



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***Hibiscus sabdariffa* L. EKSTRAKTI KULLANILARAK
SENTEZLENEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZ
PARAMETRELERİNİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTEYE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hasan BAŞARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

**Şubat-2022
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi BAP koordinatörlüğü tarafından 191315003 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

Hasan BAŞARI

Tarih: 10.02.2022

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Hibiscus sabdariffa* L. EKSTRAKTI KULLANILARAK SENTEZLENEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZ PARAMETRELERİNİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTEYE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hasan BAŞARI

**Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Mustafa YÖNTEM
2. Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Fatih ERCİ**

2022, 63 Sayfa

**Jüri
Doç. Dr. Mustafa YÖNTEM
Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ
Doç. Dr. Gökhan ZENGİN**

Nanoteknoloji uygulamaları günümüzde, özellikle tıbbi ve çevresel alanlar başta olmak üzere çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Nanopartiküller için toksik olmayan sentez protokollerine duyulan ihtiyaç, biyolojik sentez yaklaşımlarına olan ilgiyi artırmaktadır. Mevcut tez çalışmasında, gümüş (Ag) nanopartiküllerin (NP) bitki ekstraktı aracılığı ile sentezinde pH, sıcaklık ve konsantrasyon parametrelerinin nanopartikül oluşumuna ve antimikrobiyal aktiviteye olan etkisinin incelenmesi amaç olarak belirlendi. Gümüş nanopartiküllerin sentez sürecinde indirgeyici ve stabilize edici ajan olarak *Hibiscus sabdariffa* bitkisinin sulu ekstraktı kullanıldı. Sentezlenen AgNP'ler, UV-Vis, XRD, FTIR, FESEM-EDX, STEM, TEM, DLS ve zeta potansiyel analizleri yardımıyla karakterize edildi. Nanopartiküllerin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri ortaya çıkarıldı. Ayrıca sentezlenen AgNP'lerin DPPH radikali süpürme etkinliği değerlendirildi.

XRD sonuçları, saf nano boyutlu kristalin gümüş nanopartiküllerin sentezini doğruladı. DLS analizi sonuçları, pH 7.5'ta sentezlenen nanopartiküllerin PDI değerlerinin diğer pH değerlerine göre düşük olduğunu gösterdi. Oda sıcaklığındaki nanopartiküllerin sentezinde pH artışının nanopartikül boyutunu düşürdüğü tespit edildi. Ayrıca, nanopartiküllerin zeta potansiyeli ile pH, metal tuz ve ekstrakt konsantrasyonlarından etkilendiği ortaya çıkarıldı. pH etkisinin diğer parametrelere oranla AgNP'lerin karakteristik özellikleri üzerindeki etkisinin en fazla olduğu gözlemlendi. Sentezlenen AgNP'lerin hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilere karşı aktivitesinin olduğu ortaya çıkarıldı. Diğer taraftan, nanopartiküllerin en yüksek aktiviteyi *Staphylococcus aureus*'a karşı gösterdiği belirlendi. Genellikle düşük pH 7.5 ortamında sentezlenen AgNP'lerin, yüksek pH değerinde (8.5 ve 10.5) sentezlenen AgNP'lere oranla daha fazla antibakteriyel aktivite gösterdiği bulundu. DPPH süpürme aktivitesinin ise pH 7.5 değerinde en yüksek olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, AgNP sentezinde pH faktörünün önemli rol oynadığı ve nanopartiküllerin biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesinde önemli olacağı düşünülmektedir. Bu çalışma ile nanopartiküllerin sentez parametreleri ile biyolojik aktivitelerinin kontrol edilebileceği ve bu şekilde sağlık ve gıda başta olmak üzere birçok alanda güvenli kullanımının önünün açılacağı öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, DPPH, Gümüş nanopartikül, *Hibiscus sabdariffa*, Konsantrasyon, pH, Sıcaklık

ABSTRACT

MS THESIS

EVALUATION OF THE EFFECT OF SYNTHESIS PARAMETERS OF SILVER NANOPARTICLES SYNTHESIZED USING *Hibiscus sabdariffa* L. EXTRACT ON ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Hasan BAŞARI

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

Advisor: AssocProf. Dr. Mustafa YÖNTEM

2nd Advisor: Assist. Prof. Dr. Fatih ERCİ

2022, 63 Pages

Jury

AssocProf. Dr. Mustafa YÖNTEM

Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ

AssocProf. Dr. Gökhan ZENGİN

Applications of nanotechnology have been used in a wide variety of fields, especially in the medical and environmental fields. The need for non-toxic synthesis protocols for nanoparticles increases interest in biological synthesis approaches. In the present study, the aim was to examine the effects of pH, temperature, and concentration parameters, in the synthesis of silver (Ag) nanoparticles (NPs) via plant extract, on nanoparticle formation and antimicrobial activity. Aqueous extract from the *Hibiscus sabdariffa* plant was used as a reducing and stabilizing agent in the synthesis process of silver nanoparticles. The synthesized AgNPs were characterized by UV-Vis, XRD, FTIR, FESEM-EDX, STEM, TEM, DLS and zeta potential analyses. The antibacterial and antifungal activities of the nanoparticles were revealed. In addition, the DPPH radical scavenging activity of the synthesized AgNPs was evaluated.

The XRD results confirmed the synthesis of pure nano-sized crystalline silver nanoparticles. The results of DLS analysis show that the PDI values of the nanoparticles synthesized at pH 7.5 were lower than those of AgNPs synthesized at the higher pH values. It was found that increasing the pH produced a smaller size of the nanoparticles when synthesized at room temperature. In addition, the zeta potentials of nanoparticles were found to be affected by pH, metal salt and extract concentrations. We found that the influence of pH was the strongest on the characteristic properties of AgNPs compared to other parameters. The activity of synthesized AgNPs has been observed against both Gram-positive and Gram-negative bacteria. On the other hand, it was determined that silver nanoparticles showed the highest inhibitory activity against *Staphylococcus aureus*. We also found that AgNPs synthesized at a low pH of 7.5 generally showed stronger antibacterial activity than AgNPs synthesized at a high pH (8.5 and 10.5). It has been found that the free radical scavenging activity of DPPH is highest at pH 7.5.

All in all, it was concluded that pH plays an important role in AgNP synthesis and could be important in evaluating the biological activities of nanoparticles. In this study, it is evaluated that silver nanoparticles can be controlled by synthesis parameters, thereby enabling the use of safer AgNPs in many fields, especially health and food.

Keywords: Antimicrobial activity, DPPH, Silver nanoparticle, *Hibiscus sabdariffa*, Concentration, pH Silver nanoparticle, pH, Temperature

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Mustafa YÖNTEM danışmanlığında, Dr. Öğr. Üyesi Fatih ERCİ ikinci danışmanlığında tamamlanarak, Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü' ne Yüksek Lisans Tezi Olarak sunulmuştur.

Lisans ve lisans üstü eğitim sürecimin her anında bana değerli bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren ve her daim desteklerini esirgemeyen sayın hocalarım Doç. Dr. Mustafa YÖNTEM ve Dr. Öğr. Üyesi Fatih ERCİ' ye teşekkür eder, saygılarımı sunarım. Ayrıca tez çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, değerli arkadaşım Yüksek Lisans Öğrencisi Büşra ESİRGENLER' e teşekkür ederim.

Son olarak, teşekkürlerin en büyüğünü; çıktığım her yolda, aldığım her kararda, sevincimde, hüznümde kısacası hayatımın her alanında benden desteklerini esirgemeyen, beni koşulsuz seven, onlara sahip olduğum için kendimi daima dünyanın en şanslı kişisi olarak atfetmemi sağlayan annem Nurcan BAŞARI, babam Ahmet BAŞARI, ablam Duygu BAŞARI ve biricik kardeşim Şeyma BAŞARI' ya sunarım. Sizler benim sahip olduğum en değerli varlıklarsınız. Çalışmalarımın en değerli mimarları sizlersiniz. Bu yayınlamı sizlere ithaf etmekten onur duyuyorum, sizleri çok seviyorum.

Hasan BAŞARI
KONYA-2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Metal Nanopartiküllerin Bitki Aracılı Yeşil Sentezi.....	3
1.2. NP Sentezini Etkileyen Faktörler	5
1.3. <i>Hibiscus sabdariffa L.</i>	6
1.4. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkinlikleri	7
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	12
3.1. Bitki Ekstraktının Hazırlanışı.....	12
3.2. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi	12
3.3. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	12
3.4. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkinliklerinin Değerlendirilmesi	13
3.5. Biyosentezlenmiş Gümüş Nanopartiküllerin DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi.....	13
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	15
4.1. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi	15
4.2. Gümüş Nanopartiküllerinin UV-Vis Karakterizasyonu	16
4.3. Gümüş Nanopartiküllerin FTIR, XRD ve EDX Analizleri ile Karakterizasyonu	21
4.4. Gümüş Nanopartiküllerin DLS ile Boyut Analizi ve Zeta Potansiyelleri.....	24
4.5. Gümüş Nanopartiküllerin STEM ile Boyut ve Şekil Analizi.....	32
4.6. Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkinlikleri.....	36
4.7. Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin DPPH Radikal Süpürme Etkinlikleri	42
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	44
5.1. Sonuçlar	44
5.2. Öneriler	45
6. KAYNAKLAR	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μg	Mikro Gram
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat
Ag	Gümüş
AgNO_3	Gümüş Nitrat
BaCl_2	Baryum Klorür
C	Karbon
Ca	Kalsiyum
Cl	Klorür
cm	Santimetre
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
g	Gram
H	Hidrojen
H_2SO_4	Sülfirik Asit
L	Litre
m	Metre
M	Molar
N	Azot
nm	Nanometre
OH	Hidroksil
pH	Hidrojen Potansiyeli
β	Beta

Kısaltmalar

ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
DLS	Dinamik Işık Saçılımı Methodu
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDX	Enerji Dağılımlı X-Ray Analizi
FESEM	Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu
FTIR	Fourier Dönüşüm Kızılötesi
Hs	<i>Hibiscus sabdariffa</i>
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MNP	Metal Nanopartikül
NP	Nanopartikül
rpm	1 Dakika İçerisinde Gerçekleştirilen Dönüş
SPR	Yüzey Plazmon Rezonans
STEM	Taramalı Geçirimli Elektron Mikroskobu
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
UV-Vis	Ultraviyole Işık Spektrumu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XRD	X Işını Kırılım Yönelimi

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1 Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin sentez parametreleri.....	15
--	----



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Metal bazlı nanopartiküllerin fito-sentezinde bitki bazlı bileşiklerin ilgili sınıfları	4
Şekil 1.2. Metal nanopartiküllerin fito-sentez mekanizması	5
Şekil 1.3. AgNP'lerin antibakteriyel etkinlik mekanizmaları	8
Şekil 4.1. Örnek 1'in sentezden 24 saat sonraki UV-Vis spektrumu	16
Şekil 4.2. Örnek 2'nin zamana bağlı UV-Vis spektrumu değişimi	17
Şekil 4.3. Örnek 3'ün zamana bağlı UV-Vis spektrumu değişimi	17
Şekil 4.4. Örnek 4'ün zamana bağlı UV-Vis spektrumu değişimi	18
Şekil 4.5. Örnek 5'in zamana bağlı UV-Vis spektrumu değişimi	18
Şekil 4.6. Örnek 6'nın sentezden 120. dak. UV-Vis spektrumu	19
Şekil 4.7. Örnek 7'nin sentezden 120. dak. UV-Vis spektrumu	20
Şekil 4.8. Örnek 8'in zamana bağlı UV-Vis spektrumu değişimi	20
Şekil 4.9. Örnek 1'in FTIR spektrum analizi	22
Şekil 4.10. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerden örnek 1'in XRD analizi	23
Şekil 4.11. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerden örnek 1'in FESEM analizi	24
Şekil 4.12. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerden örnek 1'in EDX analizi	24
Şekil 4.13. Örnek 1'in DLS ile boyut analizi	25
Şekil 4.14. Örnek 2'in DLS ile boyut analizi	25
Şekil 4.15. Örnek 3'in DLS ile boyut analizi	26
Şekil 4.16. Örnek 4'in DLS ile boyut analizi	26
Şekil 4.17. Örnek 5'in DLS ile boyut analizi	27
Şekil 4.18. Örnek 6'nın DLS ile boyut analizi	27
Şekil 4.19. Örnek 7'nin DLS ile boyut analizi	28
Şekil 4.20. Örnek 8'in DLS ile boyut analizi	28
Şekil 4.21. Örnek 1'in zeta potansiyel analizi	29
Şekil 4.22. Örnek 2'nin zeta potansiyel analizi	29
Şekil 4.23. Örnek 3'ün zeta potansiyel analizi	30
Şekil 4.24. Örnek 4'ün zeta potansiyel analizi	30
Şekil 4.25. Örnek 5'in zeta potansiyel analizi	31
Şekil 4.26. Örnek 6'nın zeta potansiyel analizi	31
Şekil 4.27. Örnek 7'nin zeta potansiyel analizi	31
Şekil 4.28. Örnek 8'in zeta potansiyel analizi	32
Şekil 4.29. Örnek 1'in STEM analizi	32
Şekil 4.30. Örnek 2'nin STEM analizi	33
Şekil 4.31. Örnek 3'ün STEM analizi	33
Şekil 4.32. Örnek 4'ün STEM analizi	34
Şekil 4.33. Örnek 5'in STEM analizi	34
Şekil 4.34. Örnek 6'nın STEM analizi	35
Şekil 4.35. Örnek 7'nin STEM analizi	35
Şekil 4.36. Örnek 8'in STEM analizi	36
Şekil 4.37. Sentezlenen AgNP'lerin <i>Staphylococcus aureus</i> 'a karşı antibakteriyel etkinliği	37
Şekil 4.38. Sentezlenen AgNP'lerin <i>Bacillus cereus</i> bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği	38
Şekil 4.39. Sentezlenen AgNP'lerin <i>Escherchia coli</i> bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği	39
Şekil 4.40. Sentezlenen AgNP'lerin <i>Salmonella typhimurium</i> bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği	39

Şekil 4.41. Sentezlenen AgNP'lerin <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği	40
Şekil 4.42. Sentezlenen AgNP'lerin <i>Bacillus subtilis</i> bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği	41
Şekil 4.43. Sentezlenen AgNP'lerin <i>Enterococcus faecalis</i> bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği	41
Şekil 4.44. Sentezlenen AgNP'lerin <i>Aspergillus niger</i> mikrorganizmasına karşı antifungal etkinliği	42
Şekil 4.45. Sentezlenen AgNP'lerin DPPH radikal süpürme aktivitesi	43



1. GİRİŞ

Nanoteknolojinin kullanım alanları nano boyuttaki yapıların yığın hallerinden bağımsız olmak üzere, onları oluşturan elementlere bağlı olarak farklı özellikler sergilemelerinden dolayı oldukça genişlemiştir (Albanese ve ark., 2012). Nanoteknoloji terimi, 1 ile 100 nm arasındaki nano ölçekli aralıkta yeni malzemelerin üretimini kapsamaktadır. 1-100 nm boyut aralığına ve farklı şekillere sahip NP'ler benzersiz kimyasal, fiziksel ve optik özellikler göstermektedir (Scholes, 2008; J. Singh ve ark., 2018; Yilmaz ve Yilmaz, 2020). NP'ler, potansiyel özellikleri ve teknolojik uygulamaları nedeniyle bilim topluluğu tarafından büyük talep görmektedir (Liz-Marzán ve Kamat, 2003). Kütle birimi başına yüzey alanında meydana gelen artış, malzemenin fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştiren nanokristallerin küçültülmüş boyutlarının bir etkisi olarak ortaya çıkmaktadır. Yüzey atomlarının büyük fraksiyonları ve yüzey enerjisi, NP'lerin termal stabilitesini ve katalitik özelliklerini etkileyebilen faktörler arasında sayılmaktadır. Bu nedenle yapıların yığın hallerine kıyasla NP'ler sahip oldukları hacim başına yüksek yüzey alanı oranı, daha düşük erime noktası veya sinterleme sıcaklıkları ve kristal yapıları ile yüksek mekanik mukavemet sunmaktadırlar (Meyers ve ark., 2006).

NP'ler, tasarlanmış veya tesadüfi NP'ler gibi doğal veya antropik kaynaklardan türetilmektedirler. Kaynaklarına ve sentezlerine göre nanopartiküller, doğal NP'ler ve tasarlanmış NP'ler olarak kategorize edilmektedir (Lidén, 2011). Üretim şekillerine göre NP'ler ise erozyon, sürtünme, orman yangınları, volkanik patlama, deniz dalgası darbeleri, kayaların fiziksel ve kimyasal aşınması gibi çeşitli doğal süreçler yoluyla üretilmektedir. NP'ler ayrıca yakıt (kömür) yanması, otomobil egzozu, kaynak dumanları ve endüstriyel atıklar gibi günlük yaşamdaki düzenli insan faaliyetleri tarafından da üretilmektedir. Günümüzde, nano ölçekli boyutlara sahip parçacıklar, çoğunlukla metal veya karbon omurgasından oluşan, insanlığın yararına belirli amaçlara hizmet edecek şekilde tasarlanmaktadır (Rajoriya ve ark., 2021).

Farklı şekillere sahip nanopartiküller, çok sayıda fiziksel ve kimyasal yöntemle sentezlenmektedir. Günümüzde NP'lerin biyolojik sentez yöntemleri ise güvenli, temiz, ucuz ve ayrıca NP'lerin sentezini ölçeklendirebildikleri için tercih edilmektedir. Farklı biyolojik yapılar kullanılarak NP'lerin yeşil sentezi ile fiziksel ve kimyasal tekniklerin zararlı ve istenmeyen etkilerinin çoğunun üstesinden gelinebilmektedir. Bu yeşil sentez yöntemleri, NP'lerin toksik veya tehlikeli maddeler gerektirmeden ve ayrıca harici indirgeme, kapaklayıcı ve stabilize edici ajanların eklenmesine gerek duymadan ortalama

pH, basınç ve sıcaklıkta nanopartiküllerin biyosentezini içermektedir (Usman ve ark., 2019).

Metal bazlı nanopartiküller (MNP'ler), metallerden (metal nanopartiküller) veya metalik bileşiklerden (metal oksit nanopartiküller) oluşan yapılardır (Elizabeth ve ark., 2019). Genel olarak MNP'ler küresel şekil, küçük boyut, metalik bileşim ve yüksek yüzey alanı dahil olmak üzere dikkat çekici özelliklerinden dolayı optik, elektronik, manyetik, mühendislik ve plazmonik alanlarda kullanımlarının ötesinde biyolojik ve tıbbi alanlar gibi birçok bilim uygulamasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Mukherjee ve ark., 2014; Mukhopadhyay ve ark., 2018; Paiva-Santos ve ark., 2021).

Son yıllarda, fizikokimyasal nanopartikül sentez metotlarına nazaran toksik olmayan ve çevreye uyumlu olan biyolojik yöntemler kullanılarak nanopartikül sentezi ilgi odağı haline gelmiştir (Sepeur, 2008). İlgili metallerin tuzlarından nanopartiküllerin biyolojik veya biyojenik sentezi için çeşitli yollar geliştirilmiştir. Mikroorganizmalar, bitki dokusu ve meyveleri, bitki ekstraktları ve deniz algleri nanopartikülleri sentezlemek amacı ile kullanılmaktadır (Abdel-Raouf ve ark., 2018; Erci ve Torlak, 2019; Jahan ve ark., 2019, 2021; Luangpipat ve ark., 2011; Saeed ve ark., 2020). Biyolojik sentez çevresel etkiyi azaltmasının yanında kontaminasyondan bağımsız, büyüklük ve morfoloji olarak iyi tanımlanmış büyük miktarlarda nanopartikül üretimini de mümkün kılmaktadır (Dahl ve ark., 2007; Mittal, A.K., Chisti, Y. and Banerjee, 2013).

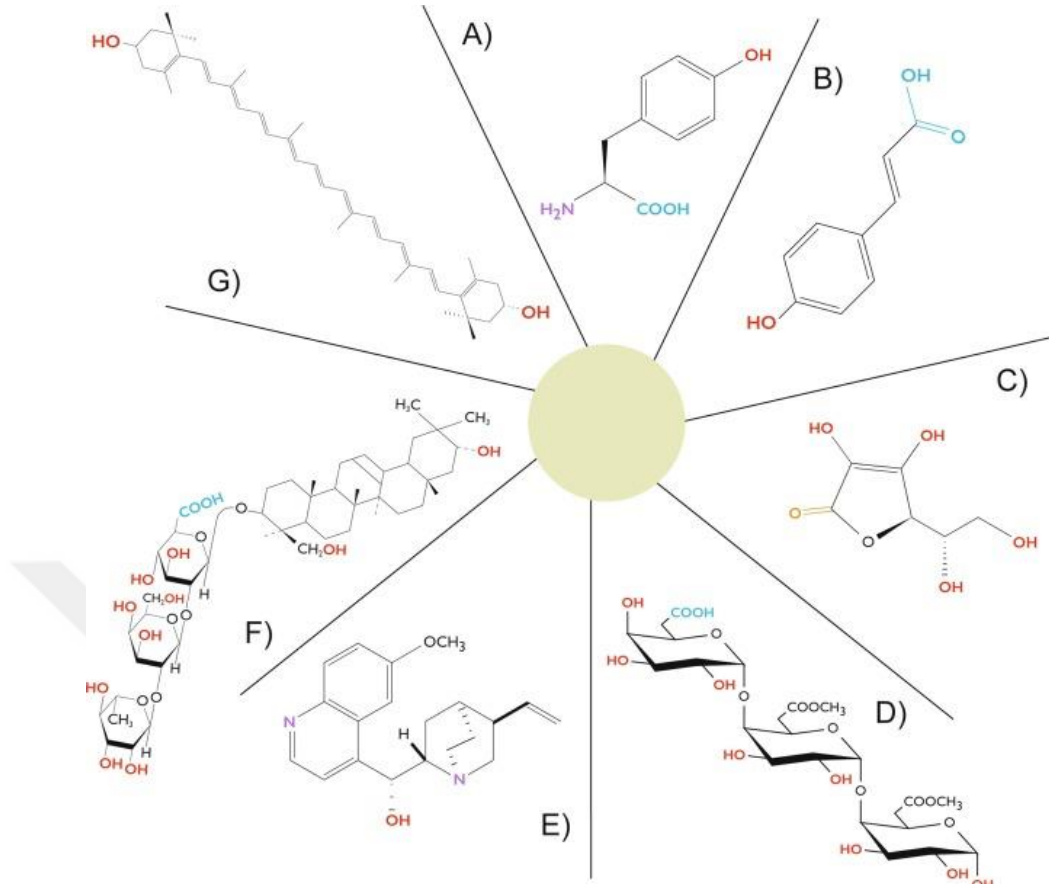
Metal iyonlarını indirmek için bitki ekstraktlarının kullanılması 1900'lü yıllardan itibaren bilinmektedir. Fakat prodesteki indirgeyici ajanların doğası çok iyi bir biçimde halen tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Basit yapıları açısından, metal iyonlarını nanopartiküllere indirmek için bitkinin kendisi, ekstraktı veya bitki dokusunun kullanımı son 30 yıl içinde oldukça dikkat çekmiştir (Armendariz ve ark., 2004; Ankamwar, 2010; Erci ve ark., 2018). Nanopartikül sentezi için bitki dokusuna nazaran bitki ekstraktlarının kullanımı ile nanopartikül sentezinin daha basit olduğu ortaya konmuştur. Bitki ekstraktları kullanılarak nanopartiküllerin sentezi için gerekli işlemler daha kolay ve mikrobiyal süreçlere veya tüm bitkinin kullanılmasına dayalı yöntemlere kıyasla daha az maliyetlidir (Beattie ve Haverkamp, 2011; Dhillon ve ark., 2012). Bu nedenlerle bitki ekstraktları ile nanopartikül sentezine olan ilgi artmıştır (Bar ve ark., 2009; Bankar ve ark., 2010; Babu ve Prabu, 2011; Jahan ve ark., 2019).

1.1. Metal Nanopartiküllerin Bitki Aracılı Yeşil Sentezi

MNP'lerin yeşil sentezi, fonksiyonel ve biyoyumlu nanopartiküller ile sonuçlanan, solvent ve çevre dostu başlangıç malzemeleri olarak suyu kullanan bir üretim yöntemi olarak görünmektedir (Jiménez ve ark., 2018). MNP'leri (bir başlangıç materyali olarak mikroorganizmalar veya bitki özleri) sentezlemek için yeşil yöntemler arasında, mikroorganizmaların çok fazla çaba ve dikkat gerektirdiği göz önüne alındığında, bitki bazlı sentez daha uygun olduğu ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, bitki bazlı sentezde özel bir indirgeyici veya kapatma/dengeleme maddesine ihtiyaç duyulmamaktadır (P. V. Kumar ve ark., 2019; Patil ve ark., 2018).

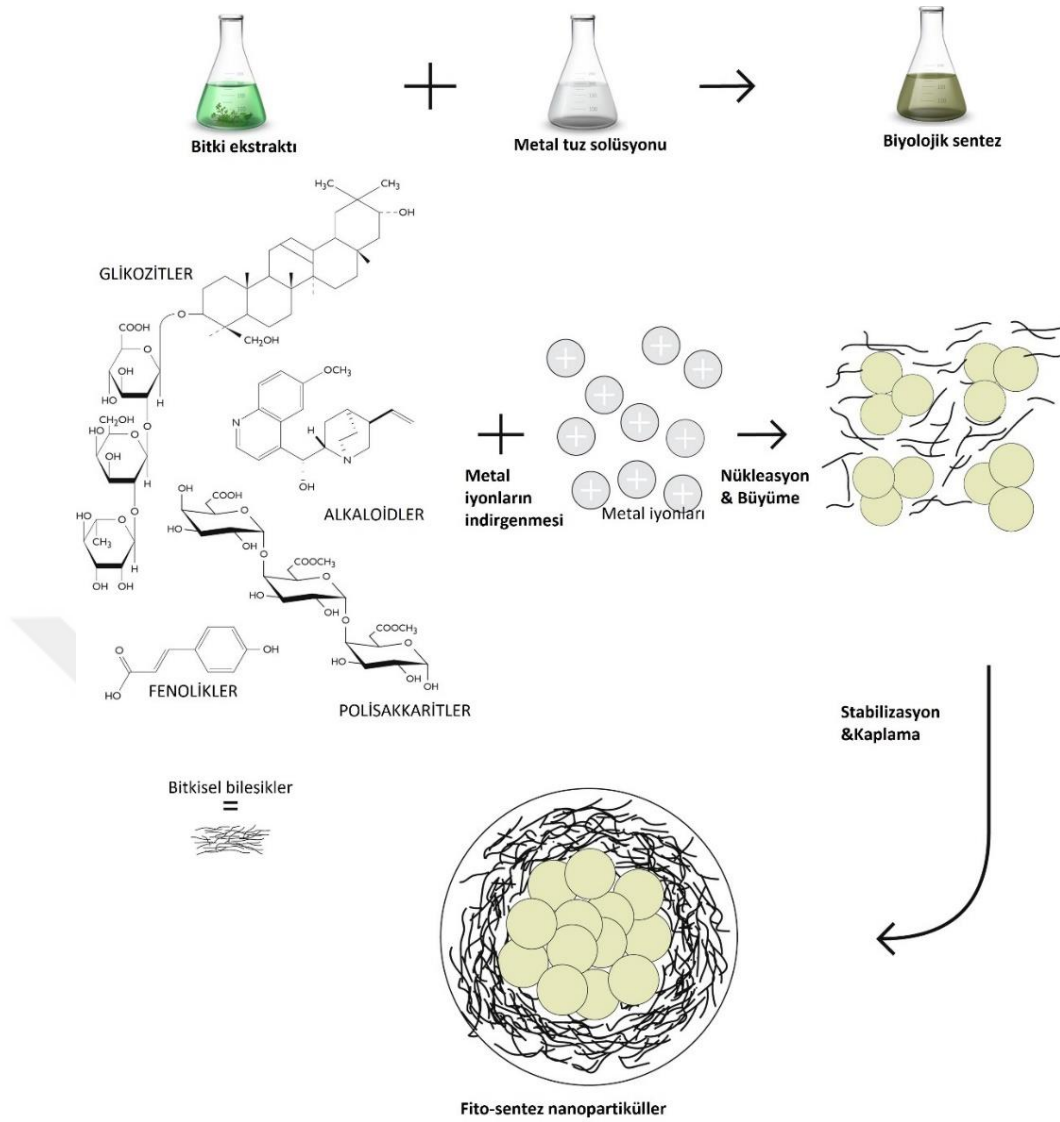
Bitkiler, primer ve sekonder metabolitlere bölünebilen çeşitli aktif fito bileşikleri içermektedir. Birincil metabolitler vitaminler, proteinler, amino asitler, nükleik asitler, polisakaritler (örneğin pektinler) ve indirgeyici şekerlerdir. Ekstrakta bulunan diğer tüm biyomoleküller, alkaloidler (örneğin kininler), terpenler (triterpenler ve karotenoidler ile terpenoidler), glikozitler (saponinler ve kumarinler) ve fenolik bileşikler (flavonoidler, tanenler ve fenolik asitler) gibi ikincil metabolitlerden oluşmaktadır (Hernández-Morales ve ark., 2019; Mashwani ve ark., 2016). Sekonder metabolitler, antibakteriyel ve antifungal, anti-inflamatuar, antioksidan ve antikanser gibi birçok önemli biyolojik özelliğe sahiptir (Jiménez Pérez ve ark., 2017; Rolim ve ark., 2019). Bu nedenle, ikincil metabolitlerin ve MNP'lerin aktiviteleri arasındaki sinerji, fito-MNP'lere farklı biyomedikal uygulamalara yönelik biyoyumluluğu arttırıcı etkisi olmaktadır.(Erci ve ark., 2018). Sekonder metabolitler, bitkinin hücresel büyümesine ve değişimine doğrudan katılmayan, bitkiyi etkileyen herhangi bir stres koşulunun üstesinden gelmek için üretilmiş ve metal iyonlarını indirgeme yeteneğine sahip oldukları kanıtlanmış organik bileşiklerdir (Mashwani ve ark., 2016). Primer metabolitler üretimde anahtar role sahip olmakla birlikte, sekonder metabolitler MNP sentezinde ana ajanlar olarak ortaya çıkmakta, indirgeyici, stabilize edici ve kaplayıcı ajanlar olarak hareket etmekte, metalik iyonu tek adımda sıfır değerli MNP'ye indirgemektedir (Hernández-Morales ve ark., 2019; Paiva-Santos ve ark., 2021). MNP'ler üzerinde oluşturulan sağlam kapaklama olayı, onları aglomerasyon ve agregasyona karşı kararlı hale getirmektedir (Arumai Selvan ve ark., 2018).

Metal iyonlarının biyo-redüksiyonundan, onların büyümesinden stabilizasyonundan sorumlu olan bitki ekstraktları içerisindeki olası kimyasal bileşenler şekilde görülmektedir (bkz. Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Metal bazlı nanopartiküllerin fito-sentezinde bitki bazlı bileşiklerin ilgili sınıfları. En önemli sınıflar: A) Tirozin (amino asit), B) p-Kumarik asit (fenolikler), C) Vitamin C (vitaminler), D) Pektin (polisakkaritler), E) Kinin (alkaloidler), F) Saponin (glikozitler), G) Ca < rotenoid (terpenler). Sentezden sorumlu ana fonksiyonel gruplar renklerle temsil edilir: hidroksil grubu kırmızı, karboksil grubu mavi, karbonil grubu turuncu ve amin grubu mor (Paiva-Santos ve ark., 2021).

Gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezleri organik olmaları, doğal kaynaklardan elde edilmeleri, hızlı ve çevre dostu olmaları gibi belirli özelliklerinden dolayı birçok alanda kabul görmektedir. Bu tür nanopartiküller özellikle kirletici içermez ve ölçek büyütmesi kolaydır (Mittal ve ark., 2013). Ayrıca kimyasal sentez ile elde edilen gümüş nanopartiküllerinin çözeltilerde kararsız olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle, AgNP'lerin aglomerasyonunu azaltmak için farklı kaplamaların kullanımı avantaj sağlamaktadır (Chappell ve ark., 2011). Gümüş nanopartiküllerinin biyolojik özelliklerinin, etrafında bulunan kaplayıcı ajanlara bağlı olduğu düşünülmektedir (Fraga ve ark., 2013).



Şekil 1.2. Metal nanopartiküllerin fito-sentez mekanizması (Paiva-Santos ve ark., 2021)

1.2. NP Sentezini Etkileyen Faktörler

Metal nano malzemelerin boyutları ve şekilleri ya çevresel faktörler tarafından ya da fonksiyonel moleküller tarafından değiştirilebilmektedir (A. A. Mohamed ve ark., 2019). Sıcaklık, pH, inkübasyon süresi, havalandırma, tuz konsantrasyonu, redoks koşulları ve karıştırma oranı dahil olmak üzere nano parçacıkların sentezi için reaksiyon koşullarının iyileştirilmesi üzerine birçok araştırma gerçekleştirilmiştir (Foudaa ve ark., 2017; Gurunathan ve ark., 2014). NP'lerin boyutu ve şekli, kimyasal ve fiziksel faktörlere bağlı olabilmektedir. Reaksiyon karışımının optimum metal iyon konsantrasyonu, sıcaklığı ve pH'ı nanoparçacık sentezinde kilit rol oynamaktadır. Nanoparçacık oluşma hızı ve ardından NP'lerin boyutu, sıcaklık, pH, substrat konsantrasyonu ve substrata maruz kalma süresi gibi sentez parametrelerinden etkilenebilmektedir (Verma ve Mehata, 2016).

Bitki özü konsantrasyonundaki değişiklikler fito-MNP'lerin absorpsiyon yoğunluğunda, boyutunda, şeklinde, dağılımında ve aglomerasyonunda değişikliklere yol açar. Bitki özü konsantrasyonundaki bir azalma daha büyük boyutlu nanopartikül oluşumuna yol açarken, konsantrasyondaki artış ise daha küçük, küresel, izotropik iyi dağılımlı ve aglomerasyonsuz fito-MNP'lere yol açmaktadır (Benedec ve ark., 2018; Dada ve ark., 2019; Lin ve ark., 2019).

Işık, pH ve çözünmüş oksijen gibi dış faktörler aktif bileşikler bozabilmekte, fito-MNP'lerin dağılımını ve boyutunu etkileyebilmektedir. pH, fito-bileşenlerin indirgeme kabiliyetini, protonların NP'lerin yüzeyinden salınmasını, boyutu, zeta potansiyel değerlerini, fito-MNP'lerin SPR zirvesinin konumu ve yoğunluğunu etkileyen mutlak bir anahtar faktör olarak ortaya çıkmaktadır. Asidik koşullarda, fito-MNP'lerin yüzeyindeki fonksiyonel gruplar protonlanmış formda bulunur, bu da pozitif zeta potansiyel değerlerine, zayıf stabiliteye ve agregasyona yol açmaktadır (Gubitosa ve ark., 2018).

1.3. *Hibiscus sabdariffa* L.

Hibiscus (*Malvaceae*) cinsi, 300'den fazla yıllık veya çok yıllık bitki, çalı veya ağaç türünü içermektedir (Wang ve ark., 2012). *Hibiscus* 2–2.5 m boyunda büyüyen, yıllık veya çok yıllık bir bitki veya odunsu bazlı bir alt çalıdır. Yapraklar derin 3-5 palmat loblu ve 8-15 cm uzunluğunda olup, düz, silindirik kırmızı gövdeler üzerinde dönüşümlü olarak düzenlenmiştir (R. Mohamed ve ark., 2007). Çiçekler 8-10 cm çapında olup kalın etli bir kalikse sahiptir. *Hibiscus*, nisan ortasında yağışlı mevsimin başında yetiştirilmekte ve çiçeklenme başlangıcına yaklaşık 3 hafta kadar meyvelerin kaliksleri için hasat edilmektedir (el Naim ve Ahmed, 2010).

H. sabdariffa'nın farmakolojik olarak ilgili ana bileşenleri organik asitler, antosiyaninler, polisakaritler ve flavonoidlerden oluşmaktadır. *H. sabdariffa* özütleri, ana bileşikler olarak sitrik asit, hidroksisitrik asit, malik ve tartarik asitler ve küçük bileşikler olarak oksalik ve askorbik asit dahil olmak üzere yüksek oranda organik asit içermektedir. Kurutulmuş kaliks ekstraktlarının organik asitler gibi kimyasal bileşenlerin yanı sıra fitosteroller, polifenoller, antosiyaninler ve diğer suda çözünür antioksidanlar içerdiği bilinmektedir (G. Riaz ve Chopra, 2018). Antosiyaninler, Hs'nin kurutulmuş çiçeklerinde bulunan flavonoid türevleri ve doğal pigmentler grubudur ve renkleri pH ile değişmektedir. Delphinidin-3-sambubiosit (delphinidin-3-O-(2-O-β-d-ksilopiranozil)-β-d-glukopiranoz) ve siyanidin-3-sambubiosit (siyanidin-3-O-(2-O-β-) d-ksilopiranozil)-β-d-glukopiranozid), Hs'lerden elde edilen ekstraktlarda bulunan ana antosiyaninler olarak

tanımlanmıştır (Rodríguez-Medina ve ark., 2009). Polisakaritler, Hs ekstraktında büyük miktarlarda bulunan bir diğer önemli bileşik grubudur. Arabinoz, galaktoz, glukoz, ramnoz ve daha küçük miktarlarda galakturonik asit, glukuronik asit, manoz ve ksiloz başlıcaları olarak tanımlanmıştır (Müller ve ark., 1989). Hs, basit veya polimerize formda flavonol ve flavanol tipi polifenoller içermektedir. Hs ekstraktlarında hibiscitrin (hibiscetin-3-glucoside), sabdaritrin, gossipitrin, gossytrin ve diğer gossipetin glukozitleri, kersetin ve luteolin gibi flavonoidler tanımlanmıştır (Baxter ve ark., 2013).

H. sabdariffa'nın taze veya kurutulmuş kaliksleri, bitkisel içecekler, sıcak ve soğuk içecekler, fermente içecekler, şarap, reçel, jöleli şekerlemeler, dondurma, çikolatalar, aroma maddeleri, pudingler ve keklerin hazırlanmasında kullanılmaktadır (Da-Costa-Rocha ve ark., 2014).

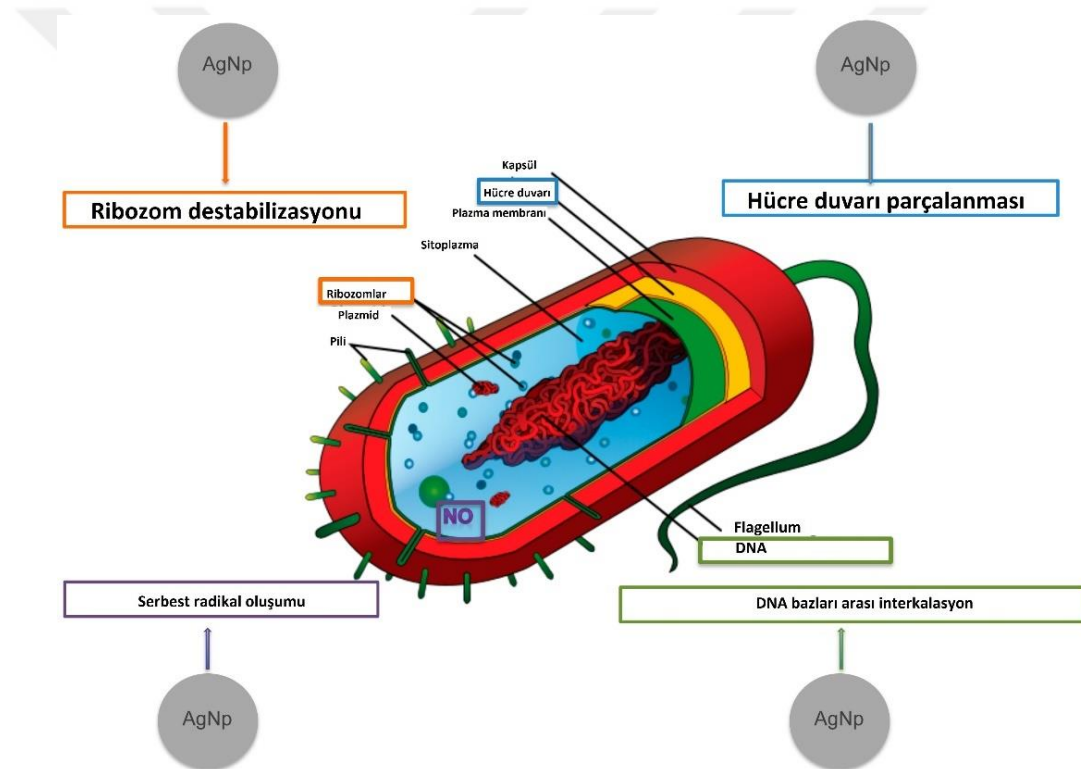
1.4. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkinlikleri

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından, antibiyotik direnci en büyük sağlık tehditlerinden biri olarak kabul edilerek dünya çapında kritik seviyelere ulaştığı belirtilmiştir. (WHO, 2014). Nanoteknoloji ile oluşturulan nanotıp alanı, biyomedikal araştırmaların en umut verici alanlarından biridir. Nanoteknolojide son zamanlarda elde edilen ilerlemeler, nanotıpta yeni ufuklar açarak, karmaşık mimarilerde birleştirilebilen nano parçacıkların sentezine izin vermektedir (Franci ve ark., 2015). Bununla birlikte, insanlar için toksik olmayan ancak mikroorganizmalar için toksik olan alternatif terapötik ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, nanopartikül aracılı antimikrobiyal ajanların geliştirilmesi bu amaç için en uygun yol olarak görülmektedir (Mustapha ve ark., 2022).

Gümüş nanopartiküllerin bakteri zarı geçirgenliğini yok etmede etkin rol oynadığı bilinmektedir. Gümüş nanopartiküllerin, dış zar peptidoglikan bariyerini, geçirgenliği ve periplazmayı kırarak solunum zinciri dehidrogenazlarını inaktif bir duruma indükleyebileceği tahmin edilmektedir (Li ve ark., 2010). Antimikrobiyal ajan olarak AgNP'lerin sentezi, mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnç geliştirmelerinin problem olması nedeniyle büyük ilgi görmektedir (Rasheed ve ark., 2017). Sentezlenen AgNP'ler, gentamisin gibi bir antibiyotiğe kıyasla daha fazla antibakteriyel avantaja sahip olabilmektedir. Klinik bakteriyel patojenler AgNP'lere maruz bırakıldığında, nanopartiküllerin membran geçirgenliğini etkileyerek hücrelerin replikasyon işlevini bozduğu ve sonuçta hücre büyüme davranışını olumsuz etkileyerek hücre ölümüne neden olduğu ilgili çalışmalarda bildirilmiştir (Kasithevar ve ark., 2017).

Gümüş iyonu veya AgNP'lerin bakteriler üzerindeki aktivitesini açıklamak için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir, ancak bunlar arasında aşağıdakiler ön plana çıkmaktadır; (V. S. Kumar ve ark., 2004).

- Solunum zincirinin devre dışı bırakılması,
- Hücre zarı yapısının bozulması ve hücre içi içeriğin sızması,
- Protein denatürasyonuna ve hücre ölümüne neden olan fonksiyonel protein grubuna bağlanma,
- DNA replikasyonunun bloke edilmesi,
- Proteinlerin denatürasyonu ve fonksiyonel protein gruplarına bağlanma yoluyla hücre ölümü.



Şekil 1.3. AgNP'lerin antibakteriyel etkinlik mekanizmaları (Franci ve ark., 2015).

Bu özelliklerden dolayı AgNP'lerin, Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriler dahil olmak üzere çok çeşitli antibiyotiğe dirençli suşları inhibe etmek için etkili bir ajan olduğu bilinmektedir (Mohanty ve ark., 2012). Ayrıca, daha küçük boyut dağılımındaki nanoparçacıkların, daha büyük boyutlu nanoparçacıklara kıyasla test edilen patojenlere karşı daha yüksek oranda antibakteriyel aktivite gösterdiği de kanıtlanmıştır (Jeeva ve ark., 2014). Bunun olası nedeni, küçük boyutlu nanoparçacıkların hücrelere büyük olanlardan çok daha hızlı taşınacak olması olabilir (Jinu ve ark., 2017). Ayrıca, daha

küçük boyutlu AgNP'ler, çeşitli bakteri türleri ile etkileşim için üstün ve ideal olan daha büyük kullanılabilir ve aktif yüzey alanı sunmaktadır (Mousavi ve ark., 2018). Ek olarak, AgNP'lerin sadece membran yüzeyi ile etkileşime girmeleri değil, aynı zamanda bakterilerin içine geçişi de mümkündür (Sharma ve ark., 2009). AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesinin, açığa çıkan gümüş atomlarının oksidasyonundan ve AgNP'lerin yüzeylerinden Ag^+ iyonlarının salınmasından kaynaklandığı da kanıtlanmıştır (Xiu ve ark., 2012). Gümüş iyonları güçlü oksidan ajanlardır ve çeşitli hücresel yapıları yok edebilmektedirler. Bu durumda Ag^+ hücre duvarlarını ortadan kaldırarak bakteri hücrelerine girer ve sonuç olarak DNA'yı yoğunlaştırılmış forma dönüştürür ve bu da bakterilerin ölümüne neden olabilmektedir. Benzer şekilde, Ag^+ 'nin proteinlerin fonksiyonel gruplarına bağlanarak protein denatürasyonuna neden olduğu da rapor edilmiştir (Feng ve ark., 2000).

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

İndirgeyici ve kapatıcı ajanlar çeşitli proses parametrelerine rağmen, AgNP'lerin yeşil sentezinden eşit derecede sorumludurlar. NP'lerin doğal özellikleri esas olarak boyutu, şekli, bileşimi ve yapısı ile belirlenmektedir. NP'lerin şekil ve boyut morfolojisi, diğerlerinin yanı sıra inkübasyon sıcaklığı, süresi, reaktif konsantrasyonu, pH gibi reaksiyon koşullarına göre değişebilmektedir. Metal nanopartiküllerin mevcut fiziksel ve kimyasal sentez yöntemlerinin bazı dezavantajları mevcuttur. Nanopartiküllerin kimyasal yollarla sentezinde toksik kimyasal maddeler kullanılmakta olup çevre ve insan sağlığı için zararlı yan ürünler oluşmaktadır. Bu nedenle hızlı, temiz, toksik olmayan ve çevre dostu sentez yöntemlerinin geliştirilmesinde biyoteknolojinin kullanımı önem kazanmıştır (Erci ve ark., 2018). Bu bağlamda, metal iyonlarının nanoparçacıklarını oluşturmak üzere biyo-indirgenmesi için bitki özleri kullanılmaktadır. Yapraklar, çiçekler, tohumlar, kabuklar, meyveler ve kökler gibi bitkilerin çeşitli kısımlarının özü, gümüş nanoparçacıkların sentezi için uygulanmaktadır ve bitki ekstraktları, sentez sürecinde stabilize edici ve indirgeyici ajanlar olarak hizmet etmektedir (Bar ve ark., 2009; Velayutham ve ark., 2013). Bitki ekstraktları kullanılarak gümüş nanopartiküllerin sentezi üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Gardea ve ark., (2003) yonca filizleri kullanılarak metalik nanoparçacıkların sentezi ile ilgili ilk çalışmalardan birini gerçekleştirmişlerdir (Gardea-Torresdey ve ark., 2003). Başka bir çalışmada, gümüş nanopartiküller, indirgeyici ve kapaklayıcı ajanlar olarak işlev gören *Argemone mexicana*'nın yaprak ekstraktı kullanılarak sentezlendi. Sentezlenen nanoparçacıkların özellikleri belirlendi. Sentezlenen gümüş nanoparçacıkların ortalama boyutu 30 nm olarak bulundu (A. Singh ve ark., 2010).

Daha önce *Hibiscus* cinsi yapılan çalışmalardan gümüş nanopartikül sentezi başarı ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalardan birisinde *Hibiscus cannabinus*'un yaprak ekstraktı kullanılarak gümüş nanoparçacıkların sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda *H. cannabinus* yaprağı ekstresinin, farklı metal iyon konsantrasyonunun ve farklı reaksiyon sürelerinin nanopartiküllerin sentezi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmada, yaprak ekstrakt konsantrasyonu arttıkça, gümüş iyonunu indirmek için daha fazla sayıda askorbik asit kullanıldığı ve çok sayıda küçük boyutta nanopartiküller olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, hazırlanan gümüş nanopartiküllerin, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* ve *Shigella flexneri*'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Bindhu ve Umadevi, 2013). Diğer bir

çalışmada ise, gümüş nanopartiküller oda sıcaklığında *Hibiscus sabdariffa* yaprak ekstraktı kullanılarak kısa sürede oda sıcaklığında sentezlenmiştir. Bu çalışmada nanopartiküllerin yaklaşık 5 nm'den 60 nm'ye kadar çeşitli şekil ve boyutlarda bir dağılım gösterdiği bulunmuştur (Kalita ve Ganguli, 2017).

Manosalva ve ark., (2019) gerçekleştirdikleri çalışmada, AgNO₃ kullanılarak *Galega officinalis* ekstraktı ile gümüş nanopartiküllerin biyosentezini gerçekleştirdiler. AgNP'lerin sentez sürecinin optimizasyonunda, pH ve AgNO₃ konsantrasyonunun, ortalama boyut dağılımı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Biyosentez sırasında değiştirilen reaksiyon parametrelerinin antimikrobiyal etkinlikte *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas syringae* farklı aktivitelerin oluşumuna yol açtığı belirlendi. Bu çalışmada, özellikle düşük boyut dağılımına sahip AgNP'lerin patojenik mikroorganizmalara karşı yüksek etkiye sahip olduğunu ortaya çıkarmışlardır (Manosalva ve ark., 2019).

Diğer bir çalışmada, gümüş nanopartiküller *Nepeta leucophylla*'nın toksik kök ekstresi kullanılarak sentezlendi. Kök ekstraktının konsantrasyonu, inkübasyon süresi, sıcaklık ve reaksiyon pH'ı gibi çok sayıda sentez parametresinin gümüş nanopartiküllerin sentezi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak optimize sentez parametrelerini ortaya çıkarmışlardır. *N. leucophylla* kök ekstraktının optimum konsantrasyonunun 20 mg/mL olduğu, pH 9'da 50 °C'de 50 dakika süre ile 1 mM gümüş nitrat ile bu konsantrasyonda sentezlenen nanopartiküllerin antioksidan aktivitelerinin DPPH radikal süpürme aktiviteleri olarak 250 µg/mL'de maksimum 79.41 ± 0.004 olduğu ortaya çıkarılmıştır (J. Singh ve Dhaliwal, 2019).

Nouri ve ark., (2020) de ultra küçük Ag nanopartiküller elde etmek amacı ile *Mentha aquatica* yaprağı ekstraktı kullanılarak gümüş nanopartikül sentezi gerçekleştirmişlerdir. Sentezde pH 9.5 değerinin en iyi sonucu verdiği ortaya çıkarılmıştır. AgNO₃ çözeltisi ve *Mentha aquatica* yaprağı ekstraktının hacimsel oranının nanopartikül sentezine etkisinde ise en iyi oranın 1:1 olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, AgNP'lerin sentezinde sıcaklığın etkisini incelemişlerdir. Reaksiyon sıcaklığının artırılmasının NP'lerin boyutunun azalmasına ve ayrıca daha hızlı reaksiyona yol açtığını gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte, oda sıcaklığında (25 °C) sentezlenen örneğin ise, yüksek derecede NP monodispersitesi gösterdiğini ortaya çıkarmışlardır (Nouri ve ark., 2020).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Ekstraktının Hazırlanışı

Doğan Baharatçılık ve Kimyevi Mad. Tic. San. A.Ş. tarafından üretilen Parti No: 20.05 Bamya Çiçeği (*Hibiscus sabdariffa* L.) nanopartikül sentezinde kullanılacak bitki örneği olarak temin edildi. *Hibiscus sabdariffa* bitki örneği önce öğütücüde yaklaşık 10 dakika boyunca öğütüldü. Daha sonra 5 g öğütülmüş bitki kurusu hassas terazide tartılarak 100 mL saf su içinde karıştırıldı. Bu işlemi takiben bitkinin sulu ekstraktını elde etmek için karışım 80 °C’de su banyosuna kondu ve 5’er dakika aralıklarda hafifçe karıştırılarak 2 saat boyunca su banyosunda bekletildi. 2 saat sonunda su banyosundan çıkarılan karışım kâğıt filtre yardımıyla süzülerek posasından ayrılması sağlandı. Filtreleme işlemi iki kez tekrar edilerek ekstraktın büyük partiküllerden tamamen arındırılması gerçekleştirildi. Hazırlanan ekstrakt şişelerde hava ile teması kesilerek +4 °C dolaplarda muhafaza edildi.

3.2. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

AgNP’lerin oluşum ve varlığının incelenmesi “pH değişimi, sıcaklık değişimi, AgNO₃ konsantrasyon değişimi, ekstrakt konsantrasyonu değişimi, zaman değişimi” gibi farklı parametrelerin değiştirilmesi ile gerçekleştirildi. AgNP’lerin sentezi için, önceden hazırlanan AgNO₃ sulu çözeltisi ile *Hibiscus sabdariffa* L bitkisi ekstraktı uygun bir şişe içerisinde çalkalayıcı yardımıyla 1200 rpm’ de çalkalanarak reaksiyona bırakıldı ve belli aralıklarda UV-Vis spektrofotometre ölçümleri alındı. Gümüş iyonlarının indirgenmesi ile kırmızı renkli çözeltilerin koyu kahverengiye doğru renk değişimi gözlemlendi. Bundan sonra, tüm reaksiyonlar santrifüjleme ve ardından üç kez saf su ile yıkamaya tabi tutuldu. Oluşan koyu renkli solüsyon 9.000 rpm’de 4 °C’de 15 dakika santrifüj edilerek üst sıvı faz uzaklaştırılmış üzerine saf su ilave edilip 9.000 rpm’de 4 °C’de 15 dakika tekrar santrifüj edilip bu işlem üç kez tekrarlanarak yıkama işlemi uygulandı. Elde edilen katı kısım, AgNP karakterizasyon işlemlerinde kullanılmak üzere +4 °C ortamında muhafaza edildi.

3.3. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

AgNP’lerin karakterizasyonu çeşitli analitik cihazlar ile gerçekleştirildi. AgNP’lerin UV-Vis spektrumları, 200 ila 800 nm arasında bir Cary 60 UV-Vis spektrofotometresi (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD) ile kaydedildi. Elde edilen sonuç verileri Origin 8.5 yazılımı (OriginLab, Northampton, MA, ABD)

kullanılarak çizildi. Ayrıca, AgNP'lerin sentezinde ve kapaklayıcı ajanlar ile stabilizasyonda yer alan fonksiyonel gruplar, Fourier transform kızılötesi (FTIR) spektroskopik analizi ile doğrulandı. FTIR spektrumları, bir Shimadzu IR Prestige-21 FTIR-ATR spektrometresinde kaydedildi. Parçacıkların polidispersite indeksi ile hidrodinamik boyutu ve yükünü belirlemek için DLS ve zeta analizörü kullanıldı. Dinamik ışık saçılımı (DLS) ve zeta potansiyel değerleri bir Malvern cihazı (Zetasizer nano ZS, Malvern Instruments, U.K.) ile kaydedildi. Bunun için santrifüj ve yıkamadan sonra AgNP'lerin ddH₂O içinde taze hazırlanmış süspansiyonu alındı ve 25 °C'de 30 dakika sonikasyona tabi tutuldu. TEM analizi için numune, bir karbon kaplı bakır ızgara üzerine seyreltik bir gümüş nanopartikülçözeltilisi damlatılarak hazırlandı. Bu işlemde örnekler, bir JEOL elektron mikroskobu (JEOL 200 FX-II) üzerinde TEM için incelenmeden önce 24 saat oda sıcaklığında kurutuldu. Gerçek boyut ve şeklin doğrulanması için SEM ile morfolojik çalışma ve FESEM (JEOL JSM-7400 F, Tokyo, Japonya) kullanılarak EDX (enerji dağılımlı X-ışını analizi) ile kompozisyon çalışması yapıldı.

3.4. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkinliklerinin Değerlendirilmesi

Bakteri kültürleri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6051 ve *Aspergillus niger* kültürleri liyofilize halde temin edildi. Kısaca %2 glukoz ile desteklenmiş Mueller Hinton Agar (MHA) antibakteriyel ve antifungal etkinliğin belirlenmesi için hazırlandı. Test edilen izolatların süspansiyon bulanıklığı Mc Farland 0.5 standardına eşdeğer bulanıklığa ayarlandı. Sıvı kültür çalkalanarak homojenize edildikten sonra yaklaşık 100 µL hacminde petri plağının tüm yüzeyini ıslatacak kadar dökülüp Drigalski Spatülü yardımı ile yayıldı. MHA agar plakalarında 7 mm çapında kuyu açılarak, bu kuyulara 50 µL nanopartikül ilavesi gerçekleştirildi. Kuytuların etrafında oluşan zon çapları plakaların 24 saat 37 °C'de inkübasyonundan sonra mm cinsinden ölçülerek değerlendirildi. Denemeler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

3.5. Biyosentezlenmiş Gümüş Nanopartiküllerin DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme aktivitesinin değerlendirilmesi, antioksidan aktivite çalışmalarında standart bir testtir ve spesifik bileşiklerin radikal uzaklaştırma aktivitesinin taranması için hızlı bir yöntemdir. DPPH

radikal süpürme aktivitesi, 96 kuyucuklu mikrolakalar kullanılarak gerçekleştirildi. Metanolde DPPH radikal solüsyonu hazırlandı ve bu solüsyondan 100 µL tüm kuyucuklara eklendi. Kuyucuklara 400 µg/mL konsantrasyonlarda AgNP'ler ve askorbik asit ilave edildi. Daha sonra reaksiyon karışımı dikkatlice karıştırıldı ve karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika tutuldu. Absorpsiyon daha sonra 517 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Absorpsiyondaki gerçek azalma, kontrol ile karşılaştırılarak ölçüldü. AgNP'lerin radikal süpürme aktivitesi, aşağıdaki dformüş kullanılarak hesaplandı.

$$\text{DPPH süpürme verimliliği \%} = \frac{\text{Abs kontrolü} - \text{Abs sample}}{\text{Abs kontrolü}} \times 100$$

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1.Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

Gümüş nitrat sulu çözeltisi erlene alınarak üzerine bitki ekstraktı ayrı ayrı oda sıcaklığında eklendi. Belirli süreler sonunda çözeltinin rengi sarıdan kırmızımsı kahverengiye dönüştü. Bu da gümüş nanopartiküllerinin oluştuğunun göstergesi olarak kabul edildi. Farklı sentez parametreleri kullanılarak gümüş nitrat sulu çözeltisi ile elde edilen nanopartiküller UV–Vis spektrofotometresinde elde absorpsiyon spektrumları 15'er dakikalık zaman dilimlerinde karakterize edildi. Tablo 4.2' de çalışmada kullanılan sentez parametreleri görülmektedir.

Tablo 4.1 Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin sentez parametreleri

Örnek No.	pH	Sıcaklık	AgNO ₃ Konsantrasyon	Bitki ekstraktı
1	7.5	Oda sıcaklığı	1 mM	30 mL
2	8.5	Oda sıcaklığı	1 mM	30 mL
3	8.5	Oda sıcaklığı	2 mM	30 mL
4	10.5	Oda sıcaklığı	2 mM	30 mL
5	7.5	50 °C	1 mM	30 mL
6	8.5	50 °C	1 mM	15 mL
7	8.5	50 °C	1 mM	30 mL
8	10.5	50 °C	1 mM	30 mL

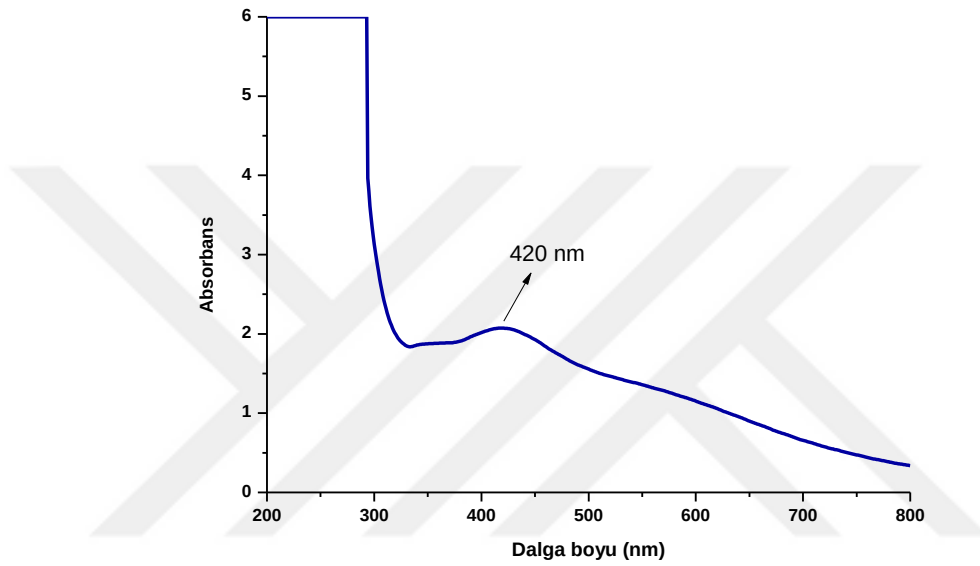
AgNP'lerin biyosentez reaksiyonu çok hassastır ve reaksiyon süresi, AgNO₃ konsantrasyonu, ekstrakt hacmi ve reaksiyon sıcaklığı gibi bazı önemli parametrelere bağlıdır. Bu parametreler AgNP'lerin boyut, şekil, verim ve aglomerasyon durumunun kalitatif olarak belirlenmesine yardımcı olmaktadır. Bu çalışmada, Hs-AgNP'lerin yeşil sentez reaksiyonu için bu parametrelerin etkisi incelendi.

İlk olarak, pH'ın etkisi reaksiyon ortamının kimyasını etkilediği için bu etkinin nanopartikül oluşumunda ortaya çıkarılması amacıyla sentez ortamı olarak 7.5, 8.5 ve 10.5 olmak üzere üç farklı pH değeri kullanıldı. Sıcaklık değişiminin etkisinin belirlenmesi için ise oda sıcaklığı ve 50 °C nanopartikül sentez sıcaklığı olarak tercih edildi. Ayrıca 1 ve 2 mM AgNO₃ konsantrasyonu, metal iyon konsantrasyonunun nanopartikül sentezindeki etkisini ortaya çıkarmak için kullanıldı. Ekstrakt konsantrasyonu olarak ise 15 mL ve 30 mL olmak üzere iki farklı konsantrasyon seçildi. Toplamda 8 farklı sentez ortamı hazırlanarak nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirildi.

Bundan sonra, tüm reaksiyonlar santrifüjleme ve ardından üç kez yıkamaya tabi tutuldu ve UV-Vis spektrofotometre ile 200-800 nm dalga boyları arasında absorbans değeri alınarak izlendi

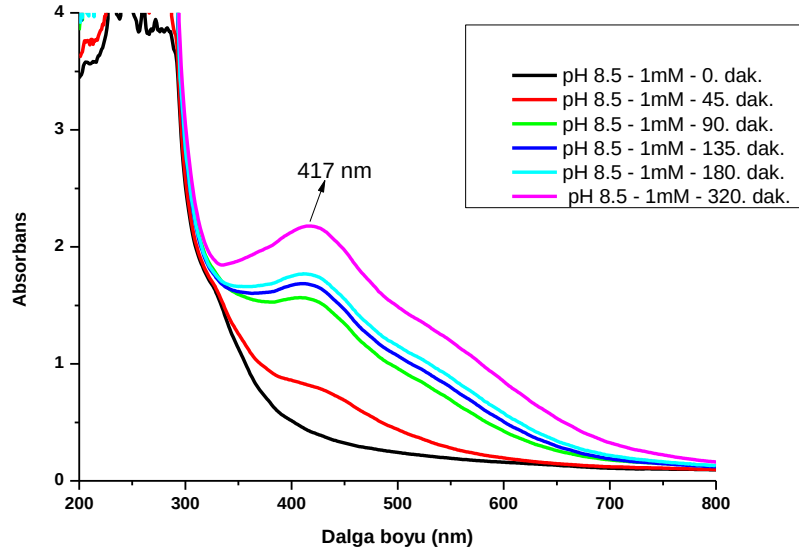
4.2.Gümüş Nanopartiküllerinin UV-Vis Karakterizasyonu

Çalışmada ilk örnek olarak pH 7.5, 300 mL 1 mM AgNO_3 ve 30 mL ekstrakt konsantrasyonunda oda sıcaklığında sentez gerçekleştirildi. En yüksek pik değeri 420 nm dalga boyunda 24 saat sonunda elde edildi (Şekil 4.1).



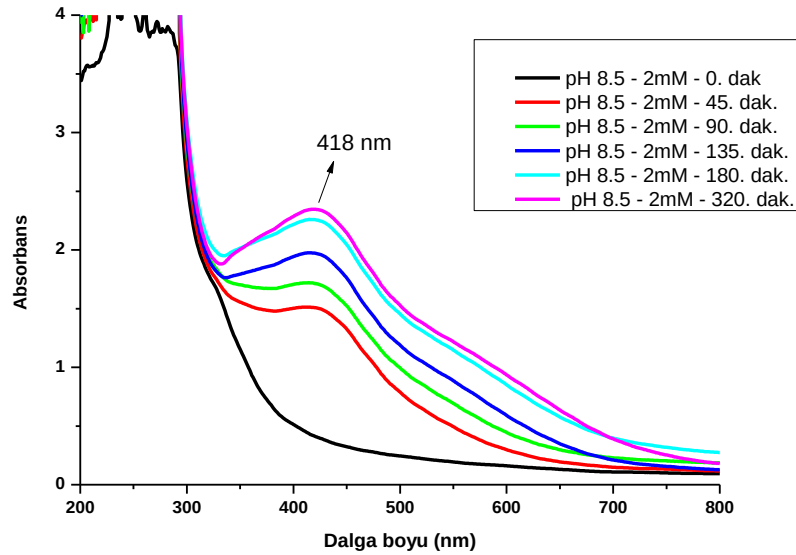
Şekil 4.1. Örnek 1'in sentezden 24 saat sonraki UV-Vis spektrumu

Çalışmada ikinci örnek olarak pH 8.5, 300 mL 1 mM AgNO_3 ve 30 mL ekstrakt konsantrasyonunda oda sıcaklığında sentez gerçekleştirildi. En yüksek pik değeri 417 nm dalga boyunda 320 dakika sonunda elde edildi. Örneğin zamana karşı pik değerindeki değişimi Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Örnek 2'nin zamana bağlı UV-Vis spektrumu değişimi

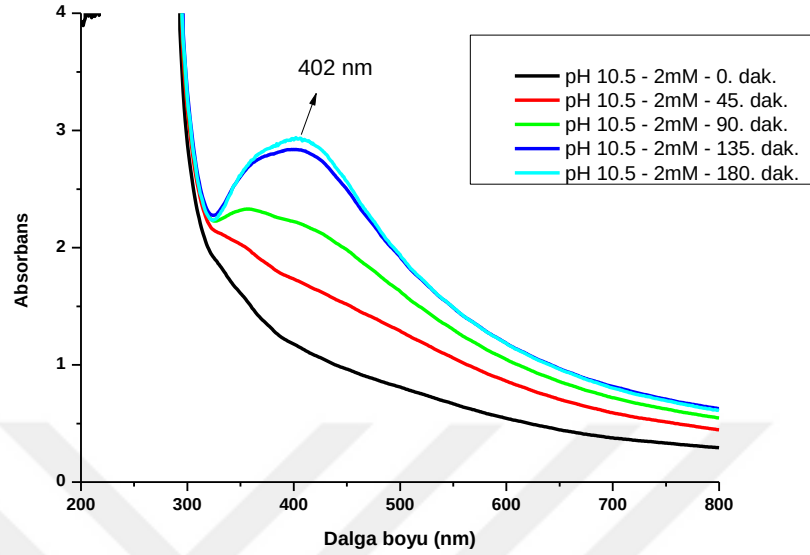
Üçüncü örnek olarak pH 8.5, 300 mL 2 mM AgNO_3 ve 30 mL ekstrakt konsantrasyonunda oda sıcaklığında sentez gerçekleştirildi. En yüksek pik değeri 418 nm dalga boyunda 320 dakika sonunda elde edildi. Örneğin zamana karşı pik değerindeki değişimi Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Örnek 3'ün zamana bağlı UV-Vis spektrumu değişimi

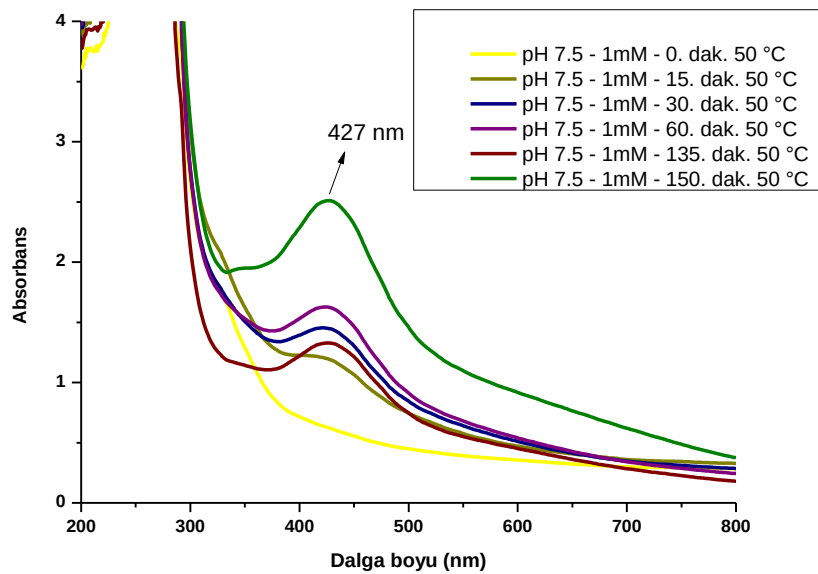
Örnek 4'te ise pH 10.5, 300 mL 2 mM AgNO_3 ve 30 mL ekstrakt konsantrasyonunda oda sıcaklığında sentez gerçekleştirildi. En yüksek pik değeri 402 nm

dalga boyunda 180 dakika sonunda elde edildi. Örneğin zamana karşı pik değerinin değişimi Şekil 4.4'te verilmiştir.



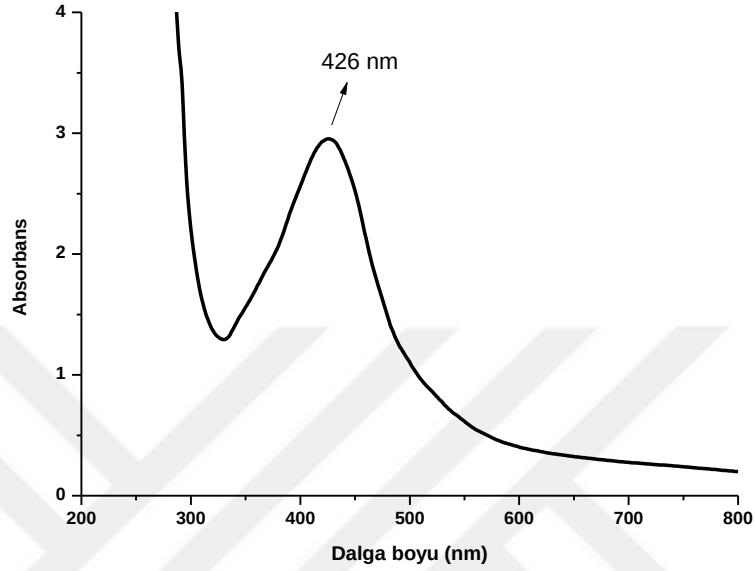
Şekil 4.4. Örnek 4'ün zamana bağlı UV-Vis spektrumu değişimi

Örnek 5'te ise pH 7.5, 300 mL 2 mM AgNO_3 ve 30 mL ekstrakt konsantrasyonunda 50 °C'de sentez gerçekleştirildi. En yüksek pik değeri 427 nm dalga boyunda 150 dakika sonunda elde edildi. Örneğin zamana karşı pik değerinin değişimi Şekil 4.5'te verildi. Sıcaklık artışı ile sentez süresinin düştüğü gözlemlendi.



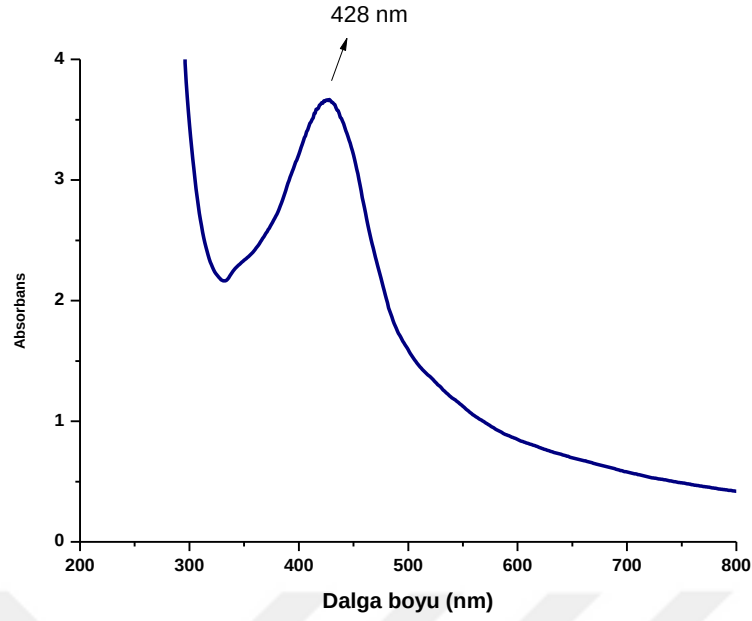
Şekil 4.5. Örnek 5'in zamana bağlı UV-Vis spektrumu değişimi

Örnek 6’da pH 8.5, 300 mL 1 mM AgNO_3 ve 15 mL ekstrakt konsantrasyonunda 50 °C’de sentez gerçekleştirildi. En yüksek pik değeri 426 nm dalga boyunda 120 dakika sonunda elde edildi. Örneğin zamana karşı pik değerinin değişimi Şekil 4.6’da verildi.

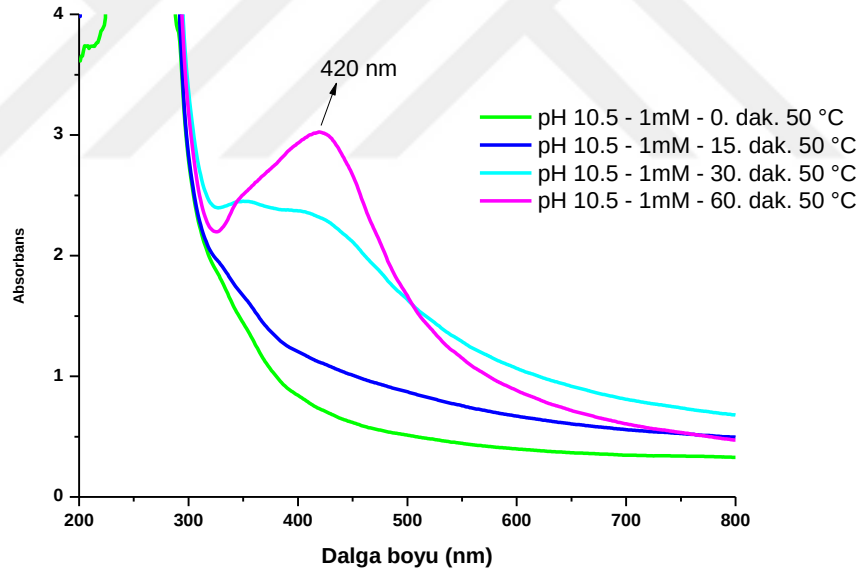


Şekil 4.6. Örnek 6’nın sentezden 120. dak. UV-Vis spektrumu

pH 8.5, 300 mL 1 mM AgNO_3 ve 30 mL ekstrakt konsantrasyonunda 50 °C’de gerçekleştirilen sentezde örnek 7 elde edildi (Şekil 4.7.) . En yüksek pik değeri 428 nm dalga boyunda 120 dakika sonunda elde edildi. Aynı koşullarda sadece pH değerinin 10.5 yapılması ile örnek 8 elde edildi ve 120 dakika sonunda en yüksek değeri 420 nm olarak ölçüldü (Şekil 4.8)



Şekil 4.7. Örnek 7'nin sentezden 120. dak. UV-Vis spektrumu



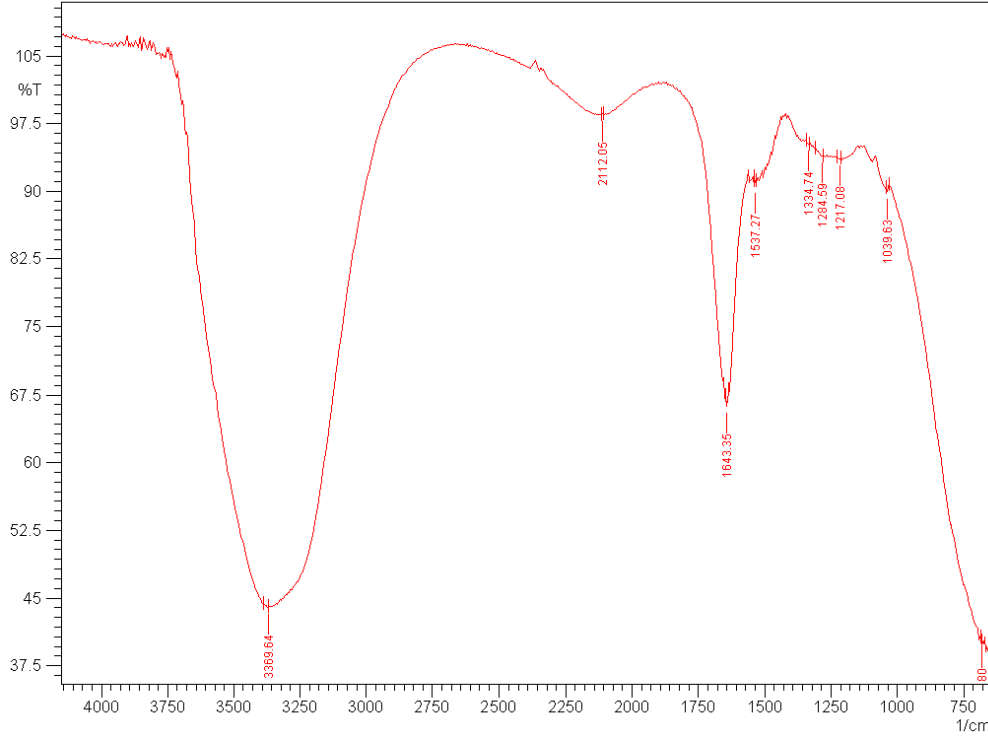
Şekil 4.8. Örnek 8'in zamana bağlı UV-Vis spektrumu değişimi

Sentez sırasında UV-Vis spektrumu değişimleri 15 dakikalık sürelerde takip edildi ve pik değerinin belirli bir seviyeye ulaşılması ile sentez işlemi sonlandırıldı. Bu işlem Hs-AgNP'lerin kinetiğini ve oluşum hızını incelemek için önemlidir.

4.3.Gümüş Nanopartiküllerin FTIR, XRD ve EDX Analizleri ile

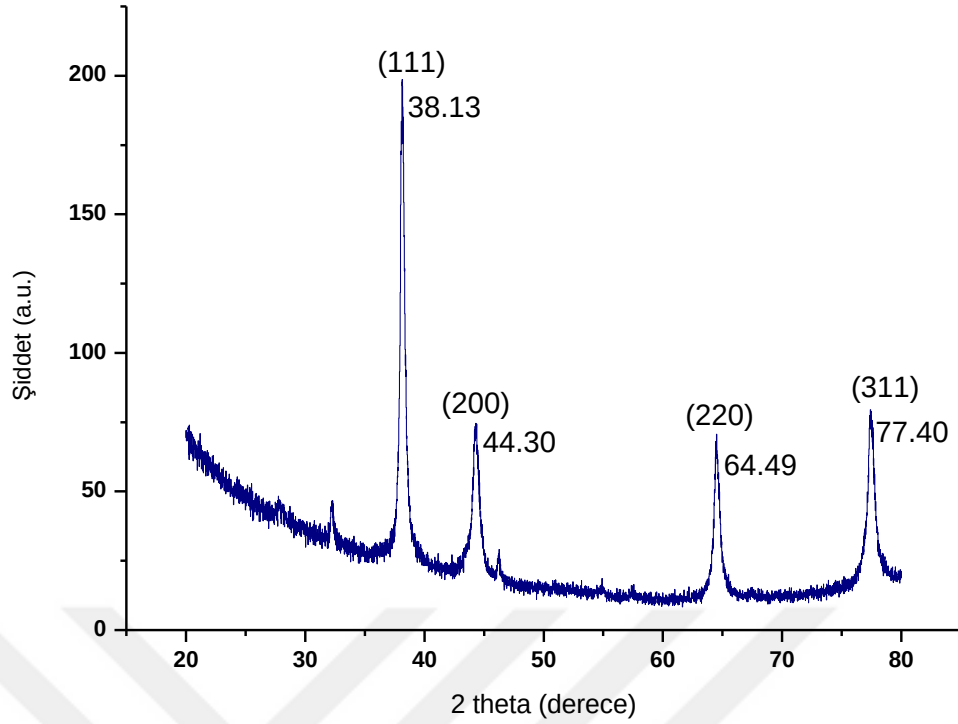
Karakterizasyonu

FTIR, şekilde gösterildiği gibi gümüş nanopartiküllerde (Hs-AgNP'ler) bulunan fonksiyonel grupların belirlenmesiyle ilgilidir. Bu fonksiyonel gruplar, AgNP'lerin oluşumundan sorumludur. Spektrumda, 3369 cm^{-1} 'deki güçlü ve geniş tepe, $-\text{OH}$ ve $-\text{NH}_2$ gruplarının birleşik titreşim frekansını temsil etmektedir (Noruzi ve ark., 2011). 2112 cm^{-1} 'deki pik ise, C-H bağını yansıtmaktadır (Tsegay ve ark., 2021). 1643 cm^{-1} 'deki tepe C= C gerilmesinden dolayıdır. 1537 cm^{-1} , amid II bantlarını temsil etmektedir (bu, C-N gerilmesi ile birleşen N-H eğilme bandından kaynaklanır) (T. Riaz ve ark., 2018). Bu iki pik değeri tüm nanopartiküller için ortak bulundu. Diğer bantlarda ise çok az sapmalar meydana geldi. 1039 cm^{-1} bandı ise alkoller, eterler, karboksilik asitleri temsil etmektedir (Md. R. Khan ve ark., 2022). Bu nedenle, Ag^+ iyonlarından Ag^0 nanopartiküllerin oluşumu, fitokimyasalların hidroksil gruplarının indirgenmesine bağlı olduğu ve bitki ekstraktında bulunan amino asit ve proteinlerin AgNP'lerin stabilizasyonundan sorumlu olabileceği düşünülmektedir (Da-Costa-Rocha ve ark., 2014).



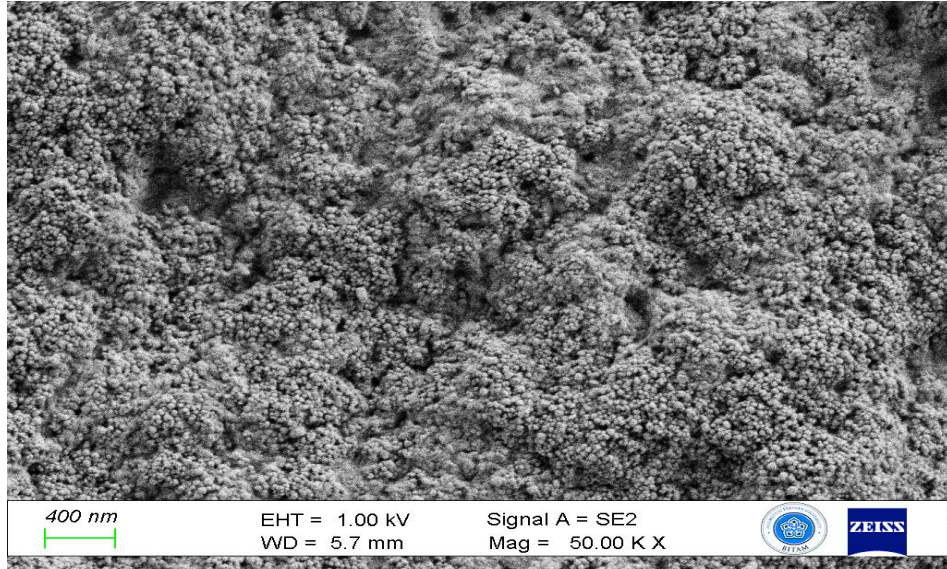
Şekil 4.9. Örnek 1'in FTIR spektrum analizi

X-ışını kırınım tekniği, Hs-AgNP'lerin kristalin yapısını ve element bileşimini belirlemek için kullanıldı (Şekil 4.10). Hazırlanan AgNP'lerin XRD spektrumu karakteristik Bragg kırınım planları (111), (200), (220) ve (310) olan $2\theta = 38.13, 44.30, 64.49$ ve 77.40° 'da dört kırınım bandı gösterdi. Toz Kırınım Standartları Ortak Komitesi (JCPDS) dosya no: 04-0783 veri tabanının eşleşmesinde gümüşün kristal yapısını ortaya çıkarıldı.

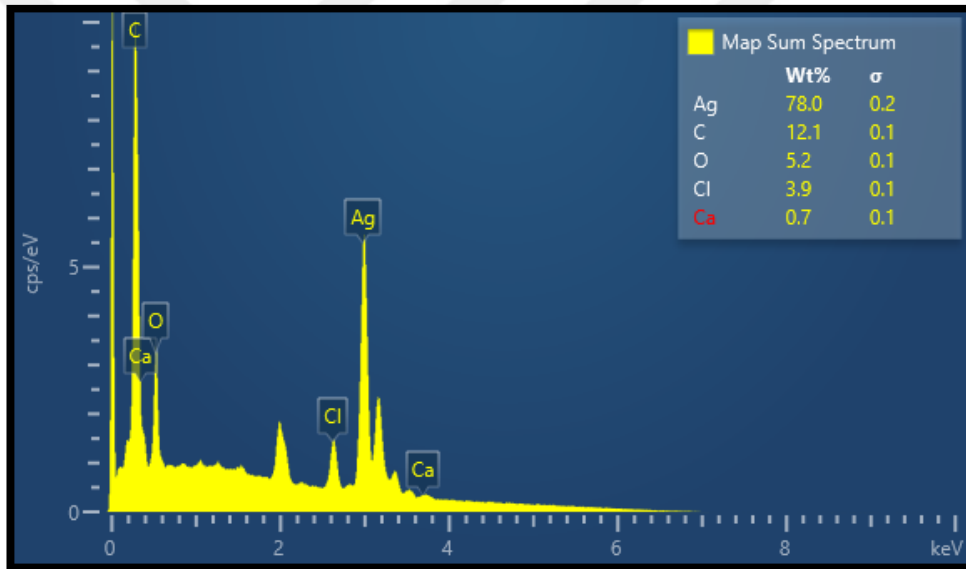


Şekil 4.10. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerden örnek 1'in XRD analizi

Şekil 4.11 ve 4.12'de gösterilen FESEM-EDX analizi, önemli bir gümüş içeriğinin varlığını göstermektedir. Sentezlenen AgNP'lerin EDX görüntüsü, gümüş elementin güçlü sinyallerini gösterdi. Ayrıca, EDX ölçümündeki gümüş metal tepe noktasının optik absorpsiyonu, AgNP'lerin SPR'sinin bir sonucu olarak tipik olarak gümüş nano-kristallerin absorbandsından dolayı ~3–4 Kev arasında bir aralıkta tespit edildi (Kalimuthu ve ark., 2008). EDX analizinde yer alan. Ca, Cl, O ve C gibi kimyasal elementlerin varlığı, sulu numunenin bileşiminin bir parçasıdır. EDX analizinde gümüş içeriğinin 78 % oranında olduğu gözlemlendi.



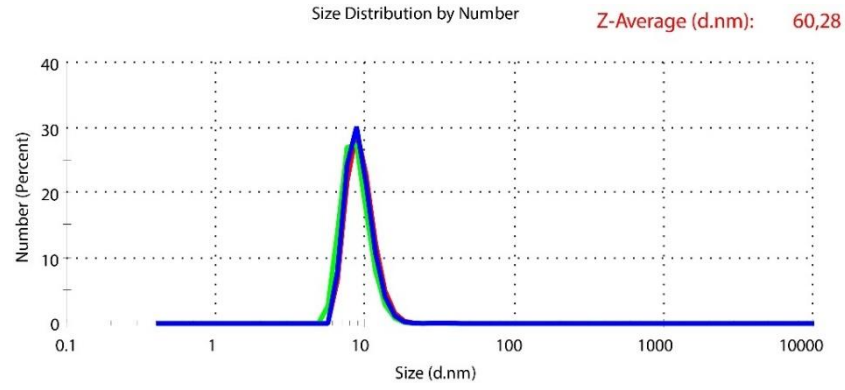
Şekil 4.11. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerden örnek 1'in FESEM analizi



Şekil 4.12. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerden örnek 1'in EDX analizi

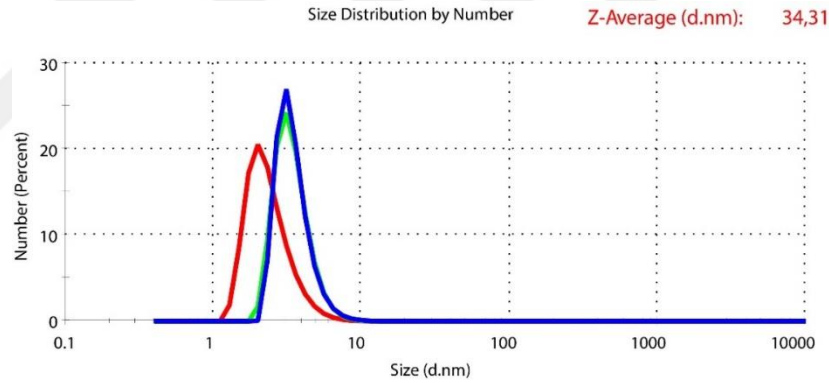
4.4.Gümüş Nanopartiküllerin DLS ile Boyut Analizi ve Zeta Potansiyelleri

Örnek 1 nanopartiküllerin (oda sıcaklığında pH 7.5 1mM AgNO₃ ve 30 mL bitki ekstraktı ile gerçekleştirildi) DLS diyagramı Şekil 4.13'te gösterildi. Sonuçlar, nanopartikülün ortalama boyutunun 60.28 nm olduğunu gösterdi. Bu sentez koşullarında nanopartiküllerin PDI değerinin 0.364 olduğu bulundu.



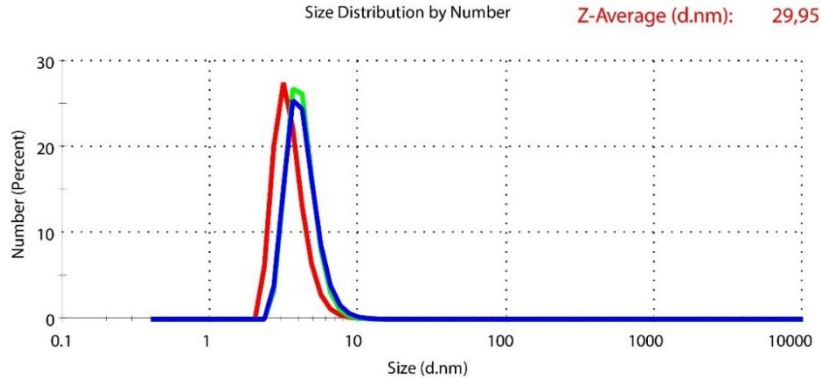
Şekil 4.13. Örnek 1'in DLS ile boyut analizi

Örnek 2'de ise örnek 1 ile koşullar aynı tutularak tek değiştirilen parametre pH oldu. Bu sentezde pH değerinin 8.5 olması ile nanopartikül ortalama boyutunun DLS analizinde 34.31'e düştüğü gözlemlendi (Şekil 4.14). Ama diğer yandan PDI değerinin ise bu nanopartiküllerde 0.537 olarak ortaya çıktığı belirlendi.



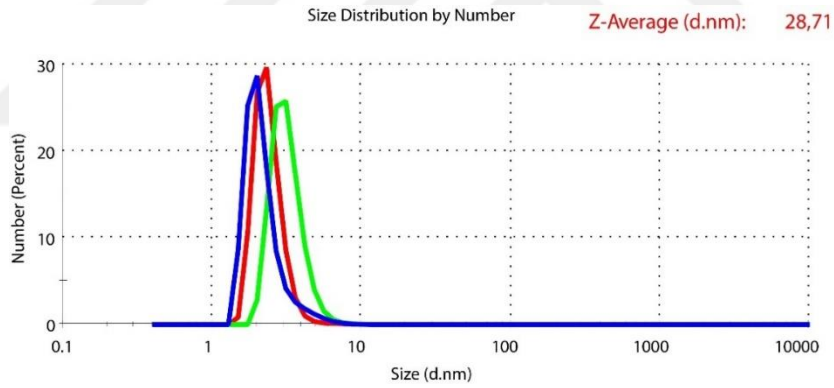
Şekil 4.14. Örnek 2'in DLS ile boyut analizi

Örnek 3'te ise örnek 2 ile koşullar aynı tutularak tek değiştirilen AgNO_3 konsantrasyonunun 1 mM'dan 2 mM'a çıkarılmasıydı. Bu sentezde AgNO_3 molar konsantrasyonunun artmasının nanopartikül boyutunu 29.95'e indirdiği gözlemlendi. (Şekil 4.15). Bu örnekte PDI değeri 0.534 olarak tespit edildi.



Şekil 4.15. Örnek 3'in DLS ile boyut analizi

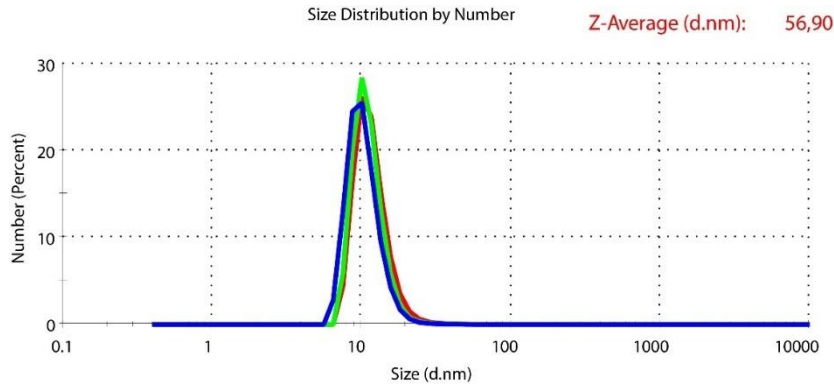
Örnek 4'te sentez için değiştirilen parametre örnek 3'e göre pH oldu. Bu sentezde pH 10.5 değeri kullanıldı ve sonuçta ortalama nanopartikül boyutunun çok az bir düşüşle 28.71 olduğu gözlemlendi. Oda sıcaklığındaki sentez parametrelerinden pH yükseldikçe nanopartikül boyutunun düştüğü tespit edildi (Şekil 4.16). Bu sentez koşullarında nanopartiküllerine PDI değerinin 0.558 olduğu belirlendi.



Şekil 4.16. Örnek 4'in DLS ile boyut analizi

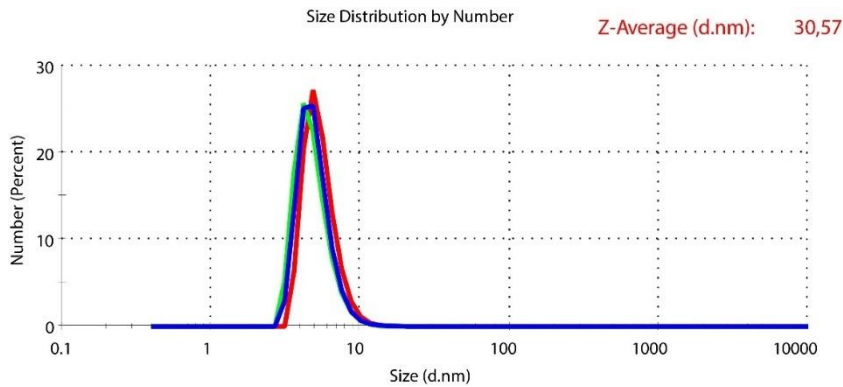
Örnek 5'te örnek 1 ile parametrelerde değişen tek faktör sentez sıcaklığıdır. Burada sentez 50 °C' de gerçekleştirildi ve sonuçta ortalama nanopartikül boyutunun 56.90 olduğu gözlemlendi (Şekil 4.17). Bu sonuçta bize pH 7.5'ta sıcaklık parametresindeki değişikliğin az da olsa nanopartikül boyutunu düşürdüğü sonucunu gösterdi. Bu sentez koşullarında PDI değerinin 0.296 olduğu belirlendi. Bu sonuç bize pH 7.5'ta örnek 1 ve 5 'te PDI değerlerinin daha düşük olduğu ve bununda bu pH değerinde sentezlenen nanopartiküllerin büyüklük dağılımının daha homojen olduğunu gösterdi. 0.3'ten düşük PDI değerlerine sahip nanopartiküller daha kararlı olacağından ve homojen bir

morfolojiye sahip olacağından, zeta potansiyeli ile yakından ilişkili olan monodispers numuneyi gösterir (Manosalva ve ark., 2019).



Şekil 4.17. Örnek 5'in DLS ile boyut analizi

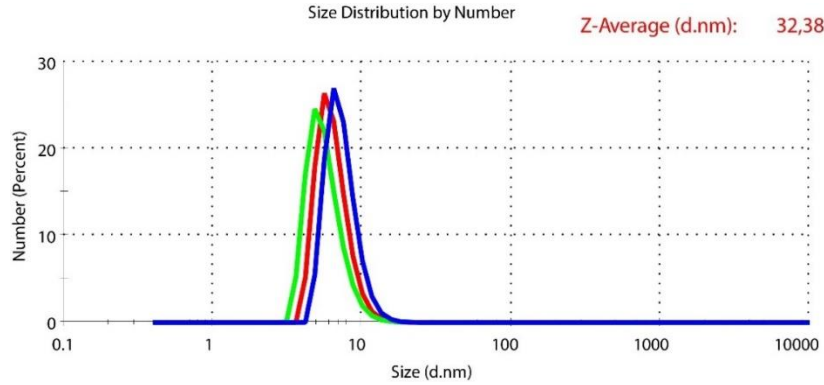
Örnek 6'da sentez için değiştirilen parametre örnek 2'ye göre sıcaklığın artırılması ve bitki ekstrakt konsantrasyonunun 30 mL'den 15 mL'ye düşürülmesidir. Bu sentez pH 8.5'ta 50 °C 15 mL bitki ekstraktı kullanılarak gerçekleştirildi ve ortalama nanopartikül boyutunun 30.57 olduğu ortaya çıkarıldı (Şekil 4.18). Örnek 7 ile tüm parametreler aynı olup sadece değişen parametre bitki ekstrakt konsantrasyonudur. Bitki ekstrakt konsantrasyonunun artırılmasının çok az bir artışa sebep olsa da çok fazla bir ortalama nanopartikül büyüklüğünde değişikliğe sebep olmadığını gösterdi. Örnek 6'da sentezlenen nanopartiküllerin PDI değerinin 0.520 olduğu belirlendi.



Şekil 4.18. Örnek 6'nın DLS ile boyut analizi

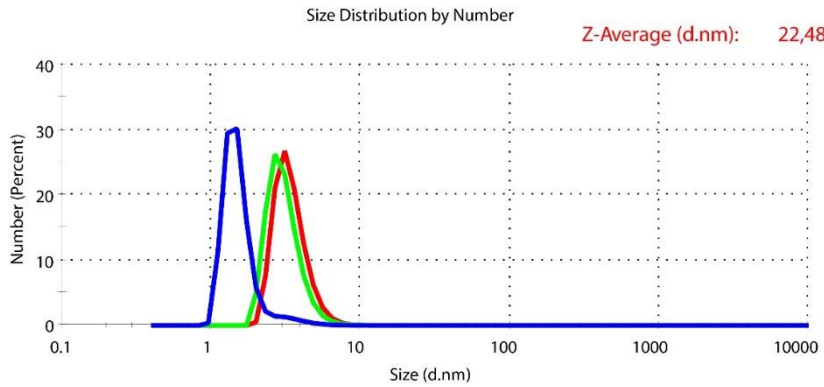
Örnek 7'de sentez için değiştirilen parametre örnek 6'ya göre bitki ekstrakt konsantrasyonunun değiştirilmesiydi. Bu örnekteki ortalama nanopartikül boyutu 32.38 olarak belirlendi (Şekil 4.19) ve bu sonucun örnek 6'daki nanopartikül boyutuna yakın

olduğu tespit edildi. Ayrıca, sentezlenen nanopartiküllerin PDI değerinin 0.504 olduğu bulundu.



Şekil 4.19. Örnek 7'nin DLS ile boyut analizi

Örnek 8'de nanopartikül sentezinde pH 10.5 ve 50 °C kullanılmıştır. Burada ortalama nanopartikül boyutunun 22.48 olduğu belirlendi (Şekil 4.20). Örnek 5 ve örnek 7 ile kıyaslandığında nanopartikül boyutunun azaldığı gözlemlendi. Bu sonuçta bize pH'ın düşüğe nanopartikül boyutunun azaldığını gösterdi. Bu pH değerinde sentezlenen nanopartiküllerin PDI değeri 0.571 olarak belirlendi. Bu sonuçta bize yüksek pH değerinde sentezlenen nanopartiküllerin yüksek PDI değerine sahip olduğu sonucunu ortaya çıkardı.

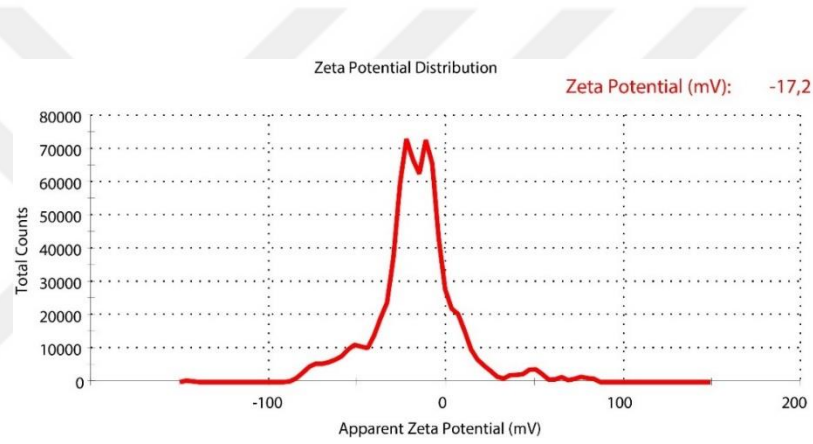


Şekil 4.20. Örnek 8'in DLS ile boyut analizi

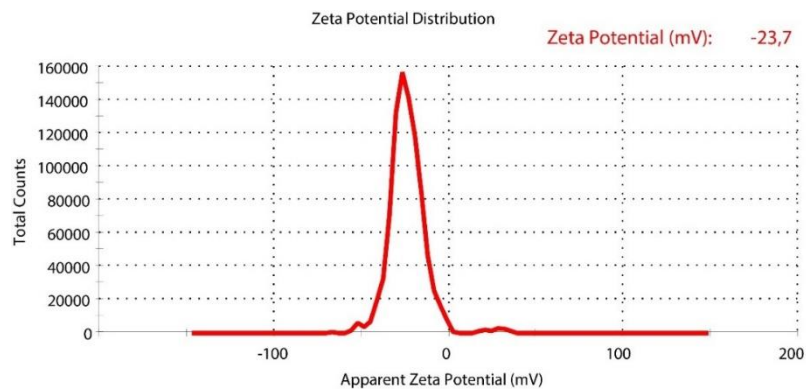
DLS çalışmaları esas olarak partikül boyutu dağılımını tespit etmek ve numunelerin ortalama hidrodinamik çapını elde etmek için kullanılmaktadır (Rajeshkumar ve Bharath, 2017). *H. sabdariffa* ekstraktı kullanılarak AgNP'lerin sentez sürecinde pH, sıcaklık ve AgNO₃ konsantrasyonunun, daha önce bildirilen diğer çalışmalarla uyumlu olarak, ortalama boyut dağılımı üzerinde önemli bir etkiye sahip

olduğu DLS boyut dağılımı analizi ile gösterildi. Özellikle, AgNP'lerin kararlılığının pH'a bağlı olduğu bildirilmiştir (Manosalva ve ark., 2019; Velgosová ve ark., 2016)

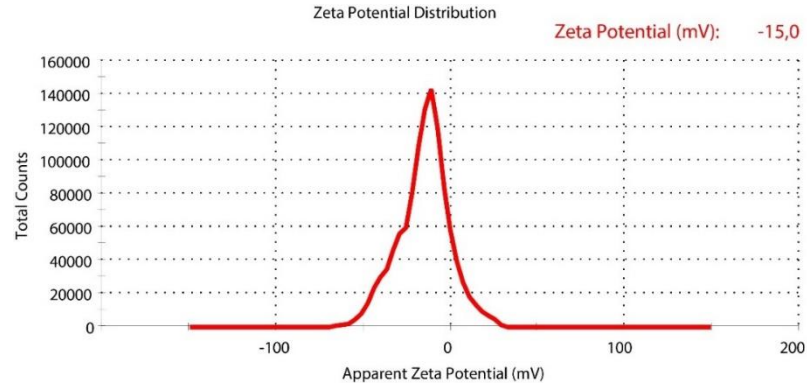
Örnek 1’de sentezlenen nanoaprtiküllerin zeta potansiyel değerinin -17.2 olduğu ortaya çıkarıldı (Şekil 4.21). Örnek 2’de ise pH değeri yükselmesine bağlı olarak zeta potansiyel değeri -23.7 olarak belirlendi. (Şekil 4.22). Bu sonuç bize pH artışının bu iki örnek arasında zeta potansiyel değerini değiştirdiğini gösterdi. Örnek 3’te pH 8.5’te ise AgNO₃ konsantrasyonunun artmasıyla zeta potansiyel değerinin -15.0 olarak ortaya çıktığı belirlendi (Şekil 4.23). Burada özellikle AgNO₃ molar konsantrasyon artışının zeta potansiyelini önemli miktarda değiştirdiği belirlendi. Örnek’4 te ise pH değerinin 10.5 olmasıyla zeta potansiyel değerinin örnek 3’e göre daha da düşerek -18.0’a gerilediği tespit edildi (Şekil 4.24).



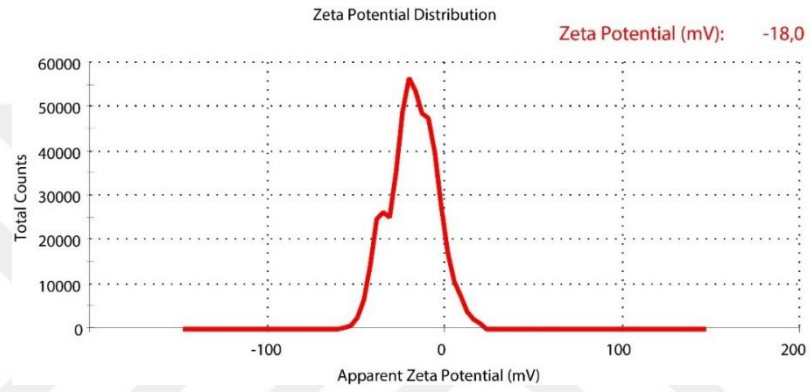
Şekil 4.21. Örnek 1’in zeta potansiyel analizi



Şekil 4.22. Örnek 2’nin zeta potansiyel analizi

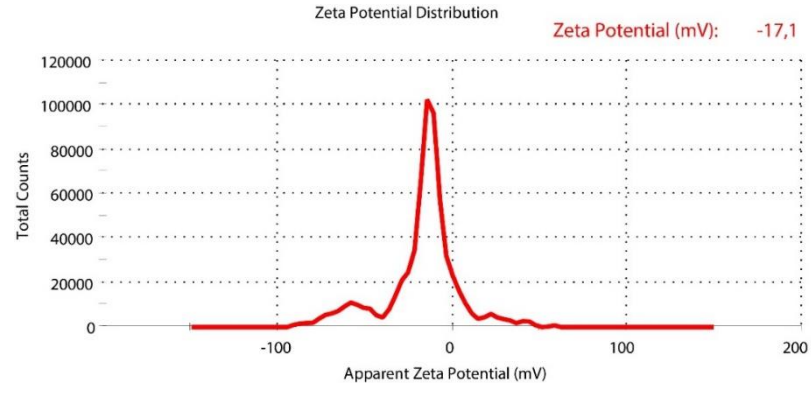


Şekil 4.23. Örnek 3'ün zeta potansiyel analizi

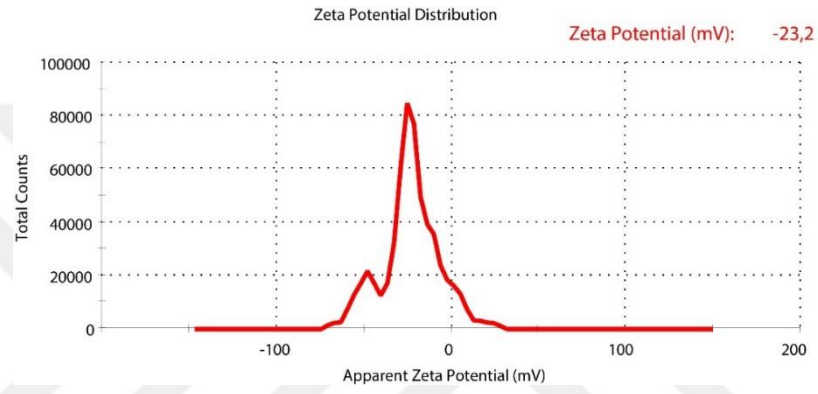


Şekil 4.24. Örnek 4'ün zeta potansiyel analizi

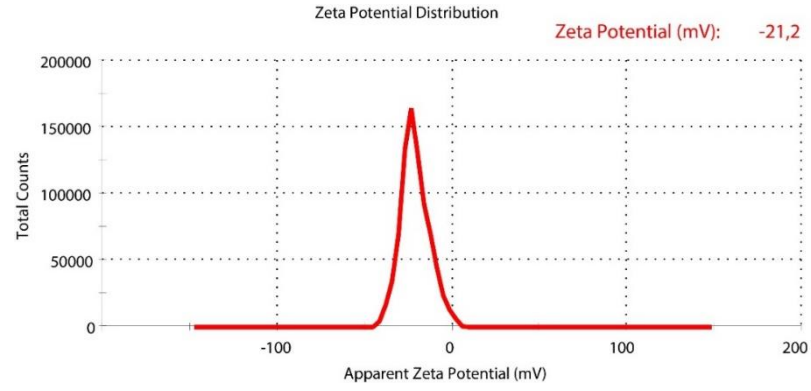
50 °C'de sentezlenen nanoaptiküllerin zeta potansiyel değerlerine bakıldığında, örnek 5'te zeta potansiyelinin -17.1 olduğu belirlendi (Şekil 4.25). Bu değer örnek 1 ile yakın olması pH 7.5'ta sıcaklık değişiminin zeta potansiyel değerini etkilemediği görüldü. Örnek 6'da ise zeta potansiyel değeri -23.2 olarak belirlendi (Şekil 4.26). Örnek 7'de ise zeta potansiyel değerinin -21.2 olduğu belirlendi (Şekil 4.27). Burada pH değişiminin örnek 5'e göre zeta potansiyel değerini düşürdüğünü ortaya çıkardı. Ayrıca burada örnek 6'ya göre ekstrakt konsantrasyonunun zeta potansiyel değerini az bir miktarda arttırdığını göstermektedir. Örnek 8'de ise 10.5 pH değerinde zeta potansiyeli -22.7 olarak belirlendi (Şekil 4.28). Örnek 4 ile karşılaştırıldığında pH 10.5'ta zeta potansiyel değerinin sıcaklık artışıyla birlikte düştüğü gözlemlendi. Bu sentez reaksiyonunda pH yükselmesinin zeta potansiyelini düşürdüğü yine aynı şekilde ortaya çıkarıldı. pH'ın zeta potansiyeli üzerinde doğrudan bir etkisi vardır ve partiküllerin zeta potansiyelinin pH'ın artmasıyla azaldığı daha önce yapılan çalışmalar ile bildirildi (Jiang ve ark., 2009; S. S. Khan ve ark., 2011; Peng ve ark., 2004).



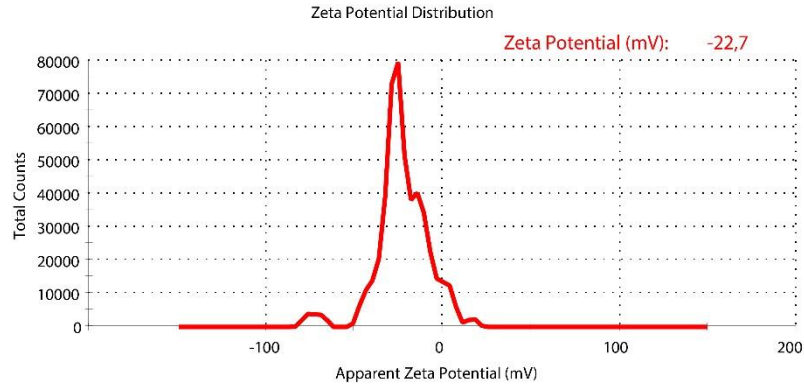
Şekil 4.25. Örnek 5'in zeta potansiyel analizi



Şekil 4.26. Örnek 6'nın zeta potansiyel analizi



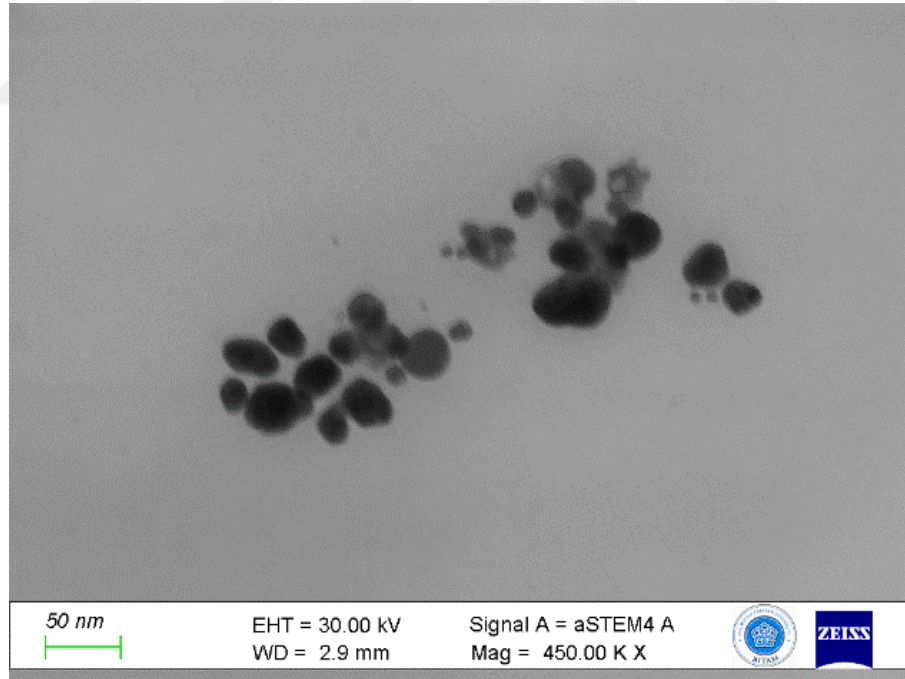
Şekil 4.27. Örnek 7'nin zeta potansiyel analizi



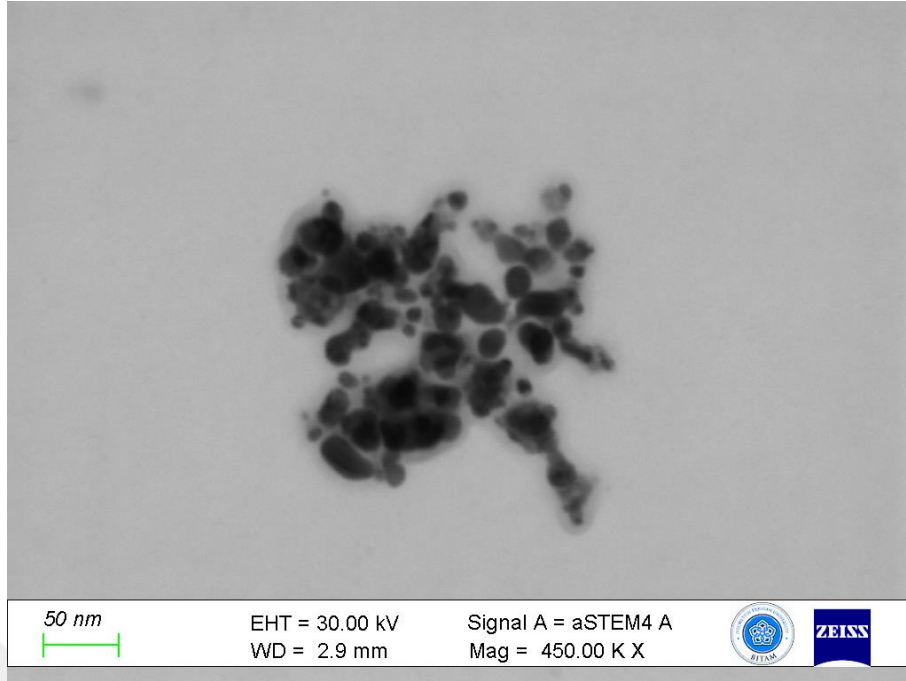
Şekil 4.28. Örnek 8'in zeta potansiyel analizi

4.5.Gümüş nNanopartiküllerin STEM ile Boyut ve Şekil Analizi

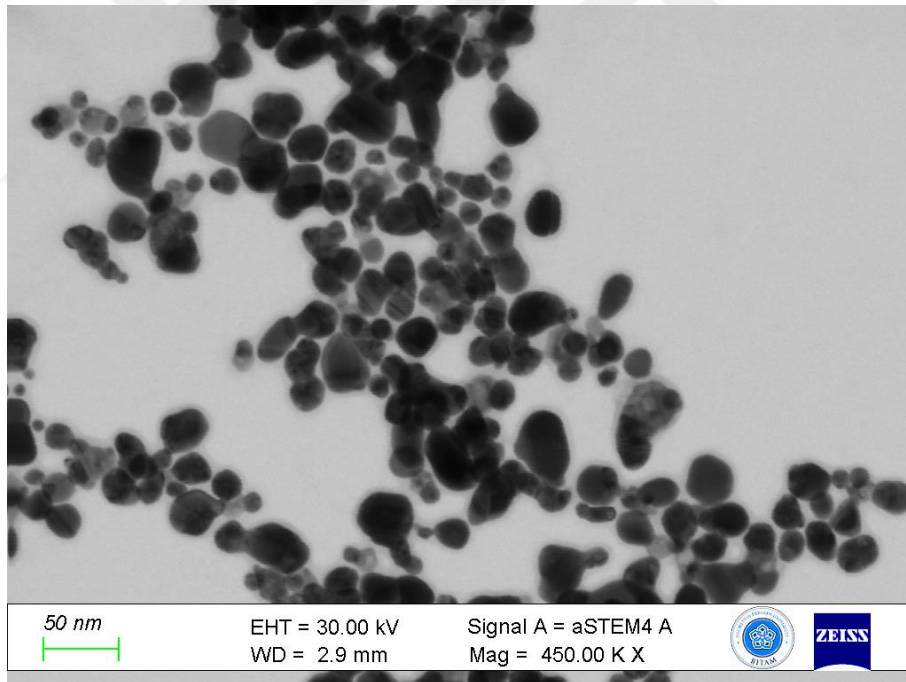
Örneklerin ayrıca boyut ve şekil analizleri STEM görüntülemesi ile gerçekleştirildi (Şekil 4.29, 4.30, 4.31, 4.32, 4.33, 4.34, 4.35 ve 4.36). Buradaki şekil analizlerine bakıldığında örnek 1'de pH 7.5'ta örneklerin daha homojen dağıldığı gözlemlendi. Şekil olarak küresel nanopartiküller gözlemlendi. Diğer örneklerde pH artışı ile bu homojenliğin farklılaştığı gözlemlendi.



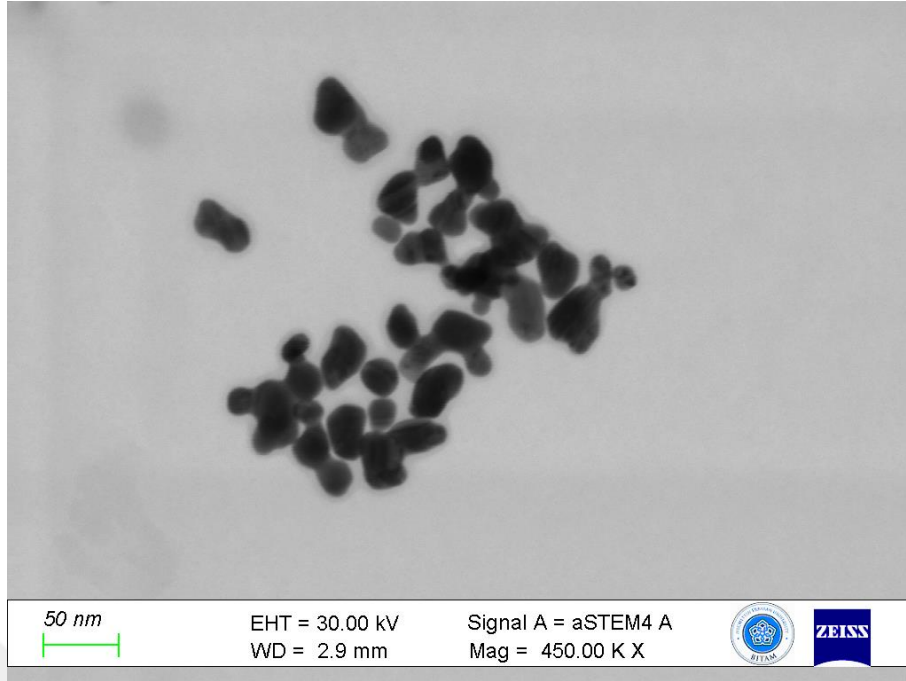
Şekil 4.29. Örnek 1'in STEM analizi



Şekil 4.30. Örnek 2'nin STEM analizi

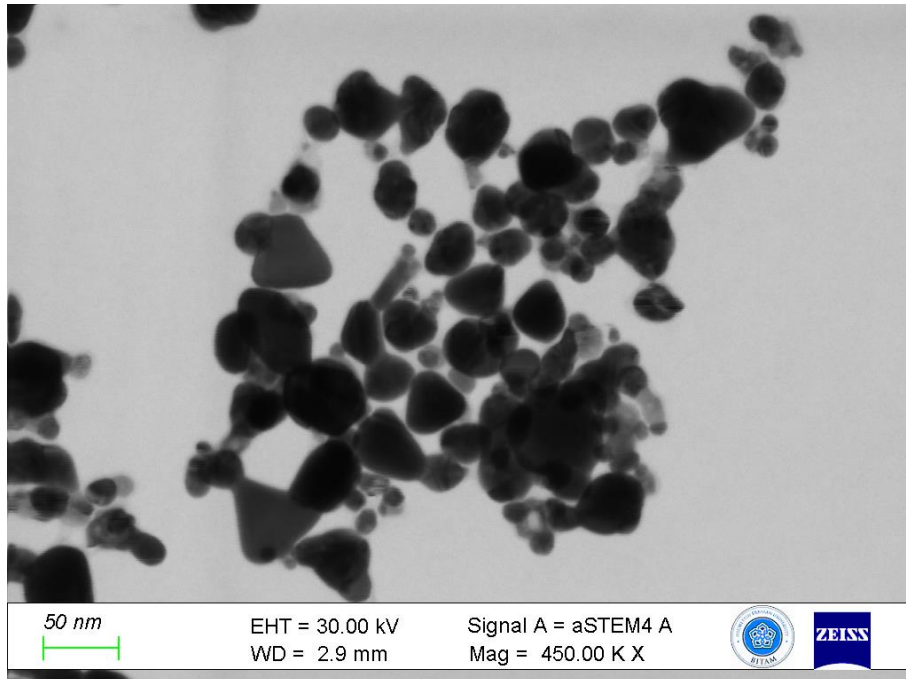


Şekil 4.31. Örnek 3'ün STEM analizi

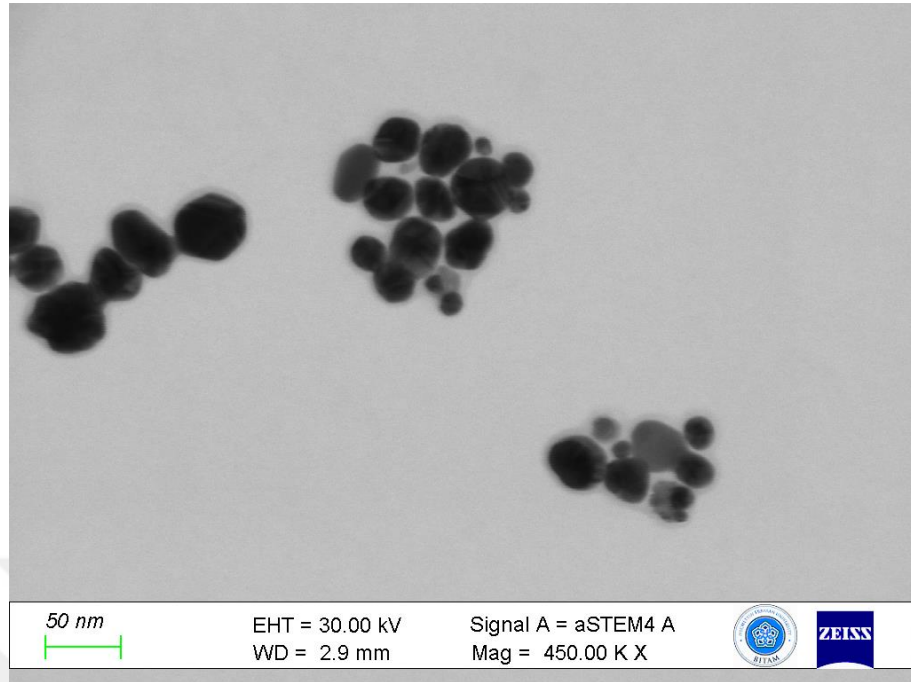


Şekil 4.32. Örnek 4'ün STEM analizi

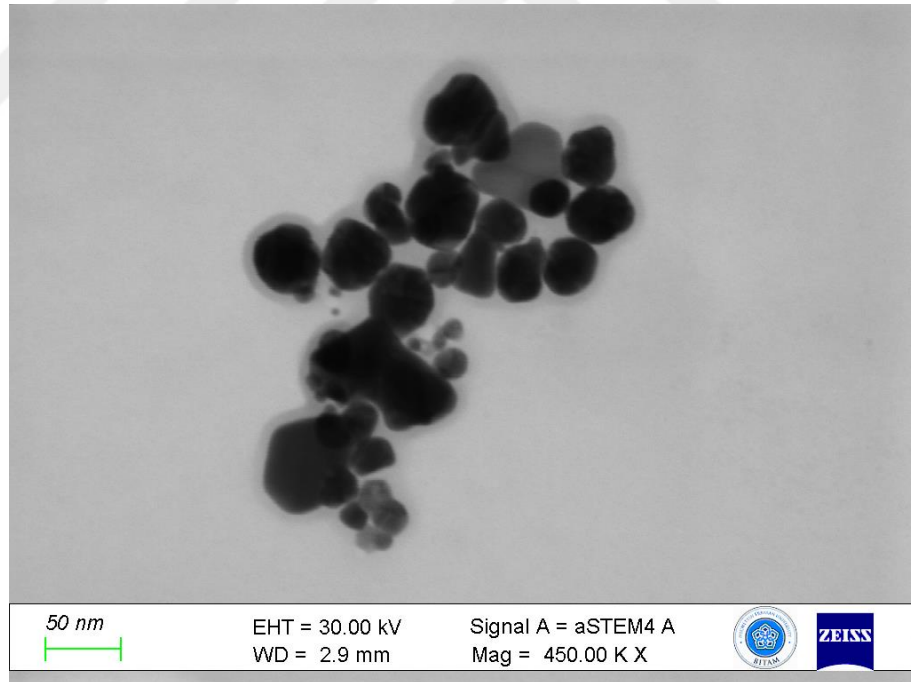
50 °C'de gerçekleştirilen nanopartikül sentez işleminde nanopartiküllerin şekil analizleri STEM analizleri ile doğrulandı. STEM analizi, nanopartiküllerin morfolojisinin aşağı yukarı küresel olduğunu ortaya çıkardı. Özellikle, Örnek 5'in şekil bakımından çeşitlilik gösterdiği gözlemlendi.



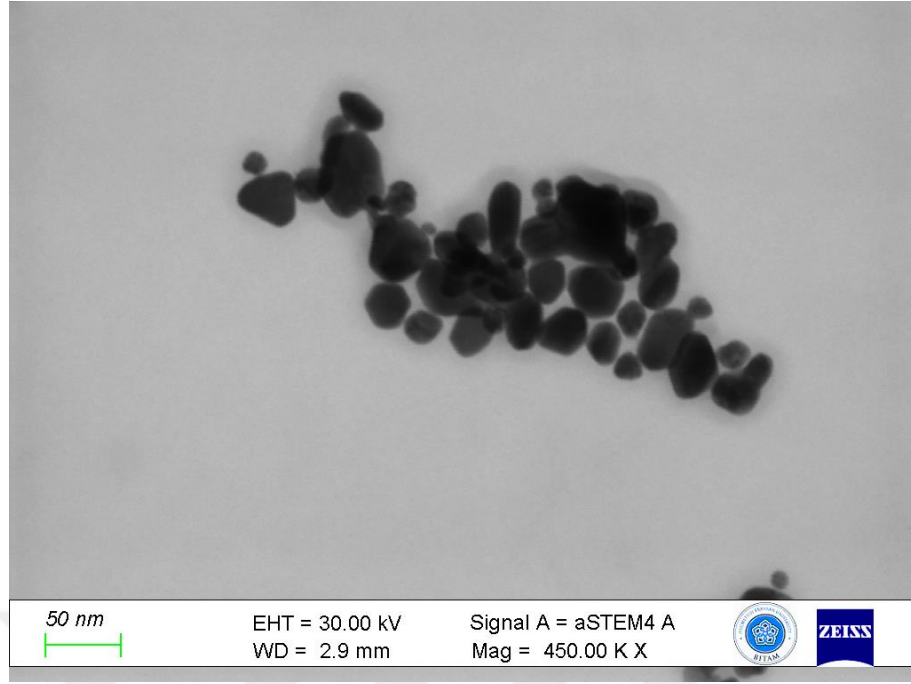
Şekil 4.33. Örnek 5'in STEM analizi



Şekil 4.34. Örnek 6'nın STEM analizi



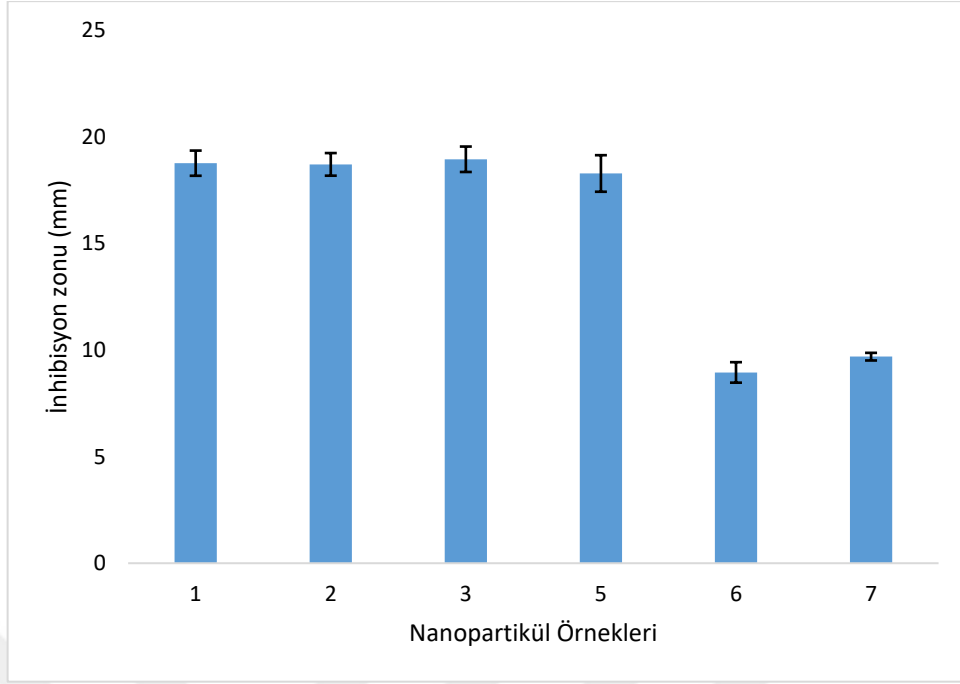
Şekil 4.35. Örnek 7'nin STEM analizi



Şekil 4.36. Örnek 8'in STEM analizi

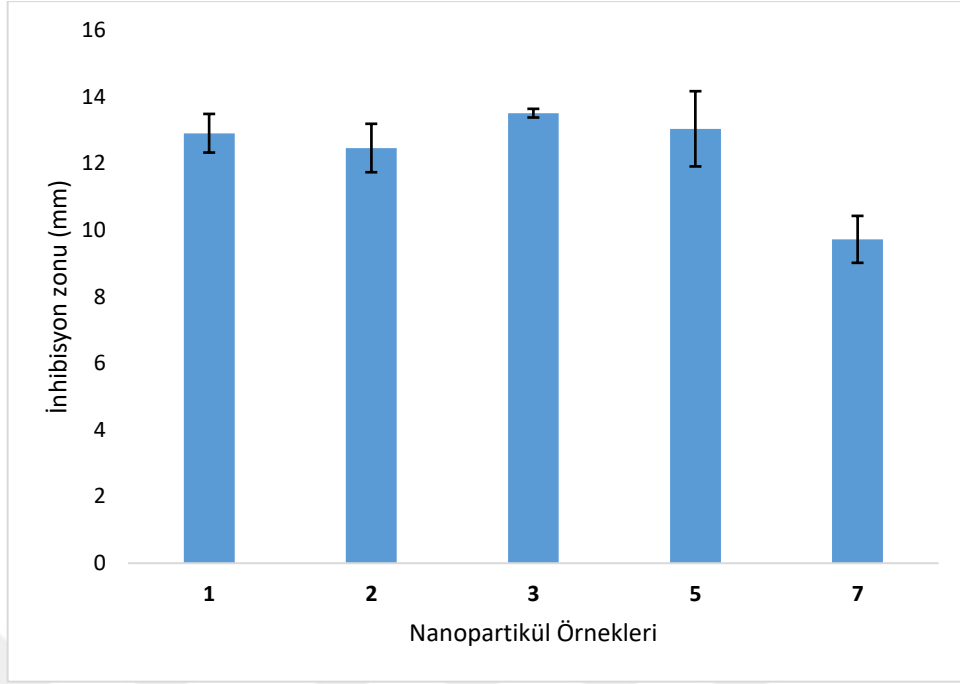
4.6.Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkinlikleri

200 µg/mL nanopartikül konsantrasyonunda sentezlenen AgNP'lerin agar difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal etkinlikleri değerlendirildi. Nanopartiküllerin *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel etkinliği Şekil 4.37'de gösterildi. Örnek 3, *S. aureus*'a karşı 18.95 ± 0.59 inhibisyon zon değeri ile en yüksek antibakteriyel etkinliği gösterirken, örnek 6 ise 8.95 ± 0.48 'lik değer ile en düşük inhibisyon zon değerini göstermiştir. Örneklerden 4 ve 8'in ise bu konsantrasyonda herhangi bir aktivite göstermediği belirlendi. Oda sıcaklığında pH 7.5 ve 8.5'ta nanopartiküllerin diğer nanopartiküllere oranla daha iyi bir aktivite gösterdiği belirlendi. Yüksek sıcaklıkta sentezlenen nanopartiküllerde pH 7.5'taki örneğin diğerlerine oranla daha iyi aktivite gösterdiği tespit edildi.



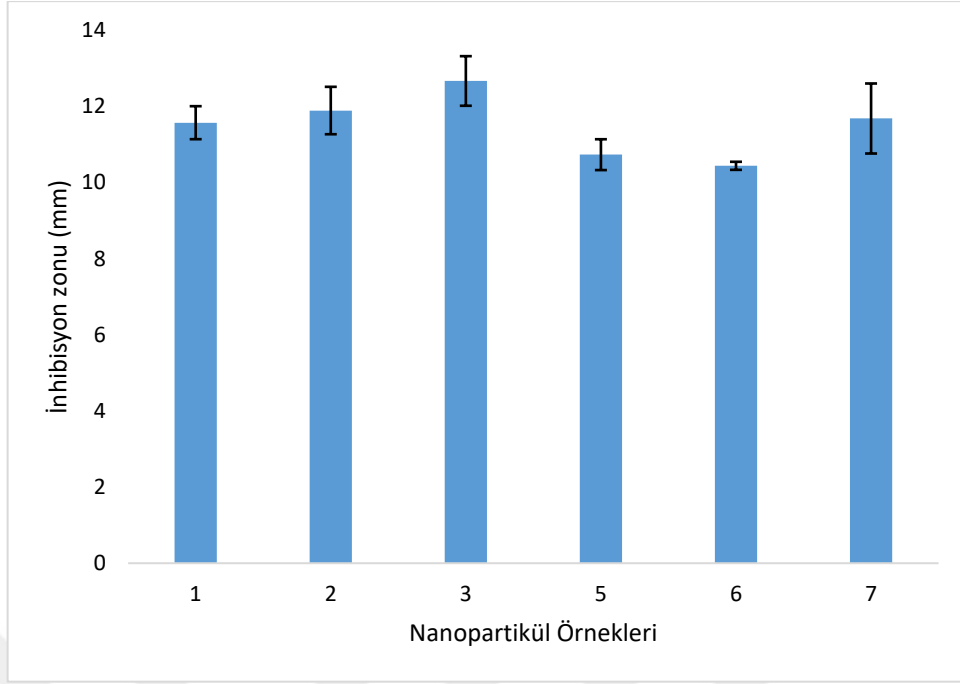
Şekil 4.37. Sentezlenen AgNP'lerin *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel etkinliği

Nanopartiküllerin *Bacillus cereus*'a karşı antibakteriyel etkinliği Şekil 4.38'de gösterildiği üzere, 13.51 ± 0.13 inhibisyon zon değeri ile en yüksek antibakteriyel etkinliği Örnek 3'ün gösterdiği tespit edildi. Örnek 1,2,3, ve 5'in *B. cereus*'a karşı antibakteriyel etkinliğinin birbirine yakın olduğu belirlendi. Ekstrakt konsantrasyon artışı ile örnek 7'de antibakteriyel aktivite gözlemlenirken örnek 6'da aktivite bulunmadı. Örneklerden 4 , 6 ve 8'in ise ilgili mikroorganizmaya karşı herhangi bir aktivite göstermediği bulundu.



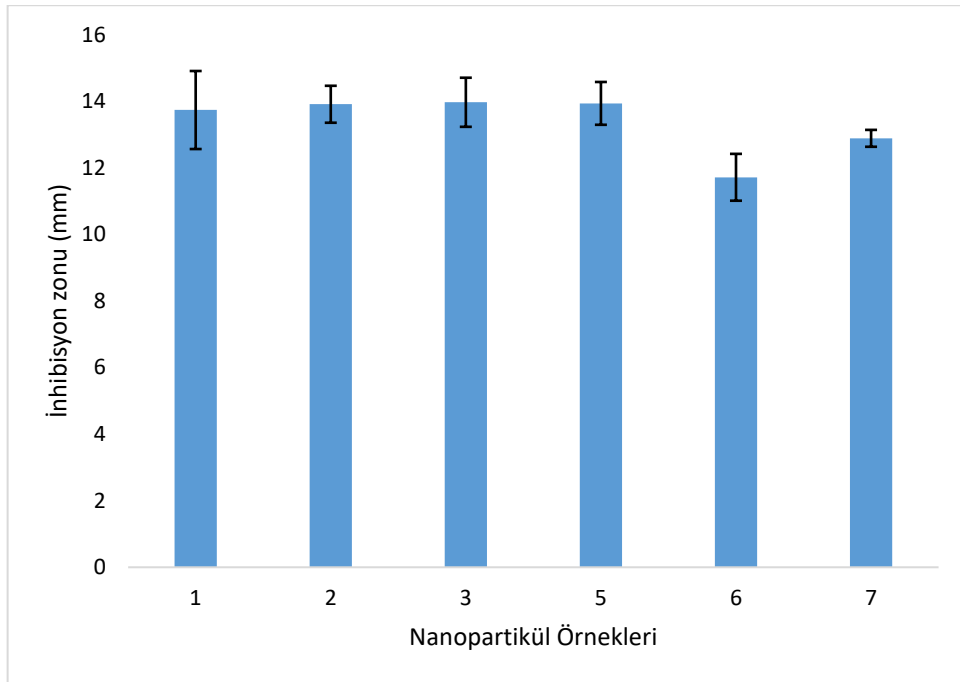
Şekil 4.38. Sentezlenen AgNP'lerin *Bacillus cereus* bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği

Nanopartiküllerin *Escherchia coli* bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği Şekil 4.39'da gösterildi. Örnek 3'ün *S. aureus* ve *B.cereus*'ta olduğu gibi bu mikroorganizmaya karşıda $12.67 \pm 0,65$ 'lik bir inhibisyon zon değeri ile en yüksek aktiviteyi gösterdiği tespit edildi. Burada, Örnek 1,2,3,5,6 ve 7 nin *E. coli*'ye karşı antibakteriyel aktivitesinin birbirine yakın olduğu gözlemlendi. Yalnızca Örnek 4 ve 8'de herhangi bir aktivite gözlemlenmedi. pH 10.5'ta sentezlenen nanopartiküllerin antibakteriyel aktivitelerinin bu konsantrasyonda ortaya çıkmadığı tespit edildi.



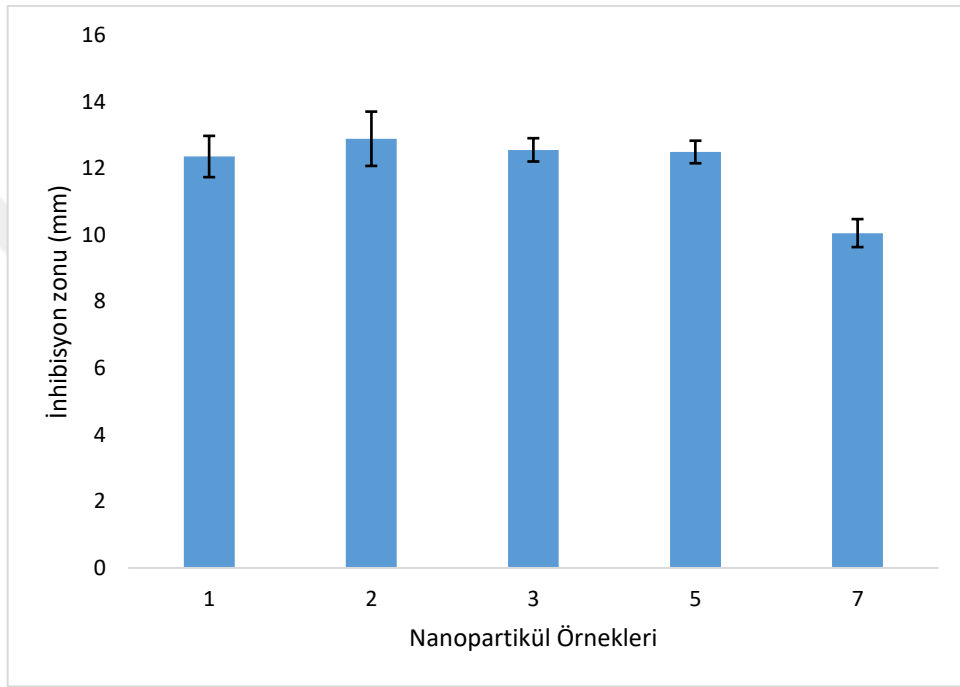
Şekil 4.39. Sentezlenen AgNP'lerin *Escherichia coli* bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği

Nanopartiküllerin *Salmonella typhimurium* mikroorganizmasına karşı antibakteriyel etkinliği Şekil 4.40'ta gösterildi. Burada Örnek 1,2,3 ve 5 'in sırası ile 13.73 ± 1.17 , 13.90 ± 0.55 , 13.96 ± 0.73 , 13.93 ± 0.64 değerlerinde birbirlerine yakın inhibisyon zonu gösterdiği belirlendi. Diğer mikroorganizmalarda olduğu gibi bu mikroorganizmaya karşıda Örnek 4 ve 8'de herhangi bir aktivite gözlemlenmedi.



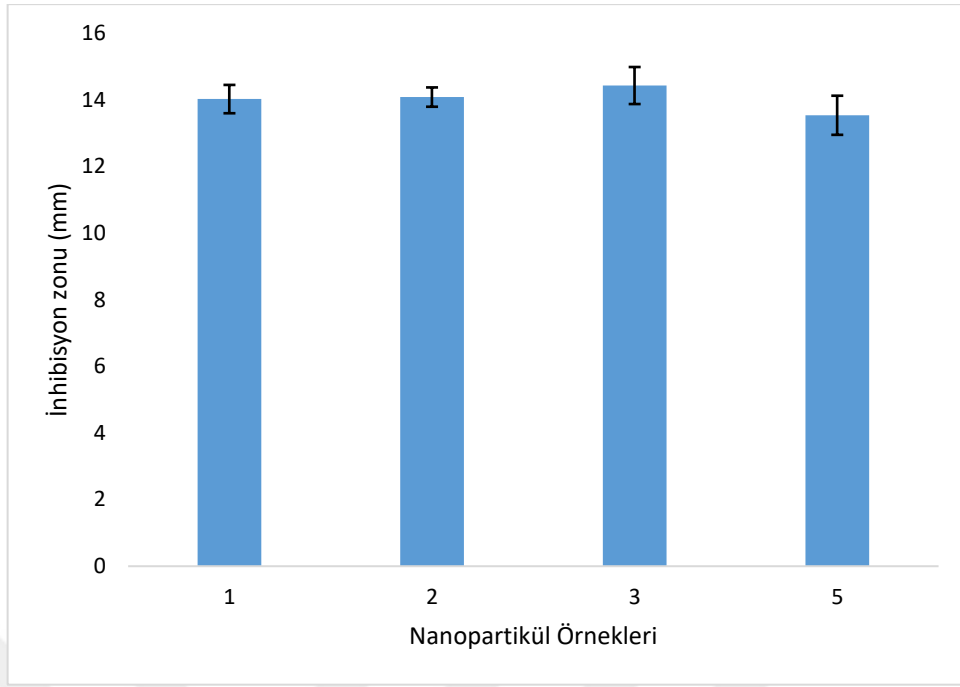
Şekil 4.40. Sentezlenen AgNP'lerin *Salmonella typhimurium* bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği

Nanopartiküllerin *Pseudomonas aeruginosa* mikroroganizmasına karşı geliştirdiği inhibisyon zonları Şekil 4.41’de gösterildi. Burada Örnek 2’nin 12.89 ± 0.61 değerindeki inhibisyon zonu ile en yüksek aktiviteyi gösterdiği belirlenirken, Örnek 1,3 ve 5’in bu değere yakın değerlerde inhibisyon gerçekleştirdiği bulundu. Örnek 6 da herhangi bir aktivite gözlemlenmemesi ekstrakt konsantrasyonunun antibakteriyel etkinliği değiştirdiğini gösterdi. Yine bu mikroorganizmada da Örnek 4 ve 8 için herhangi bir aktivite gözlemlenmedi.



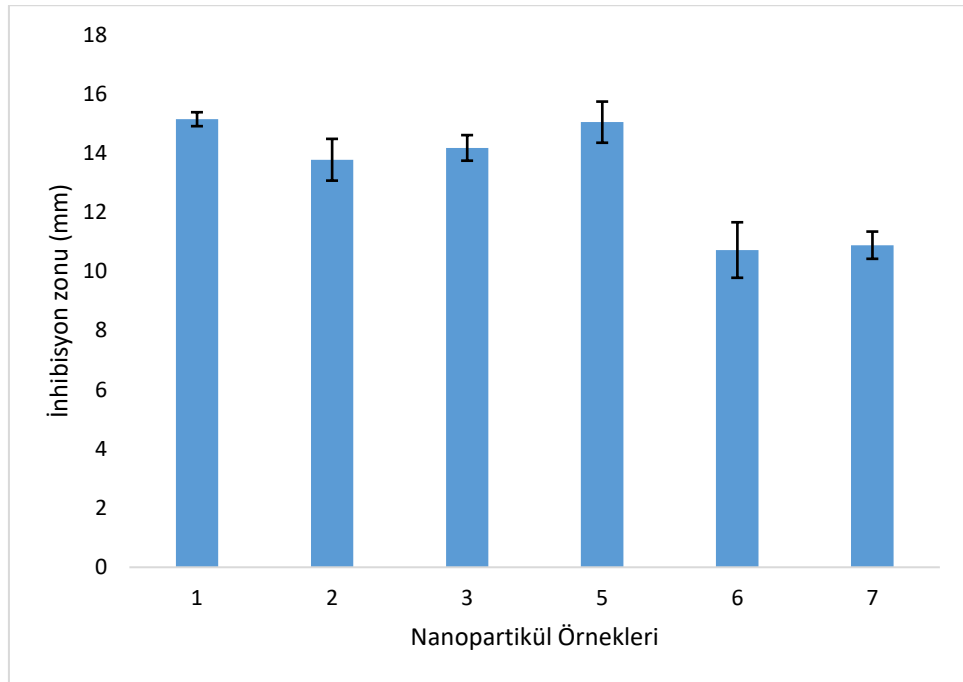
Şekil 4.41. Sentezlenen AgNP’lerin *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği

Sentezlenen AgNP’lerin *Bacillus subtilis*’e karşı antibakteriyel etkinliği Şekil 4.42’de gösterildi. Burada en yüksek aktiviteyi Örnek 3’ün 14.43 ± 0.55 inhibisyon zonu ile gösterdiği bulundu. Örnek 4, 6, 7 ve 8’ de bu mikroorganizmaya karşı herhangi bir aktivite bulunmadı.



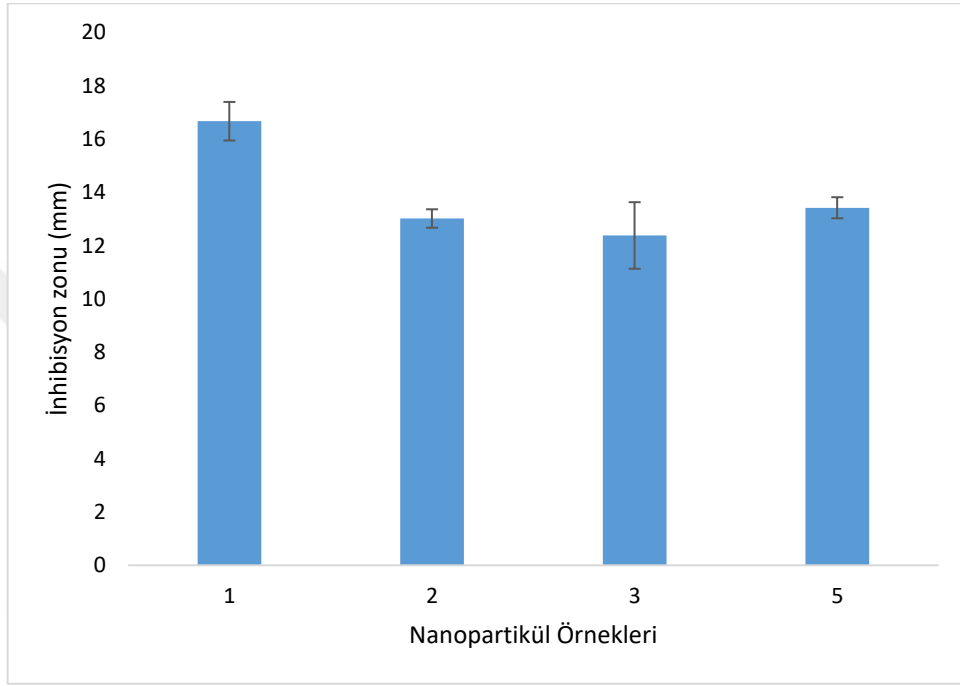
Şekil 4.42. Sentezlenen AgNP'lerin *Bacillus subtilis* bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği

Sentezlenen AgNP'lerin *Enterococcus faecalis* bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği şekil 4.43'te gösterildi. Bu mikroorganizmaya karşı en yüksek inhibisyon zonlarını pH 7.5'ta sentezlenen Örnek 1 ve Örnek 5'in sırası ile 15.14 ± 0.23 ve 15.04 ± 0.69 'luk değerler ile gösterdiği belirlendi. Örnek ve 4 ve 8 bu mikrororganizmaya karşı herhangi bir aktivite göstermedi.



Şekil 4.43. Sentezlenen AgNP'lerin *Enterococcus faecalis* bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği

Sentezlenen AgNP'lerin *Aspergillus niger* mikroorganizmasına karşı antifungal etkinliği Şekil 4.44'te verildi. Örneklerde en yüksek antifungal aktiviteyi gösteren nanopartikülün 16.14 ± 0.72 mm inhibisyon zon değeri ile Örnek 1 olduğu ortaya çıkarıldı. pH 7.5'ta sentezlenen nanopartiküllerin en yüksek antifungal aktiviteyi gösterdiği, ama oda sıcaklığındaki sentezin aktivite yönünde daha iyi olduğu belirlendi. Örnek 4,6,7 ve 8'in ise herhangi bir antifungal etkinliğe sahip olmadığı tespit edildi.



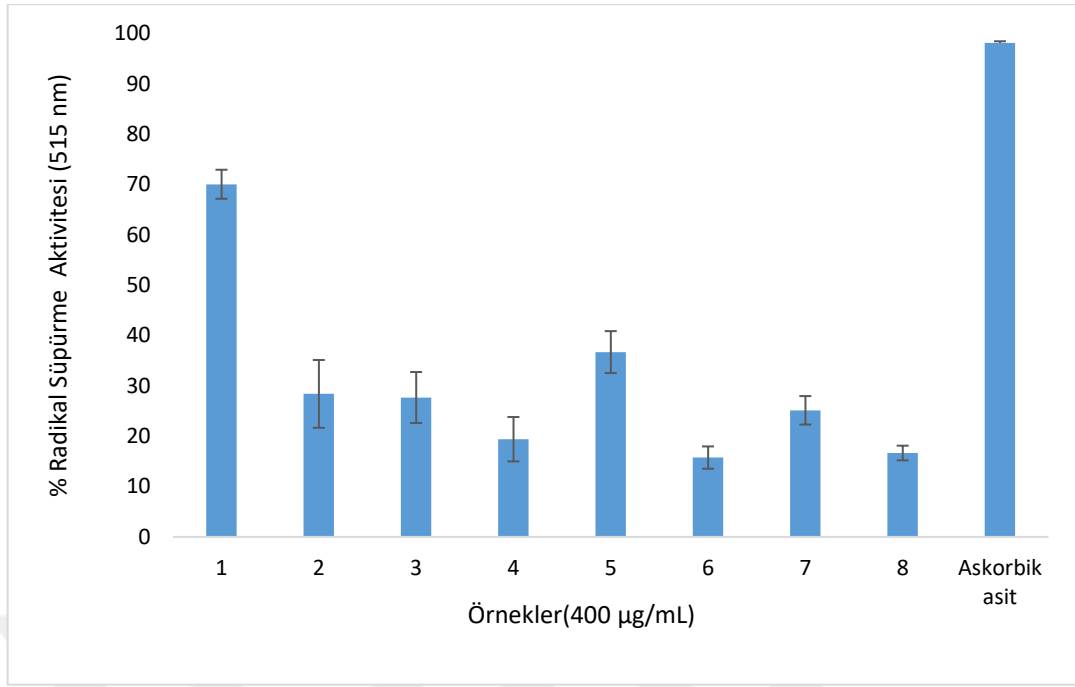
Şekil 4.44. Sentezlenen AgNP'lerin *Aspergillus niger* mikroroganizmasına karşı antifungal etkinliği

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde, farklı pH ile sentezlenen gümüş nanopartiküller ile benzer sonuçların bildirildiği görüldü. Bu çalışmalarda, gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel etkinliğinde ortamın başlangıç pH'ının, yüzey alanının ve şeklin önemli rol oynadığı savunulmuştur (Nayak ve ark., 2011).

4.7.Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin DPPH Radikali Süpürme

Etkinlikleri

Sentezlenen AgNP'lerin 400 µg/mL konsantrasyonlarda DPPH radikal süpürme aktiviteleri yüzde (%) değer olarak Şekil 4.45'te gösterildi. Askorbik asit kontrol olarak kullanıldı. Nanopartiküllerden Örnek 1'in % 70.05 ± 2.88 radikal süpürme aktivitesi ile en yüksek antioksidan aktiviteyi gösterdiği bulundu. pH 7.5'ta sentezlenen AgNP'lerin diğer ortam şartlarında sentezlenen nanopartiküllere oranla daha fazla aktivite gösterdikleri belirlendi.



Şekil 4.45. Sentezlenen AgNP'lerin DPPH radikal süpürme aktivitesi

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışma, gümüş nanopartiküllerin *Hibiscus sabdariffa* 'nın bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenebileceğini ve bu sentezdeki parametrelerin nanopartiküllerin karakteristik özelliklerini ve antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini değiştirebileceği ortaya çıkarıldı. Farklı parametreler kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonları çeşitli spektroskopik ve mikroskopik ölçümler ile gerçekleştirildi. Ayrıca, sentezlenen nanopartiküllerin parçacık boyu ve dağılım analizle DLS ölçümleri ile gerçekleştirildi. Bunlara ilaveten nanopartiküllerin zeta potansiyel değerleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğine, UV-Vis analizinden sentezlenen nanopartiküllerde pH değeri yükseldikçe nanopartiküllerin dalga boylarında düşüş olduğu belirlendi. FTIR analizi ise nanopartiküllerin oluşumunda fitokimyasalların rolünün olduğunu ve ayrıca AgNP'lerin stabilizasyonundan sorumlu olabileceği gözlemlendi. DLS analizi sonuçları, pH 7.5'ta oldukça homojen gümüş nanoyapıların varlığını PDI değerleri ile ortaya çıkardı. Oda sıcaklığındaki sentez parametrelerinden pH yükseldikçe nanopartikül boyutunun düştüğü tespit edildi. Aynı şekilde, nanopartiküllerin zeta potansiyelinin pH, AgNO₃ ve ekstrakt konsantrasyonlarından etkilendiği ortaya çıkarıldı. Oda sıcaklığında gerçekleştirilen ilk dört örnekteki sonuçlar zeta potansiyelinin pH yükseldikçe düştüğü ve AgNO₃ molar konsantrasyonunun arttıkça zeta potansiyelinin önemli oranda yükseldiğini gösterdi. Elde edilen zeta potansiyel değerleri, AgNP'lerin yüzey yükünü, dağılımını ve stabilitesini gösterdi. Sıcaklık, sentetik prosesin reaksiyon kinetiğini kontrol ettiği için gümüş nanopartiküllerin sentezinde dikkate alınması gereken bir diğer önemli faktördür. Sıcaklığın etkisi, oda sıcaklığı ve 50 °C'de nanopartikül sentez reaksiyonu gerçekleştirilerek incelendi. Sentez parametreleri içerisinde pH etkisinin nanopartikül karakteristik özellikleri üzerindeki etkisinin en fazla olduğu gözlemlendi.

Antimikrobiyal çalışma ayrıca sentezlenen nanopartiküllerin (Hs-AgNP'ler) hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilere karşı etkili olduğunu ortaya koydu. Diğer tarafta, nanopartiküllerin en yüksek aktiviteyi *S. aureus*'a karşı gösterdiği belirlendi. Bu bulgu farmakolojik ve tıbbi alanlarda faydalı olabilir. Genellikle düşük pH'taki örneklerin iyi bir antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenirken, diğer yandan pH 10.5'ta herhangi bir antimikrobiyal aktivitenin ortaya çıkmadığı belirlendi. Ayrıca, elde edilen verilere

bakıldığında ekstrakt konsantrasyonunun da antibakteriyel etkinliği değiştirdiği gözlemlendi. Bu anlamda reaksiyon parametrelerinin etkileri, değerlendirilen tüm özellikleri aynı şekilde etkiler. Bu çalışma ile tüm bu sonuçlardan, AgNP'lerin sentezinin reaksiyon parametrelerinin, ortaya çıkan nanopartiküllerin özellikleri için çok önemli olduğu ve bunların boyut dağılımını, aglomerasyonunu ve morfolojisini doğrudan etkilemesi ile biyolojik aktivitelerini etkilediği sonucuna varmak mümkündür.

5.2. Öneriler

Yeşil kimya, tehlikeli maddelerin kullanımını azaltmak veya ortadan kaldırmak için kimyasal süreçlerin geliştirilmesi ve uygulanması için yeni bir kavram olarak ortaya çıkmıştır. Bitki ekstraktlarının kullanımıyla nanopartikül sentezi çevre dostu bir sentez süreci olarak ortaya çıkmaktadır. Bitki ekstraktlarının sahip olduğu aktif metabolitlerin geniş bir yelpazesi nedeniyle, bitki ekstraktlarından nanopartiküllerin biyosentezi büyük ilgi görmektedir. Gümüş iyonları ve gümüş bileşikleri, güçlü antimikrobiyal etkileri nedeniyle farklı alanlarda antimikrobiyal ajanlar olarak tüketilmektedir. Özellikle nanopartiküllerin bitkiler aracılığı ile sentezinde sentez parametrelerinin antimikrobiyal etkinlik üzerindeki etkileri bu çalışma ile ortaya çıkarıldı. Bu çalışmanın bir sonraki adımı için;

- AgNP'lerin etki mekanizmasının tanımlanması günümüzde biyomedikal araştırmalar için bir önceliktir ve AgNP'lerin biyoaktivitesi ve biyouyumluluğu hakkında daha detaylı araştırma yapılması gerekmektedir.
- AgNP'lerin diğer antimikrobiyal ajanlarla birlikte kullanımına ilişkin çalışmalar, toksisite sorununun azaltılmasına ve direnç geliştirme potansiyelinin önlenmesine yardımcı olabilecektir. Bu yönde çalışma yapılması antimikrobiyal etkinliği güçlü bir şekilde artırabilir.
- Bitkiler aracılığı ile kimyasal indirgeme mekanizması, gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) elde etmek için erişilebilir ve kullanışlı bir alternatif haline geldi. Bununla birlikte, AgNP'lerin antimikrobiyal yeteneklerinde farklılıklar oluşturan birçok değişken bulunmaktadır. Bu nedenle, AgNP'lerin sentezi için parametreleri optimize etmek, fiziksel-kimyasal özelliklerini geliştirerek antimikrobiyal kapasitesini artırımı yönünde çalışmaların önemli olacağı düşünölmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abdel-Raouf, N., Alharbi, R. M., Al-Enazi, N. M., Alkhulaifi, M. M., and Ibraheem, I. B. M., 2018, Rapid biosynthesis of silver nanoparticles using the marine red alga *Laurencia catarinensis* and their characterization. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7 (1), 150–157.
- Albanese, A., Tang, P. S., and Chan, W. C. W., 2012, The Effect of Nanoparticle Size, Shape, and Surface Chemistry on Biological Systems. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 14 (1), 1–16.
- Arumai Selvan, D., Mahendiran, D., Senthil Kumar, R., and Kalilur Rahiman, A., 2018, Garlic, green tea and turmeric extracts-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Phytochemical, antioxidant and in vitro cytotoxicity studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 180, 243–252.
- Bar, H., Bhui, D. Kr., Sahoo, G. P., Sarkar, P., Pyne, S., and Misra, A., 2009, Green synthesis of silver nanoparticles using seed extract of *Jatropha curcas*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 348 (1), 212–216.
- Baxter, K., Driver, S., and Williamson, E., 2013, *Stockley's herbal medicines interactions*. Pharmaceutical Press.
- Benedec, D., Oniga, I., Cuibus, F., Sevastre, B., Stiufiuc, G., Duma, M., Hanganu, D., Iacovita, C., Stiufiuc, R., and Lucaciu, C. M., 2018, *Origanum vulgare* mediated green synthesis of biocompatible gold nanoparticles simultaneously possessing plasmonic, antioxidant and antimicrobial properties. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 1041–1058.
- Bindhu, M. R., and Umadevi, M., 2013, Synthesis of monodispersed silver nanoparticles using *Hibiscus cannabinus* leaf extract and its antimicrobial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 101, 184–190.
- Chappell, M. A., Miller, L. F., George, A. J., Pettway, B. A., Price, C. L., Porter, B. E., Bednar, A. J., Seiter, J. M., Kennedy, A. J., and Steevens, J. A., 2011, Simultaneous dispersion–dissolution behavior of concentrated silver nanoparticle suspensions in the presence of model organic solutes. *Chemosphere*, 84 (8), 1108–1116.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., and Heinrich, M., 2014, *Hibiscus sabdariffa* L. – A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, 165, 424–443.
- Dada, A. O., Adekola, F. A., Dada, F. E., Adelani-Akande, A. T., Bello, M. O., Okonkwo, C. R., Inyinbor, A. A., Oluyori, A. P., Olayanju, A., Ajanaku, K. O., and Adetunji, C. O., 2019, Silver nanoparticle synthesis by *Acalypha wilkesiana* extract: phytochemical screening, characterization, influence of operational parameters, and preliminary antibacterial testing. *Heliyon*, 5 (10), e02517.
- Dahl, J. A., Maddux, B. L. S., and Hutchison, J. E., 2007, Toward greener nanosynthesis. *Chemical Reviews*, 107 (6), 2228–2269.

- el Naim, A. M., and Ahmed, S. E., 2010, Effect of weeding frequencies on growth and yield of two roselle (*Hibiscus sabdariffa* L) varieties under rain fed. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4 (9), 4250–4255.
- Elizabeth, P.-S., Néstor, M.-M., and David, Q.-G., 2019, Nanoparticles as dental drug-delivery systems. In K. Subramani and W. Ahmed (Eds.), *Nanobiomaterials in Clinical Dentistry (Second Edition)* (pp. 567–593). Elsevier.
- Erci, F., Koc, R., and Isildak, I., 2018, Green synthesis of silver nanoparticles using *Thymbra spicata* L. var. *spicata* (zahter) aqueous leaf extract and evaluation of their morphology-dependent antibacterial and cytotoxic activity. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46 (sup1), 150–158.
- Erci, F., and Torlak, E., 2019, Antimicrobial and antibiofilm activity of green synthesized silver nanoparticles by using aqueous leaf extract of *Thymus serpyllum*. *Sakarya University Journal of Science*, 23 (3), 333–339.
- Feng, Q. L., Wu, J., Chen, G. Q., Cui, F. Z., Kim, T. N., and Kim, J. O., 2000, A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res*, 52, 662–668.
- Foudaa, A., Saad, E. L., Elgamala, M. S., Mohamedb, A. A., and Salema, S. S., 2017, Optimal factors for biosynthesis of silver nanoparticles by *Aspergillus* sp. *Al Azhar Bulletin of Science Vol. 9th., Conf*, 161–172.
- Fraga, S., Faria, H., Soares, M. E., Duarte, J. A., Soares, L., Pereira, E., Costa-Pereira, C., Teixeira, J. P., de Lourdes Bastos, M., and Carmo, H., 2013, Influence of the surface coating on the cytotoxicity, genotoxicity and uptake of gold nanoparticles in human HepG2 cells. *Journal of Applied Toxicology*, 33 (10), 1111–1119.
- Franci, G., Falanga, A., Galdiero, S., Palomba, L., Rai, M., Morelli, G., and Galdiero, M., 2015, Silver Nanoparticles as Potential Antibacterial Agents. In *Molecules* (Vol. 20, Issue 5).
- Gardea-Torresdey, J. L., Gomez, E., Peralta-Videa, J. R., Parsons, J. G., Troiani, H., and Jose-Yacamán, M., 2003, Alfalfa Sprouts: A Natural Source for the Synthesis of Silver Nanoparticles. *Langmuir*, 19 (4), 1357–1361.
- Gubitosa, J., Rizzi, V., Lopodota, A., Fini, P., Laurenzana, A., Fibbi, G., Fanelli, F., Petrella, A., Laquintana, V., Denora, N., Comparelli, R., and Cosma, P., 2018, One pot environmental friendly synthesis of gold nanoparticles using *Punica granatum* Juice: A novel antioxidant agent for future dermatological and cosmetic applications. *Journal of Colloid and Interface Science*, 521, 50–61.
- Gurunathan, S., Han, J., Park, J. H., and Kim, J.-H., 2014, A green chemistry approach for synthesizing biocompatible gold nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, 9 (1), 248.

- Hernández-Morales, L., Espinoza-Gómez, H., Flores-López, L. Z., Sotelo-Barrera, E. L., Núñez-Rivera, A., Cadena-Nava, R. D., Alonso-Núñez, G., and Espinoza, K. A., 2019, Study of the green synthesis of silver nanoparticles using a natural extract of dark or white *Salvia hispanica* L. seeds and their antibacterial application. *Applied Surface Science*, 489, 952–961.
- Jahan, I., Erci, F., and Isildak, I., 2019, Microwave-Assisted Green Synthesis of Non-Cytotoxic Silver Nanoparticles Using the Aqueous Extract of *Rosa santana* (rose) Petals and Their Antimicrobial Activity. *Analytical Letters*, 52 (12), 1860-1873.
- Jahan, I., Erci, F., and Isildak, I., 2021, Rapid green synthesis of non-cytotoxic silver nanoparticles using aqueous extracts of “Golden Delicious” apple pulp and cumin seeds with antibacterial and antioxidant activity. *SN Applied Sciences*, 3 (1).
- Jeeva, K., Thiagarajan, M., Elangovan, V., Geetha, N., and Venkatachalam, P., 2014, *Caesalpinia coriaria* leaf extracts mediated biosynthesis of metallic silver nanoparticles and their antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Industrial Crops and Products*, 52, 714–720.
- Jiang, W., Mashayekhi, H., and Xing, B., 2009, Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles. *Environmental Pollution*, 157 (5), 1619–1625.
- Jiménez Pérez, Z. E., Mathiyalagan, R., Markus, J., Kim, Y.-J., Kang, H. M., Abbai, R., Seo, K. H., Wang, D., Soshnikova, V., and Yang, D. C., 2017, Ginseng-berry-mediated gold and silver nanoparticle synthesis and evaluation of their in vitro antioxidant, antimicrobial, and cytotoxicity effects on human dermal fibroblast and murine melanoma skin cell lines. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 709–723.
- Jiménez, Z., Kim, Y.-J., Mathiyalagan, R., Seo, K.-H., Mohanan, P., Ahn, J.-C., Kim, Y.-J., and Yang, D. C., 2018, Assessment of radical scavenging, whitening and moisture retention activities of *Panax ginseng* berry mediated gold nanoparticles as safe and efficient novel cosmetic material. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46 (2), 333–340.
- Jinu, U., Gomathi, M., Saiqa, I., Geetha, N., Benelli, G., and Venkatachalam, P., 2017, Green engineered biomolecule-capped silver and copper nanohybrids using *Prosopis cineraria* leaf extract: Enhanced antibacterial activity against microbial pathogens of public health relevance and cytotoxicity on human breast cancer cells (MCF-7). *Microbial Pathogenesis*, 105, 86–95.
- Kalimuthu, K., Suresh Babu, R., Venkataraman, D., Bilal, M., and Gurunathan, S., 2008, Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 65 (1), 150–153.
- Kalita, N. K., and Ganguli, J. N., 2017, *Hibiscus sabdariffa* L. leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles and its use in catalytic reduction of 4-nitrophenol. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 47 (5), 788–793.

- Kasithevar, M., Periakaruppan, P., Muthupandian, S., and Mohan, M., 2017, Antibacterial efficacy of silver nanoparticles against multi-drug resistant clinical isolates from post-surgical wound infections. *Microbial Pathogenesis*, 107, 327–334.
- Khan, Md. R., Hoque, S. M., Hossain, K. F. B., Siddique, Md. A. B., Uddin, Md. K., and Rahman, Md. M., 2022, Green synthesis of silver nanoparticles using Hibiscus sabdariffa leaf extract and its cytotoxicity assay. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 1–11.
- Khan, S. S., Mukherjee, A., and Chandrasekaran, N., 2011, Impact of exopolysaccharides on the stability of silver nanoparticles in water. *Water Research*, 45 (16), 5184–5190.
- Kumar, P. V., Jelastin Kala, S. M., and Prakash, K. S., 2019, Green synthesis derived Pt-nanoparticles using *Xanthium strumarium* leaf extract and their biological studies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7 (3), 103146.
- Kumar, V. S., Nagaraja, B. M., Shashikala, V., Padmasri, A. H., Madhavendra, S. S., Raju, B. D., and Rao, K. S. R., 2004, Highly efficient Ag/C catalyst prepared by electro-chemical deposition method in controlling microorganisms in water. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 223 (1–2), 313–319.
- Li, W.-R., Xie, X.-B., Shi, Q.-S., Zeng, H.-Y., OU-Yang, Y.-S., and Chen, Y.-B., 2010, Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on Escherichia coli. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85 (4), 1115–1122.
- Lidén, G., 2011, The European Commission Tries to Define Nanomaterials. *The Annals of Occupational Hygiene*, 55 (1), 1–5.
- Lin, Q., Hong, X., Zhang, D., and Jin, H., 2019, Biosynthesis of size-controlled gold nanoparticles using M. lucida leaf extract and their penetration studies on human skin for plastic surgery applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 199, 111591.
- Liz-Marzán, L. M., and Kamat, P. V., 2003, *Nanoscale Materials BT - Nanoscale Materials* (L. M. Liz-Marzán and P. v Kamat, Eds.; pp. 1–3). Springer US.
- Luangpipat, T., Beattie, I. R., Chisti, Y., and Haverkamp, R. G., 2011, Gold nanoparticles produced in a microalga. *Journal of Nanoparticle Research*, 13 (12), 6439–6445.
- Manosalva, N., Tortella, G., Cristina Diez, M., Schalchli, H., Seabra, A. B., Durán, N., and Rubilar, O., 2019, Green synthesis of silver nanoparticles: effect of synthesis reaction parameters on antimicrobial activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35 (6), 88.
- Mashwani, Z.-R., Khan, M. A., Khan, T., and Nadhman, A., 2016, Applications of plant terpenoids in the synthesis of colloidal silver nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 234, 132–141.

- Meyers, M. A., Mishra, A., and Benson, D. J., 2006, Mechanical properties of nanocrystalline materials. *Progress in Materials Science*, 51 (4), 427–556.
- Mittal, A. K., Chisti, Y., and Banerjee, U. C., 2013, Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, 31 (2), 346–356.
- Mohamed, A. A., Fouda, A., Abdel-Rahman, M. A., Hassan, S. E.-D., El-Gamal, M. S., Salem, S. S., and Shaheen, T. I., 2019, Fungal strain impacts the shape, bioactivity and multifunctional properties of green synthesized zinc oxide nanoparticles. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 19, 101103.
- Mohamed, R., Fernández, J., Pineda, M., and Aguilar, M., 2007, Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Seed Oil Is a Rich Source of γ -Tocopherol. *Journal of Food Science*, 72 (3), S207–S211.
- Mohanty, S., Mishra, S., Jena, P., Jacob, B., Sarkar, B., and Sonawane, A., 2012, An investigation on the antibacterial, cytotoxic, and antibiofilm efficacy of starch-stabilized silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 8 (6), 916–924.
- Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Ghasemi, Y., Atapour, A., Amani, A. M., Savar Dashtaki, A., Babapoor, A., and Arjmand, O., 2018, Green synthesis of silver nanoparticles toward bio and medical applications: review study. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46 (sup3), S855–S872.
- Mukherjee, S., Chowdhury, D., Kotcherlakota, R., and Patra, S., 2014, Potential theranostics application of bio-synthesized silver nanoparticles (4-in-1 system). *Theranostics*, 4 (3), 316.
- Mukhopadhyay, R., Kazi, J., and Debnath, M. C., 2018, Synthesis and characterization of copper nanoparticles stabilized with *Quisqualis indica* extract: Evaluation of its cytotoxicity and apoptosis in B16F10 melanoma cells. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 97, 1373–1385.
- Müller, B., Kraus, J., and Franz, G., 1989, Polysaccharides from *Hibiscus sabdariffa*: Structural Investigation and Biological Activity. *Planta Medica*, 55 (07), 659–660.
- Mustapha, T., Misni, N., Ithnin, N. R., Daskum, A. M., and Unyah, N. Z., 2022, A Review on Plants and Microorganisms Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles, Role of Plants Metabolites and Applications. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19 (2), 674.
- Nayak, R. R., Pradhan, N., Behera, D., Pradhan, K. M., Mishra, S., Sukla, L. B., and Mishra, B. K., 2011, Green synthesis of silver nanoparticle by *Penicillium purpurogenum* NPMF: the process and optimization. *Journal of Nanoparticle Research*, 13 (8), 3129–3137.
- Noruzi, M., Zare, D., Khoshnevisan, K., and Davoodi, D., 2011, Rapid green synthesis of gold nanoparticles using *Rosa hybrida* petal extract at room temperature.

Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 79 (5), 1461–1465.

- Nouri, A., Tavakkoli Yarak, M., Lajevardi, A., Rezaei, Z., Ghorbanpour, M., and Tanzifi, M., 2020, Ultrasonic-assisted green synthesis of silver nanoparticles using *Mentha aquatica* leaf extract for enhanced antibacterial properties and catalytic activity. *Colloid and Interface Science Communications*, 35, 100252.
- Paiva-Santos, A. C., Herdade, A. M., Guerra, C., Peixoto, D., Pereira-Silva, M., Zeinali, M., Mascarenhas-Melo, F., Paranhos, A., and Veiga, F., 2021, Plant-mediated green synthesis of metal-based nanoparticles for dermatopharmaceutical and cosmetic applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 597, 120311.
- Patil, M. P., Jin, X., Simeon, N. C., Palma, J., Kim, D., Ngabire, D., Kim, N.-H., Tarte, N. H., and Kim, G.-D., 2018, Anticancer activity of *Sasa borealis* leaf extract-mediated gold nanoparticles. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46 (1), 82–88.
- Peng, Z. G., Hidajat, K., and Uddin, M. S., 2004, Adsorption of bovine serum albumin on nanosized magnetic particles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 271 (2), 277–283.
- Rajeshkumar, S., and Bharath, L. V. , 2017, Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles – A review on biomolecules involved, characterisation and antibacterial activity. *Chemico-Biological Interactions*, 273, 219–227.
- Rajoriya, P., Barcelos, M. C. S., Ferreira, D. C. M., Misra, P., Molina, G., Pelissari, F. M., Shukla, P. K., and Ramteke, P. W., 2021, Green Silver Nanoparticles: Recent Trends and Technological Developments. *Journal of Polymers and the Environment*, 29 (9), 2711–2737.
- Rasheed, T., Bilal, M., Iqbal, H. M. N., and Li, C., 2017, Green biosynthesis of silver nanoparticles using leaves extract of *Artemisia vulgaris* and their potential biomedical applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 158, 408–415.
- Riaz, G., and Chopra, R., 2018, A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 102, 575–586.
- Riaz, T., Zeeshan, R., Zarif, F., Ilyas, K., Muhammad, N., Safi, S. Z., Rahim, A., Rizvi, S. A. A., and Rehman, I. U., 2018, FT-IR analysis of natural and synthetic collagen. *Applied Spectroscopy Reviews*, 53 (9), 703–746.
- Rodríguez-Medina, I. C., Beltrán-Debón, R., Molina, V. M., Alonso-Villaverde, C., Joven, J., Menéndez, J. A., Segura-Carretero, A., and Fernández-Gutiérrez, A. ,2009, Direct characterization of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* using HPLC with diode array detection coupled to ESI and ion trap MS. *Journal of Separation Science*, 32 (20), 3441–3448.
- Rolim, W. R., Pelegriño, M. T., de Araújo Lima, B., Ferraz, L. S., Costa, F. N., Bernardes, J. S., Rodrigues, T., Brocchi, M., and Seabra, A. B. , 2019, Green tea extract mediated

- biogenic synthesis of silver nanoparticles: Characterization, cytotoxicity evaluation and antibacterial activity. *Applied Surface Science*, 463, 66–74.
- Saeed, S., Iqbal, A., and Ashraf, M. A., 2020, Bacterial-mediated synthesis of silver nanoparticles and their significant effect against pathogens. *Environmental Science and Pollution Research*, 27 (30), 37347–37356.
- Scholes, G. D., 2008, Controlling the Optical Properties of Inorganic Nanoparticles. *Advanced Functional Materials*, 18 (8), 1157–1172.
- Sepeur, S., 2008, *Nanotechnology: technical basics and applications*. Vincentz Network GmbH & Co KG.
- Sharma, V. K., Yngard, R. A., and Lin, Y., 2009, Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*, 145 (1–2), 83–96.
- Singh, A., Jain, D., Upadhyay, M. K., Khandelwal, N., and Verma, H. N., 2010, Green synthesis of silver nanoparticles using Argemone mexicana leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Dig J Nanomater Bios*, 5 (2), 483–489.
- Singh, J., and Dhaliwal, A. S., 2019, Novel Green Synthesis and Characterization of the Antioxidant Activity of Silver Nanoparticles Prepared from *Nepeta leucophylla* Root Extract. *Analytical Letters*, 52 (2), 213–230.
- Singh, J., Dutta, T., Kim, K.-H., Rawat, M., Samddar, P., and Kumar, P., 2018, ‘Green’ synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *Journal of Nanobiotechnology*, 16 (1), 84.
- Tsegay, M. G., Gebretinsae, H. G., Sackey, J., Maaza, M., and Nuru, Z. Y., 2021, Green synthesis of khat mediated silver nanoparticles for efficient detection of mercury ions. *Materials Today: Proceedings*, 36, 368–373.
- Usman, A. I., Aziz, A. A., and Noqta, O. A., 2019, Green sonochemical synthesis of gold nanoparticles using palm oil leaves extracts. *Materials Today: Proceedings*, 7, 803–807.
- Velayutham, K., Rahuman, A. A., Rajakumar, G., Roopan, S. M., Elango, G., Kamaraj, C., Marimuthu, S., Santhoshkumar, T., Iyappan, M., and Siva, C., 2013, Larvicidal activity of green synthesized silver nanoparticles using bark aqueous extract of *Ficus racemosa* against *Culex quinquefasciatus* and *Culex gelidus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6 (2), 95–101.
- Velgosová, O., Mražíková, A., and Marcinčáková, R., 2016, Influence of pH on green synthesis of Ag nanoparticles. *Materials Letters*, 180, 336–339.
- Verma, A., and Mehata, M. S., 2016, Controllable synthesis of silver nanoparticles using Neem leaves and their antimicrobial activity. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9 (1), 109–115.

- Wang, M. L., Morris, B., Tonnis, B., Davis, J., and Pederson, G. A., 2012, Assessment of Oil Content and Fatty Acid Composition Variability in Two Economically Important *Hibiscus* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (26), 6620–6626.
- WHO., 2014, *Antimicrobial resistance: global report on surveillance*. World Health Organization.
- Xiu, Z., Zhang, Q., Puppala, H. L., Colvin, V. L., and Alvarez, P. J. J., 2012, Negligible Particle-Specific Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles. *Nano Letters*, 12 (8), 4271–4275.
- Yilmaz, A., and Yilmaz, M., 2020, Bimetallic Core–Shell Nanoparticles of Gold and Silver via Bioinspired Polydopamine Layer as Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) Platform. *Nanomaterials*, 10 (4), 688.

