



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**Ag-Cu BİMETALİK NANOPARTİKÜLLERİN
Ocimum basilicum L. EKSTRAKTI
KULLANILARAK SENTEZİ VE
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Fatımah Abbas Fadhl ALBAYATI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

**Aralık-2024
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Fatimah Abbas Fadhil ALBAYATI tarafından hazırlanan “Ag-Cu BİMETALİK NANOPARTİKÜLLERİN *Ocimum basilicum* L. EKSTRAKTI KULLANILARAK SENTEZİ VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ” adlı tez çalışması 25/12/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. Mustafa YÖNTEM

Danışman

Doç. Dr. Fatih ERCİ

Üye

Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ

İmza

.....

.....

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/.../20.. gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Havvanur UÇBEYİAY
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından 24YL15001 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Fatimah Abbas Fadhıl ALBAYATI
Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ag-Cu BİMETALİK NANOPARTİKÜLLERİN *Ocimum basilicum* L. EKSTRAKTI KULLANILARAK SENTEZİ VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Fatimah Abbas Fadhıl ALBAYATI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fatih ERCİ

2024, 48 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Fatih ERCİ

Prof. Dr. Mustafa YÖNTEM

Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ

Bimetalik nanopartiküller, iki metal arasında baskın olan bifonksiyonel veya sinerjik etkileri sergileyen ve gelişmiş elektronik, katalitik ve optik özelliklere sahip olan bir yapıya sahiptir. Toksik ve zararlı kimyasal reaktiflerin kullanılmaması nedeniyle yeşil sentetik yöntemler büyük ilgi görmektedir. Bu çalışmada, çevre dostu ve biyoyumlu bir hazırlama yöntemi ile gümüş nanopartiküller (AgNP), bakır nanopartiküller (CuNP) ve gümüş-bakır bimetalik nanopartiküller (Ag-Cu NP) sentezlenmesi hedeflenmiştir. Nanopartiküller *Ocimum basilicum* L. ekstraktı kullanılarak sentezlenmiştir. Hazırlanan nanopartiküllerin karakterizasyonu X-ışını kırınımı (XRD), ultraviyole-görünür ışık spektroskopisi (UV-Vis), Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) dahil olmak üzere bir dizi spektroskopik ve mikroskopik teknikler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen AgNP'lerin UV-Vis analizi sonucunda 427 nm dalga boyunda belirgin bir pik gösterdiği belirlendi. Sonuçlar sentezlenen nanopartiküllerin küresel formda olduğunu ve AgNP, CuNP ve Ag-Cu NP'lerin sırası ile 25, 50, ve 70-80 nm civarında büyüklük sergiledikleri ortaya çıkmıştır. Nanopartiküllerin *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Escherichia coli* (*E. coli*) ve *Candida albicans* (*C. albicans*)'a karşı antimikrobiyal aktiviteleri belirlendi. AgNP için *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı bildirilen minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri sırasıyla yaklaşık 50 µg/mL ve 100 µg/mL olmuştur. Buna karşılık, bakır CuNP'ler, *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* için 400 µg/mL'den daha yüksek MİK değerleri göstermiştir. Ag-Cu NP için MİK değerleri test edilen mikroorganizmalar için 50 µg/mL olarak ortaya çıkmıştır, bu da bimetalik nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesini artıran sinerjik bir etkiyi göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, Bakır, Gümüş, Bimetalik nanopartikül

ABSTRACT

MS THESIS

SYNTHESIS OF Ag-Cu BIMETALLIC NANOPARTICLES USING *Ocimum basilicum* L. EXTRACT AND EVALUATION OF THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Fatimah Abbas Fadhil ALBAYATI

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN BIOTECHNOLOGY**

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih ERCİ

2024, 48 Pages

Jury

**Assoc. Prof. Dr. Fatih ERCİ
Prof. Dr. Mustafa YÖNTEM
Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ**

Bimetallic nanoparticles exhibit bifunctional or synergistic effects that predominate between two metals and possess advanced electronic, catalytic and optical properties. Green synthetic methods are of great interest due to the avoidance of toxic and harmful chemical reagents. In this study, we aimed to synthesize silver nanoparticles (AgNP), copper nanoparticles (CuNP) and silver-copper bimetallic nanoparticles (Ag-Cu NP) by an environmentally friendly and biocompatible preparation method. Nanoparticles were synthesized using *Ocimum basilicum* L. extract. Characterization of the nanoparticles was carried out using a range of spectroscopic and microscopic techniques including X-ray diffraction (XRD), ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and scanning electron microscopy (SEM). UV-Vis analysis of the synthesized AgNPs showed a prominent peak at 427 nm wavelength. The results revealed that the synthesized nanoparticles were in spherical form and AgNP, CuNP and AgCu NPs exhibited sizes around 25, 50, and 70-80 nm, respectively. The antimicrobial activity of the nanoparticles against *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Candida albicans* (*C. albicans*) was determined. The minimum inhibition concentrations (MIC) reported for AgNPs against *S. aureus* and *E. coli* were approximately 50 µg/mL and 100 µg/mL, respectively. In contrast, copper CuNPs showed MIC values higher than 400 µg/mL for *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans*. The MIC values for Ag-Cu NPs were 50 µg/mL for the tested microorganisms, indicating a synergistic effect enhancing the antimicrobial activity of the bimetallic nanoparticles.

Keywords: Antimicrobial, Copper, Silver, Bimetallic nanoparticles

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın şekillenmesinde önemli katkılarda bulunan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışmanım Doç. Dr. Fatih ERCİ'ye içten teşekkürlerimi sunuyorum. Tez sürecim boyunca bilgilerini benimle paylaşarak bana destek olan Arş. Gör. Dr. Behiç Selman Erdoğan'ya da şükranlarımı iletmek isterim. Ayrıca, bu süreçte bana sonsuz sevgi ve manevi destek sunan aileme en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Fatimah Abbas Fadhıl ALBAYATI
KONYA-2024



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı.....	2
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Nanoteknoloji.....	3
2.2. Nanopartiküller ve Sentez Yöntemleri	3
2.3. Yeşil Sentez Yöntemi ile Nanopartikül Üretimi	4
2.4. Gümüş ve Bakır Nanopartiküllerin Kullanım Alanları.....	7
2.5. Gümüş ve Bakır Nanopartiküllerinin Antimikrobiyal Özellikleri	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	12
3.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar	12
3.2. Fesleğen (<i>O. basilicum</i>) Ekstraktının Hazırlanması	12
3.3. Ag Nanopartiküllerin Sentezi	12
3.4. Cu Nanopartiküllerin Sentezi.....	13
3.5. Ag-Cu Bimetalik Nanopartiküllerin Sentezi.....	14
3.6. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	14
3.7. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkinliğinin Değerlendirilmesi	15
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	16
4.1. Nanopartiküllerin Sentezi	16
4.2. Gümüş, Bakır ve Ag-Cu Bimetalik Nanopartiküllerin UV-Vis Spekturumları... 16	
4.3. Gümüş ve Bakır Nanopartiküllerin FTIR Analizleri ve Ag, Cu ve Ag-Cu Bimetalik Nanopartiküllerin XRD Analizleri ile karakterizasyonu.....	17
4.4. Gümüş, Bakır ve Ag-Cu Bimetalik Nanopartiküllerin FE-SEM Analizi	21
4.5. Sentezlenen Gümüş, Bakır ve Ag-Cu bimetalik Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkinlikleri	24
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	29
5.1 Sonuçlar	29
5.2 Öneriler	30
6. KAYNAKLAR	31

SİMGELER VE KISALTMALAR

Ag	Gümüş
Cu	Bakır
AgNP	Gümüş Nanopartiküller
CuNP	Bakır Nanopartiküller
Ag-Cu NP	Gümüş-Bakır Bimetalik Nanopartiküller
AgNO ₃	Gümüş Nitrat
XRD	X Işınları Difraksiyonu
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
FE-SEM	Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu
UV-Vis	Ultraviyole/görünür Işık Absorpsiyon Spektrofotometresi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Çeşitli nanomateryallerin boyutlarının karşılaştırılması	3
Şekil 2. 2. Nanopartiküllerin aşağıdan yukarıya sentez basamakları	4
Şekil 2. 3. Metal nanopartiküllerin fito-sentez mekanizması	5
Şekil 2. 4. Metalik NP'lerin antimikrobiyal aktivite mekanizmaları	9
Şekil 2. 5. Biyofilm oluşum aşamaları	11
Şekil 3. 1. Gümüş nanopartikül sentezindeki renk değişimleri	13
Şekil 3. 2. Bakır nanopartikül sentezindeki renk değişimleri	13
Şekil 3. 3. Ag-Cu bimetalik nanopartiküller sentez sonrası rengi	14
Şekil 4. 1. Sentezlenen nanopartiküllerin UV-Vis analizi	17
Şekil 4. 2. Gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüleri	18
Şekil 4. 3. Bakır nanopartiküllerin XRD görüntüsü	18
Şekil 4. 4. Ag-Cu nanopartiküllerin XRD görüntüsü	19
Şekil 4. 5. Gümüş nanopartiküllerin FTIR spektrumları	20
Şekil 4. 6. Bakır nanopartiküllerin FTIR spektrumları	21
Şekil 4. 7. Gümüş nanopartiküllerin FE-SEM ve EDX analizleri	22
Şekil 4. 8. Bakır nanopartiküllerin FE-SEM EDX analizleri	23
Şekil 4. 9. Ag-Cu bimetalik nanopartiküllerin FE-SEM EDX analizleri	24
Şekil 4. 10. <i>E. coli</i> 'ye karşı Ag, Cu, Ag-Cu nanopartiküllerin agar kuyu difüzyon sonucu oluşturdukları inhibisyon zon görüntüleri	25
Şekil 4. 11. <i>S. aureus</i> 'a karşı Ag, Cu, Ag-Cu nanopartiküllerin agar kuyu difüzyon sonucu oluşturdukları inhibisyon zon görüntüleri	25
Şekil 4. 12. <i>C. albicans</i> 'a karşı Ag, Cu, Ag-Cu nanopartiküllerin agar kuyu difüzyon sonucu oluşturdukları inhibisyon zon görüntüleri	26
Şekil 4. 13. Ag nanopartiküllerin agar kuyu difüzyon sonucu oluşturdukları inhibisyon zon çapları (mm).....	26
Şekil 4. 14. Ag-Cu nanopartiküllerin agar kuyu difüzyon sonucu oluşturdukları inhibisyon inhibisyon zon çapları (mm)	27

TABLO DİZİNİ

- Tablo 2. 1. Yeşil sentez yöntem ile sentezlenen nanopartiküllerin kullanım alanları 8
Tablo 4. 1. Nanopartiküllerin minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK, µg/mL) 28



1. GİRİŞ

Nanopartiküller (NP'ler), nanoteknolojinin yapı taşları olarak kabul edilen genellikle atomik veya moleküler düzeyde nanometre ölçeğinde mühendislik ürünü katı parçacıkları ifade etmektedir. Yığın formlarına kıyasla özellikle çapları 100 nm'nin altında olan parçacıklar farklı özellikler sergilemektedir. Tüm malzemelerin özelliklerinin önemli ölçüde değişim gösterdiği kritik bir boyut veya aralık bulunmaktadır (Ferrando vd., 2008). Nano ölçekli malzemeler tıp, tarım, gıda endüstrileri, biyoteknoloji, çevre kirliliği tespiti ve kontrolü, su arıtma ve elektronik uygulamaları gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (El-Kady vd., 2023). Bu teknolojinin mevcut potansiyeli nedeniyle, nanoteknoloji araştırma ve geliştirme yatırımlarında dünya çapında bir artış meydana gelmiştir (Nowack & Bucheli, 2007).

Nanopartiküllerin sentezi yukarıdan aşağı "Top Down" ve aşağıdan yukarı "Bottom Up" olarak adlandırılan iki ana yaklaşım altında incelenmektedir (Idris & Roy, 2023). Yukarıdan aşağıya yaklaşım, yapının boyutunun nano ölçeğe doğru küçültülmesi anlamına gelmektedir. Aşağıdan yukarıya yaklaşım ise daha küçük atom ve moleküllerden büyük nano yapıların oluşturulmasıdır (Christian vd., 2008). İlk yaklaşım, genellikle "fiziksel" sentez yöntemleri olarak bilinen bir dizi işlemde oluşmaktadır. İkinci yaklaşım ise "kimyasal sentez" dir. Kimyasal sentez nanopartikül sentezinde sık kullanılan yöntemlerden biridir. Bir başka aşağıdan yukarıya teknik ise nanopartikül sentezinde kimyasal olmayan reaktiflerin kullanılmasını içeren ve biyolojik ajanlara dayanan "biyolojik sentez" yöntemidir (Zulfiqar vd., 2024).

Monometalik nanopartiküllerin sentezinde kullanılan birçok yöntem bimetalik partiküllerin sentezi içinde kullanılmaktadır. Ancak, iki farklı metalden oluşan bimetalik nanopartiküller, monometalik nanopartiküllerle karşılaştırıldığında, yüksek katalitik aktivitesi, seçicilik, deaktivasyon direncinin büyük olması gibi benzersiz özellikleri ve çeşitli alanlardaki potansiyel uygulamaları nedeniyle büyük ilgi görmektedir (S. Kumar, 2020; Zadeh vd., 2022). Bimetalik nanopartiküllerin özellikleri, bileşen metallerin özellikleri ve nanometrik boyutları tarafından belirlenir ve boyuta bağlı optik, elektronik, termal ve katalitik etkilerde farklılıklara yol açmaktadır (Luo vd., 2005). Hazırlama koşulları, bimetalik nanopartiküllerdeki iki metalin yapısını ve karışabilirliğini önemli ölçüde etkilemektedir (Wu vd., 2001) . Bimetalik nanopartiküllerin sentezinin, istenen boyutta, uzaysal yapıda ve kimyasal bileşimde partiküller elde etmek için kontrol edilmesi gerekmektedir (Gafner vd., 2021).

Son yıllarda, birçok üretim tekniği kullanılmakta ve bimetalik nanoparçacıkların ayrıntılı karakterizasyonu, nanomateryal analiz tekniklerinin hızla ilerlemesiyle mümkün olmaktadır (Dlamini vd., 2023). Bu çok işlevli nanopartiküllerin sentez yöntemleri arasında yeşil sentez yaklaşımı maliyet etkinliği ve üretim kolaylığı nedeniyle umut verici bir sentez yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır (Walimbe vd., 2022). Ayrıca artan çevre kirliliği nedeniyle daha biyoyumlu ve daha az toksik bimetalik nanopartiküllere olan ihtiyacın da karşılanmasında etkin rol almaktadır (Allaie vd., 2023).

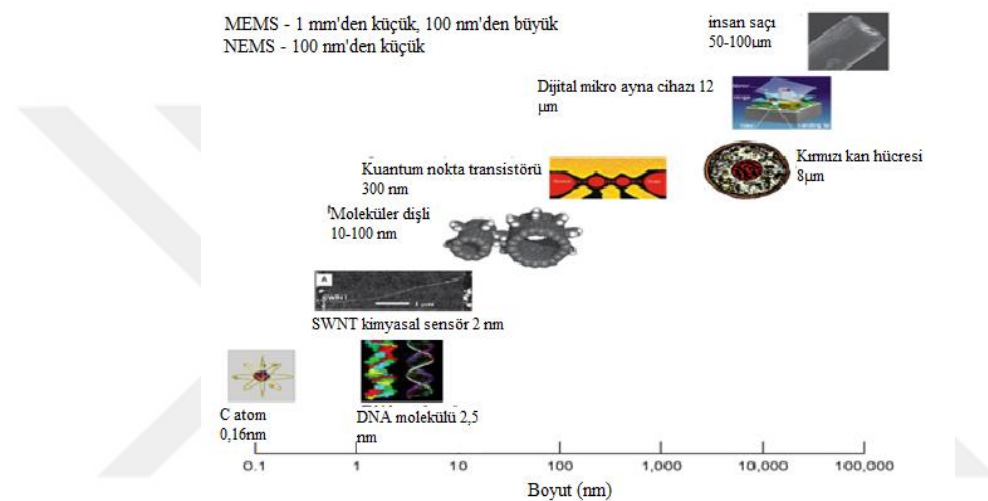
1.1. Tezin Amacı

Bimetalik nanopartiküller, iki metal arasında baskın olan bifonksiyonel veya sinerjik etkileri sergileyen ve gelişmiş elektronik, katalitik ve optik özelliklere sahip olan bir yapıya sahiptir. Toksik ve zararlı kimyasal reaktiflerin kullanılmaması nedeniyle yeşil sentetik yöntemler büyük ilgi görmektedir. Bu nedenle, çevre dostu ve biyoyumlu bir hazırlama yöntemi ile Ag-Cu bimetalik nanopartiküller (Ag-Cu NP'ler) sentezi hedeflenmiştir. Tezde yeşil sentez yoluyla elde edilen Ag, Cu ve Ag-Cu nanopartiküllerin karakterizasyonları gerçekleştirilmiş olup bunun sonucunda bimetalik nanopartiküllerin monometalik nanopartiküller ile antimikrobiyal etkinlik yönünden karşılaştırılması amaç olarak belirlenmiştir. Bu tez ile bimetalik nanopartiküllerin biyomedikal alanda kullanımlarına yönelik yeni bir bakış açısı kazandırılması amaçlanmaktadır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, nano ölçeklerde uygulanan ve nanomalzemelerin araştırılmasıyla ilgilenen bir bilim dalıdır. Bu malzemelerin boyutları 1 ile 100 nanometre arasında değişirken, yapı 100 nanometrenin altına düştüğünde önemli özelliklerinde değişiklikler meydana gelmektedir. Nanomalzemelerin sahip olduğu benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikleri, onlara birçok alanda kullanılma potansiyeli sunmaktadır (West & Halas, 2000).



Şekil 2. 1. Çeşitli nanomateryallerin boyutlarının karşılaştırılması (Bhushan, 2015).

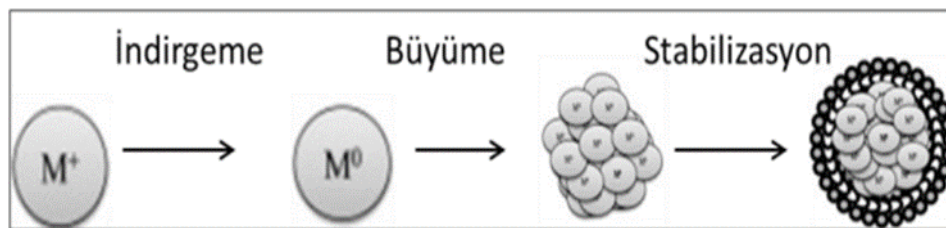
Nanoteknolojinin ilk tanımı 1974 yılında Norio Taniguchi tarafından yapılmış, ardından 1985'te atomik kuvvet mikroskobunun geliştirilmesiyle bu alandaki gelişmeler hız kazanmıştır (Adetunji vd., 2024; Taniguchi, 1974). Son yıllarda nanoteknoloji, diğer bilim dallarıyla (gıda, ilaç, enerji üretimi ve fizik gibi) birleşerek kapsamlı araştırmalara imkân sunmaktadır (Bayda vd., 2019).

2.2. Nanopartiküller ve Sentez Yöntemleri

Nanoteknolojinin temel unsurları olan nanopartiküller ve bu nano yapıda yer alan malzemeler, son yıllarda önemli derecede gelişim göstermiştir. Bu yapılar, nanoboyutlu malzemeler olarak tanımlanır ve nanokristaller, nanoteller, nanotüpler, nanopartiküller gibi farklı kategorilere ayrılmaktadır (Rafique vd., 2020). Son yıllarda nanopartiküllere olan ilginin artmasının başlıca sebepleri arasında, nanopartiküllerin daha büyük boyuttaki yapılara kıyasla, özelliklerinde ve işlevselliklerinde olağanüstü farklılıklar sergilemesi

gelmektedir(Erci vd., 2018). Nanopartiküller birçok ticari üründe bulunmaktadır ve günlük hayatımızı olumlu ya da olumsuz yönde etkilemektedir. Bununla birlikte, nanopartiküller analitik bilimlerde çevresel kirlilik kontrolü, gıda güvenliği ve tıbbi teşhis alanlarındaki pratik sorunları çözmek için muazzam bir potansiyele sahiptir. Benzersiz optik, elektrokimyasal veya katalitik özelliklere sahip nanopartiküller sıklıkla kullanılmaktadır. Günlük hayatımızda da gıda, sağlık, giyim ve kozmetik gibi birçok alanda nanopartiküller etkin bir şekilde yer almaktadır (Farka vd., 2024).

Nanopartiküllerin üretimi genellikle yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya olmak üzere iki ana yöntemle gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemlerin yanı sıra, nanopartiküller kimyasal, fiziksel veya biyolojik yöntemlerle de sentezlenebilmektedir. Yukarıdan aşağıya üretim yöntemi, uygun malzemelerin boyutunun küçültülmesi ile yeni yapıların oluşturulmasına dayanır. Aşağıdan yukarıya üretim yönteminin temeli ise biyolojik ve kimyasal üretim tekniklerine dayanmaktadır (Zulfiqar vd., 2024). Üretim prosesi küçük malzemelerin birleştirilerek nanoparçacıkları meydana getirmesiyle ve ardından bu parçacıkların nano yapılar haline dönüşümünden oluşmaktadır. Kimyasal üretim yöntemlerinin bazı dezavantajları bulunmakta olup bunlar arasında toksik çözücü kullanımı, maliyetin yüksekliği ve tehlikeli yan ürünlerin oluşumu yer almaktadır. Bu gibi durumlar hem çevre hem de insan sağlığı için önemli riskler taşımaktadır. Bu nedenle, son yıllarda biyolojik üretim yöntemleri kimyasal üretim yöntemlerine kıyasla büyük bir önem kazanmıştır (Mittal vd., 2013).

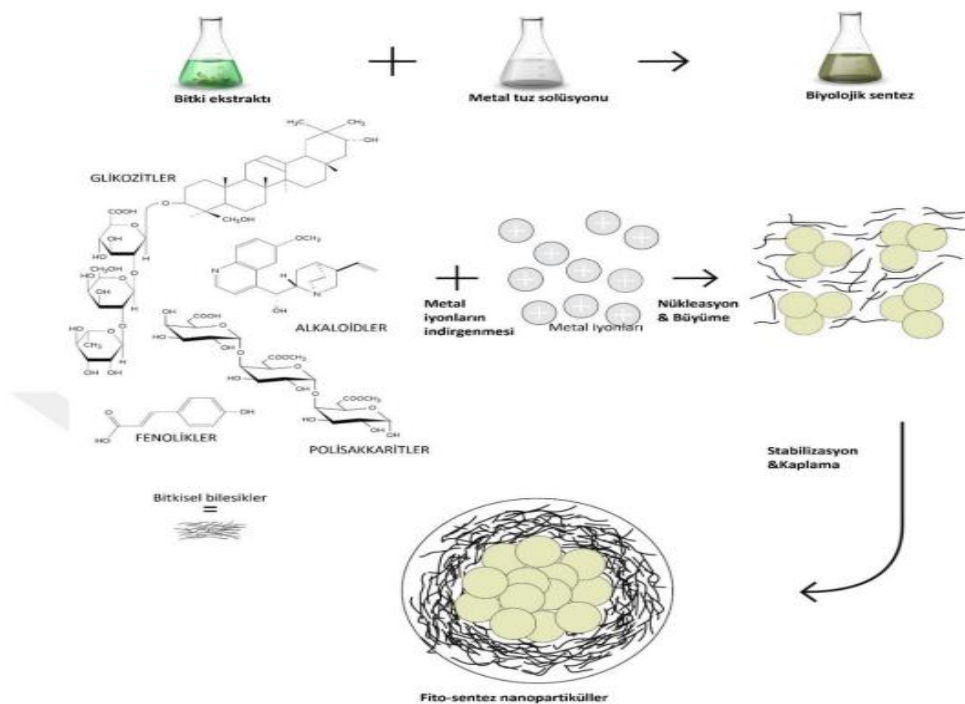


Şekil 2. 2. Nanopartiküllerin aşağıdan yukarıya sentez basamakları (Mittal vd., 2013)

2.3. Yeşil Sentez Yöntemi ile Nanopartikül Üretimi

Nanoteknoloji, son yıllardaki hızlı gelişimiyle birlikte birçok alanda kullanılmaya başlanmış ve artan talepleri karşılamak adına kaliteli nanomateryal üretimi için yenilikçi yöntemlerin önünü açmıştır. Geleneksel sentez yöntemlerinin neden olduğu kirlilik hem insan sağlığına hem de çevreye zarar verdiğinden, daha güvenli alternatiflere yönelim başlamıştır (Huston vd., 2021).

Yeşil sentez yöntemi, basit, çevre dostu, ekonomik ve tekrarlanabilir bir yaklaşım sunarak daha hızlı üretim imkânı sağlamaktadır. Yeşil nanoteknoloji, çevre dostu yapısı ve düşük toksik madde içeriği sayesinde çevresel sürdürülebilirliğe önemli katkılarda bulunur. Bu alanda, mikroorganizmalar ve bitki ekstraktları kullanılmaktadır (Saratale vd., 2018). Mantarlar, bakteriler, virüsler ve mayalar gibi birçok mikroorganizma, metal nanoparçacık sentezi için biyofabrikalar olarak kabul edilmektedir. Bitki bazlı sentez yöntemi ise, mikroorganizmalara kıyasla daha az aşama ile gerçekleştirildiği için toplu üretimde kolaylık sağlamaktadır (Akhtar vd., 2013). Nanopartiküllerin bitki bazlı sentezi, basitliği ve bitki özlerinin doğal özellikleri nedeniyle avantajlıdır. Örneğin, bitkilerde bulunan biyolojik olarak aktif bileşikler, sentez işlemi sırasında hem indirgeyici hem de stabilize edici maddeler olarak işlev görür ve bu da elde edilen nanopartiküllerin stabilitesini ve verimliliğini artırır (Hembram vd., 2018). Genellikle bitki özlerinde fenoller, flavonoidler ve terpenoidler bulunurken, polisakkaritler ve glikozitler de nanopartiküllerin sentezinde rol oynamaktadır (Nasrollahzadeh vd., 2019). Bitki özütleri kullanılarak metal nanopartiküllerin sentezinde birden fazla adımdan oluşan genel bir protokol kullanılmaktadır. Bitki ekstraktı ilk olarak bir su ekstraktı üretmek için kaynatılır ve berrak ekstrakt elde etmek için filtrelemeye tabi tutulur. Bundan sonra, sulu ekstrakt bir metal tuzu çözeltisi ile karıştırılır ve inkübasyona bırakılır. Çözeltideki renk değişimi nanopartiküllerin oluşumunu doğrulama aracı olarak kullanılır (Kazemi vd., 2023).



Şekil 2. 3. Metal nanopartiküllerin fito-sentez mekanizması (Paiva-Santos vd., 2021)

Bitki ekstraktlarında bulunan biyo bileşikler, metalik nanopartiküllerin sentezinde önemli rol oynamaktadır. Bu bileşikler, sentezlenen nanopartiküllerin boyutunda ve boyut dağılımlarında etkinliğini göstermektedir. Güçlü indirgeyici özelliklere sahip bitki ekstraktları, reaksiyon hızını artırarak daha küçük nanoparçacıkların oluşumunu sağlamaktadır (Erci vd., 2018). Biyomoleküller, metal tuzlarının indirgenmesinde etkin bir rol üstlenerek sürekli olarak ikincil ve yeni çekirdeklerin oluşumuna katkıda bulunmaktadır ve bu sayede dar boyutlu bir dağılım elde edilebilmektedir. Ayrıca, biyomoleküller oluşan nanoparçacıkları kaplayarak kaplama ajanı olarak da işlev görmektedir. Bu kaplama ajanları, nanopartiküllerin antimikrobiyal etkilerinin artırılmasını desteklemekle kalmaz aynı zamanda toksik etkilerinin azalması ve nanopartiküllerin agregasyonunun önlenmesi gibi birçok önemli işlevde yer almaktadır (Roy vd., 2019).

Nanopartikül sentezini etkileyen faktörler, kimyasal ve fiziksel parametrelerin yanı sıra metal iyon konsantrasyonu, reaksiyon sıcaklığı, karışımın pH değeri ve reaksiyon süresini de içermektedir. Bu etkenler, metal nanopartiküllerin şekil, büyüklük ve morfolojisi üzerinde önemli bir etki yaratmaktadır (Srikar vd., 2016). Bitki ekstraktında bulunan organik kimyasallar ve metal iyonlarının indirgenmesinden sorumlu bileşenler, kullanılan bitki ekstraktına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Vijayaraghavan & Ashokkumar, 2017).

Gümüş nanopartikül sentezi ile ilgili yapılan bir çalışma da yonca bitki özütleri kullanılarak gümüş nanopartikül sentezlenmiştir (Gardea-Torresdey vd., 2003). Bir başka çalışmada ise *Argemone mexicana* yaprak özütü kullanılarak ortalama 30 nm boyutunda gümüş nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirildiği bildirilmiştir (Singh vd., 2010).

Bakır nanopartikül sentezi ile ilgili çalışmalardan birinde Yallappa vd., (2013) *Terminalia arjuna* kabukları kullanılarak ortalama 23nm boyutunda bakır nanopartiküller elde edilmiştir (Yallappa vd., 2013). Saranyaadevi vd., (2014) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise, *Capparis zeylanica* bitki özütü kullanılarak ortalama boyutları 50-100 nm arasında değişim gösteren, kübik bir yapıya sahip olduğu saptanan bakır nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiştir (Saranyaadevi vd., 2014). Gopinath vd., (2014) tarafından yapılan bir çalışma da *Nerium oleander* bitki özütünü kullanılarak sentezlenen bakır nanopartiküllerinin antibakteriyel aktiviteleri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* ve *Bacillus subtilis* suşları kullanılarak test

edilmiştir. Elde edilen CuNP'lerin etkili antibakteriyel ajanlar olarak işlev gösterdiği tespit edilmiştir (Gopinath vd., 2014).

Ocimum basilicum bitki ekstraktı kullanılarak bazı nanopartiküllerin sentezi literatürde bulunmaktadır. More vd., (2022) tarafından yapılan bir çalışma da *Ocimum basilicum* bitki özütü kullanılarak tek başına veya kombinasyon halinde gümüş ve platin kullanarak bimetalik nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiş olup bu nano partiküllerin bakteri suşlarına karşı etkili bir antibakteriyel aktivite sergilediği belirlenmiştir (More vd., 2022) Yapılan bir başka çalışmada ise, *Ocimum basilicum* bitki özütü kullanarak bakır nanopartikül sentezi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen nanopartiküllerin stabil bir yapıya sahip olmasının yanı sıra hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı etkili antibakteriyel özellikler sergilediği belirlenmiştir (Altikatoglu vd., 2017). Ayrıca, Salam vd., (2014) tarafından yapılan bir başka çalışma da *Ocimum basilicum* bitki özütü kullanılarak çinko oksit nanopartikül sentezi gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu çalışma ile elde edilen nanopartiküllerin ortalama partikül boyut çapının 50 nm ve hegzagonal (wurtzite) şekilli olduğu tespit edilmiş olup bitkinin olağan faydalarının yanı sıra bir başka kullanımının daha gün ışığına çıkarıldığı belirtilmiştir (Abdul Salam vd., 2014).

2.4. Gümüş ve Bakır Nanopartiküllerin Kullanım Alanları

Gümüş nanopartiküller, güçlü antimikrobiyal özellikleri nedeniyle uzun yıllardır kullanılmaktadır. Zararlı mikroorganizmaların yoğun olarak bulunduğu ortamlarda, toksik etkileri olmaması sebebiyle, yüzey kaplama uygulamalarıyla pek çok alanda değerlendirilmektedir. Antimikrobiyal özellikleri dolayısıyla sağlık alanında da yaygın bir kullanım imkânı bulan gümüş nanopartiküller aynı zamanda protezler, damar greftleri ve diş malzemeleri gibi ürünlerin üretiminde bakteri üremesinin azaltılması amacıyla kullanılmaktadır (Jain vd., 2019). Gümüş nanopartiküller aynı zamanda eczacılık, gıda, çevre, tekstil, optik, tıp, elektrik ve elektronik gibi birçok sektörde de kullanımı ile öne çıkmaktadır (He vd., 2018).

Yeşil sentez yöntemleriyle üretilen nanoparçacıkların birçok farklı kullanım alanı bulunmaktadır. Bu kullanım alanları Tablo 2.1'de detaylı bir şekilde sunulmuştur (Shamaila vd., 2016).

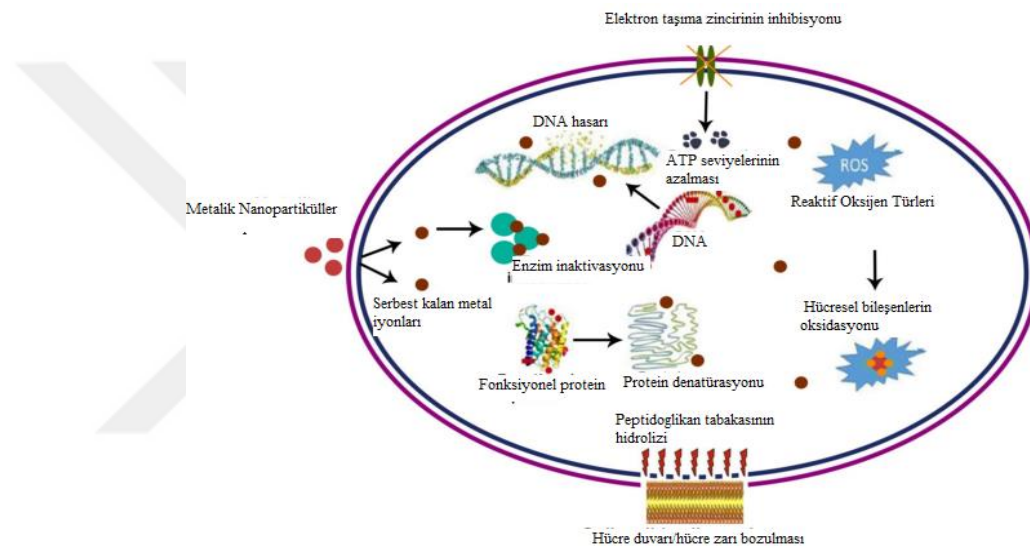
Tablo 2. 1. Yeşil sentez yöntem ile sentezlenen nanopartiküllerin kullanım alanları

	<p>Sağlık</p> <p>Erken tanı, ilaç dağılımı ve görüntüleme gibi sağlık alanlarında kullanılır.</p>
	<p>Kozmetik</p> <p>Antimikrobiyal ürünlerin üretiminde yer alır.</p>
	<p>Günlük malzemeler</p> <p>Buğu önleyici bardak, çizilmez kaplamalar ve yansıma önleyici malzemeler gibi günlük hayatta kullanılan ürünlerin üretiminde yer alır.</p>
	<p>Gıda endüstrisi</p> <p>Gıda sektöründe geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bu alanlardan bazıları gıda paketleme, uzun süre taze gıda depolamadır.</p>
	<p>Elektronik</p> <p>Kullanışlı birçok cihazın depolama kapasitesinin artırılmasını gibi alanlarda kullanılır.</p>
	<p>Çevre</p> <p>Çevre kirliliğinin önlenmesinde yer alan birçok alanda kullanımı söz konusudur. Özellikle arıtma ve sensörlerin yapılışında kullanılır.</p>
	<p>Enerji</p> <p>Çevre dostu otomobillerin, güneş pillerinin ve şarj edilebilir bataryaların üretiminde yer alır.</p>

İçme sularının kirliliği, çevre ve insan sağlığı açısından en büyük tehditlerden biridir. Bu suların dezenfekte edilmesi için çeşitli antimikrobiyal maddeler kullanılmaktadır. Ancak zamanla bu maddelere karşı direnç gelişmektedir. Buna karşın, bakır nanopartiküller mikroplar tarafından direnç kazanılmadan kullanılabilmekte ve bu nedenle atık su arıtımında son yıllarda tercih edilmektedir (Din & Rehan, 2017). Polimerler, karbonlar ve sepiolitler üzerinde sabitlenen bakır nanopartiküller, güçlü bir antimikrobiyal etki sağlamakta ve sağlık alanının yanı sıra biyosensörler, süper güçlü malzemeler ve katalizörler gibi birçok alanda da kullanılmaktadır (Gunalan vd., 2012; Palza, 2015).

2.5. Gümüş ve Bakır Nanopartiküllerinin Antimikrobiyal Özellikleri

Metalik nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olmaları onları diğer nanopartiküllerden ayıran en önemli özelliktir. Metal nanopartiküllerin (NP) tıptaki kullanımı, potansiyel antimikrobiyal mekanizmaları nedeniyle pek çok araştırmaya konu olmuştur. Bu nanopartiküller, zararlı bakterileri yok etmenin yanı sıra biyofilm yapısına müdahale ederek gen ifadesine dayalı biyofilm oluşumunu engelleyebilir ve bakterilerin metabolik aktivitesini değiştirme gibi birçok avantajı da beraberinde sunabilir (Chatzimitakos & Stalikas, 2016). Şekil 2.7’de metalik NP’lerin antimikrobiyal aktivite mekanizmaları gösterilmiştir.



Şekil 2. 4. Metalik NP’lerin antimikrobiyal aktivite mekanizmaları (Tijani vd., 2024)

Gümüş nanopartiküller, sahip olduğu özellikleri nedeniyle birçok araştırmaya konu olmuş metallere biridir. Biyolojik sistemlerde ve tıpta yaygın bir kullanım alanına sahip olan gümüş, özellikle antifungal, antioksidan ve antibakteriyel özellikleri nedeniyle tercih edilmektedir. Gümüşün birçok avantajı bulunmaktadır; yüksek termal özellikleri, mükemmel elektriksel iletkenliği, bakterilerin gümüş nanopartiküllere karşı neredeyse hiç direnç göstermemesi, geniş spektrumlu bir antimikrobiyal ajan olmasının yanı sıra düşük konsantrasyonlarda toksik olmaması bu avantajlar arasında yer almaktadır (Paiva-Santos vd., 2021).

Gümüş nanopartiküllerin (AgNP) antibakteriyel ajanlar olarak kullanımı ise uzun bir geçmişe sahiptir. Gümüş iyonları, bakterilerin en zayıf noktalarını hedef alarak onları etkisiz hale getirir. Bu hedef, bakterilerin enerji üretiminde kritik rol oynayan glikoliz

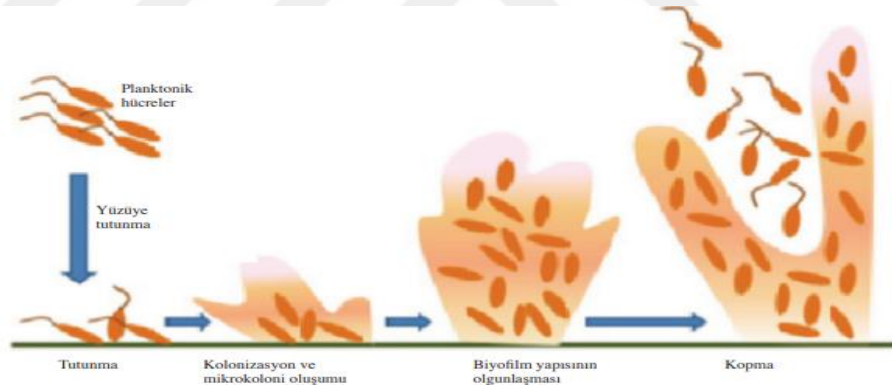
aşamasıdır. Gümüş iyonları, önemli enzimleri inhibe ederek bakterilerin enerji üretme yeteneklerini ortadan kaldırır (Wang vd., 2021). Bakteriler, en büyük avantajları olan koruyucu hücre duvarları sayesinde savunma mekanizmalarına sahiptir. Bu duvarlar, peptidoglikan adlı molekülden oluşmaktadır. Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler arasında yapısal farklılıklar bulunmaktadır. Gram negatif bakterilerin sahip olduğu lipopolisakaritler, negatif yük taşıyan moleküllerdir. Bakterilerin nanopartiküllere olan duyarlılığı, bu negatif yüklü moleküller ile nanopartiküllerin serbest bıraktığı pozitif iyonlar arasındaki etkileşimden kaynaklanmaktadır. Gümüş iyonları, hücre zarındaki negatif yüklü moleküllere doğru çekilir ve böylece hücre içine girerek hasara neden olurlar. Reaktif oksijen türleri (ROS), hücrelerdeki metabolik süreçler sırasında üretilen önemli bileşiklerdir. Ag iyonları hücredeki moleküllerle reaksiyona girerek serbest radikallerin oluşumuna yol açar. Oluşan serbest radikaller, DNA ve proteinlere zarar vererek hücrenin ölümüne neden olabilir (Slavin vd., 2017). Gümüş nanopartiküller bu özellikleri sayesinde, hücre içine girerek mikroorganizmaların veya bakterilerin DNA'sını inhibe edebilmekte ve üremelerini engelleyebilmektedir (Salleh vd., 2020). Ag iyonlarının sitoplazmaya geçebilmesi için, fosfat içeren moleküllerin DNA ile etkileşime girerek hücre zarına zarar vermesi gerekmektedir. Bu durum, DNA replikasyonunun bozulmasına ve ATP inhibisyonuna yol açabilir (Dos Santos vd., 2014; Durán vd., 2016). Antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antimikrobik özelliklere sahip olan gümüş nanopartiküller, bu niteliklerinden dolayı çeşitli sağlık uygulamalarında kullanılmaktadırlar (S. S. D. Kumar vd., 2018).

Bakır nanopartiküller, diğer metalik nanopartiküllere kıyasla daha düşük maliyetleri, kolay erişilebilirlikleri ve sundukları çeşitli özellikleri sayesinde birçok alanda dikkat çekmektedir. Bu nanopartiküllerin özelliklerinden birisi olan antimikrobiyal etkisinin temel nedeni, nanopartiküllerden salınan bakır iyonları ile ilişkilidir. Bu partiküllerin antimikrobiyal etkinliği, boyutlarının küçüklüğü, geniş yüzey alanı ve mikroorganizmaların zarlarıyla olan yakın etkileşimleri sayesinde artmaktadır (Mott vd., 2007).

Bakır nanopartiküller, hücrelere çoklu yollarla etki ederek hücre ölümüne neden olabilmektedir. Bu da bakterilerin nanopartiküllere karşı direnç geliştirmesini zorlaştırmaktadır (Habibah vd., 2024). Tong vd., (2005) yaptığı bir çalışmada, bakır nanopartiküllerin konsantrasyonunun artmasıyla bakterilerin büyümesinde gecikme meydana geldiğini, yüksek konsantrasyon uygulamalarında ise bakteriyel ölümün gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Aynı çalışma da *E. coli* ile etkileşime giren Cu

nanopartiküllerinin hücre yapısını bozarak hücre şekillerinin çubuk yapısından farklılaşmasına ve nanopartiküllerin hücre duvarının zarar görmesine neden olduğunu bildirmişlerdir (Tong vd., 2005). Lok vd., (2006) yaptıkları çalışmada, hücre zarındaki proteinlerin üzerinde biriken nanopartiküllerin, hücre duvarına zarar vererek hücre membranını etkilediği ve ATP seviyelerinin düşmesine neden olduğunu öne sürmüştür (Lok vd., 2006). Raffi vd., (2010) yaptıkları bir çalışmada bakır nanopartiküllerinin antibakteriyel aktivite özelliklerinin yüksek yüzey alanına sahip olmalarından kaynaklandığını belirtmişlerdir (Raffi vd., 2010).

Bakteriler, doğal ortamlarda sıklıkla biyofilm adı verilen yapılar içinde yaşarlar. Bu biyofilmler, bakterilerin organik veya inorganik yüzeylere yapışarak oluşturdukları mikrobiyal topluluklardır. Kendilerini korumak amacıyla bir araya gelen bakteriler, yüzeylere tutunarak, kendi ürettikleri ekstraselüler matriks adlı koruyucu tabakasıyla kaplanırlar. Biyofilm oluşumu, 100 yılı aşkın bir süredir bilinse de bu yapının antibiyotiklere karşı direnç kazanma ve enfeksiyon oluşumundaki önemli rolü ancak son yıllarda tam anlamıyla anlaşılmıştır (Hall-Stoodley vd., 2004).



Şekil 2. 5. Biyofilm oluşum aşamaları (Gupta vd., 2016)

Şekil 2.5'te biyofilm oluşum aşamaları görünmektedir. Biyofilm aşamalarında tutunma ve koloni oluşturma aşaması arasındaki dönem, bakterilerin en savunmasız olduğu dönemdir. Bu süre zarfında bakteriler planktonik hücrelere benzerlik gösterir ve antibiyotiklere karşı daha duyarlıdırlar. Metallerin biyofilm üzerindeki etkisi, toksisite yaratabilmesi ve protein işlevlerini bozabilmesi gibi biyofilm inhibisyonuna neden olabilmektedir (Harrison vd., 2007).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Buzdolabı (Regal), ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (Heidolph), hassas terazi (Mettler Toledo), santrifüj (Nüve), su banyosu (Memmert), inkübatör (Wisecube), Gümüş nitrat ve Copper(II) sulfat pentahydrate, Nutrient agar, Nutrient broth (Merck).

3.2. Fesleğen (*O. basilicum*) Ekstraktının Hazırlanması

Kullanılan fesleğen, yerel bir aktardan temin edilmiştir. Bitki materyalleri öncelikle ultra saf su ile dikkatlice yıkanmıştır. Ardından, karanlık ve serin bir ortamda kurutulmuş ve bir değirmen yardımıyla ince bir toz haline getirilmiştir. Bu işlem sonrasında elde edilen tozun 10 gramı, 200 mL deiyonize su içinde sürekli karıştırılarak 60 °C'de 2 saat boyunca ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen özüt, filtre edildikten sonra 4 °C'de karanlık bir ortamda saklanmıştır. Filtrelenmiş özütün düşük sıcaklıkta ve karanlık bir ortamda muhafaza edilmesi, özütün bozulmasını önleyerek araştırma amaçlı kullanıma hazır kalmasını sağlamaktadır.

3.3. Ag Nanopartiküllerin Sentezi

AgNP'lerin sentezi için, önceden hazırlanan 100 mL'lik 5 mM AgNO₃ çözeltisine 2 mL *O. basilicum* bitki ekstraktı eklendi ve uygun bir cam şişede karıştırılarak 70 °C'de reaksiyona bırakıldı. Belirli aralıklarla UV-Vis spektrofotometre ile ölçümler yapıldı. Ag iyonlarının indirgenmesi sonucunda, başlangıçtaki açık sarı renkli çözeltinin, kırmızı kahverengi bir tona dönüştüğü gözlemlendi. Tüm bu işlemlerin ardından, reaksiyon karışımı santrifüj ve yıkama işlemlerine tabi tutuldu. Elde edilen kırmızı kahverengi sıvıyı ayırtmak için, karışım 9000 devir/dakika hızla 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Sonrasında, elde edilen katı malzeme deiyonize su ve etanol ile birkaç kez iyice yıkandı ve ardından 120 °C'de 12 saat kurutulmaya bırakıldı.



Şekil 3. 1. Gümüş nanopartikül sentezindeki renk değişimleri

3.4. Cu Nanopartiküllerin Sentezi

Bakır nanopartiküllerin sentezi için öncelikle 20 mM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi hazırlandı. Elde edilen *O. basilicum* L. bitki ekstraktından 2 mL, 100 mL'lik bakır çözeltisine eklendi ve karışım 70 °C'de inkübasyona alındı. Sentez sürecinde, sıcaklık değişimi, pH ve ekstrakt yoğunluğu gibi çeşitli parametreler göz önünde bulundurularak nanopartikül sentezine dair optimizasyon çalışmaları gerçekleştirildi. Bu süreçte belli aralıklarla UV-Vis spektrofotometre ölçümleri yapıldı ve Cu iyonlarının indirgenmesiyle birlikte, başlangıçta yeşil olan çözeltinin renginin koyu yeşil siyah bir renge dönüştüğü gözlemlendi. Tüm işlemlerin ardından, reaksiyon karışımı santrifüj ve yıkama işlemine tabi tutuldu. Elde edilen koyu yeşil siyah renkli çözelti, 9000 devir/dakika hızla 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Sonrasında, elde edilen katı malzeme, deiyonize su ve etanol ile birkaç kez iyice yıkandı ve ardından 120 °C'de 12 saat boyunca kurutulmaya bırakıldı.



Şekil 3. 2. Bakır nanopartikül sentezindeki renk değişimleri

3.5. Ag-Cu Bimetalik Nanopartiküllerin Sentezi

Önceden hazırlanan 20 mM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ sulu çözeltisinden 50 mL ve 5 mM AgNO_3 çözeltisinden 50 mL alındı. Bu karışıma 2 mL *O. basilicum* L. bitki ekstraktı eklenerek uygun bir cam şişede karıştırıldı ve 70 °C'de inkübasyona bırakıldı. Ag-Cu bimetalik nanopartikül iyonlarının indirgenmesi sonucu renk değişimi gözlemlendi. Tüm bu işlemler sonrasında reaksiyon, santrifüjleme ve yıkama aşamalarına tabi tutuldu. Elde edilen koyu reaksiyon çökeltisi, 9000 dev/dakika hızında 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Ardından, toplanan katı malzeme deiyonize su ve etanol ile birkaç kez iyice yıkandı ve son olarak 120 °C'de 12 saat kurutulmaya bırakıldı.



Şekil 3. 3. Ag-Cu bimetalik nanopartiküller sentez sonrası rengi

3.6. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Gümüş nanopartiküllerin (AgNPs) absorbanı, 200-800 nm dalga boyu spektrumunda bir kuvars küvet ile çözünürlüğü 1 nm'ye ayarlanmış bir Cary 60 UV-vis spektrofotometre (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD) kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler daha sonra Origin 8.5 yazılımı (OriginLab, Northampton, MA, ABD) kullanılarak analiz edilmiş ve görselleştirilmiştir. Sentezlenen NP'lerin kristal yapısı, $\text{CuK}\alpha$ radyasyonu ($k = 1,54 \text{ \AA}$) kullanan ve 0,02°'lik bir adım boyutuyla 10° ila 80°'lik 2 θ aralığında ölçülen bir PANalytical EMPYREAN sistemi (PANalytical Empyrean, İngiltere) kullanılarak X-ışını kırınımı (XRD) yoluyla belirlenmiştir. Ayrıca, nanopartiküllerin sentezinde yer alan fonksiyonel grupların karakterizasyonunda 400-4000 cm^{-1} spektral aralığında bir Nicolet 380 FTIR-ATR cihazı (Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD) aracılığı ile Fourier dönüşümlü kızılötesi

spektroskopisi (FTIR) kullanılmıştır. AgNP'lerin kimyasal bileşimi ve morfolojik özellikleri, bir alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (ZEISS Gemini SEM 500, Almanya) ile enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.7. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Antimikrobiyal aktivitenin agar kuyu difüzyon metodu ile belirlenmesinde *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* kültürleri liyofilize halde temin edilerek kullanıldı. Hazırlanan Nutrient Agar (BD Difco™) besiyerinde mikroorganizmalar canlandırıldı. Test edilecek izolatların süspansiyon bulanıklığı McFarland 0.5 standardına eşdeğer bulanıklıkta olacak şekilde ayarlandı. Sıvı kültür çalkalanarak homojenize edildikten sonra yaklaşık 100 µL süspansiyon petri plağının tüm yüzeyini ıslatacak kadar dökülüp Drigalski Spatülü yardımı ile yayıldı. Antibakteriyel aktivitenin değerlendirilmesi için besiyeri üzerinde delikler açılarak içerlerine 100µL sırasıyla AgNP, CuNP, Ag-Cu NP'ler eklendi. Bakteri izolatları 37°C de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra her örnek için oluşan inhibisyon zonları ölçüldü. Bu denemeler her örnek ve izolat için üç tekrarlı olacak biçimde yapıldı.

Nanopartiküllerin minimum inhibisyon konsantrasyon değerlerinin saptanmasında mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Bu test için steril 96 kuyucuklu mikropalakalar kullanıldı. %100'lük başlangıç konsantrasyonlu nanopartiküllerin 10 kata kadar dilüsyonları hazırlandıktan sonra bu örnekler 100 µL'lik (0.5 McFarland, yaklaşık 1.5×10^8 koloni oluşturan bitim (KOB)/mL) konsantrasyonuna sahip test edilecek mikroorganizmaların bulunduğu kuyucuklara eklendi. Daha sonra, mikropalakalar bakteri izolatları için 37 °C ve fungal izolat için ise 28 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra bulanıklık spektrofotometrik olarak 600 nm dalga boyunda ölçülerek bakteriyel ya da fungal gelişme için MİK değeri tespit edildi. Ölçüm sonucu "minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK)" değeri olarak belirlendi. Deney her bir konsantrasyon ve bakteri için üç tekrarlı olarak yapıldı.

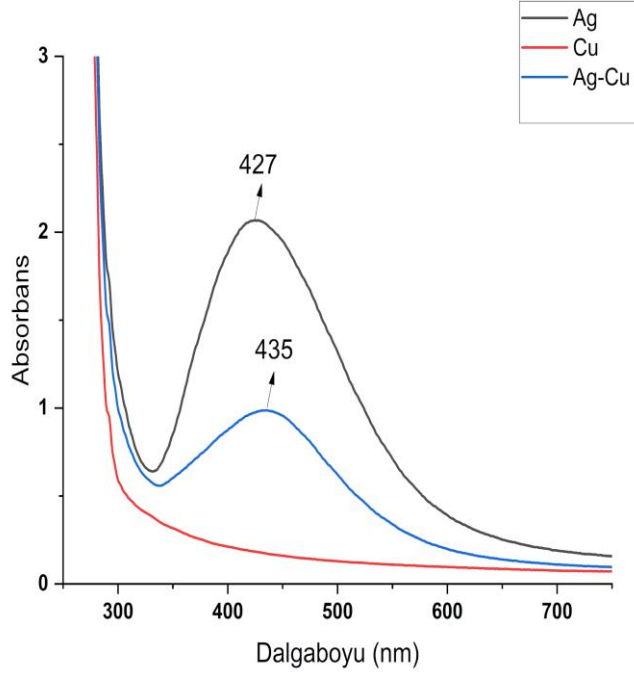
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Nanopartiküllerin Sentezi

Cam şişede hazırlanan sulu gümüş nitrat çözeltisinin üzerine farklı oranlarda bitki ekstraktları eklendi. Farklı süreler de elde edilen çözeltinin renginde sarıdan kırmızı kahverengine dönüşüm gözlemlendi. Bu değişim gümüş nanopartiküllerin oluştuğunun göstergesi olarak kabul edildi. Ortalama 30 dakika içerisinde gümüş nanopartikül sentezinin tamamlandığı tespit edilerek sentez sonlandırıldı. Bakır nanopartiküllerin sentezinde sulu bakır ve bitkiden oluşan karışım 70°C de 30 dakika bekletildi. Karışımın renginin yeşilden koyu yeşil siyah renge dönüştüğü ve bu renk değişimi ile nanopartiküllerin oluşumunu doğruladı. Ag-Cu bimetallik nanopartiküllerin sentezinde belirli molar konsantrasyonunda hazırlanan bakır ve gümüş çözeltilerinin üzerine belirli miktarlarda bitki ekstraktı eklenerek 70 °C'de 30 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı. Renk değişimi ile Ag-Cu bimetallik nanopartiküllerin oluşumu tespit edildi.

4.2. Gümüş, Bakır ve Ag-Cu Bimetallik Nanopartiküllerin UV-Vis Spekturumları

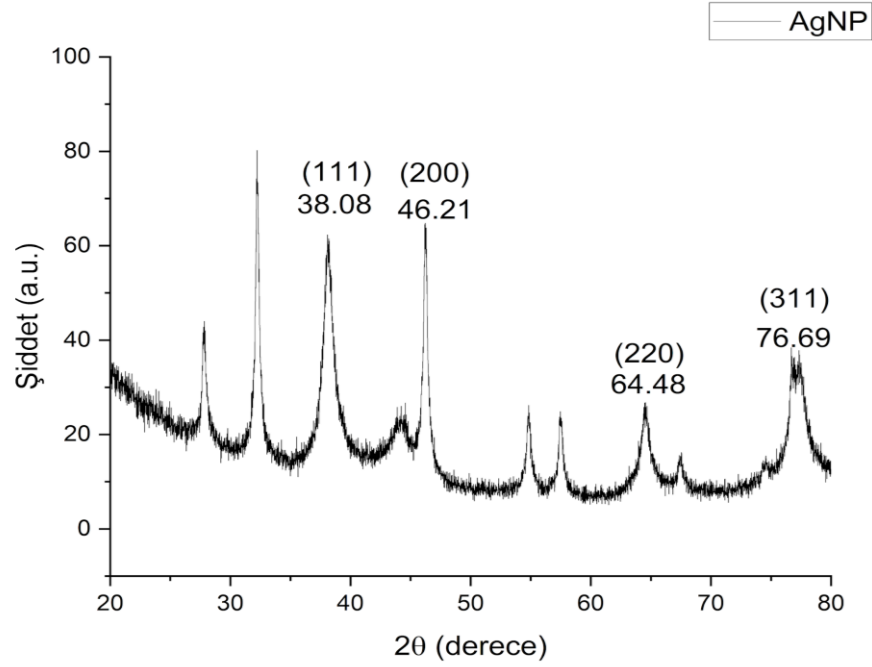
UV-vis spektroskopisi, 400 ve 450 nm arasında AgNP'lerin yüzey plazmon rezonansının oluşumunu doğrulamak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Anandalakshmi vd., 2016). Bu çalışma da *O. basilicum* bitki ekstraktı kullanılarak Ag, Cu, Ag-Cu nanopartiküllerinin sentezi gerçekleştirildi. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin UV-Vis analizi Şekil 4.1'de gösterilmektedir. 427 nm dalga boyunda belirgin bir pik absorbans gözlemlenmiştir. Buna karşın, bakır nanopartiküllerinin herhangi bir absorbans pikine sahip olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca, Ag-Cu nanopartiküllerinin ise 435 nm'de bir pik gösterdiği belirlenmiştir. Ag-Cu nanopartiküllerinin 435 nm'de pik göstermesi, bu iki metalin birleşiminin optik özelliklerini değiştirdiğini ve yeni özellikler kazandırdığını ortaya koymaktadır.



Şekil 4. 1. Sentezlenen nanopartiküllerin UV-Vis analizi

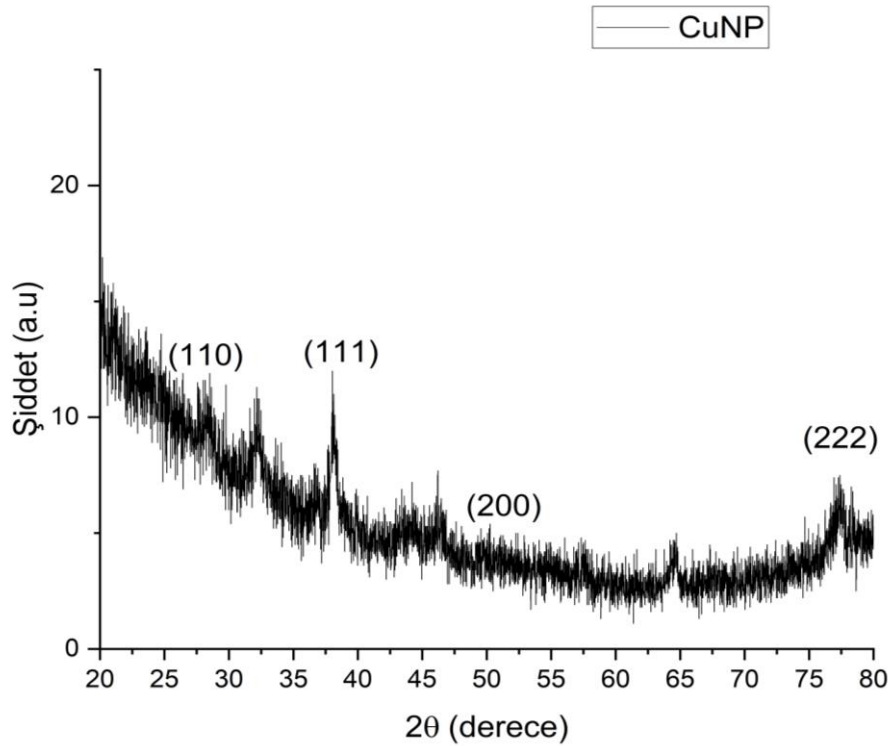
4.3. Gümüş ve Bakır Nanopartiküllerin FTIR Analizleri ve Ag, Cu ve Ag-Cu Bimetalik Nanopartiküllerin XRD Analizleri ile karakterizasyonu

X-ışını kırınımı (XRD) yöntemi, fesleğen bitkisi ekstraktından sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (AgNPs) kristal yapısını belirlemek ve analiz etmek amacıyla kullanılmıştır. Analiz sonuçları, nanopartiküllerin farklı kristal fazlar sergilediğini göstermektedir. Özellikle, sentezlenen gümüş nanopartiküllerin 38.8° 'de (111), 46.21° 'de (200), 64.48° 'de (220) ve 76.69° 'de (311) belirli kristal yapılar sergilediği gözlemlenmiştir (Şekil 4.2.). Bu bulgular, gümüş nanopartiküllerin yüzey merkezli kübik bir düzenlemeye sahip olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 4. 2. Gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüleri

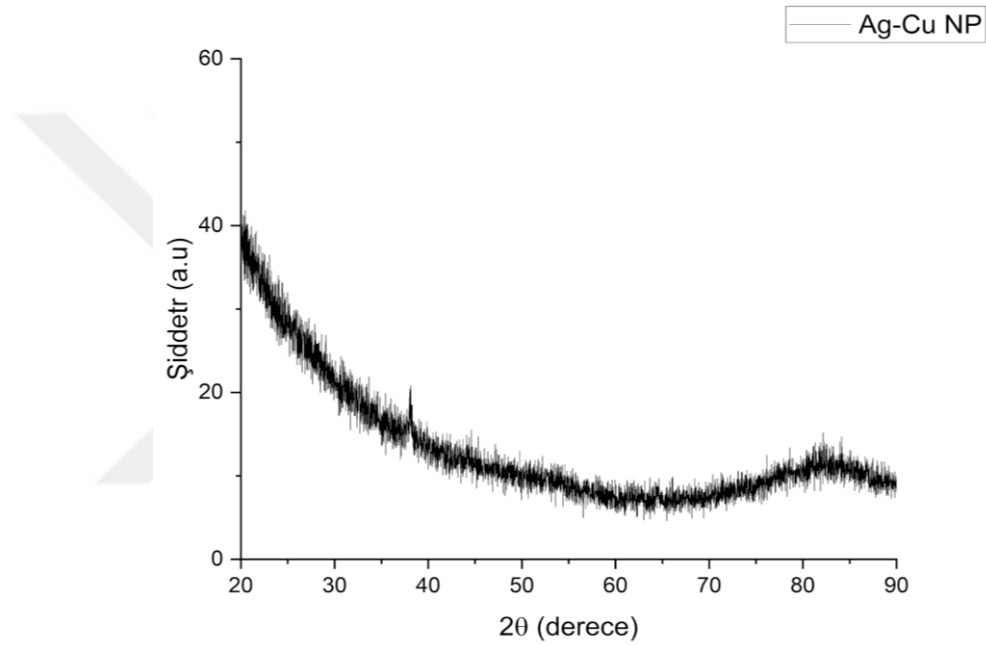
Sentezlenen bakır nanopartiküller kristal yapılarını incelemek için XRD kullanılmıştır. Nanopartiküllerin kristal yapısını gösteren keskin tepe noktaları Cu NP'lerin XRD analizinde varlığını tespit etmiştir (Şekil 4.3.).



Şekil 4. 3. Bakır nanopartiküllerin XRD görüntüsü

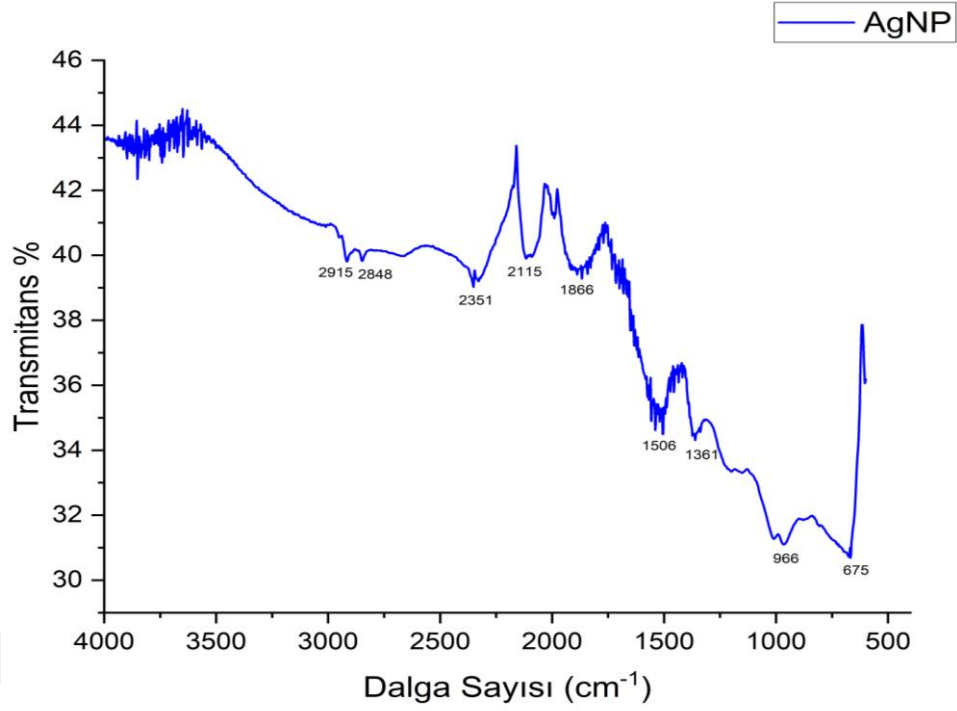
Yaklaşık 44.19° ve 50.18° 'lik 2θ değerlerindeki belirgin pikler bakırın fcc yapısının (111) ve (200) Bragg yansımalarını temsil etmektedir. 28.50° , 38.12° ve 76.94° 2θ pozisyonlarındaki pikler Cu_2O 'nun (110), (111) ve (222) yansımalarına karşılık gelmektedir (Rozra vd., 2012).

Ag-Cu nanopartikülleri belli parametreler eşliğinde *O. basilicum* ekstraktı kullanılarak sentezlemiştir. Nanopartiküllerin kimyasal ve kristal yapısının tayini için XRD analiz yöntemi kullanılmıştır ve elde edilen sonuçlara göre bimetalik nanoapartiküllerde gümüş kristal tepe noktalarının şiddetinin azaldığı görülmektedir (Şekil 4.4.)



Şekil 4. 4. Ag-Cu nanopartiküllerin XRD görüntüsü

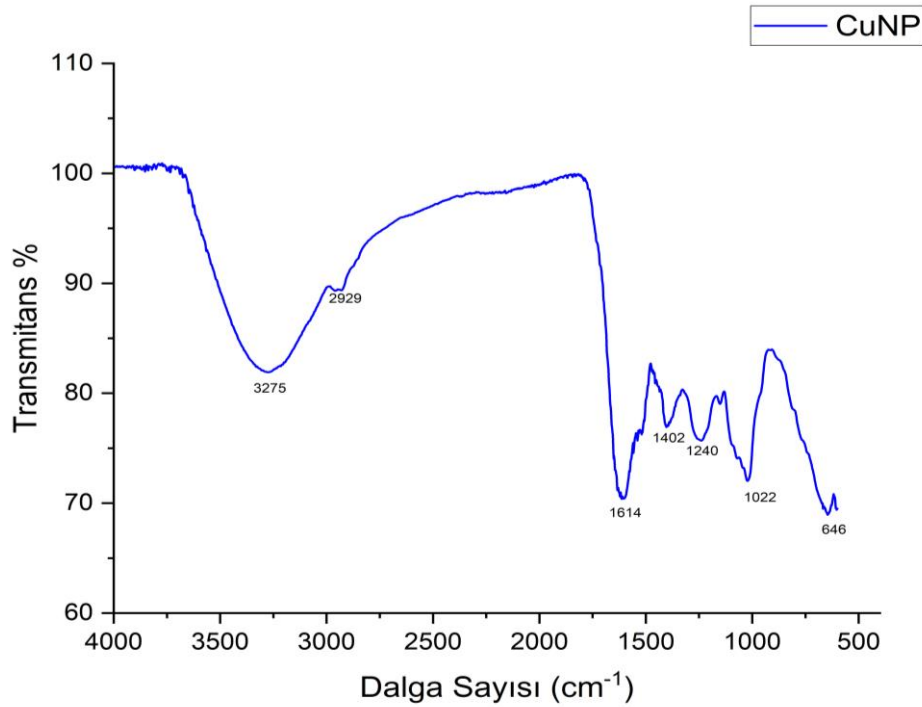
FTIR analizi, sentezlenen nanopartiküllerin oluşumunda etkili olan fonksiyonel grupların tespitine yönelik gerçekleştirildi. Bu gruplar, nanopartiküllerin oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Spektrumdaki her bir tepe, belirli bir özelliği temsil etmektedir. Gümüş nanopartiküllerin FTIR spektrumu 2915 , 2848 , 2115 , 1866 , 1506 , 1361 ve 675 cm^{-1} civarında pikler göstermiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4. 5. Gümüş nanopartiküllerin FTIR spektrumları

2915 cm^{-1} ve 2848 cm^{-1} 'de belirgin pikler alkan gruplarından kaynaklanmaktadır (Kharat & Mendhulkar, 2016). 1506 cm^{-1} piki ise N-H bükülme, amid I'e denk gelmektedir (Rani vd., 2020). 1361 cm^{-1} 'deki pik aldehit gruplarının C-H bükülmesine karşılık gelmektedir. 966 cm^{-1} bölgesindeki alanlar, gümüş nanopartikül oluşturmak üzere metale bağlanan alkollerin, karboksilik asitlerin, eterlerin ve esterlerin C-C gerilmesine karşılık gelmektedir (Ramana, 2014).

Bakır nanopartiküllerin FTIR spektrumları Şekil 4.6'da 3275, 2929, 1614, 1402, 1240, 1022, ve 646 cm^{-1} 'de gözlenmiştir (Şekil 4.6).

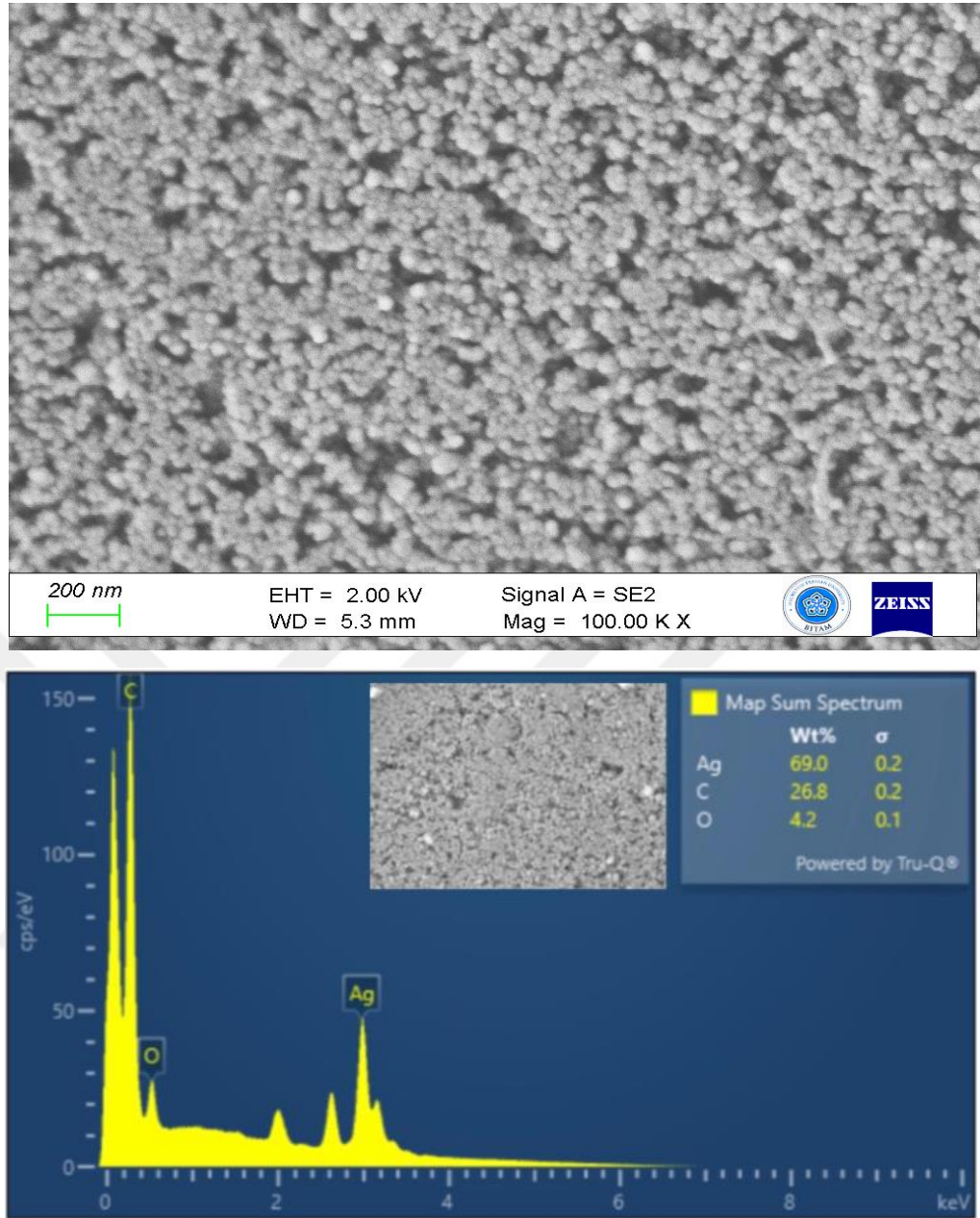


Şekil 4. 6. Bakır nanopartiküllerin FTIR spekturumları

3275 cm^{-1} civarındaki pik, ekstrakttaki fenollere özgü O-H grubunun varlığını göstermektedir. 1614 cm^{-1} 'deki pik, C=O bağı gerilme titreşimi ile ilişkilidir. C=O bağı gerilme titreşimi amidler için tipiktir (Renuga vd., 2020). 1402 cm^{-1} 'deki pikler aminlerin C-N gerilmeme titreşimini temsil etmektedir. 1022 cm^{-1} 'deki bir pik flavonoidlere özgü C-O gerilmeme titreşimleriyle ilişkilidir. 646 cm^{-1} 'deki karakteristik pik Cu-O gerilme titreşimlerinin oluşumunu göstererek bu da bakır oksit nanopartiküllerin oluşumunu doğrulamaktadır. Bu nedenle, FTIR analizinden, sulu ekstrakta bulunan fenoller ve flavonoidler gibi fitokimyasalların bakır nanopartikülleri oluşturmak için metal iyonlarını indirgemekten ve stabilize etmekten sorumlu olduğu belirtilebilir (Nzilu vd., 2023).

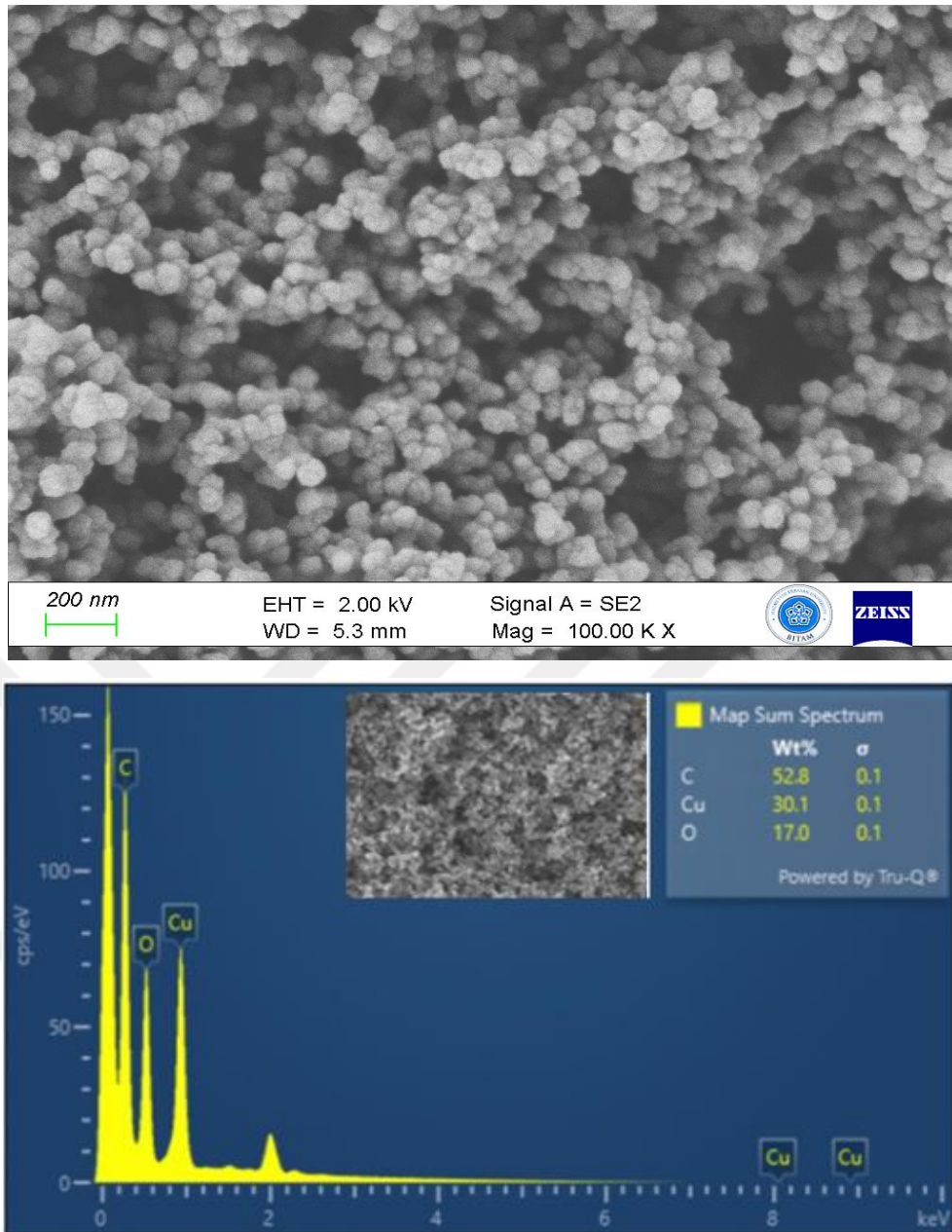
4.4. Gümüş, Bakır ve Ag-Cu Bimetalik Nanopartiküllerin FE-SEM Analizi

FE-SEM, temel bir analiz yöntemidir ve sentezlenen nanopartiküllerin morfolojik özelliklerini ve içindeki elementlerin atom sayıları ile yüzdelerini belirler. Ayrıca, EDX analizinde tespit edilen C, Cl ve O gibi elementlerin varlığı, sıvı numunenin bir parçasını oluşturur. Yeşil sentez yöntemi ile elde edilen gümüş nanopartiküllerin FE-SEM ve EDX görüntüleri Şekil 4.7'de sunulmuştur. Yapılan incelemeler sonucunda nanopartiküllerin küresel bir şekil sergilediği ve homojen bir dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca EDX analizinde gümüşü işaret eden pikler gözlemlenmiştir. Gümüş nanopartiküllerin 25 nm civarında büyüklüğe sahip olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4. 7. Gümüş nanopartiküllerin FE-SEM ve EDX analizleri

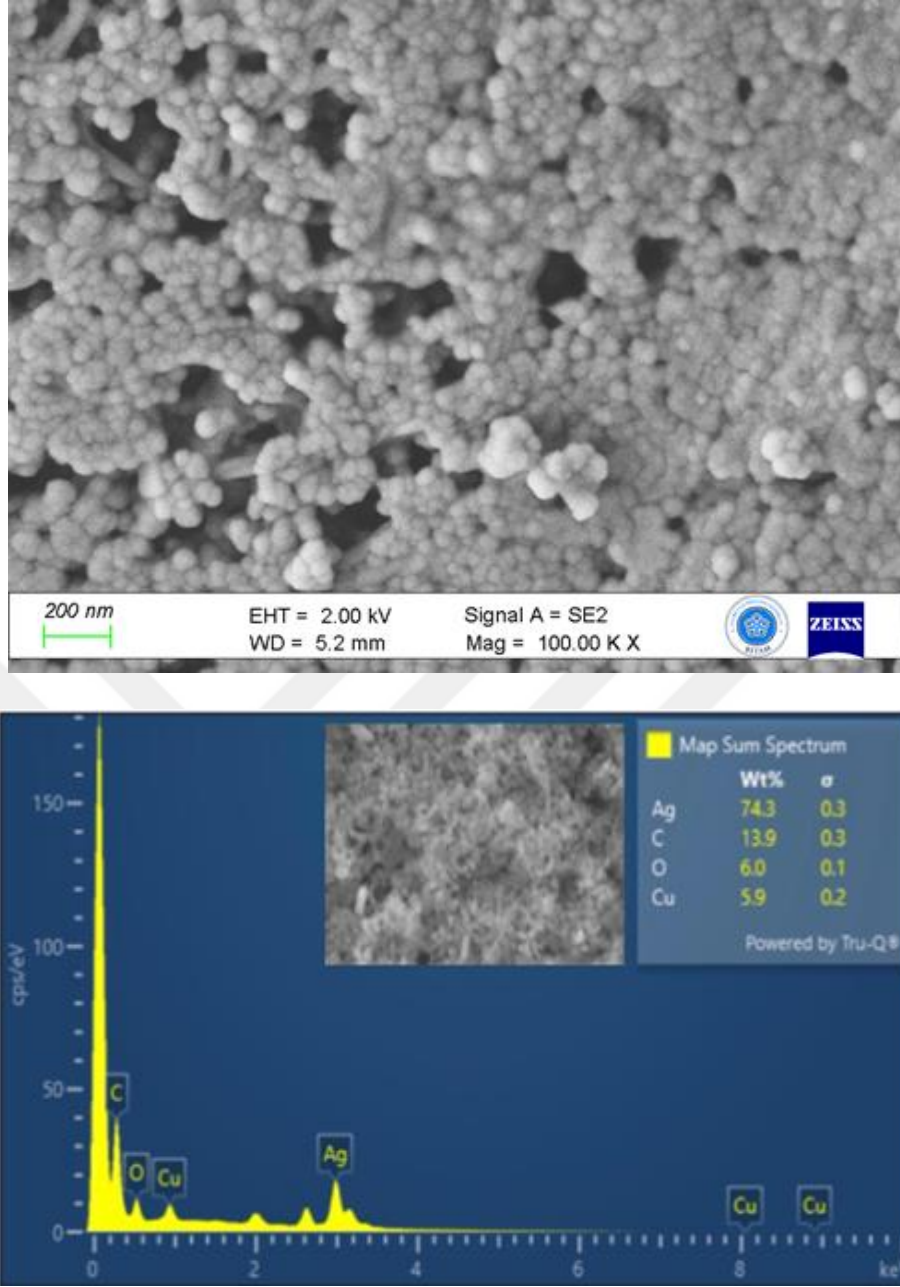
O. basilicum ekstraktından elde edilen bakır nanopartiküllerinin küresel bir forma sahip olduğu ve çaplarının gümüş nanopartiküllerine göre daha büyük olduğu belirlenmiştir. EDX analizlerinde, bakır nanopartiküllerini doğrulayan pikler elde edilmiştir. Cu NP'lerin FE-SEM ve EDX görüntüleri Şekil 4.8'de sunulmuştur.



Şekil 4. 8. Bakır nanopartiküllerin FE-SEM EDX analizleri

Bakır nanopartiküllerin 50 nm civarında bir büyüklüğe sahip olduğu gözlemlenmiştir. EDX analizi ile bakır varlığı doğrulanmıştır.

Belirli molar konsantrasyonlarla elde edilen Ag-Cu nanopartiküllerinin FE-SEM analiz görüntüleri Şekil 4.9'da sunulmuştur. Bu incelemeler, Ag-Cu nanopartiküllerinin homojen bir dağılım sergilediğini ve çaplarının büyüdüğünü ve bimetalik nanopartiküllerin 70-80 nm civarında bir büyüklüğe sahip olduklarını ortaya koymaktadır. EDX analizi ise bimetalik nanopartiküllerin varlığını kanıtlamış ve Ag oranının yüksek olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar bakır nanopartiküllerin etrafında gümüş nanopartiküllerin yerleşimini göstermiştir.



Şekil 4. 9. Ag-Cu bimetalik nanopartiküllerin FE-SEM EDX analizleri

4.5. Sentezlenen Gümüş, Bakır ve Ag-Cu bimetalik Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkinlikleri

Belirli parametrelere dayalı olarak sentezlenen Ag, Cu ve Ag-Cu nanopartiküllerinin 200 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonundaki antibakteriyel etkinliği, agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirildi. *E. coli*'ye karşı nanopartiküllerin antibakteriyel etkinliği Şekil 4.10'da sunulmaktadır. Burada, Ag ve Ag-Cu

nanopartiküllerinde belirgin bir inhibitör zon oluşumu gözlemlenirken, Cu nanopartiküllerinde bu oluşum diğerleriyle karşılaştırıldığında daha az belirgin olmuştur.

S. aureus'a karşı yapılan agar kuyu difüzyon denemeleri de Şekil 4.11'de gösterilmektedir. En üstte bulunan örnekler Ag, ortada bulunan örnekler Cu ve en altta bulunan örnekler Ag-Cu NP'leri temsil etmektedir. Bu deneyde, Ag ve Ag-Cu nanopartikülleri daha güçlü bir antibakteriyel etkinlik sergilerken, Cu NP'lerinde herhangi bir inhibisyon zonu gözlemlenememiştir. *C. albicans*'a karşı yapılan antifungal etkinlik testleri ise Şekil 4.12'de yer almakta ve burada Ag ile Ag-Cu nanopartiküllerinin diğer örneklerle göre daha az etkinlik gösterdiği belirlenirken Cu nanopartiküllerinin ise yine herhangi bir zon oluşumuna neden olmadığı görülmektedir.



Şekil 4. 10. *E. coli*'ye karşı Ag, Cu, Ag-Cu nanopartiküllerin agar kuyu difüzyon sonucu oluşturdukları inhibisyon zon görüntüleri

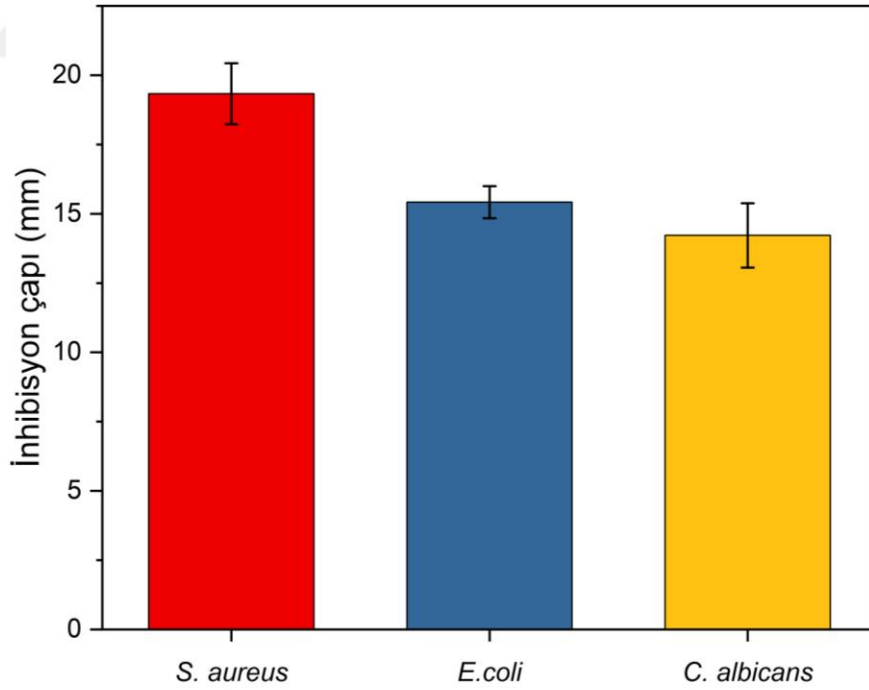


Şekil 4. 11. *S. aureus*'a karşı Ag, Cu ,Ag-Cu nanopartiküllerin agar kuyu difüzyon sonucu oluşturdukları inhibisyon zon görüntüleri

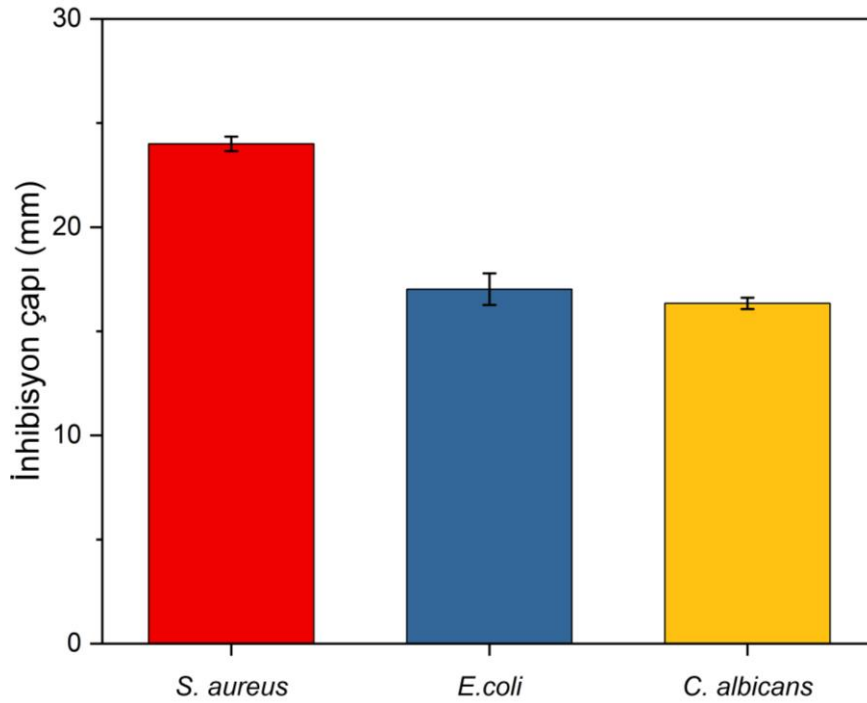


Şekil 4. 12. *C. albicans*'a karşı Ag, Cu ,Ag-Cu nanopartiküllerin agar kuyu difüzyon sonucu oluşturdukları inhibisyon zon görüntüleri

Şekil 4.13 ve 4.14'te Ag monometalik ve Ag-Cu bimetalik nanoapartiküllerin *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans*'a karşı göstermiş oldukları inhibisyon zon ölçümleri mm cinsinden verilmiştir.



Şekil 4. 13. Ag nanopartiküllerin agar kuyu difüzyon sonucu oluşturdukları inhibisyon zon çapları (mm)



Şekil 4. 14. Ag-Cu nanopartiküllerin agar kuyu difüzyon sonucu oluşturdukları inhibisyon zonu çapları (mm)

Elde edilen sonuçlara göre, Ag nanopartiküllerin *S. aureus*'a karşı 19.33±1.1 mm inhibisyon zonu çapı oluşturduğu belirlenmiştir. Ag-Cu bimetallik nanopartiküllerin ise 24±0.35 mm inhibisyon zonu gösterdiği belirlenmiştir. Ag-Cu bimetallik nanopartiküllerin *S. aureus*'a karşı en yüksek inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. *E. coli* için ise Ag nanopartiküller 15.42±0.58 mm inhibisyon zonu çapı oluştururken Ag-Cu bimetallik nanopartiküller 17.02±0.76 mm zonu çapı oluşturmuştur. Benzer sonuçlar *C. albicans* içinde gözlemlenmiştir. Ag nanopartiküller ve Ag-Cu bimetallik nanopartiküller *C. albicans* için sırası ile 14.22±1.16 ve 16.34±0.27 mm inhibisyon zonu çapı oluşumuna sebep olmuşlardır. Cu nanopartiküllerde ise inhibisyon zonu ölçülemediği görülmüştür. Bu sonuçlar Ag-Cu bimetallik nanopartiküllerin monometallik nanopartiküllere göre daha iyi bir antimikrobiyal aktivite sergilediğini göstermiştir.

Nanopartiküllerin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* mikroorganizmalara karşı minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri Tablo 4.1’de verildi.

Tablo 4. 2. Nanopartiküllerin minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK, µg/mL)

Örnekler	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
AgNP	50	100	100
CuNP	>400	>400	>400
Ag-Cu NP	50	50	50

Nanopartiküller (NP'ler), özellikle patojenik bakteri ve fungusların neden olduğu mikrobiyal enfeksiyonlarla mücadelede önemli ajanlar olarak ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada, gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) *S. aureus*'a karşı yaklaşık 50 µg/mL, *E. coli* ve e *C. albicans*'a karşı ise yaklaşık 100 µg/mL MİK değerleri sergilemektedir. Buna karşılık, bakır nanopartiküller (CuNP'ler) genellikle 400 µg/mL'yi aşan daha yüksek MİK değerleri göstermiştir ve AgNP'lere kıyasla daha düşük etkinliğe işaret etmektedir. Gümüş ve bakır nanopartiküllerin (Ag-Cu NP) kombinasyonunun daha düşük bir MİK değeri ile sonuçlandığı görülmüştür bu da antimikrobiyal aktiviteyi artırıcı potansiyel bir sinerjik etkiye işaret etmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen nanopartiküller, son yıllarda biyolojik ve çevresel açıdan risk oluşturan toksik ve dış indirgeme maddeleri içeren geleneksel kimyasal ve fiziksel yöntemlerin yerini almıştır. Bu yeni yaklaşım, maliyet açısından uygun, toksik olmayan ve çevre için daha az zararlı bir alternatif sunmaktadır. Yeşil sentez sırasında bitki ekstraktlarının kullanılması tercih edilmektedir, çünkü bitkilerin içeriğindeki terpenoidler, taninler, proteinler, flavonoidler ve benzeri fitokimyasallar, metal iyonlarını indirgeme yeteneğine sahip olup, nanopartiküllerin boyutlarının kontrol altında tutulmasına yardımcı olarak stabilizatör işlevi görürler.

Bu çalışmada, Lamimaceae familyasına ait *O. basilicum* L. bitkisi kullanılarak nanopartikül sentezi gerçekleştirilmiştir. Bitkinin içerdiği bileşikler, Ag, Cu ve Ag-Cu iyonlarının indirgenmesine katkıda bulunur. Bu yöntemle elde edilen nanopartiküller, geleneksel yöntemlere göre maliyet açısından daha avantajlı ve düşük sıcaklık gereksinimi ile endüstri için umut verici bir seçenek olmuştur.

Sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonu için FE-SEM, XRD, TEM, EDX, FTIR ve UV-Vis gibi çeşitli analiz yöntemleri kullanılarak NP'lerin yapısal ve morfolojik özellikleri incelenmiştir. FE-SEM analizinde Ag NP'lerin küresel bir şekle ve homojen bir dağılıma sahip olduğu, Cu NP'lerin çaplarının Ag NP'lerden daha büyük olduğu ve şekillerinin de küresel olduğu gözlemlenmiştir. Ag-Cu NP'lerin homojen dağılım gösterirken boyutlarının büyüdüğü belirlenmiştir. UV-Vis analizinde, Ag NP'ler 427 nm dalga boyunda bir pik ortaya koyarken, Cu NP'ler bir pik göstermemiştir; Ag-Cu NP'ler ise 435 nm dalga boyunda bir pik göstererek metalik birleşimin yeni özellikler kazandığını ortaya koymuştur. FTIR analizi, nanopartiküllerin oluşumunda fitokimyasalların önemli bir rol oynadığını göstermiş ve sentezlenen nanopartiküllerin karakteristik piki, literatürdeki benzer piklerle kısmi bir uyum sergilemiştir. XRD analizi nanopartiküllerin varlığını kanıtlayan piksellerle, küresel formda ve kristal yapıda olduklarını ortaya koymuştur.

Antimikrobiyal etkinliği değerlendirilen çalışmada, kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak Ag NP ve Ag-Cu NP'lerin hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği saptanmıştır. Bu etkinin, NP'lerin hücre zarı aşarak hücre içine nüfus etmesi ve hücrede tahribata neden olarak hücre ölümüne yol açmasıyla ilişkilendirildiği bilinmektedir. CuNP'ler ise daha az bir etkinlik göstermiştir.

Bu sonuçlar Ag-Cu bimetalik nanopartiküllerin monometalik nanopartiküllere göre daha iyi bir antimikrobiyal aktivite sergilediğini göstermiştir. Mik sonuçlarına göre Gümüş ve bakır nanopartiküllerin (Ag-Cu NP) kombinasyonunun daha düşük bir MİK değeri ile sonuçlandığı görülmüştür bu da antimikrobiyal aktiviteyi artıran potansiyel bir sinerjik etkiye işaret etmektedir.

5.2 Öneriler

Yeşil sentez yöntemi, kimyasal madde kullanımını asgariye indirerek veya tamamen ortadan kaldırarak çevre dostu ve temiz bir yöntem olmayı hedefler. Bitki ekstraktları kullanılarak üretilen nanopartiküller, doğal bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Bitkilerde bulunan bileşenlerin kullanılması, nanopartiküllerin biyolojik sentez olarak adlandırılmasını mümkün kılmaktadır.

Gümüş (Ag), bakır (Cu) ve gümüş-bakır (Ag-Cu) iyonları güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip oldukları için dikkat çekmektedir. Bu çalışmada, elde edilen nanopartiküllerin antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin, mikroorganizmalar üzerindeki etkilerini tam olarak anlamak, günümüz bilim dünyasının önemli konularından biridir. Ayrıca, nanopartiküllerin insan vücudu ile uyumluluğu hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Farklı antimikrobiyal ürünlerle birlikte nanopartiküllerin kullanılması, toksik etkileri azaltırken direnç kazanımını da zorlaştırmaktadır. Kimyasal ve fiziksel özelliklerin iyileştirilmesi üzerine yapılan çalışmalar, antimikrobiyal etkilerinin artırılması açısından büyük önem taşımaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Abdul Salam, H., Sivaraj, R., & Venckatesh, R. (2014). Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles from *Ocimum basilicum* L. var. *purpurascens* Benth.-Lamiaceae leaf extract. *Materials Letters*, *131*, 16-18. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.05.033>
- Adetunji, C. O., Akinbo, O., Mathew, J. T., Egbuna, C., Inobeme, A., Titilayo, O., Ajayi, O. O., Dauda, W., Ghazanfar, S., Ogundolie, F. A., Adetunji, J. B., Adetuyi, B. O., Ajenifujah-Solebo, S. O., & Aborode, A. T. (2024). Nanotechnology. İçinde *Handbook of Agricultural Biotechnology* (ss. 1-17). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781394234769.ch15>
- Akhtar, M. S., Panwar, J., & Yun, Y.-S. (2013). Biogenic Synthesis of Metallic Nanoparticles by Plant Extracts. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, *1*(6), 591-602. <https://doi.org/10.1021/sc300118u>
- Allaie, M. A., Shah, K. A., & Andrabi, S. M. A. (2023). Review—Bi-Metallic Nanoparticles for Water Treatment: Synthesis Routes, Purification, Challenges and Future Perspectives. *ECS Journal of Solid State Science and Technology*, *12*(4), 043003. <https://doi.org/10.1149/2162-8777/acc75b>
- Altikatoglu, M., Attar, A., Erci, F., Cristache, C. M., & Isildak, I. (2017). Green Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles Using *Ocimum basilicum* Extract and Their Antibacterial Activity. *Fresenius environmental bulletin*, *26*(12), 7832-7837.
- Anandalakshmi, K., Venugobal, J., & Ramasamy, V. (2016). Characterization of silver nanoparticles by green synthesis method using *Petalium murex* leaf extract and their antibacterial activity. *Applied Nanoscience*, *6*(3), 399-408. <https://doi.org/10.1007/s13204-015-0449-z>
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2019). The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules*, *25*(1), 112. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>
- Bhushan, B. (2015). Governance, policy, and legislation of nanotechnology: a perspective. *Microsystem Technologies*, *21*(5), 1137-1155. <https://doi.org/10.1007/s00542-015-2511-x>
- Chatzimitakos, T. G., & Stalikas, C. D. (2016). Qualitative Alterations of Bacterial Metabolome after Exposure to Metal Nanoparticles with Bactericidal Properties: A Comprehensive Workflow Based on ¹ H NMR, UHPLC-HRMS, and Metabolic

- Databases. *Journal of Proteome Research*, 15(9), 3322-3330.
<https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.6b00489>
- Christian, P., Von der Kammer, F., Baalousha, M., & Hofmann, Th. (2008). Nanoparticles: structure, properties, preparation and behaviour in environmental media. *Ecotoxicology*, 17(5), 326-343. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0213-1>
- Din, M. I., & Rehan, R. (2017). Synthesis, Characterization, and Applications of Copper Nanoparticles. *Analytical Letters*, 50(1), 50-62.
<https://doi.org/10.1080/00032719.2016.1172081>
- Dlamini, N. G., Basson, A. K., & Pullabhotla, V. S. R. (2023). Synthesis and Characterization of Various Bimetallic Nanoparticles and Their Application. *Applied Nano*, 4(1), 1-24. <https://doi.org/10.3390/applnano4010001>
- Dos Santos, C. A., Seckler, M. M., Ingle, A. P., Gupta, I., Galdiero, S., Galdiero, M., Gade, A., & Rai, M. (2014). Silver Nanoparticles: Therapeutical Uses, Toxicity, and Safety Issues. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(7), 1931-1944.
<https://doi.org/10.1002/jps.24001>
- Durán, N., Durán, M., de Jesus, M. B., Seabra, A. B., Fávaro, W. J., & Nakazato, G. (2016). Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 12(3), 789-799.
<https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.016>
- El-Kady, M. M., Ansari, I., Arora, C., Rai, N., Soni, S., Verma, D. K., Singh, P., & Mahmoud, A. E. D. (2023). Nanomaterials: A comprehensive review of applications, toxicity, impact, and fate to environment. *Journal of Molecular Liquids*, 370, 121046. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.121046>
- Erci, F., Koc, R., & Isıldak, I. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using *Thymbra spicata* L. var. *spicata* (zahter) aqueous leaf extract and evaluation of their morphology-dependent antibacterial and cytotoxic activity. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(sup1), 150-158.
<https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1415917>
- Farka, Z., Brandmeier, J. C., Mickert, M. J., Pastucha, M., Lacina, K., Skládal, P., Soukka, T., & Gorris, H. H. (2024). Nanoparticle-Based Bioaffinity Assays: From the Research Laboratory to the Market. *Advanced Materials*, 36(3).
<https://doi.org/10.1002/adma.202307653>

- Ferrando, R., Jellinek, J., & Johnston, R. L. (2008). Nanoalloys: From Theory to Applications of Alloy Clusters and Nanoparticles. *Chemical Reviews*, *108*(3), 845-910. <https://doi.org/10.1021/cr040090g>
- Gafner, Y. Y., Gafner, S. L., Ryzkova, D. A., & Nomoev, A. V. (2021). The role of gold atom concentration in the formation of Cu–Au nanoparticles from the gas phase. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, *12*, 72-81. <https://doi.org/10.3762/bjnano.12.6>
- Gardea-Torresdey, J. L., Gomez, E., Peralta-Videa, J. R., Parsons, J. G., Troiani, H., & Jose-Yacaman, M. (2003). Alfalfa Sprouts: A Natural Source for the Synthesis of Silver Nanoparticles. *Langmuir*, *19*(4), 1357-1361. <https://doi.org/10.1021/la020835i>
- Gopinath, M., Subbaiya, R., Selvam, M. M., & Suresh, D. (2014). Synthesis of copper nanoparticles from Nerium oleander leaf aqueous extract and its antibacterial activity. *Int J Curr Microbiol App Sci*, *3*(9), 814-818.
- Gunalan, S., Sivaraj, R., & Venckatesh, R. (2012). Aloe barbadensis Miller mediated green synthesis of mono-disperse copper oxide nanoparticles: optical properties. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *97*, 1140-1144.
- Gupta, P., Sarkar, S., Das, B., Bhattacharjee, S., & Tribedi, P. (2016). Biofilm, pathogenesis and prevention—a journey to break the wall: a review. *Archives of Microbiology*, *198*(1), 1-15. <https://doi.org/10.1007/s00203-015-1148-6>
- Habibah, F. F., Sri Rizki, W. O., Ivansyah, A. L., Astuti, D. I., & Hertadi, R. (2024). Green synthesis of copper ions nanoparticles functionalized with rhamnolipid as potential antibacterial agent for pathogenic bacteria. *Heliyon*, *10*(1), e24242. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24242>
- Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W., & Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilms: from the Natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, *2*(2), 95-108. <https://doi.org/10.1038/nrmicro821>
- Harrison, J. J., Ceri, H., & Turner, R. J. (2007). Multimetal resistance and tolerance in microbial biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, *5*(12), 928-938. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1774>
- He, Y., Li, X., Zheng, Y., Wang, Z., Ma, Z., Yang, Q., Yao, B., Zhao, Y., & Zhang, H. (2018). A green approach for synthesizing silver nanoparticles, and their antibacterial and cytotoxic activities. *New Journal of Chemistry*, *42*(4), 2882-2888. <https://doi.org/10.1039/C7NJ04224H>

- Hembram, K. C., Kumar, R., Kandha, L., Parhi, P. K., Kundu, C. N., & Bindhani, B. K. (2018). Therapeutic prospective of plant-induced silver nanoparticles: application as antimicrobial and anticancer agent. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, *46*(sup3), 38-51. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1489262>
- Huston, M., DeBella, M., DiBella, M., & Gupta, A. (2021). Green Synthesis of Nanomaterials. *Nanomaterials*, *11*(8), 2130. <https://doi.org/10.3390/nano11082130>
- Idris, D. S., & Roy, A. (2023). Synthesis of Bimetallic Nanoparticles and Applications—An Updated Review. *Crystals*, *13*(4), 637. <https://doi.org/10.3390/cryst13040637>
- Jain, A., Anitha, R., & Rajeshkumar, S. (2019). Anti inflammatory activity of Silver nanoparticles synthesised using Cumin oil. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, *12*(6), 2790. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00469.4>
- Kazemi, S., Hosseingholian, A., Gohari, S. D., Feirahi, F., Moammeri, F., Mesbahian, G., Moghaddam, Z. S., & Ren, Q. (2023). Recent advances in green synthesized nanoparticles: from production to application. *Materials Today Sustainability*, *24*, 100500. <https://doi.org/10.1016/j.mtsust.2023.100500>
- Kharat, S. N., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.02.024>
- Kumar, S. (2020). Structural Evolution of Iron–Copper (Fe–Cu) Bimetallic Janus Nanoparticles during Solidification: An Atomistic Investigation. *The Journal of Physical Chemistry C*, *124*(1), 1053-1063. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b08411>
- Kumar, S. S. D., Rajendran, N. K., Houreld, N. N., & Abrahamse, H. (2018). Recent advances on silver nanoparticle and biopolymer-based biomaterials for wound healing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *115*, 165-175. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.003>
- Lok, C.-N., Ho, C.-M., Chen, R., He, Q.-Y., Yu, W.-Y., Sun, H., Tam, P. K.-H., Chiu, J.-F., & Che, C.-M. (2006). Proteomic Analysis of the Mode of Antibacterial Action of Silver Nanoparticles. *Journal of Proteome Research*, *5*(4), 916-924. <https://doi.org/10.1021/pr0504079>
- Luo, J., Maye, M. M., Petkov, V., Kariuki, N. N., Wang, L., Njoki, P., Mott, D., Lin, Y., & Zhong, C.-J. (2005). Phase Properties of Carbon-Supported Gold–Platinum Nanoparticles with Different Bimetallic Compositions. *Chemistry of Materials*, *17*(12), 3086-3091. <https://doi.org/10.1021/cm050052t>

- Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, *31*(2), 346-356. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2013.01.003>
- More, P. R., Zannella, C., Folliero, V., Foglia, F., Troisi, R., Vergara, A., Franci, G., De Filippis, A., & Galdiero, M. (2022). Antimicrobial Applications of Green Synthesized Bimetallic Nanoparticles from *Ocimum basilicum*. *Pharmaceutics*, *14*(11), 2457. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112457>
- Mott, D., Galkowski, J., Wang, L., Luo, J., & Zhong, C.-J. (2007). Synthesis of Size-Controlled and Shaped Copper Nanoparticles. *Langmuir*, *23*(10), 5740-5745. <https://doi.org/10.1021/la0635092>
- Nasrollahzadeh, M., Mahmoudi-Gom Yek, S., Motahharifar, N., & Ghafari Gorab, M. (2019). Recent Developments in the Plant-Mediated Green Synthesis of Ag-Based Nanoparticles for Environmental and Catalytic Applications. *The Chemical Record*, *19*(12), 2436-2479. <https://doi.org/10.1002/tcr.201800202>
- Nowack, B., & Bucheli, T. D. (2007). Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution*, *150*(1), 5-22. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.06.006>
- Nzilu, D. M., Madivoli, E. S., Makhanu, D. S., Wanakai, S. I., Kiprono, G. K., & Kareru, P. G. (2023). Green synthesis of copper oxide nanoparticles and its efficiency in degradation of rifampicin antibiotic. *Scientific Reports*, *13*(1), 14030. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41119-z>
- Paiva-Santos, A. C., Herdade, A. M., Guerra, C., Peixoto, D., Pereira-Silva, M., Zeinali, M., Mascarenhas-Melo, F., Paranhos, A., & Veiga, F. (2021). Plant-mediated green synthesis of metal-based nanoparticles for dermopharmaceutical and cosmetic applications. *International Journal of Pharmaceutics*, *597*, 120311. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120311>
- Palza, H. (2015). Antimicrobial Polymers with Metal Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(1), 2099-2116. <https://doi.org/10.3390/ijms16012099>
- Raffi, M., Mehrwan, S., Bhatti, T. M., Akhter, J. I., Hameed, A., Yawar, W., & ul Hasan, M. M. (2010). Investigations into the antibacterial behavior of copper nanoparticles against *Escherichia coli*. *Annals of Microbiology*, *60*(1), 75-80. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0015-6>

- Rafique, M., Tahir, M. B., Rafique, M. S., Safdar, N., & Tahir, R. (2020). Nanostructure materials and their classification by dimensionality. İçinde *Nanotechnology and Photocatalysis for Environmental Applications* (ss. 27-44). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821192-2.00002-4>
- Ramana, M. V. (2014). Synthesis and characterization of silver nanoparticles from *Ocimum basilicum* L. var. *thyriflorum*. *European Journal of Academic Essays*, *1*(5), 5-9.
- Rani, P., Kumar, V., Singh, P. P., Matharu, A. S., Zhang, W., Kim, K.-H., Singh, J., & Rawat, M. (2020). Highly stable AgNPs prepared via a novel green approach for catalytic and photocatalytic removal of biological and non-biological pollutants. *Environment International*, *143*, 105924. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105924>
- Renuga, D., Jeyasundari, J., Shakthi Athithan, A. S., & Brightson Arul Jacob, Y. (2020). Synthesis and characterization of copper oxide nanoparticles using *Brassica oleracea* var. *italica* extract for its antifungal application. *Materials Research Express*, *7*(4), 045007. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab7b94>
- Roy, A., Bulut, O., Some, S., Mandal, A. K., & Yilmaz, M. D. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity. *RSC Advances*, *9*(5), 2673-2702. <https://doi.org/10.1039/C8RA08982E>
- Rozra, J., Saini, I., Sharma, A., Chandak, N., Aggarwal, S., Dhiman, R., & Sharma, P. K. (2012). Cu nanoparticles induced structural, optical and electrical modification in PVA. *Materials Chemistry and Physics*, *134*(2-3), 1121-1126. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2012.04.004>
- Salleh, A., Naomi, R., Utami, N. D., Mohammad, A. W., Mahmoudi, E., Mustafa, N., & Fauzi, M. B. (2020). The Potential of Silver Nanoparticles for Antiviral and Antibacterial Applications: A Mechanism of Action. *Nanomaterials*, *10*(8), 1566. <https://doi.org/10.3390/nano10081566>
- Saranyaadevi, K., Subha, V., Ravindran, R. E., & Renganathan, S. (2014). Synthesis and characterization of copper nanoparticle using *Capparis zeylanica* leaf extract. *Int J Chem Tech Res*, *6*(10), 4533-4541.
- Saratale, R. G., Saratale, G. D., Shin, H. S., Jacob, J. M., Pugazhendhi, A., Bhisare, M., & Kumar, G. (2018). New insights on the green synthesis of metallic nanoparticles using plant and waste biomaterials: current knowledge, their agricultural and

- environmental applications. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(11), 10164-10183. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9912-6>
- Shamaila, S., Sajjad, A. K. L., Ryma, N.-A., Farooqi, S. A., Jabeen, N., Majeed, S., & Farooq, I. (2016). Advancements in nanoparticle fabrication by hazard free eco-friendly green routes. *Applied Materials Today*, 5, 150-199. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2016.09.009>
- Singh, A., Jain, D., Upadhyay, M. K., Khandelwal, N., & Verma, H. N. (2010). Green synthesis of silver nanoparticles using Argemone mexicana leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Dig J Nanomater Bios*, 5(2), 483-489.
- Slavin, Y. N., Asnis, J., Häfeli, U. O., & Bach, H. (2017). Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of Nanobiotechnology*, 15(1), 65. <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0308-z>
- Srikar, S. K., Giri, D. D., Pal, D. B., Mishra, P. K., & Upadhyay, S. N. (2016). Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Review. *Green and Sustainable Chemistry*, 06(01), 34-56. <https://doi.org/10.4236/gsc.2016.61004>
- Taniguchi, N. (1974). On the basic concept of nano-technology'. *Proc. Intl. Conf. Prod. Eng. Tokyo, Part II, 1974*.
- Tijani, N. A., Hokello, J., Eilu, E., Akinola, S. A., Afolabi, A. O., Makeri, D., Lukwago, T. W., Mutuku, I. M., Mwesigwa, A., Baguma, A., & Adebayo, I. A. (2024). Metallic nanoparticles: a promising novel therapeutic tool against antimicrobial resistance and spread of superbugs. *BioMetals*. <https://doi.org/10.1007/s10534-024-00647-5>
- Tong, G., Yulong, M., Peng, G., & Zirong, X. (2005). Antibacterial effects of the Cu(II)-exchanged montmorillonite on Escherichia coli K88 and Salmonella choleraesuis. *Veterinary Microbiology*, 105(2), 113-122. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.11.003>
- Vijayaraghavan, K., & Ashokkumar, T. (2017). Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(5), 4866-4883. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.09.026>
- Walimbe, K. G., Dhawal, P. P., & Kakodkar, S. A. (2022). Anticancer Potential of Biosynthesized Silver Nanoparticles: A Review. *European Journal of Biology and Biotechnology*, 3(2), 10-20. <https://doi.org/10.24018/ejbio.2022.3.2.338>
- Wang, H., Wang, M., Xu, X., Gao, P., Xu, Z., Zhang, Q., Li, H., Yan, A., Kao, R. Y.-T., & Sun, H. (2021). Multi-target mode of action of silver against Staphylococcus

- aureus endows it with capability to combat antibiotic resistance. *Nature Communications*, 12(1), 3331. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23659-y>
- West, J. L., & Halas, N. J. (2000). Applications of nanotechnology to biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 11(2), 215-217. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(00\)00082-3](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(00)00082-3)
- Wu, M.-L., Chen, D.-H., & Huang, T.-C. (2001). Synthesis of Au/Pd Bimetallic Nanoparticles in Reverse Micelles. *Langmuir*, 17(13), 3877-3883. <https://doi.org/10.1021/la010060y>
- Yallappa, S., Manjanna, J., Sindhe, M. A., Satyanarayan, N. D., Pramod, S. N., & Nagaraja, K. (2013). Microwave assisted rapid synthesis and biological evaluation of stable copper nanoparticles using T. arjuna bark extract. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 110, 108-115. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.03.005>
- Zadeh, F. A., Bokov, D. O., Salahdin, O. D., Abdelbasset, W. K., Jawad, M. A., Kadhim, M. M., Qasim, M. T., Kzar, H. H., Al-Gazally, M. E., Mustafa, Y. F., & Khatami, M. (2022). Cytotoxicity evaluation of environmentally friendly synthesis Copper/Zinc bimetallic nanoparticles on MCF-7 cancer cells. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 33(2), 441-447. <https://doi.org/10.1007/s12210-022-01064-x>
- Zulfiqar, Z., Khan, R. R. M., Summer, M., Saeed, Z., Pervaiz, M., Rasheed, S., Shehzad, B., Kabir, F., & Ishaq, S. (2024). Plant-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Synthesis, characterization, biological applications, and toxicological considerations: A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 57, 103121. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103121>