljinat polimer zincirleri ve iki değerlikli katyonların arasındaki ilişkiyi tanımlamak için kullanılmaktadır (Şekil 2.12). İyonik

olarak çapraz bağlanmış aljinat hidrojel Ca^{+2} , Ba^{+2} , Sr^{+2} , Zn^{+2} , Cu^{+2} , Cd^{+2} ve Co^{+2} gibi iki değerlikli katyonların varlığında oluşturulmaktadır.



Şekil 2.12 : “Yumurta kutusu” modeli.

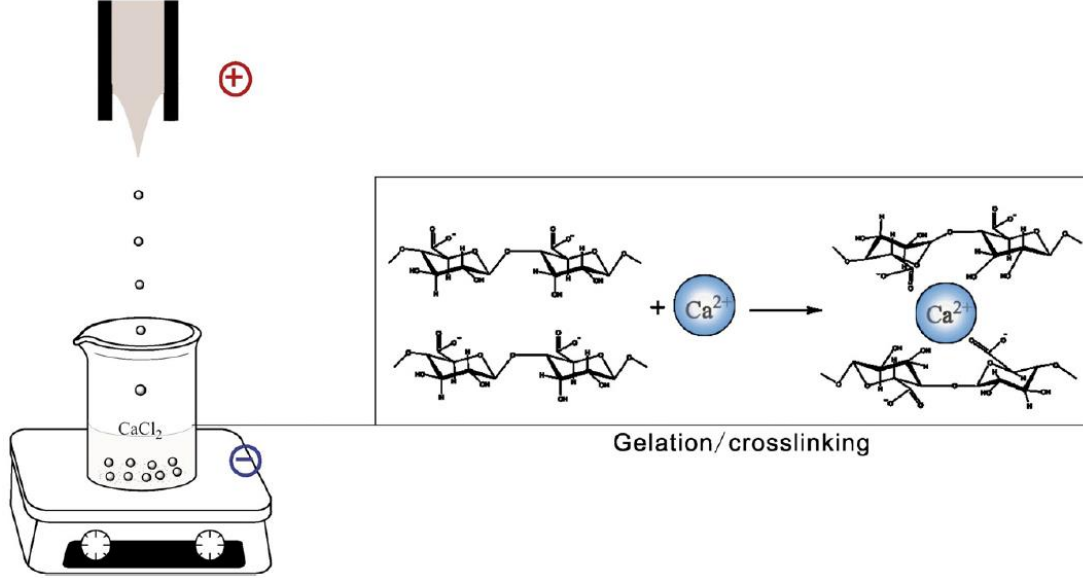
Jelin, polimer zincirindeki karboksil gruplarının iki değerlikli katyonla iyonik köprü oluşturması ile veya iki değerlikli katyonun her polimer çiftindeki hidroksil ve karboksil gruplarıyla şelat oluşturması sonucu oluştuğu düşünülmektedir [24]. Elde edilen jellerin mekanik ve şişme özellikleri ile monomer bileşimi, blok yapısı ve çapraz bağlayıcı iyon arasında kuvvetli bir bağlantı vardır. İyonik olarak çapraz bağlanmış aljinat jeller jel oluşumu esnasında küçülürler, bunun sonucunda su kaybına ve orijinal aljinat çözeltisine kıyasla polimer konsantrasyonunda göreceli bir artışa yol açarlar.

2.4.2 Aljinat küre eldesi

İlaç ve türevi maddelerin polimerik materyaller ile enkapsülasyonu sık başvurulan bir yöntemdir. Ancak bazı polimerler vücuda enjekte edildiklerinde toksite gösterebilir, bağışıklığa neden olabilir veya vücuda enjekte edebilmek için istenmeyen etkilere neden olan çözücüler gerektirebilirler. Bu problemleri önlemek için, suda çözünebilir ve toksik olmayan doğal bir biyo-polimer olan sodyum aljinat kapsül yapımında kullanılmaktadır [27].

Aljinat küreler, belirli süreli ilaç salım sistemlerini kontrol etmek, fonksiyonel proteinleri korumak ve istenilen bir bölgeye hücre yerleştirmek gibi çeşitli biyo-

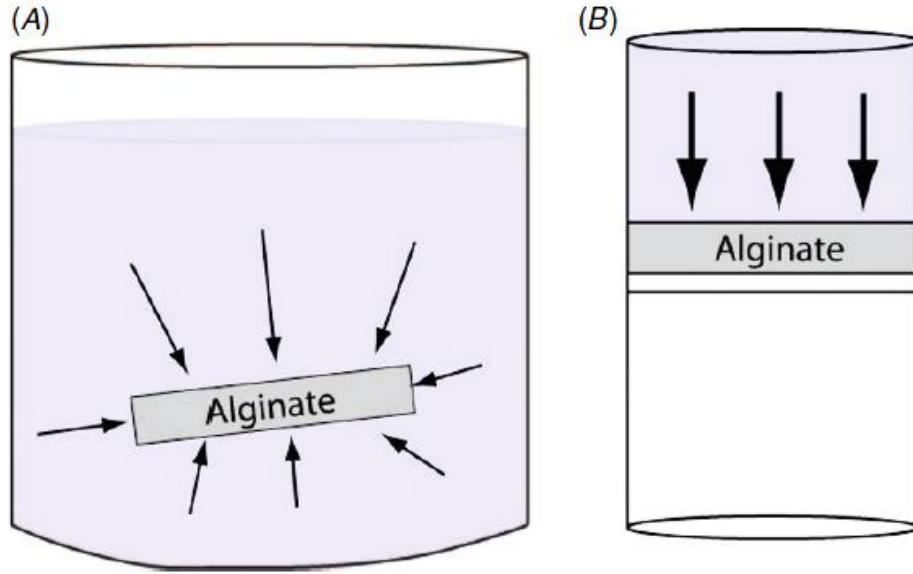
medikal uygulamada taşıyıcı olarak kullanılmaktadır. Bu uygulamaların hepsi, aljinatın metalik katyonlarla, özellikle Ca^{+2} ile çapraz bağlanarak jel oluşturmaya dayanır [28].



Şekil 2.13 : Aljinat küre eldesi.

İyonik olarak çapraz bağlanmış aljinat mikrokapsüller, çapraz bağlayıcı iyon içeren çözelti içerisinde püskürtülmüş jel küreciklerin askıda tutulması ile (Şekil 2.13) veya çapraz bağlayıcı iyon içeren çözelti ilavesi ile emülsiyon haline getirilerek elde edilir (Şekil 2.14). Emülsiyon tekniği ile dahili ve harici jelleşme gerçekleştirilebileceği bildirilmiştir [24]. İç jelleşme iyonik çapraz bağlanma için daha kontrollü bir tekniktir, burada pH değiştirilerek iyon salımı korunabilir. İyonik çapraz bağlanmış aljinat membranlar genellikle immersiyon tekniği ile elde edilirler. Bu teknikte, kserojel, çapraz bağlayıcı çözelti içerisinde yerleştirilir ve çapraz bağlayıcı ajanın matris içine nüfus etmesine izin verilir.

Alternatif olarak, çapraz bağlayıcı çözeltisine karşı diyaliz edilerek jeller hazırlanabilirler. Bu yöntemler, çapraz bağlayıcı katyonların matrise kendi kendine difüzyonuna dayanır ve sonuç olarak yüzeyde daha yüksek konsantrasyonda polimer ve çapraz bağlayıcı iyon ile homojen olmayan çapraz bağlanmış matris elde edilir. Homojen olmayan çapraz bağlanma iyonların çözeltinin merkezine yavaş difüze olması ile ilişkilendirilebilir [8,29].



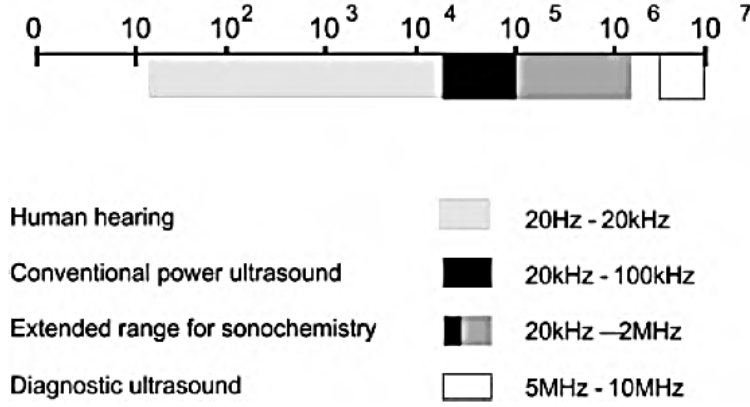
Şekil 2.14 : Çapraz bağlama tekniğinin şematik gösterimi (A) immersiyon (IM), (B) basınç yardımlı difüzyon (PD). Oklar çapraz bağlanma süreci süresince katyonların difüzyon yönünü göstermektedir. Açık gri alan çapraz bağlayıcı ajan içeren çözeltide aljinat filminin oluştuğu yeri temsil etmektedir.

2.5 Ultrases

Ultrases, insan kulağının duyma aralığının üzerinde bir frekansa sahip olan dalga formundaki akustik (ses) enerjidir. Ses frekansları Hertz (1 Hertz=1 saniyelik döngü) birimiyle ifade edilir. İnsan duyma aralığı, genç bir kişi için 20 Hz'den 20 kHz'e kadar değişir (üst sınır yaş ile azalır). Ultrases insan kulağının cevap verebileceğinden daha yüksek bir frekansa sahiptir (> 20 kHz). Ultrasonik frekansın üst sınırı kesin olarak tanımlanmış değildir, ancak genellikle gazlar için 5 MHz ve katı ile sıvılar için 500 MHz olarak alınır. Geniş frekans aralığı içindeki ultrasesin kullanımı genel olarak iki bölüme ayrılır (Şekil 2.15).

Birinci alan, düşük genlikli (yüksek frekans) sesi içerir, ortamın dalga ile fiziksel etkisiyle ilgilenir ve genel olarak “düşük kuvvetli” veya “yüksek frekanslı ultrases” olarak adlandırılır. Düşük genlikli dalgalar (2 - 10 MHz), çoğunlukla analitik amaçlı dalganın hızını ve absorpsiyon katsayısını ölçmede kullanılır.

İkinci alan yüksek enerji (düşük frekans) dalgalarını içerir, “kuvvetli ultrases” olarak bilinir. 20 ile 100 KHz arasında değişen bu dalgalar, temizleme, plastik kaynak yapma ve sonokimyada kullanılırlar.



Şekil 2.15 : Ses frekans aralıkları.

2.5.1 Kimyada ultrases

1960’larda kimya ve metalurji laboratuvarlarında ultrasonik temizleme banyosu kullanılmaya başlanmıştır. Bu banyolarda kirli cam eşyaların temizlendiğini ve sıvı deterjanda karışmayan organik solventlerin dağıldığını gören kimyagerler kimyasal reaktiviteyi arttırmak için de ultrasonik banyoların kullanılabileceğini düşünmüşlerdir.

Ultrasonik saçılım normalde kullanılan ısı, ışık veya basınçtan farklı bir enerji formu oluşturarak yüksek enerji fazlalığı üretir ve bu sayede kimyasal reaksiyon modifikasyonunu sağlar. Ultrases, etkisini kavitasyon baloncukları üreterek gösterir. Kavitasyon, bir sıvı içerisinde kabarcıkların oluşumu, büyümesi ve patlaması olayıdır. Ultrases sıvıya doğru geçerken, molekülleri birbirlerinden uzağa çekerek genişleyen devirler, sıvıda negatif basınç sarf ederler. Eğer ultrases yeterince şiddetliyse genişleme devri sıvıda kaviteleşmeler oluşturabilir. Negatif basınç; sıvının saflığına ve cinsine bağlı olarak çeşitlilik gösteren sıvının lokal gerilme direncini geçtiğinde bu olay meydana gelir. Normalde kavitasyon çekirdek bir süreçtir; sıvının içinde mevcut olan zayıf noktalarda meydana gelir. Örneğin, asılı madde partiküllerinin içindeki yarıkları dolduran gazlardan veya önceki kavitasyon olaylarında geçici olarak oluşan mikro kabarcıklardan meydana gelir.

Sonokimyada kimyasal aktivasyon, kavitasyon kabarcıklarının patlama enerjisi ile sağlanmaktadır. Bu proses için en popüler görüş Hot-Spot teorisidir. Ultrases uygulanan sıvılarda kavitasyon balonları patladığında kaviteleşmelerin sıkışması oldukça hızlı olur. Patlama sırasında kaviteden az miktarda ısı kaybı olabilir. Çevredeki sıvı hala soğuktur ve hızlıca ısınan kaviteyi söndürür. Böylece kısa ömürlü bir kavite

oluşur, soğuk sıvı içinde hot-spot lokalizlenir. Hot-spot diye tabir edilen bölge yaklaşık 5000°C sıcaklığa, 1000 atmosfer civarında basınca, 1 mikrosaniyeden daha kısa bir ömre ve saniyede 10 milyar °C'nin üzerinde ısıma ve soğuma oranına sahiptir. Böylece meydana gelen yüksek sıcaklık ve basınç şartları altında kaviteler patlar.

Kavitasyon kabarcıklarının patlaması esnasında gerçekte ne olduğu kimyagerler, mühendisler, matematikçiler ve fizikçiler için hala araştırma konusudur. Patlamanın gerçek doğası ne olursa olsun kimyasal ve mekanik etkileri üç ayrı bölgede meydana gelir:

- Balonun içinde – kendisi mikroreaktör olarak düşünülebilir,
- Sıcaklığın çok yüksek olmadığı, balonun hemen bitişiğindeki sıvı bölgede ve
- Patlama ile oluşan şok dalgasının büyük kesme kuvvetleri oluşturacağı, balonun hemen yakınında [30,31,32].

2.5.2 Polimerlerde ultrases etkisi

Ultrasesin yararlı uygulamalarından biri de polimer bozunmasıdır. Ultrasesin polimerler üzerindeki etkisi hem kimyasal hem de fiziksel olabilir. Ultrasese maruz bırakılan sıvılarda, akustik akıştan ileri gelen fiziksel değişimler (hızlı karıştırma ve yüksek ısı) meydana gelir. Kavitasyonun bu etkileri her zaman gerekli olmasa da, hemen hemen her zaman kavitasyona eşlik eder. Polimer sistemlerinde ultrases kaynaklı fiziksel değişikliklere örnek olarak bazı polimerin içinde dolgu maddelerinin ve diğer bileşenlerin dağıtılması (boya formülasyonunda olduğu gibi), inorganik parçacıkların polimerler ile enkapsülasyonu, polimer tozlarının partikül büyüklüğünün değiştirilmesi verilebilir. Buna karşılık, ultrases esnasında kavitasyon sonucu kimyasal değişimler de oluşabilir ve bu etkiler polimer kimyasının birçok alanında yarar sağlamak için kullanılmaktadır [32].

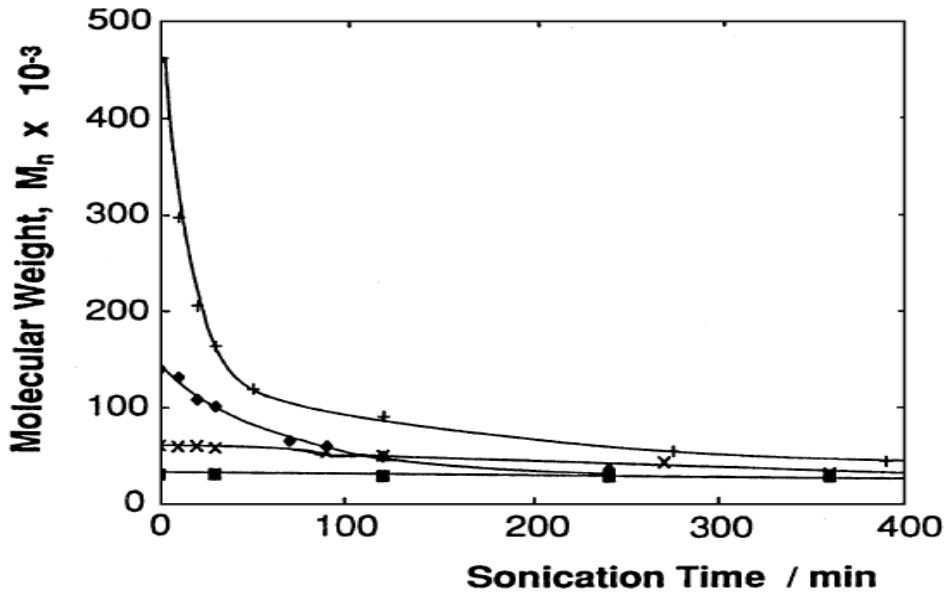
Polimerin sonokimyasal bozunması, en zayıf kimyasal bağın bölünmesi ile gerçekleşir. Ultrasonik enerjinin polimer degradasyonu için kullanımı 1930'lara dayanır, doğal polimerler sonikasyona tabi tutulduğunda viskozitede azalma görülmüştür.

Ultrasonik bozunma, kimyasal ve termal ayrışmadan farklı olarak rasgele olmayan bir prosestir, kırılma molekülün hemen hemen merkezinde gerçekleşir ve en hızlı bozunan moleküller büyük moleküllerlerdir.

Polimer kimyası alanında polimer bozunması, genellikle molekül ağırlığı dağılımı veya intrinsik viskozitedeki değişim ile ölçülür. Genel olarak ultrasonik radyasyonun polimer üzerinde mekanik, kimyasal mekanik ve morfolojik özellikleri açısından önemli bir etkisi vardır. Çeşitli teorilere göre, baloncukların şiddetli patlamaları solvent moleküllerinin hareketine neden olur. Bu hareket ile polimer bozunmasına neden olan büyük kesme kuvvetleri oluşur. [31].

2.5.3 Ultrasonik bozunmanın karakteristiği

Çözelti içindeki polimer zincirinin bozunması (yarılmanın neden olduğu zincir uzunluğundaki geri dönüşü olmayan düşme ve gerekli olmamakla birlikte herhangi bir kimyasal değişim) yüksek-yoğunluklu ultrasesin rapor edilmiş ilk etkilerinden biridir. Yüksek-yoğunluklu ultrasesin polimer çözeltisine temel etkileri aşağıda toluen içindeki polistiren örneğinde görülebilmektedir.

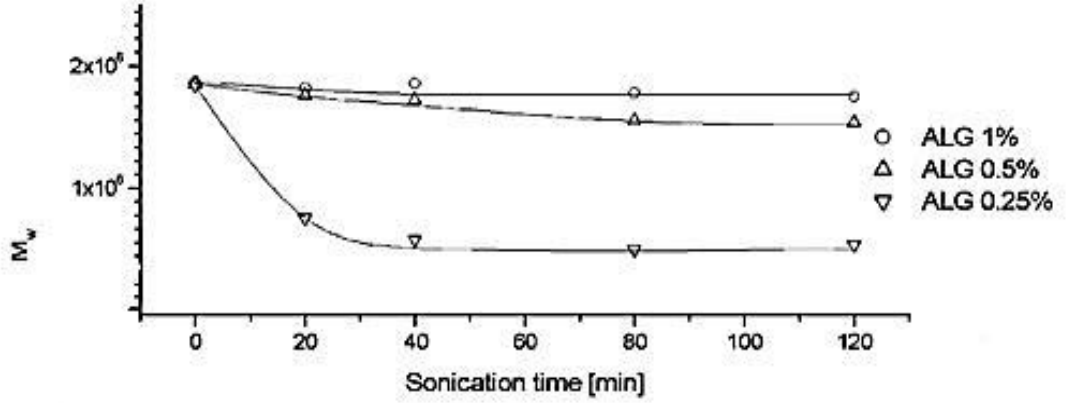


Şekil 2.16 : % 1'lik polistiren çözeltilerinin ultrasonik bozunması.

Bozunma yüksek molekül ağırlıklarında daha hızlı bir şekilde ilerler ve bozunmanın olmadığı limit alt değerine yaklaşır ($\ll 30000$). Bu değer ya da daha düşük değerlere sahip polimerler, bu koşullar altında ultrasesinden etkilenmez. Bu etkiler, çözelti içindeki her türlü makromolekül (örneğin poliorganosiloksan ve poliorganosilan) için denenmiş, bunlara organik solvent içindeki hem organik hem de inorganik polimerler ve sulu çözeltisinde çeşitli polimerler dahil edilmiş ve rapor edilmiştir. Fiziksel işlemin sonucu olan bu ortak davranış, polimerlerin kimyasal yapısından

bağımsızdır, fakat çözelti içindeki polimer zincirinin boyutuna oldukça bağlıdır. Yapılan birçok çalışma, aynı koşullardaki ultrasese tabi tutulduklarında degradasyon hızı ve limit alt değerinin polimerin doğasına duyarsız olduğu kanıtlamıştır [32].

2.5.4 Sodyum aljinat çözeltisine ultrases etkisi



Şekil 2.17 : Farklı konsantrasyonlar ve farklı sürelerde ultrasese maruz bırakılmış aljinat çözeltilerinin US diyagramı.

Şekilde sodyum aljinatın ultrasonik bozunma sonuçları görülmektedir. Sodyum aljinatta yeterli oranda bozunma sadece düşük polimer konsantrasyonunda, % 0,25 w/w, gözlenmiştir. Ayrıca diğerleri tarafından yapılan çalışmalarda da, konsantrasyondaki artış nedeniyle polimerin ultrasonik bozunma hızında azalış olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni konsantre çözelti içerisinde moleküllerin daha az hareketli olmaları olarak açıklanabilir. Bu nedenle kavitasyon baloncuklarının oluşumu zorlaşır, daha da önemlisi patlayan baloncukların etrafındaki hız gradyanları küçülür ve buna bağlı olarak polimer zinciri üzerindeki gerilim de küçülür.

3. DENEYSEL KISIM

3.1 Kullanılan Cihazlar

UV-1800 Shimadzu UV spektrofotometre, Hettich EBA 20 Mikro santrifüj cihazı, Bandelin Sonorex Ultrases banyosu, InoLab pH metre, Watson Marlow sciQ 400 Peristaltik pompa, Brookfield DV III+ Reometre, Malvern Zetasizer 2000, Olympus BX51 Optik mikroskop ve FEI Quanta FEG 250 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılmıştır.

3.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Aljinat Cargill'den (Algogel 6021, 30-50 cP) ve Sigma Aldrich'ten (Aljinik asit sodium tuzu, kahverengi alglerden, düşük viskozite, 100-300 cP - % 2 w/w) temin edilmiştir. Asetik asit ve kurkumin Merck'ten temin edilmiştir. Kalsiyum klorür dihidrat Labkim'den temin edilmiştir.

3.3 US Ortamında Kurkuminin Sudaki Çözünürlüğünü Arttırma Çalışmaları

Farklı pH ve konsantrasyonlarda aljinat çözeltileri hazırlanarak kurkuminin sudaki çözünürlüğü arttırıldı.

3.3.1 pH 7'de aljinat çözeltisinde kurkumin çözünürlüğü tayini

pH 7'de aljinat çözeltileri hazırlamak için deiyonize su kullanıldı. % 0,05 - 0,1 - 0,5 - 1 ve 2'lik (w/w) olmak üzere 5 ayrı konsantrasyonda 3'erli setler halinde aljinat çözeltileri hazırlandı. Aljinat çözeltilerinin 10 mL'sine 20 mg kurkumin ilave edildi. Çözeltiler 25°C'deki US banyosunda 2 saat tutuldu. Aljinat-kurkumin çözeltileri US sonrası 1 saat santrifüjlenip dekante edildi. 25°C'deki US banyosunda 1 saat tutularak hazırlanan aljinat çözeltilerine karşı UV Spektrofotometresinde absorbans değerleri ölçüldü.

3.3.2 pH 2,4’de aljinat çözeltisinde kurkumin çözünürlüğü tayini

pH 2,4’te aljinat çözeltisi hazırlamak için 1 M asetik asit çözeltisi kullanıldı. % 0,1 - 0,5 - 1 - 2’lik (w/w) olmak üzere 4 ayrı konsantrasyonda 3’erli setler halinde aljinat çözeltileri hazırlandı. Aljinat çözeltilerinin 10 mL’sine 20 mg kurkumin eklendi. Çözeltiler 25°C’deki US banyosunda 2 saat tutuldu. Aljinat-kurkumin çözeltileri US sonrası 1 saat santrifüjlenip dekante edildi. 25°C’deki US banyosunda 1 saat tutularak hazırlanan aljinat çözeltilerine karşı UV Spektrofotometresinde absorbens değerleri ölçüldü.

3.4 Kalibrasyon

Her aljinat konsantrasyonu için farklı kalibrasyon çözeltileri hazırlandı. % 0,05 - 0,1 - 0,5 - 1 ve 2’lik (w/w) olarak hazırlanan aljinat çözeltilerine yaklaşık 0,5 mg kurkumin ilave edildikten sonra 25°C’deki US banyosunda 2 saat tutuldu. Hazırlanan çözelti iki kez 5’te 1 oranında seyreltilti. 25°C’deki US banyosunda 1 saat tutularak hazırlanan aljinat çözeltilerine karşı UV Spektrofotometresinde absorbens değerleri ölçüldü.

3.5 Kurkumin Yüklenmiş Kürecik Eldesi

Hazırlanan ilk sette % 1 ve % 2’lik (w/w) aljinat (Aldrich) - kurkumin çözeltilerinden enjektörle 5 mL alınarak % 2’lik (w/w) CaCl₂ çözeltisinin 50 mL’sine karıştırıcı üzerinde 15 cm yükseklikten damlatıldı. Oluşan kürecikler 30 dk karıştırılmaya bırakıldı. Kürecikler süzülüp oda koşullarında kurutuldu.

İkinci sette hazırlanan % 0,5 - 1 ve 2’lik (w/w) aljinat (Cargill) - kurkumin çözeltilerinden enjektörle yaklaşık 10 mL alınarak % 2’lik (w/w) CaCl₂ çözeltisinin 10 mL’sine karıştırıcı üzerinde 15 cm yükseklikten damlatıldı. Oluşan kürecikler 30 dk karıştırılmaya bırakıldı. Kürecikler süzülüp oda koşullarında kurutuldu.

3.6 Kurkumin Yüklenmiş Küreciklerin Enkapsülasyon Verimi Hesabı

Aljinat-kurkumin küreciklerinden kalan süzüntüdeki kurkumin miktarını tespit etmek için alınan örneklerin deiyonize suya karşı UV Spektrofotometresinde absorbensleri ölçüldü.

3.7 Nano Boyutta Küre Üretimi

Nano boyutta aljinat kürecikleri elde edilmek için 4 farklı konsantrasyonda 2 set halinde çözeltiler hazırlandı. 25°C'deki US banyosunda tutulan 2 numaralı çözeltiye peristaltik pompa ile 15 cm yükseklikten 1 numaralı çözelti damlatıldı. İlk set damlatma esnası ve sonrası 30 dk US banyosunda tutulurken, ikinci sette aljinat çözeltileri damlatma öncesi 2 saat, damlatma esnası ve sonrasında tekrar 30 dk US banyosunda tutuldu. US sonrası çözeltiler dondurarak kurutma (freeze drying) işlemine tabi tutuldu.

3.7.1 Aljinat çözeltisine CaCl₂ çözeltisi damlatılması

0,02 mg/mL'lik aljinat çözeltisinin 50 mL'sine, 10 mg/mL'lik CaCl₂ çözeltisinden peristaltik pompa ile 5 mL damlatıldı.

Çizelge 3.1 : Aljinat çözeltisine CaCl₂ damlatılması için hazırlanan çözeltiler.

1. Çözelti		2. Çözelti	
CaCl ₂		Aljinat	
C (mg/mL)	V (mL)	C (mg/mL)	V (mL)
10	5	0,02	50

3.7.2 CaCl₂ çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması

1 mg/mL'lik CaCl₂ çözeltisinin 50 mL'sine, 0,2 mg/mL'lik aljinat çözeltisinden peristaltik pompa ile 5 mL damlatıldı.

Çizelge 3.2 : CaCl₂ çözeltisine aljinat damlatılması için hazırlanan çözeltiler.

1. Çözelti		2. Çözelti	
Aljinat		CaCl ₂	
C (mg/mL)	V (mL)	C (mg/mL)	V (mL)
0,2	5	1	50

3.7.3 Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl₂ çözeltisi damlatılması

0,01 mg/mL'lik aljinat çözeltisinin 50 mL'sine, 5 mg/mL'lik CaCl₂ çözeltisinden peristaltik pompa ile 5 mL damlatıldı.

Çizelge 3.3 : Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl_2 damlatılması için hazırlanan çözeltiler.

1. Çözelti		2. Çözelti	
CaCl_2		Aljinat	
C (mg/mL)	V (mL)	C (mg/mL)	V (mL)
5	5	0,01	50

3.7.4 Seyreltik koşullarda CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması

0,5 mg/mL'lik CaCl_2 çözeltisinin 50 mL'sine, 0,1 mg/mL'lik aljinat çözeltisinden peristaltik pompa ile 5 mL damlatıldı.

Çizelge 3.4 : Seyreltik koşullarda CaCl_2 çözeltisine aljinat damlatılması için hazırlanan çözeltiler.

1. Çözelti		2. Çözelti	
Aljinat		CaCl_2	
C (mg/mL)	V (mL)	C (mg/mL)	V (mL)
0,1	5	0,5	50

3.8 pH Ölçümü

Deiyonize su ve 1 M CH_3COOH kullanılarak iki farklı pH değerinde hazırlanmış aljinat çözeltilerinin, kurkumin ilavesinden önce, pH metre ile pH değerleri ölçüldü.

3.9 Zeta-Potansiyel ve Viskozite Ölçümü

US ortamında 3 set olarak hazırlanmış % 0,05 – 0,1 ve 0,5 (w/w) aljinat içeren aljinat - kurkumin çözeltilerinden 1'er tanesi ve US'e maruz bırakılmamış aljinat - kurkumin çözeltilerinden % 0,5 aljinat içeren seçilerek zeta potansiyeli ve viskozite ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Seçilen bu 4 çözelti 0,8 - 0,7 ve 0,6 seyreltilerek ölçümler tekrarlanmıştır.

3.10 Nano-Boyuttaki Küreciklerin Boyut Analizi

US ortamında damlatması yapılan çözeltiler ilk önce optik mikroskopta görüntülenerek boyut analizi yapılmıştır. Daha etkin bir boyut analizi için çözeltiler

dondurarak kurutma (freeze drying) işlemine tabi tutularak çözeltideki aljinat-kurkumin kürecikleri konsantrasyonu arttırılmaya gidilmiş ve SEM’de boyut analizi tekrarlanmıştır.

4. SONUÇLAR VE YORUMLAR

Bu tez, US ortamında kurkuminin sudaki çözünürlüğünü artırma amaçlı yapılmış çalışmaları içermektedir.

Çalışmalarda, US ortamında ve iki farklı pH değerinde 25°C’de aljinat çözeltileri hazırlanmıştır. 5 farklı konsantrasyonda hazırlanmış bu aljinat çözeltilerinde kurkumin çözünürlüğü saptanmıştır.

Elde edilmiş aljinat - kurkumin çözeltilerinin UV-Vis spektrofotometresi ile absorbans değerleri ölçülmüştür. US ortamında hazırlanmış bu çözeltiler ile US’e maruz bırakılmamış aljinat-kurkumin çözeltilerinin zeta-potansiyel ve viskozite analizleri yapılmıştır. Ölçümler sonucu US öncesi ve sonrası viskozite karşılaştırılması yapılmış ve spesifik ve intrinsik viskozite hesapları yapılmıştır.

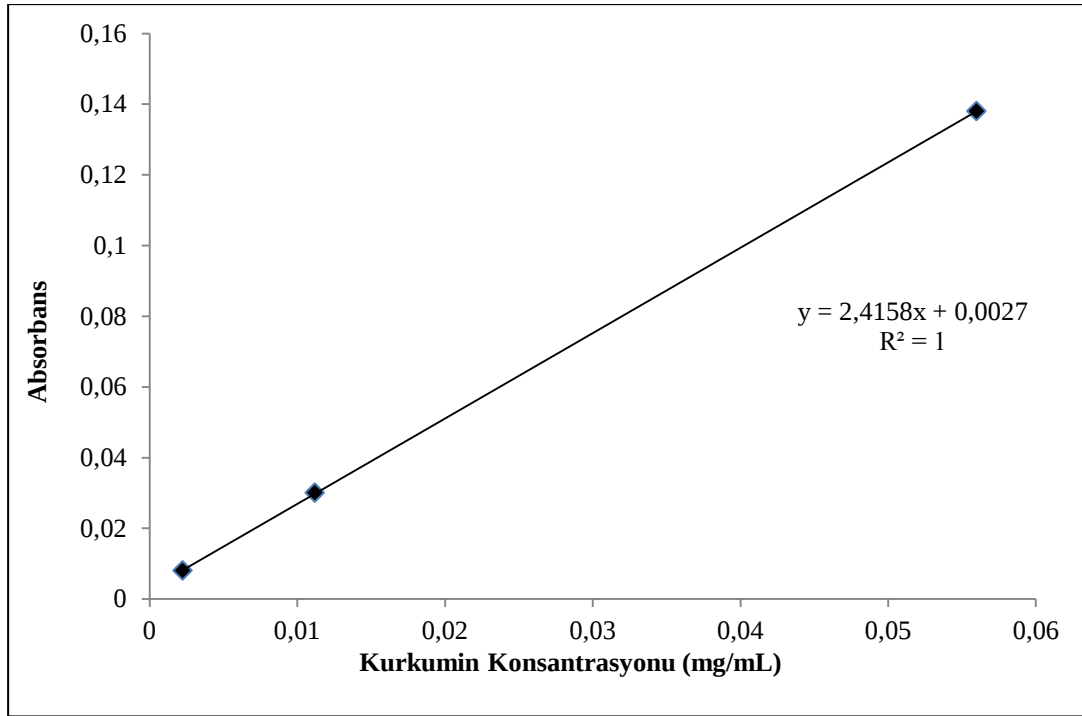
Farklı konsantrasyonda aljinat çözeltileri ile hazırlanmış aljinat-kurkumin çözeltilerinden kürecikler elde edilmiştir ve elde edilen bu kürecikler için enkapsülasyon verimi hesaplanmıştır.

Çalışmanın son aşamasında ise US ortamında 25°C’de aljinat çözeltileri ile nano-boyutta küreler elde edilmiştir. Küre boyut analizi ilk olarak Optik Mikroskop ile gerçekleştirilmiş ve daha sonra Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile boyut analizi tekrarlanmıştır.

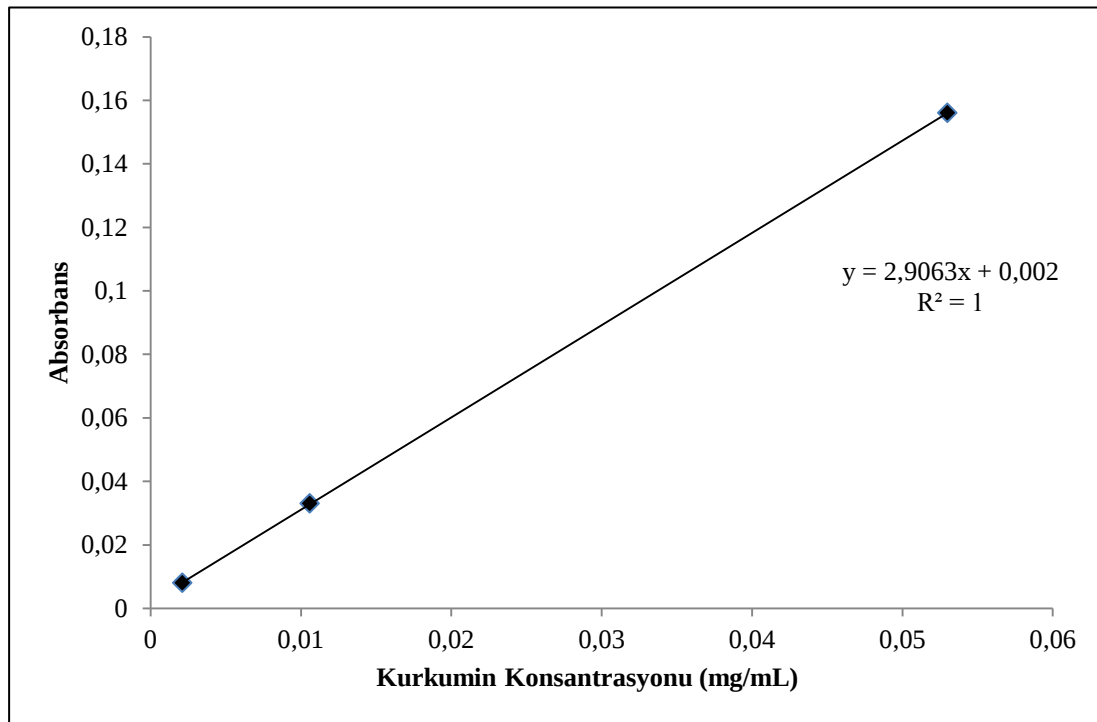
4.1 Kalibrasyon

Kurkuminin 5 farklı konsantrasyondaki aljinat çözeltilerinde çözünürlüğünü hesaplamak amacıyla kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur.

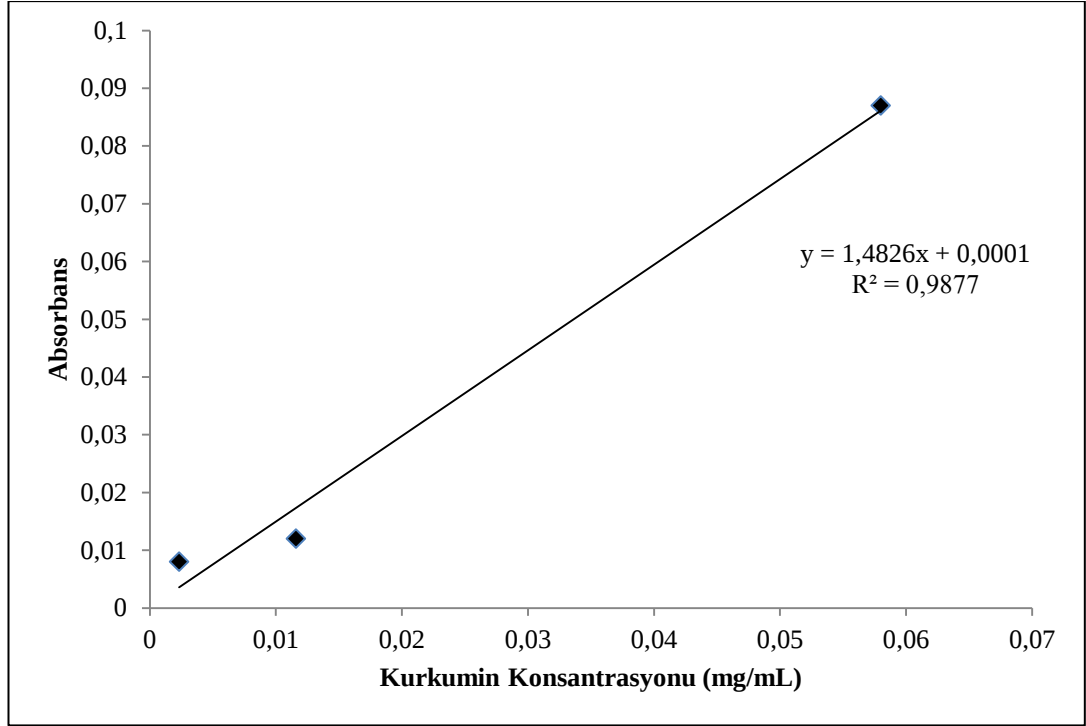
Aljinat çözeltisinde maksimum absorbans dalga boyu 430 nm alınmıştır. Kurkumin konsantrasyonuna karşı ilgili absorbans değerleri ile çizilmiş kalibrasyon grafikleri ve R^2 değerleri ile bu grafiklerden elde edilmiş konsantrasyon - absorbans denklemleri aşağıda verilmiştir.



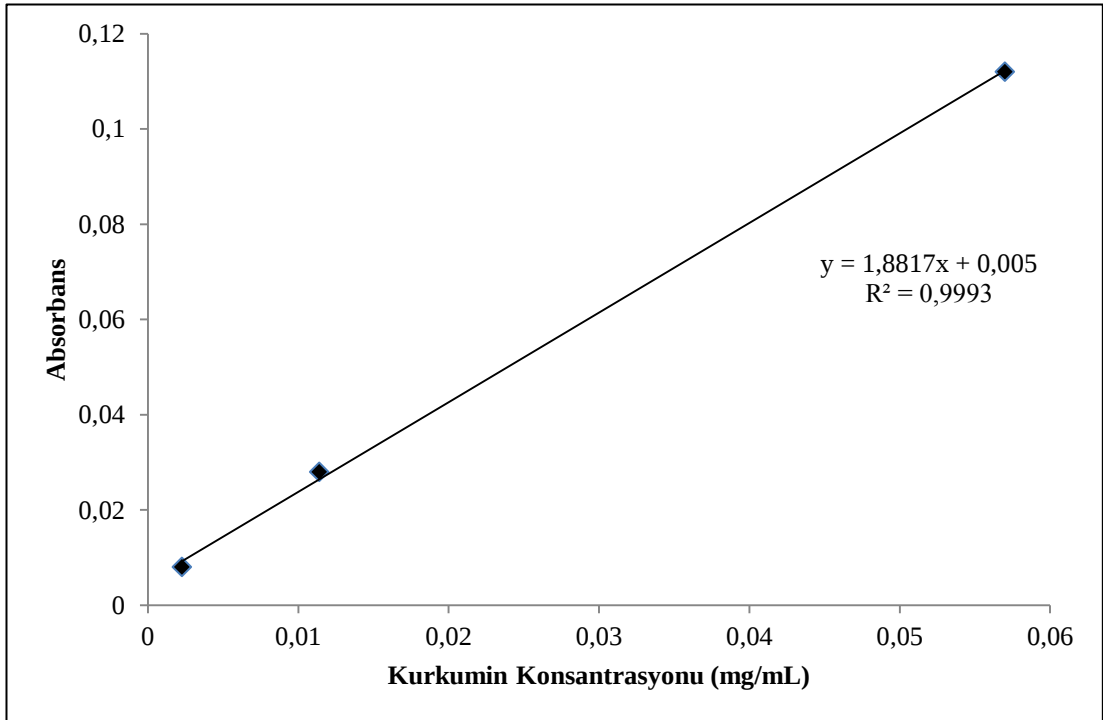
Şekil 4.1 : % 0,05'lik (w/w) aljinat çözeltisi için hazırlanmış kurkumin kalibrasyon grafiği.



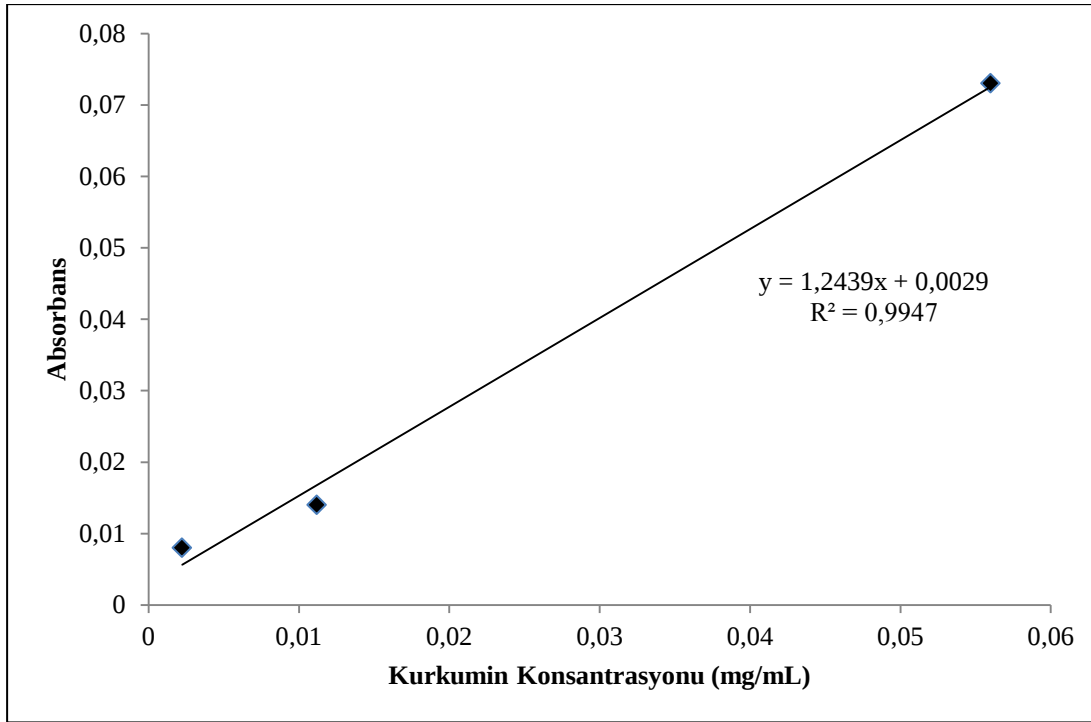
Şekil 4.2 : % 0,1'lik (w/w) aljinat çözeltisi için hazırlanmış kurkumin kalibrasyon grafiği.



Şekil 4.3 : % 0,5'lik (w/w) aljinat çözeltisi için hazırlanmış kurkumin kalibrasyon grafiği.



Şekil 4.4 : % 1'lik (w/w) aljinat çözeltisi için hazırlanmış kurkumin kalibrasyon grafiği.



Şekil 4.5 : % 2'lik (w/w) aljinat çözeltisi için hazırlanmış kurkumin kalibrasyon grafiği.

Çizelge 4.1 : Aljinat çözeltileri için kalibrasyon denklemleri ve R^2 değerleri.

$C_{\text{aljinat}} (\%)$	Kalibrasyon Denklemi	
0,05	$y = 2,4158x + 0,0027$	$R^2 = 1$
0,1	$y = 2,9063x + 0,002$	$R^2 = 1$
0,5	$y = 1,6285x - 0,0074$	$R^2 = 0,9999$
1	$y = 1,8817x + 0,005$	$R^2 = 0,9993$
2	$y = 1,4203x - 0,0059$	$R^2 = 0,992$

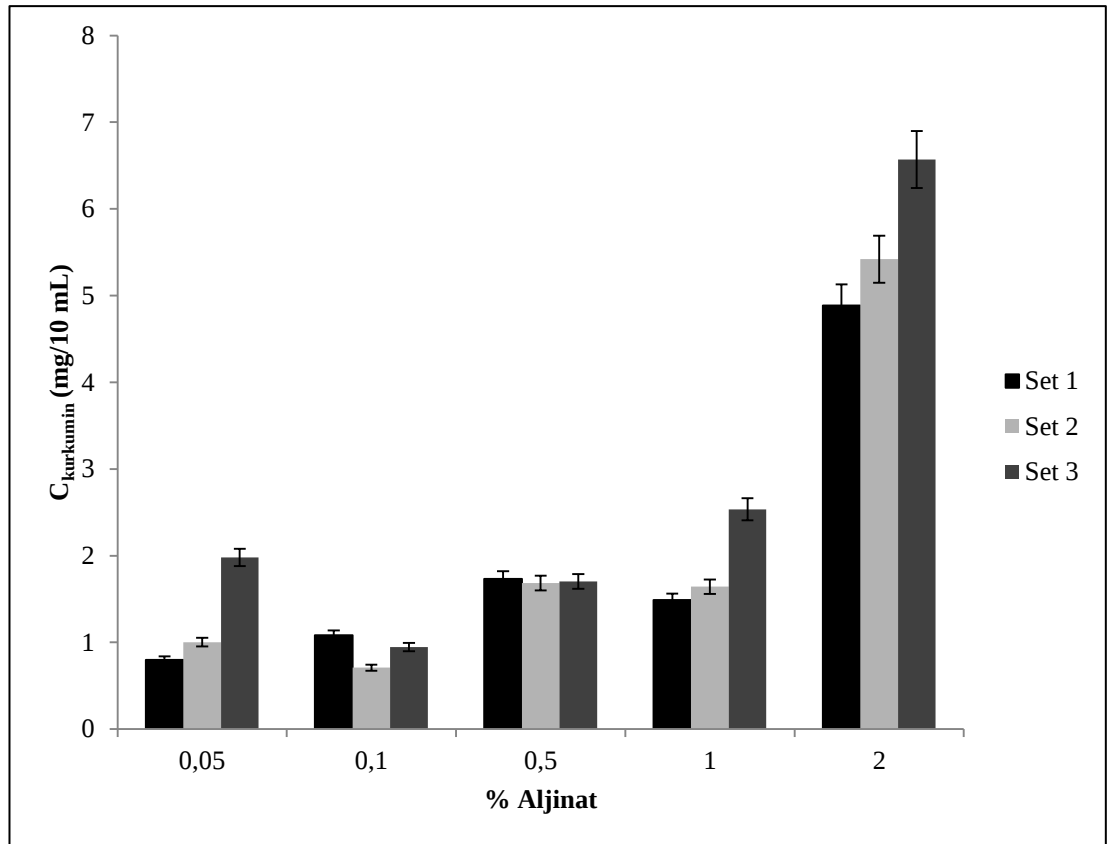
4.2 US Ortamında pH ve Aljinat Konsantrasyonlarının Kurkumin Çözünürlüğüne Etkisi

pH 2,4 ve 7'de 25°C'de US ortamında hazırlanmış aljinat-kurkumin çözeltilerinin, UV-VİS spektrumunda ölçülmüş absorbans değerleri ile hesaplanmış kurkumin miktarları aşağıda verilmiştir. pH 7'de iki farklı aljinat polimeri kullanılarak 5 farklı konsantrasyonda çözelti hazırlanmış ve hazırlanmış bu çözeltilere kurkumin ilave edilerek US ortamındaki çözünürlükleri ilgili kalibrasyon denklemleri ile

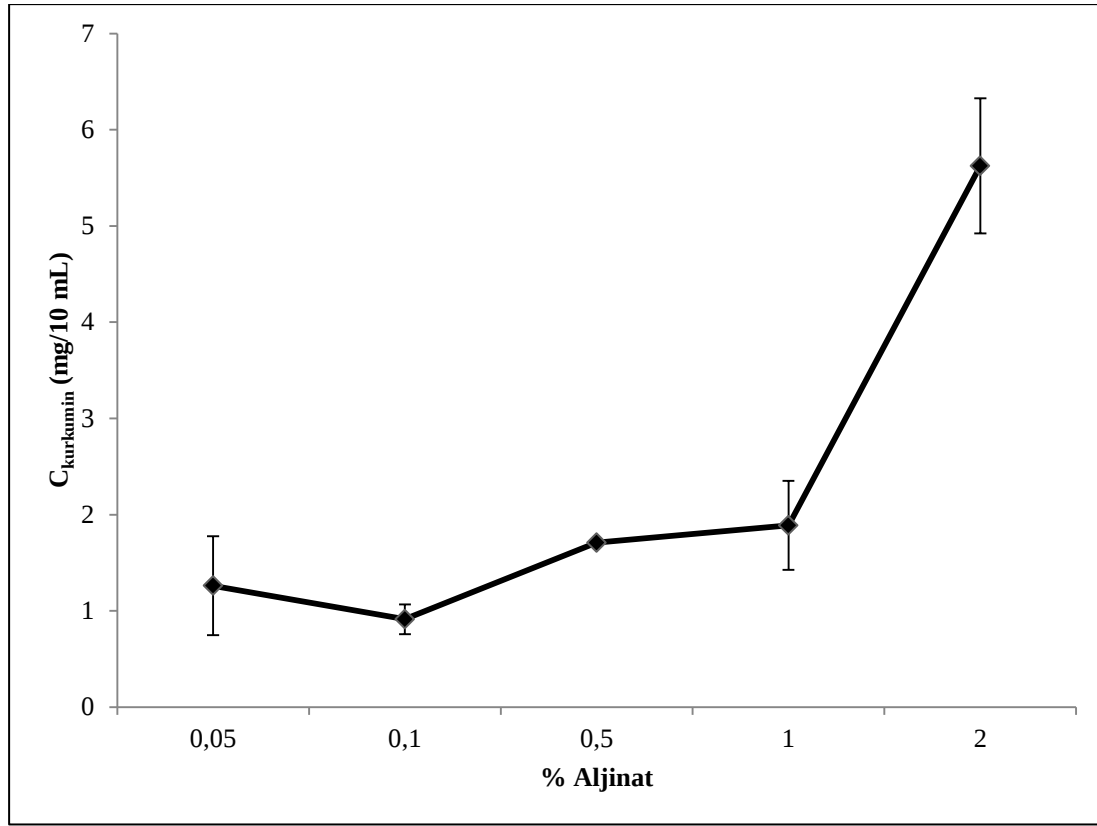
hesaplanmıştır. pH 2,4’de 4 farklı konsantrasyonda hazırlanmış aljinat çözeltilerine de aynı şekilde kurkumin ilave edildikten sonra, US ortamındaki çözünürlükleri ilgili kalibrasyon denklemleri ile hesaplanmıştır.

Çizelge 4.2 : pH 7’de aljinat (Aldrich) çözeltilerinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.

$C_{aljinat}$ (%)	Set 1		Set 2		Set 3		C_{kur} ORT	C_{kur} STD
	Abs	C_{kur} (mg/10 mL)	Abs	C_{kur} (mg/10 mL)	Abs	C_{kur} (mg/10 mL)		
0,05	0,196	0,8001	0,245	1,0029	0,481	1,9798	1,2610	0,5150
0,1	0,317	1,0838	0,208	0,7088	0,277	0,9462	0,9129	0,1549
0,5	0,275	1,7341	0,267	1,6849	0,27	1,7034	1,7075	0,0202
1	0,285	1,4880	0,314	1,6421	0,482	2,5349	1,8883	0,4615
2	0,688	4,8855	0,764	5,4206	0,927	6,5683	5,6248	0,7019



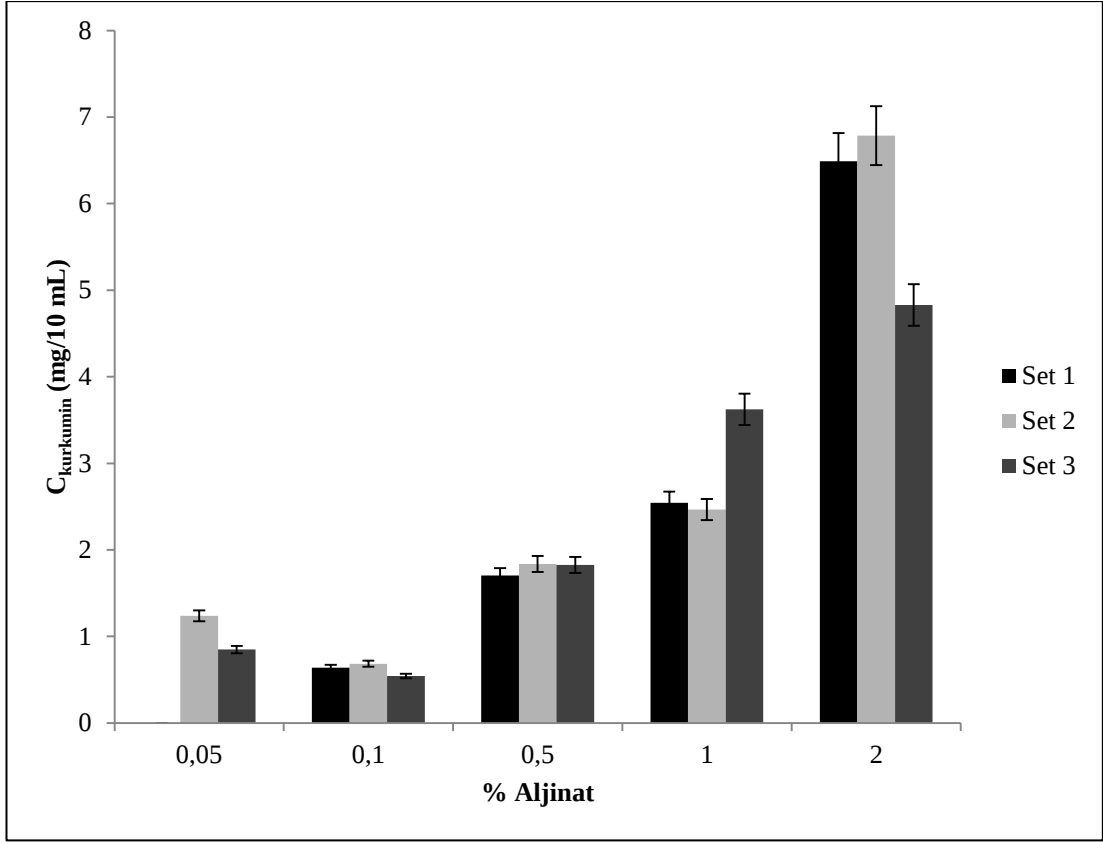
Şekil 4.6 : pH 7’de aljinat (Aldrich) çözeltilerinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.



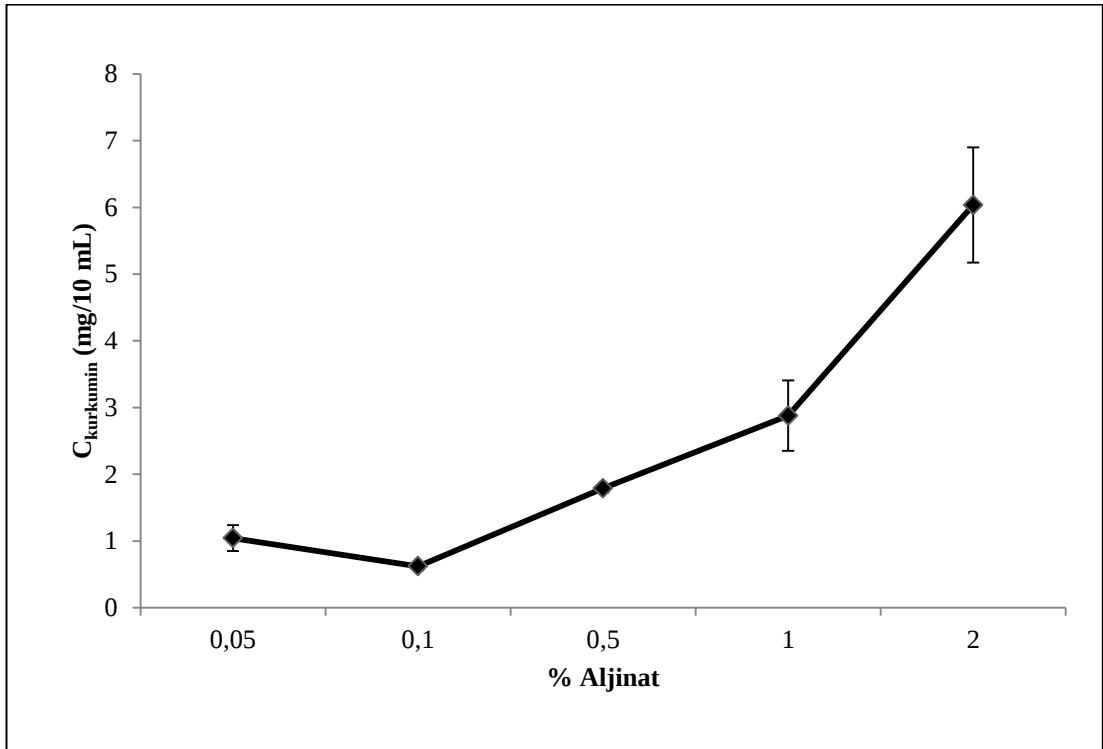
Şekil 4.7 : pH 7’de aljinat (Aldrich) çözeltisinde elde edilmiş ortalama kurkumin çözünürlüğü ve standart sapmaları.

Çizelge 4.3 : pH 7’de aljinat (Cargill) çözeltilerinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.

$C_{aljinat}$ (%)	Set 1		Set 2		Set 3		C_{kur} ORT	C_{kur} STD
	Abs	C_{kur} (mg/10 mL)	Abs	C_{kur} (mg/10 mL)	Abs	C_{kur} (mg/10 mL)		
0,05	-	-	0,302	1,2389	0,208	0,8498	1,0443	0,1945
0,1	0,188	0,6399	0,201	0,6847	0,16	0,5436	0,6227	0,0588
0,5	0,27	1,7034	0,292	1,8385	0,29	1,8262	1,7893	0,0609
1	0,484	2,5455	0,469	2,4658	0,687	3,6243	2,8786	0,5283
2	0,916	6,4908	0,958	6,7865	0,68	4,8292	6,0355	0,8614



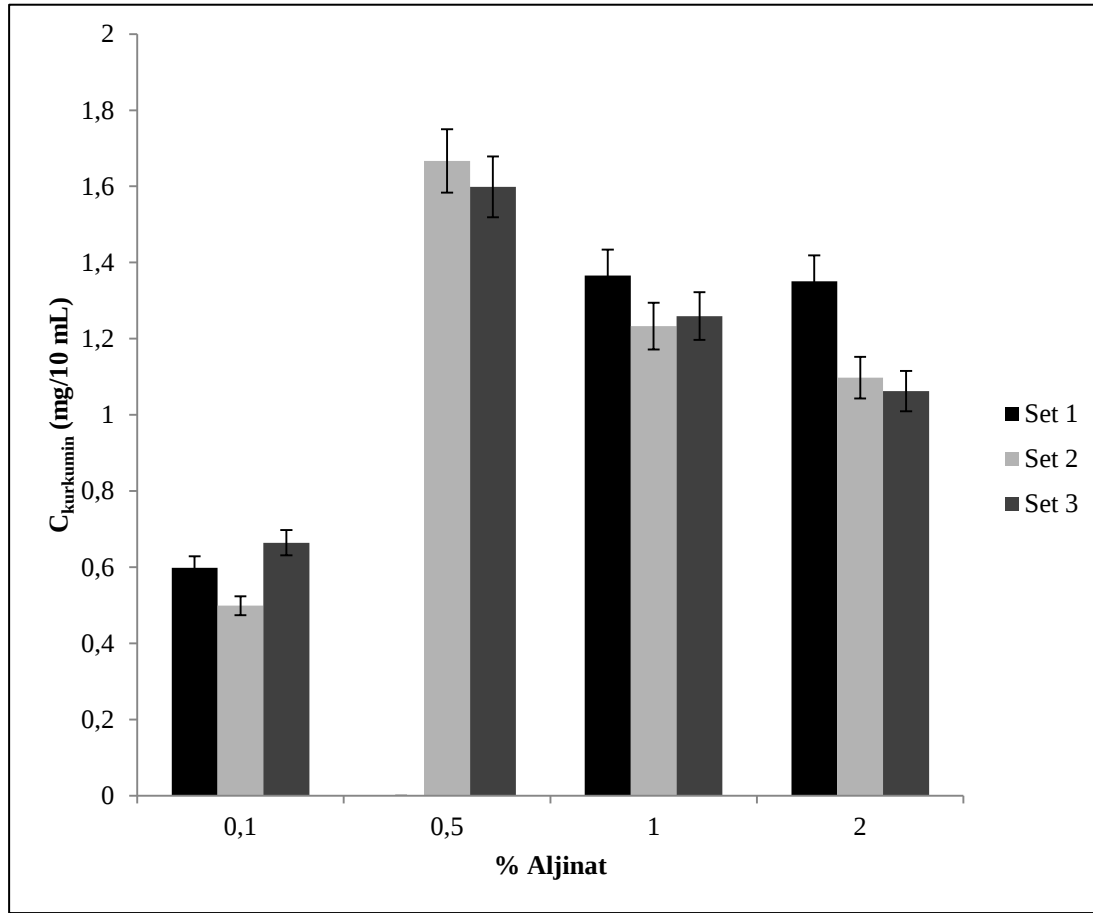
Şekil 4.8 : pH 7’de aljinat (Cargill) çözeltilerinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.



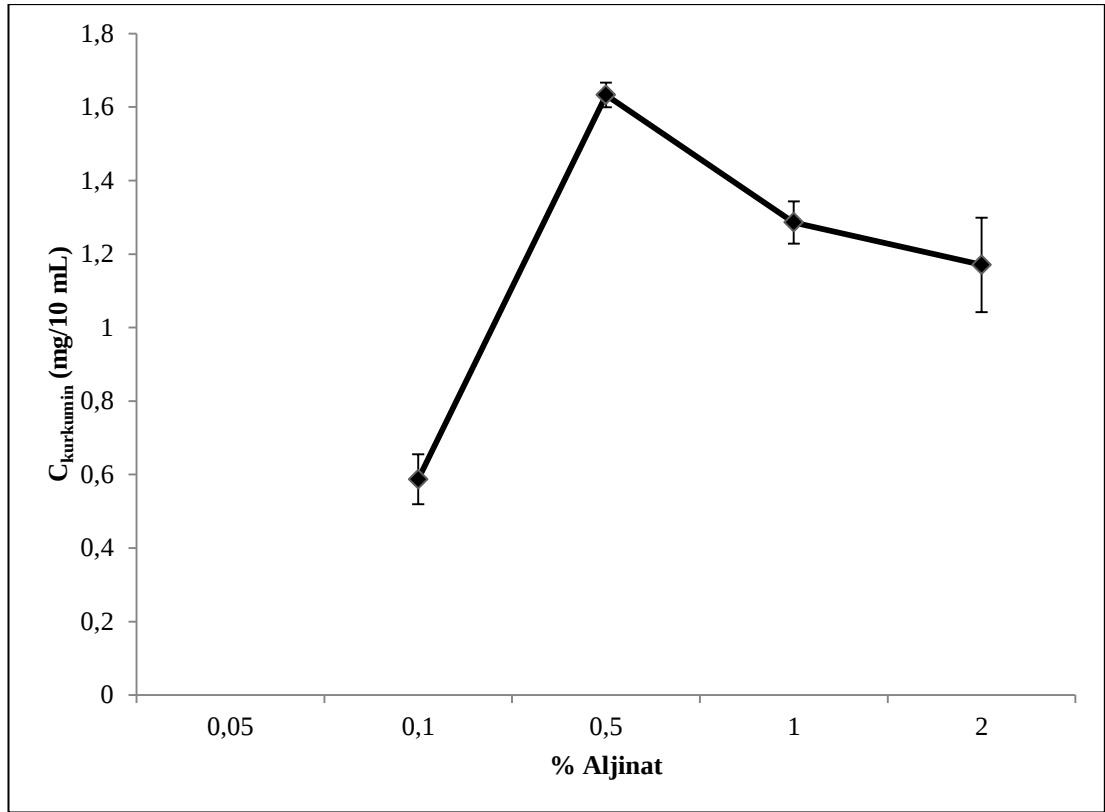
Şekil 4.9 : pH 7’de aljinat (Cargill) çözeltilerinde elde edilmiş ortalama kurkumin çözünürlüğü ve standart sapmaları.

Çizelge 4.4 : pH 2,4'te aljinat çözeltisinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.

$C_{\text{aljinat}} (\%)$	Set 1		Set 2		Set 3		C_{kur}	C_{kur}
	Abs	C_{kur} (mg/10 mL)	Abs	C_{kur} (mg/10 mL)	Abs	C_{kur} (mg/10 mL)	ORT	STD
0,1	0,176	0,5986	0,147	0,4989	0,195	0,6640	0,5872	0,0679
0,5	-	-	0,264	1,6665	0,253	1,5990	1,6327	0,0337
1	0,262	1,3657	0,237	1,2329	0,242	1,2594	1,2860	0,0574
2	0,186	1,3511	0,15	1,0976	0,145	1,0624	1,1704	0,1285



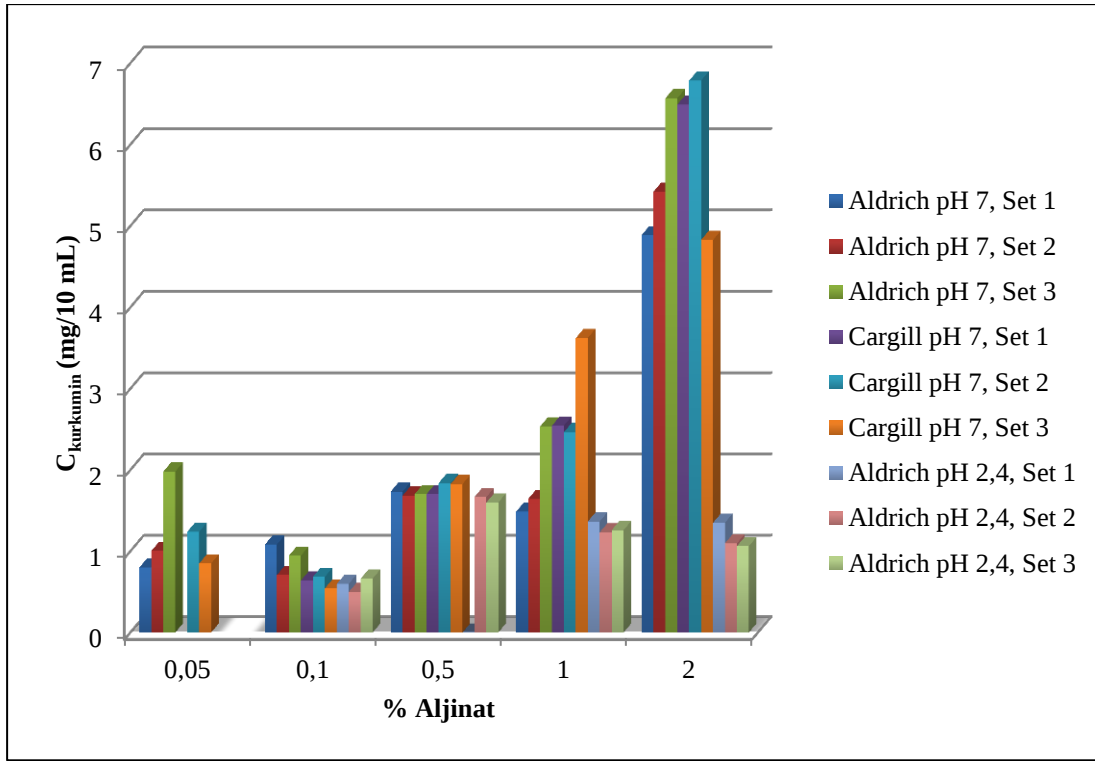
Şekil 4.10 : pH 2,4'te aljinat çözeltisinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.



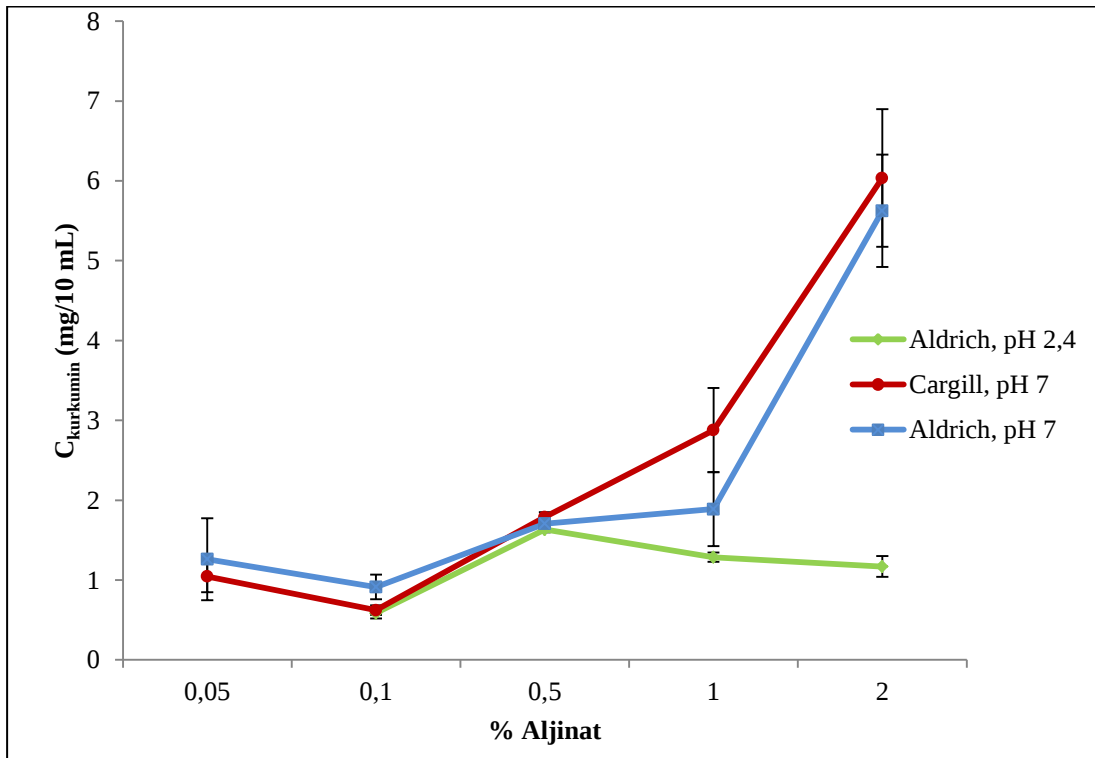
Şekil 4.11 : pH 2,4'te aljinat çözeltisinde elde edilmiş ortalama kurkumin çözünürlüğü ve standart sapmaları.

Çizelge 4.5 : pH 2,4 ve pH 7'de aljinat çözeltilerinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.

$C_{aljinat}$ (%)	$C_{kurkumin}$ (mg/10 mL)								
	pH 7 (Aldrich)			pH 7 (Cargill)			pH 2,4 (Aldrich)		
	Set 1	Set 2	Set 3	Set 1	Set 2	Set 3	Set 1	Set 2	Set 3
0,05	0,8001	1,0029	1,9798	-	1,2389	0,8498	-	-	-
0,1	1,0838	0,7088	0,9462	0,6399	0,6847	0,5436	0,5986	0,4989	0,6640
0,5	1,7341	1,6849	1,7034	1,7034	1,8385	1,8262	-	1,6665	1,5990
1	1,4880	1,6421	2,5349	2,5455	2,4658	3,6243	1,3657	1,2329	1,2594
2	4,8855	5,4206	6,5683	6,4908	6,7865	4,8292	1,3511	1,0976	1,0624



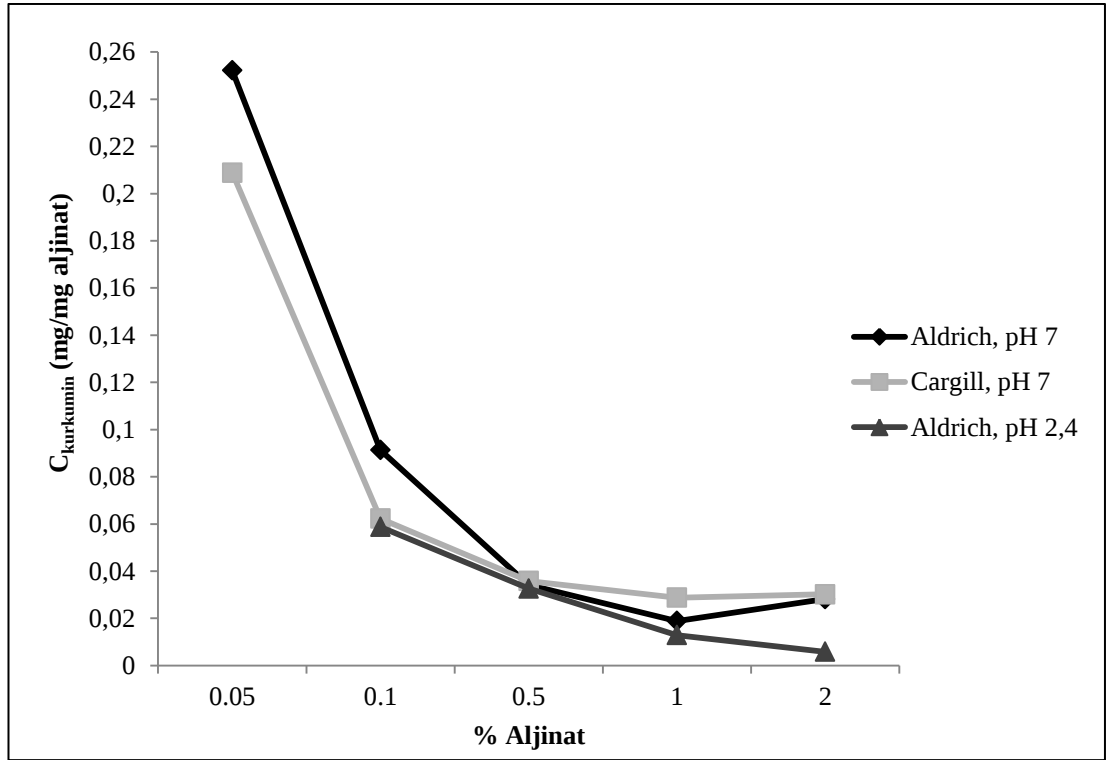
Şekil 4.12 : pH 2,4 ve pH 7’de aljinat çözeltilerinde elde edilmiş kurkumin çözünürlüğü.



Şekil 4.13 : pH 2,4 ve pH 7’de aljinat çözeltilerinde elde edilmiş ortalama kurkumin çözünürlüğü ve standart sapması.

Çizelge 4.6 : pH 2,4 ve pH 7’de mg aljinatta elde edilmiş ortalama kurkumin çözünürlüğü.

$C_{\text{aljinat}} (\%)$	C_{kurkumin} (mg/mg aljinat)		
	pH 7	pH 7	pH 2,4
	(Aldrich)	(Cargill)	(Aldrich)
0,05	0,2521	0,2088	-
0,1	0,0912	0,0622	0,0587
0,5	0,0341	0,0357	0,0326
1	0,0188	0,0287	0,0128
2	0,0281	0,0301	0,0058

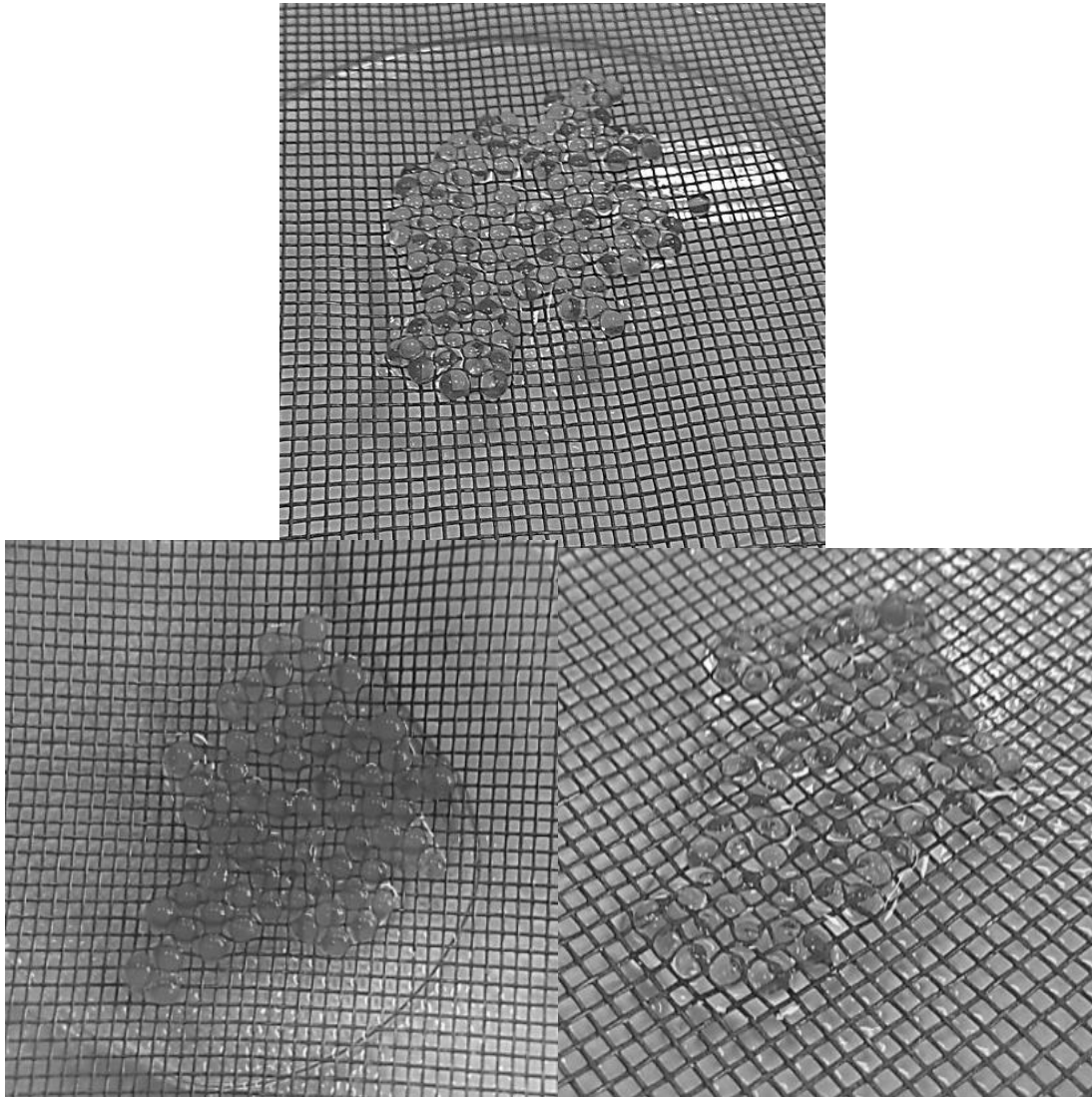


Şekil 4.14 : pH 2,4 ve pH 7’de mg aljinatta elde edilmiş ortalama kurkumin çözünürlüğü.

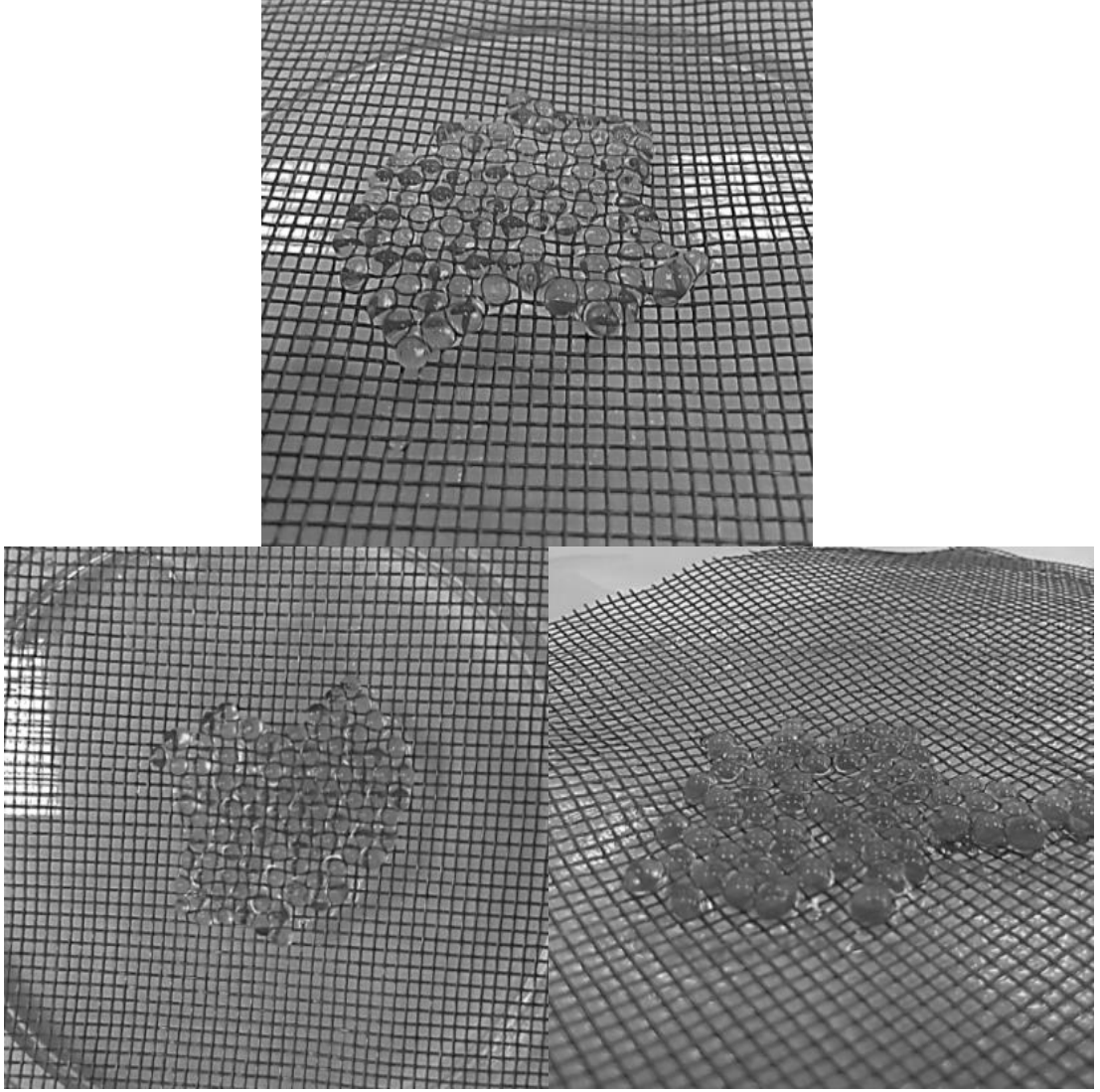
4.3 US Ortamında Hazırlanmış Aljinat-Kurkumin Çözeltilerinden Elde Edilmiş Küreler

US ortamında hazırlanmış aljinat - kurkumin çözeltilerinin enjektör yardımı ile %2'lik CaCl_2 çözeltisine 15 cm yukarıdan damlatılmış ve 30 dk karıştırılmıştır. Sonrasında uygun bir filtre ile kürecikler toplanmıştır.

Yukarıdaki işlemler sonucu elde edilmiş aljinat-kurkumin kürecikleri Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da görülmektedir. Küreciklerin çapları yaklaşık 2 mm civarındadır.



Şekil 4.15 : % 1'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış kurkumin kürecikleri.



Şekil 4.16 : % 2'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış kurkumin kürecikleri.

4.4 Kurkumin Yüklenmiş Kürelerin Enkapsülasyon Verimleri

US ortamında hazırlanmış aljinat - kurkumin çözeltisi ile üretilen küreciklerin enkapsülasyon verimi;

$$\text{Enkapsülasyon verimi (\%)} = \frac{\text{Aktif bileşenin başlangıç miktarı} - \text{Çözelti içinde kalan miktar}}{\text{Aktif bileşenin başlangıç miktarı}} \times 100 \quad (4.1)$$

formülü ile hesaplanmıştır.

İlk set sonucu elde edilen % verim, % $96,66 \pm 1,57$ olarak hesaplanmıştır. İkinci set sonucu hesaplanmış % verim % $96,64 \pm 2,09$ 'dur.

Çizelge 4.7 : Kürecikler dışındaki kurkumin miktarları (Aldrich).

$C_{\text{aljinat}} (\%)$	Set 1		Set 2		Set 3	
	Abs	C_{kurkumin} (mg/10 mL)	Abs	C_{kurkumin} (mg/10 mL)	Abs	C_{kurkumin} (mg/10 mL)
1	-	-	0,026	0,1049	0,016	0,0537
2	0,016	0,1526	0,03	0,1213	0,029	0,1818

Çizelge 4.8 : Küreciklerde enkapsülasyon verimi (Aldrich).

$C_{\text{aljinat}} (\%)$	% Verim		
	Set 1	Set 2	Set 3
1	-	93,61	97,87
2	96,87	97,76	97,23

Çizelge 4.9 : Kürecikler dışındaki kurkumin miktarları (Cargill).

$C_{\text{aljinat}} (\%)$	Abs	C_{kurkumin} (mg/10 mL)
0,5	0,010	0,1068
1	0,012	0,0372
2	0,010	0,1119

Çizelge 4.10 : Küreciklerde enkapsülasyon verimi (Cargill).

$C_{\text{aljinat}} (\%)$	% Verim
0,5	93,72
1	98,53
2	97,68

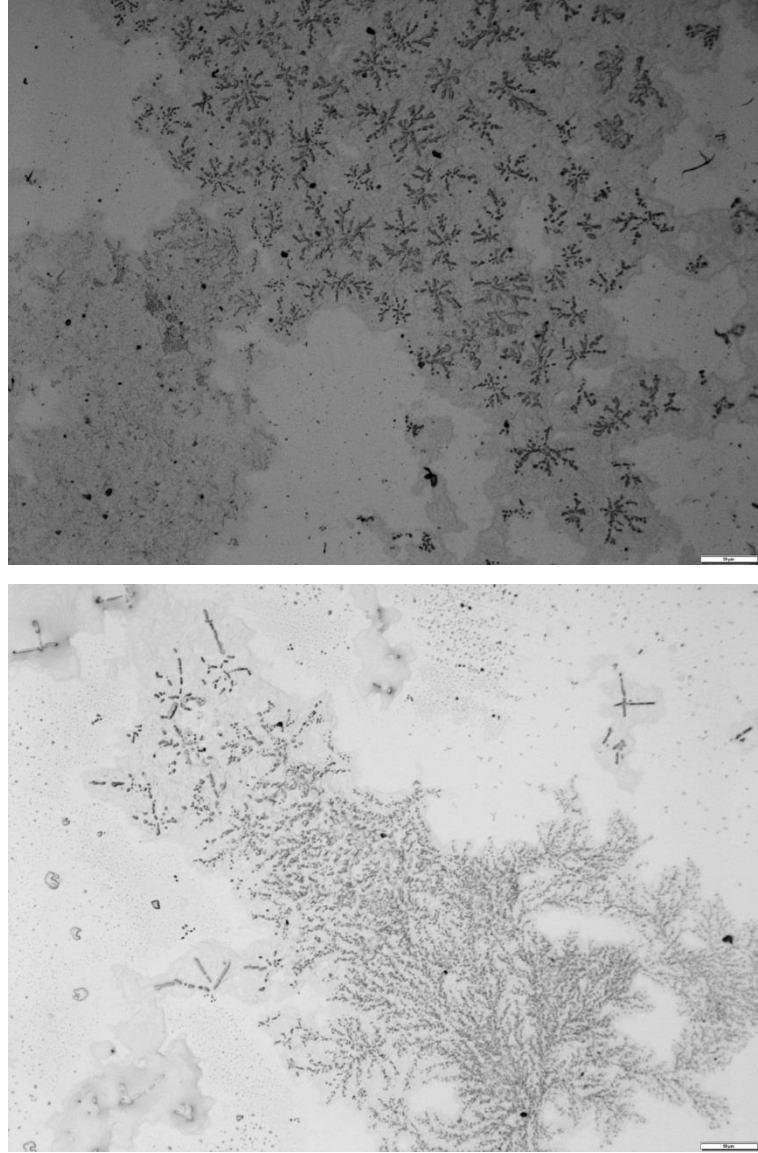
4.5 US Ortamında Hazırlanmış Nano-Boyut Küreler ve US Süresinin Etkisi

2 farklı yöntem ile US ortamında küre elde edilmiştir ve kürelere US süresinin etkisi gözlenmiştir. Aşağıda 25°C’de peristaltik pompa yardımıyla US ortamındaki çözeltiye 15 cm yükseklikten damlatması yapılmış ve US’e tabi tutulmasının

ardından uygun bir yüzeye alınmış ve kurutulmuş küreciklerin Optik Mikroskop görüntüleri ve çözeltilerden dondurarak kurutma işlemi sonrası alınan SEM görüntüleri verilmiştir.

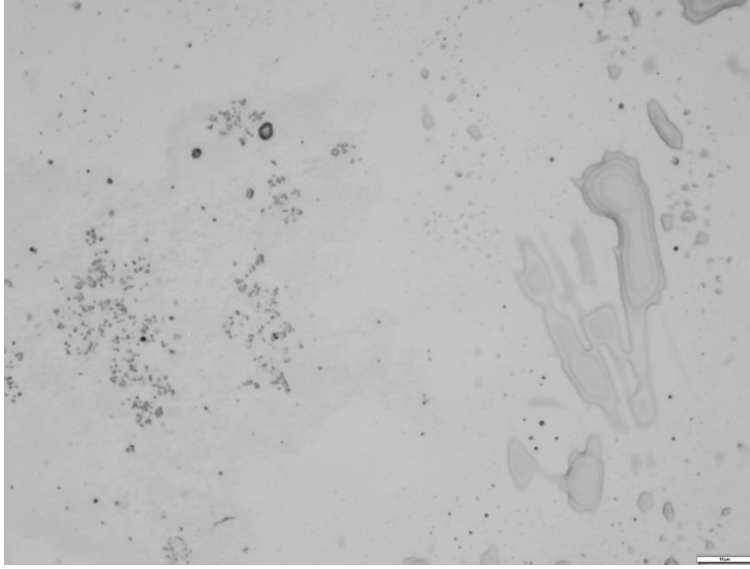
4.5.1 Nano-boyut aljinat küreciklerinin optik mikroskop görüntüleri

4.5.1.1 Aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri



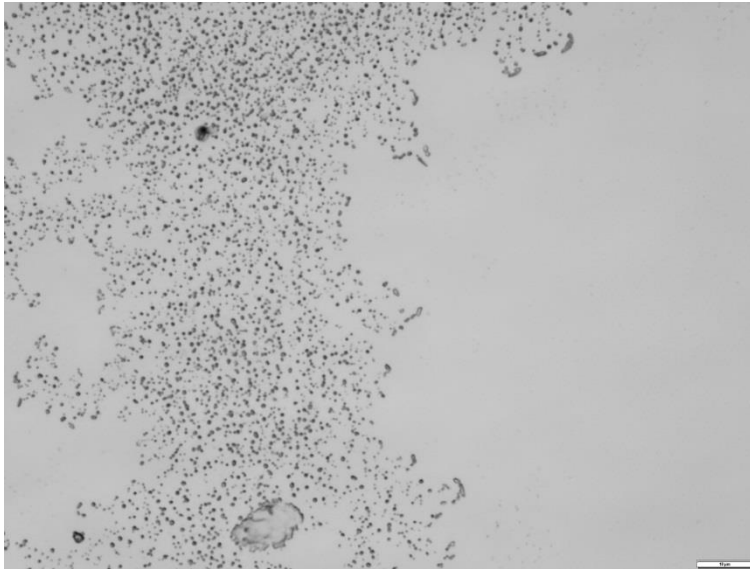
Şekil 4.17 : Aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin 30 dk US'e maruz bırakıldıktan sonraki optik mikroskop görüntüleri. Şekillerde sağ alt köşedeki ölçek 50 μm 'yi göstermektedir.

4.5.1.2 CaCl₂ çözeltisine aljinat çözeltisinin damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri



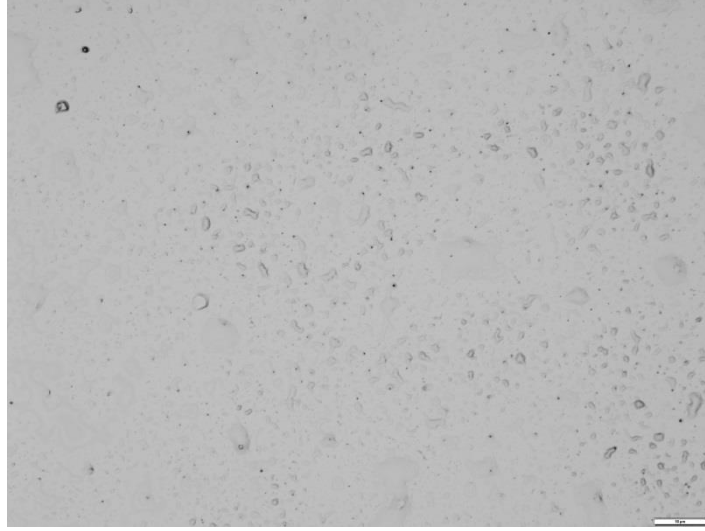
Şekil 4.18 : CaCl₂ çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin 30 dk US'e maruz bırakıldıktan sonraki optik mikroskop görüntüsü. Şekilde sağ alt köşedeki ölçek 10 µm'yi göstermektedir.

4.5.1.3 Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl₂ çözeltisi damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri



Şekil 4.19 : Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl₂ çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin 30 dk US'e maruz bırakıldıktan sonraki optik mikroskop görüntüsü. Şekilde sağ alt köşedeki ölçek 10 µm'yi göstermektedir.

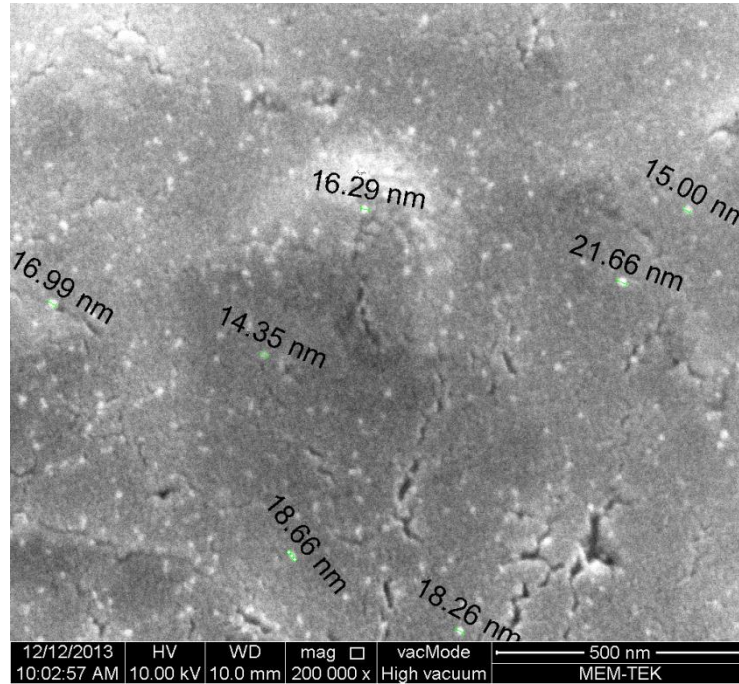
4.5.1.4 Seyreltik koşullarda CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisinin damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri



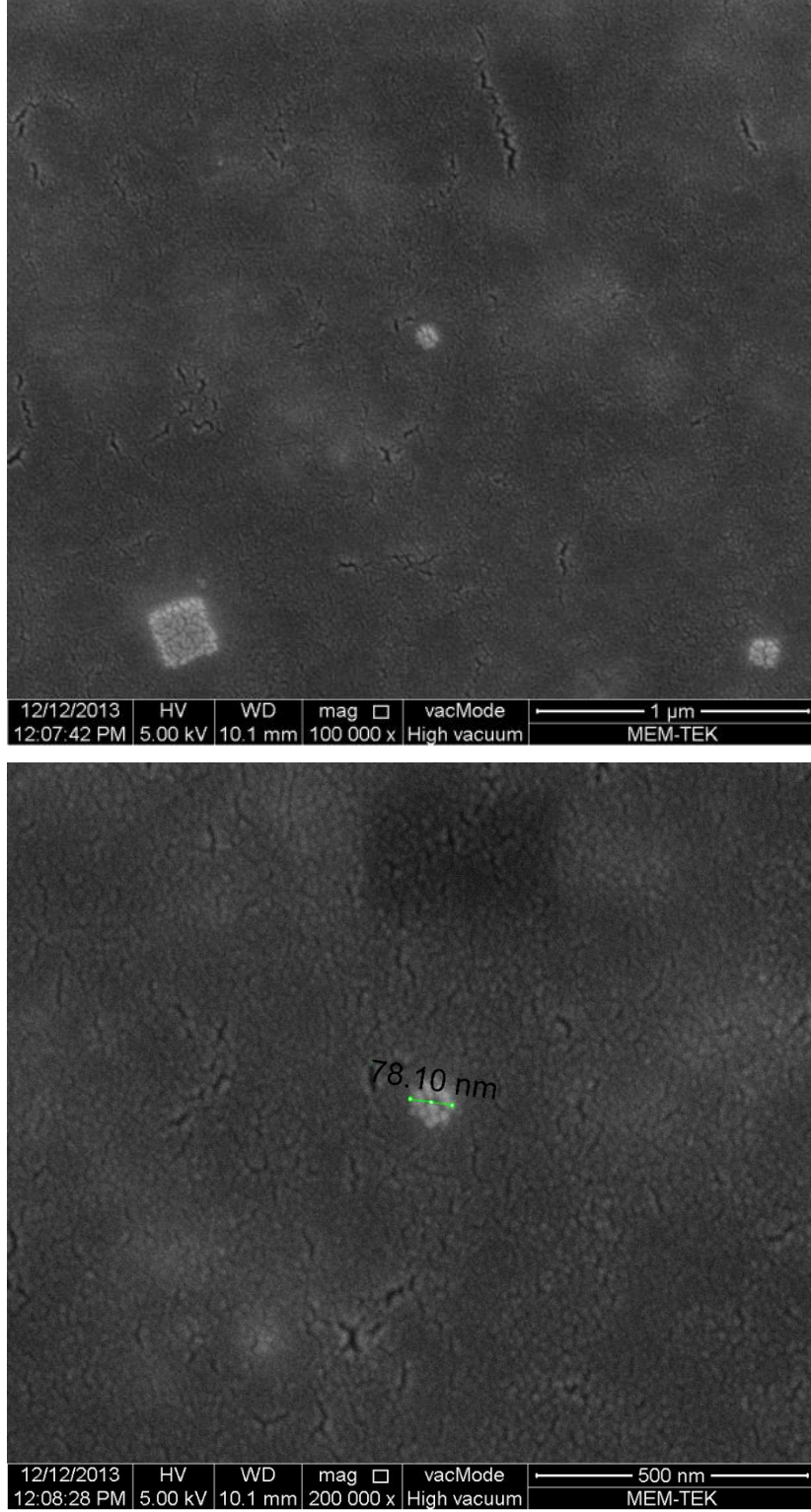
Şekil 4.20 : Seyreltik CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin 30 dk US'e maruz bırakıldıktan sonraki optik mikroskop görüntüsü. Şekilde sağ alt köşedeki ölçek $10\ \mu\text{m}$ 'yi göstermektedir.

4.5.2 Nano-boyut aljinat küreciklerinin SEM görüntüleri

4.5.2.1 Aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri

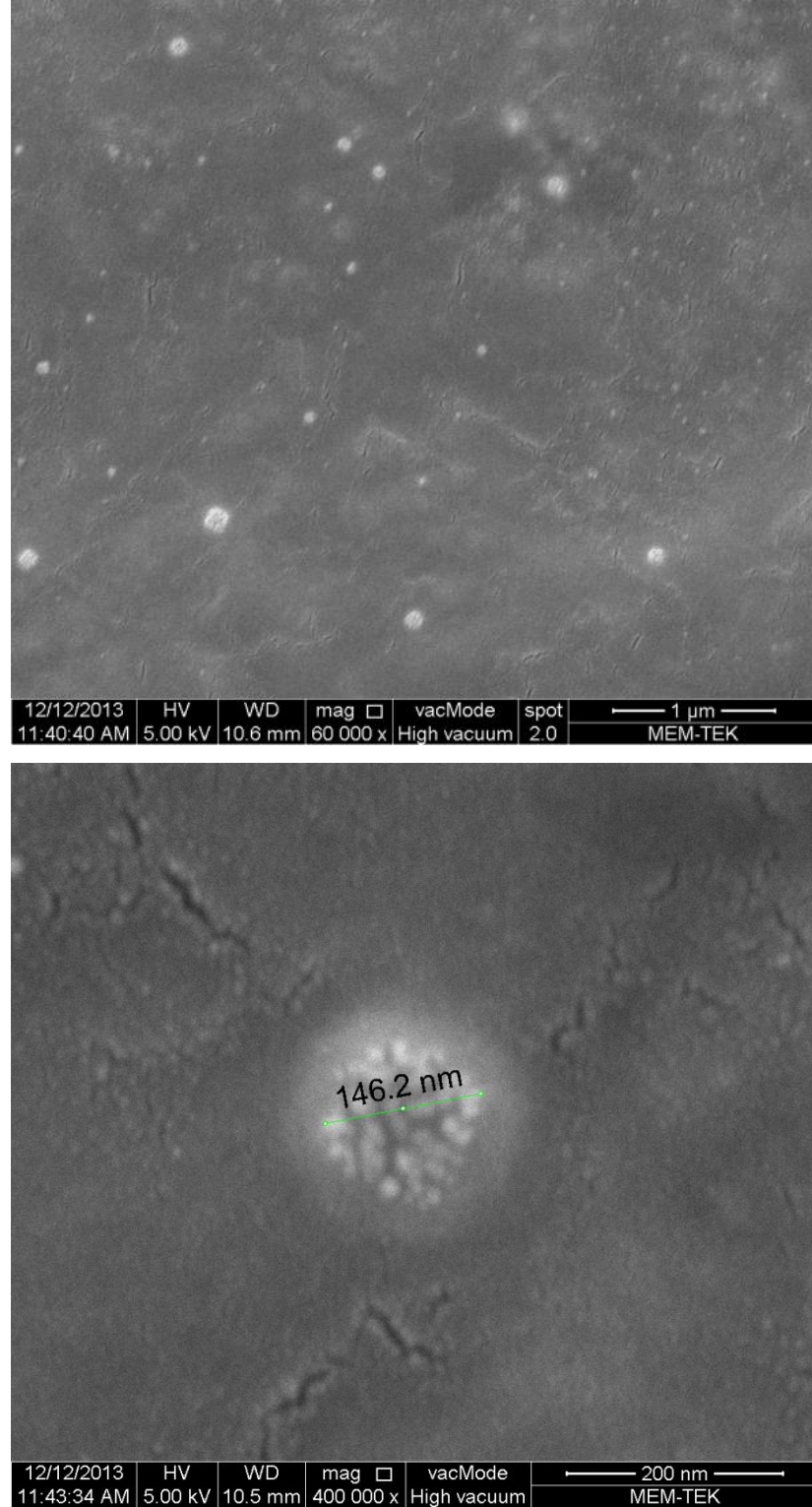


Şekil 4.21 : Aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüsü (damlatma esnasında 30 dk US'e tabi).

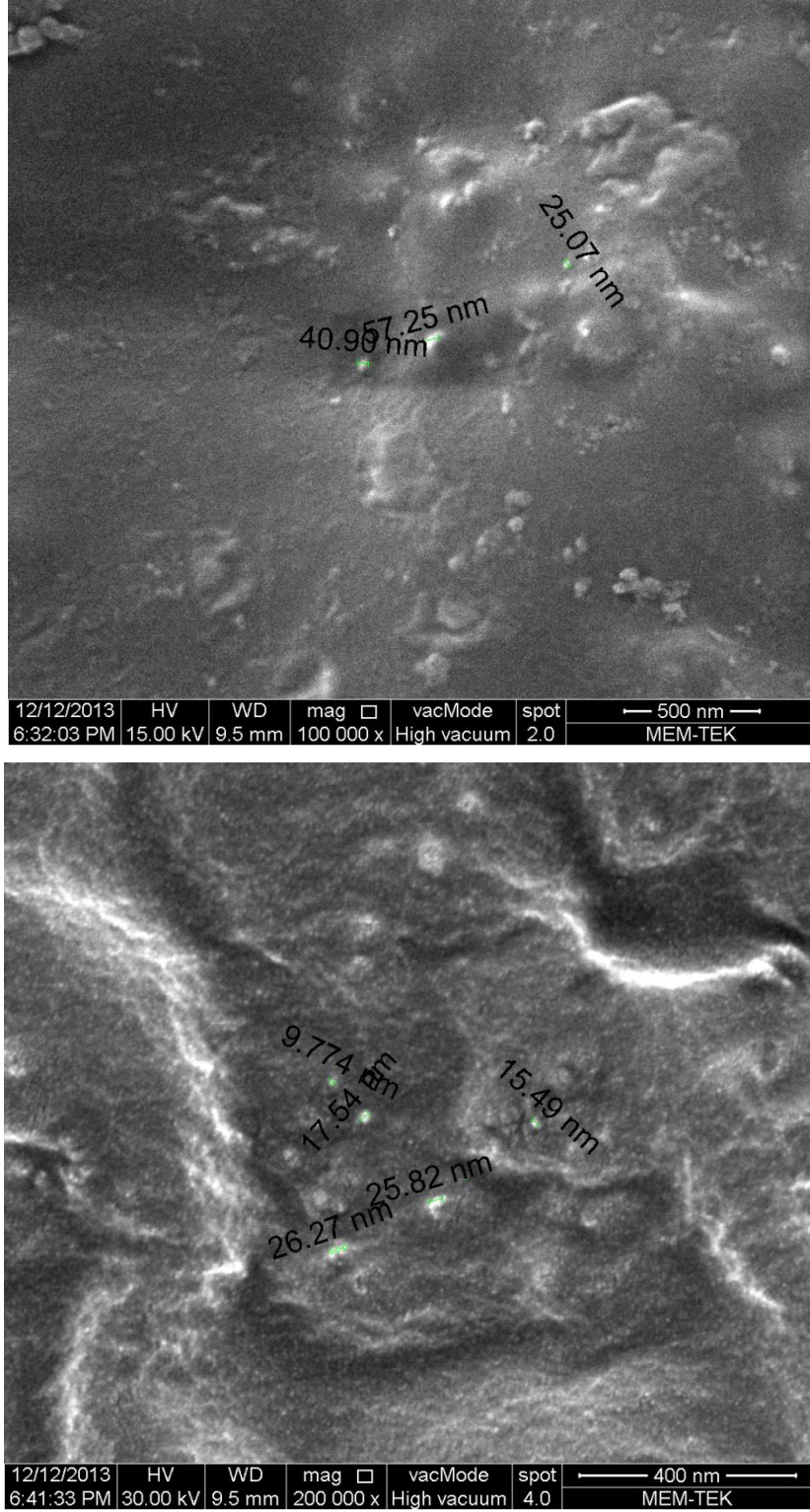


Şekil 4.22 : Aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (aljinat çözeltileri damlatma öncesi 2 saat ve damlatma esnasından itibaren 30 dk US'e tabi).

4.5.2.2 CaCl₂ çözeltisine aljinat çözeltisinin damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri

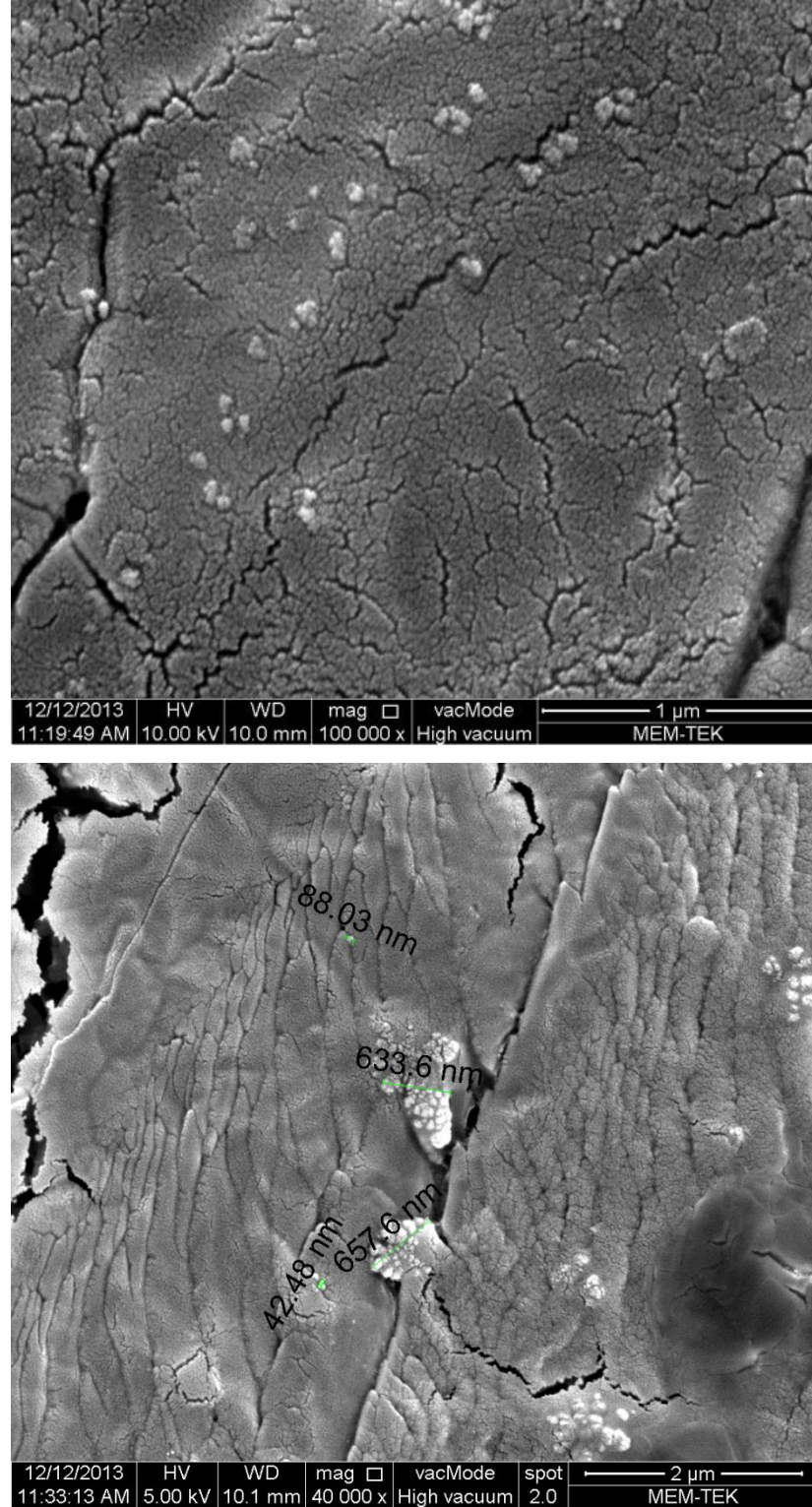


Şekil 4.23 : CaCl₂ çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (damlatma esnasında 30 dk US'e tabi).

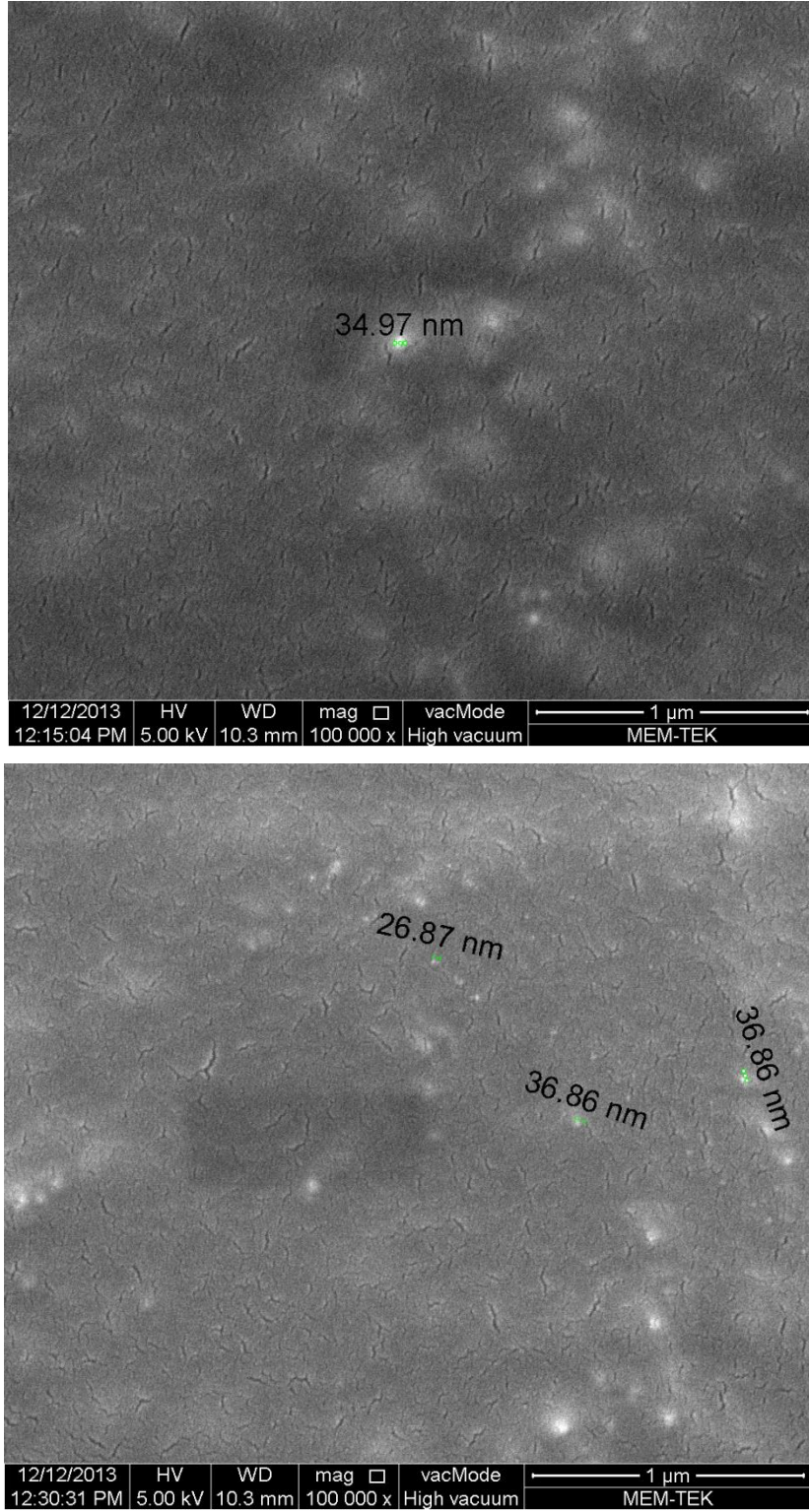


Şekil 4.24 : CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (aljinat çözeltisi damlatma öncesi 2 saat ve damlatma esnasından itibaren 30 dk US'e tabi).

4.5.2.3 Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri

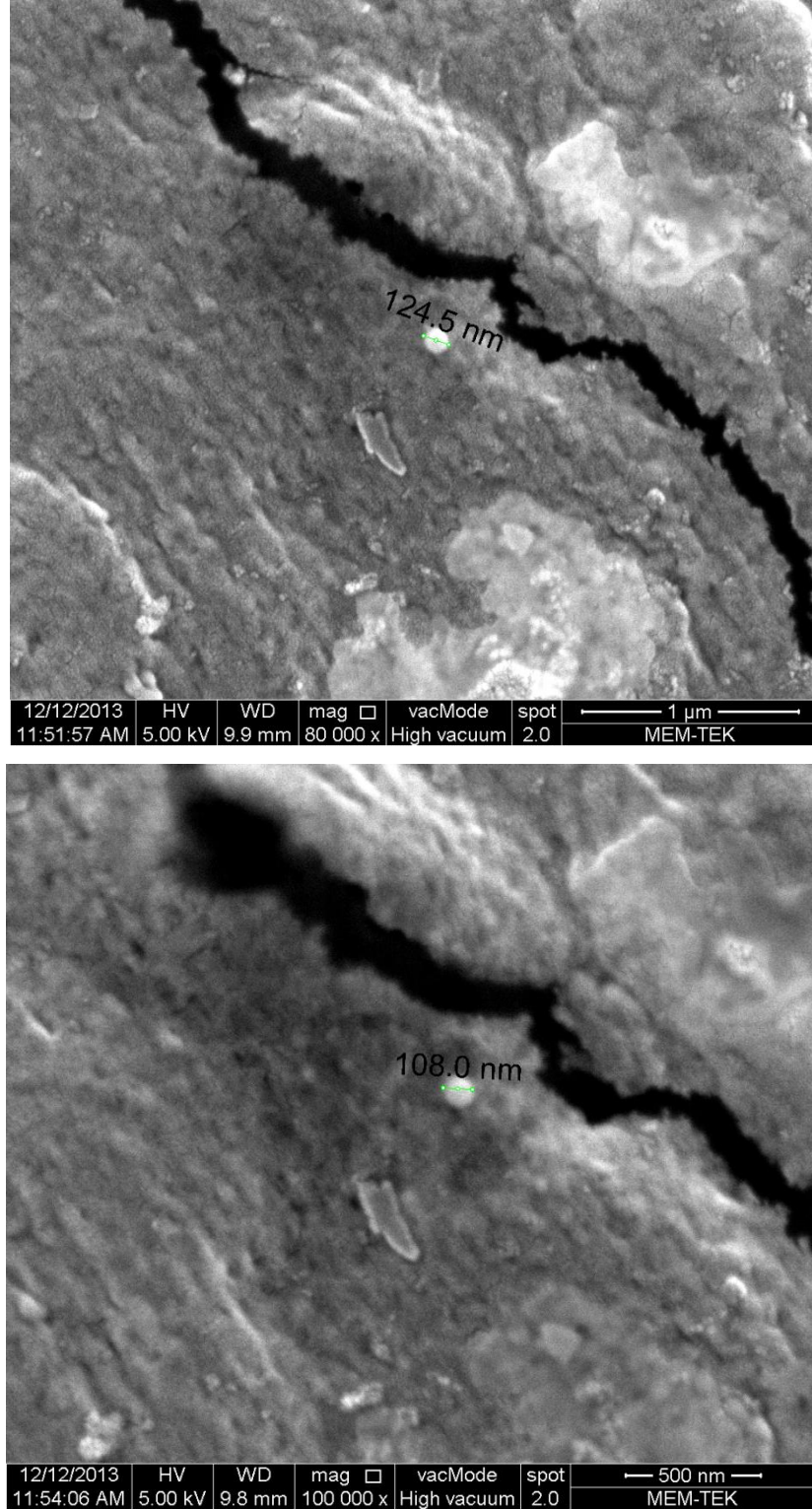


Şekil 4.25 : Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (damlatma esnasında 30 dk US'e tabi).

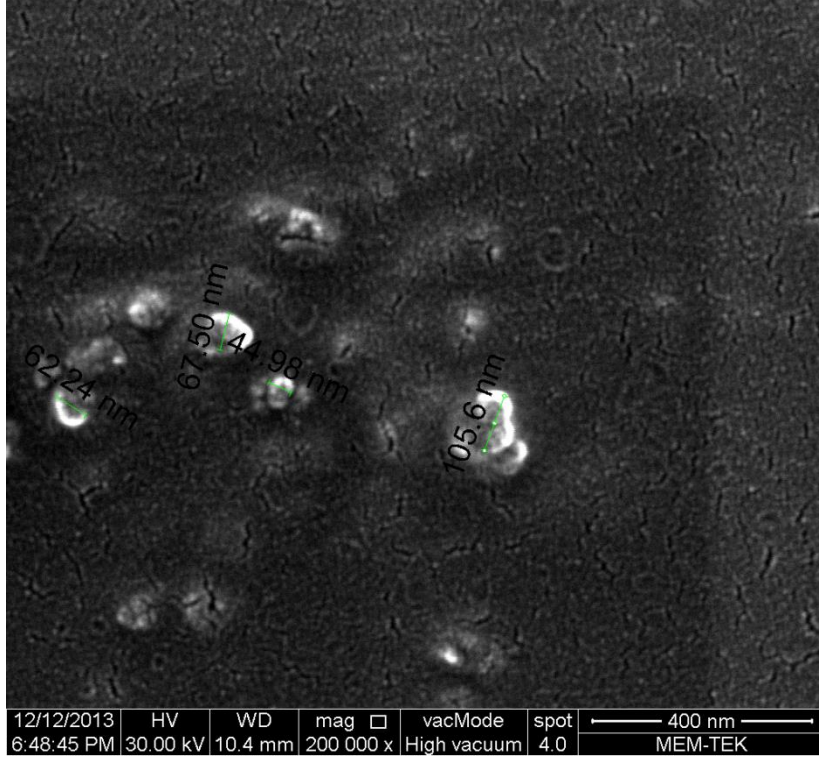


Şekil 4.26 : Seyreltik koşullarda aljinat çözeltisine CaCl_2 çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (aljinat çözeltisi damlatma öncesi 2 saat ve damlatma esnasından itibaren 30 dk US'e tabi).

4.5.2.4 Seyreltik koşullarda CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisinin damlatılması ile elde edilen aljinat kürecikleri



Şekil 4.27 : Seyreltik koşullarda CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (damlatma esnasında 30 dk US'e tabi).



Şekil 4.28 : Seyreltik koşullarda CaCl_2 çözeltisine aljinat çözeltisi damlatılması ile elde edilen küreciklerin SEM görüntüleri (aljinat çözeltisi damlatma öncesi 2 saat ve damlatma esnasından itibaren 30 dk US'e tabi).

4.6 Aljinat Çözeltilerinin pH Değerleri

Deiyonize su ve 1 M CH_3COOH ile iki farklı set olarak hazırlanmış aljinat çözeltilerinin ölçülmüş pH değerleri aşağıda verilmektedir.

Çizelge 4.11 : Deiyonize su ile hazırlanmış aljinat çözeltileri pH değerleri.

$C_{\text{aljinat}} (\%)$	pH
0,05	6,85
0,1	7,24
0,5	7,62
1	7,27
2	7,34

Çizelge 4.12 : 1 M CH_3COOH ile hazırlanmış aljinat çözeltileri pH değerleri.

$C_{\text{aljinat}} (\%)$	pH
0,1	2,26
0,5	2,65
1	2,86
2	3,07

4.7 US Ortamında ve US Olmayan Ortamda Hazırlanmış Alj-Kur Çözeltilerinin Viskozite ve Zeta-Potansiyel Değerleri

US ortamında hazırlanmış örneklerden 3 farklı konsantrasyondan seçilmiş aljinat - kurkumin çözeltilerinin ve seyreltilmiş koşullarının viskozite ve zeta-potansiyel ölçümleri aşağıda verilmiştir. Ayrıca US olmadan hazırlanmış örneklerle kıyaslamak amacıyla oda koşullarında karıştırılarak hazırlanmış bir aljinat - kurkumin çözeltisinin de ölçülmüş zeta-potansiyel ve viskozite değerleri aşağıda verilmiştir. Bu değerlerden ilgili denklem ile spesifik viskozite hesabı yapılmış ve konsantrasyona karşı çizilen spesifik viskozite/konsantrasyon grafiği çizilmiştir.

η : Çözeltinin viskozitesi

η_0 : Çözücünün viskozitesi

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} \quad (4.2)$$

bağıntısı polimer çözeltisi ve çözücü arasındaki ilişkiyi gösterir.

$$\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1 = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} \quad (4.3)$$

$$\eta_{sp} = [\eta]c + k'[\eta]^2c^2 + \dots \quad (4.4)$$

Spesifik viskozite çözelti derişiminden etkilenir ve derişimle değişimi Huggins bağıntısıyla verilir.

η_{sp} : Spesifik viskozite

η_{rel} : Relatif viskozite

$[\eta]$: İntresik viskozite

k' : Huggins sabiti

$$\eta_{sp}/c = [\eta] + k'[\eta]^2c + \dots \quad (4.5)$$

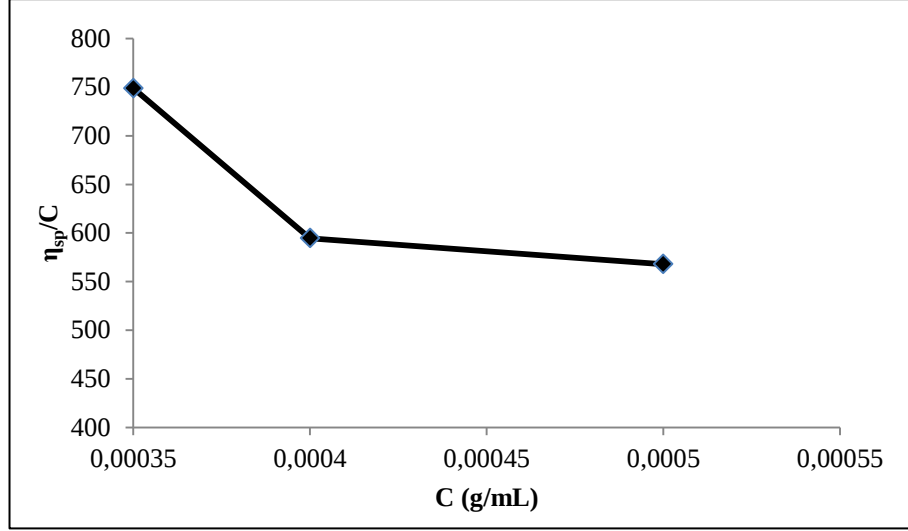
Polimer derişimi düştükçe η_{sp}/c oranı küçölür ve yeterince seyreltik çözeltilerde $[\eta]$ değerine ulaşır. Mark Houwink bağıntısı:

$$[\eta] = KM^\alpha \quad (4.6)$$

Su için ölçölümüş viskozite değeri 1,236 mPa.s'dir.

Çizelge 4.13 : US ortamında % 0,05'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi ve seyreltmelerinin viskozite ve zeta-potansiyel değerleri.

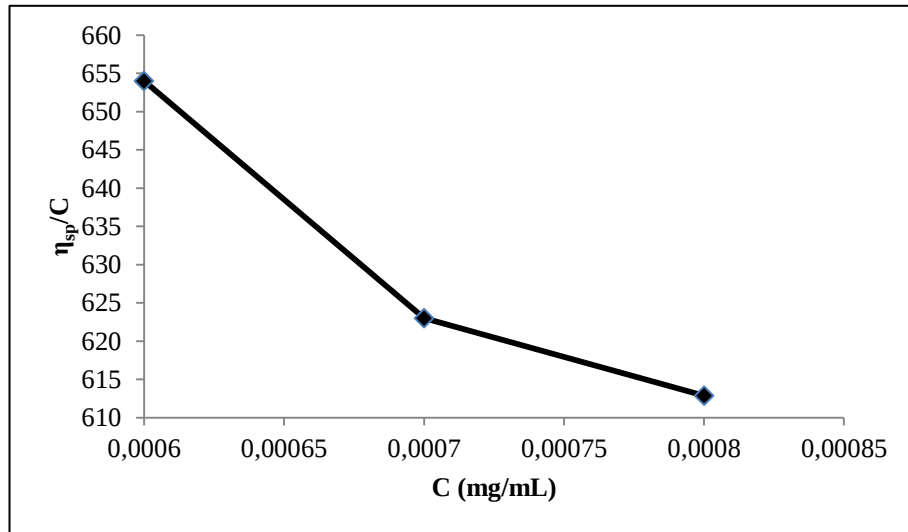
$C_{aljinat}$ (g/mL)	η (mPa.s)	η_{sp}	η_{sp}/C	Zeta Potansiyel (mV)
0,0005	1,587	0,237	567,961	
0,0004	1,53	0,262	594,660	(-) 60,9 ± 8,9
0,00035	1,56	0,432	748,959	



Şekil 4.29 : US ortamında % 0,05'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi C- η_{sp}/C grafiği.

Çizelge 4.14 : US ortamında % 0,1'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi ve seyreltmelerinin viskozite ve zeta-potansiyel değerleri.

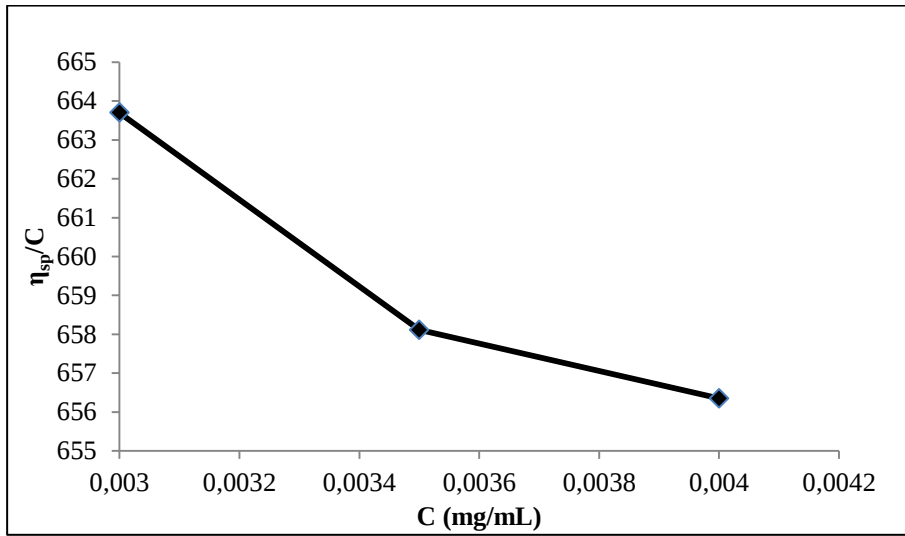
C_{aljinat} (g/mL)	η (mPa.s)	η_{sp}	η_{sp}/C	Zeta Potansiyel (mV)
0,0008	1,842	0,490	612,864	(-) $64,2 \pm 3,3$
0,0007	1,775	0,436	622,977	
0,0006	1,721	0,392	653,991	



Şekil 4.30 : US ortamında % 0,1'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi C- η_{sp}/C grafiği.

Çizelge 4.15 : US ortamında % 0,5'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi ve seyreltmelerinin viskozite ve zeta-potansiyel değerleri.

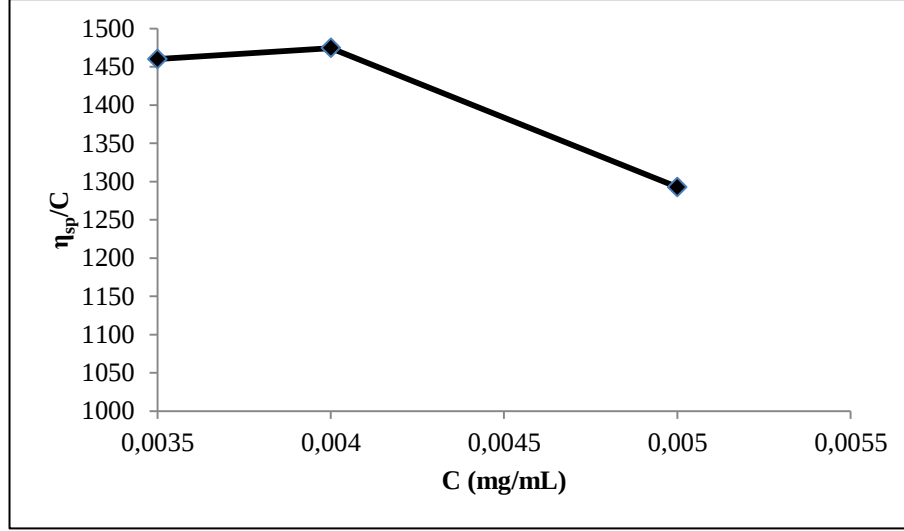
C_{aljinat} (g/mL)	η (mPa.s)	η_{sp}	η_{sp}/C	Zeta Potansiyel (mV)
0,004	4,481	2,625	656,351	(-) $63,5 \pm 4,6$
0,0035	4,083	2,303	658,113	
0,003	3,697	1,991	663,700	



Şekil 4.31 : US ortamında % 0,5'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi C- η_{sp}/C grafiği.

Çizelge 4.16 : US olmadan % 0,5'lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi ve seyreltmelerinin viskozite ve zeta-potansiyel değerleri.

C_{aljinat} (g/mL)	η (mPa.s)	η_{sp}	η_{sp}/C	Zeta Potansiyel (mV)
0,005	9,225	6,463	1292,718	(-) $47,2 \pm 22,4$
0,004	8,526	5,898	1474,514	
0,0035	7,552	5,110	1460,009	



Şekil 4.32 : US olmadan % 0,5’lik (w/w) aljinat ile hazırlanmış alj-kur çözeltisi C- η_{sp}/C grafiği.

4.8 Yorumlar ve Öneriler

Nötral ve asidik koşullarda kurkuminin aljinat ile etkileşimini arttırmak amacıyla çalışmalar US ortamında gerçekleştirilmiştir. Ultrasonik bozunmadan yararlanmanın bir başka nedeni aljinat polimerlerini kırarak nano-boyutta kürecik eldesini kolaylaştırmak ve polimer zincir uzunluklarının homojen olmasını sağlamaktır.

25°C’de, 2 saat US’e tabi tutulmuş örneklerde nötral koşullarda düşük aljinat konsantrasyonlarında (% 0,05 - 0,1 - 0,5 w/w) kurkumin çözünürlüğü $0,0622 \pm 0,0058$ mg/mL ile $0,1789 \pm 0,0060$ mg/mL arasında değişmektedir. Aljinat yüzdesi 1’e çıkarıldığında kurkumin çözünürlüğü $0,2878 \pm 0,0528$ mg/mL, yüzde 2’ye çıkarıldığında ise $0,6035 \pm 0,0861$ mg/mL’ye yükseldiği tespit edilmiştir. Asidik koşullarda en yüksek kurkumin çözünürlüğü % 0,5 aljinat içeren örneklerde görülmüştür ve bu değer $0,1632 \pm 0,0033$ mg/mL’dir.

Polimer yüzdesinin daha düşük olduğu çözeltilerde ultrasesin daha etkili olduğu bilinmektedir, yüksek polimer konsantrasyonlarında kavitasyon balonlarının oluşum ve patlama hareketi baskılanır ve ultrasesin polimer bozunması üzerine etkisi azalır. Düşük aljinat konsantrasyonlarındaki kurkumin tutma kapasitesinin aljinat yüzdesi ile orantılı olmayışı bu şekilde yorumlanabilir. Ancak sonuçlar açık bir şekilde göstermektedir ki çözeltideki aljinat yüzdesi 2’ye çıkartıldığında (pH 7) kurkumin çözünürlüğünde ciddi bir artış gözlenmiştir. Fakat bu artış asidik koşullarda görülmemektedir. Asidik koşullarda aljinat konsantrasyonundaki artış ile kurkumin

çözünürlüğü arasında bir ilişki görülmemiştir. Bunun nedeni, asidik koşullarda kurkumin çözünürlüğünün nötral koşullara kıyasla oldukça düşük olması ile bağdaştırılabilir.

Aynı örneklerde kurkumin miktarı mg aljinat başına hesaplandığında, hem nötral hem de asidik koşullarda maksimum çözünürlüğün çözeltideki aljinat konsantrasyonu azaldıkça arttığı görülmüştür. En yüksek kurkumin çözünürlüğü pH 7’de % 0,05 aljinat olan çözeltidedir ve 0,2521 mg/mg aljinat olarak hesaplanmıştır.

Aljinat - kurkumin çözeltileri CaCl_2 çözeltisine enjektör yardımıyla damlatılarak içine kurkumin hapsedilmiş aljinat kapsülleri elde edilmiştir. Küreciklerin çapları yaklaşık 2 mm, oda koşullarında kurutulduktan sonra ise yaklaşık 1 mm civarındadır. Kürelerin enkapsülasyon verimleri hesaplandığında ilk sette % $96,66 \pm 1,57$, ikinci sette ise % $96,64 \pm 2,09$ olarak bulunmuştur. Çözeltideki kurkuminin sadece % 3,5 oranındaki bir miktarı CaCl_2 çözeltisinde serbest kalmıştır, diğer kısmı ise aljinat beraberinde kapsül oluşturmuştur. Bu sonuçlardan, kurkumin aljinat komplekslerinin başarılı bir şekilde oluşturulduğu görülmektedir.

Kurutulmuş bu küreciklerden 1 g dozlarda gıda veya ilaçlara takviye edildiğinde alınacak kurkumin miktarı 2,92 mg/g kuru kürecik ve 2,73 mg/g kuru kürecik olarak hesaplanmıştır.

Aljinat kurkumin çözeltilerinin US öncesi ve US sonrası viskozite ölçümleri sonucunda, US sonrası viskozite değerinin US öncesine göre yarıyarıya azaldığı görülmüştür, buradan aljinat polimerlerinde ultrasonik bozunmanın etkin bir şekilde gerçekleştirildiği çıkarılabilir. Ölçümler sonucunda $C-\eta_{sp}/C$ grafikleri çizildiğinde çözeltideki aljinat konsantrasyonu arttıkça η_{sp}/C değerinde azalma gözlenmiştir, bunun sonucunda sulu çözeltilerinde her ikisi de (-) yüklenen aljinat ve kurkuminin oluşturduğu kompleksin aljinatın polielektrolit özelliğini koruduğu saptanmıştır. Çizilen grafiklerde eğimler incelendiğinde, çözeltideki aljinat konsantrasyonu arttıkça eğimde azalma olduğu, yani çözeltinin polielektrolitik davranışında azalma olduğu görülmektedir.

Çözelti içindeki parçacıkların elektrostatik potansiyelleri ve kolloidal stabilitesi hakkında bilgi veren zeta-potansiyel ölçümlerine bakılmıştır. US’e tabi tutulmuş örnekler US olmamış örnekle karşılaştırılmıştır. Hata oranı US olmamış örneklerde $\pm 22,4$ iken US ortamında hazırlanmış örneklerde $\pm 8,9$, $3,3$ ve $4,6$ olduğu

görülmektedir. Ölçümlerden US'e maruz bırakılan aljinat çözeltilerinde polimer zincir dağılımının daha homojen olduğu, US'e tabi tutulmamış örneklerde ise polimer molekül ağırlığında homojen olmayan bir dağılım olduğu söylenebilir.

Çalışmanın son kısmında aljinat küreciklerinin çapını nano boyuta indirilmesi üzerine deneyler yapılmıştır. Aljinat konsantrasyonunda ve bununla birlikte CaCl_2 konsantrasyonunda azalmaya gidilmiştir çünkü aljinat kapsüllerinin boyutu konsantrasyonla doğrudan bağlantılıdır. Çalışmalar US ortamında yürütülmüştür. Bilindiği gibi US ortamında polimerler kavitasyon balonlarının oluşumu ve ardından patlamasından doğan sıkışma ve gevşeme durumlarına maruz kalırlar. Çözelti içerisindeki bu hareket polimer zincirinde bozunmaya, hassas bağlarda kırılmaya neden olur. US'in polimer zinciri üzerindeki bu etkisinden yararlanılarak, nano-boyut aljinat küre eldesi US ortamında gerçekleştirilmiştir.

Optik mikroskop görüntüleri ile yaklaşık 100 nm boyutunda kürecikler elde edildiği saptanmış ancak kesin bir boyut analizi yapılamamıştır. Daha etkin bir boyut analizi için SEM'de analiz yapılmadan önce çözeltiler dondurarak kurutma (freze drying) işlemine tabi tutulmuş ve çözeltideki kürecik konsantrasyonu arttırılmıştır. SEM görüntülerinden kürecik eldesinde etkin bir şekilde nano-boyuta inildiği tespit edilmiş ve 9,77 nm'ye kadar değişen çaplarda kürecikler elde edilmiştir. Deneylerde iki set oluşturulmuş ve ilk set damlatma anından itibaren 30 dk US'e tabi tutulurken ikinci sette aljinat çözeltileri damlatma öncesi 2 saat US'e maruz bırakılmış ve damlatma anı ve sonrasında tekrar 30 dakika US'e tabi tutulmuştur. SEM görüntülerinden US süresinin uzaması ile genel olarak kürecik çapında küçülme olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak bu araştırmada US ortamında % 2'lik (w/w) aljinat çözeltisinde kurkumin çözünürlüğü $0,6035 \pm 0,0861$ mg/mL'ye kadar arttırılmıştır (pH 7, 25°C) ve hazırlanan çözeltiler % $96,66 \pm 1,57$ verimle kapsüllenmişlerdir. Ve çalışmanın ikinci kısmında 9,77 nm'ye kadar nano-boyutta aljinat küre üretimi gerçekleştirilmiştir.

Kanser hücrelerinin (+) yüklü olması ve (-) yüklü komplekse güçlü bir hedef oluşturması yönünde seçilmiş aljinat polimeri yerine ileriki çalışmalarda sulu çözeltisinde (-) yüklenen kurkumin için (+) yüklü bir biyo-yararlı ajan seçilerek

kurkumin ile daha güçlü bir kompleks oluşturması ve sudaki çözünürlüğünü daha fazla arttırması amaçlanabilir.

KAYNAKLAR

- [1] **Wang, Y., Pan, M., Cheng, A., Lin, L., Ho, Y., Hsieh, C. ve Lin, J.,** (1996). Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products.
- [2] **Tapal, A. ve Tikü, P. K.,** (2011). Complexation of curcumin with soy protein isolate and its implications on solubility and stability of curcumin.
- [3] **Guzman-Villanueva, D., El-Sherbiny, İ. M., Herrera-Ruiz, D. ve Smyth, H. D. C.,** (2013). Design and *In Vitro* Evaluation of a New Nano-Microparticulate System for Enhanced Aqueous-Phase Solubility of Curcumin.
- [4] **Ardağ, A.,** (2008). Antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması.
- [5] **Yılmaz, İ.,** (2010). Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres.
- [6] **Turhan S. ve Üstün, N. Ş.,** (2006). Doğal antioksidanlar ve gıdalarda kullanımları.
- [7] **Tosun, İ. ve Yüksel, S.,** (t.y.). Üzümsü meyvelerin antioksidan kapasitesi.
- [8] **Warunyoupalin, R.,** (2007). Study on the complex formation between curcumin and metal ions by spectrophotometric method.
- [9] **Aggarwal, R. B., Sundaram, C., Malani, N. ve Ichikawa, H.,** (2006). Curcumin: the indian solid gold.
- [10] **Akpolat, M., Topçu Tarladaçalışır, Y., Uz, Y. H., Sapmaz Metin, M. ve Kızılay, G.,** (2010). Kanser tedavisinde curcuminin yeri.
- [11] **Fang, X., Fang, L., Gou, S. ve Cheng, L.,** (2012). Design and synthesis of dimethylaminomethyl-substituted curcumin derivatives/analogues: Potent antitumor and antioxidant activity, improved stability and aqueous solubility compared with curcumin.
- [12] **Jagannathan, R., Abraham, P. M. ve Poddar, P.,** (2012). Temperature-Dependent Spectroscopic Evidences of Curcumin in Aqueous Medium: A Mechanistic Study of Its Solubility and Stability.
- [13] **Li, B., Konecke, S., Wegiel, L. A., Taylor, L. S. ve Edgar, K. J.,** (2013). Both solubility and chemical stability of curcumin are enhanced by solid dispersion in cellulose derivative matrices.
- [14] **Sharma, R. A., Gescher, A. J. ve Steward, W. P.,** (2005). Curcumin: The story so far.
- [15] **Stankovic, I.,** (2004). Curcumin.
- [16] **Tonnesen, H. H. ve Karlsen, J.,** (1984). Studies on Curcumin and Curcuminoids - VI. Kinetics of Curcumin Degradation in Aqueous Solution.

- [17] **Chan, E.**, (2011). Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties.
- [18] **Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S. ve Bugarski, B.**, (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications.
- [19] **Zuidam, N. J. ve Shimoni, E.**, (2010). Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them.
- [20] **Kuo, S. M., Jen, S., Yao, C. ve Manousakas, I.**, (2009). A perspective view on the preparation of micro and nanoparticulates of biomaterials from electrostatic and ultrasonic methods.
- [21] **Poncelet, D., Picot, A. ve Mafadi, S. E.**, (2011). Encapsulation: an essential technology for functional food applications.
- [22] **Nordstrom, P.**, (2011). Formation of polymeric nanoparticles encapsulating and releasing a new hydrophobic cancer drug.
- [23] **Sözmen, N. N.**, (2008). Biyomedikal uygulamalarda akıllı polimer kullanılması ve karakterizasyon yönteminin kuartz kristal mikro dengeleyici sistemler ile geliştirilmesi.
- [24] **Jejurikar, A., Lawrie, G., Martin, D. ve Grondahl, L.**, (2011). A novel strategy for preparing mechanically robust ionically cross-linked alginate hydrogels.
- [25] **Pasut, E., Toffanin, R., Voinovich, D., Pedersini, C., Murano, E. ve Grassi, M.**, (2007). Mechanical and diffusive properties of homogeneous alginate gels in form of particles and cylinders.
- [26] **Wasikiewicz, J. M., Yoshii, F., Nagasawa, N., Wach, R. A. ve Mitomo, H.**, (2004). Degradation of chitosan and sodium alginate by gamma radiation, sonochemical and ultraviolet methods.
- [27] **Lertsutthiwong, P., Noomun, K., Jongaroonngamsang, N., Rojsitthisak, P. ve Nimmannit, U.**, (2008). Preparation of alginate nanocapsules containing turmeric oil.
- [28] **Shi, P., He, P., Teh, T. K. H., Morsi, Y. S. ve Goh, J. C. H.**, (2011). Parametric analysis of shape changes of alginate beads.
- [29] **Alexa, R. I., Mounsey, J. S., O’Kennedy, B. T. ve Jacquier, J. C.**, (t.y.). Copper-binding of alginate beads effects on oxidative stability of vegetable oil.
- [30] **Mason, T. J. ve Lorimer, J. P.**, (2002). Applied sonochemistry: uses of power ultrasound in chemistry and processing.
- [31] **Mohod, A. V. ve Gogate, P. R.**, (2010). Ultrasonic degradation of polymers: Effect of operating parameters and intensification using additives for carboxymethyl cellulose (CMC) and polyvinyl alcohol (PVA).
- [32] **Suslick, K. S.**, (1999). Applications of ultrasound to materials chemistry.

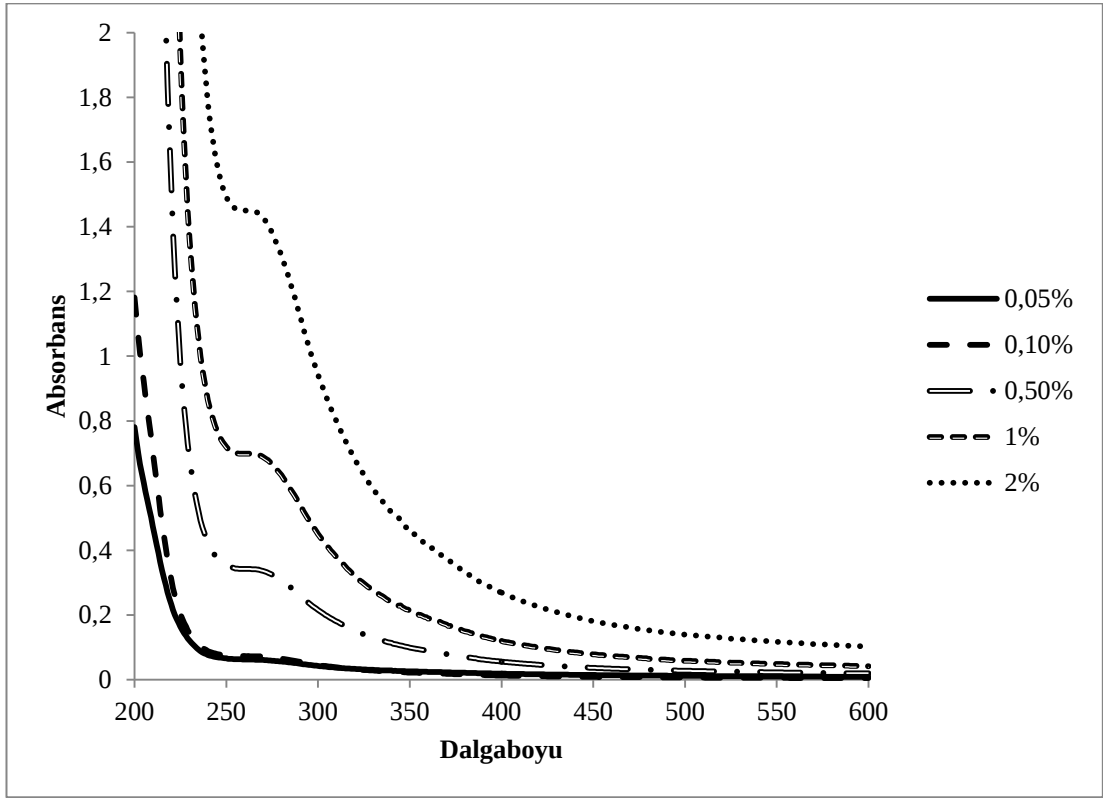
EKLER

EK A : Aljnat Çözeltilerinin UV-Vis Spektrumları

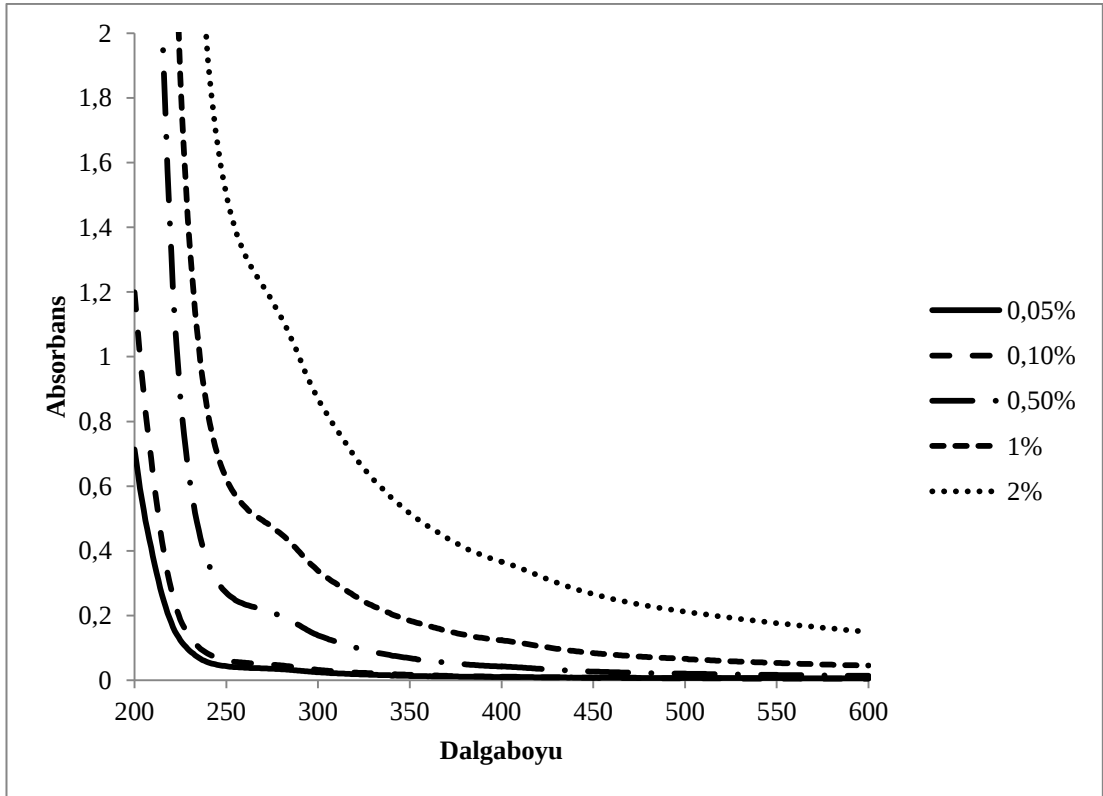
EK B : Aljnat - Kurkumin Çözeltilerinin UV-Vis Spektrumları

EK C : Aljnat - Kurkumin Kürecikleri Enkapsülasyon Verimi UV-Vis Spektrumları

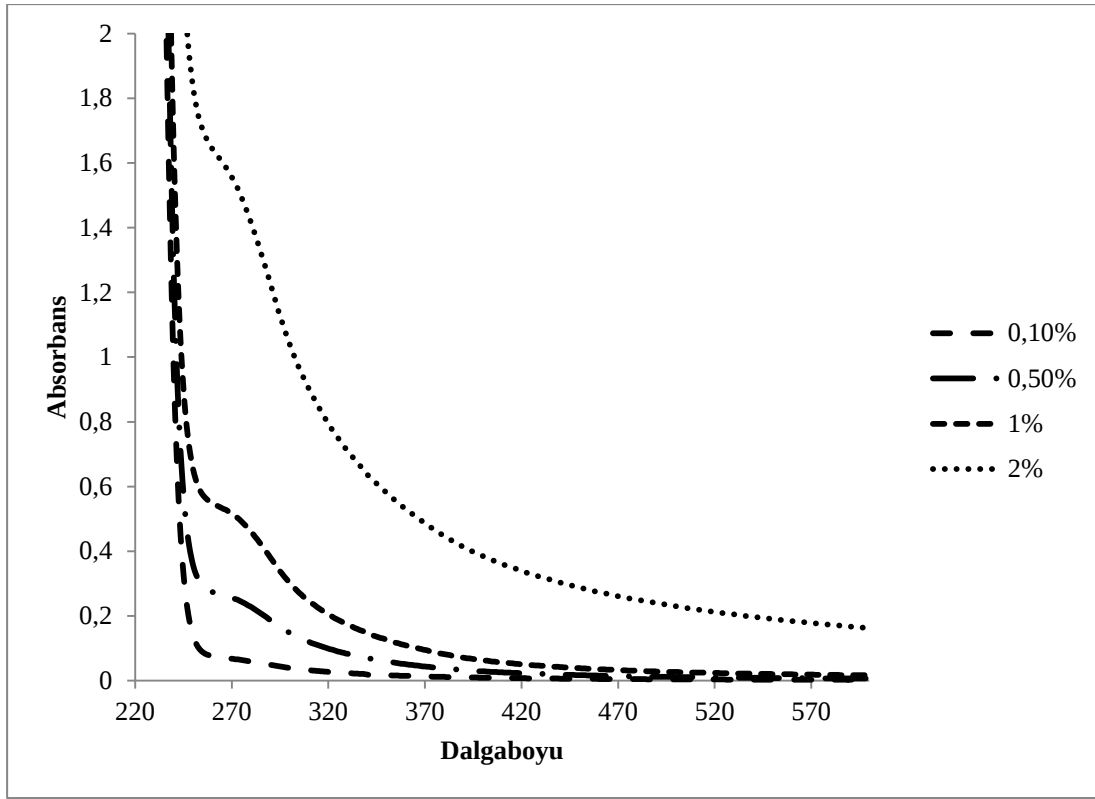
EK A



Şekil A.1 : pH 7, aljinat (Aldrich) çözeltilerin UV-Vis spektrumları.

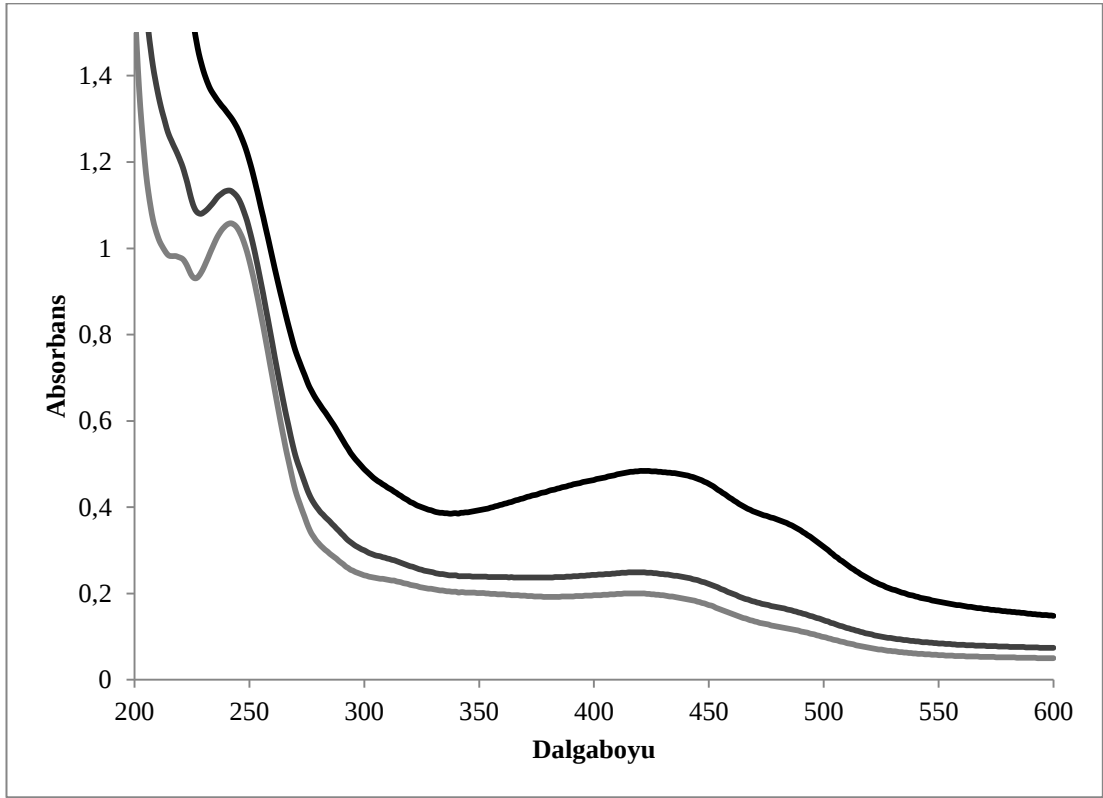


Şekil A.2 : pH 7, aljinat (Cargill) çözeltilerinin UV-Vis spektrumları.

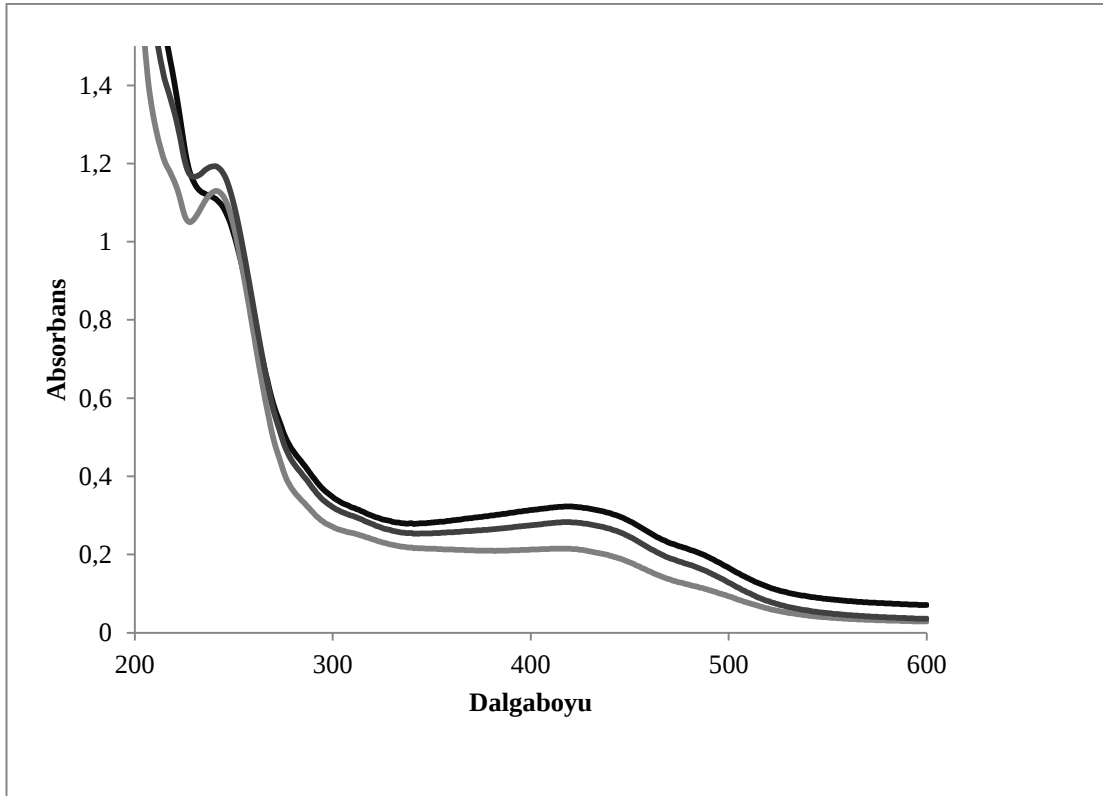


Şekil A.3 : pH 2,4, aljinat çözeltilerinin UV-Vis spektrumları.

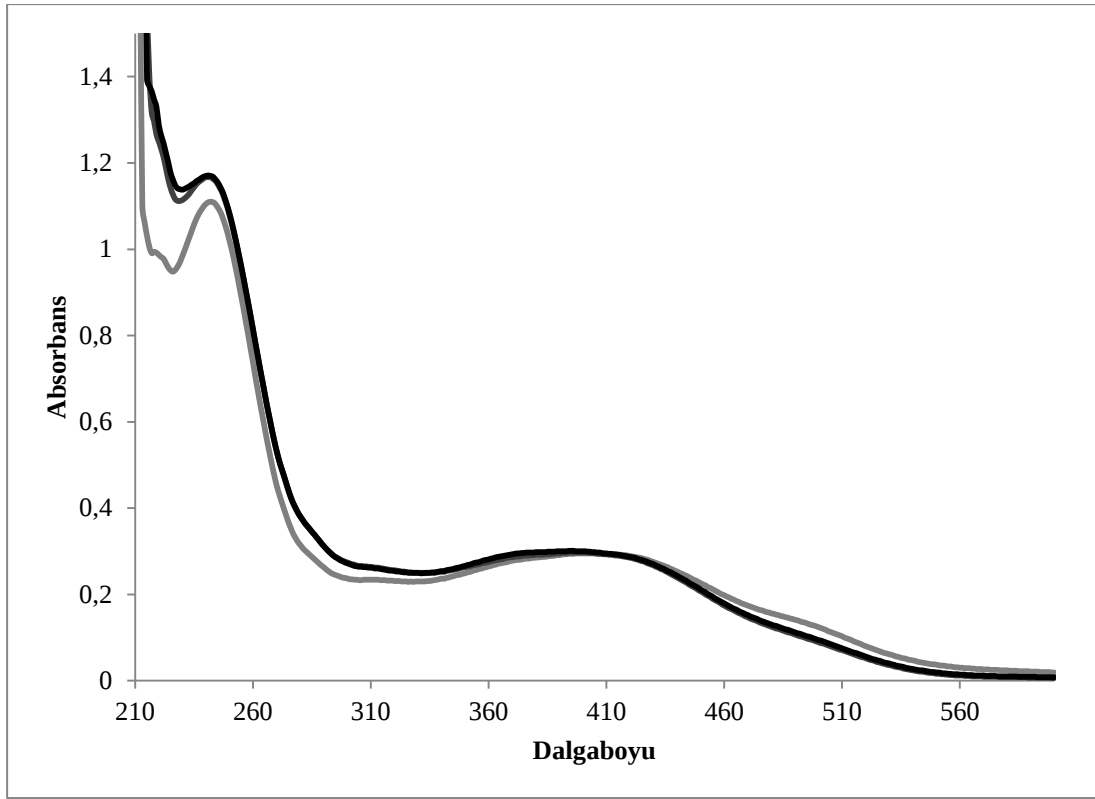
EK B



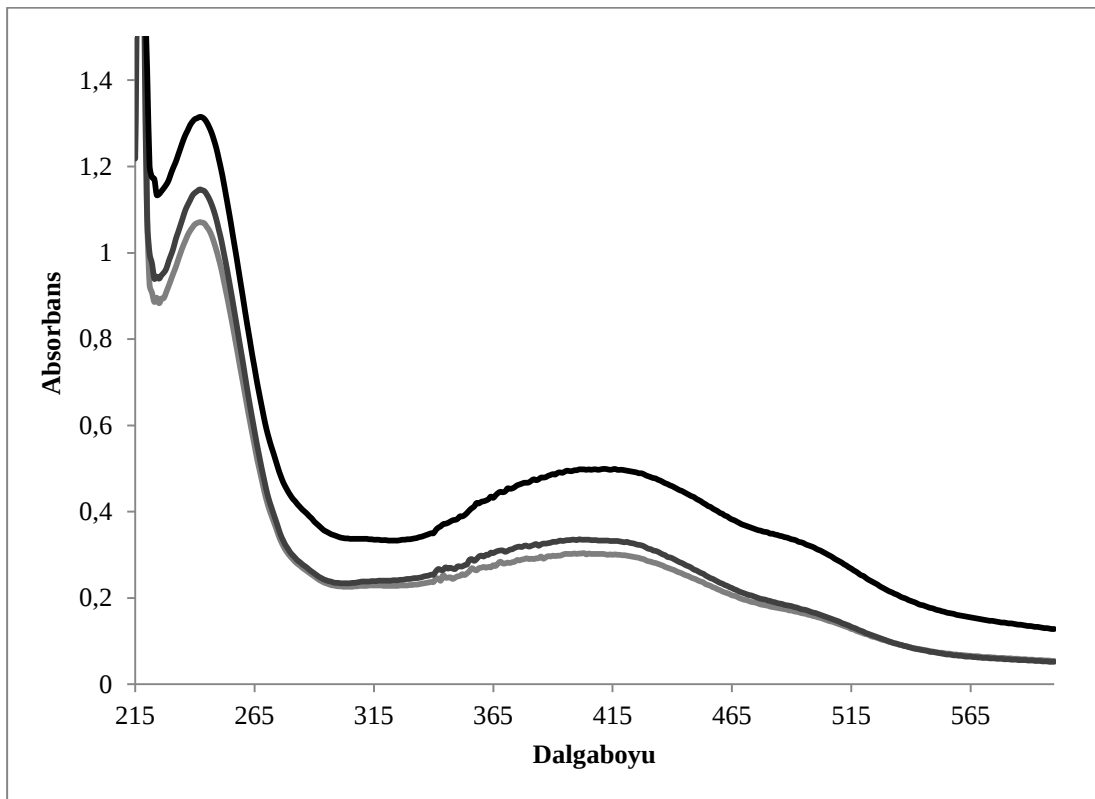
Şekil B.1 : pH 7, % 0,05'lik alj (Aldrich)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.



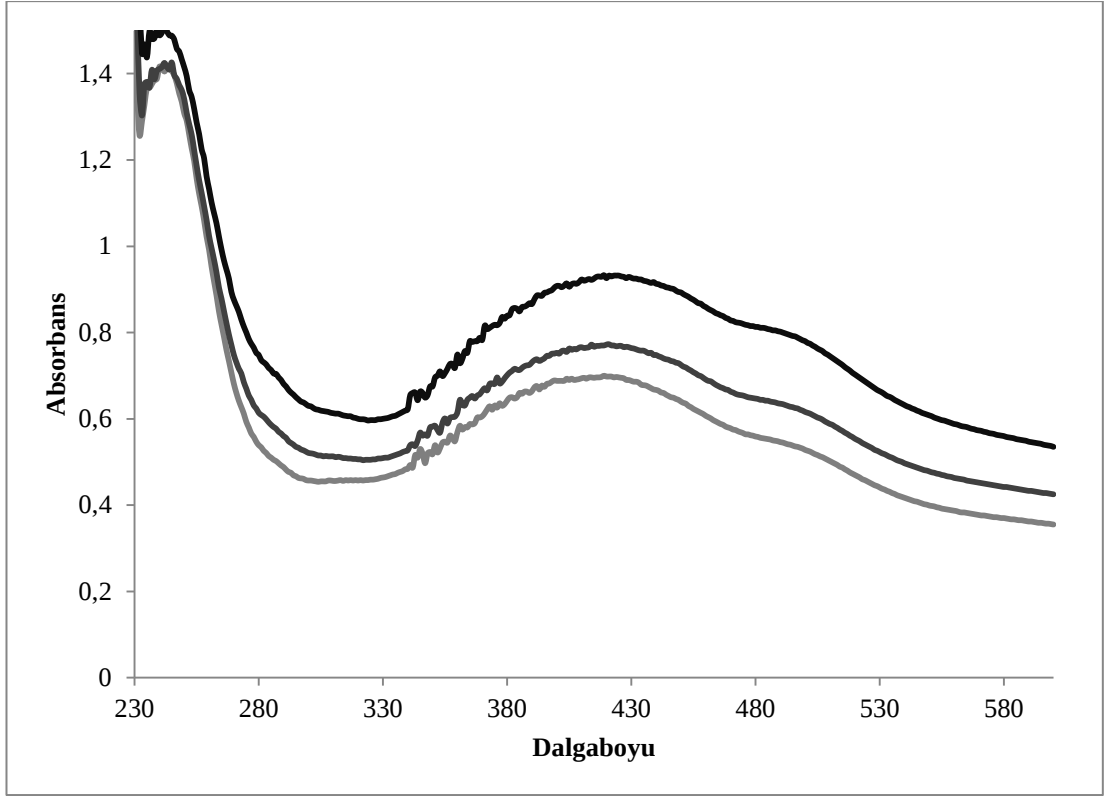
Şekil B.2 : pH 7, % 0,1'lik alj (Aldrich)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.



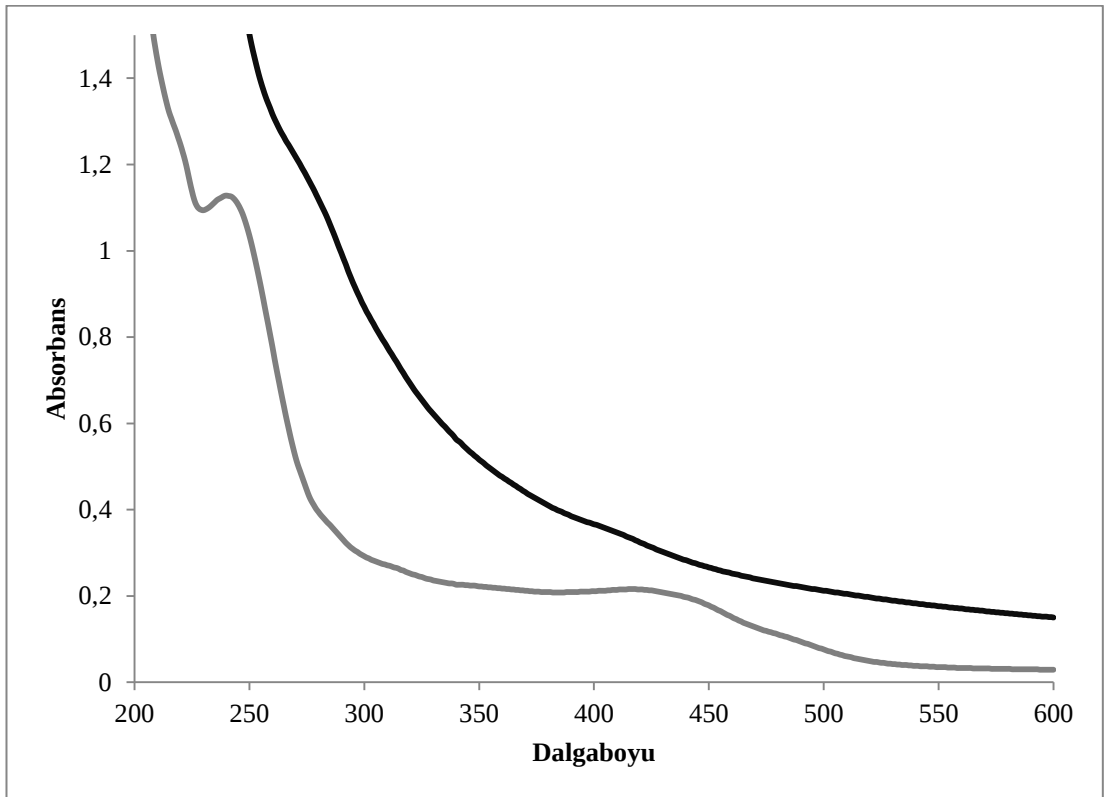
Şekil B.3 : pH 7, % 0,5'lik alj (Aldrich)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.



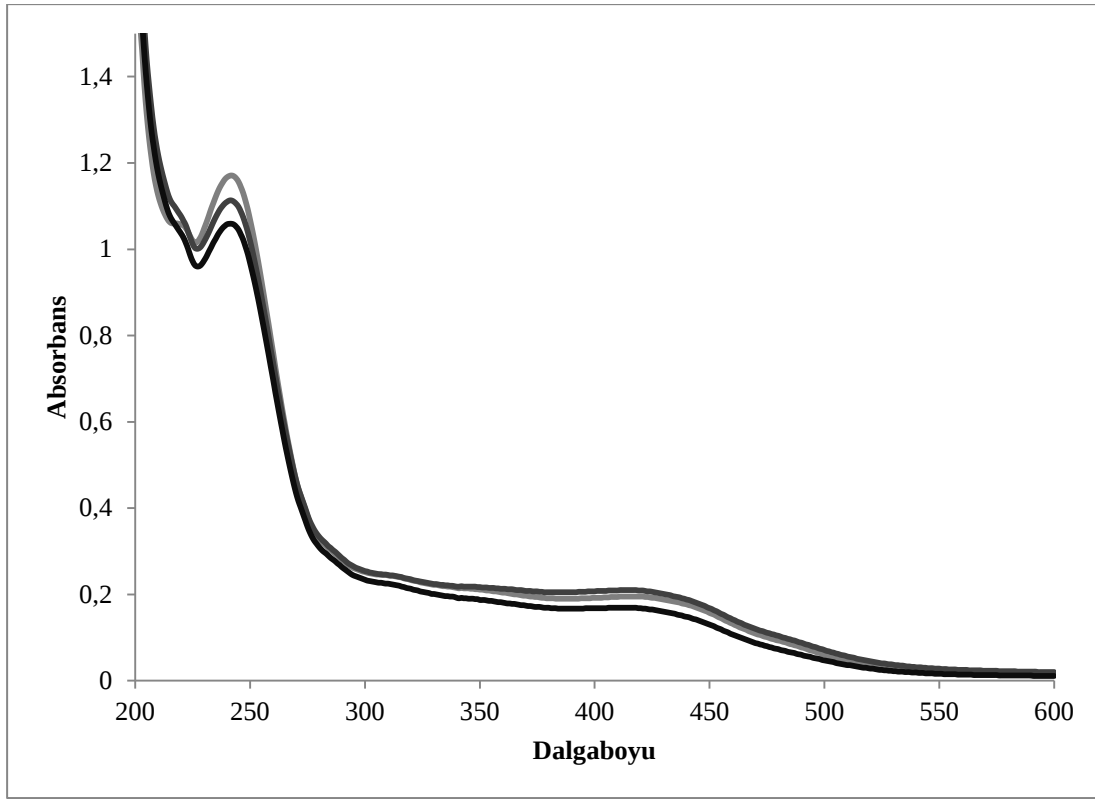
Şekil B.4 : pH 7, % 1'lik alj (Aldrich)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.



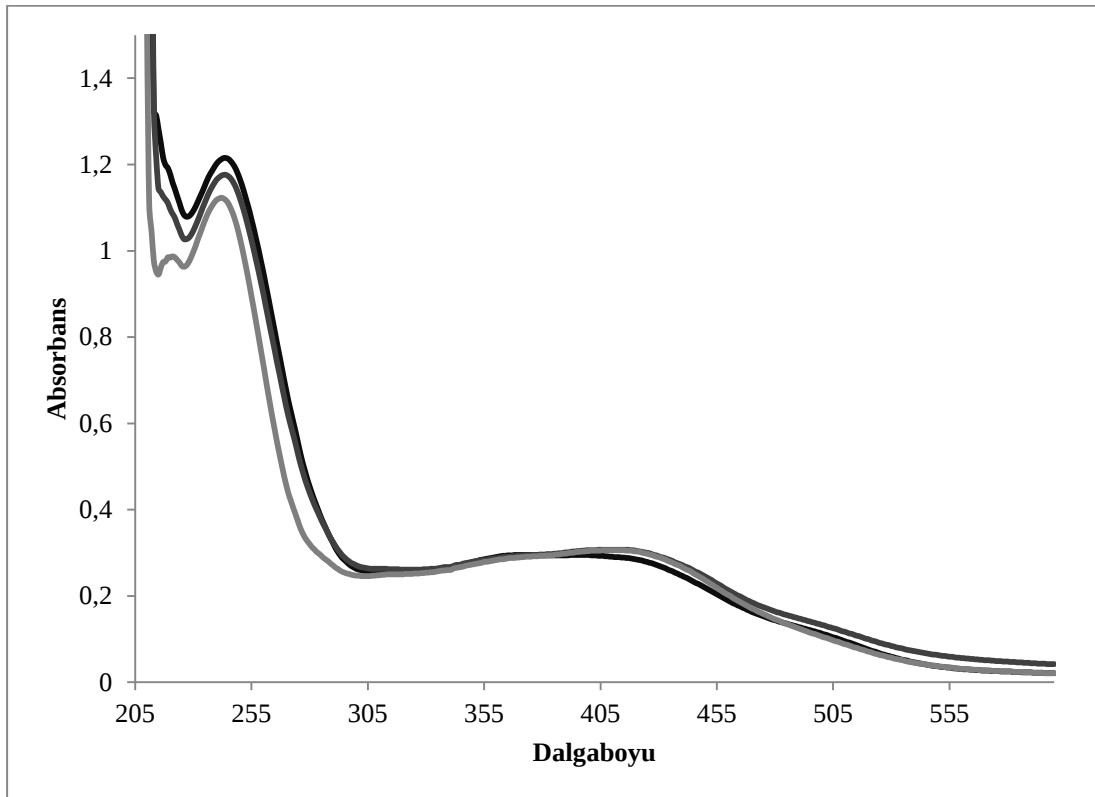
Şekil B.5 : pH 7, % 2'lik alj (Aldrich)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.



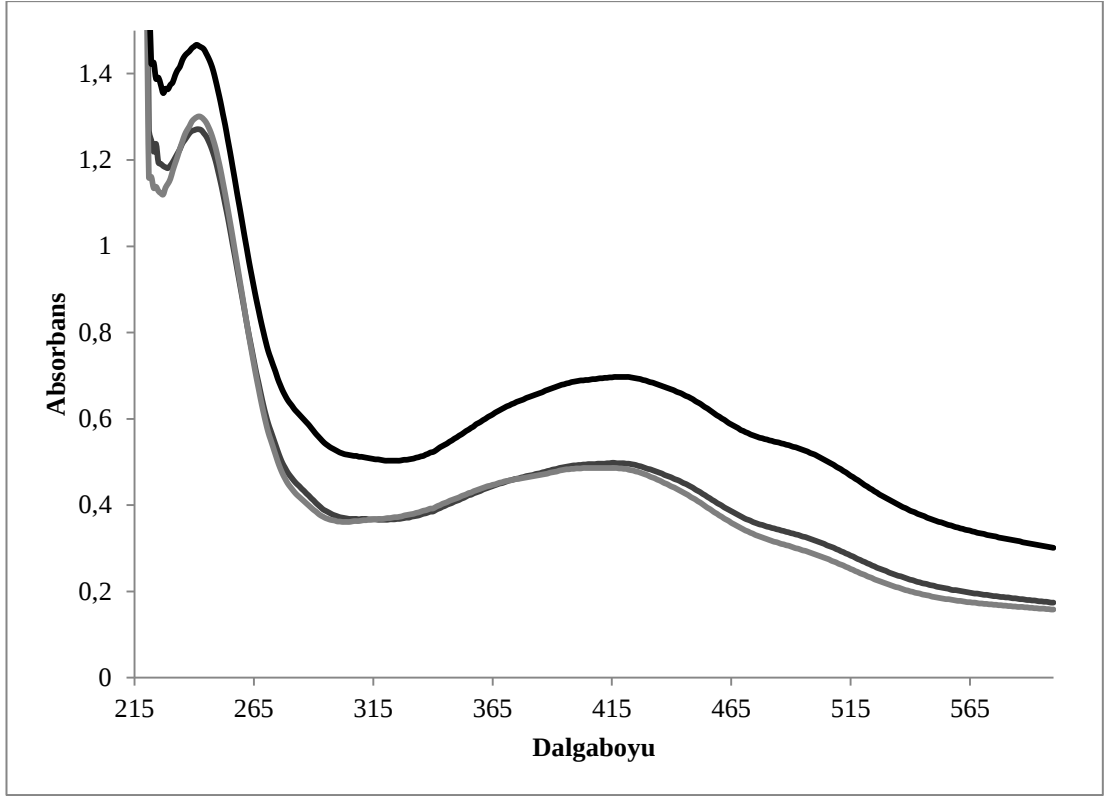
Şekil B.6 : pH 7, % 0,05'lik alj (Cargill)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.



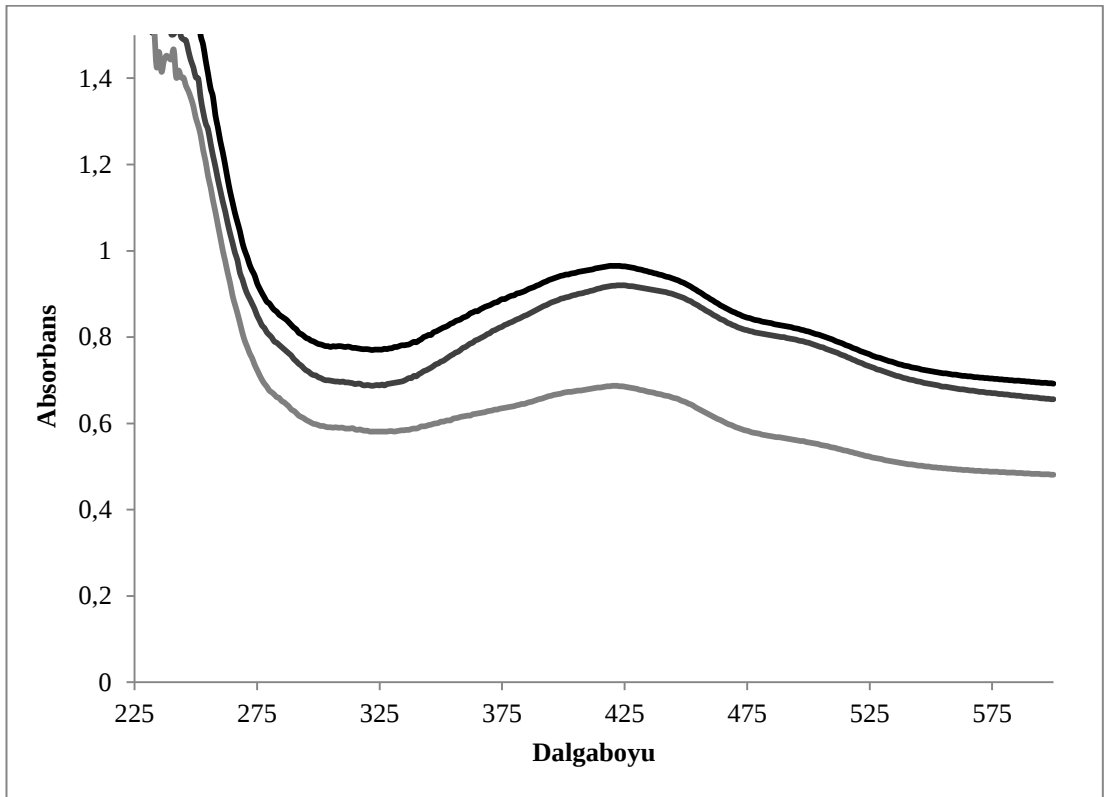
Şekil B.7 : pH 7, % 0,01'lik alj (Cargill)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.



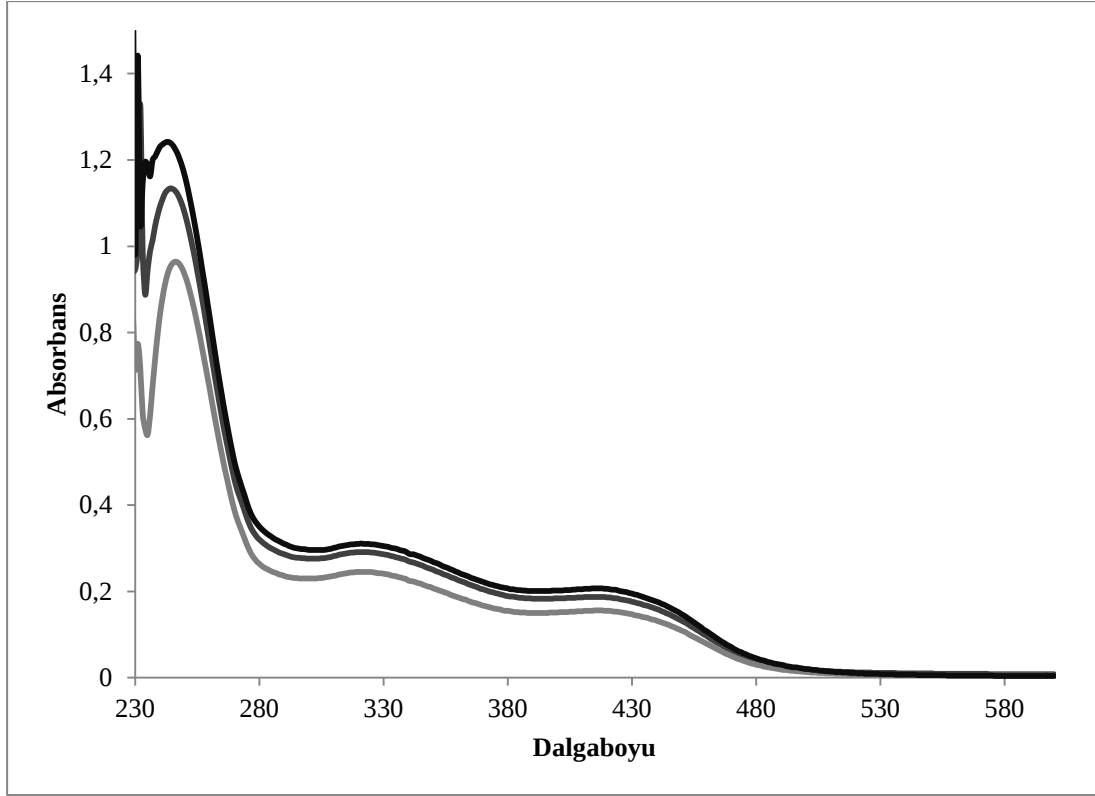
Şekil B.8 : pH 7, % 0,5'lik alj (Cargill)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.



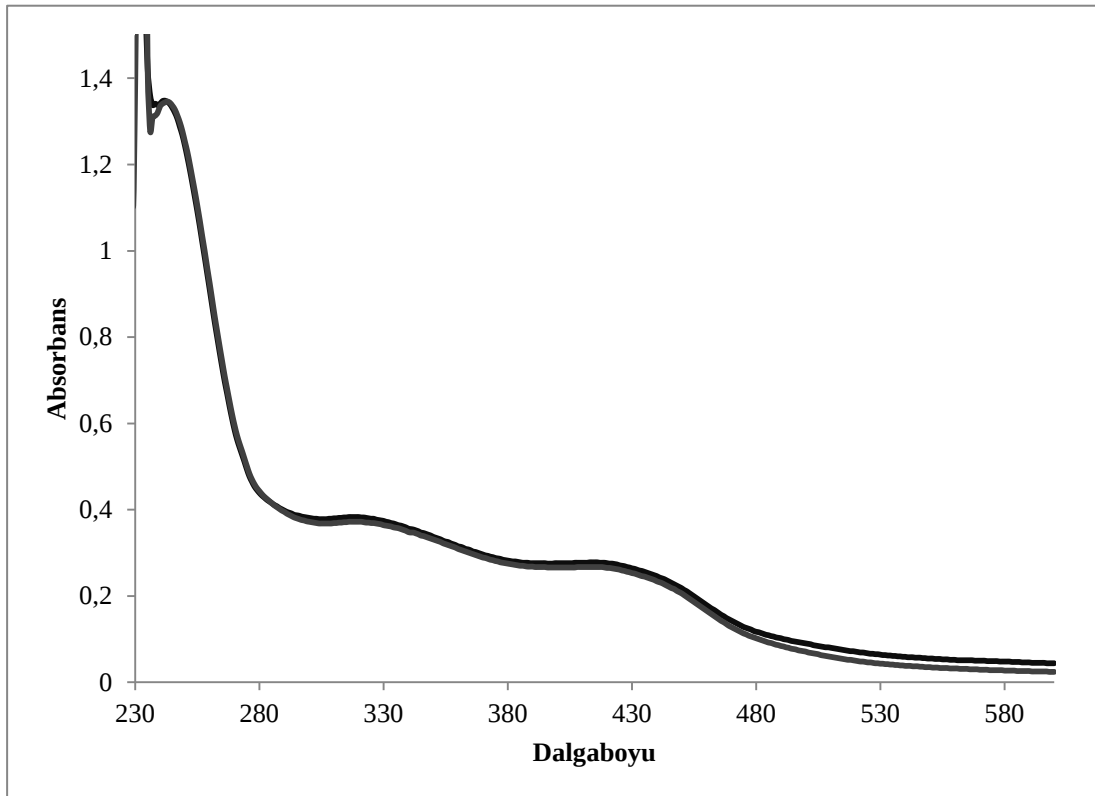
Şekil B.9 : pH 7, % 1'lik alj (Cargill)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.



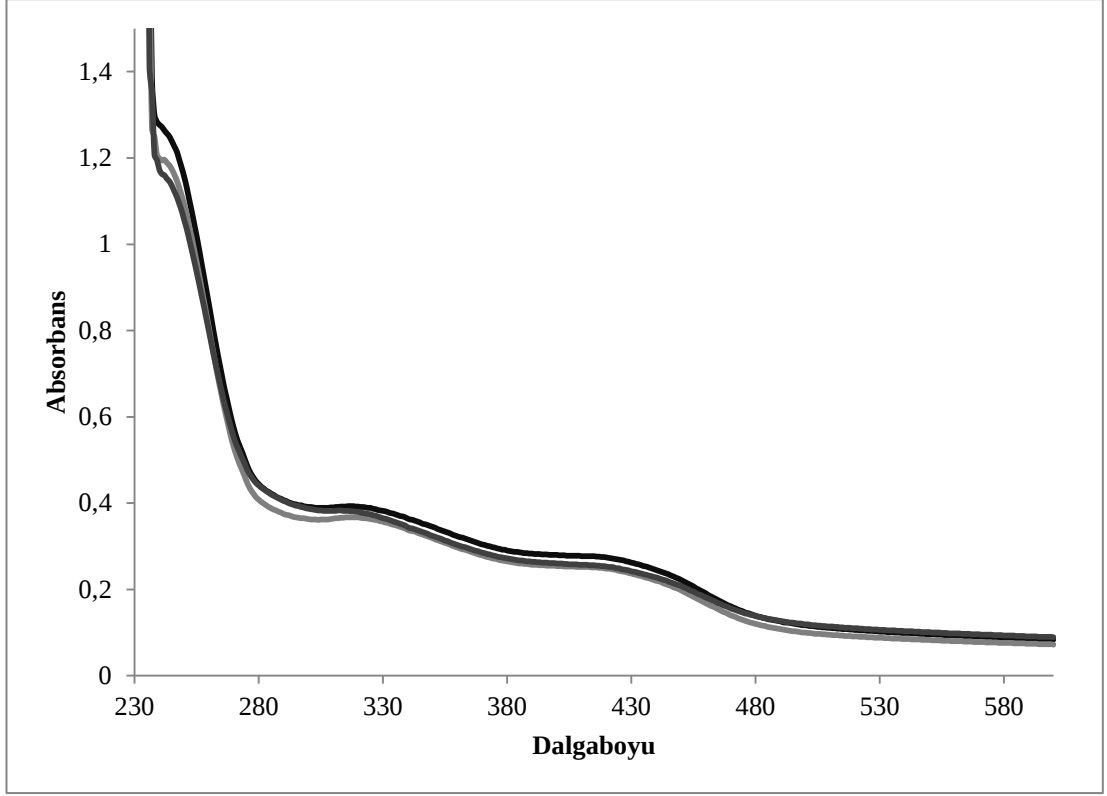
Şekil B.10 : pH 7, % 2'lik alj (Cargill)-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.



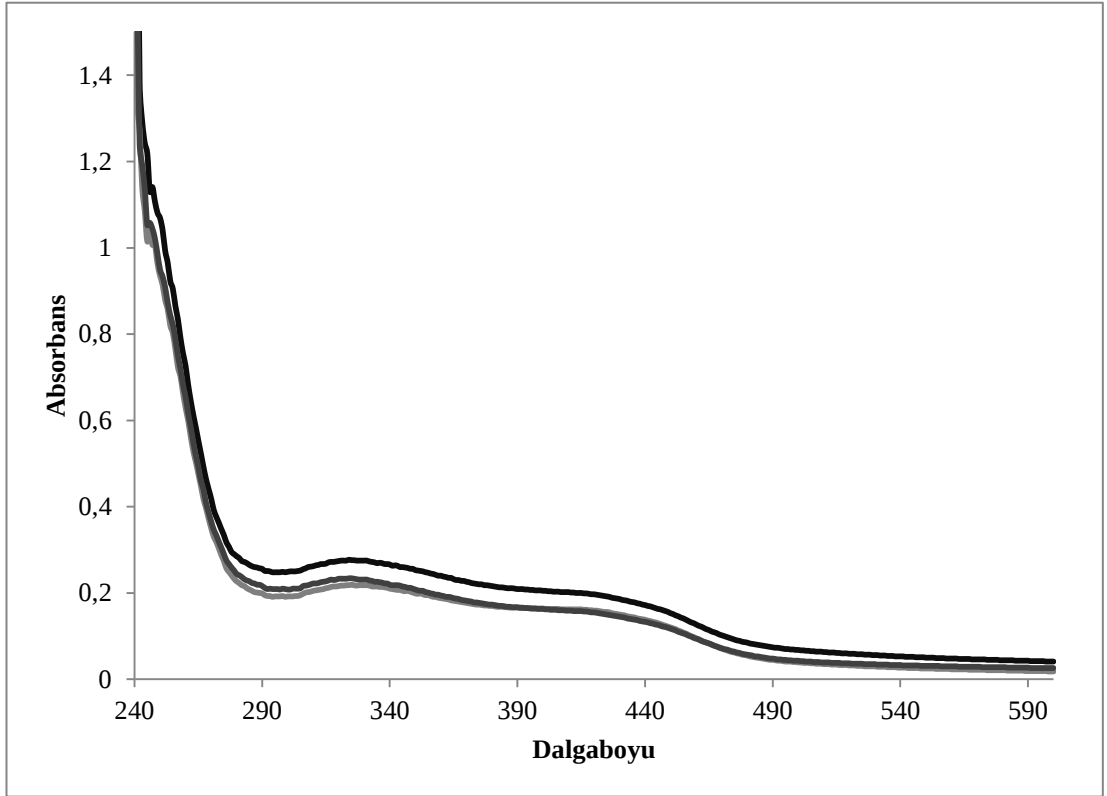
Şekil B.11 : pH 2,4, % 0,1’lik alj-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.



Şekil B.12 : pH 2,4, % 0,5’lik alj-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.

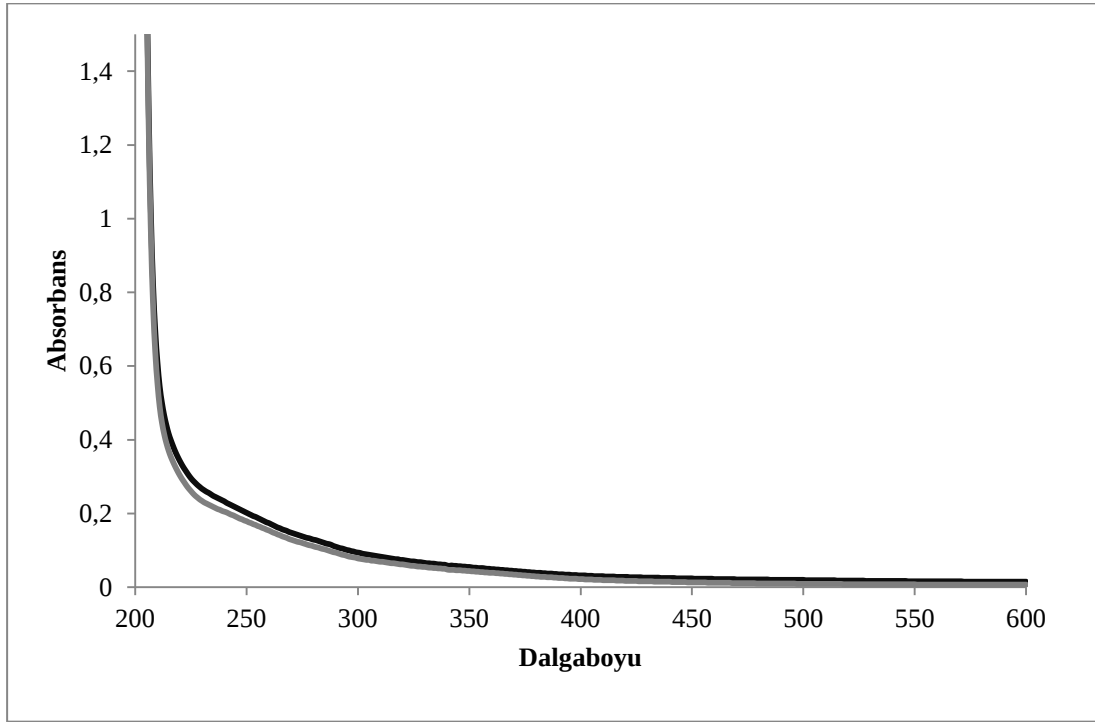


Şekil B.13 : pH 2,4, % 1'lik alj-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.

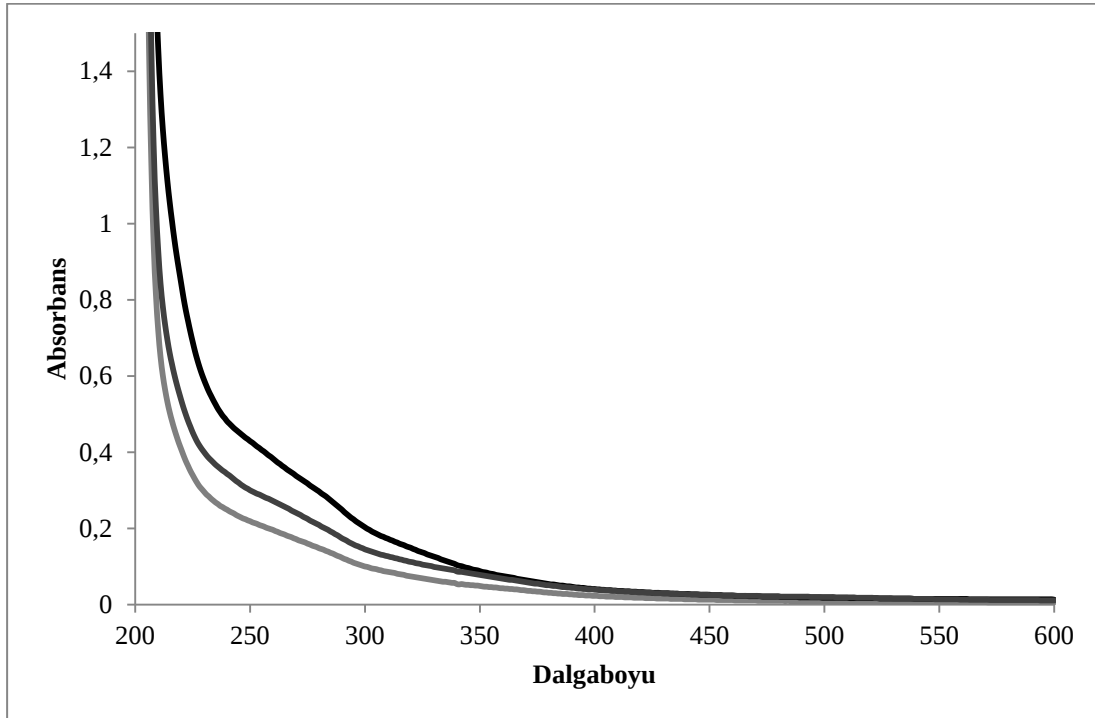


Şekil B.14 : pH 2,4, % 2'lik alj-kur çözeltisi UV-Vis spektrumu.

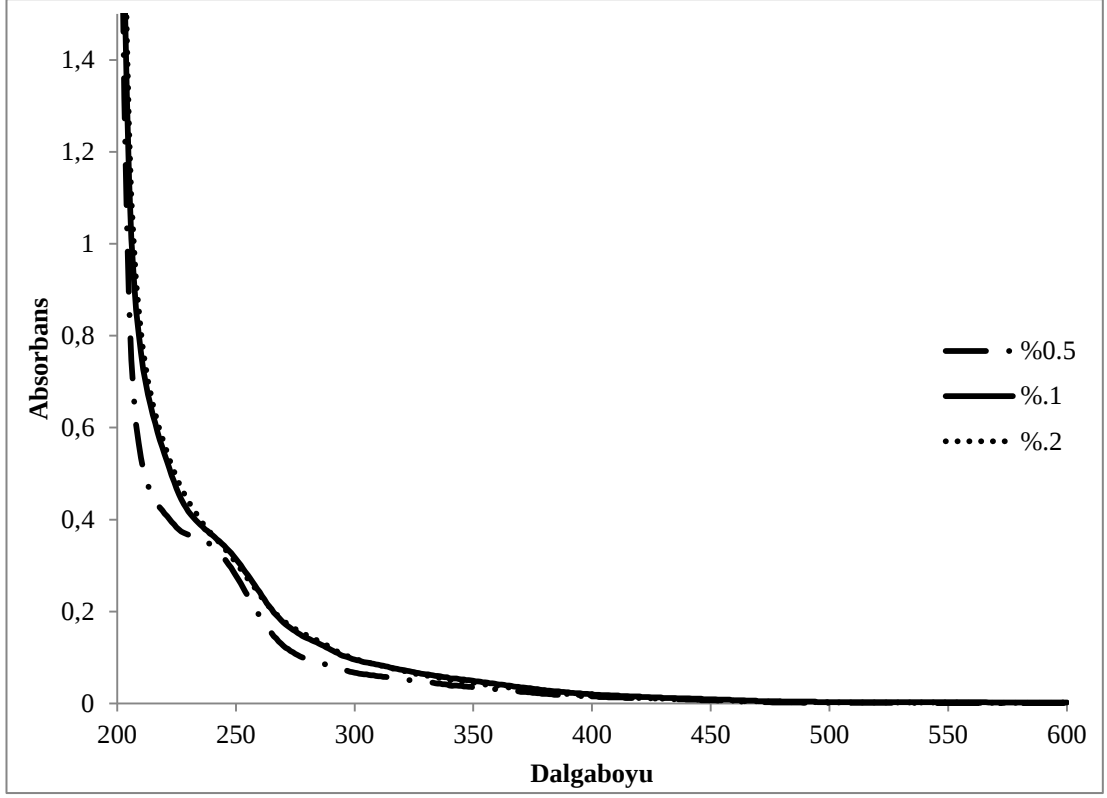
EK C



Şekil C.1 : pH 7, % 1'lik alj (Aldrich)-kur çözeltilisinin kürecik enkapsülasyon verimi UV-Vis spektrumu.



Şekil C.2 : pH 7, % 2'lik alj (Aldrich)-kur çözeltilisinin kürecik eldesi sonrası enkapsülasyon verimi UV-Vis spektrumu.



Şekil C.3 : pH 7, % 0,05 - 1 ve 2'lik alj (Cargill)-kur çözeltisinin kürecik eldesi sonrası enkapsülasyon verimi UV-Vis spektrumu.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : Nil Erge Akkaya

Doğum Yeri ve Tarihi : Edirne 01.01.1990

Adres : Zümrütevler Mah. Zeren Sok. Gülbahçe Apt. No: 23
Daire: 3 Maltepe/İSTANBUL

E-Posta : nergeakkaya@gmail.com

Lisans : İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya Bölümü