



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



YEŞİL SENTEZ ÇİNKO OKSİT
NANOPARTİKÜLLERİN BAZI ORAL
PATOJENLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Canan SEVİNÇ ŞAŞMAZ

DOKTORA TEZİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Kasım-2025
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Canan SEVİNÇ ŞAŞMAZ tarafından hazırlanan “Yeşil Sentez Çinko Oksit Nanopartiküllerin Bazı Oral Patojenler Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması 19/11/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Ahmet UYSAL

.....

Danışman

Prof. Dr. Emrah TORLAK

.....

Üye

Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ

.....

Üye

Prof. Dr. Gökhan ZENGİN

.....

Üye

Doç. Dr. Fatih ERCİ

.....

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 Koordinatörlüğü tarafından 221415003 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

Canan SEVİNÇ ŞAŞMAZ

Tarih: 19.12.2025

ÖZET

DOKTORA TEZİ

YEŞİL SENTEZ ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİN BAZI ORAL PATOJENLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Canan SEVİNÇ ŞAŞMAZ

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Prof. Dr. Emrah TORLAK

2025, 119 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Emrah TORLAK

Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ

Prof. Dr. Ahmet UYSAL

Prof. Dr. Gökhan ZENGİN

Doç. Dr. Fatih ERCİ

Ağız mikrobiyomunda yaygın olarak bulunan biyofilm oluşturma yeteneğine sahip patojenler diş ve diş eti problemlerinin başlıca nedenleri arasındadır. Bu nedenle antibiyofilm nitelikte antimikrobiyal ajanlar ağız ve diş sağlığının iyileştirilmesinde fayda sağlama potansiyeline sahiptir. Alternatif antimikrobiyal ajanlar arasında yeşil sentez ile elde edilen nanopartiküller (NP) çevre dostu ve biyoyumlu olmaları ile dikkat çekmektedir. Bu çalışmada *Peganum harmala* tohum ekstraktı kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle elde edilen çinko oksit NP (Y-ZnO NP)'lerin karakterizasyon sonuçlarının ve biyolojik aktivitelerinin kimyasal sentez ZnO NP (K-ZnO NP)'ler ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca, ZnO NP'lerin sentez yöntemi, boyutları ve şekillerinin biyolojik aktiviteleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Karakterizasyon amacıyla ZnO NP'lerin morfolojik, yapısal, boyut ve yüzey özellikleri ultraviyole görünür bölge spektroskopisi (UV-VIS), Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), X-ışını difraksiyonu (XRD), geçirimli elektron mikroskobu (TEM), alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) ve zeta potansiyel analizleri ile incelenmiştir. ZnO NP'lerin antibakteriyel etkileri agar difüzyon, broth mikrodilüsyon ve çoğalma eğrisi analizleriyle, antibiyofilm etkileri ise kristal viyole boyama ve ekstraselüler polimerik madde (EPS) üretimi analizleri ile üç oral patojen bakteri türü (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ve *Streptococcus mutans*) üzerinde değerlendirilmiştir. ZnO NP'lerin bakterilerin hücresel solunumuna etkileri 2,3,5-trifenil-tetrazolyum klorür (TTC) indirgenmesi, membran geçirgenliğine etkileri ise β -galaktosidaz salınımı ile değerlendirilmiştir. Hücrelerdeki süperoksit anyon düzeyleri Nitroblue tetrazolyum (NBT) indirgenmesi yöntemi ile ölçülmüştür. ZnO NP'lere maruziyetin bakteri hücrelerinde neden olduğu morfolojik değişimler ise FE-SEM ile görüntülenmiştir.

Karakterizasyon sonuçları her iki yöntemle sentezlenen ZnO NP'lerin kristal yapıda ve küresel morfolojiye sahip olduğunu göstermiştir. Y-ZnO NP'lerin partikül boyutlarının 5-65 nm aralığında, K-ZnO NP'lerin partikül boyutlarının ise 25-50 nm aralığında olduğu gözlenmiştir. Y-ZnO NP'lerin minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri *S. aureus* ve *E. faecalis* için 62,5 $\mu\text{g/mL}$, *S. mutans* için 31,25 $\mu\text{g/mL}$ olarak, K-ZnO NP'lerin MİK değerleri ise sırasıyla 250 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$ ve 125 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir. Agar difüzyon yöntemi ile maksimum inhibisyon zonu Y-ZnO NP uygulamasıyla *S. mutans*'a karşı ölçülmüştür. Y-ZnO NP'ler 500 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda *S. aureus*, *E. faecalis* ve *S. mutans*'ın biyofilm üretimini sırasıyla %82, %71 ve %93 oranında inhibe etmiştir. Aynı konsantrasyonda K-ZnO NP'ler ile elde edilen inhibisyon oranları ise sırasıyla %49, %41 ve %59'dur. Bu sonuçlar ile uyumlu olarak Y-ZnO NP'lerin biyofilm oluşumuyla doğrudan ilişkili olan EPS üretimini daha yüksek

oranda inhibe ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca, Y-ZnO NP'lerin bakteriyel solunumu K-ZnO NP'lere kıyasla daha yüksek düzeyde baskıladığı, hücre membran geçirgenliğini ve süperoksit anyon üretimini daha yüksek düzeyde artırdığı gözlenmiştir. FE-SEM analizleri, ZnO NP'lerin bakteri hücre morfolojisi üzerinde belirgin yapısal değişimlere yol aadığını göstermiştir. Y-ZnO NP'ler, K-ZnO NP'lere kıyasla hücre yüzeyine daha güçlü biçimde adsorbe olmuş, hücre etrafında yoğun partikül birikimleri oluşturmuştur.

Elde edilen sonuçlar ZnO NP'lerin biyolojik aktivitelerinin yeşil sentez ile arttırılabileceğini ve yeşil sentez ZnO NP'lerin biyofilm oluşturma yeteneğine sahip patojenler ile mücadele için kullanım potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel, antibiyofilm, çinko oksit nanopartiküller, oral patojenler, *Peganum harmala*, yeşil sentez.

ABSTRACT

Ph.D THESIS

EVALUATION OF THE EFFECTS OF GREEN SYNTHESIZED ZINC OXIDE NANOPARTICLES ON SOME ORAL PATHOGENS

Canan SEVİNÇ ŞAŞMAZ

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN BIOTECHNOLOGY

Advisor: Prof. Dr. Emrah TORLAK

2025, 119 Pages

Jury

Prof. Dr. Emrah TORLAK

Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ

Prof. Dr. Ahmet UYSAL

Prof. Dr. Gökhan ZENGİN

Assoc. Prof. Dr. Fatih ERCİ

Pathogens commonly found in the oral microbiome that possess biofilm-forming ability are among the primary causes of dental and periodontal diseases. Therefore, antimicrobial agents with antibiofilm properties have the potential to contribute to the improvement of oral health. Among alternative antimicrobial agents, nanoparticles synthesized via green methods have attracted attention due to their eco-friendly and biocompatible nature. In this study, zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) synthesized using *Peganum harmala* seed extract via a green synthesis method (Y-ZnO NPs) were characterized and their biological activities were compared with those of chemically synthesized ZnO NPs (K-ZnO NPs). Additionally, the effects of synthesis method, particle size, and shape on the biological activities of ZnO NPs were evaluated. Characterization of the ZnO NPs including their morphological, structural, dimensional and surface properties was performed using ultraviolet–visible (UV–VIS) spectroscopy, Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, X-ray diffraction (XRD), transmission electron microscopy (TEM), field emission scanning electron microscopy (FE-SEM), energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) and zeta potential analysis. The antibacterial activities of the ZnO NPs were assessed against three oral pathogenic bacterial species (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, and *Streptococcus mutans*) using agar diffusion, broth microdilution, and growth curve analyses. Antibiofilm activities were evaluated through crystal violet staining and EPS production assays. The effects of ZnO NPs on bacterial cellular respiration were determined by 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) reduction, while their effects on membrane permeability were assessed by β -galactosidase release. Intracellular superoxide anion levels were measured by the Nitroblue tetrazolium (NBT) reduction method. Morphological changes in bacterial cells caused by ZnO NP exposure were visualized using FE-SEM imaging.

Characterization results revealed that ZnO NPs synthesized by both methods exhibited crystalline structure and spherical morphology. The particle sizes of Y-ZnO NPs were found to range from 5 to 65 nm, while those of K-ZnO NPs ranged from 25 to 50 nm. The minimum inhibitory concentration (MIC) values of Y-ZnO NPs were determined to be 62.5 $\mu\text{g/mL}$ for *S. aureus* and *E. faecalis*, and 31.25 $\mu\text{g/mL}$ for *S. mutans*, whereas the MIC values of K-ZnO NPs were 250 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$, and 125 $\mu\text{g/mL}$, respectively. According to the agar diffusion method, the maximum inhibition zone was observed against *S. mutans*.

treated with Y-ZnO NPs. At a concentration of 500 µg/mL, Y-ZnO NPs inhibited biofilm formation by *S. aureus*, *E. faecalis* and *S. mutans* by 82%, 71%, and 93%, respectively. In comparison, K-ZnO NPs achieved inhibition rates of 49%, 41%, and 59% at the same concentration. Consistent with these findings, Y-ZnO NPs also more effectively suppressed EPS production, which is directly associated with biofilm formation. Furthermore, Y-ZnO NPs were found to inhibit bacterial respiration to a greater extent than K-ZnO NPs and to induce higher levels of membrane permeability and superoxide anion production. FE-SEM analysis revealed distinct morphological alterations in bacterial cells exposed to ZnO NPs. Compared to K-ZnO NPs, the Y-ZnO NPs exhibited stronger surface adsorption and dense accumulation around bacterial cells.

The results indicate that the biological activities of ZnO NPs can be enhanced through green synthesis, and that green-synthesized ZnO NPs possess promising potential for combating biofilm-forming pathogenic bacteria.

Keywords: Antibacterial, antibiofilm, *Peganum harmala*, green synthesis, oral pathogens, zinc oxide nanoparticles.

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince engin bilgi birikimi, akademik rehberliği ve her koşulda esirgemediği desteğiyle bana yol gösteren, daima doğruyu, bilimi ve ilkelî duruşu öğreten çok kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Emrah TORLAK'a en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Deneyisel çalışmalarım boyunca tecrübesi, yönlendirmeleri ve yüreklendirmesiyle beni motive eden, bilimsel sürecime değerli katkılarda bulunan Doç. Dr. Fatih ERCİ'ye içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesine olanak sağlayan Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümüne, bölüm başkanı Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ'a ve ayrıca bölümümüzün değerli öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Hayatımın her anında ve her türlü zorluğa rağmen yanımda olan aileme, anlayışı ve manevî desteğiyle bana güç veren eşim Muhammed Yasir ŞAŞMAZ'a minnettarım.

Son olarak inandığım, vazgeçmediğim ve başardığım için kendime teşekkür ederim.

Canan SEVİNÇ ŞAŞMAZ
KONYA-2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
ÖNSÖZ	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	2
2.1. Nanoteknoloji ve Önemi	2
2.2. Nanopartiküller ve Sınıflandırılması	3
2.2.1. Organik nanopartiküller	5
2.2.2. Karbon bazlı nanopartiküller	6
2.2.3. İnorganik nanopartiküller	7
2.3. Metal Oksit Nanopartiküller ve Kullanım Alanları	8
2.4. Metal/Metal Oksit Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri.....	11
2.4.1 Biyolojik kaynaklı (yeşil) sentez ve avantajları.....	13
2.5. Nanopartiküllerin Karakterizasyon Teknikleri	16
2.6. Metal ve Metal Oksit NP'lerin Antibakteriyel Etkileri ve Etki Mekanizmaları..	21
2.7. ZnO NP'lerin Oral Patojenler Üzerindeki Biyolojik Etkileri	26
2.7.1. Antibakteriyel etkileri ve etki mekanizmaları	27
2.7.2. Antibiyofilm etkileri ve etki mekanizmaları.....	29
2.7.3. Hücresel düzeyde etkileri.....	30
2.8. ZnO NP'lerin Biyogüvenliği ve Toksisite Değerlendirmesi	31
2.9. <i>Peganum harmala</i>	32
3. MATERYAL VE YÖNTEM	33
3.1. Nanopartiküller	33
3.1.1. Kimyasal sentez ZnO NP'ler	33
3.1.2. Yeşil sentez ZnO NP'ler	33
3.2. ZnO NP'lerin Karakterizasyonu	34
3.2.1. UV-Vis analizi	34
3.2.2. XRD analizi	35
3.2.3. FTIR analizi	35
3.2.4. TEM analizi	35
3.2.5. FE-SEM ve EDX analizi	35
3.2.6. Zeta potansiyel analizi	36
3.3. ZnO NP'lerin Antibakteriyel Aktiviteleri.....	36
3.3.1. Bakteriyel suşlar ve kültür koşulları	36
3.3.2. Broth mikrodilüsyon testi	36
3.3.3. Agar difüzyon testi	37
3.3.4. ZnO NP stresi altında bakteriyel çoğalma eğrisi	37

3.4. ZnO NP'lerin Antibiyofilm Aktiviteleri	38
3.4.1. Test suşlarının biyofilm üretiminin teyidi	38
3.4.2. ZnO NP'lerin biyofilm oluşumu üzerine etkileri.....	39
3.4.3. ZnO NP'lerin ekstraselüler polimerik madde (EPS) üretimine etkileri.....	40
3.5. ZnO NP'lerin Bakterilerin Morfolojilerine ve Hücresel Fonksiyonlarına Etkileri	41
3.5.1. ZnO NP'lerin hücresel solunuma etkileri	41
3.5.2. ZnO NP'lerin hücre membranı geçirgenliği üzerine etkileri	41
3.5.3. ZnO NP stresi altında süperoksit anyon üretimi	42
3.5.4. ZnO NP'lerin hücre morfolojileri üzerine etkileri	42
3.6. İstatistiksel Analizler	43
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	44
4.1. ZnO NP'lerin Karakterizasyonu	44
4.1.1. UV-Vis analizi	44
4.1.2. XRD analizi	45
4.1.3. FTIR analizi	47
4.1.4. TEM analizi	50
4.1.5. FE-SEM ve EDX analizi	51
4.1.6. Zeta potansiyel analizi	55
4.2. ZnO NP'lerin Antibakteriyel Aktiviteleri.....	56
4.2.1. Broth mikrodilüsyon testi	56
4.2.2. Agar difüzyon testi	58
4.2.3. ZnO NP stresi altında bakteriyel çoğalma	59
4.3. ZnO NP'lerin Antibiyofilm Aktiviteleri	61
4.3.1. Test suşlarının biyofilm üretiminin teyidi	61
4.3.2. ZnO NP'lerin biyofilm oluşumu üzerine etkileri.....	62
4.3.3. ZnO NP'lerin EPS üretimine etkileri.....	65
4.4. ZnO NP'lerin Bakterilerin Morfolojilerine ve Hücresel Fonksiyonlarına Etkileri	68
4.4.1. ZnO NP'lerin hücresel solunuma etkileri	68
4.4.2. ZnO NP'lerin hücre membranı geçirgenliği üzerine etkileri	71
4.4.3. ZnO NP stresi altında süperoksit anyon üretimi	72
4.4.4. ZnO NP'lerin hücre morfolojileri üzerine etkileri.....	74
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	80
6. KAYNAKLAR	82

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

°C	Santigrat derece
Ag	Gümüş
Al	Alüminyum
Au	Altın
cm	Santimetre
Co	Kobalt
Cu	Bakır
Fe	Demir
g	Gram
m	Metre
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
Pb	Kurşun
rpm	Dakikada dönme hızı
Ti	Titanyum
Zn	Çinko
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre

Kısaltmalar

ATCC	Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
CRA	Congo Red Agar
CV	Kristal Viyole
CNP	Karbon Bazlı Nanopartiküller
EPS	Ekstraselüler Polimerik Madde
LPS	Lipopolisakkarit
FE-SEM	Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskopisi
FTIR	Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi
JCPDS	Toz Kırınım Standartları Ortak Komitesi
KOB	Koloni Oluşturan Birim
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MONP	Metal Oksit Nanopartikül
NBT	Nitroblue tetrazolyum
NP	Nanopartikül
ONPG	o-Nitrofenil-β-D-Galaktopiranosid

PBS	Fosfat Tampon Solüsyonu
RNA	Ribonükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
OD	Optik Dansite
SD	Standart Sapma
$O_2^{\bullet-}$	Süperoksit Anyonu
$\bullet OH$	Hidroksil Radikali
ATP	Adenozin Trifosfat
DNA	Deoksiribonükleik Asit
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskopisi
TTC	2,3,5-Trifenil-Tetrazolyum Klorür
UV-Vis	UV-Görünür Bölge Spektroskopisi
XRD	X-Işını Kırınımı Difraktometresi
LSPR	Lokalize Yüzey Plazmon Rezonansı

1. GİRİŞ

Nanoteknoloji atomik, moleküler veya supramoleküler seviyelerde maddeyi inceleyen bir bilim, mühendislik ve teknoloji alanıdır. Nanoteknoloji yüksek yüzey/hacim oranına ve çözeltide yüksek dağılıbilirliğe sahip nanometrik malzemeler ve nano sistemler üretmeyi amaçlamaktadır (Luzala vd., 2022). Nanoteknolojideki hızlı gelişmeler ile ortaya konulan materyaller özellikle tıp ve biyomedikal alanlarında ilgi çekmektedir. Yaygın olarak araştırılan materyallerden biri olan metal oksit nanopartiküller (MONP'ler) sahip oldukları geniş spektrumlu biyolojik etkileri sayesinde ön plana çıkmaktadır. Birden fazla biyomolekülü eş zamanlı olarak hedef alabilen MONP'ler, bakterilerde karmaşık direnç mekanizmalarının ve böylece dirençli suşların ortaya çıkmasını önleyebilecek potansiyele sahip antimikrobiyal ajanlardır. Birçok çalışma bu NP'lerin konvansiyonel antibiyotikler ile karşılaşılan sınırlamaları aşabilecek umut verici ajanlar olduklarını ortaya koymuştur (Jeevanandam vd., 2018; Pachaiappan vd., 2021; Zhan vd., 2024).

MONP'ler arasında yer alan çinko oksit nanopartiküllerin (ZnO NP'ler) antimikrobiyal ve antibiyofilm potansiyellerinin yanı sıra biyouyumlu olmaları nedeniyle sağlık, gıda ve çevre alanlarında kullanımlarına yönelik çalışmaların sayısı artmıştır. Bu çalışmalar arasında ZnO NP'lerin çevre dostu ve biyouyumlu olarak elde edilmesini amaçlayan, özellikle bitki ekstraktlarının kullanıldığı yeşil sentez yaklaşımları önemli bir yer tutmaktadır (Alameen vd., 2024; Ying vd., 2022).

Bu çalışmada, bitki ekstraktı kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle ZnO NP'lerin sentezlenmesi ve kimyasal sentez ZnO NP'lerle boyut, şekil ve yüzey özellikleri açısından karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca sıklıkla antibiyotik direnci gözlenen oral patojenler arasında yer alan *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ve *Streptococcus mutans* türlerine karşı her iki NP formunun antibakteriyel ve antibiyofilm aktivitelerinin karşılaştırılması hedeflenmiştir. Antibakteriyel ve antibiyofilm etki mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamak amacıyla, ZnO NP'lerin bakteri hücrelerinin membran geçirgenliğine, hücresel solunumuna, süperoksit üretimine, morfolojik bütünlüğüne ve EPS üretimine etkileri araştırılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Nanoteknoloji ve Önemi

Yirmi birinci yüzyılın başlarında, bilimsel ve teknolojik gelişmelerin hızlanmasıyla birlikte nanoteknolojiye olan ilgi önemli ölçüde artmıştır. Nanoteknoloji tıp, tarım ve çevre yönetimi gibi birçok endüstride önemli dönüşümlere yol açarak verimlilik, sürdürülebilirlik ve işlevsellik açısından yenilikçi çözümler sunmaktadır (Malik vd., 2023b). Tarımda nano gübreler, nano pestisitler ve nano biyosensörler gibi uygulamalarla sürdürülebilir tarımı desteklerken gıda güvenliği ve kalitesini artırmakta, ayrıca gıda işleme, ambalajlama ve depolama süreçlerini geliştirerek küresel gıda taleplerine yanıt vermektedir (Usman vd., 2020; Ashraf vd., 2021). Çevre yönetiminde ise kirlilik temizliği ve çevre dostu malzemelerin geliştirilmesi gibi uygulamalarla sürdürülebilir kalkınma hedeflerine katkı sağlamakta ve döngüsel ekonomiye olanak tanımaktadır (Pokrajac vd., 2021). Ayrıca, kuantum bilgisayarları ve biyolojik ilhamlı hesaplama gibi alanlara da katkıda bulunarak enerji verimliliğini artırmakta ve bilimsel araştırmalarda yeni ufuklar açmaktadır (Lai vd., 2023).

Nanoteknoloji ilaç taşıma sistemleri, tanı ve tedavi yöntemlerinde önemli bir rol oynayarak kanser tedavisi, rejeneratif tıp ve gen tedavisi gibi alanlarda tedavi güvenliğini ve etkinliğini artırarak modern tıpta devrim niteliğinde bir güç oluşturmaktadır (Sahu vd., 2021; Halwani, 2022; Malik vd., 2023a). İlaç dağıtımı ve rejeneratif tıpta kullanılan nanomateriyaller, antibakteriyel aktiviteleri olan NP'ler, biyobelirteç tespiti için kullanılan fonksiyonel nanoyapılar (nanobiyoişlemciler, nanoelektrotlar veya nanobiyosensörler) nanomateriyallerin farmasötik alanda kullanım örnekleri arasında yer almaktadır (Weissig vd., 2014).

Nanomedikal ürünler, ilaçların doğrudan beyine ulaştırabilmesi için kan-beyin bariyerini aşarak, Alzheimer ve beyin tümörleri gibi nörolojik hastalıkların tedavisini kolaylaştırmaktadır (Unnisa vd., 2022). Benzer şekilde pediatrikte medulloblastoma gibi durumların tedavisinde de kan-beyin bariyeri gibi zorlukları aşarak ilaç taşıma ve hastalık tanısını iyileştirmektedir (Mfoafo vd., 2023). Bu ürünler belirli hücreleri veya dokuları hedefleyerek tedavi sonuçlarını iyileştirmekte, yan etkileri azaltmakta ve daha etkili sonuçlar elde edilmesini mümkün kılmaktadır (Ouyang vd., 2022). Geleneksel Yunan tıbbi uygulamalarında hastalıkların tedavisi için gümüş gibi metallerin kullanımı yer almaktadır. Günümüzde nanoteknolojideki gelişmelerle birlikte, bu tür geleneksel tedavi

seçeneklerinin etkinliğinin arttırılabileceği ortaya konmuştur. Örneğin, küçük boyutlarından dolayı cilde kolayca nüfuz edebildiklerinden dolayı nano boyuttaki parçacıkların yanık veya yaraları tedavi etmede daha etkili olduğu bulunmuştur (Salleh vd., 2020).

Nanoteknoloji nanomalzemelerin kullanımının yaygınlaşmasıyla birlikte diş hekimliğinde önemli bir çalışma alanı haline gelmiştir. Nanopartiküller (NP'ler), ortodonti ve koruyucu bakımda bakteri kolonizasyonunu ve plak oluşumunu azaltmada kullanılabilmektedirler. Ayrıca kompozitler ve adezivler gibi diş malzemelerinin mekanik ve biyoaktif özelliklerini geliştirerek daha güçlü, daha dayanıklı ve estetik açıdan hoş restorasyonlar elde edilmesini sağlamaktadırlar. Özellikle kalsiyum içeren nanoyapılı yüzeyler ve malzemeler, mine remineralizasyonuna ve genel ağız sağlığının korunmasına katkıda bulunmaktadır (Padovani vd., 2015; Dipalma vd., 2024).

Nanoteknolojinin temel bileşenleri olan nanomalzemeler, en az bir boyutu nanometre ölçeğinde (100 nm'den küçük) olan malzemeler olarak tanımlanır. Boyutlarına göre nanomalzemeler dört ana kategoriye ayrılır (Joudeh ve Linke, 2022):

(1) Sıfır boyutlu nanomalzemeler (0-D): Bu kategorideki nanomalzemeler, tüm boyutlarının nanometre ölçeğinde olduğu malzemelerdir. Örnekler arasında kuantum dotlar, fullerenler ve nanopartiküller bulunur.

(2) Bir boyutlu nanomalzemeler (1-D): Bu kategoriye giren nanomalzemeler, bir boyutu nanometre ölçeği dışında olan malzemelerdir. Örnekler nanotüpler, nanofiberler, nanorodlar, nanotel ve nanohornlardır.

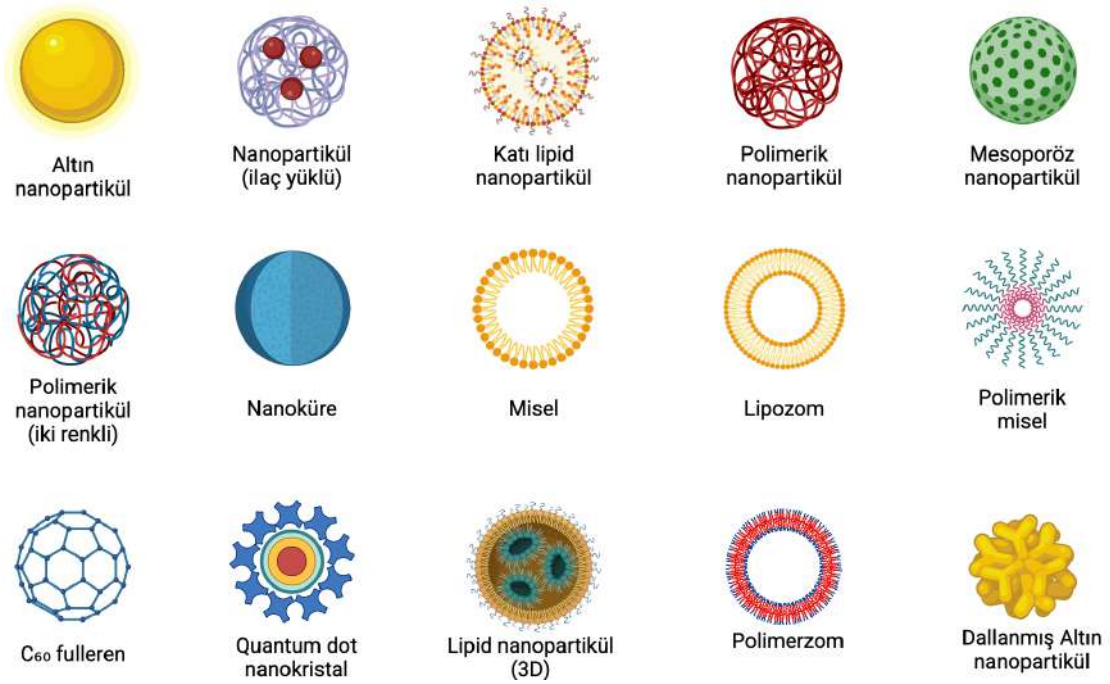
(3) İki boyutlu nanomalzemeler (2-D): Bu sınıftaki nanomalzemeler, iki boyutu nanometre ölçeği dışında olan malzemelerdir. Nanosheetler, nanofilmler ve nanolayer'lar bu kategoriye örnek verilebilir.

(4) Üç boyutlu nanomalzemeler (3-D) veya bulk nanomalzemeler: Bu sınıfta yer alan malzemeler, herhangi bir boyutunun nanometre ölçeğine girmediği malzemelerdir. Bulk tozlar, nanoparçacık dispersiyonları, nanotüp ve nanotel dizileri bu sınıfa örnek olarak verilebilir.

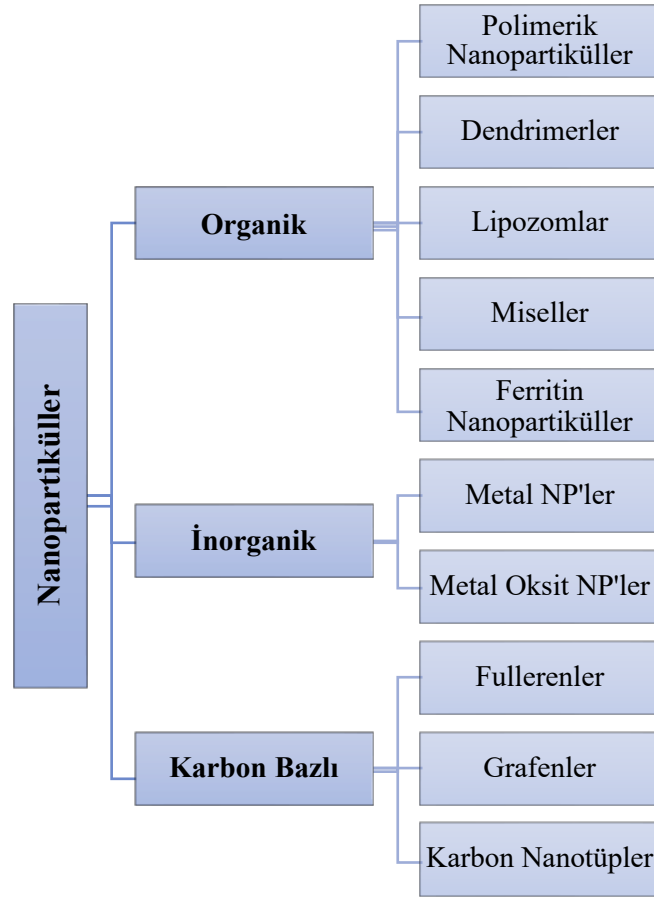
2.2. Nanopartiküller ve Sınıflandırılması

Farklı boyut, şekil, kompozisyon ve işlevselliklere sahip birçok NP eşidi vardır (Şekil 2.1) ve genel olarak bu özelliklerine bağlı olarak farklı kategorilere ayrılmışlardır. NP'ler kimyasal kökenlerine göre Şekil 2.2'te gösterildiği şekilde organik, inorganik ve

karbon bazlı olmak üzere üç ana grupta sınıflandırılmaktadır (Teleanu vd., 2018). NP'ler, yığın muadillerine kıyasla daha yüksek yüzey yüküne, emilime, reaktiviteye, yüzey alanına, hassasiyete, kararlılığa ve mukavemete sahiptirler. NP'lerin bu benzersiz özellikleri küçük boyutlarından kaynaklanmakta ve çevreyle etkileşimlerini etkilemektedir (Shrestha vd., 2020).



Şekil 2.1. Çeşitli nanopartiküller (Bu şekil [Biorender.com](https://www.biorender.com) kullanılarak oluşturulmuştur).



Şekil 2.2. Nanopartiküllerin yapılarına göre sınıflandırılması (Teleanu vd., 2018)

2.2.1. Organik nanopartiküller

Organik NP'ler genellikle lipidler ya da polimerik organik bileşiklerden meydana gelen katı parçacıklar olarak tanımlanmaktadır ve düşük toksisite, biyolojik olarak parçalanabilirlik gibi önemli özelliklere sahiptirler. Polimerik NP'ler, dendrimerler, ferritin NP'ler, lipozomlar ve miseller organik NP'ler içerisinde değerlendirilmektedir (Joudeh ve Linke, 2022). Organik NP'ler çoğunlukla katı formdaki bir matrise sahip olup diğer molekülleri küresel olan yüzeylerinin dış kısmında adsorbe etmektedirler. Organik NP'lerin hedefli ilaç dağıtımı, biyolojik görüntüleme, kanser tedavisi, gen terapisi ve biyosensör gibi çeşitli biyomedikal alanlarda kullanım olanakları mevcuttur (Salata, 2004; Romero ve Moya, 2012).

Polimerik NP'ler genellikle kitosan ve alginat gibi doğal veya sentetik poli-laktik asit ve poli-laktik-ko-glikolik asit gibi biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerden üretilmektedirler. Düşük toksisiteleri ve fagositik hücrelerce hızla elimine edilmeleri biyoakümülyasyonlarının ve buna bağlı yan etkilerinin oldukça düşük olmasını

sağlamaktadır. Taşıyıcı sistemlerde yüksek hedefleme özgülüğü, taşınan ajanı stabilize etme ve kontrollü salınım gibi avantajlar nedeniyle ilaç ve gen taşımada kullanılabilecekleri düşünülmektedir (Banik vd., 2016).

Lipit bazlı NP'ler liposomlar, katı lipid NP'ler ve nanoyapılı lipid taşıyıcılar gibi yapılardan oluşmaktadır ve ilaç taşıma sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Biyouyumluluk, biyobozunurluk ve düşük toksisiteyi sayesinde hidrofilik ve hidrofobik moleküllerin taşınmasını, kontrollü ilaç salınımını ve tedavi etkinliğinin artmasını sağlamaktadırlar. Ayrıca antibakteriyel ajanlarla fonksiyonelleştirilebilmeleri, yara iyileşmesini hızlandırma, cilt yenilenmesini destekleme ve iltihaplanmayı azaltma açısından avantajlar sunmaktadırlar (Eker vd., 2024).

Lipozomlar, ilaçların antiviral etkinliğini arttırmak için tek başlarına veya kapsülleme yoluyla antimikrobiyal özellikler sergileyebilirler. Lipozomların iki tabakalı zarı, hücre membranlarını taklit edebilir ve doğrudan mikroorganizmanın yapısına dahil olabilir. Bu sayede lipozomların ilaç yüklerinin mikroorganizmaların içine salınması mümkün olabilir. Ek olarak lipozom yüzeyleri, in vivo stabilitelerini artırmak veya spesifik ilaç iletimini sağlamak için ligandları hedeflemek amacıyla modifiye edilebilirler (Bitounis vd., 2012).

2.2.2. Karbon bazlı nanopartiküller

Karbon bazlı nanopartiküller (CNP), iç çekirdekte karbon atomları bulunan yeni bir nanomateryal sınıfını oluşturmaktadır. Karbon nanopartikülleri fiziksel, kimyasal, optik, mekanik ve termal özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir. CNP'ler çevre dostu, biyouyumlu, düşük toksik etki, yüksek stabilite, yüksek yüzey alanı ve güçlü iletkenlik gibi özellikleri ile son yıllarda birçok çalışmanın konusu olmuştur. Biyosensörler, kanser terapisi, kontrollü ilaç salınım sistemleri, tanı ve görüntüleme, doku mühendisliği alanlarındaki çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Kokorina vd., 2020). Ayrıca, CNP'ler, bakterilerle doğrudan etkileşime girerek oksidatif stres oluşturabilmekte ve bu süreç membran hasarına yol açarak hücre ölümüne neden olabilmektedir (Mukherjee vd., 2023).

CNP'ler, tek karbon atomundan oluşan ve iki boyutta katmanlara sahip allotropik bir karbon formu olan grafen, karbonun allotropik bir modifikasyon çeşidi olan fulleren, grafen tabakalarından oluşan birkaç nanometre çapında silindirik yapılar olan karbon nanotüpler gibi farklı yapılar içeren organik sınıflara ayrılmaktadırlar. Yeni

özelliklerinden dolayı özellikle malzeme bilimleri, nanobilim/nanoteknoloji, optik, elektronik ve hatta mimari alanlardaki çeşitli teknolojik uygulamalarda karbon nanotüpler üzerinde çok sayıda araştırma yapılmıştır (Testa vd., 2019).

2.2.3. İnorganik nanopartiküller

Nanoteknolojik ilerlemelere öncülük etmiş olan, metal ve metal oksit nanopartiküller olarak sınıflandırılabilen inorganik NP'ler, partikül boyutuna bağlı olarak benzersiz fizikokimyasal özelliklere sahiptirler. Lokalize yüzey plazmon rezonansı (LSPR) özellikleri sayesinde eşsiz optik ve elektriksel özellikler sergilerler. Ayrıca, bazı metal bazlı NP'ler kendilerine özgü termal, manyetik ve biyolojik özellikler de barındırırlar. İnorganik NP'ler geniş yüzey alanı, biyouyumluluk ve yüksek stabilite gibi özelliklerinden dolayı organik NP'lere kıyasla daha avantajlıdır. Bu özellikler onları fiziksel, kimyasal, biyolojik, biyomedikal ve farmasötik alanlarda kullanılabilecek nano-cihazların geliştirilmesinde giderek daha değerli malzemeler yapmaktadır (Ealias ve Saravanakumar, 2017; Khan vd., 2019).

Metal NP'ler, metal çözeltiler kullanılarak farklı NP sentez yöntemleri ile nanometrik boyut aralığında sentezlenen nano parçacıklar olarak tanımlanmaktadır. Gümüş (Ag), altın (Au), bakır (Cu), çinko (Zn), demir (Fe), kurşun (Pb), kobalt (Co), alüminyum (Al) ve kadmiyum (Cd) elementleri metal NP'lerin sentezi için yaygın olarak kullanılan metallerdir (Ealias ve Saravanakumar, 2017).

Gümüş nanopartiküller (AgNP) kimyasal stabiliteleri ve yüksek elektriksel iletkenlikleri gibi özellikleri sayesinde biyosensörlerde, çevre mühendisliğinde ve fotonik uygulamalarda kullanılmaktadırlar. Ayrıca, geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteleri nedeniyle yara iyileştirme ürünlerinde, kateterler gibi medikal cihazlarda, su dezenfeksiyonunda ve gıda ambalajlarında da yer almaktadırlar (Sati vd., 2025). Küçük boyutları, geniş yüzey alanları ve modifikasyonlarının kolay olması nedeniyle ilaç dağıtımı, teşhis ve antikanser ajanları olarak kullanılabilecekleri bildirilmiştir. AgNP'lerin meme ve kolon kanseri gibi kanser hücrelerinde normal hücreleri etkilemeden apoptozu indükleyebileceği ortaya konmuştur (McNamara ve Tofail, 2017).

Altın nanopartiküller (AuNP) toksik etkisi olmayan biyouyumlu yapılarının yanı sıra, optik ve elektronik özellikleri sayesinde özellikle ilaç taşıma sistemlerinde, biyosensörlerde, görüntüleme tekniklerinde ve hedefe yönelik kanser tedavilerinde kullanılabilmektedirler (Singh vd., 2018). AuNP'lerin SARS-CoV-2 antijenleri ile

konjuge edilerek kan örneklerinde SARS-CoV-2'ye özgü IgM/IgA antikorlarının hızlı ve hassas bir şekilde tespit edilmesi, tanı amaçlı uygulamalarda da etkin şekilde kullanılabilirliklerini ortaya koymaktadır (Ahmadi vd., 2021).

Bakır nanopartiküller (CuNP) yüksek elektriksel iletkenlikleri ve düşük maliyetleri sayesinde özellikle elektronik devrelerde, güneş pili üretiminde, çevre arıtım sistemlerinde yaygın şekilde kullanılmaktadırlar. Bu NP'ler iletken mürekkep teknolojileriyle doğrudan baskı yapılarak, kablosuz tanıma sistemlerinden elektrolüminesans cihazlarına kadar birçok elektronik cihazda kullanılabilirler (Magdassi vd., 2010). Ayrıca, CuNP bazlı kaplamalar denizcilik ve endüstriyel uygulamalarda mikroorganizma birikimini önlemek amacıyla antifouling özellikler sunmaktadırlar (Anyagou vd., 2008).

Platin nanopartiküller (PtNP) sahip oldukları biyouyumlu yapı, yüksek katalitik aktivite ve optik özellikleri sayesinde geniş bir uygulama yelpazesinde değerlendirilmektedirler. PtNP'lerin aynı anda hem tedavi hem de tanı işlevi üstlenebilecek şekilde tasarlanarak kanser tedavisinde etkinliği artırmak ve sistemik yan etkileri azaltmak amacıyla geliştirilen çok işlevli taşıyıcı sistemlerde önemli rol oynayabileceği bildirilmiştir (Cheng ve Liu, 2017).

2.3. Metal Oksit Nanopartiküller ve Kullanım Alanları

Metal oksit nanopartiküller (MONP'ler) metal atomlarının oksijen ile birleşerek oluşturduğu bileşiklerin nano boyutlu formlarıdır. Bu partiküller yarı iletkenlik, manyetizma, katalitik aktivite ve antibakteriyel özellikler gibi birçok fonksiyonel özellik taşırlar. MONP'ler biyouyumlulukları, yüksek yüzey alanları, mekanik ve kimyasal stabiliteleri ile tanınırlar (Alameen vd., 2024; Tunkaew vd., 2024). Bu özellikleri sayesinde malzeme kimyası, tarım, tıp, elektronik, çevre ve enerji gibi farklı sektörlerde yaygın bir kullanım alanına sahiptirler. MONP'ler içerisinde genellikle çinko oksit (ZnO), magnezyum oksit (MgO), zirkonyum dioksit (ZrO₂), demir (II) oksit (FeO), bakır (II) oksit (CuO), nikel oksit (NiO) ve titanyum dioksit (TiO₂) gibi partiküller tercih edilmektedir (Nikolova ve Chavali, 2020).

Çinko oksit nanopartiküller (ZnO NP'ler) özellikle güçlü antimikrobiyal etkileri ile öne çıkmaktadırlar. Yarı iletken karakterde olan ZnO nano boyutta uygulandığında antibakteriyel etkinliği belirgin biçimde artmaktadır. ZnO NP'lerin küçük boyutları ve yüzey modifikasyonları, antibiyotik direnci geliştirmiş bakterilere karşı etkili bir

alternatif sunmaktadır (Alameen vd., 2024). Ayrıca, ZnO NP'ler kanser hücrelerine karşı seçici sitotoksikite göstermekte, mitokondriyal disfonksiyon, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ve apoptoz indüksiyonu yoluyla antikanser etki oluşturmaktadırlar (Nikolova ve Chavali, 2020). Bu özellikleri sayesinde ilaç taşıyıcı sistemlerde fonksiyonel ajan olarak değerlendirilmektedirler. Ek olarak diyabetik modellerde damar fonksiyonlarını iyileştirme potansiyeli ZnO NP'leri diyabetik komplikasyonların tedavisinde umut verici kılmalıdır (Hussein vd., 2018).

Titanyum dioksit nanopartiküller (TiO_2 NP'ler) fotokatalitik aktiviteleri sayesinde özellikle çevresel temizlik ve enerji dönüşüm teknolojilerinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Güneş ışığı altında aktif hale gelen TiO_2 NP'ler, organik kirleticileri parçalayarak su ve hava arıtımında etkili olmaktadır (Murthy vd., 2020). Aynı zamanda antimikrobiyal etkinlikleri nedeniyle yüzey kaplamalarında mikrobiyal kolonizasyonun engellenmesinde kullanılmaktadırlar. TiO_2 NP'ler biyomedikal alanda ise ilaç taşıma sistemleri, biyogörüntüleme, fotoablatif tedavi ve biyosensör geliştirme gibi çeşitli alanlarda potansiyel taşımaktadırlar (Andreescu vd., 2012; McNamara ve Tofail, 2017).

Demir oksit nanopartiküller (özellikle Fe_3O_4) süperparamanyetik özellikleri nedeniyle manyetik rezonans görüntüleme, hedeflenmiş ilaç taşıma ve kanser tedavisinde hipertermi uygulamaları gibi alanlarda önemli bir rol üstlenmektedirler. Bu NP'ler, dışsal manyetik alan uygulamasıyla lokalize ısı üreterek kanser hücrelerini seçici şekilde yok edebilmektedirler (Wu vd., 2015). Ayrıca, Fe_3O_4 NP'lerinin bakteriyel hücre zarlarına bağlanarak membran bütünlüğünü bozduğu ve ROS üretimiyle antimikrobiyal etki gösterdiği de bildirilmiştir (Sathishkumar vd., 2018). Ek olarak cıva, kurşun, arsenik ve kadmiyum gibi zehirli ağır metallerin sudan uzaklaştırılmasında potansiyel olarak etkili adsorban malzemeler olarak kullanılabilir ve bu yönüyle çevre ve insan sağlığına yönelik risklerin azaltılmasına katkı sağlayabilmektedirler (Khan vd., 2019).

Magnezyum oksit nanopartiküller (MgO NP'ler) düşük toksisiteleri ve yüksek biyoyumlulukları sayesinde gıda ambalajları, biyomedikal uygulamalar ve çevresel arıtma sistemlerinde değerlendirilmektedirler. MgO NP'lerinin antimikrobiyal ve anti-inflamatuar etkileri özellikle gıda koruma ve mikrobiyal kontaminasyonun önlenmesinde etkili olmalarını sağlamaktadır (Gatou vd., 2024).

Seryum oksit nanopartiküller (CeO_2 NP'ler) redoks döngüsüne dayalı antioksidan özellikleri sayesinde, oksidatif stresin rol oynadığı nörodejeneratif hastalıklar başta olmak üzere çeşitli hastalıklarda terapötik potansiyel göstermektedirler. Benzer şekilde, oksidasyon durumlarını değiştirme yeteneğiyle bilinen CeO_2 NP'ler katalitik aktiviteleri

ve antioksidan özellikleri nedeniyle biyosensör ve kanser tedavisi gibi uygulamalarda ilgi görmektedirler (Sahu vd., 2013). Ayrıca bu NP'lerin anti-inflamatuar etkileri onları geniş yelpazede tedaviye yardımcı ajanlar haline getirmektedir (Li vd., 2018).

Alüminyum oksit nanopartiküller (Al_2O_3 NP'ler) yüksek sertlikleri ve ısı kararlılıkları sayesinde endüstriyel uygulamalarda (aşındırıcılar, katalizör taşıyıcıları) yaygın olarak kullanılırken biyomedikal alanda da doku mühendisliği uygulamalarında hücre proliferasyonunu destekleyici özellikleri nedeniyle ilgi görmektedirler (Hashimoto ve Imazato, 2015; Pathania vd., 2016). Ancak, bazı çalışmalar Al_2O_3 NP'lerinin DNA hasarına yol açabileceğini ve genotoksik potansiyele sahip olabileceğini ortaya koymuştur (Tousson vd., 2024).

Mesoporoz silika nanopartiküller (SiO_2 NP'ler) geniş yüzey alanı, gözenek hacmi ve biyolojik uyumlulukları nedeniyle ilaç taşıma ve biyosensörler için umut verici adaylar olarak araştırılmaktadırlar (Slowing vd., 2007). SiO_2 NP'ler biyoyumlu yapıları sayesinde gen taşıyıcı sistemler olarak kullanılabilirler. Araştırmalar, bu NP'lerin farklı hücre hatlarında genetik materyali güvenli taşıyabildiğini ve bu taşıma sonucunda hedef proteinlerin ekspresyonunu başarılı bir şekilde baskılayabildiğini göstermiştir (Malvindi vd., 2012). Ayrıca SiO_2 NP'ler tarımda bitki büyümesini ve verimini artırmak için yapraktan uygulanan nanogübre olarak kullanılabilirler. Örneğin yer fıstığı bitkisinde SiO_2 NP uygulaması bitki yüksekliğini, fotosentez oranını ve verimini anlamlı düzeyde arttırmıştır (Prasad vd., 2023).

Bakır oksit nanopartiküller (CuO NP'ler) son yıllarda çevre, enerji, tarım ve tıp gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Çevresel uygulamalarda CuO NP'lerin özellikle tekstil boyaları gibi organik kirleticilerin parçalanmasında oldukça etkili olduğu gösterilmiştir. Örneğin, metil oranj gibi bazı boyar maddelerin %99'dan fazlasını yalnızca birkaç saat içinde bozundurarak su arıtımında yüksek verim sağlamaktadırlar (Hillyer vd., 2024). Ayrıca CuO NP'ler antibiyotik gibi maddelerin elektrokimyasal sensörler aracılığıyla tespitinde kullanılmakta ve yüksek hassasiyet sağlamaktadırlar (Jayasimha vd., 2024). Tıbbi alanda yapılan çalışmalarda ise CuO NP'lerin karaciğer kanseri hücre hatları üzerinde %75'e varan oranda inhibisyon etki gösterdiği rapor edilmiştir (Sarfraaz vd., 2023). Tarım uygulamalarında da bu NP'lerin önemli etkileri bulunmaktadır. Bazı bitkilerde tohumun su alma kapasitesini artırarak çimlenmeyi teşvik ettiği ayrıca toprakta azot döngüsünü etkileyerek bitki gelişimini desteklediği gösterilmiştir (Guan vd., 2020; Sarkar vd., 2021).

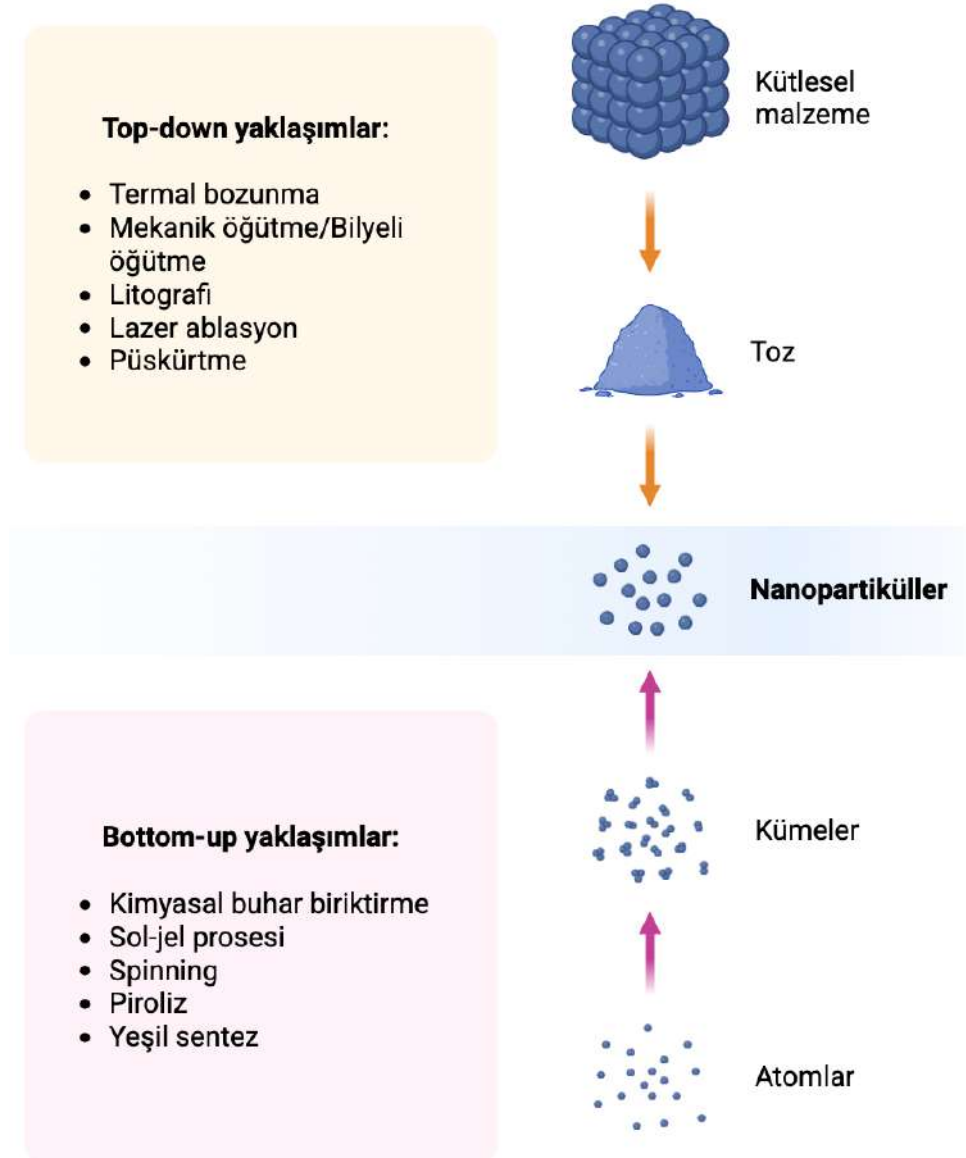
Sonuç olarak MONP'ler eşsiz fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri sayesinde biyomedikal, tarım, çevre ve enerji sektörlerinde geniş uygulama alanları sunmaktadır. Bununla birlikte bu NP'lerin uzun vadeli biyoyumlulukları ve potansiyel toksik etkileri konusundaki belirsizlikler daha fazla toksikolojik ve biyogüvenlik çalışmalarını gerekli kılmaktadır.

2.4. Metal/Metal Oksit Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri

Nanopartiküllerin sentezi için çeşitli yöntemler geliştirilmiş olup bu yöntemler genel olarak iki ana yaklaşıma ayrılmaktadır: “Yukarıdan aşağıya (Top-down)” ve “Aşağıdan yukarıya (Bottom-up)” (Isaacoff ve Brown, 2017). Bu iki temel yaklaşım kullanılan işlem türü, reaksiyon koşulları ve uygulanan protokollere bağlı olarak Şekil 2.3'te gösterildiği gibi farklı alt sınıflara ayrılmaktadır (Ijaz vd., 2020).

Yukarıdan aşağıya sentez tekniğinde yıkıcı bir süreç uygulanmaktadır. Büyük moleküller veya kütsel malzemeler, daha küçük parçalara ayrıştırılmakta ve bu küçük birimler uygun koşullar altında NP'lere dönüştürülmektedirler. Kavramsal olarak en basit yöntemlerden biri olan bu yaklaşım büyük hacimli malzemelerin küçültülmesi veya mevcut sentez prosedürlerinin minyatürleştirilmesiyle NP üretimini sağlamaktadır. Kullanılan teknikler arasında mekanik öğütme/bilyeli öğütme, püskürtme (sputtering), lazer ablasyonu, litografi, fiziksel buhar biriktirme (PVD) ve termal bozunma gibi yöntemler yer almaktadır (Iravani, 2011; Kumari vd., 2019).

Yukarıdan aşağıya sentez yönteminin avantajları arasında, yaygın olarak kullanılan ekipmanların mevcut olması ve prosedürlerin nispeten kolay uygulanabilirliği yer almaktadır. Ancak elde edilen yapıların çoğu zaman kusurlu olması ve kullanılan cihazların yüksek maliyeti önemli bir dezavantaj teşkil etmektedir. Ayrıca ultrasonik jeneratörler gibi yüksek frekanslı (>1.200.000 rpm) ekipmanların kullanılması gerektiğinde işlem daha karmaşık hale gelebilmektedir (Sajid, 2022; Sreekanth vd., 2018).



Şekil 2.3. NP sentezinde kullanılan farklı yaklaşımlar (Bu şekil [Biorender.com](https://www.biorender.com) kullanılarak oluşturulmuştur).

Aşağıdan yukarıya sentez tekniğinde nanoyapılar daha küçük birimlerin, örneğin atomların veya moleküllerin, bir araya gelmesiyle oluşturulmaktadır. Bu süreç, genellikle homojen bir reaksiyon ortamında ya da gaz fazında başlamakta olup yüksek derecede aşırı doymunluk sonrası çekirdek oluşumu ve ardından gelen büyüme süreci ile ilerlemektedir. Kullanılan teknikler arasında kimyasal çöktürme, mikroemülsiyon, hidrotermal sentez, poliol yöntemi, kimyasal buhar biriktirme, sol-jel prosesi ve biyolojik sentez bulunmaktadır (Behzad vd., 2021; Illath vd., 2021). Bu yaklaşımın başlıca avantajları arasında parçacık boyutunun daha iyi kontrol edilebilmesi, daha az yapısal kusur, homojen kimyasal bileşim, düşük maliyet ve kolay ölçeklenebilirlik yer

almaktadır. Dezavantajları ise genellikle uyumlu yüzeyler ve moleküller gerektirmesi ve atomik ya da moleküler düzeyde manipülasyon imkanlarının sınırlı olmasıdır (Sajid, 2022).

Kimyasal yöntemler kapsamında genellikle sert kimyasallar kullanılmakta; dimetilformamid, hidrazin ve sodyum borohidrür gibi maddeler indirgeme ve kaplama ajanı olarak görev yapmaktadırlar. Ayrıca bu yöntemler çoğunlukla yüksek sıcaklık ve vakum gibi özel koşullarda gerçekleştirilmekte ve çevresel açıdan risk oluşturmaktadırlar. Kullanılan toksik kimyasalların oluşturduğu atıkların toprağa veya su kaynaklarına boşaltılması mikroorganizmalar, bitkiler ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler yaratabilmektedir (Rana vd., 2013; Chandrakala vd., 2022).

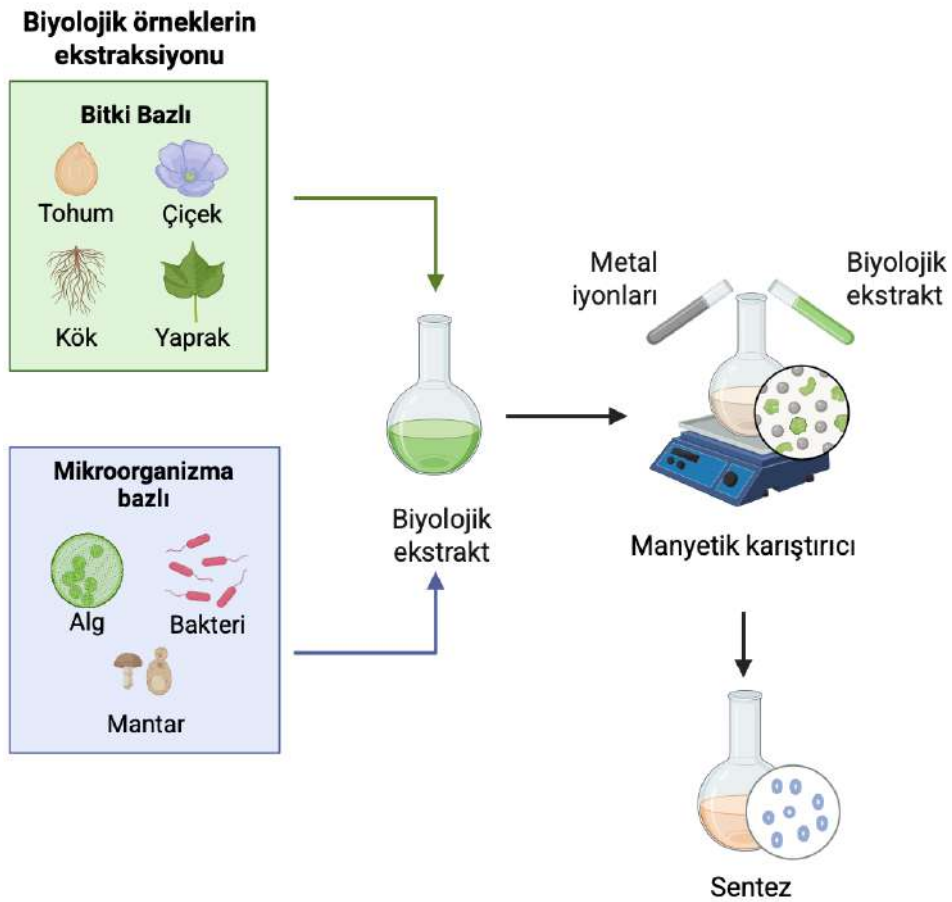
Bu nedenle araştırmacılar çevre dostu alternatifler geliştirme arayışına yönelmişlerdir. Özellikle yeşil ve biyojenik sentez yöntemleri düşük toksisite, çevre dostu oluşları ve düşük maliyet avantajları ile dikkat çekmektedirler (Parveen vd., 2016).

2.4.1 Biyolojik kaynaklı (yeşil) sentez ve avantajları

Yeşil veya biyolojik sentez NP'lerin düşük basınç, sıcaklık ve pH koşullarında, düşük maliyetle ve çevreye zarar vermeden elde edilmesini sağlayan bir yöntemdir. Bu süreçte bitki özleri, bakteri, mantar, maya ve alg gibi biyolojik sistemler kullanılırken sentetik kimyasallar yerine doğal bileşikler tercih edilmektedir (Şekil 2.4). Biyolojik sistemlerde bulunan proteinler, karbonhidratlar ve enzimler gibi moleküller, indirgeme ve kaplama ajanları olarak görev yaparak metal iyonlarının biyokimyasal reaksiyonlar yoluyla NP'lere indirgenmesini sağlamaktadırlar (Krishnaraj vd., 2014; Salem ve Fouda, 2021).

Yeşil sentez fiziksel ve kimyasal yöntemlerde karşılaşılan yüksek enerji tüketimi, toksik çözücü kullanımı ve pahalı reaktif ihtiyacı gibi dezavantajlara kıyasla çevre dostu ve sürdürülebilir bir alternatif sunmaktadır. Bu yöntem doğal ve ekonomik malzemelerle gerçekleştirildiği için enerji verimliliği, düşük maliyet, toksik olmayan maddelerle çalışma, az atık üretimi, kolay ölçeklenebilirlik ve biyoyumlu ürünler elde etme gibi birçok avantaja sahiptir (Moghaddam vd., 2015; Rana vd., 2020). Bu yöntemle üretilen NP'ler sağlık açısından güvenli, patojenik olmayan ve farmasötik ürünlerde kullanım için uygun niteliktedir. Ayrıca kimyasal yöntemlerde kullanılan çözücülerin nörolojik ve üreme sağlığı açısından tehlikeli olduğu bilinmektedir (Huston vd., 2021). Buna karşılık yeşil sentez toksik olmayan reaktiflerle gerçekleştirildiğinden çevre ve insan sağlığı

açısından daha güvenlidir. NP'lerin çevresel maruziyet riski taşıdığı göz önünde bulundurulduğunda yeşil sentezle elde edilen ürünlerin düşük ekotoksikolojik etkiye sahip olması da önemli bir avantajdır (Ying vd., 2022). Bunun yanı sıra yeşil sentez daha kontrollü bir şekilde ve istenilen boyut aralığında NP üretimi sağlayabilmektedir. Örneğin karşılaştırmalı bir çalışmada Fe_3O_4 NP'ler yeşil sentezle 2-80 nm boyutlarında elde edilirken kimyasal yöntemle bu boyutlar 87-400 nm arasında değişmektedir (Gokila vd., 2021)



Şekil 2.4. Nanopartiküllerin biyolojik sentezi (Bu şekil [Biorender.com](https://www.biorender.com) kullanılarak oluşturulmuştur).

Yeşil NP sentezinde mikroorganizmalar, çevre dostu, düşük maliyetli ve toksik olmayan biyolojik sistemler olarak öne çıkmaktadırlar. Redüktaz enzimleri gibi biyomoleküller sayesinde bu canlılar ağır metallerin detoksifikasyonunu sağlamakta ve metal tuzlarını NP'lere indirgemektedirler (Ijaz vd., 2020). Her bir mikroorganizmanın metal iyonlarıyla çeşitli yollarla etkileşime girmesi nedeniyle, mikrobiyal NP sentez mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamış olsa da, mikroorganizma türüne göre

sentezlenen NP'lerin şekli, boyutu ve morfolojik özellikleri değişmektedir (Salem ve Fouda, 2021). Maya, bakteri ve mantarlarda NP oluşumundan düşük moleküler ağırlıklı bir peptit olan glutatyon (GSH), metallothioneinler ve fitokelatinler gibi proteinler ile oksidoredüktazlar, NADH-bağımlı redüktazlar, nitroredüktazlar, NADH-bağımlı nitrat redüktazlar ve sistein desülfhidrazlar gibi enzimlerin sorumlu olduğu belirlenmiştir (Rana vd., 2020).

Araştırmalarda, *Bacillus methylotrophicus* (Wang, vd., 2016a), *Microbacterium resistens* (Wang, vd., 2016b), *Bacillus safensis* (Ojo vd., 2016), *Fusarium oxysporum* (Pourali vd., 2018), *Aspergillus terreus* (Balakumaran vd., 2016) ve *Penicillium verrucosum* (Yassin vd., 2021) gibi bakteri ve mantarların Ag ve Au NP'leri sentezlediği gösterilmiştir. Ayrıca, *Streptomyces* sp. SMGL39 ile demir oksit (Attea vd., 2024), *Pseudomonas kunmingensis* ve *Rhodotorula mucilaginosa* gibi türlerle platin (Eramabadi vd., 2020), çeşitli denizel bakteri türleriyle bakır (John vd., 2021), *Lactobacillus* türleriyle titanyum (Khan ve Fulekar, 2016), ve *Streptomyces coelicolor* ile MgO NP'lerin (Humaira vd., 2024) sentezlendiği çalışmalar mevcuttur.

Bitki aracılı NP sentezi, yeşil sentezin en yaygın uygulanan yöntemlerinden birini oluşturmaktadır. Bitkilerde bulunan ikincil metabolitler (alkaloidler, flavonoidler, fenolik asitler, saponinler, terpenoidler vb.) metal iyonlarını indirgemekte ve NP'leri stabilize etmektedirler (Jadoun vd., 2021; Singh vd., 2023). Sentez süreci üç aşamada gerçekleşmektedir: aktivasyon, termodinamik stabilite ve sonlanma (Makarov vd., 2014). Bu sürece etki eden faktörler arasında bitki özütünün konsantrasyonu, pH, metal iyonları, reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresi yer almaktadır (Monica Ahmad vd., 2024).

NP sentezinde yaprak, kök, meyve, çiçek, tohum ve kabuk gibi farklı bitki kısımlarının ekstraktları kullanılabilir. Uygulanan yaygın prosedür; ilgili bitki kısmının toplanması, yıkanması, kurutulması, öğütülmesi ve sıcak su ile ekstraksiyonudur. Elde edilen ekstrakt süzülme ve metal tuzu çözeltisi ile karıştırıldığında, NP oluşumu renk değişimiyle gözlemlenmektedir. Son olarak, santrifüjleme, yıkama ve kurutma adımları ile ürün saflaştırılmaktadır (Khan vd., 2022; Zulfiqar vd., 2024).

Örnek olarak *Euphorbia hirta* bitkisinin yaprak ekstraktı kullanılarak AgNP'ler sentezlenmiş ve bu AgNP'lerin antimikrobiyal ve antikanser etkiler gösterdiği belirlenmiştir (Ramachandran vd., 2022). *Alternanthera sessilis* ekstraktıyla tekstil uygulamalarında kullanılmak üzere 15-40 nm boyutlarında AgNP'ler sentezlendiği ve antimikrobiyal etkiler gösterdiği belirtilmiştir (Kabeerdass vd., 2022). Aloe vera özütüyle

selenyum NP'ler sentezlenmiş ve bu NP'lerin bitki hastalıklarına karşı etkili olduğu bulunmuştur (Shang vd., 2023). *Magnolia kobus* yaprakları ile yapılan sentezde %90'lık indirgeme, bildirilen diğer yöntemlerden çok daha hızlı bir şekilde 3 dakika içinde gerçekleşmiştir (J. Y. Song vd., 2009).

Combretum erythrophyllum yaprağı ile AgNP'ler yaklaşık 13 nm boyutunda elde edilmiş ve güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Fanoro vd., 2021). *Leonotis ocyimifolia* bitkisiyle sentezlenen ZnO NP'ler 18-19 nm boyutunda olup, boya bozunmasında %89,8 oranında başarı ve güçlü antibakteriyel etki sergilemiştir (Mutukwa vd., 2024). *Andrographis paniculata* yaprak ekstraktı ile sentezlenen neodimyum oksit NP'ler antioksidan, antimikrobiyal, antikanser, anti-inflamatuar özellikleriyle dikkat çekmiş ve çeşitli biyomedikal uygulamalarda değerlendirilmiştir (Sundrarajan ve Muthulakshmi, 2021). *Bacopa monnieri* ekstraktı ile Au, Ag, Zn ve Cu NP'ler sentezlenmiş ve bu NP'lerin hafıza geliştirici bileşiklerin üretimini artırdığı, antimikrobiyal ve antikanser aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Dadhich vd., 2025).

Bitki kaynaklı NP sentezinde canlı bitkilerin kullanımı da mümkün olmaktadır. Örneğin, *Vigna unguiculata* ve *Arachis hypogaea* gibi bitkilerin kökleriyle Au ve Ag NP'ler sentezlenmiştir. Bitki sistemleri metal stresine yanıt olarak fenolik bileşikler ve antioksidanlar salgılayarak metal iyonlarını NP'lere dönüştürmüştür (Raju vd., 2014; Stela Dragan vd., 2022).

Bu veriler ışığında bitki özütleri ile yapılan yeşil sentez tek adımlı, hızlı, ekonomik, toksik olmayan ve çevreye duyarlı bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Bitkisel NP sentezine yönelik çalışmaların artması, biyoteknoloji ve nanoteknoloji alanında sürdürülebilir uygulamaların önünü açmaktadır.

2.5. Nanopartiküllerin Karakterizasyon Teknikleri

NP'lerin morfolojik, yapısal, optik, parçacık boyutu ve yüzey alanı karakterizasyonu için çeşitli tekniklerden yararlanılmaktadır. Yaygın olarak kullanılan karakterizasyon teknikleri arasında X-ışını difraksiyonu (XRD), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX), kızılötesi spektroskopi (IR), UV-görünür bölge spektroskopisi (UV-Vis), dinamik ışık saçılması (DLS), atomik kuvvet mikroskobu (AFM), taramalı elektron mikroskobu (SEM), geçirimli elektron mikroskobu (TEM) gibi yöntemler yer almaktadır (Joudeh & Linke, 2022).

XRD NP'lerin kristal yapısını ve faz özelliklerini belirlemede en sık kullanılan yapısal karakterizasyon tekniklerinden biridir. Kristallik derecesi, faz türü ve kafes parametreleri gibi bilgiler sunmasının yanında Debye-Scherrer formülü aracılığıyla partikül boyutu hakkında yaklaşık bir tahmin yapılabilir (Alam vd., 2025). XRD genellikle kurutulmuş toz örnekler için uygulanmakta ve hacim ortalamasına dayalı istatistiksel veriler sunmaktadır. Kristal boyutu genellikle en yoğun pikin genişliği kullanılarak Scherrer denklemi ile hesaplanmaktadır. Pik konumu ve yoğunlukları Uluslararası Difraksiyon Verileri Merkezi (ICDD, eski adıyla JCPDS) verileriyle karşılaştırılarak bileşimsel analiz yapılabilir. Ancak, cihaz kaynaklı genişlemeler ve yapısal kusurlar gibi faktörler hesaplamaları etkileyebilmektedir (Bin Mobarak vd., 2022). Bu nedenle, XRD ile elde edilen boyutların TEM ya da SEM gibi tamamlayıcı tekniklerle desteklenmesi önerilmektedir.

Yeşil sentezle üretilen NP'lerin karakterizasyonunda XRD yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin, *Trichoderma koningii*, *Solanum tuberosum* ve *Acanthospermum hispidum* ile sentezlenen AgNP'lerde, yüzey merkezli kübik gümüş yapısına karşılık gelen karakteristik XRD pikleri gözlemlenmiştir (Joudeh ve Linke, 2022).

FTIR bir malzemeye kızılötesi ışık uygulanarak, orta kızılötesi bölgedeki ($4000-400\text{ cm}^{-1}$) elektromanyetik ışınının soğurulması ya da iletilmesi yoluyla elde edilen spektrumun kaydedilmesine dayanan bir spektroskopi tekniğidir. Elde edilen spektrum, örneğe özgü bir parmak izi niteliği taşımakta ve bağ türleri, polarite ve oksidasyon durumu gibi yapısal özelliklerin yanı sıra moleküler yapı ile etkileşimlerin ayrıntılı olarak değerlendirilmesine olanak tanımaktadır. NP'lerin yapı, bileşim, boyut ve yüzey özelliklerinin analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Pasieczna-Patkowska vd., 2025).

FTIR biyolojik sentez NP'lerde, indirgeme ve stabilizasyondan sorumlu yüzey fonksiyonel gruplarının belirlenmesinde etkin bir araçtır. Örneğin, kaktüs inciri ekstresiyle sentezlenen CuO NP'lerin FTIR sonuçlarında, özütteki fitokimyasalların indirgeme ajanı olarak görev yaptığı ve NP yüzeyini kaplayarak stabilizasyon sağladığı anlaşılmıştır (Badri vd., 2021). Ek olarak, *Lantana camara* ekstraktı ile sentezlenen itriyum oksit (Y_2O_3) NP'lerle yapılan FTIR analizleri ile, ekstraktta bulunan O-H, C=O, CH-OH ve fenolik grupların NP yüzeyinde yer aldığı tespit edilmiştir (Govindasamy vd., 2022).

UV-vis spektroskopisi nanomalzemelerin incelenmesinde yaygın olarak kullanılan, nispeten basit ve düşük maliyetli bir karakterizasyon tekniğidir. Bu yöntem, görünür ve ultraviyole ışık kullanarak bir numunenin absorpsiyonunu veya yansımısını değerlendirmektedir. Numuneden yansıyan ışığın şiddeti, referans bir malzemeden yansıyan ışıkla karşılaştırılarak analiz edilmektedir. Metal NP'ler UV-vis spektrumunda, gelen ışığın yüzey elektronlarıyla etkileşimi sonucu oluşan karakteristik bir LSPR bandı sergilemekte ve bu bant, NP'lerin yapısal ve çevresel özelliklerine bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Bu özellik, UV-vis spektroskopisini metal NP'lerin tanımlanması, karakterize edilmesi, optik davranışlarının incelenmesi ve kolloidal çözeltilerdeki kararlılığın değerlendirilmesi açısından önemli bir araç hâline getirmektedir. Genellikle 300-800 nm dalga boyu aralığında uygulanan bu teknikle, 2-100 nm boyutundaki farklı metal NP'lerin oluşumu ve sulu çözelti içerisindeki stabiliteleri değerlendirilebilmektedir (Mourdikoudis vd., 2018; Chang vd., 2019; Klinavičius vd., 2024).

Birçok çalışmada biyosentezle elde edilen metal NP'lerin optik özellikleri ve katalitik aktiviteleri UV-Vis spektroskopisiyle analiz edilmiştir. Örneğin, *Muntingia calabura* ile sentezlenen kobalt oksit (CoO) NP'lerin UV-Vis analizinde 2.05 eV band aralığına denk gelen birden fazla absorpsiyon piki gösterilmiştir. Bu zirveler, Co-O bağlarının varlığını ve NP'lerin optik bant aralığını göstermektedir (Vinayagam vd., 2023). *Pseudomonas kunmingensis* ve diğer bakteri türlerinden elde edilen hücre lizatu süpernatantı kullanılarak sentezlenen PtNP'lerin UV-Vis analizinde $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 'nun 260 nm'deki karakteristik zirvesinin 330 nm'ye kaydığı gösterilmiştir. Bu spektral kayma Pt^{4+} iyonlarının Pt^0 'a indirgendiğini ve PtNP'lerin oluştuğunu doğrulamaktadır (Eramabadi vd., 2020).

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) elektron tarama prensibine dayanan ve NP'lerin nano ölçekte detaylı analizine olanak sağlayan önemli bir görüntüleme ve karakterizasyon tekniğidir. SEM yalnızca NP'lerin şekil, boyut ve morfolojisini değil, aynı zamanda bunların matris veya kütle içerisindeki dağılımını incelemek amacıyla da yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu teknikte bir elektron tabancası tarafından üretilen elektron demeti, çeşitli mercekler aracılığıyla mikroskop boyunca dikey bir hat izleyerek örneğe yönlendirilmektedir. Elektron demeti örneğe çarptığında örnekten elektronlar ve X-ışınları yayılmakta ve bu sinyaller, örneğin üç boyutlu yüzey görüntüsünü oluşturmak üzere dedektörler tarafından toplanmaktadır (Vladár ve Hodoroaba, 2020). SEM sistemleri kullanım kolaylığı, hızlı ölçüm süreci ve daha düşük edinim ve bakım

maliyetleri açısından avantaj sağlamaktadır (Modena vd., 2019). Alan emisyonlu SEM (FE-SEM) ise çok daha küçük elektron demeti çapı ve daha yüksek parlaklığa sahip alan emisyonlu bir elektron kaynağı kullanarak çok daha yüksek çözünürlük sunmaktadır. FE-SEM düşük hızlandırıcı gerilimlerde bile nanometrik çözünürlükte görüntüleme yapabilmesi sayesinde özellikle NP'lerin karakterizasyonunda tercih edilmektedir (Gauvin ve Horny, 2000).

Geçirimli elektron mikroskopisi (TEM) NP'lerin morfoloji, boyut ve kristal yapılarının belirlenmesinde en sık kullanılan yüksek çözünürlüklü görüntüleme tekniklerinden biridir. Bu teknikte elektromanyetik bir mercekle, örneğin çok ince bir kesitine, son derece ince bir elektron demetini odaklamaktadır. Elektronların bir kısmı saçılmakta, bir kısmı ise doğrudan örnekten geçerek mikroskobun altındaki floresan ekrana ulaşmaktadır. Elektron yoğunluklarındaki farklılıklar, örneğin görüntüsünü oluşturan kontrastı sağlamaktadır (Joudeh ve Linke, 2022). Modern TEM cihazları aberasyon düzelticiler sayesinde 0.05-0.1 nm'ye kadar atomik çözünürlük sunmakta bu da tekil NP düzeyinde detaylı yapı analizine olanak tanımaktadır. TEM aynı zamanda NP homojenliğinin güvenilir bir şekilde değerlendirilmesini de mümkün kılmaktadır. Tipik bir analizde yaklaşık 1000 rastgele seçilmiş NP'nin boyutlarının ölçülmesiyle istatistiksel olarak anlamlı boyut dağılımı elde edilmektedir (Modena vd., 2019). NP'lerin yapısal ve optik özelliklerine dair farklı türde bilgiler sunduğundan, TEM ve SEM karakterizasyon sürecinde birbirini tamamlayıcı şekilde tercih edilmektedirler.

Bitki ekstraktları aracılığıyla biyolojik olarak sentezlenen MONP'lerin morfolojik ve yapısal özellikleri, TEM ve SEM teknikleriyle detaylı biçimde karakterize edilmiştir. Örneğin, *Rheum ribes* ekstraktı kullanılarak sentezlenen ZnO NP'lerin TEM görüntülemesinde 20-40 nm boyutunda parçacıklar gözlemlenmiş ve XRD verileriyle bu bulgular desteklenmiştir (Cengiz vd., 2024). *Pterolobium hexapetalum* kullanılarak elde edilen FeO NP'ler için yapılan TEM analizinde ise NP'lerin 20-28 nm boyut aralığında ve küresel morfolojiye sahip olduğu gözlemlenmiştir (Loganathan vd., 2023). Benzer şekilde kaktüs inciri meyve kabuğundan sentezlenen CuO NP'lerin SEM ve TEM analizleri ile, 20-40 nm boyutlarında, düzenli küresel yapıya sahip NP'lerin varlığı gösterilmiştir (Badri vd., 2021).

Enerji dağılımlı X-Işını spektroskopisi (EDX) bir elektron demetinin örnek yüzeyine çarptırılması sonucu iç kabuktaki elektronların yerinden çıkması ve dış kabuktaki elektronların bu boşluğu doldururken karakteristik X-ışınlarının yayılması prensibine dayanmaktadır. Her element kendine özgü atomik yapısı nedeniyle belirli

enerji seviyelerinde X-ışınları yaymakta ve bu özellik elementel bileşimin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Groarke vd., 2021). EDX, genellikle SEM veya TEM cihazlarına entegre edilen küçük bir ünite olarak çalışmaktadır. Elektron demeti, bu cihazlar aracılığıyla tek bir parçacığa odaklanarak o parçacığın bileşimi hakkında bilgi vermektedir. EDX temelde yalnızca elementlerin varlığını belirlemeye yönelik nitel bir analiz sunmakta, ancak spektrum üzerindeki tepe yoğunlukları, bu elementlerin göreceli bolluğuna dair yaklaşık bir değerlendirme yapılmasına olanak tanımaktadır. SEM veya TEM cihazlarına entegre olduklarından aynı anda morfolojik ve kimyasal analiz imkânı sunması ve ekstra altyapı gerektirmemesi nedeniyle araştırmalarda sıkça tercih edilmektedir (Goldstein vd., 2017; Ali vd., 2024)

EDX biyolojik kaynaklı sentezlenen NP'lerdeki elementlerin varlığını doğrulamak amacıyla yaygın şekilde kullanılmıştır. *Paenibacillus polymyxa* bakterisi ile sentezlenen ZnO, MnO₂ ve MgO NP'lerin EDX analizleri, her bir metal oksit için ilgili elementlerin varlığını net olarak ortaya koymuştur (Ogunyemi vd., 2020). *Dovyalis caffra* yaprak özütü kullanılarak sentezlenen CuO, ZnO NP'lerin ve CuO–ZnO nanokompozitinin EDX analizi, bu yapılarda herhangi bir yabancı element bulunmadığını doğrulamıştır (Adeyemi vd., 2022).

Zeta (ζ) potansiyel ölçümleri, kolloidal çözeltilerde NP'lerin yüzey yükünü belirlemek amacıyla kullanılan temel yöntemlerdendir ve ölçüm için zeta potansiyel analizörleri kullanılmaktadır. Yüksek pozitif veya negatif zeta potansiyelleri parçacıklar arasında itici kuvvetler oluşturarak aglomerasyonu engellemekte, parçacıklar arasındaki elektrostatik itme artmakta ve kolloidal stabilite sağlanmaktadır. ± 20 -30 mV ve üzerindeki ζ -potansiyel değerleri genellikle stabil sistemler olarak kabul edilmektedirler. Zeta potansiyel değeri çözeltinin konsantrasyonu, çözücünün bileşimi ve çözeltideki katkı maddeleri gibi parametrelerden etkilenmektedir (Baldassarre vd., 2015).

Biyolojik olarak sentezlenen MONP'lerin zeta potansiyeli bitki türüne ve sentez koşullarına bağlı olarak değişmektedir. Örneğin, *Averrhoa carambola* ekstraktıyla sentezlenen CuO NP'lerin zeta potansiyel değeri -13,65 mV olarak belirlenmiş ve bu sonuç, orta düzeyde stabiliteyi göstermektedir (Saha vd., 2023). *Stevia* bitkisi kullanılarak sentezlenen süper manyetik demir oksit NP'lerin zeta potansiyeli -41,1 mV olup, bu yüksek negatif yük, parçacıkların birbirini iterek yüksek kolloidal stabilite sergilediğini göstermiştir (Khatami vd., 2019).

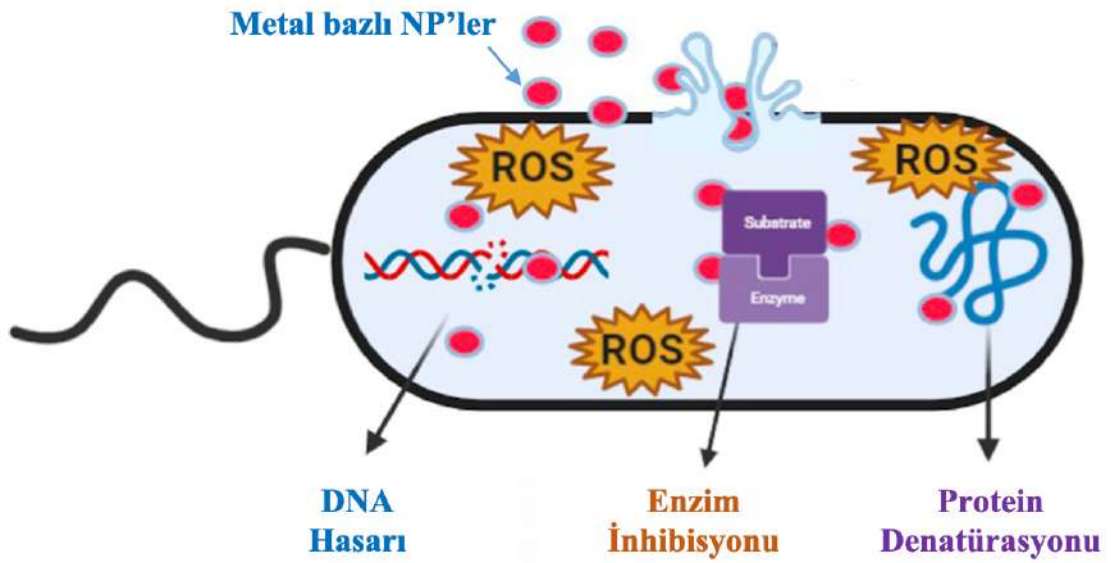
2.6. Metal ve Metal Oksit NP'lerin Antibakteriyel Etkileri ve Etki Mekanizmaları

Çoklu ilaç dirençli bakteri suşlarının hızla yayılması bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde mevcut antibiyotiklerin etkinliğini ciddi şekilde sınırlamaktadır. Bu durum, yeni antibiyotiklerin geliştirilmesini acil bir gereklilik hâline getirmektedir. Ancak tamamen yeni antibiyotiklerin keşfi oldukça güçtür ve uzun zaman almaktadır çünkü yeni geliştirilen moleküller sıklıkla mevcut antibiyotiklerle benzer biyokimyasal özellikler taşımakta ve dolayısıyla aynı direnç mekanizmalarıyla etkisiz hâle getirilebilmektedirler (Zhan vd., 2024). Bu bağlamda, bakterilerin klasik antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç mekanizmalarını aşabilecek alternatiflerin başında, basit sentez yöntemleri, ultra küçük boyutları, yüksek yüzey/hacim oranları, yüzeylerinin modifiye edilebilir olması, fizyolojik koşullarda yüksek stabilite göstermeleri ve spesifik hedefleme kabiliyetleri gibi avantajlı özellikleriyle MNP'ler ve MONP'ler gelmektedirler (Pachaiappan vd., 2021). MONP'ler, MNP'lere kıyasla daha fazla kenar ve köşe içermekte ve daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermektedirler. Birden fazla biyomolekülü eş zamanlı olarak hedef alabilen metal bazlı NP'ler, bakterilerde aynı anda birden çok genetik mutasyon gerektiren karmaşık direnç mekanizmalarının gelişmesini zorlaştırarak, dirençli suşların ortaya çıkmasını engelleyebilecek potansiyele sahiptirler (Zhan vd., 2024). Çok sayıda çalışma, bu NP'lerin antibakteriyel etkilerinin güçlü ve geniş spektrumlu olduğunu ortaya koymakta ve bu özellikleriyle konvansiyonel antibiyotiklerin karşılaştığı sınırlamaları aşabilecek umut verici ajanlar olduklarını göstermektedir (Jeevanandam vd., 2018; Pachaiappan vd., 2021; Zhan vd., 2024)

Metal bazlı NP'lerin antimikrobiyal etkilerinin altında yatan mekanizmalar tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır ve halen araştırılmaktadır. Bu mekanizmaların başında, NP'lerin bakteriyel hücre duvarıyla elektrostatik etkileşime girerek zar bütünlüğünü bozması yer almaktadır (Gold vd., 2018). Bakterilerin yüzey yükü hücre duvarlarının yapısal farklılıklarına bağlıdır. Gram-pozitif bakteriler 20-80 nm'lik kalın bir peptidoglikan tabakasına ve lipoteikoik asitlere (LTA) sahiplerken, Gram-negatif bakteriler daha ince peptidoglikan tabakası ile birlikte lipopolisakkarit (LPS) içeren çok katmanlı bir duvar yapısına sahiptirler. Gram-pozitiflerde LTA, Gram-negatiflerde ise LPS bulunması, hücre yüzeyinin negatif yüklü olmasına neden olmaktadır (Silhavy vd., 2010). Bu negatif yük, pozitif yüklü MONP'lerle olan elektrostatik etkileşimi kolaylaştırarak hücre membranı ile doğrudan temas sağlamaktadır. FTIR spektroskopisi analizleri, Al_2O_3 , TiO_2 ve ZnO NP'lerin sırasıyla *Escherichia coli*, *Pseudomonas*

aeruginosa ve *S. aureus* ile etkileşime girerek LTA'ya ligand değişimi ve LPS'ye hidrojen bağları yoluyla bağlandığını göstermektedir (Jiang vd., 2010). Pek çok çalışma zar yüzeyine gerçekleşen bu adsorpsiyonun ve hücreye penetrasyon sonrasında meydana gelen zar bütünlüğü kaybının, NP'lerin toksisitesinin temel mekanizmasını oluşturduğunu öne sürmektedir. NP'lerin hücre duvarına adsorpsiyonu, hücre zarında depolarizasyona neden olmakta bu da hücre duvarının tipik negatif yükünü değiştirerek geçirgenliği arttırmaktadır (Slavin vd., 2017).

Metal iyonlarının salınımı, metal bazlı NP'lerin antibakteriyel etki mekanizmalarının önemli bir bileşenidir. Salınan metal iyonları, hücrenin yaşamsal taşıma süreçlerini sekteye uğratarak zar geçirgenliğini artırmakta, LPS molekülleri ve zar proteinleri gibi hücresel bileşenlerin dış ortama sızmasına yol açmakta, iyon dengesi ve pH homeostazını bozmakta ve sonuçta lizis ile hücre ölümüne neden olmaktadır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Metal bazlı NP'lerden salınan iyonların bakteriyel hücre duvarı ile etkileşime girmesi ve hücre içine nüfuz etmesi sonucunda bakteri inhibisyonunda rol oynayan başlıca mekanizmalar (Pachaiappan vd., 2021)

Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ag^{+} gibi NP kaynaklı iyonlar, hücre içi proteinlerle koordinatif bağ kurarak özellikle enzimlerin aktif bölgelerini etkisiz hâle getirmektedirler. Bazı iyonların peptidoglikan sentezine katılan enzimlerle etkileşime girerek sentez sürecini bozduğu gösterilmiştir. Ek olarak, NADH dehidrogenaz, ATP sentaz gibi enerji üretiminden sorumlu enzimlerin yanı sıra, süperoksit dismutaz gibi oksidatif stresi baskılayan

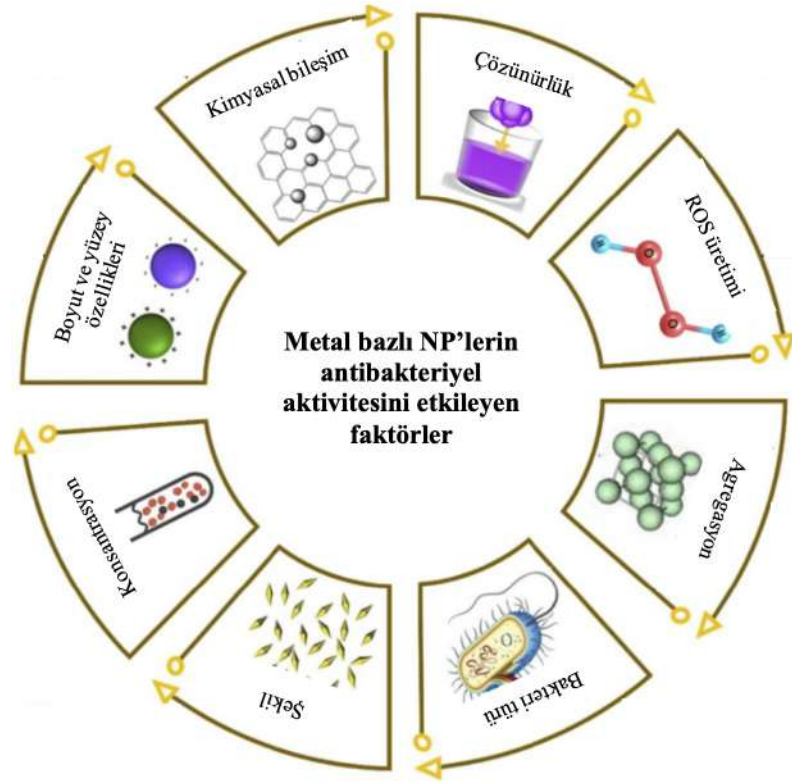
enzimlerin inhibisyonu, hücre içi enerji metabolizmasının bozulmasına veya durmasına yol açabilmektedir (Gold vd., 2018; Pachaiappan vd., 2021). NP'lerin iyon salımının, elementin kimyasal özelliklerine bağlı olduğu görülmektedir. Örneğin, Cu-NP'ler, Ag-NP'lere kıyasla 253 kat daha fazla iyon salarak *Listeria monocytogenes*'e karşı daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir, bu farkın, bakırın daha yüksek oksidasyon eğiliminden kaynaklandığı düşünülmektedir (Tamayo vd., 2014).

İyon salımına paralel olarak NP'lerin doğrudan ya da dolaylı yoldan ROS (reaktif oksijen türleri) üretimini tetiklemesi, bakteriyel hücreler üzerinde ciddi oksidatif hasara neden olan bir diğer önemli mekanizmadır (Zhang vd., 2022). Bu tür ROS molekülleri arasında hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$) ve hidroksil radikali ($\bullet OH$) yer almakta olup, lipid peroksidasyonu yoluyla hücre membranı bütünlüğünü bozarak membranla ilişkili işlevlere müdahale etmektedirler. ROS başta oksidasyona karşı yüksek duyarlılığa sahip olan sistein ve metiyonin olmak üzere, birçok amino asidi geri dönüşümsüz şekilde modifiye ederek proteinlerin yanlış katlanmasına ve işlevlerinin bozulmasına yol açmaktadırlar. Ayrıca DNA çift sarmalında kırılmalara ve özellikle düşük redoks potansiyeline sahip pürinlerin yanı sıra pirimidin bazlarında da modifikasyonlara neden olarak bakteriyel DNA'ya zarar vermektedirler (Packialakshmi vd., 2023). ZnO, TiO₂, CuO ve Fe₂O₃ gibi MONP'lerin yüksek ROS üretim kapasitesi, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler üzerinde geniş spektrumlu etkinlik göstermelerine neden olmaktadır (Zhan vd., 2024). Fe₂Ti₃O₉ (demir-titanyum oksit) NP'ler ile muamele edilen Gram-negatif (*E. coli*, *P. aeruginosa*) ve Gram-pozitif (*Bacillus subtilis*, *S. aureus*) bakterilerde yüksek ROS aktivitesine bağlı olarak güçlü antimikrobiyal etki gözlemlenmiş ayrıca *E. coli*'nin kromozomal DNA'sında parçalanma meydana geldiği raporlanmıştır (Karimi vd., 2021). Benzer şekilde CuO ve ZnO NP'lerin bakteriyel hücrelere girdikten sonra aşırı ROS üretimine neden olduğu, bunun da hücre içi yapıların, özellikle proteinlerin yapısal bütünlüğünü bozduğu gösterilmiştir (Su vd., 2019).

Genetik düzeyde metal bazlı NP'lerin DNA'ya doğrudan bağlanarak replikasyon ve transkripsiyon süreçlerini engellediği, gen ekspresyonunu düzenleyen yolları sekteye uğrattığı gösterilmiştir. Örneğin *recN* ve *groL* gibi DNA onarım ve stres yanıtı ile ilişkili genlerin aşırı ekspresyonu, hücre içi alarm mekanizmalarının devreye girmesine ve devamında apoptoza benzer hücresel çöküşe neden olmaktadır (Slavin vd., 2017). CeO₂ NP'lere maruz bırakılan *E. coli* hücrelerinde, 144 genin farklı şekilde ifade edildiği (diferansiyel ekspresyon) rapor edilmiştir. Özellikle solunum zincirinde görev alan

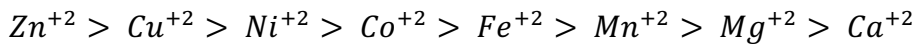
sitokrom terminal oksidazın I ve II numaralı alt birimlerini kodlayan *cydA* ve *cydB* transkriptlerinin yüksek düzeyde ifade edildiği gözlenmiştir. Diğer bazı genlerdeki değişimler ise, CeO₂'nin solunum süreçlerini veya demir homeostazını bozduğunu düşündürmektedir (Pelletier vd., 2010). Benzer şekilde *E. coli*'nin MgO NP'lerle muamelesi sonucunda, 109 proteinin diferansiyel olarak düzenlendiği ve bunların büyük çoğunluğu merkezi metabolizma, genetik transkripsiyon ve temel hücresel işlevlerle ilişkili olan 83 proteinin aşağı regülasyona uğradığı gösterilmiştir (Leung vd., 2014a). Farklı NP türleri hücre içi antioksidan savunma sistemini genetik düzeyde farklı şekilde etkileyebilmektedirler. Örneğin, TiO₂ NP muamelesi ile her ikisi de peroksit metabolizmasında görevli *AphF* enziminin yukarı regülasyona, *AhpC* geninin ise aşağı regülasyona uğradığı bildirilmiştir (Gou vd., 2010; Sohm vd., 2015). Ancak, AgNP maruziyeti sonrasında ise *AhpC*'nin yukarı regüle olduğu raporlanmıştır. Bu durum, NP'lerin, hücresel düzeyde farklı stres yanıt yollarını ve sinyal mekanizmalarını aktive edebileceğini ortaya koymaktadır (Soni vd., 2014).

Metal bazlı NP'lerin antibakteriyel aktivitesi yalnızca kimyasal bileşimlerine değil aynı zamanda boyut, şekil, morfoloji, kristallik, çözünürlük, agregasyon durumu, yüzey alanı ve yüzey yükü gibi fiziko-kimyasal özelliklerine de bağlıdır (Şekil 2.6). NP'lerin konsantrasyonu ve etkileşimde bulundukları bakteri türü de bu etkinliği belirleyen önemli faktörler arasındadır (Medic vd., 2024).



Şekil 2.6. Metal bazlı NP'lerin antibakteriyel aktivitesini etkileyen faktörler (Packialakshmi vd., 2023).

Ayrıca metal bazlı NP'lerin biyosidal potansiyeli biyomoleküllerin ve hücresel bileşenlerin ligandlarına karşı yüksek afinitelerine de bağlıdır (Packialakshmi vd., 2023). Biyomoleküllere en yüksek afiniteye sahip metal iyonları aşağıdaki şekilde sıralanmaktadır:



Antibiyotiklerle kombinasyon hâlinde kullanılan NP'lerin sinerjistik etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir. NP'lerin antibiyotiklerle kombinasyonu antimikrobiyal etkiyi artırmakla kalmayıp aynı zamanda antibiyotiklere karşı gelişen direnç mekanizmalarının aşılmasında da etkili olmaktadır. Örneğin metisilinle kompleks oluşturulan ZnO NP'ler *S. aureus* türlerine karşı etkili olurken, ampisilinle birleştirilen ZnO NP'ler ROS üretimini tetikleyerek ve hücre duvarını bozarak *Klebsiella pneumoniae* üzerinde inhibitör etki göstermiştir (Medic vd., 2024). Benzer şekilde, TiO₂ NP'lerin metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarına karşı beta laktamlar, sefalosporinler, aminoglikozitler, glikopeptitler, makrolidler, linkozamidler ve tetrasiklin gibi

antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında bu antibiyotiklerin antimikrobiyal etkinliğini artırdığı gösterilmiştir (Roy vd., 2010).

Bu çok yönlü ve entegre mekanizmalar metal bazlı NP'leri klasik antibiyotiklere kıyasla üstün kılmakta, tek bir hedefe yönelik değil, çoklu hücresel yapılara eşzamanlı baskı uygulayarak bakteriler için direnç geliştirmenin önünü kesmektedir. Dolayısıyla bu yapıların kontrollü, hedefe yönelik ve biyouyumlu biçimlerde tasarlanması geleceğin antimikrobiyal tedavi yaklaşımları açısından temel stratejilerden biri olacaktır.

2.7. ZnO NP'lerin Oral Patojenler Üzerindeki Biyolojik Etkileri

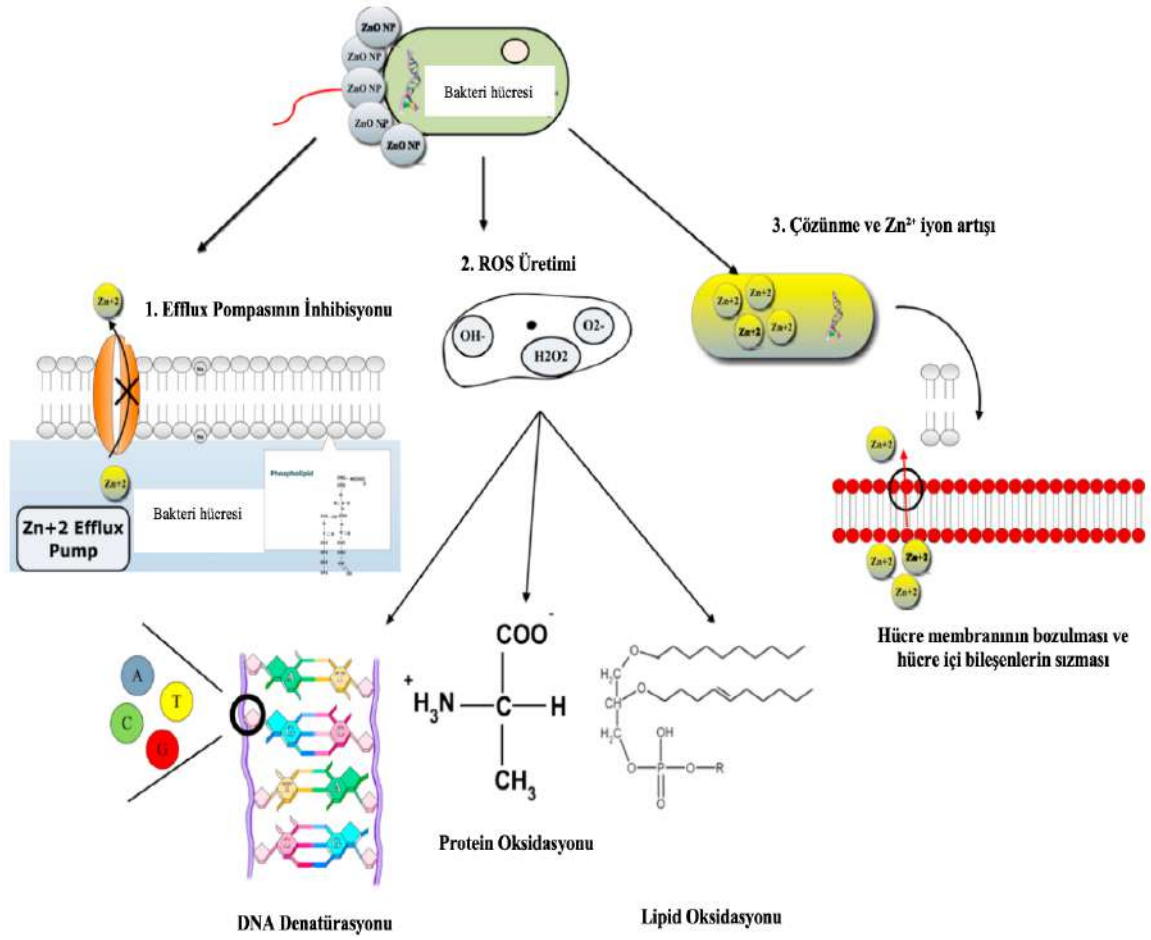
Ağız boşluğu 700'den fazla bakteri türünü barındıran ve bu yönüyle insan vücudundaki en karmaşık mikrobiyal ekosistemlerden biridir. Bu mikroorganizmaların çoğu kommensal nitelikte olup ağız içi homeostazın korunmasında görev alırken çeşitli çevresel faktörler, konak bağışıklığının zayıflaması veya oral hijyenin bozulması gibi etkenler sonucu patojenik hale gelmekte, lokal veya sistemik enfeksiyonlara neden olabilmektedirler (Rajasekaran vd., 2024). *S. mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *E. faecalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinomyces* spp., *Tannerella forsythia*, *S. aureus*, *Treponema denticola* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gibi birçok bakteriyel türün dental plak oluşumu, diş çürükleri, gingivit ve periodontitis gibi diş eti hastalıkları, kök kanal enfeksiyonları gibi endodontik enfeksiyonlar başta olmak üzere çeşitli oral enfeksiyon süreçleriyle yakından ilişkili olduğu ve bazı türlerin sistemik hastalıklarla da ilişkilendirilebildiği bildirilmektedir (Colombo vd., 2013; Santacroce vd., 2023). Bu patojenlerin büyük bir kısmı, biyofilm oluşturarak ve çeşitli direnç genleri aracılığıyla antibiyotik tedavilerine karşı koyabilmektedir. Örneğin, *S. aureus* suşlarında metisilin direncine neden olan *mecA* geni, tedavi başarısını sınırlayan önemli bir mekanizmadır. Benzer şekilde *E. faecalis*'in endodontik enfeksiyonlarda uzun süre canlı kalabilmesi, biyofilm üretimi ve birçok antibiyotiğe doğal direnç göstermesiyle ilişkilidir (Brooks vd., 2022). Diş ve diş eti kaynaklı enfeksiyonların sistemik dolaşıma karışması ise solunum yolu enfeksiyonları, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet komplikasyonları ve nörodejeneratif hastalıklarla bağlantılı bulunmuştur (Rajasekaran vd., 2024). Tüm bu nedenlerle geleneksel antibiyotik tedavilerinin yetersiz kaldığı durumlarda alternatif ve tamamlayıcı nanoteknoloji tabanlı çözümlere duyulan ihtiyaç giderek artmaktadır. Bu bağlamda ZnO NP'ler antibakteriyel,

antibiyofilm ve hücreseel düzeyde etkileriyle öne çıkan güçlü nanomalzemelerden biri olarak dikkat çekmektedirler.

2.7.1. Antibakteriyel etkileri ve etki mekanizmaları

ZnO NP'ler yüksek biyouyumlulukları, düşük toksisiteleri ve geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteleri nedeniyle, oral enfeksiyonlarla mücadelede potansiyel tedavi ajanları arasında öne çıkmaktadırlar (Nasim vd., 2024). Bu etkinlikler başlıca Zn^{2+} iyonlarının salımı, elektrostatik yüzey etkileşimleri, ROS üretimi ve membran yapılarının bozulması gibi mekanizmalarla açıklanmaktadır (Şekil 2.7).

ZnO NP'ler sulu ortamlarda çözünerek Zn^{2+} iyonları salmakta ve bu iyonlar negatif yüklü bakteriyel zarla elektrostatik olarak etkileşime girerek hücre yüzeyine bağlanmaktadır. Yerel çözünme ile sitoplazmadaki Zn^{2+} konsantrasyonu artmakta, bu durum membran sızıntısına ve proton itici kuvvetin kaybına yol açmaktadır (Agarwal vd., 2018). Ayrıca, Zn^{2+} iyonlarının bakterilerin zarlarında yer alan ve toksik bileşenleri dışarı atan efflux (dışa atım) pompalarını inhibe ettiği böylece hücre içi iyon dengesinin bozulmasına neden olduğu bildirilmiştir (Joe vd., 2017). Zn^{2+} iyonlarının sülfhidril gruplarına bağlanarak alkali fosfataz, DNA ve RNA polimerazlar gibi önemli enzimleri inhibe ettiği ayrıca sistein, histidin ve aspartat yan zincirleriyle güçlü etkileşime girerek gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz ve aldehit dehidrogenaz gibi enzimlerde inhibisyona yol açtığı gösterilmiştir. Bu etkiler hücre solunumunun bozulmasına ve hücre ölümüne neden olabilmektedirler (Agarwal vd., 2018).



Şekil 2.7. ZnO NP'lerin antibakteriyel etki mekanizmaları (Agarwal vd., 2018).

ROS üretimi ZnO NP'lerin bakterisidal etkileri içerisindeki en kritik mekanizmalardan biridir. ZnO NP'ler ile muamele edilen hücrelerde artan ROS üretimi hücre zarında çukurlaşmalara ve artan geçirgenliğe neden olmakta ve bu durum membran bütünlüğünün bozulmasına, hücre içeriğinin sızmasına ve sonuç olarak hücre ölümüne yol açmaktadır. ROS'un neden olduğu oksidatif stres DNA'da tek ve çift sarmal kırıklarına, protein ve lipid yapılarında geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilmektedir (Krishnamoorthy vd., 2022). Ayrıca ZnO NP kaynaklı ROS üretimi hücre içi protein yanıtlarında bozulmalara, lipid peroksidasyonuna, mitokondriyal membran potansiyelinin azalmasına ve sitokrom c salınımı yoluyla apoptoz mekanizmasının aktive olmasına yol açabilmektedir (Vallabani vd., 2019).

ZnO NP'lerin oral patojenlere karşı düşük konsantrasyonlarda dahi etkili olabildiği ve antimikrobiyal etkinin yanı sıra, dentin demineralizasyonunu inhibe edici özellikler sergilediği bildirilmiştir. Ayrıca ZnO NP'lerin diş macunu, ağız gargarası ve

ağız spreyi gibi çeşitli oral bakım ürünlerinde kullanım potansiyeline de yer verilmekte ve bu uygulamalar literatürde giderek daha fazla ilgi görmektedir (Pushpalatha vd., 2022).

2.7.2. Antibiyofilm etkileri ve etki mekanizmaları

Oral biyofilmler diş yüzeyleri ve diğer sert ya da yumuşak doku yapıları üzerinde kolonileşen mikroorganizmaların, kendi salgıladıkları ekstraselüler polimerik maddeler (EPS) içinde organize olmuş çok katmanlı mikrobiyal topluluklarıdır (Samaranayake vd., 2021). Bu yapılar, bakterileri hem konak savunmasından hem de antimikrobiyal ajanlardan koruyan fiziksel bir bariyer oluşturmaktadırlar. Oral biyofilm oluşumu, dört temel aşamada ilerleyen çok basamaklı bir süreçtir: adezyon, çoğalma, olgunlaşma ve dağılma (Chi vd., 2022).

İlk aşama olan adezyonda oral mikroorganizmalar tükürük proteinleriyle kaplı diş yüzeyi gibi uygun substratlara tutunmaktadırlar. Ardından gelen çoğalma (proliferasyon) evresinde tutunan bakteriler hızla çoğalarak koloniler oluşturmaktadırlar. Bu aşamada bakteriler, hücreleri birbirine ve yüzeye bağlayan, biyofilmin yapısal iskeletini oluşturan EPS üretmeye başlamaktadırlar. EPS polisakkaritler, proteinler, lipidler ve nükleik asitlerden oluşan, biyofilmi stabilize eden karmaşık bir matristir. EPS'nin ana bileşeni çoğunlukla ekstrasellüler polisakkaritlerdir ve bu maddeler EPS'nin yapısal bütünlüğü ve biyofilm oluşumu için kritik öneme sahiptirler. Olgunlaşma aşamasında biyofilm üç boyutlu yapı kazanmakta, bakteri toplulukları içinde mikroskobik kanallar oluşmakta ve karmaşık bir mikrobiyal ekosistem gelişmektedir. Son olarak dağılma evresinde, olgun biyofilmden ayrılan bakteriler yeni yüzeylere yayılmakta ve biyofilmin başka bölgelerde de oluşmasına yol açmaktadırlar (Chi vd., 2022).

Oral biyofilmler planktonik bakterilere kıyasla antibiyotiklere karşı 100 ila 1000 kat daha fazla direnç gösterebilmektedirler. Bu yüksek direnç düzeyi, çeşitli mekanizmalarla sağlanmaktadır. İlk olarak, biyofilmin ana yapısal bileşeni olan EPS matrisi antibiyotiklerin biyofilm içine difüzyonunu fiziksel olarak kısıtlayarak doğrudan bir bariyer oluşturmaktadır. İkincisi, biyofilm içerisindeki bakterilerin bir kısmı metabolik olarak düşük aktiviteye sahip olduğundan, antibiyotiklerin hedeflediği çoğalan hücre profiline girmeyerek korunmaktadırlar (Kouidhi vd., 2015). Ayrıca biyofilmler genetik materyal değişimi için elverişli bir ortam sunmakta ve bu durum, horizontal gen transferi yoluyla antibiyotik direnç genlerinin mikroorganizmalar arasında yayılmasını kolaylaştırmaktadır (Roberts ve Mullany, 2010). Son olarak bazı bakteriler antibiyotik

moleküllerini dış ortama aktif olarak uzaklaştıran efflux pompaları ve çeşitli direnç proteinleri geliştirerek biyofilm içi direnç düzeyini daha da artırabilmektedirler. Bu özellikler nedeniyle biyofilm kaynaklı oral enfeksiyonlar genellikle kronikleşme eğilimindedirler ve konvansiyonel antibiyotik tedavilerine sınırlı yanıt vermektedirler (Kouidhi vd., 2015).

ZnO NP'ler biyofilmin kritik aşamalarına müdahale ederek biyofilm oluşumunu çok yönlü mekanizmalarla engelleyebilmektedirler. Örneğin ZnO NP'ler bakteri hücre zarlarıyla doğrudan elektrostatik etkileşime girerek, oral biyofilm oluşumunun ilk aşaması olan dış yüzeyine tutunmayı önemli ölçüde azaltmakta (Puspitasari vd., 2023), EPS üretimini baskılayarak olgun biyofilmlerin oluşumunu zayıflatmakta (Ahamad Khan vd., 2023) ve bakterilerin hücreler arası iletişim sistemi olan quorum sensing (QS) mekanizmasını baskılayabilmektedirler (Saleh vd., 2019). Son olarak ZnO NP'lerin hem hücre içi hem de dışı ROS üretimini artırarak hücre zar yapısını ve biyofilm bütünlüğünü bozduğu, bunun sonucunda hücre ölümünü tetiklediği ve biyofilm yapısının parçalanmasına neden olduğu gösterilmiştir (Pourhajibagher ve Bahador, 2021). Bu etkiler ZnO NP'lerin yalnızca biyofilm oluşumunu önlemekle kalmayıp, aynı zamanda olgun biyofilm yapılarını da bozarak ortadan kaldıracabileceğini kanıtlamaktadır. Ayrıca ZnO NP'ler antibiyotiklerle birlikte uygulandığında sinerjik etki gösterebilmekte ve dirençli oral patojenlerin kontrolünde alternatif bir tedavi stratejisi olarak öne çıkmaktadır (Khalil vd., 2025).

2.7.3. Hücresel düzeyde etkileri

ZnO NP'lerin antibakteriyel etkileriyle ilişkili temel biyolojik mekanizmalar daha önce açıklanmış olup (bkz. Bölüm 2.7.1), bu süreçlerin oral patojenler üzerinde deneysel olarak doğrulandığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. ROS üretimi bu etkilerin hücresel düzeydeki en erken ve güçlü göstergelerinden biridir. Yapılan analizlerde ZnO NP'lere maruz kalan çeşitli oral patojenlerde ROS seviyelerinin anlamlı şekilde arttığı ve bunun doğrudan hücre zarında lipid peroksidasyonuna, protein yapılarında oksidasyona ve genel hücre fizyolojisinde bozulmaya yol açtığı gösterilmiştir (Liang vd., 2020; Ragavendran vd., 2024). ZnO NP'lerin oluşturduğu oksidatif stresin antibakteriyel aktiviteyle yakından ilişkili olduğu ve bu etkinin çeşitli mikroorganizmalarda benzer biyokimyasal tepkimeleri tetiklediği literatürde sıklıkla vurgulanmaktadır. Bu çalışmalar ZnO NP'lerin bakteriyel zarla temasından sonra ortaya çıkan oksidatif stresin, zar geçirgenliğini artırarak hücre

içeriğinin dış ortama sızmasına neden olduğunu ve hücresel iyon dengesini bozduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca enerji üretim süreçlerinin de bu stresle paralel olarak baskılandığı, ATP düzeylerinin düştüğü ve bakterilerin metabolik canlılıklarının anlamlı biçimde azaldığı saptanmıştır. Bu durum, ZnO NP'lerin etkisinin sadece yüzeysel değil, hücrenin enerji sistemlerini de hedef aldığına işaret etmektedir (Pachaiappan vd., 2021).

Söz konusu etkiler, görüntüleme teknikleriyle morfolojik düzeyde de açıkça doğrulanmıştır. SEM ve TEM gibi ileri düzey görüntüleme teknikleriyle yapılan değerlendirmelerde, ZnO NP'lere maruz kalan oral patojenlerin yüzeylerinde çökme, buruşma, zar bütünlüğünün kaybı ve genel hücre morfolojisinde deformasyonlar tespit edilmiştir (Liang vd., 2020). Bu tür yapısal değişiklikler, çoğunlukla zarın ROS etkisiyle oksitlenmesi sonucu meydana gelmekte, hücre duvarı ve zar bileşenlerinin parçalanmasıyla tamamlanmaktadır.

Sonuç olarak, daha önce açıklanan antibakteriyel mekanizmaların (ROS üretimi, zar hasarı, enerji metabolizması bozulması) oral patojenler üzerinde deneysel olarak da gözlemlendiği ve bu etkilerin çok yönlü hücresel bozulmalarla sonuçlandığı anlaşılmaktadır. Biyokimyasal test sonuçları ile mikroskopik bulgular arasındaki bu tutarlılık, ZnO NP'lerin oral patojenlere karşı güçlü bakterisidal potansiyelini desteklemektedir.

2.8. ZnO NP'lerin Biyogüvenliği ve Toksikite Değerlendirmesi

ZnO NP'ler sahip oldukları antimikrobiyal etkinliğin yanı sıra, biyolojik sistemlerle gösterdikleri yüksek uyumluluk sayesinde özellikle oral patojenlerle ilişkili biyomedikal uygulamalarda dikkat çekmektedir. ZnO NP'lerin biyoyumlu olması, Zn'nin vücutta doğal olarak bulunan ve çeşitli fizyolojik süreçlerde rol oynayan bir element oluşuyla ilişkilidir. Ayrıca bu NP'lerin kontrollü iyon salımı yapabilmesi, çevre hücrelerle zarar vermeden etkileşim kurmasına olanak tanımakta böylece biyolojik sistemlere entegrasyonunu kolaylaştırmaktadır (Siddiqi vd., 2018). Bu özellikleri, oral patojenlerle mücadeleye yönelik kullanılan ZnO NP'lerin hem etkinlik hem de güvenlik açısından avantajlı olmasını sağlamaktadır.

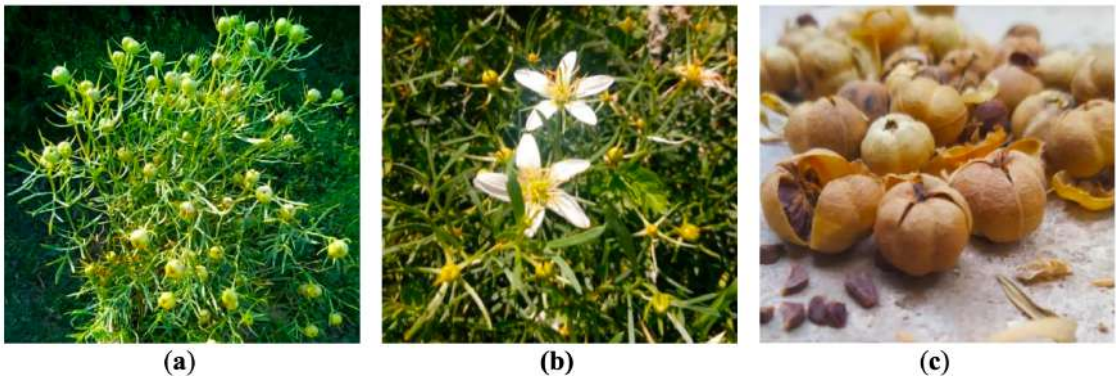
Bununla birlikte ZnO NP'lerin biyogüvenliği uygulama dozu, maruz kalma süresi ve parçacık özellikleri gibi parametrelere bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Belirli sınırlar içinde kullanıldığında hücresel bütünlüğü korurken, yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik etkiler oluşturabildiği bildirilmektedir (Maheswaran vd.,

2024). Bu nedenle, ZnO NP'lerin oral patojenlere karşı kullanımında, etkinlik ile toksisite arasındaki dengenin gözetilerek dozun optimize edilmesi büyük önem taşımaktadır. Özellikle hücre-doku etkileşiminin kritik olduğu oral enfeksiyonların tedavisinde, biyoyumlu sınırlar içinde kalınması terapötik etkinliği ve güvenliği artıracaktır.

2.9. *Peganum harmala*

Halk arasında "üzerlik" olarak bilinen *Peganum harmala* L., Zygophyllaceae familyasına ait, Orta Doğu, Kuzey Afrika ve Orta Asya'da yaygın olarak bulunan, yarı kurak bölgelerde yetişen çok yıllık bir bitkidir (Şekil 2.8). Geleneksel tıpta uzun süredir kullanılan bu bitki özellikle tohumlarında yüksek oranda bulunan β -karbolin alkaloidleri (harman, harmalin, harmol ve harmin) ile dikkat çekmektedir. Bu alkaloidler, bitkinin toplam kuru ağırlığının yaklaşık %6'sını oluşturmakta ve monoamin oksidaz inhibitörü özellikleriyle bilinmektedirler. Ayrıca, *P. harmala*'nın antrakinonlar ve flavonoidler gibi diğer sekonder metabolitleri de farmakolojik etkilerinde önemli rol oynamaktadırlar (Hayat vd., 2024; Herraiz vd., 2010).

P. harmala bu zengin fitokimyasal içeriği sayesinde geniş bir biyolojik etki yelpazesine sahiptir. En önemli biyolojik etkileri arasında antiseptik, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidan, antitümör, antidiyabetik, antinosiseptif, hepatoprotektif ve antienflamatuvar özellikler yer almaktadır (Asgarpanah ve Ramezanloo, 2012). Bu özellikler *P. harmala*'nın biyomedikal uygulamalarda, özellikle ZnO NP'lerin sentezi ve kullanımı açısından potansiyelini artırmaktadır.



Şekil 2.8. *P. harmala* bitkisi; (a) tüm bitki, (b) çiçekleri ve (c) kurutulmuş tohumları (Pratama vd., 2021).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Nanopartiküller

Bu çalışmada iki farklı sentez yöntemiyle elde edilmiş çinko oksit nanopartiküller (ZnO NP'ler) kullanılmıştır. Geleneksel sentez yöntemi “kimyasal sentez”, bitki ekstraktı kullanılarak gerçekleştirilen sentez ise “yeşil sentez” olarak isimlendirilmiştir.

3.1.1. Kimyasal sentez ZnO NP'ler

Kimyasal yöntemlerle sentezlenmiş ZnO NP'ler (K-ZnO NP'ler), Nanografi Nano Teknoloji A.Ş (Ankara, Türkiye)'den >%99,5 saflıkta ve nano tozu formunda temin edilmiştir.

3.1.2. Yeşil sentez ZnO NP'ler

3.1.2.1. Bitki ekstraktının hazırlanması

ZnO NP'lerin yeşil sentezinde *Peganum harmala* türünün tohumlarının ekstraktı kullanılmıştır. Bitkiler, tohumlarının olgunlaştığı sonbahar aylarında Konya ilinden toplanmıştır ve tohumları çeşme suyu ve ardından deiyonize su ile yıkanarak oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan tohumlar laboratuvar tipi bir öğütücü (Waring, Stamford, ABD) yardımı ile toz haline getirilmiştir. On g toz örneği 100 mL saf su içerisinde, manyetik karıştırıcıda (IKA, Staufen, Almanya) 80 °C sıcaklıkta 60 dakika boyunca karıştırılmıştır. Karışım kaba filtre kağıdından süzülerek ekstrakt elde edilmiştir ve elde edilen ekstrakt sentez aşamasında taze olarak kullanılmıştır.

3.1.2.2. Yeşil sentez

Yeşil sentez ZnO NP'ler (Y-ZnO NP'ler), Dhivya vd. (2022) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek sentezlenmiştir. *P. harmala* tohum ekstraktı deiyonize su ile 20 kat seyreltilmiştir ve seyreltilen ekstraktan 200 mL alınarak, 800 mL 0,01 M Çinko asetat dihidrat ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, %99; Merck, Darmstadt, Almanya) çözeltisinin üzerine damla damla ilave edilmiştir. Ekstrakt ilavesi esnasında karışım kuvvetlice

çalkalanmıştır ve reaksiyon ortamının pH'ı 1 M NaOH (Merck) çözeltisi ile 9,5'a ayarlanmıştır. ZnO NP sentezinde alkali pH kullanılmasının nedeni, yüksek pH'ın Zn^{2+} iyonlarının $Zn(OH)_2$ 'ye dönüşümünü ve bunun ZnO'ya ayrışmasını kolaylaştırarak partikül oluşumunu ve kristalleşmesini desteklemesidir. Sonrasında karışım sentez amacıyla 50 °C'a ayarlanmış su banyosunda 4 saat bekletilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda karışımın renk değişimi ve çökelti oluşumu gözlenerek sentez sonlandırılmıştır ve çökelti kalıntılardan arındırılmak amacıyla deiyonize su ile 4 defa yıkanmıştır. Çökelti yıkandıktan sonra, etüvde (Memmert, Schwabach, Almanya) 80 °C'da 12 saat boyunca kurutulmuştur ve kurutmadan sonra kül fırınında (Protherm, Ankara, Türkiye) 300 °C'da kalsinasyona tabi tutulmuştur. Elde edilen toz formundaki ZnO NP'ler koyu renkli cam şişeler içinde buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

3.1.2.3. ZnO NP kolloidal solüsyonları

Toz formundaki ZnO NP'ler karakterizasyon ve biyolojik testlerde kullanılmak üzere steril deiyonize su içerisinde süspanse edilmiştir. Solüsyonlar ultrasonik banyo (Elmasonic P, Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Almanya) ile 30 dakika süreyle sonikasyon ve sonrasında kısa süreli vorteksleme ile elde edilmişlerdir.

3.2. ZnO NP'lerin Karakterizasyonu

ZnO NP'lerin karakterizasyonu ultraviyole görünür bölge spektroskopisi (UV-VIS), Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), X-ışını difraksiyonu (XRD), geçirimli elektron mikroskobu (TEM), alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) ve zeta potansiyel analizleri ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. UV-Vis analizi

ZnO NP kolloidal solüsyonlarının ve *P. harmala* tohum ekstraktının optik özellikleri bir kuvars küvet içerisinde, 200-800 nm dalga boyu aralığındaki UV-Vis bölge spektrumları (Cary 60, Agilent Technologies, Santa Clara, ABD) alınarak karakterize edilmiştir.

3.2.2. XRD analizi

ZnO NP'lerin kristal yapısı ve kristal boyutunun saptanması amacıyla X-ışını difraksiyonu (Empyrean, PANalytical BV, Almelo, Hollanda) cihazı kullanılmıştır. Toz formundaki ZnO NP'lerin XRD paterni 10° ile 90° arasında 2θ aralığında 0,02 adım büyüklüğü ile elde edilmiştir.

3.2.3. FTIR analizi

ZnO NP'lerin ve *P. harmala* tohum ekstraktının yüzey fonksiyonel gruplarının belirlenmesi amacıyla Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi analizi gerçekleştirilmiştir. Analizler Nicolet iS20 FTIR spektrometresi (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, ABD) kullanılarak orta kızılötesi (mid-infrared, MIR) bölge olan $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ aralığında gerçekleştirilmiştir. Spektrumlar Attenuated Total Reflectance modunda elde edilmiştir ve karakteristik fonksiyonel grupların tanımlanmasında kullanılmıştır.

3.2.4. TEM analizi

ZnO NP'lerin morfolojik özelliklerini ve boyut dağılımını değerlendirmek amacıyla, yüksek çözünürlükte görüntüleme sağlayan geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analizi gerçekleştirilmiştir. ZnO NP koloidal solüsyonlarının analizleri Hitachi HT-7700 marka TEM cihazı (Hitachi High-Tech, Tokyo, Japonya) ile 120 kV hızlandırıcı voltaj ve Lantan hekzaborür elektron tabancası ile yüksek çözünürlük modunda gerçekleştirilmiştir. Ortalama parçacık boyutları en az 100 ayrı parçacık ölçülerek ImageJ yazılımı (NIH, Bethesda, USA) kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.5. FE-SEM ve EDX analizi

ZnO NP'lerin şekil, boyut ve yüzey özelliklerine ilişkin morfolojik değerlendirme, yüksek çözünürlüklü görüntüleme yeteneğine sahip alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM, GeminiSEM 500, ZEISS, Oberkochen, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir. Görüntüleme öncesinde toz formundaki ZnO NP'ler püskürtmeli kaplayıcı kullanılarak 4,21 nm İridyum tabakayla kaplanmıştır. Görüntüleme

aşaması 5 kV'da 100.000X-300.000X büyütme oranlarında gerçekleştirilmiştir. Kimyasal bileşim analizi ise FE-SEM sistemine entegre edilmiş EDX dedektörü kullanılarak yapılmıştır ve ZnO NP'lerin temel elementel içeriği belirlenmiştir.

3.2.6. Zeta potansiyel analizi

Kolloidal solüsyonlardaki ZnO NP'lerin yüzey yüklerinin oluşturduğu potansiyelin dolaylı olarak belirlenmesine yönelik zeta potansiyel ölçümleri Zetasizer (Nanoplus 3, Micromeritics, Norcross, ABD) ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 1 cm yol uzunluğuna sahip etanol ile yıkanmış sonrasında deiyonize su ile durulanmış ölçüm kuvvetleri kullanılmıştır. Elde edilen veriler cihaz yazılımı ile değerlendirilmiş ve ortalama zeta potansiyel değerleri olarak raporlanmıştır.

3.3. ZnO NP'lerin Antibakteriyel Aktiviteleri

3.3.1. Bakteriyel suşlar ve kültür koşulları

Staphylococcus aureus (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) ve *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) suşlarının liyofilize kültürleri Microbiologics Inc (Saint Cloud, ABD)'den tedarik edilmiştir. Stok kültürler %15 gliserol içeren brain heart infusion broth (BHI broth, Neogen, Lansing, ABD) içinde -80 °C'da muhafaza edilmiştir. Çalışma kültürleri brain heart infusion agar (BHI agar, Neogen) üzerinde oluşturulmuştur ve buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Mikroorganizmaların hücre süspansiyonları BHI broth içinde hazırlanmıştır ve hücre yoğunluğu bir densitometre (Densimat, Biomérieux, Lyon, Fransa) ile yaklaşık $1,5 \times 10^8$ koloni oluşturan birim (kob)/mL'ye karşılık gelen McFarland bulanıklık değeri olan 0,5'e ayarlanmıştır. İnokülüm olarak kullanılan bu süspansiyonlar antibakteriyel aktivite testlerinin hemen öncesinde hazırlanmıştır.

3.3.2. Broth mikrodilüsyon testi

ZnO NP'lerin test bakterileri üzerine minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) değerleri broth mikrodilüsyon testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Steril 96 kuyucuklu mikropalakaların (Anicrin, Venedik,

İtalya) kuyucuklarının her birine 130 µL BHI broth besiyeri ve 20 µL seyreltilmiş inokülüm ($\approx 10^6$ kob/mL) ilave edilmiştir. Sonrasında kuyucuklara ZnO NP'lerin son konsantrasyonları 0,5 ile 1000 µg/mL aralığında olacak şekilde farklı konsantrasyonlarda 50 µL ZnO NP koloidal solüsyonları ilave edilmiştir. Mikrobiyal çoğalma kontrolü olarak ZnO NP içermeyen kuyucuklar ve negatif kontrol olarak yalnızca ZnO NP koloidal solüsyonları içeren kuyucuklar teste dahil edilmiştir. Mikroplakalar 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir ve her kuyucuktaki bakteriyel çoğalma bir mikroplaka okuyucusuyla (Multiskan Go, Thermo Scientific, Waltham, ABD) 600 nm dalga boyunda optik yoğunluk (OD) ölçülerek belirlenmiştir. MİK değerleri, OD değerlerine göre mikrobiyal çoğalmanın olmadığı en düşük ZnO NP konsantrasyonları olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, MBK değerlerinin belirlenmesi amacıyla her kuyucuktan 0,01 mL'lik bir hacim BHI agar plakalarına inoküle edilmiştir. İnkübasyon sonrası koloni gözlemlenmeyen en düşük ZnO NP konsantrasyonları MBK değerleri olarak kabul edilmiştir (Kızılkonca vd., 2021).

3.3.3. Agar difüzyon testi

BHI agar plakalarına mikroorganizmaların inokülüm olarak hazırlanan süspansiyonlarından 100 µL inoküle edilmiştir. İnkübasyon sonrasında besiyerinde ≈ 10 mm çapında kuyucuklar oluşturulmuştur ve kuyucuklara 125 µg/mL konsantrasyonunda ZnO NP koloidal solüsyonlarından 50 µL ilave edilmiştir. Referans olarak 10 µg Gentamisin içeren standart antibiyotik diskleri (Oxoid, Thermo Fisher Scientific, Basingstoke, Birleşik Krallık) kullanılmıştır. BHI agar plakaları 37 °C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır ve inkübasyon sonunda kuyucukların çevresindeki inhibisyon zonları ölçülmüştür (Balouiri vd., 2016).

3.3.4. ZnO NP stresi altında bakteriyel çoğalma eğrisi

ZnO NP'lerin mikrobiyal çoğalma üzerine zamana ve konsantrasyona bağlı etkileri Niyonshuti vd. (2020) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek değerlendirilmiştir. Bu amaçla steril 96 kuyucuklu mikroplakaların kuyucuklarına ZnO NP'lerin BHI broth içinde hazırlanmış 31,25 ile 500 µg/mL aralığında iki kat artan konsantrasyonlarındaki solüsyonları ilave edilmiştir. Kuyucuklardaki hacim seyreltilmiş inokülüm ($\approx 10^6$ kob/mL) ilavesi ile 200 µL'ye tamamlanmıştır. Mikrobiyal çoğalma

kontrolü olarak ZnO NP içermeyen kuyucuklar ve negatif kontrol olarak yalnızca ZnO NP solüsyonları içeren kuyucuklar teste dahil edilmiştir. Plakalar 37 °C'de 18 saat inkübe edilmiştir ve inkübasyon esnasında düzenli aralıklarla bir mikropilaka okuyucu ile 600 nm'de OD ölçülmüştür.

3.4. ZnO NP'lerin Antibiyofilm Aktiviteleri

3.4.1. Test suşlarının biyofilm üretiminin teyidi

Test suşlarının biyofilm üretimi Congo red agar (CRA) ve kristal viyole (CV) boyama yöntemleri ile teyit edilmiştir (Arciola vd., 2006; Bagherian vd., 2024).

3.4.1.1. Congo red agar (CRA) yöntemi

CRA plakalarına (49 g/L brain heart infusion agarı, 0,8 g/L Congo kırmızısı ve 36 g/L sakkaroz) test suşları ve negatif kontrol olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu inoküle edilmiştir. İnokülasyon sonrasında plakalar 37 °C'da 24 saat ve sonrasında 72 saate kadar oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnübasyon sonunda biyofilm oluşturan suşlar siyah koloniler olarak gözlemlenmiştir.

3.4.1.2. Kristal viyole boyama yöntemi

Test suşlarının biyofilm oluşturma yeteneği kantitatif olarak steril 96 kuyucuklu mikropilakalarda %2 glukoz içeren tryptic soy broth (TSB; Neogen, Lansing, Michigan, ABD) ortamında değerlendirilmiştir. Kuyucuklara 190 µL steril besiyeri ve 10 µL inokülüm ($\approx 1,5 \times 10^8$ kob/mL) ilave edilmiştir. Negatif kontrol kuyucuklarına inokülüm yerine steril besiyeri eklenmiştir. Kuyucuklar 37 °C'de 48 saat inkübasyon sonunda boşaltılmıştır ve kuyucukların yüzeylerine tutunmayan hücrelerin uzaklaştırılması için deiyonize su ile 3 kez yıkanmış ve kurutulmuştur. Kuyucukların yüzeylerine tutunan hücreler %95 etanol ilavesi ile tespit edilmiştir. Tespit aşaması sonrasında kuyucuklara 150 µL %1'lik kristal viyole solüsyonu ilave edilmiştir ve 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Boyama sonrasında biyofilme tutunan boyanın çözünmesi için kuyucuklara 150 µL %33 asetik asit ilave edilerek 15 dakika inkübe edilmiştir. Asetik

asit içindeki boya yoğunluğu bir mikroparka okuyucusuyla 492 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

Test suşlarının biyofilm oluşturma yetenekleri OD değerleri ile belirlenmiştir. Bu amaçla bir eşik OD (OD_c) değeri hesaplanmıştır ve test suşlarının biyofilm oluşturma yetenekleri Çizelge 3.1’de belirtilen kriterlere göre sınıflandırılmıştır. OD_c değeri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$OD_c = OD_N + (3 \times SD_{OD_N})$$

Bu formülde “OD_N” negatif kontrol kuyucuklarından elde edilen ortalama OD değeri, “SD_{OD_N}” ise negatif kontrol kuyucuklarından elde edilen OD değerlerinin standart sapmasıdır.

Çizelge 3.1. OD değerlerine göre biyofilm oluşturma yeteneği

Biyofilm Oluşturma Yeteneği	Kriter
Negatif	$OD \leq OD_c$
Zayıf	$OD_c < OD \leq 2OD_c$
Orta	$2OD_c < OD \leq 4OD_c$
Güçlü	$4OD_c < OD$

3.4.2. ZnO NP’lerin biyofilm oluşumu üzerine etkileri

ZnO NP’lerin biyofilm oluşumu üzerine etkisi steril 96 kuyucuklu mikroparkalarda %2 glukoz içeren TSB ortamında değerlendirilmiştir. Her bir kuyucuğa 180 µL steril besiyeri, 10 µL inokülüm ($\approx 1,5 \times 10^8$ kob/mL) ve ZnO NP’lerin TSB içerisinde hazırlanmış solüsyonlarından 10 µL ilave edilmiştir böylece kuyucuklarda 31,25; 62,5; 125; 250; 500 µg/mL nihai ZnO NP konsantrasyonları elde edilmiştir. Kontrol kuyucuklarına ZnO NP eklenmemiştir, negatif kontrol kuyucuklarına ise inokülüm yerine steril besiyeri eklenmiştir. Mikroparkaların inkübasyonu, tutunmayan hücrelerin yıkanması, tutunan hücrelerin tespiti, boyanması ve dekolorizasyonu, absorbans ölçümleri 3.4.1.2’ye göre yapılmıştır. ZnO NP’lerin biyofilm inhibisyon etkinliği aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\%Biyofilm\ inhibisyonu = \frac{kontrol\ OD - test\ OD}{kontrol\ OD} \times 100$$

Bu formülde “kontrol OD” kontrol kuyucuklarından elde edilen ortalama OD değeri, “test OD” ise farklı konsantrasyonlarda ZnO NP içeren test kuyucuklarından elde edilen ortalama OD değeridir.

3.4.3. ZnO NP’lerin ekstraselüler polimerik madde (EPS) üretimine etkileri

Test suşlarının sıvı kültürlerinde EPS üretiminin ölçümü, süpernatant fazdaki çözünür polisakkarit miktarının fenol-sülfürik asit yöntemi ile tayini esasına dayanarak gerçekleştirilmiştir (Subramaniyan vd., 2021). Bu amaçla test suşları 31,25; 62,5; 125; 250; 500 µg/mL ZnO NP içeren BHI broth içerisinde 37°C’da 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında kültürler 10.000 rpm’de 10 dakika santrifüjlenmiştir ve elde edilen süpernatantlar 0,22 µm por çapına sahip enjektör ucu filtreden süzülerek hücrelerden tamamen arındırılmıştır. ZnO NP eklenmeyen kuyucuklar kontrol kuyucukları olarak tanımlanmıştır.

Test tüplerine 1 mL süpernatant, 1 mL %5’lik fenol (Merck) çözeltisi ve 5 mL derişik sülfürik asit (Merck) ilave edilmiştir ve tüpler oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Tüplerde meydana gelen reaksiyon sonucu oluşan renk değişimi 490 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Elde edilen OD değerleri ile aşağıdaki formül kullanılarak EPS üretimi inhibisyonu hesaplanmıştır.

$$\%EPS\ inhibisyonu = \frac{kontrol\ OD - test\ OD}{kontrol\ OD} \times 100$$

Bu formülde “kontrol OD” kontrol kuyucuklarından elde edilen ortalama OD değeri, “test OD” ise farklı konsantrasyonlarda ZnO NP içeren test kuyucuklarından elde edilen ortalama OD değeridir.

3.5. ZnO NP'lerin Bakterilerin Morfolojilerine ve Hücresel Fonksiyonlarına Etkileri

3.5.1. ZnO NP'lerin hücresel solunuma etkileri

ZnO NP varlığında bakteriyel hücresel solunumun inhibisyonu Wahab vd. (2013) tarafından önerilen 2,3,5-trifenil-tetrazolyum klorür (TTC)'ün indirgenmesine dayalı yöntem ile belirlenmiştir. Test suşlarının taze sıvı kültürlerinden 100 µL alınarak 10 mL taze BHI broth içine aktarılmıştır ve 37 °C'da 4 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonrasında BHI broth tüpleri 5.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Pelletler steril fosfat tamponlu salin (PBS; pH 7,0) ile yıkanmıştır ve 600 nm dalga boyunda 0,5 OD değeri elde edilinceye kadar PBS ile yeniden süspanse edilmiştir. Hücre süspansiyonlarının 150 µL'si mikrolaka kuyucuklarına aktarılmıştır ve kuyucuklara 31,25; 62,5; 125; 250; 500 µg/mL nihai konsantrasyon aralığına karşılık gelen konsantrasyonlarda 50 µL ZnO NP koloidal solüsyonları ilave edilmiştir. ZnO NP içermeyen kuyucuklar pozitif kontrol olarak ve yalnızca ZnO NP içeren kuyucuklar ise negatif kontrol olarak tanımlanmıştır. Her bir kuyucuğa 40 µL %0,5 TTC solüsyonu (Sigma-Aldrich, St Louis, ABD) eklenmiştir ve mikrolakalar oda sıcaklığında ve karanlıkta 60 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında, renksiz TTC solüsyonunun kırmızı formazana dönüşümü 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

3.5.2. ZnO NP'lerin hücre membranı geçirgenliği üzerine etkileri

Membran geçirgenliğinin değişimi sıvı kültürlerde β -galaktosidaz aktivitesinin o-nitrofenil- β -D-galaktopiranosid (ONPG; Sigma-Aldrich) substratı kullanılarak ölçümü ile tespit edilmiştir (Han vd., 2013). *S. aureus* (ATCC 25923) ve *E. faecalis* (ATCC 29212) suşlarının hücre süspansiyonları ($1,5 \times 10^8$ kob/mL) %2 laktoz içeren BHI broth içinde hazırlanmıştır ve hücre süspansiyonları üzerine son konsantrasyonları 31,25; 62,5; 125; 250; 500 µg/mL olacak şekilde ZnO NP koloidal solüsyonları eklenmiştir. Karışım 37 °C'da 4 saat inkübe edilmiştir ve inkübasyon sonunda 5.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrasında pelletler 600 nm dalga boyunda 0,5 OD değeri elde edilinceye kadar 100 mM NaCl (Merck) içeren 20 mM sodyum fosfat tamponunda (pH 7,5) yeniden süspanse edilmiştir. Hücre süspansiyonlarının 200 µL'si mikrolaka kuyucuklarına aktarılmıştır. ZnO NP içermeyen kuyucuklar pozitif kontrol olarak ve

yalnızca ZnO NP içeren kuyucuklar ise negatif kontrol olarak tanımlanmıştır. Kuyucuklara 9 mg/mL konsantrasyondaki ONPG solüsyonundan 20 µL ilave edilmiştir ve o-nitrofenolün oluşumu spektrofotometre ile 415 nm'de ölçülmüştür.

3.5.3. ZnO NP stresi altında süperoksit anyon üretimi

Bakteri hücreleri tarafından süperoksit anyon ($O_2^{\bullet-}$) üretimi Nitroblue tetrazolyum (NBT)'un indirgenmesine dayalı spektrofotometrik bir yöntem ile belirlenmiştir (Becerra ve Albasa, 2002). Test suşlarının taze sıvı kültürlerinden 100 µL alınarak 10 mL BHI broth içine aktarılmıştır ve 37 °C'da 6 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonrasında BHI broth tüpleri 5.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Pelletler PBS (pH 7,0) ile 3 defa yıkanmıştır ve 600 nm dalga boyunda 0,5 OD değeri elde edilinceye kadar PBS ile yeniden süspanse edilmiştir. Hücre süspanسیونlarının 150 µL'si mikropilaya kuyucuklarına aktarılmıştır ve kuyucuklara 31,25; 62,5; 125; 250; 500 µg/mL nihai konsantrasyon aralığına karşılık gelen konsantrasyonlarda 50 µL ZnO NP kolloidal solüsyonları ilave edilmiştir. ZnO NP içermeyen kuyucuklar pozitif kontrol olarak ve yalnızca ZnO NP içeren kuyucuklar ise negatif kontrol olarak tanımlanmıştır. Plakaların 37 °C'da 12 saat inkübasyonundan sonra, kuyucuklara son konsantrasyonu 1 mM olacak şekilde 40 µL NBT (Merck) eklenmiştir ve oda sıcaklığında ve karanlıkta 60 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında NBT'nin indirgenmesi sonucu oluşan mavi renkli formazanın yoğunluğu 560 nm dalga boyunda ölçülerek belirlenmiştir.

3.5.4. ZnO NP'lerin hücre morfolojileri üzerine etkileri

ZnO NP'lere maruz kalan bakteri hücrelerinin morfolojik değişimleri FE-SEM ile incelenmiştir (Golding vd., 2016; Hisada vd., 2023). Test suşlarının hücre süspanسیونları ($1,5 \times 10^8$ kob/mL) BHI broth içinde hazırlanmıştır ve hücre süspanسیونları üzerine son konsantrasyonları 250 µg/mL olacak şekilde ZnO NP kolloidal solüsyonları eklenmiştir. ZnO NP içermeyen tüpler kontrol olarak tanımlanmıştır. Tüpler 37 °C'da 12 saat inkübe edilmiştir ve inkübasyon sonrasında 5.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Pelletler steril PBS (pH 7,0) ile 3 defa yıkanmıştır ve hücreler 4 °C'da 3 saat boyunca %2,5 glutaraldehit solüsyonu ile sabitlenmiştir. Sabitleme işlemi sonrasında hücreler PBS ile 3 defa yıkanmıştır ve sırası ile %30, %50, %70 ve %90 etanol ilavesi ile 10 dakika, son olarak %100 etanol ilavesi ile 1 saat inkübe edilerek dehidre edilmiştir. Dehidrasyon

sonrası örnekler havada kurutulmuştur ve görüntüleme amacıyla iletken bir bant üzerine yerleştirilmiştir.

3.6. İstatistiksel Analizler

Tüm test ve analizler üç tekrar olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar GraphPad Prism yazılımı (GraphPad Software Inc., Boston, ABD) kullanılarak tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur. Ortalama değerler $p<0,05$ 'te Tukey post-hoc gruplandırma testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

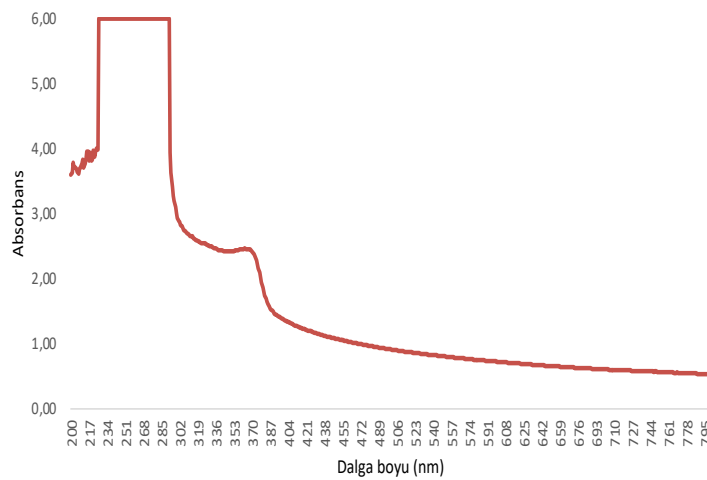
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. ZnO NP'lerin Karakterizasyonu

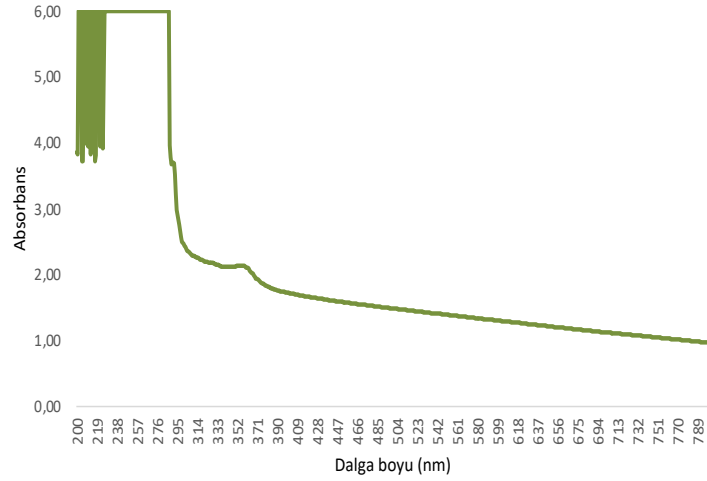
4.1.1. UV-Vis analizi

ZnO NP'lerin ve *P. harmala* tohum ekstraktının optik özellikleri 200-800 nm dalga boyu arasındaki UV-Vis bölge spektrumları ölçülerek karakterize edilmiştir. K-ZnO NP'lerin UV-Vis absorpsiyon spektrumlarında pik değeri 373 nm'de (Şekil 4.1), Y-ZnO NP'lerin ise 368 nm'de (Şekil 4.2) elde edilmiştir. *P. harmala* tohum ekstraktının (Şekil 4.3) ve Y-ZnO NP'lerin absorpsiyon spektrumları belirgin şekilde farklılık göstermiştir.

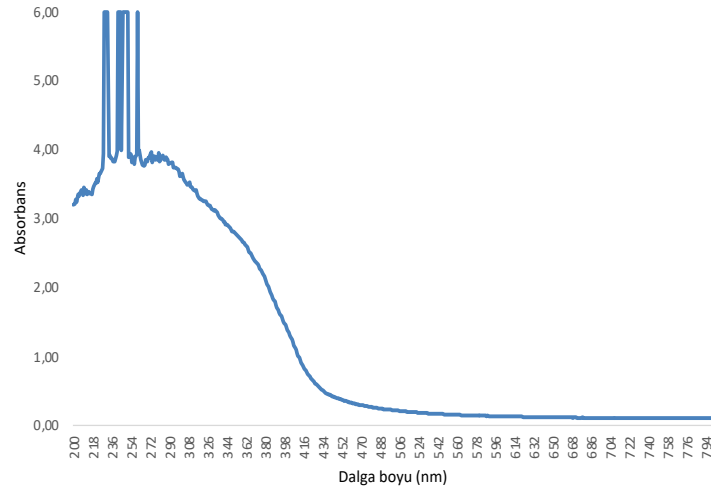
Y-ZnO NP'lerin UV-Vis spektrumları daha önce farklı bitkisel materyaller kullanılarak sentezlenen ZnO NP'lerden elde edilen UV-Vis spektrumları ile benzerlik göstermektedir. MuthuKathija vd. (2023) *Pisonia alba* ekstraktı ile sentezledikleri ZnO NP'ler için 378 nm'de belirgin bir absorpsiyon piki elde etmişlerdir. Benzer şekilde, Rasha vd. (2021) *Acacia nilotica* kullanarak sentezledikleri ZnO NP'lerin UV-Vis spektrumunda 368 nm'de güçlü bir absorpsiyon piki gözlemişlerdir. *Lepidium sativum* tohum ekstraktı kullanılarak sentezlenen ZnO NP'lerin UV-Vis spektrumunda, 325-450 nm aralığında geniş bir absorpsiyon bandı gözlenmiştir ve bu bandın ZnO NP'lerin karakteristik optik geçişlerinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Efati vd., 2023).



Şekil 4.1. K-ZnO-NP'lerin UV-Vis spektrumu.



Şekil 4.2. Y-ZnO-NP'lerin UV-Vis spektrumu.

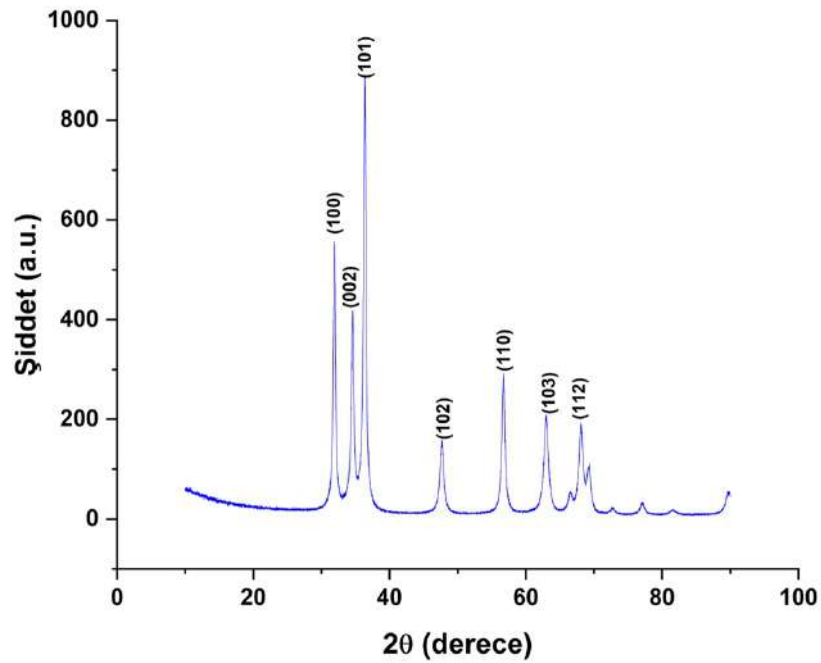


Şekil 4.3. *P. harmala* tohum ekstraktının UV-Vis spektrumu.

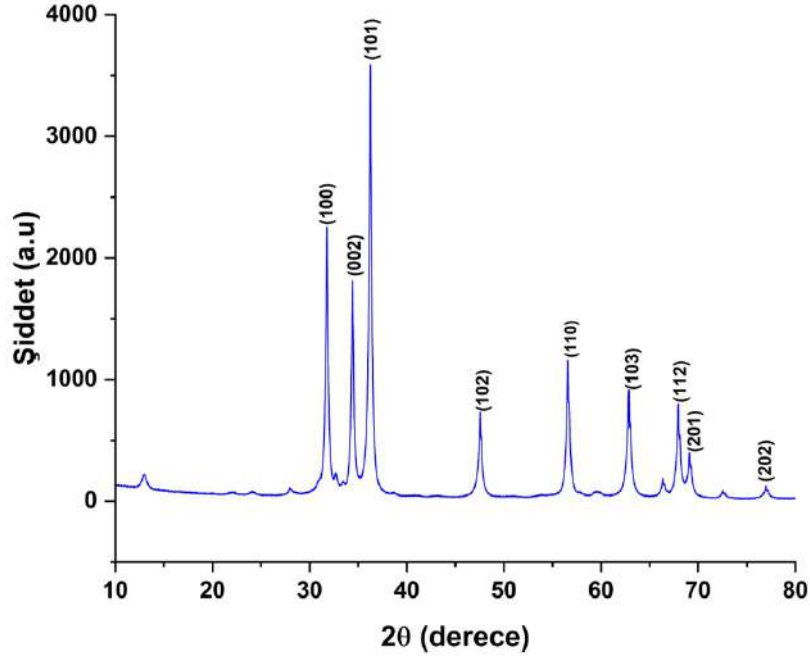
4.1.2. XRD analizi

ZnO NP'lerin kristal yapısı X-ışını difraksiyonu ile analiz edilmiştir. Y-ZnO NP'ler sırasıyla (100), (002), (101), (102), (110), (103) ve (112) kristal düzlemlerine karşılık gelen $31,76^\circ$, $34,35^\circ$, $36,17^\circ$, $47,56^\circ$, $56,47^\circ$, $62,68^\circ$ ve $68,79^\circ$ 2θ değerlerinde ana difraksiyon tepe noktalarını göstermektedir (Şekil 4.4). K-ZnO NP'ler ise sırasıyla (100), (002), (101), (102), (110), (103), (112), (201) ve (202) kristal düzlemlerine karşılık gelen $31,76^\circ$, $34,43^\circ$, $36,25^\circ$, $47,55^\circ$, $56,59^\circ$, $62,85^\circ$, $67,95^\circ$, $69,09^\circ$ ve $76,95^\circ$ 2θ değerlerinde ana difraksiyon tepe noktalarını göstermektedir (Şekil 4.5). Elde edilen bu yansımalar ZnO'nun wurtzite tipi hekzagonal kristal yapısını temsil etmektedir. Bu yapı

literatürde en kararlı ZnO fazı olarak tanımlanmakta olup, analiz sonuçları Toz Kırınım Standartları Ortak Komitesi (JCPDS) dosya no:36-1451 ile tam uyum göstermektedir (Sedefoglu, 2023). Bu sonuç, Y-ZnO NP'lerin saflığını ve herhangi bir safsızlık fazı (Örneğin Zn, Zn(OH)₂ veya ZnO₂) içermediğini teyit etmektedir. En yoğun yansımanın (101) düzlemine ait 36,17° civarında gözlenmesi, ZnO kristallerinin büyüme yönü hakkında bilgi sağlamaktadır. Benzer şekilde, *Prosopis juliflora* ekstraktı ile sentezlenen ZnO NP'lerin XRD analizi ile, hekzagonal wurtzite kristal yapısı ve (101) düzlemine karşılık gelen karakteristik piklerin varlığı ortaya koyulmuştur (Sheik Mydeen vd., 2020). Rafique vd. (2024) *Salvia hispanica* tohumu ekstraktı ile biyosentezlenen ZnO/Ag/Ag₂O nanokompozitlerinde ZnO'nun hekzagonal fazda kristallendiğini bildirmişlerdir.



Şekil 4.4. Y-ZnO NP'lerin XRD analizi

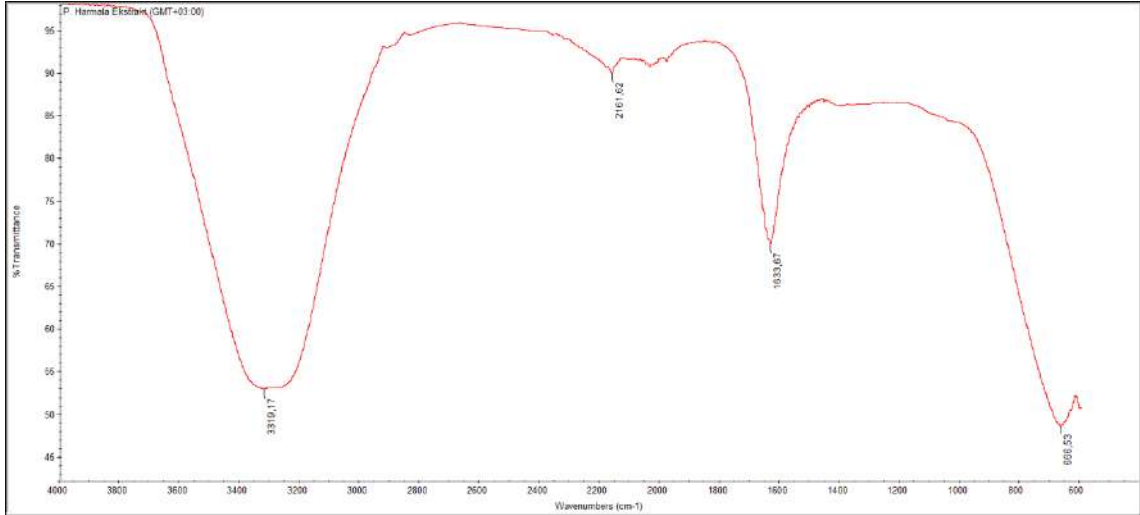


Şekil 4.5. K-ZnO NP'lerin XRD analizi

4.1.3. FTIR analizi

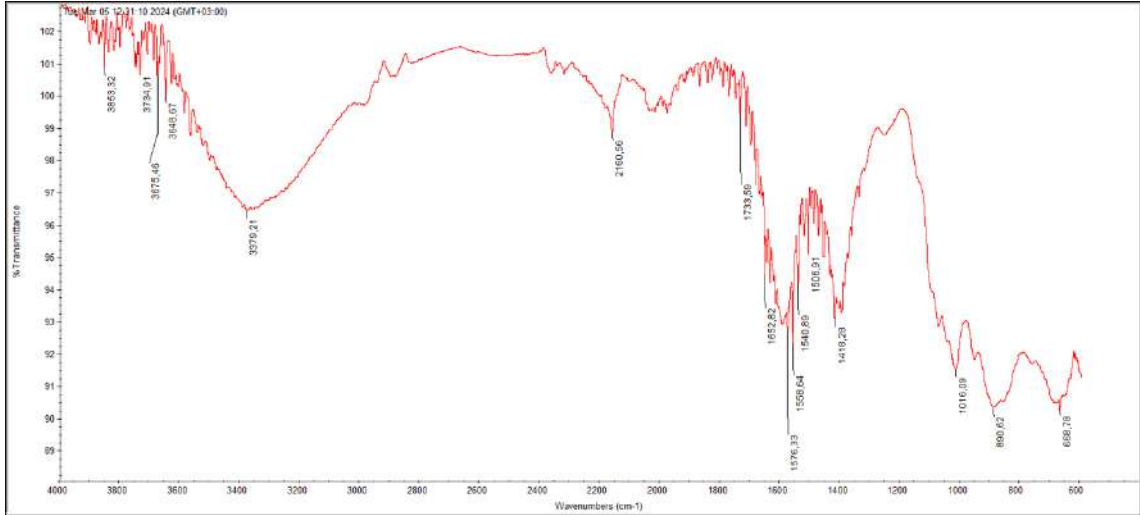
FTIR analizleri ile *P. harmala* tohum ekstraktı ve ZnO NP'lerin fonksiyonel grupları belirlenmiştir ve ZnO NP'lerin yüzeylerinde yer alan moleküllerin yapısal özellikleri ortaya konmuştur.

P. harmala tohum ekstraktına ait FTIR spektrumunda $3200-3400\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki geniş bant, fenolik bileşikler veya amin gruplarından kaynaklanan O–H ve N–H gerilme titreşimlerine işaret etmektedir. Bu sonuç bitki ekstraktında güçlü indirgeme potansiyeline sahip ve hidrojen bağı yapabilen moleküllerin varlığı ile açıklanabilir. $1633,67\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik aromatik C=C veya karbonil C=O gruplarına atfedilebilir ve flavonoid ve alkaloid yapıların varlığını işaret etmektedir. $2161,62\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik, genellikle C≡C veya C≡N gibi üçlü bağlara karşılık gelmektedir ve *P. harmala* tohum ekstraktındaki harmalin gibi azotlu alkaloidlerin rezonans yapıları ile ilişkilendirilebilir. $666,53\text{ cm}^{-1}$ piki ise ekstraktın parmak izi bölgesine ait olup kompleks aromatik dışa bükülme titreşimlerini temsil eder (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. *P. harmala* tohum ekstraktının FTIR analizi

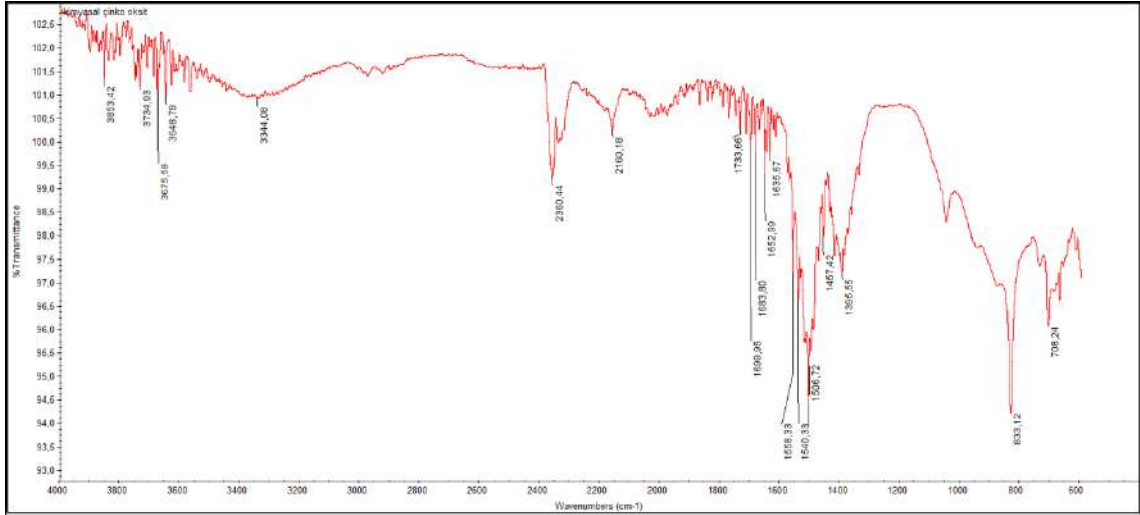
Y-ZnO NP'lerin FTIR spektrumu, bitki kaynaklı biyoaktif bileşiklerin Y-ZnO NP'lerin yüzeyine bağlandığını ve sentez sürecinde rol aldığını göstermektedir (Şekil 4.7). Spektrumda $3200\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$ arasında devam eden geniş bant, ekstraktın O–H ve N–H gruplarının Y-ZnO NP'lerin yüzeyinde korunduğuna işaret etmektedir. Bu sonuç, *P. harmala* ekstraktının sadece indirgeme ajanı değil aynı zamanda stabilize edici ajan olarak da görev yaptığını ortaya koymaktadır. Y-ZnO NP'lerin spektrumunda $600\text{--}800\text{ cm}^{-1}$ civarında gözlenen belirgin pikler Zn–O bağlarının karakteristik gerilme titreşimleri olarak tanımlanabilir ve bu piklerin varlığı Y-ZnO NP'lerin sentezinin başarısını doğrulamaktadır. İlave olarak, $1050\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki pikler C–O veya C–N gerilmelerine işaret etmekte olup, bitki kaynaklı organik bileşiklerin Y-ZnO NP'lerin yüzeylerine tutunduğunu düşündürmektedir. $1418\text{--}1633\text{ cm}^{-1}$ arasındaki bölgede yer alan çoklu pikler ise ekstraktta bulunan aromatik ve karbonil grupların ZnO NP yapısında korunduğunu göstermektedir (Thongam vd., 2019; Mutukwa vd., 2024; Loganathan vd., 2025).



Şekil 4.7. Y-ZnO NP'lerin FTIR analizi

Önceki çalışmalarda farklı bitki ekstraktlarıyla sentezlenen ZnO NP'ler için benzer FTIR bulguları rapor edilmiştir. *Cannabis*, *Jatropha curcas*, *Aloe vera* ve *Tinospora cordifolia* ekstraktları ile sentezlenen ZnO NP'lerin yüzeylerinde fenoller, polifenoller, terpenoidler, alkaloidler, saponinler ve glikozitler gibi sekonder metabolitlerin bulunduğu ve bu bileşiklerin indirgeme ve stabilizasyonda rol oynadığı ortaya konmuştur (Thakur vd., 2021). Sharmila vd. (2019) *Tecoma castanifolia* yaprak ekstraktı ile sentezledikleri ZnO NP'lerin FTIR analizinde O–H, C–H, C–O ve amid gruplarının yanı sıra metal-oksijen bağlarının varlığını bildirmişlerdir ve bu yapıların indirgeme ve yüzey stabilizasyonunda etkili olduğunu belirtmişlerdir.

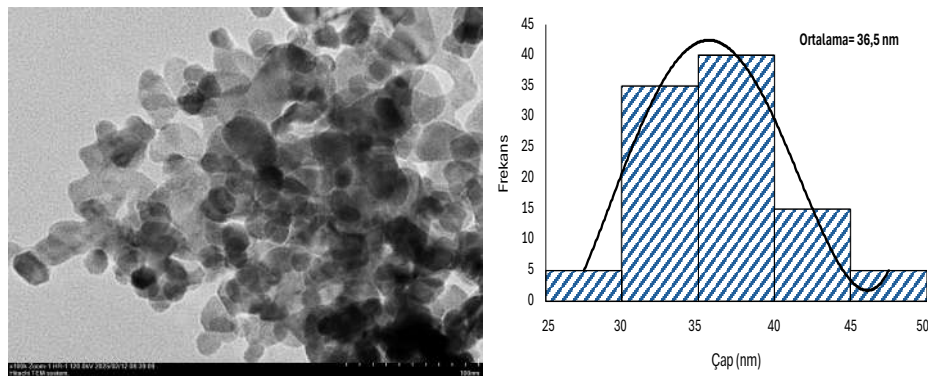
K-ZnO NP'lerin FTIR spektrumunda $3344,08\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde zayıf ve geniş bir pik tespit edilmiştir (Şekil 4.8). Düşük şiddetli bu pik, sentezde biyolojik bir materyal kullanılmaması nedeniyle K-ZnO NP'lerin yüzeyinde absorbe olmuş su moleküllerine veya O–H gruplarının varlığına atfedilebilir. Yaklaşık 1650 cm^{-1} civarında gözlenen dar pik, genellikle yüzeydeki reaktif kalıntıları ya da su varlığına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır ve su moleküllerinin H–O–H bükülme titreşimlerine veya muhtemel C=O gruplarına işaret etmektedir. $1400\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ aralığında yer alan pikler, organik yapıli fonksiyonel grupların (C–O, C–H, C–N) sınırlı da olsa varlığını göstermektedir. FTIR spektrumunda $600\text{--}800\text{ cm}^{-1}$ civarında gözlenen pikler Zn–O bağlarının karakteristik gerilme titreşimine karşılık gelmektedir ve ZnO NP'lerin varlığını doğrulamaktadır (Thongam vd., 2019; Mutukwa vd., 2024; Loganathan vd., 2025).



Şekil 4.8. K-ZnO NP'lerin FTIR analizi

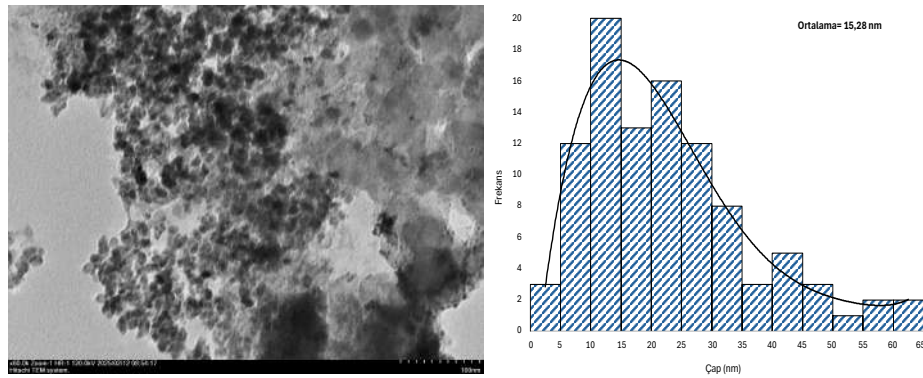
4.1.4. TEM analizi

K-ZnO NP'lere ait TEM görüntülerinde çoğunlukla yarı küresel ve çokgen morfolojide, net sınırlara sahip, oldukça yoğun ve birbiriyle temas halinde, kümelenmiş yapılar tespit edilmiştir (Şekil 4.9). K-ZnO NP'lerin çapları 25-50 nm aralığında ve ortalama partikül çapı 36,50 nm olarak belirlenmiştir. Partiküllerin büyük oranda homojen dağılım gösterdiği tespit edilmiştir ve dış yüzeylerinde belirgin organik veya amorf yapılar gözlemlenmemiştir. Bu sonuçlar kimyasal sentez ile saf, kontrollü ve düzenli partiküller elde edilebileceğini ortaya koymaktadır. Benzer şekilde, Deepak vd. (2024) kimyasal yöntemle sentezlenen ZnO NP'lerin homojen dağılım gösterdiğini ve net sınırlara sahip yarı küresel morfolojide olduklarını bildirmişlerdir.



Şekil 4.9. K-ZnO NP'lerin TEM görüntüsü ve boyut dağılımı

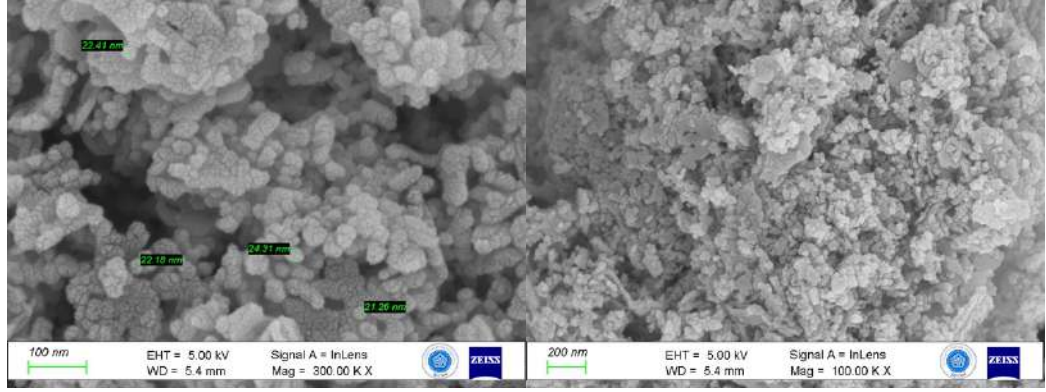
Y-ZnO NP'ler, K- ZnO NP'lere kıyasla daha küçük boyutlu, daha yoğun kümelenme eğilimi gösteren ve yüzeylerinde daha fazla organik materyale sahip partiküllerdir (Şekil 4.10). Y-ZnO NP'lerin çapları 5-65 nm aralığında ve ortalama partikül çapı 15,28 nm olarak belirlenmiştir. Önceki çalışmalarda yeşil sentez ile kimyasal senteze nazaran genellikle daha küçük çapta, daha yüksek yüzey alanına sahip ve aglomere olmuş ZnO NP yapıları elde edildiği bildirilmiştir (Deepak vd., 2024). Y-ZnO NP'lerin etrafında gözlenen bulanık ya da düşük kontrastlı bölgeler, *P. harmala* tohum ekstraktından gelen biyomoleküllerin yüzeye adsorbe olması ile açıklanabilir. Bu bulgu *P. harmala* kaynaklı biyomoleküllerin yüzey stabilizatörü olarak görev yaptığına dair FTIR sonuçlarını desteklemektedir. Benzer şekilde, Saputra vd. (2024) bitki ekstraktlarıyla yapılan yeşil sentezde, ZnO NP'lerin yüzeyinde saponin veya fenolikler gibi fitokimyasal grupların kaplama görevi üstlendiğini bildirmişlerdir.



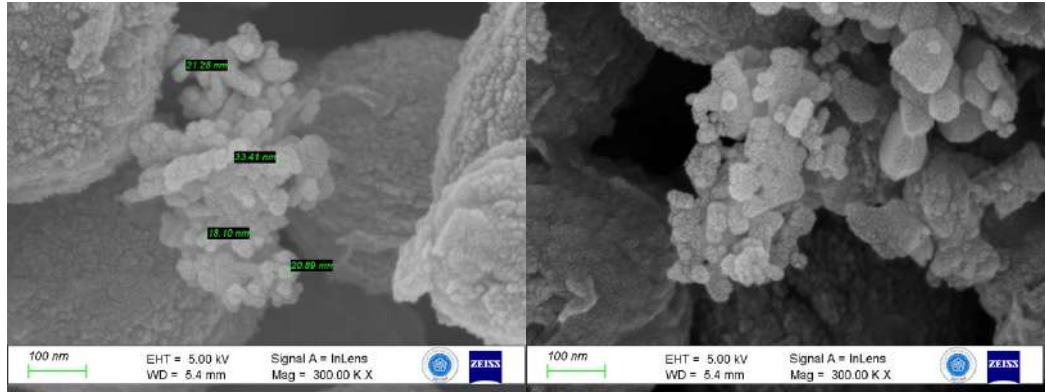
Şekil 4.10. Y-ZnO NP'lerin TEM görüntüsü ve boyut dağılımı

4.1.5. FE-SEM ve EDX analizi

ZnO NP'lerin morfolojik yapısı FE-SEM analizi ile belirlenmiştir ve Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'te gösterilmiştir. K-ZnO NP'lerin küresel şekilli olduğu ve TEM analizleriyle uyumlu olarak çaplarının 21-50 nm aralığında dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Y-ZnO NP'lere ait FE-SEM görüntülerinde ise, küresel morfolojide NP'lerin yanı sıra bazı kümelenme yapılarının olduğu gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, yeşil sentez ZnO NP'lerin küresel şekilli olmakla birlikte kümelenmiş yapılar oluşturma eğilimleri daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Vidya vd., 2013).

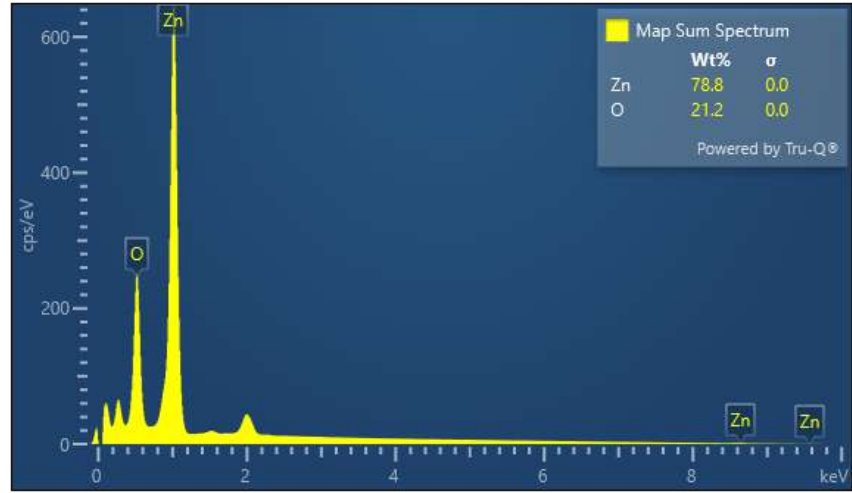


Şekil 4.11. K-ZnO NP'lerin farklı büyütme ölçeklerinde FE-SEM görüntüleri

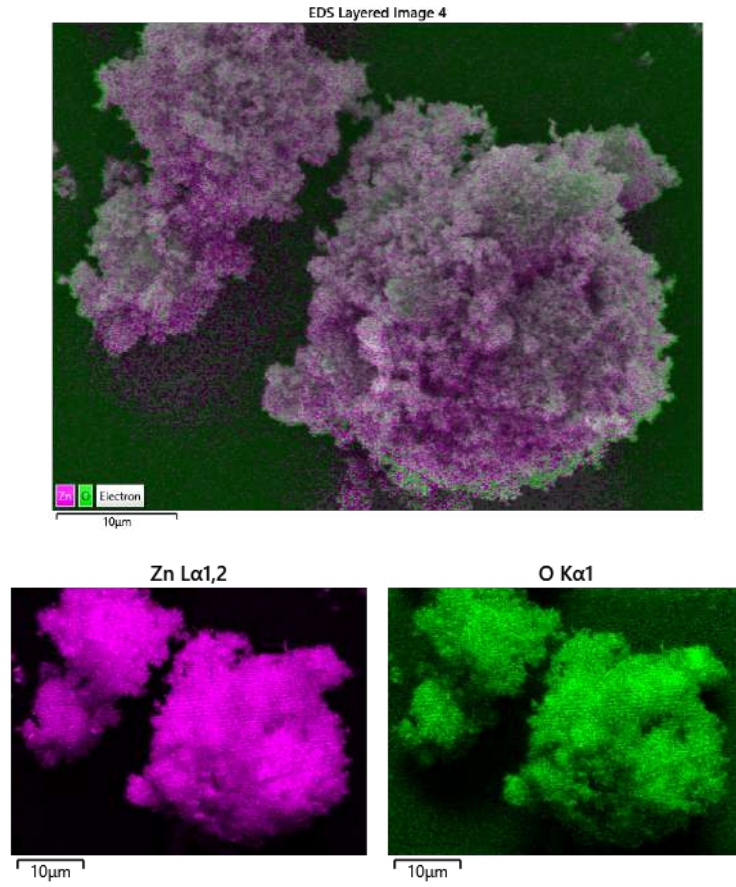


Şekil 4.12. Y-ZnO NP'lerin farklı büyütme ölçeklerinde FE-SEM görüntüleri

ZnO NP'lerin elementel bileşimi ve stereokimyası EDX analizi ile belirlenmiştir. K-ZnO NP'lerin EDX spektrumlarındaki (Şekil 4.13), çinko ve oksijen sinyallerinin analizi sentezlenen NP'lerin saflığını doğrulamaktadır. Ayrıca, NP yapısında Zn ve O elementlerinin yüzdeleri sırasıyla %78,8 ve %21,2 olarak saptanmıştır. K-ZnO NP'lerin elementel analizine göre (Şekil 4.14), NP'lerin yapılarında Zn ve O dışında element tespit edilmemiştir.

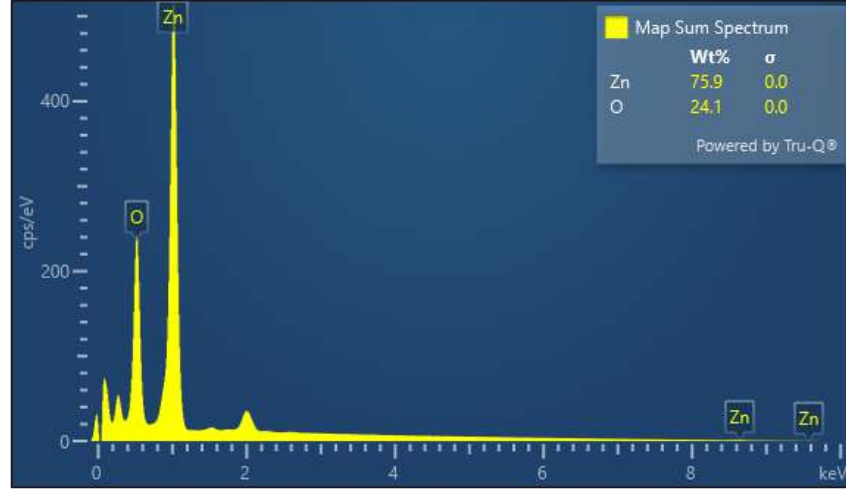


Şekil 4.13. K-ZnO NP'lerin EDX spektrumları

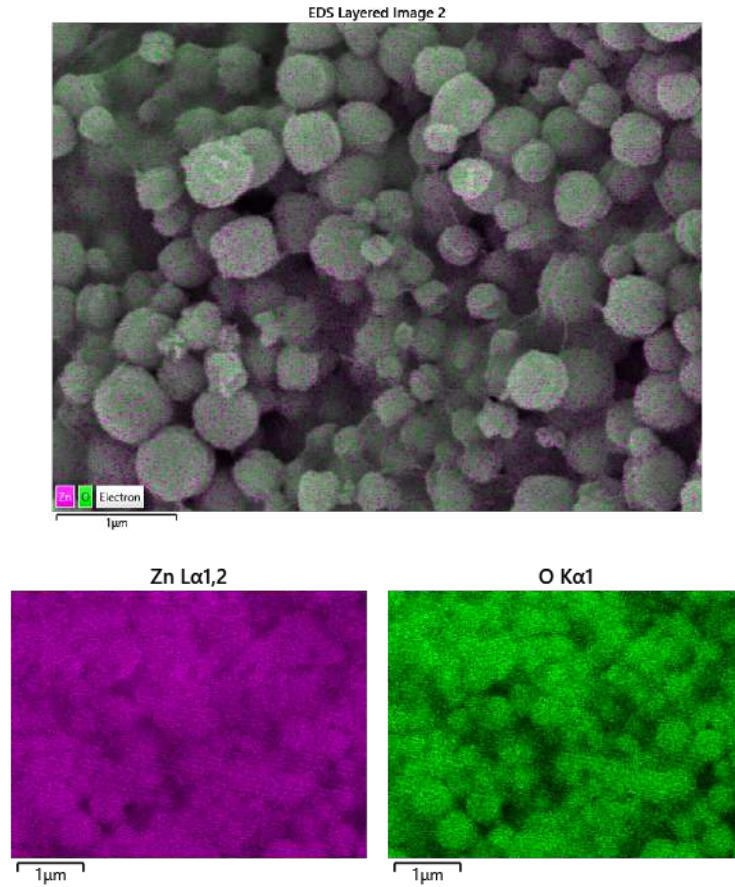


Şekil 4.14. K-ZnO NP'lerin elementel analizi

Y-ZnO NP'lerin EDX spektrumlarındaki Zn ve O sinyalleri sentezlenen NP'lerin yüksek saflıkta ZnO yapısına sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 4.15 ve Şekil 4.16). Y-ZnO NP'lerin elementel analizi, NP'lerin %75,9 Zn ve %24,1 O içerdiğini göstermiştir.



Şekil 4.15. Y-ZnO NP'lerin EDX spektrumları

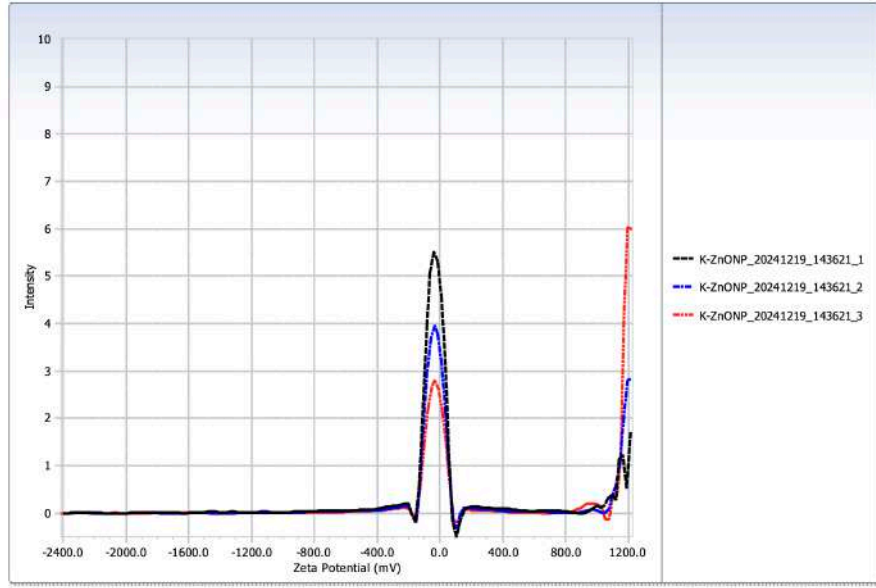


Şekil 4.16. Y-ZnO NP'lerin elementel analizi

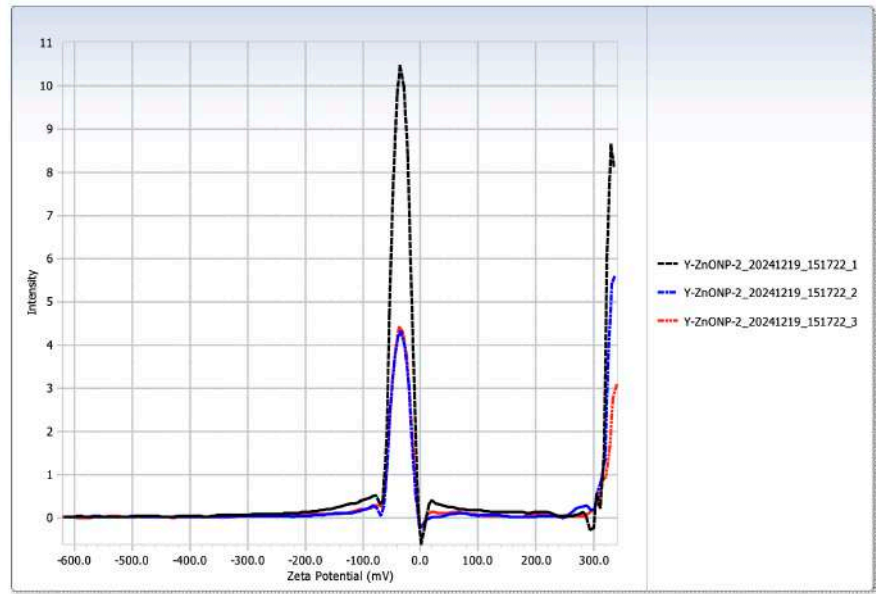
Elde edilen sonuçlar, yeşil sentez yöntemiyle yüksek saflıkta ZnO NP'lerin elde edilebileceğini ortaya koymuştur ve bitki ekstraktı kullanılarak gerçekleştirilen yeşil sentez çalışmalarının bulgularıyla örtüşmektedir. *Citrullus lanatus* kabuğu kullanılarak sentezlenen ZnO NP'lerin EDX analizi, sadece Zn ve O elementlerinin varlığını doğrulamış ve sentezlenen yapının saflığını göstermiştir (Akhter vd., 2024). Benzer şekilde, *Dovyalis caffra* yaprak ekstraktı ile sentezlenen ZnO NP'lerin EDX analizinde herhangi yabancı bir element tespit edilmemiş ve yapının kimyasal olarak saf olduğu doğrulanmıştır (Adeyemi vd., 2022).

4.1.6. Zeta potansiyel analizi

ZnO NP'lerin dağılımını ve stabilitesini belirlemek için zeta potansiyel ölçümleri Nanoplus 3 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elektrik alanında NP'lerin hareketinin ölçümü zeta potansiyelini hesaplamak için kullanılmaktadır. Ayrıca, partiküllerin yüzey yükü ve çevresi zeta potansiyelinin belirlenmesindeki kritik faktörlerdir (Chaudhuri ve Malodia, 2017). Deiyonize suda sonikasyon ile homojenize edilmiş K-ZnO NP ve Y-ZnO NP'lerin, sırasıyla, -31,48 mV ve -34,84 mV zeta potansiyel değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.17 ve Şekil 4.18). Negatif potansiyel değerleri yüksek stabiliteyi desteklemektedir ve benzer çalışmalarda da negatif zeta potansiyel değerleri rapor edilmiştir (Vimala vd., 2014; Bharathi ve Bhuvaneshwari, 2019). Mohamed Asik vd. (2019) *Gracilaria edulis* ekstraktıyla sentezledikleri ZnO NP'lerin, -28,2 mV zeta potansiyeli değeriyle stabilitesini bildirmişlerdir. Yeşil sentez ile elde edilen ZnO NP'lerin zeta potansiyel değerinin daha düşük olması, ZnO NP'ler üzerine adsorbe olmuş bitki polifenoller ile açıklanabilir (Alyamani vd., 2021).



Şekil 4.17. K-ZnO NP Zeta potansiyel ölçümü



Şekil 4.18. Y-ZnO NP Zeta potansiyel ölçümü

4.2. ZnO NP'lerin Antibakteriyel Aktiviteleri

4.2.1. Broth mikrodilüsyon testi

K-ZnO NP ve Y-ZnO NP'lerin *S. aureus*, *E. faecalis* ve *S. mutans* suşlarına karşı MİK ve MBK değerleri Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2'de sunulmuştur. K-ZnO NP'lerin MİK ve MBK değerleri, test edilen suşlar için Y-ZnO NP'lere nazaran daha yüksek

bulunmuştur. Y-ZnO NP'ler için daha düşük MİK ve MBK değerlerinin elde edilmesi, sentez koşullarındaki farklılıklar, partikül morfolojisi ve yüzey kimyasına ek olarak kullanılan bitki ekstraktının fitokimyasal bileşimiyle ilişkilendirilebilir. Bu durum, bitkisel özütlerdeki biyoaktif bileşiklerin NP yüzeyine bağlanarak hücre zarıyla etkileşimi kolaylaştırmasıyla açıklanabilir (Gunalan vd., 2012). Elde edilen sonuçlar *P. harmala* tohum ekstraktında bulunan fenolik ve alkaloid bileşenlerin, ZnO yüzeyine adsorbe olarak partiküllerin biyolojik aktivitesini arttırdığını ortaya koymaktadır. Fenolik bileşikler bakteri hücre duvarı ve membranında yapısal bozulmalara yol açarak metabolik aktiviteleri baskılamakta ve biyofilm oluşumunu azaltmaktadır (Daglia, 2012). Alkaloidler ise bakteri DNA'sı ile etkileşime girerek genetik materyalin işlevini bozmakta, membran geçirgenliğini değiştirerek ve virülans faktörlerini baskılayarak antibakteriyel etki göstermektedir (Cushnie vd., 2014).

Her iki ZnO NP formu en güçlü antibakteriyel aktiviteyi *S. mutans* suşuna karşı göstermiştir. Bu sonuç *S. mutans*'ın Zn^{2+} iyonlarına ve oksidatif strese karşı daha hassas yapısal özelliklere sahip olmasıyla açıklanabilir. *S. mutans*, ağız boşluğuna uyum sağlamış mikroaerofilik bir tür olması nedeniyle oksidatif stres toleransı sınırlıdır (Yamamoto vd., 2000). Bakterinin genel oksidatif savunma kapasitesinin sınırlı olması nedeniyle ZnO NP'lerin oluşturduğu iyonik ve oksidatif stres karşısında *S. aureus* ve *E. faecalis*'e kıyasla daha hassas kaldığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.1. K-ZnO NP'lerin MİK ve MBK değerleri (µg/mL)

Mikroorganizma	MİK	MBK
<i>Staphylococcus aureus</i>	250	500
<i>Enterococcus faecalis</i>	500	500
<i>Streptococcus mutans</i>	125	250

Çizelge 4.2. Y-ZnO NP'lerin MİK ve MBK değerleri (µg/mL)

Mikroorganizma	MİK	MBK
<i>Staphylococcus aureus</i>	62,5	125
<i>Enterococcus faecalis</i>	62,5	125
<i>Streptococcus mutans</i>	31,25	62,5

Geçmiş çalışmalarda, ZnO NP'lerin çeşitli oral patojenler üzerindeki antibakteriyel etkinlikleri bildirilmiştir. Tabrez Khan vd. (2013) 35 nm boyutundaki

poligonal ZnO NP'lerin, 50 µg/mL konsantrasyonda toplam oral bakteriyel yüke karşı anlamlı antibakteriyel etki gösterdiğini raporlamışlardır. Pawar vd. (2023) tarafından yapılan bir çalışmada 10-50 nm boyutundaki çiçeksi morfolojiye sahip ZnO NP'lerin *E. faecalis* için MİK değeri 250 µg/mL, MBK değeri ise 1000 µg/mL olarak belirlenmiştir. Benzer bir çalışmada aynı boyut aralığındaki ZnO NP'lerin, anaerobik koşullarda *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* türlerine karşı MİK değeri 250 µg/mL olarak saptanmıştır (Vargas-Reus vd., 2012).

4.2.2. Agar difüzyon testi

Test suşları ile inoküle edilen besiyerlerinde ZnO NP kuyucukları çevresinde oluşan inhibisyon zonlarına ilişkin bulgular Çizelge 4.3'te sunulmuştur. *S. mutans* ve *S. aureus* suşlarına karşı her iki ZnO NP formu ile ölçülebilir inhibisyon zonları elde edilmiştir. Bununla birlikte *E. faecalis*'in inoküle edildiği besiyerlerinde inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir. Broth mikrodilüsyon testi sonuçları ile uyumlu olarak en yüksek inhibisyon zonu *S. mutans* ile inoküle edilen besiyerlerinde ölçülmüştür. *E. faecalis* için agar difüzyon testi ile elde ettiğimiz sonuç ise Broth mikrodilüsyon testi sonuçları ile uyumlu değildir. Benzer şekilde Bozer vd. (2024) *Salvadora persica* ekstraktı kullanılarak elde ettikleri ZnO NP'lerin, *S. aureus* ve *S. mutans* türlerine karşı inhibisyon zonları oluşturduğunu, *E. faecalis* için ise inhibisyon zonu gözlenmediğini bildirmişlerdir. Bu durum, agar difüzyon testinin sınırlılıkları ile açıklanabilir. Bu yöntem, esas olarak inhibitör etkinin varlığını kalitatif olarak değerlendirmekte ve NP'ler gibi düşük difüzyon kapasitesine sahip bileşikler söz konusu olduğunda gerçek antimikrobiyal potansiyeli tam olarak yansıtamamaktadır. Ayrıca difüzyonun agar matrisi içindeki fiziksel kısıtlamaları, NP'lerin çözünürlüğü ve boyutu ile ilişkili olup, bazı bakterilerde inhibisyon zonunun oluşmamasına yol açabilmektedir (Balouiri vd., 2016).

Çizelge 4.3. ZnO NP'lerin bakteri suşlarına karşı oluşturdukları zon çapları (mm)

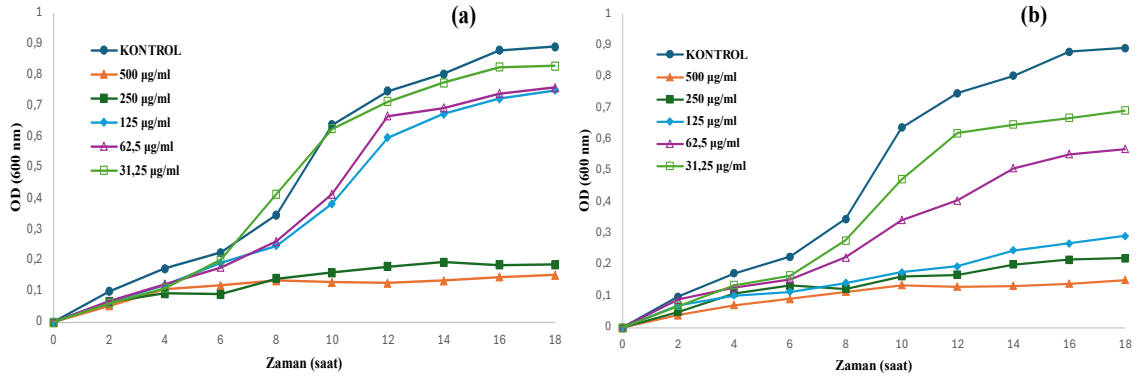
Mikroorganizma	Zon Çapları	
	K-ZnO NP	Y-ZnO NP
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,7 ± 0,4	13,2 ± 0,1
<i>Enterococcus faecalis</i>	----	----
<i>Streptococcus mutans</i>	15,2 ± 0,2	17,4 ± 0,1

Agar difüzyon testinde Y-ZnO NP içeren kuyucukların çevresinde daha geniş inhibisyon zonları ölçülmüştür. Yeşil ve kimyasal sentez ZnO NP'lerin karşılaştırmalı değerlendirildiği bir çalışmada, yeşil sentez ZnO NP'lerin daha küçük partikül boyutu ve daha yüksek yüzey alanı nedeniyle daha etkili antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir (Gunalan vd., 2012). Benzer şekilde Stan vd. (2016) *Allium sativum*, *Rosmarinus officinalis* ve *Ocimum basilicum* bitkileriyle sentezlenen ZnO NP'lerin, kimyasal sentez ile elde edilenlere nazaran daha güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu ve gram pozitif bakterilerin yeşil sentez ZnO NP'lere karşı daha hassas olduğunu raporlamışlardır.

4.2.3. ZnO NP stresi altında bakteriyel çoğalma

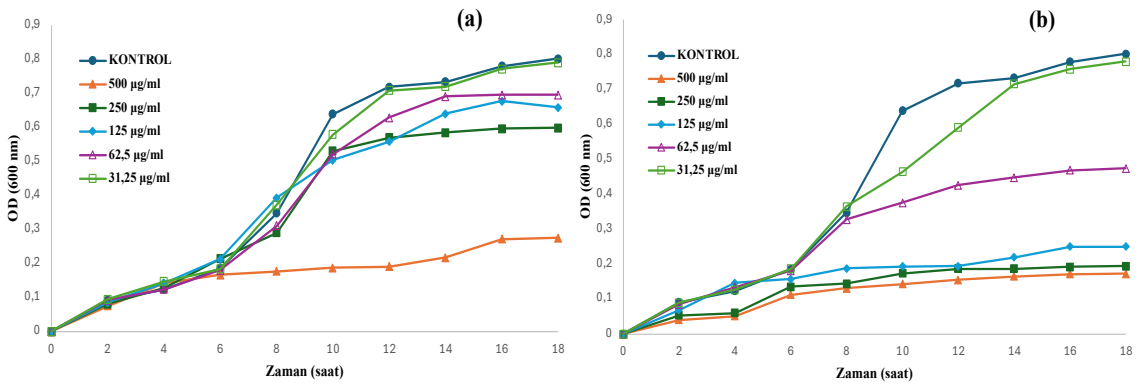
Farklı konsantrasyonlarda ZnO NP varlığında *S. aureus*, *E. faecalis* ve *S. mutans* kültürlerinin OD600 değerleri ile elde edilen çoğalma eğrileri Şekil 4.19, Şekil 4.20 ve Şekil 4.21'te sunulmuştur. Elde edilen veriler ZnO NP'lerin inhibisyon düzeylerinin uygulanan NP konsantrasyonu, sentez yöntemi ve bakteri türüne göre farklılık gösterdiği gözlenmiştir. Benzer şekilde, ZnO NP'lerin farklı oral patojenler üzerindeki çoğalma inhibisyonuna dair yapılan çalışmalarda, sonuçların konsantrasyon ve zamana bağlı olduğu bildirilmiştir (Vargas-Reus vd., 2012).

Y-ZnO NP'lerin 250 µg/mL ve 500 µg/mL konsantrasyonlarda 18 saatlik inkübasyon süresi boyunca her üç mikroorganizmanın çoğalmasını belirgin şekilde baskıladığı gözlenmiştir. Bununla birlikte K-ZnO NP'ler 250 µg/mL konsantrasyonda *E. faecalis*'in çoğalması üzerine kayda değer bir inhibisyon sağlayamamıştır. Her iki ZnO NP formunda 125 µg/mL konsantrasyonda elde edilen OD600 değerleri, Y-ZnO NP'lerin K-ZnO NP'lere nazaran her üç türün çoğalmasını daha güçlü şekilde baskıladığını göstermiştir.



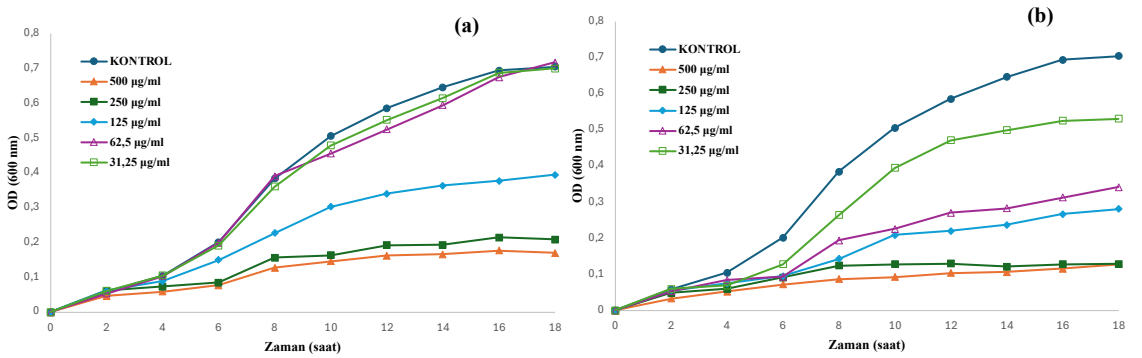
Şekil 4.19. ZnO NP'lerin değişen konsantrasyonlarının, *S. aureus*'un büyüme eğrisine zamana bağlı etkisi.

(a): K-ZnO NP, (b): Y-ZnO NP



Şekil 4.20. ZnO NP'lerin farklı konsantrasyonlarının, *E. faecalis*'in büyüme eğrisine zamana bağlı etkisi.

(a): K-ZnO NP, (b): Y-ZnO NP



Şekil 4.21. ZnO NP'lerin farklı konsantrasyonlarının, *S. mutans*'ın büyüme eğrisine zamana bağlı etkisi.

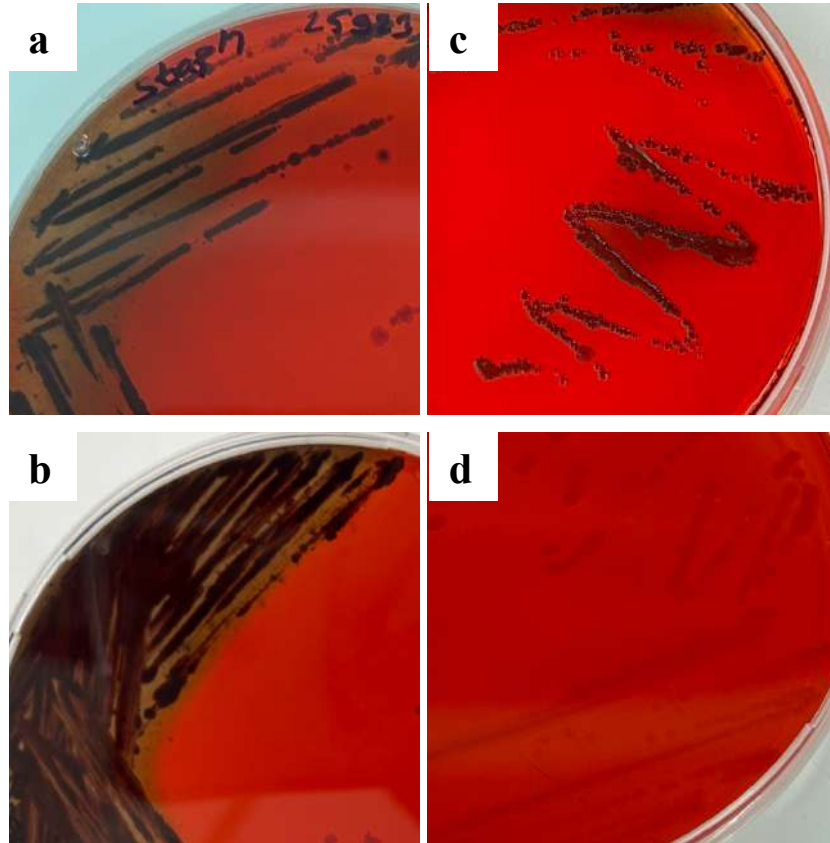
(a): K-ZnO NP, (b): Y-ZnO NP

4.3. ZnO NP'lerin Antibiyofilm Aktiviteleri

4.3.1. Test suşlarının biyofilm üretiminin teyidi

4.3.1.1 Congo red agar (CRA) yöntemi

Test suşlarının biyofilm üretimi kabiliyetlerinin teyidi, CRA besiyeri üzerinde gerçekleştirilmiştir. *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *S. mutans* ATCC 25175 suşları CRA üzerinde karakteristik siyah koloniler oluşturmuştur ve biyofilm üreticisi olarak tanımlanmıştır. Kontrol suşu olarak kullanılan *E. coli* ATCC 25922 suşu ise CRA üzerinde kırmızı koloniler oluşturmuştur ve biyofilm negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.22).



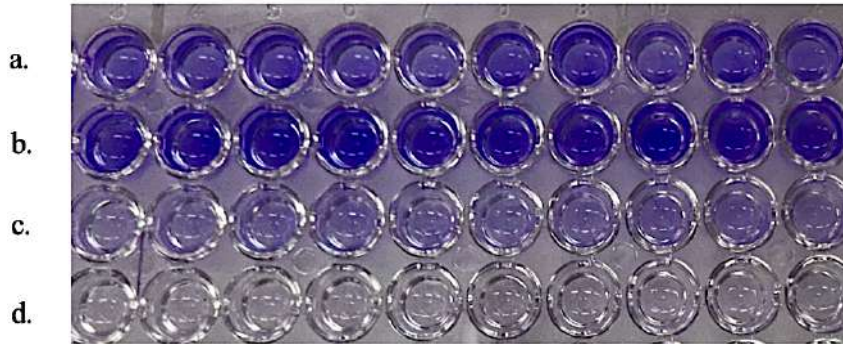
Şekil 4.22. Congo red agar üzerinde biyofilm üretiminin fenotipik ifadesi.

a: *S. aureus* ATCC 25923, b: *E. faecalis* ATCC 29212, c: *S. mutans* ATCC 25175, d: *E. coli* ATCC 25922.

4.3.1.2 Kristal viyole boyama yöntemi

Test suşların biyofilm oluşturma kabiliyeti ve derecesi kristal viyole boyama yöntemi ile kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Kristal viyole, olgun biyofilmlerde hücre yüzeyi molekülleri ve ekstraselüler matrislerdeki polisakkaritler dahil olmak üzere negatif yüklü ekstraselüler molekülere bağlanır (Li vd., 2003). Kristal viyole boyama yöntemi ile elde edilen sonuçlar, *S. aureus* (>4ODc) ve *E. faecalis* (>4ODc) suşlarının güçlü, *S. mutans* (>2ODc) suşunun ise orta düzey biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 4.23).

Mikroorganizmaların plastik gibi hidrofobik yüzeylere, hidrofilik materyallere göre daha hızlı ve güçlü biçimde tutunduğu bildirilmiştir (Sinde ve Carballo, 2000). *S. aureus*, *E. faecalis* ve *S. mutans* suşlarının polistiren, polikarbonat, polivinil klorür ve silikon gibi çeşitli yüzeylere etkin biçimde tutunabildiği ve bu yüzeylerde çoğalabildiği rapor edilmiştir (Cucarella vd., 2001; Toledo-Arana vd., 2001; Alqarni vd., 2023). Plastik materyaller diş hekimliğinde protez, ortodontik aparey, rezin kompozit ve restoratif dolgu materyali yapımında yaygın olarak kullanılmaktadır (Rokaya vd., 2018). Bu nedenle, bu çalışmada test mikroorganizmalarının biyofilmleri polistiren yüzey üzerinde oluşturulmuştur.



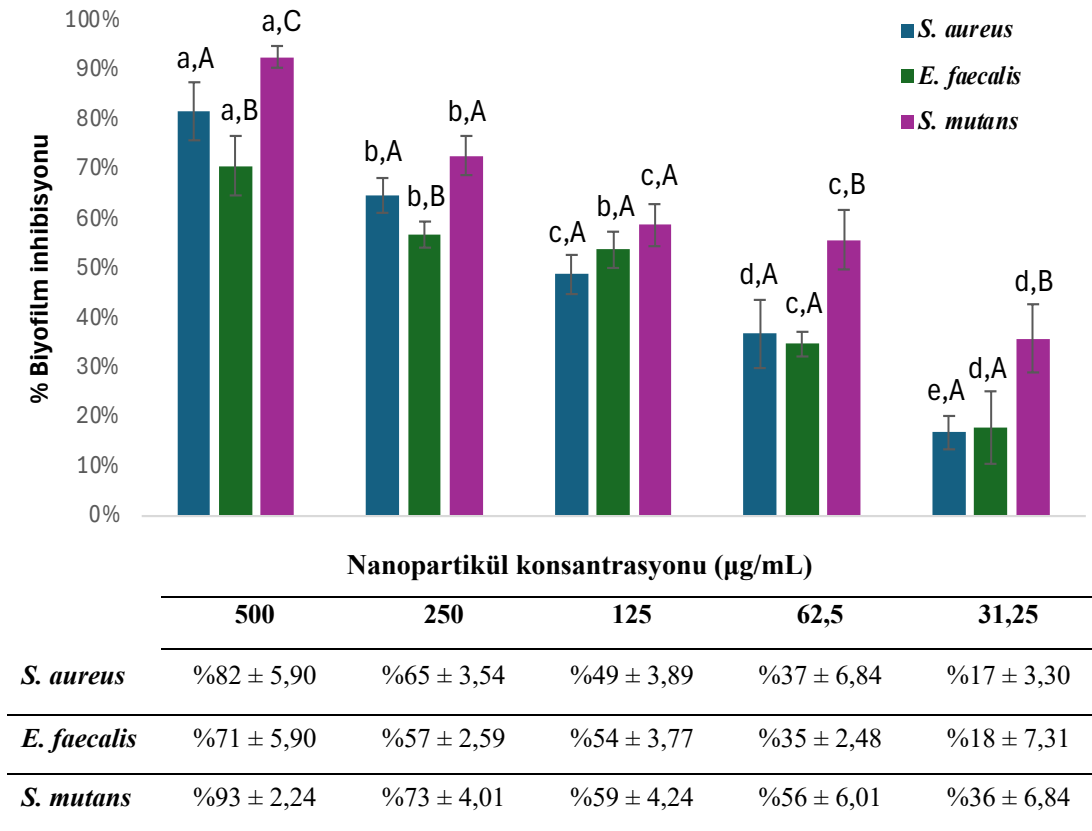
Şekil 4.23. Kristal viyole ile boyanmış mikrotitrasyon plakalarında farklı yoğunlukta biyofilm oluşumu.

a: *S. aureus*, b: *E. faecalis*, c: *S. mutans*, d: Negatif kontrol

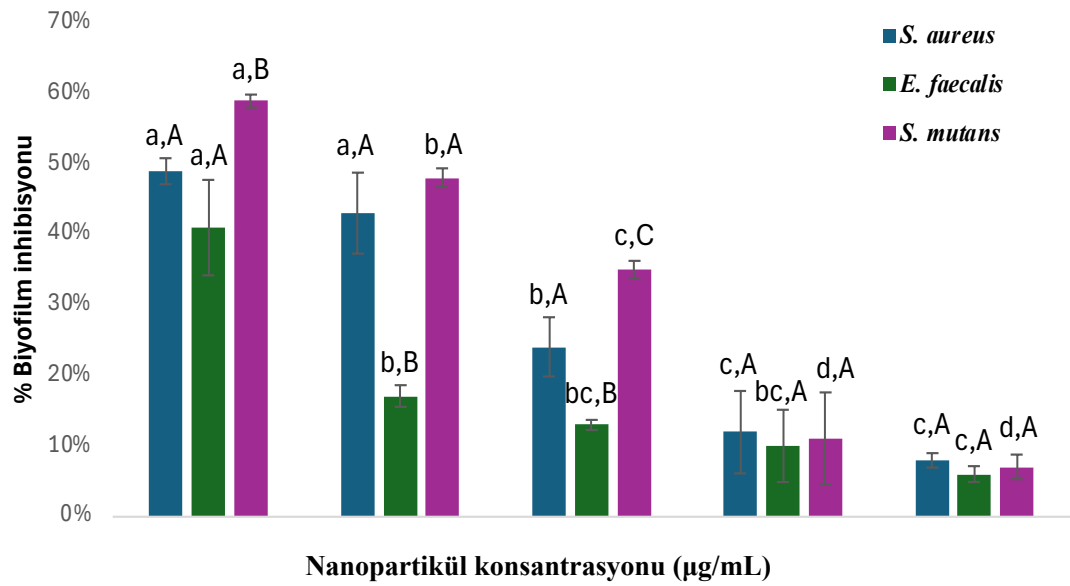
4.3.2. ZnO NP'lerin biyofilm oluşumu üzerine etkileri

Bu çalışmada, ZnO NP'ler tarafından biyofilm oluşumunun inhibisyonunu değerlendirmek amacıyla, bakterilerin mikrotitrasyon plakasına adezyonunu ölçen kristal viyole boyama yöntemi kullanılmıştır. Y-ZnO NP'ler ile elde edilen bulgular, artan NP

konsantrasyonu ile biyofilm oluşumunun inhibisyonunun önemli düzeyde arttığını göstermektedir ($p<0,05$). Test edilen en yüksek konsantrasyon olan 500 $\mu\text{g/mL}$ 'de Y-ZnO NP'ler *S. mutans* biyofilm oluşumunu %93 inhibe etmiştir. Farklı konsantrasyonlarda elde edilen sonuçlar Y-ZnO NP'lerin *S. aureus* ve *E. faecalis*'e nazaran *S. mutans* biyofilmleri üzerine inhibe edici etkisinin daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 4.24). K-ZnO NP'ler ile elde edilen biyofilm inhibisyon değerleri tüm NP konsantrasyonlarında Y-ZnO NP'lere nazaran daha düşük bulunmuştur (Şekil 4.25).



Şekil 4.24. Farklı konsantrasyonlardaki Y-ZnO NP'lerin *S. aureus*, *E. faecalis* ve *S. mutans* suşlarının biyofilm oluşumu üzerindeki inhibitör etkisi. Farklı küçük harfi taşıyan değerler, aynı mikroorganizma için farklı NP konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Farklı büyük harfi taşıyan değerler ise aynı NP konsantrasyonunun farklı mikroorganizma biyofilmlerine etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.25. Farklı konsantrasyonlardaki K-ZnO NP'lerin *S. aureus*, *E. faecalis* ve *S. mutans* suşlarının biyofilm oluşumu üzerindeki inhibitör etkisi. Farklı küçük harfi taşıyan değerler, aynı mikroorganizma için farklı NP konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). Farklı büyük harfi taşıyan değerler ise aynı NP konsantrasyonunun farklı mikroorganizma biyofilmlerine etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Yapılan birçok çalışma ile ZnO NP'lerin biyofilm inhibisyon potansiyeli ortaya konmuştur. Düşük konsantrasyonlarda (Örneğin 50-100 µg/mL) ZnO NP maruziyetinin *P. aeruginosa* biyofilm oluşumunu anlamlı düzeyde baskıladığı rapor edilmiştir (Dwivedi vd., 2014). Eshed vd. (2012) ZnO NP'lerin diş modeli yüzeylerinde *S. mutans*'ın biyofilm oluşumunu %85 inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada ZnO NP içeren (%7,5) akrilik reçinelerin, *S. mutans*'ın diş yüzeyine tutunma oranını, katkı içermeyen kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde azalttığı bildirilmiştir (Puspitasari vd., 2023).

ZnO NP'lerin antibiyofilm etkilerinin, yüzey tutunmasının yanı sıra bakterilerin virülans faktörlerini düzenleyen gen ekspresyonlarını da etkilediği bildirilmiştir. Örneğin QS-regüle virülans faktörleri (Pyocyanin, rhamnolipid, elastaz vb.) ve bunlara bağlı genlerin (*lasI*, *rhlR* vb.) ekspresyonu ZnO NP maruziyeti ile anlamlı düzeyde

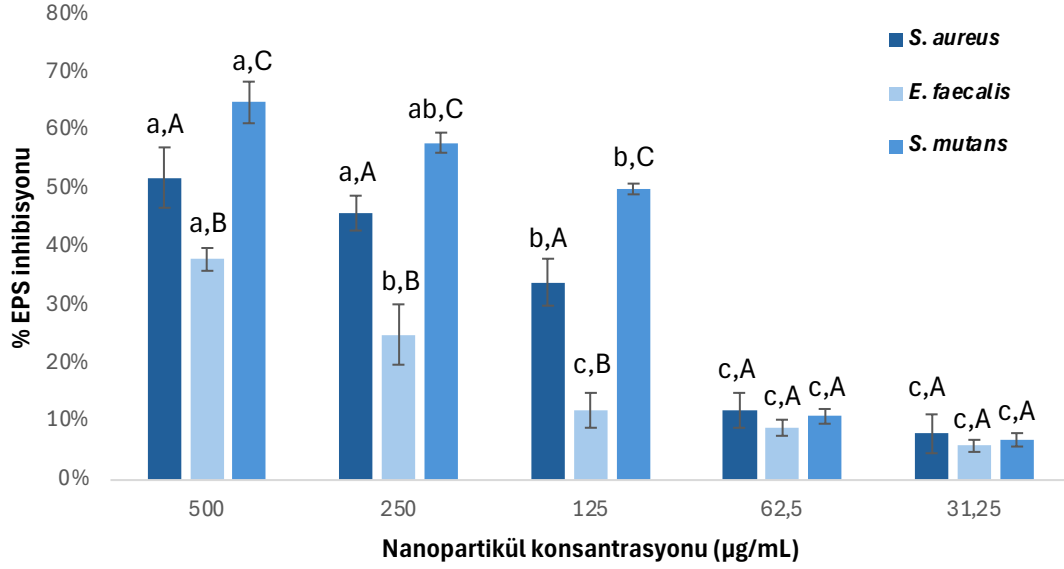
baskılanmıştır (Saleh vd., 2019). Ayrıca, ZnO NP'lerin antibiyotiklerle birlikte uygulandığında sinerjik etki gösterdikleri raporlanmıştır. Khalil vd. (2025) tarafından yapılan bir çalışmada ZnO NP'lerin ağız boşluğundan izole edilmiş *Bacillus* türlerinin biyofilm oluşumunu baskıladığı ve klindamisin ile birlikte kullanıldığında antibiyofilm etkisinin sinerjik şekilde arttığı bildirilmiştir.

Elde edilen veriler, Y-ZnO NP'lerin test edilen oral patojenlere karşı K-ZnO NP'lere kıyasla daha etkili bir antibiyofilm ajanı olduğunu ortaya koymaktadır. Bu farklılık NP'lerin boyutu, yüzey özellikleri, biyosorpsiyon kapasitesi, biyofilme penetrasyon yeteneği ve ZnO yüzeyine adsorbe olan fitokimyasallar gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal faktörlerden kaynaklanabilir (Ashajyothi vd., 2016). Literatürde yeşil sentez ile elde edilen ZnO NP'lerin antibiyofilm etkisinin kimyasal sentez ZnO NP'lere göre yüksek etkinliklerini ortaya koyan birçok çalışma mevcuttur. Örneğin, *Thymus vulgaris* yaprak özütüyle sentezlenen ZnO NP'lerin, kimyasal sentez ZnO NP'lere kıyasla *Erwinia amylovora* ve *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae* türlerinde yaklaşık %20 daha yüksek antibiyofilm etki gösterdiği bildirilmiştir (Shakerdarabad vd., 2024). Benzer şekilde, *Erythrina variegata* ile sentezlenen ZnO NP'ler hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilerde kimyasal sentez ZnO NP'lere kıyasla daha yüksek inhibisyon sağlamıştır (Velsankar vd., 2022).

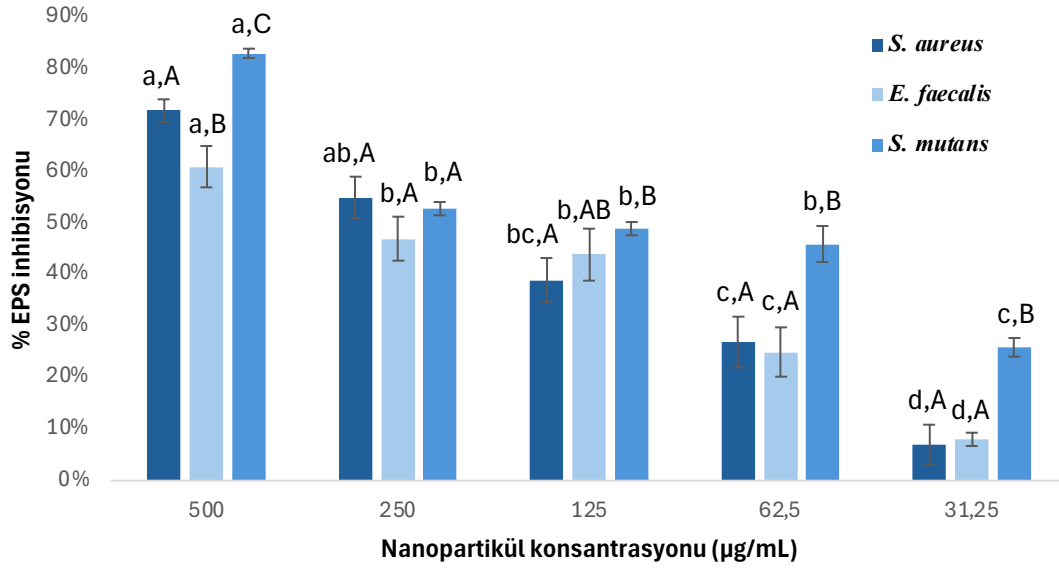
4.3.3. ZnO NP'lerin EPS üretimine etkileri

EPS, bakteriyel biyofilmlerin yapısal iskeletini oluşturan ve hücrelerin yüzeylere tutunmasını sağlayan önemli makromoleküllerdir (Chi vd., 2022). Bu nedenle EPS üretiminin baskılanması, antibiyofilm stratejilerinin etkinliğinde kritik bir göstergedir. Y-ZnO NP ve K-ZnO NP'lerin EPS üretimine etkisi, kontrol olarak NP içermeyen ortamda çoğaltılan bakteri kültürleri ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar yüzde inhibisyon olarak ifade edilmiştir (Şekil 4.26, Şekil 4.27). Biyofilm oluşumunun inhibisyon değerleri ile uyumlu olarak her iki NP formu da artan konsantrasyonlarda EPS üretimini inhibe etmiş olmakla birlikte, Y-ZnO NP'ler genel olarak daha yüksek inhibisyon oranları göstermiştir. Y-ZnO NP'ler en yüksek konsantrasyon olan 500 µg/mL'de *S. aureus*, *E. faecalis* ve *S. mutans* kültürlerinde sırasıyla %72, %61 ve %83 oranında EPS üretimini inhibe etmiştir. Aynı konsantrasyonda K-ZnO NP'lerin inhibisyon düzeyleri ise sırasıyla %52, %38 ve %65 olarak elde edilmiştir. Benzer şekilde

düşük konsantrasyonlarda (62,5 ve 31,25 $\mu\text{g/mL}$) Y-ZnO NP'ler K-ZnO NP'lere nazaran daha yüksek inhibisyon değerleri göstermiştir.



Şekil 4.26. Farklı konsantrasyonlardaki K-ZnO NP'lerin *S. aureus*, *E. faecalis* ve *S. mutans* suşlarının EPS üretimi üzerindeki inhibitör etkisi. Farklı küçük harfi taşıyan değerler, aynı mikroorganizma için farklı NP konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). Farklı büyük harfi taşıyan değerler ise aynı NP konsantrasyonunun farklı mikroorganizmaların EPS üretimine etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.27. Farklı konsantrasyonlardaki Y-ZnO NP'lerin *S. aureus*, *E. faecalis* ve *S. mutans* suşlarının EPS üretimi üzerindeki inhibitör etkisi. Farklı küçük harfi taşıyan değerler, aynı mikroorganizma için farklı NP konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Farklı büyük harfi taşıyan değerler ise aynı NP konsantrasyonunun farklı mikroorganizmaların EPS üretimine etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

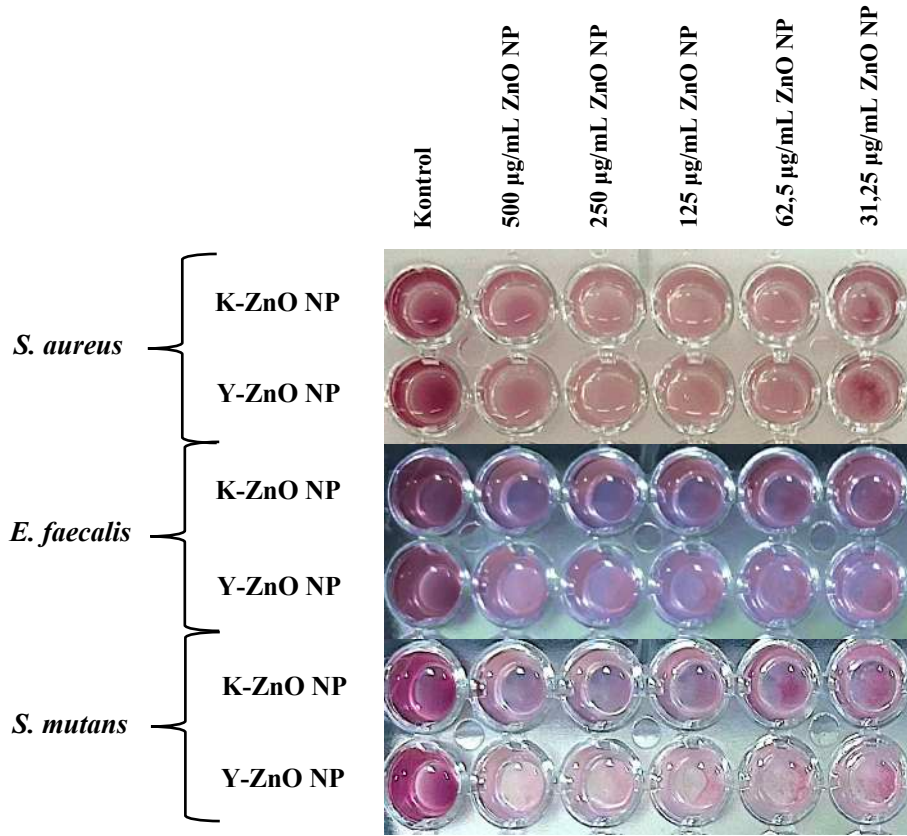
Elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu olarak EPS üretiminin inhibisyonunun yeşil sentez ZnO NP'lerin antibiyofilm etkisinin temel mekanizmalarından bir tanesi olduğu bildirilmiştir (Ahamad Khan vd., 2023). Husain vd. (2022) *Plumbago zeylanica* tohum özütü ile sentezledikleri ZnO NP'lerin *P. gingivalis*, *E. coli* ve *S. aureus* gibi bakterilerde biyofilm oluşumunu ve EPS üretimini konsantrasyona bağlı olarak azalttığını bildirilmişlerdir. Bir diğer çalışma ile *Clitoria ternatea* bitkisi ile sentezlenen ZnO NP'lerin *P. gingivalis* ve *Alcaligenes faecalis* suşlarının EPS sentezini ve biyofilm oluşumunu önemli düzeyde azalttığı tespit edilmiştir (Lahiri vd., 2022). Bununla birlikte, bazı durumlarda ZnO NP'lerin bakterilerde stres yanıtlarını tetikleyerek EPS üretimini artırabileceği de bildirilmiştir. Örneğin, *B. subtilis* suşu ile gerçekleştirilen bir çalışmada, ZnO NP'lerin EPS üretimini artırdığı ve bunun hücrelerin çevresel strese karşı geliştirdiği koruyucu bir mekanizma olduğu ileri sürülmüştür (Raliya vd., 2014).

4.4. ZnO NP'lerin Bakterilerin Morfolojilerine ve Hücresel Fonksiyonlarına Etkileri

4.4.1. ZnO NP'lerin hücresel solunuma etkileri

Bakterilerde hücresel solunum, enerji üretiminin temel mekanizması olup metabolik aktivitenin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Hücresel solunumda görev alan dehidrogenaz enzimleri, bakteriyel solunum zincirinin temel bileşenlerinden biridir ve hücresel metabolizmanın aktivitesini yansıtan biyokatalizörlerdir. Bu enzimlerin aktivitesi, çeşitli redoks göstergeleri aracılığıyla dolaylı olarak ölçülebilmektedir. Bu çalışmada kullanılan TTC, hücresel redüksiyon potansiyelini gösteren renkli bir formazana indirgenerek ölçüm yapılmasını sağlayan bir elektron alıcısıdır. TTC'nin kırmızı formazana indirgenmesi, dehidrogenaz aktivitesinin dolaylı bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Trevors ve Knowles, 1984).

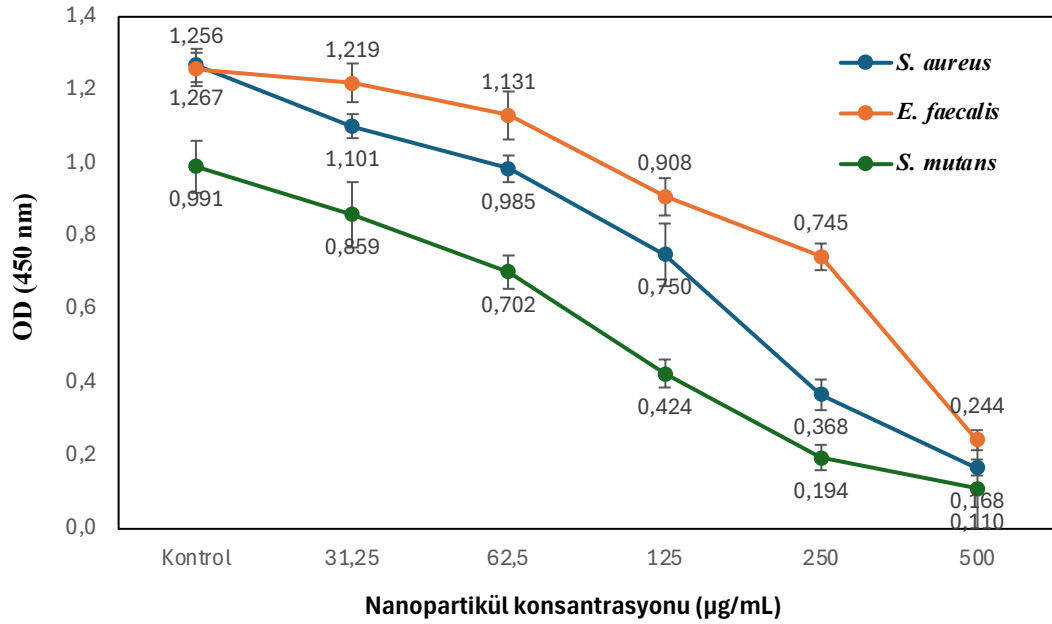
Dehidrogenaz aktivitesine dayalı hücresel metabolizma kontrol grubundaki hücrelerde gözlenen belirgin kırmızı renk oluşumu ile desteklenmiştir (Şekil 4.28). Mikroplaka kuyucuklarındaki kırmızı renk yoğunluğunda gözlemlenen azalma, ZnO NP'lerin varlığında bakteriyel metabolik aktivitenin baskılandığını ortaya koymaktadır.



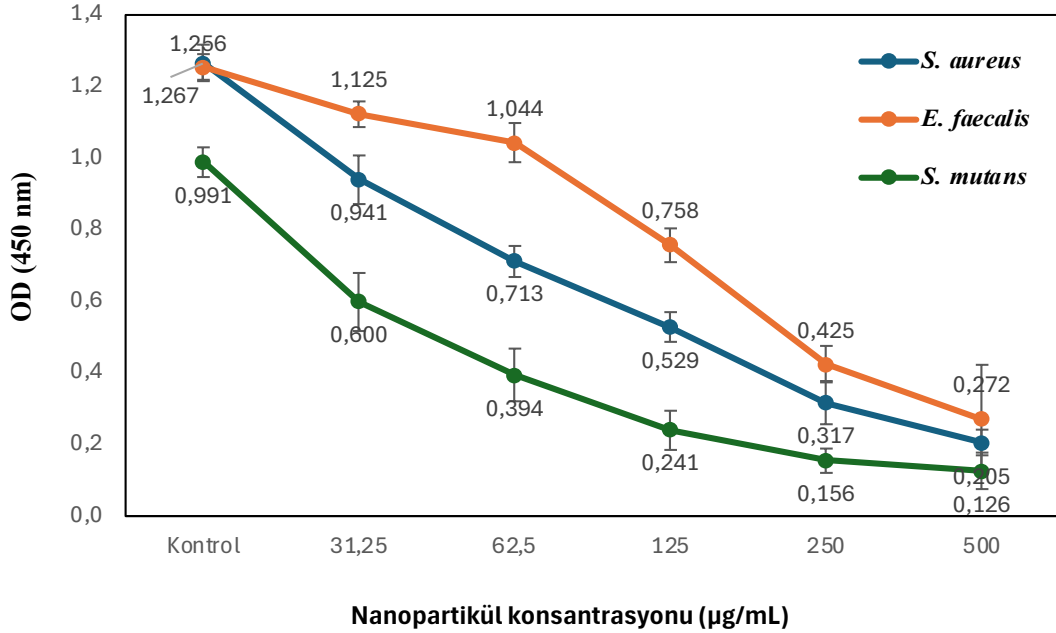
Şekil 4.28. Farklı konsantrasyonlarda ZnO NP varlığında TTC'nin indirgenmesi

Mikroplaka kuyucuklarından elde edilen absorbands (OD450) değerleri üç bakteri türünün de hücrel metabolik aktivitesinin ZnO NP konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak anlamlı ($p<0,05$) biçimde azaldığını göstermektedir. En düşük absorbands değerleri ve dolayısıyla en düşük hücrel solunum NP'lerin en yüksek test konsantrasyonu olan 500 µg/mL ile elde edilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen diğer testlerin sonuçları ile uyumlu olarak ZnO NP'lerin hücrel solunum üzerine etkisi *E. faecalis* üzerinde diğer iki bakteri türüne nazaran anlamlı ($p<0,05$) düzeyde az olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.29 ve Şekil 4.30). *E. faecalis*'in ZnO NP'lere karşı daha dirençli olmasının, türün sahip olduğu özgün savunma mekanizmaları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu bakteri, olumsuz çevre koşullarında dormant durumda kalabilmekte ve uygun koşullar sağlandığında yeniden aktif hale geçebilmektedir (Yang vd., 2024). Ayrıca Evans vd. (2002) kanal tedavilerinde yaygın olarak kullanılan kalsiyum hidroksit ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) varlığında *E. faecalis*'in eflüks pompaları sayesinde canlı kalabildiğini ve eflüks pompası inhibitörü varlığında canlı hücre sayısında belirgin bir azalma gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Öte yandan, *E. faecalis* gibi endodontik bakteriler, plazmid transfer sıklığını artırabilen seks feromonları gibi virülans faktörlerine sahiptir

ve bu durum NP'lere karşı dirençli karakterlerin aktarımını kolaylaştırmaktadır (Salas-Orozco vd., 2019).



Şekil 4.29. Artan K-ZnO NP konsantrasyonlarında bakteriyel solunumun inhibisyonu. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.30. Artan Y-ZnO NP konsantrasyonlarında bakteriyel solunumun inhibisyonu. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Elde edilen OD değerlerine göre her iki NP formu da solunum inhibisyonu göstermiş olsa da Y-ZnO NP'lerin inhibisyon etkisi genel olarak K-ZnO NP'lere göre

daha yüksektir. Bu durum, Y-ZnO NP'lerin yüzeyinde yer alan biyolojik olarak aktif bitkisel bileşiklerin varlığına bağlanabilir. Y-ZnO NP'lerin SEM ve TEM sonuçlarına göre daha fazla aglomerasyon eğilimi göstermesine rağmen, ortalama partikül boyutlarının K-ZnO NP'lere kıyasla belirgin şekilde daha küçük olması (sırasıyla; 15,28 ve 36,5 nm), toplam yüzey alanını artırarak hücrel etkileşimi kolaylaştırmış ve bu sayede daha yüksek solunum inhibisyonu elde edilmesini mümkün kılmış olabilir. Bu teoriyi destekleyen bir çalışmada, ZnO NP'lerin, *E. coli* ve *S. aureus* suşlarında TTC testi ile değerlendirilen metabolik aktiviteyi belirgin şekilde baskıladığı ve NP'lerin çapı küçüldükçe inhibisyonun arttığı bildirilmiştir (Dediu vd., 2022).

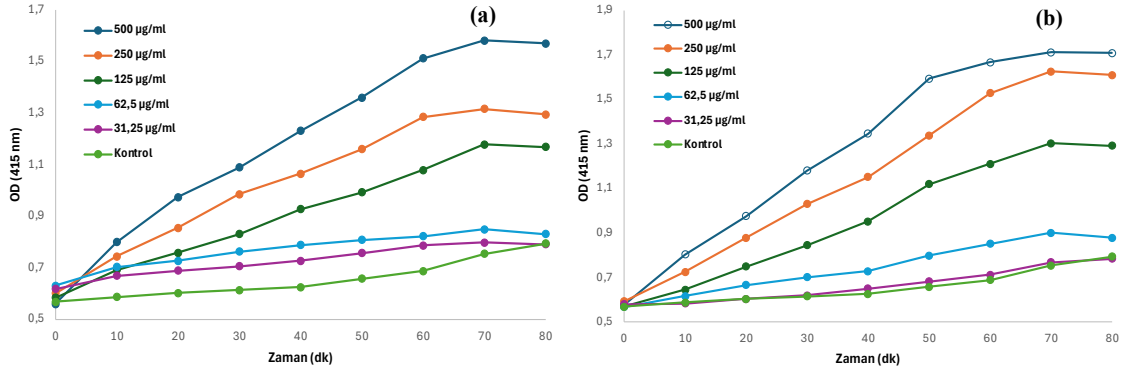
4.4.2. ZnO NP'lerin hücre membranı geçirgenliği üzerine etkileri

Bakteriyel hücre zarının bütünlüğü, canlılığın sürdürebilmesi açısından kritik öneme sahiptir. Antimikrobiyal maddeler, özellikle MONP'ler, hücre zarında fiziksel ve kimyasal bozulmalara neden olarak hücre içeriğinin sızmasına yol açabilir. ZnO NP'ler, hücre zarında yapısal hasar oluşturarak permeabiliteyi artırabilir ve bu yolla protein, iyon veya nükleik asit gibi moleküllerin dış ortama geçmesine neden olabilir (Brayner vd., 2006). Bu çalışmada, ZnO NP'lerin bakteriyel membran geçirgenliği üzerindeki etkisi, sitoplazmik β -galaktosidaz enziminin salınımı aracılığıyla değerlendirilmiştir. Hücre membranının β -galaktosidaz enziminin substratı olan ONPG'ye geçirgen olmaması nedeniyle, ONPG ile enzim aktivitesinin ölçülmesi yalnızca hücre membranının bütünlüğünün bozulması ile mümkündür (Shen vd., 2015).

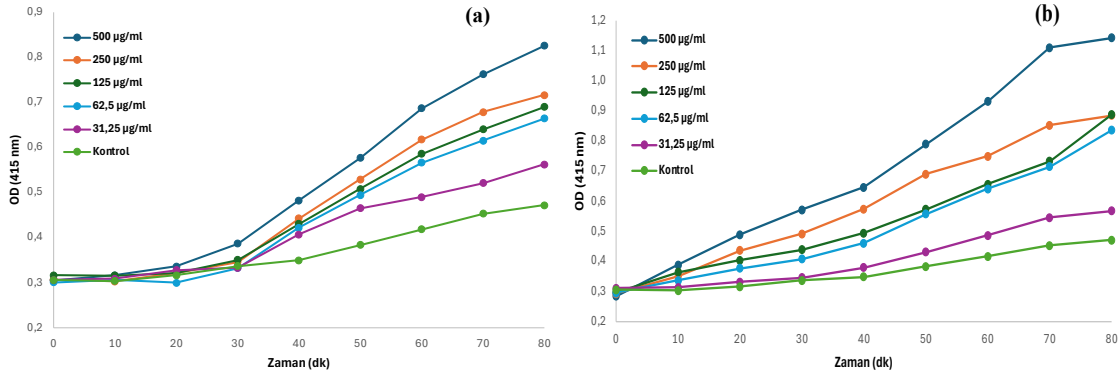
ZnO NP ile muamele edilen *S. aureus* ve *S. mutans* hücrelerinde membran geçirgenliği zamana bağlı olarak artış göstermiş ve yüksek konsantrasyonlarda artış hızı bir saatin sonunda yavaşlamıştır (Şekil 4.31, Şekil 4.32). Her iki bakteri türünde de doz bağımlı bir etki gözlemlenmiştir ve elde edilen absorbans (OD415) değerleri yüksek ZnO NP konsantrasyonlarında (500 ve 250 $\mu\text{g/mL}$) geçirgenlik artışının daha fazla olduğunu ortaya koymuştur. Düşük konsantrasyonlarda (62,5 ve 31,25 $\mu\text{g/mL}$) ise membran geçirgenliğinde yalnızca sınırlı bir artış gözlenmiştir.

Büyüme eğrisi ve solunum inhibisyonu sonuçlarına benzer şekilde her iki bakteri türü üzerinde Y-ZnO NP'lerin (Şekil 4.31b, 4.32b), K-ZnO NP'lere (Şekil 4.31a, 4.32a) kıyasla membran geçirgenliğini daha fazla arttırdığı gözlenmiştir. Özellikle düşük konsantrasyonlarda Y-ZnO NP'lerin etkisinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum Y-ZnO NP'lerin daha küçük ortalama parçacık boyutuna sahip olmasıyla

açıklanabilir. Benzer çalışmalar ZnO NP'lerin küçük boyutlarda doğrudan hücre içerisine penetre olabildiğini ortaya koymuştur (Brayner vd., 2006). Öte yandan, bazı araştırmalarda ZnO NP'lerin hücre zarına fiziksel sürtünme yoluyla bağlanarak membran bütünlüğünü bozduğu ve böylece sitoplazmik içerik sızıntısı, hücre büzülmesi ve yapısal deformasyona neden olduğu bildirilmiştir (Thakur ve Neogi, 2021).



Şekil 4.31. Farklı ZnO NP konsantrasyonlarında *S. aureus* membran geçirgenliğindeki zamana bağlı değişim. (a): K-ZnO NP, (b): Y-ZnO NP



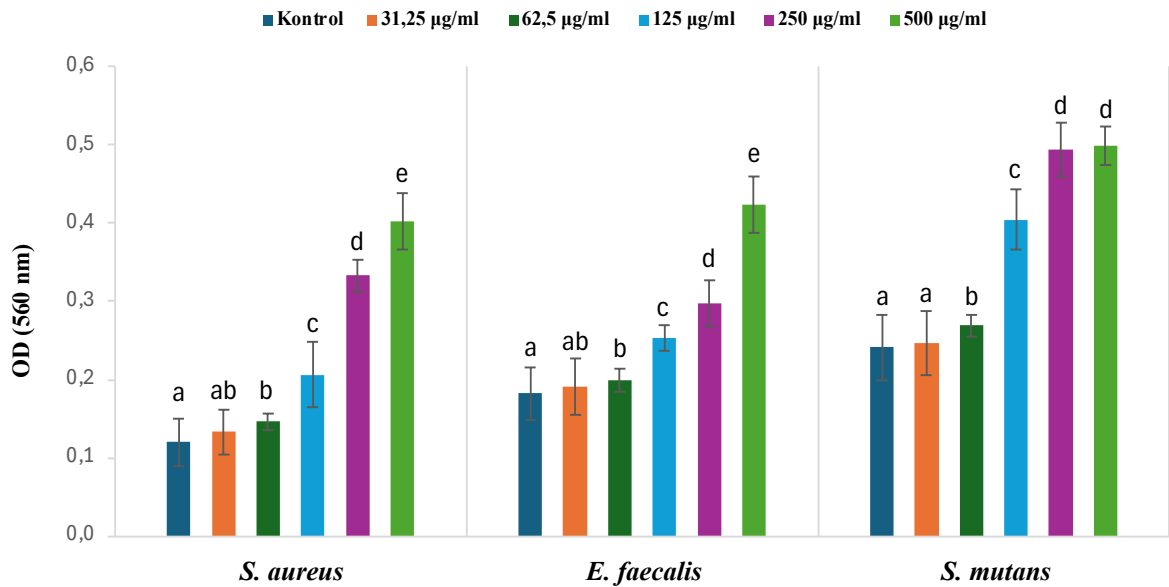
Şekil 4.32. Farklı ZnO NP konsantrasyonlarında *S. mutans* membran geçirgenliğindeki zamana bağlı değişim. (a): K-ZnO NP, (b): Y-ZnO NP

4.4.3. ZnO NP stresi altında süperoksit anyon üretimi

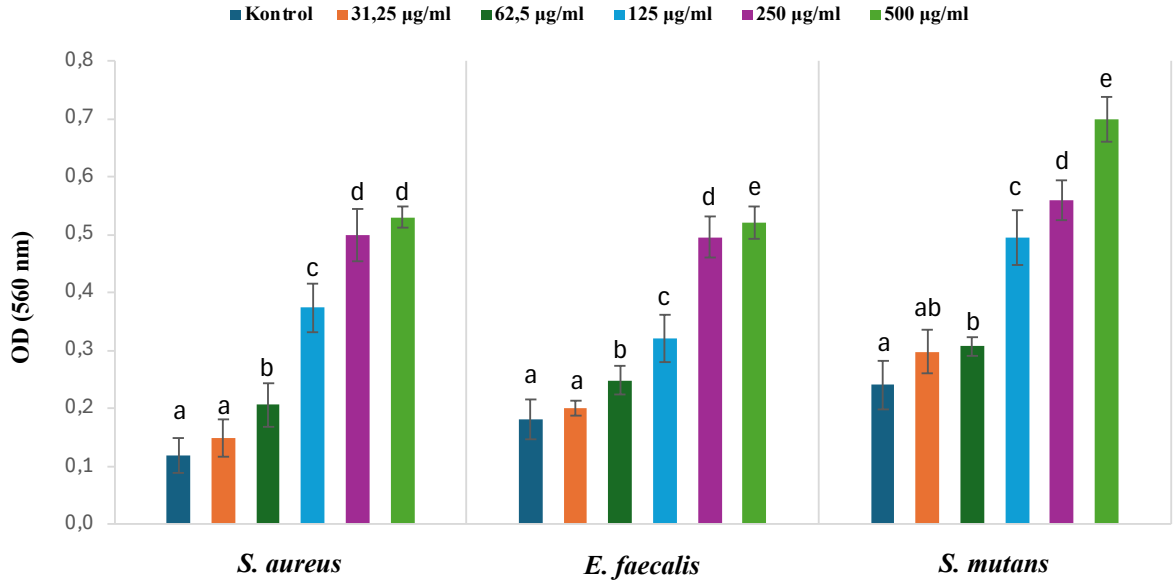
ZnO NP'lerin önemli antimikrobiyal etki mekanizmalarından bir tanesi bakteri hücrelerinde ROS oluşumunu tetiklemeleridir. Örneğin $O_2^{\cdot-}$, bakteriyel redoks dengesini bozarak oksidatif strese neden olmakta ve hücresel makromoleküllere zarar vermektedir (Packialakshmi vd., 2023). Bu çalışmada ZnO NP maruziyeti altında $O_2^{\cdot-}$ üretiminin

ölçümü NBT indirgenmesi temelli kolorimetrik bir analiz yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu test yönteminde $O_2^{\bullet-}$ tarafından indirgenen NBT, çözünmeyen mavi renkli formazana dönüşmekte, bu dönüşüm spektrofotometrik olarak 560 nm'de ölçülerek belirlenmektedir.

Sonuçlar ZnO NP'lerin oksidatif stres indükleyici etkisinin bakteri türüne ve uygulanan NP konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiğini göstermektedir (Şekil 4.33, Şekil 4.34). Absorbans (OD560) değerlerine göre ZnO NP maruziyeti, her üç bakteri suşunda da NP konsantrasyonuna bağlı olarak $O_2^{\bullet-}$ üretiminde anlamlı bir artışa ($p < 0,05$) neden olmuştur. K-ZnO NP uygulamalarında en yüksek $O_2^{\bullet-}$ üretimi *S. mutans* suşunda gözlenmiştir. Y-ZnO NP uygulamalarında ise $O_2^{\bullet-}$ üretiminin her üç bakteri suşunda da K-ZnO NP'lere kıyasla daha yüksek düzeyde gerçekleştiği saptanmıştır. *S. mutans* suşunda bu artışın *S. aureus* ve *E. faecalis* suşlarına nazaran daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Y-ZnO NP'lere maruziyetin bakteri hücrelerinde daha yüksek $O_2^{\bullet-}$ üretimine neden olması bitkisel kaynaklı fitokimyasal bileşenlerle ilişkilendirilebilir (Jha vd., 2023). *P. harmala* tohum ekstraktında bulunan fenolik ve flavonoid bileşiklerin ZnO yüzeyi üzerinde redoks aktif bölgeler oluşturarak $O_2^{\bullet-}$ üretimini artırabileceği düşünülmektedir (Jebahi vd., 2025).



Şekil 4.33. Farklı K-ZnO NP konsantrasyonlarında *S. aureus*, *E. faecalis* ve *S. mutans* hücrelerinde süperoksit üretimi. Her bakteri türü için farklı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0.05$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.34. Farklı Y-ZnO NP konsantrasyonlarında *S. aureus*, *E. faecalis* ve *S. mutans* hücrelerinde süperoksit anyon üretimi. Her bakteri türü için farklı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0.05$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

ZnO NP'lerin oksidatif stres yoluyla antimikrobiyal etki gösterdiği birçok çalışmada rapor edilmiştir. Bununla birlikte kimyasal ve yeşil sentez yoluyla elde edilen ZnO NP'lerin bakteri hücrelerinde ROS üretimine etkilerinin karşılaştırılması üzerine çalışma bulunmamaktadır. ZnO NP'lerin hücre içine girdikten sonra yüksek düzeyde ROS oluşumuna yol açtığı, bunun da özellikle protein yapılarında oksidatif tahribat ve fonksiyon kaybına neden olduğu bildirilmiştir (Su vd., 2019). *Streptococcus pyogenes*, *S. mutans* ve *E. faecalis* gibi oral patojenlerde yapılan çalışmalarda ZnO NP'lere maruz kaldıktan sonra, ROS seviyelerinin anlamlı şekilde arttığı ve bunun doğrudan hücre zarında lipid peroksidasyonuna, protein yapılarında oksidasyona ve genel hücre fizyolojisinde bozulmaya yol açtığı gösterilmiştir (Liang vd., 2020; Ragavendran vd., 2024). Wang vd. (2017) ZnO NP'lerin ROS üretim kapasitesi ile bakteriyel toksisite düzeyi arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bildirilmişlerdir. ZnO NP'lerin Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı geniş spektrumlu etki göstermesi, yüksek ROS üretim kapasitesiyle ilişkilendirilmiştir (Zhan vd., 2024).

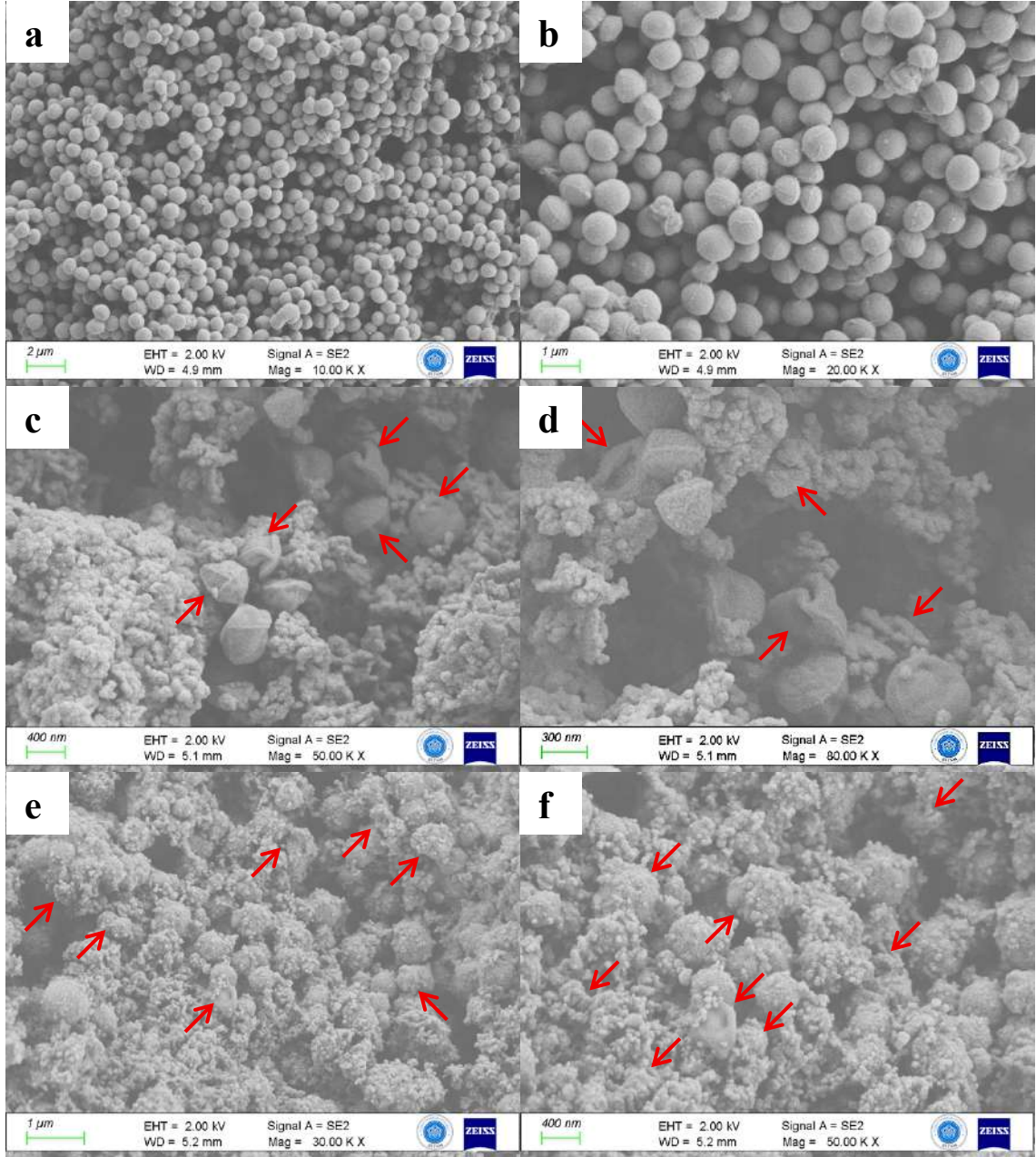
4.4.4. ZnO NP'lerin hücre morfolojileri üzerine etkileri

ZnO NP uygulamasının bakteri hücre morfolojisine etkileri örneklerin sabitlenmesi, dehidre edilmesi ve İridyum kaplanması ardından FE-SEM ile

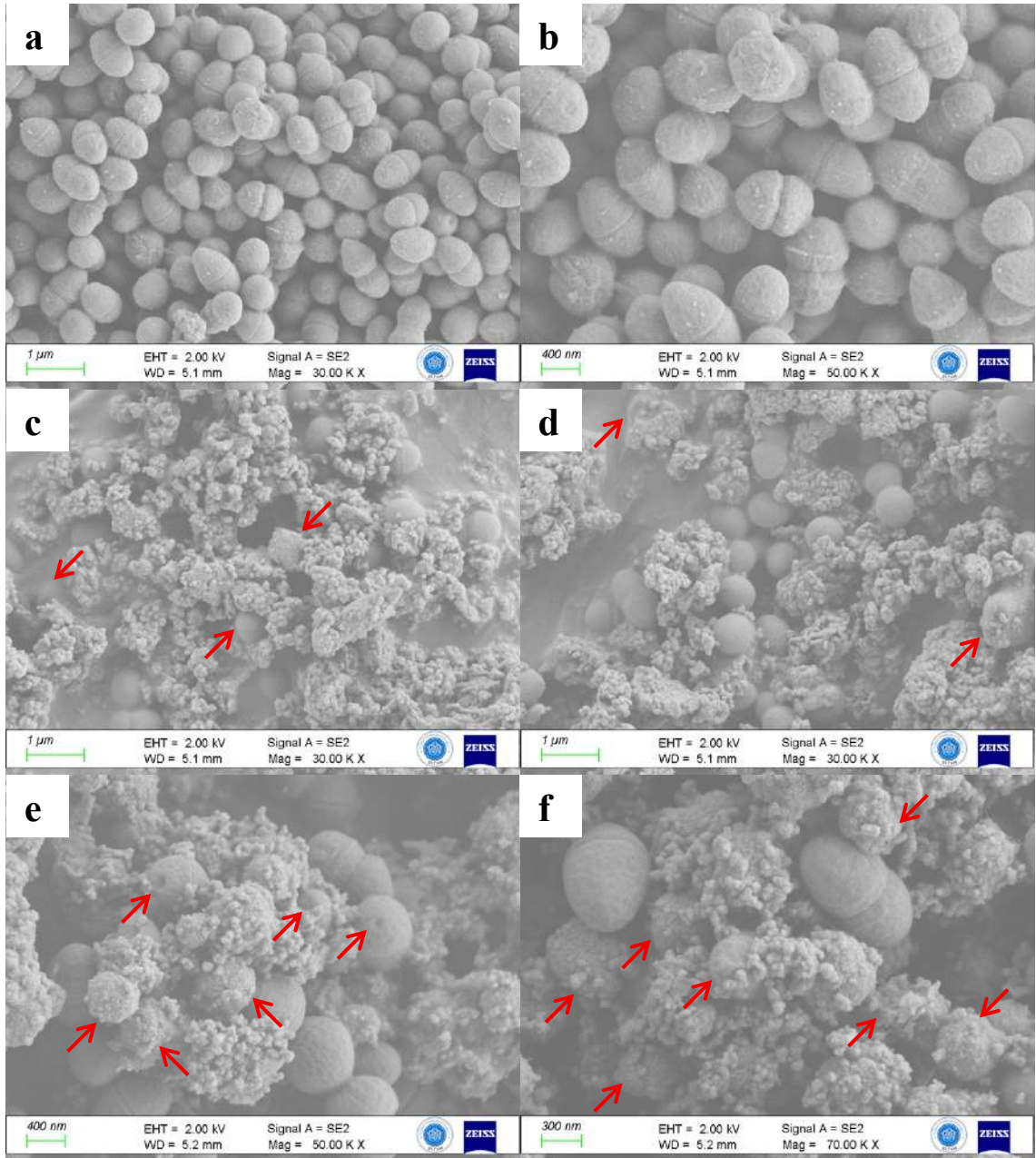
değerlendirilmiştir. FE-SEM görüntülerinde kontrol gruplarına ait *S. aureus*, *E. faecalis* ve *S. mutans* hücrelerinin tipik morfolojik özelliklerini korudukları gözlenmiştir. *S. aureus* hücreleri düzgün yüzeyli, yuvarlak ve tipik kokkoid formda iken *E. faecalis* hücreleri oval-kokkoid formda, pürüzsüz yüzeyli ve yapısal bütünlükleri korunmuş şekilde izlenmiştir. *S. mutans* hücreleri ise hücre bütünlüğünü koruyan kümeler hâlinde gözlenmiştir (Şekil 4.35a,b; Şekil 4.36a,b; Şekil 4.37a,b).

ZnO NP uygulanan gruplarda kontrol örneklerine kıyasla belirgin morfolojik değişiklikler gözlenmiştir. Hücre yüzeylerinin düzensizleştiği, çıkıntı ve çöküntülerin olduğu, bazı hücrelerde büzülmelerin meydana geldiği tespit edilmiştir. Hücre duvarlarının bütünlüğü kısmen bozulmuş, yüzeylerde granüler partikül birikimleri ve düzensiz deformasyonlar izlenmiştir. Ayrıca ZnO NP'lerin hücre yüzeyine ve çevresine adsorbe olduğu, hücreler arası bölgelerde agregasyonlar ve hücre kalıntılarının biriktiği gözlenmiştir. Bu yapısal değişiklikler ZnO NP'lerin bakteriyel hücrelerin dış katmanları ile etkileşerek yüzey bütünlüğünü bozduğunu, hücre şeklinin deformasyona uğramasına yol açtığını göstermektedir (Şekil 4.35c-f; 4.36c-f; 4.37c-f).

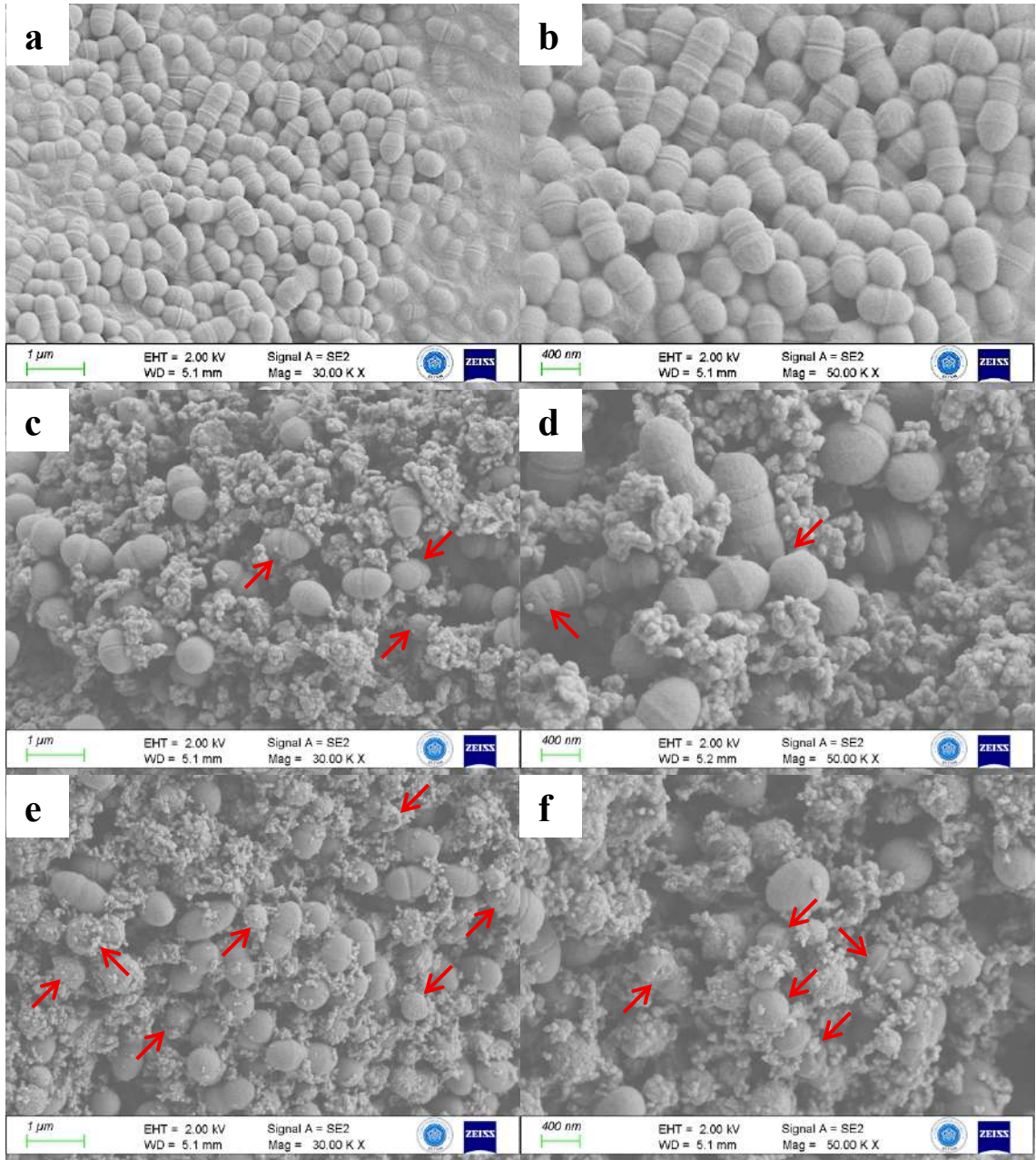
K-ZnO NP'lere kıyasla Y-ZnO NP'lerin hücre yüzeyine daha fazla adsorbe oldukları gözlenmiştir. Y-ZnO NP'ler hücre yüzeylerinde granüler kümelenmeler oluşturması derin çukurlar ve belirgin deformasyonların oluşmasına neden olmuştur. Buna karşılık K-ZnO NP'lerin daha çok hücreler arası bölgelerde agregasyon eğilimi gösterdiği, hücre yüzeyinde ise daha sınırlı bulundukları belirlenmiştir.



Şekil 4.35. *S. aureus* FE-SEM görüntüleri. a, b: kontrol (NP uygulanmamış), c, d: K-ZnO NP uygulanmış, e, f: Y-ZnO NP uygulanmış örnekler.



Şekil 4.36. *E. faecalis* FE-SEM görüntüleri. a, b: kontrol (NP uygulanmamış), c, d: K-ZnO NP uygulanmış, e, f: Y-ZnO NP uygulanmış örnekler.



Şekil 4.37. *S. mutans* FE-SEM görüntüleri. a, b: kontrol (NP uygulanmamış), c, d: K-ZnO NP uygulanmış, e, f: Y-ZnO NP uygulanmış örnekler.

Y-ZnO NP'lerin K-ZnO NP'lere kıyasla bakteri hücre yüzeylerine daha fazla tutunması yüksek antibakteriyel ve biyolojik etkileri ile ilişkilendirilebilir. Gözlenen morfolojik hasarlar sulu süspansiyonlarında pozitif yük taşıyan ZnO NP'ler ile negatif yüklü bakteriyel yüzeyler arasındaki elektrostatik etkileşimler ile açıklanabilir (Zhang vd., 2008; Sirelkhatim vd., 2015). Brayner vd. (2006) *E. coli* ile ZnO NP'ler arasındaki etkileşimin hücre duvarında bozulmaya ve NP'lerin hücre içine alınmasına yol açtığını gözlemlemişlerdir. SEM görüntülerinde hücre duvarı bütünlüğü bozulan *E. coli*

hücrelerinde morfolojik değişikliklerin yanı sıra, hücre içeriği sızıntısına bağlı olarak önemli yapısal hasarlar tespit edilmiştir. ZnO NP'lerin hücre içinde ve dışında, bakteriyel lipopolisakkaritlerle çevrili halde bulunduğu gözlenmiştir. Benzer bir çalışmada ZnO NP'lerin *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* Typhimurium ve *K. pneumoniae* hücrelerinin dış zarına tutunarak daha sonra iç zara geçtiği, bu etkileşimin zar bütünlüğünün bozulmasına, yapısal düzensizliklere ve hücre içeriğinin sızıntısına yol açtığı rapor edilmiştir (Wahab vd., 2010). Hücre permeasyonuna ilişkin bulguların aksine, bazı çalışmalar NP'lerin hücre duvarına bağlanmasına rağmen her zaman hücre içine girmediğini ortaya koymuştur. Leung vd. (2014) MgO NP'lerin *E. coli* hücre duvarıyla etkileşime geçtiğini ancak hücre içine girmeksizin toksik etki oluşturduğunu bildirmişlerdir. NP'lerin hücre içine girmeksizin hücre yüzeyinde agregasyon oluşturmalarının hücreyi ölüme götürecek bir toksisite mekanizması olabileceği öne sürülmüştür (Slavin vd., 2017). Bondarenko vd. (2018) *E. coli* ve *P. aeruginosa* hücreleri üzerine yaptıkları bir çalışmada AgNP'lerin toksisitesinin esas olarak yüzey etkileşimleri ve iyon salımıyla ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Ek olarak ZnO NP'lerin köşe, kenar veya kimyasal düzensizlik gibi aşındırıcı kusurları hücre duvarında meydana gelen mekanik hasar üzerinde önemli bir rol oynamaktadır (Sirelkhatim vd., 2015). Ramani vd. (2012) ZnO NP'lerin antibakteriyel etkinliğinin yüzey kusurlarına bağlı olduğunu ve bu kusurların nanoyapının şekline göre değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Yeşil sentezin ZnO NP'lerin bakteri yüzeylerine tutunma kabiliyetini arttırması *P. harmala* ekstraktında bulunan fenolik, alkaloid ve flavonoid bileşiklerinin varlığıyla açıklanabilir. Bu biyomoleküller, Zn^{2+} iyonlarının indirgenmesi sırasında NP yüzeyine adsorbe olarak bir organik tabaka oluşturmaktadırlar. Bu tabaka, partiküller arasında hem elektrostatik itme kuvvetlerini hem de sterik engelleri artırarak, parçacıkların birbiriyle temasını azaltmakta ve kümelenmelerini önlemektedir. Ayrıca yüzey enerjisini düşürerek ZnO NP'lerin sulu ortamda daha yüksek kolloidal stabilite göstermesine katkıda bulunmaktadır (Alharbi vd., 2023). Sonuç olarak bu biyoaktif kaplama yeşil sentezle elde edilen ZnO NP'lerin daha küçük boyutlu, daha iyi dağılmış ve daha düşük yüzey enerjisine sahip olmasını sağlamakta ve böylece bakteri hücrelerine temas eden aktif yüzey alanı artmaktadır (Abebe vd., 2020; Mutukwa vd., 2022). Kimyasal sentezle elde edilen ZnO NP'lerde ise yüzey enerjisi daha yüksektir ve partiküller arası çekim kuvvetleri agregasyon eğilimini artırmaktadır (Safavinia vd., 2021).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çevre dostu, düşük maliyetli ve toksik kimyasal kullanımını azaltan bir yaklaşım olarak öne çıkan yeşil sentez yöntemleri, son yıllarda NP'lerin üretiminde sürdürülebilir alternatifler arasında dikkat çekmektedir. Bu tez çalışmasında, zengin fitokimyasal içeriğe sahip bir bitki olduğu bilinen *Peganum harmala* tohum ekstraktı kullanılarak sentezlenen Y-ZnO NP'ler, geleneksel kimyasal metotlarla sentezlenen K-ZnO NP'lerle karşılaştırılmıştır.

Karakterizasyon analizleri, Y-ZnO NP'lerin daha küçük partikül boyutlarına, daha negatif zeta potansiyel değerlerine ve fitokimyasal bileşenlerle kaplı yüzeye sahip olduğunu göstermiştir. Elde edilen sonuçlar yeşil sentezin, NP'lerin kolloidal stabilitesini artırarak agregasyon eğilimini azalttığını ve biyolojik yapılar ile etkileşim kapasitelerini arttırdığını ortaya koymuştur. K-ZnO NP'lere nazaran daha güçlü antibakteriyel ve antibiyofilm özellikler gösteren Y-ZnO NP'ler bakteri hücrelerinde solunumu daha yüksek düzeyde baskılamış, membran geçirgenliğinde daha fazla artışa neden olmuş ve süperoksit anyon üretimini yükseltmiştir. Bu bulgularla uyumlu olarak, FE-SEM görüntüleri Y-ZnO NP'lerin bakteri yüzeyine daha güçlü adsorbe olduğunu ve biriktiğini, K-ZnO NP'lerin ise daha çok hücreler arası agregasyon eğilimi sergilediğini göstermiştir.

Bu sonuçlar, yeşil sentezle üretilen ZnO NP'lerin yalnızca çevresel açıdan sürdürülebilir değil, aynı zamanda biyolojik açıdan daha etkili antimikrobiyal ajanlar olabileceğini göstermektedir. Benzer şekilde son yıllarda yapılan çalışmalarda ZnO NP'lerin oral patojenlere karşı etkinlikleri ortaya konmuş ve diş hekimliği alanında (örneğin dolgu materyalleri, kök kanal patları, ortodontik adezivler ve implant kaplamaları) antibakteriyel bir materyal olarak kullanım potansiyeli vurgulanmıştır (Padovani vd., 2015; Song ve Ge, 2019; Pushpalatha vd., 2022; Dipalma vd., 2024).

Küçük boyutları ve yüksek reaktiflikleri nedeniyle NP'lerin canlı dokularda irritasyon, inflamasyon veya alerjik reaksiyon oluşturma riski bulunmaktadır (Dipalma vd., 2024). Nanomalzemelerin uzun dönem biyoyumluluğuna yönelik endişeler nedeniyle NP'lerin klinik amaçlı kullanımı sınırlı kalmıştır. Bununla birlikte ZnO NP'lerin konsantrasyon ve partikül boyutuna bağlı olarak oral dokular üzerine sitotoksik etki oluşturmadığı bildirilmiştir (Pushpalatha vd., 2022; Dipalma vd., 2024). Bu nedenle ZnO NP'lerin ve yeşil sentez yöntemiyle elde edilmiş diğer NP'lerin uzun dönem biyoyumluluklarına yönelik çalışmalardan elde edilecek veriler yeşil sentez NP'lerin klinik amaçlı kullanımlarına yönelik çalışmalara temel teşkil edecektir. Uzun dönem

biyoyumluluk çalışmalarının yanı sıra yeşil sentez NP'lerin antibakteriyel ve diğer biyolojik etkinliklerinin kalıcılığına ilişkin çalışmalara da ihtiyaç bulunmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Abebe, B., Zereffa, E. A., Tadesse, A., & Murthy, H. C. A. (2020). A Review on Enhancing the Antibacterial Activity of ZnO: Mechanisms and Microscopic Investigation. *Nanoscale Research Letters*, 15(1), 1-19. <https://doi.org/10.1186/S11671-020-03418-6/TABLES/2>
- Adeyemi, J. O., Onwudiwe, D. C., & Oyedeji, A. O. (2022). Biogenic Synthesis of CuO, ZnO, and CuO–ZnO Nanoparticles Using Leaf Extracts of *Dovyalis caffra* and Their Biological Properties. *Molecules* 2022, Vol. 27, Page 3206, 27(10), 3206. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27103206>
- Ahamad Khan, M., Lone, S. A., Shahid, M., Zeyad, M. T., Syed, A., Ehtram, A., Elgorban, A. M., Verma, M., & Danish, M. (2023). Phytogenically Synthesized Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO-NPs) Potentially Inhibit the Bacterial Pathogens: In Vitro Studies. *Toxics*, 11(5), 452. <https://doi.org/10.3390/TOXICS11050452/S1>
- Ahmadi, A., Mirzaeizadeh, Z., & Omidfar, K. (2021). Simultaneous Detection of SARS-CoV-2 IgG/IgM Antibodies, Using Gold Nanoparticles-Based Lateral Flow Immunoassay. <https://home.liebertpub.com/mab>, 40(5), 210-218. <https://doi.org/10.1089/MAB.2021.0027>
- Akhter, H., Ritu, S. S., Siddique, S., Chowdhury, F., Chowdhury, R. T., Akhter, S., & Hakim, M. (2024). In silico molecular docking and ADMET prediction of biogenic zinc oxide nanoparticles: characterization, and in vitro antimicrobial and photocatalytic activity. *RSC Advances*, 14(49), 36209-36225. <https://doi.org/10.1039/D4RA06890D>
- Alam, M. A., Ahmed, S., Bishwas, R. K., Mostofa, S., & Jahan, S. A. (2025). X-ray Crystallographic Diffraction Study by Whole Powder Pattern Fitting (WPPF) Method: Refinement of Crystalline Nanostructure Polymorphs TiO₂. *South African Journal of Chemical Engineering*, 51, 68-77. <https://doi.org/10.1016/J.SAJCE.2024.10.010>
- Alameen, A. S., Undre, S. B., & Undre, P. B. (2024). Synthesis, dispersion, functionalization, biological and antioxidant activity of metal oxide nanoparticles: Review. *Nano-Structures & Nano-Objects*, 39, 101298. <https://doi.org/10.1016/J.NANOSO.2024.101298>
- Alharbi, F. N., Abaker, Z. M., & Makawi, S. Z. A. (2023). Phytochemical Substances—Mediated Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPS). *Inorganics* 2023, Vol. 11, Page 328, 11(8), 328. <https://doi.org/10.3390/INORGANICS11080328>
- Ali, A., Aasim, M., Çelik, K., Nadeem, M. A., & Baloch, F. S. (2024). Frontiers in bacterial-based green synthesized nanoparticles (NPs): A sustainable strategy for combating infectious plant pathogens. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 60, 103293. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2024.103293>

- Alqarni, D., Nakajima, M., Tagami, J., Alzahrani, M. S., Sá-Pinto, A. C., Alghamdi, A., Hosaka, K., Alzahrani, F., Alsadon, O. A., Alharbi, R. A., Almalki, S. S., & Alzahrani, A. A. H. (2023). Study of Streptococcus mutans in Early Biofilms at the Surfaces of Various Dental Composite Resins. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.38090>
- Alyamani, A. A., Albukhaty, S., Aloufi, S., Almalki, F. A., Al-Karagoly, H., & Sulaiman, G. M. (2021). Green Fabrication of Zinc Oxide Nanoparticles Using Phlomis Leaf Extract: Characterization and In Vitro Evaluation of Cytotoxicity and Antibacterial Properties. *Molecules*, 26(20), 6140. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26206140>
- Andreescu, S., Ornatska, M., Erlichman, J. S., Estevez, A., & Leiter, J. C. (2012). Biomedical Applications of Metal Oxide Nanoparticles. *Fine Particles in Medicine and Pharmacy*, 9781461403791, 57-100. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0379-1_3
- Anyagou, K. C., Fedorov, A. V., & Neckers, D. C. (2008). Synthesis, characterization, and antifouling potential of functionalized copper nanoparticles. *Langmuir*, 24(8), 4340-4346. https://doi.org/10.1021/LA800102F/SUPPL_FILE/LA800102F-FILE002.PDF
- Arciola, C. R., Campoccia, D., Baldassarri, L., Donati, M. E., Pirini, V., Gamberini, S., & Montanaro, L. (2006). Detection of biofilm formation in Staphylococcus epidermidis from implant infections. Comparison of a PCR-method that recognizes the presence of ica genes with two classic phenotypic methods. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 76(2). <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30552>
- Asgarpanah, J., & Ramezanloo, F. (2012). Chemistry, pharmacology and medicinal properties of Peganum harmala L. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(22), 1573-1580. <https://doi.org/10.5897/AJPP11.876>
- Ashajyothi, C., Harish, K. H., Dubey, N., & Chandrakanth, R. K. (2016). Antibiofilm activity of biogenic copper and zinc oxide nanoparticles-antimicrobials collegiate against multiple drug resistant bacteria: a nanoscale approach. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 6(4), 329-341. <https://doi.org/10.1007/S40097-016-0205-2/FIGURES/8>
- Ashraf, S. A., Siddiqui, A. J., Elkhailifa, A. E. O., Khan, M. I., Patel, M., Alreshidi, M., Moin, A., Singh, R., Snoussi, M., & Adnan, M. (2021). Innovations in nanoscience for the sustainable development of food and agriculture with implications on health and environment. *Içinde Science of the Total Environment* (C. 768). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.144990>
- Attea, S. A., Ghareeb, M. A., Kelany, A. K., Elhakim, H. K. A., Allemailem, K. S., Bukhari, S. I., Rashidi, F. B., & Hamed, A. A. (2024). Biosynthesis of Iron Oxide Nanoparticles by Marine Streptomyces sp. SMGL39 with Antibiofilm Activity: In Vitro and In Silico Study. *Molecules*, 29(19). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES29194784>

- Badri, A., Slimi, S., Guergueb, M., Kahri, H., & Mateos, X. (2021). Green synthesis of copper oxide nanoparticles using Prickly Pear peel fruit extract: Characterization and catalytic activity. *Inorganic Chemistry Communications*, 134, 109027. <https://doi.org/10.1016/J.INOCHE.2021.109027>
- Bagherian, M. S., Zargham, P., Zarharan, H., Bakhtiari, M., Mortezaee Ghariyeh Ali, N., Yousefi, E., Es-haghi, A., & Taghavizadeh Yazdi, M. E. (2024). Antimicrobial and antibiofilm properties of selenium-chitosan-loaded salicylic acid nanoparticles for the removal of emerging contaminants from bacterial pathogens. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 40(3), 1-11. <https://doi.org/10.1007/S11274-024-03917-Z/FIGURES/7>
- Balakumaran, M. D., Ramachandran, R., Balashanmugam, P., Mukeshkumar, D. J., & Kalaichelvan, P. T. (2016). Mycosynthesis of silver and gold nanoparticles: Optimization, characterization and antimicrobial activity against human pathogens. *Microbiological research*, 182, 8-20. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2015.09.009>
- Baldassarre, F., Cacciola, M., & Ciccarella, G. (2015). A predictive model of iron oxide nanoparticles flocculation tuning Z-potential in aqueous environment for biological application. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(9), 1-21. <https://doi.org/10.1007/S11051-015-3163-6/FIGURES/12>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Içinde Journal of Pharmaceutical Analysis* (C. 6, Sayı 2). <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Banik, B. L., Fattahi, P., & Brown, J. L. (2016). Polymeric nanoparticles: the future of nanomedicine. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 8(2), 271-299. <https://doi.org/10.1002/WNAN.1364>
- Becerra, M. C., & Albasa, I. (2002). Oxidative stress induced by ciprofloxacin in *Staphylococcus aureus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 297(4). [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)02331-8](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)02331-8)
- Behzad, F., Naghib, S. M., kouhbanani, M. A. J., Tabatabaei, S. N., Zare, Y., & Rhee, K. Y. (2021). An overview of the plant-mediated green synthesis of noble metal nanoparticles for antibacterial applications. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 94, 92-104. <https://doi.org/10.1016/J.JIEC.2020.12.005>
- Bharathi, D., & Bhuvaneshwari, V. (2019). Synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) using pure bioflavonoid rutin and their biomedical applications: antibacterial, antioxidant and cytotoxic activities. *Research on Chemical Intermediates*, 45(4), 2065-2078. <https://doi.org/10.1007/S11164-018-03717-9/FIGURES/9>
- Bin Mobarak, M., Hossain, M. S., Chowdhury, F., & Ahmed, S. (2022). Synthesis and characterization of CuO nanoparticles utilizing waste fish scale and exploitation of XRD peak profile analysis for approximating the structural parameters. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(10), 104117. <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2022.104117>

- Bitounis, D., Fanciullino, R., Iliadis, A., Ciccolini, J., Bolognese, A., Segall, A. I., & Torrado, J. (2012). Optimizing Druggability through Liposomal Formulations: New Approaches to an Old Concept. *ISRN Pharmaceutics*, 2012, 738432. <https://doi.org/10.5402/2012/738432>
- Bondarenko, O. M., Sihtmäe, M., Kuzmičiova, J., Ragelienė, L., Kahru, A., & Daugelavičius, R. (2018). Plasma membrane is the target of rapid antibacterial action of silver nanoparticles in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 6779-6790. <https://doi.org/10.2147/IJN.S177163>
- Bozer, B. D., Dede, A., & Güven, K. (2024). Green Synthesized Zinc Oxide Nanoparticles with *Salvadora persica* L. Root Extract and Their Antagonistic Activity Against Oral and Health-Threatening Pathogens. *Indian Journal of Microbiology*, 64(4), 1903-1911. <https://doi.org/10.1007/S12088-024-01276-9/TABLES/1>
- Brayner, R., Ferrari-Iliou, R., Brivois, N., Djediat, S., Benedetti, M. F., & Fiévet, F. (2006). Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. *Nano letters*, 6 4(4), 866-870. <https://doi.org/10.1021/NL052326H>
- Brooks, L., Narvekar, U., McDonald, A., & Mullany, P. (2022). Prevalence of antibiotic resistance genes in the oral cavity and mobile genetic elements that disseminate antimicrobial resistance: A systematic review. *Molecular Oral Microbiology*, 37(4), 133-153. <https://doi.org/10.1111/OMI.12375>
- Cengiz, M., Gür, B., Sezer, C. V., Baytar, O., Şahin, Ö., Ayhancı, A., & Kutlu, H. M. (2024). Green biosynthesis of selenium and zinc oxide nanoparticles using whole plant extract of *Rheum ribes*: Characterization, anticancer, and antimicrobial activity. *Journal of Molecular Liquids*, 412, 125861. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2024.125861>
- Chandrakala, V., Aruna, V., & Angajala, G. (2022). Review on metal nanoparticles as nanocarriers: current challenges and perspectives in drug delivery systems. *Emergent Materials* 2021 5:6, 5(6), 1593-1615. <https://doi.org/10.1007/S42247-021-00335-X>
- Chang, X., Wang, Y. F., Zhang, X., Liu, Z., Fu, J., Zhao, D., Fan, S., Bu, R., Zhang, J., Wang, W., & Wang, H. X. (2019). Enhanced ultraviolet absorption in diamond surface via localized surface plasmon resonance in palladium nanoparticles. *Applied Surface Science*, 464, 455-457. <https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2018.09.087>
- Chaudhuri, S. K., & Malodia, L. (2017). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *calotropis gigantea*: Characterization and its evaluation on tree seedling growth in nursery stage. *Applied Nanoscience (Switzerland)*, 7(8), 501-512. <https://doi.org/10.1007/S13204-017-0586-7/FIGURES/11>

- Cheng, Q., & Liu, Y. (2017). Multifunctional platinum-based nanoparticles for biomedical applications. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 9(2), e1410. <https://doi.org/10.1002/WNAN.1410>
- Chi, Y., Wang, Y., Ji, M., Li, Y., Zhu, H., Yan, Y., Fu, D., Zou, L., & Ren, B. (2022). Natural products from traditional medicine as promising agents targeting at different stages of oral biofilm development. *Frontiers in Microbiology*, 13, 955459. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2022.955459/XML/NLM>
- Colombo, A. V., Barbosa, G. M., Higashi, D., di Micheli, G., Rodrigues, P. H., & Simionato, M. R. L. (2013). Quantitative detection of *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa* in human oral epithelial cells from subjects with periodontitis and periodontal health. *Journal of Medical Microbiology*, 62(PART10), 1592-1600. <https://doi.org/10.1099/JMM.0.055830-0/CITE/REFWORKS>
- Cucarella, C., Solano, C., Valle, J., Amorena, B., Lasa, Í., & Penadés, J. R. (2001). Bap, a *Staphylococcus aureus* Surface Protein Involved in Biofilm Formation. *Journal of Bacteriology*, 183(9), 2888. <https://doi.org/10.1128/JB.183.9.2888-2896.2001>
- Cushnie, T. P. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5), 377-386. <https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2014.06.001>
- Dadhich, A., Jain, R., & Sharma, M. M. (2025). *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. plant extract mediated synthesis of metallic nanoparticles and regulation of bacoside-A-memory enhancer compound and their application: A comprehensive review. *Plant Nano Biology*, 11, 100133. <https://doi.org/10.1016/J.PLANA.2024.100133>
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174-181. <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2011.08.007>
- Dediu, V., Busila, M., Tucureanu, V., Bucur, F. I., Iliescu, F. S., Brincoveanu, O., & Iliescu, C. (2022). Synthesis of ZnO/Au Nanocomposite for Antibacterial Applications. *Nanomaterials*, 12(21). <https://doi.org/10.3390/NANO12213832>
- Deepak, S., Anilkumar, P., Jasmin, J., & Ranjith Kumar, E. (2024). A facial synthesis of ZnO nanoparticles and their structural, optical, morphological, biological, and photocatalytic properties. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 101, 106123. <https://doi.org/10.1016/J.JDDST.2024.106123>
- Dhivya, A., Yadav, R., & Stella Packiam, C. (2019). An Eco-approach synthesis of undoped and Mn doped ZnO nano-photocatalyst for prompt decoloration of methylene blue dye. *Materials Today: Proceedings*, 48. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.02.751>
- Dipalma, G., Inchingolo, A. D., Guglielmo, M., Morolla, R., Palumbo, I., Riccaldo, L., Mancini, A., Palermo, A., Malcangi, G., Inchingolo, A. M., & Inchingolo, F. (2024). Nanotechnology and Its Application in Dentistry: A Systematic Review of Recent

Advances and Innovations. *Journal of Clinical Medicine* 2024, Vol. 13, Page 5268, 13(17), 5268. <https://doi.org/10.3390/JCM13175268>

- Dwivedi, S., Wahab, R., Khan, F., Mishra, Y. K., Musarrat, J., & Al-Khedhairi, A. A. (2014). Reactive Oxygen Species Mediated Bacterial Biofilm Inhibition via Zinc Oxide Nanoparticles and Their Statistical Determination. *PLOS ONE*, 9(11), e111289. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0111289>
- Ealias, A. M., & Saravanakumar, M. P. (2017). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 263(3), 032019. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/263/3/032019>
- Efati, Z., Shahangian, S. S., Darroudi, M., Amiri, H., Hashemy, S. I., & Aghamaali, M. R. (2023). Green chemistry synthesized zinc oxide nanoparticles in *Lepidium sativum* L. seed extract and evaluation of their anticancer activity in human colorectal cancer cells. *Ceramics International*, 49(20), 32568-32576. <https://doi.org/10.1016/J.CERAMINT.2023.07.221>
- Eker, F., Duman, H., Akdaşçi, E., Bolat, E., Sarıtaş, S., Karav, S., & Witkowska, A. M. (2024). A Comprehensive Review of Nanoparticles: From Classification to Application and Toxicity. *Molecules* 2024, Vol. 29, Page 3482, 29(15), 3482. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES29153482>
- Eramabadi, P., Masoudi, M., Makhdoumi, A., & Mashreghi, M. (2020). Microbial cell lysate supernatant (CLS) alteration impact on platinum nanoparticles fabrication, characterization, antioxidant and antibacterial activity. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 117. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2020.111292>
- Eshed, M., Lellouche, J., Matalon, S., Gedanken, A., & Banin, E. (2012). Sonochemical coatings of ZnO and CuO nanoparticles inhibit streptococcus mutans biofilm formation on teeth model. *Langmuir*, 28(33), 12288-12295. https://doi.org/10.1021/LA301432A/ASSET/IMAGES/LARGE/LA-2012-01432A_0009.JPEG
- Evans, M., Davies, J. K., Sundqvist, G., & Figdor, D. (2002). Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *International Endodontic Journal*, 35(3), 221-228. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2591.2002.00504.X>
- Fanoro, O. T., Parani, S., Maluleke, R., Lebepe, T. C., Varghese, J. R., Mavumengwana, V., & Oluwafemi, O. S. (2021). Facile Green, Room-Temperature Synthesis of Gold Nanoparticles Using *Combretum erythrophyllum* Leaf Extract: Antibacterial and Cell Viability Studies against Normal and Cancerous Cells. *Antibiotics*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS10080893>
- Gatou, M. A., Skylla, E., Dourou, P., Pippa, N., Gazouli, M., Lagopati, N., & Pavlatou, E. A. (2024). Magnesium Oxide (MgO) Nanoparticles: Synthetic Strategies and

- Biomedical Applications. *Crystals* 2024, Vol. 14, Page 215, 14(3), 215. <https://doi.org/10.3390/CRYST14030215>
- Gauvin, R., & Horny, P. (2000). The Characterization of Nano Materials in the FE-SEM. *Microscopy and Microanalysis*, 6(S2). <https://doi.org/10.1017/s1431927600036217>
- Gokila, V., Perarasu, V., research, R. R.-A. in nano, & 2021, undefined. (t.y.). Qualitative comparison of chemical and green synthesized Fe₃O₄ nanoparticles. *koreascience.kr* V Gokila, VT Perarasu, R Rufina *Advances in nano research*, 2021•*koreascience.kr*. Geliş tarihi 08 Nisan 2025, gönderen <https://koreascience.kr/article/JAKO202109651118708.page>
- Gold, K., Slay, B., Knackstedt, M., & Gaharwar, A. K. (2018). Antimicrobial Activity of Metal and Metal-Oxide Based Nanoparticles. *Advanced Therapeutics*, 1(3). <https://doi.org/10.1002/adtp.201700033>
- Golding, C. G., Lamboo, L. L., Beniac, D. R., & Booth, T. F. (2016). The scanning electron microscope in microbiology and diagnosis of infectious disease. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep26516>
- Goldstein, J. I., Newbury, D. E., Michael, J. R., Ritchie, N. W. M., Scott, J. H. J., & Joy, D. C. (2017). Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis. *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis*, 1-550. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6676-9/COVER>
- Gou, N., Onnis-Hayden, A., & A. G.-E. science, & 2010, undefined. (2010). Mechanistic toxicity assessment of nanomaterials by whole-cell-array stress genes expression analysis. *ACS Publications* N Gou, A Onnis-Hayden, AZ Gu *Environmental science & technology*, 2010•*ACS Publications*, 44(15), 5964-5970. <https://doi.org/10.1021/es100679f>
- Govindasamy, R., Govindarasu, M., Alharthi, S. S., Mani, P., Bernaurdshaw, N., Gomathi, T., Ansari, M. A., Alomary, M. N., Atwah, B., Malik, M. S., Rajeswari, V. D., Rekha, K., Ahmed, S. A., & Thiruvengadam, M. (2022). Sustainable Green Synthesis of Yttrium Oxide (Y₂O₃) Nanoparticles Using Lantana camara Leaf Extracts: Physicochemical Characterization, Photocatalytic Degradation, Antibacterial, and Anticancer Potency. *Nanomaterials* 2022, Vol. 12, Page 2393, 12(14), 2393. <https://doi.org/10.3390/NANO12142393>
- Groarke, R., Vijayaraghavan, R. K., Powell, D., Rennie, A., & Brabazon, D. (2021). Powder characterization—methods, standards, and state of the art. *Fundamentals of Laser Powder Bed Fusion of Metals*, 491-527. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824090-8.00006-8>
- Guan, X., Gao, X., Avellan, A., Spielman-Sun, E., Xu, J., Laughton, S., Yun, J., Zhang, Y., Bland, G. D., Zhang, Y., Zhang, R., Wang, X., Casman, E. A., & Lowry, G. V. (2020). CuO nanoparticles alter the rhizospheric bacterial community and local nitrogen cycling for wheat grown in a calcareous soil. *Environmental science & technology*, 54(14), 8699-8709. <https://doi.org/10.1021/ACS.EST.0C00036>

- Gunalan, S., Sivaraj, R., & Rajendran, V. (2012). Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. *Progress in Natural Science: Materials International*, 22(6), 693-700. <https://doi.org/10.1016/J.PNSC.2012.11.015>
- Halwani, A. A. (2022). Development of Pharmaceutical Nanomedicines: From the Bench to the Market. *Içinde Pharmaceutics* (C. 14, Sayı 1). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010106>
- Han, F. F., Gao, Y. H., Luan, C., Xie, Y. G., Liu, Y. F., & Wang, Y. Z. (2013). Comparing bacterial membrane interactions and antimicrobial activity of porcine lactoferricin-derived peptides. *Journal of Dairy Science*, 96(6). <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6104>
- Happy Agarwal, Menon, S., Venkat Kumar, S., & Rajeshkumar, S. (2018). Mechanistic study on antibacterial action of zinc oxide nanoparticles synthesized using green route. *Chemico-Biological Interactions*, 286, 60-70. <https://doi.org/10.1016/J.CBI.2018.03.008>
- Hashimoto, M., & Imazato, S. (2015). Cytotoxic and genotoxic characterization of aluminum and silicon oxide nanoparticles in macrophages. *Dental Materials*, 31(5), 556-564. <https://doi.org/10.1016/J.DENTAL.2015.02.009>
- Hayat, K., Din, I. U., Alam, K., Khan, F. U., Khan, M., & Mohamed, H. I. (2024). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using plant extracts of *Fumaria officinalis* and *Peganum harmala* and their antioxidant and antibacterial activities. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 15(6), 9565-9579. <https://doi.org/10.1007/S13399-024-05804-X/FIGURES/10>
- Herraiz, T., González, D., Ancín-Azpilicueta, C., Arán, V. J., & Guillén, H. (2010). β -Carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 839-845. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2009.12.019>
- Hillyer, M. B., Jordan, J. H., Ernst, N. E., Nam, S., & Easson, M. W. (2024). Cu₂O/CuO Nanoparticle-Cotton Fiber Biocomposite Catalyst: Self-Improvement through Morphological Changes during Methyl Orange Degradation. *Langmuir*. https://doi.org/10.1021/ACS.LANGMUIR.4C02405/SUPPL_FILE/LA4C02405_SI_001.PDF
- Hisada, A., Matsumoto, E., Hirano, R., Konomi, M., Bou Khalil, J. Y., Raoult, D., & Ominami, Y. (2023). Detection of antimicrobial impact on gram-negative bacterial cell envelope based on single-cell imaging by scanning electron microscopy. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38198-3>
- Humaira, Ahmad, I., Shakir, H. A., Khan, M., Ali, S., Alshahrani, M., Franco, M., & Irfan, M. (2024). Magnesium Oxide Nanoparticles: Biogenic Synthesis and Biomedical Applications. *ChemBioEng Reviews*, 11(3), 447-456. <https://doi.org/10.1002/CBEN.202300053>

- Husain, F. M., Qais, F. A., Ahmad, I., Hakeem, M. J., Baig, M. H., Khan, J. M., & Al-Shabib, N. A. (2022). Biosynthesized Zinc Oxide Nanoparticles Disrupt Established Biofilms of Pathogenic Bacteria. *Applied Sciences (Switzerland)*, 12(2), 710. <https://doi.org/10.3390/AP12020710/S1>
- Hussein, J., El-Banna, M., Razik, T. A., & El-Naggar, M. E. (2018). Biocompatible zinc oxide nanocrystals stabilized via hydroxyethyl cellulose for mitigation of diabetic complications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107(PartA), 748-754. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.09.056>
- Huston, M., Debella, M., Dibella, M., & Gupta, A. (2021). Green Synthesis of Nanomaterials. *Nanomaterials 2021, Vol. 11, Page 2130, 11(8)*, 2130. <https://doi.org/10.3390/NANO11082130>
- Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A., & Bukhari, A. (2020). Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 13(3), 59-81. <https://doi.org/10.1080/17518253.2020.1802517>
- Illath, K., Wankhar, S., Mohan, L., Nagai, M., & Santra, T. S. (2021). Metallic Nanoparticles for Biomedical Applications. *Springer Series in Biomaterials Science and Engineering*, 16, 29-81. https://doi.org/10.1007/978-981-33-6252-9_2
- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638-2650. <https://doi.org/10.1039/C1GC15386B>
- Isaacoff, B. P., & Brown, K. A. (2017). Progress in Top-Down Control of Bottom-Up Assembly. *Nano Letters*, 17(11), 6508-6510. https://doi.org/10.1021/ACS.NANOLETT.7B04479/ASSET/IMAGES/LARGE/NL-2017-04479W_0001.JPEG
- Jadoun, S., Arif, R., Jangid, N. K., & Meena, R. K. (2021). Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(1), 355-374. <https://doi.org/10.1007/S10311-020-01074-X/FIGURES/5>
- Jayasimha, H. N., Chandrappa, K. G., Sanaulla, P. F., & Dileepkumar, V. G. (2024). Green synthesis of CuO nanoparticles: A promising material for photocatalysis and electrochemical sensor. *Sensors International*, 5, 100254. <https://doi.org/10.1016/J.SINTL.2023.100254>
- Jebahi, S., Badraoui, R., Ben Salah, G., Ben Taheur, F., Brahmi, F., Mhadhbi, M., Bouhamda, T., Jilani, S., Aloufi, B., Adnan, M., Siddiqui, A. J., Sulieman, A. M. E., & Karmous, I. (2025). Green synthesis of plant-derived ZnO nanoparticles: Characterization, pharmacokinetics, molecular interactions, and in-vitro antimicrobial and antifungal evaluation. *Biomolecules and Biomedicine*, 25(10), 2378. <https://doi.org/10.17305/BB.2025.12090>
- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and

- regulations. *Beilstein Journal of Nanotechnology* 9:98, 9(1), 1050-1074. <https://doi.org/10.3762/BJNANO.9.98>
- Jha, S., Rani, R., & Singh, S. (2023). Biogenic Zinc Oxide Nanoparticles and Their Biomedical Applications: A Review. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials* 2023 33:6, 33(6), 1437-1452. <https://doi.org/10.1007/S10904-023-02550-X>
- Jiang, W., Yang, K., Vachet, R. W., & Xing, B. (2010). Interaction between oxide nanoparticles and biomolecules of the bacterial cell envelope as examined by infrared spectroscopy. *Langmuir*, 26(23), 18071-18077. https://doi.org/10.1021/LA103738E/SUPPL_FILE/LA103738E_SI_001.PDF
- Joe, A., Park, S. H., Shim, K. D., Kim, D. J., Jhee, K. H., Lee, H. W., Heo, C. H., Kim, H. M., & Jang, E. S. (2017). Antibacterial mechanism of ZnO nanoparticles under dark conditions. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 45, 430-439. <https://doi.org/10.1016/J.JIEC.2016.10.013>
- John, M. S., Nagoth, J. A., Zannotti, M., Giovannetti, R., Mancini, A., Ramasamy, K. P., Miceli, C., & Pucciarelli, S. (2021). Biogenic Synthesis of Copper Nanoparticles Using Bacterial Strains Isolated from an Antarctic Consortium Associated to a Psychrophilic Marine Ciliate: Characterization and Potential Application as Antimicrobial Agents. *Marine Drugs*, 19(5). <https://doi.org/10.3390/MD19050263>
- Joudeh, N., & Linke, D. (2022). Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. *Journal of Nanobiotechnology* 2022 20:1, 20(1), 1-29. <https://doi.org/10.1186/S12951-022-01477-8>
- Kabeerdass, N., Murugesan, K., Arumugam, N., Almansour, A. I., Kumar, R. S., Djearamane, S., Kumaravel, A. K., Velmurugan, P., Mohanavel, V., Kumar, S. S., Vijayanand, S., Padmanabhan, P., Gulyás, B., & Mathanmohun, M. (2022). Biomedical and Textile Applications of Alternanthera sessilis Leaf Extract Mediated Synthesis of Colloidal Silver Nanoparticle. *Nanomaterials*, 12(16). <https://doi.org/10.3390/NANO12162759>
- Karimi, B., Habibi, M. H., & Naghiha, R. (2021). Synthesis, Characterization and Biological Properties of Fe₂Ti₃O₉ Nanoparticles: Antimicrobial Activity and DNA Cleavage Ability. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/SSRN.3607696>
- Khalil, M. A., Alzaidi, T. M., Alsharbaty, M. H. M., Ali, S. S., Schagerl, M., Elhariry, H. M., & Aboshady, T. A. (2025). Synergistic Antibacterial and Antibiofilm Effects of Clindamycin and Zinc Oxide Nanoparticles Against Pathogenic Oral Bacillus Species. *Pathogens*, 14(2), 138. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS14020138/S1>
- Khan, F., Shariq, M., Asif, M., Siddiqui, M. A., Malan, P., & Ahmad, F. (2022). Green Nanotechnology: Plant-Mediated Nanoparticle Synthesis and Application. *Nanomaterials* 2022, Vol. 12, Page 673, 12(4), 673. <https://doi.org/10.3390/NANO12040673>

- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908-931. <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2017.05.011>
- Khan, R., & Fulekar, M. H. (2016). Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles using *Bacillus amyloliquefaciens* culture and enhancement of its photocatalytic activity for the degradation of a sulfonated textile dye Reactive Red 31. *Journal of Colloid and Interface Science*, 475, 184-191. <https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2016.05.001>
- Khatami, M., Alijani, H. Q., Fakheri, B., Mobasser, M. M., Heydarpour, M., Farahani, Z. K., & Khan, A. U. (2019). Super-paramagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): Greener synthesis using *Stevia* plant and evaluation of its antioxidant properties. *Journal of Cleaner Production*, 208, 1171-1177. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2018.10.182>
- Kızılkonca, E., Torlak, E., & Erim, F. B. (2021). Preparation and characterization of antibacterial nano cerium oxide/chitosan/hydroxyethylcellulose/polyethylene glycol composite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 177. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.139>
- Klinavičius, T., Khinevich, N., Tamulevičienė, A., Vidal, L., Tamulevičius, S., & Tamulevičius, T. (2024). Deep Learning Methods for Colloidal Silver Nanoparticle Concentration and Size Distribution Determination from UV-Vis Extinction Spectra. *Journal of Physical Chemistry C*, 128(23), 9662-9675. https://doi.org/10.1021/ACS.JPCC.4C02459/ASSET/IMAGES/LARGE/JP4C02459_0006.JPEG
- Kokorina, A. A., Ermakov, A. V., Abramova, A. M., Goryacheva, I. Y., & Sukhorukov, G. B. (2020). Carbon Nanoparticles and Materials on Their Basis. *Colloids and Interfaces* 2020, Vol. 4, Page 42, 4(4), 42. <https://doi.org/10.3390/COLLOIDS4040042>
- Kouidhi, B., Al Qurashi, Y. M. A., & Chaieb, K. (2015). Drug resistance of bacterial dental biofilm and the potential use of natural compounds as alternative for prevention and treatment. *Microbial Pathogenesis*, 80, 39-49. <https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2015.02.007>
- Krishnamoorthy, R., Athinarayanan, J., Periyasamy, V. S., Alshuniaber, M. A., Alshammari, G., Hakeem, M. J., Ahmed, M. A., & Alshatwi, A. A. (2022). Antibacterial Mechanisms of Zinc Oxide Nanoparticle against Bacterial Food Pathogens Resistant to Beta-Lactam Antibiotics. *Molecules* 2022, Vol. 27, Page 2489, 27(8), 2489. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27082489>
- Krishnaraj, C., Muthukumaran, P., Ramachandran, R., Balakumaran, M. D., & Kalaichelvan, P. T. (2014). *Acalypha indica* Linn: Biogenic synthesis of silver and gold nanoparticles and their cytotoxic effects against MDA-MB-231, human breast cancer cells. *Biotechnology Reports*, 4(1), 42-49. <https://doi.org/10.1016/J.BTRE.2014.08.002>

- Kumari, Y., Kaur, G., Kumar, R., Singh, S. K., Gulati, M., Khursheed, R., Clarisse, A., Gowthamarajan, K., Karri, V. V. S. N. R., Mahalingam, R., Ghosh, D., Awasthi, A., Kumar, R., Yadav, A. K., Kapoor, B., Singh, P. K., Dua, K., & Porwal, O. (2019). Gold nanoparticles: New routes across old boundaries. *Advances in Colloid and Interface Science*, 274, 102037. <https://doi.org/10.1016/J.CIS.2019.102037>
- Lahiri, D., Ray, R. R., Sarkar, T., Upadhye, V. J., Ghosh, S., Pandit, S., Pati, S., Edinur, H. A., Abdul Kari, Z., Nag, M., & Ahmad Mohd Zain, M. R. (2022). Anti-biofilm efficacy of green-synthesized ZnO nanoparticles on oral biofilm: In vitro and in silico study. *Frontiers in Microbiology*, 13, 939390. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2022.939390/BIBTEX>
- Lai, C. S., Chakraborty, I., Tai, H. H., Verma, D., Chang, K. P., & Wang, J. C. (2023). Advanced Impacts of Nanotechnology and Intelligence. *IEEE Nanotechnology Magazine*, 17(1). <https://doi.org/10.1109/MNANO.2022.3228154>
- Leung, Y. H., Ng, A. M. C., Xu, X., Shen, Z., Gethings, L. A., Wong, M. T., Chan, C. M. N., Guo, M. Y., Ng, Y. H., Djurišić, A. B., Lee, P. K. H., Chan, W. K., Yu, L. H., Phillips, D. L., Ma, A. P. Y., & Leung, F. C. C. (2014a). Mechanisms of Antibacterial Activity of MgO: Non-ROS Mediated Toxicity of MgO Nanoparticles Towards *Escherichia coli*. *Small*, 10(6), 1171-1183. <https://doi.org/10.1002/SMLL.201302434>
- Leung, Y. H., Ng, A. M. C., Xu, X., Shen, Z., Gethings, L. A., Wong, M. T., Chan, C. M. N., Guo, M. Y., Ng, Y. H., Djurišić, A. B., Lee, P. K. H., Chan, W. K., Yu, L. H., Phillips, D. L., Ma, A. P. Y., & Leung, F. C. C. (2014b). Mechanisms of Antibacterial Activity of MgO: Non-ROS Mediated Toxicity of MgO Nanoparticles Towards *Escherichia coli*. *Small*, 10(6), 1171-1183. <https://doi.org/10.1002/SMLL.201302434>
- Li, J., Wen, J., Li, B., Li, W., Qiao, W., Shen, J., Jin, W., Jiang, X., K Yeung, K. W., Chu, P. K., Li, J., Shen, J., K Yeung, K. W., Li, W., Jin, W., Chu, P. K., Wen, J., Jiang, X., Li, B., & Qiao, W. (2018). Valence State Manipulation of Cerium Oxide Nanoparticles on a Titanium Surface for Modulating Cell Fate and Bone Formation. *Advanced Science*, 5(2), 1700678. <https://doi.org/10.1002/ADVS.201700678>
- Li, X., Yan, Z., & Xu, J. (2003). Quantitative variation of biofilms among strains in natural populations of *Candida albicans*. *Microbiology*, 149(2), 353-362. <https://doi.org/10.1099/MIC.0.25932-0/CITE/REFWORKS>
- Liang, S. X. T., Wong, L. S., Lim, Y. M., Lee, P. F., & Djearmane, S. (2020). Effects of Zinc Oxide nanoparticles on *Streptococcus pyogenes*. *South African Journal of Chemical Engineering*, 34, 63-71. <https://doi.org/10.1016/J.SAJCE.2020.05.009>
- Loganathan, S., Govindasamy, M., Habila, M. A., & Manimaran, K. (2023). Green synthesis of iron oxide nanoparticles using *Pterolobium hexapetalum* (roth) santapau & wagh leaves extract and their biological applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 54, 102905. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2023.102905>

- Loganathan, S., Selvam, K., Govindasamy, M., & Habila, M. A. (2025). Bioynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) using *Passiflora foetida* Linn leaves extract and their biological applications. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 15(4), 5861-5871. <https://doi.org/10.1007/S13399-024-05593-3>
- Luzala, M. M., Muanga, C. K., Kyana, J., Safari, J. B., Zola, E. N., Mbusa, G. V., Nuapia, Y. B., Liesse, J. M. I., Nkanga, C. I., Krause, R. W. M., Balčiūnaitienė, A., & Memvanga, P. B. (2022). A Critical Review of the Antimicrobial and Antibiofilm Activities of Green-Synthesized Plant-Based Metallic Nanoparticles. *Nanomaterials*, 12(11), 1841. <https://doi.org/10.3390/NANO12111841/S1>
- Magdassi, S., Grouchko, M., & Kamyshny, A. (2010). Copper Nanoparticles for Printed Electronics: Routes Towards Achieving Oxidation Stability. *Materials 2010, Vol. 3, Pages 4626-4638*, 3(9), 4626-4638. <https://doi.org/10.3390/MA3094626>
- Maheswaran, H., Djearamane, S., Tanislaus Antony Dhanapal, A. C., & Wong, L. S. (2024). Cytotoxicity of green synthesized zinc oxide nanoparticles using *Musa acuminata* on Vero cells. *Heliyon*, 10(11), e31316. <https://doi.org/10.1016/J.HELİYON.2024.E31316>
- Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliansky, M. E., & Kalinina, N. O. (2014). "Green" Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants. *Acta Naturae*, 6(1), 35-44. <https://doi.org/10.32607/20758251-2014-6-1-35-44>
- Malik, S., Muhammad, K., & Waheed, Y. (2023a). Emerging Applications of Nanotechnology in Healthcare and Medicine. İçinde *Molecules* (C. 28, Sayı 18). <https://doi.org/10.3390/molecules28186624>
- Malik, S., Muhammad, K., & Waheed, Y. (2023b). Nanotechnology: A Revolution in Modern Industry. İçinde *Molecules* (C. 28, Sayı 2). <https://doi.org/10.3390/molecules28020661>
- Malvindi, M. A., Brunetti, V., Vecchio, G., Galeone, A., Cingolani, R., & Pompa, P. P. (2012). SiO₂ nanoparticles biocompatibility and their potential for gene delivery and silencing. *Nanoscale*, 4(2), 486-495. <https://doi.org/10.1039/C1NR11269D>
- McNamara, K., & Tofail, S. A. M. (2017). Nanoparticles in biomedical applications. *Advances in Physics: X*, 2(1), 54-88. <https://doi.org/10.1080/23746149.2016.1254570>
- Medic, B. S., Tomic, N., Lagopati, N., Gazouli, M., & Pojskic, L. (2024). Advances in Metal and Metal Oxide Nanomaterials for Topical Antimicrobial Applications: Insights and Future Perspectives. *Molecules* 2024, Vol. 29, Page 5551, 29(23), 5551. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES29235551>
- Mfoafo, K. ;, Tuleu, C., Hanning, S., Omidian, H., & Mfoafo, K. (2023). Exploring the Potential of Nanotechnology in Pediatric Healthcare: Advances, Challenges, and Future Directions. *Pharmaceutics* 2023, Vol. 15, Page 1583, 15(6), 1583. <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS15061583>

- Modena, M. M., Rühle, B., Burg, T. P., Wuttke, S., Modena, M. M., Zurich, E., Rühle, B., Burg, T. P., & Wuttke, S. (2019). Nanoparticle Characterization: What to Measure? *Advanced Materials*, 31(32), 1901556. <https://doi.org/10.1002/ADMA.201901556>
- Moghaddam, A. B., Namvar, F., Moniri, M., Tahir, P. M., Azizi, S., & Mohamad, R. (2015). Nanoparticles Biosynthesized by Fungi and Yeast: A Review of Their Preparation, Properties, and Medical Applications. *Molecules* 2015, Vol. 20, Pages 16540-16565, 20(9), 16540-16565. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES200916540>
- Mohamed Asik R., Gowdhami B., Mohamed, M. J., G., A., & N., S. (2019). Anticancer potential of zinc oxide nanoparticles against cervical carcinoma cells synthesized via biogenic route using aqueous extract of *Gracilaria edulis*. *Materials Science and Engineering: C*, 103, 109840. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2019.109840>
- Monica Ahmad, N., Husaini Mohamed, A., Hasan, N. A., Zainal- Abidin, N., Zaini Nawahwi, M., & Mohamad Azzeme, A. (2024). Effect of optimisation variable and the role of plant extract in the synthesis of nanoparticles using plant-mediated synthesis approaches. *Inorganic Chemistry Communications*, 161, 111839. <https://doi.org/10.1016/J.INOCHE.2023.111839>
- Mourdikoudis, S., Pallares, R. M., & Thanh, N. T. K. (2018). Characterization techniques for nanoparticles: comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties. *Nanoscale*, 10(27), 12871-12934. <https://doi.org/10.1039/C8NR02278J>
- Mukherjee, D., Sil, M., Goswami, A., Lahiri, D., & Nag, M. (2023). Antibiofilm Activities of Carbon-Based Nanoparticles and Nanocomposites: A Comparative Review. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials* 2023 33:12, 33(12), 3961-3983. <https://doi.org/10.1007/S10904-023-02732-7>
- Murthy, S., Effiong, P., & Fei, C. C. (2020). Metal oxide nanoparticles in biomedical applications. *Metal Oxide Powder Technologies: Fundamentals, Processing Methods and Applications*, 233-251. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817505-7.00011-7>
- MuthuKathija, M., Sheik Muhideen Badhusha, M., & Rama, V. (2023). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Pisonia Alba* leaf extract and its antibacterial activity. *Applied Surface Science Advances*, 15, 100400. <https://doi.org/10.1016/J.APSADV.2023.100400>
- Mutukwa, D., Taziwa, R., & Khotseng, L. E. (2022). A Review of the Green Synthesis of ZnO Nanoparticles Utilising Southern African Indigenous Medicinal Plants. *Nanomaterials*, 12(19), 3456. <https://doi.org/10.3390/NANO12193456>
- Mutukwa, D., Taziwa, R. T., Tichapondwa, S. M., & Khotseng, L. (2024). Optimisation, Synthesis, and Characterisation of ZnO Nanoparticles Using *Leonotis ocymifolia* (*L. ocymifolia*) Leaf Extracts for Antibacterial and Photodegradation Applications. *International Journal of Molecular Sciences* 2024, Vol. 25, Page 11621, 25(21), 11621. <https://doi.org/10.3390/IJMS252111621>

- Nasim, I., Ragavendran, C., Kamaraj, C., Habes Almutairi, H., Waqas Alam, M., Manimaran, K., & Nakouti, I. (2024). Green synthesis of ZnO nanoparticles and biological applications as broad-spectrum bactericidal, antibiofilm effects and biocompatibility studies on Zebrafish embryo. *Inorganic Chemistry Communications*, 169, 113049. <https://doi.org/10.1016/J.INOCHE.2024.113049>
- Nikolova, M. P., & Chavali, M. S. (2020). Metal Oxide Nanoparticles as Biomedical Materials. *Biomimetics* 2020, Vol. 5, Page 27, 5(2), 27. <https://doi.org/10.3390/BIOMIMETICS5020027>
- Niyonshuti, I. I., Krishnamurthi, V. R., Okyere, D., Song, L., Benamara, M., Tong, X., Wang, Y., & Chen, J. (2020). Polydopamine Surface Coating Synergizes the Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 12(36). <https://doi.org/10.1021/acsami.0c10517>
- Ogunyemi, S. O., Zhang, M., Abdallah, Y., Ahmed, T., Qiu, W., Ali, M. A., Yan, C., Yang, Y., Chen, J., & Li, B. (2020). The Bio-Synthesis of Three Metal Oxide Nanoparticles (ZnO, MnO₂, and MgO) and Their Antibacterial Activity Against the Bacterial Leaf Blight Pathogen. *Frontiers in Microbiology*, 11, 588326. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.588326/BIBTEX>
- Ojo, S. A., Lateef, A., Azeez, M. A., Oladejo, S. M., Akinwale, A. S., Asafa, T. B., Yekeen, T. A., Akinboro, A., Oladipo, I. C., Gueguim-Kana, E. B., & Beukes, L. S. (2016). Biomedical and Catalytic Applications of Gold and Silver-Gold Alloy Nanoparticles Biosynthesized Using Cell-Free Extract of *Bacillus Safensis* LAU 13: Antifungal, Dye Degradation, Anti-Coagulant and Thrombolytic Activities. *IEEE Transactions on NanoBioscience*, 15(5), 433-442. <https://doi.org/10.1109/TNB.2016.2559161>
- Ouyang, J., Xie, A., Zhou, J., Liu, R., Wang, L., Liu, H., Kong, N., & Tao, W. (2022). Minimally invasive nanomedicine: nanotechnology in photo-/ultrasound-/radiation-/magnetism-mediated therapy and imaging. *Chemical Society Reviews*, 51(12), 4996-5041. <https://doi.org/10.1039/D1CS01148K>
- Pachaiappan, R., Rajendran, S., Show, P. L., Manavalan, K., & Naushad, M. (2021). Metal/metal oxide nanocomposites for bactericidal effect: A review. *Chemosphere*, 272. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128607>
- Packialakshmi, J. S., Kang, J., Jayakumar, A., Park, S., Chang, Y., & Kim, J. T. (2023). Insights into the antibacterial and antiviral mechanisms of metal oxide nanoparticles used in food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 40, 101213. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2023.101213>
- Padovani, G. C., Feitosa, V. P., Sauro, S., Tay, F. R., Durán, G., Paula, A. J., & Durán, N. (2015). Advances in Dental Materials through Nanotechnology: Facts, Perspectives and Toxicological Aspects. *Trends in Biotechnology*, 33(11), 621-636. <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2015.09.005/ASSET/9DBE73FC-A968-40A1-A74D-F3719421926C/MAIN.ASSETS/GR4.SML>

- Parveen, K., Banse, V., & Ledwani, L. (2016). Green synthesis of nanoparticles: Their advantages and disadvantages. *AIP Conference Proceedings*, 1724(1). <https://doi.org/10.1063/1.4945168/580977>
- Pasieczna-Patkowska, S., Cichy, M., & Flieger, J. (2025). Application of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy in Characterization of Green Synthesized Nanoparticles. *Molecules* 2025, Vol. 30, Page 684, 30(3), 684. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES30030684>
- Pathania, D., Katwal, R., & Kaur, H. (2016). Enhanced photocatalytic activity of electrochemically synthesized aluminum oxide nanoparticles. *International Journal of Minerals, Metallurgy and Materials*, 23(3), 358-371. <https://doi.org/10.1007/S12613-016-1245-9/METRICS>
- Pawar, J., Pathade, G. R., & Singh, E. A. (2023). Investigation of the antibacterial efficacy of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) based Irrigant against *Enterococcus faecalis* Concerning Root Canal Disinfection. *Ecology, Environment and Conservation*, 29, 70-74. <https://doi.org/10.53550/EEC.2023.V29I03S.015>
- Pelletier, D. A., Suresh, A. K., Holton, G. A., McKeown, C. K., Wang, W., Gu, B., Mortensen, N. P., Allison, D. P., Joy, D. C., Allison, M. R., Brown, S. D., Phelps, T. J., & Doktycz, M. J. (2010). Effects of engineered cerium oxide nanoparticles on bacterial growth and viability. *journals.asm.org* DA Pelletier, AK Suresh, GA Holton, CK McKeown, W Wang, B Gu, NP Mortensen *Applied and environmental microbiology*, 2010•journals.asm.org, 76(24), 7981-7989. <https://doi.org/10.1128/AEM.00650-10>
- Pokrajac, L., Abbas, A., Chrzanowski, W., Dias, G. M., Eggleton, B. J., Maguire, S., Maine, E., Malloy, T., Nathwani, J., Nazar, L., Sips, A., Sone, J., Van Den Berg, A., Weiss, P. S., & Mitra, S. (2021). Nanotechnology for a Sustainable Future: Addressing Global Challenges with the International Network4Sustainable Nanotechnology. *ACS Nano*, 15(12). <https://doi.org/10.1021/acsnano.1c10919>
- Pourali, P., Yahyaei, B., & Afsharnezhad, S. (2018). Bio-Synthesis of Gold Nanoparticles by *Fusarium oxysporum* and Assessment of Their Conjugation Possibility with Two Types of β -Lactam Antibiotics without Any Additional Linkers. *Microbiology*, 87(2), 229-237. <https://doi.org/10.1134/S0026261718020108>
- Pourhajibagher, M., & Bahador, A. (2021). Enhanced reduction of polymicrobial biofilms on the orthodontic brackets and enamel surface remineralization using zeolite-zinc oxide nanoparticles-based antimicrobial photodynamic therapy. *BMC Microbiology*, 21(1), 1-18. <https://doi.org/10.1186/S12866-021-02324-W/FIGURES/12>
- Prasad, T. N. V. K. V., Swethasree, M., Satisha, G. C., Nirmal Kumar, A. R., Sudhakar, P., Ravindra Reddy, B., Saritha, M., Sabitha, N., Bhaskar Reddy, B. V., Rajasekhar, P., Prasanthi, L., Girish, B. P., & Roy Choudhury, S. (2023). Nanoparticulate Silica Internalization and Its Effect on the Growth and Yield of Groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Environmental Science and Technology*, 57(14), 5881-5890. https://doi.org/10.1021/ACS.EST.3C00327/ASSET/IMAGES/LARGE/ES3C00327_0009.JPEG

- Pushpalatha, C., Suresh, J., Gayathri, V. S., Sowmya, S. V., Augustine, D., Alamoudi, A., Zidane, B., Mohammad Albar, N. H., & Patil, S. (2022). Zinc Oxide Nanoparticles: A Review on Its Applications in Dentistry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2022.917990/PDF>
- Puspitasari, R., Irnawati, D., & Widjijono. (2023). The effect of zinc oxide (ZnO) nanoparticle concentration on the adhesion of mucin and Streptococcus mutans to heat-cured acrylic resin. *Dental Materials Journal*, 42(6), 791-799. <https://doi.org/10.4012/DMJ.2023-016>
- Rafique, A., Amjad, F., Janjua, M. R. S. A., Naqvi, S. A. R., Hassan, S. U., Abdullah, H., Nazir, M. S., Ali, Z., Alshihri, A. A., Momenah, M. A., Mansour, A. A., Bajaber, M. A., & Alalwiat, A. A. (2024). Chia seed-mediated fabrication of ZnO/Ag/Ag₂O nanocomposites: structural, antioxidant, anticancer, and wound healing studies. *Frontiers in Chemistry*, 12. <https://doi.org/10.3389/FCHEM.2024.1405385>
- Ragavendran, C., Imath, M., Kamaraj, C., Nakouti, I., & Manoharadas, S. (2024). Eco-friendly synthesis of betanin-conjugated zinc oxide nanoparticles: antimicrobial efficacy and apoptotic pathway activation in oral cancer cells. *Molecular Biology Reports*, 51(1), 1-19. <https://doi.org/10.1007/S11033-024-10039-0/FIGURES/6>
- Rajasekaran, J. J., Krishnamurthy, H. K., Bosco, J., Jayaraman, V., Krishna, K., Wang, T., & Bei, K. (2024). Oral Microbiome: A Review of Its Impact on Oral and Systemic Health. *Microorganisms*, 12(9), 1797. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS12091797/S1>
- Raju, D., Paneliya, N., & Mehta, U. J. (2014). Extracellular synthesis of silver nanoparticles using living peanut seedling. *Applied Nanoscience (Switzerland)*, 4(7), 875-879. <https://doi.org/10.1007/S13204-013-0269-Y/FIGURES/4>
- Raliya, R., Tarafdar, J. C., Mahawar, H., Kumar, R., Gupta, P., Mathur, T., Kaul, R. K., Praveen-Kumar, Kalia, A., Gautam, R., Singh, S. K., & Gehlot, H. S. (2014). ZnO nanoparticles induced exopolysaccharide production by B. subtilis strain JCT1 for arid soil applications. *International journal of biological macromolecules*, 65, 362-368. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2014.01.060>
- Ramachandran, R., Parthasarathy, R., & Dhayalan, S. (2022). Silver nanoparticles synthesized by Euphorbia hirta exhibited antibacterial activity and induced apoptosis through downregulation of PI3K γ mediated PI3K/Akt/mTOR/p70S6K in human lung adenocarcinoma A549 cells. *Environmental Toxicology*, 37(12), 2865-2876. <https://doi.org/10.1002/TOX.23643>
- Ramani, M., Ponnusamy, S., & Muthamizhchelvan, C. (2012). From zinc oxide nanoparticles to microflowers: A study of growth kinetics and biocidal activity. *Materials Science and Engineering: C*, 32(8), 2381-2389. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2012.07.011>
- Rana, A., Yadav, K., & Jagadevan, S. (2020). A comprehensive review on green synthesis of nature-inspired metal nanoparticles: Mechanism, application and toxicity.

- Journal of Cleaner Production*, 272, 122880.
<https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2020.122880>
- Rana, S., Kalaichelvan, P. T., Bondy, S. C., Brar, S. K., Rogers, J. V., & Zhou, B. (2013). Ecotoxicity of Nanoparticles. *ISRN Toxicology*, 2013, 574648.
<https://doi.org/10.1155/2013/574648>
- Rasha, E., Monerah, A., Manal, A., Rehab, A., Mohammed, D., & Doaa, E. (2021). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles from *Acacia nilotica* (L.) extract to overcome carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Molecules*, 26(7).
<https://doi.org/10.3390/molecules26071919>
- Rizki, M., Pratama, F., Aslan Nasibova, T., Pratiwi, D., Kumar, P., & Garaev, A. (2021). *Peganum harmala* and its Alkaloids as Dopamine Receptor Antagonists: in Silico Study. 11(3), 10301-10316. <https://doi.org/10.33263/BRIAC113.1030110316>
- Roberts, A. P., & Mullany, P. (2010). Oral biofilms: a reservoir of transferable, bacterial, antimicrobial resistance. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 8(12), 1441-1450.
<https://doi.org/10.1586/ERI.10.106>
- Rokaya, D., Srimaneepong, V., Sapkota, J., Qin, J., Siraleartmukul, K., & Siriwoongrunson, V. (2018). Polymeric materials and films in dentistry: An overview. *Journal of Advanced Research*, 14, 25.
<https://doi.org/10.1016/J.JARE.2018.05.001>
- Romero, G., & Moya, S. E. (2012). Synthesis of Organic Nanoparticles. *Frontiers of Nanoscience*, 4(1), 115-141. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415769-9.00004-2>
- Roy, A., Parveen, A., ... A. K.-J. of B., & 2010, undefined. (2010). Effect of nano-titanium dioxide with different antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *scirp.org* AS Roy, A Parveen, AR Koppalkar, MVNA Prasad *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2010•scirp.org, 1, 37-41.
<https://doi.org/10.4236/jbnb.2010.11005>
- Safavinia, L., Akhgar, M. R., Tahamipour, B., & Ahmadi, S. A. (2021). Green Synthesis of Highly Dispersed Zinc Oxide Nanoparticles Supported on Silica Gel Matrix by *Daphne oleoides* Extract and their Antibacterial Activity. *Iranian Journal of Biotechnology*, 19(1), e2598. <https://doi.org/10.30498/IJB.2021.2598>
- Saha, T., Bin Mobarak, M., Uddin, M. N., Quddus, M. S., Naim, M. R., & Pinky, N. S. (2023). Biogenic synthesis of copper oxide (CuO) NPs exploiting *Averrhoa carambola* leaf extract and its potential antibacterial activity. *Materials Chemistry and Physics*, 305, 127979.
<https://doi.org/10.1016/J.MATCHEMPHYS.2023.127979>
- Sahu, T., Bisht, S. S., Das, K. R., & Kerkar, S. (2013). Nanoceria: Synthesis and Biomedical Applications. *Current Nanoscience*, 9(5), 588-593.
<https://doi.org/10.2174/15734137113099990084>

- Sahu, T., Ratre, Y. K., Chauhan, S., Bhaskar, L. V. K. S., Nair, M. P., & Verma, H. K. (2021). Nanotechnology based drug delivery system: Current strategies and emerging therapeutic potential for medical science. İçinde *Journal of Drug Delivery Science and Technology* (C. 63). <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102487>
- Sajid, M. (2022). Nanomaterials: types, properties, recent advances, and toxicity concerns. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 25, 100319. <https://doi.org/10.1016/J.COESH.2021.100319>
- Salas-Orozco, M., Niño-Martínez, N., Martínez-Castañón, G. A., Méndez, F. T., Jasso, M. E. C., & Ruiz, F. (2019). Mechanisms of Resistance to Silver Nanoparticles in Endodontic Bacteria: A Literature Review. *Journal of Nanomaterials*, 2019(1), 7630316. <https://doi.org/10.1155/2019/7630316>
- Salata, O. V. (2004). Applications of nanoparticles in biology and medicine. *Journal of Nanobiotechnology*, 2(1), 1-6. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-2-3/TABLES/1>
- Saleh, M. M., Sadeq, R. A., Abdel Latif, H. K., Abbas, H. A., & Askoura, M. (2019). Zinc oxide nanoparticles inhibits quorum sensing and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *African Health Sciences*, 19(2), 2043-2055. <https://doi.org/10.4314/AHS.V19I2.28>
- Salem, S. S., & Fouda, A. (2021). Green Synthesis of Metallic Nanoparticles and Their Prospective Biotechnological Applications: an Overview. *Biological Trace Element Research*, 199(1), 344-370. <https://doi.org/10.1007/S12011-020-02138-3/FIGURES/5>
- 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), 1-20. <https://doi.org/10.3390/NANO10081566>
- Samaranayake, L., Bandara, N., & Pesee, S. (2021). Oral Biofilms: What Are They? *Oral Biofilms and Modern Dental Materials: Advances Toward Bioactivity*, 1-7. https://doi.org/10.1007/978-3-030-67388-8_1
- Santacroce, L., Passarelli, P. C., Azzolino, D., Bottalico, L., Charitos, I. A., Cazzolla, A. P., Colella, M., Topi, S., Godoy, F. G., & D'Addona, A. (2023). Oral microbiota in human health and disease: A perspective. *Experimental Biology and Medicine*, 248(15), 1288. <https://doi.org/10.1177/15353702231187645>
- Saputra, I. S., Nurfani, E., Fahmi, A. G., Saputro, A. H., Apriandanu, D. O. B., Annas, D., & Yulizar, Y. (2024). Effect of secondary metabolites from several leaf extracts on the green synthesized-ZnO nanoparticles. *Vacuum*, 227, 113434. <https://doi.org/10.1016/J.VACUUM.2024.113434>
- Sarfraz, M. H., Zubair, M., Aslam, B., Ashraf, A., Siddique, M. H., Hayat, S., Cruz, J. N., Muzammil, S., Khurshid, M., Sarfraz, M. F., Hashem, A., Dawoud, T. M., Avila-Quezada, G. D., & Abd_Allah, E. F. (2023). Comparative analysis of phyto-fabricated chitosan, copper oxide, and chitosan-based CuO nanoparticles:

- antibacterial potential against *Acinetobacter baumannii* isolates and anticancer activity against HepG2 cell lines. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2023.1188743/PDF>
- Sarkar, N., Sharma, R. S., & Kaushik, M. (2021). Innovative application of facile single pot green synthesized CuO and CuO@APTES nanoparticles in nanopriming of *Vigna radiata* seeds. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(11), 13221-13228. <https://doi.org/10.1007/S11356-020-11493-6>
- Sathishkumar, G., Logeshwaran, V., Sarathbabu, S., Jha, P. K., Jeyaraj, M., Rajkuberan, C., Senthilkumar, N., & Sivaramakrishnan, S. (2018). Green synthesis of magnetic Fe₃O₄ nanoparticles using *Couroupita guianensis* Aubl. fruit extract for their antibacterial and cytotoxicity activities. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 46(3), 589-598. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1332635>
- Sati, A., Ranade, T. N., Mali, S. N., Ahmad Yasin, H. K., & Pratap, A. (2025). Silver Nanoparticles (AgNPs): Comprehensive Insights into Bio/Synthesis, Key Influencing Factors, Multifaceted Applications, and Toxicity—A 2024 Update. *ACS Omega*. https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.4C11045/ASSET/IMAGES/LARGE/AO4C11045_0015.JPEG
- Sedefoglu, N. (2023). Characterization and photocatalytic activity of ZnO nanoparticles by green synthesis method. *Optik*, 288. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2023.171217>
- Shakerdarabad, R., Mohabatkar, H., Behbahani, M., & Dini, G. (2024). Antibiofilm and antibacterial activities of green synthesized ZnO nanoparticles against *Erwinia amylovora* and *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae*: in vitro and in silico investigations. *Microbial Pathogenesis*, 196, 107011. <https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2024.107011>
- Shang, H., Ma, C., Li, C., Cai, Z., Shen, Y., Han, L., Wang, C., Tran, J., Elmer, W. H., White, J. C., & Xing, B. (2023). Aloe Vera Extract Gel-Biosynthesized Selenium Nanoparticles Enhance Disease Resistance in Lettuce by Modulating the Metabolite Profile and Bacterial Endophytes Composition. *ACS nano*, 17(14), 13672-13684. <https://doi.org/10.1021/ACSNANO.3C02790>
- Sharmila, G., Thirumarimurugan, M., & Muthukumaran, C. (2019). Green synthesis of ZnO nanoparticles using *Tecoma castanifolia* leaf extract: Characterization and evaluation of its antioxidant, bactericidal and anticancer activities. *Microchemical Journal*, 145, 578-587. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2018.11.022>
- Sheik Mydeen, S., Raj Kumar, R., Kottaisamy, M., & Vasantha, V. S. (2020). Biosynthesis of ZnO nanoparticles through extract from *Prosopis juliflora* plant leaf: Antibacterial activities and a new approach by rust-induced photocatalysis. *Journal of Saudi Chemical Society*, 24(5), 393-406. <https://doi.org/10.1016/J.JSCS.2020.03.003>

- Shen, S., Zhang, T., Yuan, Y., Lin, S., Xu, J., & Ye, H. (2015). Effects of cinnamaldehyde on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* membrane. *Food Control*, 47, 196-202. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2014.07.003>
- Shrestha, S., Wang, B., & Dutta, P. (2020). Nanoparticle processing: Understanding and controlling aggregation. *Advances in Colloid and Interface Science*, 279, 102162. <https://doi.org/10.1016/J.CIS.2020.102162>
- Siddiqi, K. S., ur Rahman, A., Tajuddin, & Husen, A. (2018). Properties of Zinc Oxide Nanoparticles and Their Activity Against Microbes. *Nanoscale Research Letters* 2018 13:1, 13(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/S11671-018-2532-3>
- Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(5), a000414. <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A000414>
- Sinde, E., & Carballo, J. (2000). Attachment of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* to stainless steel, rubber and polytetrafluorethylene: the influence of free energy and the effect of commercial sanitizers. *Food Microbiology*, 17(4), 439-447. <https://doi.org/10.1006/FMIC.2000.0339>
- Singh, H., Desimone, M. F., Pandya, S., Jasani, S., George, N., Adnan, M., Aldarhami, A., Bazaid, A. S., & Alderhami, S. A. (2023). Revisiting the Green Synthesis of Nanoparticles: Uncovering Influences of Plant Extracts as Reducing Agents for Enhanced Synthesis Efficiency and Its Biomedical Applications. *International Journal of Nanomedicine*, 18, 4727-4750. <https://doi.org/10.2147/IJN.S419369>
- Singh, P., Pandit, S., Mokkapati, V. R. S. S., Garg, A., Ravikumar, V., & Mijakovic, I. (2018). Gold Nanoparticles in Diagnostics and Therapeutics for Human Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 1979. <https://doi.org/10.3390/IJMS19071979>
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., Hasan, H., & Mohamad, D. (2015). Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Letters*, 7(3), 219. <https://doi.org/10.1007/S40820-015-0040-X>
- Slavin, Y. N., Asnis, J., Häfeli, U. O., & Bach, H. (2017). Metal nanoparticles: Understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of Nanobiotechnology*, 15(1), 1-20. <https://doi.org/10.1186/S12951-017-0308-Z/FIGURES/4>
- Slowing, I. I., Trewyn, B. G., Giri, S., & Lin, V. S. Y. (2007). Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery and Biosensing Applications. *Advanced Functional Materials*, 17(8), 1225-1236. <https://doi.org/10.1002/ADFM.200601191>
- Sohm, B., Immel, F., Bauda, P., Proteomics, C. P.-, & 2015, undefined. (2015). Insight into the primary mode of action of TiO₂ nanoparticles on *Escherichia coli* in the dark. *Wiley Online Library* B Sohm, F Immel, P Bauda, C Pagnout Proteomics, 2015•Wiley Online Library, 15(1), 98-113. <https://doi.org/10.1002/pmic.201400101>

- Song, J. Y., Jang, H. K., & Kim, B. S. (2009). Biological synthesis of gold nanoparticles using *Magnolia kobus* and *Diopyros kaki* leaf extracts. *Process Biochemistry*, 44(10), 1133-1138. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2009.06.005>
- Song, W., & Ge, S. (2019). Application of antimicrobial nanoparticles in dentistry. *İçinde Molecules* (C. 24, Sayı 6). <https://doi.org/10.3390/molecules24061033>
- Soni, D., Bafana, A., Gandhi, D., Sivanesan, S., & Pandey, R. A. (2014). Stress response of *Pseudomonas* species to silver nanoparticles at the molecular level. *academic.oup.com/D Soni, A Bafana, D Gandhi, S Sivanesan, RA Pandey Environmental toxicology and chemistry*, 2014•academic.oup.com, 33(9), 2126-2132. <https://doi.org/10.1002/etc.2670>
- Sreekanth, T. V. M., Nagajyothi, P. C., Muthuraman, P., Enkhtaivan, G., Vattikuti, S. V. P., Tettey, C. O., Kim, D. H., Shim, J., & Yoo, K. (2018). Ultra-sonication-assisted silver nanoparticles using *Panax ginseng* root extract and their anti-cancer and antiviral activities. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 188, 6-11. <https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOBIO.2018.08.013>
- Stan, M., Popa, A., Toloman, D., Silipas, T. D., & Vodnar, D. C. (2016). Antibacterial and antioxidant activities of ZnO nanoparticles synthesized using extracts of *Allium sativum*, *Rosmarinus officinalis* and *Ocimum basilicum*. *Acta Metallurgica Sinica (English Letters)*, 29(3), 228-236. <https://doi.org/10.1007/S40195-016-0380-7/TABLES/1>
- Stela Dragan, E., Vilardi, G., Abdi, F., Andrei Miu, B., & Dinischiotu, A. (2022). New Green Approaches in Nanoparticles Synthesis: An Overview. *Molecules* 2022, Vol. 27, Page 6472, 27(19), 6472. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27196472>
- Su, Y., Wu, D., Xia, H., Zhang, C., Shi, J., Wilkinson, K. J., & Xie, B. (2019). Metallic nanoparticles induced antibiotic resistance genes attenuation of leachate culturable microbiota: The combined roles of growth inhibition, ion dissolution and oxidative stress. *Environment International*, 128, 407-416. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2019.05.007>
- Subramaniyan, S. B., Megarajan, S., Dharshini, K. S., & Veerappan, A. (2021). *Artocarpus integrifolia* seed lectin enhances membrane damage, oxidative stress and biofilm inhibition activity of silver nanoparticles against *Staphylococcus aureus*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 624. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.126842>
- Sundrarajan, M., & Muthulakshmi, V. (2021). Green synthesis of ionic liquid mediated neodymium oxide nanoparticles by *Andrographis paniculata* leaves extract for effective bio-medical applications. *Journal of environmental chemical engineering*, 9(1). <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2020.104716>
- Tabrez Khan, S., Ahamed, M., Al-Khedhairi, A., & Musarrat, J. (2013). Biocidal effect of copper and zinc oxide nanoparticles on human oral microbiome and biofilm formation. *Materials Letters*, 97, 67-70. <https://doi.org/10.1016/J.MATLET.2013.01.085>

- Tamayo, L. A., Zapata, P. A., Vejar, N. D., Azócar, M. I., Gulppi, M. A., Zhou, X., Thompson, G. E., Rabagliati, F. M., & Páez, M. A. (2014). Release of silver and copper nanoparticles from polyethylene nanocomposites and their penetration into *Listeria monocytogenes*. *Materials Science and Engineering: C*, 40, 24-31. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2014.03.037>
- Teleanu, D. M., Chircov, C., Grumezescu, A. M., Volceanov, A., & Teleanu, R. I. (2018). Impact of nanoparticles on brain health: An up to date overview. *În Journal of Clinical Medicine* (C. 7, Sayı 12). <https://doi.org/10.3390/jcm7120490>
- Testa, C., Zammataro, A., Pappalardo, A., & Trusso Sfrazzetto, G. (2019). Catalysis with carbon nanoparticles. *RSC Advances*, 9(47), 27659-27664. <https://doi.org/10.1039/C9RA05689K>
- Thakur, S., & Neogi, S. (2021). Effect of doped ZnO nanoparticles on bacterial cell morphology and biochemical composition. *Applied Nanoscience*, 11(1), 159-171. <https://doi.org/10.1007/S13204-020-01592-8>
- Thakur, S., Shandilya, M., & Guleria, G. (2021). Appraisal of antimicrobial zinc oxide nanoparticles through Cannabis *Jatropha curcusa* Alovera and *Tinosporacordifolia* leaves by green synthesis process. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(1), 104882. <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2020.104882>
- Thongam, D. D., Gupta, J., & Sahu, N. K. (2019). Effect of induced defects on the properties of ZnO nanocrystals: surfactant role and spectroscopic analysis. *SN Applied Sciences*, 1(9), 1-14. <https://doi.org/10.1007/S42452-019-1058-3/TABLES/2>
- Toledo-Arana, A., Valle, J., Solano, C., Arrizubieta, M. J., Cucarella, C., Lamata, M., Amorena, B., Leiva, J., Penadés, J. R., & Lasa, I. (2001). The Enterococcal Surface Protein, Esp, Is Involved in *Enterococcus faecalis* Biofilm Formation. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(10), 4538. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4538-4545.2001>
- Tousson, E., El-Sayed, I. E. T., Elsharkawy, H. N., & Ahmed, A. S. (2024). Ameliorating and Therapeutic Impact of Curcumin Nanoparticles Against Aluminum Oxide Nanoparticles Induced Kidney Toxicity, DNA Damage, Oxidative Stress, PCNA and TNF α Alteration in Male Rats. *Environmental Toxicology*, 39(11), 5140-5149. <https://doi.org/10.1002/TOX.24392>
- Trevors, J. T., & Knowles, R. (1984). Electron transport system activity in soil, sediment, and pure cultures. *Critical Reviews in Microbiology*, 11(2), 83-100. <https://doi.org/10.3109/10408418409105473/ASSET/CMS/ASSET/5E7C2B9B-0821-40AD-95F0-7F3EAD2B1F4C/10408418409105473.FP.PNG>
- Tunkaew, K., Liewhiran, C., & Vaddhanaphuti, C. S. (2024). Functionalized metal oxide nanoparticles: A promising intervention against major health burden of diseases. *Life Sciences*, 358, 123154. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2024.123154>

- Unnisa, A., Greig, N. H., & Kamal, M. A. (2022). Nanotechnology: A Promising Targeted Drug Delivery System for Brain Tumours and Alzheimer's Disease. *Current Medicinal Chemistry*, 30(3), 255-270. <https://doi.org/10.2174/0929867329666220328125206>
- Usman, M., Farooq, M., Wakeel, A., Nawaz, A., Cheema, S. A., Rehman, H. ur, Ashraf, I., & Sanaullah, M. (2020). Nanotechnology in agriculture: Current status, challenges and future opportunities. *Içinde Science of the Total Environment* (C. 721). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137778>
- Vallabani, N. V. S., Sengupta, S., Shukla, R. K., & Kumar, A. (2019). ZnO nanoparticles-associated mitochondrial stress-induced apoptosis and G2/M arrest in HaCaT cells: a mechanistic approach. *Mutagenesis*, 34(3), 265-277. <https://doi.org/10.1093/MUTAGE/GEZ017>
- Vargas-Reus, M. A., Memarzadeh, K., Huang, J., Ren, G. G., & Allaker, R. P. (2012). Antimicrobial activity of nanoparticulate metal oxides against peri-implantitis pathogens. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 40(2), 135-139. <https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2012.04.012>
- Velsankar, K., Venkatesan, A., Muthumari, P., Suganya, S., Mohandoss, S., & Sudhahar, S. (2022). Green inspired synthesis of ZnO nanoparticles and its characterizations with biofilm, antioxidant, anti-inflammatory, and anti-diabetic activities. *Journal of Molecular Structure*, 1255, 132420. <https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2022.132420>
- Vidya, C., Hiremath, S., Chandraprabha, M. N., Antonyraj, M. A. L., Gopal, I. V., Jain, A., & Bansal, K. (2013). International Journal of Current Engineering and Technology Green synthesis of ZnO nanoparticles by Calotropis Gigantea. *International Journal of Current Engineering and Technology, Ncwse*.
- Vimala, K., Sundarraaj, S., Paulpandi, M., Vengatesan, S., & Kannan, S. (2014). Green synthesized doxorubicin loaded zinc oxide nanoparticles regulates the Bax and Bcl-2 expression in breast and colon carcinoma. *Process Biochemistry*, 49(1), 160-172. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2013.10.007>
- Vinayagam, R., Hebbar, A., Senthil Kumar, P., Rangasamy, G., Varadavenkatesan, T., Murugesan, G., Srivastava, S., Concepta Goveas, L., Manoj Kumar, N., & Selvaraj, R. (2023). Green synthesized cobalt oxide nanoparticles with photocatalytic activity towards dye removal. *Environmental Research*, 216, 114766. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2022.114766>
- Vladár, A. E., & Hodoroaba, V. D. (2020). Characterization of nanoparticles by scanning electron microscopy. *Characterization of Nanoparticles: Measurement Processes for Nanoparticles*, 7-27. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814182-3.00002-X>
- Wahab, R., Khan, S. T., Dwivedi, S., Ahamed, M., Musarrat, J., & Al-Khedhairi, A. A. (2013). Effective inhibition of bacterial respiration and growth by CuO microspheres composed of thin nanosheets. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 111, 211-217. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2013.06.003>

- Wahab, R., Kim, Y. S., Mishra, A., Yun, S. Il, & Shin, H. S. (2010). Formation of ZnO Micro-Flowers Prepared via Solution Process and their Antibacterial Activity. *Nanoscale Research Letters*, 5(10), 1675-1681. <https://doi.org/10.1007/S11671-010-9694-Y/FIGURES/7>
- Wang, C., Kim, Y. J., Singh, P., Mathiyalagan, R., Jin, Y., & Yang, D. C. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles by *Bacillus methylophilus*, and their antimicrobial activity. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 44(4), 1127-1132. <https://doi.org/10.3109/21691401.2015.1011805>
- Wang, C., Singh, P., Kim, Y. J., Mathiyalagan, R., Myagmarjav, D., Wang, D., Jin, C. G., & Yang, D. C. (2016). Characterization and antimicrobial application of biosynthesized gold and silver nanoparticles by using *Microbacterium resistens*. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44(7), 1714-1721. <https://doi.org/10.3109/21691401.2015.1089253>
- Wang, D., Zhao, L., Ma, H., Zhang, H., & Guo, L. H. (2017). Quantitative Analysis of Reactive Oxygen Species Photogenerated on Metal Oxide Nanoparticles and Their Bacteria Toxicity: The Role of Superoxide Radicals. *Environmental Science and Technology*, 51(17), 10137-10145. https://doi.org/10.1021/ACS.EST.7B00473/SUPPL_FILE/ES7B00473_SI_001.PDF
- Weissig, V., Pettinger, T. K., & Murdock, N. (2014). Nanopharmaceuticals (part 1): products on the market. *International journal of nanomedicine*, 9, 4357-4373. <https://doi.org/10.2147/IJN.S46900>
- Wu, W., Wu, Z., Yu, T., Jiang, C., & Kim, W. S. (2015). Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. *Science and Technology of Advanced Materials*, 16(2). <https://doi.org/10.1088/1468-6996/16/2/023501>
- Yamamoto, Y., Higuchi, M., Poole, L. B., & Kamio, Y. (2000). Role of the dpr product in oxygen tolerance in *Streptococcus mutans*. *Journal of Bacteriology*, 182(13), 3740-3747. <https://doi.org/10.1128/JB.182.13.3740-3747.2000/ASSET/712937A3-1535-47FE-934B-9E7D0C997059/ASSETS/GRAPHIC/JB1300211005.JPEG>
- Yang, S., Meng, X., Zhen, Y., Baima, Q., Wang, Y., Jiang, X., & Xu, Z. (2024). Strategies and mechanisms targeting *Enterococcus faecalis* biofilms associated with endodontic infections: a comprehensive review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1433313. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2024.1433313/XML>
- Yassin, M. A., Elgorban, A. M., El-Samawaty, A. E. R. M. A., & Almunqedhi, B. M. A. (2021). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Penicillium verrucosum* and analysis of their antifungal activity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(4), 2123-2127. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2021.01.063>
- Ying, S., Guan, Z., Ofoegbu, P. C., Clubb, P., Rico, C., He, F., & Hong, J. (2022). Green synthesis of nanoparticles: Current developments and limitations. *Environmental Technology & Innovation*, 26, 102336. <https://doi.org/10.1016/J.ETI.2022.102336>

- Zhan, Y., Hu, H., Yu, Y., Chen, C., Zhang, J., Jarnda, K. V., & Ding, P. (2024). Therapeutic strategies for drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Metal and metal oxide nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 112(9), 1343-1363. <https://doi.org/10.1002/JBM.A.37677>
- Zhang, L., Ding, Y., Povey, M., & York, D. (2008). ZnO nanofluids – A potential antibacterial agent. *Progress in Natural Science*, 18(8), 939-944. <https://doi.org/10.1016/J.PNSC.2008.01.026>
- Zhang, S., Lin, L., Huang, X., Lu, Y. G., Zheng, D. L., & Feng, Y. (2022). Antimicrobial Properties of Metal Nanoparticles and Their Oxide Materials and Their Applications in Oral Biology. *Journal of Nanomaterials*, 2022(1), 2063265. <https://doi.org/10.1155/2022/2063265>
- 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>