



# TIP TEKNO'17

TIP TEKNOLOJİLERİ KONGRESİ

12-14 Ekim 2017 / TRABZON

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Prof.Dr. Osman Turan Kongre Merkezi



Biyomedikal ve Klinik  
Mühendisliği Derneği



Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü  
Bilgisayar Mühendisliği Bölümü

Biyomalzeme 2

14 Ekim 2017 - 09.00-10.30 - Salon B

# Nişasta Nano Parçacıkların Elektro Püskürtme Yöntemi İle Vanilya Taşıyıcı Olarak Üretilmesi

## Production of Starch Nanoparticles by Electrospraying as a Delivery System for Vanillin

Zeynep Rüya Ege<sup>1,4</sup>, Aydın Akan<sup>2</sup>, Faik Nüzhet Otkar<sup>3,4</sup>, Cevriye Kalkandelen<sup>5,4</sup>, Oğuzhan Gündüz<sup>6,4</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Doktora Programı, Avcılar, İstanbul, Türkiye  
zruyadeveli@gmail.com

<sup>2</sup>İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, 35620, Çiğli, İzmir  
aydin.akan@ikc.edu.tr

<sup>3</sup>Marmara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, 34722, İstanbul, Türkiye  
foktar.biomaterials@gmail.com

<sup>4</sup>Marmara Üniversitesi, İleri Nano Malzeme Araştırma Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

<sup>5</sup>İstanbul University, Biyomedikal Cihaz Teknolojileri Programı Avcılar, İstanbul, Türkiye  
cevriye.kalkandelen@gmail.com

<sup>6</sup>Marmara Üniversitesi Teknoloji Fakültesi, Malzeme ve Metalurji Mühendisliği Bölümü., 34722, İstanbul Türkiye  
oguzhan@marmara.edu.tr

**Özetçe**—Son yıllarda polisakkarit biyo polimerler, sentetik polimerlere kıyasla daha hidrofilik yapı göstermeleri ve toksik olmadıklarından dolayı büyük ilgi görmektedir. Polisakkarit polimerler, biyouyumluluğu, yenilenebilir ve biyolojik olarak parçalanabilir özelliklerinden dolayı sentetik polimerlerin yerini almaya adaydır. Doğada oldukça fazla bulunan ve ucuz olan doğal polisakkarit nişasta, bitki dokularında bulunur ve enerji depolamak için yüksek yapılı bitkilerde üretilir. Bu çalışmada nişasta, Elektro püskürtme yöntemi ile nanopartikül olarak geliştirilmiştir. Tekdüze, düzgün dağılımlı saf nişasta nanopartikülünün üretilmesi için voltaj (15-25 kV), akış hızı (1-4 ml / saat) ve nişasta çözeltisinin konsantrasyonu (% 3.3-% 20) gibi elektrospreyleme parametreleri optimize edilmiştir. Vanilya, gıda endüstrisinde kokusu ile algı oluşturan büyüleyici bir gıda katkı maddesidir. Üretimi oldukça pahalıdır. Puding, krema, dondurma, kek, kurabiye, çikolata ve içecek gibi ticari gıdalar vanilya kullanımını gerektirir. Elektro püskürtme, çok ince tanecikli yapılar üretebilen yeni bir alternatif mikrokapsülasyon tekniği olduğundan, tek aşamada nişasta kaplı vanilya nanopartikülleri püskürtülmektedir. Bu çalışma ile nişastanın tükürükte bulunan amilaz enzimi ile parçalanması sonucunda içerisinden salınacak olan vanilyanın lezzet duyu kalitesi artırılmış olacaktır. Buna ek olarak, vanilyanın nişasta nanopartiküllere farklı oranlarda yüklenecek olması, ticari

olarak kolaylıkla temin edilebilir hale getirilmesini sağlayacak ve fiyat esnekliği oluşturacaktır.

**Anahtar Kelimeler** — Elektro püskürtme, Nişasta, Vanilya, Nanopartikül

**Abstract**—In recent years, polysaccharide biopolymers have attracted great interest due to being more hydrophilic and nontoxic in comparison with synthetic polymers. It's a new candidate for being substitute synthetic polymers owing to its biocompatible, renewable and biodegradable properties. The most abundant and inexpensive natural polysaccharide biopolymer starch is found in plant tissues and produced by mostly higher order plants as a means of storing energy. In this study, starch was developed as a nanoparticles by Electrospraying method. We optimized electrospraying parameters such as voltage (15-25 kV), flow rate (1-4 ml/h) and concentration of starch solution (%3.3-%16) for producing, uniform, monodispersity and pure starch nanoparticle. Vanillin, is a food additive, a fascinating substance that creates perception with the smell in the food industry. It's production is quite costly. Like pudding, cream, ice-cream, angel-cake, cookies, chocolate, and beverages commercial foods require to use vanilla. Since



## Biyomalzeme 2

14 Ekim 2017 - 09.00-10.30 - Salon B

**Electrospraying is a novel alternative microencapsulation technique which can generate very fine particulate structures in a one-step process, vanillin was sprayed –coated by starch nanoparticles. So, vanillin flavor sensory quality will be enhanced by releasing vanillin by the amylase enzyme that found in saliva. In addition, the loading of vanilla is done at different rates to make it commercially easy available and optional for price flexibility.**

**Keywords — Electrospraying, Starch, Vanillin, Nanoparticle**

### I. GİRİŞ

Elektrostatik atomizasyon veya Elektro püskürtme olarak da bilinen Elektro hidrodinamik atomizasyon (EHDA), toplayıcı ile iğne arasında akan akışkana uygulanan elektrik potansiyel prensibine dayanır [1]. Elektro püskürtmeye maruz bırakılan akışkan yüksek potansiyel (kV) altında ince damlacıklar halinde saçılmaya zorlanır. Elektro püskürtme yönteminin mekanik atomizasyonlara göre oldukça fazla avantajları bulunmaktadır. Bu yöntemle boyut dağılımı neredeyse eşit, nano metreden mikro metreye değişen boyut aralığında çapa sahip damlacıklar üretilebilmektedir [2]. Damlacıkların oluşumu, boyutu gibi karakteristik özellikler sistemde sıvı akış hızı, uygulanan voltaj gibi parametrelerle kontrol edilebilir. Ayrıca Elektro püskürtme tekniği ile elde edilen damlacıkların, elektrik alanın etkisiyle toplama levhasına yönlendirilmesi yüksek bir birikim verimliliğini sağlamaktadır [3]. Sentetik polimer nano partiküller dışında polisakkarit nano partiküller de kolayca üretilebilir. Kolajenden sonra, dünyadaki en bol polisakkarit nişastadır. Doğal ve yenilenebilir biçimi nedeniyle kağıt, tekstil, plastik, gıda ve ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Nişastanın yeryüzünde bol miktarda bulunması, düşük maliyetli ve biyolojik olarak parçalanabilen - biyoyumlu yapıya sahip olması akademi alanında ve endüstride araştırılma potansiyeli doğurmaktadır. Spesifik nişasta, doğal nişasta üzerinde fiziksel-kimyasal teknikler veya enzimatik değişiklikler uygulanması halinde imal edilebilir. Ancak nano ölçekli, tek tip nişasta partikülleri elde etmek için, Elektro püskürtme prosesleri mükemmel bir yöntemdir [4]. Endüstriyel nişasta, toz halinde oldukça uçucu bir yapıya sahiptir ve çok geniş bir alanı kaplar, bu nedenle saklama koşulları zordur.

Son zamanlarda, lezzet muhafazası, gıda endüstrisinde oldukça yaygın bir teknik haline gelmiştir. Gıda sanayinde özellikle yaş pasta, kek, kurabiye, çikolata, dondurma ve içeceklerde tat artırıcı olarak kullanılan ve müşterileri kokusu ile büyüleyen vanilya, tropik vanilya bitkisinin fasulye ve bakla kısmında üretilmektedir bu nedenle üretimi oldukça maliyetlidir [5].

Bu çalışmada vanilyanın kapsülasyonu ve uygun ortamda salınmasını sağlamak hedeflenmiştir. Genellikle nişasta ile birlikte kullanılan vanilya, bu çalışmada nişasta nano partiküllere farklı oranlarda yüklenecektir. Böylece

pazardaki farklı ihtiyaçlara karşılık fiyat esnekliği sağlanacaktır. Tükürükte bulunan amilaz enzimi ile parçalanabilen nişastanın kontrollü salımı da incelenecektir

### II. GEREÇLER VE YÖNTEM

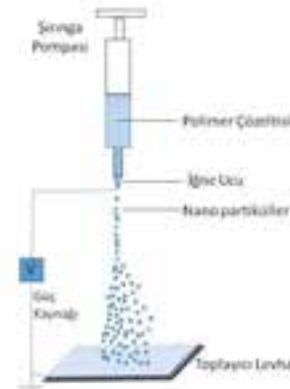
#### 2.1 Elektro püskürtme Solüsyonunun Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Elektro püskürtme solüsyonu, nişastanın (% 73 amylopectin ve % 27 amylose Sigma-Aldrich) kaynayan su banyosunda % 95 (v/v) sulu DMSO (Dimethyl sulfoxide - Merck, USA) çözeltisi içerisinde manyetik karıştırıcı ile yaklaşık bir saat güçlü bir şekilde karıştırılması ile hazırlanmaktadır. Nişasta solüsyonu %3.3, %6.6, %10, %13.3, %16.6 ve %20 (w/v) olmak üzere farklı oranlarda hazırlanmıştır.

Elektro püskürtme öncesinde solüsyonların viskozite, yoğunluk, yüzey gerilimi ve elektrik iletkenliği gibi fiziksel testleri yapılmıştır. Yoğunluk ölçümü standart DIN ISO 3507-Gay-Lussac (Boru Cam, 10 ml., Türkiye) şişesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yüzey gerilimini tespit edebilmek için güç tensiyometresi (Biolin Scientific, Sigma 703D, Finlandiya) kullanılmıştır. Ölçüm metodu olarak standart Wilhelmy methodu uygulanmıştır. Her solüsyonun viskozitesi, viskozimetre (Brookfield, DV-E, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Elektrik iletkenlik ise taşınabilir iletkenlik ölçer (WTW, Cond 3110, Almanya) ile tespit edilmiştir. Tüm ölçümler laboratuvarımızda hali hazırda bulunan doğru kalibre edilmiş cihazlarda ve oda sıcaklığında yapılmıştır.

#### 2.2 Elektro püskürtme Yöntemi

Elektro püskürtme teknolojisi basitçe elektrik alan altında katı kalıntıların birikiminden damlacık oluşumuna dayanır. Damlacık oluşumu ve boyutu voltaj, akış hızı ve iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe gibi parametrelerin optimizasyonu yolu ile kontrol edilebilir (Şekil 1).



Şekil 1. Elektro püskürtme sisteminin şematik çizimi

## Biyomalzeme 2

14 Ekim 2017 - 09.00-10.30 - Salon B

Elektro püskürtme yöntemi ile nano boyutta tekdüze nano partikülleri elde etmek için 3 parametrenin optimizasyonu yapıldı. Püskürtme solüsyonunun da bulunan nişastanın miktarı (%3.3-%20 w/v), sisteme uygulanan voltaj (15-25 kV) ve solüsyonun akış hızı (1-4 ml/h). Bütün deneyler oda şartlarında gerçekleştirildi.

### 2.3 Morfolojik ve Atomik Karakterizasyon

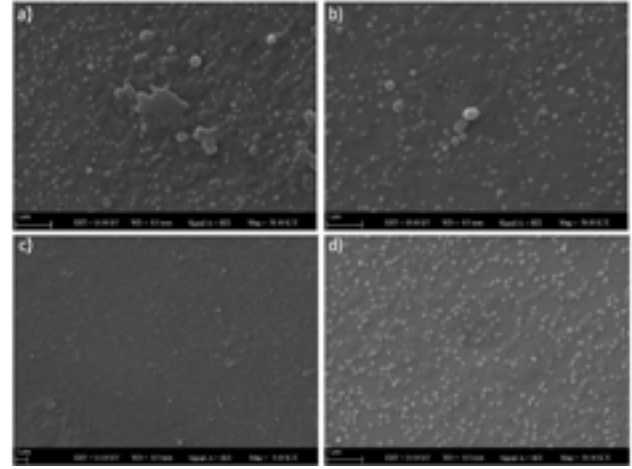
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile nano partiküllerin yüzey analizi yapılmıştır. FT-IR analizleri ile nano partiküllerin atomik karakterizasyonu incelenmiştir.

### 2.4 Vanilya Yükleme ve Kontrollü Salımı

Farklı oranlarda (1mg/ml) 100µL ve 150 µL vanilya, Elektro püskürtme uygulamasında optimize edilen en iyi nano partikül oluşum parametrelerine uygun olan nişasta miktarı üzerine yüklenmiştir. Vanilya yüklü nişasta solüsyonu ile elektro püskürtme yapılarak elde edilen nano parçacıkların vanilya salımını gerçekleştirilmesi için amilaz enzimi tükürük ile salım ortamına eklenmiştir. 0, 5, 15, 25, 35 ve 45, dk şeklinde belirlenen salım süreleri sonunda 3000 rpm ile santrifüj yapılarak süpernatant çekilmiş ve UV spektrometre ile analiz yapılmıştır. Her defasında çekilen süpernatant yerine taze de iyonize su konularak tüm sürelerde deney tekrarlanmıştır. Hesaplamalarda bir önce ki salınan miktar toplamları sonrakilere eklenerek kümülatif salım grafiği çizilmiştir. Yüklenen vanilya oranının zamana bağlı olarak nişasta nano partiküllerinden salım miktar tayini için kalibrasyon eğrisinden yararlanılmıştır. Vanilya'nın karakteristik iki piki (203 nm ve 229,5 nm) bulunmaktadır. Kontrollü salım analizi her bir vanilya oranı için (100µL ve 150 µL) tekrar edilmiştir.

## III. SONUÇLAR VE YORUM

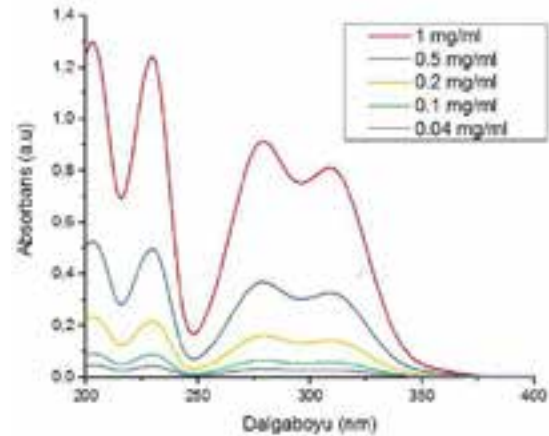
Elektro püskürtme parametrelerinden solüsyonun akış hızı 1-4 ml/saat aralığında, uygulanan elektrik alan 15-25 kV aralığında ve solüsyonun yoğunluğu %3.3- %20 aralığında farklı uygulamalarla optimize edildi ve en iyi nano partikül yapısını oluşturan parametreler optimize edildi. %20 oranında nişasta içeren solüsyonun 25 kV potansiyel altında, 4ml/saat akış hızıyla elektro püskürtülülen nişasta nanoparçacıklar diğer parametrelerde elde edilen nano parçacıklara oranla daha iyi sonuç vermiştir. Şekil 2'de Elektro püskürtme deneylerinden aynı konsantrasyon (%20) ve akış hızında (4ml/saat) farklı voltaj uygulamalarından (15-25 kV) elde edilen nano partiküllerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile elde edilen görüntüleri verilmiştir.



Şekil 2. %20 nişasta içeren solüsyonun elektro püskürtme yöntemi ile 4 (ml/h) akış hızı ve farklı potansiyel fark uygulanarak elde edilen nano partikül yapıları a)15 kV b) 20 kV c) 25 kV düşük büyütmeye d) 25 kV yüksek büyütmeye

Şekil 2' de görüldüğü gibi düşük voltaj uygulamaları nano boyutta ve homojen yayımlı nano parçacık elde etmeye yeterli değildir. 25 kV potansiyel fark uygulanarak üretilen nişasta nanopartiküllerin tekdüze ve homojen yayılıma sahip olduğu oldukça açıktır.

Üretimi gerçekleştirilen vanilya yüklü nano boyuttaki nişasta parçacıklarına vanilya (1mg/ml) farklı oranlarda yüklenmiştir. Yükleme sonrası salımı yapılacak olan vanilyanın kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Bunun için 1 mg vanilya 1 mL distile suda çözülerek stok çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra beş farklı konsantrasyon değerine dilute edilmiştir. Şekil 3'de vanilyanın su da çözünmesi ile hazırlanan farklı konsantrasyonlarından alınan UV analizleri gösterilmiştir.



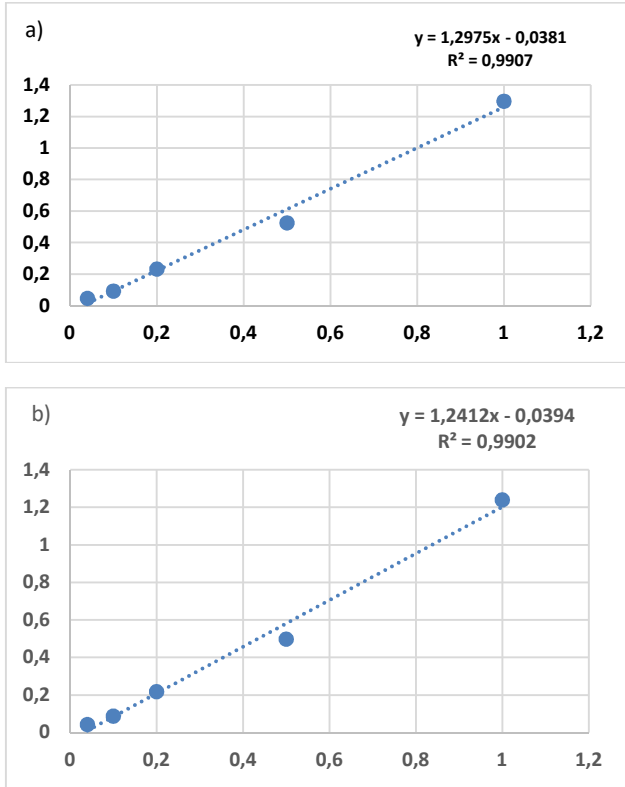
Şekil 3. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan vanilya çözeltilerinden alınan UV spektrumları.

## Biyomalzeme 2

14 Ekim 2017 - 09.00-10.30 - Salon B

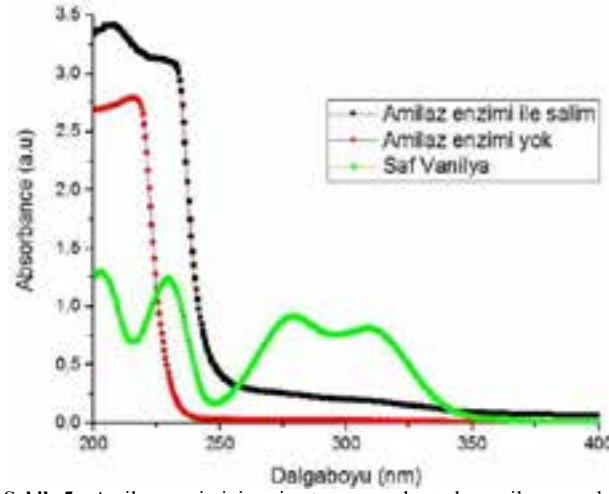
Vanilyanın su içerisinde çözündürülerek çizilen kalibrasyon eğrileri ile 203 nm, 229,5 nm’ de pik değerleri gözlemlenmiştir. Şekil 4’de kalibrasyon eğrileri verilmiştir.

Vanilya yüklü nişasta nanopartikülleri ile hazırlanan çikolata, dondurma, pasta gibi yiyecek ve içeceklerin ağıza alındığı an itibari ile nişastanın ağızda tükürükte bulunan amilaz enzimi ile biyobozunmaya uğraması yoluyla vanilya salımı gerçekleşecektir.



Şekil 4. Vanilya kalibrasyon eğrileri a) 203 nm b)229,5 nm

Şekil 5’ de verilen UV analizi, amilaz enzimi etkisiyle vanilyanın nişasta içerisinde salımının gerçekleştiğini ortaya koymaktadır. Saf vanilyadan elde edilen UV spektrumunda 203 nm ve 229.5 nm de ortaya çıkan pik değerleri tükürük ile karıştırılarak salım çalışması yapılan nişasta-vanilya solüsyonundan alınan spektrumda da elde edilmiştir.



Şekil 5. Amilaz enziminin nişastayı parçalayarak vanilyayı serbest bıraktığını gösteren UV spektrometre Analizi.

İnsan tat duyularında hoş bir aroma bırakacak olması yönüyle vanilya yüklü nanopartiküllerin gıda endüstrisinde oldukça fazla dikkat çekeceği düşünülmektedir. Ayrıca tropikal vanilya bitkisinden vanilya eldesinin oldukça zor olması sebebiyle farklı oranlarda vanilyanın nişastaya yüklenmesi gıda endüstrisinde farklı ihtiyaçlara karşılık vereceğinden fiyat esnekliği sunacaktır.

## KAYNAKÇA

- [1] Eltayeb, M. Bakhshi, P.K. Stride, E. Edirisinghe, M., "Preparation of solid lipid nanoparticles containing active compound by electrohydrodynamic spraying" *Food Research International.*, Vol. 53, 2013, p 88–95.
- [2] Jaworek, A. Sobczyk A. T., "Electrospraying route to nanotechnology: An overview" *Journal of Electrostatics*, Vol. 66, 2008, p.197–219.
- [3] Pareta, R. Edirisinghe, M.J., "A novel method for the preparation of starch films and coatings" *Carbohydrate Polymers*, Vol. 63, 2006, p. 425–431.
- [4] Liu, J. G. Gu, Z, Hong, Y. Cheng, L. Li, C., "Electrospun starch nanofibers: Recent advances, challenges, and strategies for potential pharmaceutical applications", *Journal of Controlled Release*, Vol. 252, 2017, pp. 95–107.
- [5] Y. Yardım, M. Gulcan, Z. Senturk, "Determination of vanillin in commercial food product by adsorptive stripping voltammetry using a boron-doped diamond electrode", *Food Chemistry*, Vol. 141, pp.1821–1827, 2013.