



Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

Ticari Bal Kullanılarak ZnO Nanopartiküllerinin Yeşil Sentezi, Yapısal Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi

 Simge Nur GENÇAY^a,  Sefa DURMUŞ^{b,*},  Aslıhan DALMAZ^c,  Görkem DÜLGER^d

^a Kimya Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

^b Kimya Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

^c Doğal, Bitkisel Ürünler/Kozmetik Ürünler, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

^d Tıbbi Biyoloji Bölümü, Tıp Fakültesi, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

* e-posta adresi: sefadurmus@duzce.edu.tr

DOI:10.29130/dubited.1100628

ÖZ

Nanopartiküllerin sentezi, yeni teknolojilerin geliştirilmesiyle birlikte ilgili potansiyel uygulamalar için yeni bir araştırma alanıdır; özellikle, çevre dostu nanomalzemeler, nanobilim içinde büyüyen bir alan haline gelmiştir. Son zamanlarda, bitki özleri ve arı ürünleri kullanılarak metal oksit nanopartiküllerin sentezi, nanobilim ve nanobiyoteknoloji alanında, geleneksel fizikokimyasal yaklaşımlara göre sayısız avantajlarla ilgi çekici bir konu olarak ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada, çinko oksit nanopartiküllerin (ZnO NP'in) sentezi için, kestane (*Castanea sativa*) balı kullanarak yeni, "daha yeşil", biyolojik olarak yönlendirilmiş, düşük maliyetli ve çevre dostu bir yöntem geliştirildi. ZnO NP'lerin sentezi için öncü bileşik olarak ticari kestane balı kullanılırken, metal tuzu olarak ise çinko nitrat heksahidrat kullanıldı. ZnO NP'nin yapıları, Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), X-ışını Kırınımı (XRD), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılımlı X-ışını analizi ile araştırıldı. Elde edilen ZnO NP'nin bakteri ve funguslara karşı antimikrobiyal aktiviteleri kuyu difüzyon yöntemi ile ölçüldü ve sonuçlar kaydedildi.

Anahtar Kelimeler: Kestane Balı, Nano metal oksit, ZnO NP, Biyolojik aktivite, Yeşil kimya

Green Synthesis, Structural Characterization and Investigation of Biological Activities of ZnO Nanoparticles Using Commercial Honey

ABSTRACT

Synthesis of nanoparticles is a new field of research for potential applications with the development of new technologies; In particular, environmentally friendly nanomaterials have become a growing field within nanoscience. Recently, the synthesis of metal oxide nanoparticles using plant extracts and bee products has emerged as an interesting topic in the field of nanoscience and nanobiotechnology, with numerous advantages over traditional physicochemical approaches. In this study, a new, "greener", bio-directed, low-cost and environmentally friendly method was developed for the synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnO NP) using chestnut (*Castanea sativa*) honey. Commercial chestnut honey was used as the precursor compound for the synthesis of ZnO NP, and zinc nitrate hexahydrate was used as the metal salt. The structures of ZnO NP were investigated by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), X-Ray Diffraction (XRD), Scanning Electron

Microscopy (SEM) and Energy Dispersive X-ray analysis. The antimicrobial activities of the obtained ZnO NP against bacteria and fungi were measured by the well diffusion method and the results were recorded.

Keywords: Chestnut Honey, Nano metal oxide, ZnO NP, Biological activity, Green chemistry

Bu çalışma yüksek lisans öğrencisi Simge Nur GENÇAY'ın tezinden türetilmiştir.
Geliş: 08/04/2022, Düzeltme: 17/04/2022, Kabul: 16/05/2022

I. GİRİŞ

Son yıllarda nanoteknolojinin gelişimine bağlı olarak nanometaller üzerinde yapılan çalışmaların önem kazanması birçok alanda nanometre boyutlarında materyaller geliştirmeyi hedefleyerek araştırma konusu olmuştur [1]. Teorik kavram olarak nanoteknoloji ilk Feynman tarafından öne sürülmüş olsa da Ulusal Nanoteknoloji ve Bilim Vakfı'na göre tarihsel gelişime bağlı olarak nanoteknoloji kavramı, maddeyi gerek moleküler düzeyde gerekse ayrı ayrı atomik olarak keşfetme, kontrol sağlama ve maddenin kimliği hakkında aydınlatma yeteneği olarak tanımlanmıştır [2].

Teknolojinin sürekli gelişmesine bağlı olarak insanlar, doğanın sunduğu birleştirici güç ile bilimsel çalışmalarda birçok doğal ürün kullanmıştır. Bu doğal ürünlerin, insan vücudunda rahatsızlıklara cevap verebilmesi de aslında doğal olarak sentezlediği kimyasal maddelerden ve bu maddelerin insan vücudunda oluşturduğu fizyolojik değişikliklerden kaynaklanmaktadır [3].

Geçmişten günümüze kadar uzanan doğal ürünlerin bu fizyolojik ve kimyasal değişikliklerinin faydası günümüze yeşil sentez olarak yansımıştır. Yeşil sentezin çevre dostu olmasının yanında, doğadan kolaylıkla ulaşılabilir olması, çalışmaları daha ekonomik hale getirmiş ve bu alandaki çalışmalar günümüzde daha fazla önem kazanmıştır [4-6]. Bu yöntem ile kimyasalların çevreye verdiği zararın azaldığı fark edilmiş olup, çevre koruma örgütü ve endüstri tarafından kabul gören on iki temel ilkeye bağlı olarak farklı alanlarda özellikle nanopartikül boyutta üretim ve kullanımın artışı gözlenmiştir [7].

Kimyasal metotlar kullanılarak üretilen nanopartikül sentezinde toksik kimyasallar çevreye ve canlılara ciddi zararlar vermektedir [8]. Çeşitli ekstraktlar ve metaller (Ag, Fe, Cu, Zn, Au, Ti gibi geçiş metalleri) kullanılarak nanopartikül sentezi içeren birçok çalışma yapılmaktadır [9]. Yapılan çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda yeşil sentez; insanı temel alan, özellikle ekonomiyi, beraberinde çevreyi hedefleyen ve bunu en uygun şekilde karşılayan bir uygulama şeklidir. Örneğin, bal gibi doğal bir kaynağın hem ekonomi hem de gıda ve sağlık alanında kullanılabilirliği, içeriğinin oldukça zengin olması, fiziksel ve kimyasal yapısı gereği; toksik olmaması, kolay ulaşılabilir olması, bileşenindeki fruktoz – glikoz yapıları, ajan olarak biyouyumlu olması dünya çapında da detaylı araştırmalar yapılmasına neden olmuştur ve araştırma konusu olarak ilgi görmüştür [9-11]. Bu nedenle nanopartiküllerin yeşil sentezinde indirgen ajanı olarak araştırmalarda kullanılmaktadır [12].

Bu çalışmada, indirgen ve stabilize eden ajan olarak doğal bir ürün olan kestane balı (şeker oranının yüksek olması sebebiyle) aracılığıyla çinko nitrattan yararlanılarak ZnO NP'nin yeşil sentezi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ZnO NP'nin yapıları Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ve X-Işını Kırınım (XRD) yöntemi kullanılarak karakterize edilmiştir. ZnO NP'nin morfolojileri Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) ile tanımlanmış olup, elementel bileşenleri ise Enerji Dağılımlı X-Işını Analizi (EDX) ile belirlenmiştir. Ayrıca ZnO NP'nin antimikrobiyal aktiviteleri incelenerek kuyu difüzyon yöntemi ile insan patojenlerine karşı *in vitro* olarak taranmıştır.

II. MATERYAL ve METOT

A. MATERYAL

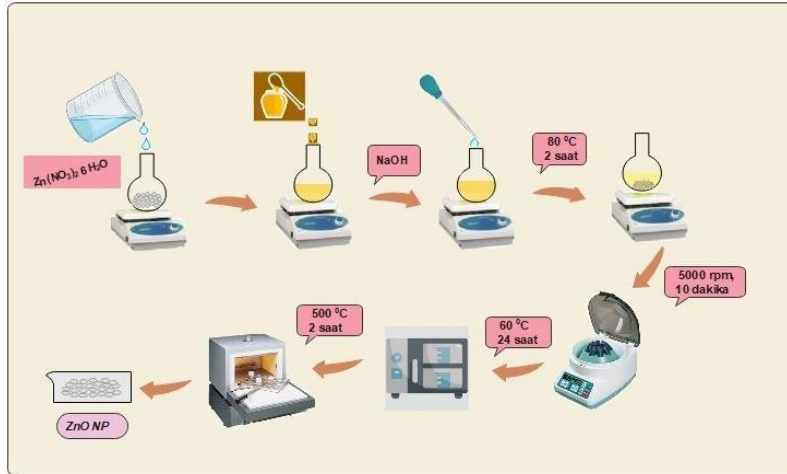
Çalışmada kullanılan kimyasalların tamamı ek bir saflaştırma işlemi gerçekleştirilmeden kullanıldı. Çinko nitrat heksahidrat ($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, Fisher Chemical), sodyum hidroksit (NaOH, Merck) ve etanol (C_2H_5OH , Merck) çeşitli firmalardan temin edildi. Araştırma sürecinde kullanılan doğal kestane balı (Türk Gıda Kodeksi'ne uygun), yerel marketlerden temin edildi.

Sentezlenen ZnO NP'nin kristal faz bileşimleri [Panalytical Empryean difraktometre ve Cu K α radyasyon kaynağı kullanılarak] X-ışını kırınımı ile belirlendi. ZnO NP'nin boyutları, morfolojileri ve elementel bileşimleri, FEI Quanta FEG 250 kullanılarak gerçekleştirilen taramalı elektron mikroskobu/enerji dağılımlı X ışını analizi ile doğrulandı. Numunelerin kızılötesi spektrumları ise, Perkin Elmer Spectra Two UATR marka cihaz kullanılarak belirlendi. Kalsinasyon işlemi için Nabertherm marka B180 model kül fırını kullanıldı. Ayrıca deneyler sırasında Water Story marka Dream Plus I Finesta model deiyonize su cihazı kullanıldı. Faz ayrımını sağlamak için VWR® marka santrifüj kullanıldı.

B. METOT

B.1. ZnO NP'in Yeşil Sentezi

Sıcaklığı 80 °C'de sabit tutulan 3 g $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 100 mL deiyonize suda tamamen çözüldükten sonra bu çözeltinin üzerine 3 g kestane balı ilave edildi. Daha sonra çözeltinin pH'ı 1M NaOH ile 10'a ayarlandı. 80 °C sıcaklıkta 2 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve tamamen homojen bir karışım elde edildi. Elde edilen homojen karışıma 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemi uygulandıktan sonra bir kez deiyonize su, iki kez etanol ile yıkama işlemi yapıldı. Elde edilen ürün 60 °C'de 24 saat etüvde kurumaya bırakıldı ve daha sonra 500 °C'de 2 saat süre ile kalsinasyon işlemine tabi tutuldu. Oluşan beyaz renkli ZnO NP oda sıcaklığında muhafaza edildi.



Şekil 1. ZnO NP'nin sentezi.

C. TEST MİKROORGANİZMALARI

Çalışmada kullanılan izolatlar, Düzce Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edildi. Kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak sentezlenen nanopartiküllerin *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* bakterileri ile *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Debaryomyces hansenii* ve *Crptococcus neoformans* funguslarına karşı antibakteriyel ve antifungal aktiviteler değerlendirildi.

D. KUYU DİFÜZYON YÖNTEMİ

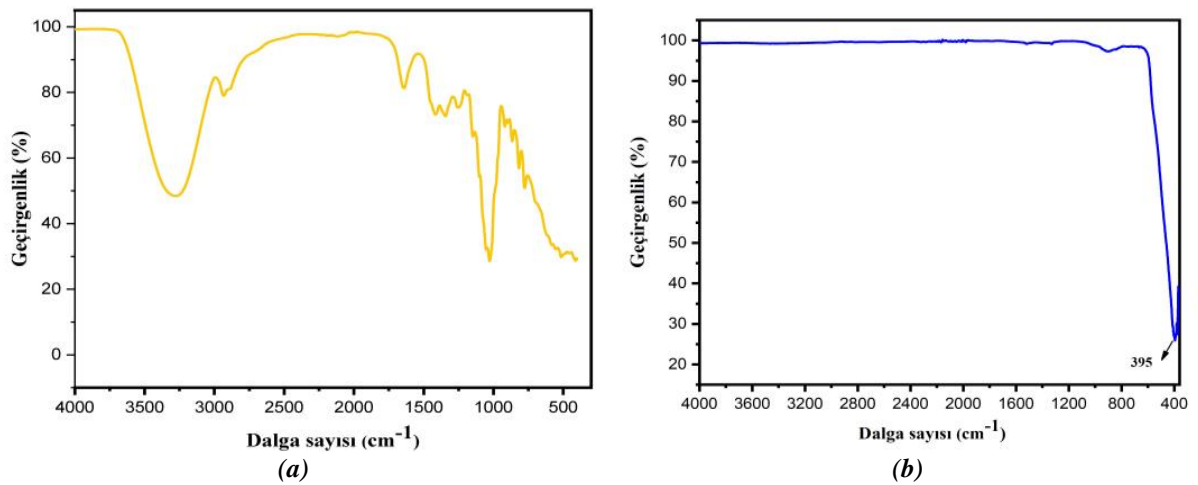
Kestane balı ve ZnO NP'nin antibakteriyel ve antifungal aktivite düzeylerini belirlemek için kuyu difüzyon yöntemi kullanıldı [13]. Mikroorganizmaların 24 saatlik genç kültürlerini hazırlamak amacı bakteriler için Nutrient Broth, funguslar için Malt Ekstakt Broth besiyeri kullanıldı. 0.5 McFarland standardizasyonuna göre hazırlandıktan sonra 24-48 saat süresince bakteriler 35-37 °C'de, funguslar ise 25-27 °C'de inkübe edildi. Kestane balının ve ZnO NP'nin antibakteriyel ve antifungal aktivite düzeylerini belirlemek için besiyeri olarak steril Mueller Hinton Agar hazırlandı. Hazırlanan besiyeri 40-45 °C'ye soğutulduktan sonra aktif hale getirilmiş mikroorganizmalar besiyerine inoküle edildi. Besiyeri ile test mikroorganizmaların homojenizasyonu sağlandıktan sonra steril petri kaplarına döküldü. Soğuyan besiyerine steril delgeç ile 6 mm çapında kuyucuklar açıldı. Besiyerlerinde açılan kuyucukların içerisine steril agar konularak üzeri 100 µL çözelti ile dolduruldu. 24-48 saat süresince bakterilerin bulunduğu petripler 35-37 °C'de, fungusların bulunduğu petripler ise 25-27 °C'de inkübe edildi ve oluşan zonların çapları kumpas yardımı ile ölçüldü. Kestane balının ve ZnO NP'nin antimikrobiyal etkinlik düzeylerini karşılaştırmak amacı ile bakteriler için Ampisilin, amikasin (BIOANALYSE) antibiyotikleri kullanılırken funguslar için ise nistatin (BIOANALYSE) antibiyotiği kullanıldı [14]. Çalışma üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi ve istatistiksel olarak hesaplamaları yapıldı.

III. BULGULAR VE TARTIŞMA

A. ZnO NP'NİN KARAKTERİZASYONU

A.1. FT-IR Analizi

Balın önemli bileşenleri fruktoz, glikoz, sakkaroz, proteinler, mineraller ve vitaminlerdir. FT-IR spektrumu ile doğal bir ürün olan kestane balı kullanılarak sentezlenen ZnO NP'nin yapısında bulunan titreşimler belirlenmiştir. Sentezlenen ZnO NP'nin 4000-375 cm⁻¹ aralığındaki FT-IR spektrumu Şekil 2'de verilmiştir. 500 °C'de kalsinasyon işlemine tabi tutulduktan sonra elde edilen numunenin FT-IR spektrumunda indirgeyici ve disperse ajanı olan kestane balının yapısında bulunan organik bileşiklere (şeker, polisakkaritler gibi) ait titreşimler gözlenmemiştir. Metal oksitlerin 1000 cm⁻¹ dalga sayısının daha aşağısında absorpsiyon bandı vermesindeki neden metal ve oksijen atomları arasındaki titreşimlerdir. FT-IR spektrumunda 395 cm⁻¹'de görülen pik ZnO NP'nin yapısında var olan çinko ve oksijen bağına ait gerilmelerden kaynaklanmakta olup, ZnO NP için önerilen yapıyı doğrulamaktadır. Kestane balının FT-IR spektrumuna ait titreşim değerleri Tablo 1'de verilmiştir [15].



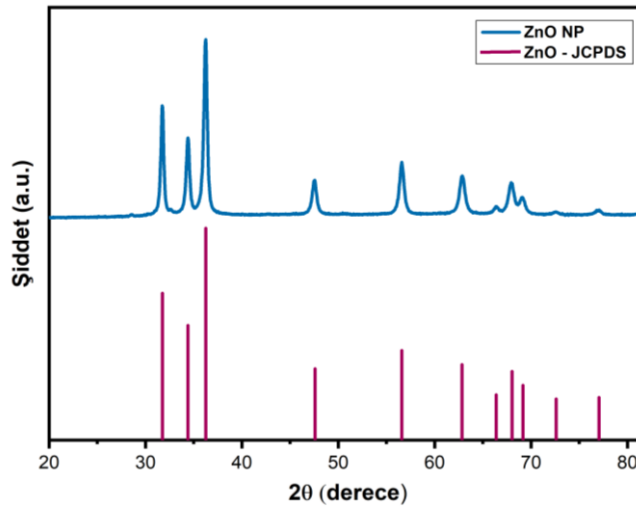
Şekil 2. (a) Kestane balı, (b) Zn(NO₃)₂·6H₂O ile sentezlenen ZnO NP'nin FT-IR spektrumları.

Tablo 1. Kestane balının FT-IR spektrumuna ait genel titreşim değerleri

3400-3100 cm ⁻¹	Karboksilik asit Amin	O-H gerilmesi NH ₂ gerilmesi
2935-2930 cm ⁻¹	Protein Lipid	Alifatik C-H gerilmesi
1639 cm ⁻¹	Protein	Amid I (N-H bükülmesi)
1415 cm ⁻¹	Karbonhidrat	C-H (asimetrik) O-H düzlem içi bozulma
1350-1200cm ⁻¹	Protein	N-H bozulma Amit III (C-N gerilmesi)
1027 cm ⁻¹	Karbonhidratlar	C-O-C titreşimleri

A.2. XRD Analizi

Doğal bir ürün olan kestane balı kullanılarak sentezlenen ZnO NP'nin kristal yapısını ve içerdiği fazları belirlemek için XRD analiz yöntemi kullanılmıştır. Kestane balından yararlanılarak Zn(NO₃)₂.6H₂O tuzu ile sentezlenen ZnO NP'nin XRD deseni Şekil 3'te gösterilmektedir. Nano-ZnO fazlarına ait 2θ karakteristik difraksiyon pikleri 31.75°, 34.40°, 36.25°, 56.57°, 62.83°, 66.38°, 68.03°, 69.09°, 72.57°, 77.0°, 81.46° olmakla birlikte bu pikler sırasıyla (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200), (112), (201), (004), (202) düzlemlerine karşılık gelmektedir. X-ışını kırınım desenindeki keskin pikler ZnO NP'in kristal yapısını ortaya çıkarmakta olup, yeşil sentez yaklaşımında balın disperse ve indirgeyici ajan olarak seçilmesinin güvenilirliğini belirtmektedir. İndekslenmiş kırınım düzlemleri, P6₃mc uzay grubunun hekzagonal wurtzite yapısına ait ZnO NP'nin fazlarını göstermektedir. Bu değerler, JCPDS-79-0206 standart kart değerleri ile uyum içerisindedir. ZnO NP'e ait örgü parametreleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Aynı zamanda ZnO NP'nin XRD analiz sonucunda safsızlık içeren başka bir faza rastlanmamıştır.



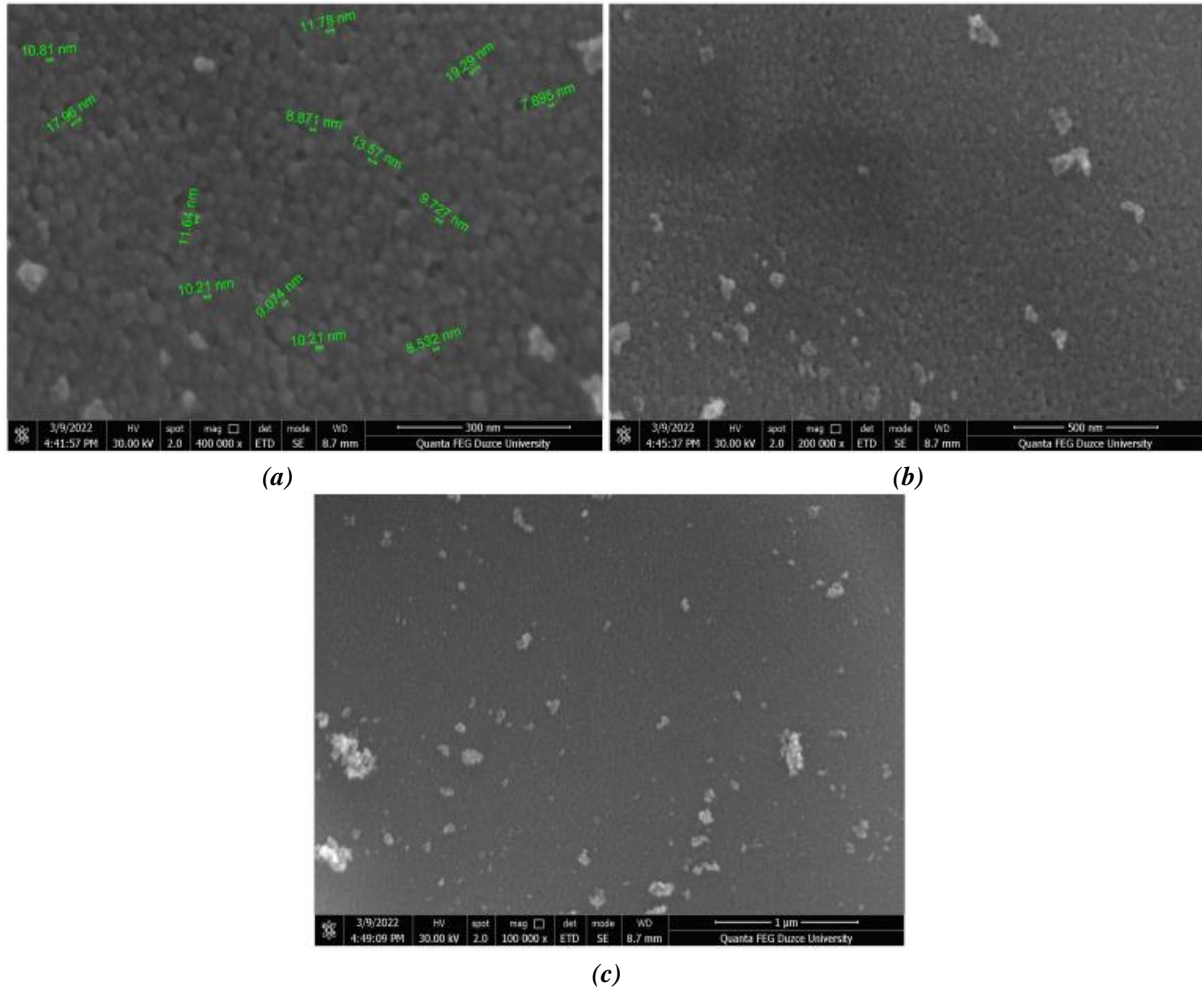
Şekil 3. Zn(NO₃)₂.6H₂O'den sentezlenen ZnO NP'nin XRD deseni.

Tablo 2. XRD analizi sonucu, elde edilen nanopartiküllere ait örgü parametreleri

	Örgü parametreleri					Uzay grubu	Kristal sistemi	
	a (Å)	b (Å)	c(Å)	°α	°β			°γ
ZnO NP	3,2499	3,2499	5,2066	90	90	120	P6 ₃ mc	Hekzagonal

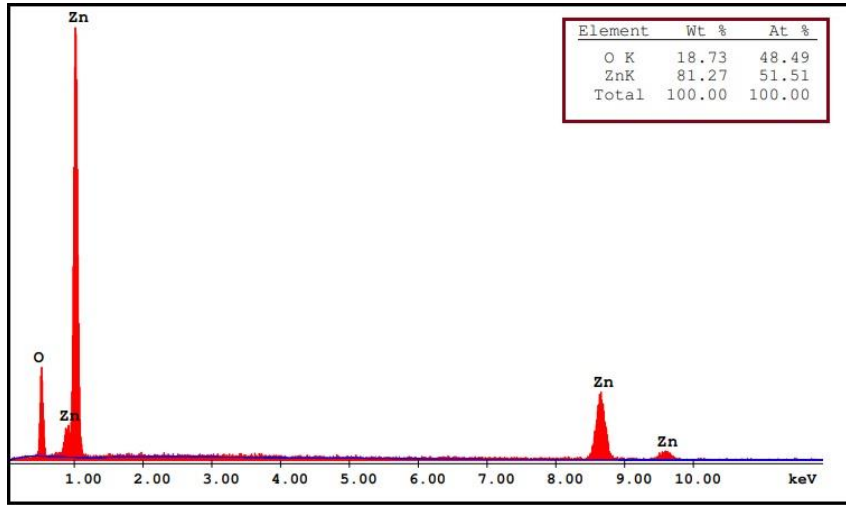
A.3. SEM ve EDX Analizi

Şekil 4'te, sentezlenen ZnO NP'nin morfolojik yapıları farklı büyütme ölçeklerindeki SEM görüntüleri ile verilmektedir. Çinko nitrat heksahidrattan yola çıkılarak sentezlenen ZnO NP'nin SEM görüntüleri incelendiğinde, elde edilen numunenin partikül boyutunun nano ölçekte olduğu görülmekte olup, tatmin edici bir sonuç elde edilmiştir. Elde edilen bu sonuç, balın yapısında bulunan şeker ve polisakkaritler gibi bağlayıcı yapıların varlığından kaynaklanmaktadır. Balın yapısında bulunan bileşikler hem indirgeyici hem de stabilize edici ajan olarak hareket etmektedirler. Ayrıca nanopartiküller, yaklaşık 7-19 nm boyutunda küresel şekle ve homojen bir dağılıma sahiptir ve yapıda agregasyon ve aglomerasyona rastlanmamaktadır. Balın matris yapısındaki hidroksil ve amin grubu içeren çok sayıda karbonhidrat, enzim ve vitaminler, çinkonun kompleksleşme reaksiyonunu hızlandırmakta ve ZnO NP'in daha stabil bir yapıya sahip olmasını sağlamakta, aynı zamanda kristal büyümesi ve aglomerasyonu engellemektedir.



Şekil 4. $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ile sentezlenen ZnO NP'nin (a) 300 nm (b) 500 nm (c) 1 µm boyutlardaki SEM görüntüleri.

Bal kullanılarak elde edilen ZnO NP'e ait elementel analiz sonuçlarını veren EDX spektrumu Şekil 5'te görülmektedir. ZnO NP'nin EDX spektrumu incelendiğinde, XRD analiz sonuçları ile uyum içinde olduğu görülmektedir. $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ile elde edilen ZnO NP'nin EDX spektrumunda sadece Zn ve O elementlerinin varlığı tespit edilmiştir. Bal sadece bir şelatlama ve kaplama maddesi olarak hareket ettiği ve sentez reaksiyonu boyunca kimyasal yapısını koruduğu için hiçbir karbon türü gözlemlenmemiştir. Elementlerin atomik yüzdeleri 1:1 stokiometri oranına karşılık gelmektedir. Zn ve O elementlerine ait atomik yüzdeler sırasıyla % 48.49 ve % 51.51, ağırlıkça yüzdeler ise % 81.27 ve % 18.73 olarak bulunmuştur.



Şekil 5. $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 'dan sentezlenen ZnO NP'nin EDX spektrumu.

A.4. Biyolojik Aktivite Testlerinin Değerlendirilmesi

Kestane balı ve yeşil sentezi gerçekleştirilen ZnO NP'nin antibakteriyel ve antifungal etkinlikleri değerlendirilmiştir. Test bakterileri olarak *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*, test fungusları olarak da *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Debaryomyces hansenii* ve *Crptococcus neoformans* kullanılmıştır. Bu, standart prosedürler izlenerek kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Tablo 3'te verilmiştir. Kestane balı ve ZnO NP'nin antimikrobiyal etkileri referans ilaçlarla (Amfisilin, Amikasin ve Nistatin) karşılaştırılmıştır ve test edilen kestane balı ve ZnO NP, mikroorganizmalara karşı değişen inhibisyon bölgeleri göstermiştir [16]. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, ZnO NP bileşiği antibiyotik değerleriyle kıyaslandığında, *Crptococcus neoformans* izolatına karşı 9.0 mm inhibisyon zonu ile düşük seviyede, *Candida albicans* izolatına kıyasla 20.0 mm inhibisyon zonu ile yüksek seviyede antifungal aktivite göstermiştir. Aynı zamanda ZnO NP bileşiğinin, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakteri kültürlerine karşı 19.06 mm ve 20.1 mm inhibisyon zonları ile antibiyotik değerlerine eşit seviyede antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca *Staphylococcus epidermidis* bakteri kültürüne karşı 20.86 mm inhibisyon zonu ile AK30 antibiyotikinden daha yüksek seviyede antibakteriyel aktivite göstermiştir. Çalışmada kullanılan kestane balının, *Staphylococcus epidermidis* bakteri kültürüne karşı 21.6 mm zon çapı ile yüksek seviyede, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* bakteri kültürlerine karşı ise orta seviyede antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlenmiştir.

Tablo 3. Kestane balı ve ZnO NP'nin antimikrobiyal aktivitesi

Test Mikroorganizmaları	İnhibisyon Zonları* (mm)		Mukayese Antibiyotikleri		
	Kestane balı	ZnO NP	AM 30	AK 30	NY 100
<i>Escherichia coli</i>	15.73±1.27	19.06±0.11	15.0	19.0	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15.5±0.5	20.1±0.17	14.0	20.0	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	15.5±0.52	16.86±0.70	27.0	20.0	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	21.16±1.15	20.86±0.80	23.0	18.0	-
<i>Candida albicans</i>	16.0±0	20.0±0	-	-	17.0
<i>Candida glabrata</i>	15.23±1.07	14.33±0.57	-	-	19.0
<i>Debaryomyces hansenii</i>	23.06±0.11	16.83±0.76	-	-	18.0
<i>Crptococcus neoformans</i>	10.66±1.15	9.0±0.57	-	-	13.0

AM30: Ampisilin 30 µg; AK30: Amikasin 30 µg; NY100: Nistatin 100 µg. Tüm bileşik dozları: 1 mg.

(*): Tablodaki değerler inhibisyon zonlarını göstermektedir.

IV. SONUC

Yerel marketlerden temin edilen kestane balı aracılığıyla $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ kullanılarak ZnO NP'nin biyosentezi gerçekleştirilmiştir. Sentez esnasında madde miktarı, sıcaklık, pH ve deney süreleri gibi parametreler göz önünde bulundurularak optimizasyon çalışmaları uygulanmıştır. Literatür verilerinden yola çıkarak karma model uygulaması esas alınarak gerek bal miktarı gerekse çinko nitrat tuzu miktarı optimize edilerek istenilen boyutlarda nanopartiküllerin eldesi için en uygun ortam ve madde miktarlarının tespiti yapılmıştır. En ideal deney parametreleri elde edilen veriler doğrultusunda bu çalışmada rapor edilmiştir. ZnO NP'lerin yapılarını aydınlatmak için FT-IR, XRD, SEM ve EDX analiz verileri değerlendirilmiş ve analiz sonuçlarının literatür verileriyle uyum içerisinde olduğu görülmüştür. Biyolojik aktivite sonuçları incelendiğinde, kestane balının antibiyotik ile kıyaslandığında mantar izolatlarından *Debaryomyces hansenii*'ye karşı en yüksek aktiviteyi gösterdiği gözlenmiştir. Aynı zamanda kestane balı antibiyotiklere kıyasla en yüksek düzeyde antibakteriyel aktiviteyi ise *Staphylococcus epidermidis* bakteri kültürüne karşı göstermiştir. Doğal bir ürün olan kestane balı sahip olduğu biyoaktif bileşenler sayesinde metal atomlarını oksitleyebilmekte ve sentez aşamasında biyoaktif bileşenler metal oksitlerin yüzeyine bağlanabilmektedir. Bu sayede sentezlenen metal oksitler antimikrobiyal özellikler kazanmaktadır. Bu özellikleri sayesinde biyolojik aktivite çalışmaları sonucunda kestane balı kullanılarak sentezlenen ZnO NP ise, bakteri kültürlerine karşı antibiyotiklerle eşdeğer seviyede antibakteriyel etki gösterirken, mantar izolatlarından *Candida albicans* mantar izolatına karşı yüksek düzeyde antifungal aktivite göstermiştir.

TEŞEKKÜR: Bu çalışma Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2021.05.03.1235).

V. KAYNAKLAR

- [1] E.R. Balasooriya, C.D. Jayasinghe, U.A. Jayawardena, R.W.D. Ruwanthika, R.M.De Silva, and P.V. Udagama, "Honey mediated green synthesis of nanoparticles: New era of safe nanotechnology," *Journal of Nanomaterials*, vol. 2017, no. 3, pp. 10, 2017.
- [2] D. Bhattacharyya, S. Singh, and N. Satnalika, "Nanotechnology, big things from a tiny World: a review," *Science and Technology*, vol. 2, no. 3, pp. 29–38, 2009.
- [3] D. Philip, "Honey mediated green synthesis of gold nanoparticles," *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 73, no. 4, pp. 650–653, 2009.
- [4] M. Singh, S. Singh, S. Prasad, and I.S. Gambhir, "Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles," *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructure*, vol. 3, no. 3, pp. 115–122, 2008.
- [5] H. Hasim, P.V. Rao, A.C. Sekhar, S. Muthuraju, M.A. Asari, and K.N.S. Sirajudeen, "Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Tualang honey and evaluation of their antioxidant activities," *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 11, no. 2, pp. 025010, 2020.
- [6] B. Pelaz, S. Jaber, D. J. Aberasturi, V. Wulf, T. Aida, J.M. Fuente, J. Feldmann, H.E. Gaub, L. Josephson, C.R. Kagan, N.A. Kotov, L.M. Liz-Marzan, H. Mattoussi, P. Mulvaney, C.B. Murray, A.L. Rogach, P.S. Weiss, I. Willner, and W.J. Parak, "The state of nanoparticle-based nanoscience and biotechnology: progress, promises, and challenges," *ACS Nano*, vol. 6, no. 10, pp. 8468–8483, 2012.
- [7] Ş. Gülten, "Yeşil kimya ölçümleri: katalizörlü ve katalizörsüz reaksiyon şartlarında sentezlenmiş biginelli bileşiklerinin yeşil kimya ölçümlerinin hesaplanması," *Avrupa Bilim ve*

Teknoloji Dergisi, c. 14, ss. 61–69, 2018.

- [8] Ö. Erdoğan, F. Birtekocak, E. Oryaşın , M. Abbak , G.M. Demirbolat. S. Paşa, ve Ö. Çevik, “Enginar yaprağı sulu ekstraktı kullanılarak çinko oksit nanopartiküllerinin yeşil sentezi, karakterizasyonu, anti-bakteriyel ve sitotoksik etkileri,” *Duzce Medical Journal*, c. 21, s. 1, ss. 19–26, 2019.
- [9] G.A. Youssef, A.M. El-Boraey, and M.M. Abdel-Tawab, “Eco-friendly green synthesis of silver nanoparticles from egyptian honey: Evaluating its antibacterial activities,” *Egyptian Journal of Botany*, vol. 59, no. 3, pp. 709–721, 2019.
- [10] E. Rasouli, W.J. Basirun, M. Rezayi, K. Shameli, E. Nourmuhammadi, R. Khandanlou, Z. Izadiyan, and H.K. Sarkarizi, “Ultrasmall superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles: Honey-based green and facile synthesis and in vitro viability assay,” *International Journal of Nanomedicine*, vol. 13, pp. 6903–6911, 2018.
- [11] F. Karadal ve Y. Yıldırım, “Balın kalite nitelikleri, beslenme ve sağlık açısından önemi,” *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, c. 9, s. 3, ss. 197–209, 2012.
- [12] J. Jeyageetha. M. Geetha, and Packiam, “Synthesis of honey mediated biogenic zinc oxide nanoparticles and structural parameters investigations,” *Jetir*, vol. 6, no. 2, pp. 882–888, 2019.
- [13] S. Gummuluri, V.T. Kavalipurapu, and A.V. Kaligotla, “Antimicrobial efficacy of novel ethanolic extract of *Morinda citrifolia* against *Enterococcus faecalis* by agar well diffusion method and minimal inhibitory concentration-an *in vitro* study,” *Brazilian Dental Science*, vol. 22, no. 3, pp. 365-370, 2019.
- [14] CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test: Approved Standard, CLSI document M100*, 30th edition, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020.
- [15] S. Gok, M. Severcan, E. Goormaghtigh, I. Kandemir, and F. Severcan, “Differentiation of Anatolian honey samples from different botanical origins by ATR-FTIR spectroscopy using multivariate analysis,” *Food chemistry*, vol. 170, pp. 234-240, 2015.
- [16] M. Sharmila, R. Jothi Mani, A. Kader, A. Ahmad, G.E. Eldesoky, A.E.M. Yahya, and A.A.A. Bahajjaj, “Photocatalytic and biological activity of ZnO nanoparticles using honey,” *Coating*, vol. 11, no. 9, pp. 1046, 2021.