T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KUŞBURNU ÇEKİRDEĞİ ÖZÜTÜNDEN YEŞİL SENTEZ İLE ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜL SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

Rabia Nur BOZKURT

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet BİLGİN

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik Programı

İstanbul, 2022

BÜTÇE DESTEKLERİ

KUŞBURNU ÇEKİRDEĞİ ÖZÜTÜNDEN YEŞİL SENTEZ İLE ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜL SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

Bu tez çalışması için herhangi bir kurumdan bütçe desteği alınmamıştır.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım süresince, çalışmalarımın gerçekleştirilmesi için desteğini ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Mehmet BİLGİN'e çok teşekkür ederim.

Lisans bitirme tezi çalışmamdan itibaren tanıdığım ve yüksek lisans eğitimim boyunca da ilgisini, sevgisini ve bilgi birikimini eksik etmeyen Sayın Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ Hocam'a içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince, araştırma görevlisi olarak görev aldığım İstanbul Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi'ndeki kimya mühendisliği bölümü hocalarıma, hiçbir sorumu geri çevirmeyip ilgiyle cevapladıkları ve bilgi birikimleriyle farklı bakış açıları kazandırdıkları için teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen canım annem ve babam başta olmak üzere tüm ailem ve sevdiklerime her şey için çok teşekkür ederim.

Aralık 2022 Rabia Nur BOZKURT

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI ..... **ii**
BEYAN ..... **iii**
BÜTÇE DESTEKLERİ ..... **iv**
TEŞEKKÜR ..... **v**
İÇİNDEKİLER ..... **vi**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **ix**
TABLO LİSTESİ ..... **xii**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **xiii**
ÖZET ..... **xv**
ABSTRACT ..... **xvii**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR TARAMASI **3**
2.1. NANOTEKNOLOJİ VE TARİHSEL GELİŞİMİ 3
2.2. NANOPARTİKÜLLER VE SINIFLANDIRILMASI 7
2.3. ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ ve KULLANIM ALANLARI 11
2.4. NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİNDE KULLANILAN YAKLAŞIMLAR 13
2.5. NANOPARTİKÜLLERİN BİYOLOJİK SENTEZİ(YEŞİL SENTEZ) 15
2.6. BİTKİLERLE YEŞİL SENTEZ 17
2.6.1. Bitki Ekstraktlarıyla Nanopartikül Sentezini Etkileyen Faktörler 18
2.7. NANOPARTİKÜL SENTEZİNDE İNDİRGEYİCİ AJAN OLARAK DOĞAL ÜRÜNLER 20
2.7.1. Fenolik Bileşikler 20
2.7.1.1. Fenolik Asit *21*
2.7.1.2. Flavonoid *23*
2.7.2. Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitesi 24
2.8. FENOLİK BİLEŞİKLER İÇİN TAYİN YÖNTEMLERİ 25
2.8.1. Spektrofotometrik analizler 25
2.8.1.1. Toplam Fenolik Madde Tayini *26*

2.8.1.2. Toplam Flavonoid Madde Tayini *27*
2.8.1.3. DPPH ile antioksidan kapasitesinin tayin yöntemi *28*
2.9. KUŞBURNU ÇEKİRDEĞİ(*ROSA CANINA* SEED) 30
2.10. BİTKİDEN ZNO NANOPARTİKÜL SENTEZİ ÇALIŞMALARI 31
2.11. FENOLİK BİLEŞENLERİN EKSTRAKSİYONU 33
2.11.1. Otomatik Çözücü Ekstraksiyonu 33
2.12. YEŞİL SENTEZ SONRASI NANOPARTİKÜLLERİN KARAKTERİZASYONU 35
2.12.1. UV-Vis Spektrofotometre Analizi 35
2.12.2. XRD Analizi 35
2.12.3. FTIR Analizi 36
2.12.4. SEM-EDX Analizi 37
2.12.5. DLS Analizi 38
2.12.6. Zeta Potansiyeli Analizi 39
3. METODOLOJİ 41
3.1. MALZEME 41
3.2. YÖNTEM 42
3.2.1. Kuşburnu Çekirdeği Ekstraktının Hazırlanması 42
3.2.1.1.Otomatik Çözücü Ekstraksiyonu *42*
3.2.2. Spektrofotometrik Analizler 44
3.2.2.1. Toplam Fenolik İçeriğin Belirlenmesi *44*
3.2.2.2. Toplam Flavonoid İçeriğin Belirlenmesi *44*
3.2.2.3. DPPH Yöntemi ile Antioksidan Kapasitesinin Tayini *44*
3.2.3. ZnO NP sentezi 44
3.2.4. ZnO NP Karakterizasyonu 47
3.2.4.1. UV-Vis Spektrofotometre Analizi *47*
3.2.4.2. XRD Analizi *47*
3.2.4.3. FT-IR Analizi *47*
3.2.4.4. SEM-EDX Analizi *47*
3.2.4.5. DLS Analiz *47*
3.2.4.6. Zeta Potansiyeli Analizi *47*
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 48
4.1. KALİBRASYON ÇALIŞMALARI 48
4.2. KUŞBURNU ÇEKİRDEĞİ EKSTRAKTI İÇERİĞİNİN SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ 53
4.2.1. Ekstraktın Toplam Fenolik İçerik Miktarı 53
4.2.2. Ekstraktın Toplam Flavonoid İçerik Miktarı 56
4.2.3. Ekstraktın DPPH Yöntemi ile Antioksidan Kapasitesi Tayini 57

4.3. ZnO NANOPARTİKÜLLERİN KARAKTERİZASYONU 59
4.3.1. ZnO Nanopartiküllerin Uv-Vis Karakterizasyonu 59
4.3.1.1. Optimum Başlangıç Metal Tuzu Konsantrasyonunun Belirlenmesi *59*
4.3.1.2. Optimum Ekstrakt Miktarı Belirlenmesi *60*
4.3.1.3. Optimum pH Değerinin Belirlenmesi *61*
4.3.1.4. Optimum Mikrodalga Gücünün Belirlenmesi *63*
4.3.1.5. Optimum Mikrodalga Süresinin Belirlenmesi *64*
4.3.1.6. Optimum Koşullarda Sentezlenmiş ZnO NP UV-Vis Analizi *65*
4.3.2. ZnO Nanopartiküllerin XRD Analizi 66
4.3.3. ZnO Nanopartiküllerin FT-IR Analizi 68
4.3.4. ZnO Nanopartiküllerin SEM-EDX Analizi 70
4.3.5. ZnO Nanopartiküllerin DLS Analizi 72
4.3.6. ZnO Nanopartiküllerin Zeta Potansiyeli Analizi 74
4.4. ZNO NANOPARTİKÜLLERİN İÇERİĞİNİN SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ 75
4.4.1. Nanopartiküllerin Toplam Fenolik İçerik Miktarı 75
4.4.2. Nanopartiküllerin Toplam Flavonoid İçerik Miktarı 75
4.4.3. Nanopartiküllerin DPPH Yöntemi ile Antioksidan Kapasitesi Miktarı 76
4.5. KUŞBURNU ÇEKİRDEĞİ EKSTRAKTI VE ZNO NP'LERİN TOPLAM FENOLİK, FLAVONOİD MADDE MİKTARI VE DPPH İLE ANTİOKSİDAN KAPASİTESİNİN KARŞILAŞTIRILMASI 77
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 78
KAYNAKLAR 81
ÖZGEÇMİŞ 91

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Karşılaştırmalı olarak, günlük nesnelerin ve organizmaların boyutları [11] 3

Şekil 2.2: En eski sentetik nanomalzemelerden biri olan Lycurgus Kupası [10]. 5

Şekil 2.3: Nanopartiküllerin vitray pencerelerin renkleri üzerindeki etkisi [11]. 6

Şekil 2.4: Şematik olarak A) Fulleren , B) CNT [10]. 7

Şekil 2.5: Nanoteknolojinin Farklı Bilim Alanlarında İlerlemesi [10]. 7

Şekil 2.6: Nanopartikülün Yapısı [14]. 8

Şekil 2.7: Organik Nanopartiküller [16]. 9

Şekil 2.8: Karbon bazlı bazı nanopartiküller ve özellikleri [14]. 10

Şekil 2.9:ZnO'nun kristal yapısı [21]. 11

Şekil 2.10: ZnO NP'lerin temel özellikleri [22]. 12

Şekil 2.11: Nanopartiküllerin sentez yöntemleri [23] 14

Şekil 2.12: Biyolojik ajanlar kullanılarak nanopartiküllerin yeşil sentez prosedürü [24]. 15

Şekil 2.13: Yeşil sentezin avantajları [27]. 16

Şekil 2.14: Bitki özütüyle metal iyonlarından metal nanopartikül sentezi [29]. 18

Şekil 2.15: Metal nanopartiküllerin sentezinde yer alan başlıca bitki metabolitleri türleri: A – terpenoidler; B,C – flavonoidler; D – açık zincirli bir indirgeyici heksoz; E,F – amino asitler (triptofan (E) ve tirozin (F)) [29]. 20

Şekil 2.16: Hidroksibenzoik asit türevi fenolik asitler [35]. 22

Şekil 2.17:Hidroksisinnamik asit türevi fenolik asitler [35]. 22

Şekil 2.18: Yapısal olarak flavonoidler [36]. 23

Şekil 2.19: Spektrofotometre çalışma prensibi. 25

Şekil 2.20: Al(III)-flavonoid şelatı. 28

Şekil 2.21: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (serbest radikali) ve 2,2-difenil-pikrilhidrazin için temel yapılar [47]. 28

Şekil 2.22: : Kuşburnu meyvesi [52]. 30

Şekil 2.23: Kuşburnunun temel bileşenleri [53]. 31

Şekil 2.24: Otomatik Çözücü Ekstraktörü [86] 34

Şekil 2.25: Temel olarak XRD gösterimi [90]. 36

Şekil 2.26:Şematik olarak FTIR prensibi [88]. 37

Şekil 2.27:SEM çalışma prensibi [88]. 38

Şekil 2.28: DLS prensibi [92]. 39

Şekil 2.29:Zeta potansiyeli [94] 40

Şekil 3.1:Kuşburnu meyvesinin toplanışı. 41

Şekil 3.2: Kuşburnu meyvesi ve çekirdekleri. 42

Şekil 3.3: Otomatik Çözücü Ekstraktörü. 43

Şekil 3.4: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı. 43

Şekil 3.5:ZnO NP oluşumu için olası mekanizma [76]. 45

Şekil 3.6: Kuşburnu ekstraktı eldesi prosedürü. 46

Şekil 3.7: ZnO NP sentez prosedürü. 46

Şekil 4.1: Farklı çözücü konsantrasyonlarında hazırlanmış saf gallik asit çözelti konsantrasyonları ve absorbans arasındaki ilişki. 51

Şekil 4.2:Farklı çözücü konsantrasyonlarında hazırlanmış saf kateşin çözelti konsantrasyonları ve absorbans arasındaki ilişki. 52

Şekil 4.3: Farklı çözücü konsantrasyonlarında hazırlanmış saf troloks çözelti konsantrasyonları ve absorbans arasındaki ilişki. 52

Şekil 4.4: Kuşburnu çekirdeği türlerine göre TPM değerlerinin karşılaştırılması. 54

Şekil 4.5:Farklı çözücü konsantrasyonlarına göre TPM değerlerinin karşılaştırılması 55

Şekil 4.6: Optimum metal tuzu konsantrasyonunun belirlenmesi. 59

Şekil 4.7: Optimum ekstrakt miktarının belirlenmesi. 60

Şekil 4.8: Optimum pH değerinin belirlenmesi. 61

Şekil 4.9: Optimum mikrodalga gücü belirlenmesi. 63

Şekil 4.10: Optimum mikrodalga süresi belirlenmesi. 64

Şekil 4.11: Optimum şartlarda sentezlenen ZnO NP. 65

Şekil 4.12: ZnO NP'lerin XRD analizi grafiği. 66

Şekil 4.13: ZnO NP'lerin FTIR analizi grafiği. 68

Şekil 4.14: ZnO NP'lerin SEM görüntüsü. 70

Şekil 4.15: ZnO NP'lerin EDX Spektrumu. 71

Şekil 4.16: Optimum koşullarda sentezlenen ZnO nanopartiküllerin DLS analizi sonucu. 73

Şekil 4.17:Optimum koşullarda sentezlenen ZnO nanopartiküllerin Zeta potansiyeli analizi sonucu. 74

Şekil 4.18:Kuşburnu Ekstraktı ve ZnO NP'lerin TFC, AA-DPPH ve TPM karşılaştırması. . 77

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Nano ölçekli malzemeler ve yığın(bulk) malzemelerin genel özellikleri [13]. 4

Tablo 2.2: Çeşitli bitki materyallerinden ZnO NP sentezi çalışmaları. 32

Tablo 4.1 : Gallik asit, kateşin ve troloksun farklı çözelti konsantrasyonlarında saf çözeltilerinin spektrofotometrik ölçümleri için iki tekrarlı absorbans değerleri*. 48

Tablo 4.2: Farklı çözücü konsantrasyonlarında gallik asit, kateşin ve troloks çözeltilerinin kalibrasyon denklemleri parametreleri. 51

Tablo 4.3: Farklı çekirdek türlerine göre absorbans ve TPM değerleri*.....53

Tablo 4.4: Farklı çözücü konsantrasyonlarına göre absorbans ve TPM değerleri*. 55

Tablo 4.5: ZnO NP sentezinde kullanılacak olan ekstraktın absorbans ve TPM değeri*. 56

Tablo 4.6: ZnO NP sentezinde kullanılacak olan ekstraktın absorbans ve TFM değeri*. 57

Tablo 4.7: ZnO NP sentezinde kullanılacak olan ekstraktın antioksidan aktivitesi ve antioksidan kapasitesi*. 57

Tablo 4.8: ZnO NP'lerin pik değerlerine göre kristal boyutları. 67

Tablo 4.9: DLS analiz sonucuna göre partikül boyutu (nm), parçacık sayısı (%), medyan çapı (nm), ortalama çapı (nm) ve PDI verileri. 72

Tablo 4.10: : ZnO NP'lerin TPM değeri*. 75

Tablo 4.11: :ZnO NP'lerin TFC değeri*. 75

Tablo 4.12: ZnO NP'lerin Antioksidan Aktivitesi ve Kapasitesi*. 76

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
%	: Yüzde
° C	: Derece santigrat
µL	: Mikrolitre
mL	: Mililitre
nm	: Nanometre
pH	: Çözeltinin asitliğini ve bazlığını gösteren ölçü birimi
rPM	: Dakikada dönme hızı
K	: Debye Scherrer sabiti
β	: Maksimum pikin yarı uzunluğu (FWHM)
Ɵ	: Bragg açısı değeri
d	: Kristal boyutu (nm)
g	: Gram
mg	: Miligram
$AlCl_3$	: Alüminyum Klorür
W	: Watt
R^2	: Korelasyon Katsayısı
eV	: Elektronvolt
µm	: Mikrometre
mm	: Milimetre
Å	: Angstrom
ε	: Molar absorbsiyon katsayısı
c	: Emici konsantrasyon
l	:Yol uzunluğu
M	: Molarite
%I	: DPPH radikal süpürücü etkisi
A	: Absorbans

Kısaltmalar	Açıklama
ABS	: Absorbans
ASE	: Automatic solvent extraction
CE	: Kateşin eşdeğeri
CNT	: Karbon nanotüp
DLS	: Dinamik ışık saçılımı
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EDX	: Enerji dağıtıcı X-ışını
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
EPA	: Çevre Koruma Ajansı
FDA	: ABD Gıda ve İlaç Dairesi
FTIR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrumu
GAE	:Gallik asit eşdeğer
GRAS	: Genellikle güvenli olarak kabul edilir
OÇE	: Otomatik çözücü ekstraksiyonu
ROS	: Reaktif oksijen türleri
PDI	: Polidispersite indeksi
SEM	: Taramalı elektron mikroskopu
SPR	: Yüzey plazmon rezonansı
TEAC	: Troloks eşdeğeri
TEM	: Geçirimli elektron mikroskopu
TFC	: Total flavonoid content
TFC	: Toplam flavonoid madde miktarı
TPC	: Total phenolic content
TPM	: Toplam fenolik madde miktarı
UV-Vis	: Ultraviyole ve görünür bölge
XRD	: X ışını kırınımı
ZnO	: Çinko oksit
ZnO NP	: Çinko oksit nanopartikül

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KUŞBURNU ÇEKİRDEĞİ ÖZÜTÜNDEN YEŞİL SENTEZ İLE ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜL SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

Rabia Nur BOZKURT

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik Programı

Danışman : Prof. Dr. Mehmet BİLGİN

Nanoteknoloji kavramının ortaya çıkmasıyla, nano malzemelere olan ilgi artmış ve onları sentezlemek için çok çeşitli kimyasal ve fiziksel yöntemler kullanılmıştır. Nanopartikülleri sentezlemek için metal öncüllerinin biyolojik indirgenmesini kapsayan yeşil sentez, çevre dostu ve daha ucuzdur. Bitki özütleri hem indirgeyici, hem de stabilize edici ajan olarak işlev gören fitokimyasallar açısından zengin olup, kökler, yapraklar, gövdeler, tohumlar, meyveler gibi bitki kısımları nanopartikül sentezi için kullanılmaktadır. Bitkiden salgılanan polifenolik bileşikler, vitaminler, aminoasitler, terpenoidler gibi fitokimyasallar, metal iyonlarını sıfır değerlik metal veya metal oksit nanopartiküllere indirgemektedir.

Bu tez çalışması kapsamında, kuşburnu çekirdeği özütünden çinko oksit nanopartikül (ZnO NP) sentezi ve karakterizasyonu ile daha çevreci bir nanomalzemenin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Kuşburnu çekirdeklerinin ekstraksiyonunda, ekstraksiyon süresini kısaltmak, çözücü tüketimini azaltmak ve ekstrakt verimini arttırıp ürün kalitesini yükseltmek için gelişmiş ekstraksiyon yöntemlerinden biri olan otomatik çözücü ekstraksiyonu (OÇE) yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen ekstrakt, toplam fenolik madde (TPM), toplam flavonoid madde (TFM) ve antioksidan kapasitesi değerleri açısından değerlendirilmiştir. Antioksidan kapasitesi değerleri 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) ile tayin edilmiştir. Kuşburnu çekirdeği özütünün TPM ve TFC açısından zengin olduğu, böylece antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. ZnO NP'lerin sentezinde süre tasarrufu açısından mikroldalga ısıtma sistemi kullanılmış, metal tuzu konsantrasyonu, ekstrakt miktarı, pH, mikrodalga gücü ve mikrodalga süresi UV-Vis spektrofotometrede optimize edilmiştir. Sentez için optimum parametre şartları, 0,05 M metal tuzu konsantrasyonu, 25 mL ekstrakt, pH 12, 360 Watt ve 7 dk olarak belirlenmiştir. Optimum şartlar altında sentezlenen ZnO NP'ler UV-Vis spektrofotometre, XRD, FTIR, SEM-EDX, DLS ve Zeta potansiyeli ölçümleri ile karakterize edilmiştir. Sentezlenen ZnO NP'lerin nano boyutta ve yüksek saflıkta olduğu; TPM, TFM ve antioksidan kapasitesi açısından değerlendirildiğinde antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Aralık 2022 , 109 sayfa.

Anahtar kelimeler: Çinko oksit nanopartikül, kuşburnu çekirdeği, yeşil sentez, karakterizasyon,

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

GREEN SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF ZNO NANOPARTICLES FROM *ROSA CANINA* SEED EXTRACT

Rabia Nur BOZKURT

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemical Engineering

Unit Operations and Thermodynamics Program

Supervisor : Academic Title Prof.Dr.Mehmet BİLGİN

With the emergence of the concept of nanotechnology, interest in nanomaterials has increased and a wide variety of chemical and physical methods have been used to synthesize them. Green synthesis, which involves the biological reduction of metal precursors to synthesize nanoparticles, is environmentally friendly and less expensive. Plant extracts are rich in phytochemicals that act as both reducing and stabilizing agents, and plant parts such as roots, leaves, stems, seeds, fruits are used for nanoparticle synthesis. Phytochemicals such as polyphenolic compounds, vitamins, amino acids, terpenoids secreted from the plant reduce metal ions to zero valence metal or metal oxide nanoparticles.

Within the scope of this thesis, it was aimed to develop a more environmentally friendly nanomaterial with the synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles (ZnO NP) from *Rosa Canina* seed extract. In the extraction of rosehip seeds, automatic solvent extraction (ASE) method, which is one of the advanced extraction methods, was used to shorten the extraction time, reduce the solvent consumption, and increase the extract yield and improve the product

quality. The obtained extract was evaluated in terms of total phenolic substance (TPC), total flavonoid substance (TFC) and antioxidant capacity values. Antioxidant capacity values were determined with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH). It has been determined that Rosa Canina seed extract is rich in TPM and TFC, thus having antioxidant activity. Microwave heating system was used in the synthesis of ZnO NPs to save time. Metal salt concentration, amount of extract, pH, microwave power and microwave time were optimized in the UV-Vis spectrophotometer. The optimum parameter conditions for the synthesis were determined as 0,05 M metal salt concentration, 25 mL extract, pH 12, 360 Watt and 7 min. ZnO NPs synthesized under optimum conditions were characterized by UV-Vis spectrophotometer, XRD, FTIR, SEM-EDX, DLS and Zeta potential measurements. It was determined that the synthesized ZnO NPs were nano-sized and of high purity and had antioxidant activity when evaluated in terms of TPC, TFM and antioxidant capacity.

December 2022, 109 pages.

Keywords: Zinc oxide nanoparticles, *Rosa Canina* seed, green synthesis, characterisation

1. GİRİŞ

Nanoteknoloji, 1959'da Nobel ödülüne sahip Richard P. Feynman tarafından ‘‘Aşağıda Çok Yer Var” adlı konuşma sırasında nitelendirildiğinden beri, dünyaya yeni bir potansiyel ve nano boyutta malzeme sentezi için geniş bir bakış açısı getirmiştir [1]. Nano boyutta mühendislik, teknoloji ve bilimi, kapsayan nanoteknoloji, bu uzunluk boyutunda maddenin görüntülenmesini, ölçülmesini, modellenmesini ve üretilmesini içermektedir [2].

Nanomalzemeler benzersiz özellikler sergilemekte ve onlara dünya çapında ilgi duyulmaktadır. Partikül boyutu küçüldükçe yüzeydeki partikül sayısı artmakta ve yüzey atomlarının koordinasyon sayısının iç atomlardan daha az olması nedeniyle partiküller daha kolay hareket etmektedirler. Yüzey özelliklerine dayanarak nanomalzemeler kataliz, fonksiyonel kaplamalar, adsorbanlar, nanoelektronik, sensörler gibi çeşitli alanlarda görülmektedir [3].

Metalik nanomalzemelerin elektronik, kozmetik, kaplamalar, paketleme ve biyoteknoloji gibi çeşitli alanlarda uygulamaları kullanılmaktadır. Nanopartiküller ışığın kritik dalga boyunun altında bir dalga boyuna sahip olduğu için, şeffaf halde olmakta ve kozmetik, kaplama ve ambalaj uygulamalarında faydalı hale gelmektedir [4].

Nanopartiküllerin sentezinde çok çeşitli fiziko-kimyasal yaklaşımlar kullanılmaktadır. Bununla birlikte, nanopartikülleri sentezlemek için metal öncüllerinin biyolojik indirgenmesi daha çevreci bir yaklaşımdır. Yeşil sentez, metal iyonlarının bir organizmanın bileşenleri veya özü tarafından kararlı nanopartiküllere indirgendiği redoks reaksiyonuna dayanmaktadır [5]. Organizmaların ve organik bileşiklerin metal iyonlarını azaltma ve onları nanopartiküller halinde stabilize etme yeteneği, yeşil sentezin temelini oluşturur. Bugüne kadar, çeşitli bitki özleri kullanılarak çeşitli metal iyonlarından nanopartikül sentezi çalışmaları literatürde yer almaktadır. Nanopartiküllerin saflığının büyük endişe kaynağı olduğu tıbbi ve biyolojik uygulamalar için, nanopartiküllerin biyolojik olarak sentezi kimyasal kirletici maddeler içermemektedir [6].

Metalik ve metal oksit nano yapılar, yüksek yüzey / hacim oranları ve reaktiviteleri nedeniyle yüksek potansiyel göstermektedirler [4]. Gümüş oksit (Ag_2O), çinko oksit (ZnO), bakır oksit

(CuO), kalay oksit (SnO_2), altın oksit (AuO), titanyum dioksit (TiO_2) gibi nanomalzemelerin içerisinde çinko oksit (ZnO), en geniş kullanım alanına sahip nanopartiküller içerisindedir [10]. ZnO'nun 3.37 eV geniş bant aralığına sahip olması nedeniyle optoelektronik, güneş pilleri, gaz sensörleri, katalizörler, farmasötikler ve kozmetik alanında potansiyel bir malzeme olarak kabul edilmektedir. ZnO nanopartiküller (ZnO NP) ahşap ve gıda ürünleri için antimikrobiyal koruyucu olarak da kullanılmıştır [5]. Çeşitli kanser hücrelerine ZnO NP'lerin sitotoksik etki gösterdiği, ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanıldığı ve biyouyumlu olduğu bilinmektedir [7].

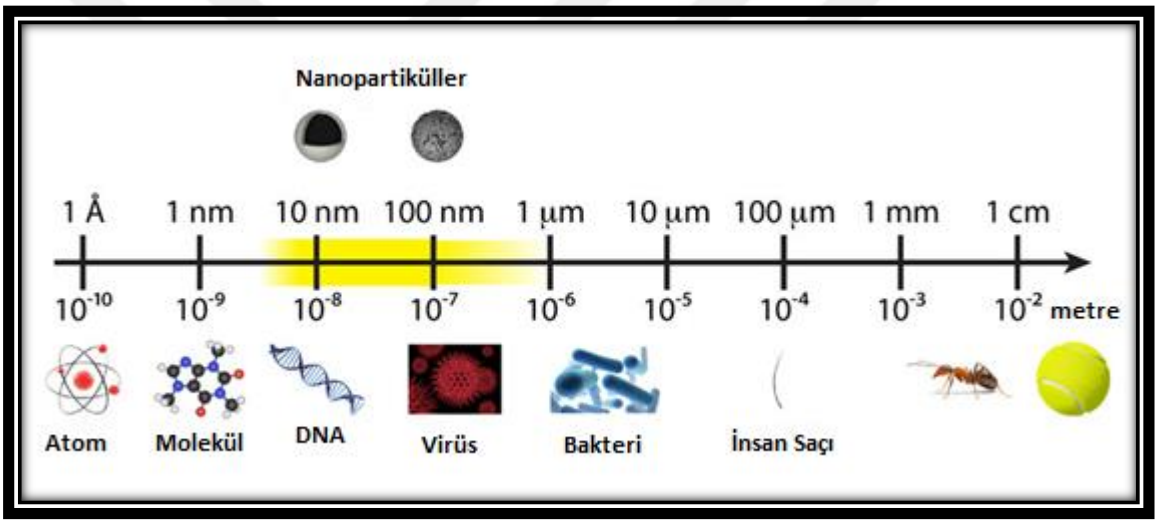
Kuşburnu (Rosa Canina), Kuzey Afrika, Avrupa ve Batı Asya'da yetişmekte olan, dikenli gövde ve dallara sahip, Rosacea ailesinin bir üyesidir [8]. Kuşburnu türlerinin özleri, içerdikleri fenolik bileşikler nedeniyle indirgeme reaksiyonu için potansiyel fitokimyasallardır [5]. Meyvenin önemli bir kısmını oluşturan çekirdek, değerlendirilmediğinde atık olarak kalmaktadır. Kuşburnu çekirdeği içeriğinde bulunan askorbik asit, kuvvetli bir indirgeyici ajan ve pH kontrolü için bir asit düzenleyicidir. Biyolojik bileşenler açısından atık kuşburnu çekirdeği, fenolikler, mineraller ve polisakkaritler gibi pek çok bileşiğe sahiptir. Sahip olduğu bu bileşiklerle, oksijeni absorplaması sayesinde antioksidan olarak görev yapmaktadır [9].

Bu tez çalışmasında kuşburnu meyvesinin çekirdeği özütü kullanılarak ZnO NP'lerin sentezi ve karakterizasyonu incelenmiştir. Bu çalışmada söz konusu atığın ekstraksiyonunda, ileri ekstraksiyon tekniği olarak kabul edilen otomatik çözücü ekstraksiyonu (OÇE) kullanılmıştır. Elde edilen ekstrakt spektrofotometrik yöntemlerle içerik olarak incelenmiştir. Ayrıca istenilen nanopartikülün sentezinde geleneksel ısıtma yönteminin aksine mikrodalga ile ısıtma kullanılmıştır. Nanopartiküllerin sentez şartları UV-Vis spektrofotometresiyle optimize edilmiştir. Optimum şartlarda sentezlenen ZnO NP'lerin karakterizasyonu, UV-Vis Spektrofotometre, XRD, FTIR, SEM-EDX, DLS ve Zeta potansiyeli analizleriyle yapılmıştır ve nanopartiküller spektrofotometrik yöntemlerle içerik olarak incelenmiştir.

2. LİTERATÜR TARAMASI

2.1. NANOTEKNOLOJİ VE TARİHSEL GELİŞİMİ

Cüce ya da çok küçük şey anlamına gelen ve metrenin milyarda birini (10^{-9} m) gösteren nano, Yunanca bir kelimedir. Nanobilim, 1 -100 nanometre(nm) arasında boyutları değişen yapıları incelemektedir. Nanobilimi uygulamalarda kullanan teknolojiye nanoteknoloji denir [10]. Şekil 2.1'de çeşitli boyutlardaki günlük nesnelerin ve organizmaların boyutları görülmektedir.



Şekil 2.1: Karşılaştırmalı olarak, günlük nesnelerin ve organizmaların boyutları [11].

Nanoteknolojinin temeli, nano ölçekteki malzemelerin yığın malzemelerden kimyasal, elektrik, manyetik, mekanik ve optik özellikler bakımından daha farklı özelliklere sahip olduğuna dayanmaktadır [12]. Yığın malzemelerle karşılaştırıldığında, nano ölçekli malzemelerin benzer uygulamalarda kullanıldıklarında gelişmiş performans özelliklerine sahip oldukları bilinmektedir. Nano ölçekli malzemeler ve yığın malzemelerin genel özellikleri Tablo 2.1'de gösterilmektedir.

Tablo 2.1: Nano ölçekli malzemeler ve yığın(bulk) malzemelerin genel özellikleri [13].

NANO ÖLÇEKLİ MALZEMELER	YIĞIN MALZEMELER
Nano malzemeler, en az bir boyutunda 1-100 nm arasında olan, kimyasal madde veya malzemelerdir.	Yığın malzemeler, tüm boyutlarında 100 nm üzerinde olan malzemelerdir.
Basit mikroskop ve çıplak göz ile görülemediğinden, gelişmiş mikroskobik teknikler kullanılmaktadır.	Basit mikroskop veya çıplak gözle görülebilmektedir.
Geniş yüzey / hacim oranı, kataliz ve gaz sensörleri gibi uygulamalarda daha iyi performans göstermelerine neden olmaktadır.	Nano ölçekli malzemelere göre daha düşük yüzey/hacim oranına sahiptirler.
Yüzeylerinde, yüksek atom veya molekül yüzdesine sahiptirler.	Nano ölçekli malzemelere göre daha düşük yüzey atom veya molekül yüzdesine sahiptirler.
Yüzey kuvvetleri çok önemlidir.	Yığın malzemeler için yüzey kuvvetleri, nano ölçekteki malzemeler kadar önemli değildir.
Metalik nano ölçekli malzemeler eşsiz saçılma özelliklerine sahiptirler.	Metal yığın malzemeler normal saçılma özelliklerine sahiptirler.
Nano ölçekli malzemelerin özellikleri partikül boyutu değiştirilerek ayarlanabilir.	Kimyasal ve fiziksel özellikleri partikül boyutu değiştirilerek ayarlanamaz.
Moleküllerin (gaz veya sıvı fazlar) adsorpsiyonu ve absorpsiyonu yüksek ve hızlıdır.	Moleküllerin (gaz veya sıvı fazlar) adsorpsiyonu ve absorpsiyonu düşük ve yavaştır.
Nanosilika, virüs, bakteri örnek verilebilir.	Alüminyum, çimento, kum örnek verilebilir.

Nano ölçeğin bu derece önemli hale gelmesinin bazı sebepleri aşağıda maddelenmiştir:

- Madde içindeki elektronların kuantum mekanik özellikleri, nano ölçekteki değişikliklerden etkilenmektedir. Malzemelerin nano ölçekli tasarımıyla, kimyasal bileşimlerini değiştirmeden şarj kapasitesi, manyetizasyon ve erime sıcaklığı gibi özelliklerini değiştirmek mümkün hale gelmektedir.
- Biyolojik varlıkların önemli bir özelliği, maddenin nano ölçekte sistematik organizasyonudur. Nanoteknolojideki gelişmeler nano ölçekli yapıları canlı hücrelerin içine yerleştirilmesine izin vermektedir.

- Nano ölçekli bileşenlerin çok yüksek yüzey/hacim oranına sahip olması onları kompozit malzemelerde, reaksiyona giren sistemlerde, ilaç dağıtımında ve kimyasal enerji depolamada (hidrojen ve doğal gaz gibi) kullanım için uygun hale getirmektedir.
- Nano yapılardan oluşan makroskopik sistemler, mikro yapılardan oluşanlardan çok daha yüksek yoğunluğa sahip olabilmekte ve elektriği daha iyi iletmektedirler [12].

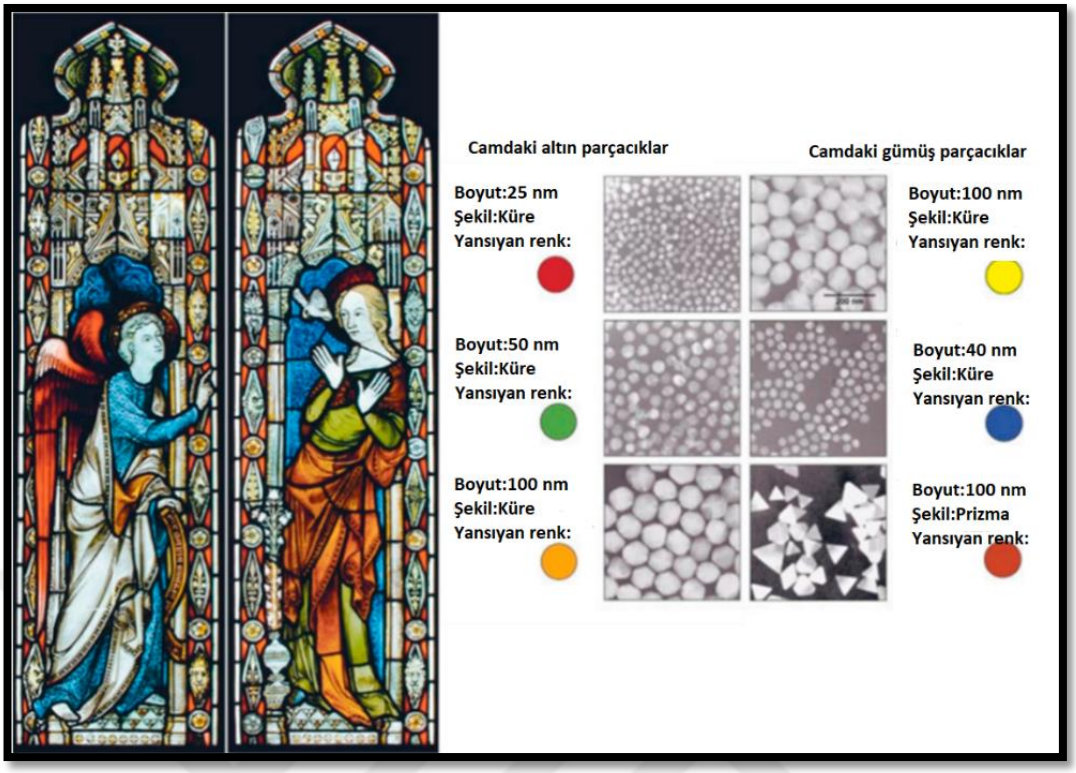
Yukarıda bahsedilen özellikler nanoteknoloji uygulamalarının bilim ve teknolojinin hemen hemen tüm dallarında yaygınlaşmasına sebep olmaktadır. Nanoteknolojinin biyoloji, tıp, mühendislik, ilaç, savunma, güvenlik, elektronik ve çevre endüstrilerinde hızla artmakta olan birçok uygulaması vardır [3].

Nanoteknoloji, bilimin son yıllarda gelişen bir alanı olarak görülse bile, seramik matrisler için doğal asbest nanoliflerinin kullanıldığı 4500 yıl öncesine kadar dayanmaktadır [14]. Belirli aydınlatma koşullarında renk değiştiren iki farklı cam türünü tanımlayan dikroik camın en ünlü eski örneği olan Lycurgus Kupası, Şekil 2.2'de görüldüğü üzere yeşil ve kırmızı-mor görülmektedir. 1990'da yapılan geçirimli elektron mikroskopu (TEM) analizi sonucunda görülen iki rengin, 50-100 nm çapında nano yapıların varlığından kaynaklandığı bulunmuştur [10].



Şekil 2.2: En eski sentetik nanomalzemelerden biri olan Lycurgus Kupası **[10].**

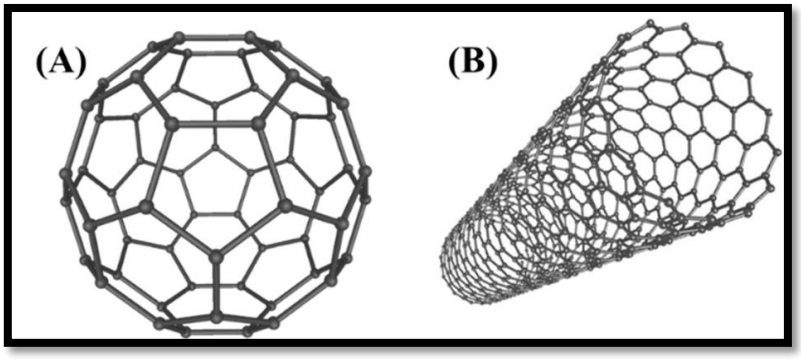
Benzer bir etki, altın (Au) ve gümüş (Ag) nanopartiküllerinin camda füzyonu nedeniyle parlak kırmızı ve sarı renklerle parlayan ortaçağ kilise pencerelerinde görülmektedir [10]. Şekil 2.3'te farklı boyutlardaki nanopartiküllerin bu etkisinin bir örneği gösterilmektedir.



Şekil 2.3: Nanopartiküllerin vitray pencerelerin renkleri üzerindeki etkisi [11].

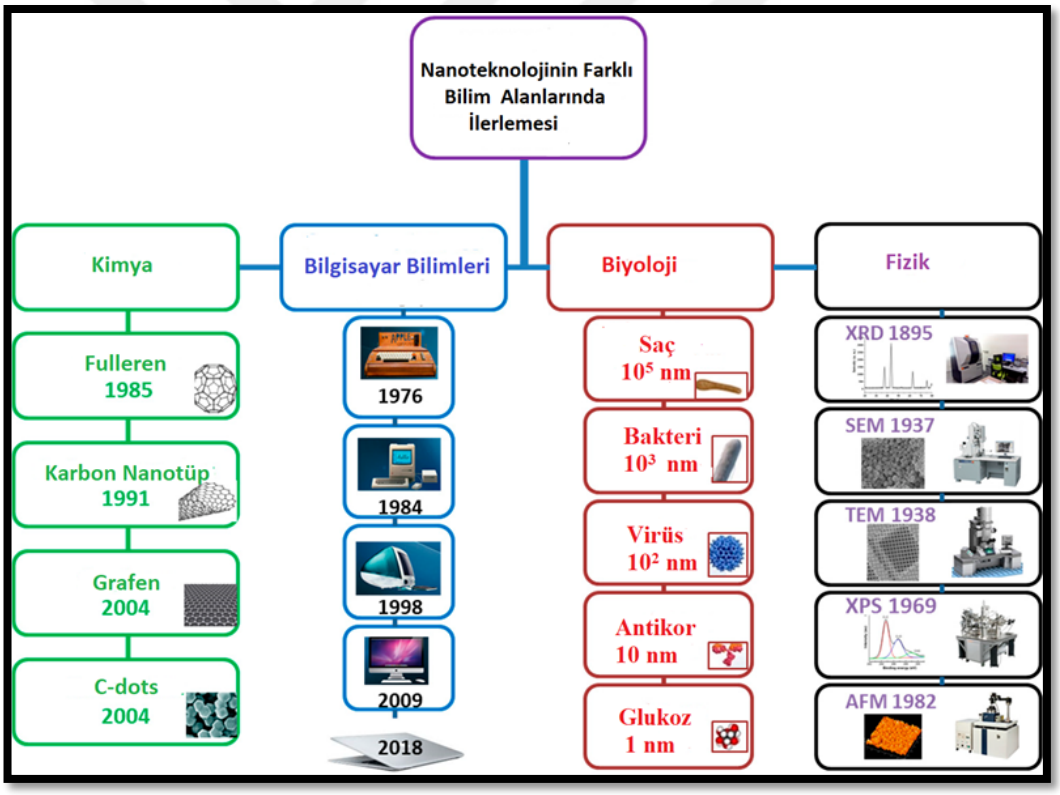
9. ve 17. yüzyıllar arasında İslam Dünyası ve Avrupa'da kullanılan parlak ve göz alıcı sırların ve camların yapısında bakır (Cu), Ag ve diğer metalik yapılı nanopartiküllerin kullanıldığı da bildirilmektedir [10].

Modern nanoteknolojinin ve nanomalzemelerin kökleri, Nobel ödüllü fizikçi Dr. Richard Feynman'ın Amerikan Fizik Derneği'nin "Aşağıda Çok Yer Var" başlıklı bir toplantısında yaptığı 1959 tarihli bir konuşmaya kadar uzanmaktadır. Nanoteknoloji terimi ilk defa Japon araştırmacı Norio Taniguchi tarafından 1974 yılında kullanılmıştır [15]. Fizikçi Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer'in, 1981'de Taramalı Tünelli Mikroskobu (STM) icat etmesiyle nanoteknolojide önemli bir ilerleme olmuştur [10]. Nanoteknoloji tarihindeki bir başka dönüm noktası, 1985 yılında Curl, Kroto ve Smalley'in çalışmasıyla yeni bir nanoyapılı karbon modifikasyonu olan Fulleren veya "Buckyballs"un keşfidir. Fulleren'in ortaya çıkması, 1991 yılında karbon atomlarının tüp benzeri yapılarının keşfedilmesine yol açmıştır. Karbon nanotüpler (CNT), temel olarak grafitle kaplanmış karbonit tabakaları olan karbon atomlarının, kenarları bir silindir oluşturmak üzere bağlanmış olan ve fulleren ile oldukça benzer özellikler gösteren tüp şeklinde yapılardır [15]. Şekil 2.4'te fulleren ve CNT şematik olarak gösterilmektedir.



Şekil 2.4: Şematik olarak **A)** Fulleren , **B)** CNT [10].

Nanobilim ve nanoteknolojinin zaman içindeki gelişimi 21.yy'da nanoteknoloji alanında yapılan çalışmaların yapıtaşlarını oluşturmaktadır. Şekil 2.5'te bilimsel alanlardaki önemli olaylar şematik olarak gösterilmiştir.

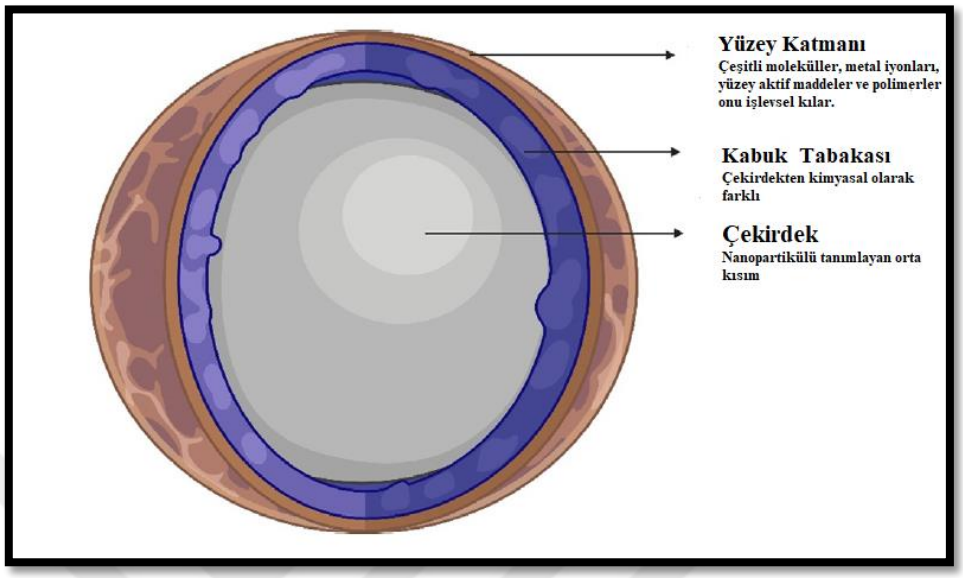


Şekil 2.5: Nanoteknolojinin Farklı Bilim Alanlarında İlerlemesi [10].

2.2. NANOPARTİKÜLLER VE SINIFLANDIRILMASI

Nanopartiküller, boyutları 1 ile 100 nm arasında değişen yapılardır. Nanopartiküllerin önemi, madde boyutunun optik özellik gibi fiziko-kimyasal özellikleri etkileyebileceğinin

anlaşılmasıyla artmıştır [16]. Nanopartiküller basit moleküller olmayıp ve Şekil 2.6'da görülen üç katmandan oluşmaktadır.

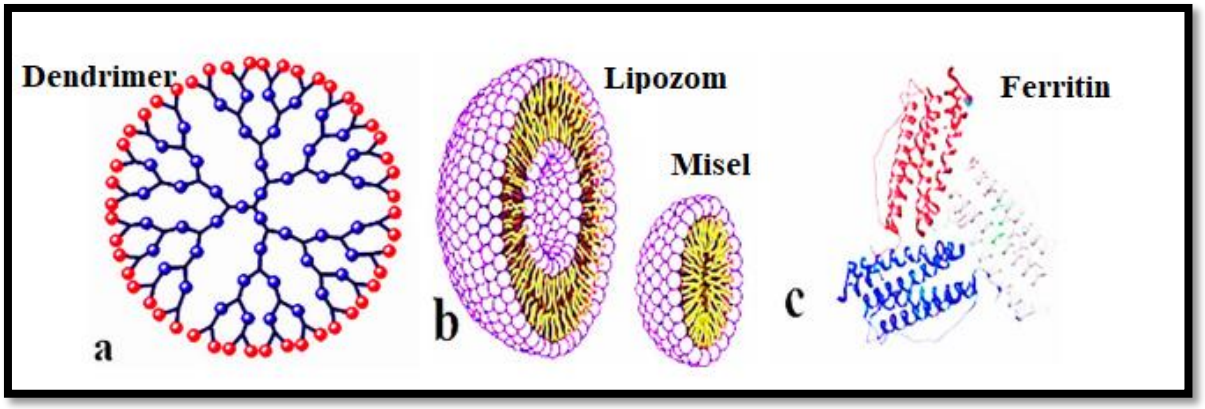


Şekil 2.6: Nanopartikülün Yapısı [14]**.**

Nanopartiküller, yığın malzemeye kıyasla daha geniş bir yüzey alanına sahiptirler. Bu ölçekte sentezlenen malzemeler dış ortamla daha fazla temas eden atomlara sahip olmaktadırlar. Nanopartiküllerin optik aktivite, kimyasal reaktivite, geniş yüzey alanı ve mekanik mukavemet gibi fizikokimyasal özellikleri, onları bilim ve teknolojideki çok fazla uygulama için uygun hale getirmektedir [14]. Nanopartiküller genellikle organik, inorganik ve karbon bazlı olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır.

I. Organik Nanopartiküller

Biyolojik olarak parçalanabilen ve toksik olmayan organik nanopartiküller, Şekil 2.7'de gösterilen ferritin, miseller, dendrimerler ve lipozomlardan oluşmaktadır. Isıya ve ışığa duyarlı oldukları için ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılmaktadırlar. Polimerik nanopartiküller olarak da bilinen organik nanopartiküller, genellikle nanoküre ve nanokapsül şeklindedirler [16].



Şekil 2.7: Organik Nanopartiküller [16].

II. İnorganik Nanopartiküller

İçerisinde karbon olmayan inorganik nanopartiküller, toksik olmayıp, biyolojik olarak uyumlu hidrofilik yapılardır. İnorganik nanopartiküller organik nanopartiküllerden daha kararlıdırlar. İnorganik nanopartiküller, metal bazlı ve metal oksit bazlı nanopartiküller olarak sınıflandırılmaktadır [16].

❖ ***Metal Nanopartiküller***

Metal öncüllerinden nano boyutlara kadar sentezlenen nanopartiküller, metal bazlı nanopartiküllerdir [17]. Son zamanlarda nanoteknoloji alanında yeni bir terminoloji olarak ortaya çıkıp ilgi odağı olmuşlardır. Nanopartiküllerin sentezinde, sağlık üzerinde yararlı etkileri olan altın, platin ve gümüş gibi metaller kullanılmaktadır [18]. Alüminyum, altın, demir, kurşun, gümüş, kobalt, çinko, kadmiyum ve bakırın nanopartikülleri iyi bilinen metal nanopartiküllerdir. Metal nanopartiküller, küçük boyut (10-100 nm), yüzey alanı-hacim oranı, yüzey yükü, gözenek boyutu, yüzey yük yoğunluğu, yapı (kristal ve amorf), şekiller (küresel, çubuk, altıgen, dörtgen, silindirik ve düzensiz) gibi yüzey özellikleri nedeniyle ayırt edici özellikler sergilemektedirler [16].

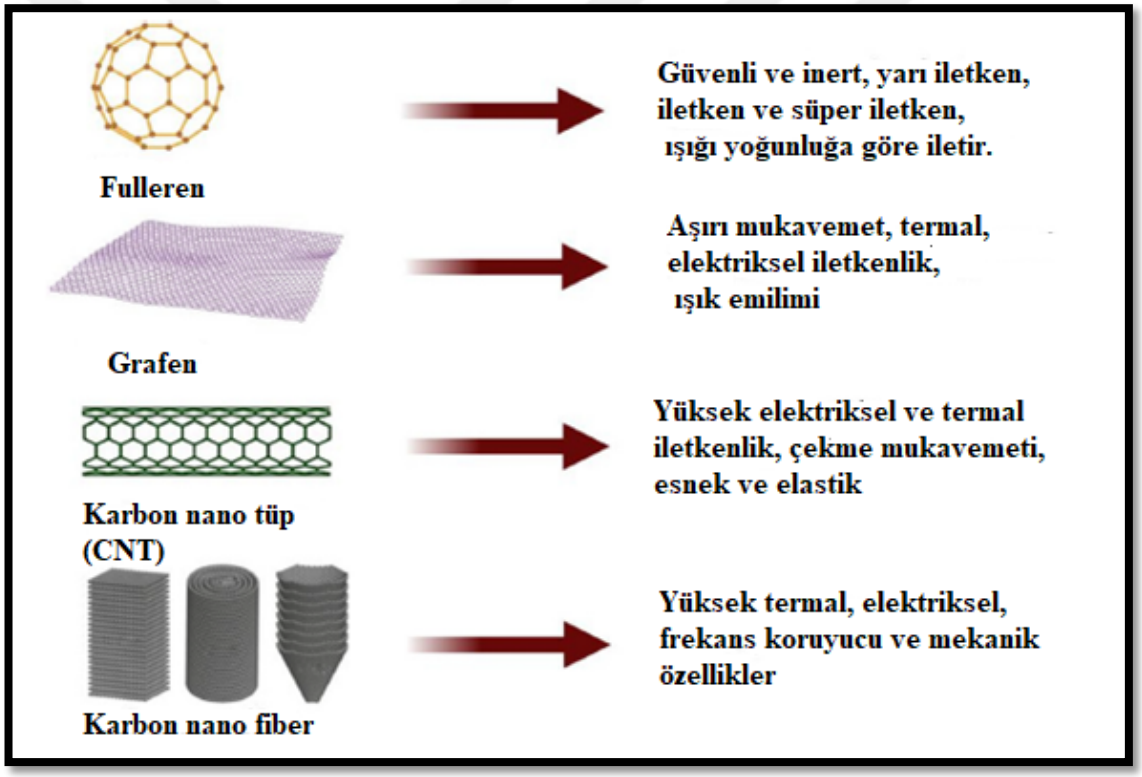
❖ ***Metal Oksit Nanopartiküller***

Metal oksit nanopartiküllerinin sentezinin amacı, metal nanopartiküllerin metal oksit partiküllere oksitlenmesi ile metal nanopartiküllerin özelliklerini değiştirmektir. Metal oksit nanopartiküllerinin reaktivitesi, metal partiküllere kıyasla artmaktadır. Metal oksit partiküllerine örnek olarak çinko oksit, silikon dioksit, demir oksit, alüminyum oksit, seryum oksit, titanyum dioksit örnek verilebilmektedir. Metal oksit nanopartiküllerin elektronik,

kozmetik, kaplama, paketleme ve biyoteknoloji gibi çeşitli alanlarda olası uygulamaları vardır [16].

III. Karbon Bazlı Nanopartiküller

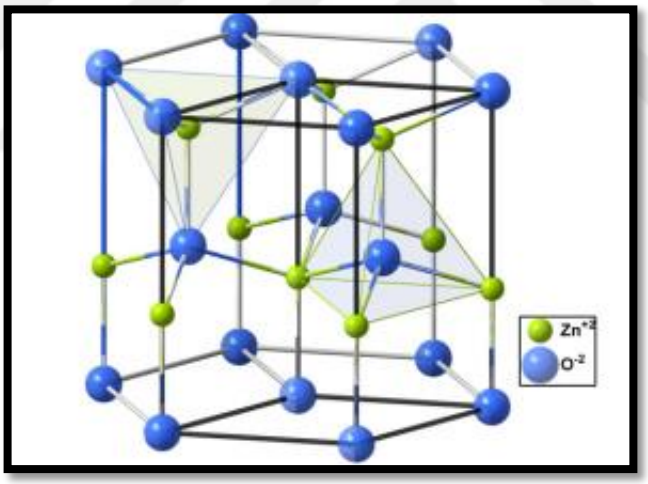
Tamamen karbondan oluşan nanopartiküller, karbon bazlı nanopartiküller olarak adlandırılmaktadır. Fullerenler, CNT, grafen, karbon nanofiberler ve karbon siyahı olarak sınıflandırılabilirler. Şekil 2.8'de bazı karbon bazlı nanopartikül yapıları ve özellikleri gösterilmiştir [17]. Karbon bazlı nanopartiküller iletkenlik, mekanik özellikler, kimyasal kararlılık ve termal özellikler dahil olmak üzere farklı kimyasal ve fiziksel özellikler göstermektedirler. Bu nedenle, karbon bazlı nanopartiküller son zamanlarda ilgi odağı haline gelmişlerdir [13].



Şekil 2.8: Karbon bazlı bazı nanopartiküller ve özellikleri [14].

2.3. ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ ve KULLANIM ALANLARI

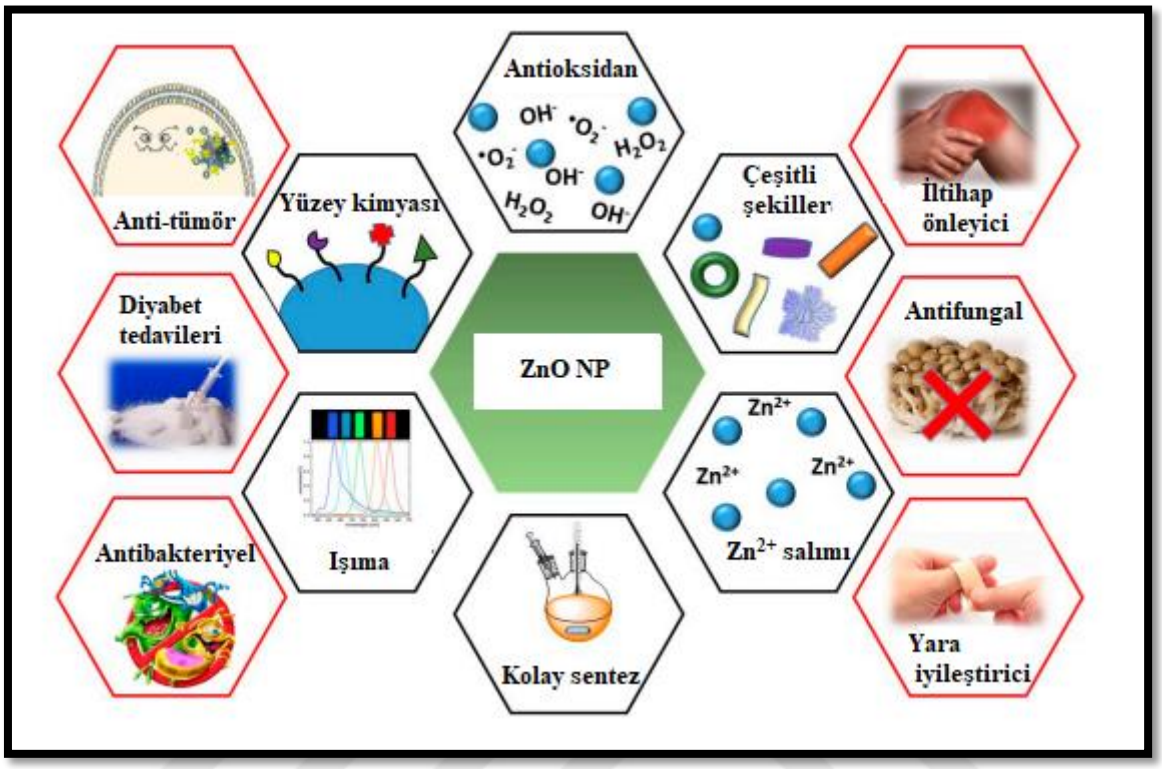
Çinko oksit (ZnO), yarı iletken olan bir metal oksittir. ZnO eşsiz bir optik, kimyasal algılama, elektrik iletkenliği ve piezoelektrik özelliklere sahiptir. Optik, elektronik ve biyomedikal sistemler gibi alanlarda uygulanabilirliği sebebiyle son yıllarda ilgi odağı olmuştur. ZnO, FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından GRAS (genellikle güvenli olarak kabul edilir) metal oksit sınıfında olduğu belirlemiştir. ZnO NP'ler, yüksek katalitik aktivite, geniş bant aralığı (3.37 eV), optik, anti-inflamatuar, yara tedavi edici ve UV filtreleme özellikleri nedeniyle iyi bir yarı iletken özellik sergilemektedir. ZnO diğer metallerle katkılandığında iletkeniği artmaktadır. ZnO, hafif kovalent karakter gösterse de, Zn–O çok güçlü iyonik bağa sahiptir [19][20]. ZnO ortam koşullarında farklı şekillerde bulunabilse de, genellikle altıgen wurtzite yapısında kristallenmekte ve en kararlı bu halde bulunmaktadır. Şekil 2.9'da ZnO'nun wurtzite kristal yapısı gösterilmiştir. Bu şekil, merkezi atom olarak bir katyonu gösterirken, diğeri köşelerde dört katyonla çevrili anyonu göstermektedir.



Şekil 2.9: ZnO'nun kristal yapısı [21].

UV filtreleme özelliği sebebiyle, güneş koruyucu kremlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Antifungal, antidiyabetik, antibakteriyel ve antikanser gibi çok çeşitli tedavi edici uygulamalara sahiptir. ZnO, hedefe yönelik ilaç dağıtımı için de kullanılmaktadır. ZnO NP'lerin çok düşük gram negatif ve gram pozitif bakteri konsantrasyonunda bile güçlü antibakteriyel etkiye sahip olduğu ve kimyasal olarak sentezlenen ZnO NP'lerden daha güçlü antibakteriyel etki göstediği bilinmektedir [20]. Antibakteriyel özelliğine ek olarak, yüksek katalitik ve fotokimyasal aktiviye sahiptir. ZnO, UVA (315–400 nm) ve UVB (280–315 nm) bölgelerinde yüksek optik absorpsiyona sahiptir [19]. Ayrıca kauçuk imalatında, boyada, sudan kükürt ve arseniğin

giderilmesinde ve protein adsorpsiyon özelliklerinde kullanılmaktadır [19]. Şekil 2.10'da ZnO NP'lerin ana özellikleri özetlenmiştir.



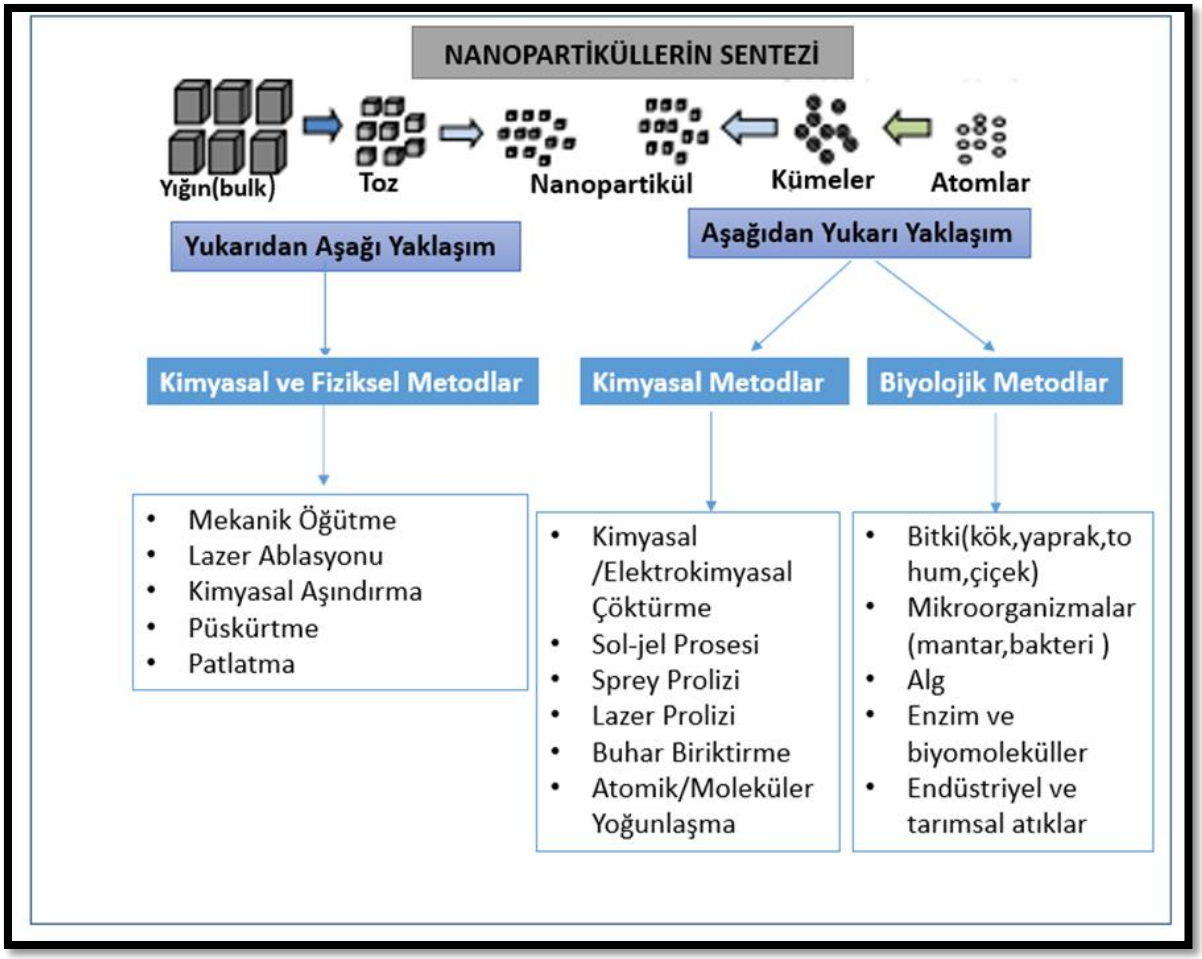
Şekil 2.10: ZnO NP'lerin temel özellikleri [22].

2.4. NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİNDE KULLANILAN YAKLAŞIMLAR

Nanoteknolojinin kullanıldığı çeşitli uygulama alanlarında, nanometre ölçeğinde imalat, kontrol ve ölçüm için çeşitli üretim yöntemleri geliştirilmiştir. Nanopartiküller aşağıdan yukarıya veya yukarıdan aşağıya yaklaşım olarak kategorize edilen çeşitli yöntemlerle sentezlenmektedirler.

- **Yukarıdan Aşağı Yaklaşım**: Bu yöntemde nanopartiküllerin hazırlanması, farklı fiziksel ve kimyasal işlemlerle yığın malzemenin boyutunun nano ölçeğe küçültülmesine dayanmaktadır. Yukarıdan aşağıya yöntemlerin uygulanması kolaydır, ama düzensiz şekilli ve çok küçük boyutlu partiküllerin hazırlanması için elverişli bir yöntem değildir. Nanopartiküllerin yüzey ve fizikokimyasal özelliklerindeki değişimler, bu yöntemin problemlerini oluşturmaktadır [18].
- **Aşağıdan Yukarı Yaklaşım**: Bu yöntem atomların, moleküllerin veya küçük parçacıkların birleştirilmesi ile nanopartiküllerin oluşturulmasına dayanır. Bu yöntemde, nanopartiküllerin nanoyapılı yapı taşları önce oluşturulur ve daha sonra nanopartikülü üretmek için birleştirilmektedir [18].

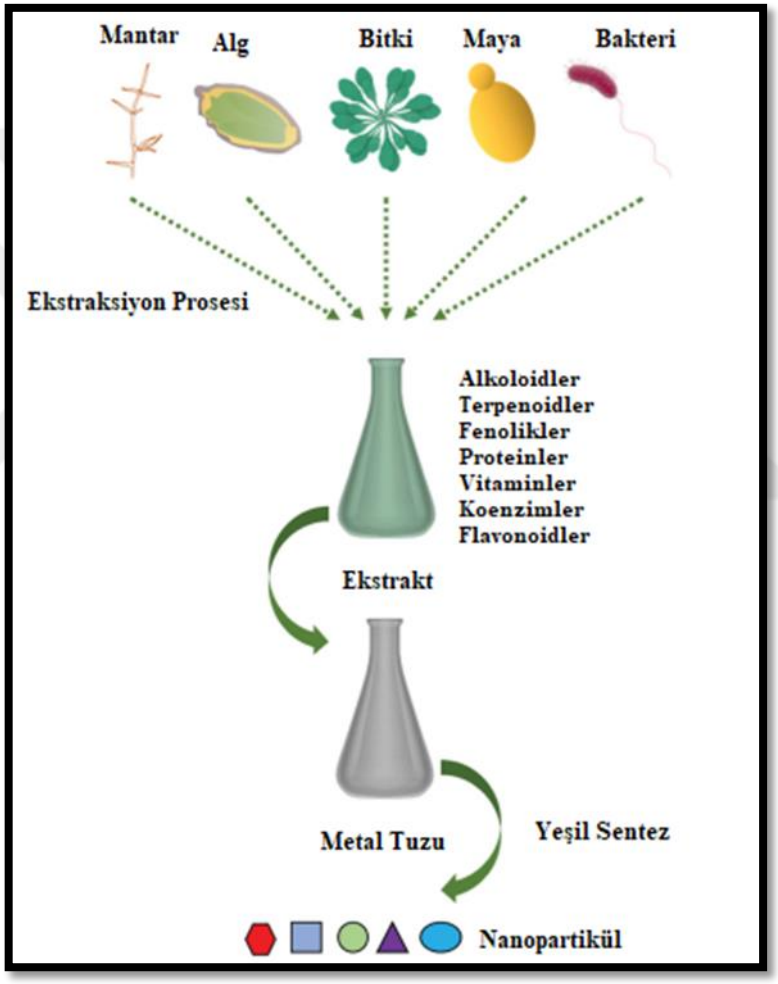
Nanopartiküller, fiziksel, kimyasal, biyolojik ve hibrit teknikleri içeren bazı yöntemler kullanılarak sentezlenmektedir. Şekil 2.11'de bu yöntemler gösterilmektedir. Nanopartiküllerin geleneksel fiziksel ve kimyasal yöntemlerle üretimi, çevresel tehlikeler olan toksik yan ürünlerle sonuçlanabilmekte ve sağlıkla ilgili sorunlar nedeniyle tıp alanında kullanılmamaktadır. Tanımlanmış boyut ve şekillerde, büyük miktarlarda nanopartiküllerin daha kısa sürede üretilmesi için geleneksel yöntemler kullanılabilmekte, ancak bu teknikler karmaşık, maliyetli ve verimsiz teknikler olmaktadır. Son zamanlarda, nanopartiküllerin sentezi için yüksek verimli, düşük maliyetli, toksik olmayan ve çevreye zarar vermeyen yöntemlerin geliştirilmesine artan bir ihtiyaç vardır. Bu durum, geleneksel fiziksel ve kimyasal yöntemlere alternatif olarak nanopartikül üretimi için güvenli ve ekolojik olarak sağlam kabul edilen biyolojik sentez ya da yeşil sentez kavramını ortaya çıkarmıştır [23].



Şekil 2.11: Nanopartiküllerin sentez yöntemleri [23].

2.5. NANOPARTİKÜLLERİN BİYOLOJİK SENTEZİ (YEŞİL SENTEZ)

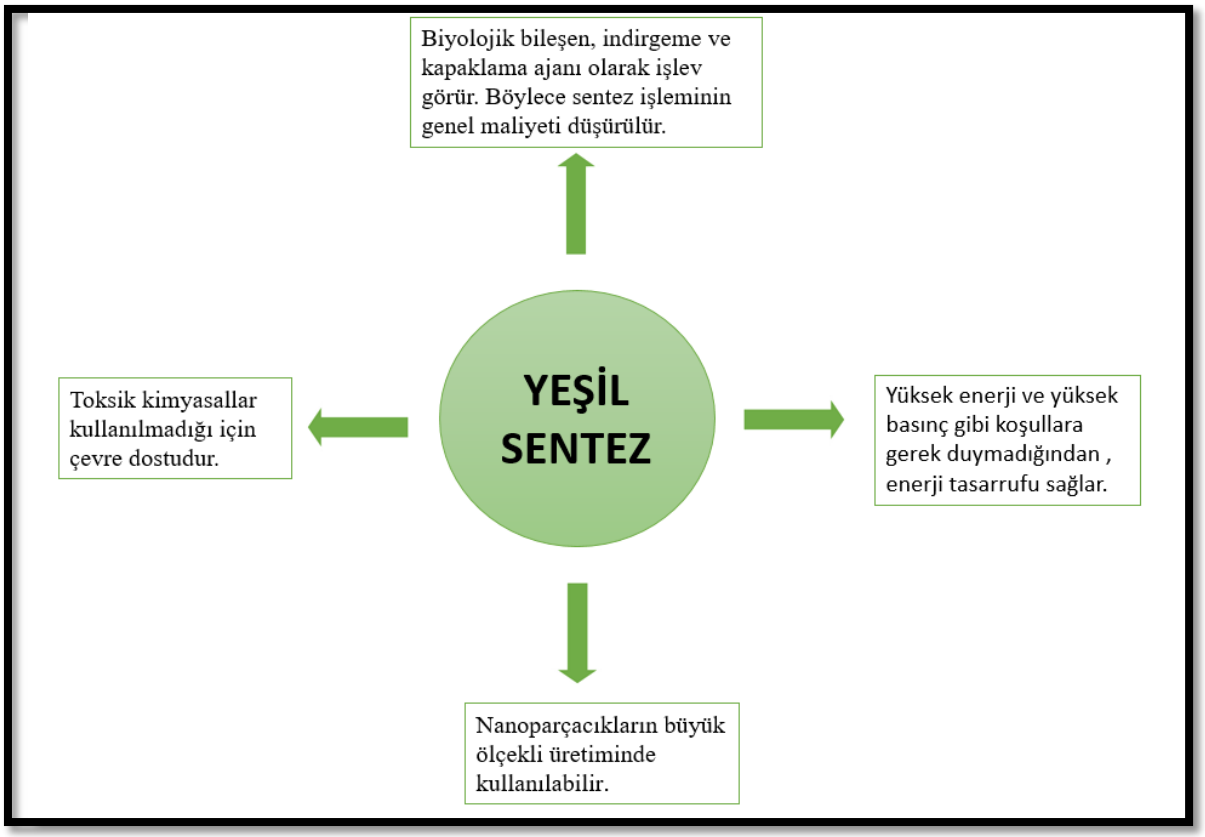
Biyolojik varlıkların metal iyonlarını azaltma ve onları nanopartiküller halinde stabilize etme yeteneği, yeşil sentezin temelini oluşturmaktadır. Yeşil sentez, metal iyonlarının biyolojik bir varlık tarafından kararlı nanopartiküllere indirgendiği redoks reaksiyonuna dayanmaktadır [5]. Biyolojik malzemelerin varlığında ve optimum koşullar altında (sıcaklık, konsantrasyon, pH ve diğerleri) metalik nanopartiküller sentezlenmektedir. Şekil 2.12'de biyolojik ajanlar kullanılarak nanopartiküllerin yeşil sentezi için prosedür şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.12: Biyolojik ajanlar kullanılarak nanopartiküllerin yeşil sentez prosedürü [24].

Belirli koşullar altında, yeşil sentezlenmiş metalik nanopartiküllerin kalitesi, kimyasal yöntemlerle sentezlenenleri bile geride bırakmaktadır [25]. Bu yüzden bu yöntem, nanopartiküllerin üretimi için fiziksel ve kimyasal sentez yöntemlerine cazip bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Bitkiler, mantarlar, bakteriler, virüsler, enzimler, endüstriyel ve tarımsal atıklar gibi biyolojik varlıkları kullanan yeşil kimya temelli bir yaklaşımın

kullanılmasını içeren bu yöntem, biyolojik varlıklar aracılığıyla nanopartiküllerin sentezlenmesinde çevre dostu bir yöntem sergilemektedir [26] . Şekil 2.13'te yeşil sentezin avantajları şematize edilmiştir.



Şekil 2.13: Yeşil sentezin avantajları [27].

2.6. BİTKİLERLE YEŞİL SENTEZ

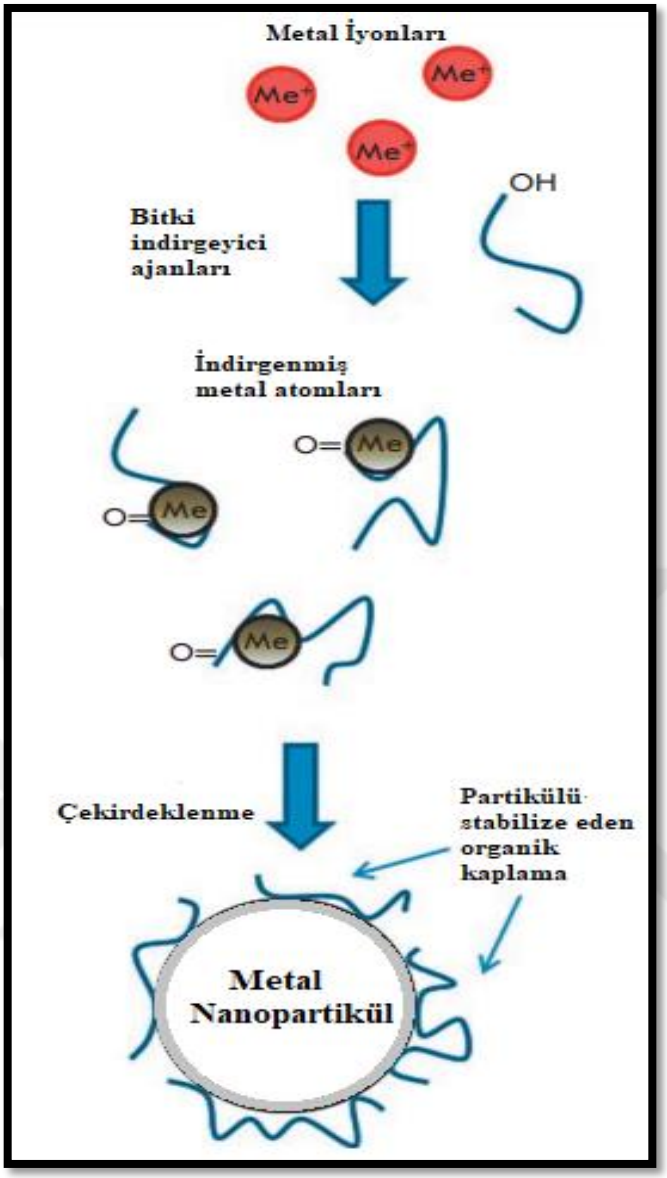
Yapraklar, meyveler, kökler, gövdeler ve çekirdekler dahil olmak üzere çeşitli bitki bileşenleri, farklı nanopartikülleri sentezlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bitki ekstrelerinde bulunan çok çeşitli fitokimyasalların varlığı, doğal stabilize edici ve indirgeyici özellik göstererek nanopartikül oluşumunu sağlamaktadır. Bitki ile yeşil sentez, kullanım kolaylığı ve bitki çeşitliliği nedeniyle son zamanlarda ilgi duyulan bir alan haline gelmiştir. Bitki kaynaklı sentezlenmiş nanopartiküllerin kimyasal olarak sentezlenmiş nanopartiküllere kıyasla insanlarda zararlı etkilere sebep olma olasılığının daha düşük olduğu ve gıda teknolojisi, biyomühendislik, kozmetik, nanotıp ve insandaki uygulamalarla ileri derecede biyolojik potansiyel gösterdikleri kabul edilmektedir [28].

Bitki içerisindeki biyolojik varlıklar, büyüme sonlandırıcı olarak ve aglomerasyon sürecini inhibe etmek için gerekli olan sınırlama ve stabilize edici ajanlara sahiptir. Biyolojik varlıklar ve organik indirgeyici ajanlarla kombinasyon halindeki konsantrasyonları, nanopartiküllerin boyutunu ve şeklini etkilemektedir. Bununla birlikte, flavonoidler, fenolikler, terpenoidler, kofaktörler gibi enzimler, proteinler, şekerler ve fitokimyasallar, esas olarak indirgeyici ve stabilize edici ajan olarak işlev görmektedirler [6].

Genel olarak, bitkilerden metal nanopartikül sentezi üç ana aşamadan oluşmaktadır:

1. Metal iyonlarının indirgendiği ve indirgenen metal atomlarının çekirdeklenmesinin olduğu aktivasyon aşaması,
2. Küçük nanopartiküllerin, termodinamik kararlılığında bir artış ile daha büyük boyutta parçacıklar halinde birleştiği büyüme fazı,
3. Nanopartiküllerin enerji açısından en uygun şekli elde ettiği ve son şeklinin belirlendiği sonlandırma aşaması. Bu işlem bir bitki ekstraktının metal nanopartikülleri stabilize etme yeteneğinden kaynaklanmaktadır [29].

Nanopartikül oluşum süreci Şekil 2.14'te gösterilmektedir.



Şekil 2.14: Bitki özütüyle metal iyonlarından metal nanopartikül sentezi [29].

2.6.1. Bitki Ekstraktlarıyla Nanopartikül Sentezini Etkileyen Faktörler

Nanopartiküllerin oluşumu ile metal iyonlarının indirgenme süreci; farklı biyoaktif moleküller içeren bir bitki özütünün içeriğinin yanı sıra, pH, sıcaklık, reaksiyon süresi, konsantrasyon ve bir metal iyonunun elektrokimyasal potansiyeli gibi birçok faktörden etkilenmektedir [29].

Çözelti pH'ı, nanopartiküllerin yeşil sentezinde önemli bir rol oynamaktadır. pH'daki bir değişiklik, ekstraktta bulunan doğal fitokimyasallarda, nanopartikül sentezi sırasında metal katyonları ve anyonlarını bağlama ve azaltma yeteneklerini etkileyen bir yük değişikliğine neden olmakta ve bu da nanopartiküllerin şeklini, boyutunu ve verimini etkilemektedir [29].

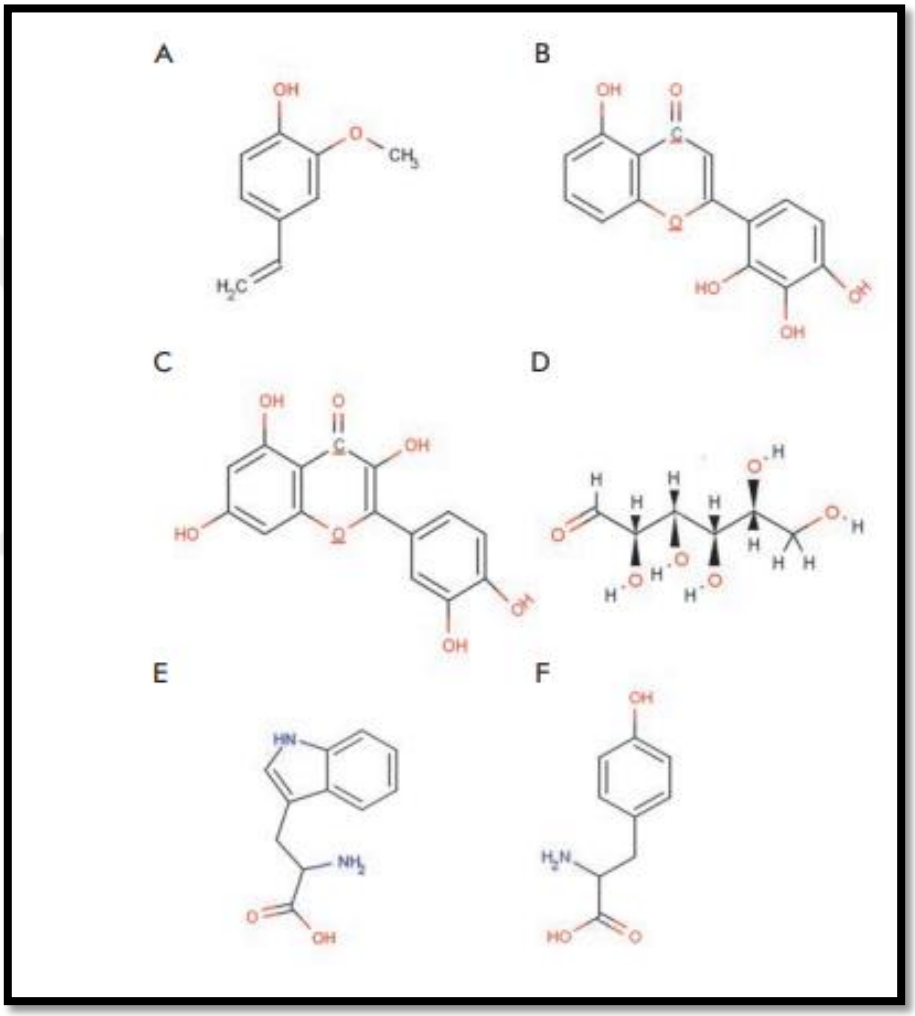
Sıcaklık, bitki ekstraktlarından nanopartikül oluşumunu etkileyen bir diğer önemli faktördür. Genel olarak, sıcaklık artışı, nanopartikül sentezinin reaksiyon hızını ve verimliliğini arttırmaktadır. Bitki bazlı biyomateryaller kullanılarak nanopartikül sentezinin boyutu, şekli ve kapsamı, sentez ortamının inkübe edildiği reaksiyon süresinin uzunluğundan da büyük ölçüde etkilenmektedir [30].

Bitki ekstraktının miktarı nanopartikül sentezinin verimliliğini etkilemektedir. Daha önce yapılan çalışmalar, ekstrakt miktarındaki artışın nanopartiküllerin sentezini arttırdığı kadar nanopartiküllerin morfolojisini de değiştirebildiğini göstermektedir. Bu nedenle, sentez için optimum ekstrakt miktarını belirlemek genellikle önemlidir [30].

Bitkilerin metal iyonlarını azaltma yeteneğinin sınırlı olduğu ve metal nanopartikül sentezinin verimliliğinin aynı zamanda metal iyonunun elektrokimyasal potansiyeline de bağlı olduğu düşünülmektedir. Daha kolay indirgenen iyonlar nanopartikül sentezi için daha uygun olup, bitkinin etkin indirgeme kapasitesi bu iyon için daha büyük olmaktadır [31].

2.7. NANOPARTİKÜL SENTEZİNDE İNDİRGEYİCİ AJAN OLARAK DOĞAL ÜRÜNLER

Terpenoidler, polifenoller, şekerler, alkaloidler, fenolik asitler ve proteinler gibi çeşitli bitki metabolitleri, metal iyonlarını nanopartiküllere biyolojik olarak indirgenmede ve stabilize etmede önemli bir rol oynar [29]. Metal iyonlarını indirgeyebilen ana bileşik türlerinden bazıları Şekil 2.15'te gösterilmiştir.



Şekil 2.15: Metal nanopartiküllerin sentezinde yer alan başlıca bitki metabolitleri türleri: **A** – terpenoidler; **B,C** – flavonoidler; **D** – açık zincirli bir indirgeyici heksoz; **E,F** – amino asitler (triptofan (**E**) ve tirozin (**F**)) [29].

2.7.1. Fenolik Bileşikler

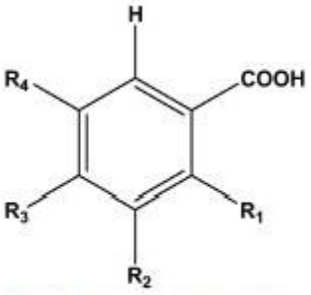
Evrende bitkilerden izole edilmiş ve çeşitli yapı ve sınıflarla tanımlanmış yaklaşık 200.000'in üzerinde kimyasal madde vardır. Bu tür maddeler, primer ve sekonder metabolitler olarak ikiye ayrılmaktadırlar. Yağ asitleri, proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi primer

metabolitler hücre bakımında görev almaktadırlar. Sekonder metabolitler ise doğrudan fotosentetik ya da solunum metabolizmasına katılmamalarına rağmen, bitkilerin hayatta kalması için gerekli oldukları bilinmektedir. Fenolik bileşikler bitkilerde daha yaygın olarak bulunan sekonder metabolitlerden biridir [32].

Fenolik bileşikler, ortak bir ya da daha fazla hidroksil grubu taşıyan aromatik halkaya sahip olan çok çeşitli bitki maddelerini kapsamaktadır. 8000'den fazla bilinen yapıya sahip en yaygın sekonder bitki metabolitleridir. Fenolik bileşikler arasında en büyük grubu flavonoidler oluşturur, ancak basit monosiklik fenoller, fenilpropanoidler ve fenolik kinonların hepsi önemli sayıda bulunmaktadır. Fenolik pigmentler gözle görülür şekilde renklidir ve izolasyon ve saflaştırma sırasında kolayca izlenmektedirler. Fenolik bileşiklerin tümü aromatiktir, bu nedenle hepsi spektrumun UV bölgesinde yoğun absorpsiyon göstermektedirler. Tüm bitki organlarında bulunmaları onları insan diyetinin hayati bir bileşeni yapmaktadır [33][34].

2.7.1.1. Fenolik Asit

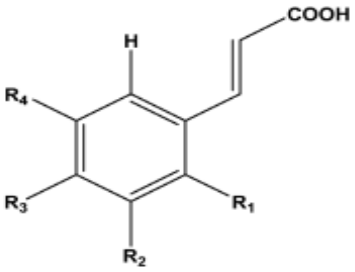
Fenolik asit, bir karboksilik asit işlevselliğine sahip olan fenolleri belirtmektedir. Fenolik asitler hidroksisinnamik ve hidroksibenzoik yapı olmak üzere iki farklı karbon çerçevesi içermektedir. Temel iskelet aynı kalıp aromatik halka üzerindeki hidroksil gruplarının sayıları ve konumları farkı oluşturmaktadır. Şekil 2.16 ve 2.17'de fenolik asit çeşitleri gösterilmektedir. Fenolik asitlerin önemli biyolojik ve farmakolojik özellikleri, özellikle antiinflamatuar, antioksidan ve antimutajenik aktiviteleri nedeniyle günümüzde ilgi çekmektedirler. Bitki bazlı gıdalarda yaygın olarak bulundukları için insanlar günlük beslenmelerinde fenolik asitleri tüketmektedirler [35].



Hidroksibenzoik asit

İsim	R_1	R_2	R_3	R_4
Benzoik asit	H	H	H	H
***p*-hidroksibenzoik asit**	H	H	OH	H
Vanilik asit	H	OCH_3	OH	H
Gallik asit	H	OH	OH	OH
Protokateşik asit	H	OH	OH	H
Siringik asit	H	OCH_3	OH	OCH_3
Gentisik asit	OH	H	H	OH
Veratrik asit	H	OCH_3	OCH_3	H
Salisilik asit	OH	H	H	H

Şekil 2.16: Hidroksibenzoik asit türevi fenolik asitler [35].



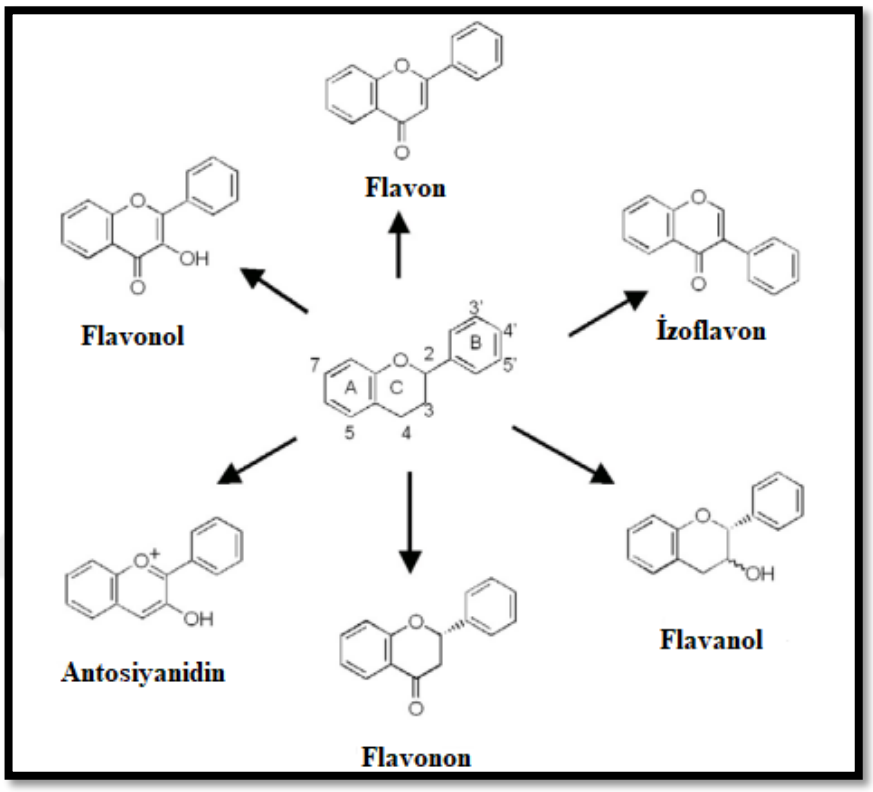
Hidroksisinnamik asit

İsim	R_1	R_2	R_3	R_4
Sinnamik asit	H	H	H	H
***o*-kumarik asit**	OH	H	H	H
***m*-kumarik asit**	H	OH	H	H
***p*-kumarik asit**	H	H	OH	H
Ferulik asit	H	OCH_3	OH	H
Sinapik asit	H	OCH_3	OH	OCH_3
Kafeik asit	H	OH	OH	H

Şekil 2.17: Hidroksisinnamik asit türevi fenolik asitler [35].

2.7.1.2. Flavonoid

Flavonoidler, insan beslenmesindeki başlıca polifenollerdir. Yapısal olarak flavonoidler, A, B ve C olarak adlandırılan C6–C3–C6 gibi 3 halka halinde düzenlenmiş 15 karbon atomlu bir flavan çekirdeğinden oluşmaktadırlar. Flavonoidin altı alt grubu vardır, bunlar flavonlar, flavanonlar, flavonoller, flavanoller, antosiyaninler, ve izoflavonlardır [34]. Şekil 2.18'de yapısal olarak flavonoidler gösterilmektedir.



Şekil 2.18: Yapısal olarak flavonoidler [36].

İnsanlarda bu bileşikler, anti-inflamatuar, antikanser, antiaging, kardiyo-koruyucu, nöroprotektif, immünomodülatör, antidiyabetik, antibakteriyel, antiparazitik ve antiviral özellikler gibi biyoaktif özelliklerinden kaynaklanan çeşitli sağlık yararları ile ilişkilidir. Olağanüstü antioksidan özelliklerinden dolayı flavonoidler gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde kullanılmaktadır. Meyve, sebze, çiçek ve tohum gibi yüksek miktarda doğal flavonoid içeren kaynakların yanında, şarap, bira ve çay gibi içecek ve yiyeceklerde de flavonoid bulmaktadır [37].

2.7.2. Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitesi

Serbest radikaller (ROS) olarak adlandırılan reaktif oksijen ve nitrojen türleri, sayısız biyolojik reaksiyon yoluyla sürekli olarak üretilen reaktif moleküllerdir[38].Antioksidan, bir substratın oksidasyonunu geciktiren veya önleyen bir maddedir[39]. Fenolik bileşikler antioksidan aktivite göstererek, biyomoleküllerin serbest radikal aracılı reaksiyonlar yoluyla oksidatif hasara uğramasını önlemektedirler[32]. Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin üretimi ile vücudun antioksidanları kullanımı yoluyla bu reaktif türlerini ortadan kaldırma yeteneği arasındaki dengesizlik ile oksidatif stresi ortaya çıkmaktadır. Aşırı reaktif oksijen varlığında biyolojik bir sistemde, kardiyovasküler hastalıklardan kanserin ilerlemesine kadar farklı hastalıklar ortaya çıkabilir. Biyolojik sistemlerler, ROS'un inaktive olmasına izin veren enzimatik ve enzimatik olmayan yapıların hasarını kontrol etmek için antioksidan mekanizmalara sahiptir. Bir organizma yüksek konsantrasyonda ROS'a maruz kaldığında, endojen antioksidan sistem tehlikeye girmektedir ve sonuç olarak organizmanın tam koruması sağlanmamaktadır. Bu antioksidan eksikliğini telafi etmek için vücut, gıda, besin takviyeleri veya ilaçlar yoluyla sağlanan eksojen antioksidanları kullanmaktadır. En önemli eksojen antioksidanlar arasında fenolik bileşikler, karotenoidler, C vitamini , selenyum ve çinko gibi bazı mineraller bulunmaktadır. Fenolik bileşikler, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonunu engelleyerek, hidrojen donörleri olarak hareket etme veya demir ve bakır gibi metal iyonlarını şelatlama kapasitesine sahiplerdir [39].

Antioksidanların serbest radikal inaktivasyonu ve elektron transferi olmak üzere iki mekanizması vardır. İlk mekanizmada serbest radikal (R•), radikal hale gelen antioksidandan (ArOH) bir hidrojen atomunu çıkarabilir. O-H bağlarının bağ ayrışma enerjisi ne kadar düşükse, serbest radikalin inaktivasyonunun reaksiyonu o kadar kolay ve dolayısıyla antioksidan etkisi o kadar büyük olmaktadır.

- $R\bullet + ArOH \rightarrow RH + ARO\bullet$

İkinci mekanizmada, antioksidan, bir katyon radikali haline gelen serbest radikale bir elektron verebilir. Bu mekanizmada, potansiyel iyonizasyon ne kadar düşükse, elektron soyutlaması o kadar kolay olur, bu da daha fazla antioksidan aktivite anlamına gelmektedir.

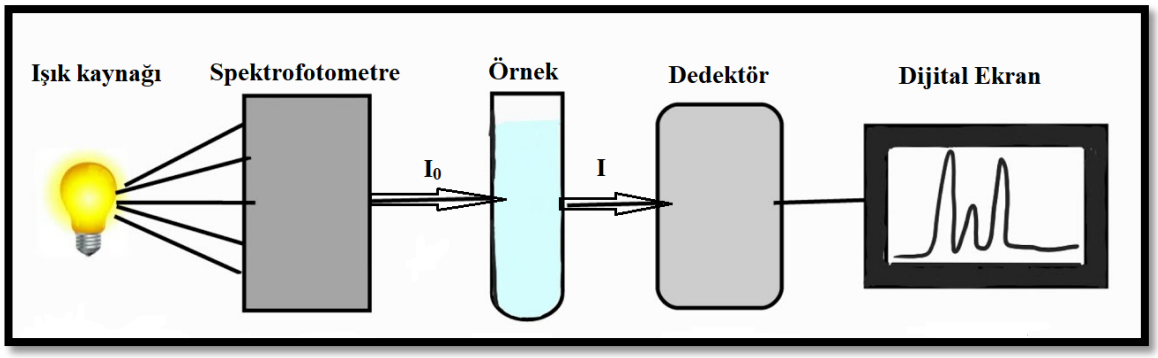
- $R\bullet + ArOH \rightarrow RH^{-} + ARO\bullet^{+}$ [32]

2.8. FENOLİK BİLEŞİKLER İÇİN TAYİN YÖNTEMLERİ

2.8.1. Spektrofotometrik analizler

UV-Vis spektroskopisi, UV (10-400 nm) ve Vis (400-800 nm) bölgelerinde ışığın yoğunluğunu ölçmek için kullanılan en eski analitik teknik olarak kabul edilmektedir. UV ve Vis radyasyonlarının dalga boyları genellikle nm olarak ifade edilir. Analit, belirli dalga boyundaki ışığı emmekte ve analit tarafından emilen radyasyon miktarı ölçülmektedir. Organik, inorganik, biyokimyasal ve farmasötik bileşikler gibi çeşitli maddeleri analiz etmek için temel oluşturur. UV-Vis spektroskopisinde absorbe edilen ışığın miktarı, bir numune solüsyonunda bulunan analit miktarı ile doğru orantılıdır. Analitin konsantrasyonu arttıkça ışığın absorpsiyonu da lineer olarak artarken, ışığın iletimi katlanarak azalmaktadır. Bir organik molekül tarafından elektronik enerji seviyelerinin absorpsiyonu, değerlik elektronlarının temel durumdan uyarılmış duruma uyarılması ile ilişkilidir. Enerjinin emilmesinden sonra, elektronik geçişler genellikle en yüksek moleküler orbitali içeren uyarılmış halden meydana gelmektedir. Soğurulan radyasyonun dalga boyu, başlangıçta elektron tarafından işgal edilen yörünge (E2) (temel durum) ile yükseltildiği yörünge (E1) arasındaki enerji farkına bağlıdır [40] .

UV Spektrofotometre cihazı temel olarak, ışık kaynağı, dedektör ve dalgaboyu seçicisi kısımlarından oluşmaktadır. Optik sinyal dedektör tarafından elektrik sinyaline dönüştürülmekte ve kaydedilmektedir. Numuneler, uygun dalga boyu alanında cam veya kuartz malzemelerden yapılmış ışık prizmalarına aktarılarak ışık yoluna konulmaktadır. Şekil 2.19'da temel olarak spektrofotometre çalışma prensibi gösterilmiştir.



Şekil 2.19: Spektrofotometre çalışma prensibi.

Örneğe iletilen ışık huzmesinin yoğunluğu (I_0) ve örnekten çıkan ışık huzmesinin yoğunluğu (I) olduğunda (Şekil 2.19) ışık geçirgenliği, "Transmitans" olarak adlandırılmakta ve denklem 2.1'de gösterilmektedir.

- $Transmitans = \frac{I}{I_0}$ **(2.1)**

Absorbans, örnek tarafından ne kadar ışığın emildiğinin doğrudan bir ölçüsüdür. Yani gelen ışık örnekten geçerken emilen ışık absorbansa eşittir(denklem 2.2).

- $A = -log_{10}\frac{I}{I_0}$ **(2.2)**

Absorbans analitin konsantrasyonuyla ve analit boyunca ışının yol uzunluğu ile orantılıdır. Beer-Lambert yasası (denklem 2.3), belirli bir örneğin absorbansının ölçülmesini ve çözelti konsantrasyonunun çıkarılmasını sağlamaktadır. Bu denklemde A absorbans, ε molar absorbsiyon katsayısı ($M^{-1}cm^{-1}$), l (cm) yol uzunluğu ve c (M) emici konsantrasyon anlamına gelmektedir [41]**.**

- $A = \varepsilon * l * c$ **(2.3)**

2.8.1.1. Toplam Fenolik Madde Tayini

Bitkilerde polifenollerin tayini için kromotogrif ve spektrofotometrik çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Folin-Ciocalteu yöntemi de fenolik madde tayini için kullanılan bir yöntemdir. Başlangıçta bu yöntem, fenolik esansiyel olmayan bir amino asit olan tirozinin kolorimetrik tayini için geliştirilmiştir. Daha sonra özellikle bitki ekstraktlarından idrar ve arı ürünlerine kadar geniş bir yelpazedeki örneklerde bitki fenolikleri, ilaçlar, C vitamini ve diğer bileşenleri içeren çeşitli bileşiklerin tayini için kullanılmıştır [42].

Bitki özleri içerisinde bulunan polifenoller, Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile reaksiyona girerek, görünür ışık spektrofotometrisiyle ölçülebilen mavi bir kompleks oluşturmaktadır. Reaksiyonda maksimum absorbsiyonunun alkali çözelti ve fenolik bileşiklerin konsantrasyonuna bağlı olduğu, fosfotungstik-fosfomolibden kompleksinden oluşan mavi bir kromofor oluşmaktadır. Birçok bileşik FCR rengini sarıdan maviye çevirdiğinden, reaksiyon genellikle tüm fenolik bileşik grupları için doğru ve spesifik veriler sağlamaktadır. FCR, molibden ve tungstenin 6+ oksidasyon durumunda olduğu heteropoliasitler, fosfomolibdik ve fosfotungstik asitlerin bir karışımından oluşmaktadır. Bir indirgeyici ile böyle bir reaksiyon

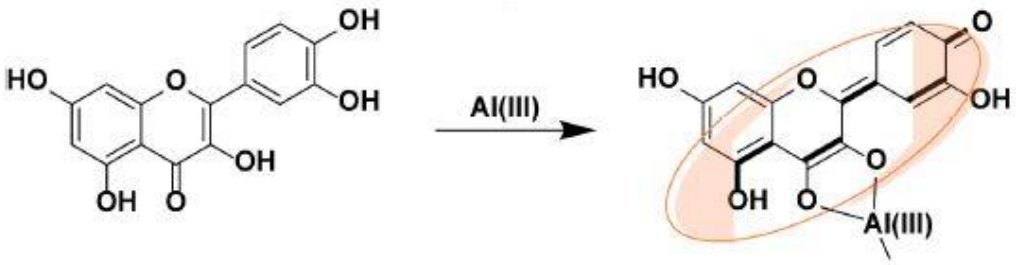
sonucunda molibden mavisi ve tungsten mavisi oluşmakta ve metallerin ortalama oksidasyon durumunun 5 ile 6 arasında olması polifenollerin FCR ile etkileşim mekanizmasını sağlamaktadır.

- $Na_2WO_4\ /Na_2\ MO_4$ (Sarı) → (Fenol $- MoW_{11}O_{40})^{-4}$ (mavi)
- $Mo^{+6}(sarı) + e^{-1} \rightarrow Mo^{+5}(mavi)$
- $Mo^{+5} + e^{-1} \rightarrow Mo^{+4}(mavi)$ [43]

Bu reaksiyonun kesin kimyasal yapısı hala bilinmediğinden, literatürde birçok modifikasyonu bulunmaktadır. En yaygın değişiklikler test hacmi (1µL′den 100 mL'ye kadar olan çözeltiler) veya FCR miktarı (numune başına 200 ' µL'den 2 mL'ye kadar), reaktiflerin eklenme sırası, sodyum karbonat konsantrasyonu (7.5 ila %29 arası), okuma dalga boyu (615'ten 765 nm'ye kadar), miktar tayini için analitik standart referans (gallik asit, aynı zamanda pirogallol, kateşin, klorojenik asit) ve reaksiyon süresi (30-120) dk)dir. Gallik asit, sonuçları kantitatif verilerle ifade etmek için kullanılan en yaygın referans moleküldür ve genellikle birim numune başına gallik asit eşdeğerleri (GAE) olarak gösterilir [44].

2.8.1.2. Toplam Flavonoid Madde Tayini

Bitki ekstraktlarında toplam flavonoid maddenin (TFC) belirlenmesi için yaygın olarak takip edilen yöntemlerden biri, Al(III)'ün bir kompleks oluşturucu olarak kullanıldığı alüminyum klorür kolorimetrik deneyidir. Yöntem, Al(III)-flavonoid şelatlarının oluşumuna dayanmaktadır (Şekil 2.20). Çok sayıda okso ve hidroksil grupları nedeniyle flavonoidler, pH değeri de dahil olmak üzere deneysel koşullara bağlı olarak, Al(III) gibi metal iyonlarını çoğunlukla 1:1 oranında bağlamak için büyük bir ilgiye sahiptir. Zamanla, $AlCl_3$'ün eklenmesinden önce $NaNO_2$ eklenmesi gibi çeşitli değişiklikler yapılmıştır. TFC, aynı deneysel koşullarda ve dalga boyunda ölçülen bir referans flavonoid standardına dayalı kalibrasyon eğrilerinden ölçülmektedir. En çok kullanılan flavonoid standartları arasında kuersetin, kateşin ve rutin bulunmaktadır. Flavonoid içeren bitki özleri, $AlCl_3$ yöntemiyle 410-440 nm' de spektrofotometrik olarak ölçülebilen sarı renk oluşturmak için $AlCl_3$ ile reaksiyona girmektedir [45]. $AlCl_3/NaNO_2$ yönteminde ise 510 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüm yapılmaktadır [46].

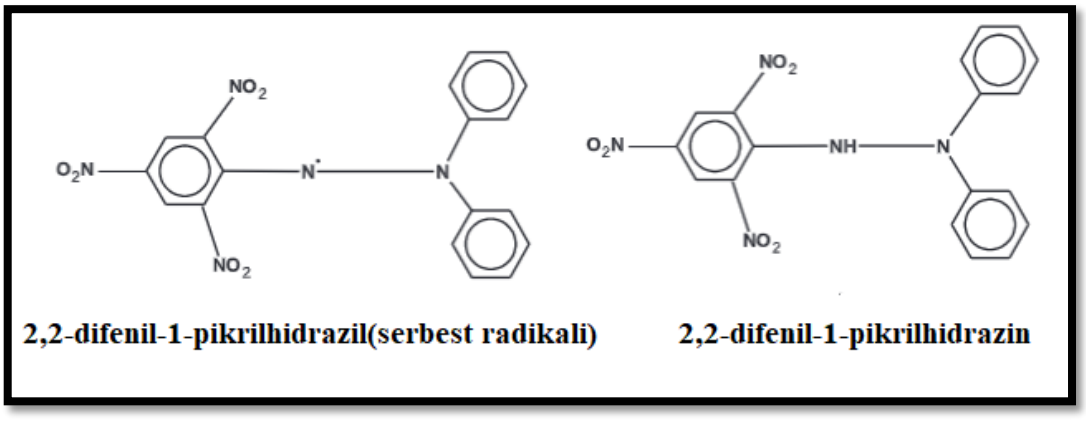


Şekil 2.20: Al(III)-flavonoid şelatı.

2.8.1.3. DPPH ile antioksidan kapasitesinin tayin yöntemi

Son yıllarda antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için birçok yöntem önerilmiştir. Bu yöntemlerden biri de 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ile antioksidan kapasitesini belirleme yöntemidir. DPPH serbest radikali (DPPH•), antioksidan (AH) veya bir radikal tür (R•) ile reaksiyona girmektedir. DPPH serbest radikaline bir hidrojen atomu verebilen herhangi bir madde, DPPH serbest radikalini 2,2-difenil-1-pikrilhidrazine (DPPH-H) çevirmektedir (Şekil 2.21). Bu durum, kararlı serbest radikali azaltmakta ve çözeltinin rengini mordan uçuk sarıya çevirmektedir.

- $DPPH \bullet + AH \rightarrow DPPH - H + A \bullet$
- $DPPH \bullet + R \bullet \rightarrow DPPH - H$



Şekil 2.21: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (serbest radikali) ve 2,2-difenil-pikrilhidrazin için temel yapılar [47].

DPPH'ın reaksiyona girmemiş radikal formu, görünür aralıkta emilmekte ve spektroskopik yöntem ile 517 nm'de renk yoğunluğunun ölçümlerine dayanmaktadır [48]. Bu yöntem, bileşiklerin serbest radikal süpürücüler veya hidrojen donörleri olarak hareket etme yeteneklerini ölçmek ve bitkilerin antioksidan aktivitesini değerlendirmek için basit, hızlı, yaygın ve ucuz olarak kullanıldığı bir yöntemdir[49]. DPPH radikal süpürücü etkisi (%I) denklem 2.3 kullanılarak hesaplanmaktadır.

- DPPH radikal süpürücü etkisi $(\%I) = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0}\right) * 100$ **(2.3)**

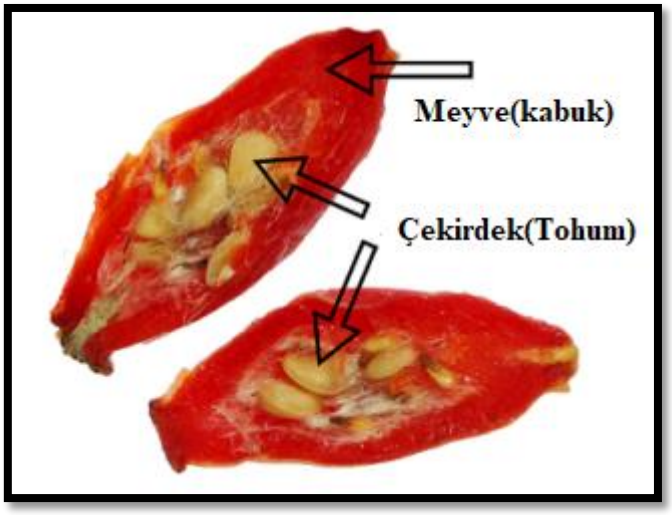
2.9. KUŞBURNU ÇEKİRDEĞİ(*ROSA CANINA* SEED)

Kuşburnu (*Rosa Canina*), Rosaceae familyasındaki Rosa cinsinin meyvesidir (Şekil 2.22). Avrupa, kuzeybatı Afrika ve batı Asya'da yetişen yabani bir çalı bitkisi olan kuşburnu, yaklaşık 2-3 m yüksekliğe sahiptir. Bu bitki kayalık, eğimli yerler, zayıf topraklar ve sınırlı su vb. gibi zorlu çevre koşullarına karşı güçlü direnç göstermektedir. Mineral ve vitamin içeriği nedeniyle zengin bir bileşime sahiptir. Kuşburnu, yaygın olarak bulunan diğer meyve veya sebzelerden daha yüksek oranda C vitamini içermektedir [50]. Kuşburnu meyvesi halk hekimliğinde uzun süredir kullanılmaktadır. Kuşburnunun soğuk algınlığı, bulaşıcı hastalıklar, mide-bağırsak rahatsızlıkları, idrar yolu hastalıkları ve iltihaplı hastalıklara karşı tedavi edici etkileri vardır. Kuşburnunun faydaları, fenolik bileşikler, askorbik asit ve karotenoidler gibi biyolojik olarak aktif bileşiklerin varlığına atfedilmektedir [51]. Taze kuşburnu meyve olarak tüketilmekte ya da marmelatı yapılmakta, kurutulmuş kuşburnu ise çay, reçel, nektar, marmelat, pestil gibi ürünlerde kullanılmaktadır.



Şekil 2.22: : Kuşburnu meyvesi [52].

Kuşburnu bitkisi temelde meyve (kabuk) ve yan ürünü olan çekirdek (tohum) kısmından oluşmaktadır (Şekil 2.23).



Şekil 2.23: Kuşburnunun temel bileşenleri [53].

Kuşburnu çekirdekleri, protein, askorbik asit, fenolikler, tokoferoller, steroller ve esansiyel yağ asitleri gibi birçok fonksiyonel bileşene sahip bir yağ kaynağıdır[54]. Kuşburnu meyvesi ve çekirdeğinin bileşiminde bulunan biyoaktif bileşikler, serbest radikalleri inhibe etmekte ve hücreleri oksidatif stresten koruyarak antioksidan olarak görev yapmaktadır. Antioksidanlar, kardiyovasküler hastalıklar, depresyon, kanser ve diyabet gibi hastalıkların kaynağı olarak bilinen oksidatif strese neden olan faktörleri azaltarak bu hastalıkların oluşumunu engellemektedir [55]. Kuşburnu çekirdeği yağı, cilt bozuklukları üzerindeki tedavi edici etkisinden dolayı kozmetikte kullanılmaktadır. Bitki yan ürünlerinin potansiyel biyoaktif bileşikler kaynağı olarak, farmakolojik, kozmetik ve gıda uygulamalarında kullanılabilmesi nedeniyle, gıda işleme endüstrisindeki yan ürünlerin karakterizasyonu üzerine yapılan araştırmalar büyük ilgi görmektedir [51]. Kuşburnu meyvesinin biyoaktif bileşenleri ve antioksidan aktivitesi, metalik nanopartikül sentezi sırasında indirgeyici ve stabilize edici ajan olarak da kullanılmaktadır. Kuşburnu özleri, paladyum, altın, gümüş ve bakır oksit nanopartiküllerin yeşil sentezi için başarıyla kullanılmıştır [56].

2.10. BİTKİDEN ZNO NANOPARTİKÜL SENTEZİ ÇALIŞMALARI

Literatür verileri incelendiğinde, indirgeyici ajan olarak bitki kullanılıp sentezlenen bazı ZnO NP çalışmaları, indirgeyici ajan, bitki bölümü, şekil/morfoloji ve boyut açısından farklılıkları ile Tablo 2.2'de verilmiştir [57]. Şekil/morfoloji ve boyut farklılıkları, kullanılan bitki fitokimyasal içeriği, sentez şartları ve karakterizasyon yöntemlerinin farklılığından kaynaklanmaktadır.

Tablo 2.2: Çeşitli bitki materyallerinden ZnO NP sentezi çalışmaları.

İndirgeyici Ajan	Bitki Bölümü	Şekil / Morfoloji	Boyut (nm)	Kaynak
Kırmızı yonca *(Trifolium pratense)*	Çiçek	-	100-190	[58]
Aloe Vera	Yaprak	Küresel, oval ve altıgen	8–18	[59]
Rambutan *(Nephelium lappaceum L.)*	Kabuk	Küresel	25-40	[60]
Nim (*Azadirachta indic)*	Yaprak	Küresel	40	[61]
L. leschenaultiana	Yaprak	Küresel ve altıgen	20-65	[62]
Papaya *(Carica papaya)*	Süt	Değişken	11-26	[63]
Aloe Vera	Yaprak	-	25-40	[64]
Japon Sütotu (*Polygala tenuifolia)*	Kök	Küresel	33,03–73,48	[65]
Beşparmak Ağacı *(Vitex negundo)*	Yaprak	Küresel	75–100	[66]
İtalyan Sığır Dili *(Anchusa italic)*	Çiçek	Hekzagonal	8, 14	[67]
Jakaranda *(Jacaranda mimosifolia)*	Çiçek	Değişken	2-4	[68]
Carissa edulis	Meyve	Çiçek	50-55	[69]
Küba Kekiği *(Plectranthus amboinicus)*	Yaprak	Küresel ve hekzagonal	20–50	[70]
Köpek Üzümü *(Solanum nigrum)*	Yaprak	Küresel	20-30	[71]
Artocarpus gomezianus	Meyve	Küresel	11-53	[72]
Zencefil *(Zingiber officinale)*	Kök	Küresel	23–26	[73]
Siyah Çay	Atık	Çubuk	19,3	[74]
Kahve	Toz	Hekzagonal	4,6	[75]
Küstüm Otu *(Mimosa pudica)*	Yaprak	Wurtzite	2,71	[75]
Kuşburnu *(Rosa Canina)*	Meyve	Küresel	11-13	[76]
Japon Gülü *(Hibiscus rosa-sinensis)*	Yaprak	Küresel	23,4–48,5	[77]
Güvey Feneri *(Physalis alkekengi L.)*	Çekirdek	Üçgen ve uzun	50-200	[78]
Parthenium hysterophorus L.	Yaprak	Hekzagonal	27-84 nm	[79]
Terminalia chebula	Meyve	Küresel	12 nm	[80]
Pongamia pinnata	Yaprak	Küresel	100 nm	[81]
Cassia fistula	Yaprak	Küresel	5-15 nm	[82]

2.11. FENOLİK BİLEŞENLERİN EKSTRAKSİYONU

Ekstraksiyon, farklı çözünürlüğe sahip katı veya sıvı faz bileşenlerin, çözünürlük özellikleri farkından dolayı sıvı faza alınması işlemidir. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu, sıvı-sıvı ekstraksiyon ve katı-sıvı ekstraksiyon olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleşmektedir. Katı bitki materyallerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu, fitokimyasal açıdan zengin ürünleri elde etmede önemli bir adımdır. Sokslet ve maserasyon gibi geleneksel ekstraksiyon yöntemleri, sağlık ve bertarafı açısından istenmeyen, pahalı ve tehlikeli organik çözücüler içermesi ve ekstraksiyon sürelerinin uzunluğu gibi nedenlerden dolayı son yıllarda yerini daha hassas, seçici, hızlı ve çevre dostu olan diğer yöntemlere bırakmıştır [83].

2.11.1. Otomatik Çözücü Ekstraksiyonu

ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Çevre Koruma Ajansı (EPA) ve Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) gibi otoritelerin daha yeşil teknolojiler için doğru ekstraksiyon yöntemini kullanma konusunda getirdiği teşvik ve kısıtlamalar dikkate alındığında, ekstraksiyon süresini kısaltmak, ekstraksiyon verimliliğini arttırıp ürün kalitesini iyileştirmek, çözücü tüketimini azaltmak ve çevre kirliliğini önlemek için gelişmiş ekstraksiyon teknikleri kullanılmalıdır. Son zamanlarda, yeşil ekstraksiyon ilkelerini gözetmek amacıyla otomatik sokslet ekstraktörü ve otomatik çözücü ekstraktörü gibi otomatikleştirilmiş ekipmanlar üretilmiştir. Otomatik çözücü ekstraksiyonu (OÇE), çözücü kullanımını azaltarak verimliliği artırmakta, bir seferde altı çoğaltma yapabilmekte ve geleneksel sokslet yönteminden beş kat daha hızlı sonuç vermektedir [84][85].

OÇE (Şekil 2.24) ile katı materyalin ekstraksiyonu 5 adımda aşağıda özetlenmiştir:

1. Daldırma: Verimli bir kütle transferi için katı örnek kaynayan çözücü içine daldırılmaktadır.

2. Uçurma: Çözücü seviyesi otomatik olarak ekstraksiyon kartuşunun altına düşürülmektetir. Çözücünün bir kısmı geri kazanım tankında toplanmakta ve geri kalanı numune üzerine akmaya devam etmektedir.

3. Yıkama: Yoğunlaştırılan çözücü, ekstraksiyonu tamamlamak için numune üzerinden ve kartuştan akarak yıkamayı yapmaktadır.

4. Geri Kazanım: Ekstraksiyonun büyük ölçüde tamamlandığı aşamadır. Çözücünün büyük bir kısmı geri kazanılmaktadır.

5. Soğutma: Ekstraksiyon tamamlandığı aşamadır. Isıtıcılar kapatılır ve ekstraksiyon kapları otomatik olarak yukarı hareket etmektedir [84].



Şekil 2.24: Otomatik Çözücü Ekstraktörü [86].

OÇE'de, cam ve seramikten yapılan yüksek hızlı ısıtma plakalarıyla çözücünün hızlı bir şekilde kaynama noktasına ulaşması sağlanmaktadır. Kullanılan çözücünün türüne göre sıcaklık ayarı bir kontrol paneliyle yapılmakta ve çözünen maddenin yanması engellenmektedir. Titanyum kondansatörleri sayesinde, soğutulmuş geri kazanım tankında toplanan çözücünün %90 seviyelerinde geri kazanımını gerçekleştirilmektedir. Bu gelişmiş ekstraksiyon yöntemiyle, daha yüksek ekstraksiyon sıcaklıklarında çözücü çeşitliliği sayesinde basınç yükseltilip ekstraksiyon karışımları sıvı halde tutulmaktadır [85][87].

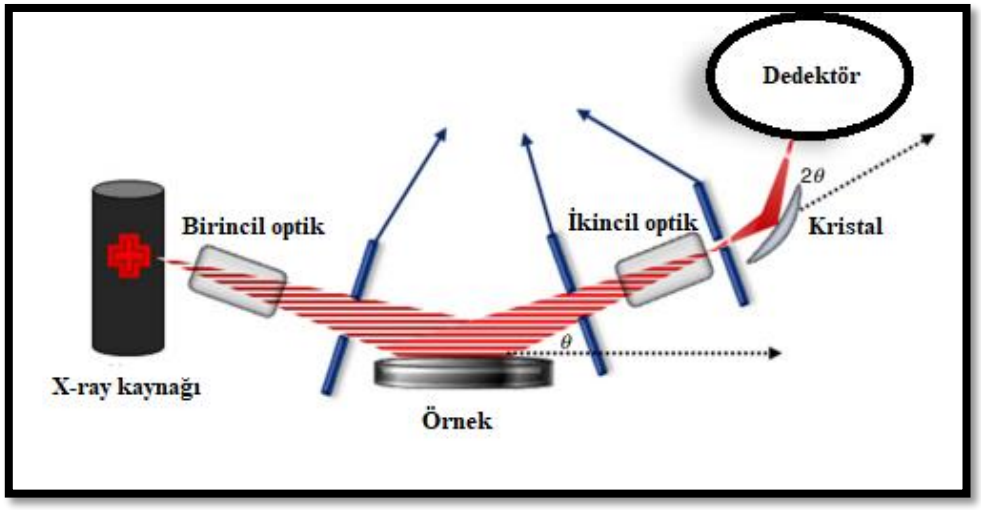
2.12. YEŞİL SENTEZ SONRASI NANOPARTİKÜLLERİN KARAKTERİZASYONU

2.12.1. UV-Vis Spektrofotometre Analizi

Metal tuzlarından çeşitli metalik nanopartiküllerin oluşumu, UV-Vis spektrofotometre kullanılarak izlenebilen farklı absorpsiyonlarda karakteristik pikler vermektedir. Spektrumun UV-Vis bölgesindeki yüzey plazmon rezonansı (SPR), elektromanyetik alanın enine yönü boyunca iletim elektronlarının rezonans toplu salınımlarından kaynaklanmaktadır. SPR bant yoğunluğu ve bant genişliği, partikül şekli, ortamın dielektrik sabiti ve sıcaklıktan etkilenmektedir. Bu nedenle, UV-Vis spektrofotometre analizi genellikle metalik nanopartiküllerin karakterizasyonunda kullanılan ilk tekniktir. Metal tuzunun bitki özü ile teması üzerine, süspansiyon rengi değişir ve renk değişimi metal nanopartiküllerdeki yüzey plazmon titreşimlerinin uyarılmasından kaynaklanmaktadır. UV-Vis spektrofotometre yöntemini kullanarak süspansiyonu analiz etmek, genellikle absorpsiyon pikinin belirlenebildiği ve ilgili metalin doğrulanabildiği bir bant ortaya çıkarmaktadır. Metalik iyonlu bitki özütünün reaksiyon süresi ve konsantrasyonunda ki artışla birlikte karakteristik pikte aşamalı bir artış, nanopartikül oluşumunun açık bir göstergesidir [30].

2.12.2. XRD Analizi

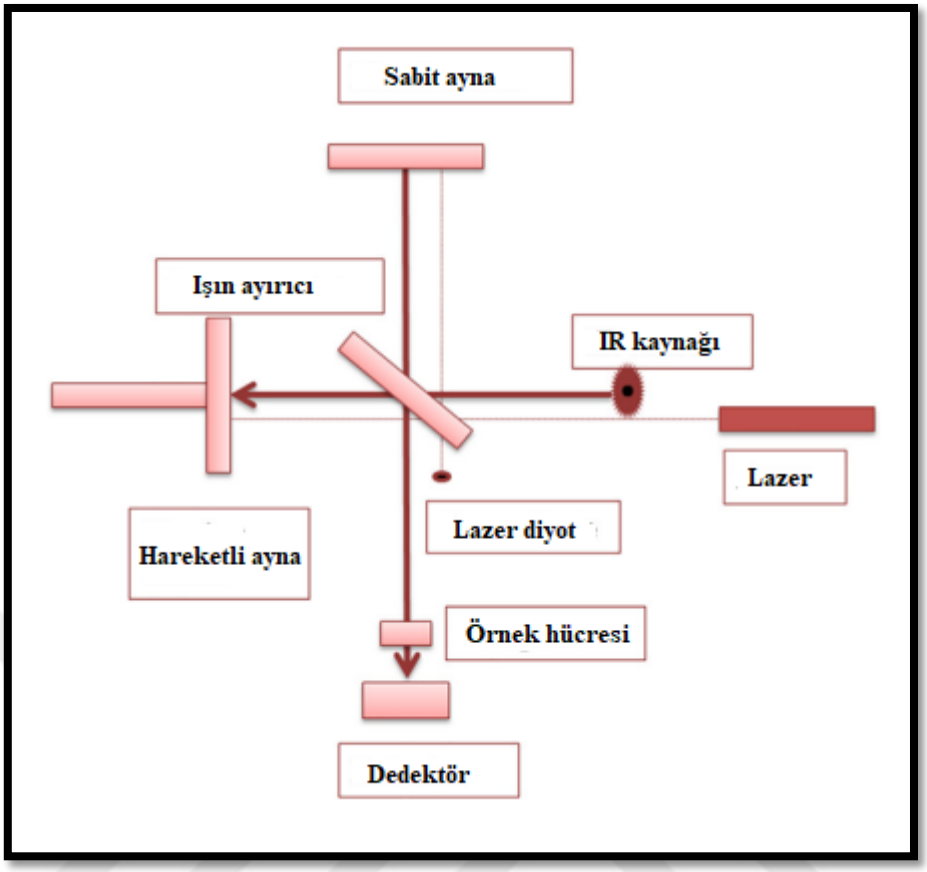
X-ışını kırınımı (XRD) tekniği, kristal halinde olan metalik nanopartikülleri yapısal olarak incelemek için kullanılmaktadır. X ışınları, incelenecek malzemelerin derinliklerine nüfuz etmekte ve yığın yapısı hakkında bilgi sağlamaktadır. X-ışını ve atom düzlemleri arasındaki etkileşim, ışının kısmi iletimi ile sonuçlanmakta ve geri kalanı numune tarafından emilmekte, kırılmakta ve saçılmaktadır. X-ışınları, atom düzenine ve atom tipine bağlı olarak her element tarafından farklı bir şekilde kırılmaktadır [88]. Nanopartiküller amorf bir yapıda üretildiğinde, kırınım piki gözlemlenmemekte ve bu numunenin tanımlamaya yardımcı olamamaktadır. XRD'de piklerin genişlemesi, nano boyutta partiküllerin oluşumunu doğrulamaktadır [89][30]. Bu cihaz temel olarak X-ışını kaynağı, birincil optik, numune, ikincil optik ve dedektör kısımlarından oluşmaktadır (Şekil 2.25). X-ışını kaynağından saçılan X-ışınları, numuneden geçerek dedektöre yansıtılmaktadır [90].



Şekil 2.25: Temel olarak XRD gösterimi [90].

2.12.3. FTIR Analizi

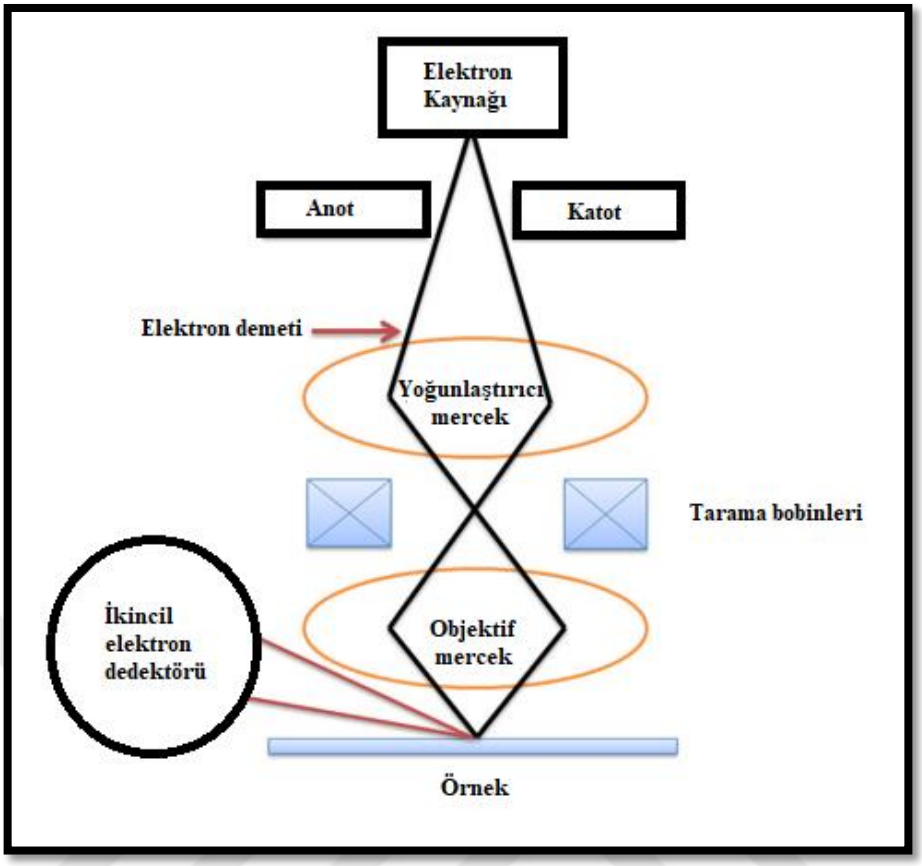
Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR), ışığın dalga boyuna karşı kızılötesi yoğunluğunun ölçümünü yapan analitik bir tekniktir [30]. Organik, inorganik ve polimerik malzemeleri tanımlamak için, kızılötesi ışık kullanılarak analiz yapılmaktadır. Absorpsiyon bantlarının karakteristik değişiklikleri, malzeme bileşiminde bulunan bir farklılığı göstermektedir. FTIR, bilinmeyen malzemeleri tanımlamada ve karakterize etmede, malzemede bulunan kirleticileri tespit etmede, katkı maddelerini bulmada, bozunma ve oksidasyonu belirlemede kullanılan bir analiz yöntemidir. Şekil 2.26'da FTIR'ın şematik diyagramı gösterilmektedir. FTIR spektrometresi kaynak, numune hücresi, detektör, amplifikatör, A/D dönüştürücü ve bir bilgisayardan oluşmaktadır. Kaynaktan gelen radyasyon, interferometreden geçtikten sonra dedektöre ulaşmaktadır. A/D dönüştürücü ve yükseltici tarafından yükseltilen sinyal, dijital bir sinyale dönüştürülmekte ve Fourier dönüşümünün gerçekleştirildiği bilgisayara aktarılmaktadır. Absorbe edilen radyasyon, numune tarafından titreşim veya dönme enerjisine dönüştürülmektedir. Yaklaşık 10.000–100 cm^{-1}'lik kızılötesi radyasyonun, bir kısmı numune tarafından emilmekte ve bir kısmı da numune içinden geçmektedir. Soğurulan radyasyon, numune tarafından titreşim veya dönme enerjisine dönüştürülmektedir. Dedektörde elde edilen sonuçtaki sinyal, numuneleri moleküler olarak karakterize eden genellikle 4000-400 cm^{-1} arasında bir spektrumdur. Her molekülün kararteristik bir parmak izi vardır, bu da FTIR'ı kimyasal tanımlama için bir araç haline getirmektedir [88].



Şekil 2.26:Şematik olarak FTIR prensibi [88].

2.12.4. SEM-EDX Analizi

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), nanopartiküllerin topografyası ve morfolojisi hakkında bilgi sağlamaktadır. Aynı zamanda, istatistiksel yazılım kullanılarak nanopartiküllerin ortalama boyutunu ölçmek için de kullanılabilmektedir [30]. Şekil 2.27'de SEM çalışma prensibi şematize edilmiştir. SEM'de, numuneye bir elektron demeti yönlendirilmektedir. Cihazın tepesinde bulunan bir elektron tabancasından oldukça konsantre bir elektron ışını çekilmektedir. SEM, numunenin yüzeyini yüksek enerjili elektron ışınlarıyla taramaktadır. Bu nedenle SEM, büyütülmüş bir görüntü oluşturmak için ışık dalgalarını kullandığı için geleneksel ışık mikroskoplarından farklıdır. SEM'de elektron ışını numune yüzeyine çarptığında yüzey ile etkileşmektedir. Gelen elektron demeti numuneye çarptığında, X-ışınları ve üç tip elektron yayılmaktadır: geri saçılan (veya birincil) elektronlar, ikincil elektronlar ve Auger elektronları. SEM, birincil ve ikincil elektronları kullanmaktadır. Bu sinyaller dedektör tarafından algılanmakta ve görüntüler üretilmektedir [88].



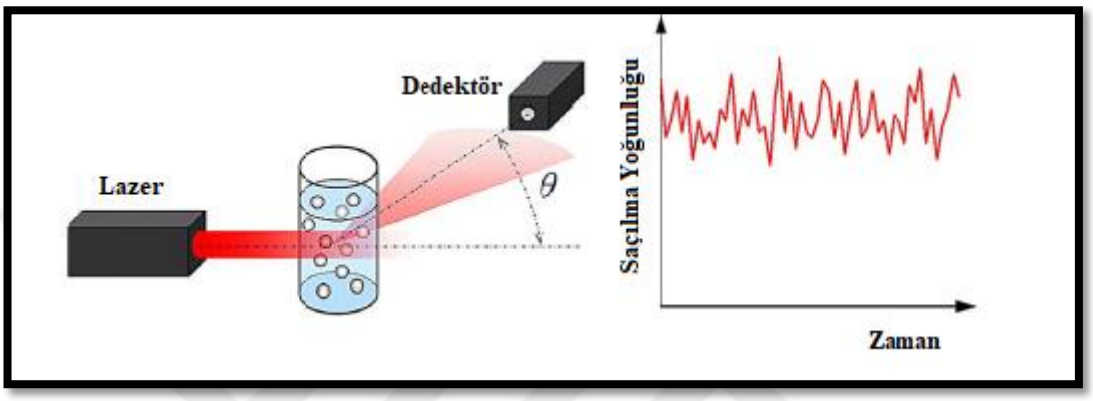
Şekil 2.27:SEM çalışma prensibi [88].

EDX (X-ışını enerji dağılım) spektroskopisi, SEM kullanılarak maddenin elementel bileşiminin tespitinde yer almaktadır. EDX uygulaması, malzeme değerlendirmesi ve tanımlaması, kontaminasyon tanımlaması, çapı 10 cm'ye kadar olan bölgelerin nokta algılama analizi ve kalite kontrol taramasını içermektedir. SEM'de elektron ışını ile çarpışma üzerine, numuneler ışın ile etkileşmekte ve karakteristik X-ışınları üretmektedir. Elementlerin hiçbirinin aynı X-ışını emisyon spektrumuna sahip olmaması ilkesi nedeniyle, numune elementel olarak aydınlanmaktadır [91].

2.12.5. DLS Analizi

Dinamik ışık saçılımı (DLS) numunelerin spektral ölçüm sinyallerinin boyut dağılımlarına sayısal olarak dönüştürülmesine dayanan bir spektroskopik ölçüm tekniğidir. Partikül boyutu analizi amacıyla sıvıdaki bireysel partiküllerin, Brownian hareketini ölçmek için DLS kullanılır. Bu teknik, mikrometre altı aralığında (1 nm–1 μm) partikül boyutu analizi için popüler bir ölçüm tekniğidir[92]. Lazerle aydınlatılan ince partiküller tarafından saçılan ışık, tanımlanmış bir θ açısı altında yüksek zaman çözünürlüğü ile ölçülmekte ve bu bilgiden partikül

boyutu elde edilmektedir (Şekil 2.28). Analiz, büyük partiküllerin küçük partiküllerden daha yavaş hareket ettiği ve daha fazla ışık saçtığı Brown hareketine dayanmaktadır. Karakterize edilen partiküle aynı oranda yayılabilen varsayımsal gözeneksiz bir kürenin çapı, hidrodinamik çap olarak adlandırılmakta ve saçılma yoğunluğu ölçümünün zamana bağımlılığından hesaplanmaktadır. Ayrıca bu teknik nanopartiküllerin kümelenme durumu hakkında bilgi sunmaktadır [88].



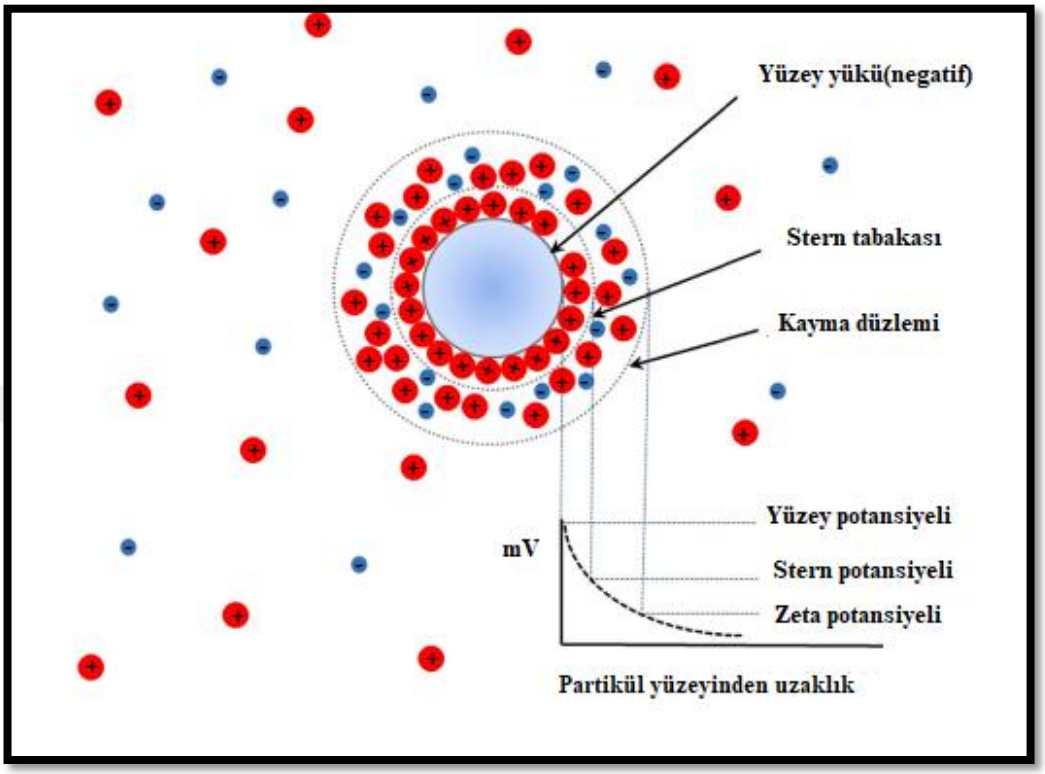
Şekil 2.28: DLS prensibi [92].

2.12.6. Zeta Potansiyeli Analizi

Sıvı bir ortamda asılı duran yüklü bir partikül, özellikleri hem ortama hem de partikül özelliklerine bağlı olan elektriksel bir çift katmanla çevrilidir. Sıvıya bir elektrik alan uygulayarak ve partiküllerin elektrotlardan birine doğru hareketini gözlemleyerek, partikül yüklerini incelemek mümkündür. Zeta potansiyeli, yığın ortamdaki bir noktaya göre kayma düzlemindeki elektrik potansiyelidir (Şekil 2.29). Stern tabakasında (iyonların kuvvetli bir şekilde bağlandığı bir iç tabaka) ve kayma düzleminde bulunan iyonlar, taşıma işlemlerinde büyük ölçüde partiküle birlikte taşınmakta ve bundan dolayı zeta potansiyeli genellikle partikül üzerindeki etkin yük olarak kabul edilmektedir [93][94]. Negatif zeta potansiyeline sahip partiküller, pozitif yüke sahip yüzeylere bağlanmakta ve tam tersi durum da geçerli olmaktadır. Zeta potansiyeli değeri, partikülün stabilitesi hakkında yorum yaptırmaktadır. Zeta potansiyelinin büyüklüğünün artması, artan elektrostatik itme sebebiyle yükselen kararlılığı ifade etmektedir.

- Partiküller ± 0-5 mV aralığında toplanma eğilimindedir.
- Minimal kararlı partiküller ± 5–20 mV aralığındadır.

- Orta derecede kararlı partiküller ± 20–40 mV aralığındadır.
- Son derece kararlı partiküller ± 40+ mV aralığındadır [88].



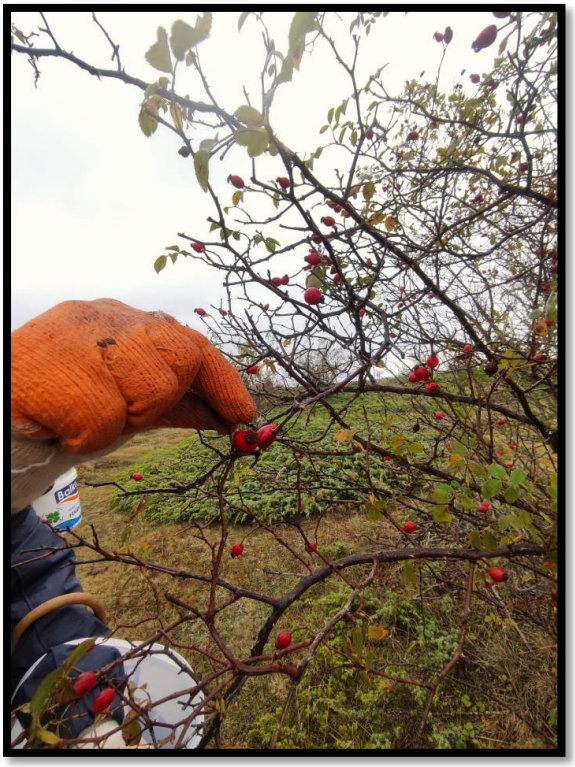
Şekil 2.29: Zeta potansiyeli [94].

3. METODOLOJİ

3.1. MALZEME

- **Bitkisel Materyal**

Kuşburnu meyvesi, 2021 Eylül ayında Çankırı ili Çerkeş ilçesi yaylalarından toplanmıştır (Şekil 3.1). Toplanan meyvenin bir kısmı taze haldeyken çekirdeklerinden ayrılmıştır. Meyvenin diğer bir kısmı kurutulmuş ve kuru kuşburnu meyvesinin çekirdeği ayrılmıştır. Bitkisel materyalin büyük bir kısmı ise, meyveden marmelat yapımı sonrasında elde edilen çekirdektir. Marmelat yapılırken, meyve kaynatılmakta, kaynadıktan sonra elekten geçirilmekte, çekirdekler elek üzerinde kalmaktadır. Elde edilen üç farklı koşuldaki çekirdek fenolik madde içeriği açısından değerlendirilmek ve nanopartikül sentezinde kullanılmak üzere -25° C'de saklanmıştır.



Şekil 3.1: Kuşburnu meyvesinin toplanışı.

- **Kimyasal Malzeme**

Bu tez kapsamında, ekstraksiyon işlemi sırasında kullanılan etanol (≥ %99.9) (EtOH) Merck' ten (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. Bitki ve nanopartikül içeriği incelenmesinde kullanılan, sodyum karbonat (≥ %99,0) (Na_2CO_3), sodyum hidroksit (NaOH), (+)-kateşin, 2,2 -difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•), 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Trolox), Folin-ciocalteu reaktifi, gallik asit monohidrat (≥ %98,0) Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) ve metanol (≥ %99.9) (MeOH) Merck' ten (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. Nanopartikül sentezi için kullanılan çinko oksit hegzahidrat ($Zn(NO_3)_2.6H2O$) Merck' ten (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. Millipore, Milli-Q saf su sistemi kullanılarak, deiyonize su temin edilmiştir.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Kuşburnu Çekirdeği Ekstraktının Hazırlanması

Kuşburnu çekirdeğinden fitokimyasal açıdan zengin ekstrakt eldesi için çevre dostu bir yöntem olan otomatik çözücü ekstraksiyon (OÇE) sistemi kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi öncesi, -25° C'de saklanan kuşburnu çekirdekleri saf su ile ikişer kez yıkanıp, oda sıcaklığında kurumaya bırakılıp ekstraksiyon işlemine hazır hale getirilmiştir.



Şekil 3.2: Kuşburnu meyvesi ve çekirdekleri.

3.2.1.1.Otomatik Çözücü Ekstraksiyonu

Kuşburnu çekirdeklerinin ekstraksiyonu, otomatik çözücü ekstraktörü (Velp Scientifica, Usmate, İtalya) ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3: Otomatik Çözücü Ekstraktörü.

Kuşburnu çekirdeği örnekleri (1 gr), ekstraksiyon kartuşlarına (Whatman, Maidstone, UK, 33 mm x 80 mm) yerleştirilmiştir. Daha sonra ekstraksiyon kaplarına 80 mL ekstraksiyon çözücüsü ilave edilmiştir. Cihaz ekranından çözücünün cinsine bağlı olarak ekstraksiyon sıcaklığı, yıkama süresi, daldırma süresi, uzaklaştırma süresi ve geri kazanım süresi ayarlanmıştır. Daldırma için 20 dakika, yıkama için 40 dakika, geri kazanım için 30 dakika, soğutma için 2 dakika çözücü tipine göre uygun sıcaklık seviyesine ayarlanmıştır. Ekstraksiyon süresi 1 saat 32 dk sürmüştür. Ekstrakt (Şekil 3.4) 0.45 (µm)' lik şırınga filtresi kullanılarak süzülmüştür. Ekstrakt amber şişede +4° C'de saklanmıştır.



Şekil 3.4: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı.

3.2.2. Spektrofotometrik Analizler

3.2.2.1. Toplam Fenolik İçeriğin Belirlenmesi

Toplam fenolik içerik belirlenmesinde Folin-Ciocalteau yöntemi kullanılmıştır. Hazırlanan kuşburnu çekirdeği ekstraktlarından ve nanopartikül çözeltisinden 20 µL örnek alınıp, üzerine 380 µL saf su ilave edilmiştir. Ardından 2000 µL Folin-Ciocalteau reaktifi ve 1600 µL sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir. 30 dakika karanlıkta bekleyen örneklerin UV spektrofotometresinde (PG Instruments, T60 / Leicestershire, İngiltere) 765 nm' de absorbans ölçümleri belirlenmiştir. Kalibrasyon eğrileri saf gallik aside göre uygun çözücülerle hazırlanmış, sonuçlar gram kuru madde başına miligram gallik asit olarak ifade edilmiştir (mg-GAE / g-KM) [85].

3.2.2.2. Toplam Flavonoid İçeriğin Belirlenmesi

Toplam flavonoid içerik belirlenmesinde Alüminyum Klorür yöntemi kullanılmıştır. Ekstrakt ve nanopartikül çözeltisinden 25 µL örnek alınıp, 2225 µL saf su ilave edilmiştir. Ardından 113 µL $NaNO_2$ ilave edilip karanlıkta 6 dk bekletilmiştir. Karışıma 225 µL $AlCl_3$ ilave edilip karanlıkta 5 dk beklemiştir. Son olarak sırasıyla 750 µL NaOH ve 412 µL saf su eklenmiştir. 510 nm' de UV spektrofotometresinde (PG Instruments, T60/Leicestershire, İngiltere) absorbans değerleri kaydedilmiştir. Kateşin referans alınarak kalibrasyon eğrileri hazırlanmıştır. Sonuçlar gram kuru madde başına miligram kateşin olarak ifade edilmiştir (mg-CE/ g-KM) [95].

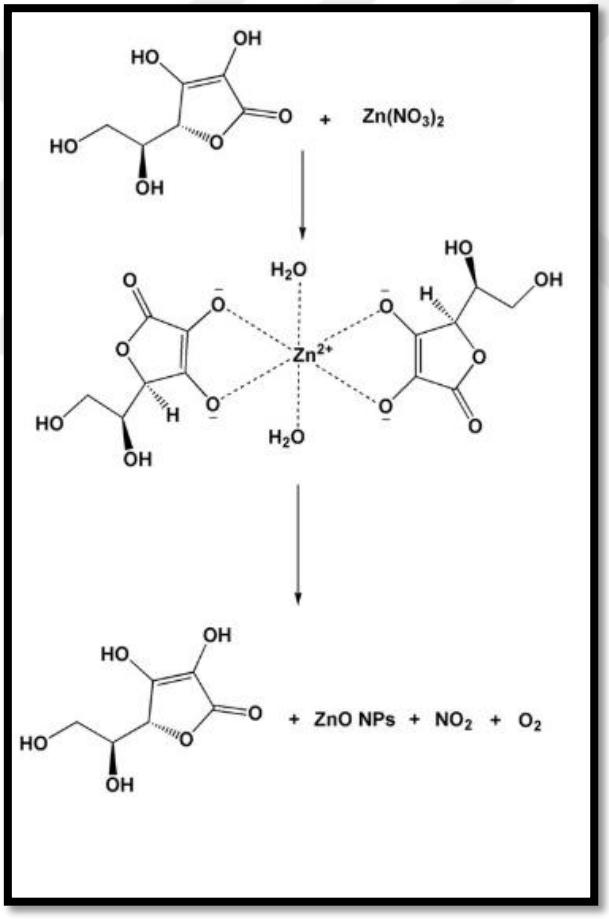
3.2.2.3. DPPH Yöntemi ile Antioksidan Kapasitesinin Tayini

Ekstrakt ve nanopartikül çözeltisinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde DPPH yöntemi kullanılmıştır. 0,0079 g DPPH 40 mL metanol (%80, v/v) çözeltisi ile seyreltilerek hazırlanmıştır. 100 µL örnek çözeltisi üzerine 600 µL metanol (%80, v/v) ve 3000 µL seyreltilmiş DPPH çözeltisi ilave edilmiş, karanlıkta 30 dakika beklemeye bırakılmıştır. DPPH yöntemi ile antioksidan kapasitesi spektrofotometrik olarak 517 nm' de kaydedilmiştir. Kalibrasyon eğrileri troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-terametil kroman-2-karboksilik asit) ile uygun çözücülerle hazırlanmış, sonuçlar gram kuru madde başına mg troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (mg-TEAC / g-KM) olarak ifade edilmiştir [95].

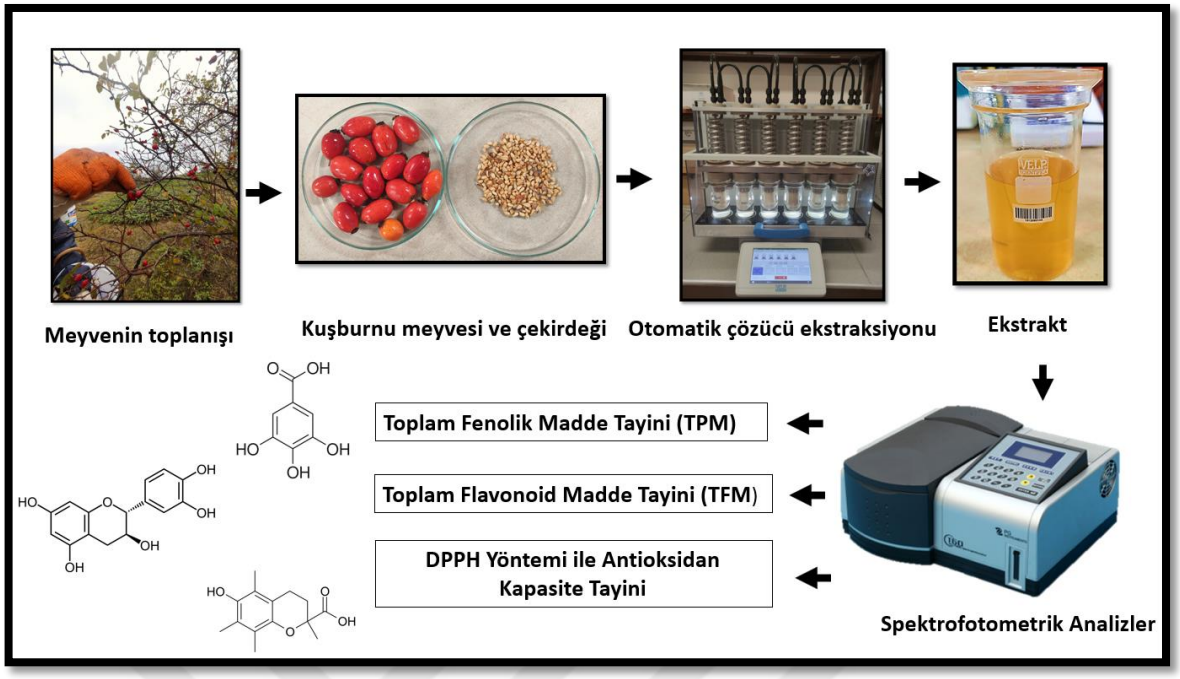
3.2.3. ZnO NP sentezi

Kuşburnu çekirdeği ekstraktından ZnO NP sentezi için farklı parametreler değiştirilerek, UV-Vis spektrofotometrede sentez şartları optimize edilmiştir. Optimum şartlarda sentezlenen ZnO NP sentezi için 50 mL 0,05 M $Zn(NO_3)_2$.6H2O çözeltisi hazırlanmıştır. Manyetik karıştırıcı

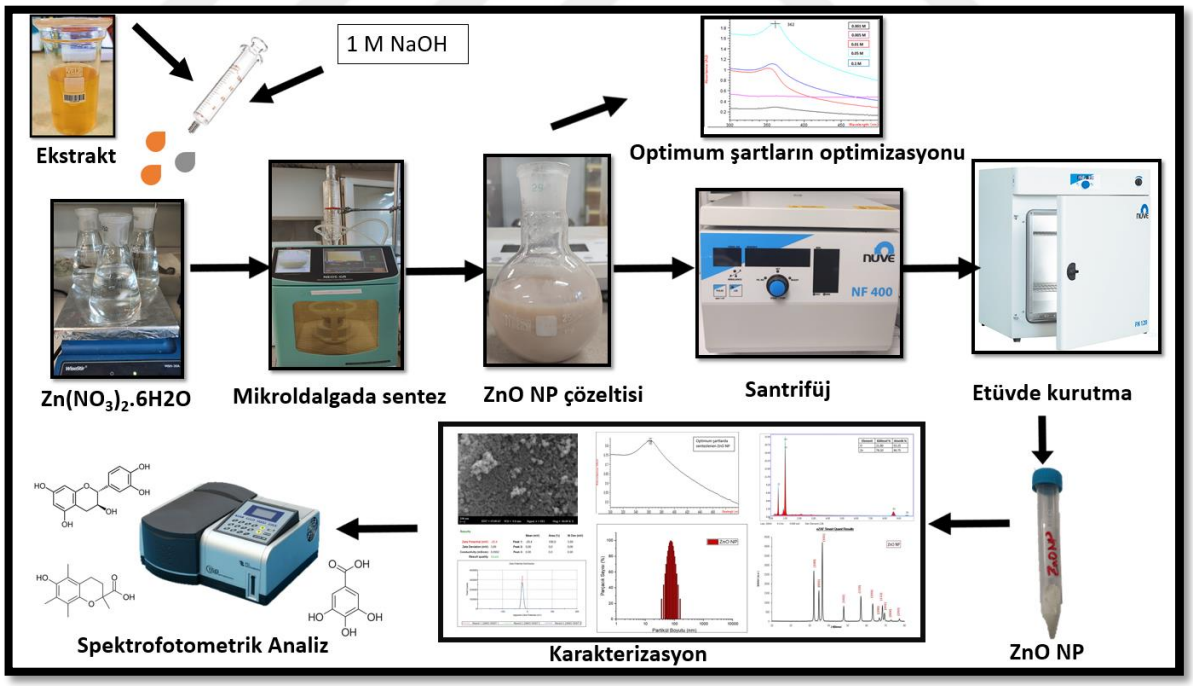
üzerinde çözelti konsantrasyonu üzerine 25 mL kuşburnu çekirdeği özütü damla damla ilave edilmiştir. 1 M NaOH ile ortam pH'ı 12'ye ayarlanmıştır. Ardından 360 W mikrodalga gücünde 7 dk boyunca reaksiyona sokulmuştur. Bu işlem mikrodalga ekstraksiyon reaktöründe (NEOS-GR, Milestone Srl, İtalya) gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ZnO NP çözeltisi 4000 rpm'de iki defa 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısım atılmış, çökeltiden safsızlıkları ve kirlilikleri gidermek için EtOH ve saf su ile yıkama yapılmıştır. 50 °C etüvde 36 saat kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan çökelti havanda toz haline getirilmiş, karakterizasyon ve spektrofotometrik analiz çalışmaları için +4 °C buzdolabında eppendorf tüplerde saklanmıştır. Şekil 3.5'te ZnO NP'lerin oluşumu için olası mekanizma, Şekil 3.6'da kuşburnu çekirdeği ekstraktı eldesinin prosedürü, Şekil 3.7'de ZnO NP sentez prosedürü verilmiştir [76].



Şekil 3.5: ZnO NP oluşumu için olası mekanizma [76].



Şekil 3.6: Kuşburnu ekstraktı eldesi prosedürü.



Şekil 3.7: ZnO NP sentez prosedürü.

3.2.4. ZnO NP Karakterizasyonu

3.2.4.1. UV-Vis Spektrofotometre Analizi

Yeşil sentez yöntemi ile elde edilen ZnO NP'lerin karakterizasyonu ve farklı parametreleri optimize etmek için yapılan absorbans ölçümleri, İstanbul Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi laboratuvarında bulunan UV-Vis spektrofotometresinde (Agilent/8453, Victorya, Avustralya) yapılmıştır. Örnekler saf su ile seyreltilerek kuvars küvetlere aktarılmış ve 300-500 nm dalga boyu aralığında ölçüm alınmıştır.

3.2.4.2. XRD Analizi

Kristal nanopartikülleri yapısal olarak karakterize etmek için İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa PROTEK-MERLAB/Merkez Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan XRD (Rigaku/R-Axis Rapid-S, Tokyo, Japonya) cihazı kullanılmıştır. Sonuçlar 2θ=10°- 80° değerleri arasında 0,01 adım büyüklüğü ile elde edilmiştir.

3.2.4.3. FT-IR Analizi

Elde edilen ZnO nanopartiküllerin fonksiyonel gruplarını belirlemek için, İstanbul Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi laboratuvarında bulunan FTIR (Bruker /Tensor 27, Massachusetts, ABD) kullanılmıştır. Ölçümler 400-4000 cm^{-1} aralığında alınmıştır.

3.2.4.4. SEM-EDX Analizi

Sentezlenen nanopartiküllerin yüzey morfolojileri ve elementel bileşiminin tespiti Yıldız Teknik Üniversitesi/ Bilim Teknoloji Uygulama Araştırma Merkezi (BİTUAM)'nde bulunan SEM (Zeiss Evo ® LS 10, Jena, Almanya)'de gerçekleşmiştir.

3.2.4.5. DLS Analiz

Tez kapsamında sentezlenen nanopartiküllerin ortalama boyutu, boyut dağılımı ve polidispersite indeksi (PDI) ölçümleri, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa laboratuvarında bulunan DLS (Brookhaven 90 Plus Nano Particle Size Analyzer, New York, ABD) cihazında gerçekleşmiştir.

3.2.4.6. Zeta Potansiyeli Analizi

Sentezlenen ZnO NP'lerin yüzeyindeki etkin elektrik yükünün tespiti Yıldız Teknik Üniversitesi/ Bilim Teknoloji Uygulama Araştırma Merkezi (BİTUAM)'nde bulunan Zetasizer (Malvern Nano ZS, Malvern, İngiltere) cihazında gerçekleşmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. KALİBRASYON ÇALIŞMALARI

Kuşburnu çekirdeği ekstraktı ve ZnO NP'lerin TPM, TFC ve DPPH ile antioksidan kapasitesinin hesaplanabilmesi için kalibrasyon denklemleri elde edilmiştir. Farklı çözücü konsantrasyonları ile hazırlanmış saf gallik asit, kateşin ve troloks çözeltilerinden UV-Vis spektrofotometrede absorbans ölçümleri alınmış ve Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Bu ölçümler ile kalibre edilen numunelerin konsantrasyonu arasındaki ilişki Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te gösterilmiş ve Tablo 4.2'de kalibrasyon denklemleri oluşturulmuştur. Kalibrasyon denklemleri kullanılarak, kuşburnu çekirdeği ekstraktı ve ZnO NP'lerin TPM içeriği Folin Ciocalteu yöntemi kullanılarak gallik asit eşdeğeri(GAE), TPM içeriği $AlCl_3$ yöntemi kullanılarak kateşin eşdeğeri (CE), ve toplam antioksidan kapasitesi DPPH yöntemi kullanılarak troloks eşdeğeri (TEAC) olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.1 : Gallik asit, kateşin ve troloksun farklı çözelti konsantrasyonlarında saf çözeltilerinin spektrofotometrik ölçümleri için iki tekrarlı absorbans değerleri*.

Madde	Spektrofotometrik Analiz Yöntemi	Konsantrasyon (mg/L)	Çözelti Konsantrasyonu (%,v/v)	ABS (1)	ABS (2)	ABS (ORT)
Gallik Asit	TPM- FCR	100	%100 Saf Su	0,078	0,080	0,0790±0,0014
		50		0,043	0,043	0,0430±0,0000
		25		0,031	0,040	0,0355±0,0064
		12,5		0,023	0,024	0,020±0,0007
		6,25		0,019	0,019	0,0190±0,0000
		100	%20 EtOH	0,072	0,071	0,0715±0,0007
		50		0,042	0,041	0,0415±0,0007
		25		0,027	0,027	0,027±0,000
		12,5		0,020	0,020	0,020±0,000
		6,25		0,017	0,018	0,0175±0,0007
		100	%40 EtOH	0,079	0,078	0,0785±0,0007
		50		0,048	0,068	0,058±0,0141
		25		0,032	0,033	0,0325±0,0007
		12,5		0,027	0,024	0,0255±0,0021
		6,25		0,027	0,023	0,0250±0,0028

Tablo 4.1 (devam): Gallik asit, kateşin ve troloksun farklı çözelti konsantrasyonlarında saf çözeltilerinin spektrofotometrik ölçümleri için iki tekrarlı absorbans değerleri*.

		100		0,079	0,098	0,0885±0,0134
		50		0,059	0,055	0,057±0,0028
		25	%60 EtOH	0,032	0,030	0,031±0,0014
		12,5		0,022	0,022	0,022±0,0000
		6,25		0,020	0,018	0,019±0,0014
		100		0,081	0,093	0,087±0,0085
		50		0,059	0,057	0,058±0,0014
		25	%80 EtOH	0,031	0,036	0,0335±0,0035
		12,5		0,030	0,026	0,028±0,0028
		6,25		0,025	0,025	0,025±0,000
		100		0,070	0,076	0,073±0,0042
		50		0,048	0,048	0,048±0,0000
		25	%100 EtOH	0,035	0,033	0,034±0,0014
		12,5		0,030	0,032	0,031±0,0014
		6,25		0,028	0,028	0,028±0,000
		100		0,012	0,013	0,0125±0,0007
		50		0,005	0,005	0,005±0,000
		25	%100 Saf Su	0,003	0,003	0,003±0,000
		12,5		0,002	0,002	0,002±0,000
		6,25		0,002	0,002	0,002±0,000
		100		0,017	0,022	0,0195±0,0035
		50		0,010	0,010	0,010±0,000
		25	20% EtOH	0,006	0,006	0,006±0,000
		12,5		0,003	0,003	0,003±0,000
		6,25		0,003	0,003	0,003±0,000
		100		0,021	0,019	0,020±0,0014
		50		0,015	0,009	0,012±0,0042
		25	40% EtOH	0,006	0,004	0,005±0,0014
		12,5		0,006	0,003	0,0045±0,0021
		6,25		0,004	0,004	0,004±0,000
		100		0,028	0,018	0,023±0,0071
		50		0,016	0,013	0,0145±0,0021
Kateşin	TFC-AlCl3	25	60% EtOH	0,007	0,007	0,007±0,000
		12,5		0,006	0,006	0,006±0,000
		6,25		0,003	0,003	0,003±0,000

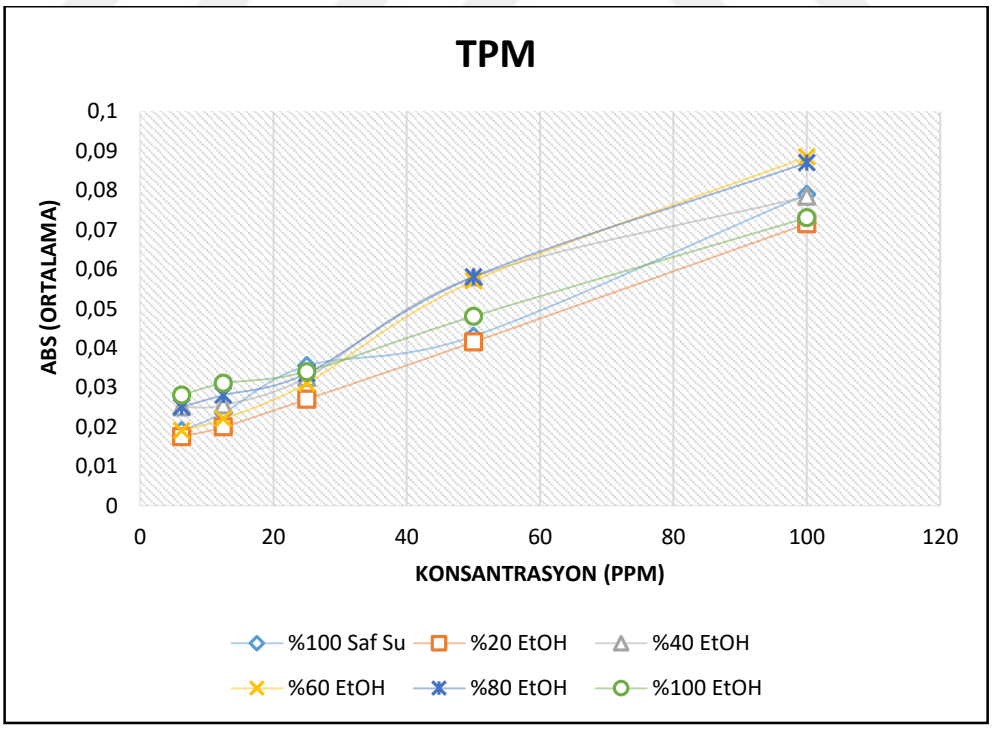
Tablo 4.1 (devam): Gallik asit, kateşin ve troloksun farklı çözelti konsantrasyonlarında saf çözeltilerinin spektrofotometrik ölçümleri için iki tekrarlı absorbans değerleri*.

		100		0,026	0,022	0,024±0,0027
		50		0,015	0,015	0,015±0,000
		25	80% EtOH	0,011	0.011	0,011±0,0000
		12,5		0,008	0,009	0,0085±0,0007
		6,25		0,007	0,005	0,006±0,0014
		100		0,012	0,013	0,0125±0,0007
		50		0,005	0,005	0,005±0,000
		25	100% EtOH	0,003	0,003	0,003±0,000
		12,5		0,002	0,002	0,003±0,000
		6,25		0,002	0,002	0,003±0,000
Trolox	AA- DPPH	50		0,688	0,646	0,667±0,0297
		25	%100 Saf Su	0,785	0,778	0,7815 ± 0,0049
		12,5		0,795	0,796	0,7955±0,0007
		6,25		0,807	0,810	0,8085±0,0021
		50		0,683	0,686	0,6845±0,0021
		25	%20 EtOH	0,740	0,735	0,7375±0,0035
		12,5		0,770	0,770	0,770±0,000
		6,25		0,785	0,787	0,7860±0,0014
		50		0,630	0,647	0,6385±0,0120
		25	%40 EtOH	0,697	0,705	0,701±0,0057
		12,5		0,739	0,741	0,7400±0,0014
		6,25		0,795	0,791	0,7930±0,0028
		50		0,706	0,675	0,6905±0,0219
		25	%60 EtOH	0,739	0,740	0,7395±0,0007
		12,5		0,774	0,767	0,7705±0,0049
		6,25		0,784	0,787	0,7855±0,0021
		50		0,717	0,709	0,713±0,0057
		25	%80 EtOH	0,767	0,761	0,764±0,0042
		12,5		0,794	0,741	0,7675±0,0375
		6,25		0,788	0,788	0,788±0,000
		50		0,666	0,656	0,661±0,0071
		25	%100 EtOH	0,720	0,726	0,7230±0,0042
		12,5		0,766	0,763	0,7645±0,0021
		6,25		0,785	0,790	0,7875±0,0035

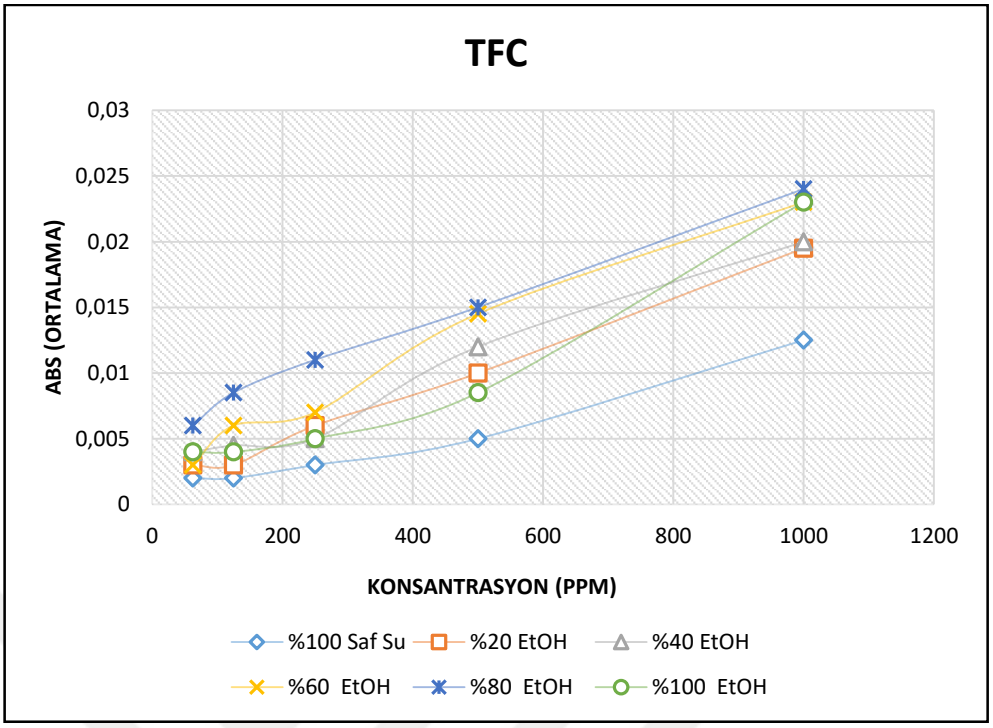
*Veriler ortalama(iki tekrarlı) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.2: Farklı çözücü konsantrasyonlarında gallik asit, kateşin ve troloks çözeltilerinin kalibrasyon denklemleri parametreleri.

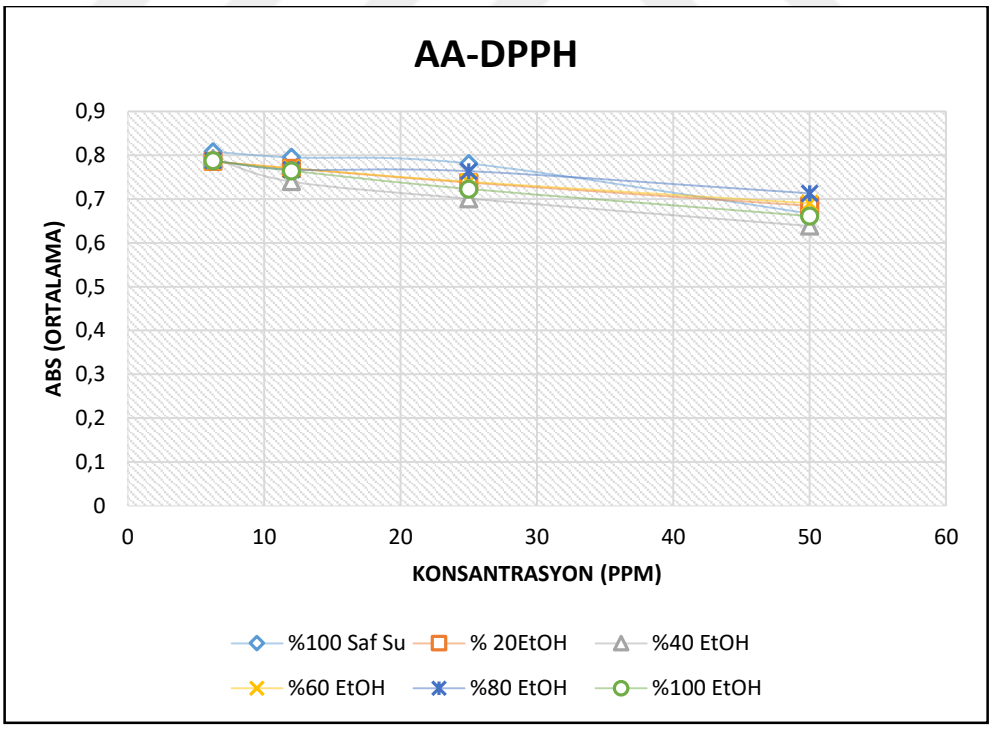
Madde	Spektrofotometrik Analiz Yöntemi	Denklem Y=aX±B	Çözücü Konsantrasyonu (%,v/v)					
			%100 Saf Su	% 20 EtOH	%40 EtOH	%60 EtOH	%80 EtOH	%100 EtOH
Gallik Asit	TPM-FCR	A	0,0006	0,0006	0,006	0,0008	0,0007	0,005
		B	0,016	0,013	0,0204	0,0139	0,0198	0,024
		R^2	0,9851	0,0992	0,966	0,9902	0,9891	0,9952
Kateşin	TFC-$AlCl_3$	A	0,00001	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002
		B	0,0058	0,0013	0,0021	0,0026	0,0058	0,0009
		R^2	0,9926	0,9958	0,9791	0,9829	0,9926	0,9458
Troloks	AA-DPPH	A	-0,0033	-0,0023	-0,0033	-0,0022	-0,0016	-0,0029
		B	0,8395	0,7987	0,7947	0,7972	0,7958	0,801
		R^2	0,9396	0,9972	0,942	0,9965	0,9513	0,9923



Şekil 4.1: Farklı çözücü konsantrasyonlarında hazırlanmış saf gallik asit çözelti konsantrasyonları ve absorbans arasındaki ilişki.



Şekil 4.2: Farklı çözücü konsantrasyonlarında hazırlanmış saf kateşin çözelti konsantrasyonları ve absorbans arasındaki ilişki**.**



Şekil 4.3: Farklı çözücü konsantrasyonlarında hazırlanmış saf troloks çözelti konsantrasyonları ve absorbans arasındaki ilişki.

4.2. KUŞBURNU ÇEKİRDEĞİ EKSTRAKTI İÇERİĞİNİN SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

Metalik nanopartikül sentezinde indirgeyici, stabilize edici ve kapaklayıcı ajan olarak bitki özütlerinin içindeki fenolik içeriklerinin önemi bilindiğinden, elimizde bulunan üç çeşit atık kuşburnu çekirdeği TPM açısından değerlendirilmiş, uygun olan çekirdek türüne karar verilmiştir. Ardından en uygun çözücü cinsi ve konsantrasyonu TPM yönünden değerlendirmiş, uygun olan çözücü cinsi ve konsantrasyonu ile ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen ekstrakt TFM ve DPPH ile antioksidan kapasite açısından da değerlendirilmiş ve ZnO NP sentezinde kullanılmıştır.

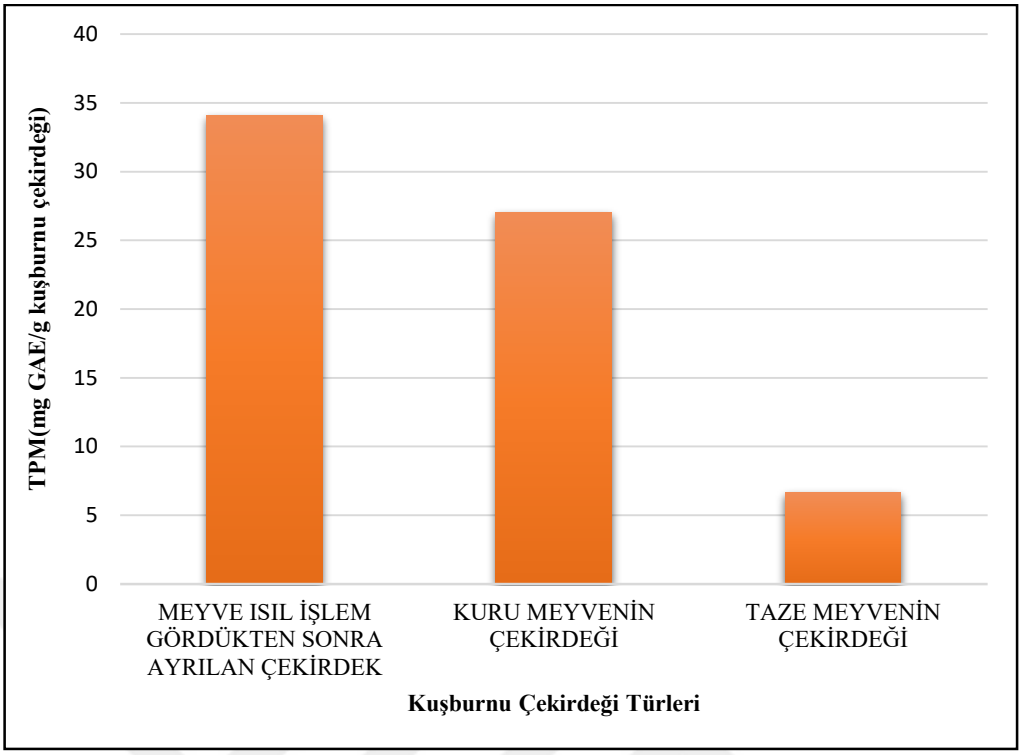
4.2.1. Ekstraktın Toplam Fenolik İçerik Miktarı

Ekstraksiyon aşaması öncesinde elimizde bulunan üç çeşit kuşburnu çekirdeği örneği (taze meyve içerisinden çıkarılan çekirdek, kuru meyve içerisinden çıkarılan çekirdek ve meyve ısıl işlem gördükten sonra ayrılan çekirdek) %80 EtOH çözeltisiyle OÇE ile ekstrakte edilmiştir. UV-Vis spektrofotometrede, TPM (mg GAE/g kuşburnu çekirdeği) ölçümü için üç tekrarlı absorbans değerleri ölçülmüş, Tablo 4.2'den yola çıkarak TPM değerleri hesaplanmıştır. Bu sonuçlar, Tablo 4.3'te gösterilmiş, Şekil 4.4'te şematize edilmiştir.

Tablo 4.3: Farklı çekirdek türlerine göre absorbans ve TPM değerleri*.

Kuşburnu Çekirdeği Türü	Çözücü Miktarı (mL)	Tartım Çekirdek (g)	ABS (ORT)	PPM (mg/L)	TPM (mg GAE/g kuşburnu çekirdeği)
Meyve Isıl İşlem Gördükten Sonra Ayrılan Çekirdek	80	1,0291	0,3265	438,14	34,06±0,016
Kuru Meyvenin Çekirdeği		1,0019	0,2565	338,14	27,00±0,011
Taze Meyvenin Çekirdeği		1,0171	0,079	84,57	6,65±0,002

*Veriler ortalama (üç tekrarlı) ± standart sapma verilmiştir.



Şekil 4.4: Kuşburnu çekirdeği türlerine göre TPM değerlerinin karşılaştırılması.

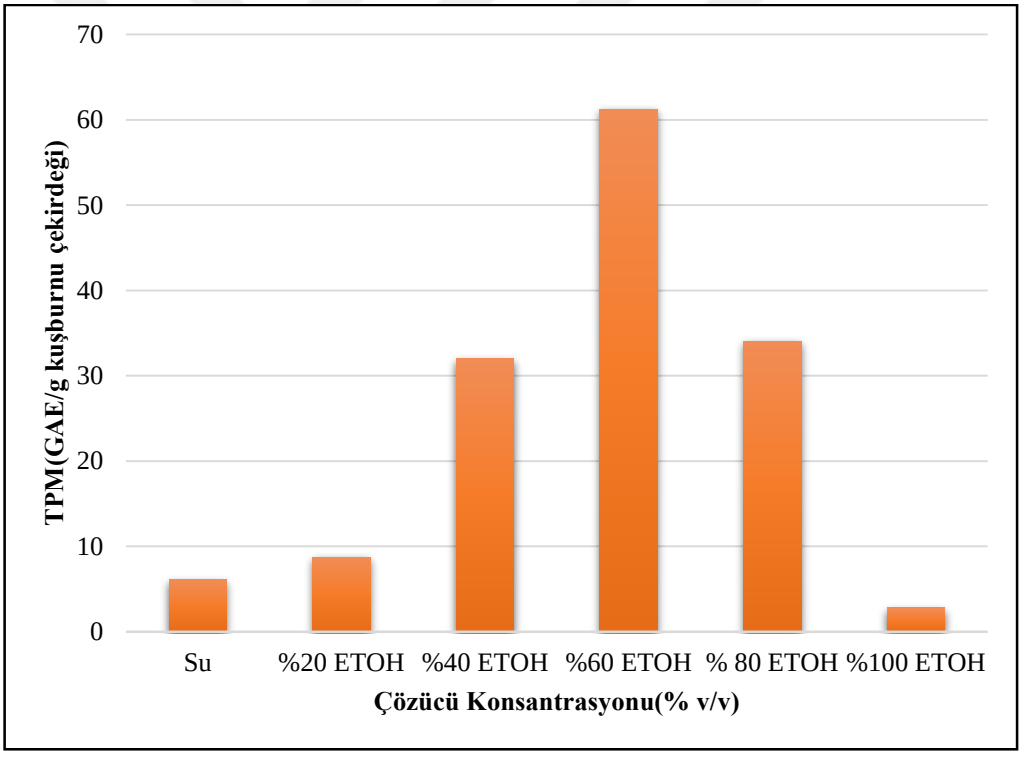
Elde edilen sonuçlara göre, TPM en düşük taze meyveden ayrılan çekirdekte belirlenirken, kuru meyvenin çekirdeği taze meyvenin çekirdeğine göre daha yüksek TPM'ye sahiptir. En yüksek TPM meyve ısıl işlem gördükten sonra ayrılan çekirdekten elde edilmiştir. Bu durum, ekstraksiyon öncesinde kuşburnu çekirdeği dokusunda sıcaklık ve buhar basıncının etkisiyle hücre duvarının kırılması ve hücre duvarlarından salınan fenolik maddelerin artmasıyla ilişkilendirilebileceği düşünülmektedir [96]. Çekirdek atıklarının büyük bir kısmının meyve ısıl işlem gördükten sonra ortaya çıkan kısımdan oluşması da, tez kapsamında atık dönüşümü açısından yararlı olunduğunu göstermektedir.

En yüksek TPM'ye sahip çekirdek türü belirlendikten sonra en uygun çözücüyü belirleme aşamasına geçilmiştir. Elde edilen veriler Tablo 4.4'te gösterilmekte ve Şekil 4.5'te şematize edilmektedir.

Tablo 4.4: Farklı çözücü konsantrasyonlarına göre absorbans ve TPM değerleri*.

Çözücü	Çözücü Miktarı (mL)	Tartım Çekirdek (g)	ABS (ORT)	PPM (mg/L)	TPM (mg GAE/g kuşburnu çekirdeği)
Saf Su	80	1,0175	0,0625	77,50	6,09±0,004
%20 EtOH		1,0463	0,0815	114,16	8,73±0,015
%40 EtOH		1,0092	0,2625	403,5	31,99±0,039
%60 EtOH		1,0409	0,6515	797	61,25±0,067
%80 EtOH		1,0291	0,3265	438,14	34,06±0,022
%100 EtOH		1,0215	0,045	36	2,80±0,001

*Veriler ortalama (üç tekrarlı) ± standart sapma verilmiştir.



Şekil 4.5: Farklı çözücü konsantrasyonlarına göre TPM değerlerinin karşılaştırılması.

Bitkilerden biyolojik olarak aktif bileşiklerin ekstraksiyonu, bitkinin bileşimi, kullanılan ekstraksiyon yöntemi, çözücü cinsi ve bitki-çözücü oranı gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı sabit tutulduğunda çözücünün önemli bir parametre olduğu bilinmektedir [97]. Ekstraktı elde ederken de polar bir çözücü olan etanol veya sulu etanol çözeltisi kullanılması da, ekstraktın gıda ve sağlık uygulamalarında

kullanılabilmesi açısından daha yeşil bir bakış açısı oluşturmaktadır [98]. Kuşburnu çekirdekleri saf su ve farklı konsantrasyonlarda etanol çözeltileri ile ekstrakte edilmiş ve TPM içerikleri incelenmiştir. Saf su ve %100 etanol ile yapılan ekstraksiyonda en düşük TPM içeriği hesaplanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalar, fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda alkol ve su karışımlarının tek bileşenli çözücülere göre daha etkili olduğunu ortaya çıkarmıştır[98]. Bu durum, suyun hücreler için bir şişirme ajanı işlevi görmesi, bitki matriksi ile kullanılan çözücü arasındaki temas yüzeyini arttırması ve böylece fenolik bileşik miktarını arttırmasıyla bağdaştırılabilir [99]. Etanol konsantrasyonun %60'a kadar artmasıyla TPM miktarı da artış göstermiş, %60'ın üzerine çıkıldığında TPM miktarı azalmaya başlamıştır. Albarri ve Şahin'in *Moringa oleifera* yaprakları ile yaptıkları ekstraksiyon çalışmalarında da benzer durum gözlenmiştir [95]. Bu durum, etanol konsantrasyonunun belirli bir değerin üzerine çıkmasıyla proteinlerin denatürasyonuna yol açtığı ve böylece polifenollerin çözünmesini engellediği, böylece TPM değerini düşürmesiyle açıklanabilmektedir [95].

ZnO NP sentezinde kullanılacak olan , %60 EtOH ile ekstrakte edilen kuşburnu çekirdeklerinin TPM (mg GAE/ g kuşburnu çekirdeği) değeri aşağıdaki tabloda gösterilmektedir.

Tablo 4.5: ZnO NP sentezinde kullanılacak olan ekstraktın absorbans ve TPM değeri*.

Tartım Çekirdek (g)	Çözücü Miktarı (mL)	ABS (ORT)	PPM (mg/L)	TPM (mg GAE / g kuşburnu çekirdeği)
1,0409	80	0,572	697,63	53,62±0,012

*Veriler ortalama (üç tekrarlı) ± standart sapma verilmiştir.

İlyasoğlu'nun kuşburnu çekirdek ve çekirdek yağı karakterizasyonuna ait yaptığı çalışmada, kuşburnu çekirdek ekstraktının fenolik madde miktarı daha düşük bulunmuştur [51]. Demir ve arkadaşlarının kuşburnu meyvesiyle yapmış olduğu fenolik madde miktarı ile karşılaştırıldığında da Tablo 4.5 ile benzer sonuçlar elde edilmiştir [100]. Bitkinin genotipi, yetiştirildiği bölge, ekstraksiyon yöntemi ve kullanılan çözücü gibi farklılıklar bitkideki toplam fenolik içeriği etkilediği için, farklı çalışmalarda farklı sonuçlar ortaya çıkmaktadır [100].

4.2.2. Ekstraktın Toplam Flavonoid İçerik Miktarı

ZnO NP sentezinde kullanılacak olan kuşburnu çekirdeklerinin TFM (mg-CE /g kuşburnu çekirdeği) değeri Tablo 4.6'da gösterilmektedir. Tablo 4.2'de TFC için elde edilen kalibrasyon

denklemlerine göre sonuca ulaşılmıştır. Kuşburnu çekirdeklerinin TFC değeri 225,70±0,002 mg-CE/ g kuşburnu çekirdeği olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.6: ZnO NP sentezinde kullanılacak olan ekstraktın absorbans ve TFM değeri*.

Tartım Çekirdek (g)	Çözücü Miktarı (mL)	ABS (ORT)	PPM (mg/L)	TFM (mg CE/ g kuşburnu çekirdeği)
1,0409	80	0,061	2936,67	225,70±0,002

*Veriler ortalama (üç tekrarlı) ± standart sapma verilmiştir.

Kuşburnu çekirdeği ekstraktı TFM değeri, Paunovıć ve arkadaşlarının kuşburnu meyvesi ile yaptığı çalışmadan elde ettikleri flavonoid madde miktarıyla karşılaştırıldığında daha yüksek hesaplanmıştır [101]. Kullanılan ekstraksiyon yöntemi ve çözücü ortamının değişmesiyle bu farkın ortaya çıktığı düşünülmektedir. Kuşburnu çekirdeği ekstraktının toplam flavonoid içeriği, Albarri ve Şahin'in *Moringa oleifera* yapraklarıyla yaptıkları çalışmayla karşılaştırıldığında, aynı ekstraksiyon yöntemi ve çözücü ortamı olmasına karşı daha yüksek elde edilmiştir [87]. Bu durum da bitki çeşidinin değişmesiyle ilişkilendirilmektedir.

4.2.3. Ekstraktın DPPH Yöntemi ile Antioksidan Kapasitesi Tayini

ZnO NP sentezinde kullanılacak, kuşburnu çekirdeklerinin antioksidan aktivite (% inhibisyon) ve DPPH (mg-TEAC/g kuşburnu çekirdeği) değeri Tablo 4.7'de gösterilmektedir. Tablo 4.2'de elde edilen DPPH kalibrasyon denklemlerine göre sonuca ulaşılmıştır. DPPH yöntemine göre antioksidan kapasite miktarı 27,23±0,002 mg-TEAC/g kuşburnu çekirdeği olarak hesaplanmıştır. Kuşburnu çekirdeği ekstraktının %97 süpürücü etkiye sahip olduğu bulunmuştur.

Tablo 4.7: ZnO NP sentezinde kullanılacak olan ekstraktın antioksidan aktivitesi ve antioksidan kapasitesi*.

Tartım Çekirdek (g)	Çözücü Miktarı (mL)	C_0	ABS (ORT)	PPM (mg/L)	Antioksidan Aktivite (% İnhibisyon)	AA-DPPH (mg TEAC/g kuşburnu çekirdeği)
1,0409	80	0,7809	0,018	354,18	% 97	27,23±0,002

*Veriler ortalama (üç tekrarlı) ± standart sapma verilmiştir.

Güney'in kuşburnu çekirdeği için DPPH yöntemiyle yaptığı antioksidan aktivite belirleme çalışmasında, çekirdeklerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiş, fakat Tablo 4.7'den daha düşük bir değer elde edilmiştir [102]. İlyasoğlu, kuşburnu çekirdeklerinin metanol ile ekstraktının antioksidan aktivitesinin farklı bir yöntem ile daha düşük bir değer elde etmiştir [51]. Bu farklılıkların bitkinin farklı genotiplerde olması, farklı ekstraksiyon sistemlerinin ve farklı antioksidan belirleme yöntemlerinin kullanılmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Şahin ve arkadaşlarının *Olea europaea* ile yaptıkları çalışmada, aynı ekstraksiyon ve antioksidan kapasite belirleme yöntemiyle benzer sonuçlar elde edilmiştir [103].

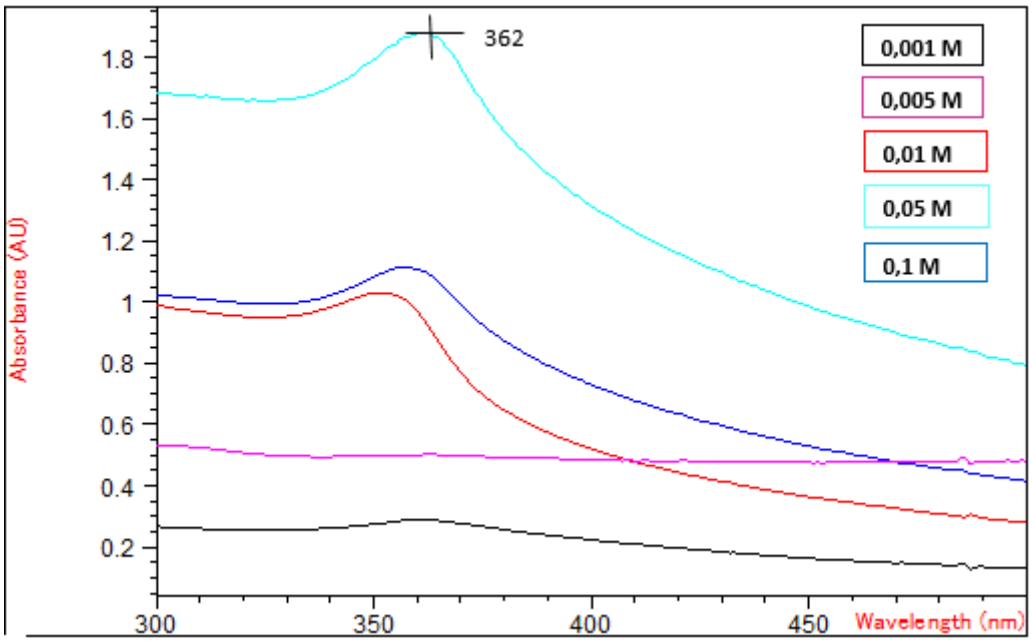
4.3. ZnO NANOPARTİKÜLLERİN KARAKTERİZASYONU

4.3.1. ZnO Nanopartiküllerin Uv-Vis Karakterizasyonu

Daha önce yapılan çalışmalarda yüzey plazmon rezonans (SPR) bantlarının konsantrasyon, sıcaklık, sentezlenen nanopartiküllerin boyutu ve şekli, pH vb. gibi çeşitli faktörlerden etkilendiği bildirilmiştir [104]. Bundan dolayı, ZnO NP sentezi için başlangıç tuzu konsantrasyonu, ekstrakt miktarı, pH, mikrodalga gücü ve mikrodalga süresi optimize edilmiştir. ZnO'nun 315–400 nm bölgelerinde yüksek optik absorpsiyona sahip olması göz önüne alınarak, UV-Vis spektrofotometrede 300-500 nm dalga boyu aralığında absorbans ölçümleri alınarak şartlar optimize edilmiştir [19].

4.3.1.1. Optimum Başlangıç Metal Tuzu Konsantrasyonunun Belirlenmesi

ZnO NP sentezi optimizasyonu için ilk olarak başlangıç metal tuzu konsantrasyonu optimize edilmiştir. Sentezin optimizasyonu için 50 mL 0,001 M, 0,005 M, 0,01 M, 0,05 M ve 0,10 M $Zn(NO_3)_2.6H2O$ çözelti konsantrasyonu kullanılarak, ekstrakt miktarı, pH, mikrodalga gücü ve mikrodalga süresi sabit tutulmuştur. UV-Vis spektrofotometrede 300-500 nm dalga boyu aralığında yapılan absorbans ölçümleri Şekil 4.6'da gösterilmektedir. Düşük derişimlerde analitik bir sinyal gözlenmezken, 0,01 M, 0,05 M ve 0,10 M'da yüksek absorbans değerleri elde edilmiş ve en yüksek absorbans değerine zemin düzeltmeleri de göz önünde bulundurularak 0,05 M $Zn(NO_3)_2.6H2O$ derişiminde 362 nm dalgaboyunda ulaşıldığı kaydedilmiştir.

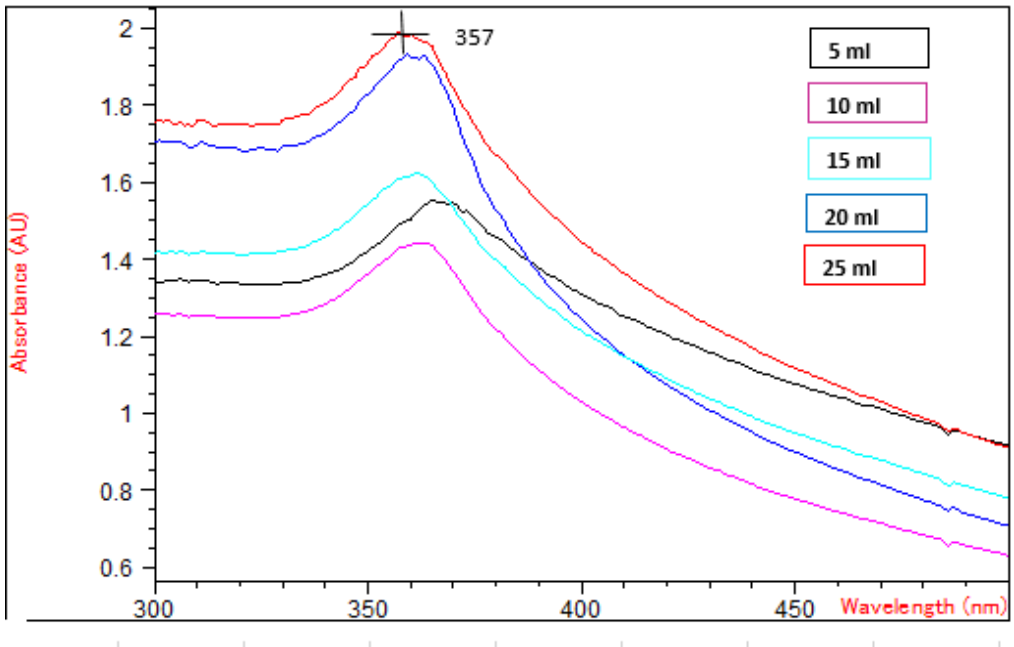


Şekil 4.6: Optimum metal tuzu konsantrasyonunun belirlenmesi.

Metal tuzu konsantrasyonu belirli bir eşik değerin üzerine çıktığında metal iyonlarının indirgenmesi engellenir ve böylece oluşan partikül sayısı azalmaktadır. Ayrıca, metal tuzu konsantrasyonunun artışıyla, metal iyonlarının ortamda daha çok bulunması nedeniyle daha büyük partikül boyutlarının ortaya çıktığı ve nanopartiküllerin aglomerasyonu ile sonuçlandığı daha önceki çalışmalarda raporlanmıştır [105]. Bundan dolayı, metal tuzu konsantrasyonun artışına bağlı olarak, 0,05 M metal tuzu konsantrasyonunun 0,10 M'ye yükselmesiyle absorbsiyonda azalma meydana gelmiştir. Bunun nedeni metal iyonlarının nanopartiküllere indirgenmesinde rol alan ekstrakt içeriğindeki biyomoloküllerin, metal iyon konsantrasyonu arttıkça yetersiz kalması ve ZnO NP sentezinin azalması ile ilişkilendirilebileceği düşünülmektedir [106].

4.3.1.2. Optimum Ekstrakt Miktarı Belirlenmesi

ZnO NP sentezi optimizasyonu için ikinci olarak ekstrakt miktarı optimize edilmiştir. Şartın optimizasyonu için 5, 10, 15, 20, 25 ml ekstrakt miktarına karşı, metal tuzu konsantrasyonu, pH, mikrodalga gücü ve mikrodalga süresi sabit tutulmuştur. UV-Vis spektrofotometrede 300-500 nm dalga boyu aralığında yapılan absorbans ölçümleri Şekil 4.7'de gösterilmektedir. Bütün ekstrakt miktarlarında karakteristik dalga boyu aralığında analitik sinyal gözlemlenirken, miktardaki artışa bağlı olarak absorbans değeri artmış ve 25 mL ekstrakt kullanımında, zemin düzeltmeleri de dikkate alınarak maksimum absorbans değeri 357 nm'de elde edilmiştir.

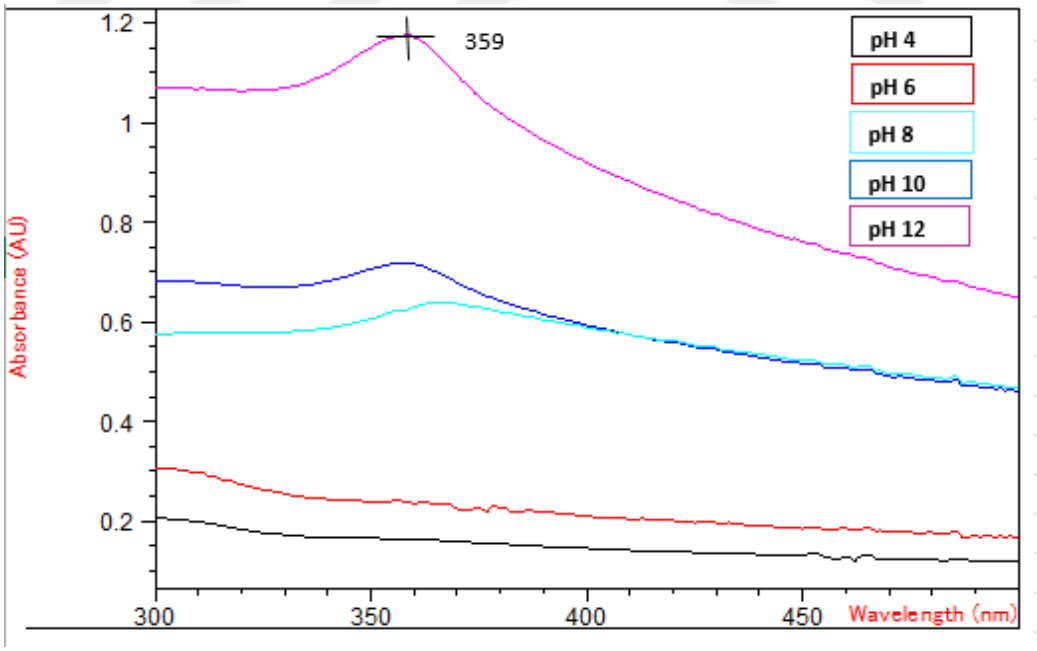


Şekil 4.7: Optimum ekstrakt miktarının belirlenmesi.

Ekstrakt miktarının artışına bağlı olarak absorbans değerlerinin yükselmesi, ekstrakt içeriğindeki biyolojik aktif maddelerin indirgeyici ajan olarak işlev görmesi ve bundan dolayı ortamdaki ZnO NP oranının artmasıyla bağdaştırılmaktadır. ZnO karakteristik dalga boyu aralığında, daha düşük ekstrakt miktarlarında bile absorbans artışı gözlemlense bile, ekstrakt içeriğindeki biyolojik olarak aktif maddelerin kapaklayıcı ajan olarak işlev görmesi ve aglomerasyonu engelleyeceği düşünülmektedir. Ekstrakt miktarının artmasıyla nanopartiküllerin aglomerasyonunun azaldığı ve boyutunun küçüldüğü daha önceki çalışmalarda bahsedilmektedir [107].

4.3.1.3. Optimum pH Değerinin Belirlenmesi

ZnO NP sentezi optimizasyonu için üçüncü olarak pH değeri optimize edilmiştir. pH değerinin optimizasyonu için pH 4, 6, 8, 10 ve 12 değerlerine karşı, metal tuzu konsantrasyonu, ekstrakt miktarı, mikrodalga gücü ve mikrodalga süresi sabit tutulmuştur. UV-Vis spektrofotometrede 300-500 nm dalga boyu aralığında yapılan absorbans ölçümleri Şekil 4.8'de gösterilmektedir. pH 4 ve 6'da analitik sinyal gözlenmezken, pH 8'den itibaren absorbans artışı gözlenmeye başlanmıştır. Maksimum absorbans değeri pH 12 koşulunda, 359 nm dalga boyunda kaydedilmiştir.

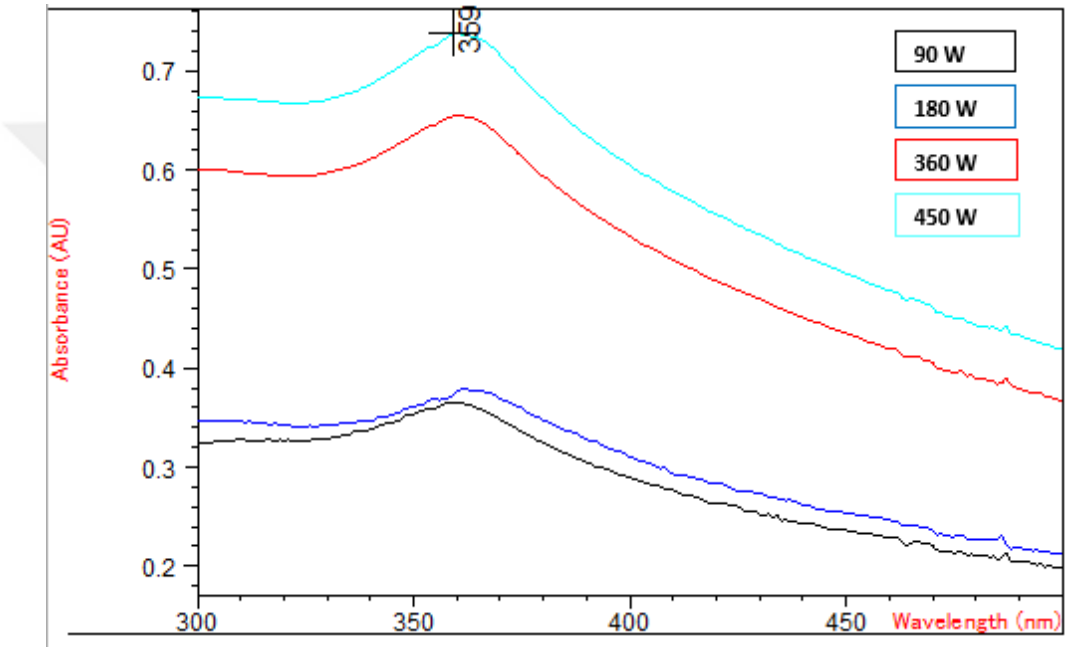


Şekil 4.8: Optimum pH değerinin belirlenmesi.

pH, metal iyonlarının indirgenmesini etkileyen önemli bir faktördür. pH'ın sentezde etkisi, biyolojik olarak aktif maddelerin elektrik yüklerini değiştirmesiyle ilişkilendirilmektedir. Bu da onların indirgeme ve kapaklama yeteneklerini ve böylece nanopartiküllerin aglomerasyonunu etkilemektedir [108]. Daha önce yapılan çalışmalarda pH değerinin artışıyla partikül boyutunda ve nanopartiküllerin aglomerasyonunda azalma meydana geldiği bildirilmiştir[109]. Şekil 4.8'de görüldüğü üzere asidik ortamda absorbans yükselmesi gözlenmezken, ortamın bazikleşmesiyle absorbans yükselmeye başlamıştır. Literatürde de ZnO NP bazik ve nötr ortamda oluştuğu ve pH artışıyla birlikte absorbansta artışa neden olduğu, ancak asidik ortamda oluşmadığı ve absorbsiyon piklerinin oluşmadığı gözlenmektedir [110]. Bu durum, bazik ortam koşullarında, pH'ın sulu çözeltide bulunan fitokimyasallarla birlikte metal tuzu ile elektron transferi yoluyla iyonizasyona dahil olduğu ve ZnO NP oluşumuna yardımcı olmasıyla absorbansta yükselmeye neden olduğu ile açıklanabilmektedir [109].

4.3.1.4. Optimum Mikrodalga Gücünün Belirlenmesi

ZnO NP sentezi optimizasyonu için dördüncü olarak mikrodalga gücü optimize edilmiştir. Sentezin optimizasyonu için 90, 180, 360 ve 450 Watt değerlerine karşı, metal tuzu konsantrasyonu, ekstrakt miktarı, pH ve mikrodalga süresi sabit tutulmuştur. UV-Vis spektrofotometrede 300-500 nm dalga boyu aralığında yapılan absorbans ölçümleri spektrumları Şekil 4.9'da gösterilmektedir. Bütün mikrodalga güç değerlerinde karakteristik dalga boyu alanında analitik sinyal oluşumu mevcutken, 450 Watt mikrodalga gücünde 359 nm'de maksimum absorbans gözlenmiştir.



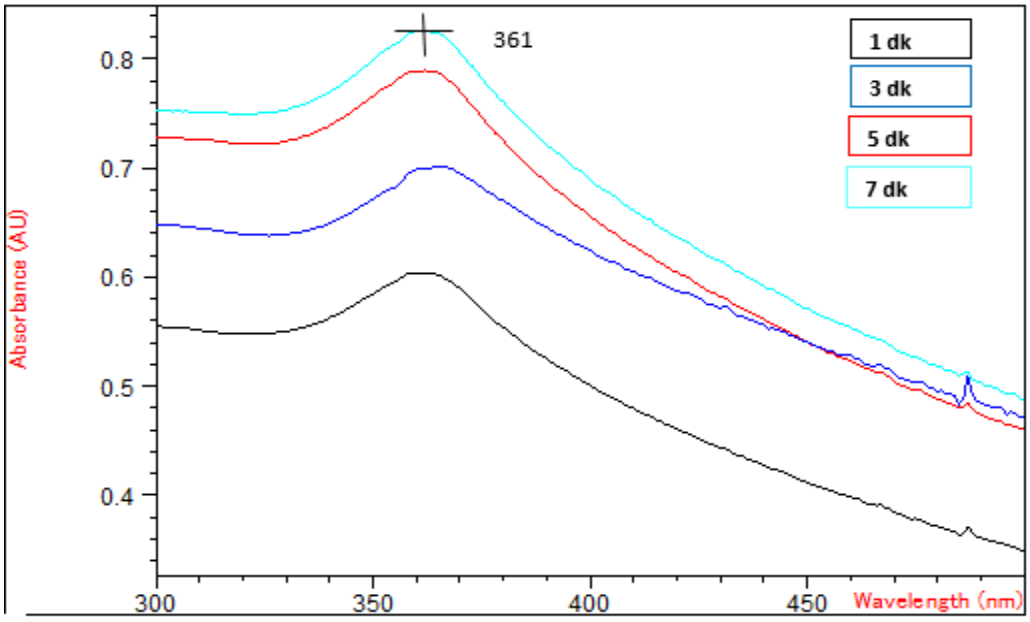
Şekil 4.9: Optimum mikrodalga gücü belirlenmesi.

Geleneksel ısıtma yönteminde reaksiyon kabının cidarları konveksiyon veya kondüksiyon ile ısıtıldığı için, metal oksit NP'lerin çekirdeğinin istenen sıcaklığa ulaşması için daha uzun sürelere ihtiyaç vardır. Bu durum, reaksiyon kabı içinde homojen olmayan sıcaklık profillerine yol açmaktadır. Bu dezavantajın üstesinden gelmenin bir yolu reaksiyon karışımının hedef sıcaklığa hızlı ve homojen bir şekilde ısıtılmasını sağlayan, elektromanyetik spektrumda kızıl ötesi ve radyo frekansları arasında kalan, mikrodalga ışıması ile ısıtma yönteminin kullanılmasıdır[76]. Şekil 4.9'da mikrodalga gücü arttıkça, absorbans miktarında artış olduğu gözlenmektedir Bu durumun mikrodalga gücünün artmasıyla, partiküllerin çekirdeklenme hızının arttığı ve daha fazla nanopartikül oluşumuyla absorbansta artış meydana gelmesiyle açıklanabileceği düşünülmektedir. Daha önce yapılan çalışmalar, mikrodalga gücünde fazla bir artışın biyolojik olarak aktif bileşenlerin bozulmasına neden olduğu ve nanopartikül çözeltisini

kararsız hale getirdiğini ortaya koymuştur [111]. Bundan dolayı optimum mikrodalga gücü seçilirken, zemin düzeltmeleri de dikkate alınarak, yaklaşık olarak aynı absorbans değerine sahip 360 W mikrodalga gücü optimum mikrodalga gücü olarak seçilmiştir.

4.3.1.5. Optimum Mikrodalga Süresinin Belirlenmesi

ZnO NP sentezi optimizasyonu için son olarak mikrodalga süresi optimize edilmiştir. Mikrodalga süresinin optimizasyonu için 1, 3, 5 ve 7 dakika süreye karşı, metal tuzu konsantrasyonu, ekstrakt miktarı, pH ve mikrodalga gücü sabit tutulmuştur. UV-Vis spektrofotometrede 300-500 nm dalga boyu aralığında yapılan absorbans ölçümleri şekil 4.10'da gösterilmektedir. Bütün süre değerlerinde karakteristik dalga boyu alanında absorbans yükselmesi mevcuttur. Zemin düzeltmeleri de dikkate alındığında maksimum absorbans oluşumu 7 dakika sürede yapılan sentez için 361 nm'de gerçekleşmiştir.



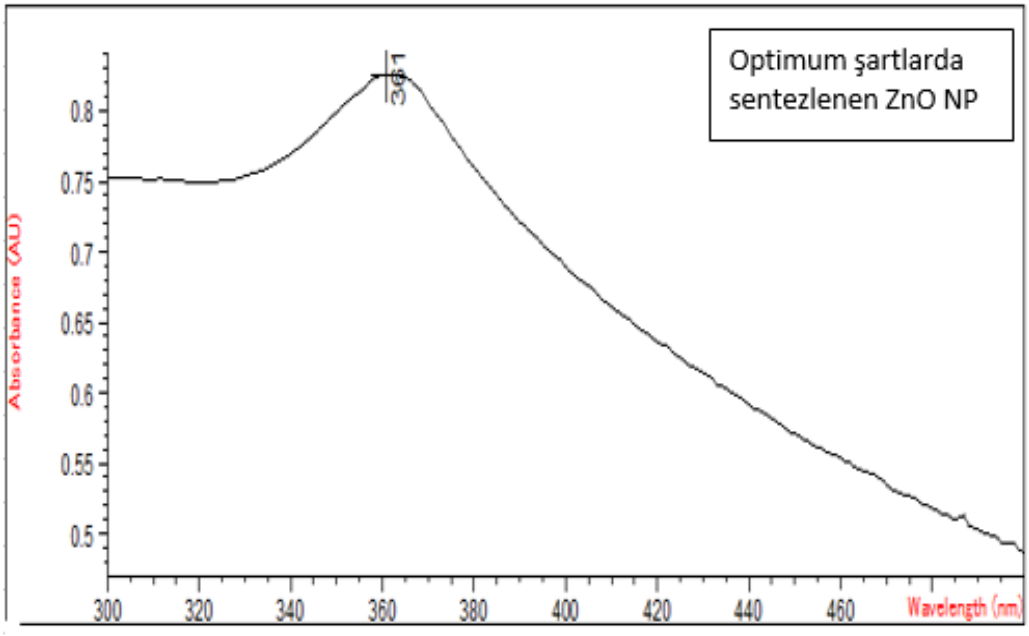
Şekil 4.10: Optimum mikrodalga süresi belirlenmesi.

Mikrodalga süresinin artışıyla, sisteme geçen enerji miktarı da doğru orantılı olarak artmaktadır. Bu durum, süre arttıkça metal tuzunun ZnO NP'lere indirgenmesinin arttığını ve absorbansta artışa neden olduğunu göstermektedir. Ayriyeten uzun süren reaksiyonlarda ekstrakttan gelen biyolojik olarak aktif maddelerin hidrolize uğrayabileceği ve bu durumun onların stabilize edici özelliklerini azaltabileceği ve aglomerasyona sebep olabileceği düşünüldüğünden daha yüksek sürelere çıkılmamıştır [111].

4.3.1.6. Optimum Koşullarda Sentezlenmiş ZnO NP UV-Vis Analizi

ZnO NP sentezi için başlangıç tuzu konsantrasyonu, ekstrakt miktarı, pH, mikrodalga gücü ve mikrodalga süresi UV-Vis spektrofotometrede optimize edilmiştir. Şekil 4.11'de optimum şartlarda sentezlenen ZnO NP UV-Vis sonucu gösterilmektedir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda:

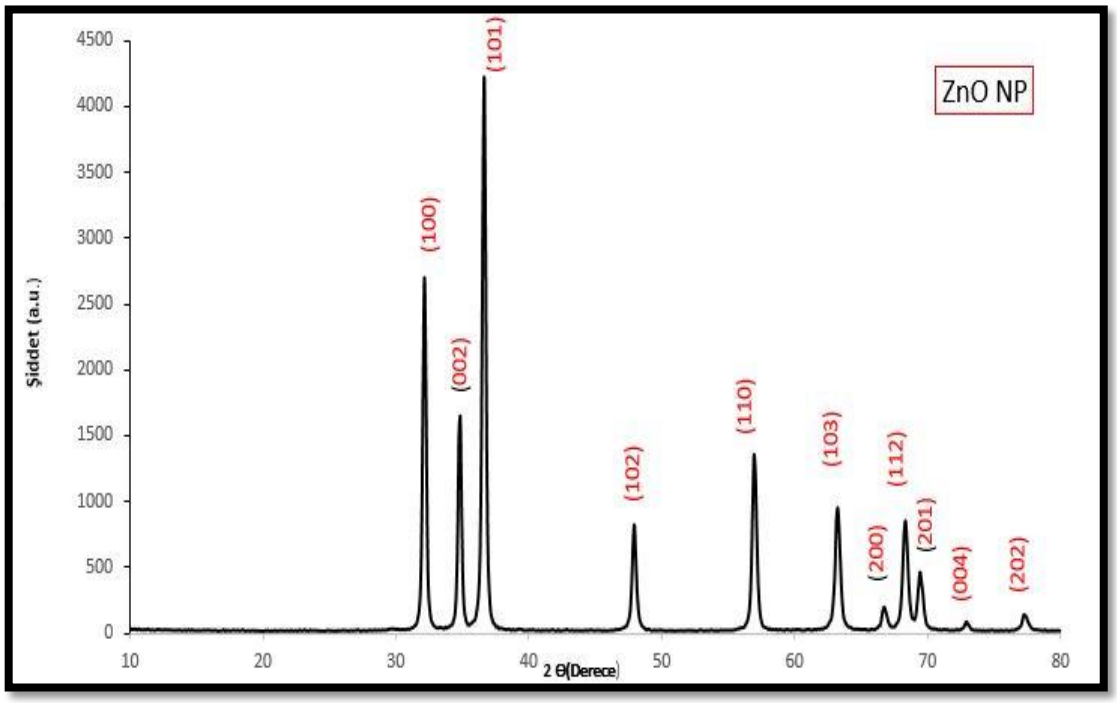
- 50 ml 0,05 M $Zn(NO_3)_2$.6H2O konsantrasyonu,
- 25 ml ekstrakt miktarı,
- pH 12 değeri,
- 360 Watt mikroldaga gücü,
- 7 dakika mikrodalga süresi optimum şartlar olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.11: Optimum şartlarda sentezlenen ZnO NP.

4.3.2. ZnO Nanopartiküllerin XRD Analizi

Optimum şartlarda sentezlenen ZnO NP'lerin XRD analizi grafiği şekil 4.12'de gösterilmektedir. ZnO NP'lere ait 2θ= 32,104 °, 34,774 °, 36,593 °, 47,893 °, 56,921 °, 63,202°, 66,707 °, 68,297 °, 69,409 °, 72,909 °, 77,239 ° değerlerine ait karakteristik piklerin sırasıyla (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200), (112), (201), (004), (202) düzlemlerine karşılık geldiği belirlenmiştir.



Şekil 4.12: ZnO NP'lerin XRD analizi grafiği.

ZnO NP'ler için kristal boyutu ölçümü Debye-Scherrer (denklem 4.1) eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır.

- $$d = \frac{K\,\lambda}{\beta\,\cos\theta} \qquad \textbf{(4.1)}$$

Denklemde:

- d kristal boyutu (nm),
- K Debye Scherrer sabiti (0,94) ,
- β maksimum pikin yarı uzunluğu genişliği (FWHM),

- θ maksimum pikin 2θ değerinden elde edilen Bragg açısı,
- λ X-ışınının dalga boyu (1,54 Å) dur [30].

Tablo 4.8'de gösterilen XRD verileri doğrultusunda, ortalama kristal boyutu 24,4 nm olarak hesaplanmıştır.

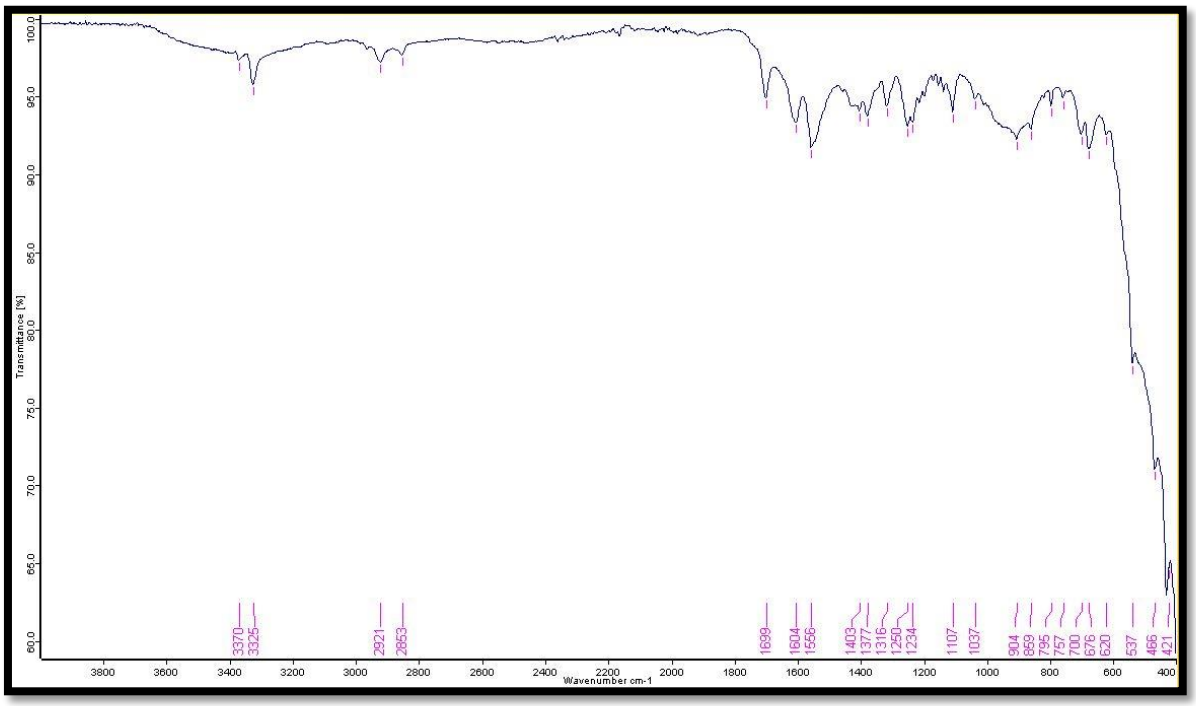
Tablo 4.8: ZnO NP'lerin pik değerlerine göre kristal boyutları.

2Ɵ (Derece)	h k l	FWHM	d (nm)
32,104	100	0,298	27,740249
34,774	002	0,305	27,293961
36,593	101	0,309	27,078643
47,893	102	0,348	24,97844
56,921	110	0,377	23,969156
63,202	103	0,423	22,050526
66,707	200	0,452	21,041518
68,297	112	0,418	22,964971
69,409	201	0,419	23,063049
72,909	004	0,361	27,359876
77,239	202	0,488	20,83593

ZnO NP'lerin XRD analizine ait karakteristik piklerin, Toz Kırınım Standartları Ortak Komitesi (Joint Committee on Powder Diffraction Standards, JCPDS) veri bankasındaki JCPDS Kart No: 89-0510 kart ile uyumlu olduğu ve ZnO NP'lerin altıgen Wurtzite formunda olduğu anlaşılmaktadır [112]. Dar ve güçlü kırınım pikleri, ZnO NP'lerin oldukça iyi bir kristal parçacık yapısına sahip olduğunu göstermektedir. Herhangi bir safsızlık içeren karakteristik bir tepe noktasının tespit edilmemesi, yüksek saflıkta ZnO NP'lerin sentezlendiğini düşündürmektedir[76]. Debye-Scherrer eşitliğine göre hesaplanan 24,4 nm kristal boyutunun da daha önce yapılan yeşil sentez çalışmalarıyla uyumlu olduğu anlaşılmaktadır [113][112].

4.3.3. ZnO Nanopartiküllerin FT-IR Analizi

Şekil 4.13'te optimum koşullarda sentezlenen ZnO NP'lerin FTIR analizi gösterilmektedir. Elde edilen spektrumda absorbsiyon pikleri 3370 cm^{-1}, 3325 cm^{-1}, 2921 cm^{-1}, 2853 cm^{-1}, 1699 cm^{-1}, 1604 cm^{-1}, 1556 cm^{-1}, 1403 cm^{-1}, 1377 cm^{-1}, 1316 cm^{-1}, 1250 cm^{-1}, 1234 cm^{-1}, 1107 cm^{-1}, 1037 cm^{-1}, 904 cm^{-1}, 859 cm^{-1}, 795 cm^{-1}, 757 cm^{-1}, 700 cm^{-1}, 676 cm^{-1}, 620 cm^{-1}, 537 cm^{-1}, 466 cm^{-1} ve 421 cm^{-1}'de görülmektedir.



Şekil 4.13: ZnO NP'lerin FTIR analizi grafiği.

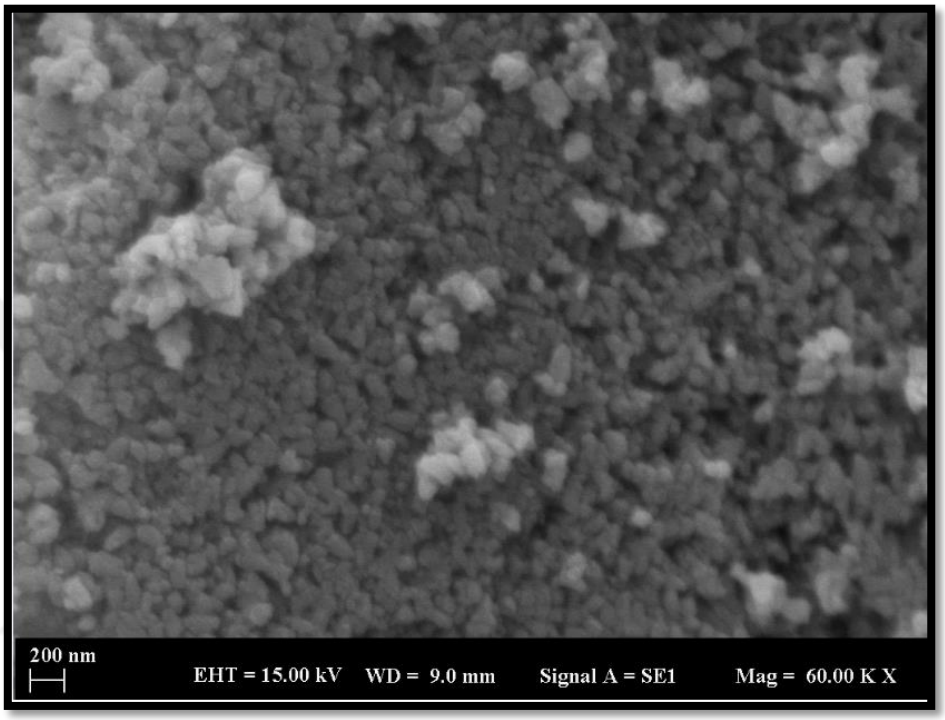
Metal oksitlerin genellikle 400 cm^{-1} ile 600 cm^{-1} arasındaki bölgelerde absorpsiyon pikleri verdiği bilinmektedir. Bundan dolayı, 537 cm^{-1}, 466 cm^{-1} ve 421 cm^{-1}'de görülen absorbsiyon piklerinin Zn-O atomları arasındaki titreşim gerilimlerinden kaynaklandığı anlaşılmaktadır [114]. Bu sonuç, ZnO NP'lerin başarıyla sentezlendiğini göstermektedir.

Bitkilerde bulunan fenolik asitler, flavonoidler, yağ asitleri, pektin, karotenoidler, şekerler ve askorbik asit gibi meyve asitleri nanopartiküller için biyolojik kaplama ajanları olduğu bilinmektedir. Nanopartiküllerin üzerindeki bu metabolitlerin varlığı nanopartikülleri stabil halde tutar. ZnO NP'lerin yüzeyine tutunan fenolik ve karboksilik asitler gibi biyo-kaplama ajanlarının varlığı partiküllerin nanopartiküller halinde stabilize olmasını sağlamaktadır [76]. 3370 cm^{-1} ve 3325 cm^{-1} 'de gözlemlenen absorbsiyon pikleri O-H gerilmesinden kaynaklanmaktadır [115][116]. 2921 cm^{-1} ve 2853 cm^{-1}'deki absorpsiyon zirveleri, C–H

bağlarından kaynaklanan gerilim titreşimleridir[117]. 1699 cm^{-1} ‘de meydana gelen absorbsiyon pikinin de C=O bağından kaynaklandığı düşünülmektedir[118]. 1604 cm^{-1}, 1556 cm^{-1} ve 1403 cm^{-1}’de oluşan absorpsiyon pikleri C=C gerilmesine karşılık gelmektedir [119][120] [121]. 1377 cm^{-1}’de görülen absorbsiyon pikinin aromatik halkanın C -C bağından geldiği düşünülmektedir [122]. 1037 cm^{-1}, 1107 cm^{-1} ve 1316 cm^{-1} ‘ de oluşan tepe noktaları, aromatik aminlerde C-N'nin gerilme titreşimlerini göstermektedir [123][124][125]. 1250 cm^{-1} ve 1234 cm^{-1}’deki absorbsiyon pikleri, aromatik esterlerin C–O grubunun gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır [126][123]. 904 cm^{-1}, 859 cm^{-1}, 795 cm^{-1}, 757 cm^{-1}, 700 cm^{-1}, 676 cm^{-1} ve 620 cm^{-1}’de görülen absorpsiyon piklerinin kuşburnu çekirdeği özütünde bulunan çeşitli aromatik işlevselliklerden kaynaklandığı söylenebilir [89]. Bu sonuçlardan, spektrumda Zn-O atomları arasındaki titreşim gerilimlerinden kaynaklanan absorbsiyon pikleri dışında gözlemlenen diğer piklerin, kuşburnu çekirdeği özütünden geldiği ve ZnO NP'leri biyolojik olarak kapladığı ve stabilize edildiği açıktır.

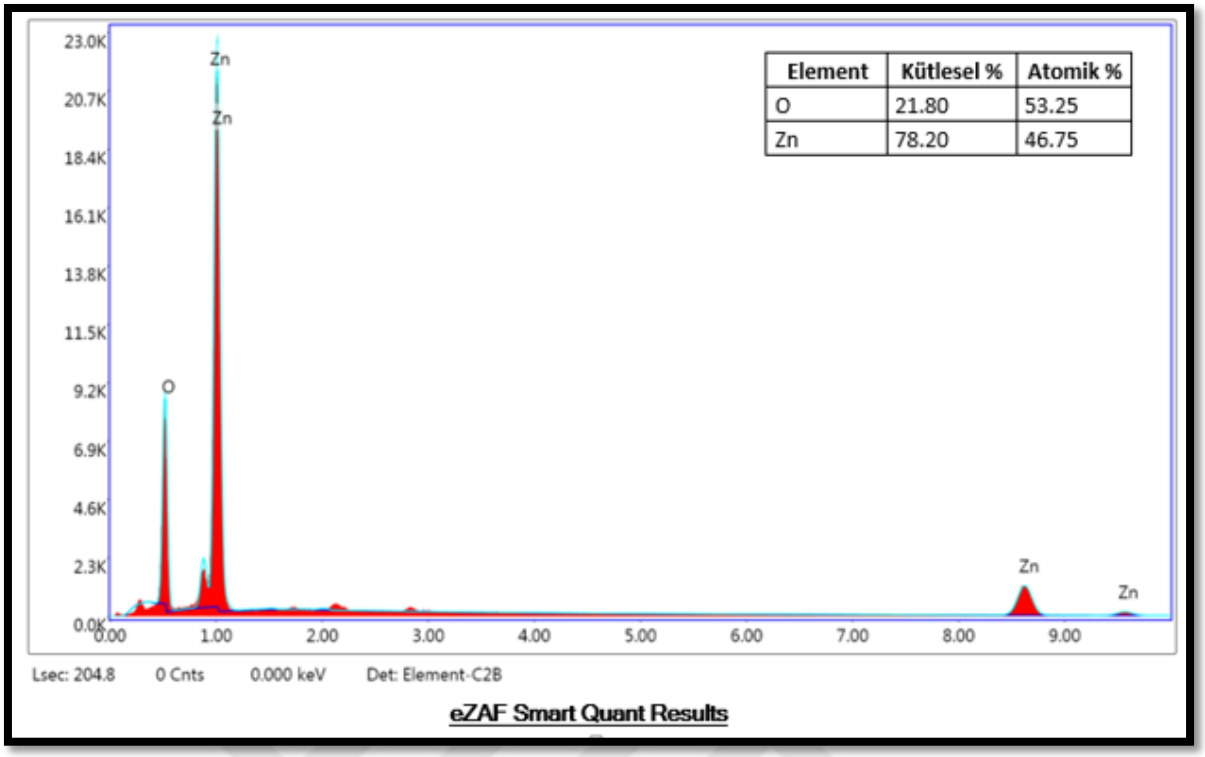
4.3.4. ZnO Nanopartiküllerin SEM-EDX Analizi

Kuşburnu çekirdeğinden yeşil sentez yöntemiyle elde edilen ZnO NP'lerin yüzey morfolojileri, Şekil 4.14'te SEM görüntüsü ile gösterilmektedir. Şekil 4.14 incelendiğinde ZnO NP'lerin küresel yapıda oldukları, sıkı paketlendikleri ve homojen olarak dağılım gösterdikleri anlaşılmaktadır.



Şekil 4.14: ZnO NP'lerin SEM görüntüsü.

Yeşil yöntemle sentezlenmiş ZnO NP'lerin kimyasal yapısı, saflığı, elementel bileşimi ve stokiyometrisini incelemek amacıyla yapılan EDX ölçümlerinin spektrumu Şekil 4.15'te gösterilmiştir. Sentezlenen ZnO NP'lerin kütlesel olarak yüzdesi Zn atomu için %78,20, O atomu için %21,80; atomik olarak yüzdesi ise Zn atomu için %46,75 ve O atomu için %53,25 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.15: ZnO NP'lerin EDX Spektrumu.

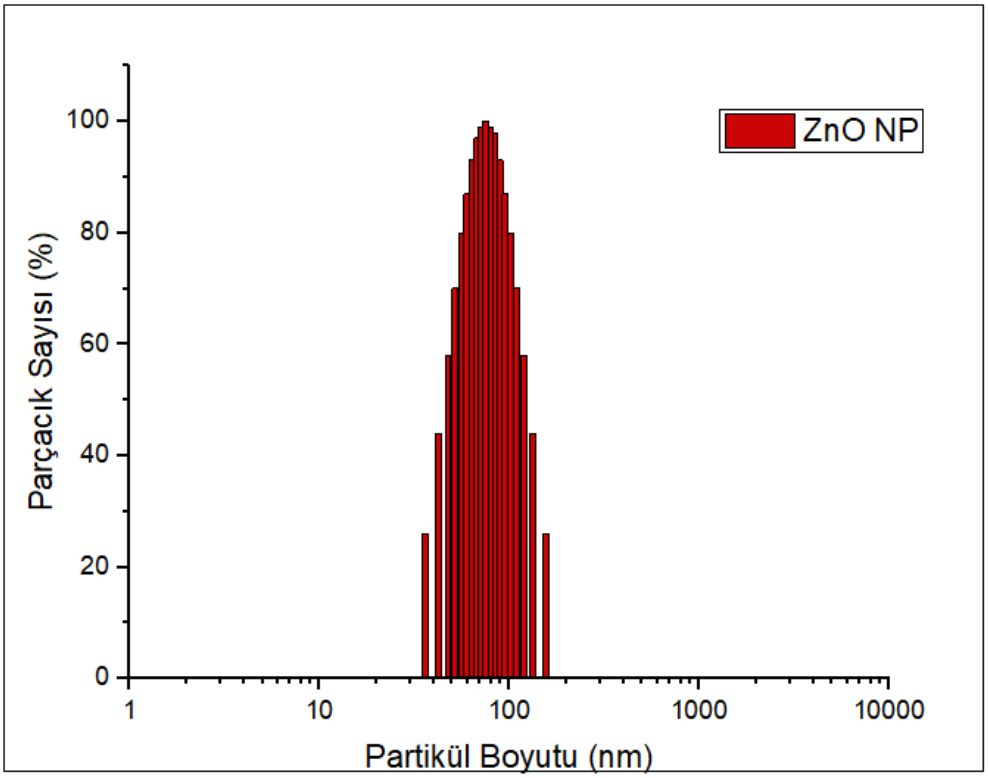
Elde edilen SEM görüntüsü literatürde yer alan farklı bilimsel çalışmalar ile kıyaslandığında benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür [76][67]. Sentezlenen ZnO NP'lerin neredeyse homojen dağılmaları ama yer yer aglomera halde bulunmaları, ZnO NP'lerinin bireysel olarak yüksek yüzey enerjisinden kaynaklanmaktadır [127]. Şekil 4.15'te gösterilen spektrumda yalnızca Zn ve O atomlarına ait sinyallerin elde edilmesi sentezlenen ZnO NP'lerin saflığı hakkında bilgi vermektedir. Zn ve O atomlarının teorik olarak 50:50 (%) olan atom yüzdesi ve sırasıyla 80:20 (%) olan kütle yüzdesi değerleri göz önünde bulundurulduğunda, ZnO NP'lerin kuşburnu çekirdeğinden yeşil sentez yöntemi kullanılarak sentezlendiği ve literatürdeki çalışmalarla uyumlu olduğu anlaşılmaktadır [128].

4.3.5. ZnO Nanopartiküllerin DLS Analizi

Kuşburnu çekirdeği özütünden optimum şartlarda sentezlenen ZnO NP'lerin, dinamik ışık saçılımı yöntemine göre boyut dağılımı, medyan çapı (nm), ortalama çapı (nm) ve çoklu dağılma indeksi (PDI) Tablo 4.9'da verilmiştir. DLS analizi sonucuna göre, nanopartikülerin boyutunun 36,2 nm ile 156,2 nm arasında değiştiği, medyan çapının 75,1 nm, ortalama çapının 82,9 nm ve PDI değerinin 0,239 olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.9: DLS analiz sonucuna göre partikül boyutu (nm), parçacık sayısı (%), medyan çapı (nm), ortalama çapı (nm) ve PDI verileri.

Partikül Boyutu (nm)	Parçacık Sayısı (%)	Medyan Çap (nm)	Ortalama Çap (nm)	PDI
36,2	26			
42,5	44			
47,4	58			
51,7	70			
55,7	80			
59,5	87			
63,3	93			
67,1	97			
71,0	99			
75,1	100	75,1	82,9	0,239
79,5	99			
84,1	97			
89,2	93			
94,9	87			
101,4	80			
109,3	70			
119,1	58			
132,9	44			
156,2	26			

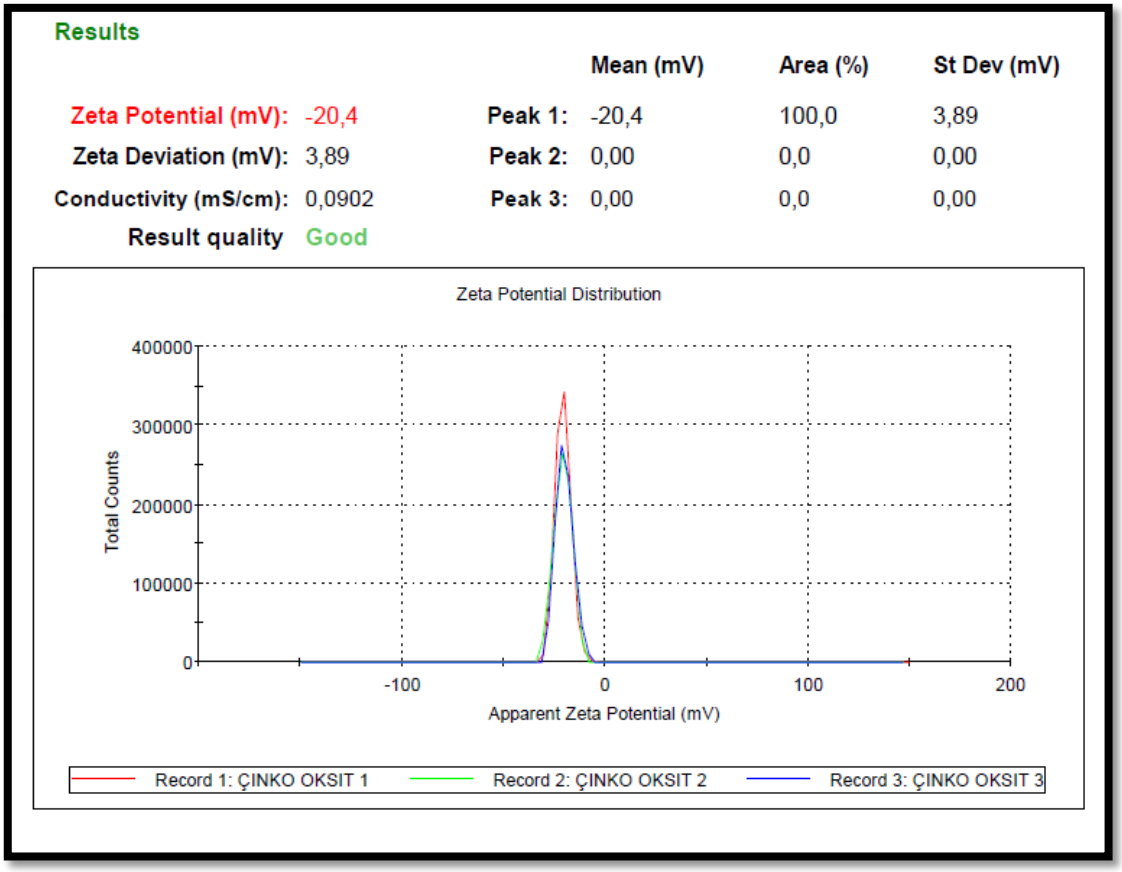


Şekil 4.16: Optimum koşullarda sentezlenen ZnO nanopartiküllerin DLS analizi sonucu.

Partikül boyutlarının dağılımının bir ölçütü olan PDI değerinin 0'a yakın değeri partiküllerin monodispersitesini, 1'e yakın olan değeri ise polidispersitesini göstermektedir [129]. Elde edilen PDI değerinin 0'a yakınlığı, yeşil sentezlenmiş ZnO nanopartiküllerin monodispers yapıda olduğunu göstermektedir. Ayriyeten ortalama çapının 100 nm altında olması, ZnO'nun nano boyutta sentezlendiğini göstermektedir.

4.3.6. ZnO Nanopartiküllerin Zeta Potansiyeli Analizi

Kuşburnu çekirdeği özütünden yeşil yöntemle sentezlenen ZnO nanopartiküllerinin kolloidal süspansiyonundan ölçülen zeta potansiyeli sonucu şekil 4.17'de gösterilmektedir. Bu sonuca göre, nanopartiküllerin zeta potansiyeli -20,4±3,89 mV olarak kaydedilmiştir.



Şekil 4.17: Optimum koşullarda sentezlenen ZnO nanopartiküllerin Zeta potansiyeli analizi sonucu.

Yüklü parçacıklar arasındaki itme derecesinin bir göstergesi olan zeta potansiyeli, partiküllerin fiziksel stabilitesinin bir göstergesidir. Partiküller arası itici kuvvetler nanopartiküllerin aglomerasyonunu engellemektedir [130]. Kuşburnu çekirdeği ekstraktında bulunan indirgeyici ajanların, sentezlenen ZnO NP'lerin negatif yük potansiyelinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Ayrıca zeta potansiyelinin negatif olması, sentezlenen nanopartiküllerin önemli elektrostatik kuvvetler içerdiğini de doğrulamaktadır [131]. Şekil 4.17'de kaydedilen bu değer sentezlenen nanopartiküllerin orta derecede kararlılıkta olduğunu göstermektedir [88].

4.4. ZNO NANOPARTİKÜLLERİN İÇERİĞİNİN SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

Kuşburnu çekirdeği özütünden yeşil yöntemle sentezlenen ZnO NP'lerin, TPM, TFC ve DPPH yöntemi ile antioksidan kapasitesi miktarı spektrofotometrik yöntemlerle incelenmiştir.

4.4.1. Nanopartiküllerin Toplam Fenolik İçerik Miktarı

ZnO NP'lerin TPM içeriği Folin Cioalteu yöntemine göre belirlenmiş ve Tablo 4.2'de ki saf suyun kalibrasyon denklemine göre gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Tablo 4.10'da görüldüğü üzere ZnO NP'lerin TPM değeri 5,17±0,002 mg-GAE/ g ZnO NP bulunmuştur.

Tablo 4.10: : ZnO NP'lerin TPM değeri*.

Tartım (g)	Çözücü Miktarı (mL)	ABS (ORT)	PPM (mg/L)	TPM (mg GAE / g ZnO NP)
0,103	10	0,047	51,67	5,17±0,002

*Veriler ortalama (üç tekrarlı) ± standart sapma verilmiştir.

Aromatik halkalarından dolayı fenolik ve flavonoidler nükleofiliktir ve metal şelatlama potansiyelleri vardır [132]. Yeşil yöntemle sentezlenmiş ZnO NP'lerin fenolik içeriğe sahip olması, nanopartiküllerin stabilize edici ve indirgeyici ajan olarak bitkiden gelen fenolik maddeler ile kaplandığını göstermektedir.

4.4.2. Nanopartiküllerin Toplam Flavonoid İçerik Miktarı

Kuşburnu çekirdeği ekstraktından yeşil sentezlenmiş ZnO NP'lerin TFM içeriği için hesaplanan değer Tablo 4.11'de gösterilmektedir. Tablo 4.2'de TFM için elde edilen saf suyun kalibrasyon denklemine göre sonuca ulaşılmıştır. ZnO NP'lerin TFM değeri 120±0,001 mg-CE/ g ZnO NP olarak elde edilmiştir.

Tablo 4.11: : ZnO NP'lerin TFC değeri*.

Tartım (g)	Çözücü Miktarı (mL)	ABS (ORT)	PPM (mg/L)	TFC (mg CE / g ZnO NP)
0,102	10	0,0125	1200	120±0,001

*Veriler ortalama (üç tekrarlı) ± standart sapma verilmiştir.

Sentezlenen ZnO NP'lerin flavonoid içeriğe sahip olması, nanopartiküllerin stabilizasyonu için kapaklayıcı ajan olarak kuşburnu çekirdeği ekstraktından gelen flavonoid maddelerin işlev gördüğü ile açıklanmaktadır.

4.4.3. Nanopartiküllerin DPPH Yöntemi ile Antioksidan Kapasitesi Miktarı

Yeşil yöntemle sentezlenmiş ZnO NP'lerin antioksidan kapasitesi miktarı DPPH yöntemine göre belirlenmiş, Tablo 4.2'de ki saf suyun kalibrasyon denklemine göre hesaplanmış ve sonuç Tablo 4.12'de gösterilmiştir. ZnO NP'lerin antioksidan kapasitesi 16,05±0,004 mg-TEAC/g ZnO NP olarak bulunmuştur. ZnO NP'lerin %54 süpürücü etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.12: ZnO NP'lerin Antioksidan Aktivitesi ve Kapasitesi*.

Tartım (g)	Çözücü miktarı (mL)	C_0	ABS (ORT)	PPM (mg/L)	Antioksidan Aktivite (% İnhibisyon)	AA-DPPH (mg TEAC/g ZnO NP)
0,101	10	0,7809	0,3655	160,45	54%	16,05±0,004

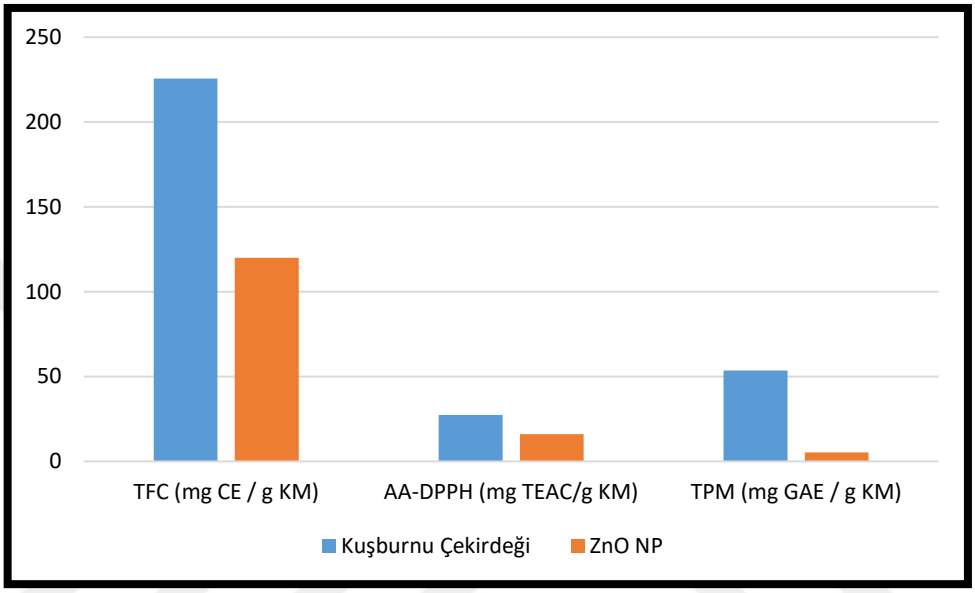
*Veriler ortalama (üç tekrarlı) ± standart sapma verilmiştir.

ZnO NP'lerin TPC ve TFC değerleri, yeşil sentezlenmiş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinin göstergesi olarak kabul edilebilir. ZnO NP'lerin antioksidan aktivitesi, kuşburnu çekirdeğinde bulunan serbest OH grupları olan flavonoidleri içeren sekonder metabolitlerin varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle, Zn^{+2}'nin bu sekonder metabolitler tarafından indirgendiği ve stabilize edildiği düşünülmektedir [133].

Literatürde çeşitli bitki ekstraktlarıyla sentezlenen ZnO NP'lerin antioksidan aktivitelerinde farklılıklar bulunmaktadır [76][134][135]. Bu durum sentezde kullanılan bitki ekstraktına ve sentez şartlarına göre değişen nanopartiküllerin, farklı boyutlara ve böylece farklı spesifik yüzeylere sahip olmasıyla ilişkilendirilebilir. Daha önceki çalışmalarda nanopartikül boyutu küçüldükçe nanopartiküllerin daha yüksek radikal süpürücü aktivite gösterdiği bildirilmiştir [134].

4.5. KUŞBURNU ÇEKİRDEĞİ EKSTRAKTI VE ZNO NP'LERİN TOPLAM FENOLİK, FLAVONOİD MADDE MİKTARI VE DPPH İLE ANTİOKSİDAN KAPASİTESİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Şekil 4.18'de kuşburnu ekstraktı ve ZnO NP'lerin TPM, TFC ve antioksidan kapasitesi içerikleri karşılaştırılmıştır. ZnO NP'lerin ekstrakta oranla daha az TPM, TFM ve antioksidan kapasite içeriğine sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 4.18:Kuşburnu Ekstraktı ve ZnO NP'lerin TFC, AA-DPPH ve TPM karşılaştırması.

Şekil 4.18 incelendiğinde toplam fenolik, flavonoid ve antioksidan içeriğinin ZnO NP'lerde azaldığı görülmektedir. Sentez mekanizması göz önüne alındığında, kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeriğinde bulunan fenolik ve flavonoid maddeler, metalik Zn oluşturmak için hidroksil gruplarından Zn^{+2} iyonuna elektron vermektedirler. Metalik Zn, oksijenle reaksiyona girerek ZnO NP'leri oluşturduğu bilinmektedir. Ekstrakt içeriğinde bulunan bu moleküller sentezlenen ZnO NP'leri stabilize edici ajan görevi görmüşlerdir [136]. Bu durum bitkideki bu sekonder metabolitlerin ZnO NP'lerin sentezinde kullanıldığını göstermektedir. Yukarıdaki sonuçlardan ayrıca, nanopartiküllerde ölçülen daha düşük fenolik ve flavonoid madde miktarının, bitki ekstraktı içerisinde bulunan fenolikler ve flavonoidler dışındaki bileşiklerin de nanopartikül oluşumunda yer almış olabileceği düşünülmektedir [132].

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Son yıllarda bitki özütleri içerisindeki sekonder metabolitlerin, metal oksit nanopartikül sentezinde indirgeyici, stabilize edici ve kapaklayıcı ajan olarak kullanılması, nanopartikül sentezinde yeşil sentez kavramına ilgiyi arttırmıştır. Bu tez çalışması kapsamında, kuşburnu çekirdeği özütüyle süre tasarrufu açısından da mikrodalga ısıtma sistemi kullanılarak ZnO NP'ler sentezlenmiş ve sentezlenen ZnO NP'ler UV-Vis, XRD, FTIR, SEM-EDX, DLS ve Zeta Potansiyeli analizleriyle karakterize edilmiştir. Sentezlenen ZnO NP'lerin spektrofotometrik yöntemlerle içeriği incelenmiştir.

- Bu çalışmada, ilk aşamada söz konusu atık değerlendirilerek elde edilen ekstraktın, verimini artırıp ürün kalitesini yükseltmek amaçlanmıştır. Bunun için ekstraksiyon süresini kısaltıp, çözücü tüketimini azaltarak, çevre kirliliğinin de önüne geçebilmek için ileri ekstraksiyon tekniği olarak kabul edilen OÇE kullanılmıştır. Ekstraksiyon çözücüsü olarak etanol ve su kullanılarak çevreci bir yaklaşım sergilenmiştir.
- Taze meyveden ayrılan kuşburnu çekirdeği, kuru meyveden ayrılan kuşburnu çekirdeği ve meyve ısıl işlem gördükten sonra ayrılan kuşburnu çekirdeğinden elde edilen ekstraktlar, TPM içeriği açısından karşılaştırılmış ve en yüksek değer (34,06±0,016 mg GAE/ g kuşburnu çekirdeği) meyve ısıl işlem gördükten sonra ayrılan kuşburnu çekirdeğinden elde edilmiştir. Ardından çözücü belirleme aşamasına geçilmiş ve %60 EtOH sulu çözeltisi ile ekstrakte edilen çekirdeklerin daha yüksek TPM içeriğine (61,25±0,067 mg GAE/ g kuşburnu çekirdeği) sahip olduğu kaydedilmiştir. Nanopartikül sentezinde kullanılacak olan kuşburnu çekirdeğinin türü, ekstraksiyon çözücüsü ve konsantrasyonu belirlendikten sonra, elde edilen ekstraktın TPM (53,62±0,012 mg GAE/ g kuşburnu çekirdeği), TFC (225,70±0,002 mg-CE/ g kuşburnu çekirdeği) ve DPPH ile antioksidan kapasitesi (27,23±0,002 mg-TEAC/ g kuşburnu çekirdeği) belirlenmiştir. Ekstraktın %97 antioksidan aktiviteye sahip olduğu kaydedilmiştir. Kuşburnu ekstraktının literatüre oranla daha yüksek fenolik içeriği kullanılan gelişmiş ekstraksiyon yöntemiyle ilişkilendirilmiştir.

- Nanopartikül sentez şartlarının optimizasyonu, UV-Vis spektrofotometrede 300-500 nm dalga boyu aralığında absorbans ölçümleri alınarak yapılmıştır. ZnO NP sentezi için başlangıç tuzu konsantrasyonu (0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1 M), ekstrakt miktarı (5, 10, 15, 20, 25 mL), pH (6, 8, 10, 12), mikrodalga gücü (90, 180, 360, 450 W) ve mikrodalga süresi (1, 3, 5, 7 dk) parametreleri optimize edilmiştir. Optimum şartlar 50 mL 0,05 M $Zn(NO_3)_2$.6H2O konsantrasyonu, 25 ml ekstrakt miktarı, pH 12 değeri, 360 Watt mikroldaga gücü, 7 dakika mikrodalga süresi olarak belirlenmiştir.

- Optimum şartlarda sentezlenen ZnO NP'lerin UV-Vis analizi sonucu, karakteristik dalga boyu aralığında (361 nm) maksimum absorbans değeri kaydedilmiştir.

- ZnO NP'lerin XRD analizine ait karakteristik piklerin JCPDS Kart No: 89-0510 kart ile uyumlu olduğu ve bu sonuca göre ZnO NP'lerin altıgen Wurtzite formunda olduğu anlaşılmaktadır. Safsızlık içeren karakteristik bir tepe noktasının tespit edilmemesi, yüksek saflıkta ZnO NP'lerin sentezlendiğini göstermektedir. Debye-Scherrer eşitliğine göre nanopartiküllerin ortalama 24,4 nm kristal boyutuna sahip olduğu hesaplanmıştır.

- Sentezlenen ZnO NP'lerin FTIR spektrumu sonucuna göre 537 cm^{-1}, 466 cm^{-1} ve 421 cm^{-1}'de görülen absorbsiyon piklerinin Zn-O atomları arasındaki titreşim gerilimlerinden kaynaklandığı anlaşılmaktadır. Bu pikler dışında kalan piklerin ise kuşburnu çekirdeği ekstraktından geldiği ve nanopartiküllerin sentezinde ekstrakttan gelen biyolojik ajanların kullanıldığı açıktır.
- ZnO NP'lerin SEM görüntüsü incelendiğinde, nanopartiküllerin küresel yapıda oldukları, homojen olarak dağıldıkları ve nano boyutta oldukları gözlenmektedir. EDX ölçümlerinin spektrumuna bakıldığında ZnO NP'lerin kütlesel (Zn: %78,20,O: %21,80) ve atomik (Zn: 46,75, O: %53,25) yüzdeleri ZnO'nun teorik oranıyla uyumlu bulunmuştur.
- ZnO NP'lerin DLS analizi sonucuna göre, nanopartikülerin ortalama çapının 82,9 nm ve PDI değerinin 0,239 olduğu kaydedilmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin monodispers yapıya yakın ve nano boyutta sentezlendiği açıktır.
- Sentezlenen ZnO NP'lerin 20,4±3,89 mV olan zeta potansiyelleriyle orta derece stabiliteye sahip oldukları belirlenmiştir.
- ZnO NP'lerin içeriği spektrofotometrik olarak incelenmiştir. ZnO NP'lerin TPM (5,17±0,002 mg GAE/ g ZnO NP), TFC (120±0,001 mg CE/ g ZnO NP), DPPH ile

antioksidan kapasite (16,05±0,004 mg TEAC/ g ZnO NP) değerleri nanopartiküllerin ekstrakttan gelen biyolojik olarak aktif maddelerle çevrelendiğini göstermektedir. Nanopartiküllerin %54 süpürücü etkiyle antioksidan aktiviteye sahip olduğu hesaplanmıştır.

- Bu çalışma ile, değerlendirilmediği taktirde atık olarak kalacak olan kuşburnu çekirdeğinden, gelişmiş ve çevre dostu ekstraksiyon yöntemi OÇE kullanılarak, fenolik ve flavonoid içerik bakımından zengin özüt elde edilmiştir. ZnO NP'lerin sentezinde uzun süren reaksiyonlar yerine mikrodalga ısıtma sistemi kullanılarak zamandan tasarruf edilmiştir. Elde edilen karakterizasyon sonuçları ışığında, nanopartiküller kritik boyut (<100 nm) altında ve yüksek saflıkta başarıyla elde edilmiştir. Ekstrakttan gelen sekonder metabolitlerin sentez sırasında indirgeyici, stabilize edici ve kapaklayıcı ajan olarak kullanıldığı da anlaşılmıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin antioksidan özelliğe sahip olmasında, partikül boyutunun 100 nm altında olmasının etkisinin olduğu ve bunda fenolik ve flavonoid içerik bakımından zengin ekstraktın kullanılmasının büyük etkisinin olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

[1]. Sanchez, F., and Sobolev, K., 2010, Nanotechnology in concrete - A review, *Construction and building materials*, 24 (11), 2060–2071.

[2]. Russell, R., Cresanti, R., Boehm, J., Carim, A., Teague, C., Merzbacher, C., Holdridge, G. , 2007, The National Nanotechnology Initiative: Research and Development Leading to a Revolution in Technology and Industry Supplement to the President's FY 2008 Budget, *NATIONAL SCİENCE AND TECHNOLOGY COUNCİL WASHİNGTON DC NANOSCALE SCALE ENGİNEERİNG AND TECH SUBCOMMİTTEE*.

[3]. Kolahalam, L. A., Kasi Viswanath, I. V., Diwakar, B. S., Govindh, B., Reddy, V., and Murthy, Y. L. N., 2019, Review on nanomaterials: Synthesis and applications, *Materials today: proceedings*, 18, 2182–2190.

[4]. Thakkar, K. N., Mhatre, S. S., and Parikh, R. Y. , 2010, Biological synthesis of metallic nanoparticles, *Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine*, 6, 257–262.

[5]. Marslin, G., Siram, K., Maqbool, Q., Selvakesavan, R. K., Kruszka, D., Kachlicki, P., and Franklin, G. , 2018, Secondary metabolites in the green synthesis of metallic nanoparticles, *Materials*, 11 (6), 940.

[6]. Hussain, I., Singh, N. B., Singh, A., Singh, H., and Singh, S. C. , 2016, Green synthesis of nanoparticles and its potential application, *Biotechnology letters*, 38, 545–560.

[7]. Günay, K., Leblebici, Z., and Koca, F. D. ,2019, Çinko Nanopartiküllerinin (ZnO NP) Biyosentezi, Karakterizasyonu ve Anti- Bakteriyel Etkisinin İncelenmesi, *Nevşehir bilim ve teknoloji dergisi*, 10 (1), 56–66.

[8]. Ozlem Saygi, K., and Usta, C. , 2021, Rosa canina waste seed extract-mediated synthesis of silver nanoparticles and the evaluation of its antimutagenic action in Salmonella typhimurium, *Materials chemistry and physics*, 266, 124537.

[9]. Barros, L., Carvalho, A. M., Morais, J. S., and Ferreira, I. C. F. R. , 2010, Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties, *Food chemistry*, 120 (1), 247–254.

[10]. Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., and Rizzolio, F. , 2019, The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine, *Molecules*, 25(1), 112.

[11]. Bloemen, M., 2015,. *Immunomagnetic separation of bacteria by iron oxide nanoparticles*, Thesis (Phd), KU Leuven.

[12]. Mansoori, G. A., and Soelaiman, T. A. F. , 2005, Nanotechnology - An introduction for the standards community, *Journal of astm international*, 2(6).

[13]. Saleh, T. A. , 2020, Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. *Environmental technology and innovation*, 20, 101067.

[14]. Khan, S., Mansoor, S., Rafi, Z., Kumari, B., Shoaib, A., Saeed, M., Alshehri S., Ghoneim M., Rahamathulla M., Hani U., Shakeel, F., 2022, A review on nanotechnology: Properties, applications, and mechanistic insights of cellular uptake mechanisms, *Journal of molecular liquids*, 348, 118008.

[15]. Luther, W. , 2006, *International Strategy and Foresight Report on Nanoscience and Nanotechnology*.

[16]. Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A., and Bukhari, A. , 2020, Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles, *Green chemistry letters and reviews*, 13 (3), 223–245.

[17]. Ealias, A. M., and Saravanakumar, M. P. , 2017, A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application, *IOP conference series: materials science and engineering*, 263 (3), 032019.

[18]. Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H., and Kalaskar, M. G. , 2019, Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications, *Journal of drug delivery science and technology*, 53, 101174.

[19]. Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., … Mohamad, D. , 2015, Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-micro letters*, 7 (3), 219–242.

[20]. Agarwal, H., Venkat Kumar, S., and Rajeshkumar, S. ,2017, A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles – An eco-friendly approach, *Resource-efficient technologies*, 3 (4), 406–413.

[21]. Escudero, R., and Escamilla, R. , 2011, Ferromagnetic behavior of high-purity ZnO nanoparticles, *Solid state communications*, 151 (2), 97–101.

[22]. Martínez-Carmona, M., Gun'Ko, Y., and Vallet-Regí, M. , 2018, Zno nanostructures for drug delivery and theranostic applications, *Nanomaterials*, 8 (4), 1–27.

[23]. Patra, J. K., and Baek, K. H. ,2014, Green Nanobiotechnology: Factors Affecting Synthesis and Characterization Techniques, *Journal of nanomaterials*.

[24]. Roy, A., Bulut, O., Some, S., Mandal, A. K., and Yilmaz, M. D. ,2019, Green synthesis of silver nanoparticles: Biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity, *RSC advances*, 9 (5), 2673–2702.

[25]. Ying, S., Guan, Z., Ofoegbu, P. C., Clubb, P., Rico, C., He, F., and Hong, J. , 2022, Green synthesis of nanoparticles: Current developments and limitations, *Environmental technology and innovation*, 26, 102336.

[26]. Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S. K., and Poinern, G. E. J. , 2015, Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities, *Materials*, 8 (11), 7278–7308.

[27]. Singh, J., Dutta, T., Kim, K. H., Rawat, M., Samddar, P., and Kumar, P. , 2018, "Green" synthesis of metals and their oxide nanoparticles: Applications for environmental remediation, *Journal of nanobiotechnology*, 16 (1), 1–24.

[28]. Hano, C., and Abbasi, B. H. , 2022, Plant-based green synthesis of nanoparticles: Production, characterization and applications, *Biomolecules*, 12 (1), 31.

[29]. Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliansky, M. E., and Kalinina, N. O. , 2014, "Green" Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants, *Handbook of families and health: interdisciplinary perspectives*, 6 (1(20)), 35–44.

[30]. Vijayaraghavan, K., and Ashokkumar, T. , 2017, Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications, *Journal of environmental chemical engineering*, 5 (5), 4866–4883.

[31]. Haverkamp, R. G., and Marshall, A. T. , 2009, The mechanism of metal nanoparticle formation in plants: Limits on accumulation, *Journal of nanoparticle research*, 11 (6), 1453–1463.

[32]. Vuolo, M. M., Lima, V. S., and Maróstica Junior, M. R. ,2018, *Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power*, Bioactive compounds: health benefits and potential applications, In: Campos M. R. S. (Ed.), Chapter 2, Woodhead Publishing, Brazil, 33-50.

[33]. Harborne, J. B. , 1973, *Phenolic Compounds*, Phytochemical Methods, Chapter 2, Springer, Dordrecht, ISBN: 978-0-412-23050-9, 33-88.

[34]. Alara, O. R., Abdurahman, N. H., and Ukaegbu, C. I. ,2021, Extraction of phenolic compounds: A review, *Current research in food science*, 4, 200–214.

[35]. Stalikas, C. D. ,2007, Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids., *Journal of separation science*, 30 (18), 3268–3295.

[36]. Nishiumi, S., Miyamoto, S., Kawabata, K., Ohnishi, K., Mukai, R., Murakami, A., … Terao, J. ,2011, Dietary flavonoids as cancer-preventive and therapeutic biofactors, *Frontiers in bioscience - scholar*, 3 (4), 1332–1362.

[37]. Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., and Silva, A. M. S. , 2021, Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity, *Molecules*, 26 (17), 5377.

[38]. Fernandez-Panchon, M. S., Villano, D., Troncoso, A. M., and Garcia-Parrilla, M. C. , 2008, Antioxidant activity of phenolic compounds: From in vitro results to in vivo evidence, *Critical reviews in food science and nutrition*, 48 (7), 649–671.

[39]. Francenia Santos-Sánchez, N., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., and Hernández-Carlos, B., 2019, *Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism*, Antioxidants, In: Shalaby E. (Ed.), IntechOpen, London, 1-29.

[40]. Akash, M. S. H., and Rehman, K. , 2020, *Essentials of pharmaceutical analysis*. *Essentials of pharmaceutical analysis*, Springer, Singapore, ISBN: 978-981-15-1546-0.

[41]. Wentworth, W. E. , 1966, Dependence of the Beer-Lambert absorption law on monochromatic radiation: An experiment of spectrophotometry, *Journal of chemical education*, 43 (5), 262.

[42]. Attard, E. , 2013, A rapid microtitre plate Folin-Ciocalteu method for the assessment of polyphenols, *Central european journal of biology*, 8 (1), 48–53.

[43]. Hudz, N., Yezerska, O., Shanaida, M., Sedláčková, V. H., and Wieczorek, P. P. , 2019, Application of the Folin-Ciocalteu method to the evaluation of Salvia sclarea extracts, *Pharmacia*, 66 (4), 209–215.

[44]. Martins, G. R., Monteiro, A. F., do Amaral, F. R. L., and da Silva, A. S. , 2021, A validated Folin-Ciocalteu method for total phenolics quantification of condensed tannin-rich açaí (Euterpe oleracea Mart.) seeds extract., *Journal of food science and technology*, 58 (12), 4693–4702.

[45]. Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., and Hijji, Y. M. , 2021, Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *Lwt*, 150, 111932.

[46]. Phuyal, N., Jha, P. K., Raturi, P. P., and Rajbhandary, S. , 2020, Total Phenolic, Flavonoid Contents, and Antioxidant Activities of Fruit, Seed, and Bark Extracts of Zanthoxylum armatum DC, *The scientific world journal*, 2020.

[47]. Kandi, S., and Charles, A. L. , 2019, Statistical comparative study between the conventional DPPH spectrophotometric and dropping DPPH analytical method without spectrophotometer: Evaluation for the advancement of antioxidant activity analysis, *Food chemistry*, 287, 338–345.

[48]. Milardović, S., Iveković, D., and Grabarić, B. S. , 2006, A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical, *Bioelectrochemistry*, 68 (2), 175–180.

[49]. Kedare, S. B., and Singh, R. P. , 2011, Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay, *Journal of food science and technology*, 48 (4), 412–422.

[50]. Demir, F., and Özcan, M. ,2001, Chemical and technological properties of rose (Rosa canina L.) fruits grown wild in Turkey, *Journal of food engineering*, 47 (4), 333–336.

[51]. Ilyasoğlu, H. ,2014, Characterization of rosehip (Rosa canina L.) seed and seed oil, *International journal of food properties*, 17 (7), 1591–1598.

[52]. Pardo-de-Santayana, M., and Macía, M. J. , 2015, Biodiversity: The benefits of traditional knowledge., *Nature*, 518 (7540), 487–488.

[53]. Winther, K., Campbell-Tofte, J., and Vinther Hansen, A. S. , 2016, Bioactive ingredients of rose hips (Rosa canina L) with special reference to antioxidative and anti-inflammatory properties: in vitro studies, *Botanics: targets and therapy*, 6, 11–23.

[54]. Milić, S. M., Kostić, M. D., Milić, P. S., Vučić, V. M., Arsić, A., Veljković, V. B., and Stamenković, O. S. , 2020, Extraction of Oil from Rosehip Seed: Kinetics, Thermodynamics, and Optimization, *Chemical engineering and technology*, 43 (12), 2373–2381.

[55]. Turan, S., Atalay, D., Solak, R., Özoğul, M., and Demirtaş, M. , 2021, ULTRASONİK DESTEKLİ EKSTRAKSİYON PARAMETRELERİNİN KUŞBURNU (ROSA CANINA L.) MEYVESİNİN TOPLAM FENOLİK VE KAROTENOİD MİKTARLARI İLE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ, *Gıda*, 46 (3), 726–738.

[56]. Cardoso-Avila, P. E., Patakfalvi, R., Rodríguez-Pedroza, C., Aparicio-Fernández, X., Loza-Cornejo, S., Villa-Cruz, V., and Martínez-Cano, E. , 2021, One-pot green synthesis of gold and silver nanoparticles using: Rosa canina L. extract, *RSC advances*, 11 (24), 14624–14631.

[57]. Ahmed, S., Annu, Chaudhry, S. A., and Ikram, S. , 2017, A review on biogenic synthesis of ZnO nanoparticles using plant extracts and microbes: A prospect towards green chemistry, *Journal of photochemistry and photobiology b: biology*, 166, 272–284.

[58]. Dobrucka, R., and Długaszewska, J. ,2016,. Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using Trifolium pratense flower extract, *Saudi journal of biological sciences*, 23 (4), 517–523.

[59]. Ali, K., Dwivedi, S., Azam, A., Saquib, Q., Al-Said, M. S., Alkhedhairy, A. A., and Musarrat, J. , 2016 ,Aloe vera extract functionalized zinc oxide nanoparticles as nanoantibiotics against multi-drug resistant clinical bacterial isolates, *Journal of colloid and interface science*, 472, 145–156.

[60]. Karnan, T., and Selvakumar, S. A. S. , 2016, Biosynthesis of ZnO nanoparticles using rambutan (Nephelium lappaceumL.) peel extract and their photocatalytic activity on methyl orange dye, *Journal of molecular structure*, 1125, 358–365.

[61]. Elumalai, K., and Velmurugan, S. , 2015, Green synthesis, characterization and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles from the leaf extract of Azadirachta indica (L.), *Applied surface science*, 345, 329–336.

[62]. Banumathi, B., Malaikozhundan, B., and Vaseeharan, B. , 2016, Invitro acaricidal activity of ethnoveterinary plants and green synthesis of zinc oxide nanoparticles against Rhipicephalus (Boophilus) microplus, *Veterinary parasitology*, 216, 93–100.

[63]. Sharma, S. C. , 2016, ZnO nano-flowers from Carica papaya milk: Degradation of Alizarin Red-S dye and antibacterial activity against Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus, *Optik*, 127 (16), 6498–6512.

[64]. Gunalan, S., Sivaraj, R., and Rajendran, V. , 2012, Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens, *Progress in natural science: materials international*, 22 (6), 693–

700.

[65]. Nagajyothi, P. C., Cha, S. J., Yang, I. J., Sreekanth, T. V. M., Kim, K. J., and Shin, H. M. ,2015, Antioxidant and anti-inflammatory activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using Polygala tenuifolia root extract, *Journal of photochemistry and photobiology b: biology*, 146, 10–17.

[66]. Ambika, S., and Sundrarajan, M. , 2015, Antibacterial behaviour of Vitex negundo extract assisted ZnO nanoparticles against pathogenic bacteria, *Journal of photochemistry and photobiology b: biology*, 146, 52–57.

[67]. Azizi, S., Mohamad, R., Bahadoran, A., Bayat, S., Rahim, R. A., Ariff, A., and Saad, W. Z. , 2016, Effect of annealing temperature on antimicrobial and structural properties of bio-synthesized zinc oxide nanoparticles using flower extract of Anchusa italica, *Journal of photochemistry and photobiology b: biology*, 161, 441–449.

[68]. Sharma, D., Sabela, M. I., Kanchi, S., Mdluli, P. S., Singh, G., Stenström, T. A., and Bisetty, K. ,2016, Biosynthesis of ZnO nanoparticles using Jacaranda mimosifolia flowers extract: Synergistic antibacterial activity and molecular simulated facet specific adsorption studies, *Journal of photochemistry and photobiology b: biology*, 162, 199–207.

[69]. Fowsiya, J., Madhumitha, G., Al-Dhabi, N. A., and Arasu, M. V. , 2016, Photocatalytic degradation of Congo red using Carissa edulis extract capped zinc oxide nanoparticles, *Journal of photochemistry and photobiology b: biology*, *162*, 395–401.

[70]. Vijayakumar, S., Vinoj, G., Malaikozhundan, B., Shanthi, S., and Vaseeharan, B. ,2015, Plectranthus amboinicus leaf extract mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles and its control of methicillin resistant Staphylococcus aureus biofilm and blood sucking mosquito larvae, *Spectrochimica acta - part a: molecular and biomolecular spectroscopy*, 137, 886–891.

[71]. Ramesh, M., Anbuvannan, M., and Viruthagiri, G. ,2015, Green synthesis of ZnO nanoparticles using Solanum nigrum leaf extract and their antibacterial activity, *Spectrochimica acta - part a: molecular and biomolecular spectroscopy*, 136, 864–870.

[72]. Suresh, D., Shobharani, R. M., Nethravathi, P. C., Pavan Kumar, M. A., Nagabhushana, H., and Sharma, S. C. , 2015, Artocarpus gomezianus aided green synthesis of ZnO nanoparticles: Luminescence, photocatalytic and antioxidant properties, *Spectrochimica acta part a: molecular and biomolecular spectroscopy*, 141, 128–134.

[73]. Anbuvannan, M., Ramesh, M., Viruthagiri, G., Shanmugam, N., and Kannadasan, N. ,2015, Synthesis, characterization and photocatalytic activity of ZnO nanoparticles prepared by biological method, *Spectrochimica acta -part a: molecular and biomolecular spectroscopy*, 143, 304–308.

[74]. Hassan, S. S. M., Abdel-Shafy, H. I., and Mansour, M. S. M. ,2019, Removal of pharmaceutical compounds from urine via chemical coagulation by green synthesized ZnO-nanoparticles followed by microfiltration for safe reuse, *Arabian journal of chemistry*, 12 (8), 4074–4083.

[75]. Fatimah, I., Pradita, R. Y., and Nurfalinda, A. , 2016, Plant Extract Mediated of ZnO Nanoparticles by Using Ethanol Extract of Mimosa Pudica Leaves and Coffee Powder, *Procedia engineering*, 148, 43–48.

[76]. Jafarirad, S., Mehrabi, M., Divband, B., and Kosari-Nasab, M. ,2016, Biofabrication of zinc oxide nanoparticles using fruit extract of Rosa canina and their toxic potential against bacteria: A mechanistic approach., *Materials science and engineering c*, 59, 296–302.

[77]. Kombaiah, K., Vijaya, J. J., Kennedy, L. J., and Bououdina, M. ,2016, Studies on the microwave assisted and conventional combustion synthesis of Hibiscus rosa-sinensis plant extract based ZnFe2O4 nanoparticles and their optical and magnetic properties, *Ceramics international*, 42(2),

2741–2749.

[78]. Qu, J., Yuan, X., Wang, X., and Shao, P. ,2011, Zinc accumulation and synthesis of ZnO nanoparticles using Physalis alkekengi L, *Environmental pollution*, 159 (7), 1783–1788.

[79]. Rajiv, P., Rajeshwari, S., and Venckatesh, R. , 2013, Bio-Fabrication of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of Parthenium hysterophorus L. and its size-dependent antifungal activity against plant fungal pathogens, *Spectrochimica acta part a: molecular and biomolecular spectroscopy*, 112, 384–387.

[80]. Sri Sindhura, K., Prasad, T. N. V. K. V., Panner Selvam, P., and Hussain, O. M. , 2014, Synthesis, characterization and evaluation of effect of phytogenic zinc nanoparticles on soil exo-enzymes, *Applied nanoscience*, 4 (7), 819–827.

[81]. Sundrarajan, M., Ambika, S., and Bharathi, K. ,2015, Plant-extract mediated synthesis of ZnO nanoparticles using Pongamia pinnata and their activity against pathogenic bacteria, *Advanced powder technology*, 26 (5), 1294–1299.

[82]. Suresh, D., Nethravathi, P. C., Udayabhanu, Rajanaika, H., Nagabhushana, H., and Sharma, S. C. , 2015, Green synthesis of multifunctional zinc oxide (ZnO) nanoparticles using Cassia fistula plant extract and their photodegradative, antioxidant and antibacterial activities, *Materials science in semiconductor processing*, 31, 446–454.

[83]. Santana, C. M., Ferrera, Z. S., Padrón, M. E. T., and Rodríguez, J. J. S. , 2009, Methodologies for the extraction of phenolic compounds from environmental samples: New approaches, *Molecules*, 14 (1), 298–320.

[84]. Şahin, S., Kurtulbaş, E., Pekel, A. G., Toprakçı, İ., and Bilgin, M. , 2021, Enhanced extraction of high added-value products from Hibiscus sabdariffa using automatic solvent extractor: Kinetics and modeling, *Sustainable chemistry and pharmacy*, 19, 100356.

[85]. Kurtulbaş Şahin, E., Bilgin, M., and Şahin, S. , 2020, Automatic solvent extraction of sour cherry peels and storage stability of the products, *Biomass conversion and biorefinery*, 1–11.

[86]. SER 158 Series Automatic Solvent Extractor, 2022, 14 Nisan 2022 tarihinde https://www.velp.com/en-us/ser-158-series-automatic-solvent-extractor.aspx adresinden erişildi.

[87]. Albarri, R., and Şahin, S. , 2022, A green method for the extraction of Moringa oleifera leaves: evaluation of several in vitro assays for bioactive properties, *Biomass conversion and biorefinery*, 1–9.

[88]. Titus, D., James Jebaseelan Samuel, E., and Roopan, S. M. , 2019, N*anoparticle characterization techniques*, Green synthesis, characterization and applications of nanoparticles, In: Shukla. A. K. & Iravani S. (Eds.), Chapter 12, Elsevier, India, 303–319

[89]. Ganesh, M., Lee, S. G., Jayaprakash, J., Mohankumar, M., and Jang, H. T. , 2019, Hydnocarpus alpina Wt extract mediated green synthesis of ZnO nanoparticle and screening of its anti-microbial, free radical scavenging, and photocatalytic activity, *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 19, 101129.

[90]. Gumustas, M., Sengel-Turk, C. T., Gumustas, A., Ozkan, S. A., and Uslu, B. , 2017, *Effect of Polymer-Based Nanoparticles on the Assay of Antimicrobial Drug Delivery Systems*, Multifunctional systems for combined delivery, biosensing and diagnostics,In: Grumezescu A.M. (Ed), Chapter 5, Elsevier, ISBN:9780323527255, 67-108.

[91]. Abd Mutalib, M., Rahman, M. A., Othman, M. H. D., Ismail, A. F., and Jaafar, J. , 2017, *Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy-Dispersive X-Ray (EDX) Spectroscopy*, Membrane characterization, In: Hilal N., Ismail A. F., Matsuura T., & Radcliffe D. O. (Eds.),

Chapter 9, Elsevier, Malaysia, ISBN: 9780444637765, 161-179.

[92]. Babick, F. , 2020, *Dynamic light scattering (DLS)*, In Characterization of nanoparticles, In: Hodoroaba V., Unger W. E. S, Shard A. G. (Eds.) , Chapter 3.2.1, Elsevier, ISBN: 9780128141830, 137-172.

[93]. Cano-Sarmiento, C., Téllez-Medina, D. I., Viveros-Contreras, R., Cornejo-Mazón, M., Figueroa-Hernández, C. Y., García-Armenta, E., … Gutiérrez-López, G. F. , 2018, Zeta Potential of Food Matrices, *Food engineering reviews*, 10 (3), 113–138.

[94]. Pate, K., and Safier, P. , 2016, Chemical metrology methods for CMP quality, *Advances in chemical mechanical planarization (cmp)*, 1–325.

[95]. Albarri, R., and Şahin, S. , 2022, Monitoring the recovery of bioactive molecules from Moringa oleifera leaves: microwave treatment vs ultrasound treatment, *Biomass conversion and biorefinery*, 1–13.

[96]. Vidinamo, F., Fawzia, S., and Karim, M. A. , 2022, Investigation of the Effect of Drying Conditions on Phytochemical Content and Antioxidant Activity in Pineapple (Ananas comosus), *Food and bioprocess technology*, 15 (1), 72–81.

[97]. Lohvina, H., Sándor, M., and Wink, M. , 2021, Effect of ethanol solvents on total phenolic content and antioxidant properties of seed extracts of fenugreek (Trigonella foenum-graecum l.) varieties and determination of phenolic composition by hplc-esi-ms, *Diversity*, 14 (1), 7.

[98]. Spigno, G., Tramelli, L., and De Faveri, D. M. , 2007, Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics, *Journal of food engineering*, 81(1), 200–208.

[99]. Doulabi, M., Golmakani, M. T., and Ansari, S. , 2020, Evaluation and optimization of microwave-assisted extraction of bioactive compounds from eggplant peel by-product, *Journal of food processing and preservation*, 44 (11), e14853.

[100]. Demir, N., Yildiz, O., Alpaslan, M., and Hayaloglu, A. A. , 2014, Evaluation of volatiles, phenolic compounds and antioxidant activities of rose hip (Rosa L.) fruits in Turkey, *Lwt-food science and technology*, 57 (1), 126–133.

[101]. Paunović, D., Kalušević, A., Petrović, T., Urošević, T., Djinović, D., Nedović, V., and Popović-Djordjević, J. ,2019, Assessment of chemical and antioxidant properties of fresh and dried rosehip (Rosa canina L.), *Notulae botanicae horti agrobotanici cluj-napoca*, 47 (1), 108–113.

[102]. GÜNEY, M. , 2020, Determination of fatty acid profile and antioxidant activity of Rosehip seeds from Turkey. *International journal of agriculture, environment and food sciences*, 4 (1), 114–118.

[103]. Şahin, S., Kurtulbaş, E., Toprakçı, İ., and Pekel, A. G. , 2021, A clean and green technology for oleuropein rich extract from Olea europaea by-product, *Sustainable chemistry and pharmacy*, 22, 100493.

[104]. Gupta, M., Tomar, R. S., Kaushik, S., Mishra, R. K., and Sharma, D. , 2018, Effective antimicrobial activity of green ZnO nano particles of Catharanthus roseus, *Frontiers in microbiology*, 9, 2030.

[105]. Abdullah, F. H., Abu Bakar, N. H. H., and Abu Bakar, M. , 2020, Low temperature biosynthesis of crystalline zinc oxide nanoparticles from Musa acuminata peel extract for visible-light degradation of methylene blue, *Optik*, 206, 164279.

[106]. Shabaani, M., Rahaiee, S., Zare, M., and Jafari, S. M. , 2020, Green synthesis of ZnO nanoparticles using loquat seed extract; Biological functions and photocatalytic degradation

properties, *LWT*, 134, 110133.

[107]. Khalil, M. M. H., Ismail, E. H., El-Baghdady, K. Z., and Mohamed, D. , 2014, Green synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and its antibacterial activity, *Arabian journal of chemistry*, 7 (6), 1131–1139.

[108]. Mohammadi, F. M., and Ghasemi, N. , 2018, Influence of temperature and concentration on biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using cherry extract. *Journal of nanostructure in chemistry*, 8 (1), 93–102.

[109]. Bandeira, M., Giovanela, M., Roesch-Ely, M., Devine, D. M., and da Silva Crespo, J. ,2020, Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: A review of the synthesis methodology and mechanism of formation. *Sustainable chemistry and pharmacy*, 15, 100223.

[110]. Alahdal, F. A. M., Qashqoosh, M. T. A., Manea, Y. K., Salem, M. A. S., Khan, A. M. T., and Naqvi, S. , 2022, Eco-friendly synthesis of zinc oxide nanoparticles as nanosensor, nanocatalyst and antioxidant agent using leaf extract of P. austroarabica. *OpenNano*, 8, 100067.

[111]. Długosz, O., and Banach, M. ,2020, Continuous synthesis of metal and metal oxide nanoparticles in microwave reactor, *Colloids and surfaces a: physicochemical and engineering aspects*, 606, 125453.

[112]. Barzinjy, A. A., and Azeez, H. H. ,2020, Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using Eucalyptus globulus Labill. leaf extract and zinc nitrate hexahydrate salt. *SN applied sciences*, 2 (5), 1–14.

[113]. Chikkanna, M. M., Neelagund, S. E., and Rajashekarappa, K. K. ,2019, Green synthesis of Zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) and their biological activity, *SN applied sciences*, 1 (1), 1–10.

[114]. Fakhari, S., Jamzad, M., and Kabiri Fard, H. ,2019, Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: a comparison, *Green chemistry letters and reviews*, 12 (1), 19–24.

[115]. Es'haghi, Z., Mohammadian, M., and Hooshmand, S. , 2018, Green and chemical synthesis of zinc oxide nanoparticles and size evaluation by UV–vis spectroscopy, *Journal of nanomedicine research*, 7 (1), 00175.

[116]. Bhagyaraj, S., and Krupa, I. , 2020, Alginate-mediated synthesis of hetero-shaped silver nanoparticles and their hydrogen peroxide sensing ability, *Molecules*, 25 (3), 435.

[117]. Ikhsan, N. I., Rameshkumar, P., Pandikumar, A., Mehmood Shahid, M., Huang, N. M., Vijay Kumar, S., and Lim, H. N. , 2015, Facile synthesis of graphene oxide-silver nanocomposite and its modified electrode for enhanced electrochemical detection of nitrite ions, *Talanta*, 144, 908–914.

[118]. Joshi, N., Jain, N., Pathak, A., Singh, J., Prasad, R., and Upadhyaya, C. P. , 2018, Biosynthesis of silver nanoparticles using Carissa carandas berries and its potential antibacterial activities, *Journal of sol-gel science and technology*, 86 (3), 682–689.

[119]. Dandapat, S., Kumar, M., and Sinha, M. P. , 2014, Synthesis and Characterization of Green Silver Nanoparticles Mediated by Aegle marmelos (L .) Leaf Extract, *Nanobio pharmaceutical technology. elsevier. a division of reed elsevier india pvt ltd*, 38–44.

[120]. Genc, N., Yildiz, I., Chaoui, R., Erenler, R., Temiz, C., and Elmastas, M. , 2020, Biosynthesis, characterization and antioxidant activity of oleuropein-mediated silver nanoparticles, *Inorganic and nano-metal chemistry*, 51 (3), 411–419.

[121]. Prakash, S., Elavarasan, N., Venkatesan, A., Subashini, K., Sowndharya, M., and Sujatha, V. , 2018, Green synthesis of copper oxide nanoparticles and its effective applications in Biginelli reaction, BTB photodegradation and antibacterial activity, *Advanced powder technology*, 29

(12), 3315–3326.

[122]. Ravichandran, V., Sumitha, S., Ning, C. Y., Xian, O. Y., Kiew Yu, U., Paliwal, N., … Tripathy, M. ,2020, Durian waste mediated green synthesis of zinc oxide nanoparticles and evaluation of their antibacterial, antioxidant, cytotoxicity and photocatalytic activity, *Green chemistry letters and reviews*, 13 (2), 102–116.

[123]. Mahmood, H., Hussain, S. B., Nosheen, A., Mahmood, T., Shafique, M., Ul-Haq, N., and Haq, A. U. , 2021, Antibacterial Activities of Gold Nanoparticles Synthesized By Citrus Limonum Fruit Extract., *Pakistan journal of botany*, 53 (6), 2305–2310.

[124]. Sathiyavimal, S., Vasantharaj, S., Veeramani, V., Saravanan, M., Rajalakshmi, G., Kaliannan, T., … Pugazhendhi, A. , 2021, Green chemistry route of biosynthesized copper oxide nanoparticles using Psidium guajava leaf extract and their antibacterial activity and effective removal of industrial dyes, *Journal of environmental chemical engineering*, 9 (2), 105033.

[125]. Naaz, R., Siddiqui, V. U., Qadir, S. U., and Siddiqi, W. A. , 2021, Green synthesis of silver nanoparticles using Syngonium podophyllum leaf extract and its antibacterial activity, *Materials today: proceedings*, 46, 2352–2358.

[126]. Rahman, T. U., Mukhtar, S., Zeb, M. A., and Liaqat, W. , 2022, Green Synthesis, Characterization, and Antibacterial Activity of Metal Nanoparticles and Nanocomposites Using Leaves Extract of Prunus persica L, *Journal of applied spectroscopy*, 89 (4), 773–779.

[127]. Elumalai, K., Velmurugan, S., Ravi, S., Kathiravan, V., and Ashokkumar, S. , 2015, Bio-fabrication of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of curry leaf (Murraya koenigii) and its antimicrobial activities, *Materials science in semiconductor processing*, 34, 365–372.

[128]. Rathnasamy, R., Thangasamy, P., Thangamuthu, R., Sampath, S., and Alagan, V. , 2017, Green synthesis of ZnO nanoparticles using Carica papaya leaf extracts for photocatalytic and photovoltaic applications., *Journal of materials science: materials in electronics*, 28 (14), 10374–10381.

[129]. Elshayb, O. M., Farroh, K. Y., Amin, H. E., and Atta, A. M. , 2021, Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: Fortification for rice grain yield and nutrients uptake enhancement, *Molecules*, 26 (3), 584.

[130]. Shah, R., Eldridge, D., Palombo, E., and Harding, I. , 2014, Optimisation and stability assessment of solid lipid nanoparticles using particle size and zeta potential, *Journal of physical science*, 25 (1), 59–75.

[131]. Abdelbaky, A. S., Abd El-Mageed, T. A., Babalghith, A. O., Selim, S., and Mohamed, A. M. H. A. , 2022, Green Synthesis and Characterization of ZnO Nanoparticles Using Pelargonium odoratissimum (L.) Aqueous Leaf Extract and Their Antioxidant, Antibacterial and Anti-inflammatory Activities, *Antioxidants*, 11 (8), 1444.

[132]. Phull, A.-R., Abbas, Q., Ali, A., Raza, H., kim, S. J., Zia, M., and Haq, I. ,2016, Antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities of green synthesized silver nanoparticles from crude extract of Bergenia ciliata, *Future journal of pharmaceutical sciences*, 2 (1), 31–36.

[133]. Alavi, M., Karimi, N., and Salimikia, I. , 2019, Phytosynthesis of Zinc Oxide Nanoparticles and Its Antibacterial, Antiquorum Sensing, Antimotility, and Antioxidant Capacities Against Multidrug Resistant Bacteria, *Journal of industrial and engineering chemistry*, 72, 457–473.

[134]. Stan, M., Popa, A., Toloman, D., Silipas, T. D., and Vodnar, D. C. , 2016, Antibacterial and antioxidant activities of ZnO nanoparticles synthesized using extracts of Allium sativum, Rosmarinus officinalis and Ocimum basilicum, *Acta metallurgica sinica (english letters)*, 29 (3), 228–236.

[135]. Gao, Y., Arokia Vijaya Anand, M., Ramachandran, V., Karthikkumar, V., Shalini, V., Vijayalakshmi, S., and Ernest, D. , 2019, Biofabrication of Zinc Oxide Nanoparticles from Aspergillus niger, Their Antioxidant, Antimicrobial and Anticancer Activity, *Journal of cluster science*, 30 (4), 937–946.

[136]. Klinbumrung, A., Panya, R., Pung-Ngama, A., Nasomjai, P., Saowalakmeka, J., and Sirirak, R. , 2022, Green synthesis of ZnO nanoparticles by pineapple peel extract from various alkali sources, *Journal of asian ceramic societies*, 10 (4), 755–765.