



**KAHVE ÇEKİRDEĞİ EKSTRAKTI İLE SELENYUM
NANOPARTİKÜL ÜRETİMİ**

Pınar BALUKEN

**Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Dr. Öğr. Üyesi Aybike KAMILOĞLU
2022
(Her Hakkı Saklıdır)**

T.C.
BAYBURT ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

KAHVE ÇEKİRDEĞİ EKSTRAKTI İLE SELENYUM NANOPARTİKÜL ÜRETİMİ
(Production of Selenium Nanoparticles with Coffee Bean Extract)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Pınar BALUKEN

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Aybike KAMILOĞLU
2. Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Naciye KUTLU KANTAR

Bayburt
Ağustos, 2022

ETİK VE BİLDİRİM SAYFASI

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Kahve Çekirdeği Ekstraktı ile Selenyum Nanopartikül Üretimi” başlıklı çalışmanın tarafımdan bilimsel etik ilkelerine uyularak yazıldığını ve yararlandığım eserleri kaynakçada gösterdiğimi beyan ederim.

.../.../2022

Pınar BALUKEN

TEŞEKKÜR

Her zaman yanımda olan ve beni her konuda destekleyen çok çok sevdiğim canım aileme ve tez çalışmam boyunca bana danışmanlık yapan Dr. Öğr. Üyesi Aybike KAMILOĞLU ve eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Naciye KUTLU KANTAR' a teşekkürlerimi sunarım.



ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KAHVE ÇEKİRDEĞİ EKSTRAKTI İLE SELENYUM NANOPARTİKÜL ÜRETİMİ Pınar BALUKEN

Ağustos 2022, 47 sayfa

Nanopartiküller, üstün özelliklerinden ve sunduğu birçok avantajdan dolayı günümüzde en çok çalışma yapılan alanlardan biri haline gelmiştir. Düşük maliyetli, toksik olmayan, çevre dostu ve üretilmesinde hiçbir kimyasal madde gerektirmeyen bir yeşil sentez yöntemi kullanılmaktadır.

Yapılan bu çalışmada, yeşil kahve çekirdeğinden bazı biyoaktif bileşiklerinin ekstraksiyonunda Box-Behnken deney tasarımı kullanılarak yanıt yüzey yöntemiyle optimize edilmiş ve optimize edilen koşullarda elde edilen ekstrakt kullanılarak mikrodalga destekli selenyum nanopartikül üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen selenyum nanopartiküllerin 350-400 nm arasında absorbanans gösterdiği tespit edilmiştir. Nanopartiküllerin yüzey morfolojisi ve boyutu transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile belirlenmiştir ve küresel yapılı yaklaşık 100 nm olan nanopartiküller üretilmiştir. FTIR analizi ile indirgemeye etki eden fonksiyonel gruplar belirlenmiştir. Ayrıca üretilen selenyum nanopartiküllerin amorf (düzgün olmayan) yapıda olduğu ve yüksek sıcaklıklarda stabilitesini koruyabildiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yeşil kahve çekirdeği, selenyum nanopartikül, yeşil sentez, optimizasyon.

ABSTRACT

MASTER THESIS

PRODUCTION OF SELENIUM NANOPARTICLES WITH COFFEE BEAN EXTRACT

Pınar BALUKEN

August 2022, 47 pages

Nanoparticles have become one of the most studied areas today due to their superior properties and many advantages. A green synthesis method is used, which is low cost, non-toxic, environmentally friendly and does not require any chemicals in its production. In this study, the extraction of some bioactive compounds from green coffee beans was optimized by response surface method using Box-Behnken experimental design and microwave-assisted selenium nanoparticle production was carried out using the extract obtained under optimized conditions. It was determined that the produced selenium nanoparticles showed absorbance between 350-400 nm. The surface morphology and size of the nanoparticles were determined by transmission electron microscopy (TEM) and spherical nanoparticles of about 100 nm were produced. Functional groups affecting the reduction were determined by FTIR analysis. In addition, it was determined that the produced selenium nanoparticles were in amorphous (non-uniform) structure and could maintain their stability at high temperatures.

Keywords: Green coffee bean, selenium nanoparticle, green synthesis, optimization.

İÇİNDEKİLER

ETİK VE BİLDİRİM SAYFASI	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZ.....	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	ix
BİRİNCİ BÖLÜM	1
Giriş	1
Araştırmanın Konusu ve Problemi	1
Araştırmanın Amacı.....	2
İKİNCİ BÖLÜM.....	3
Kuramsal Çerçeve	3
Nanoteknoloji	3
Nanopartikül	4
Nanopartiküllerin Boyutu.....	4
Nanopartiküllerin Kullanım Alanları.....	5
Nanopartikül Sentez Yöntemleri	6
Fiziksel sentez yöntemi.	6
Kimyasal sentez yöntemi.	7
Biyolojik sentez yöntemi.	7
Selenyum Nanopartiküllerin Sentezi ve Uygulama Alanları	7
Nanopartikül Üretiminde Yeşil Kahve Ekstraktının Kullanımı	9
Bitki ekstraksiyon yöntemlerinin nanopartikül sentezi üzerine etkisi.....	10
Alan Yazın Derlemesi.....	12
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM	15
Materyal ve Yöntem	15
Materyal	15
Yöntem.....	15

Yeşil kahve çekirdeği ekstraksiyonunun optimizasyonu.....	15
Deney tasarımı ve istatistiksel analizler.	15
Dpph radikali yakalama yöntemi.	17
CUPRAC yöntemi (bakır indirgeyici antioksidan kapasitesi).	17
Toplam fenolik madde tayini.....	18
Selenyum Nanopartikülün Mikrodalga Yöntemiyle Yeşil Sentezi	18
Selenyum Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	19
UV-vis spektrum analizi.	20
Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR).	20
Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC).	20
Transmisyon elektron mikroskobu (TEM).....	20
X-ışınları kırınım difraktometresi (XRD).	20
DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi	21
Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	21
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM	23
Araştırma Bulguları ve Tartışma	23
Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu.....	27
Nanopartikül Sentezi.....	28
Selenyum Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	30
FTIR spektrumu.....	30
DSC analizi.....	33
Transmisyon elektron mikroskobu (TEM).....	35
X-ışınları kırınım difraktometresi (XRD).	37
DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi	39
Antimikrobiyal Aktivite	39
BEŞİNCİ BÖLÜM.....	41
Sonuç.....	41
Kaynakça	42
Öz Geçmiş	47

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Nanopartiküllerin Boyutu	5
Tablo 2. Yanıt Yüzey Yönteminde Tercih Edilen Bağımlı Değişkenler ve Seviyeleri	16
Tablo 3. Selenyum Nanopartiküllerin Yeşil Sentez için Optimizasyon Aşamasında Uygulanacak Olan Box-Behnken Deneme Deseni	16
Tablo 4. İndikatör Mikroorganizmalar	22
Tablo 5. Yanıt Yüzey Yöntemi ile Sağlanan Deney Tasarımına Ait Deneysel Veriler	23
Tablo 6. Farklı Ekstraksiyon Koşullarında Elde Edilen Yeşil Kahve Çekirdeği Ekstraktlarına Ait Regresyon Eşitlikleri.....	24
Tablo 7. Optimizasyon Çalışması ile Sağlanan Optimum Koşullar ve Beklenen Bazı Bioaktif Özellikler	28

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Nanopartiküllerin sentez yöntemleri (Mittal, Chisti, & Banerjee, 2013).	6
Şekil 2. Selenyum nanopartiküllerin çeşitli sentez yöntemlerinin şematik gösterimi (Khanna vd., 2022).....	8
Şekil 3. Yeşil kahve çekirdeği.....	9
Şekil 4. Ultrasonikasyon destekli yeşil kahve çekirdek ekstraktı eldesine ait görseller.	17
Şekil 5. Selenyum nanopartikülün yeşil sentez yöntemiyle üretim şeması.	19
Şekil 6. Katı konsantrasyonu (%) ve us gücü (%) değişiminin DPPH süpürme aktivitesi üzerine etkisini gösteren kontur grafiği.....	24
Şekil 7. Katı konsantrasyonu (%) ve ultrasonikasyon gücünün TPC üzerine etkisi.	26
Şekil 8. Katı konsantrasyonu ve ultrasonikasyon gücü ile değişen CUPRAC antioksidan aktivite değeri.	27
Şekil 9. Selenyum nanopartikülüne ait UV-vis spektrumu.	29
Şekil 10. Selenyum nanopartikülüne ait FTIR diyagramı.	31
Şekil 11. Yeşil kahve çekirdeği ekstraktına ait FTIR diyagramı.	32
Şekil 12. Selenyum nanopartikülüne ait DSC diyagramı.	34
Şekil 13. Selenyum nanopartikülün farklı ölçeklerde transmisyon elektron mikroskobu (TEM) görüntüsü, 2 µm (a), 1 µm (b), 500 nm (c), 200 nm (d) ve 100 nm (e).	36
Şekil 14. Selenyum nanopartiküllerin XRD kırınım deseni.	38
Şekil 15. Selenyum nanopartikülün antibakteriyel aktivite sonuçları.	40
Şekil 16. Selenyum nanopartikülün antifungal aktivite sonuçları.	40

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

°C	: Santigrat Derece
Cu	: Bakır
Ni	: Nikel
W	: Watt
NaBH₄	: Sodyum Borhidrür
PV	: Fotovoltaik
kV	: Kilovolt
g	: Gram
mg	: Miligram
µm	: Mikrometre
L	: Litre
mL	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
cm	: Santimetre
nm	: Nanometre
mM	: Milimolar
dk	: Dakika
s	: Saniye
GHz	: Giga Hertz
MHz	: Mega Hertz
rpm	: Revolution Per Minute
ppm	: Parts Per Million
Se	: Selenyum
DFM	: Dimetilformamid

TFC	: Toplam Flavonoid İçeriği
TPC	: Toplam Fenolik İçeriği
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
TRx	: Tiorredoksin Redüktaz
SeNP	: Selenyum Nanopartikül
AgNP	: Gümüş Nanopartikül
CuNP	: Bakır Nanopartikül
KBr	: Potasyum Bromür
TSA	: Tryptic Soy Agar
TSB	: Tryptic Soy Broth Besiyeri
PDA	: Potato Dextrose Agar Besiyeri
AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskobu
DLS	: Dinamik Işık Saçılımı
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
UV-vis	: Ultraviyole ve Görünür Işık
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
XRD	: X –Işınları Kırınım Difraktometresi
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
MIC	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

BİRİNCİ BÖLÜM

Giriş

Araştırmanın Konusu ve Problemi

Nanoteknoloji kimya, mühendislik bilimleri, fizik ve malzeme bilimini bir arada birleştiren çok disiplinli bir bilim alanıdır. Ana amacı kontrollü şekil ve boyutlarda nano ölçekli malzemeleri tasarlamak, karakterize etmek ve üretmektir. 100 nm'den küçük boyutlara sahip malzemelerle ilgilenir. Bu malzemeler; nanoparçacıklar, nanokompozitler ve nanoyapılar olarak da adlandırılır. Bu tür malzemeler mekanik, elektriksel, optik ve manyetik özelliklere sahiptir. Son yıllarda bu nanomalzemeler akıllı ve çok işlevli olarak ortaya çıkmıştır. Bu da nanomalzemelerin sentezi için ilgi çekici olmuştur. Nanomalzemelerin farklı sentez yolları, fiziksel, kimyasal ve biyolojik sentez yaklaşımları olmak üzere dünyanın dört bir yanındaki araştırmacılar tarafından incelenmeye başlanmıştır. Kimyasal ve fiziksel sentez yöntemleri aracılığıyla nanomalzemelerin boyutu ve şekli üzerindeki yüksek kontrole rağmen, genellikle sentez sürecine eşlik eden tehlikeli toksik yan ürünlerin salınmasıyla ilgili büyük endişeler vardır. Bu tür riskli sentez yaklaşımlarının üstesinden gelmek için biyolojik senteze büyük bir ihtiyaç duyulmuştur (Omran, 2020). Bundan dolayı nanopartiküllerin yeşil sentezi, maliyet bakımından düşük, hızlı sentez ve çevreyle uyumlu olmasından dolayı sıklıkla tercih edilmektedir. Bitki özleri ile mikroorganizmaların kullanılmasıyla olan yeşil sentez yöntemi, fiziksel ve kimyasal yöntemlere karşı uygun bir alternatiftir (Adibian vd., 2022). Nanopartikül yeşil sentez teknikleri, nanopartiküllerin oluşumunda doğal biyoredüktanlar ve stabilizatörlerin kullanılması nedeniyle tek adımlı, çevre dostu ve ekonomik bir yöntem olarak kabul görmektedir (Fardsadegh, & Jafarizadeh-Malmiri, 2019)

Selenyum, kristal veya amorf olmak üzere farklı polimorfik yapılar gösteren, doğada mevcut olan ve insanlarda çoklu biyolojik süreçlerin çalışması için gerekli olan bir elementtir (Mellinas, Jiménez, & Garrigós, 2019). Selenyumun eksikliği kardiyovasküler, kanser ve bağışıklık sistemi hastalıkları gibi birçok ciddi durumlarla ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, uzun süreli selenyum takviyesi veya daha yüksek konsantrasyonlar toksisiteye neden olabilir. Bitki özleri kullanılarak üretilen selenyum nanopartiküllerin yeşil sentez yöntemleri toksik kimyasalların kullanımını gerektirmez. Yeşil sentez metodu nanopartiküllerin şekli, boyutu ve kararlılığı üzerinde etkilidir. Bu şekilde sentezlenen selenyum nanopartiküller kanser tedavisi,

moleküler tanı, hedefe yönelik kemoterapi ve ilaç dağıtım sistemi gibi biyomedikal uygulamalarda özel bir potansiyele sahiptir (Pyrzynska & Sentkowska, 2021). Nanopartiküller arasında selenyum nanopartikülleri kimyasal, biyolojik, tıbbi ve farmasötik özelliklerinden dolayı çok dikkat çekmektedir. Selenyum nanopartiküllerin tiroid hormon metabolizması, vücudun savunma sistemi ve çok sayıda kanser metastazı tarafından güçlü bir şekilde kontrol edilebileceği gibi, insan ve diğer canlıların sağlığı için gerekli olan peroksidaz, tioredoksin redüktaz ve glutatyon dahil olmak üzere önemli selenoenzimlerin biyosentezinde önemli bir role sahiptir (Fardsadegh vd., 2019).

Yeşil kahve, *Coffea* meyvelerinden (*Coffea arabica*, *Coffea canephora*) elde edilen kavrulmamış kahve çekirdekleridir (Şekil 3). Kavrulmuş kahveden daha fazla klorojenik asit içerir. Yeşil kahvede bulunan klorojenik asidin sağlığa faydaları olduğu düşünülmektedir. Kan damarlarını etkileyerek kan basıncını düşürebilir. Yeşil kahve çekirdeklerinin biyoyararlanımının ve aktif maddelerinin nano boyutta daha faydalı olabileceği söylenmektedir (Garg, Shukla, & Choudhury, 2021).

Literatürde, yeşil kahve çekirdeğinden biyoaktif maddelerin ultrasonikasyon destekli ekstraksiyonun optimizasyonuna ve yeşil kahve çekirdeğinden mikrodalga desteği ile selenyum nanopartikül üretimine yönelik çalışmaların eksikliği araştırmanın konusunu ortaya koymaktadır.

Araştırmanın Amacı

Yapılan bu çalışmada, kahve çekirdeği kullanılarak Box-Behnken deney tasarımıyla biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunun yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonunun gerçekleştirilmesi, optimum koşullarda elde edilen ekstrakt kullanılarak mikrodalga destekli selenyum nanopartiküllerin üretilmesi ve üretilen selenyum nanopartiküllerin karakterizasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

İKİNCİ BÖLÜM

Kuramsal Çerçeve

Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, atomik, moleküler ve makromoleküler boyutta araştırma ve teknoloji geliştirme anlamına gelir ve 1 ile 100 nanometre aralığında uzunluk ölçeklerine sahip yapıların ve cihazların kontrollü çalışmasını sağlamaktadır. Nanopartiküllerin küçük boyutu, yüzey uyarlanabilirliği, geliştirilmiş çözünürlüğü ve çok işlevliliği birçok yeni araştırma yolunu açmaktadır (McNeil, 2005). Nanoteknoloji, nanometre ölçeğinde şekil ve boyut kontrol edilerek yapıların, cihazların ve sistemlerin tasarımı, karakterizasyonu, uygulaması ve üretimidir (Whatmore, 2006).

Nanoteknoloji, nano ölçekte uygulamaları olan teknolojiyi ifade eder. Nanomalzemelerin benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikleri topluma fayda sağlayan uygulamalar için kullanılabilir (Bhushan, 2017).

Nanoteknolojinin, sağlık ve insanların yaşamları üzerindeki etkisi mikroelektronik, tıbbi görüntüleme, bilgisayar destekli mühendislik ve insan yapımı polimerlerin birleşik etkilerine eşdeğerdir. Nanoteknoloji kimya, fizik, mühendislik, malzeme bilimi ve biyoloji alanlarında son derece küçük yapıların incelenmesi ve uygulanmasıdır. Avrupa Komisyonu'na göre, “nanoteknoloji, özelliklerin daha büyük ölçektekilerden önemli ölçüde farklı olduğu atomik, moleküler ve makromoleküler ölçeklerde olguların ve malzemelerin incelenmesidir” (Parthasarathi, & Anandharamakrishnan, 2019).

Nanomalzemelerin fizikokimyasal özellikleri üç boyutlu morfolojilerine, şekillerine, yüzey topografyasına, boyutlarına, çevreleyen ortama ve uzaydaki düzenlemelerine bağlıdır. Bu parametrelerin ilgili fiziksel ve kimyasal özelliklerle korelasyonu, yeni özelliklerin ve uygulamaların bulunmasının yanı sıra yeni malzemelerin tasarımı ve üretimi için gerekli olan temel ve pratik bilgileri iletirmek için önemli bir yere sahiptir (Adams, & Barbante, 2013).

Nanoteknoloji gıda mühendisliğinde de yükselen bir ilgi alanıdır ve gıda endüstrisi için yepyeni olanaklar sağlamaktadır. Gıda ambalajının geliştirilmesinde etkili olan nanoteknoloji uygulamalarının ve işlevselliklerinin temel kategorileri şunları içerir; plastik malzeme bariyerlerinin iyileştirilmesi, geleneksel aktif paketlenmenin ötesinde işlevsel nitelikler

sağlayabilen aktif bileşenlerin dahil edilmesi ve ilgili bilgilerin algılanması ve işaretlenmesidir. Nano gıda ambalaj malzemeleri gıda ömrünü uzatabilir, gıda güvenliğini arttırabilir, ambalajdaki yırtıkları onarabilir, gıdanın kirlendiği veya bozulduğu konusunda tüketicileri uyarabilir ve hatta ambalajdaki gıdanın ömrünü uzatmak için koruyucu özelliği olabilir. Gıda endüstrisindeki nanoteknoloji uygulamaları, ambalajdaki bakterileri tespit etmek veya bariyer özelliklerini artırarak daha güçlü tat ve renk kalitesi sağlamak için kullanılabilir (Sekhon, 2010).

Nanopartikül

Bir nanopartikül boyutu 1 ile 100 nanometre arasında değişen küçük bir parçacıktır. İnsan gözüyle tespit edilemeyen nanopartiküller, atomik güçleri ile ilişkili farklı fiziksel, biyolojik ve kimyasal özelliklere sahiptir (Ragaei, & Sabry, 2014).

Avrupa Komisyonu tarafından verilen tanıma göre, sayı boyutu dağılımındaki parçacıkların en az yarısının parçacık boyutunun 100 nm veya altında olması gerektiğini belirtmektedir.

Nanopartiküller birçok alanda kullanım imkânı bulmaktadır. Özellikle gıda sanayinde nanopartiküller biyokatalizör, biyoyararlılığı, antimikrobiyal ve viskozite kontrolü gibi etkileri olduğundan gıda katkı maddesi olarak kullanılabilirler. Diğer yandan paketlenme materyallerinde ve gıda maddelerindeki nem ve sıcaklığı ayarlamak için nano sensör olarak da faydalanılmaktadır (Gürlük, Koluman, & Kahraman, 2022).

Nanopartiküllerin sentezi için kimyasal, fiziksel ve biyolojik sentez (yeşil sentez) olmak üzere üç farklı sentez metodu kullanılmaktadır. Fiziksel metotta maliyetli ekipmanlar, yüksek basınç ve sıcaklık gerektirmektedir. Kimyasal metotta ise canlılara ve çevreye zararlı kimyasallar kullanılabilir. Bu metotların olumsuz özelliklerinden dolayı güvenli, çevre dostu ve daha az maliyetli olan yeşil sentez metodu daha çok kullanılmaya başlanmıştır. Nanopartiküllerin üretimi için kullanılan yeşil sentez metodunda bakteriler, algler, mantarlar ve bitkiler gibi doğal kaynaklar kullanılmaktadır (Erdoğan vd., 2019).

Nanopartiküllerin Boyutu

Bir nanometre, bir insan saçının çapından veya bir virüsün boyutundan yaklaşık 60.000 kat daha küçüktür, tipik bir kâğıt yaprağı yaklaşık 100.000 nm kalınlığındadır. Bir kırmızı kan hücresi yaklaşık 2.000 ile 5.000 nm büyüklüğündedir ve DNA'nın çapı 2.5 nm aralığındadır. Bu nedenle nanoteknoloji, DNA çapının yarısından bir kırmızı kan hücresi boyutunun 1/20'sine kadar değişen maddelerle ilgilenir (Dingman, 2008).

Tablo 1’de nanopartiküllerin boyutu, parçacık türü ve çap boyut aralığı belirtilerek boyut aralığı verilmiştir.

Tablo 1. *Nanopartiküllerin Boyutu*

Parçacık Türü	Çap Boyut Aralığı
Atomlar ve küçük moleküller	0.1 nm
Nanopartiküller	1 - 100 nm
İnce parçacıklar (partikül)	100 - 2500 nm
Kaba parçacıklar (toz)	2500 - 10000 nm
Kağıt kalınlığı	100000 nm

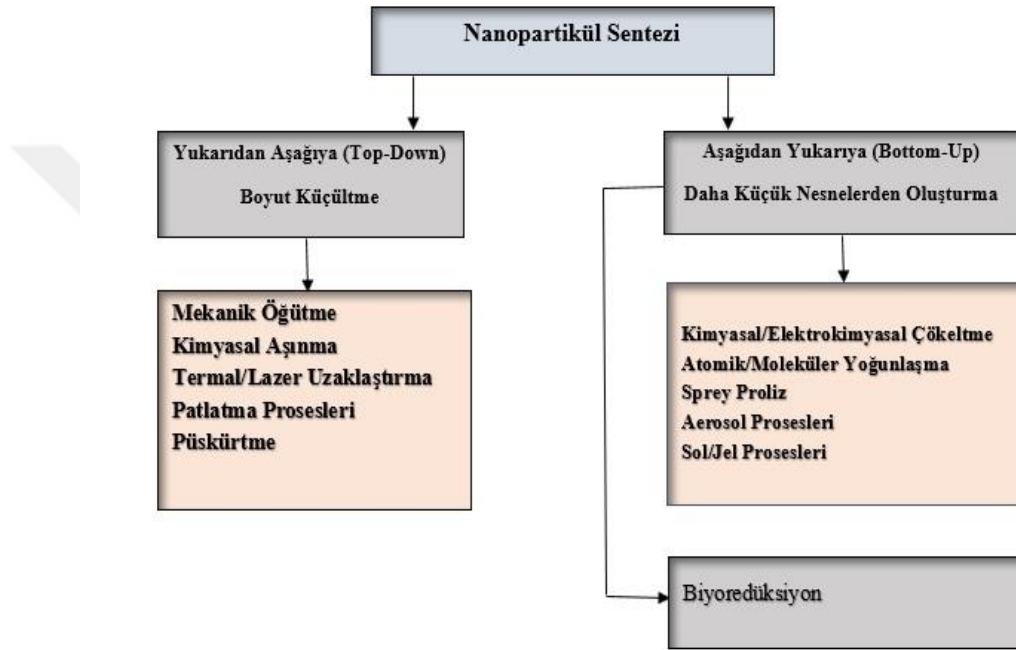
Nanopartiküllerin Kullanım Alanları

Nanomalzemeler doğal olarak oluşabilir, yanma reaksiyonlarının yan ürünleri olarak oluşturulabilir veya özel bir işlevi yerine getirmek için mühendislik yoluyla bilinçli olarak üretilirler. Nanomalzemelerin kullanımı, sağlık ve kozmetikten, çevre koruma ve hava temizlemeye kadar çok çeşitli alanları kapsar (Srinivas, 2021). Nanomalzemeler, biyosensörler, ilaç dağıtımı, kozmetik ve elektronik gibi birçok endüstri alanında uygulanmakla birlikte biyoteknoloji ve nanotıp alanında da yeni boyutlar kazanmıştır (Pal, Rai, & Pandey, 2019).

Sağlık alanı, nanomateryalleri çeşitli şekillerde kullanır, başlıca kullanım alanlarından biri ilaç dağıtımıdır. Bu sürecin bir örneği, kemoterapi ilaçlarının doğrudan kanserli büyümelere taşınmasına yardımcı olmak ve kardiyovasküler hastalıklarda hasar görmüş arter bölgelerine ilaç vermek için nanopartiküllerin geliştirilmesidir. Bakteri sensörleri oluşturmak için nanotüplere antikör eklenmesi gibi işlemlerde kullanılmak üzere karbon nanotüpler de geliştirilmektedir. Çevresel korumada nanomalzemelerden yararlanılır, yararlanma yollarından biri de nanotellerdir. Nanoteller esnek güneş pillerinde kullanılmak ve kirli suların arıtılmasında rol oynamak için geliştirilmektedir. Kozmetik endüstrisinde, titanyum oksit gibi mineral nanopartiküller kullanılmaktadır. Titanyum oksit nanopartiküller gelişmiş UV koruması sağlayabilirken, güneş kremi ile ilişkili kozmetik açıdan çekici olmayan beyazlatmayı, nano formlarında giderme avantajına da sahiptir. Nanomalzemeler orduda da kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Nanoparçacıkların asker üniformalarının malzemesine enjeksiyonu yoluyla daha iyi bir kamuflaj formu üretmek için kullanılmaktadır. Ek olarak, ordu, biyolojik ajanları tespit edebilen titanyum dioksit gibi nanomalzemeleri kullanan sensör sistemleri geliştirmişlerdir (Srinivas, 2021).

Nanopartikül Sentez Yöntemleri

Nanopartiküllerin sistematik üretimi esas olarak aşağıdan yukarıya ve yukarıdan aşağıya ilkesine göre gerçekleştirilir (Şekil 1). Bu üretim yöntemlerinde amaca göre kimyasal, biyolojik ve fiziksel yöntemler kullanılmaktadır (Yavuz, & Yılmaz, 2021). Yukarıdan aşağıya sentez yöntemi, malzemeye dışarıdan mekaniksel ya da kimyasal işlemler uygulanarak materyalin küçük parçalara ayrılmasıyla nano boyuta gelmesi amaçlanır. Aşağıdan yukarıya sentez yöntemi ise atom veya molekül boyuttaki yapıların biyolojik ve kimyasal yöntemler kullanılarak nano boyuta getirilmesi yöntemidir (Çiftçi, 2019).



Şekil 1. Nanopartiküllerin sentez yöntemleri (Mittal, Chisti, & Banerjee, 2013).

Fiziksel sentez yöntemi.

Buharlaştırma, yoğunlaştırma ve lazer ablasyon en önemli fiziksel yaklaşımlardır. Buharlaştırma ve yoğunlaştırma için atmosferik basınca bağlı tüp fırın kullanılır. Nanopartiküllerin fiziksel sentezinde kullanılan tüp fırın, bazı dezavantajlara sahiptir. Nanopartiküller çözelti içindeki metalik dökme malzemelerin lazerle ablasyonu ile sentezlenebilir. Ablasyonun verimliliği, üretilen nano parçacıkların özelliklerine, lazerin dalga boyuna ve süre gibi birçok parametreye bağlıdır (Iravani, Korbekandi, Mirmohammadi, & Zolfaghari, 2014). Nanopartikül sentezinde kullanılan fiziksel yöntem, fazla enerji kullanımı, ekipman ve pahalı vakum sistemlerinden dolayı fazla tercih edilmemektedir (Çiftçi, Çalışkan, Öztürk, & Yazici, 2021).

Kimyasal sentez yöntemi.

Nanopartiküllerin sentezi için en yaygın yaklaşımlardan biri de organik ve inorganik indirgeme ajanları ile kimyasal indirgeme yöntemidir. İnorganik ve organik reaktifler ile kimyasal indirgeme ekipmanlarının kullanım kolaylığı nedeniyle metal partiküllerin sentezi için en çok tercih edilen yöntemlerden biridir. Genel olarak, indirgeme için sodyum borohidrit (NaBH_4), sodyum sitrat, elementel hidrojen, askorbat, poliol prosesi, tollens reaktifi, N, N-dimetilformamid (DMF) ve etilen glikol gibi farklı indirgeyici maddeler kullanılır (Iravani vd., 2014).

Biyolojik sentez yöntemi.

Bitkiler, mantarlar, bakteriler ve algler gibi biyolojik kaynakların kullanımı ile gerçekleştirilen, yeşil sentez olarak da bilinen biyolojik yöntemler basit, güvenli, düşük maliyetli ve çevre dostu olarak fiziksel ve kimyasal yöntemlere alternatiftir. Biyolojik sentez yöntemi üretim prensibi ile çalışan, enerji verimliliği yüksek ve tercih edilen bir yöntemdir (Akçay, 2017). Nanopartiküllerin sentezi, mikroorganizmalar ve bitki özleri kullanılarak kimyasal ve fiziksel yöntemlere olası bir yeşil alternatif olarak önerilmiştir (Fesharaki vd., 2010). Nanopartiküllerin biyosentezinde (yeşil sentez), kimyasal indirgeyici ajanların yerine doğal ve biyolojik varlıklar kullanılmaktadır (Altuncu, & Kamiloğlu, 2022). Son yıllarda bitki özü kullanılarak yapılan yeşil sentez, nanopartiküllerin oluşumunda özel bir önem kazanmıştır. Özellikle fitokimyasallar bitkilerin bel kemiğidir ve daha az toksisite ile kolayca nanopartikül üretebilirler (Alagesan, & Venugopal, 2019).

Bu tez çalışması kapsamında selenyum nanopartikülün sentezi için yeşil kahve çekirdeği ekstraktı ve sodyum selenit kullanılarak yeşil sentez (biyolojik sentez) yöntemiyle nanopartikül üretimi gerçekleştirilmiştir.

Selenyum Nanopartiküllerin Sentezi ve Uygulama Alanları

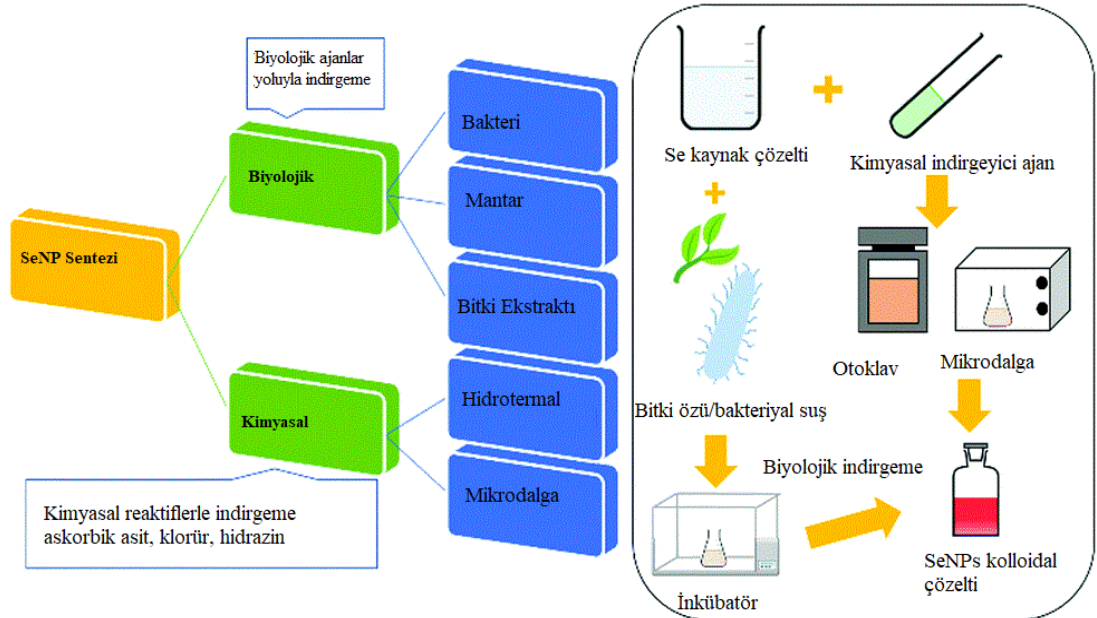
Selenyum, kükürt ve tellür arasında periyodik tablonun 16. grubunda bulunan metalik olmayan bir elementtir. İnsanlar ve hayvanlar için eser mikro besin elementidir. Bağışıklık tepkisini arttırmak, hayvanlarda üreme ve ayrıca bitkilerin uygun şekilde büyümesi için gereklidir. Glutasyon peroksidaz (GPx), tioredoksin redüktaz (TRx) ve deiyodinazlar gibi birçok yapının oluşumunda rol oynar. Ayrıca seramik ve cam imalat sanayilerinde renk giderici olarak, boyalarda pigment, metalurjide ve çeşitli havacılık cihazlarında yağlayıcı olarak kullanılır. Tarım alanında düşük dozda sodyum selenit bitki ıslahı için gübre olarak kullanılmaktadır. Selenyum, adsorpsiyon yeteneği ile bilinir. Proteinlerle etkileşime

girebildiğinden, birçok otoimmün hastalığın tedavisinde redoks enzimlerinin taşıyıcıları olarak kullanılabilirler (Murugesan, Nagaraj, Sunmathi, & Subramani, 2019).

Selenyum, insan vücudundaki metabolizmanın düzgün çalışması için gerekli olan temel bir mikro besin elemanıdır. Selenyum elementinin eksikliği kas, bağışıklık sistemi ve kanser gibi birçok hastalığa neden olabilmektedir. Ayrıca selenyum, fizyolojik etkisi ve toksik dozları nedeniyle düşük bir konsantrasyon aralığında gösterilebilir. Optimum dozlarda selenyum bir antioksidan görevi görürken, daha yüksek dozlarda prooksidan aktivite gösterir. Bu durumu engellemek için uygun dozlarda selenyum önerilir ve kadınlarda günlük selenyum alımı 60 mg, erkeklerde ise 70 mg olması gerektiği tavsiye edilmektedir (Khanna, Bisht, & Phalswal, 2022).

Selenyum nanopartiküller ilaç, kozmetik, gübre, elektronik ve cam üretimi gibi farklı alanlarda kullanılabilir (Murugesan vd., 2019).

Son zamanlarda nanopartiküllerin biyolojik sentezi mevcut hammadde kaynakları, maliyet etkinliği, düşük toksisitesi ve farmakolojideki potansiyeli nedeniyle büyük bir popülerlik kazanmıştır. Selenyum nanopartiküllerin sentezi için genellikle mikroorganizmalar ve bitkiler kullanılmaktadır. Bu amaçla SeNP'lerin bakteri ve bitkiler kullanılarak sentezlenmesi, selenyumun toksisitesini değiştirme yetenekleri ve nanopartikül üretimi için hammaddeye kolay erişilebilirlik nedeniyle çeşitli alanlarda uygulanabilmesi için büyük bir avantaj sağlamaktadır (Skalickova vd., 2017).



Şekil 2. Selenyum nanopartiküllerin çeşitli sentez yöntemlerinin şematik gösterimi (Khanna vd., 2022).

Şekil 2’de selenyum nanopartiküllerin çeşitli sentez yöntemleri şematik olarak gösterilmektedir. Selenyum nanopartiküllerin sentezinde kullanılan biyolojik indirgeme

yöntemleri, selenyumun çeşitli organik ve inorganik bileşiklerinin bitki özleri ya da bakteri gibi biyolojik ajanlar kullanılarak nanopartikülün indirgenmesini ve bunların toksik olmayan, faydalı selenyum nanopartiküllere dönüştürülmesini sağlamaktadır. Kimyasal indirgemedede ise kimyasal indirgeyici ajanlar kullanılarak enerji kaynağına veya reaksiyon için kullanılan aparata bağlı olarak ayrıca sınıflandırılabilir (Khanna vd., 2022).

Nanopartikül Üretiminde Yeşil Kahve Ekstraktının Kullanımı

Yeşil kahve çekirdeklerinde protein, polisakkarit, potasyum, yağ, bakır, manganez, demir, mineral, alifatik asit, klorojenik asit, trihonellin ve kafein gibi bileşikler bulunmaktadır (Aroufai, 2020).



Şekil 3. Yeşil kahve çekirdeği.

Yapılan bir çalışmada, yeşil kahve çekirdeği kullanılarak gümüş nanopartikül (AgNP) sentezlenmiştir. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivite analizinde, AgNP'lerin gram pozitif ile gram negatif bakterilerine karşı güçlü bir antibakteriyel aktivite sergiledikleri gözlemlenmiştir (Wang, Zhang, Zheng, & Zhu, 2017).

Yapılan başka bir çalışmada, yeşil kahve çekirdekleri kullanılarak gümüş nanopartikül üretimi için yeşil sentez yöntemi kullanılmıştır. Gümüş nanopartiküllerin morfolojisi transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile belirlenmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aureginosa* bakterileri kullanılmıştır ve kuyu difüzyon metodundan yararlanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda gümüş nanopartiküller *Escherichia coli*, *Pseudomonas aureginosa* ve *Staphylococcus aureus* mikroorganizmalarına karşı yüksek stabilite ve antibakteriyel özellik sergilediği vurgulanmıştır (Cardeño Calle, & Londoño López, 2017).

Bakır nanopartiküllerinin (CuNP) sentezi için, kahve çekirdeği ekstraktı kullanılmıştır ve sentezlenen bakır nanopartiküllerin ortalama parçacık boyutlarının 5-8 nm arasında olduğu, bakır nanopartiküllerinin iyi ölçüde stabilite sergilediği belirtilmiştir. CuNP'lerin mükemmel katalitik aktivitesi ve düşük maliyetinden dolayı endüstriyel alanda verimli ve kolayca geri dönüştürülebilir bir katalizör olarak kullanılabilir olduğu gözlemlenmiştir (Wang vd., 2021).

Bitki ekstraksiyon yöntemlerinin nanopartikül sentezi üzerine etkisi.

Ekstraksiyon, katı veya sıvı fazdaki bileşenlerin çeşitli çözünürlük özellikleri vasıtasıyla sıvı faza dönüştürülmesi işlemidir (Yağcıoğlu, 2015). Ekstraksiyon işlemi için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Ekonomik ve çevre dostu olan verimli ekstraksiyon yöntemlerinin kullanılması büyük öneme sahiptir (Kwiatkowski, 2020). Enerji verimliliğini artırmak, ekstraksiyon süresini kısaltmak, çözücü miktarını ve ekstraksiyon maliyetini azaltmak aynı zamanda fenolik bozunma riskini en aza indirmek için geleneksel olmayan ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir. Geliştirilen yeni yöntemler; ultrason destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon, hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu ve süperkritik akışkan ekstraksiyonudur (Routray, & Orsat, 2012).

Süperkritik sıvı ekstraksiyonu, organik çözücülerin daha az kullanımını ve numune hacminin fazla olmasını hedefleyen bir ekstraksiyon yöntemidir. Süperkritik sıvı ekstraksiyonu yönteminde dikkate alınacak faktörler arasında basınç, sıcaklık, çözücü ilavesi ve numune hacmi yer almaktadır (Handa, 2008).

Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yeni bir ekstraksiyon yöntemidir ve basınçlı sıvı ekstraksiyonu olarak da bilinir (Büyüktuncel, 2012). Bu ekstraksiyon yöntemi, artan sıcaklıkla çözünürlüğü artırma ve sıvıların yüksek basınçta çeşitli matrislere daha iyi nüfuz etme avantajı ile katı ve yarı katı numuneler için geliştirilmiş ekstraksiyon yöntemidir (Altınay, 2008).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon, biyoaktif bileşiklerin bitki matrislerinden ayrılması için popüler hale gelen gelişmiş ekstraksiyon yöntemidir. Bitkilerin ekstraksiyonu için çözücü tüketimini aza indirmek, ekstraksiyon süresini kısaltmak ve ekstraksiyon verimini artırmak için mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniği geliştirilmiştir. Mikrodalgalar, elektromanyetik spektrumda bulunan radyo frekans aralığı ile kızılötesi arasında yer alan, yani 300 MHz ile 300 GHz frekans bandında bulunan elektromanyetik dalgalardır. Endüstriyel ve ev tipi mikrodalga fırınlar, radyo parazitlerini önlemek için 915 MHz ya da 2.45 GHz frekans bandında çalışır (Routray, & Orsat, 2012).

Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon yöntemi, sürdürülebilir yeşil kimya ve yüksek kaliteli ekstraksiyon elde etmek için önemli bir yöntemdir. Ultrasonikasyon yöntemi

kullanılarak elde edilen ekstraksiyon, daha az solvent kullanılarak ve daha kısa sürede gerçekleştirilebilir (Dedebaş, Capar, Ekici, & Yalçın, 2021). Bu yöntemde, ultrasonik işlem sırasında oluşturulan akustik kavitasyon kuvveti etkisi ile kütle transferi artırılmaktadır. Patlayıcı kabarcıklar ile üretilen yüksek kayma derecesi ile hücre içi bileşenlerin çözücüye nüfuz etmesi sağlanmaktadır (Boateng ve Nasiru, 2019). Kutlu, Kamiloglu, & Elbir, (2022) yaptıkları bir çalışmada, tarhun bitkisi kullanılarak ultrases destekli ekstraksiyon ile farklı koşullarda elde edilen CUPRAC, TFC, TPC ve DPPH oranları incelenmiştir. Analizde Box-Behnken deney tasarımı kullanılmış ve ekstraksiyon süresi, çözücü/örnek oranı ve ultrasonik güç bağımsız değişkenler olarak belirlenmiştir. Ultrases destekli ekstraksiyon yönteminin maserasyon yöntemine göre süreyi %97 oranında azaltarak daha etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu yöntemle TPC'nin sonikasyon süresi 45 dakika, maserasyonla ise 24 saat olarak belirlenmiştir ve optimum koşullar %73.9 ultrasonik güç, 10 mL/g çözücü/örnek oranı ve süre 43.2 dk olarak vurgulanmıştır. Çalışma sonucunda ultrases destekli ekstraksiyon yönteminin, tarhun bitkisinden biyoaktif bileşiklerin elde edilmesi için daha uygun bir yöntem olduğu gözlemlenmiştir.

Li, Chen, & Yao, (2005) yaptıkları bir çalışmada, *E. ulmodies* taze yapraklarından klorojenik asidin eldesi için ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Çalışma sonunda optimum ekstraksiyon koşulları %70 sulu metanol, çözücü/örnek oranı 20:1 (v/w) ve ekstraksiyon süresi ise 3×30 dakika olarak tespit edilmiş olup, *E. ulmodies*'den klorojenik asit ekstraksiyonu elde etmek için sürenin kısaldığı ve geleneksel yöntemlere göre çok daha verimli olduğu belirtilmiştir.

İnce, Şahin, & Şümnü, (2013) yaptıkları bir çalışmada, fenolik madde ekstraksiyonu için kullanılan melisa bitkisinin optimum koşullarda mikrodalga, ultrason, klasik ekstraksiyon ve maserasyon yöntemleri kullanılarak karşılaştırma yapılmıştır. Mikrodalga fırın kullanılarak yapılan ekstraksiyonda buharlaşan çözücü geri soğutucuyla toplanmıştır. Mikrodalga süresi 5, 10, 15 ve 20 dakika, çözücü oranları 1:10, 1:20 ve 1:30 g/mL olarak, mikrodalga gücü ise 400 W sabit tutularak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş olup, en yüksek toplam fenolik miktarı 5 dakika süreyle 1:30 çözücü oranında sağlanmıştır ve çalışma sonunda mikrodalga yönteminin ekstraksiyon süresini %83 azalttığı belirtilmiştir. Ayrıca antioksidan aktivite ile toplam fenolik maddenin (TPC) en yüksek mikrodalga yöntemle gerçekleştiği ve daha avantajlı olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, Marasca vişnesi kullanılarak mikrodalga yöntemi ile antosiyanin ve fenolik asit izolasyonu optimize edilmiştir. Optimum koşullar; mikrodalga güç, süre ve sıcaklık olarak belirlenmiştir. Mikrodalga gücü 350-500 W, sıcaklık olarak 50-70 °C

arasında ve süre 5-12 dakika olarak ayarlanmıştır. Sıcaklık ile süre toplam fenolik asit ve toplam antosiyanin için farklılık göstermiştir. Fenolik asit ekstraksiyonunun sıcaklığı 70 °C ve süresi 10 dakika olurken, antosiyaninlerin ise sıcaklığı 60 °C ve süresinin 6-9 dakika olarak bulunulmuş ve fenolik asit ekstraksiyonundan daha düşük olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonunda geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile karşılaştırıldığında, mikrodalga ekstraksiyon yöntemini daha verimli olarak değerlendirmişlerdir (Garofulić, Dragović-Uzelac, Jambrak, & Jukić, 2013).

Portakal kabuğu kullanılarak pektin verimi için mikrodalga ekstraksiyon koşulları optimize edilmiştir. Box-Behnken deneysel tasarımı kullanılmıştır ve proses değişkenleri olarak ışınlama süresi, katı-sıvı oranı ve mikrodalga gücü kullanılarak optimizasyon işlemi yapılmıştır. İşlem sonunda optimum koşullar ışınlama süresi için 169 saniye, katı-sıvı oranı için 1:16.9 g/mL ve mikrodalga gücü için 422 W olarak belirlenmiş ve aynı zamanda maksimum pektin verimi %19.24 olarak elde edilmiştir (Maran, Sivakumar, Thirugnanasambandham, & Sridhar, 2013).

Alan Yazın Derlemesi

Bitki ekstraktlarının selenyum nanopartikül üretiminde kullanıldığı birçok çalışmaya aşağıda yer verilmiştir.

Khiralla, & El-Deeb, (2015) *Bacillus licheniformis* süpernatantının kullanılarak üretilen selenyum nanopartiküllerinin *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium*, *S. aureus*, *B. cereus*, *S. enteritidis* ve *E. faecalis* gibi gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal güce sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çevre dostu bir yöntemle selenyum nanopartikülleri sentezlemek için maydanoz yaprağı ekstraktı kullanılmıştır. Sentezlenen selenyum nanopartiküllerin yapısal ve morfolojik özelliklerini belirlemek için UV-vis spektroskopisi, fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), dinamik ışık saçılımı (DLS) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) kullanılarak karakterizasyon analizleri yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda nano boyutta, küresel şekle sahip nanopartiküller sentezlenmiştir (Fritea, Laslo, Cavalu, Costea, & Vicas, 2017).

Pouri, Motamedi, Honary, & Kazeminezhad, (2018) yaptıkları bir çalışmada, selenyum nanopartiküllerinin biyosentezi için *Bacillus cereus* kullanılmıştır. Sentezlenen nanopartiküller UV-görünür spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM), X-ışını kırınımı (XRD) ve dinamik ışık saçılımı (DLS) ile karakterizasyon analizleri yapılmıştır. *Bacillus cereus* için selenyumun minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBC) ve minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) 75 mM'dir. Sonuç olarak bu çalışmada herhangi bir kimyasal madde

kullanılmadan, çevre kirliliğine neden olmayan küresel yapıya sahip selenyum nanopartiküllerin üretildiğini bildirmişlerdir.

Stabilizatör ve indirgeyici ajan olarak yeşil çay ve *Lycium barbarum* meyvesinden elde edilen ekstraktlar kullanılarak selenyum nanopartikül sentezi yapılmıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin, morfolojik ve termal özelliklerini belirlemek için X-ışını kırınımı (XRD), transmisyon elektron mikroskobu (TEM), (FTIR) spektroskopisi, termogravimetrik analizör ve zeta potansiyel analizörü dahil olmak üzere çeşitli teknikler ile karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan işlemler sonucunda, selenyum nanopartiküllerin yüksek ABTS süpürme kabiliyeti ve DPPH süpürme kabiliyeti göstererek antioksidan aktivite sergilediklerini belirterek, selenyum nanopartiküllerin gıda maddesi, biyomedikal, kozmetik ve ilaç üretimi gibi uygulamalarda kullanılma potansiyeline sahip olduğunu belirtmişlerdir (Zhang vd., 2018).

Mellinas vd. (2019) yaptığı bir çalışmada, yeşil sentez yöntemiyle kakao ağacının meyvesi (*Theobroma cacao* L.) ekstraktı kullanılarak mikrodalga ışıması yoluyla selenyum nanopartikülleri sentezi gerçekleştirilmiştir. Optimum sentez koşullarını elde etmek için yanıt yüzeyi metodu kullanılmıştır. Sentezlenen selenyum nanopartiküllerin karakterizasyon analizleri sonucunda küresel yapıda 1-3 nm çapına sahip selenyum nanopartiküllerini vurgulamışlardır.

Fardsadegh vd. (2019) yaptıkları bir çalışmada, *Aloe vera* yaprağı kullanılarak sentezlenen selenyum nanopartiküllerinin özelliklerini belirlemek için, FTIR spektroskopisi, dinamik ışık saçılması (DLS), transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve UV-vis spektrofotometresini kullanmışlardır. Analiz sonuçlarında *Aloe vera* yapraklarının amid I ve hidroksil gruplarında birçok biyoaktif bileşik içerdiğini ve bu iki fonksiyonel grubun selenyum iyonlarının indirgenerek selenyum nanopartiküllerinin oluşmasında ve stabilize edilmesinde önemli bir rol oynadığını, optimum koşullarda monodispers ve küresel şekle sahip, ortalama parçacık boyutu 50 nm çapında selenyum nanopartiküllerin sentezlendiğini belirtmişlerdir. Sentezlenen SeNP'lerin seçilen 4 patojenik bakteri ve mantar suşuna karşı yüksek antibakteriyel ve antifungal aktivitelere sahip olduğunu gözlemlemişlerdir.

Pereira, Rajasekar, & Rajeshkumar, (2020) yaptıkları bir çalışmada, tarçın ve karanfil ekstaktı kullanılarak selenyum nanopartiküller biyolojik metotla sentezlenmiştir. Sentezlenen selenyum nanopartiküllerin karakterizasyon, sitotoksik, antibakteriyel ve antifungal etkilerini belirlemek için çeşitli analizler yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda, selenyum nanopartiküllerin ortalama absorban değerinin 355 nm olduğu, küresel yapıda ve partikül boyutu 40 ile 90 nm arasında, çevre dostu ve toksik olmayan selenyum nanopartiküllerin üretildiği bildirilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, *Rosmarinus officinalis*'in zleri kullanarak selenyum nanopartiküllerin yeşil sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen selenyum nanopartikülleri UV-vis spektrofotometresi kullanarak doğrulanmıştır. X-ışını kırınım (XRD) modeli ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) incelemesi sonucunda, selenyum nanopartiküllerin kristal yapıda ve boyut olarak 20-40 nm büyüklüğünde küresel olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yaptıkları antimikrobiyal analiz sonucunda, selenyum nanopartiküllerin, *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) bakterilerine karşı gl bir antibakteriyel ajan görevi gördüğü belirtilmiştir (Adibian vd., 2022).



ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

Materyal ve Yöntem

Materyal

Bu tez çalışmasında, selenyum nanopartiküllerin üretimi için kullanılan yeşil kahve çekirdeği ülkemizde ticari faaliyet gösteren aktarlardan temin edilmiştir.

Yöntem

Yeşil kahve çekirdeği ekstraksiyonunun optimizasyonu.

Optimizasyon işlemi, sistemde bulunan süre, güç ve katı konsantrasyonu gibi değişkenlerin en verimli şekilde kullanılarak, maliyetin azaltılması, verimin artırılması ve analiz süresinin kısaltılması gibi avantajlara sahip bir teknolojidir (Türkay, 2011).

Deney tasarımı ve istatistiksel analizler.

Yeşil kahve çekirdeklerinden antioksidatif bileşenler (DPPH ve CUPRAC) ile toplam fenolik bileşiklerinin (TPC), ultrasonik destekli ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi amacı için koşullar yanıt yüzey yöntemi kullanılarak Box-Behnken deney tasarımı oluşturulmuştur. Üç değişkenli ve üç seviyeli Box-Behnken modeli uygulanmıştır. Üç bağımsız değişken, ultrasonik güç (% , X_1), sonikasyon süresi (dk, X_2) ve katı konsantrasyonu (% , X_3) olarak belirlenmiştir. Box-Behnken tasarımı için bağımsız değişkenler ve seviyeleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Bu tasarımda maksimum toplam fenolik bileşik ve antioksidan aktiviteler (DPPH ve CUPRAC) sağlanacak şekilde optimum koşullar belirlenmiştir. Deneysel veriler, her yanıt için eşitlik 1'de verilen ikinci dereceden polinom denklemine uygunluk sağlamıştır. Denklemden yer alan Y , b_i ve X_i ifadeleri sırasıyla bağımlı değişkenleri, katsayıları ve bağımsız değişkenleri temsil etmektedir.

$$Y=b_0+b_1X_1+b_2X_2+b_3X_3+b_4X_1^2+b_5X_2^2+b_6X_3^2+b_7X_1X_2+b_8X_1X_3+b_9X_2X_3 \quad (1)$$

Tüm istatistiksel analizler ve yanıt yüzeyi regresyonu, Minitab 16.0 yazılımı (Minitab, State College, PA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bağımsız değişkenler arasındaki anlamlı farklar ($P<0.05$) varyans analizi ile belirlenmiştir.

Tablo 2. Yanıt Yüzey Yönteminde Tercih Edilen Bağımlı Değişkenler ve Seviyeleri

Kodlanmış	Koşullar	Seviye		
		-1	0	1
X ₁	Ultrasonikasyon gücü (%)	25	50	75
X ₂	Sonikasyon süresi (dk)	15	30	45
X ₃	Katı Konsantrasyonu (%)	10	20	30

Tablo 3. Selenyum Nanopartiküllerin Yeşil Sentez için Optimizasyon Aşamasında Uygulanacak Olan Box-Behnken Deneme Deseni

Deney no	US gücü (%) (X ₁)	Süre (dk.) (X ₂)	Katı konsantrasyonu (%) (X ₃)
1	100	45	30
2	50	60	10
3	50	45	20
4	100	30	20
5	0	60	20
6	0	45	30
7	0	45	10
8	50	30	10
9	50	60	30
10	100	45	10
11	50	45	20
12	50	45	20
13	0	30	20
14	50	30	30
15	100	60	20

Yeşil kahve çekirdekleri kahve öğütme makinasında öğütülerek Tablo 3'te belirtilen deneme desenindeki katı konsantrasyonları baz alınarak tartım işlemi yapılmıştır ve 100 ml' lik örnek şişelere konularak üzerine çözücü olarak saf su ilave edilmiştir (30 gr, 20 gr ve 10 gr tartılarak 100 ml'lik şişelere saf su ile tamamlanmıştır). Ultrases cihazında (DAIHAN, WUC-D06H) kullanılan örnekler Tablo 3'te belirtilen güç (US) ve süre sonunda elde edilen ekstraktlar yanıt analizlerinde kullanılmıştır.

Ekstraksiyon sürecinde bağımsız değişkenlerin optimizasyonunda yanıtların (TPC, DPPH ve CUPRAC) en yüksek olabileceği, istenilirlik derecesinin 1'e yakın olduğu koşullar tercih edilmiştir.

Yeşil kahve ekstraksiyonunun şeması Şekil 4'te verilmiştir.



Şekil 4. Ultrasonikasyon destekli yeşil kahve çekirdek ekstraktı eldesine ait görseller.

Yeşil kahve çekirdeği ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini belirlemek amacı ile 2 farklı (DPPH radikali yakalama aktivitesi ve CUPRAC (Bakır İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi)) yöntem kullanılmıştır.

Dpph radikali yakalama yöntemi.

100 μ L yeşil kahve çekirdeği ekstraktı üzerine 2 ml 0.02 mM DPPH çözeltisi (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil metanol içerisinde çözülerek hazırlanmıştır) ilave edilmiştir. % inhibisyonu belirlemek amacı ile kontrol olarak su ve DPPH çözeltisi kullanılmıştır. Oda sıcaklığında, karanlık bir ortamda 30 dk süre ile bekletilen örneklerin absorbansları 517 nm' de saf metanole karşı belirlenmiştir (Kumaran, & Karunakaran, 2006; Rai, Wahile, Mukherjee, Saha, & Muhherjee, 2006).

CUPRAC yöntemi (bakır indirgeyici antioksidan kapasitesi).

50 μ L yeşil kahve çekirdeği ekstraktı üzerine sırasıyla, 1 ml 10 mM $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi, 1 ml 7.5 mM Neocuproine çözeltisi ve 1 ml 1 M amonyum asetat (pH=7) çözeltisi eklenmiştir. Son hacim 4.1 ml olacak şekilde 1,05 ml saf su ilave edilmiş ve 30 dk süre ile karanlık ortamda bekletilen örneklerin absorbansları 450 nm'de köre karşı belirlenmiştir (Apak, Güçlü, Özyürek, & Karademir, 2004). Kalibrasyon eğrisinin oluşturulmasında, yukarıda belirtilen CUPRAC yöntemi ile ekstrakt yerine troloks çözeltisinin 8 farklı konsantrasyonu (50-1500 ppm) kullanılarak elde edilen absorbans değerleri kullanılmıştır. Kahve çekirdek ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri troloks eşdeğeri (TE) cinsinden ifade edilmiştir.

Toplam fenolik madde tayini.

Toplam fenolik madde tayini Mcdonald, Prenzler, Antolovich, & Robards, (2001) tarafından belirtilen Folin Ciocalteu spektrofotometrik yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla toplam fenolik madde analizi için gerekli çözeltilerin hazırlanmasında Folin-Ciocalteu çözeltisi, 1:10 oranında saf su ile seyreltilmiştir. Sodyum karbonat çözeltisi, %7 (w:v) olacak şekilde saf su ile hazırlanmıştır. Gallik asit stok çözeltisi (500 µg/ml) 100 ml saf suda 50 mg gallik asit çözündürülerek taze olarak hazırlanmıştır.

Yeşil kahve çekirdeği ekstraktlarından 1100 µl alınarak 1 ml Folin-Ciocalteu çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karıştırmanın ardından 5 dk bekletilen örnekler 1 ml %7'lik sodyum karbonat çözeltisi ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. 1.3 ml su ilave edilerek karışım seyreltilmiştir. En az 30 dk olacak şekilde karanlıkta bekletilen örneklerde oluşan mavi rengin tespiti amacı ile spektrofotometrede 765 nm'de absorbans değeri belirlenmiştir.

Gallik asit çalışma çözeltileri, 500 ppm gallik asit stok çözeltisinden, konsantrasyonu 0-500 µg/ml arasında değişen 5 ayrı çalışma çözeltisi olarak hazırlanmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltilerinin (5 adet) her biri için yukarıda belirtilen yöntem kullanılarak toplam fenolik madde tayini gerçekleştirilmiştir.

Toplam fenolik madde içeriği standart eğri kullanılarak, ppm gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak verilmiştir.

Selenyum Nanopartikülün Mikrodalga Yöntemiyle Yeşil Sentezi

Optimum koşullarda elde edilen yeşil kahve çekirdeği ekstraktı saf su kullanılarak 1:10 oranında seyreltilmiş olup, hazırlanan solüsyona 1 gr sodyum selenit eklenerek çözelti vortekslenmiştir. Behere alınan karışım mikrodalga fırında 833 W güçte ve 10 dk süre ile tutulmuştur. İşlem sonunda buharlaşan kısım kadar saf su eklenerek çözelti hacmi tekrar 50 ml'ye tamamlanmıştır. Mikrodalga uygulaması sonrası çözelti UV-vis spektrofotometrede 300-700 nm aralığında görüntülenmiştir. Daha sonra çözelti 50 ml'lik falcon tüplere alınarak 5000 rpm de 15 dakika santrifüjlenmiş olup, santrifüj işlemi sonunda elde edilen çökelti 37 °C'ye ayarlanmış inkübatörde 24 saat boyunca kurutulmuştur. Elde edilen selenyum nanopartikül, fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)(Perkin Elmer Spectrum), X-ışınları kırınım difraktometresi (XRD) (Bruker, D8 Discover USA), diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile karakterizasyon analizleri yapılmıştır ve sonrasında antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerine bakılmıştır.

Selenyum nanopartiküllerin mikrodalga destekli sentezinin şematik gösterimi Şekil 5'te verilmiştir.



Şekil 5. Selenyum nanopartikülün yeşil sentez yöntemiyle üretim şeması.

Selenyum Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Nanopartiküller genellikle boyutları, şekilleri ve yüzeyleri ile karakterize edilirler. Nanopartikülleri karakterize etmenin yaygın teknikleri aşağıda verilmiştir (Mittal vd., 2013).

- UV-vis spektrofotometri
- Transmisyon elektron mikroskobu (TEM)
- Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)
- Toz X -ışın kırınımı (XRD)
- Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC)

Optimum koşullarda elde edilen yeşil kahve ekstraktı ile üretilen selenyum nanopartiküller, UV-vis spektrofotometri, fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), transmisyon elektron mikroskobu (TEM), X-ışınları kırınım difraktometresi (XRD) ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile karakterizasyon analizleri yapılmıştır.

UV-vis spektrum analizi.

Selenyum nanopartiküllerin karakterizasyon işlemi ilk olarak UV-vis spektrofotometre ile yapılmıştır. Analiz için optimum koşullarda elde edilen yeşil kahve ekstraktı ve sodyum selenit kullanılarak üretilen selenyum nanopartiküllerin absorbands değerleri, UV-vis spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800) 300-700 nm dalga boyu aralığında görüntülenmiştir ve absorbands değerleri kaydedilmiştir.

Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR).

Selenyum nanopartiküllerindeki fonksiyonel grupların tespiti ve yeşil kahve çekirdeği ekstraktındaki indirgemedede etkili olan fonksiyonel grupların varlığı fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR, Perkin Elmer Spectrum) ile belirlenmiştir. Analiz kapsamında spektrumlar KBr ışın ayırıcı, elmas ATR hücresi ile donatılmış Bruker Tensor 27 cihazı ve DLaTGS dedektörü kullanılarak $4000-450\text{ cm}^{-1}$ arasındaki bölge taranarak ölçüm yapılmıştır.

Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC).

Termal özelliklerini belirlemek amacıyla selenyum nanopartiküllerin erime noktası ile entalpi değişimi diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC, PerkinElmer DSC 800) cihazında görüntülenmiştir. Analiz için 5 mg numune alüminyum (Al) kaba konularak, numunedeki erime noktası ve entalpi değişimi boş kap referans alınarak belirlenmiştir. Isıtma işleminde ısıtma hızı $10^{\circ}\text{C dk}^{-1}$ ve ısıtma derecesi $0-400^{\circ}\text{C}$ arasında yapılmıştır (Taylan, 2019).

Transmisyon elektron mikroskobu (TEM).

Selenyum nanopartiküllerin mikroyapısal özelliklerini belirlemek için transmisyon elektron mikroskobu (TEM, FEI, Talos F200S) kullanılmıştır. TEM cihazı 200 kV hızlanma voltajına sahiptir. Selenyum nanopartikül numuneleri etanol ile süspanse edilerek karbonla kaplanmış bakır ızgara (200 ağ) üzerine yerleştirilmiştir ve çözücü oda sıcaklığında buharlaştırılmıştır. Daha sonra 2 μm , 1 μm , 500 nm, 200 nm ve 100 nm gibi farklı büyütme ölçeklerinde selenyumun varlığını doğrulamak için nanopartiküller gözlemlenmiştir (Yücel, İspirli, Mercan, Erdoğan, & Dertli, 2021).

X-ışınları kırınım difraktometresi (XRD).

Selenyum nanopartiküllerin kristal yapısı için X-ışını kırınım difraktometresi (XRD, Bruker D8 Discover AXS) kullanılmıştır. Nanopartikül örnekleri cihazın plakasına pres ve çekme tekniğine göre yerleştirilerek Breg Brentano $\theta:2\theta$ geometrisi kullanılmıştır. Cu katot elektrotun, 1518 Å dalga boyunda $K\alpha$ ışını, Ni filtre ve bu ışını elde etmek için 40 kV ta 40

mA akım uygulanmış ve örneklerde 5-90 (20) derece aralığında, 0.03° (step size) basamak aralığı ve 0.3 s (step time) zaman dilimi kullanılarak tarama işlemi yapılmıştır (Yılmaz, İspirli, Taylan, & Dertli, 2020).

DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi

DPPH radikali süpürme aktivitesinin belirlenmesinde, Kumaran, & Karunakaran, (2006) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Selenyum nanopartiküller 2000, 1000, 500 ve 250 ppm aralıklarında seyreltilmiştir. Seyreltilmiş örneklerden 100 µL alınarak üzerine 1 ml 0.2 mM DPPH çözeltisi (0,00394 gr 1,1-difenil-2- pikrilhidrazil tartılarak 50 ml balon jojeye metanolle tamamlanmıştır) eklenmiştir. Kör olarak metanol kullanılmıştır. Standart eğrinin hazırlanmasında farklı konsantrasyonlarda (4000, 2000, 1000, 500 ve 250 ppm) troloks çözeltisi kullanılmıştır. Hazırlanan örnekler oda sıcaklığı koşullarında karanlıkta 30 dakika bekletilmiş olup, süre sonunda örneklerin absorbanans değeri UV-vis spektrofotometrede 517 nm’de ölçülmüştür.

Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Selenyum nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesi için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Reller, Weinstein, Jorgensen, & Ferraro, 2009). Antimikrobiyal aktivite için Tablo 4’te yer alan 5 tane patojen bakteri ve 2 tane küften yararlanılmıştır. Bakterilerin çoğaltılması için Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerinden ependorflara steril pipet ile 1 ml alınarak üzerine stok bakteriden öze ile alınıp ependorflara batırılmıştır. Daha sonra vorteks işlemi yapılmıştır. Tüm bakteriler için aynı işlem uygulanmıştır. İşlem sonunda ependorflar 37 °C’ de (Ecocell, LSIS-B2V/EC55) 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda bakteri gelişimi izlenmiştir. Küf için ise Potato Dextrose Agar (PDA) besiyerinden steril koşullarda petri kutularına dökülüp üzerine öze ile küf alınarak ekim yapılmıştır. 25 °C sıcaklıkta 5 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda gelişen küf üzerine 1 ml steril saf su ile yıkama işlemi yapılarak spor süspansiyonu oluşturulmuştur. Selenyum nanopartikülleri saf su kullanılarak farklı dilüsyon oranlarında hazırlanmıştır. 2000 ppm’ lik seyreltme için SeNP üzerine saf su alınarak 1 saat süreyle ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Süre sonunda 2000, 1000, 500, 250, 125, 100, 50, 25 ve 10 ppm şeklinde dilüsyonlar hazırlanmıştır. Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerinden petri kutularına dökülerek üzerine 100 µl bakteri yayma yöntemiyle ekim yapılmış olup, daha önceden 6 eşit parçaya bölünmüş kısımlara disk yerleştirilmiştir. Diskler üzerine 20 µl kontrol (yeşil kahve çekirdeği ekstraktı) ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış selenyum nanopartikül dilüsyonları damlatılmıştır. 37 °C’ ye ayarlı etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. PDA besiyerinden petri kutularına dökülerek üzerine 100 µl spor

süspansiyonu aktarılarak yayma yöntemiyle ekim yapılmış olup, 6 eşit parçaya bölünmüş kısımlara disk yerleştirilmiştir. Diskler üzerine 20 µl kontrol ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan selenyum nanopartikül dilüsyonları damlatılmıştır ve oda sıcaklığı koşullarında 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Analiz boyunca steril koşullarda çalışılmıştır.

Tablo 4. *İndikatör Mikroorganizmalar*

Mikroorganizma	Suş Kodu
<i>Bacillus cereus</i> BC 6830	P60
<i>Salmonella typhimurium</i> RSSK 95091	P78
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 27729	P91
<i>Staphylococcus aureus</i> ARCC 25923	P94
<i>Escherichia coli</i> BC1402	P12
<i>Penicillium chrysogenum</i>	P
<i>Aspergillus niger</i>	A

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

Araştırma Bulguları ve Tartışma

Tablo 5'te verilen Box-behnken deney tasarımı ile sağlanan yanıtlar kullanılarak istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir.

Tablo 5. Yanıt Yüzey Yöntemi ile Sağlanan Deney Tasarımına Ait Deneysel Veriler

Deney No	US gücü (%) (X ₁)	Süre (dk.) (X ₂)	Katı Konsant. (%) (X ₃)	DPPH(ppm TE)(Y ₁)	CUPRAC (mmol)(Y ₂)	TPC (ppm GAE)(Y ₃)
1	100	45	30	10407.8	114.653	3636.67
2	50	60	10	3144.0	55.853	3403.33
3	50	45	20	6200.2	*	4220.00
4	100	30	20	7544.5	62.973	1953.33
5	0	60	20	9003.2	50.943	1020.00
6	0	45	30	9371.0	61.991	6353.33
7	0	45	10	4910.2	88.870	1153.33
8	50	30	10	5627.6	61.991	2053.33
9	50	60	30	9907.4	50.084	4286.67
10	100	45	10	1637.0	64.569	2420.00
11	50	45	20	8267.8	48.120	6120.00
12	50	45	20	6200.2	46.156	4703.33
13	0	30	20	8442.6	48.979	2586.67
14	50	30	30	10480.1	57.081	9053.33
15	100	60	20	7966.4	40.263	470.00

Verilerin regresyon analizi ile elde edilen ikinci dereceden denklemler Tablo 6'da verilmiştir. Bu çalışmada, ikinci dereceden denklemler yüksek regresyon katsayılarına sahiptir ($R^2 > 97\%$) ve regresyon modellerinin uyumsuzluk değerleri önemsiz ($P > 0.05$) olduğu belirlenmiştir.

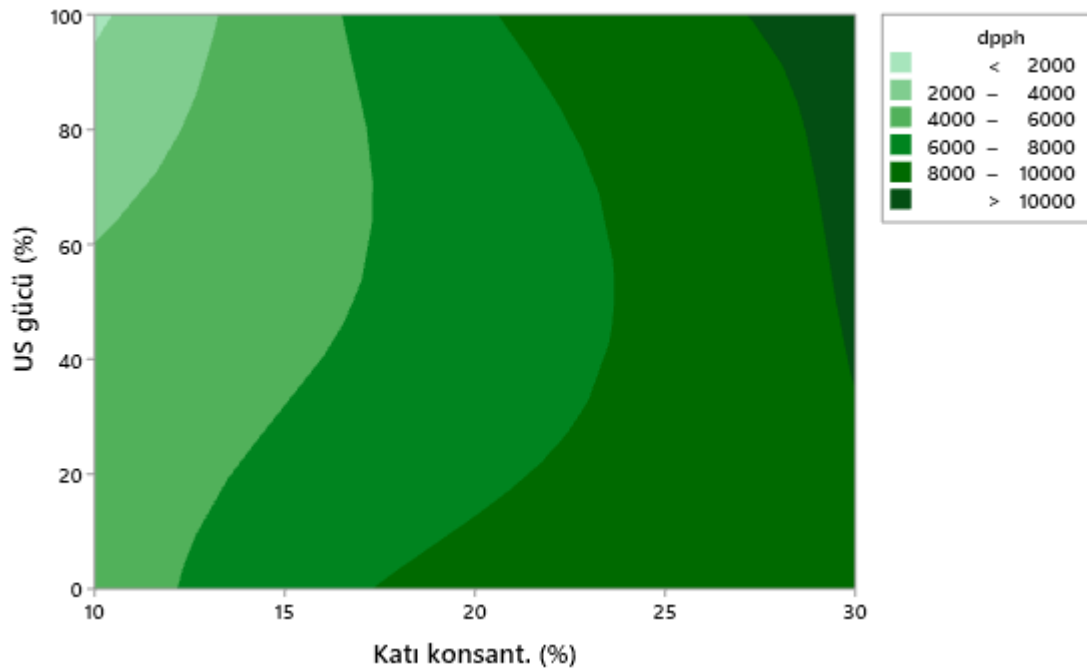
Tablo 6. Farklı Ekstraksiyon Koşullarında Elde Edilen Yeşil Kahve Çekirdeği Ekstraktlarına Ait Regresyon Eşitlikleri

Bağımlı Değişkenler	Model	R ²	Ayarlanmış R ²	Uyum eksikliği
DPPH	$Y_1^*=13961 - 490 X_2 - 64.3 X_1 + 311 X_3^{**}$ $+ 4.57 X_2X_2 + 0.128 X_1X_1$ $- 6.29 X_3X_3 - 0.046 X_2X_1$ $+ 3.18 X_2X_3 + 2.16 X_1X_3$	94.60	84.88	0.693
CUPRAC	$Y_2^*=66.3 + 4.68 X_2 - 0.919 X_1 - 9.87 X_3$ $- 0.0503 X_2X_2 + 0.00598 X_1X_1^*$ $+ 0.2042 X_3X_3^{**} - 0.00822 X_1X_2$ $- 0.0014 X_2X_3 + 0.03848 X_1X_3^{**}$	95.28	84.66	0.116
TPC	$Y_3^{**}=16076 + 588 X_2 + 128.3 X_1^* + 423 X_3^{**}$ $- 4.89 X_2X_2^* - 0.963 X_1X_1^{**}$ $+ 7.84 X_3X_3 + 0.028 X_2X_1$ $- 10.19 X_2X_3^{**} - 1.992 X_1X_3^*$	97.04	91.70	0.952

* P<0.05. **P<0.01

Y_i, Bağımlı değişkenler; X₁, ultrasonikasyon gücü (%); X₂, sonikasyon süresi (dk); X₃, katı konsantrasyonu (%).

Tablo 6'ya bakıldığında DPPH süpürme aktivitesi üzerinde en etkili ekstraksiyon parametresinin katı konsantrasyonu olduğu görülmektedir. Bu değişim Şekil 6'da verilmiştir

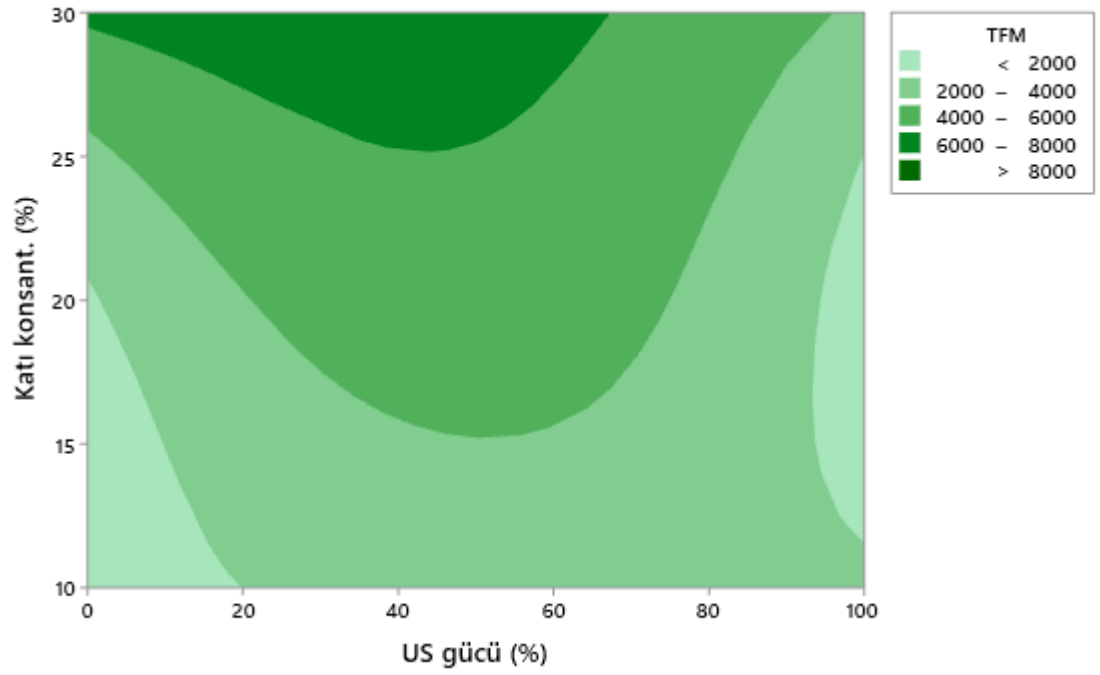


Şekil 6. Katı konsantrasyonu (%) ve US gücü (%) değişiminin DPPH süpürme aktivitesi üzerine etkisini gösteren kontur grafiği.

Katı konsantrasyonu ile DPPH süpürme aktivitesinin doğru orantılı olduğu görülmektedir. Ultrasonikasyon gücü ve süresinin etkisinin istatistiksel olarak DPPH süpürme aktivitesi üzerinde önemsiz olduğu ($P>0.05$) tespit edilmiştir. DPPH radikali süpürme yöntemiyle tespit edilen en yüksek antioksidan aktivite 10480 ppm TE olarak tespit edilmiştir. En yüksek aktivite ultrasonikasyon gücünün %50, ultrasonikasyon süresinin 30 dk ve katı konsantrasyonun %30 olduğu koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyon bu aktiviteyi sağlamıştır. Upadhyay, Ramalakshmi, & Rao, (2012) %3 konsantrasyonda hazırlanan yeşil kahve çekirdeği su ekstraktlarında 200 ppm serbest radikali %85 oranında süpürme aktivitesi sağladığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise ultrasonikasyon desteği ile yeşil kahve çekirdeğinden bazı biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu üzerine etkisi irdelenmiştir. Ultrasonikasyonun işlem verimini arttırdığı bildirilmiştir (Pimpley & Murthy, 2021). Ultrasonikasyon sağladığı titreşimler ile katı sıvı arasında bazı polifenollerin geçişini hızlandırabilmektedir (Görgüç, Bircan, & Yılmaz, 2019). Yapılan bu çalışmada ultrasonikasyon uygulamasının DPPH süpürme aktivitesi üzerinde istatistiksel olarak etkili olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde metodların seçiciliği farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle lipofilik, hidrofilik karakterleri ve polifenollerin varlığı değişen antioksidan aktivitelerin belirlenmesine sebep olmaktadır (Ramírez-Moreno vd., 2018). Ultrasonikasyonun DPPH yönteminde etkili olan polifenollerin ekstraksiyonunda etkili olmadığı söylenebilir.

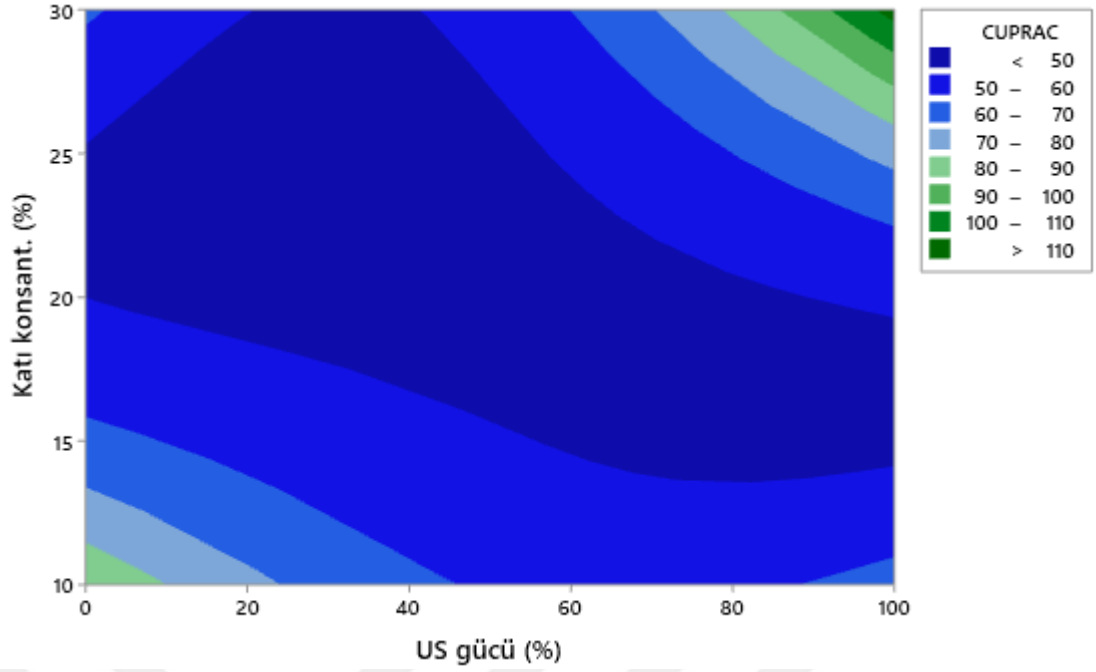
Toplam fenolik madde miktarı üzerinde istatistiksel olarak en etkili bağımsız değişken katı konsantrasyonudur. Katı konsantrasyonu ve sonikasyon gücü ile değişen toplam fenolik madde miktarı Şekil 7'de verilmiştir. TPC ile katı konsantrasyonu arasında pozitif bir korelasyon görülmektedir. Çözücü oranı azaldıkça TPC miktarının arttığı anlamına gelmektedir. Ayrıca sonikasyon gücü ve katı oranının etkileşimlerinin TPC üzerinde etkili olduğu görülmektedir. Şekil 7'de görüldüğü gibi katı oranındaki artış azalma ve sonikasyon gücünün belli bir noktaya kadar artışı TPC değerinin artmasına sebep olurken, artan katı konsantrasyonuna rağmen ultrasonik gücün %60 üzerine çıkması TPC miktarını negatif yönde etkilemiştir. Diğer taraftan sonikasyon süresinin tek başına etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Literatürde yeşil kahve çekirdeğinde ultrasonik destekli ekstraksiyon ile TPC elde edilmesine yönelik sınırlı çalışmalar söz konusudur. Yapılan bir çalışmada (Pimpley, & Murthy, 2021), ultrases destekli ekstraksiyon çalışmasında mikrodalga ve buhar destekli yöntemlere kıyasla en yüksek polifenol içeriğini sonikasyon ile elde etmişlerdir. Sonikasyon, sağladığı dalgalar ile çözücü ve katı arasında daha fazla yüzey alanında etkileşim sağlamaktadır (Görgüç vd., 2019).



Şekil 7. Katı konsantrasyonu (%) ve ultrasonikasyon gücünün TPC üzerine etkisi.

Tablo 6’da CUPRAC yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite değeri üzerinde istatistiksel olarak bağımsız değişkenlerin tek başına etkili olmadığı görülmektedir. Katı oranı-katı oranı interaksyonu ve ultrasonikasyon gücü-katı oranı interaksyonları etkileşimlerinin CUPRAC yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite değeri üzerinde etkili olmadığı görülmektedir ($P < 0.01$). Katı oranı ve sonikasyon gücü ile değişen antioksidan aktivite değeri Şekil 8’de verilmiştir.



Şekil 8. Katı konsantrasyonu ve ultrasonikasyon gücü ile değişen CUPRAC antioksidan aktivite değeri.

CUPRAC değerinin değişimi irdelendiğinde katı konsantrasyonu ve US gücü arasındaki etkileşim kontur grafiğinde (Şekil 8) görülmektedir. Katı konsantrasyonun yaklaşık olarak %20 olduğu koşullarda düşük CUPRAC değerleri tespit edilmiştir. Literatürde yeşil kahve çekirdeğinde, ultrases destekli ekstraksiyonun kahve çekirdeğinin antioksidan aktivitesinin CUPRAC yöntemi (troloks eşdeğeri) ile belirlendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle farklı materyallerle yapılan çalışmalar incelenmiştir. (Petkova, Ivanov, Vrancheva, Denev, & Pavlov, 2017) tarafından farklı ekstraksiyon yöntemleri ile andız otu köklerinden biyoaktif bileşiklerin elde edilmesi üzerine yapılan bir çalışmada, mikrodalga destekli ekstraksiyona kıyasla ultrases destekli ekstraksiyon işlemi ile daha yüksek antioksidan aktivite tespit edilmiştir.

Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

Yapılan optimizasyon çalışması sonucunda sıvı ekstraktlarda TPC, CUPRAC ve DPPH değerleri maksimize edilerek sağlanan optimum çalışma koşulları %90.90 ultrasonik güç, 33.63 dk sonikasyon süresi ve %30 katı konsantrasyonu olarak bulunmuştur. Bu koşullar kullanılarak elde edilen sıvı ekstraktların biyoaktif bileşikler üzerindeki etkileri de belirlenmiştir. Optimum koşul ve beklenen CUPRAC, DPPH ve TPC değerleri Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. *Optimizasyon Çalışması ile Sağlanan Optimum Koşullar ve Beklenen Bazı Bioaktif Özellikler*

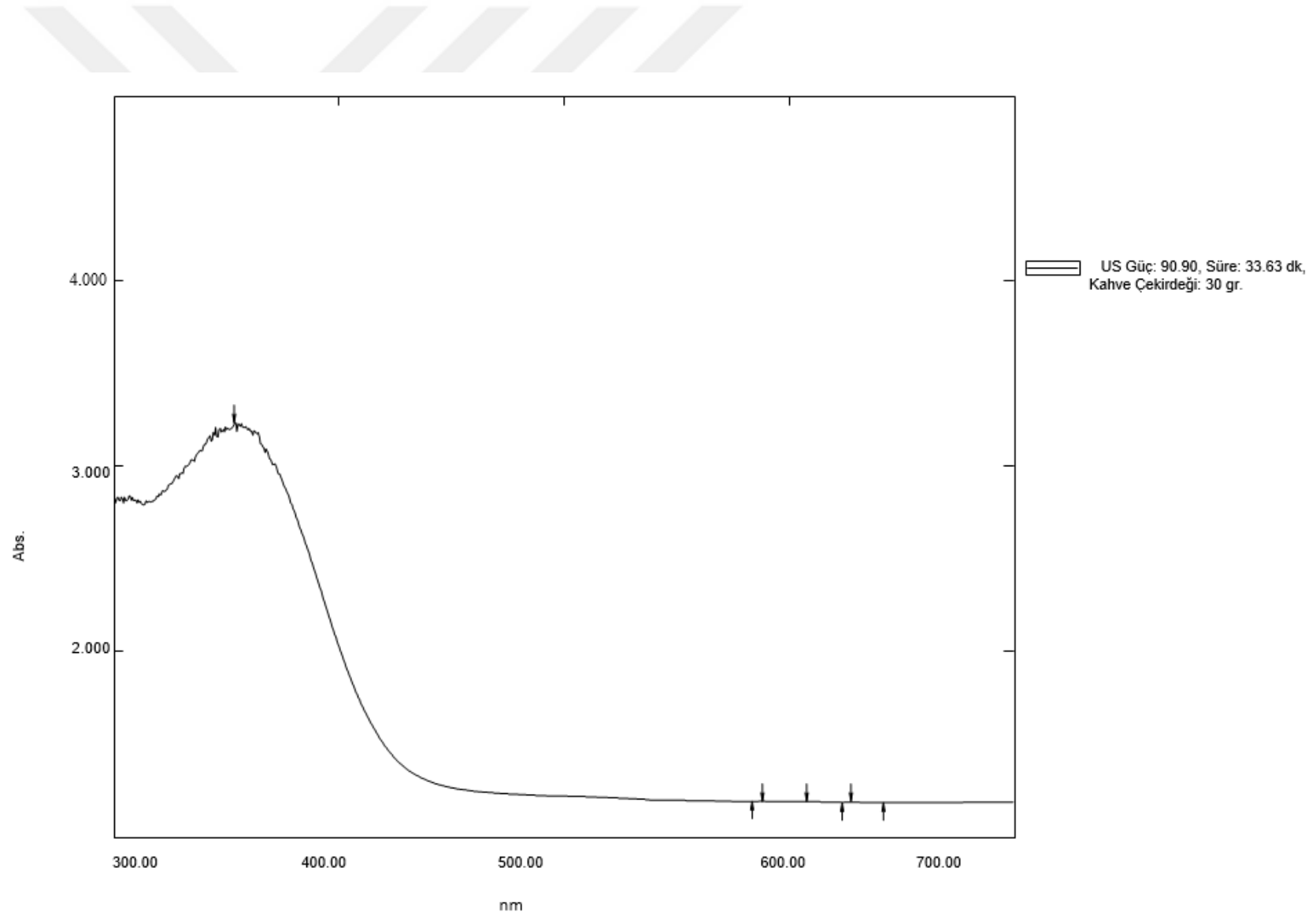
Değişkenler		Tahminlenen	
Süre (dk.)	33.63	TPC (ppm GAE)	6017
US gücü (%)	90.90	DPPH(ppm TE)	10483
Katı konsant. (%)	30	CUPRAC(mmol)	98.83

Optimum koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile TPC, DPPH ve CUPRAC değerleri sırasıyla 6603.33 ± 2025.94 ppm GAE, 9638.31 ± 372.17 ppm TE ve 98.83 mmol olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, tahminlenen değerler ile kıyaslandığında birbirine oldukça yakın olduğu bulunmuştur.

Nanopartikül Sentezi

Optimize edilen ekstraksiyon koşulları kullanılarak elde edilen yeşil kahve çekirdeği ekstraktı ile selenyum nanopartikülünün biyolojik sentezine gidilmiştir. Elde edilen nanopartikülün UV-vis spektrumu Şekil 9’da verilmiştir.

Şekil 9’da görüldüğü gibi selenyum naopartikül 350-400 nm arasında bir absorbands piki göstermiştir. Nanopartikül varlığını destekleyen bu pik sodyum selenitin ortamda bulunan indirgeyiciler varlığı ile Se^0 ’e indirgenmesi sonucu gözlenmektedir. Sarı yeşil olan renk indirgenme sonucunda turuncuya dönüşmektedir (Ingole, Thakare, Khati, Wankhade, & Burghate, 2010). Selenyum nanopartiküller elde edilme yöntemlerine bağlı olarak değişen dalga boylarında pikler verebilmektedir (Wadhwani vd., 2017).



Şekil 9. Selenyum nanopartikülüne ait UV-vis spektrumu.

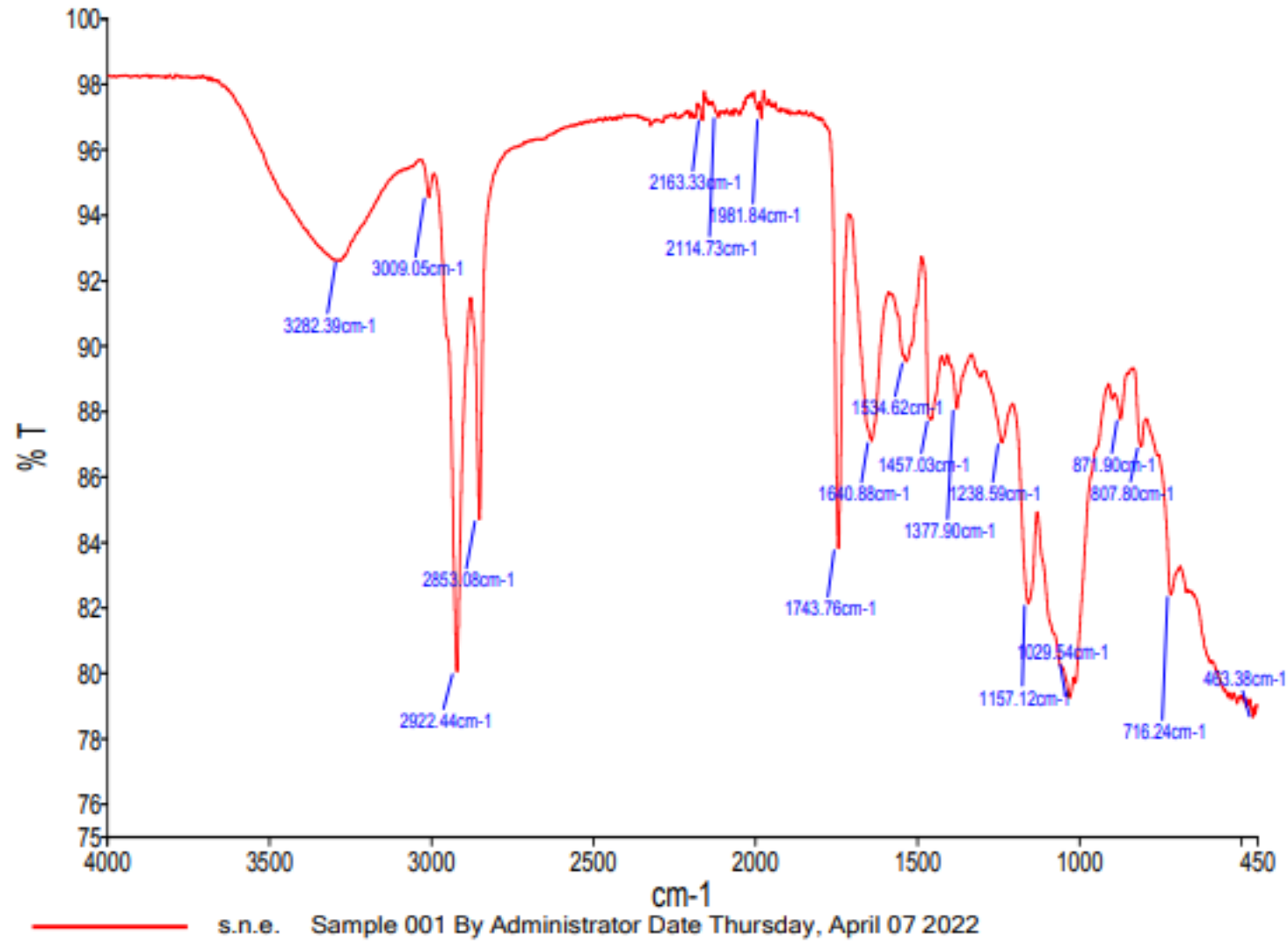
Selenyum Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

FTIR spektrumu.

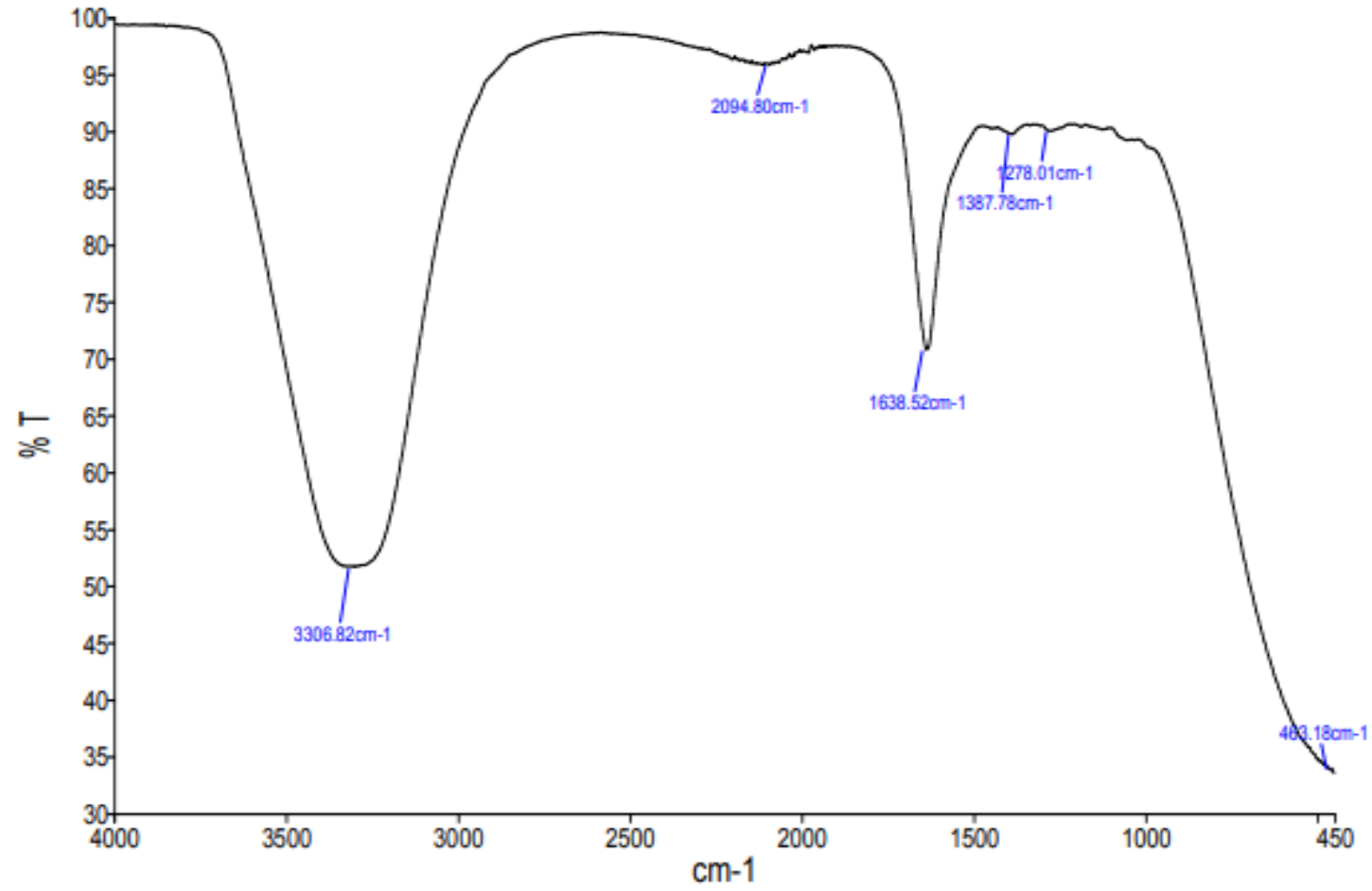
FTIR ile optimum koşullarda ekstrakte edilen yeşil kahve çekirdeği ekstraktı kullanılarak sentezlenen selenyum nanopartiküllerin fonksiyonel grupları belirlenmiş olup, selenyum nanopartiküllerin elde edilmesinde etkili olan ve stabilizasyonundan sorumlu olan çeşitli fitokimyasalların rolü değerlendirilmiştir. Selenyum nanopartikül ve yeşil kahve çekirdeği ekstraktına ait FTIR spektrumları Şekil 10 ve 11’de gösterilmiştir. Spektrumda görülen tepe noktaları, fonksiyonel grupların tanımlanmasında kullanılan standart değerlerle kıyaslanarak yorumlanmıştır.

Yeşil kahve çekirdeği ekstraktındaki tepe noktaları sırasıyla 3306, 2094, 1638,1387, 1278 ve 460cm⁻¹ ‘de görülmüştür. Ekstraktın indirgeyici ajan olarak rol aldığı sentez sonrası elde edilen selenyum nanopartikülün tepe noktaları ise 2922, 2853, 1743, 1640, 1534, 1457, 1377, 1238, 1157, 1029, 871, 807, 716 ve 463 cm⁻¹ olarak gözlemlenmiştir.

Ekstraktaki 3306 cm⁻¹ dalga boyundaki belirgin pik O-H ve N-H gruplarındaki gerilmeden kaynaklanmıştır (Wacławek, Gončuková, Adach, Fijałkowski, & Černík, 2018). FTIR spektroskopisi yeşil kahve çekirdeği ekstraktında yer alan fonksiyonel gruplardan alkol, fenol, amin ve karbonil gibi karakteristik özelliklerin absorpsiyon bantlarını göstermektedir. 1250-667 cm⁻¹ dalga boyu arası parmak izi bölgesi olarak adlandırılmıştır. Selenyum nanopartiküllerin FTIR spektrumunda parmak izi bölgesinde yer alan pikler ile yeşil kahve çekirdek ekstraktındaki piklerin benzerliği Se iyonlarının indirgenmesinde yeşil kahve çekirdeği ekstraktında bulunan fonksiyonel grupların rol aldığı görülmüştür. Selenyum nanopartiküle ait FTIR spektrumu kahve çekirdeği ekstraktında yer alan indirgenmeden sorumlu olan biyomoleküller hakkında bilgi verebilmektedir (Omid, Sedaghat, Tahvildari, Derakhshi, & Motiee, 2018).



Şekil 10. Selenyum nanopartikülüne ait FTIR diyagramı.

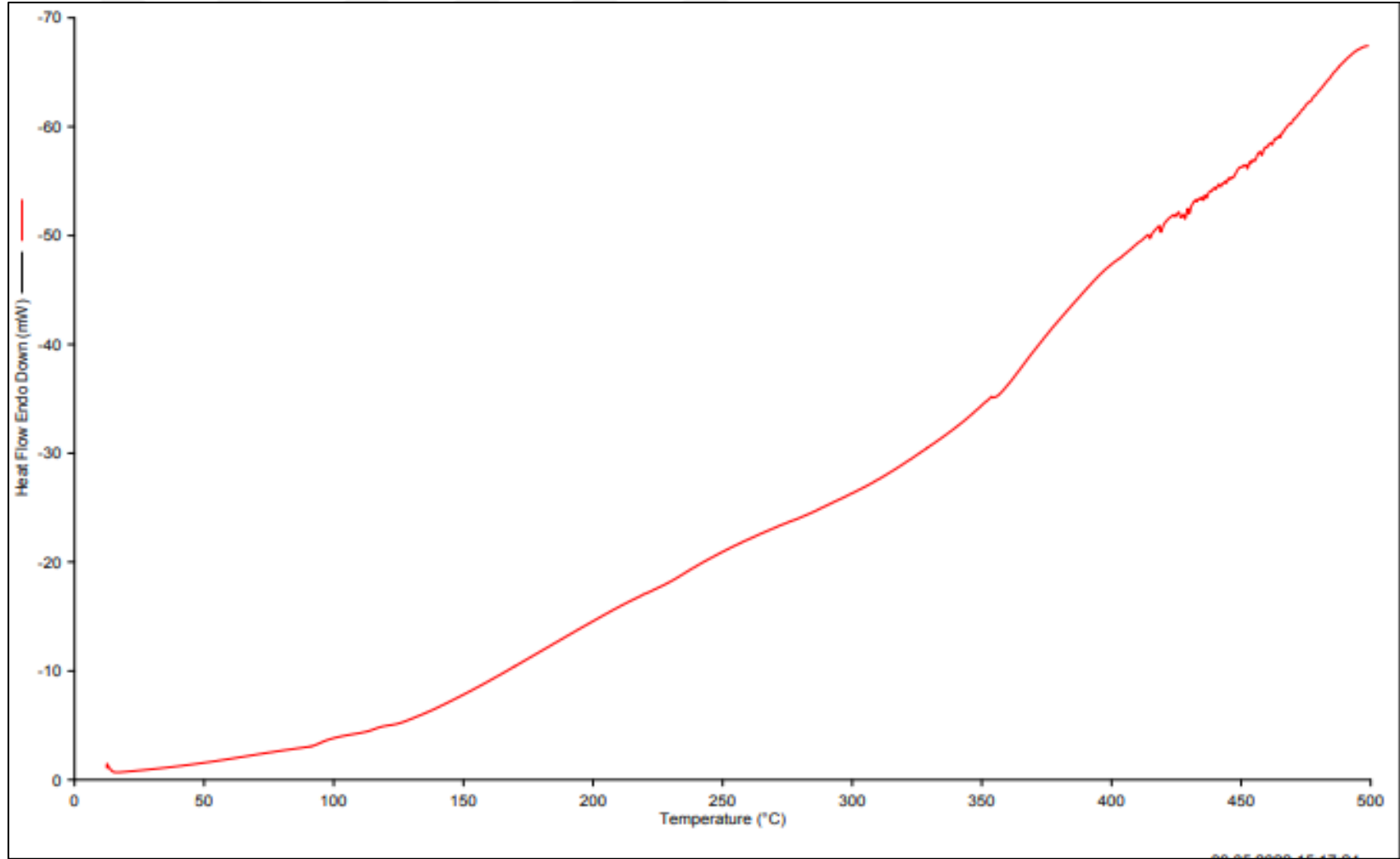


Şekil 11. Yeşil kahve çekirdeği ekstraktına ait FTIR diyagramı.

DSC analizi.

Şekil 12’de selenyum nanopartikülüne ait DSC diyagramı 0–500 °C aralığında karakterize edilmiştir. DSC diyagramından görülmektedir ki SeNP'lerin absorbe edilen suyun buharlaşmasına bağlı olarak 20 ila 150 °C arasında buharlaşma piki gözlenirken, SeNP'ler üzerindeki biyoaktif bileşenlerin ayrışmasıyla bağlantılı olarak 200 °C'nin üzerinde ekzotermik etki görülmektedir. DSC diyagramı selenyum nanopartikülün termal stabilitesini uzun süre koruyabildiğini göstermektedir.



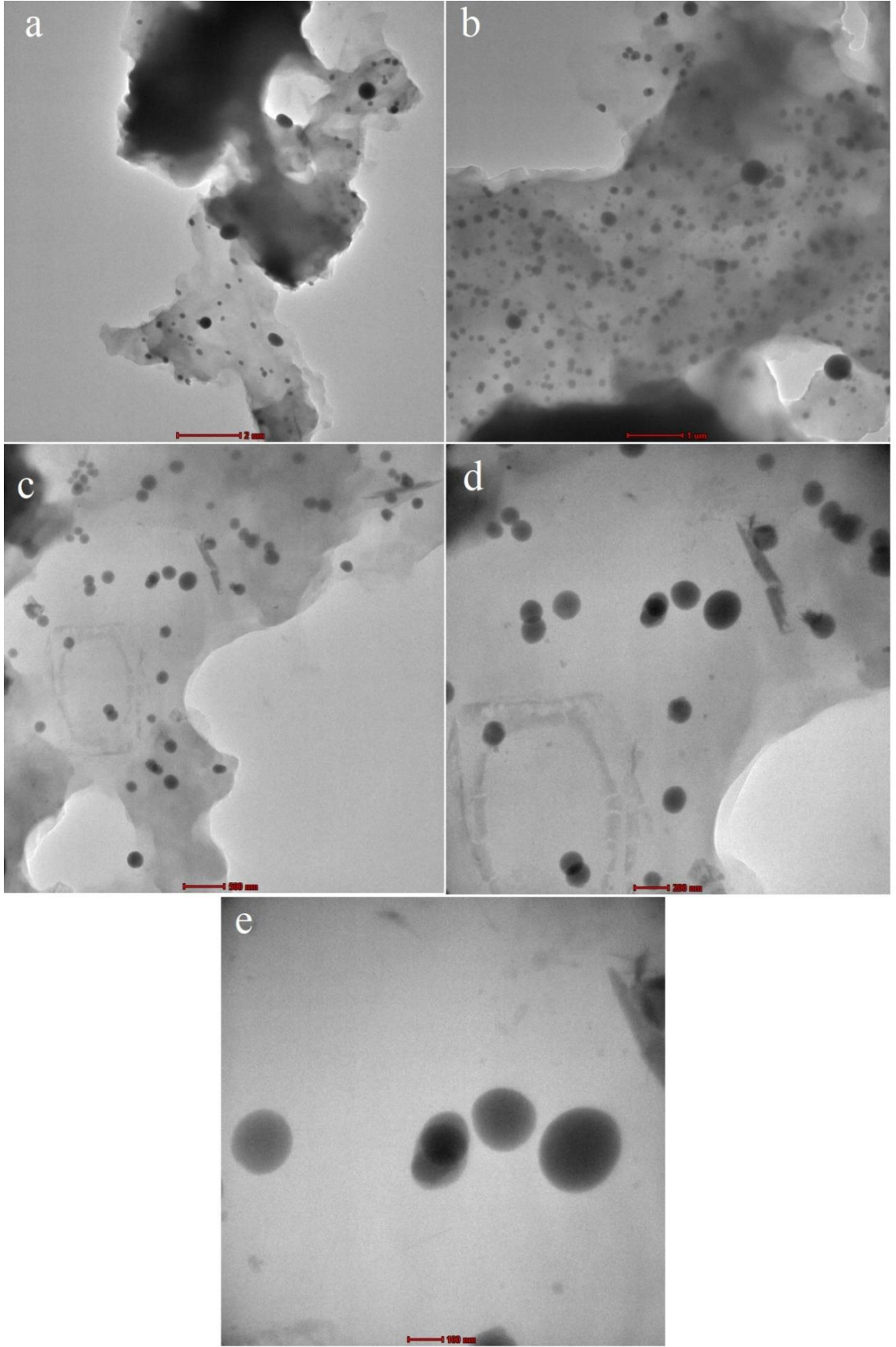


Şekil 12. Selenyum nanopartikülüne ait DSC diyagramı.

Transmisyon elektron mikroskobu (TEM).

Selenyum nanopartiküllerin yüzey morfolojisi ve boyutu transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile 2 µm, 1 µm, 500 nm, 200 nm ve 100 nm gibi farklı ölçeklerde görüntülenmiştir. Oluşan görüntüler Şekil 13'te verilmiştir. Elde edilen TEM görüntüleri sonucunda sentezlenen selenyum nanopartiküllerin Şekil 13'te de görüldüğü gibi nano boyutta, küresel ve yaklaşık olarak 100 nm olduğu belirlenmiştir.

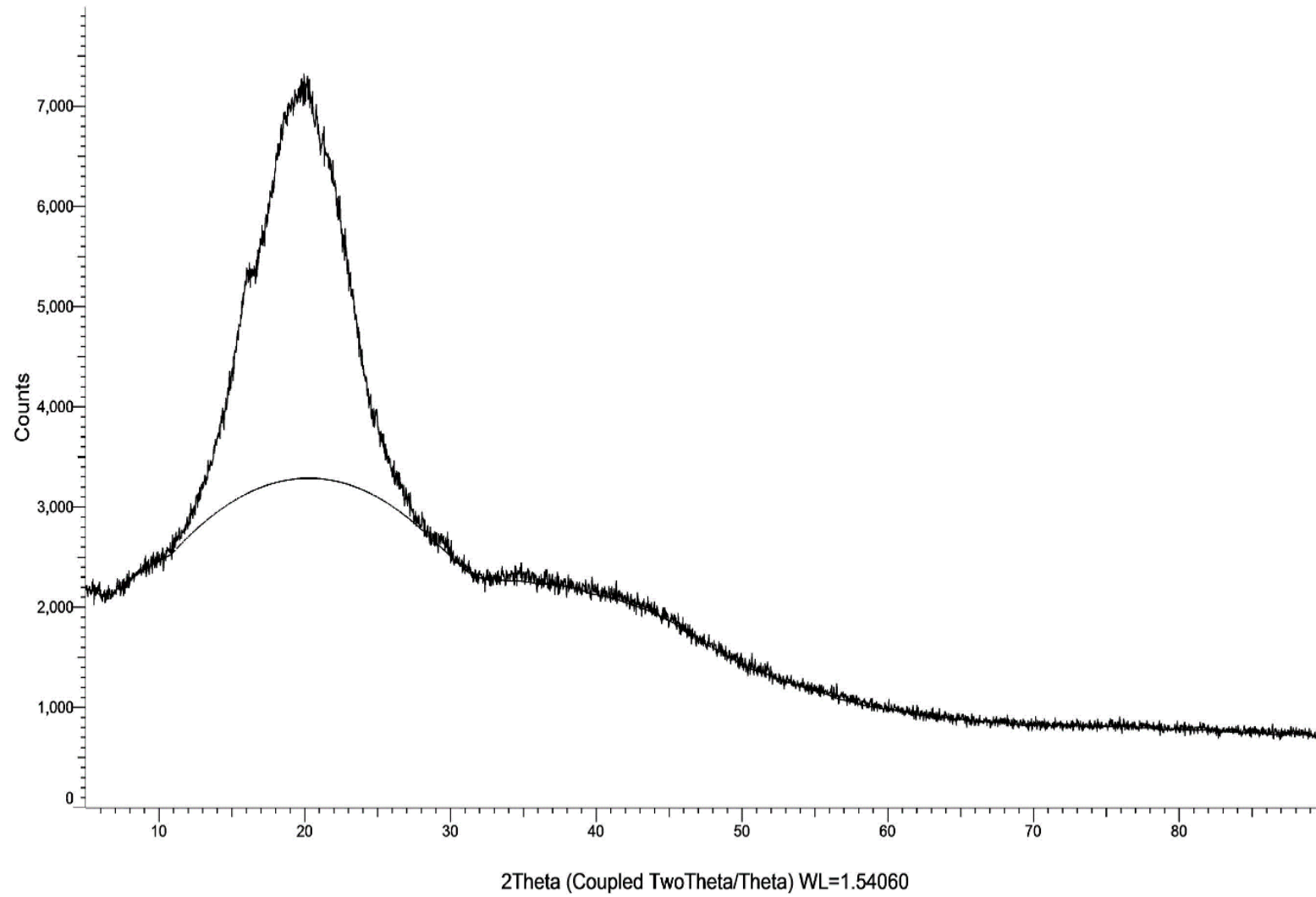
Yapılan bir çalışmada, sentezlenen selenyum nanopartiküllerinin morfolojisi ve yapısı TEM tekniği ile belirlenmiş olup, analiz sonucunda selenyum nanopartiküllerin küre şeklinde ve boyutlarının 20 ile 80 nm arasında olduğu belirtilmiştir (Ingole vd., 2010). Sharma vd. (2014) yaptığı bir çalışmada, biyolojik olarak sentezlenen selenyum nanopartiküllerinin boyut ve morfolojisini TEM analizi ile 5 nm ve 20 nm ölçeklerinde görüntülemişlerdir. Küresel yapıya sahip ve boyut olarak 3-18 nm arasında nanopartiküller olduğunu belirtmişlerdir. Faramarzi, Anzabi, & Jafarizadeh-Malmiri, (2020) yaptıkları bir çalışmada, *Saccharomyces cerevisiae* mayası ve sodyum selenit kullanarak sentezledikleri selenyum nanopartikülün karakterizasyonunda transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile nanopartikülün şekil ve boyutunu incelemişlerdir. Yapılan incelemeler sonucunda nanopartiküllerin 50 nm boyutuna sahip küresel olduğunu tespit etmişlerdir. Halofilik bir bakteri olan *Citricoccus sp.* kullanılarak optimizasyon koşulları pH 8, sıcaklık 30 °C, çalkalama hızı 150 rpm ve 24 saat süreyle biyolojik olarak sentezlenen selenyum nanopartiküllerin şekil ve boyutu transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile analiz edilmiştir. 500 nm ve 200 nm ölçeğinde oluşan görüntü sonucunda, selenyum nanopartikülün küresel yapıda ve parçacık boyutunun ortalama 104.46 ± 50.82 nm olduğu belirtilmiştir (Dinç, 2021).



Şekil 13. Selenyum nanopartikülün farklı ölçeklerde transmisyon elektron mikroskobu (TEM) görüntüsü, 2 μm (a), 1 μm (b), 500 nm (c), 200 nm (d) ve 100 nm (e).

X-ışınları kırınım difraktometresi (XRD).

Selenyum nanopartikülün X-ışını kırınım deseni Şekil 14'te verilmiştir. Şekilde 2θ açısı ve 0° ile 80° değerleri aralığında kırınımına uğrayan selenyum nanopartiküllerin yansımalarından elde edilen spektrumda yaklaşık 20° aralığında bir tane net geniş pik oluşmaktadır. Literatürde yer alan selenyum nanopartiküllerin XRD analizinde, 2θ açısı ve 15° ile 35° lik geniş bir tepe noktası oluşmuşsa bu nanopartiküllerin kristal olmadığı amorf yapıda olduğunu göstermektedir (Husen, & Siddiqi, 2014). Şekil 14'te de görüldüğü gibi 20° 'de oluşan pikin selenyum nanopartikülün amorf yapıda olduğunu göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, biyosentezlenmiş selenyum nanopartikülün XRD analizinde, 2θ açısı ve 10° ile 90° değerleri arasında kırınımına uğrayan nanopartiküllerin, X-ışını kırınım deseninde $23-26^\circ$ aralığında geniş bir difraksiyon piki oluştuğundan nanopartiküllerin amorf (düzgün olmayan) yapıda olduğu gözlemlenmiştir (Akçay, 2017).



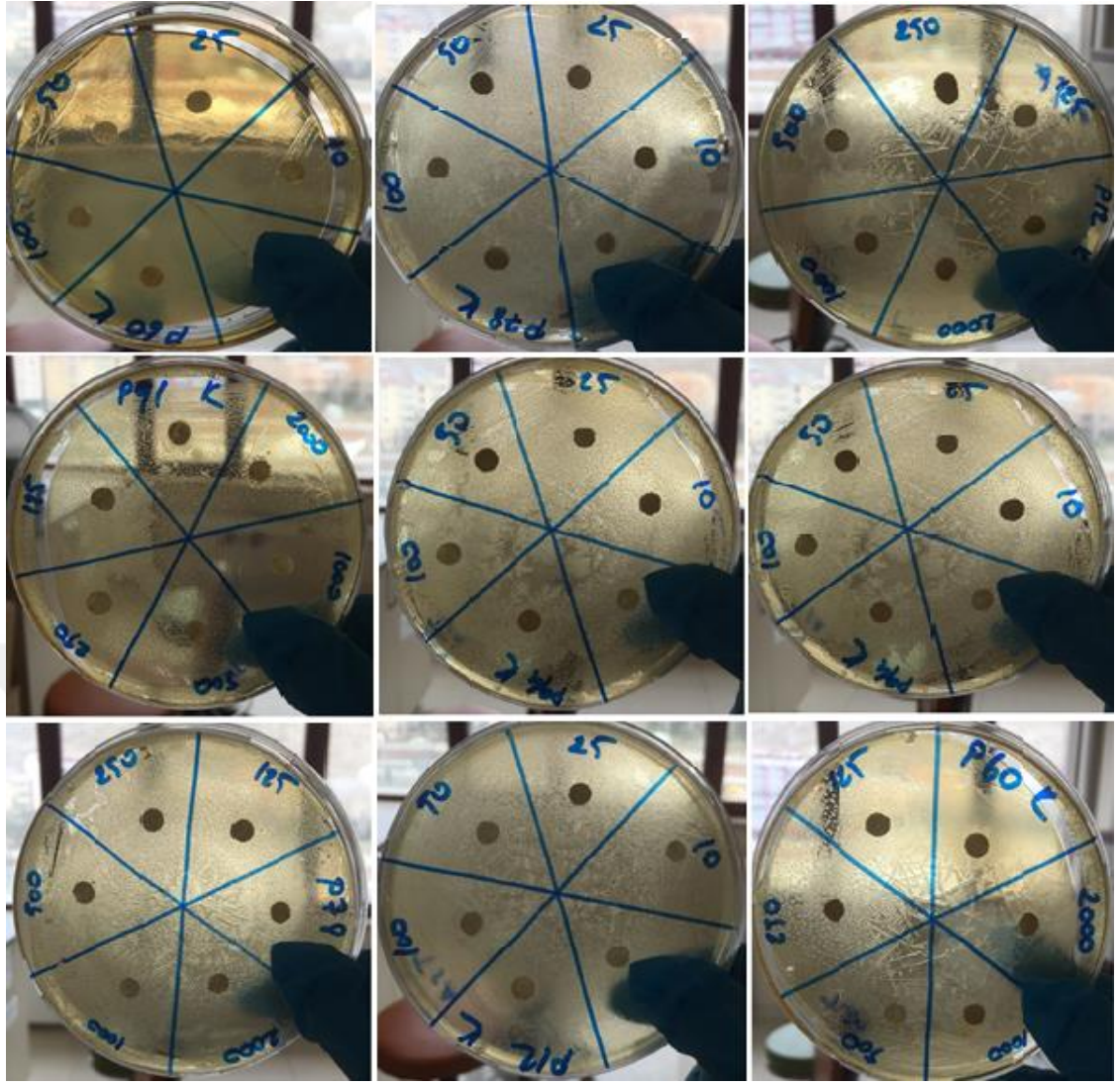
Şekil 14. Selenyum nanopartiküllerin XRD kırınım deseni.

DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi

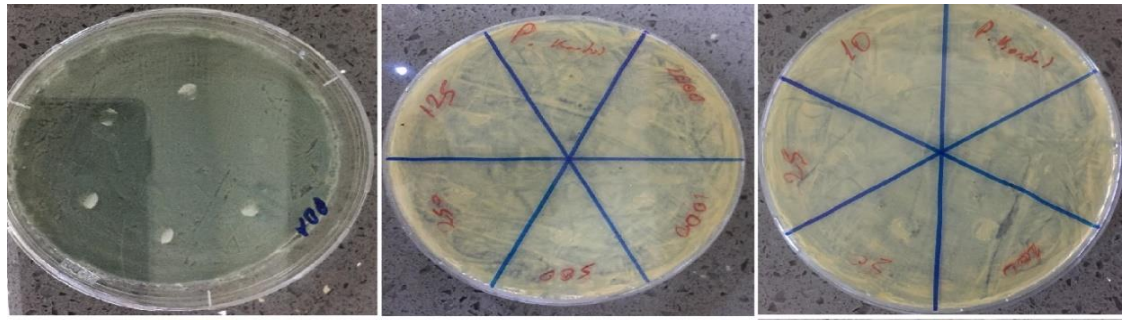
DPPH radikal süpürme aktivitesi tayininde herhangi bir antioksidan aktiviteye rastlanılmamıştır. Yapılan çalışmanın aksine Alagesan, & Venugopal, (2019) *Withania somnifera* yaprak ekstraktları kullanarak ürettikleri amorf selenyum nanopartiküllerinde DPPH radikali süpürme aktivitesi tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Antimikrobiyal Aktivite

Yeşil sentez yoluyla, optimum koşullarda yeşil kahve çekirdeği ekstraktı kullanılarak sentezlenen selenyum nanopartiküllerin antimikrobiyal özelliği Tablo 4’te yer alan 5 patojen bakteri (*Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*) ve 2 kf (*Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*) disk difüzyon yöntemiyle irdelenmiştir. Analiz sonucu şekil 15 ve 16’da gösterilmiştir. 5 patojen bakteri ve 2 kf üzerinde selenyum nanopartikülün, antimikrobiyal etki göstermediği tespit edilmiştir. Se⁰, nanopartikül olarak yüklü bir negatif kapak oluşturmak için SeNP yüzeyi ile etkileşime giren biyoorganik bileşiklere bağlı olarak boyutu ve yükü nedeniyle belirli antimikrobiyal özelliklere sahip olabilmektedirler (Escobar-Ramírez vd., 2021). Yapılan bu çalışmaya benzer şekilde Shubharani, Mahesh, & Yogananda Murthy, (2019) propolis ekstraktı kullanarak elde ettikleri selenyum nanopartiküllerinin *S. aureus*, *B. cereus*, *Salmonella typhi* zerine antibakteriyal aktivite göstermesine rağmen *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* zerine inhibisyon tespit etmediklerini bildirmişlerdir.



Şekil 15. Selenyum nanopartikülün antibakteriyel aktivite sonuçları.



Şekil 16. Selenyum nanopartikülün antifungal aktivite sonuçları.

BEŞİNCİ BÖLÜM

Sonuç

Yapılan bu tez çalışmasında, yeşil sentez yöntemi kullanılarak kahve çekirdeğinin biyoaktif bileşiklerinin ekstraksiyonunun optimizasyonu ile selenyum nanopartikül üretimi gerçekleştirilmiştir. Yeşil kahve çekirdeği ekstraksiyon koşulları optimize edilerek, optimum koşullar %90.90 ultrasonik güç, 33.63 dakika sonikasyon süresi ve %30 katı konsantrasyonu olarak bulunmuştur. Elde edilen ekstraktan mikrodalga desteği ile selenyum nanopartikül üretilmiştir. Üretilen selenyum nanopartiküller UV-vis spektrofotometrede 300-700 nm aralığında görüntülenmiştir ve fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), X-ışınları kırınım difraktometresi (XRD), diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile karakterizasyon analizleri yapılmıştır. Ayrıca antioksidan ve antimikrobiyel aktivitesi incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda selenyum nanopartiküllerin varlığı, Uv-vis spektrofotometresinde 350-400 nm arasında bir absorbans göstererek doğrulanmıştır. Yeşil kahve çekirdeği ekstraktı ile selenyum nanopartiküllerin FTIR spektrumları incelendiğinde $1250-667\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu arası parmak izi bölgesi olarak adlandırılmıştır. Selenyum nanopartiküllerin FTIR spektrumunda parmak izi bölgesinde yer alan pikler ile yeşil kahve çekirdek ekstraktındaki piklerin benzerliği Se iyonlarının indirgenmesinde yeşil kahve çekirdeği ekstraktında bulunan fonksiyonel grupların rol aldığını göstermektedir. Taramalı elektron mikroskobu (TEM) ile elde edilen görüntüler selenyum nanopartiküllerin yüzey şekillerinin küresel ve ortalama partikül boyutunun yaklaşık olarak 100 nm civarında olduğu görülmektedir. X-ışınları kırınım difraktometresi (XRD) analizi ile 20° 'de oluşan pikin selenyum nanopartikülün amorf yapıda olduğunu göstermektedir. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizinde ise 20 ila $150\text{ }^\circ\text{C}$ arasında buharlaşma piki gözlenirken, SeNP'ler üzerindeki biyoaktif bileşenlerin ayrışmasıyla bağlantılı olarak $200\text{ }^\circ\text{C}$ 'nin üzerinde ekzotermik etki oluşturup, selenyum nanopartikülünün termal stabilitesini uzun süre koruyabildiğini göstermektedir. Yapılan antioksidan ile antimikrobiyel aktivite analizleri sonucunda da kahve çekirdeği ekstraktından üretilen selenyum nanopartiküllerde herhangi bir antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye rastlanmamıştır. Yapılan tez çalışmasında, nanopartikül eldesi için biyoaktif bileşen varlığı yüksek ekstrakt kullanımı ile nano boyutta selenyum partiküllerin eldesi sağlanmıştır. Fakat selenyum nanopartiküllerin kullanım amacı ile farklı biyoaktif testlerle irdelenmesine ihtiyaç duyulabileceği söylenebilir.

Kaynakça

- Adams, F. C., & Barbante, C. (2013). Nanoscience, nanotechnology and spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 86, 3-13.
- Adibian, F., Ghaderi, R. S., Sabouri, Z., Davoodi, J., Kazemi, M., Ghazvini, K., Darroudi, M. (2022). Green synthesis of selenium nanoparticles using *Rosmarinus officinalis* and investigated their antimicrobial activity. *BioMetals*, 35(1), 147-158.
- Akçay, F. A. (2017). *Bazı bacillus suşlarının bakır, çinko ve selenyum nanopartikül üretimlerinin araştırılması* (Yüksek lisans tezi). Yüksek Öğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No. 488438)
- Alagesan, V., & Venugopal, S. (2019). Green synthesis of selenium nanoparticle using leaves extract of *withania somnifera* and its biological applications and photocatalytic activities. *Bionanoscience*, 9(1), 105-116.
- Altınay, Ç. (2008). *Üzüm çekirdeğinden fenolik bileşiklerin basınçlı sıvı ekstraksiyonu ve optimizasyonu* (Yüksek lisans tezi). Yüksek Öğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No. 232925)
- Altuncu, F. K., & Kamiloğlu, A. (2022). Optimization of microwave-assisted biosynthesis of silver nanoparticle with tarragon extract. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-15.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Aroufai, İ. A. (2020). *Farklı ülkelerde yetiştirilen kahve çekirdeklerinin antioksidan özelliklerinin ve biyoalınabilirliklerinin belirlenmesi* (Yüksek lisans tezi). Yüksek Öğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No. 621506)
- Bhushan, B. (2017). Introduction to nanotechnology. In *Springer handbook of nanotechnology* (pp. 1-19): Springer.
- Boateng, E. F., & Nasiru, M. M. (2019). Applications of ultrasound in meat processing technology: A review. *Food Sci. Technol*, 7, 11-15.
- Büyüktuncel, E. (2012). Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri I. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*(2), 209-242. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/hujpharm/issue/49831/639073> adresinden edinilmiştir.
- Cardeno Calle, L., & Londoño López, M. E. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using green coffee bean extract. *Paper presented at the VII Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2016, Bucaramanga, Santander, Colombia, October 26-28*.
- Çiftçi, F. (2019). *Cotinus coggygria scop. ve pistacia vera l. bitkileri kullanarak gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi, karakterizasyonu ve antimikrobiyal özelliklerinin incelenmesi* (Yüksek lisans tezi). Yüksek Öğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No. 597110)
- Çiftçi, H., Çalışkan, Ç. E., Öztürk, K., & Yazici, B. (2021). Yeşil yöntemle sentezlenen biyoaktif nanopartiküller. *Black Sea Journal of Engineering and Science*, 4(1), 29-42.
- Dedebaş, T., Capar, T. D., Ekici, L., & Yalçın, H. (2021). Yağlı tohumlarda ultrasonik-destekli ekstraksiyon yöntemi ve avantajları. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi* (21), 313-322.

- Dinç, S. K. (2021). *Biyojenik selenyum nanoparçacık üretimi, karakterizasyonu ve chlorella sp. mikroalginde oksidatif stres üzerine etkilerinin araştırılması* (Yüksek lisans tezi). Yüksek Öğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No.672929)
- Dingman, J. (2008). Guest commentary: nanotechnology: its impact on food safety. *Journal of Environmental Health*, 70(6), 47-50.
- Erdoğan, Ö., Birtokocak, F., Oryaşın, E., Abbak, M., Demirbolat, G. M., Salih, P., & Çevik, Ö. (2019). Enginar yaprağı sulu ekstraktı kullanılarak çinko oksit nanopartiküllerinin yeşil sentezi, karakterizasyonu, anti-bakteriyel ve sitotoksik etkileri. *Duzce Medical Journal*, 21(1), 19-26.
- Escobar-Ramírez, M. C., Castañeda-Ovando, A., Pérez-Escalante, E., Rodríguez-Serrano, G. M., Ramírez-Moreno, E., Quintero-Lira, A., Contreras-López, E., Añorve-Morga, J., Jaimez-Ordaz, J., & González-Olivares, L. G. (2021). Antimicrobial activity of Se-nanoparticles from bacterial biotransformation. *Fermentation*, 7(3), 130.
- Faramarzi, S., Anzabi, Y., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2020). Nanobiotechnology approach in intracellular selenium nanoparticle synthesis using *Saccharomyces cerevisia*-fabrication and characterization. *Archives of microbiology*, 202(5), 1203-1209.
- Fardsadegh, B., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2019). Aloe vera leaf extract mediated green synthesis of selenium nanoparticles and assessment of their in vitro antimicrobial activity against spoilage fungi and pathogenic bacteria strains. *Green Processing and Synthesis*, 8(1), 399-407.
- Fesharaki, P. J., Nazari, P., Shakibaie, M., Rezaie, S., Banoee, M., Abdollahi, M., & Shahverdi, A. R. (2010). Biosynthesis of selenium nanoparticles using *Klebsiella pneumoniae* and their recovery by a simple sterilization process. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 461-466.
- Fritea, L., Laslo, V., Cavalu, S., Costea, T., & Vicas, S. I. (2017). Green biosynthesis of selenium nanoparticles using parsley (*Petroselinum crispum*) leaves extract. *Studia Universitatis" Vasile Goldis" Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)*, 27(3), 203-208.
- Garg, S. K., Shukla, A., & Choudhury, S. (2021). Green coffee beans. In *Nutraceuticals* (pp. 725-748): Elsevier.
- Garofulić, I. E., Dragović-Uzelac, V., Jambrak, A. R., & Jukić, M. (2013). The effect of microwave assisted extraction on the isolation of anthocyanins and phenolic acids from sour cherry Marasca (*Prunus cerasus* var. Marasca). *Journal of Food Engineering*, 117(4), 437-442.
- Görgüç, A., Bircan, C., & Yılmaz, F. M. (2019). Sesame bran as an unexploited by-product: Effect of enzyme and ultrasound-assisted extraction on the recovery of protein and antioxidant compounds. *Food Chemistry*, 283, 637-645.
- Gürlük, N., Koluman, A., & Kahraman, T. (2022). Gıda işletmelerinde biyofilm sorunu ve gümüş nanopartikül uygulamaları. *Aydın Gastronomy*, 6(1), 51-63.
- Handa, S. (2008). An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, 1, 21-40.
- Husen, A., & Siddiqi, K. S. (2014). Plants and microbes assisted selenium nanoparticles: characterization and application. *Journal of nanobiotechnology*, 12(1), 1-10.
- Ince, A. E., Şahin, S., & Şümnü, S. G. (2013). Extraction of phenolic compounds from melissa using microwave and ultrasound. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37(1), 69-75.

- Ingole, A. R., Thakare, S. R., Khati, N., Wankhade, A. V., & Burghate, D. (2010). Green synthesis of selenium nanoparticles under ambient condition. *Chalcogenide Lett*, 7(7), 485-489.
- Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V., & Zolfaghari, B. (2014). Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Research in pharmaceutical sciences*, 9(6), 385.
- Khanna, P. K., Bisht, N., & Phalswal, P. (2022). Selenium nanoparticles: a review on synthesis and biomedical applications. *Materials Advances*.
- Khiralla, G. M., & El-Deeb, B. A. (2015). Antimicrobial and antibiofilm effects of selenium nanoparticles on some foodborne pathogens. *LWT-Food Science and Technology*, 63(2), 1001-1007.
- Kumaran, A. & Karunakaran, J.R. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food chemistry*, 97(1), 109-114.
- Kutlu, N., Kamiloglu, A., & Elbir, T. (2022). Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from tarragon (*artemisia dracunculus* L.) using box-behnken design. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-12.
- Kwiatkowski, M. J. (2020). *Investigating polyphenol extracts using microwave technology* (Doktora Tezi, University of Adelaide). <https://hdl.handle.net/2440/126855> adresinden edinilmiştir.
- Li, H., Chen, B., & Yao, S. (2005). Application of ultrasonic technique for extracting chlorogenic acid from *Eucommia ulmodies* Oliv.(*E. ulmodies*). *Ultrasonics sonochemistry*, 12(4), 295-300.
- Maran, J. P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., & Sridhar, R. (2013). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *Carbohydrate polymers*, 97(2), 703-709.
- McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food chemistry*, 73(1), 73-84.
- McNeil, S. E. (2005). Nanotechnology for the biologist. *Journal of leukocyte biology*, 78(3), 585-594.
- Mellinas, C., Jiménez, A., & Garrigós, M. d. C. (2019). Microwave-assisted green synthesis and antioxidant activity of selenium nanoparticles using *Theobroma cacao* L. bean shell extract. *Molecules*, 24(22), 4048.
- Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology advances*, 31(2), 346-356.
- Murugesan, G., Nagaraj, K., Sunmathi, D., & Subramani, K. (2019). Methods involved in the synthesis of selenium nanoparticles and their different applications-a review. *Eur J Biomed*, 6(4), 189-194.
- Omidi, S., Sedaghat, S., Tahvildari, K., Derakhshi, P., & Motiee, F. (2018). Biosynthesis of silver nanocomposite with Tarragon leaf extract and assessment of antibacterial activity. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 8(2), 171-178.
- Omran, B. A. (2020). Fundamentals of nanotechnology and nanobiotechnology. In *Nanobiotechnology: A Multidisciplinary Field of Science* (pp. 1-36): Springer.
- Pal, G., Rai, P., & Pandey, A. (2019). Green synthesis of nanoparticles: A greener approach for a cleaner future. In *Green synthesis, characterization and applications of nanoparticles* (pp. 1-26): Elsevier.

- Parthasarathi, S., & Anandharamakrishnan, C. (2019). Fundamentals of nanotechnology. *In Food Nanotechnology* (pp. 9-28): CRC Press.
- Pereira, W. D., Rajasekar, A., & Rajeshkumar, S. (2020). Green synthesis of selenium nanoparticles (senps) using aqueous extract of clove and cinnamon. *Plant Cell Biotechnology And Molecular Biology*, 85-91.
- Petkova, N., Ivanov, I., Vrancheva, R., Denev, P., & Pavlov, A. (2017). Ultrasound and microwave-assisted extraction of elecampane (*Inula helenium*) roots. *Natural Product Communications*, 12(2), 1934578X1701200207.
- Pimpley, V. A., & Murthy, P. S. (2021). Influence of green extraction techniques on green coffee: Nutraceutical compositions, antioxidant potential and in vitro bio-accessibility of phenolics. *Food Bioscience*, 43, 101284.
- Pouri, S., Motamedi, H., Honary, S., & Kazeminezhad, I. (2018). Biological synthesis of selenium nanoparticles and evaluation of their bioavailability. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60.
- Pyrzynska, K., & Sentkowska, A. (2021). Biosynthesis of selenium nanoparticles using plant extracts. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 1-14.
- Ragaei, M., & Sabry, A.-k. H. (2014). Nanotechnology for insect pest control. *International journal of science, environment and technology*, 3(2), 528-545.
- Rai, S., Wahile, A., Mukherjee, K., Saha, B. P., & Mukherjee, P. K. (2006). Antioxidant activity of *Nelumbo nucifera* (sacred lotus) seeds. *Journal of ethnopharmacology*, 104(3), 322-327.
- Ramírez-Moreno, E., Zafra-Rojas, Q. Y., Arias-Rico, J., Ariza-Ortega, J. A., Alanís-García, E., & Cruz-Cansino, N. (2018). Effect of ultrasound on microbiological load and antioxidant properties of blackberry juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), e13489.
- Reller, L. B., Weinstein, M., Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical infectious diseases*, 49(11), 1749-1755.
- Routray, W., & Orsat, V. (2012). Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 409-424.
- Sekhon, B. S. (2010). Food nanotechnology—an overview. *Nanotechnology, science and applications*, 3, 1.
- Sharma, G., Sharma, A. R., Bhavesh, R., Park, J., Ganbold, B., Nam, J.-S., & Lee, S.-S. (2014). Biomolecule-mediated synthesis of selenium nanoparticles using dried *Vitis vinifera* (raisin) extract. *Molecules*, 19(3), 2761-2770.
- Shubharani, R., Mahesh, M., & Yogananda Murthy, V. (2019). Biosynthesis and characterization, antioxidant and antimicrobial activities of selenium nanoparticles from ethanol extract of Bee Propolis. *J Nanomed Nanotechnol*, 10(522), 2.
- Skalickova, S., Milosavljevic, V., Cihalova, K., Horky, P., Richtera, L., & Adam, V. (2017). Selenium nanoparticles as a nutritional supplement. *Nutrition*, 33, 83-90.
- Srinivas, V. (2021). What are the uses and applications of nanoparticles. *American Journal of Preventive Medicine and Public Health*, 7(6).
- Türkay, M. (2011). Optimizasyon modelleri ve çözüm metodlari. <http://home.ku.edu.tr/~mturkey/indr501/Optimizasyon.pdf>.

- Upadhyay, R., Ramalakshmi, K., & Rao, L. J. M. (2012). Microwave-assisted extraction of chlorogenic acids from green coffee beans. *Food Chemistry*, 130(1), 184-188.
- Wacławek, S., Gončuková, Z., Adach, K., Fijałkowski, M., & Černík, M. (2018). Green synthesis of gold nanoparticles using *Artemisia dracunculus* extract: control of the shape and size by varying synthesis conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(24), 24210-24219.
- Wadhwani, S. A., Gorain, M., Banerjee, P., Shedbalkar, U. U., Singh, R., Kundu, G. C., & Chopade, B. A. (2017). Green synthesis of selenium nanoparticles using *Acinetobacter* sp. SW30: Optimization, characterization and its anticancer activity in breast cancer cells. *International journal of nanomedicine*, 12, 6841.
- Wang, G., Zhao, K., Gao, C., Wang, J., Mei, Y., Zheng, X., & Zhu, P. (2021). Green synthesis of copper nanoparticles using green coffee bean and their applications for efficient reduction of organic dyes. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105331.
- Wang, M., Zhang, W., Zheng, X., & Zhu, P. (2017). Antibacterial and catalytic activities of biosynthesized silver nanoparticles prepared by using an aqueous extract of green coffee bean as a reducing agent. *Rsc Advances*, 7(20), 12144-12149.
- Whatmore, R. W. (2006). Nanotechnology what is it? Should we be worried? *Occupational Medicine*, 56(5), 295-299.
- Yağcıoğlu, P. (2015). *Farklı ekstraksiyon metotları ile adaçayı (Salvia officinalis L.) bitkisinden antioksidan ekstraksiyonunun optimizasyonu* (Yüksek lisans tezi). Yüksek Öğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi'nden edinilmiştir. (Tez No. 421022)
- Yavuz, İ., & Yilmaz, E. Ş. (2021). Biyolojik sistemli nanopartiküller. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 2(1), 93-108.
- Yilmaz, M. T., İspirli, H., Taylan, O., & Dertli, E. (2020). Synthesis and characterisation of alternan-stabilised silver nanoparticles and determination of their antibacterial and antifungal activities against foodborne pathogens and fungi. *LWT*, 128, 109497.
- Yücel, N., İspirli, H., Mercan, E., Erdoğan, Ü., & Dertli, E. (2021). Synthesis of alternan-stabilized zinc nanoparticles: morphological, thermal, antioxidant and antimicrobial characterization. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 51(4), 331-339.
- Zhang, W., Zhang, J., Ding, D., Zhang, L., Muehlmann, L. A., Deng, S.-e., Zhang, W. (2018). Synthesis and antioxidant properties of *Lycium barbarum* polysaccharides capped selenium nanoparticles using tea extract. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(7), 1463-1470.

Öz Geçmiş

İlk ve ortaöğretimini 100. Yıl İlköğretim Okulunda tamamladı. Liseyi Atatürk Lisesinde okudu. Üniversitesinde Bilgisayar Teknolojileri ve Programlama bölümünü bitirdi. Bayburt Üniversitesinde Fen Bilgisi Öğretmenliği, Gıda Mühendisliği, Optisyenlik, Fotoğrafçılık ve Kameramanlık bölümlerini okudu. Son olarak Üniversitesinde Gıda Mühendisliği alanında yüksek lisans yapmaktadır.

