



Genipin ile çapraz bağlı nanokapsüllerin sentezi ve karakterizasyonu

Synthesis and characterization of genipin-crosslinked nanocapsules

Şeyma Çağlar¹ , Deniz Akın Şahbaz^{2,*} 

^{1,2} Pamukkale Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, 20070, Denizli Türkiye

Öz

Yapılan çalışmada doğal bir çapraz bağlayıcı olan genipin kullanılarak sığıla esansiyel yağının jelatin ve Arap zamkı ile nanoenkapsülasyonu amaçlanmıştır. Sentez sürecinde kompleks koaservasyon yöntemi kullanılarak ilk olarak sığıla yağı jelatin ve Arap zamkı duvar materyalleri ile kaplanmış ve daha sonrasında farklı miktarlarda (150, 250, 350 ve 450 mg) genipin kullanılarak çapraz bağlanması sağlanmıştır. Elde edilen nanokapsüllerin toplam yağ, yüzey yağı ve enkapsülasyon etkinlik değerleri analiz edilmiştir. Genipin miktarının artışı ile nanokapsüllerin yüzey yağ miktarlarında azalış gözlenirken, toplam yağ ve enkapsülasyon etkinlik değerlerinde artış gözlemlenmiştir. 450 mg genipin kullanımı ile %91.78 enkapsülasyon etkinlik değerine sahip nanokapsüller elde edilmiş olup, bu nanokapsüllerin yapısal, morfolojik ve termal özelliklerinin incelenmesi için sırasıyla FTIR, FESEM, TGA ve DSC analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar sığıla yağının jelatin ve Arap zamkı ile nano boyutta başarılı bir şekilde kaplandığını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Nanoenkapsülasyon, Çapraz bağlanma, Genipin, Kompleks koaservasyon, Sığıla yağı

1 Giriş

Esansiyel yağlar, aromatik, antioksidan, antimikrobiyal ve nutrasötik özellikler başta olmak üzere çeşitli biyolojik aktivitelere sahip uçucu ve uçucu olmayan moleküllerin kompleks karışımlarından oluşmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle esansiyel yağlar tarım, gıda ve ilaç endüstrilerinde çok sayıda potansiyel uygulamaya alanına sahiptir. Ancak, hidrofobik yapıları, kimyasal kararsızlıkları ve uçuculukları çoğu uygulama için zorluk teşkil etmektedir. Bu zorluklar genellikle esansiyel yağların kapsülasyonu ile aşılmaktadır [1].

Kapsülleme, aktif maddelerin çevresel etkenlerden korunması ve salımının kontrol edilebilmesi amacıyla inert bir kaplama materyali içine alma işlemidir. Kapsülleme, ilaç taşıyıcı sistemlerde [2], zirai kimyada [3], gıda endüstrilerinde [4], kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde [5] geniş uygulamaları olan bir teknolojidir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda, mikro ve nano olmak üzere iki tip kapsülleme prosesi kullanılmaktadır. Nanoenkapsülasyon, çeşitli maddelerin nano ölçekteki boyutlarda başka bir malzeme ile kaplanması iken, mikroenkapsülasyon ise daha büyük çekirdek materyalin mikro boyutlarda kaplanması

Abstract

In this study, it was aimed to nanoencapsulate sweetgum essential oil with gelatin and gum arabic using genipin, a natural cross-linker. In the synthesis process, firstly, sweetgum oil was coated with gelatin and gum Arabic wall materials using the complex coacervation method, and then cross-linked using different amounts of genipin (150, 250, 350 and 450 mg). Total oil, surface oil, and encapsulation efficiency of the obtained nanocapsules were analyzed. With the increase in the amount of genipin, a decrease was observed in the surface oil content of the nanocapsules, while an increase was observed in the total oil and encapsulation efficiency values. Nanocapsules with an encapsulation efficiency value of 91.78% were obtained by using 450 mg genipin, and FTIR, FESEM, TGA, and DSC analyzes were performed to examine the structural, morphological and thermal properties of these nanocapsules, respectively. The results show that sweetgum oil is successfully coated with gelatin and gum Arabic at nanoscale.

Keywords: Nanoencapsulation, Cross-linking, Genipin, Complex coacervation, Sweetgum oil

işlemdir [6]. Emülsifikasyon [7], kompleks koaservasyon [8], püskürtürerek kurutma [9], püskürtürerek soğutma [10], dondurarak kurutma [11], akışkan yataklı kaplama ve ekstrüzyon yöntemleri [12] nano ve mikrokapsüllerin üretiminde sıklıkla kullanılan yöntemlerdir. Bu yöntemler arasında kompleks koaservasyon yöntemi yüksek kapsülleme verimliliği, düşük oranda biyopolimer kullanımı ve proses koşullarının kolaylığı nedeniyle daha çok tercih edilmektedir.

Kompleks koaservasyon, iki veya daha fazla zıt yüklü biyopolimerin (genellikle proteinler ve/veya polisakkaritler) elektrostatik etkileşimler ile koloidal bir yapı oluşturduğu bir prostestir. Bu teknoloji, esansiyel yağlar gibi lipofilik aktif bileşenleri kapsüllemek için endüstriyel olarak yaygın olarak kullanılmaktadır [1].

Nano ve mikrokapsüller genellikle düşük termo-mekanik özellik göstermektedir. Bu nedenle bu hidrofilik kapsüllerin sentez aşamasında çapraz bağlanması gerekir. Ayrıca, polimerik mikro/nanokapsüllerin çeşitli çapraz bağlayıcılar ile çapraz bağlanması, bozunma hızlarını ve hidrasyon potansiyellerini sınırlamakta ve böylece daha uzun süreli salım davranışı sergileyebilmektedir [13]. Literatür

* Sorumlu yazar / Corresponding author, e-posta / e-mail: dsahbaz@pau.edu.tr (D. Akın Şahbaz)

Geliş / Received: 31.10.2022 Kabul / Accepted: 04.05.2023 Yayınlanma / Published: 15.07.2023

doi: 10.28948/ngumuh.1196886

çalışmalarında genellikle formaldehit [14], glutaraldehit [15], glioksal [16], diizosiyanat, epiklorohidrin [17] gibi kimyasal çapraz bağlayıcılar kullanılmakta olup, bu çapraz bağlayıcılar toksik etki göstermesi nedeniyle kapsüllerin biyolojik alandaki uygulamalarını kısıtlamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, doğal bir çapraz bağlayıcı olan genipin kullanımı dikkat çekmektedir [18].

Genipin, *Gardenia jasminoides* and *Genipa americana* L. meyvelerinin ekstraksiyonu ile ana bileşiği geniposidden elde edilmektedir. Genipin amino asitler ve proteinler ile kendiliğinden reaksiyona girerek koyu mavi pigmentler oluşturmaktadır [19].

Genipin'in biyolojik dokularda çapraz bağlama özelliği ilk olarak 2000 yılında keşfedilmiştir. Biyogüvenirliliği ve spesifik çapraz bağlama yeteneği sayesinde günümüzde önemli bir molekül haline gelmiştir [20]. Literatür çalışmalarında genipin özellikle doku mühendisliği alanında kolajen bazı biyomalzemelerin sentezinde [21, 22], pervaporasyon uygulamalarına yönelik membran üretiminde [23], kontrollü ilaç salım sistemlerinde [24, 25], biyomedikal malzemelerin üretiminde [26], enzim immobilizasyon uygulamalarında [27, 28] çapraz bağlayıcı olarak kullanılmaktadır. Genipinin sitotoksitesisi sıklıkla kullanılan glutaraldehit çapraz bağlayıcının sitotoksitesisinin sadece %0.01 kadardır ve *in vivo* biyogüvenirliliği literatür çalışmalarında kapsamlı bir şekilde gösterilmiştir [20].

Sıgla esansiyel yağı Muğla ilimizde yetişen endemik bir tür olan Günlük ağacı (*Liquidambar orientalis*) balzamının alkol ekstraksiyonu ve ekstraktın destilasyonu yöntemleri ile elde edilmektedir [29]. Çok iyi antiseptik, antibakteriyal, antifungal, antiparazit ve antioksidan özellik göstermektedir [30]. Bu özellikleri nedeniyle deri doku mühendisliği [31], medikal tıp [32,33], kozmetik [34], eczacılık [35] vb. alanlarda kullanım potansiyeline sahiptir.

Literatür çalışmalarında ardıç [36], leylak [37] gül [38], portakal [39], çay ağacı [40], zencefil [41,42], hardal [43], yıldız anason [44], oregano [45], *Thymus capitatus* [46], zufa otu [47] vb. çeşitli bitkilerden elde edilen esansiyel yağların enkapsülasyonuna yönelik çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak sıgla yağının enkapsülasyonuna yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Sıgla yağının mikro/nanoenkapsülasyonu; kimyasal, antimikrobiyal, antioksidan, antifungal ve antitoksijenik özelliklerinin korunması ve çevre koşullarına karşı dayanıklılığının artırılması açısından önemlidir. Kapsüllemiş sıgla yağı, işlem görmemiş sıgla yağına nazaran tekstil, kozmetik, gıda, ilaç vb. birçok sektörde daha geniş kullanım alanı oluşturabilme potansiyeline sahiptir.

Yapılan bu çalışmada doğal bir çapraz bağlayıcı olan genipin kullanılarak ülkemiz için ekonomik bir değere sahip olan sıgla yağının jelatin ve Arap zamkı ile nanoenkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Sentez sırasında farklı miktarlarda kullanılan genipin miktarının nanokapsüllerin yüzey yağı, toplam yağ ve enkapsülasyon etkinliği üzerine etkisi incelenmiştir. Ayrıca elde edilen nanokapsüllerin yapısal, morfolojik ve termal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla sırasıyla FTIR, FESEM, TGA ve DSC analizleri yapılmıştır.

2 Materyal ve metot

2.1 Materyal

Nanokapsüllerin sentezinde kaplama materyali olarak jelatin (Alfasol) ve Arap zamkı (Alfasol), çapraz bağlayıcı olarak genipin (%99.85, BLDpham) kullanılmıştır. Çözelti pH'ı hidroklorik asit (HCl, %37, J.T. Baker) ve sodyum hidroksit (NaOH, J.T. Barker) çözeltileri ile ayarlanmıştır. Nanokapsüllerin yüzey yağ ve toplam yağ miktarları belirlenmesinde hekzan ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$, Merck) ve izopropanol ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, Merck) kullanılmıştır.

Çekirdek madde olarak kullanılan sıgla (*Liquidambar orientalis* Miller) yağı Muğla Köyceğiz firmasından temin edilmiş olup, %65.58 sinnamil sinnamat, %19.89 m-metil sitiren, %4.57 sinnamik asit, %2.79 asetosinnamon, %2.47 1-fenil-3-trimetilsililoksi, %0.84 3-fenil propanol ve %0.56 4-hidroksi sinnamil alkol içermektedir.

2.2 Genipin ile çapraz bağlı nanokapsüllerin sentezi

Nanokapsüllerin sentezi için kompleks koaservasyon yöntemi kullanılmıştır [1]. Sentez aşamasında ilk olarak, %3 (a/a)'lük 200 mL jelatin çözeltisi hazırlanmış ve manyetik karıştırıcı (Isolab Laborgerate GmbH, Almanya) ile 40°C ve 1000 rpm'de karışmakta olan jelatin çözeltisi içerisine 5 g sıgla yağı ilave edilmiştir. 10 dakika karıştırma işlemi sonrasında karışım ultrasonikatör (Bandelin, HD4100, Almanya) kullanılarak 20 dakika ultrasonik işleme (20 kHz ve %50 amplitude) tabi tutulmuş ve yağ damlacıklarının sulu faz içerisinde emülsiyonu sağlanmıştır. Ultrasonikasyon sonrası, emülsiyon içerisine ikinci kaplama polimeri olarak %2 (a/a)'lik 50 mL Arap zamkı çözeltisi ilave edilmiş ve karışımın pH değeri HCl çözeltisi (0.5 M) kullanılarak 4.0-4.5 olacak şekilde ayarlanmıştır. pH dengesi sağlandıktan sonra karışımın sıcaklığı buz banyosuna kullanılarak yavaş yavaş 10°C'ye kadar düşürülmüştür. 10°C sıcaklığa ulaşan karışımın pH'ı %10'luk NaOH çözeltisi ile 10'a ayarlanmıştır. Çapraz bağlama aşamasında karışım içerisine farklı miktarlarda genipin (150 mg, 250 mg, 350 mg ve 450 mg) ilave edilmiştir. Çapraz bağlama işlemi 45°C'de 8 saat çalkalamalı su banyosunda gerçekleştirilerek polimerler arasında çapraz bağların oluşumu sağlanmıştır. Bu sürenin sonunda elde edilen nanokapsüllerin sulu fazdan ayrımı için santrifüj cihazı (Nuve, NF 400, Türkiye) kullanılarak 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemi yapılmış ve son olarak elde edilen nanokapsüller etüvde (Natural Convection Oven, JSON-100, Kore Cumhuriyeti) 50°C'de kurutulmuştur. 150 mg, 250 mg, 350 mg ve 450 mg genipin kullanılarak çapraz bağlanan nanokapsüller sırasıyla 150G_nanokapsül, 250G_nanokapsül, 350G_nanokapsül ve 450G_nanokapsül olarak adlandırılmıştır.

2.3 Yüzey yağı, toplam yağ ve enkapsülasyon etkinliğinin belirlenmesi

Nanokapsüllerin içerdiği toplam yağ oranlarının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda ilk olarak 0.5 g nanokapsül üzerine 4.0 ml HCl ilave edilmiş ve nanokapsül yapılarının parçalanarak sıgla yağının serbest kalması amacıyla 10 dakika boyunca şiddetli karıştırma işlemi yapılmıştır. Bu işlem sonrası üzerine 15.0 ml hekzan:izopropanol (3:1 v/v) karışımı eklenerek yağ fazın

çözücü faza ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve sonrasında karışıma 4000 rpm 10 dakika santrifüjleme yapılmıştır. Santrifüj işleminden sonra üst faz (renksiz faz) beher içerisinde toplanmıştır. Nanokapsüller üzerine tekrardan 10 ml hekzan:izopropanol karışımı eklenilmiş ve santrifüjleme yapılmıştır. Santrifüj işleminden sonra üst faz tekrardan beher içerisine alınmıştır. Bu işlem bir kez daha tekrarlanmıştır. Beher içerisinde toplanan solvent 80°C’de buharlaştırılmıştır. Buharlaştırma işlemi sonrası beherin dolu ve boş tartım farkı alınarak toplam yağ miktarı hesaplanmıştır.

Nanokapsüllerin yüzey yağ miktarlarının belirlenmesinde; 0.1 g nanokapsül üzerine 15 ml hekzan eklenmiş ve 2 dakika hafif bir şekilde çalkalama işlemi yapılmıştır. Nanokapsüllerin solvent fazdan ayrımı için süzme işlemi yapılmıştır. Filtre kağıdı üzerindeki numune 2 defa 10 mL hekzan ile yıkanarak süzümüştür. Bu işlemlerin ardından beher içerisinde toplanan solvent 70°C’de buharlaştırılmıştır. Solvent uzaklaştıktan sonra beher içerisinde kalan yağ miktarı tartılarak yüzey yağ miktarı gravimetrik olarak hesaplanmıştır [8].

Nanokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği toplam yağ ve yüzey yağ miktarları kullanılarak Denklem (1)’e göre hesaplanmıştır [48]:

$$\% \text{ Enkapsülasyon Etkinliği} = \frac{w_t - w_s}{w_t} \times 100 \quad (1)$$

w_t ve w_s sırasıyla nanokapsüller içerisindeki toplam yağ ile yüzey yağ miktarını göstermektedir.

2.4 Sıgla yağı içeren nanokapsüllerin karakterizasyonu

Sıgla yağı içeren nanokapsüllerin karakterizasyon çalışmalarında nanokapsüller arasında en yüksek toplam yağ ve enkapsülasyon etkinlik değerine sahip olan 450G-nanokapsül kodlu nanokapsüller kullanılmıştır.

Çekirdek malzeme, duvar malzemeleri ve nanokapsüllerin (450G-nanokapsül) kimyasal bağ yapılarının incelenmesi için Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR, Thermo Scientific, NICOLET İS50FT-IR) kullanılmıştır. Analizler 400-4000 cm^{-1} dalga boyu aralığında 4 cm^{-1} çözünürlükte gerçekleştirilmiştir.

Numunelerin ısıl davranışlarının belirlenmesi için TGA ve DSC analizleri Simültane Termal Analiz (Simultaneous Thermal Analysis, STA, NETZSCH, STA 449 F3, ABD) ile incelenmiştir. TGA analizleri 25-600°C, DSC analizleri ise 25-400°C sıcaklık aralığında 50 mL/dakika azot gazı akışında 10°C/dakika ısıtma hızında gerçekleştirilmiştir.

Nanokapsüllerin (450G-nanokapsül) oluşumları ve yüzey morfolojileri Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskopu (Field Emission Scanning Electron Microscopy, FESEM, GEMINI SUPRA 40VP, Zeiss, Almanya) ile incelenmiştir. Analiz öncesi nanokapsüller vakumlu ortamda altın/paladyum (%20/80) alaşımı ile kaplanmıştır. Kaplama işlemi tamamlandıktan sonra, 20 kV hızlandırma gerilimi altında, 85000x ve 45000x büyütme oranında nanokapsül yapılarına ait görüntüler alınmıştır.

3 Bulgular ve tartışma

3.1 Genipin miktarının toplam yağ, yüzey yağı ve enkapsülasyon etkinliği üzerine etkisi

Enkapsülasyon proseslerinde, yüksek bir enkapsülasyon etkinliği elde edebilmek için duvar materyali tarafından kaplanarak kapsül içerisine alınan esansiyel yağın maksimum seviyede olması istenirken, kaplanmayarak kapsül yapının dış yüzeyinde bulunan yüzey yağının ise minimum seviyede olması istenir.

Tablo 1’de farklı miktarlarda genipin kullanılarak çapraz bağlanan nanokapsüllerin toplam yağ, yüzey yağı ve enkapsülasyon etkinlik değerleri verilmiştir.

Yapılan çalışmada çapraz bağlayıcı olarak kullanılan genipin miktarının artışı ile mikrokapsüllerin yüzey yağı miktarı azalırken, toplam yağ ve enkapsülasyon etkinlik değerleri artış göstermiştir. 450 mg genipin kullanılarak sentezlenen 450G nanokapsül kodlu nanokapsüller %91.78 ile en yüksek enkapsülasyon etkinlik değerine sahiptirler. Benzer sonuçlar literatür çalışmalarında da gözlemlenmiş olup, Maji vd. [49] yapmış oldukları çalışmada, *Zanthoxylum limonella* yağının jelatin ile mikrokapsülasyonunda kullanılan glutaraldehit çapraz bağlayıcının artışı ile yağ tutma kapasitelerindeki artışa bağlı enkapsülasyon etkinliğinin de arttığını belirtmiştir. Maji ve Hussain [50] yapmış oldukları farklı bir çalışmada ise *Zanthoxylum limonella* yağının kitosan ve jelatin ile mikroenkapsülasyonunda genipin miktarının artışının enkapsülasyon etkinliğini arttırdığını göstermişlerdir. Devi ve Maji [51] *Azadirachta Indica A. Juss.* yağı mikroenkapsülasyonunda genipin kontrantasyonu artışı ile hem toplam yağ miktarının hem de enkapsülasyon etkinliğinin artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

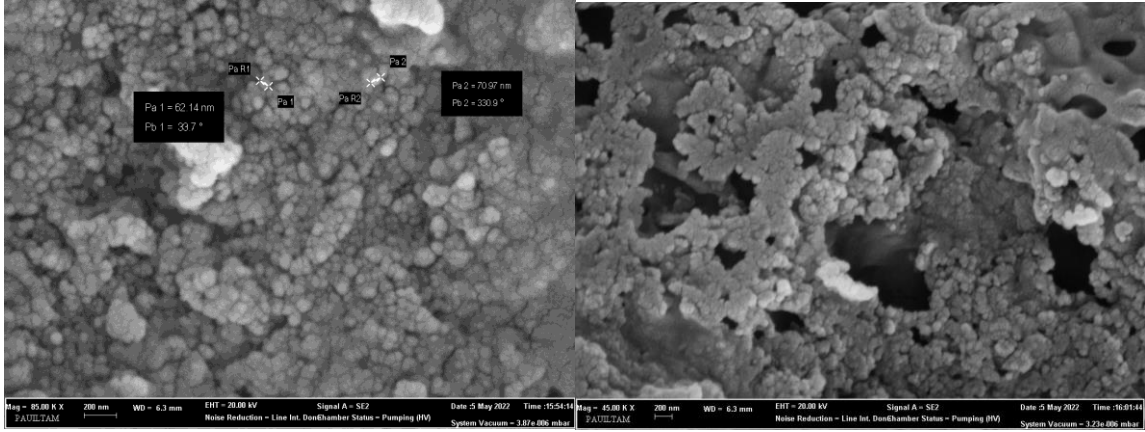
Tablo 1. Farklı miktarlarda genipin kullanılarak çapraz bağlanan nanokapsüllerin toplam yağ, yüzey yağı ve enkapsülasyon etkinlik değerleri

Nanokapsül	Yüzey yağ (%)	Toplam yağ (%)	Enkapsülasyon etkinliği (%)
150G_nanokapsül	2.40 ±0.23	10.83 ±0.17	77.88 ± 1.95
250G_nanokapsül	1.84 ±0.10	12.03 ±0.40	84.65 ± 1.34
350G_nanokapsül	1.76 ±0.14	16.17 ±0.34	89.09 ± 0.94
450G_nanokapsül	1.50 ±0.27	18.22 ±0.39	91.78 ± 1.29

Standart hata (±SH)

3.2 Karakterizasyon çalışmaları

Farklı oranlarda genipin ile çapraz bağlı nanokapsüller arasından en yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip nanokapsüllerin (450G_nanokapsül) morfolojik yapıları FESEM ile incelenmiş olup, 85000x ve 45000x büyütme oranındaki FESEM görüntüleri Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1. 450G_nanokapsül kodlu genipin ile çapraz bağlı nanokapsüllerin SEM görüntüleri

Şekil 1’de nanokapsüllerin boyutlarının 50-100 nm aralığında ve aglomera bir yapıda olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun sentez sonrası santrifüj ve kurutma prosesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Literatür çalışmalarında da aglomerasyon hem kapsülleme işlemi sırasında hem de kapsüllerin izolasyonu aşamasında yaygın karşılaşılan bir sorundur. Kurutma sürecindeki parametreler mikro ve nanokapsül yapısındaki duvar malzemelerinin higroskopik doğasını önemli derecede değiştirmektedir [52]. Bu nedenle enkapsülasyon sürecinde kurutma parametrelerinin optimizasyonu ile nanokapsüllerdeki aglomerasyon sorununun azaltılabileceği düşünülmektedir.

Şekil 2’de sığla yağı, Arap zıncı, jelatin ve nanokapsüllere (450G_nanokapsül) ait FTIR spektrumları verilmiştir.

Jelatin duvar malzemesine ait FTIR spektrumunda yaklaşık olarak 3288.7 cm^{-1} ’de gözlemlenen kuvvetli pik, protein yapıdaki amino gruplarına ait karakteristik pik olup koaservasyon sürecinde asidik ortamda pozitif yüklenmektedir [43]. $3100\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlemlenen Amid A bandı, jelatinin protein yapısındaki birincil amino gruplarının N-H gerilmesinden ve aynı zamanda adsorbe edilmiş suyun O-H gerilmesinden kaynaklanmaktadır [53, 54].

Polisakarit ve glikoprotein yapıda olan Arap zıncına ait FTIR spektrumunda, yaklaşık 3346.6 cm^{-1} ’de gözlemlenen pik hidroksil grupları kaynaklıdır. Koaservasyon sürecinde negatif yüklenen Arap zıncı yapısındaki karboksilik gruplara ait karakteristik pik yaklaşık 2932.4 cm^{-1} dalga boyunda gözlemlenmiştir [43, 55]. Nanokapsüllere ait FTIR spektrumu incelendiğinde, nanokapsül sentezi sırasında hidrojen bağı etkileşimleri nedeniyle hidroksil ve karboksil gruplarına ait piklerin sırasıyla 3295.6 cm^{-1} ve 2943.7 cm^{-1} ’e kaydığı gözlemlenmiştir.

Ayrıca, duvar ve çekirdek malzemenin FTIR spektrumunda gözlemlenmeyip, nanokapsüllerin FTIR spektrumunda 1609.2 cm^{-1} dalga boyunda gözlemlenen pik jelatin-Arap zıncı polimerlerinin genipin ile çapraz bağlanmsı sonucu oluşan amid bağından kaynaklanmaktadır. Çapraz bağlanma, alkali koşullarda genipinin ester grupları

ile jelatinin amino grupları arasında tetiklenen nükleofilik yer değiştirme reaksiyonları sonucu oluşmaktadır [43].

Sığla yağının FTIR spektrumunda 3420.3 , 2943.3 , 1705.7 , 1160.8 , 965.5 , 766.9 , ve 683.4 cm^{-1} ’de güçlü ve keskin absorpsiyon pikleri gözlemlenmiştir. 1705.7 cm^{-1} ’de gözlemlenen pik ketonların C=O gerilme titreşimlerinden kaynaklanmış olup, aynı pik genipin ile çapraz bağlı nanokapsüllerde 1707.3 cm^{-1} ’de gözlemlenmiştir. 1634.8 ile 1449.3 cm^{-1} dalga boyu aralığında gözlemlenen pikler ise benzen halkasındaki C=C bağlarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır [56]. Aynı pikler genipin ile çapraz bağlı nanokapsüllere ait spektrumda 1635.1 ile 1449.3 cm^{-1} dalga boyu aralığında yer almaktadır. 1300 ile 1150 cm^{-1} dalga boyu aralığında sığla yağı spektrumunda 1160.8 cm^{-1} ve genipin ile çapraz bağlı nanokapsüllerde 1161.0 cm^{-1} ’de gözlemlenen pikler, esterlerin C-C=O ve O-C-C bağ titreşimlerinin yanı sıra metilen gruplarının belirli bükülme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır [57]. Sığla yağının spektrumunda 1000 ile 650 cm^{-1} aralığında gözlemlenen pikler benzen halkasındaki C-H bağlarının deformasyon titreşimleri [58] ve ayrıca birincil ve ikincil alkol gruplarının C-O bağ gerilme titreşimiyle ilgilidir [41]. Aynı pikler genipin ile çapraz bağlı nanokapsüllerin FTIR spektrumunda 966.0 , 766.8 ve 683.7 cm^{-1} ’de gözlemlenmiştir.

Sığla yağının FTIR spektrumunda gözlemlenen karakteristik piklerin, nanokapsüllere ait FTIR spektrumunda da gözlemlenmiş olması sığla yağının jelatin ve Arap zıncı ile başarılı bir şekilde kapsülendiğini göstermektedir. Ayrıca sonuçlar, sığla yağının kimyasal stabilitesinin enkapsülasyonu sonrası korunduğunu ve sığla yağı ile duvar malzemeler arasında önemli bir kimyasal etkileşim olmadığını göstermiştir.

Nanokapsüllerin ısı davranışının belirlenmesi amacıyla termogravimetrik analiz gerçekleştirilmiş olup, Şekil 3’te 450G_nanokapsül kodlu nanokapsüllere ve nanokapsül yapısında kullanılan çekirdek ve kaplama malzemelerine ait TGA eğrileri verilmiştir.

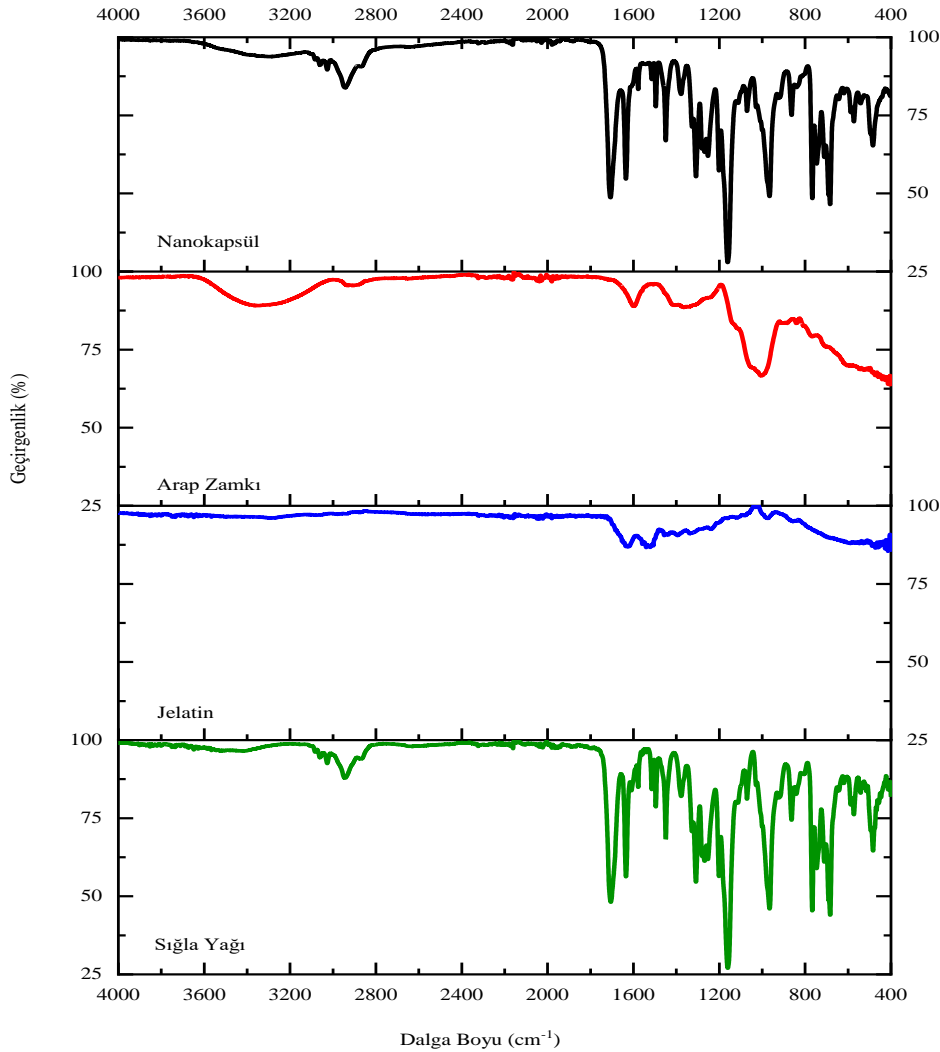
Sığla yağına ait TGA eğrisi incelendiğinde, 155.5°C ’e kadar herhangi bir kütle kaybı gözlemlenmemiş olup, sıcaklık 315°C ’e ulaştığında ise %69.6’lık kütle kaybı

gözlemlenmiştir. Bu kütle kaybı sıgla yağı içerisindeki sinnamil alkol, stiren, fenil propanol vb. uçucu bileşenlerin ortamdan uzaklaşmasından kaynaklanmaktadır [30]. Sıcaklığın 315°C'den 415.5°C yükselmesi ile sıgla yağı yapısında bulunan sinnamil sinamat, sinamik asit vb. halkalı daha kompleks yapıları bileşenlerin de ortamdan uzaklaşması sonucu %30.4'lük bir kütle kaybı gözlemlenmiştir. Sıcaklık 415.5°C'e ulaştığında ise sıgla yağının tamamen bozulduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuç sıgla yağının uçuculuğunu ve farklı uygulamalardaki kullanımı için termal kararlılığını arttırmaya yönelik koruyucu kaplamalara ihtiyaç duyduğunu göstermektedir.

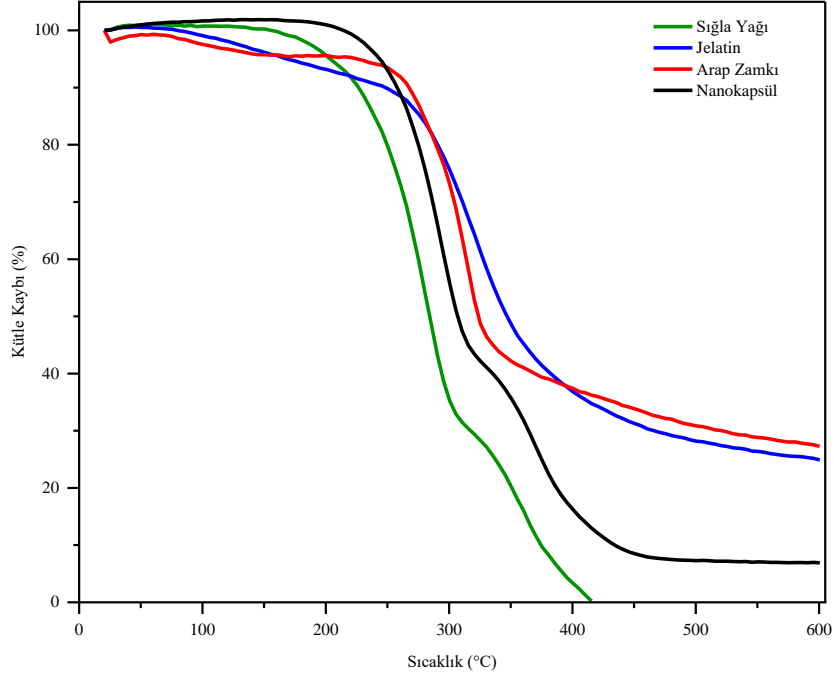
Duvar malzemeleri olarak kullanılan jelatin ve Arap zamkına ait TGA eğrileri incelendiğinde, 230 ile 450°C sıcaklık aralığında polimer yapıların büyük oranda termal bozunmaya uğradığı gözlemlenmiştir. Literatür çalışmalarında da jelatin yapısındaki peptit bağlarının termal bozulmasının yaklaşık 250°C ile 425°C sıcaklık aralığında

gerçekleştiği belirtilmiştir [59]. Ayrıca, çeşitli endüstriyel zamkların termal bozunmasının iki aşamada gerçekleştiği, polisakkaritlere ait ana termal bozunmanın 200°C üzerinde başladığı ve Arap zamkındaki daha küçük sıcaklıklarda gözlenen ağırlık kaybının sakkarit yapısına hidrojen bağlı su olan nemin desorpsiyonundan kaynaklandığı belirtilmektedir [60].

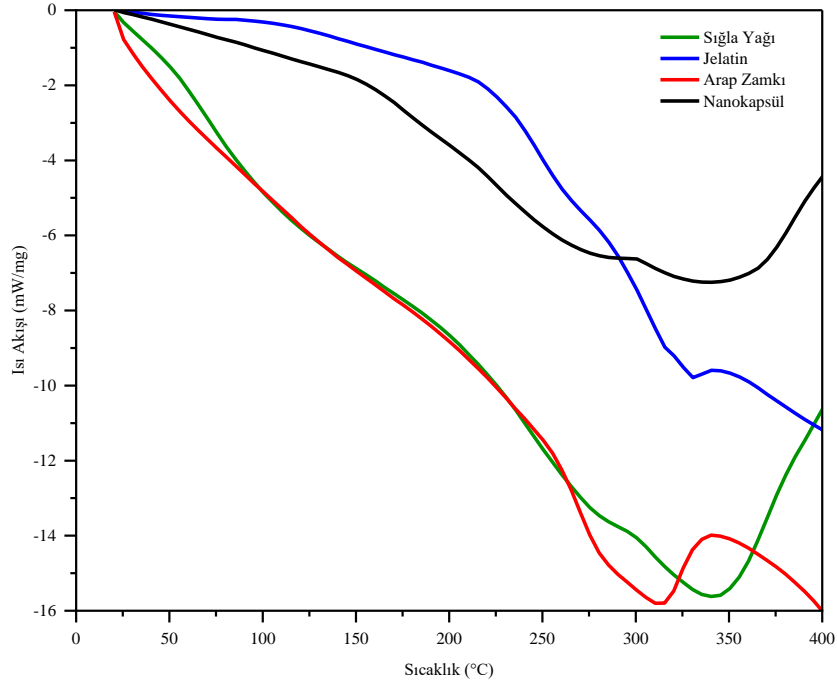
Nanokapsüllere (450G_nanokapsül) ait TGA eğrisi incelendiğinde 230 ile 450°C sıcaklık aralığında gözlemlenen %89.3 oranındaki kütle kaybının nanokapsül yapısındaki duvar malzemelerin depolimerizasyon ve bozunması kaynaklı olduğu gibi aynı zamanda nanokapsül yapısının bozulması sonucu kaplanmış sıgla yağının serbest kalması ile nanokapsül yapısından uzaklaşmasından kaynaklanmaktadır [61]. 450 ile 600 °C sıcaklık aralığında ise daha yavaş bir ikinci termal bozunma görülmektedir. Sıcaklık 600 °C'ye ulaştığında nanokapsül yapısında geriye kalan kütle miktarı % 6.9'dur.



Şekil 2. Sığla yağı, Arap zamkı, jelatin ve nanokapsüllere (450G_nanokapsül) ait FTIR spektrumları



Şekil 3. Sığla yağı, Arap zamkı, jelatin ve nanokapsüllere (450G_nanokapsül) ait TGA termogramları



Şekil 4. Sığla yağı, Arap zamkı, jelatin ve nanokapsüllere (450G_nanokapsül) ait DSC termogramları

Sıgla yağı içeren nanokapsüllerin termal direncinin kaplanmamış sıgla yağının termal direncine nazaran oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bu sonuç, enkapsülasyon işleminin sıgla esansiyel yağının termal direncini arttırmada kullanılabilir bir yöntem olduğunu göstermektedir.

İnert bir atmosfer altında ısıtma sırasında meydana gelen termal geçişlerin incelenmesi amacıyla DSC diyagramları çizilmiştir (Şekil 4). Duvar ve çekirdek malzemeler ve nanokapsüller (450G_nanokapsül) için termal etkilerin yanı sıra ilgili entalpi değişikliklerinin gözlemlendiği tepe sıcaklık değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. DSC termogramlarında gözlemlenen pik sıcaklıklar ve entalpi değişiklikleri

Numune	Entalpi Değişimi	Pik Sıcaklığı (°C)	Enerji (J/g)
Sıgla Yağı	1	106.7	-551.7
	2	215.7	305.2
	3	342.4	-142.0
Jelatin	1	102.4	37.76
	2	231.1	159.4
	3	291.9	49.34
	4	324.1	1.805
	5	343.6	39.45
Arap Zamkı	1	74.1	0.8387
	2	220.9	5.609
	3	257.2	16.26
	4	312.7	14.58
Nanokapsül (450G_nanokapsül)	1	85.4	0.397
	2	160.5	27.71
	3	260.7	-260.3
	4	340	-799.2

Duvar malzemesi olarak kullanılan Arap zamkına ait termogramda 74.1°C, 220.9°C, 257.2°C ve 312.7°C'de olmak üzere dört endotermik pik gözlemlenmiştir. Bu pikler sırasıyla nem olarak bulunan suyun buharlaşması, camı geçiş sıcaklığı, erime noktası ve polimer yapının termal bozunması kaynaklıdır [62, 63]. Duvar malzemesi olarak kullanılan diğer malzeme jelatin de benzer şekilde yapısında bulunan nemin buharlaşması nedeniyle 102.4°C'de endotermik pik göstermiştir. DSC eğrilerinin çoğunda, oda sıcaklığı ile 150°C sıcaklık aralığında gözlemlenen endotermik pikler, polimerin fonksiyonel gruplarının hidrofilik doğası nedeniyle gerçekleşen su kaybı (ağırlıkça %2-10) kaynaklıdır [60]. Yaklaşık 231.1°C'de gözlemlenen diğer endotermik pik ise kristalin kısımlarının erimesi ve jelatin yapısında bulunan prolin, imino asit vb. yapıların bozulmasından kaynaklanmaktadır [64,65]. Ayrıca moleküller arası yan zincirin parçalanması nedeniyle de 324.1 ve 343.6°C'lerde iki endotermik pik gözlemlenmiştir [64].

Nanokapsüllere (450G_nanokapsül) ait termogramda, 85.4°C'de gözlemlenen pik kapsül yapısında bulunan suyun

uzaklaşmasından kaynaklanmaktadır. Nanokapsüllerin yapısındaki polimer zincirlerinin bozunması nedeniyle ana pikler yaklaşık 200 ile 450 °C aralığında gözlemlenen ekzotermik piklerdir [65]. Genel olarak, H₂O, CO, CH₄ oluşumuyla sonuçlanan dehidrasyon, depolimerizasyon ve pirolitik bozulma reaksiyonları bu yüksek sıcaklık aşamalarında gözlemlenmektedir [60].

Sıgla yağının DSC eğrisinde ilk pik yaklaşık 106.7°C'de gözlemlenmiştir. Nanokapsüllerin termogramındaki ilk ekzotermik pikin 260.7°C'de gözlemlenmiş olması, sıgla yağının enkapsülasyonu ile termal kararlılığının arttırdığını göstermektedir. Sıgla yağının içeriğinde bulunan uçucu bileşenlerin ortamdaki uzaklaşması ve aynı zamanda yapısal bozulması sebebiyle 215.7°C'de endotermik ve 342.4°C'de ekzotermik pik gözlemlenmiştir [62, 66].

4 Sonuçlar

Enkapsülasyon teknolojisi özellikle çevresel koşullardan kolaylıkla etkilenen esansiyel yağların mikro ve nanoenkapsülasyonunda önemli bir yer tutmakta olup, esansiyel yağların çeşitli alanlarda kullanımını mümkün kılmaktadır. Literatür çalışmalarında enkapsülasyon proseslerinde kullanılan çapraz bağlayıcılar çoğunlukla toksik etki göstermektedir. Bu çalışma kapsamında doğal bir çapraz bağlayıcı olan genipin kullanılarak sıgla yağının jelatin ve Arap zamkı ile nanoenkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Kompleks koaservasyon yöntemi kullanılarak elde edilen nanokapsüllerin çapraz bağlanmasında farklı oranlarda genipin kullanılmış olup, genipin miktarı artışı ile enkapsülasyon etkinliği değerlerinde artış gözlemlenmiştir. Karakterizasyon çalışmalarında SEM analizleri ile morfolojileri incelenen kapsüllerin nano boyutta olup, aglomera olduğu görülmüştür. FTIR analizleri ile hem çapraz bağlanma sonucunda oluşan kimyasal bağlar incelenmiş ve literatür ile karşılaştırılmış hem de sıgla yağının jelatin ve Arap zamkı ile kapsüllendiği gösterilmiştir. TGA ve DSC analizleri ile enkapsülasyon işleminin sıgla esansiyel yağının termal direncini arttırmada kullanılabilir bir yöntem olduğunu gösterilmiştir.

Literatür çalışmalarında çeşitli esansiyel yağların mikroenkapsülasyonuna yönelik çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak sıgla yağının enkapsülasyonuna yönelik herhangi bir çalışma ile karşılaşılmamıştır. Yapılan bu çalışma ülkemiz için ekonomik bir değere sahip olan sıgla yağının enkapsülasyon ile kullanım alanlarını artırması açısından önem taşımaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma 2021FEBE074 nolu proje kapsamında Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (PAÜ BAP) tarafından desteklenmiş olup, Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederiz.

Çıkar çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Benzerlik oranı (iThenticate): %8

Kaynaklar

- [1] W. Weisany, S. Yousefi, N. A. R. Tahir, N. G. Zadeh, D. J. McClements, B. Adhikari and M. Ghasemlou, Targeted delivery and controlled released of essential oils using nanoencapsulation: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 303, 102655, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102655>
- [2] P. L. Lam and R. Gambari, Advanced progress of microencapsulation technologies: In vivo and in vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries. *Journal of Controlled Release*, 178, 25-45, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.12.028>
- [3] R. S. Riseh, E. Tamanadar, N. Hajabdollahi, M. Vatankhah, V. K. Thakur and Y. A. Skorik, Chitosan microencapsulation of rhizobacteria for biological control of plant pests and diseases: Recent advances and applications. *Rhizosphere*, 23, 100565, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100565>
- [4] S. P. Dhakal and J. He, Microencapsulation of vitamins in food applications to prevent losses in processing and storage: A review. *Food Research International*, 137, 109326, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109326>
- [5] F. Casanova and L. Santos, Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application—a review. *Journal of Microencapsulation*, 33(1), 1-17, 2016. <https://doi.org/10.3109/02652048.2015.1115900>
- [6] V. Suganya and V. Anuradha, Microencapsulation and nanoencapsulation: a review. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(3), 233-239, 2017. <https://doi.org/10.25258/ijpcr.v9i3.8324>
- [7] C. Camelo-Silva, S. Verruck, A. Ambrosi and M. Di Luccio, Innovation and Trends in Probiotic Microencapsulation by Emulsification Techniques. *Food Engineering Reviews*, 14, 462-490, 2022. <https://doi.org/10.1007/s12393-022-09315-1>
- [8] Y. P. Timilsena, T. O. Akanbi, N. Khalid, B. Adhikari, and C. J. Barrow, Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 1276-1286, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijbmac.2018.10.144>
- [9] R. D. S. D. Veiga, R. Aparecida Da Silva-Buzanello, M. P. Corso and C. Canan, Essential oils microencapsulated obtained by spray drying: a review. *Journal of Essential Oil Research*, 31(6), 457-473, 2019. <https://doi.org/10.1080/10412905.2019.1612788>
- [10] J. de Abreu Figueiredo, C. R. de Paula Silva, M. F. S. Oliveira, L. B. Norcino, P. H. Campelo, D. A. Botrel and S. V. Borges, Microencapsulation by spray chilling in the food industry: Opportunities, challenges, and innovations. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 274-287, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.026>
- [11] K. Heinzelmann, K. Franke, B. Jensen and A. M. Haahr, Protection of fish oil from oxidation by microencapsulation using freeze-drying techniques. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102(2), 114-121, 2000. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1438-9312\(200002\)102:2<114::AID-EJLT114>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1438-9312(200002)102:2<114::AID-EJLT114>3.0.CO;2-0)
- [12] Y. H. How, K. W. Lai, L. P. Pui and L. L. A. In, Co-extrusion and extrusion microencapsulation: Effect on microencapsulation efficiency, survivability through gastrointestinal digestion and storage. *Journal of Food Process Engineering*, 45(3), e13985, 2022. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13985>
- [13] H. C. Liang, W. H. Chang, K. J. Lin and H. W. Sung, Genipin-crosslinked gelatin microspheres as a drug carrier for intramuscular administration: In vitro and in vivo studies. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials, and The Korean Society for Biomaterials*, 65(2), 271-282, 2003. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.10476>
- [14] J. M. Budincic, L. Petrovic, L. Dekic, J. Fraj, S. Bucko, J. Katona and L. Spasojevic, Study of vitamin E microencapsulation and controlled release from chitosan/sodium lauryl ether sulfate microcapsules. *Carbohydrate Polymers*, 251, 116988, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116988>
- [15] J. D. Ogilvie-Battersby, R. Nagarajan, R. Mosurkal and N. Orbey, Microencapsulation and controlled release of insect repellent geraniol in gelatin/gum arabic microcapsules. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 640, 128494, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.128494>
- [16] B. N. Estevinho, F. Rocha, L. Santos and A. Alves, Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 31(2), 138-155, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.04.001>
- [17] G. Hamdi, G. Ponchel and D. Duchêne, Formulation of epichlorohydrin cross-linked starch microspheres. *Journal of Microencapsulation*, 18(3), 373-383, 2001. <https://doi.org/10.1080/02652040010019505>
- [18] C. Butstraen and F. Salaün, Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 99, 608-616, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.006>
- [19] H. C. Liang, W. H. Chang, K. J. Lin and H. W. Sung, Genipin-crosslinked gelatin microspheres as a drug carrier for intramuscular administration: In vitro and in vivo studies. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 65(2), 271-282, 2003. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.10476>
- [20] Z. Wang, H. Liu, W. Luo, T. Cai, Z. Li, Y. Liu, W. Gao, Q. Wan, X. Wang, J. Wang, Y. Wang and X. Yang, Regeneration of skeletal system with genipin crosslinked biomaterials. *Journal of Tissue Engineering*, 11, 2020. <https://doi.org/10.1177/2041731420974861>
- [21] H. Ji, Z. Qiu, Y. Wang, L. Dong, J. Cao, B. Lian and M. Wang, The effect of crosslinking concentration,

- time, temperature and pH on the characteristic of genipin-crosslinked small intestinal submucosa. *Materials Today Communications*, 33, 104482, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2022.104482>
- [22] M. Nair, R. K. Johal, S. W. Hamaia, S. M. Best and R. E. Cameron, Tunable bioactivity and mechanics of collagen-based tissue engineering constructs: A comparison of EDC-NHS, genipin and TG2 crosslinkers. *Biomaterials*, 254, 120109, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120109>
- [23] J. R. Du, L. H. Hsu, E. S. Xiao, X. Guo, Y. Zhang and X. Feng, Using genipin as a “green” crosslinker to fabricate chitosan membranes for pervaporative dehydration of isopropanol. *Separation and Purification Technology*, 244, 116843, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.116843>
- [24] W. Samprasit, P. Akkaramongkolporn, S. Jaewjira and P. Opanasopit, Design of alpha mangostin-loaded chitosan/alginate controlled-release nanoparticles using genipin as crosslinker. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 46, 312-321, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.05.029>
- [25] G. Kaufmann, M. P. Klein, M. I. Goettert and T. A. S. Aguirre, Development and cytotoxicity evaluation of a cylindrical pH-responsive chitosan-genipin hydrogel for the oral delivery of diclofenac sodium. *European Polymer Journal*, 181, 111649, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111649>
- [26] Z. Xiao, L. H. Liu, T. Liu, D. Yang, X. Jia, Y. K. Du, S. Q. Li, W. J. Yang, Y. M. Xi and R. C. Zeng, Degradation and biocompatibility of genipin crosslinked polyelectrolyte films on biomedical magnesium alloy via layer-by-layer assembly. *Progress in Organic Coatings*, 175, 107372, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2022.107372>
- [27] M. P. Klein, C. R. Hackenhaar, A. S. Lorenzoni, R. C. Rodrigues, T. M. Costa, J. L. Ninow and P. F. Hertz, Chitosan crosslinked with genipin as support matrix for application in food process: Support characterization and β -d-galactosidase immobilization. *Carbohydrate Polymers*, 137, 184-190, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.10.069>
- [28] M. Kahoush, N. Behary, J. Guan, A. Cayla, B. Mutel and V. Nierstrasz, Genipin-mediated immobilization of glucose oxidase enzyme on carbon felt for use as heterogeneous catalyst in sustainable wastewater treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105633, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105633>
- [29] M. Aydıngöz ve S. Bulut, 2014. Egenin Gizli Kalmış Şifa İksiri: Sığla. *Afyon Kocatepe University Journal of Science & Engineering*, 14(1), 1-6, 2014. <https://doi.org/10.5578/fmbd.7084>
- [30] I. Gurbuz, E. Yesilada, B. Demirci, E. Sezik, F. Demirci and K. H. Baser, Characterization of volatiles and anti-ulcerogenic effect of Turkish sweetgum balsam (*Styrax liquidus*). *Journal of Ethnopharmacology*, 148(1), 332-336, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.071>
- [31] D. Demir, S. Özdemir, S. Ceylan, M. S. Yalcin, B. Sakım and N. Bölgen, Electrospun composite nanofibers based on poly (ϵ -caprolactone) and styrax liquidus (*Liquidambar orientalis* Miller) as a wound dressing: preparation, characterization, biological and cytocompatibility results. *Journal of Polymers and the Environment*, 30(6), 2462-2473, 2022. <https://doi.org/10.1007/s10924-022-02376-7>
- [32] H. Atmaca, C. Camli Pulat and M. Cittan, *Liquidambar orientalis* Mill. gum extract induces autophagy via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in prostate cancer cells. *International Journal of Environmental Health Research*, 32(5), 1011-1019, 2022. <https://doi.org/10.1080/09603123.2020.1818187>
- [33] S. Çetinkaya, İ. Çınar Ayan, İ. Süntar, H. G. Dursun, The phytochemical profile and biological activity of *Liquidambar orientalis* Mill. var. *orientalis* via NF- κ B and apoptosis pathways in human colorectal cancer. *Nutrition and Cancer*, 74(4), 1457-1473, 2022. <https://doi.org/10.1080/01635581.2021.1952455>
- [34] C. Goebel, P. Aeby, N. Ade, N. Alépée, A. Aptula, D. Araki, E. Dufour, N. Gilmour, J. Hibatallah, D. Keller, P. Kern, A. Kirst, M. Marrec-Fairley, G. Maxwell, J. Rowland, B. Safford, F. Schellauf, A. Schepky, C. Seaman, T. Teichert, N. Tessier, S. Teissier, H. U. Weltzien, P. Winkler and J. Scheel, Guiding principles for the implementation of non-animal safety assessment approaches for cosmetics: skin sensitisation. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 63(1), 40-52, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.02.007>
- [35] I. C. L. Licá, A. M. dos Santos Soares, L. S. S. de Mesquita and S. Malik, Biological properties and pharmacological potential of plant exudates. *Food Research International*, 105, 1039-1053, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.051>
- [36] J. Bajac, B. Nikolovski, I. Lončarević, J. Petrović, B. Bajac, S. Đurović and L. Petrović, Microencapsulation of juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L.) by spray drying: microcapsule characterization and release kinetics of the oil. *Food Hydrocolloids*, 125, 107430, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107430>
- [37] W. Yang, L. Wang, Z. Ban, J. Yan, H. Lu, X. Zhang, Q. Wu, M. S. Aghdam, Z. Luo and L. Li, Efficient microencapsulation of Syringa essential oil; the valuable potential on quality maintenance and storage behavior of peach. *Food Hydrocolloids*, 95, 177-185, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.033>
- [38] L. Qiu, M. Zhang, B. Adhikari and L. Chang, Microencapsulation of rose essential oil in mung bean protein isolate-apricot peel pectin complex coacervates and characterization of microcapsules. *Food Hydrocolloids*, 124, 107366, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107366>
- [39] J. S. F. de Araújo, E. L. de Souza, J. R. Oliveira, A. C. A. Gomes, L. R. V. Kotzebue, D. L. da Silva Agostini, D. L. V. De Oliveira, S. E. Mazzetto, A. L. da Silva and M. T. Cavalcanti, Microencapsulation of sweet orange

- essential oil (*Citrus aurantium* var. *dulcis*) by liophylization using maltodextrin and maltodextrin/gelatin mixtures: Preparation, characterization, antimicrobial and antioxidant activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 991-999, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.160>
- [40] Y. Yuan, X. Geng, H. Wu, R. Kumar, J. Wang, J. Xiao, and H. Tian, Chemical composition, antimicrobial activities, and microencapsulation by complex coacervation of tea tree essential oils. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(7), e16585, 2022. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16585>
- [41] Maulidna, W. Basuki, Tamrin, L. Marpaung, Microencapsulation of ginger-based essential oil (*Zingiber cassumunar roxb*) with chitosan and oil palm trunk waste fiber prepared by spray-drying method. *Case Studies in Thermal Engineering*, 18, 100606, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.csite.2020.100606>
- [42] R. V. de Barros Fernandes, D. A. Botrel, E. K. Silva, S. V. Borges, C. R. de Oliveira, M. I. Yoshida, J. P. De Andrade Feitosa and R. C. M. de Paula, Cashew gum and inulin: New alternative for ginger essential oil microencapsulation. *Carbohydrate Polymers*, 153, 133-142, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.096>
- [43] C. Peng, S. Q. Zhao, J. Zhang, G. Y. Huang, L. Y. Chen and F. Y. Zhao, Chemical composition, antimicrobial property and microencapsulation of Mustard (*Sinapis alba*) seed essential oil by complex coacervation. *Food Chemistry*, 165, 560-568, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.126>
- [44] L. Zhang, M. Zhang, R. Ju, B. Bhandari and K. Liu, Antibacterial mechanisms of star anise essential oil microcapsules encapsulated by rice protein-depolymerized pectin electrostatic complexation and its application in crab meatballs. *International Journal of Food Microbiology*, 384, 109963, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109963>
- [45] F. Plati and A. Paraskevopoulou, Hemp protein isolate-gum Arabic complex coacervates as a means for oregano essential oil encapsulation. Comparison with whey protein isolate-gum Arabic system. *Food Hydrocolloids*, 136, 108284, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108284>
- [46] M. Benjemaa, M. A. Neves, H. Falleh, H. Isoda, R. Ksouri and M. Nakajima, Nanoencapsulation of *Thymus capitatus* essential oil: Formulation process, physical stability characterization and antibacterial efficiency monitoring. *Industrial Crops and Products*, 113, 414-421, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.062>
- [47] M. Hadidi, A. Motamedzadegan, A. Z. Jelyani, and S. Khashadeh, Nanoencapsulation of hyssop essential oil in chitosan-pea protein isolate nano-complex. *LWT*, 144, 111254, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111254>
- [48] C. O. Sánchez, E. B. Zavaleta, G. U. García, G. L. Solano and M. R. Díaz, Krill oil microencapsulation: Antioxidant activity, astaxanthin retention, encapsulation efficiency, fatty acids profile, in vitro bioaccessibility and storage stability. *LWT*, 147, 111476, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111476>
- [49] T. K. Maji, I. Baruah, S. Dube and M. R. Hussain, Microencapsulation of *Zanthoxylum limonella* oil (ZLO) in glutaraldehyde crosslinked gelatin for mosquito repellent application. *Bioresource Technology*, 98(4), 840-844, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.03.005>
- [50] T. K. Maji and M. R. Hussain, Microencapsulation of *Zanthoxylum limonella* oil (ZLO) in genipin crosslinked chitosan-gelatin complex for mosquito repellent application. *Journal of Applied Polymer Science*, 111(2), 779-785, 2009. <https://doi.org/10.1002/app.29001>
- [51] N. Devi and T. K. Maji, Genipin crosslinked microcapsules of gelatin A and κ -carrageenan polyelectrolyte complex for encapsulation of Neem (*Azadirachta Indica* A. Juss.) seed oil. *Polymer Bulletin*, 65(4), 347-362, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00289-010-0246-5>
- [52] A. P. T. Pierucci, L. R. Andrade, E. B. Baptista, N. M. Volpato and M. H. M. Rocha-Leão, New microencapsulation system for ascorbic acid using pea protein concentrate as coat protector. *Journal of Microencapsulation*, 23(6), 654-662, 2006. <https://doi.org/10.1080/02652040600776523>
- [53] C. Zhang, P. Wang, J. Li, H. Zhang and J. Weiss, Characterization of core-shell nanofibers electrospun from bilayer gelatin/gum Arabic O/W emulsions crosslinked by genipin. *Food Hydrocolloids*, 119, 106854, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106854>
- [54] F. A. Whitehead, S. A. Young and S. Kasapis, Structural relaxation and glass transition in high-solid gelatin systems crosslinked with genipin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 141, 867-875, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.030>
- [55] P. Sutaphanit and P. Chitprasert, Optimisation of microencapsulation of holy basil essential oil in gelatin by response surface methodology. *Food Chemistry*, 150, 313-320, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.159>
- [56] Q. Hu, X. Li, F. Chen, R. Wan, C. W. Yu, J. Li, D. J. McClements and Z. Deng, Microencapsulation of an essential oil (cinnamon oil) by spray drying: Effects of wall materials and storage conditions on microcapsule properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(11), e14805, 2020. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14805>
- [57] K. Gandhi, R. Sharma, R. Seth and B. Mann, Detection of coconut oil in ghee using ATR-FTIR and chemometrics. *Applied Food Research*, 2(1), 100035, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2021.100035>
- [58] M. Hovaneissian, P. Archier, C. Mathe and C. Vieillescazes, Contribution de la chimie analytique à l'étude des exsudats végétaux styrax, storax et benjoin.

- Comptes Rendus Chimie, 9(9), 1192-1202, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2005.12.010>
- [59] S. D. Frazier and W. V. Sruar III, Evaporation-based method for preparing gelatin foams with aligned tubular pore structures. *Materials Science and Engineering: C*, 62, 467-473, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.01.074>
- [60] M. J. Zohuriaan and F. J. P. T. Shokrolahi, Thermal studies on natural and modified gums. *Polymer Testing*, 23(5), 575-579, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2003.11.001>
- [61] F. Amani, A. Rezaei, M. S. Damavandi, A. S. Doost and S. M. Jafari, Colloidal carriers of almond gum/gelatin coacervates for rosemary essential oil: Characterization and in-vitro cytotoxicity. *Food Chemistry*, 377, 131998, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131998>
- [62] M. Mehran, S. Masoum and M. Memarzadeh, Microencapsulation of *Mentha spicata* essential oil by spray drying: Optimization, characterization, release kinetics of essential oil from microcapsules in food models. *Industrial Crops and Products*, 154, 112694, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112694>
- [63] J. S. F. de Araújo, E. L. de Souza, J. R. Oliveira, A. C. A. Gomes, L. R. V. Kotzebue, D. L. da Silva Agostini, D. L. V. Oliveira, S. E. Mazzetto, A. L. Silva and M. T. Cavalcanti, Microencapsulation of sweet orange essential oil (*Citrus aurantium* var. *dulcis*) by liophylization using maltodextrin and maltodextrin/gelatin mixtures: Preparation, characterization, antimicrobial and antioxidant activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 991-999, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.160>
- [64] A. M. Shehap, K. H. Mahmoud, M. F. H. Abd El-Kader and T. M. El-Basheer, Preparation and Thermal Properties of Gelatin/TGS Composite Films. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 5 (01), 157-170, 2015.
- [65] X. Yang, N. Gao, L. Hu, J. Li and Y. Sun, Development and evaluation of novel microcapsules containing poppy-seed oil using complex coacervation, *Journal of Food Engineering*, 161, 87-93, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.03.027>
- [66] A. Farahmand, B. Emadzadeh, B. Ghorani and D. Poncelet, Droplet-based millifluidic technique for encapsulation of cinnamon essential oil: Optimization of the process and physicochemical characterization. *Food Hydrocolloids*, 129, 107609, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107609>

