

T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİYLE DEMİR NANOPARTİKÜLLERİN
BAL FENOLİK EKSTRAKTIYLA SENTEZİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

CEYLAN BARUT

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Bülent KAYA

BİNGÖL-2023



T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİYLE DEMİR NANOPARTİKÜLLERİN BAL FENOLİK
EKSTRAKTIYLA SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Doç. Dr. Bülent KAYA danışmanlığında, Ceylan Barut tarafından hazırlanan bu çalışma 10/02/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak **oybirliği/ (3/3)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Mehlika BENLİ

İmza :

Üye : Doç. Dr. Fethi Ahmet ÖZDEMİR

İmza :

Üye : Doç. Dr. Bülent KAYA

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun// tarih ve/ nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer ŞİAR
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Tez çalışmaları süresince kendilerine ne zaman danışsam değerli zamanından ayırıp büyük bir sabırla yardımlarını ve bilgi birikimini esirgemeyen, çalışmaların tamamlanabilmesi için gerekli her tür desteği veren değerli hocam Doç. Dr. Bülent KAYA'ya teşekkürlerimi ve saygılarımı iletirim.

Yüksek lisans tezim boyunca desteklerini esirgemeyen her konuda yardımcı olan Arş. Gör. Gökhan DERVİŞOĞLU hocama, Murat POLAT'a, Özgür BAYNAL'a diğer çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak her zaman arkamda duran, hayatımın her evresinde en büyük destekçim olan benim için her tür fedakârlıktan kaçınmayan ve dualarını esirgemeyen anne ve babama teşekkürü bir borç bilirim.

Ceylan BARUT

Bingöl 2023

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Nanoteknoloji	2
1.2. Nanopartiküller (NP)	2
1.3. Metalik Nanopartiküllerin Sınıflandırılması.....	3
1.4. Demir Elementinin Özellikleri	4
1.5. Demir Oksit Nanopartiküller	5
1.6. Metal Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri	5
1.6.1. Aşağıdan Yukarıya Yaklaşımı (Bottom-up)	6
1.6.2. Yukarıdan Aşağıya Yaklaşımı (Top-down	7
1.7. Nanopartikül Sentezinde Yeşil Sentez Metodu ve Önemi	8
1.8. Nanopartiküllerin Bal Aracılı Yeşil Sentezi	8
1.9. Doğal Bal	9
1.9.1. Balın Fiziksel Özellikleri	10
1.9.2. Balın Kimyasal Özellikleri	10
1.9.3. Balın Antimikrobiyal Özellikleri	11
1.9.4. Balın Antioksidan Özellikleri	11
1.9.5. Balın Kansere Üzerine Etkisi	12
1.9.6. Balın Fenolik Bileşiklerinin Özellikleri	12
2. KAYNAK ÖZETLERİ	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	20
3.1. Materyaller	20

3.1.1. Kullanılan Mikroorganizmalar	20
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	20
3.2. Yöntem	21
3.3. Bal Ekstraktının Elde Edilmesi	21
3.4. Demir Nanopartikülünün Biyolojik (Green) Sentezi	22
3.5. Demir Nanopartikülünün Karakterizasyonu	22
3.5.1. UV-Visible Spektrofotometre Analizi	23
3.5.2. XRD Analizi	23
3.5.3. FTIR Analizi	23
3.5.4. SEM (Scanning Electron Microscope) Analizi	23
3.5.5. TEM (Transmission Electron Microscope) Analizi	24
3.6. Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi	24
3.6.1. Toplam Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi	24
3.6.2. Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi	24
3.6.3. Toplam Flavanoid İçeriğinin Belirlenmesi	24
3.6.4. DPPH ve ABTS	25
3.6.5. Metal Şelatlama Aktivitesinin Ölçülmesi	25
3.7. Demir Nanopartikülünün Antimikrobiyal Aktivitesini Belirleme	25
3.7.1. Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi	26
3.8. Antikanser Kapasitenin Belirlenmesi	26
3.8.1. Bal Ekstraktlarının ve HPE@FeNPs Hücre Canlılık Testi	26
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	28
4.1. Demir Nanopartikülünün Antimikrobiyal Aktivitesini Belirleme	28
4.1.1. UV-Vis (Ultraviyole-Görünür Spektroskopisi)	28
4.1.2. XRD ve TEM	29
4.1.3. FTIR	30
4.1.4. SEM ve EDX	31
4.1.5. Zeta Sizer ve Zeta Potansiyeli	32
4.2. Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi	34
4.3. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi	35
4.4. Antioksidan Aktivite	36
4.4.1. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Giderimi	36
4.4.2. Toplam Antioksidan Kapasitesi	37

4.4.3. Metal Şelatlama Aktivitesi	38
4.5. Antimikrobiyal Aktivite	39
4.5.1. Bal Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivitesine ait Bulgular	39
4.6. Antisitotoksik Aktivite	41
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	50



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

°C	: Santigrat derece
cm	: Santimetre
mL	: Mililitre
DLS	: Dinamik Işık Saçılım
Dk	: Dakika
EDS	: Enerji dağılımı spektrometresi
Fe	: Demir
FeCl ₂	: Demir (II) klorür
FeCl ₃	: Demir (III) klorür
FeNP	: Demir nanopartikülü
H ₂ SO ₄	: Hidrojen Sülfat
M	: Molar
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
Gr	: Gram
NP	: Nanopartikül
Na ₂ CO ₃	: Sodyum karbonat
NaH ₂ PO ₄	: Mono sodyum Fosfat
NaNO ₂	: Sodyum nitrat
NaOH	: Sodyum hidroksit
pH	: Asitlik veya alkalilik derecesi
rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı
O	: Oksijen
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
TEM	: Geçirimli elektron mikroskobu
UV	: Ultraviyole ışınları
XRD	: X-ışınları difraksiyon analizi
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre

mV	: Milivolt
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
<i>S.aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
Fe ₂ O ₃	: Demir üç oksit
Fe ₂ O ₄	: Doğal Demir üç oksit
DMEM	: Dulbecco's modified eagle media
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrihidrazil
FBS	: Fetal bovine serum
FTIR	: Fourier dönüşümlü infrared spektroskopi
A549	: İnsan akciğer kanseri hattı
WST-1	: Hücre proliferasyon reaktifi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Nanopartikül sentezinde kullanılan yöntemler.....	6
Şekil 1.2.	Yukarıdan aşağıya yaklaşımı ve Aşağıdan yukarıya yaklaşımı.....	7
Şekil 1.3.	Nanopartiküllerin bal aracılı yeşil sentezinin genelleştirilmiş şematik diyagramı (Balasooriya et al., 2017).....	9
Şekil 3.1.	Bal fenolik ekstraktının elde edilmesi aşamaları.....	21
Şekil 3.2.	a) Demir nanopartikül çözeltisinin santrifüjden önceki b) Demir nanopartikül çözeltisinin santrifüjden sonraki hali	22
Şekil 4.1.	FeNP1'nin UV-Vis alan taraması.....	28
Şekil 4.2.	Yeşil sentez metodu ile sentezlenen FeNP1'nin XRD grafiği.....	29
Şekil 4.3.	Yeşil sentez metodu ile sentezlenen FeNP1'nin TEM grafiği.....	30
Şekil 4.4.	HPE@FeNP FTIR sonucu.....	31
Şekil 4.5.	HPE@FeNP SEM görüntüsü HPE@FeNP'lerin Sem fotoğrafı	32
Şekil 4.6.	HPE@FeNP EDX sonucu	32
Şekil 4.7.	HPE@FeNP Zeta Sizer sonucu.....	33
Şekil 4.8.	Bal ekstraktı ve HPE@FeNP'nin gallik asit standart grafiğine göre toplam fenolik içeriği.....	35
Şekil 4.9.	Bal ekstraktı ve HPE@FeNP quercetin standart grafiğine göre toplam flavonoid içeriği.....	36
Şekil 4.10	Bal ekstraktı ve HPE@FeNP'nin DPPH giderme aktivitesi (%)	37
Şekil 4.11.	Bal ekstraktı ve HPE@FeNP askorbik asit standart grafiğine göre toplam antioksidan kapasitesi	38
Şekil 4.12.	Bal ekstraktı ve HPE@FeNP metal şelatlama aktivitesi (%)	39
Şekil 4.13.	Mikroorganizmaların üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri görüntüsü	40
Şekil 4.14.	Bal ekstraktının ve HPE@FeNPs'nin A549 hücre hatlarındaki toplam antioksidan seviyesi	41

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1.1.	Nanopartiküllerin sınıflandırılması	3
Tablo 1.2.	Metalik nanopartiküllerin avantaj, dezavantaj ve karakterizasyonu.....	4
Tablo 4.1.	Zeta potansiyel tablosu	33
Tablo 4.2.	Zeta potansiyel tablosu	34
Tablo 4.3.	HPE@FeNPs, bal ekstraktı ve kontrol (Streptomycin) zon çapı değerleri.....	40

YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİYLE DEMİR NANOPARTİKÜLLERİN BAL FENOLİK EKSTRAKTIYLA SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada; bal ekstraktı kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle demir nanopartikülünün, antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser aktiviteleri karşılaştırılarak değerlendirilmesi yapılmıştır. Ayrıca elde edilen bu NP'lerin yapısal, morfolojik ve optik özellikleri UV-Vis, FTIR, XRD, SEM, TEM, EDX ve Zeta potansiyeli kullanılarak karakterize edilmiştir. Devamında DPPH, ABTS, metal şelatlama aktivitesi ve toplam antioksidan kapasitesi ile antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Aynı zamanda balın toplam fenolik ve flavonoid içerikleri belirlenmiş ve yeşil sentezle elde edilen demir nanopartikülüne bağlanan bal ekstraktının fenolik ve flavonoid bileşenleri miktarsal olarak karşılaştırılmıştır. Antimikrobiyal aktivitede ise *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 76521 *Escherichia coli* ATCC 25922 Gram (-), *Staphylococcus aureus* ATCC 35150 Gram (+), *Candida Albicans* mikroorganizmalarında etkinliği araştırılmıştır. Ayrıca demir nanopartikülünün. Antikanser aktivitenin değerlendirilmesinde A549 akciğer kanser hücre hattı üzerinde etkinliğine bakılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bal, yeşil sentez demir nanoparçacık, antikanser, antimikrobiyal.

SYNTHESIS OF IRON NANOPARTICLE WITH HONEY PHENOLIC EXTRACT AND DETERMINATION OF THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES BY THE GREEN SYNTHESIS METHOD

ABSTRACT

In this study; Comparative evaluation of antioxidant, antimicrobial and anticancer activities of iron nanoparticle by green synthesis method using honey extract was made. In addition, the structural, morphological and optical properties of these NPs were characterized using UV-Vis, FTIR, XRD, SEM, TEM, EDX and Zeta potentials. Afterwards, DPPH, ABTS, metal chelating activity and total antioxidant capacity and antioxidant activities were evaluated. At the same time, the total phenolic and flavonoid contents of honey were determined and the phenolic and flavonoid components of the honey extract bound to the iron nanoparticle obtained by green synthesis were quantitatively compared. In antimicrobial activity, its effectiveness was investigated in *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 76521, *Escherichia coli* ATCC 25922 Gram (-), *Staphylococcus aureus* ATCC 35150 Gram (+), *Candida Albicans* microorganisms. In the evaluation of anticancer activity, its effectiveness on the A549 lung cancer cell line was examined.

Keywords: Honey, green synthesis iron nanoparticle, anticancer, antimicrobial.

1. GİRİŞ

Nanoteknoloji gelişen teknoloji içinde günümüz dünyasında önemli bir çalışma alanıdır. İnterdisipliner çalışmaları ön planda tutarak gelecek dönemin teknolojisi olacağı öngörülen ve böylelikle günlük hayatımıza giren “Nanoteknoloji” sayesinde metal partiküllerin nano boyutta kullanımı ile ileri teknolojik malzemelerin kullanımı giderek artmaktadır. Nanopartikül 1-100 nm boyutunda parçacıklara indirgenen malzemelerdir böylelikle fiziksel özellikleri ve yüzey kimyası değişir. Bu değişimle çevresel etkileşim ve dağılımı farklılaşır ve yeniden şekillenir bu sayede meydana gelen farklılaşma yeni ve farklı ürünlerin üretebilme olanağını arttırır. Nanoteknoloji, maddeye yeni özellikler kazandırması sayesinde yakın zamanda sanayiye ve insan yaşamına yenilikçi bir şekil vereceği öngörülmektedir. Nanoteknoloji, molekül ölçeğinde özel yöntem ve tekniklerle yapıların, materyallerin, araçların inşa edilmesini sağlayacak yenilikçi bir yaklaşımdır. Bu ölçeğinde ölçme, izleme, tahmin etme ve yapım faaliyetlerinde bulunarak bu ölçeğin bazı temel özelliklerinden yararlanma yeteneğini belirtmektedir (Lee, 2007).

Biyo uyumlu demir nanoparçacıklarının sentezlenmesinde bitki ve doğal kaynakların kullanıldığı “Yeşil Sentez” son zamanlarda ilgi çeken bir yaklaşımdır. Yeşil sentez yönteminde toksik kimyasal kullanılmadığı gibi aynı zamanda yüksek basınç, sıcaklık ve enerji ihtiyacına gerek duyulmaz. Çevre dostu, maliyeti az olan farmasötik biyomedikal uygulamalarda kullanılabilirliği daha faydalıdır (Yoruç ve Uğraşkan, 2017).

Bal, olağanüstü tıbbi, kimyasal, fiziksel ve farmasötik değerlerle dünyanın en eski besin kaynağı olarak belgelenmiştir. Bal estraktı kullanılarak yapılan yeşil sentez, son birkaç yılda altın, gümüş, karbon, platin ve paladyum nanoparçacıklarını sentezlemek için kullanılan nispeten yeni bir kavramdır. Bal hem stabilize edici hem de bir ajan olarak hareket eder ve daha önemlisi nanoparçacık sentezinde bir öncü olarak işlev görür. İndirgeyici Bal fenoliği kullanılan yeşil sentez, basit uygun maliyetli biyoyumlu, tekrarlanabilir, hızlı ve güvenli bir yöntem sağlar. Bal ile fonksiyonelleştirilmiş nanopartiküllerin özel aktivitesi, çeşitli alanlarda çok sayıda uygulama ile değerli son ürünler sağlanabilir (Balasooriya et al., 2017).

Bu yüksek lisans tez çalışması ile bal fenolik ekstraktıyla yeşil sentez yöntemi çalışmaları ile sentezlenen demir nanopartiküllerin karakterizasyonu farklı teknikler kullanılarak yapılmış ve çeşitli biyolojik aktiviteleri (Antikanser, Antioksidan, Antimikrobiyal aktivitesi vb.) değerlendirilmiştir.

1.1. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, madde boyutlarının 1-100 nm ölçeklikte elde edilmesi sayesinde tasarım, düzenleme, modelleme ve ölçüm gibi çalışmalarda fayda sağlayan bir bilim dalıdır. Maddeyi atom ve moleküler boyutta geliştirerek yeni fiziksel, biyolojik ve kimyasal özellikler sağlamayı hedefleyen hızlı aynı zamanda yeni gelişmiş teknolojik bir alandır (Beykaya ve Çağlar, 2016).

1.2. Nanopartiküller (NP)

Boyutları 1-100 nm arasında meydana gelen toz veya tanecikler yani nanopartiküller, nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır. Farklı ve üstün özellikler göstermesi sayesinde ve milyonlarca atom içermesiyle nanopartiküller dikkat çekmiştir. Nano boyuttaki malzemelerin normal boyuttakine göre farklı özellik göstermesinin sebebi elde edilen yüzey etkisi ve kuantum etkisi sayesinde. Nanopartiküller yüzey atomlarının eşsiz özellikleri, kuantum boyut etkileri, elektronik yapısının boyut bağımlılığı ve yüksek yüzey/hacim oranı ile benzersiz fiziksel, kimyasal ve mekanik özelliklere sahip olmuşlardır (Baglioni ve Giorgi, 2006; Buzea et al., 2007).

Yalgın 2014 yılında yaptığı çalışmada nanopartiküllerin immobilizasyonları sonucunda çevrimiçi sistem kullanılmıştır. Bu sayede biyomoleküllerin yüzey alanını genişleterek daha duyarlı ve elektif analizlerin yapılması sağlanmıştır.

1.3. Metalik Nanopartiküllerin Sınıflandırılması

Faraday 1857 yılında çözelti halinde ilk metal nanopartikülün varlığını rapor etmiştir (Edwards ve Thomas, 2007). Nanopartikül alanında metal nanopartiküller yeni bir terminoloji olarak ortaya çıkmıştır. Altın, platin ve gümüş gibi soy metaller ile sentezlenen nanopartiküller biyouyumlu yapılardır (Bhattacharya ve Mukherjee, 2008). Metal nanopartikül sentezlenmesi ve stabilizasyonu için farklı fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılmaktadır; Elektrokimyasal değişiklikler, fotokimyasal indirgeme ve kimyasal indirgeme (Geethalakshmi ve Sarada, 2012). Metal nanopartikülleri heterojen ve homojen kataliz, sensör, biyosensörler ve yakıt hücresi katalizi gibi farklı biyolojik ve endüstriyel uygulamalarda kullanılmaktadır (Lee et al., 2007).

Metalik NP'ler gümüş, titanyum, altın, talyum çinko, seryum, platin, ve demir saf gibi metallerden veya hidroksitler, oksitler, klorürler, florürler, sülfidler ve fosfatlar gibi bunların bileşiklerinden yapılmış submikron ölçekli maddelerdir (Piñón-Segundo et al., 2013).

Nanopartikülleri ve nano yapılı materyaller farklı özelliklerine göre farklı sınıflamalar bulunmakla birlikte en güncel haliyle Tablo1.1'de gösterildiği gibi dört materyal-bazlı kategori halinde sınıflandırması yapılmıştır (Aktaş et al., 2018).

Tablo 1.1. Nanopartiküllerin sınıflandırılması

Nanopartiküller- Nano yapılı materyaller			
Karbon Bazlı Nanomateryaller	İnorganik Bazlı Nano Materyaller	Organik Bazlı Nanomateryaller	Kompozit Bazlı Nanomateryaller
Fullerenler (C60) Karbon nanotüpler (CNT) Karbon nanofiberler Grafen (Gr)	Altın Gümüş Titanyum dioksit Çinko oksit Demir oksit Silisyum Kuantum noktalar	Dendrimerler Miseller Polimer nanopartiküller Lipozomlar	Kitosan Hidroksietil metakrilat Polilaktik asit

Tablo 1.2. Metalik nanopartiküllerin avantaj, dezavantaj ve karakterizasyonu

Metalik Nanopartiküller		
Avantajları	Dezavantajları	Karakterizasyonu
Artmış rayleigh saçılımı Yüzece güçlendirilmiş raman saçılması Güçlü plazma emilimi Biyolojik sistemleri görüntüleme Nano skaladaki metalik substrat hakkındaki kimyasal bilgileri belirleme	Nanopartiküllerin kararsızlığı Safsızlık Nanomalzemelerin biyolojik olarak toksik olmaları Patlayıcı olmaları Sentez zorluğu	Absorbans Spektroskopisi Infrared Spektroskopisi Geçirimli Elektron mikroskobu (TEM) Atomik Kuvvet Mikroskobisi (AFM) X-ışınları Kırınım Difraktometresi (XRD) Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR) Uzun X-ışınları Soğurumlu Ayrıntılı Yapı (EXAFS) X ışını Fotoelektron Spektroskopisi

1.4. Demir Elementinin Özellikleri

Demir, yetişkin bir insan vücudunda önemli bir mikro besin olup bir insan vücudunda ortalama 3-5 gram demir bulunmaktadır. Demir; %65'i hemoglobine, %4'ü miyoglobine, %1'i çeşitli hem bileşiklerine, %1'i de plazmada transferine bağlıdır. Geri kalan %15-30 kadarı da ferritin halinde retiküloendoteliyal sistem ve karaciğer parankim hücrelerinde (Hepatosit) depo edilir. Oksijen taşımada görevli olan hemoglobin, alyuvarlarda bulunan porfirin türevinden bir proteindir ve kana kırmızı rengini verir. Kaslarda oksijen tutulumunda ise miyoglobin proteini görev alır. Dokulardaki oksidasyonu sağlayan, kanda ve kırmızı kan hücrelerindeki hemoglobin, demirin büyük bir oranını bulundurur. Hücrenin enerji metabolizmasında kritik rol alan enzimlerin yapısında, fonksiyonunda ve hücre proliferasyonunda yer alan önemli nutrientlerden biri demirdir. Birçok metabolik yollarda kofaktör işlevi gören demir önemli bir redoks elementidir. DNA sentezinde, çoklu DNA onarım enzimlerinde, DNA metabolizmasında, ve ribonükleotit redüktaz da kofaktör olarak kullanılan demir vazgeçilmez bir elementtir (Tuna Yıldırım et al., 2020).

1.5. Demir Oksit Nanopatiküller

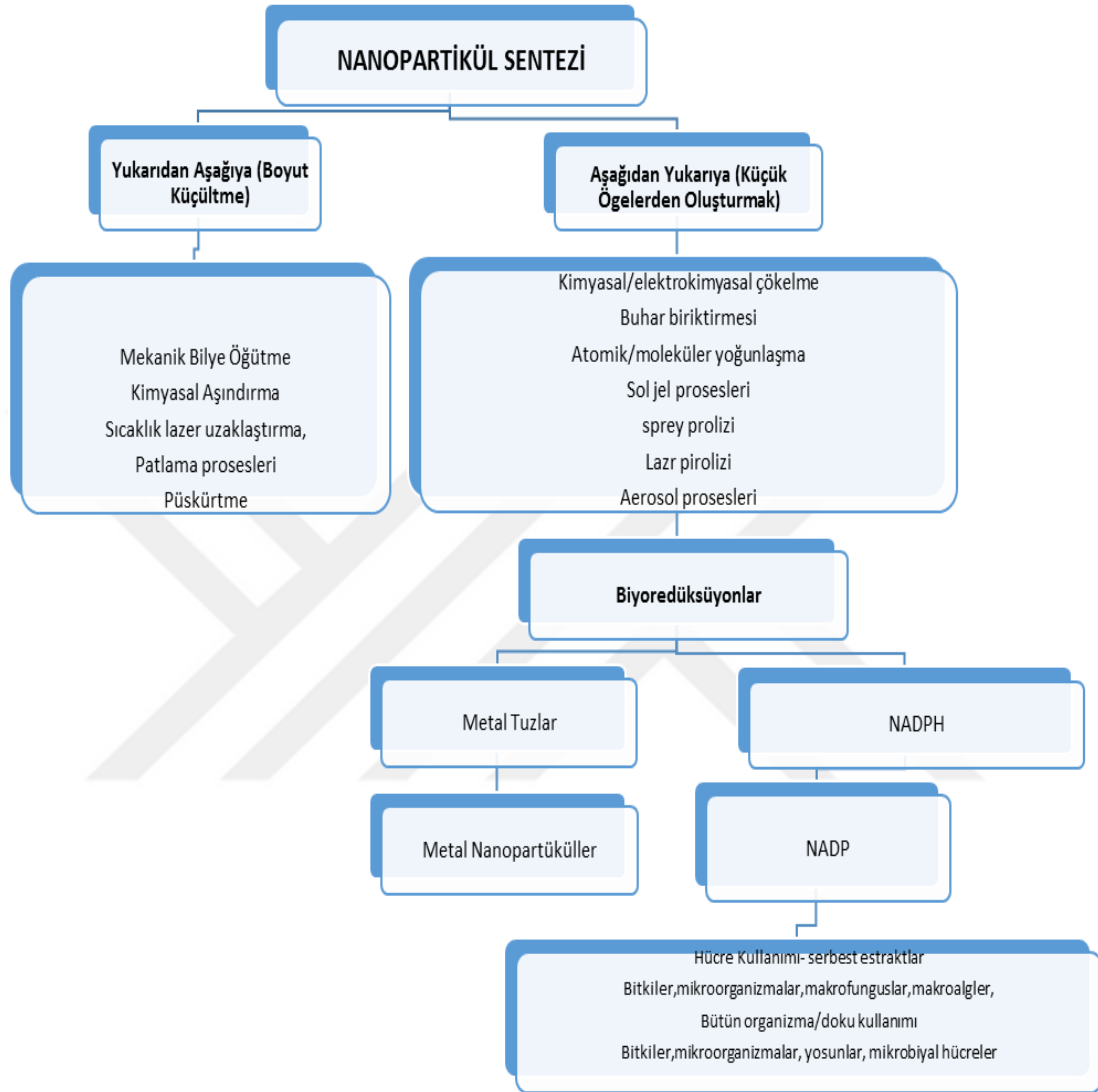
Demir (III) oksit (Fe_2O_3) kırmızımsı kahverengi, doğada inorganik bir paramanyetik bileşiktir ve üç ana demir oksitten biridir. Diğer ikisi FeO ve Fe_3O_4 'tür. Süper paramanyetik olan Fe_3O_4 doğada mineral manyetik olarak ortaya çıkmıştır. Demir oksitin nanopartiküller (SPION) manyetik özellikleri, biyouyumlulukları ve çok küçük boyutları sayesinde; diyabet, ateroskleroz, inflamatuvar ve kanser hastalıklarının erken teşhisinde kullanılabilir. Manyetik rezonans görüntülemeye kullanılması için geliştirilmiş olan demir oksit, çözünürlük kontrast ajan, manyetik ilaç rezonans görüntüleme (MRG), hedeflendirilmiş ilaç taşıma, görüntüleme, hipertermi, gen tedavisi, kök hücre izleme, moleküler/hücresele izleme, manyetik ayırma teknolojileri (örneğin hızlı DNA dizilimi) gibi çeşitli biyomedikal uygulamalarda da umut verici olarak ortaya çıkmıştır (Pandey ve Dahiya, 2016).

Demir oksit nanopartiküller tümör hücrelerini, NIR gibi non-toksik dalga boyu radyasyonu yoluyla veya Reaktif Oksijen Türleri (ROS) üretimini veya hipertermiyi toksik uyarılara dönüştürebilecek absorbe edilebilecek salınımlı manyetik alanlar ile doğrudan öldürülebilmektedir. Genellikle kanserde hipertermi tedavisinde, yüksek manyetik ve radyo-frekans özellikleri nedeniyle demir oksit NP'leri kullanılmaktadır. Demir oksit NP'leri, dekstran gibi farklı polimerlerle kaplama, ligand bağlama ve PEG molekülü ile yüzey fonksiyonelleştirme yoluyla hedeflendirilir bu da stabilize, daha uzun yarılanma ömür sağlar (Sharma et al., 2017).

1.6. Metal Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri

Nanopartiküller birçok uygulama kullanılarak farklı şekil ve boyutlarda elde edilir. Sentez teknikleri aşağıdan yukarıya ve yukarıdan aşağıya yaklaşımlar olarak adlandırılır. Bu teknikler Şekil 1.1' de şematize edilmiştir. Yukarıdan aşağı teknikte gümüş metalini toplu halde kullanılır daha sonra litografi ve lazer ablasyon gibi özel metodolojilerle boyutunu nano ölçeğe mekanik olarak küçültür (Amendola et al., 2007). Aşağıdan yukarıya tekniği, gümüş tuzunun bir çözücü içinde ayrışmasını ve ardından indirgeyici bir ajanın ilave edilmesiyle ve gerekirse nanoparçacıkların birikmesini engellemek için stabilize edici ajanların ilave kullanımını içerir. Bu işlemlerde kullanılan çözücüler ve indirgeyiciler, elde

edilen gümüş nanoparçacıkların morfolojik ve fiziksel özelliklerini etkiler (Tan et al., 2007).



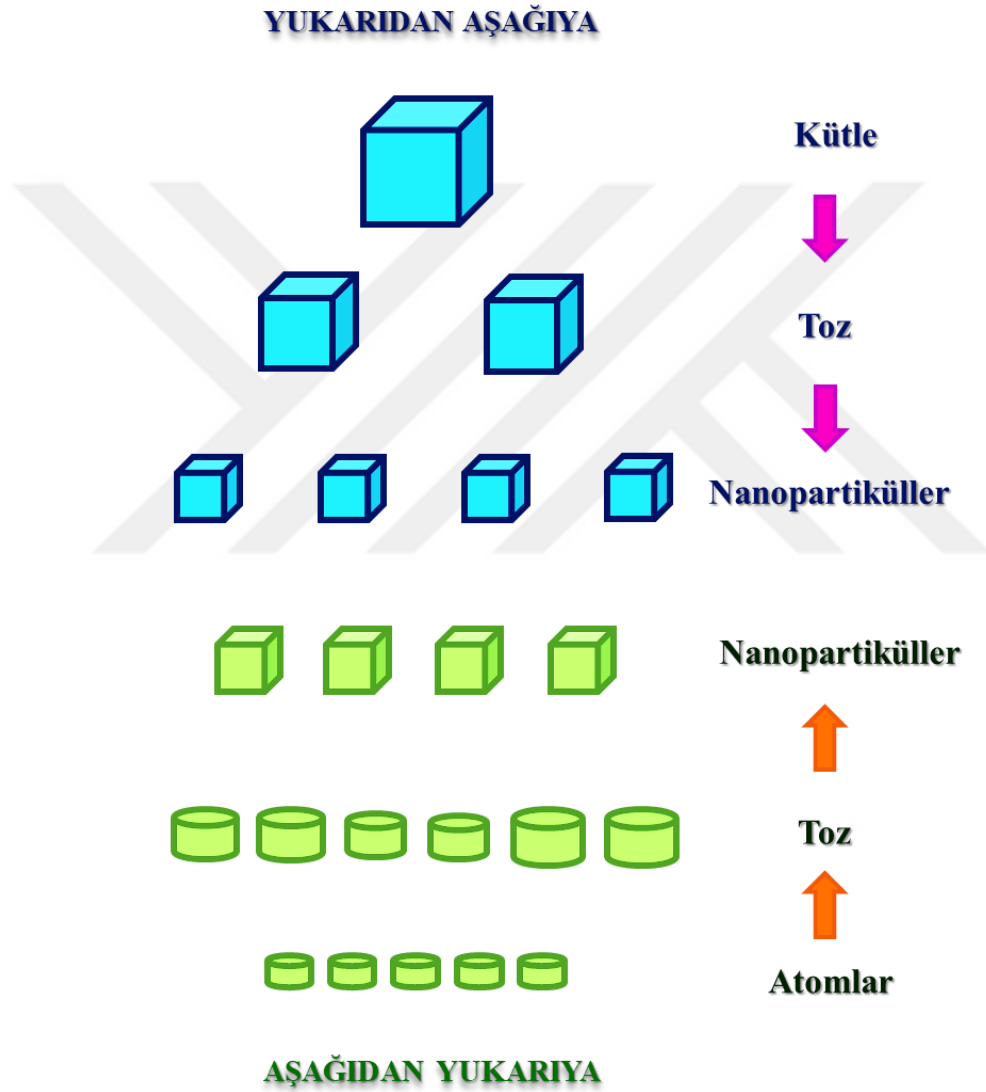
Şekil 1.1. Nanopartikül sentezi için kullanılan teknikler

1.6.1. Aşağıdan Yukarıya Yaklaşımı (Bottom-up)

Moleküler veya atomik boyutta yapılar kimyasal reaksiyonlar aracılığı ile büyütürük nanopartikül elde edilmiştir. (Şekil 1.2). Aşağıdan yukarıya yaklaşımında en çok kullanılan teknikler; Sprey piroliz, sol jel kaplama, buharlaştırma ve atomik yoğunlaştırma yöntemleridir (Singh et al., 2020).

1.6.2. Yukarıdan Aşağıya Yaklaşımı (Top-down)

Hacimsel olarak büyük olan malzeme dışarıdan kimyasal, mekanik işlemlerle veya enerji verilmesiyle nano boyuttaki küçük parçaların elde edilmesi sağlanmıştır. (Şekil 1.2). Bu alanda kullanılan en yaygın yöntem mekanik aşındırma tekniğidir. Patlatma prosesleri, püskürtme gibi diğer yaygın kullanılan teknikler ise klasik öğütme işlemlerinden çok daha fazla enerji tüketimi meydana gelmiştir (Gürmen et al., 2008).



Şekil 1.2. Aşağıdan yukarıya yaklaşımı ve Yukarıdan aşağıya yaklaşımı

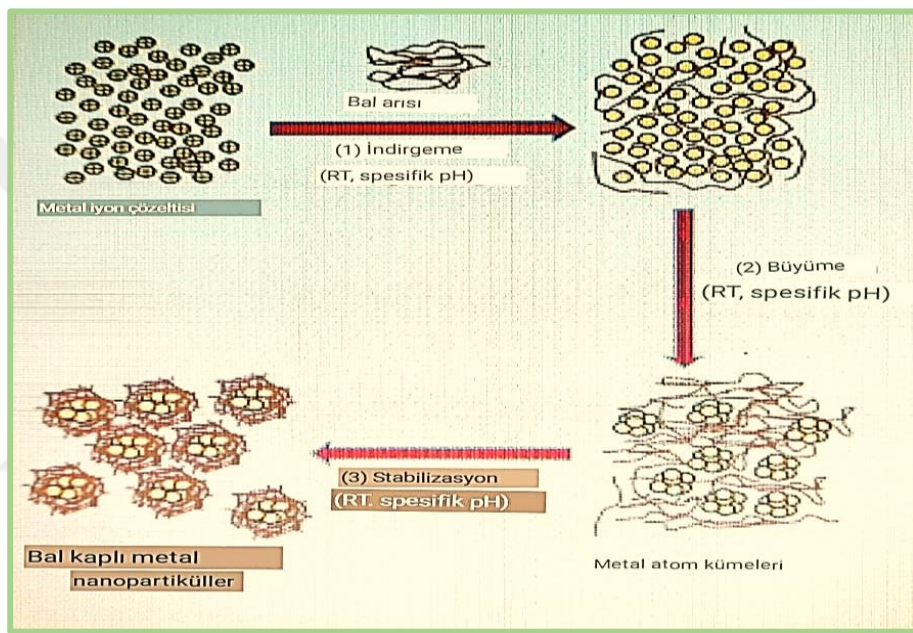
1.7. Nanopartikül Sentezinde Yeşil Sentez Metodu ve Önemi

Nanopartiküllerin daha basit ve etkili sentezi son yıllarda çok sayıda teknik gelişmesini sağlamıştır. Nanopartikül sentezi için kimyasal, biyolojik ve fiziksel metod olmak üzere üç temel sentez tekniği kullanılmıştır. Metal nanopartiküllerin elde edilmesinde önemli olan metal iyonlarının indirgenmesi için kullanılan indirgeyici ve stabilize ajanların geliştirilmesidir. Kimyasal ve fiziksel sentez yönteminde oldukça tehlikeli ve toksik kimyasal stabilizör ve indirgeyici ajanlar kullanılır bu sebeple hücre ve çevre için toksisite riski artmaktadır. Bu sebeple, belirtilen yöntemler insan için uygulanabilir olmadığı gibi yararlıda değildir. Bu sebeple son zamanlarda yeşil sentez yöntemi üzerinde durulmaktadır. Yeşil sentezde kullanılan bu ajanlar, biyolojik organizmalar içinde doğal olarak bulunmakta ve genel olarak toksik etki göstermemekle birlikte çevreye faydalıdır. Biyoyumlu özelliğe sahip bu maddeler, biyolojik olarak geliştirilmiş kimyasallardır. Aynı zamanda kimyasal ve fiziksel tekniklerin pahalı ve karmaşık olmasının, toksik madde kullanılmasının önüne geçmek için kabul edilebilir bir yöntemdir ayrıca yeşil sentez çevre dostu ve toksik olmayan bir yöntemdir (Pandey et al., 2015). Yeşil sentez tekniği ile nanopartikül sentezinde yaygın olarak bakteriler, mayalar, küfler ve alg gibi mikroorganizmalar aynı zamanda bitki özleri kullanılmaktadır.

Birçok çalışmada, metal nanopartiküller yeşil sentez tekniği kullanılarak, çevre dostu bir teknikle iyi karakterize edilen farklı özelliklere sahip yapılar elde edilmiştir. Yeşil sentezinin birçok avantajı vardır; büyük ölçekli üretim yapılabilir, hızlı ve kararlı nanopartikül sentezlenir (Zaitsev et al., 1999). Kimyasal sentez yöntemi için kullanılan indirgeyici ajanlar ve metal tuzları gibi birçok kimyasalın temini zor ve oldukça pahalıdır. Fakat yeşil sentez yönteminde kullanılacak kimyasallardan en önemli olan metal tuzlarının maliyeti olarak bildirilmiştir. Makarov ve arkadaşları (2014) indirgeyici ajan olarak bitki atıklarını kullanmış ve bu sayede nanosentez maliyetini oldukça düşürmüşlerdir.

1.8. Nanopartiküllerin Bal Aracılı Yeşil Sentezi

Balın özel kimyasal özellikleri, nanoparçacıkların yeşil sentezini kullanmasını sağlar. Bal aracılı sentez, mikroorganizma aracılı yöntemlere göre çeşitli avantajlar sunar; mikrobiyal yöntemle kıyasla nispeten hızlı bir işlemdir. Ayrıca mikroorganizmaların çok dikkatli bir şekilde kültüre edilmesi ve nanopartiküllerin mikroorganizmalar tarafından dönüştürülmesi için belli bir zaman gerekmektedir. Ayrıca, nanopartiküllerin mikroorganizmalardan ayrılması zor bir işlemdir (Balasooriya et al., 2017).



Şekil 1.3. Nanopartiküllerin bal aracılı yeşil sentezinin genelleştirilmiş şematik diyagramı (Balasooriya et al., 2017)

1.9. Doğal Bal

İnsanoğlu için bal asırlar boyunca önemli bir besin kaynağı olmuştur. Bal, farklı cins arıların birçok bitkiden nektar toplayarak oluşturduğu bir üründür. Arılar tarafından çiçeklerden salgılanan nektarların veya bitkiler üzerinde yaşayan bazı canlıların salgılarını topladıktan sonra arılar vücutlarında kendine özgü maddeler ile karıştırıp değişikliğe uğratar ve bal peteklerine depolarlar ve bunun neticesinde oluşan ürün olgunlaşır tatlı madde sağlanır (Martin, 1979; Ötleş, 1995).

Dünyanın en eski besin kaynağı olarak belgelenen doğal bal, yüksek enerji ve besleyici değeri olan mükemmel bir besindir. *Apis mellifera* (bal arısı) tarafından bitki nektarından, salgılarından üretilir (Balasooriya et al., 2017). Doğal bal, eski çağlardan beri tıbbi amaçlar için kullanılmıştır. Balın ilaç olarak kullanıldığına dair ilk kanıt MÖ 2100-2000 yıllarına kadar uzanır. Bir Sümer tabletinde ilaç ve merhem olarak balın kullanıldığı yazılmıştır. Ayrıca, birçok hayvan temelli çalışma da kardiyovasküler hastalıklarda balın uygulandığını kanıtlamıştır (Balasooriya et al., 2017).

1.9.1. Balın Fiziksel Özellikleri

Doğal bal, su içeriğine bağlı olarak yapışkan ve viskoz bir çözeltilidir (Çakır et al., 2017). Ayrıca ortamdaki nemi emme ve tutma özelliğine de sahiptir (Eteraf-Oskouei and Najafi 2013). %18,8 veya daha az su içeriğine sahip normal bal, %60'ın üzerinde bağıl neme sahip havadaki nemi emecektir (Olaitan et al., 2007). Sıvı balın rengi berrak ve renksizden (suya benzer) koyu kehribar veya siyaha kadar değişebilir. Balın rengi sarı ve kehribarın tüm tonlarında görülür; yaş, botanik köken ve saklama koşulları renk değişikliğine neden olur, ancak berraklık veya şeffaflık polenlerin yani asılı parçacıkların miktarına bağlıdır (Balasooriya et al., 2017). Viskozite, akıcılığa karşı koyma özelliği olarak ifade edilmektedir. Viskozite balın bulundurduğu su miktarı ve sıcaklık ile ilgilidir. Koyu renkli yavaşça akan balın viskozitesi yüksek iken, açık renkli ve gevşek yapılı balların viskozitesi düşüktür (Krell, 1996).

1.9.2. Balın Kimyasal Özellikleri

Doğal bal, amino asitler, vitaminler, mineraller ve enzimler dahil olmak üzere yaklaşık 200 madde içerir, ancak öncelikle şeker ve su içerir. Şeker, balın kuru maddesinin %95-99'unu oluşturur (Alam et al., 2014). Balda bulunan başlıca şekerler: Fruktoz (%32,56 - %38,2) ve glukoz (%28,54 - %31,3) gastrointestinal kanalda kolayca emilir. %80-85 karbonhidrat (esas olarak glikoz ve fruktoz), %15-17 su, %0,1-0.4 protein, %0,2 kül ve az miktarda amino asit, enzim ve vitamin ile fenolik antioksidanlar gibi diğer maddelerden oluşur. Doğal balın kesin kimyasal bileşimi ve fiziksel özellikleri, arıların yiyecek aradığı bitki türlerine, iklim koşullarındaki farklılıklara ve bitki örtüsüne göre farklılık gösterir. Ayrıca diğer şekerler içerisinde sakaroz, maltotrioz, maltoz, turanoz, panoz, izomaltoz, melibiyoz,

melezitoz ve nigeroz gibi disakkaritler yer alır. Oligosakkaritler de bal içerisinde de mevcuttur. Bal, prebiyotik ajanlar olarak hizmet eden %4 ile %5 fruktooligosakkaritler içerir (Balasooriya et al., 2017).

1.9.3. Balın Antimikrobiyal Özellikleri

Doğal balın geleneksel tıptaki önemli rolüne ek olarak, son birkaç on yılda laboratuvar ve klinik araştırmalara tabi tutulmuştur. Balın antimikrobiyal aktivitesi; balın ozmotik etkisine, asiditesine, fitokimyasal faktörlere ve glukozun glukoz oksidaz enzimi aracılığıyla parçalanmasıyla elde edilen hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarına bağlanmaktadır (Güneş, 2005). Balın antibakteriyel etkinliği ilk kez 1892 yılında Hollandalı bilim adamı Van Ketel tarafından fark edilen en önemli bulgulardan biridir. Balın antimikrobiyal aktivite mekanizmaları, bakterinin hücre duvarını yok eden veya hücre içi metabolik yolları engelleyen antibiyotiklerden farklıdır. Antibakteriyel aktivite balın dört özelliği ile ilgilidir. İlk olarak bal, ortamdaki nemi çeker ve böylece bakterileri kurutur. Balın şeker içeriği de mikroorganizmaların büyümesini engelleyecek kadar yüksektir, ancak balın antimikrobiyal özelliklerinin tek nedeni şeker içeriği değildir. (Alam et al., 2014) İkincisi, balın pH'ı 3,2 ile 4,5 arasındadır ve bu asitlik çoğu mikroorganizmanın büyümesini engelleyecek kadar düşüktür. Glikoz oksidaz tarafından üretilen hidrojen peroksit üçüncü ve muhtemelen en önemli antibakteriyel bileşendir, ancak bazı yazarlar nonperoksit aktivitenin daha önemli olduğuna inanmaktadır. Bazı bilim adamları, balda antibakteriyel aktivite için birkaç fitokimyasal faktör tanımlanmıştır (Alam et al., 2014)

1.9.4. Balın Antioksidan Özellikleri

Konsantrasyonu düşük olan birçok organik bileşiğin serbest radikaller sayesinde mekanizmalı oksidasyonunu engelleyen ya da önyelen bileşiklere “Antioksidan” denir. İnsan vücudunda doğal süreçler içerisinde sürekli olarak serbest radikaller meydana gelir. Serbest radikaller; belirli bir düzeyin üzerine çıktığında kararsız kimyasal yapıları nedeniyle sağlıklı hücrelere zarar vererek kanser, diyabet, Alzheimer, kalp hastalıkları gibi çeşitli hastalıklara yakalanma riskini artırır. Antioksidanlar ise serbest radikalleri nötralize ederek etkisiz hale getiren yapılardır.

Son yıllarda yapay antioksidanların kanserojen olduğu düşünülmektedir bu sebeple bitkisel temelli antioksidanlar daha çok ilgi görmektedir. Bitki özütlerinden toplanan potansiyel bir antioksidan olarak dikkat çeken bal bir besin maddesidir. Bal içerisindeki fenolik bileşikler antioksidan aktivite ile pozitif bir ilişki kurmaktadır ve doğrudan etkilemektedir. Bal koyu renk olduğu zaman çok fazla fenolik bileşik içermektedir ayrıca E vitamini ya da askorbik asite kıyasla daha çok antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Çakır et al., 2017). Bal içerisinde en fazla bulunan fenolik bileşik fenolik asit ve flavonoiddir. Bu bileşikler; anti-alerjik, anti-enflamatuar, anti-trombotik ve antibakteriyel etkilerinin yanı sıra epidemiyolojik çalışmalar, kanser ve kardiyovasküler hastalık tedavilerinde önemli bir rol aldığı belirlenmiştir (Karadal, 2012).

1.9.5. Balın Kanser Üzerine Etkisi

Çiçeğin farklı bölgelerinden toplanan nektar ve arıların salgıları balın doğal bir metabolit içermesini sağlar. Bu sayede bal, kanser hücresi ve tümör gelişimi yavaşlatıcı ve durdurucu etkiye sahip doğal bir gıda olduğu birçok çalışmada tespit edilmiştir. Balın flavonoid ve fenolik asit benzeri biyoaktif molekülleri sayesinde Kanser hücreleri inhibe olabilirler. Bu gibi özelliklerin yanı sıra birçok çalışmada; kolon, karaciğer ve mide kanserlerinde tedavi olarak bal diyetinin pozitif etkileri olduğu tespit edilmiştir (Mutlu et al., 2017).

1.9.6. Balın Fenolik Bileşiklerinin Özellikleri

Fenolik bileşikler, bilinen en az 8000 farklı yapı içeren bitkilerde meydana gelen en önemli bileşik gruplarından biridir. Bu bileşiklerin diğerlerinin yanı sıra antikanserojenik, anti-enflamatuar, antiaterojenik, antitrombotik, immün modüle edici ve analjezik aktiviteler sergilediği ve bu işlevleri antioksidanlar olarak uyguladığı bildirilmektedir. Balın fenolik bileşikleri, balın botanik kökeninin potansiyel belirteçleri olarak kabul edilen fenolik asitler ve flavonoidlerdir. Fenoliklerin antioksidan aktiviteleri, serbest radikal süpürücü, hidrojen bağışı, singlet oksijen söndürme, metal iyon şelasyonu ve süperoksit ve hidroksil gibi radikaller için bir substrat görevi görme gibi bir dizi farklı mekanizma ile ilişkilidir (Alam et al., 2014)

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ahmad et al. (2020) yaptıkları çalışmada, *Tamarix aphylla* ekstiresi kullanarak demir nanopariküllerin sentezini gerçekleştirmişlerdir. *Tamarix aphylla* estraktı hem indirgeyici hem de kapama ajanı olarak işlev görür, bu da Demir, Oksijen ve Nanopartiküllerin hızlı ve başarılı eko-iyi sentezine yol açtığı görülmüştür. UV /Vis spektroskopisi, XRD, EDX, SEM ve TEM teknikleri, demir nanopartiküllerin farklı özelliklerini göstermiştir. UV/Vis çalışmaları Fe, O, NP'lerin yüzey plazmon rezonans absorpsiyonuna bağlı olarak 390 nm'de doruk noktası göstermiştir. XRD çalışmaları, Fe, O, NP'lerin doğada kristalin olduğunu göstermiştir. Fe, O, NP'lerin yapısal özellikleri ve zihinsel bileşimi ve geometrisi SEM, EDX ve TEM tarafından onaylanmıştır. Sentezlendiği haliyle Fe O, NP'ler, Metilen mavisi boyasının %100'ünü 4 mg / 25 mL metilen mavisi ile parçalamak için etkili etkinlik göstermiş ve daha kararlı DPPH serbest radikalının (1 mg / mL) %90'ını temizlediğini gösterilmiş, ayrıca, Fe, O, NP'ler, patojenik çoklu ilaca dirençli bakteri suşlarına karşı mükemmel antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçları, *Tamarix aphylla* ekstratının potansiyel azaltma, kapatma özelliğini, öldürücü organik kirleticilerin ve mikropların etkili bir şekilde iyileştirilmesi için alternatif bir materyal olabilecek eko-iyi sentezlenmiş Fe, O, NP'lerin fotokatalitik ve biyomedikal uygulamalarını araştırmışlardır.

Demirezen et al. (2019) yaptıkları çalışmada, demir oksit nanopartiküllerini sentezlemek için *Ficus carica* (adi incir) kurutulmuş meyve ekstiresi kullanmışlardır. Kuru incir özündeki biyomalzemeler, kapama ve stabilize edici ajanlar olarak görev demir öncü tuzunu indirgenerek demir nanopartiküllerini sentezlenmiştir. Nanopartiküller 20 nm çaptan daha küçük üretildi ve ortak incir kurutulmuş meyve özündeki yüksek fenolik bileşik içeriği nedeniyle oksitlenir. Nanopartiküller X-ışını spektroskopisi (EDX), transmisyon elektron mikroskobu (TEM), UV ile görülebilir spektroskopi, X-ışını kırınımı (XRD), Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ile karakterize edilmiştir. İlk olarak, demir nanopartikül sentezi nedeniyle renk değişikliği ve pH düşüşü hemen gerçekleşti. TEM görüntüleri sonucunda nanopartiküller küre şeklinde olduğu ve tek dağılımlı bir dağılıma sahip şekiller 9 ± 4 nm çapında ve metalik çekirdek-oksit kabuk

formunda olduğu görülmüştür. EDX, XRD ve FTIR analiz sonuçları da demir oksihidroksit / oksit oluşumu göstermiştir. Demir metalik çekirdek hidroliz ürünleri nedeniyle 205 nm ve 291 nm'de absorpsiyon zirveleri tespit edilmiştir. Nanopartiküllerin yoğunluk-ortalama çapı, DLS analizi ile 475 nm çapında hesaplandı. Kolloid stabilitesi 20.7 mV'de orta olarak ortaya koymuşlardır.

Bar et al. (2009) bu çalışmada, Gümüş nanopartiküllerin hızlı sentezi için çevre dostu bir süreç, *Jatropha curcas*'ın sulu tohum ekstraktı kullanılarak yapılmıştır. Farklı AgNO₃ konsantrasyonlarında stabil gümüş nanopartiküllerin oluşumu, çoğunlukla çapı 15 ila 50 nm arasında değişen küresel partiküller elde edilmiştir. Elde edilen gümüş parçacıkları, HRTEM, XRD ve UV-vis spektroskopik teknikler kullanılarak karakterize edilmiştir. XRD çalışması, parçacıkların yüz merkezli kübik geometri ile doğada kristalize olduğunu ortaya koymuştur.

Kulkarmi ve Muddapur (2014) yaptıkları çalışmada metal nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirerek parçacık morfolojisini incelemişlerdir.

Başka bir çalışmada, demir oksit nanopartikülleri (Fe₃O₄-NP'ler), ana faktör olarak sülfatlanmış polisakkaritler içeren kahverengi deniz yosunu (*Sargassum muticum*) ekstraktı ile demir klorür çözeltisinin indirgenmesi ile hızlı, tek aşamalı ve tamamen yeşil biyosentetik bir yöntem kullanılarak sentezlenmiştir (Mahdavi et al., 2013). İndirgeyici ajan ve etkili stabilizatör görevi gören Fe₃O₄-NP'lerin yapısı ve özellikleri X-ışını kırınımı, Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi, alan emisyonu taramalı elektron mikroskobu (FESEM), enerji dağıtıcı X-ışını floresan spektrometresi (EDXRF), titreşimli numune manyetometrisi (VSM) ve iletim ile incelenmiştir. Elektron mikroskobu TEM ile belirlenen ortalama parçacık çapı 18 ± 4 nm olarak bulunmuş, X ışını kırınımı, nanopartiküllerin doğada kübik bir şekle sahip olduklarını kanıtlamıştır.

Mahmoudi et al. (2010) bu çalışmada süperparamanyetik demir oksit nanopartiküllerin (SPION) sitotoksitesini ve hücre ortamı bileşenleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla, kaplamasız ve polivinil alkol kaplı, dar boyut dağılımına sahip süperparamanyetik demir oksit nanopartiküllerle birlikte çökeltme yöntemi ile sentezlenmiştir. Fare fibroblast hücre hattı L929, biyolojik uygulama sırasında manyetik

nanopartiküllerin toksisitesini araştırmak için SPION'lara maruz bırakılmış, SPION'ların neden olduğu hücre ortamındaki değişiklikler, zeta potansiyeli ölçümleri, ultraviyole görünür spektroskopi (UV / vis) ve 3- [4,5-dimetiltiyazol-2il) -2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi ile analiz edilmiştir. SPION ile muamele edilmiş hücrelerde gaz keseciklerinin oluştuğu gözlenmiştir. Toksisite, geleneksel olarak, SPION'ların biyomoleküllerle etkileşime girme eğiliminden dolayı DMEM'in pH'ındaki ve bileşimindeki değişikliklerle açıklanmaktadır. Nanopartiküllerin in vitro toksisitesini daha titiz bir şekilde incelemek için yeni bir prosedür önerilmiş, in vivo ve in vitro toksisite çalışmaları arasındaki ilişkide bir gelişme sağlamışlardır.

Madubuonu et al. (2019) bu çalışmada, *Psidium guajava-Moringa oleifera* (PMC) bitkilerinin yaprak ekstraktı ile sentezlenmiş demir oksit nanopartiküllerine (Fed-NP'ler) bir antibakteriyel ajan olarak iyi huylu, kolay, biyouyumlu, uygun maliyetli ve çevre dostu bir yaklaşım getirmiştir. PMC_NP'ler, daha düşük konsantrasyonlarda bakteri suşlarına karşı farmakodinamiğinin terapötik biyomedikal alanda devamında ortodoks antibakteriyel ilaçlar için gelişmiş bir ikame görevi görür ve ayrıca su arıtımı için iyi bir bileşen olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Karpagavinayagam ve Vedhi (2019) yaptıkları çalışmada, *Avicennia marina* bitkisinden bir çiçek özü kullanarak demir oksidi sentezlemek için tehlikeli olmayan bir yöntemi açıklamamışlardır. Demir oksit nanopartiküllerinin (FeO-NP'ler) UV-Vis absorpsiyon spektrumu, 295-301 nm bölgesinde bir tepe göstermiştir. FeO-NP'lerin FTIR spektrumu 3354 cm^{-1} , 1630 cm^{-1} , 1380 cm^{-1} ve 610 cm^{-1} 'de bantlar göstermiştir. FeO-NP'lerin boyutu ve morfolojisi, sırasıyla: taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) kullanılarak araştırılmıştır. SEM sonuçlarından, FeO-NP'lerin ortalama boyutunun 30 ila 100 nm aralığında olduğu görülmektedir. FeO-NP'lerin tane boyutu XRD ile incelenmiştir. FeO-NP'lerin redoks davranışını değerlendirmek için elektrokimyasal çalışmalar yapılmıştır. Hazırlanan nanopartiküller endüstriyel, boya bozunmasında ve çevre kirliliğinin kontrolünde kullanılabileceğini göstermişlerdir.

Izadiyan et al. (2020) yaptıkları çalışmada, *Juglans regia* (Adi ceviz) yeşil kabuk ekstraktlarını kullanarak demir oksit nanopartikül boyut kontrolündeki kabiliyetini araştırmak istenmiştir. *J. regia* ekstresi ve demir oksit nanopartikülleri ayrı ayrı çöktürme

yöntemi ile sentezlenmiştir. Her iki test için de diğer deneysel koşullar aynıdır. Yüksek çözünürlüklü transmisyon elektron mikroskobuna göre, birlikte çökeltme yöntemi kullanılarak sentezlenen demir oksit nanopartiküllerinin ortalama çapı ve standart sapması ve 1 *J. Regia* /demir oksit nanopartiküllerinin sırasıyla 12.50 ± 2.87 ve 5.77 ± 1.66 nm olduğu görüldü. Bu sonuçlar, ekstraktı kullanılarak sentezlenen *J. Regia* /demir oksit nanopartiküllerinin, birlikte çökeltme yöntemi ile üretilen nanopartiküllerden daha küçük bir boyuta sahip olduğunu gösterdi; dahası, yeşil kabuk ekstraktı, boyut kontrolü olarak ana rolü oynar. *J. regia* ekstraktı kullanılarak üretilmiş manyetik nanopartiküllerin saflığı, X-ışını kırınımı (XRD), yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (HRTEM), alan emisyonu taramalı elektron mikroskobu (FESEM) ve enerji dağıtıcı X ışını (EDX) ile elde edilen sonuçlar birbirleriyle karşılaştırılmalı olarak değerlendirildiklerinde uyum içinde olduklarını belirlediler. Bununla birlikte, titreşimli örnek manyetometresinde (VSM), *J. Regia* /demir oksit nanopartiküllerin, uygun manyetik özelliklerinden dolayı yüksek doygunluk manyetizasyonuna ve düşük koersiviteye sahip olduklarını gösterdiler. FTIR spektrumuna göre, *J. regia* başarılı bir şekilde demir oksit nanopartikül oluşumunu sağlamış ve yüzeyini kaplamıştır. *J. Regia* /demir oksit nanopartikül konsantrasyonunun 1000 pg / ml'nin altındaki toksik olmayan etkisi, sırasıyla normal ve kanserli hücre hatları üzerindeki in vitro sitotoksikite çalışmalarında gözlenmiştir. Doza bağlı toksisite, çeşitli tıbbi uygulamalar için uygun bir özellikte olduğunu göstermiştir.

2014 yılında Sarkar ve Sil yaptıkları çalışmada Fe_2O_3 (demir nanopartiküllerinin) son zamanlarda tıbbi görüntüleme ve endüstride de yaygın olarak kullanıldığını ve sonuç olarak, insanlar bu nanoparçacıklara her geçen gün daha fazla maruz kaldığını söylemişlerdir. Fe_2O_3 NP'lerin olumsuz etkisi daha düşük dozlarda o kadar önemli olmadığını, ancak daha yüksek dozlarda Fe_2O_3 NP'leri hücrelere önemli zarar verdiğini kanıtlamışlardır. Çalışma modeli olarak farelerin hepatositlerini kullanarak Fe_2O_3 NP'lerin indüklediği oksidatif stres ve sitotoksikiteye bağlı hücre sinyal mekanizmasını araştırmışlardır.

Veisi et al. (2015) yaptıkları bir çalışmada; Fe_3O_4 nanopartiküller amidoksim gruplarının aşılama ile yeni bir Fe_3O_4 /amidoksim (AO)/Pd nanokatalizör sentezi gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada amidoksim (AO) aşılmasından önce, 2- siyanoetiltrioksolan ve Fe_3O_4 'ün birleştirilmesiyle hazırlanan 2-siyanoetil- fonksiyonelleştirilmiş Fe_3O_4 nanoparçacıkları,

hidroksilamin ile muamele etmişlerdir. AO- aşılı Fe_3O_4 nanopartikülü, Pd nanopartiküllerinin sentezlenmesi için platform olarak kullanılmıştır.

Mirza et al. (2018) çalışmalarında *Agrewia optiva* (Dhaman veya Biul) ve *Prunus persica* (Şeftali) yaprağı ekstresi kullanarak, biyojenik sentez yoluyla tehlikeli toksik kimyasallar kullanılmadan, kapatma ve stabilize etme ajanı olarak demir oksit nanoparçacıkları sentezlenmiş, çeşitli karakterizasyonları yapılmış ve antibiyotik Siprofloksasin ve Gentamisin, sırasıyla gram (+) ve gram (-) bakteriler için referans standart ilaçlar olarak kullanılmıştır. Fito ekstraktlarının ve hazırlanan nanopartiküllerin antioksidan aktivitesi, standart olarak L askorbik asit kullanılarak 2,2 difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal analizi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Iqbal et al. (2020) çalışmasında IONP'leri hem indirgeyici hem de stabilize edici maddeler olarak *Rhamnella gilgitica* yaprak özütü kullanılarak basitçe sentezlemiş ve SEM, TEM, XRD, DLS, FT-IR, EDX ve Raman spektroskopisi kullanarak karakterize etmişlerdir. HepG2 kanser hücrelerine karşı antikanser aktivitesini incelemiş ve disk difüzyon yöntemi ile önemli antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri incelenmiştir.

Radini et al. (2018) çalışmalarında *Trigonella foenum-graecum* ekstraktı ile sıfır değerli demir nanoparçacıkları (Fe0) (ZV-Fe NP'ler) sentezlemiş ve bu nanoparçacıkları sulu bir ortamda stabilize etmişlerdir. Ayrıca Fe NP'ler UV-görünür spektrometri, X-ışını kırınımı (XRD), termogravimetrik analiz-türev termo-gravimetrik (TGA/DTG), manyetizasyon, Fourier transform kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) görüntüleri ile karakterize etmişler ve ayrıca *E. coli* ve *S. aureus* gibi mikroorganizmalarla Fe NP'lerin antibakteriyel etkinlikleri belirlenmiştir.

Karaduman et al. (2017) bu çalışmada; γ - Fe_2O_3 nanopartikülü yeşil sentez yöntemiyle elde edilmiş ve metan gazı sensörü için kullanılmıştır. *Ficus carica* ve *Euphorbia amigdaloides* bitkilerinin yaprak özütleri ile peroksidaz enzimi elde edilmiştir ve γ - Fe_2O_3 nanopartiküllerinin (NP) sentezi için kullanılmıştır. γ - Fe_2O_3 NP'lerinin morfolojik özellikleri, yapısal hali incelenmiştir aynı zamanda metan gazı algılama özellikleri tespit edilmiştir. Peroksidaz enziminden elde edilen γ - Fe_2O_3 NP'ler, 150 ppm'de 150°C de 1 ppm metan gazı içinde %15 yanıt verdiği tespit edilmiştir. *Euphorbia* bitkisiyle peroksidaz

enziminden elde edilen γ - Fe_2O_3 NP'lere göre daha fazla yanıt vermiştir ve seçiciliği kısa yanıt zamanda göstermiştir. Empedans spektroskopisi analizi, tane sınırları nedeniyle oluşan direncin, gaz algılama özelliklerine önemli ölçüde katkıda bulunduğunu göstermiştir. Sonuç olarak incir bitkisinden saflaştırılmış peroksidaz enzimleri ile sentezlenen γ - Fe_2O_3 NP'lerin endüstriyel uygulamalarda büyük potansiyele sahip olduğu görülmüştür.

Yang et al. (2009) Fe_3O_4 nanopartikülü (Fe_3O_4 NP'ler) nafion filmin anti-parazit yeteneği ve biyometrik peroksidaz benzeri aktivitesinin bütünleşmesi sayesinde glikoz biyosensörü geliştirilmiştir. Fe_3O_4 NP ile Glikoz oksidaz (GOD) karıştırılarak daha sonra kitosan (Cs), glutaraldehit, platin (Pt) elektroduyla çapraz bağlanmış daha sonra ince bir nafion film ile çevrelenmiştir. Biyosensör, yüksek duyarlılık ($11.54 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mM}^{-1}$), düşük tespit sınırı ($6 \times 10^{-6} \text{ M}$) ve iyi depolama kararlılığı göstermiştir. Konsantrasyon aralığı geniş tutulmuştur 6×10^{-6} ile $2.2 \times 10^{-3} \text{ M}$ daha sonra doğrusal kalibrasyon çizimi elde edilmiştir. Bir araya getirilmiş elektrot, glikoz saptanması esnasında girişimi fiilen ortadan kaldıracıdır. Aynı zamanda, serum numunesinden glikoz tespiti için biyosensör başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Glikoz biyosensörü bu şekilde üretilmesi için pratik uygulamada şartların optimize edilmesi ve uygulanan prosedür daha sıkıntısız olması sayesinde daha fazla ilgi görmüştür.

Philip (2010) yaptığı çalışmada kağıt, indirgeyici ve stabilize edici maddeler olarak bal kullanan gümüş nanoparçacıkların pH kontrollü sentezini bildiriyor. Metal iyonları ve bal içeren sulu çözeltinin pH'ını ayarlayarak, oda sıcaklığında çeşitli boyutlarda nanopartiküller elde edilmiştir. Nanopartiküller, UV-görünür, yüksek çözünürlüklü TEM, XRD ve FTIR ölçümleri ile karakterize edilmiştir. 8.5 pH'da elde edilen kolloidin biyosentezde önemli bir ilerleme olan $\sim 4 \text{ nm}$ büyüklüğünde monodispers ve küresel gümüş nanoparçacıklardan oluştuğu bulunmuştur. Fcc fazlı yüksek kristallik, yüksek çözünürlüklü TEM görüntüsü incelenmiş, FTIR spektrumu, nanopartiküllerin karboksilat iyon grubu aracılığıyla proteine bağlandığı göstererek aynı zamanda AgNO_3 ve balın sulu çözeltisi kullanılarak ortam koşulları pH 8.5 olduğu görülmüştür. Burada muhtemel indirgeyici ajan glikozdur ve stabilizasyondan sorumlu malzeme balda bulunan proteinlerdir. Bu yeşil yöntemin, sürecinin kolay olması, ölçeklenebilir ve ekonomik gibi avantajları olduğunu göstermiştir.

Philip (2009) yapmış olduğu çalışmada, altın nanoparçacıklarının daha yeşil bir sentezi için indirgeyici ve kapatıcı maddeler olarak bal kullanmıştır. HAUCI ve sulu çözeltilerdeki bal konsantrasyonlarını ayarlayarak, oda sıcaklığında daha büyük bir anizotropik veya küresel nanokristal eğilimine sahip kolloidler elde edilebilebileceğini göstermiştir. Elde edilen nanopartiküller, UV-görünür spektrumlar, yüksek çözünürlüklü TEM ve XRD ile karakterize edilmiş, XRD deseni ve TEM görüntüsü ile 15 nm'lik bir boyuta sahip olduğu gösterilmiştir., Fcc fazlı yüksek kristallik, SAED modelindeki parlak dairesel noktalar ve yüksek çözünürlüklü TEM görüntüsündeki net kafes saçaklarla kanıtlanır. Karboksilik asit grubu titreşimleri ve amid I ve II bantları, proteinin karboksil yerine amin grubu aracılığıyla Au yüzeyine bağlandığını göstermiştir.

Kaya et al. (2016) yapmış olduğu bir çalışmada HPLC analizi ile baldaki fenolik bileşiklerin; klorogenik asit, kaffeik asit, krisin, siringik asit, sinapik asit, ferrulik asit ve gallik asit olduğu tespit edilmiştir. Mikroorganizmaları; gram negatif (-), gram pozitif (+) bakteriler (*Staphylococcus aureus* 6538P, *Bacillus subtilis* IM622, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* EMCS, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4413, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071) ve mayalar (*Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida albicans*) oluşmaktadır. Araştırmalar sonucunda, bal özütünün gram pozitif (+) ve gram negatif (-) bakteriler için antimikrobiyel etkisinin olduğu belirtilmiştir.

Neupane et al. (2019) yaptıkları çalışmada Himalaya balını demir oksit nanoparçacıklarına (IO-NP'ler) yüklemek ve bunların antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemek için kullanmışlardır.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyaller

Bal, Amberlite® XAD®-2, FeCl₂, FeCl₃, NaOH, (steril diskler, DMEM besiyeri (Dulbecco's Modified Eagle's Medium), Nutrient agar, Nutrient broth, distile su, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical), gallik asit, Amonyum molibat, sodyum karbonat, Quersetin, Folin, Sodyum nitrat, Ferrozin, monosodyum fosfat, Sülfirik asit, sodyum hidroksit Folin-Ciocalteu reaktifi, sodyum karbonat, potasyum asetat, alüminyum klorid, Sodyum hidroksit (NaOH), L-glutamin, streptomisin, ampisilin, tripsin-EDTA, WST-1 Hücre canlılık kiti, hidroklorik asit (HCL), tripsin, Tripkan Blue boyası, %70 etanol, metanol kullanılmıştır.

3.1.1. Kullanılan Mikroorganizmalar

Saccharomyces cerevisiae ATCC 76521

Escherichia coli ATCC 25922 Gram (-)

Staphylococcus aureus ATCC 35150 Gram (+)

Candida Albicans

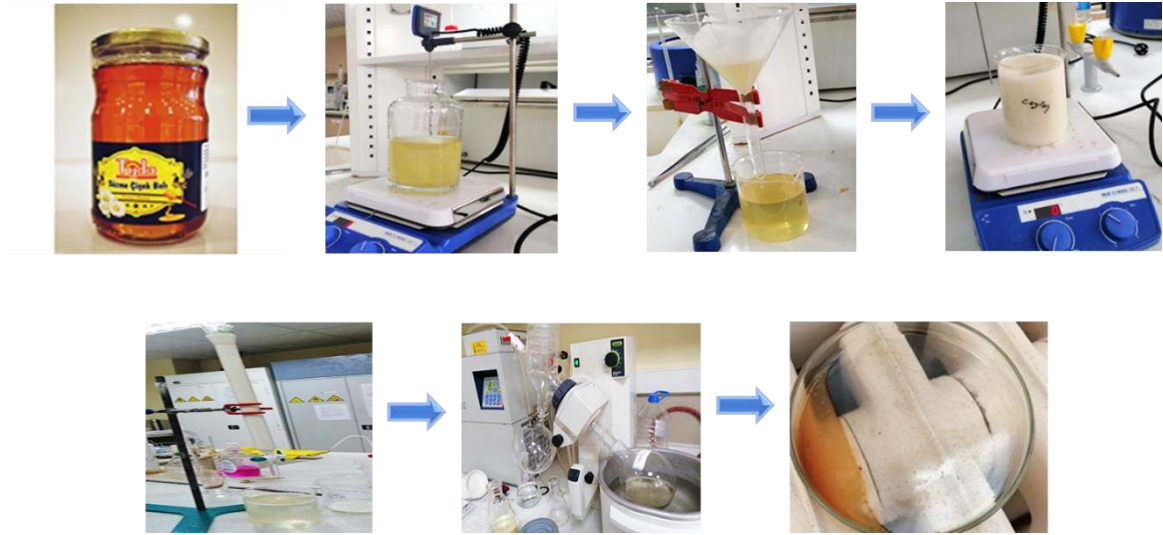
3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Blender, Manyetik Karıştırıcı (IKA C MAG HS7), Etüv (Memmert), Santrifüj (Hettich Universal 320 R), UV-Visible Spektrofotometre (Shimadzu UV-3600), X-Işını Difraktometresi (Rigaku Ultima IV), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (Perkin Elmer Spectrum 100), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (Jeol JSM 6510), Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) (Hitachi High Tech HT7700), Biyogüvenlik Kabini (Bilser), Otoklav (HIRAYAMA), ELİSA Okuyucu (Spektramax 384 Plus), Rotary Evaporatör (BS 302) kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.3. Bal Ekstraktının Elde Edilmesi

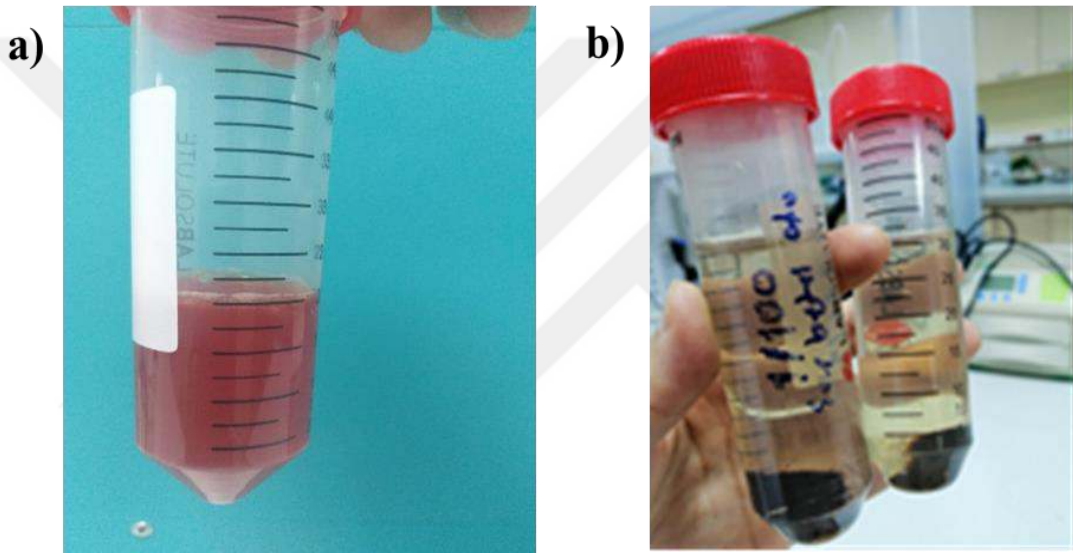
Yerel marketten temin edilen bal kullanılarak Kaya et al., 2016 kaynağında belirtilen yöntemle Şekil 0.1'deki basamaklardan geçilerek ekstrakt hazırlanmıştır. Bunun için 100 gr bal tartılarak üzerine 496 mL su 4 mL HCL eklenerek bir saat karıştırıcıda karıştırılması sağlanmış, karışım bir saat karıştırıldıktan sonra adi süzgeç kâğıdı ile süzülerek katı partiküllerden uzaklaştırılmıştır. Süzüntü üzerine 100 gr AMBERLİTE (XAD2) eklenerek 1 saat daha karıştırılmıştır. Karışım kromatografiye yüklenerek yıkanması ve bal bileşenlerinden uzaklaştırılması sağlanmıştır. Kromatografide önce 300 mL ye tamamlanan HCL, pHmetresi 2 ye ayarlanan 300 mL deiyonize su ile yıkama yapılmıştır. Sonra 1000 mL metanol ile yıkanarak fenolik maddelerin bulunması amaçlanmıştır. Elde edilen çözelti 40°C'de rotary evaporatörde azaltılmış basınç altında metanolün uçurulması sağlanarak fenolik ekstresi elde edilmiştir. Elde edilen ekstrakt etüvde kurumaya bırakılmış ve bal ekstraktı elde edilmiştir.



Şekil 3.1. Bal fenolik ekstraktının elde edilmesi aşamaları

3.4. Demir Nanopartikülünün Biyolojik (Green) Sentezi

Elde edilecek 100 mL bal ekstraktına FeCl_3 : FeCl_2 (2:1 molar oranda) eklenmiş, manyetik karıştırıcıda 60°C 'de 1 saat karıştırılmıştır. Karıştırma işleminin yirminci dakikasında 20 mL 0.1 M NaOH damla damla eklenmiştir. Şekil 3.2'de gösterilmiştir. Oluşan çökeltilerin santrifüj cihazında 4.500 rpm'de 10 dakika distile su ile 3 kez yıkama işlemi yapılmıştır. Daha sonra etanol ile aynı şekilde 2 kez yıkama işlemi gerçekleştirilerek, yıkama işlemi tamamlanmıştır. Şekil 3.2 b seçeneğinde verilmiştir. Son olarak elde edilen demir nanopartikülü etüvde kurumaya bırakılmıştır.



Şekil 3.2. a) Demir nanopartikül çözeltisinin santrifüjden önceki b) Demir nanopartikül çözeltisinin santrifüjden sonraki hali

3.5. Demir Nanopartikülünün Karakterizasyonu

Yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen demir nanopartikülünün (HPE@FeNPs) topografik, yapısal, morfolojik ve optik özellikleri UV-Vis, FTIR, XRD, SEM, TEM, EDX ve Zeta potansiyeli kullanılarak karakterizasyonları yapılmıştır.

3.5.1. UV-Visible Spektrofotometre Analizi

Biyolojik olarak sentezlenen demir nanopartikülünün UV-Visible spektrofotometre cihazında nanopartikülün dalga boyunun ve saf olarak elde edilip edilmediğinin anlamak için, başka bir deyişle, içerisinde kalıntının olup olmadığının tespiti için 200-800 nm dalga boyu aralığında absorbans değeri ölçülmüştür.

3.5.2. XRD Analizi

X-ışını difraksiyonu, malzemelerin kristallografik özelliklerinin ve içerdikleri fazların belirlenmesini sağlayan hasarsız analiz yöntemidir. Bu analiz yönteminde demir nanopartikülünün karakteristik kristal yapısını belirlemek amacıyla X-Işını Difraktometresi cihazıyla analizi yapılmıştır. X-ışını difraksiyonu sayesinde toz numunelerin kristal yapısının yanı sıra, tane boyutu ve tercihli yönelme gibi özellikleri de belirlenebilmiştir.

3.5.3. FTIR Analizi

Bu analizde ise Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi cihazıyla biyolojik sentezlenen demir nanopartikülünün bal fenolik, alkoloid, karbonil vb. grupların nanopartiküle bağlanıp bağlanmadığının tespiti yapılmıştır. Bunun için 400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında analiz edilmiştir. Çalışmada bal ekstraktının ve nanopartikülün ayrı ayrı analizi yapılarak, sonuçlar karşılaştırılmıştır (Umaralikhan ve Jamal Mohamed Jaffar, 2018).

3.5.4. SEM (Scanning Electron Microscope) Analizi

Taramalı elektron mikroskobu cihazıyla mikroskobunda nanopartikülün yüzey morfolojisi değerlendirilmiştir.

3.5.5. TEM (Transmission Electron Microscope) Analizi

Demir nanopartikülünün boyut, şekil yapılarının analizi için Erzurum Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde (DAYTAM) analiz yapılmıştır.

3.6. Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

3.6.1. Toplam Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

28 Mm NaH_2PO_4 tamponu, 0,6 M H_2SO_4 ve 4 Mm $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (amonyum molibat) çözeltisi hazırlanarak, HPE@FeNPs ve bal fenolik ekstraktının her birinden 25 μL alınmış, hazırlanan amonyum molibdat çözeltisinden her ikisinin üzerine 250 μL eklenerek karıştırılmıştır. Sonra 95°C’de 90 dakika su banyosunda bekletilmiştir. UV Spektrofotometre cihazında 695 nm’de absorbans ölçümü yapılarak sonuçlar α -Torolox standart grafiğine göre değerlendirilmiştir (Inbathamizh et al., 2013).

3.6.2. Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi

%50’lik Folin-Ciocalteu Reaktifi ve %2’lik Na_2CO_3 çözeltisi hazırlanmıştır. Bal Fenolik ekstraktından ve HPE@FeNPs nanopartikülünün her birinden 1 mg/mL konsantrasyon hazırlanmış ve bu konsantrasyondan 100 μL alınarak üzerlerine 100 μL Folin-Ciocalteu çözeltisi eklenerek 5 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda her birinin üzerine 100 μL sodyum karbonat eklenerek 25 °C’de 90 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Süre biriminde UV Spektrofotometre de ya da Elisa Plaka Okuyucu cihazında 760 nm’de absorbans ölçümü yapılmıştır. Sonuçlar Gallik Asit ile hazırlanan standart kalibrasyon grafiğine göre değerlendirilmiş ve GAE (Gallik Asit Eşleniği) olarak hesaplanmıştır (Kaya et al., 2016).

3.6.3. Toplam Flavanoid İçeriğinin Belirlenmesi

%4’lük NaOH çözeltisi, %15’lik NaNO_2 çözeltisi, %10’luk AlCl_3 çözeltisi hazırlanmıştır. Bal Fenolik ekstraktından ve HPE@FeNPs nanopartikülünün her birinden 10 μL alınarak üzerine 40 μL distile su ve 6 μL sodyum nitrat eklenerek vortekslenmiş ve 6 dakika bekletilerek üzerine 3 μL alüminyum klorür eklenmiştir. Vortekslenerek iyice karıştırılmış ve 5 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında 40 μL sodyum hidroksit ile 100 μL

saf su her iki örnek karışımına eklenerek vortekslenmiştir. U.V. Spektrofotometre cihazında 415 nm'de absorbansı ölçümü yapılmış ve Quercetin ile hazırlanacak olan standart kalibrasyon grafiğine göre hesaplama yapılarak sonuçlar QE (Quercetin Eşleniği) olarak hesaplanmıştır (Kaya et al., 2016).

3.6.4. DPPH ve ABTS

0,1 mM'lık DPPH çözeltisinde 200 mL metanolde 4 mg DPPH eklenerek hazırlanmıştır. Bal fenolik ekstratında ve demir nanopartikülünden 50 µL alınarak üzerine 200 µL DPPH eklenmiştir. Karanlık ortamda 60 dakika inkübasyondan sonra 517 nm'de absorbansı ölçülerek sonuçlar BHA' ya göre değerlendirilmiştir. ABTS için 7 Mm ABTS çözeltisi hazırlanmıştır. Bal fenolik ekstratı ve demir nanopartikülünden 15 µL alınarak üzerine 285 µL ABTS ilave edilmiştir. Vortekslenildikten sonra 2 saat karanlıkta bekletilmiş ve sonra 734 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Sonuçlar BHT'ye göre değerlendirilmiştir (Kaya et al., 2016).

3.6.5. Metal Şelatlama Aktivitesinin Ölçülmesi

5 mM ferrozin ve 2 mM FeCl₂ çözeltisi hazırlanmıştır. Demir nanopartikülünden ve bal ekstraktından 50 µL alınarak, 160 µL distile su 5 µL FeCl₂ eklenerek vortekslenmiştir. Daha sonra 20 µL ferrozin eklenerek karıştırılmıştır. 10 dakika sonunda 562 nm'de absorbans ölçümü yapılarak sonuçlar EDTA standart grafiğine göre değerlendirilmiştir (Phull et al., 2016).

3.7. Demir Nanopartikülünün Antimikrobiyal Aktivitesini Belirleme

Demir nanopartikülünün antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Bu çalışmada gram pozitif ve gram negatif olan bakteri suşları üzerinde antibakteriyel aktivite değerlendirilmesi yapılmıştır. Otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanan nutrient agar besiyerinden her bir petri kabına 20 mL olacak şekilde dökülerek katılaşması beklenmiştir. Daha sonra bakteri suşlarının aktif solüsyonundan 100 µL alınarak katı agar besiyerine steril L çubuğu kullanılarak ekileri yapılmıştır.(Kaya et al., 2016).

3.7.1. Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

3.7.1.1. Agar Disk Difüzyon Metodu ile Ekstrelerin Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi

Berge ve Vlietinck tarafından açıklanan metoda göre bal örneklerinin antimikrobiyal aktivite testleri yapılmıştır. (Berghe ve Vlietinck, 1991). Dimetilsulfoksit (DMSO) içerisinde çözücülerini uçurulmuş kuru bal ekstraları, 25 mg/mL olacak şekilde çözündürülmüştür. HPLC saflıkta filtrasyon yapan 0,22 µm' lik naylon membran filtreler kullanılarak süzülen ekstralar kullanılmıştır. Testte kullanılan mikroorganizmaların kültür süspansiyonundan 200'er µL (yaklaşık olarak Mc Farland 0,5 eşitliğine göre 10⁶ koloni içerir), Mueller Hinton Agar içeren petri kaplarına aktararak eküvyon çubuğu ile petri yüzeyine yayılmıştır. Daha sonra 6 mm çapa sahip 40'ar µL (20 µL +20 µL) ekstre emdirilmiş diskler, steril bir pens yardımıyla üzerine bakteri ekilen petri kapları üzerine yerleştirilmiştir. Negatif kontrol olarak 40 µL DMSO emdirilen diskler, Pozitif kontrol olarak da Streptomisin kullanılmıştır. Petri kapları 1 saat 4°C' de daha sonra 24 saat 37°C' de inkübe edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite, ekstre emdirilen disklerin etrafındaki inhibisyon zon çaplarının ölçülmesi ile belirlenmiştir (Yıldırım 2013).

3.8. Antikanser Kapasitenin Belirlenmesi

3.8.1. Bal Ekstraktlarının ve HPE@FeNPs Hücre Canlılık Testi

Yaşayan hücreler hücre sayımı ile sayılmıştır. 96 kuyucukla plakalara hücre ekimi yapılacağı için her kuyucukta yaklaşık 2x10⁴ hücre olacak şekilde hücre ve medium miktarı hesaplanmış ve medium eklenerek 15 mL falkon tüp içinde hazırlanmıştır. Kuyucukların her birine 100 µL hücre konduktan sonra hücreler %5 CO₂'li inkübatörde çoğalmaları için 48 saat bekletilmiştir.

Her bir örnek için 1 mg tartılarak, 1.5 mL ependorf tüp içerisinde 1 mL RPMI 1640 besiyeri içinde çözünerek istenen konsantrasyon hazırlanmıştır. Hazırlanan konsantrasyonun sonikatörle iyice karıştırılmış ve besiyeri içerisinde homejen olarak dağılması sağlanmıştır. Tüm kuyucuklarda (96'lık well plate) besiyeri hücrelere zarar vermeyecek şekilde mikro pipetle çekilerek ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Kanseri hücreleri, 12,5-2000 µg/ mL olacak

konsantrasyonlarda bal fenolik ekstraktı ve HPE@FeNPs sahip olan besiyeri ile % 5 CO₂'li inkübatörde 48 saat inkübe edilmiştir. Kontrol grubu olarak kuyucuklara sadece RPMI 1640 besiyeri ilave edilmiştir. 48 saat sonunda her bir kuyucuğa 15 µL WST-1 maddesi eklenmiştir. Hücreler %5 CO₂'li inkübatörde 37°C 4 saat inkübasyonu sağlanmış, sonra absorbans değerlerini ölçmek için 96 kutucuklu plate ELISA reader cihazına yerleştirilmiştir. Tüm kuyucukların 440-620 nanometredeki absorbans değerleri alınarak kaydedilmiştir. WST-1 toksisite testinde yaşayan hücreler sarı renk oluşturması beklenecek fakat ölü hücrelerde renk oluşumu gözlenmeyecektir. Toksik etki şu formül ile hesaplanmıştır. % İnhibisyon = $[1 - (\text{Test} - \text{MI})/(\text{MO} - \text{MI})] \times 100$. Test: İnhibitör uygulaması yapılan hücrelerin verdiği absorbansın ortalaması, MO: Negatif kontrol, MI: Pozitif kontrol. (Murat et al., 2017).

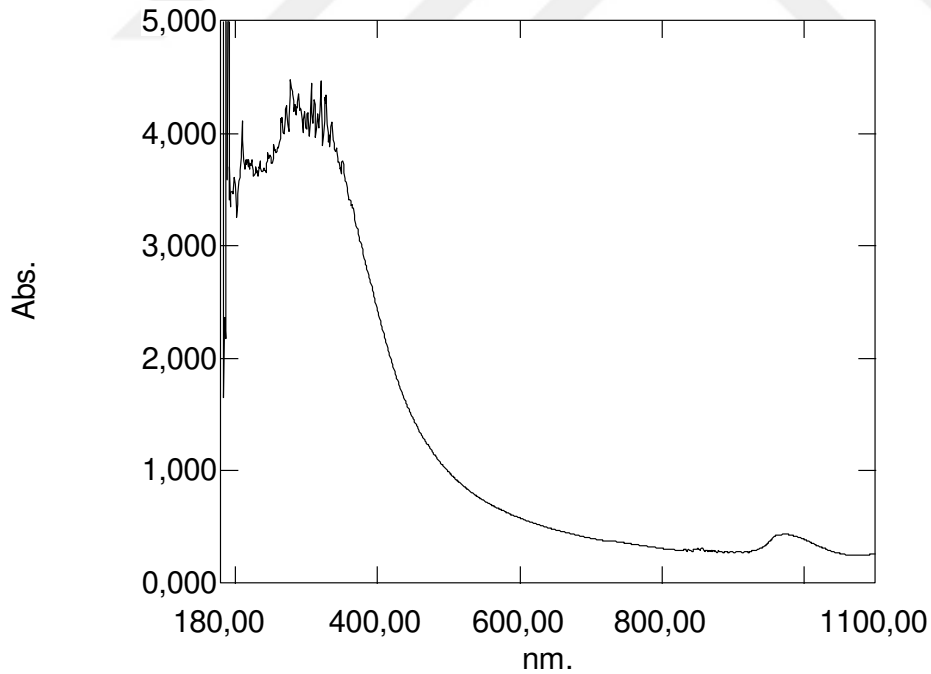
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Demir Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu

Biyolojik bir sentez olan yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen HPE@FeNP'nin topografik, yapısal, morfolojik ve optik özellikleri UV-Vis, FTIR, XRD, SEM, TEM, EDX ve Zeta potansiyeli kullanılarak karakterizasyonları yapılmıştır.

4.1.1. UV-Vis (Ultraviyole-Görünür Spektroskopi)

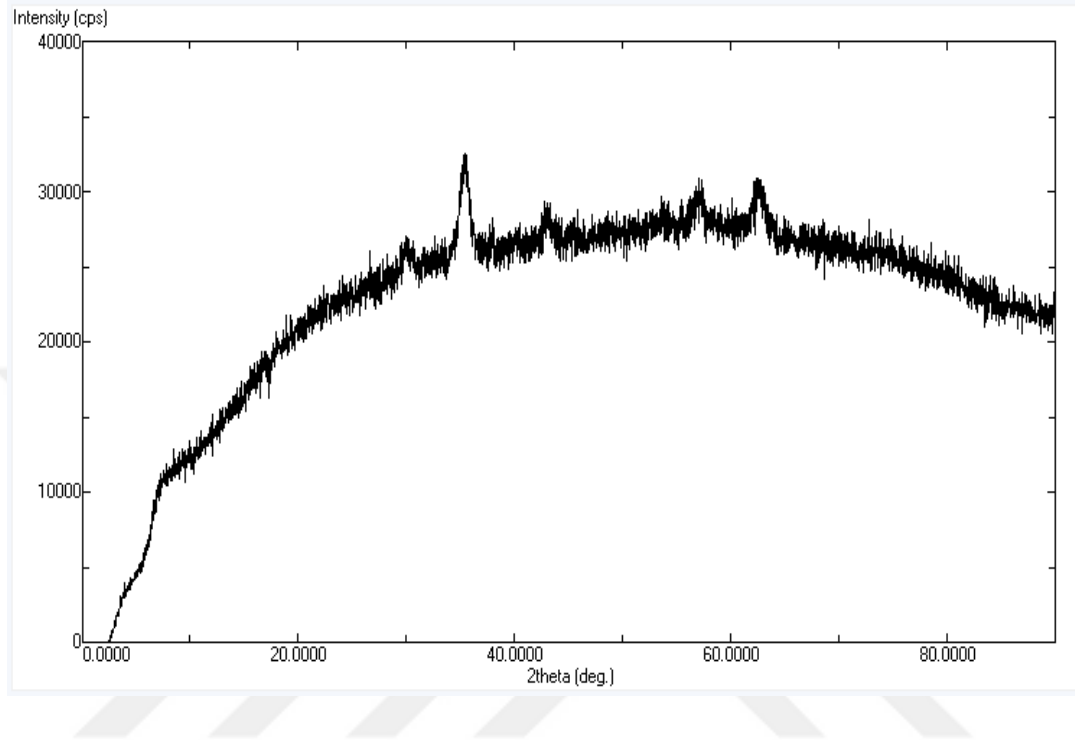
Yeşil sentez yöntemiyle sentezlenen demirnanopartikülleri oluşturan bileşenlerin 180-1100 nm dalga boyu aralığında alan taraması UV-VİS spektromu ile karakterize edilmiştir. UV-Visble absorpsiyon spektroskopisi metal nanopartiküllerin elektriksel yapısı ve optik özelliklerini karakterize edilmesinde kullanılmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. FeNP1'nin UV-Vis alan taraması

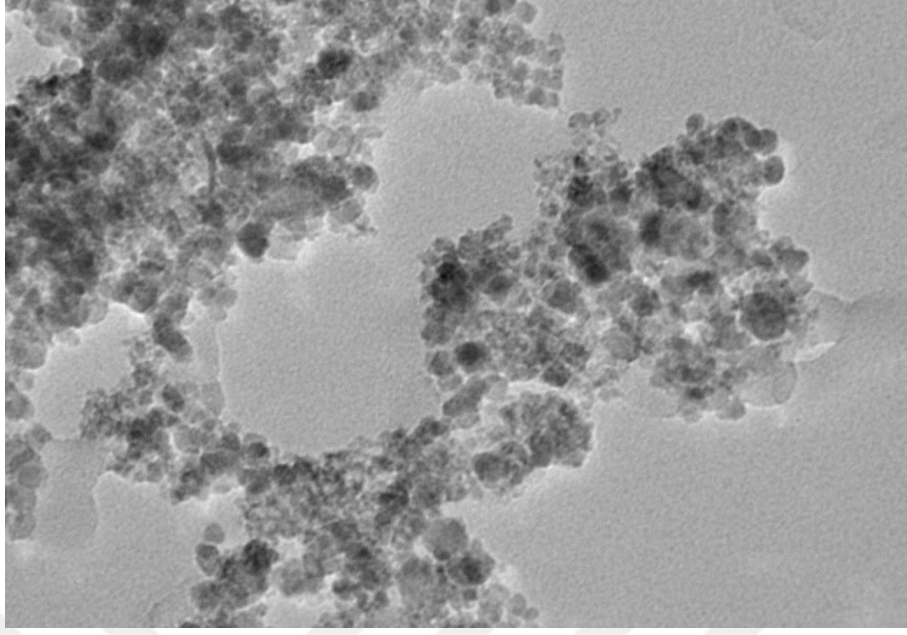
4.1.2. XRD ve TEM

FeNP'nin kristal yapısı ve faz tanımlaması, XRD ile karakterize edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Yeşil sentez metodu ile sentezlenen FeNP1'nin XRD grafiği

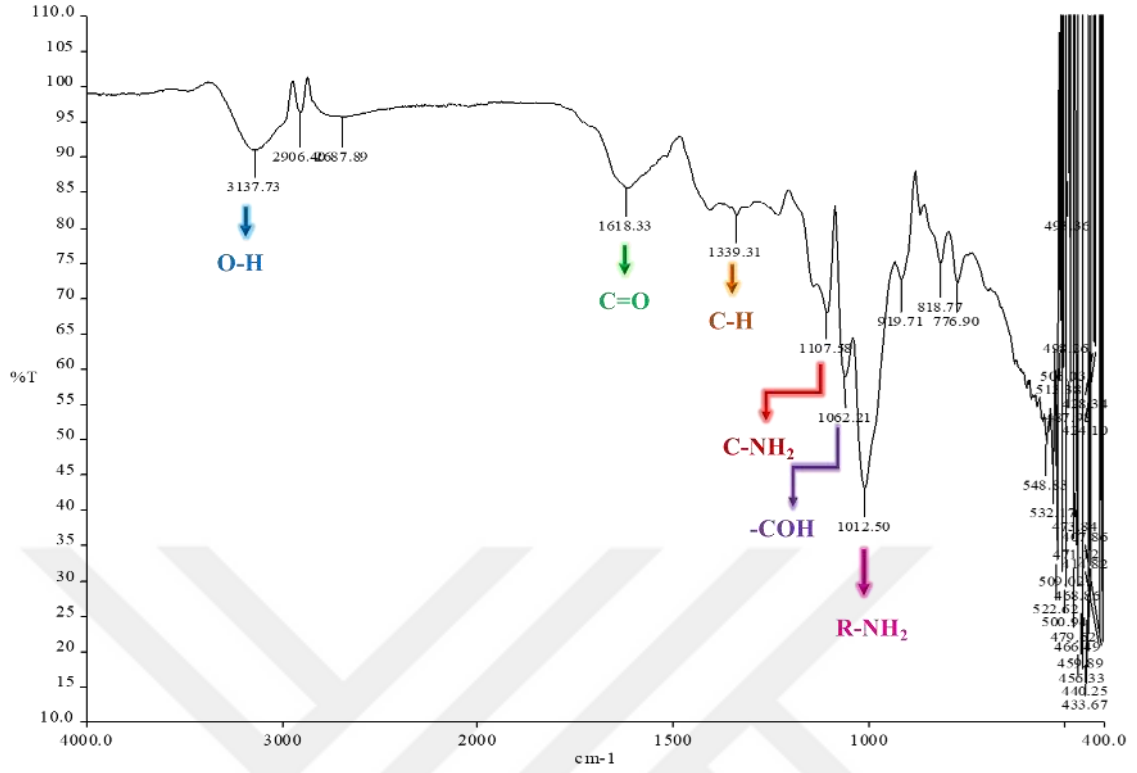
X-Işını Kırınımı tekniği, HPE@FeNP'nin boyut analizinde ve nanopartikülün faz ve kristal yapısının tespitinde kullanılmıştır. HPE@FeNP'nin Cu $k\alpha$ ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$) radyasyonu kullanılarak 25°C'de 10–90°'lik alanda 2 θ 'da toz x-ışını kırınımı (XRD paterni) ile belirlendi. Şekil 4.2 'de XRD pikini kullanan karakteristik çalışmalar, FAC kompozitinin pikini göstermektedir. 30,2, 35,5, 43,4, 53,5, 57,1 ve 62,9° 2 θ değerinde oluşan HPE@FeNP'nin Fe₃O₄'ün oluştuğunu doğrulamıştır. Burada sırasıyla en piklerin (220), (311), (400), (422), (511) ve (440)'a şekilsel ifadesi olarak belirlenmiştir. Bu grafik JCPDS No. 19-0629 ile doğrulanmış ve belirlenmiştir (Ha et al., 2021). FeNP1'nin TEM görüntüleri incelenmiştir ve Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Yeşil sentez metodu ile sentezlenen FeNP1'nin TEM görüntüsü

4.1.3. FTIR

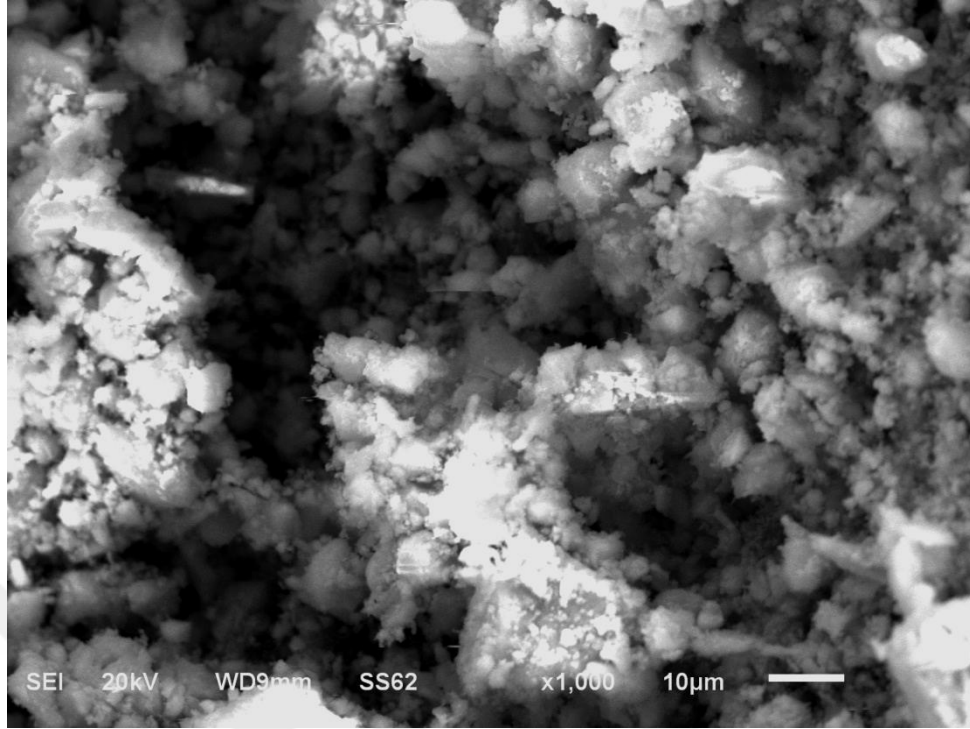
FTIR analizi sonucunda bal ekstraktındaki fenolik ve flavonid gruplarının HPE@FeNP'ye bağlanıp bağlanmadığının tespiti yapılmıştır şekil 4.4'de analiz verilmiştir. Demir nanopartikülünün yeşil sentezle elde edilip edilmediği tesbiti organik grupların bağlanması ile belirlenmektedir. FTIR analizinde IR bantlarına göre hidroksil ($3200\text{--}3650\text{ cm}^{-1}$), alkanlar ($1340\text{--}1470\text{ cm}^{-1}$, $2850\text{--}2970\text{ cm}^{-1}$), alkin ($2100\text{--}2260\text{ cm}^{-1}$), karbonil ($1690\text{--}1760\text{ cm}^{-1}$), C = C alkenler ($1610\text{--}1680\text{ cm}^{-1}$), C = C aromatik halka ($1500\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$), aromatik aminler ($1300\text{--}1370\text{ cm}^{-1}$), amin – amid ($1180\text{--}1360\text{ cm}^{-1}$), alkol, karboksilik asit ($1050\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$) ve alifatik aminler ($1040\text{--}1053\text{ cm}^{-1}$) verilen değerlere göre gruplar belirlenir (Kaya et al., 2018).



Şekil 4.4. HPE@FeNP FTIR sonucu

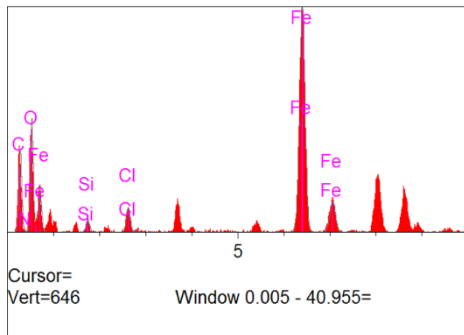
4.1.4. SEM ve EDX

Sentezlenen HPE@FeNP’lerin genel görüntüleri Şekil 4.5’de verilmiştir. Burada mevcut olan yapıların agrege oldukları görülmüştür. Bu durum Zeta potensiyel çalışmalarındaki negatif değerler ile örtüşmektedir. TEM fotoğrafları yapılar hakkında daha geniş bir bilgi vermektedir.



Şekil 4.5. HPE@FeNP SEM görüntüsü HPE@FeNP'lerin Sem fotoğrafı

EDX analizi HPE@FeNP içeriğindeki elementlerin miktarını tespit etmek için kullanılır. Demir (Fe) %45 oranında iken oksijen (O) %23 oranında olduğu tespit edilmiştir. HPE@FeNP'lerin EDX sonuçları aşağıda Şekil 4.6'da görülmektedir. Oluşan yapının Fe ve O'dan oluşan formasyon olduğu belirlenmiştir. Bunun Hangi demir oksit formunda olduğu XRD çalışması ile değerlendirilmiştir ve sonuç olarak Nanopartikül sistemi içerisinde Fe_3O_4 nanoyapıların olduğu belirlenmiştir.

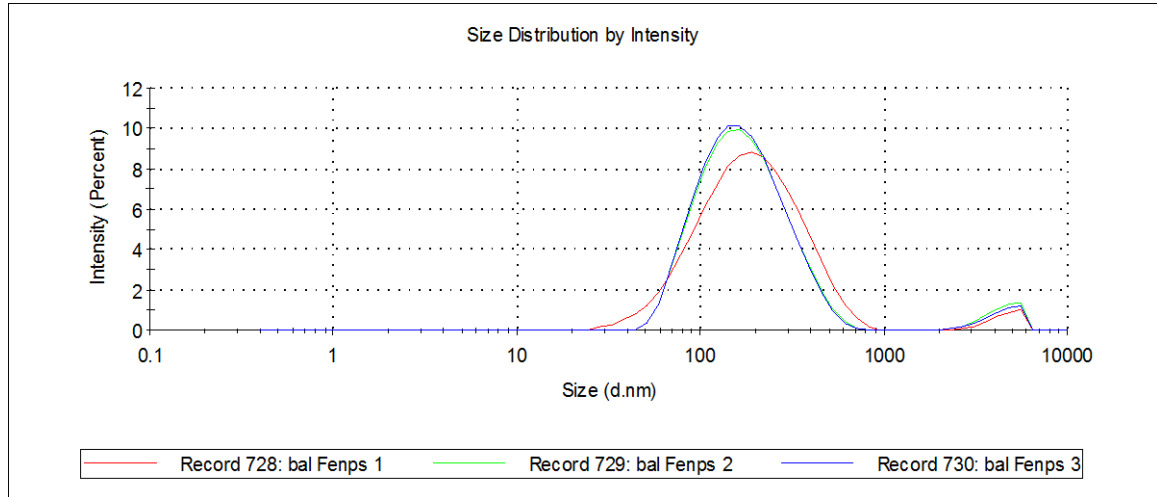


Elt.	Line	Intensity (c/s)	Error 2-sig	Conc	Units	
C	Ka	31.54	1.690	27.883	wt.%	
N	Ka	0.46	0.618	0.810	wt.%	
O	Ka	40.39	1.831	23.254	wt.%	
Si	Ka	6.15	1.038	0.984	wt.%	
Cl	Ka	12.92	1.233	1.742	wt.%	
Fe	Ka	165.75	3.416	45.327	wt.%	
				100.000	wt.%	Total

Şekil 4.6. HPE@FeNP EDX sonucu

4.1.5. Zeta Sizer ve Zeta Potansiyeli

Yeşil sentez metodu sentezlenen HPE@FeNP'nin elektriksel yükü Zeta Potansiyeli ile belirlenmiştir Şekil 4.7'de nm boyutu ve Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'de tabloda ayrıntılı bilgi belirtilmiştir. Negatifliğin yüksek olması agregasyon olma seviyesini belirler.



Şekil 4.7. HPE@FeNP Zeta Sizer sonucu

Tablo 4.1. Zeta potansiyal tablosu

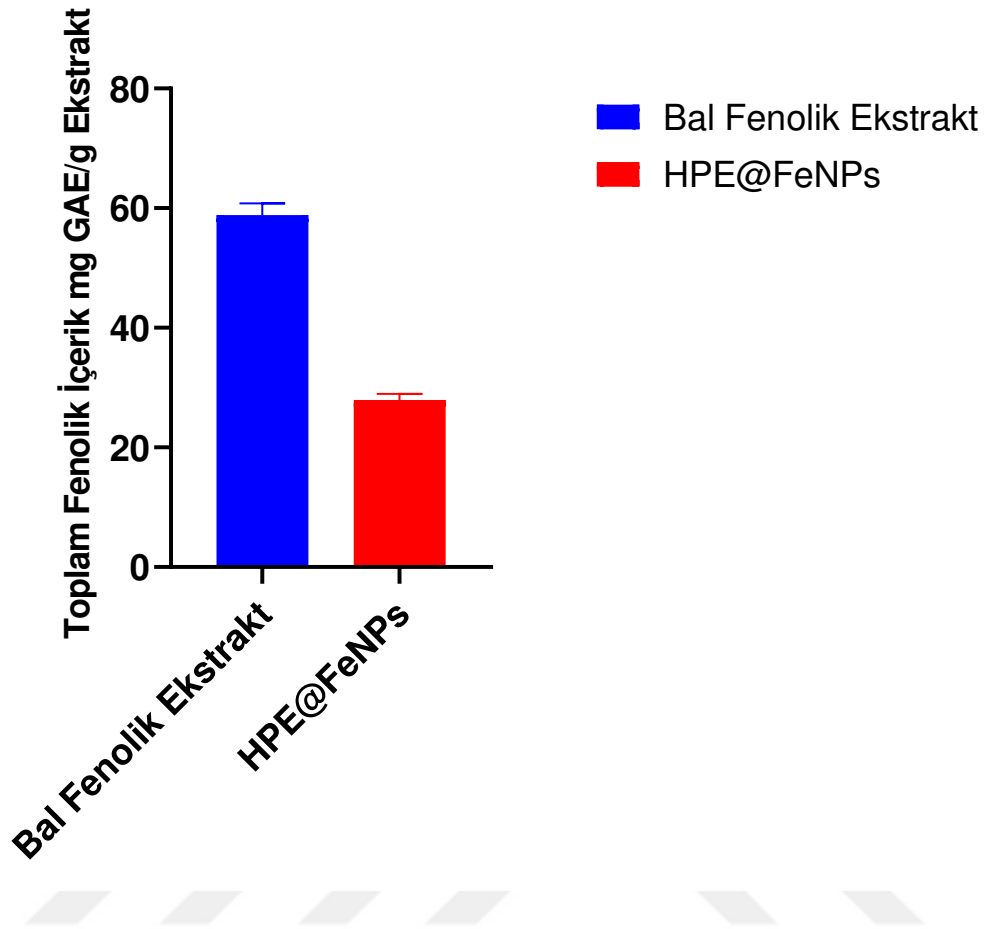
Record	Type	Sample Name	T	Z-Ave	PdI	Pk 1 Mean Int	Pk 2 Mean Int	Pk 3 Mean Int	Pk 1 Area Int	Pk 2 Area Int	Pk 3 Area Int	Scattering Angle
			°C	d.nm		d.nm	d.nm	d.nm	Percent	Percent	Percent	°
728	Size	Bal Fenps 1	25	164,9	0,287	214,9	4600	0	96,8	3,2	0	173
729	Size	Bal Fenps 2	25	159,5	0,303	190,1	4438	0	94,8	5,2	0	173
730	Size	Bal Fenps 3	25	156,5	0,273	187,9	4453	0	95,6	4,4	0	173
Mean 728-730			25	160,3	0,288	197,6	4497	0	95,7	4,3	0	173
Std Dev			0	4,257	0,015	14,99	89,52	0	1	1	0	0

Tablo 4.2. Zeta potansiyal tablosu

Record	Type	Sample Name	T	ZP	Mob	Cond
			°C	mV	$\mu\text{mcm/Vs}$	mS/cm
731	Zeta	Bal Fenps 1	19,9	-71,5	-1,513	0,0137
732	Zeta	Bal Fenps 2	20	-76,5	-1,62	0,0137
733	Zeta	Bal Fenps 3	20	-72,5	-1,535	0,0136
Mean 731-733			20	-73,5	-1,556	0,0137
Std Dev			0,1	2,65	0,05651	5,77E-05

4.2. Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi

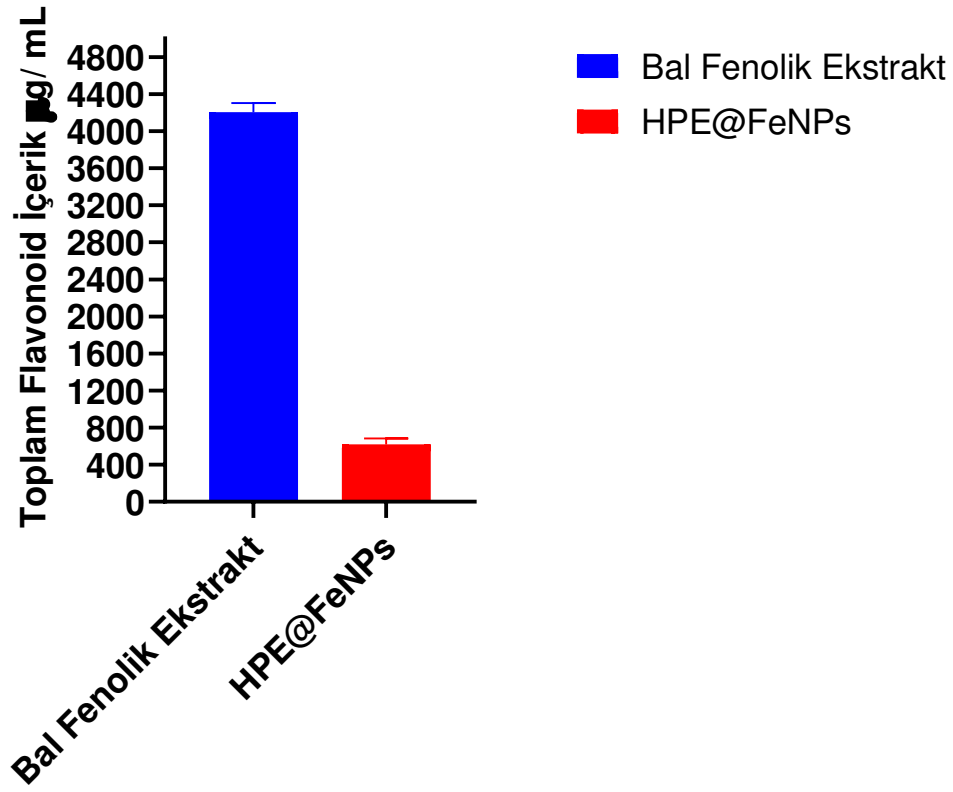
Balın yüksek oranda fenolik madde içerdiği literatürde bilinmektedir (Şahin et al., 2017). Gerçekleştirilen bu çalışmada bal ekstraktı ile elde edilen HPE@FeNP'nin fenolik içeriği bal ekstraktına kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir Şekil 4.8'de belirtilmiştir. Bu durumda fenolik bileşik miktarı düşük olmasına rağmen varlığını korumaktadır. Yeşil sentezle elde edilen nanopartiküle bal içeriğindeki fenolik bileşikler veya fenolik grupların bağlandığı netleştirilmiştir.



Şekil 4.8. Bal ekstraktı ve HPE@FeNP'nin gallik asit standart grafiğine göre toplam fenolik içeriği

4.3. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Polifenollerin en önemli sınıfını oluşturan fenolik asit ve flovonoidlerdir. Bal içeriğindeki flovonoid bileşikler antioksidan etkiden sorumludurlar. Balın içeriğindeki flovonoid bileşikler aynı zamanda, baldaki pigmentasyonu da etkilemektedir. En koyu balların en fazla flovonoid içerdiği tespit edilmiştir (Çelik, 2021; Güzel et al., 2019). Yeşil sentez yöntemi ile elde edilen HPE@FeNP'nin bal ekstraktına göre daha düşük miktarda olsa içeriğindeki flovonoid yapıyı koruduğu tespit edilmiştir ve Şekil 4.9'da verilmiştir.

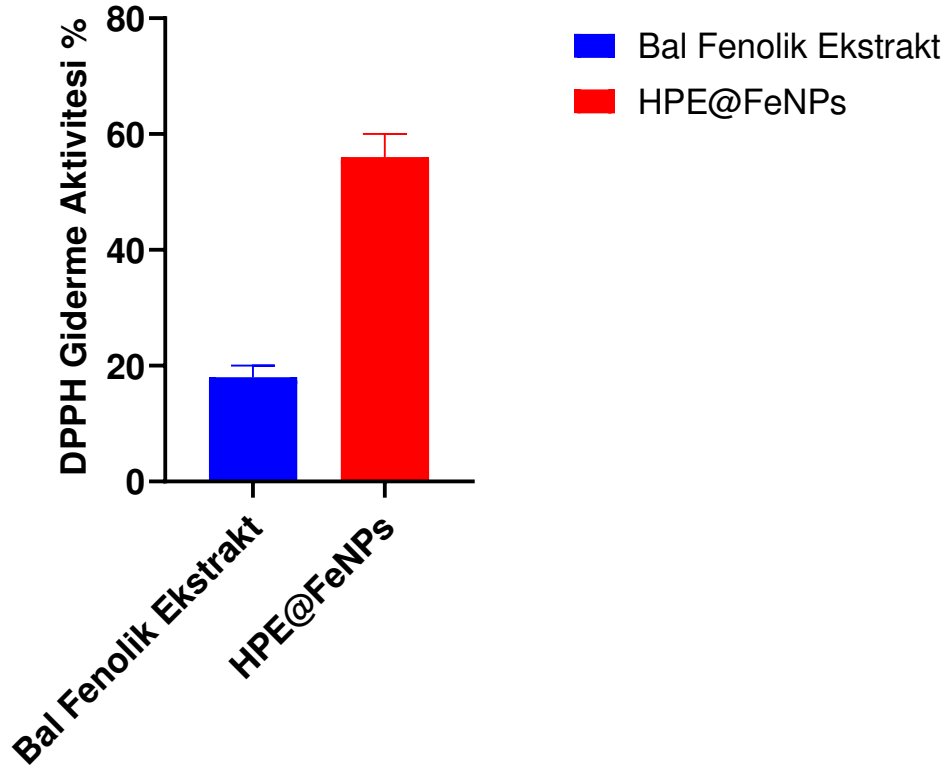


Şekil 4.9. Bal ekstraktı ve HPE@FeNP quercetin standart grafiğine göre toplam flavonoid içeriği

4.4. Antioksidan Aktivite

4.4.1. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Giderimi

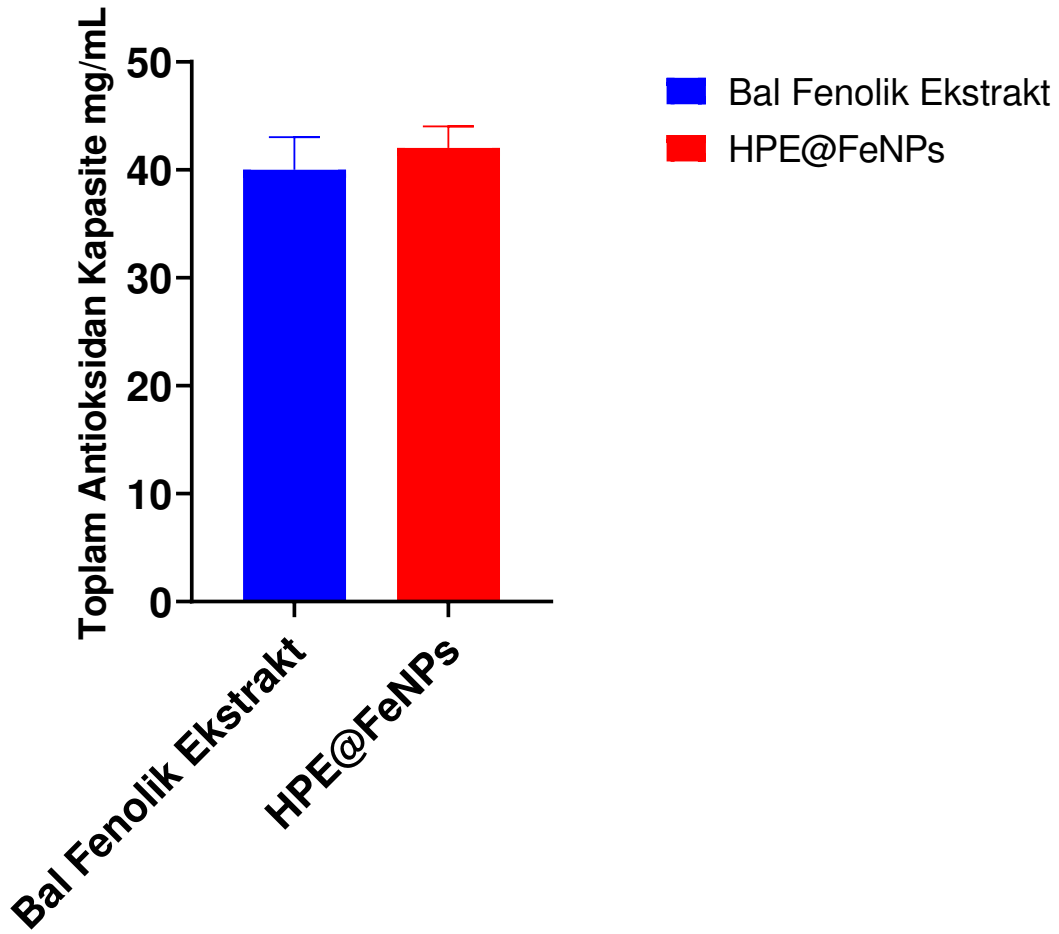
Yeşil sentez yöntemi ile elde edilen HPE@FeNP'nin bal ekstraktına göre yüksek orada inhibisyon sağladığı yüzde (%) oranla incelenmiştir. Şekil 4.10'da gösterildiği gibi bu incelemeler sonucunda bal ekstraktı %20 oranla inhibisyon giderimi yaparken HPE@FeNP %60 oranda inhibisyon giderimi sağlamıştır.



Şekil 4.10. Bal ekstraktı ve HPE@FeNP'nin DPPH giderme aktivitesi (%)

4.4.2. Toplam Antioksidan Kapasitesi

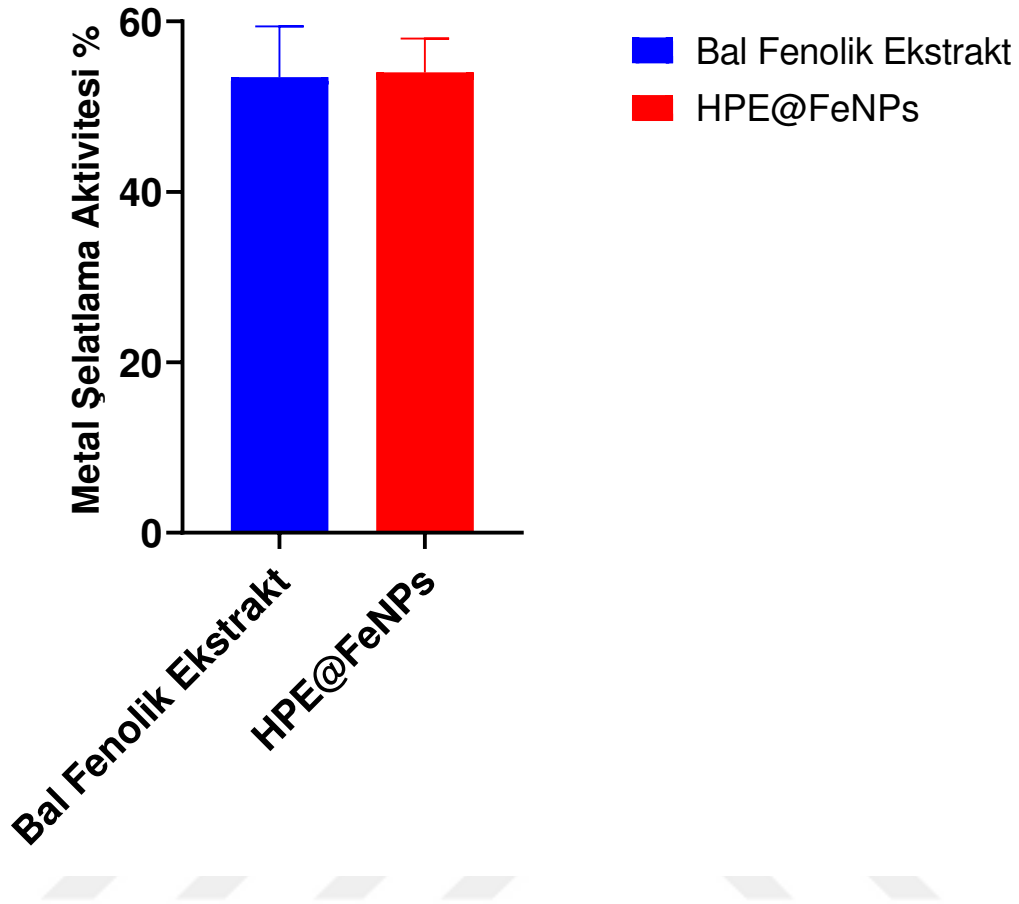
Fenolik bal ekstraktının antioksidan kapasitesi belirlenmesi için spektrofotometrik fosfomolibden yöntemi kullanılmıştır sonuçlar Şekil 4.11'de verilmiştir. Bal örneklerinin antioksidan kapasitelerini belirlemek için 3 paralel tekrar yapılmış ve yapılan ölçümler hesaplanmıştır. El-Haskoury et al. (2018) Fas'ın 8 farklı balındaki toplam antioksidan kapasitesi, $35,03 \pm 0,61$ ila $60,94 \pm 1,88$ mg AAE/g bal aralığında askorbik asit eşdeğeri olarak tanımlamıştır. Tornuk et al. (2013) Türkiye'nin 35 farklı bal çeşidi üzerinde yaptıkları çalışmada toplam antioksidan kapasitelerini 57,03 ile 114,69 mg AAE/g arasında bulmuşlardır. İmtara et al. (2018) Filistin'in 10 bal çeşidinde toplam antioksidan kapasitesini $81,18 \pm 3,01$ ila $120,04 \pm 1,59$ mg AAE/g aralığında belirlemiştir. Toplam antioksidan kapasitesi $37,24 \pm 5,6$ – $267,6 \pm 9,2$ m aralığında belirlenmiştir.



Şekil 4.11. Bal ekstraktı ve HPE@FeNP askorbik asit standart grafiğine göre toplam antioksidan kapasitesi

4.4.3. Metal Şelatlama Aktivitesi

Bal ekstraktı ve HPE@FeNP'nin metal şelatlama aktivitesi incelenmiştir Şekil 4.12. Sonuçlar yüzde (%) olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler ışığında her iki bileşeninde aynı oranda metal şelatlama yaptığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak yeşil sentez ile elde edilen nanopartikülün ve bal ekstraktının %60 oranında metal şelatlama kapasitesi olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.12. Bal ekstraktı ve HPE@FeNP metal şelatlama aktivitesi (%)

4.5. Antimikrobiyal Aktivite

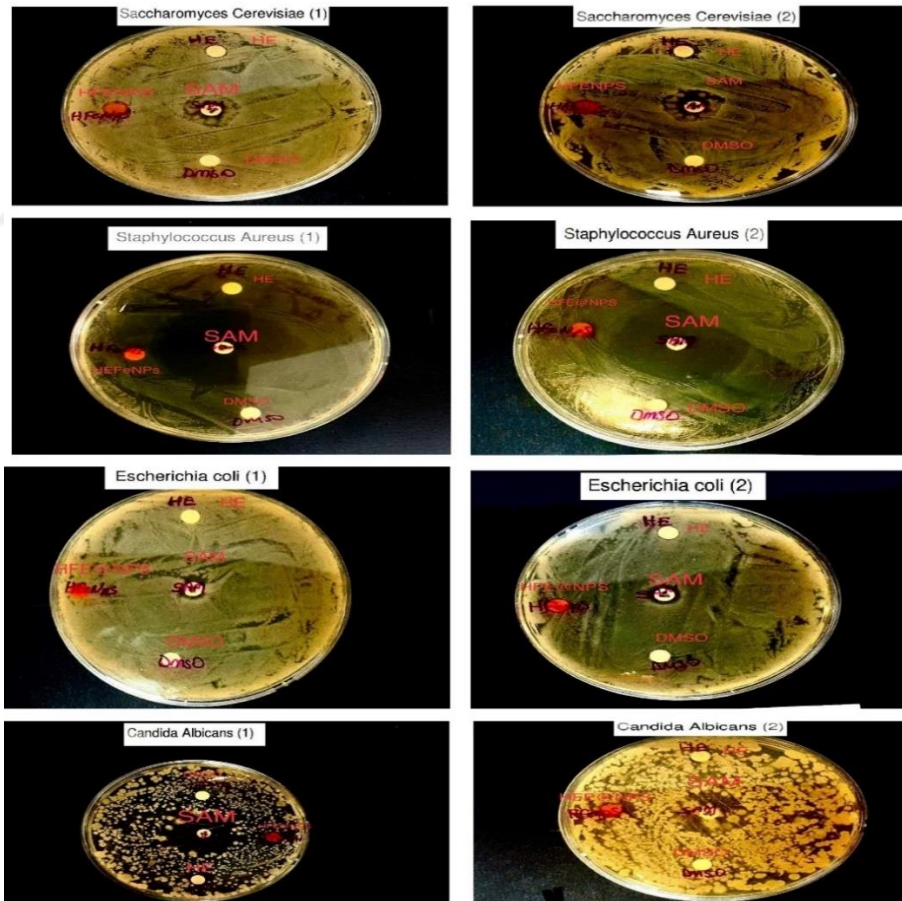
4.5.1. Bal Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivitesine ait Bulgular

Bal ekstraktlarının ve HPE@FeNPs antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacıyla yapılan çalışmaların bulguları Tablo 4.3 ve Şekil 4.13’de verilmiştir. Bal ekstresinin ve HPE@FeNPs mikroorganizma kültürlerinin tamamına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Bal ekstresinin, mikroorganizma kültürlerine karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları sırasıyla; *Escherichia coli* > *Saccharomyces cerevisiae* > *Candida albicans* > *Staphylococcus aureus* şeklindedir. HPE@FeNPs mikroorganizma kültürlerine karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları ise; *Escherichia coli* $\approx$ *Candida albicans* > *Saccharomyces cerevisiae* > *Staphylococcus aureus* olarak sonuçlandırılmıştır. HPE@FeNPs, *Candida albicans* ve *Escherichia coli* Ambisilin’e karşı maksimum antimikrobiyal aktivite göstermiş olup, 9,5 mm büyüklüğünde inhibisyon zonu

oluşturmuştur. Minimum antimikrobiyal aktiviteyi ise *Staphylococcus aureus* Ambisin'e karşı, 7 mm inhibisyon zonu oluşturarak, göstermiştir.

Tablo 4.3. HPE@FeNPs, bal ekstraktı ve kontrol (Streptomycin) zon çapı değerleri

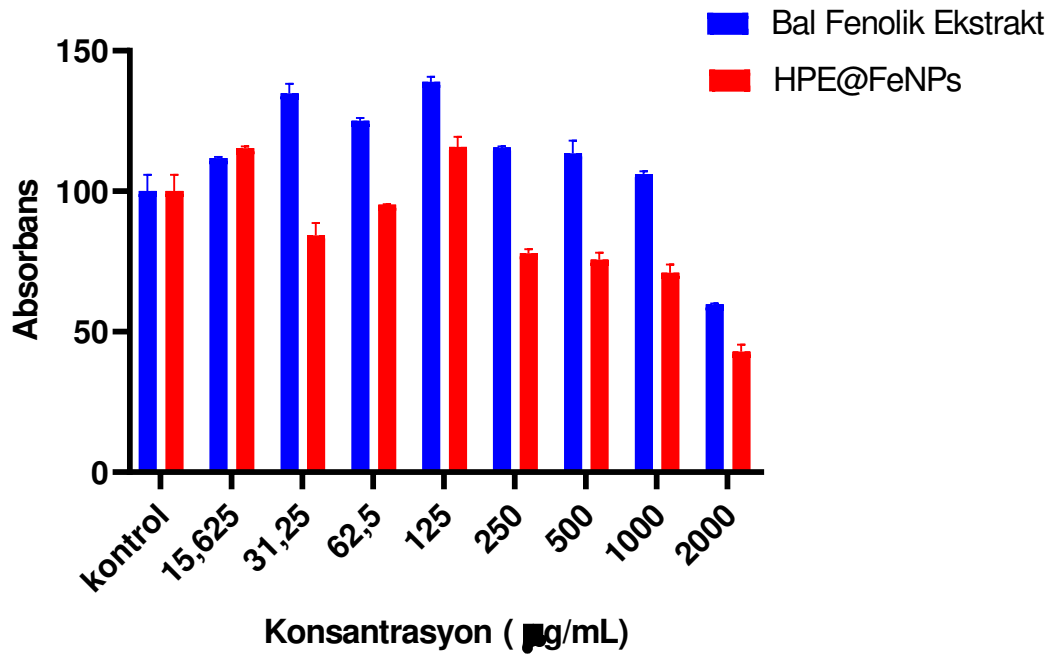
Test Edilen Mikroorganizma	İnhibisyon bölgesi (Zon çapı) (mm)			
	DMSO	SAM	HE	HPE@FeNPs
Gram (+)				
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	45	6	7
Gram (-)				
<i>Escherichia coli</i>	0	10	9,5	9,5
Maya				
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0	17,5	8	9
Mantar				
<i>Candida albicans</i>	0	26	7	9,5



Şekil 4.13. Mikroorganizmaların üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri görüntüsü

4.6. Antisitotoksik Aktivite

Fenolik ekstraktların (akciğer kanseri) A549'ün çoğalması üzerindeki etkileri, Bal örneklerinin fenolik ekstraktlarının ve HPE@FeNPs'nin farklı konsantrasyonların A549 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkinlikleri WST-1 yöntemi ile *in vitro* olarak belirlenmiştir. Grafik Şekil 4.14'de bal fenolik ekstraktlarının ve HPE@FeNPs'nin 24 saatlik bir süre boyunca farklı konsantrasyonlarda A549 kanser hücreleri üzerindeki etkinlikleri gösterilmiş ve konsantrasyon artıkcça hücre canlılığını inhibe ettiği görülmüştür. Bal ekstraktına göre nanopartikül sisteminin daha etkin olduğu saptanmıştır. Hemen hemen tüm konsantrasyonlarda nanopartikül sistemi hücre canlılığında azalma gösterirken, bal ekstraktının hücre canlılığını artırmış olduğu belirlenmiştir. Bu da piyasadan alınmış olan balın içerisinde şekerin fazla olduğunu düşündürmüştür. Şekil 4.14'de görülebileceği gibi, bal fenolik özleri doz uygulaması önemli bir sitotoksik etkiye neden olmuştur.



Şekil 4.14. Bal ekstraktının ve HPE@FeNPs'nin A549 hücre hatlarındaki toplam antioksidan seviyesi

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yapılan bu yüksek lisans çalışmasında balın fenolik içeriği çıkartılmıştır. Bu ekstraktın fenolik içeriği, flavonoid içeriği sentezlenen nanopartikül sisteminden daha yüksek olmasına rağmen, DPPH, Metal Şelatlama, ABTS ve toplam antioksidan kapasite değerlendirilmesi yapıldığında sentezlenmiş olan HPE@FeNPs'nin bu kapasiteleri daha yüksek olarak belirlenmiştir. Bu durum bal ekstraktlarının etkinliği Fe ile birleştirilerek elde edilen NPs'lerin etkinliğini ortaya koymuştur. Bu durum az olan fenolik madde ve Flavonoid maddenin demire bağlanması ile açıklanamaz. Bu açıdan değerlendirildiğinde az miktarda bu içeriklerin varlığı demir ile birleştğinde sinerjik bir etki oluşturduğu düşünülmüştür.

Antimikrobiyal etkinlik açısından değerlendirildiğinde ise yine aynı şekilde HPE@FeNPs'nin elde edilmesi incelenen 4 farklı gruba dahil mikroorganizmalarda bal fenolik ekstraktlarından daha etkin olduğu belirlenmiştir. Özellikle *Candida albicans*'da etkinliği daha bariz olarak ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar literatürde bitkisel ekstraktlar ile yapılan çalışmalarla değerlendirildiğinde daha etkindir. Literatürde 100 mg/mL düzeyi ile yapılan çalışmalarda sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Ancak bu çalışmada elde edilen sonuçlar 1 mg/mL düzeyindeki konsantrasyonlarda sonuçlar alınmıştır. Bu durum fenolik maddelerin ve fenolik maddeler ile birleşen Fe'in sinerjik etkisini ortaya koymaktadır. Nanopartikül haline gelmiş Fe ve fenolik maddelerin sinerjik etisi ile açıklanmaktadır.

Antikanser etkinlik olarak bakıldığında antikanser aktivite çalışmanın odaklandığı HPE@FeNPs 'de daha yüksektir. Çalışılan tüm konsantrasyonlar NPs'nin etkinliği Bal fenolik ekstraktından daha yüksektir. Bu durum fenolik ekstraksiyonda elde edilen fenolik maddelerin hemen hemen hepsinin üzerlerinde çeker bulunduran glikan formundan kaynaklandığını düşündürmüştür. Fenolik ya da sekonder bileşikler içinde aglikan formlarının doğal olarak çok çok az olduğundan kaynaklanabilir.

Sonuç olarak yapılan çalışmanın tamamı sonucunda Yeşil Sentez HPE@FeNPs'nin olduğu UV, TEM, XRD ve FTIR sonuçları ile net bir şekilde belirlenmiştir. Elde edilen

NPs'nin biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Buna göre biyolojik aktivite açısından bal fenolik ekstratının HPE@FeNPs'den aktivitesi daha düşük kalmıştır. Bunun sonucunda yapılan çalışmanın literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. Sonuçlar açık bir şekilde bu çalışmanın sonuçlarının önemli olduğunu belirtmiştir. *İn-vivo* alışmalar ile bu sonuçların destekleneceği ve özellikle Yeşil Sentez nanopartiküllerin hayvan beslenmesi ile yapılan çalışmalarda ürün verimliği ve hastalıkların engellenmesi açısından etkin olabileceği düşüncesindeyiz. Daha ileri alışmlarda ise insan sağlığı açısından insan bedeninde bulunan Fe, Cu, Mg vb gibi metallerin gıdalarda fonksiyonel gıda terminoljisne uygulanarak katkıda bulunulacağını düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

- Ahmad, W., Khan A., Shams, S., Qin, L., Yuan, Q., Ahmad, A., Wei, Y., Khan, H., Ullah, S., and Rahman, A. (2020). Eco-benign approach to synthesize spherical iron oxide nanoparticles: A new insight in photocatalytic and biomedical applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 205, 111821.
- Aksu, D., Yıldız, Y., Yılmaz, Ş. And Yılmaz, D. (2019). Green synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles using *Ficus carica* (common fig) dried fruit extract. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 127(2), 241–245.
- Alam, F., Islam, M., Gan, S. and Khalil, M. (2014). Honey: A potential therapeutic agent for managing diabetic wounds. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 169130, p. 16.
- Amendola, V., Polizzi, S. and Meneghetti, M. (2007). Free silver nanoparticles synthesized by laser ablation in organic solvents and their easy functionalization. *Langmuir*, 23(12), 6766–6770.
- Baglioni, P. and Giorgi, R. (2006). Soft and hard nanomaterials for restoration and conservation of cultural heritage. *Soft Matter*, 2(4), 293–303.
- Balasooriya, E., Jayasinghe, D., Jayawardena, A., Ruwanthika, D., de Silva, M. and Udagama, P. (2017). Honey Mediated Green Synthesis of Nanoparticles: New Era of Safe Nanotechnology. *Journal of Nanomaterials*, Article ID 5919836, p.10.
- Bar, H., Bhui, D., Sahoo, G., Sarkar, P., Pyne, S. and Misra, A. (2009). Green synthesis of silver nanoparticles using seed extract of *Jatropha curcas*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 348(1–3), 212–216.
- Berghe, A. and Vlietinck, J. (1991). Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Methods in Plant Biochemistry*, 6(3), 47–68.
- Beykaya, M. and Çağlar, A. (2016). An Investigation on Synthesis of Silver-Nanoparticles (AgNP) and their Antimicrobial effectiveness by using Herbal Extracts. *Afyon Kocatepe University Journal of Science and Engineering*, 16(035403), 631-641.
- Bhattacharya, R. and Mukherjee, P. (2008). Biological properties of “naked” metal nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(11), 1289–1306.
- Buzea, C., Pacheco, I., and Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4), MR17.

Çelik, H. (2021). Bazı Ticari ve Ham, Çam ve Çiçek Balı Örneklerinin Kozmesötik Potansiyellerinin İncelenmesi. T.C. Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.

Çakır, E., Şirin Y., Can, Z., Kolaylı, S. (2017). Doğu Karadeniz Bölgesi Salgı Balının Karakteristik Özellikleri. Arıcılık Araştırma Dergisi, 9(1), 24–31.

Edwards, P., and Thomas, M. (2007). Gold in a Metallic Divided State—From Faraday to Present-Day Nanoscience. Angewandte Chemie International Edition, 46(29), 5480–5486.

El-Haskoury, R., Kriaa W., Lyoussi, B. and Makni, M. (2018). *Ceratonia siliqua* honeys from Morocco: Physicochemical properties, mineral contents, and antioxidant activities. Journal of Food and Drug Analysis, 26(1), 67–73.

Geethalakshmi, R. and Sarada, L. (2012). Gold and silver nanoparticles from *Trianthema decandra*: synthesis, characterization, and antimicrobial properties. International Journal of Nanomedicine, 7, 5375.

Güneş, Ü. Y. (2005). Balın yara bakımında etkinliği. CÜ Hemşirelik YO Dergisi, 9(2), 35–39.

Gürmen, S. and Ebin, B. (2008). Nanopartiküller ve üretim yöntemleri-1. Metalurji Dergisi, 150, 31–38.

Güzel, N. ve Bahçeci, SK. (2019). Çorum Yöresi Ballarının Fenolik Madde İçerikleri İle Renk ve Antioksidan Kapasiteleri Arasındaki İlişki. Gıda, 44(6), 1148–1160.

Ha, T., Phong, T. and Minh, D. (2021). Synthesis of Iron Oxide Nanoparticle Functionalized Activated Carbon and Its Applications in Arsenic Adsorption. Journal of Analytical Methods in Chemistry, Article ID 6668490, p.9.

Imtara, H., Elamine, Y., and Lyoussi, B. (2018). Physicochemical characterization and antioxidant activity of Palestinian honey samples. Food Science ve Nutrition, 6(8), 2056–2065.

Inbathamizh, L., Ponnu, TM. and Mary, EJ. (2013). In vitro evaluation of antioxidant and anticancer potential of *Morinda pubescens* synthesized silver nanoparticles. Journal of Pharmacy Research, 6(1), 32–38.

Iqbal, J., Abbasi, A., Ahmad, R., Shahbaz, A., Zahra, S., Kanwal, S., Munir, A., Rabbani, A. and Mahmood, T. (2020). Biogenic synthesis of green and cost effective iron nanoparticles and evaluation of their potential biomedical properties. Journal of Molecular Structure, 1199, 126979.

Izadiyan, Z., Shameli, K., Miyake, M., Hara, H., Mohamad, B., Kalantari, K., Taib, M. and Rasouli, E. (2020). Cytotoxicity assay of plant-mediated synthesized iron oxide nanoparticles using *Juglans regia* green husk extract. Arabian Journal of Chemistry, 13(1), 2011–2023.

Karadal, F. (2012). Balın Kalite Nitelikleri, Beslenme ve Sağlık Açısından Önemi. Derlemeler. Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 9(3), 197-209.

Karaduman, I., Güngör, A., Nadaroğlu, H., Altundaş, A. and Acar, S. (2017). Green synthesis of γ -Fe₂O₃ nanoparticles for methane gas sensing. Journal of Materials Science: Materials in Electronics, 28(21), 16094–16105.

Karpagavinayagam, P. and Vedhi, C. (2019). Green synthesis of iron oxide nanoparticles using *Avicennia marina* flower extract. Vacuum, 1(6), 286–292.

Kaya, B., Darendelioğlu, E., Dervişoğlu, G. and Tartik, M. (2018). Determination of comparative biological activities of silver nanoparticles formed by biological synthesis using *Achillea vermicularis*. Pakistan Journal of Botany, 50(4), 1423–1432.

Kaya, B., Gül, A. ve Kutlu, M. (2016). Bingöl İli Genç İlçesi Bal Örneklerinin Fenolik Ekstrelerinin Antikanser, Antioksidan ve Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 3(1), 65–74.

Krell, R. (1996). Value-added products from beekeeping (Issue 124). FAO Agriculture Services Bulletin 124.

Kulkarni, N. and Muddapur, U. (2014). Biosynthesis of metal nanoparticles: A review. Journal of Nanotechnology, Article ID 510246, p. 8.

Lee, H., Mi, Y., Park, S., Moon, S., Jung, M., Yong, J., Kang, W., and Jon, S. (2007). Thermally cross-linked superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis and application as a dual imaging probe for cancer in vivo. Journal of the American Chemical Society, 129(42), 12739–12745.

Madubonu, N., Aisida, O., Ali, A., Ahmad, I., Zhao, T., kai Botha, S., Maaza, M. and Ezema, FI. (2019). Biosynthesis of iron oxide nanoparticles via a composite of *Psidium guajava*-*Moringa oleifera* and their antibacterial and photocatalytic study. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 199, 111601.

Mahdavi, M., Namvar, F., Ahmad, M., Mohamad, R. (2013). Green biosynthesis and characterization of magnetic iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles using seaweed (*Sargassum muticum*) aqueous extract. Molecules, 18(5), 5954–5964.

Mahmoudi, M., Simchi, A., Imani, M., Shokrgozar, A., Milani, S., Häfeli, O. and Stroeve, P. (2010). A new approach for the in vitro identification of the cytotoxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 75(1), 300–309.

Makarov, V., Love, J., Sinitsyna, O., Makarova, S., Yaminsky, I., Taliansky, E. and Kalinina, N. (2014). “Green” nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. Acta Naturae (Англоязычная Версия), 61(20), 35–44.

Martin, P. G. (1979). Manuals of Food Quality Control: 3. Commodities (Vol. 13). FAO Food And Nutrition Paper, 14(3): iii-xi, 1-409.

Mirza, U, Kareem., A, Nami., S, Khan, M., Rehman, S., Bhat, A., Mohammad, A. and Nishat, N. (2018). Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles using *Agrewia optiva* and *Prunus persica* phyto species: Characterization, antibacterial and antioxidant activity. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 185, 262–274.

Murat, E. (2017). Bingöl yöresi bal örneklerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ve bazı biyolojik aktivitelerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Bingöl Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, s. 34.

Mutlu, C., Erbaş, M. ve Arslan, Tontul, S. (2017). Bal ve diğer arı ürünlerinin bazı özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. Akademik Gıda, 15(1), 75–83.

Neupane, P., Chaudhary, D., Paudel, S., Timsina, S., Chapagain, B., Jamarkattel, N. and Tiwari, B. (2019). Himalayan honey loaded iron oxide nanoparticles: synthesis, characterization and study of antioxidant and antimicrobial activities. International Journal of Nanomedicine, 14, 3533.

Olaitan, B., Adeleke, E. and Ola, I. (2007). Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. African Health Sciences, 7(3), 159-165.

Ötleş, S. (1995). Bal ve bal teknolojisi: Kimyası ve analizleri. Ege Üniversitesi Yayınevi grubu, Türkiye/ İzmir, s. 89.

Pandey, K., Kumar, R., Maurya D. and Singh, P. (2015). Bionanoparticles: A Green Nanochemical Approach. PharmaTutor, 3(9), 28–35.

Pandey, P. and Dahiya, M. (2016). A Brief Review On Inorganic Nanoparticles. Journal of Critical Reviews, 3(3), 18-26.

Philip, D. (2009). Honey mediated green synthesis of gold nanoparticles. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 73 (4) , 650–653.

Philip, D. (2010). Honey mediated green synthesis of silver nanoparticles. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 75(3), 1078–1081.

Phull, R., Abbas, Q., Ali, A., Raza, H., Kim, 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.

Piñón-Segundo, E., Mendoza-Muñoz, N., ve Quintanar-Guerrero, D. (2013). Nanoparticles as Dental Drug-Delivery Systems. In Nanobiomaterials in clinical dentistry Elsevier, Chapter p.23, 475-495.

Radini, A., Hasan, N., Malik, A. and Khan, Z. (2018). Biosynthesis of iron nanoparticles using *Trigonella foenum-graecum* seed extract for photocatalytic methyl orange dye degradation and antibacterial applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 183, 154–163.

Şahin, H., Zehra, N. ve Kolaylı, S. (2017). Bazı orman gülü ballarının fenolik içerik kompozisyonu. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 9(2), 40–46.

Sarkar, A. and Sil, C. (2014). Iron oxide nanoparticles mediated cytotoxicity via PI3K/AKT pathway: Role of quercetin. *Food and Chemical Toxicology*, 71, 106–115.

Sharma, A., Goyal, K. and Rath, G. (2017). Recent advances in metal nanoparticles in cancer therapy. *Journal of Drug Targeting*, 26(8), 617–632.

Singh, JP., Kumar, M., Sharma, A., Pandey, G., Chae, K. and Lee, S. (2020). Bottom-up and top-down approaches for MgO. In *Sonochemical Reactions*. “Sonochemical Reactions”, ed. Selcan Karakuş, IntechOpen London, UK.

Tan, S. Erol, M., Attygalle, A., Du, H. and Sukhishvili, S. (2007). Synthesis of positively charged silver nanoparticles via photoreduction of AgNO₃ in branched polyethyleneimine/HEPES solutions. *Langmuir*, 23(19), 9836–9843.

Tornuk, F., Karaman, S., Ozturk, I., Toker, S., Tastemur, B., Sagdic, O., Dogan, M. and Kayacier, A. (2013). Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Industrial Crops and Products*, 46, 124–131.

Yıldırım, Y. S., Güğərçin, S. ve Oktay, F. (2020). Demir elementinin hastalıkların oluşumu ve tedavisindeki önemi. *Türk Farmakope Dergisi*, 5(4), 95-108.

Umaralikhan, L. and Jamal, Mohamed Jaffar, M. (2018) Green Synthesis of MgO Nanoparticles and it Antibacterial Activity. *Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A: Science*, 42(2), 477–485.

Veisi, H., Gholami, J., Ueda, H., Mohammadi, P. and Noroozi, M. (2015). Magnetically palladium catalyst stabilized by diaminoglyoxime-functionalized magnetic Fe₃O₄ nanoparticles as active and reusable catalyst for Suzuki coupling reactions. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 396, 216–223.

Yang, L., Ren, X., Tang, F. and Zhang, L. (2009). A practical glucose biosensor based on Fe₃O₄ nanoparticles and chitosan/nafiön composite film. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(4), 889–895.

Yıldırım, A. (2013). Bingöl ili ballarının fenolik bileşiklerinin antioksidan ve antimikrobial etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Bingöl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Bingöl, s. 44.

Yoruç, H. ve Uğraşkan, V. (2017). Yeşil Polimerler ve Uygulamaları. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 17(1), 318–337.

Zaitsev, V., Filimonov, D., Presnyakov, A., Gambino, J. and Chu, B. (1999). Physical and Chemical Properties of Magnetite and Magnetite-Polymer Nanoparticles and Their Colloidal Dispersions. Journal of Colloid and Interface Science, 212(1), 49–57.

