

T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CEVİZ (*Juglans regia* L.) MEYVESİNDEN ÇEVRE DOSTU DEMİR
NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALİ SAİT YOLCU

KİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Adnan AYNA

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Bülent KAYA

BİNGÖL - 2024

**CEVİZ (*Juglans regia* L.) MEYVESİNDEN ÇEVRE DOSTU DEMİR
NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE
ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ**

Doç. Dr. Adnan AYNA danışmanlığında, Ali Sait YOLCU tarafından hazırlanan bu çalışma 12/09/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan	: Doç. Dr. Abdalcabbar YAVUZ	İmza	:
Üye (Danışman)	: Doç. Dr. Adnan AYNA	İmza	:
Üye	: Doç. Dr. Fatma CAF	İmza	:

Yukarıdaki sonuç;

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

Prof. Dr. Zafer ŞİAR
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: BAP-FEF.2023.004

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmalarım süresince desteğini ve engin akademik bilgilerini esirgemeyen, çalışmalarımın zamanında tamamlanabilmesi için gereken her türlü yardımı sağlayan değerli danışmanım Doç. Dr. Adnan AYNA'ya en içten teşekkürlerimi sunarım, minnetarım. Deneysel çalışmalarım esnasında bana rehberlik eden ve deneyimlerini paylaşan değerli hocam Doç. Dr. Bülent KAYA'ya da ayrıca teşekkürlerimi iletirim.

Yüksek lisans çalışmalarımda deney sürecinde laboratuvar faaliyetlerimi sorunsuz bir şekilde yürütmemi sağlayan Kimya Bölümü ve Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Başkanlıkları'na teşekkürlerimi iletirim. Bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, laboratuvar çalışmalarımda bana yardımcı olan çalışma arkadaşlarıma da gönülden teşekkür ederim. Bu çalışmanın hayata geçirilmesi için gerekli finansmanı sağlayan Bingöl Üniversitesi BAP birimine de (Proje kodu: BAP-FEF.2023.004) şükranlarımı sunarım.

Son olarak, bana her daim destek olan ve hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan sevgili eşim Zahide YOLCU'ya ve dualarını her zaman yanımda hissettiğim değerli Annem ve Babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ali Sait YOLCU

Bingöl 2024

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Ceviz (<i>Juglans regia</i> L.).....	1
1.1.1. Cevizin Temel Bileşenleri ve Besin Değerleri.....	1
1.1.2. Cevizin İnsan Sağlığı Açısından Önemi	1
1.1.3. Cevizdeki Diğer Bileşenlerin İnsan Sağlığına Etkileri	2
1.2. Serbest Radikaller.....	3
1.2.1. Serbest Radikallerin Etkileri.....	5
1.3. Antioksidanlar	6
1.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	10
1.3.2. Ceviz İçeriğinde Yer Alan Bazı Önemli Antioksidanlar.....	12
1.4. Nanoteknoloji	15
1.4.1. Nanopartiküller (NP)	15
1.4.2. Nanopartiküllerin Sınıflandırılması.....	16
1.4.3. Metal ve Metal Oksit Nanopartikülleri.....	17
1.4.4. Demir Elementinin Özellikleri	17
1.4.5. Demir Bazlı Nanopartiküller.....	18
1.4.6. Demir Nanopartiküllerin Uygulama Alanları.....	19
1.4.7. Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri	19
1.4.8. Nanopartiküllerin Antioksidan Aktiviteleri.....	21
1.4.9. Yeşil Sentez Yöntemiyle Nanopartikül Sentezinin Önemi.....	21
2. KAYNAK ÖZETLERİ	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	28

3.1. Materyal.....	28
3.1.1. Numunelerin Toplanması.....	28
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Materyaller.....	28
3.1.3. Kullanılan Cihazlar	28
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Ceviz Ekstraktının Eldesi	29
3.2.2. Demir Nanopartikülünün Yeşil Sentezi.....	29
3.2.3. Demir Nanopartikülünün Karakterizasyonu	30
3.2.3.1. UV-Visible Spektrofotometre Analizi.....	30
3.2.3.2. FTIR Analizi	30
3.2.3.3. TEM (Transmission Electron Microscope) Analizi	31
3.2.3.4. XRD Analizi	31
3.2.4. Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi.....	31
3.2.4.2. DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini.....	31
3.2.4.3. Metal Şelatlama Aktivitesi Tayini.....	32
3.2.5. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi.....	32
3.3. İstatistiksel Analiz.....	32
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	33
4.1. Demir Nanopartikülünün Karakterizasyonu	33
4.1.1. UV-Visible Spektrofotometre Analizi.....	33
4.1.2. XRD Analizi.....	34
4.1.3. TEM Analizi.....	36
4.1.4. ZETA Sizer Potansiyeli.....	38
4.1.5. FTIR Analizi.....	39
4.2. Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi.....	40
4.2.1. DPPH Giderimi.....	40
4.2.2. Metal Şelatlama Aktivitesi.....	41
4.3. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi.....	42
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR	47

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

L [·]	:Lipit radikali
LO [·]	:Alkoksil radikali
LOO [·]	:Peroksil radikali
°C	:Santigrat derece
cm	:Santimetre
Dk	:Dakika
DNA	:Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	:2,2 – difenil – 1 - pikrihidrazil
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
CFeNP	:Ceviz ekstraktından elde edilen demir temelli anopartiküller
Fe	:Demir
FeCl ₂	:Demir (II) klorür
FeCl ₃	:Demir (III) klorür
Fe ₂ O ₃	:Demir üç oksit
FeNP	:Demir nanopartikülü
Fe ₂ O ₄	:Doğal Demir üç oksit
ROS	:Reaktif oksijen türleri
ROO [·]	:Peroksil radikali
OH [·]	:Hidroksi radikali
LDL	:Düşük yoğunluklu kolesterol
PUFA	:Doymamış yağ asitleri
PEG	:Polietilen glikol
ppm	:Parts per milion - milyonda bir
ABTS	:Süpürücü etki tayini
CUPRAC	:Cupric red
BHA	:Bütillenmiş Hidroksianisol
FTIR	:Fourier dönüşümlü infrared spektroskopi
gr	:Gram
H ₂ SO ₄	:Sülfürik asit
M	:Molar
mL	:Mililitre
mM	:Milimolar
mV	:Milivolt
Na ₂ CO ₃	:Sodyum karbonat
NaH ₂ PO ₄	:Mono sodyum fosfat
NaNO ₂	:Sodyum nitrat
NaOH	:Sodyum hidroksit
nm	:Nanometre

NP	:Nanopartikül
O	:Oksijen
rpm	:Dakikadaki devir sayısı
TEM	:Geçirimli elektron mikroskobu
UV	:Ultraviyole ışınları
XRD	: X-ışını kırınımı
µg	:Mikrogram
µL	:Mikrolitre

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Hücrede antioksidan savunma mekanizmaları.....	9
Şekil 1.2.	Tokoferol türevlerinin kimyasal yapıları.....	12
Şekil 1.3.	Flavonoidlerin genel yapısı.....	14
Şekil 1.4.	Nanopartiküllerin sentez yöntemleri.....	20
Şekil 1.5.	Aşağıdan yukarıya yaklaşımı ve Yukarıdan aşağıya yaklaşımı.....	21
Şekil 4.1.	CFeNP'nin UV-Vis alan taraması.....	34
Şekil 4.2.	Yeşil sentez metodu ile sentezlenen CFeNP'nin XRD grafiği.....	35
Şekil 4.3.	Yeşil sentez metodu ile sentezlenen CFeNP'nin TEM görüntüsü.....	37
Şekil 4.4.	TEM boyut analizi histogramı.....	38
Şekil 4.5.	CFeNP'nin Zeta potansiyel grafiği.....	39
Şekil 4.6.	CFeNP'lerin (mavi) ve ceviz ekstraktının (siyah) karşılaştırılmış FTIR sonuçları.....	40
Şekil 4.7.	Toplam flavonoid madde tayini için kuersetin standart eğrisi grafiği...	43

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1.1. Biyolojik sistemde sık görülen serbest radikaller ve özellikleri.....	4
Tablo 1.2. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	10
Tablo 1.3. Nanopartiküllerin sınıflandırılması.....	17
Tablo 4.1. Ceviz ekstraktı ve CFeNP'ün BHA'ya göre DPPH giderme aktiviteleri...	41
Tablo 4.2. Ceviz ekstraktı ve CFeNP'ün EDTA ya göre metal şelatlama aktiviteleri.	42
Tablo 4.3. Ceviz ekstraktı ve CFeNP'ün toplam flavonoid içeriği.....	43

CEVİZ (*Juglans regia* L.) MEYVESİNDEN ÇEVRE DOSTU DEMİR NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada, ceviz (*Juglans regia* L.) meyvesinden çevre dostu bir yaklaşımla demir nanopartikülleri sentezlenmiş, nanopartiküllerin karakterizasyonu gerçekleştirilmiş ve antioksidan aktiviteleri detaylı bir şekilde incelenmiştir. Çalışmada geleneksel kimyasal yöntemlere alternatif olarak, biyolojik materyallerin kullanıldığı yeşil sentez yöntemi tercih edilmiştir. Ceviz meyvesinden özütlenen biyomoleküller, demir nanopartiküllerinin stabil ve etkin bir şekilde oluşumunu sağlamıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin morfolojik ve yapısal özellikleri çeşitli analitik tekniklerle karakterize edilmiştir. Ceviz ekstraktından elde edilen demir temelli nanopartiküller (CFeNP), UV-Vis, FTIR, XRD, TEM, ve Zeta Sizer analitik teknikleri kullanarak karakterize edilmiştir. Devamında DPPH ve metal şelatlama yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Aynı zamanda cevizin toplam flavonoid içerikleri belirlenmiş ve yeşil sentezle elde edilen CFeNP'lere bağlanan flavonoid bileşenleri miktarsal olarak kıyaslanmıştır. Çalışma, çevre dostu nanopartikül sentez yöntemlerinin geliştirilmesi ve ceviz gibi doğal kaynakların bu süreçlerde etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermesi açısından önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ceviz, Yeşil Sentez Demir Nanopartikül, Nanoteknoloji, Antikoksidan, Serbest Radikal.

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF ENVIRONMENTALLY-FRIENDLY IRON NANOPARTICLES FROM WALNUT (*Juglans regia* L.) FRUIT AND INVESTIGATION OF ITS ANTIOXIDANT ACTIVITY

ABSTRACT

In this study, iron nanoparticles were synthesized from walnut (*Juglans regia* L.) fruit with an environmentally friendly approach, these nanoparticles were characterized and their antioxidant activities were examined in detail. As an alternative to traditional chemical methods, the green synthesis method using biological materials was preferred. Biomolecules obtained from walnut fruit enabled the stable and effective formation of iron nanoparticles. The morphological and structural properties of the synthesized nanoparticles (NPs) were characterized by various analytical techniques. Iron nanoparticles (FeNP) obtained from walnut extract were characterized using UV-Vis, FTIR, XRD, TEM, and Zeta Sizer analytical techniques. Subsequently, antioxidant activities were evaluated with DPPH. At the same time, the total flavonoid contents of walnuts were determined and the flavonoid components of walnut extract bound to iron nanoparticles obtained by green synthesis were compared quantitatively. The study is important in terms of developing environmentally friendly nanoparticle synthesis methods and showing that natural resources such as walnuts can be used effectively in these processes.

Keywords: Walnut, Green Synthesis Iron Nanoparticle, Nanotechnology, Antioxidant, Free Radical.

1. GİRİŞ

1.1. Ceviz (*Juglans regia* L.)

Ceviz, günümüzde beslenme değeri açısından önemi artan bir meyve türüdür. Karbonhidrat, yağ, protein ve vitaminler açısından zengin bir içeriğe sahiptir. Ceviz gibi sert kabuğa sahip yemişler, doymamış yağ asitleri, α - tokoferol, lif, magnezyum ve potasyum açısından zengindirler. Bu nedenle, ceviz beslenme açısından önemli bir kaynaktır ve beslenme bilimi açısından incelenmesi gereken önemli bir konudur (Mateş vd., 2024).

1.1.1. Cevizin Temel Bileşenleri ve Besin Değerleri

Ceviz içeriğinde bulunan fitosterol, polifenoller ve vitamin E gibi çeşitli antioksidanlar, cevizin fonksiyonel besin kategorisinde yer almasını mümkün kılar. Bu bileşenlerin insan sağlığına olumlu etkileri arasında kardiyovasküler hastalıklar, spesifik kanser hücreleri ve yaşlılıkla ilişkilendirilen olumsuz etmenlere karşı koruyucu rolü bulunduğu rapor edilmiştir. Vitamin E'nin, düşük yoğunluklu kolesterol (LDL) olarak bilinen zararlı kolesterol düzeylerini azalttığı ifade edilmiştir. Bu şekilde, atardamarlarda tıkanıklığı engelleyerek kardiyovasküler hastalık riskini azaltma potansiyeline sahiptir (Mukarram vd., 2024).

Cevizin bilinen 60 bileşeni bulunmaktadır, bu da onun zengin besin ve bileşen değerlerine işaret etmektedir (Kömür vd., 2024). Ceviz, yaklaşık olarak %2 oranında kül içeriğine sahiptir ve kalsiyum, magnezyum, fosfor, demir ve potasyum gibi elementleri içermektedir (Kömür vd., 2024).

1.1.2. Cevizin İnsan Sağlığı Açısından Önemi

Farklı besin öğelerini bünyesinde barındırmalarına rağmen, cevizin en belirgin besin bileşeni yağıdır. Cevizler, genellikle %52-70 arası yağ içeriğine sahiptirler. Ancak, cevizin

önemi sadece yüksek yağ değeri ile değil, aynı şekilde içerdiği yağ asitlerinin dağılımıyla da dikkat çeker. Ceviz yağı, özellikle esansiyel yağ asitleri açısından zengindir ve büyük ölçüde oleik, linoleik ve linolenik asitler içerir. Yaklaşık olarak ceviz yağının %45-75'inin çoklu doymamış yağ asitlerinden oluştuğu ve sert kabuklu meyveler arasında en yüksek linoleik asit miktarına (yaklaşık %60 oranında linoleik asit, %12 oranında linolenik asit) sahip olduğu belirtilmektedir (Amirou vd., 2024).

Yağ tüketimi genellikle sağlık riskleriyle ilişkilendirilse de, önem taşıyanın tüketilen yağın çeşidi veya yağ asitlerinin dağılımı olduğu konusunda genel uzlaşma vardır. Yağ asitleri bileşimi, kan basıncını düzenleme, glukoz metabolizması, trombosit birikimi ve eritrosit şekil değişikliği gibi farklı türde fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri etkileyebilir (Balta vd., 2021). Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri insan beslenmesinde hayati bir öneme sahiptir. Bu yağ asitleri, insan vücudunda sentezlenen çeşitli gliserolipid yapılarının devamlılığını sağlamak için doğrudan kullanılır. Ayrıca, diğer birçok yağ asidinin sentezlenmesinde de kullanılırlar (Mortensen vd., 2023).

1.1.3. Cevizdeki Diğer Bileşenlerin İnsan Sağlığına Etkileri

Ceviz içeriğinde yağlar dışında yağda çözünen vitaminler olarak A ve E vitaminleri bulunurken, suda çözünen vitaminlerden C, B1, B2, folik asit, pantotenik asit ve niasin ile birlikte çeşitli mineraller de bulunmaktadır. Bunlar arasında demir, çinko, bakır, magnezyum ve fosfor yer almaktadır. Ceviz, özellikle manganez ve bakır açısından zengin bir kaynak olarak bilinmekte olup, bu iki mineralin, antioksidan korumada önemli enzimlerde temel mineraller olarak işlev gördüğü ifade edilmiştir (Antora vd., 2022). Ayrıca, içerdiği lif miktarı sayesinde, ceviz sindirim sisteminde faydalı bir rol oynamaktadır.

Cevizin temel bileşenleri arasında bulunan fitosterol, polifenoller ve E vitamini gibi pek çok antioksidan, cevizi fonksiyonel besin grubu içinde önemli kılmaktadır. Bu bileşiklerin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri arasında kardiyovasküler hastalıklara, belirli kanser hücrelerine ve yaşlanmaya bağlı olumsuz etkilere karşı koruyucu olduğu belirtilmektedir (Upadhyay, 2023). Ceviz polifenollerinin antioksidan özellikleri nedeniyle bağışıklık sistemini güçlendiren bir rol oynadığı belirtilmiştir. Bu fonksiyonel özellik,

kardiyovasküler rahatsızlıkların ve kanser oluşumunun önlenmesini destekleyen klinik çalışmalarla desteklenmektedir. En yüksek polifenol içeriğinin, cevizin dış kabuğunu oluşturan kahverengi kabuk kısmında bulunduğu rapor edilmiştir (Huang vd., 2024).

Cevizin içeriğinde yüksek oranda α - tokoferol (25-47 mg/100g) bulunduğu belirtilmektedir. Bunun yanı sıra, cevizde serbest radikallerle mücadele eden antioksidan özelliğe sahip olduğu bilinen melatonin de bulunmaktadır (Ahmad vd., 2023).

1.2. Serbest Radikaller

Bir veya birden fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü ve yüksek derecede reaktif olan molekül veya atomlar serbest radikal olarak tanımlanır (Zhu vd., 2023). Bu maddelerin yarı ömürleri oldukça kısa olmasına rağmen son derece reaktiftirler. Hücrelerde meydana gelen tüm metabolik olaylar serbest radikalleri sentezleyebilmektedir. Bu radikaller, tipik metabolik süreçlerin yanı sıra çeşitli dış etkenlerle sayesinde de oluşabilirler.

Metabolizmanın normal işleyişi sırasında meydana gelen oksidasyon, organizmada çeşitli hasarlara yol açarak kanser, kalp hastalıkları gibi ciddi kronik hastalıkların başlangıcına zemin hazırlayan serbest radikallerin oluşumunu tetikler. Bu durum, serbest radikallerle mücadelede etkili olan antioksidan maddelere olan ilgiyi artırmış ve bu alandaki çalışmalar, özellikle gıdalar ve farmasötik ürünlerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesine odaklanmıştır. Özellikle yaşlanma süreci ve çeşitli hastalıkların patogenezinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu hasarlara dair ilgi artmıştır. İnsanlarda yaşlanma ve kronik hastalıklar, karmaşık biyolojik süreçlerin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Bu karmaşıklığı anlamak amacıyla çeşitli fikirler ortaya atılmış ve bu çalışmalar test edilmiştir. Son yıllarda yaşlanma ile ilgili ortaya atılan fikirler, moleküler genetik ve deneysel tekniklerdeki gelişmeler sayesinde daha iyi anlaşılmaya başlanmıştır. ROS'nin hücrelerde birikerek oluşturduğu zararlar genellikle yaşlanmış hücrelerde telomer erozyonu, genom kararsızlığı, DNA mutasyonları ve gen profillerindeki değişikliklerle ilişkilidir (Wei ve Pang, 2005).

Biyolojik sistemlerde en fazla dikkat edilmesi gereken serbest radikaller, oksijenden türeyen radikallerdir. Serbest oksijen radikalleri biyokimyasında kilit rol oynayan bileşikler; oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir. Oksijen atomu toplamda sekiz elektron içerir ve bu elektronlardan dış yörüngede bulunan iki tanesi eşleşmemiş durumdadır. Moleküler oksijen (O_2) iki eşleşmemiş elektronu olduğu için kendisi de bir radikaldir. Her iki atom dengede olduğundan bu oksijen molekülü reaktif özellik göstermez. Bu özellik nedeniyle oksijen, diğer radikallerle kolaylıkla tepkimeye girerken, radikal olmayan normal moleküllerle daha yavaş tepkimeye girer. Mitokondriyal elektron taşıma zinciri tarafından gerçekleştirilen bu süreçte, yaklaşık %1-2 oranında moleküler oksijen kaçağı olur. Bu oksijenin indirgenmesiyle süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi reaktif ürünler oluşur. Bu radikaller, oksijenin toksik özelliğinin asıl sebebinin oluşturur (Cheeseman ve Slater, 1993). Biyolojik sistemde sık görülen serbest radikaller Tablo 1.1. de listelenmiştir.

Tablo 1.1. Biyolojik sistemde sık görülen serbest radikaller ve özellikleri (Gürbüz, 2008)

Radikaller	Özellikleri
Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)	Oksijen molekülüne bir elektron ilavesiyle oluşur. Enerji üretimi sırasında elektron kaçakları sonucu oluşur.
Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)	En reaktif oksijen metaboliti. Biyolojik makromoleküller ile kolayca reaksiyona girebilir ve fazla miktarda üretildiğinde ise hücrelerin ölümüne sebep olur.
Singlet oksijen ($O^{\cdot}$)	Radikal değildir. Yarılanma ömrü kısa, güçlü oksidatif oksijen formu
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf. Nötrofillerin fagozomlarında bulunan miyeloperoksidaz tarafından hipokloröz asite ($HOCl$) dönüştürülür. Bu sırada geçiş metallerinin oksidasyonu yoluyla da $OH^{\cdot}$ oluşmasına neden olur.
Perhidroksi radikal ($HO_2^{\cdot}$)	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır.
Peroksil radikali ($ROO^{\cdot}$)	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olur.

Tablo 1.1. (Devam): Biyolojik sistemde sık görülen serbest radikaller ve özellikleri (Gürbüz, 2008)

Radikaller	Özellikleri
Triklorometil radikali ($\text{CCl}_3^\cdot$)	Metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikal
Tiyil radikali ($\text{RS}^\cdot$)	Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil ($\text{RO}^\cdot$)	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Nitrik oksit (NO)	L-arjinin aminoasitinden <i>in vivo</i> 'da üretilir.
Azot dioksit (NO_2)	NO 'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir.

1.2.1. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, eşleşmemiş elektronlar içeren oldukça reaktif moleküllerdir. Kararsızlıkları nedeniyle yakındaki moleküllerle reaksiyona girerek kendilerini stabilize etmeye çalışırlar ve çoğu zaman hücresel hasara neden olurlar. Bu moleküller DNA, proteinler ve lipitler dahil olmak üzere çeşitli hücresel bileşenlere zarar vererek sağlık üzerinde çeşitli olumsuz etkilere yol açabilir.

Serbest radikaller, serbest radikal üretiminin vücudun bunları antioksidanlarla nötralize etme yeteneğini aştığı bir durum olan oksidatif stresin önemli bir nedenidir. Oksidatif stres hücrelere ve dokulara zarar vererek yaşlanmaya ve çeşitli hastalıklara katkıda bulunabilir (Chaudhary vd., 2023). Bu radikaller, DNA zincirlerini kırarak veya baz çiftlerini değiştirerek DNA'da mutasyonlara neden olabilir. Bu hasar, uygun şekilde onarılmazsa potansiyel olarak kansere yol açabilir (Juan vd., 2021).

Radikaller hücre zarlarındaki lipitlere saldırarak lipit peroksidasyonuna yol açabilir. Bu süreç hücre zarının bütünlüğünü tehlikeye atarak hücre ölümüne neden olur ve ateroskleroz gibi durumlara sebep olabilir. Serbest radikaller proteinlerin yapısını bozabilir, işlevlerini etkileyebilir ve enzim aktivitesinin kaybına, yapısal hasara ve hücre fonksiyonunun bozulmasına yol açabilir (Martemucci vd., 2022).

Serbest radikal hasarı yaşlanma sürecine katkıda bulunan en önemli faktörlerden biridir. Hücresel hasarın zamanla birikmesi, hücresel işlevin bozulmasına ve kırışıklıklar, bilişsel işlevlerin azalması ve enerji seviyelerinin azalması gibi yaşa bağlı durumların başlamasına neden olur. Serbest radikaller DNA'da mutasyonlara neden olabilir ve bu mutasyonlar onarılmazsa kanser gelişimine yol açabilir. Ayrıca inflamasyonu ve hücre çoğalmasını uyararak kanserin ilerlemesini de teşvik edebilirler (Jomova vd., 2023). Serbest radikallerden kaynaklanan oksidatif stres, ateroskleroz, hipertansiyon ve kalp krizi gibi kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde önemli bir faktördür. Serbest radikaller tarafından LDL kolesterolün lipit peroksidasyonu, arterlerde plak oluşumunda önemli bir adımdır (Panda vd., 2022). Alzheimer, Parkinson ve ALS gibi hastalıklar, oksidatif stres ve nöronlarda serbest radikal hasarı ile ilişkilidir ve sinir dokusunun dejenerasyonuna sebep verebilir (Chaudhary vd., 2023).

1.3. Antioksidanlar

Vücutta, farklı mekanizmalar sonucunda oluşan serbest radikallere karşı doğal bir koruma ve savunma sistemi mevcuttur. Bu savunma sistemini meydana getiren bileşikler 'antioksidanlar' olarak adlandırılır. Antioksidanlar, doğal antioksidanlar ve ilaçlar olarak iki ana gruba ayrılabilir (Hilmi, 1994).

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu önleyen veya metabolizmada var olan radikalleri yok ederek hücreyi zarardan koruyan ve genellikle içeriğinde fenolik fonksiyon barındıran moleküller şeklinde de tanımlanmıştır (Gülçin, 2020). Antioksidanların hikâyesi serbest radikallerle başlar. Antioksidanlar, radikaller için kolayca bir elektron hedefi sağlar. İki radikali birbirine bağlayarak nötralize edebilen bir enzime (glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz gibi) taşınana kadar radikallerle stabil bir yapı oluştururlar. Serbest radikaller nötralize edilmezse, vücutta önemli zararlara yol açabilirler (Gülçin, 2020).

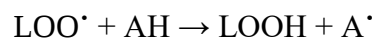
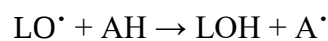
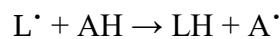
Antioksidanların insan sağlığı üzerindeki etkilerini belirleyen en kritik unsurlar, bu bileşiklerin kimyasal yapıları, çözünürlük özellikleri, yapı/aktivite ilişkileri ve doğal yollarla elde edilebilirlikleridir (Kaur ve Kapoor, 2001).

Antioksidanlar, vücut hücreleri tarafından doğal olarak üretilbildiği gibi, besinler aracılığıyla da alınabilir. Gıdalarda bulunan ve insan vücudunu zararlı radikallere karşı koruyan temel doğal antioksidanlar arasında başlıca vitaminler (C, E ve A vitaminleri), flavonoidler, karotenoidler ve polifenoller yer alır. Pek çok araştırma, meyve ve sebze tüketimini artırarak bazı kanser türleri ve kalp hastalıklarının olma olasılıklarını ciddi oranda azaltılabileceğini göstermektedir (Güçlü vd., 2009). Antioksidanlar arasında en belirginleri polifenoller ve onların türevleridir. Bu bileşikler, oksidatif sistemde farklı davranışlar sergileyebilirler. Örneğin, singlet oksijeni etkisiz hale getirerek oksijen yoğunluğunu azaltabilirler. Hidroksil radikalleri gibi birincil radikalleri yakalayarak zincir reaksiyonlarının başlamasını engellerler ve metal iyon katalizörlerine bağlanarak etkinliklerini gösterirler (Shahidi, 1996).

Antioksidanlar, okside olabilen maddeler oldukları için zincir reaksiyonlarını (örneğin, lipidlerin oksidatif parçalanmasına neden olan radikalik zincir reaksiyonunu) durdururken kendileri okside olarak ayrışır. Bu sebeple, antioksidanlar okside olabilen maddeleri (örneğin biyolojik makromolekülleri) sadece sınırlı bir süre boyunca koruyabilirler ve belirli bir aşamadan itibaren ortamda hiç antioksidan yokmuşcasına oksidasyon devam eder. Antioksidanların kimyasal aktiviteleri, yani hidrojen veya elektron donörü olarak indirgeme potansiyelleri, genellikle radikal yakalayıcı olarak gösterdikleri potansiyel ile tanımlanır (Güçlü vd., 2009).

Zincir kırıcı antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesinde, antioksidanın her bir molekül başına aktarabildiği elektron sayısı veya etkisiz hale getirebildiği serbest radikal miktarı (yani reaksiyon stokiyometrisi) ve ayrıca reaksiyonun gerçekleşme hızı (kinetik) kritik öneme sahiptir (Miller ve Rice-Evans, 1997).

Mekanizma bozan antioksidan aktivite şu denklem zinciriyle gerçekleşir:



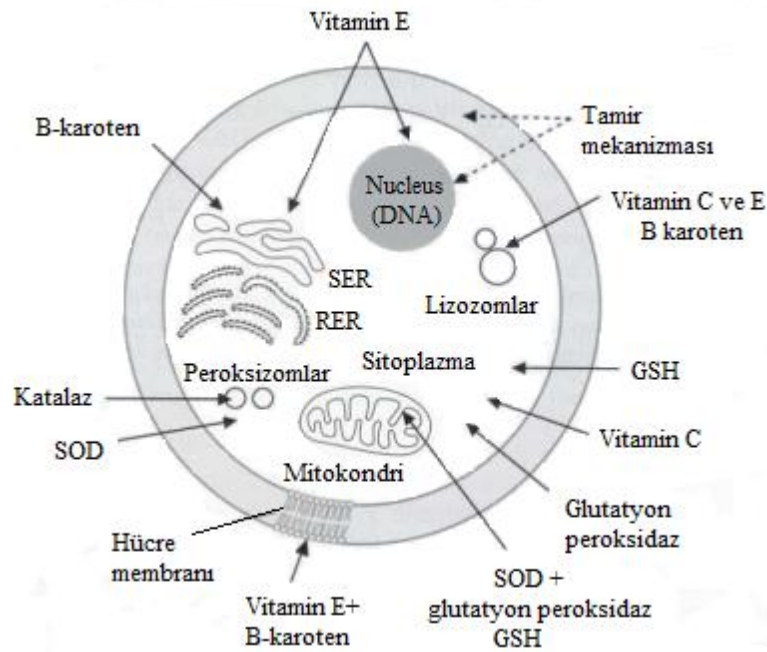
Radikal reaksiyonların başlatılması veya devam etmesi, antioksidan bir molekül (AH) tarafından önlenir. Bu çerçevede, $L^{\bullet}$ lipid, $LO^{\bullet}$ alkoksil, $LOO^{\bullet}$ ise peroksil radikallerini sembolize eder. Bu mekanizma yoluyla etki eden antioksidanlar "primer antioksidanlar" olarak tanımlanır. Diğer yandan, "seconder antioksidanlar" olarak bilinen maddeler ise oksidasyon hızını düşürür ve genellikle Fenton-tipi reaksiyonları engellemeye çalışırlar (Apak vd., 2007).

Fenton reaksiyonu, hidroksil radikallerinin oluşumuna yol açan bir kimyasal reaksiyondur (Kastanek vd., 2023).

Antioksidanlar dört farklı mekanizma ile radikali durdurmaya çalışırlar.

- a. Serbest oksijen radikallerini yakalayarak veya onları daha zayıf yeni moleküllere dönüştürerek, toplama etkisi sağlarlar. Antioksidan enzimler bu tür bir etki gösterir.
- b. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşime girip, radikale hidrojen vererek radikalin etkinliğini azaltma veya inaktif hale çevirme etkisi bastırıcı etkidir. Bu etkiye vitaminler ve flavonoidler sahiptir.
- c. Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kesip işlevlerini engelleyen etki, zincir kırıcı etkidir. Hemoglobinin, seruloplazmin ve mineraller bu tarz bir etki gösterir.
- d. Serbest radikallerin neden olduğu zararın onarılması ise onarıcı etki olarak bilinir.

Normal bir hayvan hücresinde bulunan yapılar ve organeller farklı türde antioksidan mekanizmaları olarak görev yapmaktadırlar (Gülbüz, 2008) (Şekil 1.1.)



Şekil 1.1. Hücrede antioksidan savunma mekanizmaları (Gürbüz, 2008)

Sağlıklı işleyen bir metabolizmada, mitokondriyal sitokrom sistemi, sitozolde bulunan organelleri radikallerin zararlı etkilerinden korur. Bu sistem zarar durduramadığında, doğal enzimler devreye girer. Enzimlerin durduramadığı oksidanlar öncelikle hücre zarındaki lipitlere saldırarak "lipit peroksidasyonu" sürecini başlatır (Benzer ve Ozan, 2003). Lipit peroksidasyonu esnasında, yeterli miktarda E ve C vitamini gibi antioksidan vitaminlerin varlığı, bu tür metabolizma zararlarını önleyebilir.

Lipit peroksidasyonu, gıda maddelerinin üretilmesi, işlenmesi ve korunmasında önemli bir sorun teşkil etmektedir. Lipit peroksidasyonu, yağlar ve yağ içeren gıdaların bozulmasına yol açmanın yanı sıra, kansere, mutasyonlara ve yaşlanmaya neden olabilen peroksi ($ROO\bullet$) ve hidroksi ($OH\bullet$) radikalleri ile reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin oluşumuna da neden olur (Valgimigli, 2023).

Canlı organizmalarda reaktif oksijen türleri çeşitli yollarla oluşur. Normal oksijenli solunum; polimorfonükleer lökositleri, makrofajları ve peroksizomları uyarır. Peroksizomlar, hücre tarafından üretilen reaktif oksijen türlerinin başlıca endojen kaynağını oluşturur. ROS'un temel ekzojen kaynaklarına baktımızda bunların en önde

gelen sebepleri sigara dumanı, radyasyon, çevre kirliliği, organik çözücüler ve pestisitlerdir (Jomova vd., 2023).

C vitamini, vücut sıvılarında genellikle askorbat formunda görünür. Kolayca elektron vererek dehidroaskorbik aside oksitlenir ve süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, peroksil radikali ve singlet oksijeni etkisiz hale getirir.

Diğer önemli antioksidanlar arasında karotenoidler yer alır. Karotenoidler, yalnızca fitoplankton, algler, bitkiler ve sınırlı sayıda mantar ve bakteriler tarafından sentezlenebilen, 700'den fazla yağda çözünebilen pigment içeren bir grubu temsil eder. Karotenoidler, genel olarak havuç, domates, turunçgiller, ıspanak gibi sebze ve meyvelerin kırmızı, turuncu, sarı ve yeşil renklerinden sorumludur. İnsan vücudunda karotenoidler, ince bağırsakta %5-50 oranında pasif difüzyonla emilir ve bu emilim diyetdeki yağ oranlarıyla alakalıdır. Karotenoidler, hücreyi oksidatif stresten korur; triplet molekülleri ve singlet oksijeni etkisiz hale getirir ve serbest radikalleri inhibe eder (Crupi vd., 2023).

1.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Normal fizyolojik koşullarda, hücreler serbest radikaller ve peroksitler gibi moleküllerin yol açabileceği oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur. Bu savunma sistemleri endojen ve eksojen olmak üzere iki ana gruba ayrılabilirler (Tablo 1.2.) (Flieger vd., 2021).

Tablo 1.2. Antioksidanların sınıflandırılması

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR		
ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	NONENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	
Süperoksit Dismutaz(SOD)	Glutasyon	Koenzim Q10
Katalaz(CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon Peroksidaz(GPx)	Ürik asit	α -lipoik asit
Glutasyon Redüktaz (GR)	Biluribin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin

Tablo 1.2. (Devam): Antioksidanların sınıflandırılması

EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	
VİTAMİN OLAN EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	İLAÇ OLARAK KULLANILAN EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR
α -Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri(allopürinol, oksipürinol, Pterin aldehit)
β -Karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri(adenozin,lokal anestezikler,kalsiyum kanal blokerleri
Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz
Folik asit (Vitamin B9)	Trolox-C (vitamin E analogu)
Polifenoller	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar(GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)
Flavonoidler	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar(mannitol, albümin)
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri
	Nötrofil adezyon inhibitörleri
	Sitokinlerl(TNF ve IL-1)
	Barbitüratlar
	Demir şelatörleri

Antioksidanlar, hücreleri ksenobiyotiklerin, ilaçların, kanser tetikleyici/yapıcı maddelerin ve toksik radikal tepkimelerin zararlı etkilerine karşı koruyan bileşiklerdir. Bu gruba dahil olan bileşikler arasında beta-karoten, C, E, A vitaminleri, melatonin, metallotionin, poliaminler, NADPH, koenzim Q-10, adenosin, ubikuinon, ürat, polifenoller, flavonoidler, fitoöstrojenler, homosistein, sistein, metionin, s-adenozil-L-metionin, taurin, resveratrol, nitroksidler, GSH, glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz, tioredoksin redüktaz, nitrikoksit sentaz, hem oksijenaz-L ve eozinofil peroksidaz yer almaktadır (Mercan, 2004).

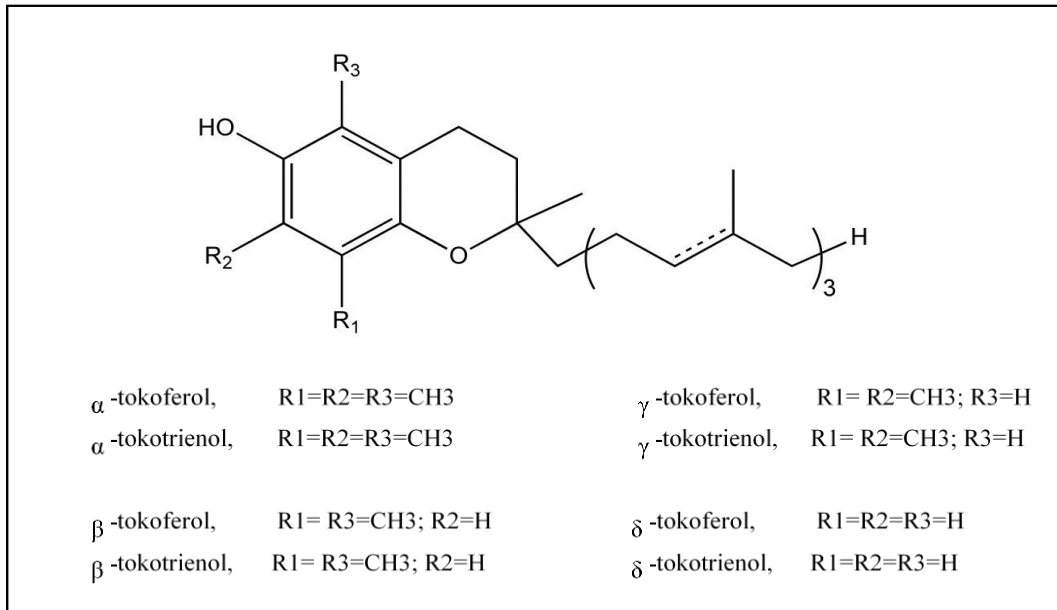
Beslenme ile insan sağlığı arasındaki ilişki daha fazla incelendikçe, gıdaların yalnızca temel beslenme ihtiyaçlarını karşılamanın ötesinde, birçok ciddi hastalığı önleyen veya geciktiren fizyolojik faydalar sağladığı ortaya konulmaktadır. “Fonksiyonel gıdalar” olarak adlandırılan bu tür gıdalar, doğal antioksidanlar, lifli yapılar ve fitokimyasallar gibi bileşenleri içerir.

Meyve ve sebzelerde yoğun olarak bulunan fitokimyasallar, insan vücudundaki 'serbest radikaller' ile etkileşime girerek hücreleri zararlı radikallerin saldırılarından korur. Bu alanda yapılan araştırmalar, meyve ve sebzelerle zengin bir beslenme düzeninin kalp hastalıkları, akciğer, bağırsak, mide kanserleri, diyabet ve yaşlanma ile ilişkili hastalıkların önlenmesinde önemli bir paya sahip olduğunu göstermektedir (Çalıklı, 2003).

1.3.2. Ceviz İçeriğinde Yer Alan Bazı Önemli Antioksidanlar

E vitamini

İlk kez 1900 lü yılların başında saflaştırılan E vitamininin, α , β , γ , δ -tokoferol olmak üzere 8 farklı türü bulunur ve bu bileşiklerin genel adıdır. Bu türler arasında en yaygın ve biyolojik olarak en aktif olanı α -tokoferoldür. Tokoferollerin antioksidan etkisi, 6 numaralı karbon atomuna bağlı -OH grubundan kaynaklanır. Yapısındaki fenolik hidroksil grubu içeren aromatik halka, E vitamininin kimyasal olarak kararsız olup tepkimeye girmeye yatkın kısmını oluşturur. Mitokondri ve mikrozom gibi membran bakımından zengin yapılar içinde çok daha fazla bulunur. Bitkisel yağlar ve tohumlar, E vitamini açısından zengindir (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Packer vd., 2001).



Şekil 1.2. Tokoferol türevlerinin kimyasal yapıları (Bakkalbaşı, 2009)

α -Tokoferol, süperoksit, hidroksil, singlet oksijen, lipid peroksil radikalleri ve diğer bazı serbest radikallerin süpürülmesinde görev alır (Traber vd., 2023). Lipid peroksidasyonunun ön evrelerinde, membranda serbest radikal süpürücü işlevi görerek, hücre zarındaki doymamış yağ asitlerini (PUFA) serbest radikallerin zararlı etkilerinden korur ve böylece lipid peroksidasyonuna karşı ilk savunma evresidir.

α -Tokoferolün OH grubundaki hidrojen atomu çok düşük enerjiyle kopabildiği için, lipid bozunması esnasında meydana gelen peroksil ve alkoksil radikalleri, moleküllerine yakın bir yağ asidi ile etkileşime girmeden doğrudan α -tokoferol ile tepkimeye girer. Bu süreç, zincir reaksiyonunu durdurduğundan, lipid bozunması da sona erer. Bu nedenle α -tokoferol, zincir kırıcı bir antioksidan olarak tanımlanır (Murray vd., 1993; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Blokhina vd., 2003).



Tepkime sonucunda α -tokoferol, yine bir radikal olan tokoferol-O. (kromonoksil) radikalini oluşturur. Ancak bu radikalın düşük reaktivitesi nedeniyle lipid peroksidasyonu sonlanır (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Blokhina vd., 2003).

GSH-Px ve α -tokoferol, birbirini tamamlayan antioksidan etkiler gösterir. α -Tokoferol, peroksitin meydana gelmesini engellerken, GSH-Px oluşmuş peroksitleri yok eder. (Aydın vd., 2001).

Fenolik Bileşikler ve Flavonoidler

Fenolikler (veya fenolik bileşikler), bitkilerde doğal olarak bulunan geniş ve çeşitli bir grup kimyasal bileşiktir. Bir aromatik hidrokarbon grubuna (bir benzen halkası) doğrudan bağlı bir veya daha fazla hidroksil grubunun varlığıyla karakterize edilirler. Fenolikler ikincil metabolitlerdir, yani bitkinin birincil yaşam sürdürme süreçlerinde doğrudan yer almazlar, ancak büyüme, üreme ve savunma mekanizmalarında önemli roller oynarlar. Fenolik bileşikler, serbest radikalleri temizleme ve hücrelere zarar verebilen, kanser ve

kardiyovasküler bozukluklar gibi kronik hastalıklara katkıda bulunabilen oksidatif stresi azaltma yetenekleriyle iyi bilinmektedir (Alara vd., 2020).

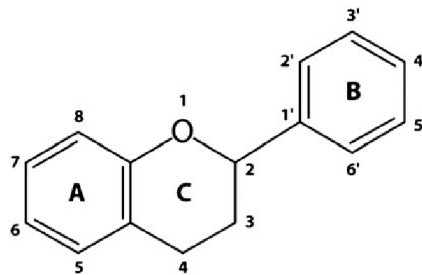
Flavonoidler birçok meyvede, sebzede, tahılda, ağaç kabuğunda, köklerde, saplarda, çiçeklerde, çayda ve şarapta bulunan çeşitli polifenolik bileşikler grubudur. Bunlar fenolik bileşiklerin bir alt grubudur ve geniş yelpazedeki biyolojik aktiviteleri, özellikle de antioksidan özellikleri ile bilinirler. Flavonoidler, kapalı bir piran halkası (C) oluşturan üç karbonlu bir köprü ile birbirine bağlanan iki aromatik halkadan (A ve B) oluşan ortak bir temel yapıyı paylaşırlar. Merkezi piran halkasının oksidasyon derecesine ve diğer yapısal farklılıklara bağlı olarak flavonoidler, aşağıdakiler de dahil olmak üzere çeşitli alt sınıflara ayrılır (Dias vd., 2021).

Flavonlar: Maydanoz, kereviz ve papatyada bulunur. Örnekler apigenin ve luteolin içerir.
Flavonoller: Soğan, lahana ve meyvelerde bulunur. Kuersetin ve kaempferol iyi bilinen flavonollerdir.

Flavanonlar: Turunçgillerde bulunur. Örnekler arasında hesperidin ve naringenin bulunur.
Flavanoller (veya Kateşinler): Çay, elma ve çikolatada bulunur. Örnekler arasında kateşin, epikateşin ve epigallokateşin galat bulunur.

Antosiyaninler: Yaban mersini, kiraz ve üzüm gibi meyve ve sebzelerde kırmızı, mavi ve mor renklerden sorumludur. Örnekler arasında siyanidin ve malvidin bulunur.

İzoflavonlar: Baklagillerde, özellikle soya fasulyesinde bulunur. Örnekler arasında genistein ve daidzein bulunur.



Şekil 1.3. Flavonoidlerin genel yapısı

1.4. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji ve nanobilim, çok küçük ölçeklerdeki nesnelerin incelenmesi ve uygulanmasıyla ilgilidir ve bu alanlar biyoloji, kimya, malzeme bilimi, mühendislik ve fizik gibi çeşitli disiplinlerde kullanılabilir. Nanoteknoloji ve nanobilimin temelleri, fizikçi R. Feynman'ın 29 Aralık 1959'da California Teknoloji Enstitüsü'nde (CalTech) düzenlenen Amerikan Fizik Topluluğu toplantısında yaptığı "Aşağıda Çok Fazla Yer Var" başlıklı konuşmasında atılmıştır. "Nanoteknoloji" terimi henüz ortaya çıkmamışken, Feynman, bilim insanlarının bireysel atomları ve molekülleri manipüle edebileceği ve kontrol edebileceği bir yaklaşımı dile getirmiştir. Nanoteknoloji terimi ise, yaklaşık 10 yıl sonra, Prof. Dr. N. Taniguchi tarafından ultra hassas işleme üzerine yaptığı araştırmalar sırasında tanıtılmıştır.

Modern nanoteknoloji, 1981 yılında bireysel atomları "görebilen" taramalı tünelleme mikroskopunun geliştirilmesiyle başlamıştır. Moleküllerin ve atomların dünyası, IBM'in İsviçre'de 1980'lerde yeni nesil mikroskoplar geliştirmesine kadar manipüle edilemez veya gözlemlenemezdi. Tek tek atomlar, nanometreden daha küçük yapılarla benzer şekilde tepki verirken, yüzlerce nanometre veya daha büyük boyutlardaki malzemeler sürekli özellikler sergiler. Nano ölçekli davranışlar ve özellikler, değişen kimyasal ve fiziksel etkileşimler nedeniyle oldukça farklı olabilir. Arayüzler ve yüzeyler, enerji ve maddenin fiziksel olarak sınırlandırılmasıyla birlikte, neredeyse tüm malzeme özelliklerini (kimyasal, fiziksel, optik vb.) etkileme ve beklenmedik yeni davranışlara yol açma potansiyeline sahiptir. Karanlık malzemelerden ışık elde edilmesi ve katalizör verimliliğinin artırılması bu duruma iki örnek olarak gösterilebilir (Mohammed, 2022).

1.4.1. Nanopartiküller

Nanopartiküller, boyutları 100 nm'den daha küçük olan nano ölçekli materyaller olarak tanımlanır. Bu parçacıklar, büyük bir yüzey alanı/hacim oranı ve benzersiz optik, elektrokimyasal ve termal özellikler sergilerler, bu nedenle yığın malzemelerden farklıdırlar. Nanopartiküller, bu nitelikleriyle kimya, biyoteknoloji, tarım, iletişim, savunma, elektronik, enerji, çevre iyileştirme, ağır sanayi, malzeme bilimi, tıp, mikrobiyoloji, optik ve çeşitli mühendislik dalları gibi birçok farklı alanda geniş bir

kullanım alanı bulmaktadır (Mondal vd., 2020). Nanopartiküller, ilaç dağıtımı, kimyasal ve biyolojik algılama, gaz algılama, CO₂ yakalama ve diğer ilgili uygulamalarda da kullanılabilmektedir (Khan ve Saeed, 2019).

Nanopartiküller genellikle üç ana katmandan oluşur:

- 1) Farklı küçük moleküller, metal iyonları, yüzey aktif ajanlar ve polimerlerle fonksiyonel hale getirilen yüzey kaplaması;
- 2) Kimyasal yapısı çekirdekten farklı olan dış kaplama tabakası;
- 3) Nanopartikülün merkezini oluşturan çekirdek.

1.4.2. Nanopartiküllerin Sınıflandırılması

Nanopartiküller, belirli şekil, boyut, aktivite ve kullanılan malzemelerin türü gibi özelliklere göre sınıflandırılabilir. Genel olarak, nanopartiküller iki ana gruba ayrılır: inorganik ve organik partiküller (Sajida ve Płotka-Wasyłka, 2020). İnorganik nanopartiküller, metalik ve kovalent etkileşimlerle moleküllere bağlanan inorganik tuzların çökmesi yoluyla üretilir. Organik nanopartiküller ise, süt emülsiyonları, protein agregaları, lipid gövdeleri ve diğer karmaşık yapılar gibi sentetik ve doğal organik bileşenlerle üretilir (Sircar vd., 2022). İnorganik nanopartiküller; karbon bazlı nanopartiküller, metal ve metal oksit nanopartiküller, yarı iletken nanopartiküller ve seramik nanopartiküller gibi alt kategorilere ayrılırken, organik nanopartiküller iki ana gruba ayrılır: polimerik nanopartiküller ve biyomolekül türevli nanopartiküller (Sajida ve Płotka-Wasyłka, 2020)

Nanopartiküller ve nano yapılı materyaller, çeşitli özelliklerine göre farklı sınıflamalara tabi tutulabilir. En güncel sınıflama ise Tablo 1.3'te gösterildiği gibi dört ana materyal bazlı kategoriye ayrılmıştır (Khan vd., 2022).

Tablo 1.3. Nanopartiküllerin sınıflandırılması (Khan vd., 2022)

Nanopartiküller- Nano yapılı materyaller			
Karbon Bazlı Nanomateriyaller	İnorganik Bazlı Nano Materyaller	Organik Bazlı Nanomateriyaller	Kompozit Bazlı Nanomateriyaller
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

1.4.3. Metal ve Metal Oksit Nanopartikülleri

Metal ve metal oksit nanopartiküller, dökme malzemelere kıyasla gelişmiş kimyasal, elektrik, optik, termal, mekanik, elektromanyetik ve yüzey özelliklerine sahip olmalarının yanı sıra benzersiz ve geniş fizikokimyasal özellikler sunar. Ayrıca, geniş yüzey alanları, kontrol edilebilir boyut ve morfoloji ile basit yüzey modifikasyonları yapılabilme imkânı sağlarlar. Yaygın olarak kullanılan metal ve metal oksit nanopartiküller arasında demir oksit, titanyum dioksit, altın (Au), paladyum (Pd), bakır (Cu), bakır oksit (CuO), nikel (Ni), nikel oksit (NiO), platin (Pt), çinko (Zn), çinko oksit (ZnO), gümüş (Ag) ve seryum oksit bulunmaktadır (Sajida ve Plotka-Wasyłka, 2020).

1.4.4. Demir Elementinin Özellikleri

Demir, yetişkin bir insan vücudu için hayati bir mikro besin maddesidir ve ortalama olarak 3-5 gram kadar bulunur. Vücutta bulunan demirin %65'i hemoglobine, %4'ü miyoglobine, %1'i farklı hem bileşiklerine, %1'i ise plazmada transferine bağlı olarak yer alır. Kalan %15-30'luk kısım ise ferritin formunda, retiküloendotelyal sistemde ve karaciğer parankim hücrelerinde (hepatositlerde) depolanır. Oksijen taşıma işlevini üstlenen hemoglobin, alyuvarlarda bulunan ve porfirin türevinden bir protein olup, kana kırmızı rengini verir. Kaslarda oksijen depolanmasında ise miyoglobin proteini görev yapar. Dokularda oksidasyonun sağlanmasında, kanda ve kırmızı kan hücrelerindeki hemoglobin önemli

miktarda demir içerir. Hücrelerin enerji metabolizmasında kritik bir rol oynayan enzimlerin yapısında, fonksiyonlarında ve hücre çoğalmasında görev alan demir, önemli bir besin maddesidir. Birçok metabolik yolda kofaktör olarak görev yapan demir, aynı zamanda önemli bir redoks elementidir. DNA sentezinde, çeşitli DNA onarım enzimlerinde, DNA metabolizmasında ve ribonükleotit redüktazda kofaktör olarak kullanılan demir, vazgeçilmez bir elementtir (Yıldırım vd., 2020).

1.4.5. Demir Bazlı Nanopartiküller

Demir (III) oksit (Fe_2O_3), kahverengiye yakın kırmızı tonlu doğada bulunan bir inorganik paramanyetik bileşiktir ve üç ana demir oksit bileşiğinden biridir; diğerleri FeO ve Fe_3O_4 'tür. Fe_3O_4 , doğada süperparamanyetik özellikler gösteren bir mineral manyetik olarak bulunur.

Demir nanopartikülleri, üstün boyutsal kararlılık sergiler ve toksik olmayan özellikleri ile dikkat çeker. Bu nanopartiküller, yüksek yüzey alanları, elektriksel ve termal iletkenlikleri ve manyetik özellikleri sayesinde manyetik nanopartiküller olarak da bilinirler (Arabi vd., 2016). Antimikrobiyal özelliklere sahip bu nanopartiküller, boyaların bozunması (adsorpsiyon işlemi yoluyla), antibiyotikler, atık su arıtımı ve metal kirleticilerin uzaklaştırılması gibi çevresel süreçlerde heterojen katalizörler olarak kullanılmıştır. Demir nanopartiküllerinin çevresel iyileştirme uygulamalarındaki önemi, manyetik duyarlılıkları, toksik olmamaları ve su ile reaksiyonda ikili redoks yeteneğinden kaynaklanmaktadır (Bolade vd., 2020).

Demir oksidin nanopartikülleri, manyetik özellikleri, biyouyumluluğu ve küçük boyutları sayesinde diyabet, ateroskleroz, inflamatuvar hastalıklar ve kanser gibi hastalıkların erken teşhisinde kullanılabilir. Demir oksit nanopartikülleri, manyetik rezonans görüntülemeye çözünürlük kontrast ajanı olarak, Manyetik rezonans görüntüleme, hedefli ilaç taşıma, görüntüleme, hipertermi, gen tedavisi, kök hücre izleme, moleküler ve hücre izleme ile manyetik ayırma teknolojileri (örneğin, hızlı DNA dizilimi) gibi çeşitli biyomedikal uygulamalarda umut verici bulgular sunmaktadır. (Pandey ve Dahiya, 2016).

Demir oksit nanopartikülleri, tümör hücrelerini NIR gibi non-toksik dalga boyu radyasyonları veya reaktif oksijen türlerinin üretimi veya hipertermi yoluyla toksik

uyaranlara dönüştürerek doğrudan öldürebilir. Genellikle kanser tedavisinde hipertermi için kullanılan demir oksit nanopartikülleri, dekstran gibi farklı polimerlerle kaplanarak, ligand bağlanarak ve PEG molekülleri ile yüzey fonksiyonelleştirilerek hedeflenir. Bu yöntemler, stabiliteyi artırır ve yarılanma ömrünü uzatır (Sharma vd., 2017).

1.4.6. Demir Nanopartiküllerin Uygulama Alanları

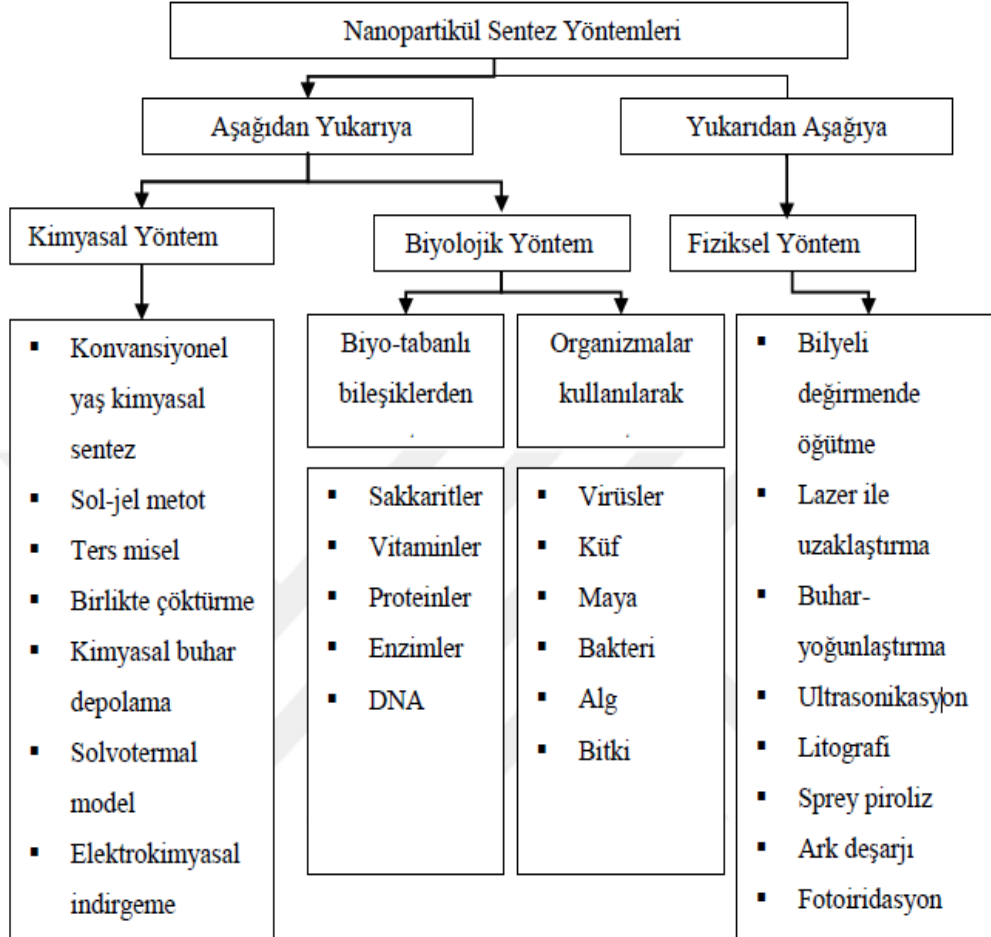
Demir oksit nanoparçacıkları, ağır metallerin, boyaların ve antibiyotiklerin su kaynaklarından arındırılmasından, biyomedikal alanda hedefe yönelik ilaç iletimine ve tümör hücrelerinin yok edilmesine kadar geniş bir uygulama yelpazesinde kullanılmaktadır (Oliveira vd., 2002). Metal oksitler, atık su arıtımında sorbent olarak başarılı bir şekilde kullanılmış ve organik kirleticilerin giderilmesinde yüksek verimlilik göstermiştir. Mevcut nano boyutlu geçiş metal oksitleri arasında nano Fe_2O_3 (α - Fe_2O_3), güçlü toksik direnç ve yüksek katalitik aktivite avantajlarına sahiptir. Son dönemde manyetik ayırma sorbentleri, atık su arıtımında etkili bir yöntem olarak kabul edilmekte ve manyetik sorbentler geniş çapta araştırılmaktadır. Boyaların giderilmesi ve ayrılması için Fe_3O_4 , α - Fe_2O_3 kullanımıyla ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Hematit (α - Fe_2O_3), iyi tanımlanmış kararlı nano kristal formlarından biridir ve üstün adsorpsiyon kinetiği sunar. Ancak, α - Fe_2O_3 nanoparçacıkları yüksek yüzey/hacim oranı nedeniyle kümelenmeye eğilimlidir. Boya gideriminde etkili demir oksit bazlı katalizör geliştirmek için yüzey modifikasyonunun yapılması gerekmektedir (Satheesh vd., 2016).

1.4.7. Nanopartikül Sentez Yöntemleri

Nano partiküllerin sentezlenmesinde iki temel yöntem bulunmaktadır: "aşağıdan yukarı" (bottom-up) ve "yukarıdan aşağı" (top-down) yöntemleri (Şekil 1.6.). Biyolojik ve kimyasal yöntemler "aşağıdan yukarı" yaklaşımı olarak adlandırılırken, fiziksel yöntemler "yukarıdan aşağı" yaklaşımını temsil eder.

"Yukarıdan aşağı" yönteminde, makro boyuttaki bir maddeye kimyasal veya mekanik enerji uygulanarak bu maddenin nano boyutlara indirgenmesi sağlanır. Buna karşılık, "aşağıdan yukarı" sentez yönteminde moleküler ya da atomik düzeydeki maddelere kimyasal enerji verilerek nanopartiküller oluşturulur. Bu yöntem, daha düşük maliyetli

olması ve yüksek etkinlik sunması nedeniyle "yukarıdan aşağı" yöntemine kıyasla daha fazla tercih edilmektedir (Beykaya ve Çağlar, 2016).

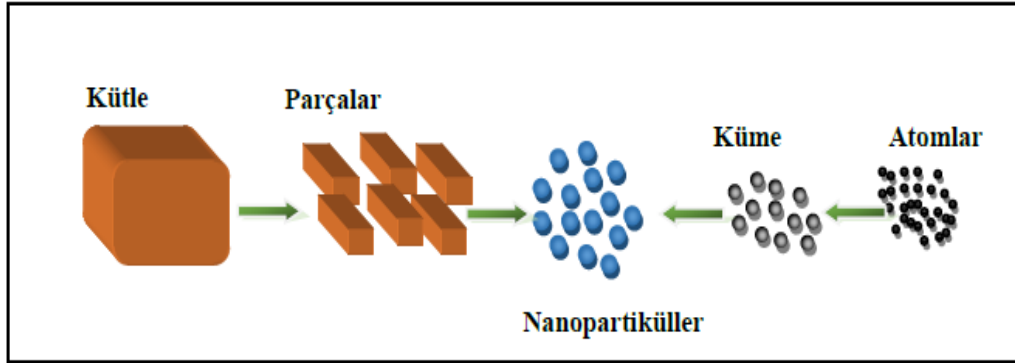


Şekil 1.4. Nanopartiküllerin sentez yöntemleri (Kaabipour ve Hemmati, 2021)

Yüksek hacimli malzemelerin küçük nano boyutlu parçalara dönüştürülmesi işlemi, dışarıdan uygulanan fiziksel ve kimyasal enerjilerle nano ölçekli malzemeler elde edilmesiyle gerçekleştirilir. Yukarıdan aşağıya yaklaşımlar her ne kadar kolay uygulanabilir olsa da, bu yöntemler düzensiz şekilli ve aşırı küçük boyutlu parçacıklar üretmede etkisiz kalabilir. Uygun parçacık boyutu ve şeklinin elde edilmesindeki zorluklar, bu yaklaşımın temel dezavantajını oluşturur (Abid vd., 2021).

Aşağıdan yukarıya yöntem, yukarıdan aşağıya yöntemin tam tersi olarak ifade edilebilir. Bu yöntemde, iyi tanımlanmış şekil, boyut ve kimyasal bileşime sahip nanoparçacıklar,

atomların ve moleküllerin bir araya gelerek kendiliğinden birleşmesi ve büyümesi sonucu oluşur (Abid vd., 2021).



Şekil 1.5. Aşağıdan yukarıya yaklaşımı ve Yukarıdan aşağıya yaklaşımı

1.4.8. Nanopartiküllerin Antioksidan Aktiviteleri

Bazı nanomalzemeler, organik metal oksitler ya da metal bazlı nanopartiküller gibi, genellikle radikal süpürme ve süperoksit dismutaz benzeri ya da katalazla ilişkili içsel redoks aktivitesi göstermelerinden ötürü antioksidan özellik sergileyebilirler (Valgimigli vd., 2018). Son yıllarda giderek önem kazanan ve umut vaat eden bir alan, antioksidan işlevsellikle donatılmış nanopartiküllerin sentezidir. Bu tür modifikasyonlar, antioksidanların biyoyararlanımını artırarak biyoyumluluk, yüksek stabilite ve hedeflenmiş dağıtım gibi avantajlar sunar (Flieger vd., 2021). Metal ve metal oksitlerin antioksidan etkinliklerini incelemek amacıyla birçok araştırma yapılmıştır (Mittal vd., 2012; Kharat ve Mendhulkar, 2016; Stozhko vd., 2019; Gedikli, 2022; Üstün vd., 2022).

1.4.9. Yeşil Sentez Yöntemiyle Nanopartikül Sentezinin Önemi

Son yıllarda nanopartiküllerin daha basit ve etkili sentez yöntemleri üzerine birçok teknik gelişme sağlanmıştır. Nanopartikül sentezi için üç ana teknik kullanılmaktadır: kimyasal, biyolojik ve fiziksel yöntemler. Metal nanopartiküllerin üretiminde önemli bir adım, metal iyonlarının indirgenmesi için kullanılan indirgeme ve stabilize edici ajanların geliştirilmesidir. Kimyasal ve fiziksel sentez yöntemlerinde ise genellikle tehlikeli ve toksik kimyasal stabilizatörler ve indirgeme ajanları kullanılır, bu da hücre ve çevre için toksisite riskini artırır. Bu sebeple, bu yöntemler hem insan sağlığı açısından uygulanabilir

değildir hem de yararlı sonuçlar vermemektedir. Bu nedenle, son yıllarda yeşil sentez yöntemi üzerinde daha fazla durulmaktadır. Yeşil sentezde kullanılan ajanlar, biyolojik organizmalarda doğal olarak bulunur ve genelde toksik etkiye sahip olmayıp çevreye de faydalıdır. Bu biyoyumlu maddeler, biyolojik olarak geliştirilmiş kimyasallardır ve kimyasal ve fiziksel tekniklerin pahalı, karmaşık ve toksik madde kullanımını gerektiren özelliklerini ortadan kaldırmak için kabul edilebilir bir alternatif sunar. Ayrıca, yeşil sentez çevre dostu ve toksik olmayan bir yöntemdir (Kumar vd., 2015).

Yeşil sentez yöntemiyle nanopartikül üretiminde genellikle bakteriler, mayalar, küfler, algler ve bitki özleri gibi biyolojik kaynaklar yaygın olarak kullanılmaktadır. Birçok araştırmada, metal nanopartiküller yeşil sentez yöntemiyle, çevre dostu bir süreç kullanılarak, iyi tanımlanmış ve farklı özelliklere sahip yapılar olarak elde edilmiştir. Yeşil sentez yönteminin pek çok avantajı bulunmaktadır; bu yöntemle büyük ölçekli üretim gerçekleştirilebilir, hızlı ve kararlı nanopartikül üretimi sağlanabilir (Ying vd., 2022). Kimyasal sentezde kullanılan indirgeyici ajanlar ve metal tuzları gibi birçok kimyasal maddenin temini zor ve maliyetlidir. Ancak yeşil sentez yönteminde kullanılan kimyasalların maliyeti, özellikle metal tuzları açısından daha avantajlıdır. indirgeyici ajan olarak bitki atıklarını kullanılması sayesinde nanopartikül sentezinin maliyeti önemli ölçüde düşmektedir (Makarov vd., 2014).

Literatürde demir nanopartikülleri ile alakalı çalışmalar incelendiğinde Bingöl yöresinden temin edilen *Juglans regia* L. türü ceviz ile sentezlenen demir nanopartikülleri ile alakalı çalışmalara rastlanmamıştır. Bu tez çalışmasının amacı, ceviz (*Juglans regia* L.) meyvesinden çevre dostu yöntemlerle demir nanopartiküllerinin sentezini gerçekleştirmek, bu nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini karakterize etmek ve elde edilen nanopartiküllerin antioksidan aktivitelerini inceleyerek potansiyel biyomedikal uygulamalarını değerlendirmektir. Çalışma, hem sürdürülebilir nanoteknolojiye katkı sağlamak hem de ceviz meyvesinin biyolojik olarak aktif bileşenlerini kullanarak çevre dostu antioksidan sistemlerin geliştirilmesini hedeflemektedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Literatürde, cevizin besin değeri ve insan sağlığı açısından etkileri üzerine yapılan bazı çalışmalar ve bunun yanında antioksidan aktiviteleriyle ilgi ve çeşitli bitki ve meyve özleri kullanılarak demir veya demir oksit nanopartiküllerinin yeşil sentezi üzerine yapılan farklı çalışmalar şu şekilde özetlenmiştir;

Yiğit vd. (2005), cevizde yüksek miktarda yağ ve protein bulunması nedeniyle besin değerinin oldukça fazla olduğunu vurgulamışlardır. Ceviz yağının en belirgin özelliği, doymamış yağ asitleri açısından zengin olmasıdır. Ayrıca, yapılan epidemiyolojik araştırmalarda cevizin kardiyovasküler hastalıklardan kaynaklanan ölümleri azalttığı belirtilmiş ve bu etkinin, cevizde bulunan polifenollerin özelliklerinden kaynaklandığı ifade edilmiştir.

Ceviz üzerine yapılan bir çalışmada, Türkiye’de en fazla yetiştirilen bazı ceviz çeşitlerinde total fenolik madde miktarı ile antiradikal ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar, İndirgeme yöntemi ile antiradikal aktivite tayininde farklı yörelere ait cevizler incelendiğinde tüm cevizlerin BHA’dan (bütil hidroksi anisol) daha yüksek antiradikal aktivite gösterdiği belirlendi (Kaya, 2016).

Bir diğer çalışmada, ceviz (*Juglans regia* L.) sütü, farklı kanser hücrelerindeki sitotoksik etkisi ile birlikte antimikrobiyal, antioksidan ve prebiyotik aktiviteleriyle değerlendirilmiştir. Araştırmada, ceviz sütünün MCF-7 ve HepG-2 kanser hücre bağlantıları arasında farklı konsantrasyon ve inkübasyon sürelerine bağlı olarak sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, sağlıklı hücre hattı (L929) üzerinde, farklı inkübasyon süreleri ve konsantrasyonlarına göre proliferatif bir etki sergilediği saptanmıştır. (Gidemen, 2021).

Bati (2013) tarafından yürütülen bir çalışmada, etil alkol ile deneysel olarak oksidatif stres yaratılan farelerde cevizin karaciğeri koruyucu ve antioksidan etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar, etanolün kontrol grubuna kıyasla serum enzim seviyelerini ve MDA miktarını

artırdığını, ancak farklı oranlarda ceviz eklenen tedavi gruplarında cevizin karaciğeri koruyucu ve lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkilerinin gözlemlendiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, etanolün çeşitli dokularda oksidatif stres oluşturmaya rağmen, ceviz eklenen yem gruplarında oksidatif strese karşı antioksidan etkiyle direnç sağladığı tespit edilmiştir.

Gülsoy vd. (2021), "Bazı ceviz (*Juglans regia* L.) çeşitlerinin antioksidan aktiviteleri ve fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi" başlıklı çalışmalarında, elde edilen antioksidan aktivite sonuçlarının kullanılan yöntemle ilgili olarak değişebileceğini ifade etmişlerdir. Bu çalışmada, ceviz meyvelerinde antioksidan aktiviteyi ölçmek için DPPH, ABTS•+ ve CUPRAC olmak üzere üç farklı yöntem kullanmışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre, her üç metotla elde edilen verilere dayanarak, inceledikleri farklı ceviz çeşitlerinin antioksidan aktivite değerlerinin birbirinden farklı olduğu tespit edilmiştir.

Cevizin antioksidan aktivitesine dair yapılan başka bir çalışmada, bu aktivitenin hasat dönemine bağlı olarak değişiklik gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. Van iline bağlı ilçelerde gerçekleştirilen bu araştırmada, cevizlerin fenolik bileşik ve antioksidan aktivite seviyelerinin Haziran ayı itibarıyla azalma eğilimi gösterdiği, ancak buna rağmen hala yüksek fenolik içerik ve antioksidan aktivite sergilediği tespit edilmiştir. Bu nedenle, cevizlerin doğal bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir (Uğurlu vd., 2019)

Jegadeesan ve çalışma arkadaşları, *Terminalia bellirica* ve *Moringa oleifera* meyve ve yaprak özleri kullanarak demir oksit nanopartiküllerinin yeşil sentezini gerçekleştirmişlerdir. Ayrıca bu nanopartiküllerin antioksidan, antibakteriyel ve termoakustik özelliklerini de incelemişlerdir. Demir kaynağı olarak demir klorür heptahidrat ($\text{FeCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) kullanmışlardır. Çalışmada, üç bitki kaynağının sulu ekstraktları ile demir nanopartiküllerinin basit biyogenik sentezini sunmuşlardır: *Terminalia bellirica*, *Moringa oleifera* meyvesi ve *Moringa oleifera* yaprakları. *Terminalia bellirica* özütü ile sentezlenen nanopartiküllerin küresel yapıda ve 21,32 nm boyutunda olduğu, *Moringa oleifera* meyve ve yaprak özütlerinden sentezlenen nanopartiküllerin ise daha düzensiz bir yapıya sahip olup 45 nm boyutunda oldukları rapor edilmiştir (Jegadeesan vd., 2019).

Yusefi vd. (2019), *Punica granatum* meyve kabuğu ekstresi kullanarak gerçekleştirilen yeşil sentezli demir oksit nanopartiküllerinin antikanser etkilerini incelemiştir. Bu çalışmada, sentezde kullanılan dört farklı konsantrasyondaki *Punica granatum* meyve kabuğu ekstraktının tümünün yüksek kristallik ve saflıkta nanopartiküller ürettiği belirlenmiştir. Özellikle, %2 ve %4 oranında kabuk ekstresi içeren nanopartiküllerin nazofaringeal karsinom hücre hattına karşı güçlü antikanser aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.

Demirezen vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, demir oksit nanopartiküllerinin sentezi için *Ficus carica* (adi incir) kurutulmuş meyve ekstresi kullanılmıştır. Kuru incir özündeki biyomalzemeler, demir öncü tuzunu indirgeme işlevi görerek, aynı zamanda kapama ve stabilizatör ajanlar olarak görev yapmıştır. Bu süreçte, 20 nm'den küçük çaplı nanopartiküller sentezlenmiş ve kuru incir özündeki yüksek fenolik bileşik içeriği nedeniyle oksitlenmiştir. Nanopartiküllerin karakterizasyonu, X-ışını spektroskopisi (EDX), transmisyon elektron mikroskobu (TEM), UV-görünür spektroskopisi, X-ışını kırınımı (XRD) ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ile gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, demir nanopartiküllerinin sentezlenmesi sırasında, renk değişimi ve pH düşüşü hızla gözlemlenmiştir. TEM görüntülerinde nanopartiküllerin küresel biçimde olduğu, tek tip bir dağılıma sahip olduğu ve 9 ± 4 nm çapında, metalik çekirdek-oksit kabuk yapısında olduğu belirlenmiştir. EDX, XRD ve FTIR analiz sonuçları da demir oksihidroksit/oksit oluşumunu doğrulamıştır. Hidroliz ürünleri nedeniyle demir metalik çekirdeğin 205 nm ve 291 nm'de absorpsiyon zirveleri tespit edilmiştir. Nanopartiküllerin yoğunluk-ortalama çapı, DLS analizi ile 475 nm olarak hesaplanmış ve kolloid stabilitesi 20.7 mV'de orta seviyede olduğu saptanmıştır (Demirezen vd., 2018).

Bir çalışmada ceviz yapraklarından elde edilen ekstraktların antioksidan kapasiteleri değerlendirilmiş ve yapılan çalışmada toplam fenolik içeriğinin 478,32 mg/g galik asit eşdeğeri olduğu ve DPPH IC50 değerinin ise 23,66 µg/mL olduğu tespit edilmiştir (Karakaya vd., 2019).

Başka bir çalışmada, demir oksit nanopartiküllerinin (Fe_3O_4 -NP'ler) sentezi, sülfatlanmış polisakkaritler içeren kahverengi deniz yosunu (*Sargassum muticum*) özütünün kullanıldığı tek aşamalı ve tamamen yeşil bir biyosentetik yöntemle gerçekleştirilmiştir.

Bu yöntemde, demir klorür çözeltisinin indirgenmesinde sülfatlanmış polisakkaritler indirgeyici ajan ve stabilizatör olarak görev yapmıştır. Fe_3O_4 -NP'lerin yapısı ve özellikleri XRD, FTIR, SEM ve TEM analizleri kullanılarak incelenmiştir. TEM analizinde ortalama parçacık çapı 18 ± 4 nm olarak belirlenmiş, XRD sonuçları ise nanopartiküllerin kübik bir yapı sergilediğini doğrulamıştır (Mahdavi vd., 2013).

Ahmad vd. (2020), çalışmalarında *Tamarix aphylla* ekstresi kullanarak demir nanopartiküllerinin sentezini gerçekleştirmişlerdir. Bu ekstrakt, hem indirgeme hem de kaplama ajanı olarak görev yaparak demir oksit nanopartiküllerinin hızlı ve çevre dostu bir şekilde sentezlenmesini sağlamıştır. UV/Vis spektroskopisi, XRD, EDX, SEM ve TEM gibi analiz teknikleri, sentezlenen demir nanopartiküllerinin çeşitli özelliklerini ortaya koymuştur. UV/Vis analizleri, yüzey plazmon rezonansına bağlı olarak nanopartiküllerin 390 nm'de doruk noktası gösterdiğini saptamıştır. XRD analizleri, nanopartiküllerin kristalin yapıda olduğunu göstermiştir. SEM, EDX ve TEM analizleri ise bu nanopartiküllerin yapısal özelliklerini ve bileşimlerini doğrulamıştır. Sentezlenen demir oksit nanopartikülleri, metilen mavisi boyasının %100'ünü etkili bir şekilde parçalamış ve DPPH serbest radikallerinin %90'ını temizlemiştir.

Kirdat vd. (2021), zencefil özütü kullanılarak demir oksit nanopartiküllerinin sentezini ve bu nanopartiküllerin antibakteriyel aktivitesini araştırmışlardır. Bu çalışmada, demir kaynağı olarak ferrik klorür tercih edilmiş ve zencefil özütü indirgeme maddesi olarak kullanılmıştır. Elde edilen demir oksit nanopartiküllerinin 406 nm'de karakteristik bir pik gösterdiği ve kübik bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın sonunda, zencefil özütü ile sentezlenen demir oksit nanopartiküllerinin gram negatif bakteri *Escherichia coli*'ye karşı antibakteriyel etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Madubonu vd. (2019), bir çalışmada *Psidium guajava* ve *Moringa oleifera* bitkilerinin yaprak ekstraktları kullanılarak sentezlenen demir oksit nanopartiküllerini antibakteriyel bir ajan olarak değerlendirmiştir. Çalışma, PMC_NP'lerin düşük konsantrasyonlarda bakteri suşlarına karşı etkili olduğunu ve bu nedenle terapötik biyomedikal alanda geleneksel antibakteriyel ilaçlar için uygun maliyetli, biyoyumlu ve çevre dostu bir alternatif sunabileceğini göstermiştir. Ayrıca, bu nanopartiküllerin su arıtımında kullanılmak üzere iyi bir bileşen olabileceği de belirtilmiştir.

Radini vd. (2018), çalışmaları kapsamında *Trigonella foenum-graecum* ekstraktı kullanarak sıfır değerlikli demir nanoparçacıkları (Fe^0) (ZV-Fe NP'ler) sentezlemiş ve bu nanoparçacıkları sulu bir ortamda stabilize etmişlerdir. Ayrıca Fe NP'lerin yapısını ve özelliklerini UV-görünür spektrometri, XRD, termogravimetrik analiz-türev termogravimetrik (TGA/DTG), manyetizasyon, FTIR spektroskopisi ve TEM ile incelemişlerdir. FeNP'lerin antibakteriyel etkinlikleri de *E. coli* ve *Staphylococcus aureus* gibi mikroorganizmalarla test edilmiştir.

Desalegn vd. (2019), mango kabuğu özütü kullanarak sıfır değerlikli demir nanopartiküllerinin yeşil sentezi ve yüzey karakterizasyonunu araştırmışlardır. Üç farklı pH koşulunda (3, 6 ve 9) sıfır değerlikli demir nanopartiküllerinin boyut ve agregasyon özelliklerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, düşük pH koşullarında nanopartiküllerin daha küçük ve homojen boyutlarda olduğu, özellikle pH 3'te ortalama partikül boyutunun 23-12 nm arasında olduğu belirlenmiştir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Numunelerin Toplanması

Çalışmada kullanılan cevizler Bingöl ilinin Karlıova ilçesinde kapama ceviz ağaçları bahçelerinden toplanmıştır. Toplanan cevizler ışık almayan bir ortamda oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Materyaller

Tez çalışmasında ceviz içi, FeCl_2 , FeCl_3 , NaOH , distile su, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical), %70 ve %90'lık etil alkol, metanol, DMSO (Dimetil Sülfoksit), Amonyum molibdat, sodyum karbonat, kuersetin, sodyum nitrit, monosodyum fosfat, sülfürik asit, sodyum hidroksit, Folin-Ciocalteu reaktifi, sodyum karbonat, potasyum asetat ve alüminyum klorid kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan Cihazlar

1. Isıtmalı su banyosu
2. 15 ml santrifüj tüpleri
3. 50 ml santrifüj tüpleri
4. Çeşitli ebatlarda Eppendorf tüpleri
5. Çeşitli ebatlarda otomatik pipetler
6. Derin dondurucu
7. Vorteks
8. Sonikatör
9. Hassas terazi
10. Buzdolabı (+4°C)
11. Otoklav

12. Saf su cihazı
13. Etüv
14. %5 CO₂ inkübatörü
15. Manyetik Karıştırıcı (IKA C MAG HS7)
16. Blender cihazı
17. Santrifüj (Beckman Coulter Allegra X-30 R)
18. UV-Visible Spektrofotometre (Shimadzu UV-1800)
19. X-Işını Difraktometresi (Rigaku Ultima IV)
20. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) (Hitachi High Tech HT7700)
21. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (Perkin Elmer Spectrum 100)
22. Biyogüvenlik Kabini (Bilser)
23. Zeta sizer

3.2. Yöntem

3.2.1. Ceviz Ekstraktının Eldesi

Hasat zamanı sonbaharda Bingöl'ün Karlıova ilçesinden toplanan cevizler kırılıp içleri çıkarılarak temizlendi daha sonra blenderda toz haline getirildiler. Elde edilen ceviz içi tozu, sonrasında hassas terazide 10 gr olacak şekilde tartıldı ve üzerine 100 ml sıcak su eklendi. 24 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Tam olarak homojenize olan karışım daha sonra adi süzgeç kâğıdı ile süzülerek katı partiküllerden uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstrakt, hava almayan kaplarda ve 4 °C sıcaklıkta buzdolabında saklandı.

3.2.2. Demir Nanopartikülünün Yeşil Sentezi

Elde edilen 100 mL ceviz ekstraktına FeCl₃: FeCl₂ (2:1 molar oranda) eklenip, manyetik karıştırıcıda 600 C'de 60 dakika boyunca karıştırıldı. Karıştırma işleminin 20. dakikasında 20 mL 0.1 M NaOH'den damla damla eklendi. 2 saat boyunca manyetik karıştırıcıda 60°C'de karıştırıldı. Sonrasında yıkama işlemi uygulandı. Elde edilen nanopartiküllere dört defa yıkama işlemi uygulandı. (Oluşan çökeltinin santrifüj cihazında 4.500 rpm'de 10 dakika distile su ile 2 kez yıkama işlemi yapıldıktan sonra etanol ile aynı şekilde 2 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi ve 4.500 rpm'de 10 dk santrifüj edildiererek yıkama işlemi

gerçekleştirildi). Son olarak elde edilen demir nanopartikülü etüvde kurumaya bırakıldı (Umaralikhan vd., 2018).

3.2.3. Demir Nanopartikülünün Karakterizasyonu

Yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen ceviz ekstresi demir nanopartikülünün (CFeNP) topografik, yapısal, morfolojik ve optik özellikleri UV-Visible Spektrofotometre, XRD, FTIR, zeta sizer, zeta potansiyeli ve TEM (Transmission Electron Microscope) kullanılarak karakterize edildi. XRD, FTIR ve TEM analizleri Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (DAYTAM) yapıldı.

3.2.3.1. UV-Visible Spektrofotometre Analizi

Teknik, nanopartiküllerin optik özellikleri, boyutu ve yüzey özellikleri hakkında bilgi toplamak için ışığın UV ve görünür spektrum (tipik olarak 200-800 nm) boyunca absorpsiyonunun veya geçirgenliğinin ölçülmesini içerir. Demir nanopartikülleri tipik olarak UV-Vis spektrumunda bir absorpsiyon pikine sahiptir. Bu pikin tam konumu parçacık boyutu, şekli ve yüzey kaplaması gibi faktörlere bağlıdır. Demir oksit nanopartikülleri için (Fe_3O_4 veya Fe_2O_3 gibi), ligandtan metale yük transfer geçişleriyle ilişkili olan UV bölgesinde (200-400 nm) sıklıkla geniş bir absorpsiyon bandı gözlemlenir (Saravanan vd., 2022).

3.2.3.2. FTIR Analizi

Bu analizde, biyolojik olarak sentezlenen demir nanopartikülüne cevizdeki fenolik, alkaloid, karbonil gibi grupların bağlanıp bağlanmadığını belirlemek amacıyla Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi (FTIR) cihazı kullanılmıştır. Bu amaçla, $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında ölçümler gerçekleştirilmiştir. Ceviz ekstraktı ve nanopartiküller ayrı ayrı analiz edilerek elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır (Umaralikhan vd., 2018).

FT-IR spektrofotometresi ölçümleri Bruker VERTEX 70v cihazında Opus programı kullanılarak $400\text{--}4000$ aralığında 32 defa 4 cm^{-1} hassasiyetinde absorpsiyon olarak tarandı.

3.2.3.3. TEM (Transmission Electron Microscope) Analizi

Transmisyon elektron mikroskobu (TEM), ince bir numuneden geçen elektron demeti ile detaylı görüntüler elde edilmesini sağlar ve bu sayede numunenin ayrıntılı bir şekilde incelenmesine imkân tanır. Bu görüntüleme yöntemi, nanopartiküllerin yüksek çözünürlükte doğrudan görüntülenmesine olanak sunduğu için, NP'lerin morfolojik özelliklerinin analizinde en etkili yöntemlerden biri olarak kabul edilir ve nanomedikal araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Lee vd., 2020; Malatesta, 2021). Elektron geçirgenliği ilkesine dayanan TEM, düşükten yükseğe kadar farklı büyütme seviyelerinde dökme malzemeye dair bilgi edinmemizi sağlar (Khan ve Saeed, 2019). Şekil yapılarının analizi için Erzurum Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde (DAYTAM) da yapıldı.

3.2.3.4. XRD Analizi

Nanopartiküllerin kimyasal bileşimi, kristal yapısı ve faz durumu X-ışını kırınımı (XRD) ile tanımlanabilir. XRD'nin temel prensibi, her parçacığın kendine özgü bir kırınım desenine sahip olmasıdır (Cornell ve Schwertmann, 2003). Parçacık boyutu, kırınım çizgilerinin genişliğini etkiler ve bu, XRD'de pikler olarak gözlemlenir (Kumar ve Pradeep, 2006). XRD cihazında (PANalytical Empyrean XRD) 45 kV 40 mA de tarama hızı 0.05 derece/saniye çalışılarak kristal boyut analizi yapıldı.

3.2.4. Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

3.2.4.1. DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini

Bu yöntem, Brand-Williams (1995) tarafından geliştirilmiş olup, antioksidan bileşiklerin DPPH radikalının neden olduğu mor rengi indirgeme yeteneğine dayalı olarak spektrofotometrik yöntemle antioksidan aktivite değerini belirler.

Ana stok DPPH (10 mM) Reaktifinin hazırlanması: DPPH (39.5 mg) 10 mL hacmindeki metanol çözeltisi içerisinde çözülmüştür. Meydana gelen karışım daha sonrasındaki deneyler için buzdolabında ortamında depo edilmiştir.

0,1 mM'lik DPPH çözeltisi, 200 mL metanol içinde 4 mg DPPH eklenerek hazırlandı. Ceviz fenolik ekstraktı ve demir nanopartiküllerinden 50 μ L alınarak 200 μ L DPPH çözeltisi eklendi. Karanlık bir ortamda 60 dakika inkübe edildikten sonra 517 nm'de absorbans ölçümü yapıldı ve sonuçlar BHA ile karşılaştırılarak değerlendirildi (Kaya vd., 2016).

3.2.4.2. Metal Şelatlama Aktivitesinin Tayini

5 mM ferrozin ve 2 mM FeCl_2 çözeltileri hazırlandı. Demir nanopartikülü ve ceviz ekstraktından 50'er μ L alınarak her birinin üzerine 160 μ L distile su ve 5 μ L FeCl_2 eklenip vortekslendi. Ardından 20 μ L ferrozin ilave edilip karıştırıldı. 10 dakika bekledikten sonra, 562 nm'de absorbans ölçümü yapıldı ve sonuçlar EDTA standart eğrisine göre değerlendirildi (Phull vd., 2016).

3.2.5. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

%4'lük NaOH, %15'lik NaNO_2 ve %10'luk AlCl_3 çözeltileri hazırlandı. Ceviz fenolik ekstraktı ve CFenNPlerin her birinden 10 μ L alınarak üzerine 40 μ L distile su ve 6 μ L NaNO_2 eklendi, ardından karışım vortekslenip ve 6 dakika bekletildi. Bekleme süresinin ardından karışıma 3 μ L AlCl_3 eklenip, yeniden vortekslenerek iyice karıştırılıp ve 5 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında her iki örnek karışımına 40 μ L NaOH ve 100 μ L saf su eklenip ve vortekslendi. UV Spektrofotometre cihazında 415 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirildi, sonuçlar kuersetin ile hazırlanmış standart kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı ve QE (kuersetin eşdeğeri) olarak ifade edildi.

3.3. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar 3 defa tekrarlandıktan sonra Microsoft excelde standart sapma ve ortalamalar hesaplandı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

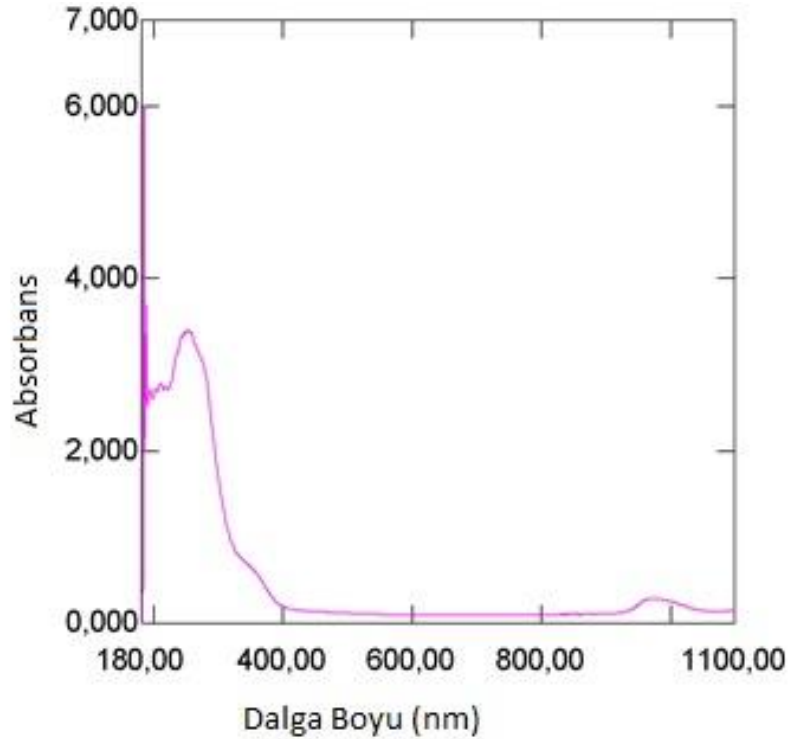
4.1. Demir Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu

Biyolojik bir sentez olan yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen CFeNPs'nin topografik, yapısal, morfolojik ve optik özellikleri UV-Vis, FTIR, XRD, TEM ve zeta potansiyeli kullanılarak karakterize edilmiştir.

4.1.1. UV-Visible Spektrofotometre Analizi

UV-Vis spektroskopisi, demir nanopartiküllerini karakterize etmek için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Metalik demir nanopartikülleri yüzey plazmon rezonansı sergileyebilir, bu da görünür bölgede bir absorpsiyon pikinin oluşumuna neden olur. Bunun nedeni, ışığa maruz kaldığında nanoparçacık yüzeyindeki elektronların kolektif salınımıdır (Jana vd., 2016). Absorpsiyon pikinin konumu ve yoğunluğu, nanopartiküllerin boyutuna ve şekline bağlı olarak değişebilir. Daha küçük nanopartiküller genellikle daha kısa dalga boylarında (maviye kayma) tepe noktalarına sahipken, daha büyük parçacıklar kırmızıya kayma (daha uzun dalga boyları) gösterebilir. Nanopartiküllerin kümelenmesi, absorpsiyon tepe noktalarının genellikle spektrumun kırmızı ucuna doğru genişlemesine veya kaymasına yol açabilir. Bunun nedeni bitişik parçacıklar arasındaki etkileşimlerdir (Link vd., 2000).

Cevizin yeşil sentez yöntemiyle üretilen demir nanopartiküllerinin bileşenleri, 200-1100 nm dalga boyu aralığında UV-VIS spektrofotometresi ile karakterize edilmiştir (Şekil 4.1). Nanopartiküllerin 350 nm'de gösterdiği maksimum pik absorbans değeri olarak kaydedilmiş ve yüksek bir enerji soğurması gözlemlenmiştir. Demir elektronlarının yüzey plazmasında oluşturduğu rezonans bantlarının 205 nm ile 350 nm aralığında yer aldığı bilinmektedir.



Şekil 4.1. CFeNP'nin UV-Vis alan taraması

Yapılan bir çalışmada *Mangifera indica*-FeNP'ler, *Murraya koenigii*-FeNP'ler, *Azadiracta indica*-FeNP'ler ve *Magnolia champaca*-FeNP'ler için elde edilen UV spektrumu, metalik demir için UV spektral analizinin özellikleriyle aynı olan 300-500 nm aralığında değiştiği gözlemlenmiştir (Devatha vd., 2016). Bu sonuçların tez kapsamında elde edilen sonuçlarla paralellik gösterdiği gözlenmektedir.

4.1.2. XRD Analizi

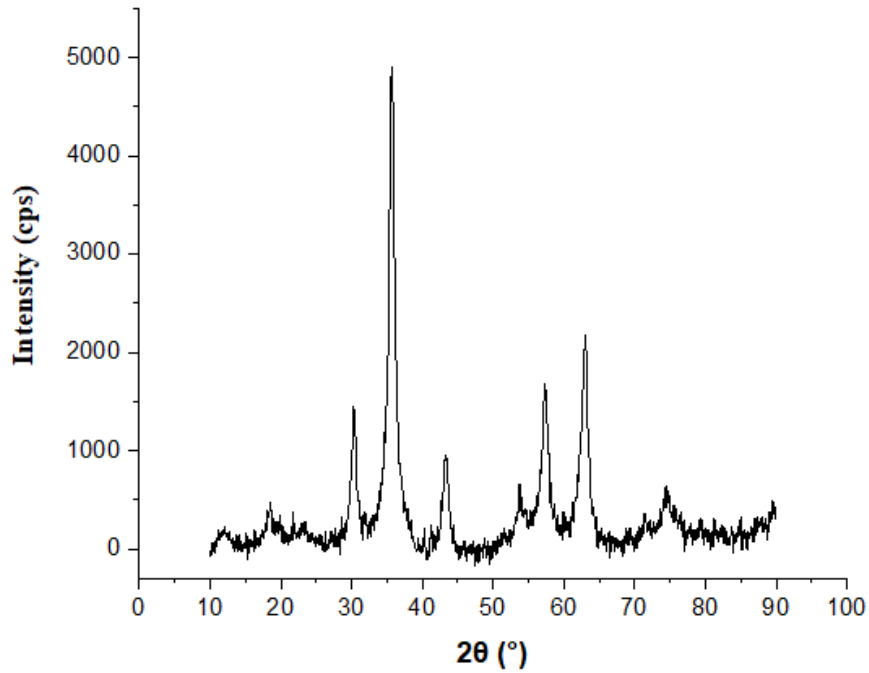
XRD analizi, partiküllerin kristal yapısını, faz bileşimini ve kristal boyutunu belirlemek için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. XRD, özellikle nanopartiküllerin yapısal özelliklerini anlamak açısından önemlidir.

CFeNP'lerin kristal yapısını incelemek amacıyla XRD analizi gerçekleştirilmiştir. XRD spektrumu, 2θ aralığında 10° ile 80° arasında kaydedilmiştir (Şekil 4.2). Yeşil yöntemle sentezlenmiş demir nanopartiküllerinin XRD desenleri genellikle manyetit (Fe_3O_4) ve hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) gibi farklı demir oksitlere karşılık gelen tepe noktaları ile karakterizedir. Spesifik pikler ve yoğunlukları, yeşil sentezde kullanılan indirgeyici maddelere bağlı olarak değişebilir.

Analiz sonucunda elde edilen XRD deseninde belirgin pikler gözlemlenmiştir:

- Şekil 4.2’de görülen $2\theta = 30.1^\circ, 37.5^\circ, 43.1^\circ, 53.4^\circ, 57.1^\circ$, ve 62.7° açılarında yer alan keskin pikler, Fe_3O_4 (manyetit) veya $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (maghemit) kristal fazlarına işaret etmektedir. Bu piklerin varlığı, demir nanopartiküllerinin oksitlenmiş formda bulunduğunu ve kristal yapıda olduklarını göstermektedir.
- $2\theta = 44.7^\circ, 65.0^\circ$, ve 82.3° açılarında gözlemlenen pikler, demir elementinin yüzey merkezli kübik (FCC) yapısına karşılık gelmektedir. Bu da nanopartiküllerin bir kısmının metalik demir formunda olduğunu gösterir (Lan vd., 2007; Palanisamy vd., 2013; Gautam vd., 2015).

Elde edilen XRD sonuçları, ceviz ekstraktı kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle elde edilen demir nanopartiküllerinin hem metalik demir (Fe) hem de demir oksit (Fe_3O_4 veya $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) fazlarında bulunduğunu ve bu fazların kristal yapıda olduğunu doğrulamaktadır.



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

4.1.3. Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi

Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM), yeşil sentezlenmiş demir nanopartiküllerinin morfolojisini, boyutunu ve toplanma durumunu analiz etmek için kullanılan güçlü bir tekniktir. Bu nanopartiküller bir araya geldiğinde TEM, agregatların doğası ve kapsamı ile agregatlar içindeki bireysel nanopartiküllerin yapısı ve özellikleri hakkında kritik bilgiler sağlayabilir.

TEM görüntüleri, agregatlar içindeki bireysel demir nanoparçacıklarının küresel formdan düzensiz formlara kadar değişebilen şeklini ortaya koyuyor. Yeşil sentezde şekil genellikle indirgeyici ve kapatma maddeleri olarak kullanılan biyolojik malzemelerden etkilenir. Agregalar farklı boyutlarda parçacıklar içerebilir, ancak tipik olarak agregatların içindeki tek tek nanopartiküller daha küçük olma eğilimindedir (örneğin, 5-50 nm). Boyut dağılımı, birden fazla TEM görüntüsünün analiz edilmesiyle ölçülebilir.

TEM, aşağıdakiler gibi farklı kümelenme türlerini ayırt edebilir:

Birincil Kümeleme: Bu, nanopartiküllerin birbirleriyle güçlü, doğrudan bağlantılar oluşturması ve sıklıkla yoğun kümelenmelerle sonuçlanmasıyla meydana gelir.

İkincil Toplanma: Bu durumda nanopartiküller, genellikle van der Waals kuvvetleri gibi zayıf etkileşimler veya yeşil sentez sürecinden gelen ince bir organik malzeme tabakasının varlığı nedeniyle gevşek bir şekilde ilişkilidir.

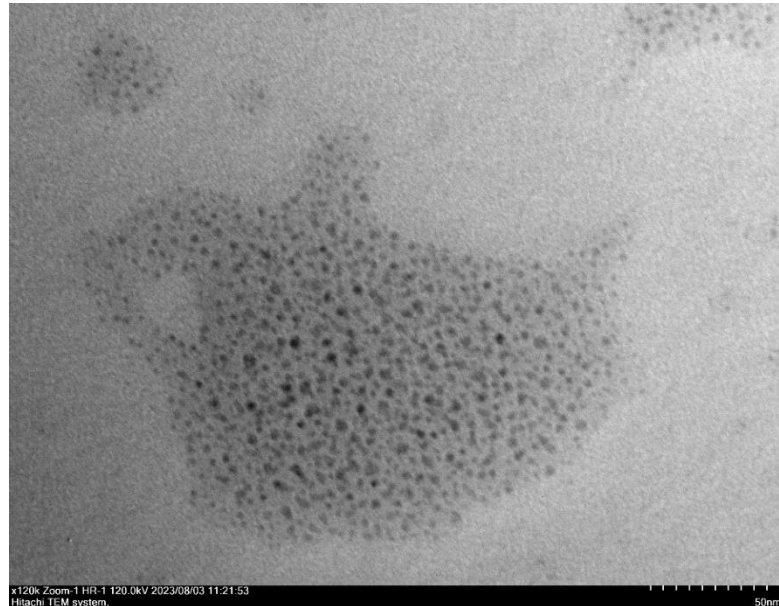
Agregat Boyutu: TEM, sentez koşullarına ve kapatma maddelerinin doğasına bağlı olarak onlarca ila yüzlerce nanometre arasında değişebilen ve hatta daha büyük agregatların genel boyutunu ölçebilir.

Yeşil sentezde kullanılan biyolojik moleküller (örneğin bitki ekstraktları, proteinler) sıklıkla, sterik engelleme sağlayarak agregasyonu önleyebilen veya azaltabilen kapatma maddeleri olarak görev yapar. Ancak bazı durumlarda organik madde kümelenmeyi tamamen engellemeye yetmeyebilir ve daha büyük kümelerin oluşmasına neden olabilir.

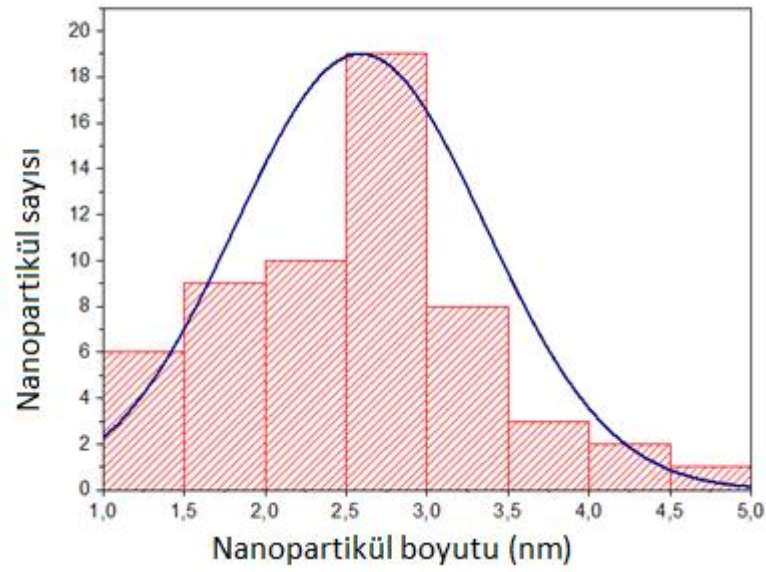
Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen CFeNP'in yapısal ve morfolojik özellikleri TEM ile incelenmiştir. CFeNP'lerde partiküller bir küme içerisinde tekil küresel nanopartiküller şeklinde görünmektedir (Şekil 4.3). Elde edilen CFeNP'lerin boyutlarının 1 ile 5 nm arasında değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.4).

Demir nanopartiküllerinin sentezi için *Azadirachta indica* (neem) yaprak ekstraktının kullanıldığı bir çalışmada TEM analizi, nanopartiküllerin çoğunlukla küresel olduğunu ve ortalama boyutu yaklaşık 20 nm civarında olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte, bazı kümelerin boyutlarının birkaç yüz nanometreye ulaşmasıyla önemli bir kümelenme gözlemlenmiştir. Neem ekstraktından elde edilen organik katman, nanopartiküllerin etrafında ince bir film tabakası olarak görülmüştür (Patil vd., 2022).

Moringa oleifera yaprağı ekstraktının kullanıldığı başka bir çalışma da benzer sonuçlar gösterdi; burada TEM görüntüleri, boyutları 10 ila 50 nm arasında değişen toplanmış nanopartiküllerin varlığını gösterdi. Agregatlar nispeten gevşekti; bu da parçacıklar arasındaki zayıf etkileşimlerden dolayı ikincil agregasyonun varlığını akla getirmiştir (Silveira vd., 2018).



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



Şekil 4.4. TEM boyut analizi histogramı

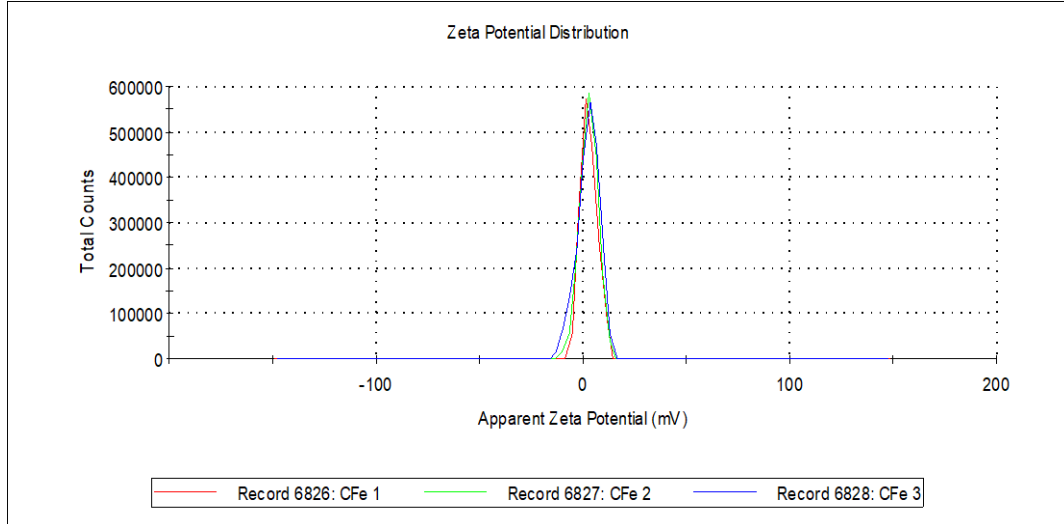
4.1.4. ZETA Sizer Potansiyeli

Yeşil sentez yöntemiyle üretilen CFeNP'nin elektriksel yükü, zeta potansiyeli ile ölçülmüştür (Şekil 4.5). CFeNP elektriksel yükü, zeta potansiyeli analizi sonucunda +2,4 mV olarak belirlenmiştir. Bu değer, CFeNP'nin orta düzeyde kararlı olduğunu göstermektedir (Bhattacharjee, 2016; Duman vd., 2021).

Sentezlenen CfeNP'nin zeta sizer analizi sonucunda pozitif (+) bir zeta potansiyeli elde edilmesi, nanopartiküllerin yüzeyinde pozitif yüklü grupların bulunduğunu gösterir. Bu pozitif yük, genellikle yüzeye bağlanan bazı moleküllerden, özellikle protonlanmış amino gruplarından veya diğer pozitif yüklü organik bileşiklerden kaynaklanabilmektedir (Singh vd., 2020).

Pozitif zeta potansiyeli, nanopartiküllerin çevresinde daha fazla katyonik (pozitif yüklü) bileşiklerin yer aldığını ve bu yüklerin yüzeyde birikerek nanopartiküllerin elektriksel yük dengesini etkilediğinin göstergesidir. Ceviz ekstraktında bulunan bazı biyomoleküller, özellikle proteinler veya alkaloidler gibi pozitif yüklü bileşikler, nanopartiküllerin yüzeyine adsorbe olabilir ve bu durum pozitif zeta potansiyeli ile sonuçlanabilmektedir. Pozitif zeta potansiyeli, nanopartiküllerin stabilitesini de etkileyebilmektedir. Genellikle yüksek pozitif veya negatif zeta potansiyel değerleri, nanopartiküllerin çözelti içinde daha

kararlı olmasını sağlar, çünkü benzer yüklü parçacıklar birbirini iterek aglomerasyonu (birikmeyi) önler. Dolayısıyla, bu pozitif değer, ceviz demir nanopartiküllerinin çözeltide iyi bir şekilde dağılmış olduğunu ve stabil olduğunu gösterebilir.

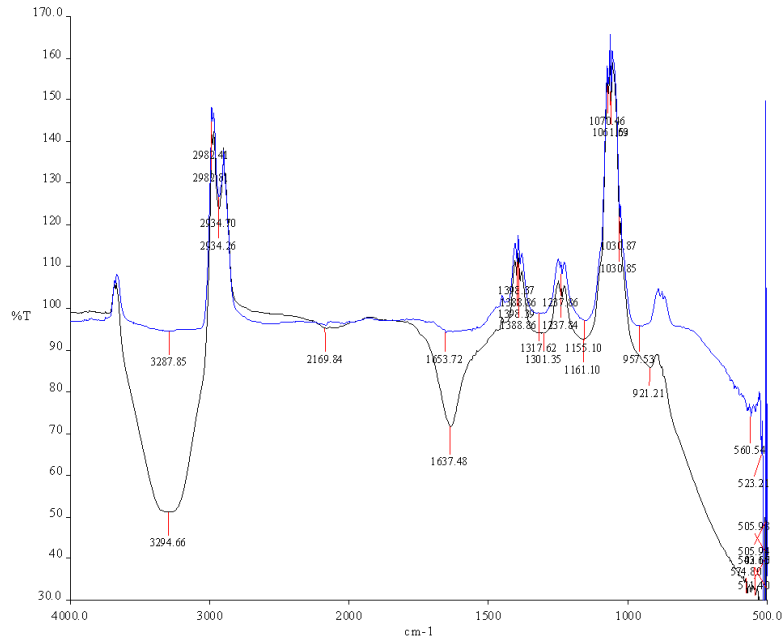


Şekil 4.5. CFeNP'nin Zeta potansiyel grafiği

4.1.5. FTIR Analizi

CfeNP'lerin FTIR analizi, yeşil sentezle elde edilen NP'lerin yapısına katılan kimyasal bağların ve fonksiyonel grupların belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. FTIR spektrumu, $4000-400\text{ cm}^{-1}$ aralığında incelenmiştir (Şekil 4.6).

3294 cm^{-1} bandında geniş bir zirve, -OH gruplarının varlığını işaret etmektedir. Bu, ceviz ekstraktında bulunan fenolik bileşiklerin nanopartiküllere kaplandığını gösterebilir. 2982 cm^{-1} civarında gözlenen zirve, C-H gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir ve bu, ceviz ekstraktındaki alifatik zincirlerin varlığına işaret eder. 1637 cm^{-1} bandında belirgin bir pik, C=O gerilme titreşimlerini temsil eder ve fenolik asitler ile ilgili olabilir. Bu, nanopartiküllerin yüzeyinde karbonil gruplarının varlığını gösterir. 1388 cm^{-1} civarında görülen bir zirve, C-OH bükülme titreşimlerine karşılık gelir ve karboksilik asit gruplarının mevcudiyetini doğrular. $1100-1200\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde, C-O-C gerilme titreşimlerine karşılık gelen pikler, nanopartiküllerin yüzeyinde bulunan ester veya eter gruplarını işaret eder.



Şekil 4.6. CFeNP'lerin (mavi) ve ceviz ekstraktının (siyah) çakıştırılmış FTIR sonuçları

Elde edilen FTIR spektrum sonuçları, ceviz ekstraktındaki biyomoleküllerin demir nanopartiküllerine bağlandığını ve bu bağlanmanın nanopartiküllerin stabilizasyonunu sağladığını göstermektedir. CFeNP'lerin yüzeyinde bulunan bu fonksiyonel gruplar, nanopartiküllerin biyolojik aktivitesi üzerinde etkili olabilir.

4.2. Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

4.2.1. DPPH Giderimi

Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen ceviz ekstraktının, CFeNP'ye kıyasla daha yüksek inhibisyon etkisi gösterdiği yüzde (%) olarak değerlendirilmiştir. Tablo 4.1'de verildiği gibi, bu incelemeler sonucunda ceviz ekstraktı %63,5 oranında inhibisyon giderimi sağlarken, CFeNP %27,2 oranında inhibisyon giderimi gerçekleştirmiştir.

Tablo 4.1. Ceviz ekstraktı ve CFeNP'ün BHA'ya göre DPPH giderme aktiviteleri (%)

CFeNP	Ceviz	BHA
27,20 $\pm$ 4,41	63,5 $\pm$ 1,32	74,33 $\pm$ 1,52

Oksidasyon tepkimelerine neden olan moleküllerin etkilerinin azaltılması veya oksidasyonun engellenmesi işlemlerine antioksidan etki denmektedir. Oksidasyon tepkimeleri sonucunda serbest radikaller üretilmekte ve bunun devamında zincirleme tepkimeler meydana gelerek canlı hücrelere zarar vermektedir. Antioksidanlar bu zincirleme tepkimede serbest radikali ortadan kaldırarak durdurmakta ve radikal yerine kendisi okside olarak oksidasyon tepkimesini gerçekleştirmektedir (Kale vd., 2011). Masek vd. (2019) yaptıkları bir çalışmada çeşitli ceviz yapraklarının %70'lik etanol ekstrelerinin antioksidan aktivitelerini araştırmış ve ceviz yapraklarının DPPH indirgeme aktivitesini %6,72 $\pm$ 0,34 olarak rapor etmişlerdir. Çalışmamızda ceviz içi ekstresinin DPPH indirgeme aktivitesinin sıcak su ekstresinde %63,5 $\pm$ 1,32 olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.1). Araştırmacıların sonuçları ile karşılaştırıldığında ceviz içinin yapraklarına göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir.

Sonuçlar kendi içinde karşılaştırıldığında ise nanopartiküllerin radikal giderme aktivitesinin ceviz içinin su ekstresine oranla daha yüksek olduğu gözlenmektedir. Bu durum da muhtemelen ceviz ekstresindeki antioksidan özellikteki bileşenlerin tamamının nanopartikül yapısına katılmamasından kaynaklanmaktadır.

4.2.2. Metal Şelatlama Aktivitesi

Demir, insan vücudu için önemli bir eser elementtir ve vücuttaki eksikliği, demir eksikliği anemisine, zayıf bilişsel gelişime, artan anne ölümlerine ve düşük enerji seviyelerine neden olur. Öte yandan demir ve diğer metal iyonları yüksek konsantrasyonlarda hücresel hasara neden olabilir. Bu nedenle metal şelatlayıcı ajanlar her geçen gün daha da önem kazanmaktadır. Bu çalışmada ceviz içinden elde edilen ekstrelerin ve sentezlenen nanopartiküllerin metal şelatlama özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Sonuçlar yüzde (%) cinsinden değerlendirilmiştir (Tablo 4.2). Elde edilen verilere göre, her iki bileşenin farklı oranlarda metal şelatlama kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuç

olarak, yeşil sentez ile elde edilen nanopartikülün yaklaşık %39, ceviz ekstraktının ise %50 oranında metal şelatlama kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir.

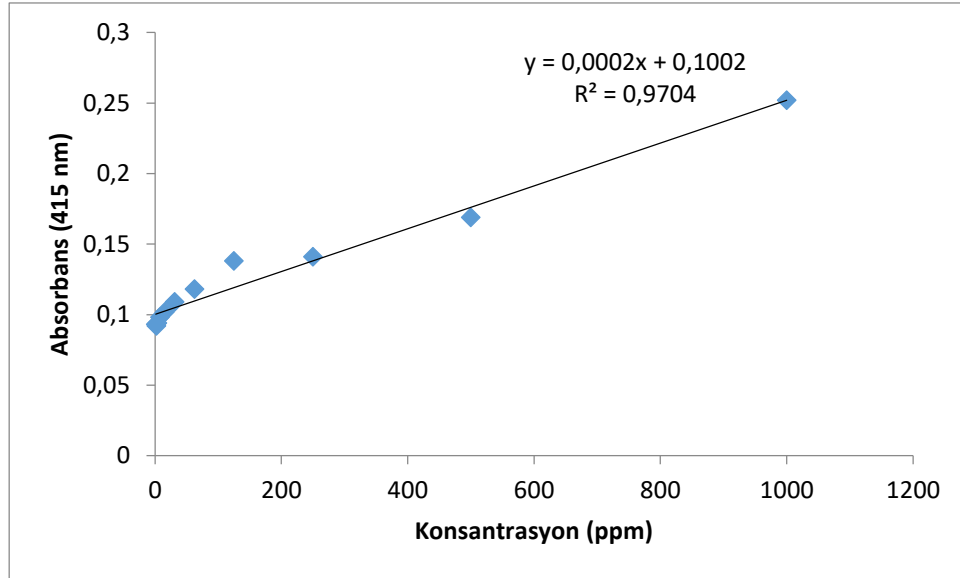
Tablo 4.2. Ceviz ekstraktı ve CFeNP'nin EDTA ya göre metal şelatlama aktiviteleri (%)

CFeNP	Ceviz Ekstraktı	EDTA
39 ± 3,1	50,64 ± 3,06	93,92 ± 0,75

Bir çalışmada insan sağlığı için önemli bir metal olan demir iyonu şelatlama aktivitesi ceviz yaprağının farklı ekstraksiyonlarına çalışılmış ve metal şelatlama aktivitesinin kullanılan çözücüye bağlı olarak %74,96-%96,42 arasında değişiklik gösterdiği rapor edilmiştir (Arslan vd. 2023). Elde edilen sonuçların bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlara kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmektedir ($50,64 \pm 3,06$). Bunun temel sebeplerinden bazıları tez çalışması ile söz konusu literatür çalışmasındaki çözücü türü, çözücü sıcaklığı ve ekstraksiyon süresi gibi bazı değişkenlerin farklı olmasıdır. Söz konusu farklılığın bir değeri sebebi de ekstraksiyonda basınçla çalıştırılan bir membran sisteminin kullanılması olabilir. Her iki çalışmanın sonuçları, tüm test örneklerinin metal şelatlama konusunda etkili bir kapasiteye sahip olduğunu ve antioksidan potansiyellerini ortaya çıkardığını göstermiştir. Metal iyonları üzerinde şelatlama etkisi olan fenolik bileşikler antioksidan mekanizmalardan biri olabilir ve oksidatif hasara karşı koruma sağlamada bir miktar faydalı olabilir. Bu nedenle ceviz için fonksiyonel gıda bileşenleri ve/veya farmasötikler için umut verici antioksidanlar olabileceği sonucuna varılmıştır.

4.3. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Flavonoidler, fenolik asitler ile birlikte polifenollerin en önemli grubudur. Ceviz içeriğindeki flavonoid bileşikler, antioksidan aktiviteden sorumludur. Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen CFeNP'nin, ceviz ekstraktına kıyasla daha düşük seviyede de olsa flavonoid yapısını koruduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.3).



Şekil 4.7. Toplam flavonoid madde tayini için kuersetin standart eğrisi grafiği

Tablo 4.3. Ceviz ekstraktı ve CFeNP'nin toplam flavonoid içeriği

CFeNP (ppm kuersetin ekivalanı)	Ceviz Ekstraktı (ppm kuersetin ekivalanı)
64,5 ± 0,5	1138 ± 128

Toplam flavonoidlerin tahmini içeriğinin, *J. regia* yapraklarının polifenol analizine ilişkin daha önce yayınlanmış raporlara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek çıktığı gözlemlenmiştir. Shah vd. (2018), tarafından yapılan çalışmada ceviz yapraklarının toplam flavonoid içeriğinin 5,52 ila 28,48 mg QE/g arasında değiştiği gözlenmektedir (Shah vd., 2018). Jabli vd. (2017) çalışmalarında, ceviz yapraklarının toplam flavonoid içeriği 17 mg QE/g olarak bulunmuştur (Jabli vd., 2017). Giura vd. (2019), altı farklı tarihte toplanan dört çeşit *J. regia* L. yaprağının analizinde toplam flavonoid içeriğin 1,87 ila 4,16 mg QE/g arasında değiştiğini göstermiştir (Giura vd., 2019).

Yapmış olduğumuz çalışmada ceviz ekstresinin toplam flavonoid içeriğinin demir nanopartiküle kıyasla yaklaşık olarak 17 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu farkın ceviz ekstresindeki flavonoidlerin birçoğunun nanopartikül yapısına katılmamasından kaynaklandığı söylenebilir.

Toplam flavonoid içeriği ile DPPH radikal süpürme aktivitelerinin farklı sonuçlar ortaya çıkardığı gösterilmiştir. Ceviz içi ekstresi ile nanopartiküllerin DPPH aktiviteleri arasındaki fark 2 kattan az iken bu oran flavonoid içeriği söz konusu olduğunda 17 olarak tespit edilmiştir. Bu farkın sebebini řu şekilde yorumlamak mümkündür: DPPH aktivitesinin ortaya çıkmasında ceviz ekstesinde bulunan bütün flavonoidler, fenolik bileşikler, organik asitler ve alkaloidler sorumlu iken toplam flavonoid miktarının ortaya çıkması sadece ekstredeki flavonoidlerden kaynaklanmaktadır. Benzer açıklamalar metal şeletlama için de uygulanabilir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, ceviz (*Juglans regia* L.) meyvesinden çevre dostu demir nanopartiküllerinin sentezi, karakterizasyonu ve antioksidan aktivitesinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda, yeşil sentez yöntemiyle elde edilen demir nanopartiküllerinin başarıyla sentezlendiği ve karakterizasyon analizleri (UV-Visible Spektrofotometre, XRD, FTIR, zeta potansiyeli ve TEM) ile yapısal özelliklerinin doğrulandığı belirlenmiştir.

UV-Visible Spektrofotometre analizi, nanopartiküllerin başarılı bir şekilde sentezlendiğini ve karakteristik emilim bandı gösterdiğini ortaya koymuştur. XRD analizi, nanopartiküllerin kristal yapısını doğrulamış, FTIR analizi ise sentezlenen nanopartiküllerin yüzeyinde organik bileşiklerin varlığını göstermiştir. Zeta potansiyel ölçümleri, nanopartiküllerin kararlılığını ortaya koymuş, TEM analizi ise nanopartiküllerin boyut ve morfolojisini detaylı bir şekilde göstermiştir.

Antioksidan aktivite testleri sonucunda, ceviz ekstraktından elde edilen demir nanopartiküllerinin yüksek flavonoid içeriği ve DPPH ile metal şelatlama aktivitelerinde belirgin bir antioksidan etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, çevre dostu yöntemlerle sentezlenen ceviz kaynaklı demir nanopartiküllerinin potansiyel biyomedikal uygulamalarda kullanılabilir olduğunu ve özellikle antioksidan özelliklerinin değerlendirilmesinin önemli olduğunu göstermektedir.

Mevcut literatür verileri, bitki preparatlarında gözlemlenen antioksidan aktivitenin en azından bir kısmının polifenolik bileşiklerin varlığından kaynaklanabileceğini göstermektedir. Analizlerimiz antioksidan aktivite ile seçilmiş flavonoid bileşik grupları arasında güçlü korelasyonlar gösterdi. Sonuçlar, elde edilen preparatın, kolayca elde edilebilen bir polifenolik bileşik kaynağı ve aynı zamanda doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bu, preparatın gıda tasarımı oksidatif hasara karşı yardımcı bir madde ve aynı zamanda inflamatuvar hastalıklarda önleyici ve tedavi edici bir madde olarak kullanımını haklı çıkarmaktadır.

Nanopartiküller, geniş uygulama alanlarına sahip olduğu için birçok farklı çalışma ve araştırma konusu için kullanılabilir. Bu çalışmalar, nanopartiküllerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinden faydalanarak yeni malzemeler, ilaçlar ve teknolojiler geliştirmeye odaklanır. Sentezlenen nanopartiküllerle ileride yapılabilecek başlıca çalışmalar şunlar olabilir:

1. Sentezlenen demir oksit nanopartikülleri, hedefe yönelik ilaç iletimi için kullanılabilir. Özellikle kanser tedavisinde, ilacın doğrudan tümör hücrelerine taşınması amacıyla nanopartiküller üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Bu, hem etkinliği artırır hem de yan etkileri azaltır.
2. Demir oksit nanopartikülleri, manyetik özellikleri sayesinde manyetik alan kullanılarak belirli bir bölgeye yönlendirilebilir. Bu özellik, kanser tedavisi gibi hedefe yönelik ilaç taşıma sistemlerinde kullanılabilir. Demir oksit nanopartikülleri MRI gibi görüntüleme tekniklerinde kontrast ajanı olarak kullanılabilir. Ayrıca, biyosensörlerle kanser, enfeksiyon gibi hastalıkların erken teşhisi için nanopartiküller üzerinde çalışmalar da planlanabilir.
3. Demir nanopartikülleri, polimerler gibi diğer malzemelerle birleştirilerek nanokompozitler oluşturulabilir. Bu malzemeler, mekanik dayanıklılığı artırarak hafif ve dayanıklı malzemeler üretmek için kullanılabilir.

KAYNAKLAR

Abid, N., Khan, A. M., Shujait, S., Chaudhary, K., Ikram, M., Imran, M., ... and Maqbool, M. (2022). Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 300, 102597.

Ahmad, W., Khan, A. U., Shams, S., Qin, L., Yuan, Q., Ahmad, A., ... and Rahman, A. U. (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.

Ahmad, S. B., Ali, A., Bilal, M., Rashid, S. M., Wani, A. B., Bhat, R. R., and Rehman, M. U. (2023). Melatonin and health: insights of melatonin action, biological functions, and associated disorders. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 43(6), 2437-2458.

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

Amirou, A., Mekhfi, H., Bussmann, R. W., and Khojimatov, O. K. (2024). *Juglans regia* L. Juglandaceae. In *Ethnobotany of Northern Africa and Levant* (pp. 1-21). Cham: Springer International Publishing.

Antora, S. A., Ho, K. V., Lin, C. H., Thomas, A. L., Lovell, S. T., and Krishnaswamy, K. (2022). Quantification of vitamins, minerals, and amino acids in Black walnut (*Juglans nigra*). *Frontiers in Nutrition*, 9, 936189.

Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., ... ve Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.

Arslan, H., Ondul Koc, E., Ozay, Y., Canli, O., Ozdemir, S., Tollu, G., and Dizge, N. (2023). Antimicrobial and antioxidant activity of phenolic extracts from walnut (*Juglans regia* L.) green husk by using pressure-driven membrane process. *Journal of Food Science and Technology*, 60(1), 73-83.

Aydın, A., Sayal, A., ve Işimer, A. (2001). Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi. *Gülhane Askeri Tıp Akademisi Ayın Kitabı*.

Bakkalbaşı, E. (2009). Farklı ambalaj materyalleri ve depo koşullarının ceviz içi bileşimine etkisi.

Balta, I., Stef, L., Pet, I., Iancu, T., Stef, D., and Corcionivoschi, N. (2021). Essential fatty acids as biomedicines in cardiac health. *Biomedicines*, 9(10), 1466.

Bati, B. (2013). Etil alkol ile deneysel oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda ceviz içinin (*Juglans regia* L.) karaciğer koruyucu ve antioksidan rolünün belirlenmesi.

Benzer, F., ve Temizer Ozan, S. (2003). Fasciola hepatica ile Enfekte Koyunlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzimler ve Nitrik Oksit Düzeyleri. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27(3).

Beykaya, M., ve Çağlar, A. (2016). Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(3), 631-641.

Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential—what they are and what they are not?. *Journal of controlled release*, 235, 337-351.

Bolade, O. P., Williams, A. B., and Benson, N. U. (2020). Green synthesis of iron-based nanomaterials for environmental remediation: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 13, 100279.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., and Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., ... and Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: Potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in chemistry*, 11, 1158198.

Cheeseman, K. H., and Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*, 49(3), 481-493.

Cornell, R. M., and Schwertmann, U. (2003). *The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrences, and uses* (Vol. 664). Weinheim: Wiley-vch.

Crupi, P., Faienza, M. F., Naeem, M. Y., Corbo, F., Clodoveo, M. L., and Muraglia, M. (2023). Overview of the potential beneficial effects of carotenoids on consumer health and well-being. *Antioxidants*, 12(5), 1069.

Çalıklı, A. (2003). Kayısı ve vişne suyu üretimindeki atıkların değerlendirilmesi. *Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, Ankara*.

Demirezen, D. A., Yıldız, Y. Ş., Yılmaz, Ş., ve Yılmaz, D. 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.

Desalegn, B., Megharaj, M., Chen, Z., and Naidu, R. (2019). Green synthesis of zero valent iron nanoparticle using mango peel extract and surface characterization using XPS and GC-MS. *Heliyon*, 5(5).

Devatha, C. P., Thalla, A. K., and Katte, S. Y. (2016). Green synthesis of iron nanoparticles using different leaf extracts for treatment of domestic waste water. *Journal of cleaner production*, 139, 1425-1435.

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

Duman, S., Kaya, B., Caf, F., Enez, B., ve Fincan, S. A. (2021). Innovative hydrogen release from sodium borohydride hydrolysis using biocatalyst-like Fe₂O₃ nanoparticles impregnated on *Bacillus simplex* bacteria. *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(29), 15410-15430.

Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., and Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. *Materials*, 14(15), 4135.

Gautam, R. K., Gautam, P. K., Banerjee, S., Soni, S., Singh, S. K., and Chattopadhyaya, M. C. (2015). Removal of Ni (II) by magnetic nanoparticles. *Journal of molecular liquids*, 204, 60-69.

Gedikli, H. (2022). *Türk siyah ve yeşil çayı ekstraktlarının ve bu ekstraktlardan yeşil sentez yoluyla üretilen demir nano parçacıklarının bazı gıdalarda aflatoksinlerin azaltılması üzerine bir araştırma*. Yayınlanmamış yüksek lisans tezi, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gümüşhane.

Gidemen, M. (2021). *Ceviz (Juglans regia L.) sütünün çeşitli kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkinliğinin antimikrobiyal, antioksidan ve prebiyotik aktivite ile birlikte değerlendirilmesi* (Master's thesis, Hitit Üniversitesi).

Giura, S., Mihai, B. O. T. U., Vulpe, M., ViJan, L. E., and Mitrea, R. (2019). Evolution of the polyphenols, flavonoids, and tannins content in walnut leaves and green walnut husk during growing season. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47(4), 1264-1271.

Güçlü, K., Apak, R., ve Özyürek, M. (2009). Hidroksil ve Süperoksit Radikallerinin Süpürülmesine Dayalı Yeni Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemlerinin Geliştirilmesi. *Tübitak Proje*, 114.

Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715.

Gülsoy, E., Kaya, E., ve Türkhan, A. (2021). Bazı Ceviz (*Juglans regia* L.) Çeşitlerinin Antioksidan Aktiviteleri ve Fenolik Madde İçeriklerinin Belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 36(1), 55-62.

Gürbüz, D. G. (2008). Demir eksikliği anemisinde intravenöz demir tedavisinin total antioksidan kapasite üzerine etkisi. *Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi*.

Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.

Hilmi, Ş. (1994). Oksidanlar ve antioksidanlar. *THTDrg*, 48, 1-2.

Huang, B., Mao, S., Tan, W., Wei, C., Ye, X., and Tian, J. (2024). Constitutes, biofunctions and preparations of walnut polyphenols: a review. *Food Bioscience*, 104815.

Jabli, M., Sebeia, N., Boulares, M., and Faidi, K. (2017). Chemical analysis of the characteristics of Tunisian *Juglans regia* L. fractions: Antibacterial potential, gas chromatography–mass spectroscopy and a full investigation of their dyeing properties. *Industrial crops and products*, 108, 690-699.

Jana, J., Ganguly, M., and Pal, T. (2016). Enlightening surface plasmon resonance effect of metal nanoparticles for practical spectroscopic application. *RSC advances*, 6(89), 86174-86211.

Jegadeesan, G. B., Srimathi, K., Srinivas, N. S., Manishkanna, S., and Vignesh, D. (2019). Green synthesis of iron oxide nanoparticles using *Terminalia bellirica* and *Moringa oleifera* fruit and leaf extracts: Antioxidant, antibacterial and thermoacoustic properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 101354.

Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., and Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging. *Archives of toxicology*, 97(10), 2499-2574.

Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., and Pérez-Lebeña, E. (2021). The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 4642.

Kaabipour, S., and Hemmati, S. (2021). A review on the green and sustainable synthesis of silver nanoparticles and one-dimensional silver nanostructures. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 12(1), 102-136.

Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 3954-3962.

Kale, A. A., Torane, R. C., Deshpande, N. R., and Salvekar, J. P. (2011). Antioxidant potential from stem bark of *Juglans regia* L.

Karakaya, S., Koca, M., Yeşilyurt, F., ve Hacımüftüoğlu, A. (2019). Antioxidant and anticholinesterase activities of *Juglans regia* L. growing in Turkey. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 43(3), 230-238.

Kastanek, F., Spacilova, M., Krystynik, P., Dlaskova, M., and Solcova, O. (2023). Fenton reaction—unique but still mysterious. *Processes*, 11(2), 432.

Kaur, C., and Kapoor, H. C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium's health. *International journal of food science and technology*, 36(7), 703-725.

Kaya, M., Dudakli, F., Asan-Ozusaglam, M., Cakmak, Y. S., Baran, T., Menten, A., ve Erdogan, S. (2016). Porous and nanofiber α -chitosan obtained from blue crab (*Callinectes sapidus*) tested for antimicrobial and antioxidant activities. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 1109-1117.

Khan, I., Saeed, K., and Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*, 12(7), 908-931.

Khan, S., and Hossain, M. K. (2022). Classification and properties of nanoparticles. In *Nanoparticle-based polymer composites* (pp. 15-54). Woodhead Publishing.

Kharat, S. N., and Mendhulkar, V. D. (2016). Synthesis, characterization and studies on antioxidant activity of silver nanoparticles using *Elephantopus scaber* leaf extract. *Materials Science and Engineering: C*, 62, 719-724.

Kirdat, P. N., Dandge, P. B., Hagwane, R. M., Nikam, A. S., Mahadik, S. P., and Jirange, S. T. (2021). Synthesis and characterization of ginger (*Z. officinale*) extract mediated iron oxide nanoparticles and its antibacterial activity. *Materials Today: Proceedings*, 43, 2826-2831.

Kömür, Y. K., Karakaya, O., Sütyemez, M., Dirim, E., Yaman, M., Say, A., ... ve Ayaz, İ. B. (2024). Characterization of walnut (*Juglans regia* L.) hybrid genotypes; fatty acid composition, biochemical properties and nutrient contents. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 71(6), 2965-2985.

Kumar, V. R., and Pradeep, T. (2006). Polymerization of benzylthiocyanate on silver nanoparticles and the formation of polymer coated nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry*, 16(9), 837-841.

Kumar, R., Singh, V. P., Maurya, D., and Pandey, A. K. (2015). Bionanoparticles: a green nanochemical approach. *Pharma Tutor*, 3(9), 28.

Lee, H. E., Kim, R. M., Ahn, H. Y., Lee, Y. Y., Byun, G. H., Im, S. W., ... and Nam, K. T. (2020). Cysteine-encoded chirality evolution in plasmonic rhombic dodecahedral gold nanoparticles. *Nature communications*, 11(1), 263.

Link, S., and El-Sayed, M. A. (2000). Shape and size dependence of radiative, non-radiative and photothermal properties of gold nanocrystals. *International reviews in physical chemistry*, 19(3), 409-453.

Madubuonu, N., Aisida, S. O., Ali, A., Ahmad, I., Zhao, T. K., Botha, S., ... and Ezema, F. I. (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. B., and Mohamad, R. (2013). Green biosynthesis and characterization of magnetic iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles using seaweed (*Sargassum muticum*) aqueous extract. *Molecules*, 18(5), 5954-5964.

Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliansky, M. E., and Kalinina, N. O. (2014). “Green” nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae (англоязычная версия)*, 6(1 (20)), 35-44.

Malatesta, M. (2021). Transmission electron microscopy as a powerful tool to investigate the interaction of nanoparticles with subcellular structures. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12789.

Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D’andrea, L., Napolitano, P., and D’Alessandro, A. G. (2022). Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*, 2(2), 48-78.

Masek, A., Latos-Brozio, M., Chrzescijanska, E., and Podsedek, A. (2019). Polyphenolic profile and antioxidant activity of *Juglans regia* L. leaves and husk extracts. *Forests*, 10(11), 988.

Mateş, L., Banc, R., Zaharie, F. A., Rusu, M. E., and Popa, D. S. (2024). Mechanistic Insights into the Biological Effects and Antioxidant Activity of Walnut (*Juglans regia* L.) Ellagitannins: A Systematic Review. *Antioxidants*, 13(8), 974.

Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 91-96.

Miller, NJ ve Rice-Evans, CA (1997). ABTS•+ radikal katyon testi ile belirlenen antioksidan aktiviteyi etkileyen faktörler. *Serbest radikal araştırması*, 26 (3), 195-199.

Mittal, A. K., Kaler, A., and Banerjee, U. C. (2012). Free Radical Scavenging and Antioxidant Activity of Silver Nanoparticles Synthesized from Flower Extract of *Rhododendron dauricum*. *Nano Biomedicine and Engineering*, 4(3).

Mondal, P., Anweshan, A., and Purkait, M. K. (2020). Green synthesis and environmental application of iron-based nanomaterials and nanocomposite: A review. *Chemosphere*, 259, 127509.

Mohammed, ASM (2022). Aktinobakterilerin sentezlediği demir nanopartikülleri ile kurşun ve kadmiyumun uzaklaştırılması (Yüksek Lisans tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü).

Mortensen, M. S., Ruiz, J., and Watts, J. L. (2023). Polyunsaturated fatty acids drive lipid peroxidation during ferroptosis. *Cells*, 12(5), 804.

Mukarram, S. A., Wandhekar, S. S., Ahmed, A. E. M., Pandey, V. K., Csaba, O., Lajos, D., ... and Bela, K. (2024). Exploring the Ecological Implications, Gastronomic

Applications, and Nutritional and Therapeutic Potential of *Juglans regia* L.(Green Walnut): A Comprehensive Review. *Nutrients*, 16(8), 1183.

Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., and Rodwell, V. W. (2003). Harper's illustrated biochemistry.

Oliveira, L. C., Rios, R. V., Fabris, J. D., Garg, V., Sapag, K., and Lago, R. M. (2002). Activated carbon/iron oxide magnetic composites for the adsorption of contaminants in water. *Carbon*, 40(12), 2177-2183.

Packer, L., Weber, S. U., and Rimbach, G. (2001). Molecular aspects of α -tocotrienol antioxidant action and cell signalling. *The Journal of nutrition*, 131(2), 369S-373S.

Palanisamy, K. L., Devabharathi, V., and Sundaram, N. M. (2013). The utility of magnetic iron oxide nanoparticles stabilized by carrier oils in removal of heavy metals from waste water. *International Journal of Research in Applied, Natural and Social Sciences*, 1(4), 15-22.

Panda, P., Verma, H. K., Lakkakula, S., Merchant, N., Kadir, F., Rahman, S., ... and Rao, P. V. (2022). Biomarkers of oxidative stress tethered to cardiovascular diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022(1), 9154295.

Pandey, P., and Dahiya, M. (2016). A brief review on inorganic nanoparticles. *J Crit Rev*, 3(3), 18-26.

Patil, S. P., Chaudhari, R. Y., and Nemade, M. S. (2022). Azadirachta indica leaves mediated green synthesis of metal oxide nanoparticles: A review. *Talanta Open*, 5, 100083.

Phull, A. R., Abbas, Q., Ali, A., Raza, H., Zia, M., and Haq, I. U. (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.

Radini, I. A., Hasan, N., Malik, M. 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.

Sajida M. ve Plotka-Wasyłka, J. (2020). Nanopartiküller: Sentez, özellikler ve analitik ve diğer bilimlerdeki uygulamalar. *Mikrokimya Dergisi*, 154, 104623.

Saravanan, A., Kumar, P. S., Karishma, S., Vo, D. V. N., Jeevanantham, S., Yaashikaa, P. R., and George, C. S. (2021). A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications. *Chemosphere*, 264, 128580.

Satheesh, R., Vignesh, K., Rajarajan, M., Suganthi, A., Sreekantan, S., Kang, M., and Kwak, B. S. (2016). Removal of congo red from water using quercetin modified α -Fe₂O₃ nanoparticles as effective nanoadsorbent. *Materials Chemistry and Physics*, 180, 53-65.

Shah, U. N., Mir, J. I., Ahmed, N., Jan, S., and Fazili, K. M. (2018). Bioefficacy potential of different genotypes of walnut *Juglans regia* L. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 605-618.

Shahidi, F. (Ed.). (1997). *Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications*. The American Oil Chemists Society.

Sharma, A., Goyal, A. K., and Rath, G. (2018). Recent advances in metal nanoparticles in cancer therapy. *Journal of drug targeting*, 26(8), 617-632.

Silveira, C., Shimabuku, Q. L., Fernandes Silva, M., and Bergamasco, R. (2018). Iron-oxide nanoparticles by the green synthesis method using *Moringa oleifera* leaf extract for fluoride removal. *Environmental technology*, 39(22), 2926-2936.

Stozhko, N. Y., Bukharinova, M. A., Khamzina, E. I., Tarasov, A. V., Vidrevich, M. B., and Brainina, K. Z. (2019). The effect of the antioxidant activity of plant extracts on the properties of gold nanoparticles. *Nanomaterials*, 9(12), 1655.

Tuna Yıldırım, S., Güğərçin, R. S., ve Oktay, F. (2020). Demir Elementinin Hastalıkların Oluşumu Ve Tedavisindeki Önemi.

Uğurlu, S., Okumuş, E., ve Bakkalbaşı, E. (2019). Van Gölü Kıyısında Farklı Dönemlerde Hasat Edilen Yeşil Cevizlerin Fenolik Madde İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 29(3), 440-449.

Umaralikhan, L., and Jamal Mohamed Jaffar, M. (2018). Green synthesis of MgO nanoparticles and its antibacterial activity. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 42, 477-485.

Upadhyay, R. K. (2023). High cholesterol disorders, myocardial infarction and its therapeutics. *World Journal of Cardiovascular Diseases*, 13(8), 433-469.

Üstün, E., Önbaş, S. C., Çelik, S. K., Ayvaz, M. Ç., ve Şahin, N. (2022). Green synthesis of iron oxide nanoparticles by using *Ficus carica* leaf extract and its antioxidant activity. *Biointerface Res. Appl. Chem*, 12(2), 2108-2116.

Wei, Y. H., and Pang, C. Y. (2005). The role of mitochondria in the human ageing process. *Bio tech international*, 17(3), 8-13.

Valgimigli, L., Baschieri, A., and Amorati, R. (2018). Antioxidant activity of nanomaterials. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(14), 2036-2051.

Valgimigli, L. (2023). Lipid peroxidation and antioxidant protection. *Biomolecules*, 13(9), 1291.

Yiğit, A., Ertürk, Ü., ve Korukluoğlu, M. (2005). Fonksiyonel bir gıda: Ceviz. *Bahçe*, 34(1), 163-170.

Ying, S., Guan, Z., Ofoegbu, P. C., Clubb, P., Rico, C., He, F., and Hong, J. (2022). Green synthesis of nanoparticles: Current developments and limitations. *Environmental Technology and Innovation*, 26, 102336.

Yusefi, M., Shameli, K., Ali, R. R., Pang, S. W., and Teow, S. Y. (2020). Evaluating anticancer activity of plant-mediated synthesized iron oxide nanoparticles using Punica granatum fruit peel extract. *Journal of Molecular Structure*, 1204, 127539.

Zhu, L., Luo, M., Zhang, Y., Fang, F., Li, M., An, F., ... and Zhang, J. (2023). Free radical as a double-edged sword in disease: Deriving strategic opportunities for nanotherapeutics. *Coordination chemistry reviews*, 475, 214875.