



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**DAPHNE OLEOİDES' DEN SENTEZLENEN
GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN
ANTIÖKSİDAN AKTİVİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Tevfik ERASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı

Aralık-2020
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Tevfik ERASLAN tarafından hazırlanan “*Daphne oleoides*’ den Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin Antioksidan Aktivitesinin Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması 31/12/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı’ nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Doç. Dr. Süleyman DOĞU

Danışman

Prof. Dr. Gökalep Özmen GÜLER

Üye

Doç. Dr. Gökhan ZENGİN

İmza



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

Prof. Dr. S. Savaş DURDURAN
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 191310002 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.

Tevfik ERASLAN
16.12.2020

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DAPHNE OLEOİDES' DEN SENTEZLENEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Tevfik ERASLAN

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gökalep Özmen GÜLER

2020, 99 Sayfa

Jüri

Danışman Prof. Dr. Gökalep Özmen GÜLER
Doç. Dr. Süleyman DOĞU
Doç. Dr. Gökhan ZENGİN

Gümüş nanopartiküller (AgNPs) benzersiz biyolojik özellikleri ve doğal bir antioksidan kaynağı olarak değerlendirilmeleri nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Hazırlama yöntemleri dikkate alındığında yeşil sentez yöntemi fiziksel ve kimyasal yöntemlerdeki sınırlamaların ortadan kaldırılması için son dönemlerde en çok kullanılan yaklaşımlardan birisidir. Bu çalışmada *Daphne oleoides* SCHREBER *subsp. oleoides* SCHREBER' den yeşil sentez yöntemiyle elde edilen gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir.

Sentezlenen nanopartiküller 430 nm absorbandsında nanopartiküllerin oluşumunu gösteren görünür renk değişimi ve Ultraviyole Görünür Spektrofotometrisi (UV-Vis) ile karakterize edilmiştir. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) nanopartiküllerin fonksiyonel gruplarını incelemek için yapılmıştır. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ortalama boyutu 25 nm olan küre şeklindeki gümüş nanopartiküllerin yapısını ortaya çıkarmıştır. Enerji Dağılım X-ray Spektroskopisi (EDS) metal gümüşün varlığını doğrulamıştır. Nanopartiküllerin stabil yapıda olduğu Zeta potansiyeli ölçümü ile belirlenmiştir. Dinamik Işık Saçılması (DLS) yöntemiyle gümüş nanopartiküllerin ortalama boyutunun 198.9 nm olduğu tespit edilmiştir. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüleri nanopartiküllerin küresel şekilli oluşumunu ve hemen hemen homojen bir boyut dağılımını teyit etmiştir. Bu sonuçlar gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezinin başarılı olduğunu göstermiştir.

Gümüş nanopartiküllerin total antioksidan içeriği (Fosfomolibdat testi) 0.53 mmol TE/g, özütün 3.54 mmol TE/g; Gümüş nanopartiküllerin DPPH aktivitesi 3.35 mg TE/g, özütün 60.08 mg TE/g; Gümüş nanopartiküllerin ABTS aktivitesi 17.93 mg TE/g, özütün 149.72 mg TE/g; Gümüş nanopartiküllerin CUPRAC (Bakır indirgeme gücü) analiz sonucu 67.33 mg TE/g, özütün 178.94; Gümüş nanopartiküllerin FRAP (Ferrik indirgeyici antioksidan gücü) analiz sonucu 47.61 mg TE/g, özütün 148.64 mg TE/g; Gümüş nanopartiküllerin metal şelatlama kapasitesi analiz sonucu 11.73 mg EDTAE/g, özütün ise 37.96 mg EDTAE/g olarak bulunmuştur.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında *Daphne oleoides* SCHREBER *subsp. oleoides* SCHREBER' den yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonu yapılmış ve antioksidan aktivitesi incelenmiş olup elde edilen değerler bir antioksidan kapasitenin varlığına işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, *Daphne oleoides*, gümüş nanopartikül, yeşil sentez

ABSTRACT

MS THESIS

EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SILVER NANOPARTICLES SYNTHESIZED FROM DAPHNE OLEOIDES

Tevfik ERASLAN

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

Advisor: Prof. Dr. Gökalg Özmen GÜLER

2020, 99 Pages

Jury

Advisor Prof. Dr. Gökalg Özmen GÜLER

Doç. Dr. Süleyman DOĞU

Doç. Dr. Gökhan ZENGİN

Silver nanoparticles (AgNPs) are of interest to researchers because of their unique biological properties and their value as a natural source of antioxidants. Considering the preparation methods, the green synthesis method is one of the most frequently used approaches to eliminate the limitations in physical and chemical methods. In this study, antioxidant activity of silver nanoparticles obtained from *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER by green synthesis method was evaluated.

The synthesized nanoparticles were characterized by visible color change and Ultraviolet Visible Spectrophotometry (UV-Vis) showing the formation of nanoparticles at 430 nm absorbance. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) were performed to examine functional groups. Transmission Electron Microscope (TEM) revealed the structure of spherical silver nanoparticles which an average size of 25 nm. Energy Distribution X-ray Spectroscopy (EDS) confirmed the presence of metal silver. The nanoparticles are determined to be stable with Zeta potential measurement. The average size of silver nanoparticles was found to be 198.9 nm by Dynamic Light Scattering (DLS) method. Scanning Electron Microscope (SEM) images confirmed the spherical shape of the nanoparticles and an almost homogeneous size distribution. These results showed that the green synthesis of silver nanoparticles was successful.

Total antioxidant content (Phosphomolybdate test) was found to be 0.53 mmol TE/g and 3.54 mmol TE/g for silver nanoparticles and extract, respectively. DPPH activity was determined as 3.35 mg TE/g and 60.08 mg TE/g for silver nanoparticles and extract, respectively. ABTS activity was detected as 17.93 mg TE/g and 149.72 mg TE/g for silver nanoparticles and extract, respectively. CUPRAC (Copper reducing power) analysis result was found to be 67.33 mg TE/g and 178.94 mg TE/g for silver nanoparticles and extract, respectively. The result of FRAP (Ferric reducing antioxidant power) analysis was determined as 47.61 mg TE/g and 148.64 mg TE/g for silver nanoparticles and extract, respectively. The metal chelating capacity was detected as 11.73 mg EDTAE/g and 37.96 mg EDTAE/g for silver nanoparticles and extract, respectively.

In this master's thesis study the characterization of silver nanoparticles synthesized from *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER by green synthesis method was made and their antioxidant activity was investigated. The values obtained indicate the presence of an antioxidant capacity.

Keywords: Antioxidant, *Daphne oleoides*, silver nanoparticles, green synthesis.

ÖNSÖZ

Necmettin Erbakan Üniversitesi Eğitim Fakültesi Hayvan Fizyolojisi ve Biyokimya Araştırma Laboratuvarlarında yürütölmüş olan bu yüksek lisans tez çalışmasında *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den yeşil sentez yöntemi ile elde edilen gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesi incelenmiştir.

Tez çalışmamım her aşamasını titizlikle yönlendiren, araştırmalarım esnasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek özveriyle destek olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gökarp Özmen GÜLER' e,

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Nanobilim ve Nanomühendislik Ana Bilim Dalı' nın kıymetli akademisyenlerine,

Çalışmalarımdeki antioksidan aktivite testlerinin yapılmasındaki katkıları ve yardımlarından dolayı Doç. Dr. Gökhan ZENGİN ve Dr. Ramazan CEYLAN' a,

Her daim yanımda olan Ailem ve mesai arkadaşlarıma,

Çalışmalarıma yardımcı olan BİTAM personeline ve tezimi 191310002 numaralı proje ile maddi olarak destekleyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' ne teşekkür ederim.

Tevfik ERASLAN
KONYA-2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
RESİMLER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Nanoteknoloji.....	3
2.2. Nanoteknolojinin Tarihsel Gelişimi.....	4
2.3. Nanopartiküllerin ve Nanomateryallerin Sınıflandırılması	5
2.3.1. Lipozomlar	7
2.3.2. Süperparamanyetik Nanopartiküller	7
2.3.3. Fullerenler: Buckyballar ve Karbon Nanotüpler	8
2.3.4. Dendrimerler	9
2.3.5. Kuantum Dotlar	10
2.4. Metal Nanopartiküller.....	11
2.4.1. Gümüş Elementinin Temel Özellikleri	11
2.4.2. Gümüş Nanopartiküllerin Genel Özellikleri ve Kullanım Alanları.....	11
2.4.3. Gümüş Nanopartiküllerin Bitkiler Üzerine Etkileri.....	13
2.5. Metal Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri.....	15
2.5.1. Nanopartiküllerin Biyosentezi	15
2.6. Nanopartiküllerin Bitkiler Aracılığı ile Sentezi.....	17
2.6.1. Nanopartiküllerin Bitki Tarafından Alımı	17
2.6.2. Bitki Ekstraktlarıyla Nanopartiküllerin Sentezini Etkileyen Faktörler.....	19
2.7. Biyolojik Sentez Sonrası Nanopartiküllerin Ayırıştırılması	21
2.7.1. Yoğunluk Gradyanlı Santrifüj	21
2.7.2. Liyofilizasyon	21
2.7.3. Alan-Akış Ayırma Yöntemi.....	21
2.7.4. Elektroforez ve Kapiler Elektroforez.....	22
2.7.5. Diğer Yöntemler	22
2.8. Biyolojik Sentez Sonrası Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	22
2.8.1. Sentezlenmiş Nanopartiküllerin X-ışını Kırınımı.....	23
2.8.2. Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM).....	23
2.8.3. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM).....	24
2.8.4. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)	24
2.8.5. UV-Vis Spektroskopisi	25

2.8.6. Dinamik Işık Saçılması (DLS) ve Zeta Potansiyeli	25
2.8.7. Enerji Dağılım X-RAY Spektroskopisi (EDS)	26
2.8.8. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)	26
2.9. Serbest Radikaller	27
2.10. Antioksidanlar	29
2.10.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	31
2.11. Fenolik Bileşikler	32
2.12. Nanopartiküllerin Oksidatif Stres Üzerine Etkisi	33
2.13. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi	35
2.14. Antioksidan Kapasite Belirleme Yöntemleri	36
2.15. <i>Thymelaeaceae</i> Familyası ve <i>Daphne</i> Cinsi	37
3. MATERYAL VE YÖNTEM	38
3.1. Çalışmada Kullanılan <i>Daphne oleoides</i> SCHREBER subsp. <i>oleoides</i> SCHREBER ve Özellikleri	38
3.2. Bitkisel Ekstraktın Hazırlanması	39
3.3. Gümüş Nanopartiküllerin Biyolojik Sentezi	39
3.4. Biyolojik Sentez Sonrası Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	39
3.4.1. Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM)	39
3.4.2. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)	40
3.4.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)	41
3.4.4. UV-Vis Spektroskopisi	41
3.4.5. Dinamik Işık Saçılması (DLS) ve Zeta Potansiyeli	42
3.4.6. Enerji Dağılım X-RAY Spektroskopisi (EDS)	42
3.5. Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesinde Uygulanan Metotlar	43
3.5.1. Toplam Antioksidan Aktivite Belirleme	43
3.5.2. Radikal Süpürme Potansiyeli Belirleme	43
3.5.3. İndirgeme Potansiyeli Belirleme	44
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	45
4.1. <i>Daphne oleoides</i> SCHREBER subsp. <i>oleoides</i> SCHREBER' e Ait Sonuçlar	45
4.1.1. Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM)	45
4.1.2. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)	46
4.1.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)	47
4.1.4. UV-Vis Spektroskopisi	48
4.1.5. Dinamik Işık Saçılması (DLS) ve Zeta Potansiyeli	49
4.1.6. Enerji Dağılım X-RAY Spektroskopisi (EDS)	51
4.2. Antioksidan Kapasite Testlerine Ait Sonuçlar	52
4.2.1. Fosfomolibdat Testi	53
4.2.2. DPPH Testi	54
4.2.3. ABTS Testi	55
4.2.4. CUPRAC Testi	55
4.2.5. FRAP Testi	56
4.2.6. Metal Şelatlama Testi	56
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	58
5.1 Sonuçlar	58
5.2 Öneriler	61

6. KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	85



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

mg	miligram
g	gram
nm	nanometre
dk	dakika
ml	mililitre
cm	santimetre
µg	mikrogram
°C	derece santigrat
M	molar

Kısaltmalar

AFM	Atomik kuvvet mikroskopunun
AgNP	Gümüş nanopartikül
APX	Askorbat peroksidaz
ATP	Adenozin trifosfat
Au	Altın
BHA	Bütil hidroksi tolüen
BHT	Bütillendirilmiş hidroksi tolüen
CAT	Katalaz
CNTs	Karbon nanotüpler
DLS	Dinamik ışık saçılımı spektroskopisi
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDX	Enerji dağılımlı X-ışını analizi
FTIR	Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi
GPX	Glutasyon peroksidaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
Mo	Molibden
MRI	Manyetik rezonans görüntüleme
NO	Nitrik oksit
Np	Nanopartikül
O ₂ · ⁻	Süperoksit radikali
POX	Peroksidaz
PRX	Peroksiredoksinler
QD	Kuantum dot
RNS	Reaktif nitrojen türleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SPION	Süperparamanyetik demir oksit nanopartikülleri
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
TiO ₂	Titanyum dioksit
TRX	Tiyoredoksinler
UV	Ultraviyole ışın
ZnO	Çinko oksit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Makro ölçekli parçacıklar ile nanopartiküllerin karşılaştırılması.....	3
Şekil 2.2. Nanoteknolojinin dört kuşaklık zaman çizelgesi.....	5
Şekil 2.3. Nanomateriyallerin boyutları.....	6
Şekil 2.4. Kanseri aşılarında kullanılan lipozom	7
Şekil 2.5. Süper paramanyetik demir oksit nanopartikül.....	8
Şekil 2.6. Üç boyutlu fulleren yapısı	9
Şekil 2.7. Karbon nanotüp	9
Şekil 2.8. Dendrimer	10
Şekil 2.9. Değişen optik özelliklere sahip kuantum dot	10
Şekil 2.10. Gümüş nanopartiküllerin kullanım alanlarının yüzdelik dağılımı.....	13
Şekil 2.11. Gümüş nanopartikül toksisitesini etkileyen faktörler	14
Şekil 2.12. Nanopartikül sentezinde yaklaşımlar.....	15
Şekil 2.13. Yeşil sentez ile nanopartikül üretim karakterizasyon ve uygulama aşamaları ..	16
Şekil 2.14. Nanopartiküllerin bitki tarafından alımı ve iletimi.....	18
Şekil 2.15. Nanopartiküllerin bitki kökü tarafından alımı	18
Şekil 2.16. Bitki hücresi tarafından nanopartikül alımı	19
Şekil 2.17. Oksitlenmiş polifenollerin, gümüş nanopartiküllerin boyutunun ve şeklinin ayarlanmasında rolünü gösteren mekanizma	21
Şekil 2.18. Organizmada serbest radikal oluşma yolları	29
Şekil 2.19. Antioksidanların sınıflandırılması	31
Şekil 2.20. Nanopartiküllerin indüklediği ROT üretimi ve etkileri.....	34
Şekil 2.21. Antioksidan tayin yöntemleri	36
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan taksona ait bilgiler.....	38
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan taksonun Türkiye’deki dağılımı.....	38
Şekil 4.1. Gümüş nanopartiküllerin TEM görüntüsü.....	45
Şekil 4.2. Gümüş nanopartiküllerin ortalama boyutu	46
Şekil 4.3. Gümüş nanopartiküllerin SEM görüntüsü.....	46
Şekil 4.4. Özütleme FTIR spektrumu.....	47

Şekil 4.5. Gümüş nanopartiküllerin FTIR spektrumu.....	48
Şekil 4.6. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ve özütün UV-vis spektrumu	49
Şekil 4.7. Gümüş nanopartiküllerin parçacık boyut dağılımı	50
Şekil 4.8. Gümüş nanopartiküllerin Zeta potansiyeli	51
Şekil 4.9. Gümüş nanopartiküllerin EDX görüntüsü ve grafiği	52
Şekil 4.10. Özüt ve gümüş nanopartiküle ait sonuç grafiği	53



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türkiye florası ile ilgili istatistiksel veriler	37
Çizelge 4.1. Özüt ve gümüş nanopartiküle ait sonuç tablosu	53



RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM).....	40
Resim 3.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM).....	40
Resim 3.3. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi cihazı (FTIR)	41
Resim 3.4. UV-Vis spektroskopisi ölçüm cihaz	41
Resim 3.5. Zeta potansiyeli ölçüm cihazı	42
Resim 3.6. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM).....	42



1. GİRİŞ

İnsanoğlunun bilgiyi etkin biçimde kullanma çabaları sonucunda bilim ve teknoloji erişilebilir hale gelmiş, teknolojinin ürün ve üretim süreçlerinde kullanılması yaygınlık kazanmış, yeni uygulama alanları keşfedilmiş ve yenilikçi teknolojiler hayatın ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir (Dahlman, 2007). Araştırma olanaklarının ve finansman temininin zaman içinde kolaylaşması, disiplinler sınırların aşılması ve birbirlerini tamamlamaya başlamasıyla birlikte bilimsel çalışmalar multidisipliner bir noktaya taşınmıştır. Mevcut gelişmelere paralel olarak birçok bilimsel alanın ortak çalışma sahası haline gelen nanoteknolojiye olan ilgi her geçen gün artmaktadır.

Nanoteknoloji maddenin atomik ve moleküler seviyede kontrolünün sağlanarak nano ölçek boyutunda yeni yapıların oluşturulması, üzerinde yapısal değişiklikler yapılarak yeni özelliklerin eklenmesi ve işlevsellik kazandırılmasını amaç edinen bilimsel bir uygulama alanıdır. Nanoteknoloji doğası gereği disiplinlerarasıdır ve fizik, biyoloji ve kimya alanını da içine alan geniş bir bilim ve teknoloji yelpazesine hitap eder (Perez ve Sandgren, 2008).

Nanoteknoloji, maddenin nano boyutta kontrolüne olanak verdiğinden dolayı maddelerin fiziksel ve yapısal özelliklerinde değişim sağlanarak, kimyasal özellikleri değiştirilmeksizin iletkenlik, dayanıklılık, atom yapısı, rengi, esnekliği, tepkiselliği gibi birçok özelliğinde değişiklikler gerçekleştirilebilir (Renn ve Roco, 2006). Bu sayede amaç ve ihtiyaçlara uygun olarak yeni özelliklere sahip daha dayanıklı, daha iletken, daha hızlı ve daha esnek yapılar üretmek mümkün olabilmektedir. Bunun yanında üretim süreçlerinin dönüştürülmesi, yeni hammadde ve kaynakların keşfi ve yeni pazarların oluşmasına da öncülük ederek inovasyon için uygun bir ortam hazırlamaktadır (Wullweber, 2015). Örneğin teknolojik gelişmelerle birlikte maddenin atomik boyutta mühendisliğini yaparak yepyeni özelliklerini açığa çıkaran nanoteknoloji sayesinde gümüş, nano boyuta indirgenmiş ve kullanım alanları artmıştır. Gümüş nanopartiküller makro boyutlu gümüşten farklı fizikokimyasal davranışlara ve özelliklere sahiptir (Gitipour ve ark., 2013).

Bitkilerin veya doğal kaynakların bio uyumlu gümüş nanoparçacıkların sentezlenmesinde kullanıldığı “yeşil sentez” yaklaşımı son yıllarda dikkat çekmeye başlamıştır. Bu yöntemde toksik kimyasallar kullanılmaz ve yüksek basınç, enerji ve sıcaklık ihtiyacı hissedilmez. Yeşil sentez işleminin çevre dostu, maliyet etkinliği ve farmasötik ve biyomedikal uygulamalar için uygunluğu da dahil olmak üzere sayısız faydaları vardır (Mie ve ark., 2014).

Oksijen canlı organizmalarda oksidasyon, indirgeme ve enzimatik süreçlerde önemli rol oynayan, çoğu elementle ve diğer bileşiklerle kolayca reaksiyona girebilen oksitleyici bir ajandır. Ayrıca oksijen, elektronları bir atomdan diğerine aktarır ve ATP biçiminde enerji üreten elektron akış sistemindeki nihai elektron alıcısı olduğundan aerobik yaşamın ve metabolizmamızın önemli bir parçasıdır (Gulcin, 2020). Zaman zaman eşleşmemiş tek elektronların transferi bu elektron akışını bozarak serbest radikalleri meydana getirdiğinden çeşitli metabolik sorunlar ortaya çıkabilir. Serbest radikaller, diğer moleküller ile kimyasal reaksiyona girmekte kararsız olup eşleşmemiş elektronlara sahip atomlar, moleküller veya iyonlardır. Oksijen merkezli serbest radikaller reaktif oksijen türleri (ROS) olarak bilinir (Bulut ve ark., 2018; Han ve ark., 2018).

ROS oluşumu homeostazın sürdürülebilirliği için oldukça önemlidir. Canlı organizmalar oksidatif stres ve antioksidan koruma sistemi arasında denge sağlanmasına izin veren bir antioksidan savunma sistemiyle bu dengenin devamını sağlayabilmektedirler (Huyut ve ark., 2017; Oztaskin ve ark., 2017). Canlı organizmalar metabolizmanın, normal solunumun veya bir dizi hastalığa eşlik eden stresin sonucu olarak ortaya çıkan reaktif oksijen türlerine sürekli olarak maruz kalırlar (Anraku, ve ark., 2018). Oksidatif stres ROS ve antioksidan savunmalar arasındaki dengesizliğin bir sonucudur. Oksidatif stres bir dizi hücresel işlevi bozar ve organizmanın antioksidatif savunma mekanizmasını bastırdığı için çeşitli olumsuzluklara yol açar (Sindhi ve ark. 2013; Apak ve ark., 2016).

Antioksidanlar doğrudan ROS' u temizleyen, dolaylı olarak antioksidan savunmasını tetikleyen veya ROS üretimini engelleyen maddeler olarak tanımlanır (Halliwell, 1997). Antioksidanlar sadece ROS' u ortadan kaldırmak için değil, aynı zamanda hücresel redoks durumunu ayarlamak ve redoks sinyal iletimini etkinleştirmek için de kullanılır (Gulcin, 2006). Antioksidanlar, serbest radikallerin olumsuz etkilerine karşı savunma faktörü işlevi görür ve serbest radikallerin hücreye zarar veren etkilerini azaltırlar. Bu nedenle son yıllarda bitkilerden elde edilebilen ve serbest radikalleri verimli bir şekilde temizleyebilen doğal antioksidan bileşiklere yönelik araştırmalar artmaktadır (Sindhi ve ark. 2013).

Bu yüksek lisans tez çalışması ile *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den yeşil sentez yöntemi ile elde edilen gümüş nanopartiküllerin farklı yöntemler kullanılarak karakterizasyonu yapılmış ve antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir.

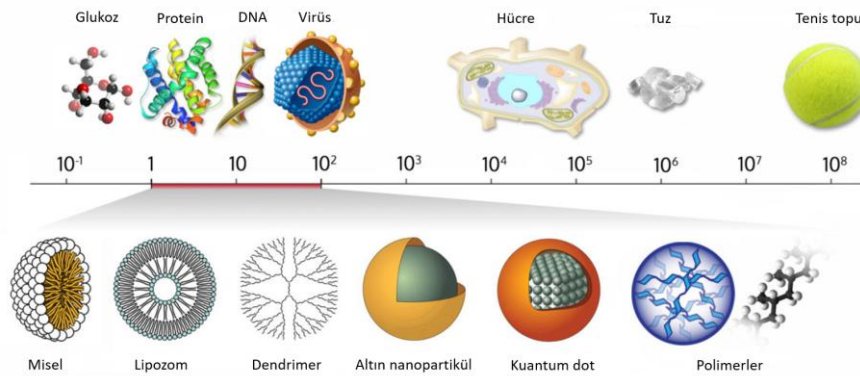
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Nanoteknoloji

Etimolojik kökeni Yunancaya dayanan “nano” sözcüğü, Türkçe karşılığını “cüce” olarak bulmaktadır. Metrik sistemdeki tanımı gereğince, bir nanometre (nm), metrenin milyarda birine karşılık gelmekte ve dolayısıyla algı sınırlarımızın ötesinde oldukça küçük boyutlu bir niceliği ifade etmektedir. Şekil 2.1.’ de makro parçacıklar ile nanopartiküllerin boyut karşılaştırılması verilmiştir. Nanoteknoloji ve nanobilim, bu standart dışı nanometrik boyuttaki maddelerin özellik, çalışma dinamikleri ve tepkilerini moleküler ve atomik ölçekte araştıran bilim dalıdır. Daha teknik ve genel geçer bir tanım yapılacak olursa büyüklüğü 100 nm’ den küçük olan sistemler, nanoteknoloji kapsamında incelenmektedir (Prasanna, 2007; Aydın ve ark., 2012).

Nanoteknoloji, maddenin atomik-moleküler boyutta mühendisliğinin yapılarak yepyeni özelliklerinin açığa çıkarılması; nanometre ölçeğindeki fiziksel, kimyasal ve biyolojik olayların anlaşılması, kontrolü ve üretimi amacıyla, fonksiyonel materyallerin, cihazların ve sistemlerin geliştirilmesidir. Bir başka ifade ile araçların, malzemelerin ve yapıların moleküler düzeyde işlenmesi, oluşturulması ve manipüle edilmesi olarak tanımlanmaktadır (Kut ve Güneşoğlu, 2005).

Nano ölçekte, malzemenin kimyasal ve fiziksel özelliklerinden dolayı malzemenin yüzey alanı, hacmine kıyasla daha büyüktür. Bu durum, nano malzemeyi kimyasal olarak daha reaktif hale getirir ve malzemenin güç ve elektriksel özelliklerini mikro boyutlardaki emsali ile karşılaştırıldığında değiştirir. Nanopartiküller ve nano yapı malzemeler, erime noktası, elektriksel ve termal iletkenlik, katalitik aktivite, ışık Emilimi ve saçılma gibi fizikokimyasal özelliklerinden dolayı, mikro boyutlardaki eşdeğerlerine göre daha yüksek performansa sahip olmaları ile teknolojik gelişmelerde öne çıkmışlardır (Jeevanandam ve ark., 2018).



Şekil 2.1. Makro ölçekli parçacıklar ile nanopartiküllerin karşılaştırılması (Hulkoti ve Taranath, 2014)

2.2. Nanoteknolojinin Tarihsel Gelişimi

Michael Faraday' ın 1857 yılında “Philosophical Transactions of the Royal Society” dergisinde yayınlanan “The Bakerian Lecture: Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light” adlı makalesinde boyutları küçülen altının farklı özellikler sergilediğinden bahsetmesi o yıllarda nano boyutta malzemelerin araştırıldığını göstermektedir. Bu bağlamda Faraday' ı nanoteknolojinin öncüsü olarak tanımlamak uygun olacaktır (Süzer, 2005).

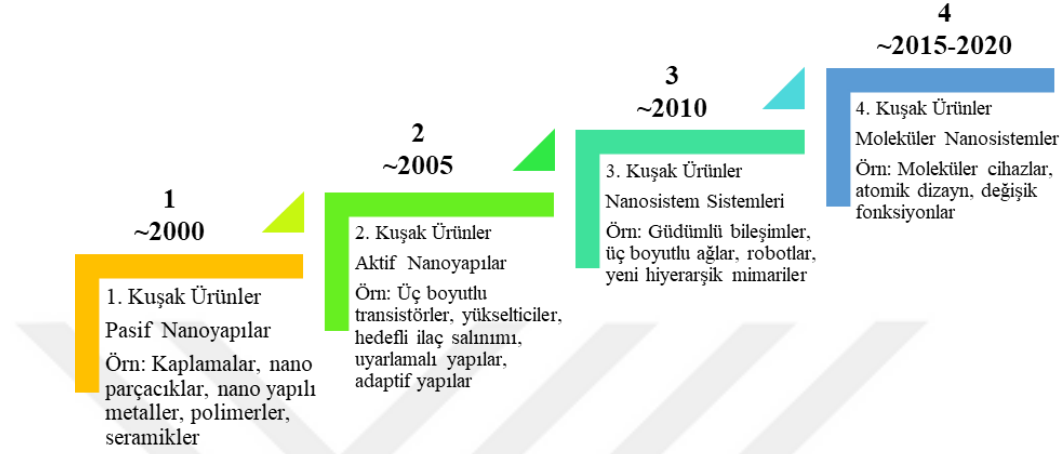
Bir yapının nano boyutlara indirilmesi ile olağanüstü özellikler kazanabileceği fikrinin temelleri 1860' lı yıllara dayanmaktadır. Tüm dünya nesneleri giderek daha büyük hale getirmeye çalışırken, James Clerk Maxwell atom ve moleküllerden oluşan submikroskopik makineler yapılabileceğini öngördü (Aeran ve ark., 2015).

Ünlü Fizikçi Richard Feynman tarafından Amerikan Fizik Derneği' nin 1959 yılı toplantısında dile getirilen “Aşağıda gidilecek çok yer var” (There's plenty of room at the bottom) başlıklı konuşması ilk kez nanoteknoloji yaklaşımını gündeme getirmiştir. Feynman bu meşhur konuşmasında “Görebildiğim kadarıyla, fizik bilimi prensipleri nesnelerin atom düzeyinde manipüle edilmesine karşı değildir. Bu, herhangi bir bilimsel yasayı ihlal girişimi olmayıp, prensipte yapılabilir olan fakat biz çok büyük olduğumuz için uygulamada şimdiye kadar yapılmamış olan bir şeydir” demiştir. Bu konuşma nanoteknolojinin tüm temel kavramlarının temellerini oluşturacaktı. Feynman bu konuşmasında gelecekte, atomik veya moleküler düzeyde materyaller ve cihazlar yaratma ihtimalinden de bahsetti (Freitas, 2000). Feynman ayrıca nanomakinelerin, nanorobotların ve nano cihazların, atomik olarak hassas mikroskopik enstrümantasyon ve üretim araçlarını üretmek için kullanılabileceğini öne sürdü. O zamanlar bunlar sadece fikirdi, ama yeni bir düşünce tarzı belirlendiler. Bilim adamları, maddeyi atomik ve moleküler seviyelerde manipüle ederek derin etkilerin elde edilebileceğini fark etti (Upadhyay, 2013).

Feynman' ın konuşmasından neredeyse 15 yıl sonra Japon bilim adamı Norio Taniguchi nanometre düzeninde meydana gelen yarı iletken süreçleri tanımlamak için ilk olarak “nanoteknoloji” terimini kullandı. Nanoteknolojinin malzemelerin bir atom veya bir molekül tarafından işlenmesi, ayrılması, konsolidasyonu ve deformasyonundan oluştuğunu savundu (Hulla ve ark., 2015).

1980' lerde gerçekleşen iki önemli gelişme: cluster (küme) biliminin doğuşu ve taramalı tünelleme mikroskopun (STM) icadı nanoteknoloji ve nanobilimin ivmelenmesine öncülük etmiştir. Bu gelişmeler neticesinde 1986' da fullerenlerin ve

birkaç yıl sonra da karbon nanotüplerin keşfi gerçekleşmiştir. Akabinde ise yarı iletken nanokristallerin sentezi, özelliklerinin incelenmesi ve atomik kuvvet mikroskobunun (AFM) keşfi nanoteknoloji alanına çok önemli katkılar sağlamıştır (Yıldırım ve ark., 2010). Şekil 2.2.' de nanoteknolojinin zaman içindeki gelişimi gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Nanoteknolojinin dört kuşaklık zaman çizelgesi (Roco, 2005)

2.3. Nanopartiküllerin ve Nanomateryallerin Sınıflandırılması

Nanopartiküller ve nano yapıli malzemeler materyal temellerine, boyutlarına ve kökenlerine göre sınıflandırılmaktadırlar. Nanopartiküller materyal temelli olarak dört kategoride incelenebilir;

Karbon temelli nano malzemeler: Genel olarak bu nano malzemeler karbon içerir ve içi boş tüpler, elipsoidler veya küre gibi şekillerde bulunur. Fullerenler (C₆₀), karbon nano tüpler (CNTs), karbon nano fiberler, karbon siyahı, grafen (Gr) örnek olarak verilebilir (Kumar ve Kumbhat, 2016).

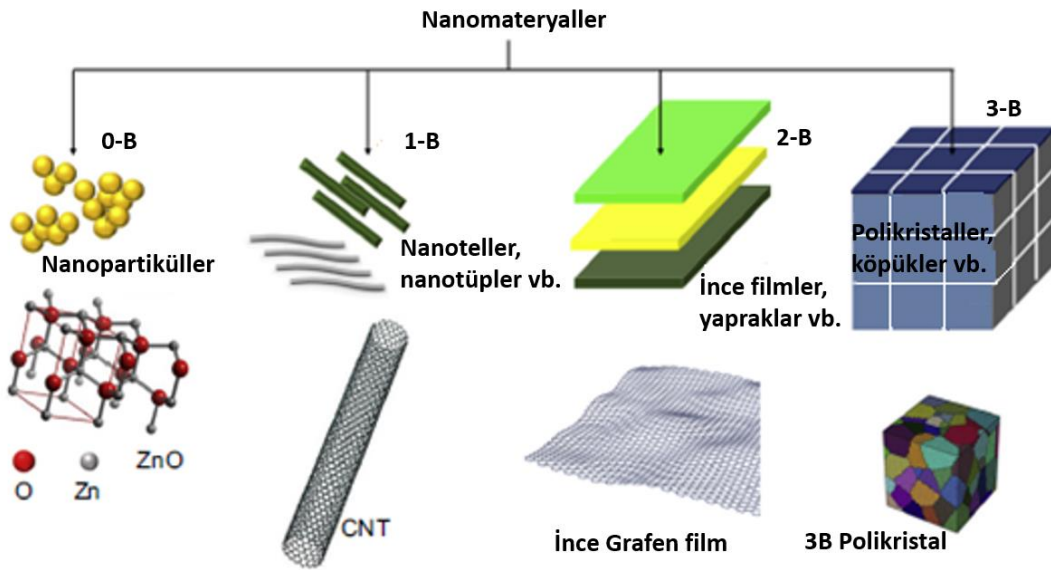
İnorganik temelli nano malzemeler: Bu nano malzemeler, metal ve metal oksit nanopartikülleri ve nano yapıli malzemeleri içerir. Bu nano malzemeler Au veya Ag nanopartiküller gibi metalller, TiO₂ ve ZnO nanopartiküller gibi metal oksitler ve silikon ve seramikler gibi yarı iletkenler halinde sentezlenebilir.

Organik temelli nano malzemeler: Bunlar karbon esaslı veya inorganik esaslı nano malzemeler hariç çoğunlukla organik maddeden yapılan nano malzemeleri içerir. Moleküllerin kendi kendine toplanması ve tasarımı için kovalent olmayan (zayıf) etkileşimlerin kullanılması, organik nano malzemeleri dendrimerler, miseller, lipozomlar ve polimer nanopartiküller gibi istenen yapılara dönüştürmeye yardımcı olur.

Kompozit temelli nano malzemeler: Kompozit nano malzemeler, nano ölçekli boyutta bir faza sahip olan nanopartikülleri diğer nanopartiküller veya nanopartiküllerle daha büyük veya hibrit nanofiber gibi yığın tipi malzemelerle veya metal-organik çerçeveler gibi daha karmaşık yapılarla birleştirebilen çok fazlı nanopartiküller ve nanoyapılı malzemelerdir (Jeevanandam ve ark., 2018).

Nano malzemeler, sıfır (0B), bir (1B), iki (2B) ve üç (3B) boyutlular olmak üzere boyutlarına göre dört kategoride incelenir. Bu sınıflandırma büyük ölçüde nano malzemelerin boyutları boyunca gerçekleşen elektron hareketine bağlıdır. Örneğin, 0B nano malzemelerdeki elektronlar boyutsuz bir alanda tutulurken, 1B nano malzemeler x eksenini boyunca hareket edebilen elektronlara sahiptir. Benzer şekilde, 2B ve 3B nano malzemeler sırasıyla x – y eksenini ve x, y, z eksenini boyunca elektron hareketine sahiptir (Pokropivny ve Skorokhod, 2007). Şekil 2.3.' de nanomateriyallerin uzaysal boyutlarına ilişkin karşılaştırma daha net görülebilir.

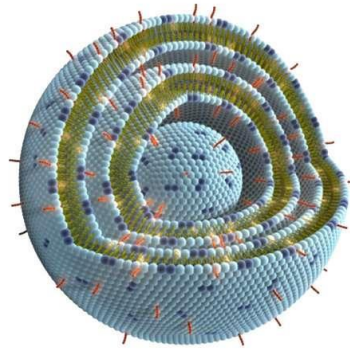
Boyut ve malzeme temelli sınıflandırmaların yanı sıra, nanoparçacıklar ve nano malzemeler kökenlerine göre de (doğal veya sentetik) sınıflandırılabilir. Doğal nano malzemeler doğada biyolojik türler veya antropojenik aktiviteler yoluyla üretilir. Doğal olarak meydana gelen nano materyaller, insan hareketlerinden bağımsız olarak Dünya'nın tüm alanlarında hidrosferde, atmosferde, litosferde ve hatta biyosferde bulunur (Hochella ve ark., 2015; Sharma ve ark., 2015). Sentetik nano malzemeler mekanik taşıma, motor egzozu ve dumanı ile üretilir veya fiziksel, kimyasal, biyolojik veya hibrit yöntemlerle sentezlenir (Wagner ve ark., 2014).



Şekil 2.3. Nanomateriyallerin boyutları (Malhotra ve Ali, 2018)

2.3.1. Lipozomlar

Lipozomlar 1965 yılında Bangham ve arkadaşları tarafından keşfedildi ve fosfolipidler hidratlandığında veya sulu bir ortama maruz bırakıldığında oluşan mikroskobik küresel veziküller olarak tanımlandı (Bangham ve ark., 1965). Weiner ve arkadaşları ise lipozomu, su veya sulu tampon bölmeleri ile ayrılmış bir veya daha fazla konsantrik iki lipit tabakalı küreden oluşan bir mikro yapı olarak tanımladılar (Weiner ve ark., 1989). Lipozomlar, iki katmanlı bir fosfolipit veya herhangi bir benzer amfipatik lipitten oluşan mikroskopik veziküllerdir. Lipozomlar hem hidrofilik hem de lipofilik maddeleri kapsülleyebilir ve etkili bir şekilde taşıyabilirler. Ayrıca çözünmeyen ilaçlar için toksik olmayan bir araç olarak da kullanılabilirler (Lidgate ve ark., 1988; Fielding, 1991; Akbarieh ve ark., 1992). Lipozomlar, çapı 20 nm olan vezikülden, ışık mikroskobu altında görülebilen 1 µm veya daha büyük bir çapa sahip canlı hücrelerin boyutlarına eşit olanlara kadar farklı ebatlarda olabilirler (Frezard, 1999). Lipozomlar ilaç taşınımı için kullanılan ilk sentezlenmiş nanoparçacıklar olarak bilinmektedirler (Salata, 2004) ve Şekil 2.4.' de bir örneği verilmiştir.

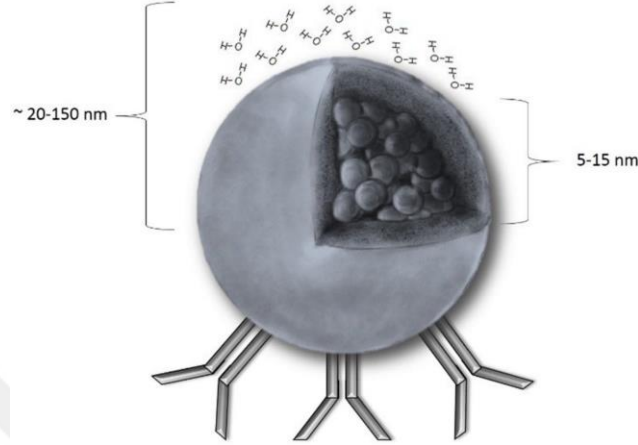


Şekil 2.4. Kanser aşılarında kullanılan lipozom (Schimanski ve ark., 2012)

2.3.2. Süperparamanyetik Nanopartiküller

Süperparamanyetik demir oksit nanopartiküller (SPION), hedeflenmiş ilaç ve ilaç taşınması, manyetotermal terapi (kanser hipertermisi gibi) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRI) için kontrast geliştirme dahil olmak üzere biyomedikal uygulamalar için kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır (Neuberger ve ark., 2005; Lee ve ark. 2007). Manyetik nanoparçacıklar küçük boyutları nedeniyle (Şekil 2.5.) süperparamanyetik davranış sergiler; yani tipik olarak 5-20 nm aralığında, uygulanan bir manyetik alanda kuvvetli bir şekilde mıknatıslanırlar, ancak harici manyetik alan çıkarıldığında mıknatıslanmayı kaybederler (Jun ve ark., 2008; Villaraza ve ark., 2010).

SPION' lar kimyasal olarak çok kararlı ve toksik olmama avantajına sahiptir. Bununla birlikte, SPION yüzeyinin hidrofobikliği, makrofajlar tarafından fagositik yakalamaya eğilimli olmasını sağlar. Kontrast maddelerinin spesifik alımı hedefleme ligandları ile fonksiyonelleştirmeyele artırılabilir (Liong ve ark., 2008).



Şekil 2.5. Süper paramanyetik demir oksit nanopartikül (Dulinska ve ark., 2019)

2.3.3. Fullerenler: Buckyballlar ve Karbon Nanotüpler

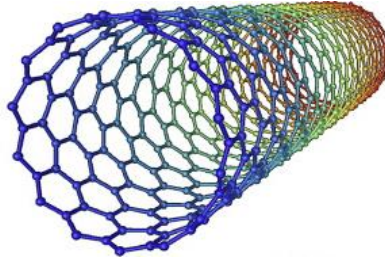
Fulleren C_{60} (buckyballs veya buckminsterfullerene), bilim ve mühendisliğin çeşitli alanlarında ilgi gören nano yapılandırılmış bir karbon allotropudur. Şekil 2.6.' da görülen fulleren ve türevleri, eşsiz fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle malzeme biliminde muazzam bir potansiyele sahiptir. Fulleren 1985 yılında Kroto ve arkadaşları tarafından keşfedilse de hazırlık süreci henüz tam olarak anlaşılamamıştır (Kroto ve ark., 1985). İlerleyen yıllarda, C_{76} , C_{80} , C_{240} gibi ihtiyaç duyulan diğer fullerenler, çok sayıda karbon atomundan sentezlenebildi. Keşiflerinden bu yana çok sayıda araştırma makalesi fullerenlerin nanohetero yapılarını dikkate almıştır. Fulleren nanohetero yapıları üretmek için çeşitli, verimli ve daha az maliyetli yöntemler geliştirilmiştir (Bang ve ark., 2011; Mohan ve Ravindra, 2015). C_{60} ve türevleri benzersiz fizikokimyasal özellikleri nedeniyle malzeme biliminde önemli bir yer tutmaktadır (Sayes ve ark., 2005). Son zamanlarda nanotüpler, nanorodlar ve nanosetler dahil C_{60} tabanlı nanoyapılar, nanobilim ve nanoteknoloji alanlarında ilgi görmektedir (Shimoda ve ark., 2002). Düşük maliyetli fullerenlerin varlığı ve kullanımı sonraki çalışmalar ve pratik uygulamalar için ilgi çekmektedir.

1991 yılında Iijima, bir elektron mikroskobu kullanarak ürettiği karbon nanotüpleri (CNT) tanıtarak nanoteknoloji alanını katkı sağladı (Iijima, 1991). Karbon

nanotüpler fullerenlerin sentezi sırasında inert bir atmosferin altındaki elektrik arkı buharlaştırma reaktöründe karbon grafitin buharlaştırılmasıyla imal edilebilir (Iijima ve ark., 1993). Şekil 2.7.' de görülen karbon nanotüplerin üretimi için aşağıdan yukarıya yöntemi (bottom-up method) kullanılır. Tek boyutlu katılarda ve aynı zamanda farklı nano ölçekli cihazlarda fizik araştırmaları için kullanılabilirler (Dai, 2002). Karbon nanotüpler grafen silindirik tüp oluşturan tam bir altıgen grafit ağından oluşur. Nanotüplerin çapları bir nanometreden birkaç nanometreye kadar değişiklik gösterir. Tek duvarlı karbon nanotüplerin günümüz ve gelecekteki çeşitli uygulamaların önünü açacağı düşünülmektedir (Dai ve ark., 1996).



Şekil 2.6. Üç boyutlu fullerene yapısı (Peter ve ark., 2015)



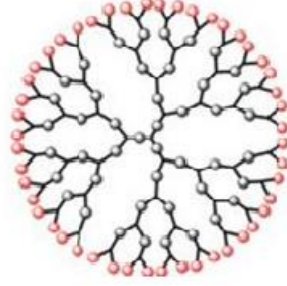
Şekil 2.7. Karbon nanotüp (Garima ve ark., 2015)

2.3.4. Dendrimerler

Geleneksel lineer polimerlere kıyasla nispeten yeni bir bileşik sınıfı olan dendrimerler, benzersiz moleküler mimari ve boyutlarla karakterize edilir (Aulenta ve diğerleri, 2003). Dendrimerler yüksek dallanma noktalarına, üç boyutlu küresel şekle, monodispersiteye ve nanometrik boyut aralığına sahip kompleks, suda çözünebilen sentetik makromoleküller olarak tanımlanır (Sekowski ve ark., 2008).

Şekil 2.8.' de görülen dendrimerler özellikle doğrusal, dallı ve çapraz bağlı polimerlere kıyasla benzersiz özellikler sunar. İlk sentezlenmiş dendrimerler olan

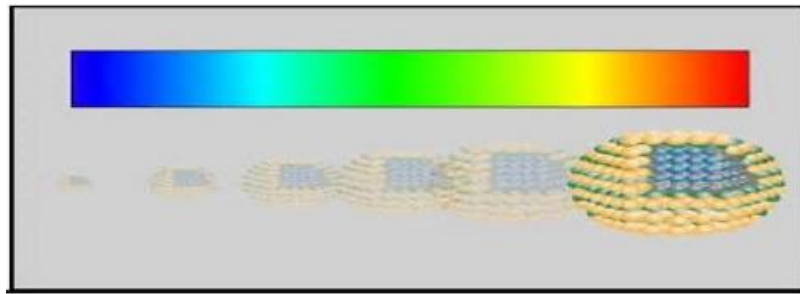
poliamidoamin dendrimerler (PAMAM) muhtemelen en çok bilinen ve günümüzde en çok araştırılan dendrimerlerdir. Tipik bir dendrimer üç bileşenden oluşur; tekrarlayıcı birimler içeren bir başlatıcı çekirdek (odak çekirdek), bir iç katman ve odak çekirdeğe radyal olarak tutturulmuş, en dıştaki iç kuşağa bağlı olan ve ilaç dağıtımı için bir şablon sağlayacak şekilde uyarlanabilen çoklu çevresel fonksiyonel gruplar. Terminal grupları pozitif, negatif veya nötr yüklü olabilir (Szymanski ve ark., 2011).



Şekil 2.8. Dendrimer (Tzelepi ve ark., 2019)

2.3.5. Kuantum Dotlar

Kuantum noktaları (QD) olarak da bilinen yarı iletken nanokristaller, çeşitli uygulamalarda aktif materyal olarak kullanıldığı için son yıllarda en çok araştırılan nano ölçekli malzemeler arasındadırlar (Schmidt, 2004). Kuantum noktaları on ila binlerce atom arasında değişen bir dizi atomdan oluşan kümelerdir ve üç boyutlu uzay boyunca boyutları birkaç nanometreye indirgenmiş yarı iletken katılar olarak düşünülebilir. Kuantum noktaları nanometrik boyutlarından dolayı benzersiz özelliklere sahiptir. Şekil 2.9.' da gösterilen kuantum noktalarının yüzeylerinde bulunan ve optik ve elektronik özellikleri üzerinde derin bir etkiye sahip olan atomların erime sıcaklığı ve kuantum noktalarının genel olarak reaktivitesi ilgi çekmektedir (Chen, 2008; Jacobs ve ark., 2001).



Şekil 2.9. Değişen optik özelliklere sahip kuantum dot (Nath ve Banerjee, 2013)

2.4. Metal Nanopartiküller

Çözelti fazında ilk metal nanopartikülün varlığı Faraday tarafından 1857 yılında rapor edilmiştir (Edwards ve Thomas, 2007). Metalik nanopartiküller veya metal nanopartiküller, son birkaç yıldır nanopartiküler alanda yeni bir terminoloji olarak ortaya çıkmıştır. Bio uyumlu olan altın, gümüş ve platin gibi soy metaller, metal nanopartiküllerin sentezi için kullanılır (Bhattacharya ve Mukherjee, 2008). Metal nanopartiküllerin hazırlanması ve stabilizasyonu için elektrokimyasal değişiklikler, kimyasal indirgeme ve fotokimyasal indirgeme gibi farklı fiziksel ve kimyasal yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır (Geethalakshmi ve Sarada, 2012). Metal nanopartiküller homojen ve heterojen kataliz, yakıt hücresi katalizi, sensör ve biyosensörler gibi çeşitli endüstriyel ve biyolojik uygulamalarda kullanılmaktadır (Lee ve ark., 2009).

2.4.1. Gümüş Elementinin Temel Özellikleri

Gümüş (Ag) atom numarası 47, atomik kütlesi 107.87, elektronik yapılanması $4d^{10} 5s^1$, yoğunluğu $10,5 \text{ g/cm}^3$, erime noktası 960°C , kaynama noktası 2170°C olan ve periyodik tabloda geçiş elementlerinin yer aldığı 1B grubunda yer alan bir elementtir (Petering ve ark., 1991). Gümüş doğada serbest veya bileşik halde bulunan beyaz renkli bir metaldir. Bileşiklerinde ise +1 değerliğe sahiptir (Demir, 2000). Gümüş ışığı çok iyi yansıtan, dövülebilen, esnek bir metaldir. Havada oksitlenmez. Gümüşten yapılmış eşyaların üzerindeki kararmanın sebebi, havadaki hidrojen sülfürdür. Asitlere ve birkaç organik maddeye karşı dayanıklıdır. Fakat nitrik asit ile soğukta, derişik sıcak sülfürik asitle kolayca etkileşir. Çoğu mineralde gümüş yüzde birden daha az oranda dağılmış olarak bulunur. Deniz suyunda, bazı bitki türlerinde ve bazı ot yiyen hayvanların kanlarında da az miktarda gümüşe rastlanmaktadır. Birçok mineralde gümüş doğal halde veya bileşik halinde bulunmaktadır. Günümüzde elde edilen gümüşün üçte biri birincil kaynaktan ve üçte ikisi ikincil kaynaklardan elde edilmektedir (Ün, 1968).

2.4.2. Gümüş Nanopartiküllerin Genel Özellikleri ve Kullanım Alanları

Bilimsel çevrelerde nano boyutlardaki metal nanopartiküllere yönelik çalışmalar son yıllarda artış göstermektedir. Bu partiküllere olan ilgi makro boyuttaki benzerlerinden farklı olmasından ve böylece sensörler, katalizörler, nanoelektronik cihazlar, biyokimyasal etiketleme reaktifleri ve optik anahtarlarda yeni uygulamalara

izin veren benzersiz optik, elektronik ve katalitik özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Jin ve ark., 2001; Mandal ve ark., 2003).

Metal nanopartiküllerin arasında en dikkat çekici olanlardan birisi de gümüş nanopartiküllerdir. Gümüş nanopartiküller kataliz, manyetik ve optik polarizasyon, elektrik iletkenliği ve mikrobiyal aktivite gibi çeşitli spesifik özelliklere sahiptir. Gümüş nanopartiküller yüzey plazmonlarını destekledikleri için benzersiz bir optik özellik gösterirler. Belirli ışık dalga boylarında gümüş nanopartiküller farklı renklere sahiptirler (Noguez, 2007).

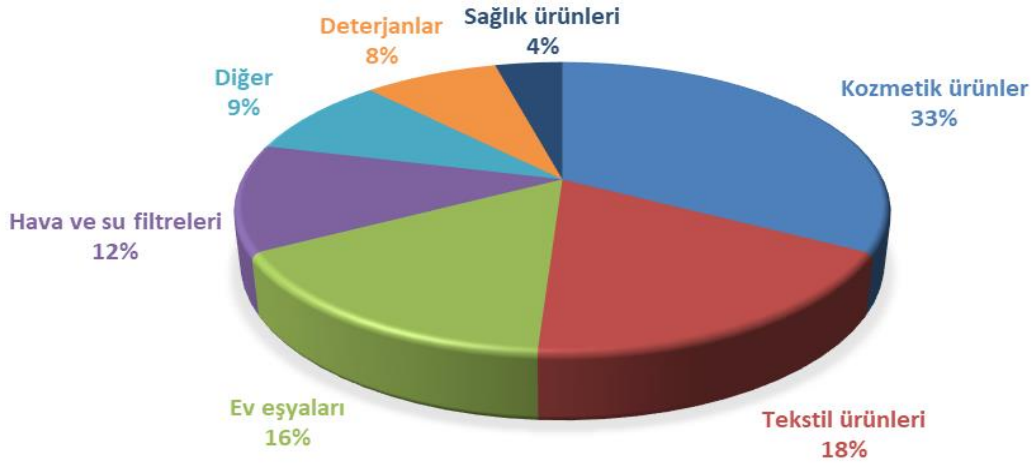
Çözeltideki sarı renkten gümüş nanopartiküllerin yukarıda bahsi geçen plazmon rezonansı sorumludur. Gümüş nanoparçacıkların dalga boyu 430 nm' dir ve gümüş nanoparçacıkların oluşumu için bir kanıt niteliğindedir. Çözeltideki nanopartiküllerde gözle görülür herhangi bir değişiklik tipik olarak nanopartiküllerin agregasyonunun değiştiğini gösterir (Pietrobon ve Kitaev, 2008).

Gümüş nanopartiküller antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antienflamatuar aktiviteleri nedeniyle biyomedikal uygulamalarda yoğun olarak kullanılmaktadır. Gümüş nanopartiküller tanı, tedavi, ilaç taşıma, tıbbi cihazlar, kaplamalar, yara örtüleri ve tıbbi tekstil malzemeleri için kaynak teşkil etmektedirler. Gümüş nanopartiküllerin ve nanokompozitlerin tıbbi cihazlar için uygulamalarının çoğu antibakteriyel özellikleri nedeniyle. Uygulamadaki temel amaç klinik prosedürler veya implantasyon sırasında enfeksiyonlardan kaçınmaktır (Vigneshwaran ve ark., 2007; Lackner ve ark., 2008).

Gümüş nanopartiküller kanser terapötikleri kadar iyi performans gösterirler, çünkü reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini indükleyen mitokondriyal solunum zincirini ve DNA hasarını indükleyebilen adenosin trifosfat (ATP) sentezini bozabilirler (Asha Rani ve ark., 2009).

Gümüş nanopartiküller, entegre devreler, sensörler, biyo etiketleme, filtreler, antimikrobiyal deodorant lifleri, hücre elektrotları, düşük maliyetli kâğıt piller (gümüş nano-teller) ve antimikrobiyaller gibi çeşitli alanlarda geniş uygulama alanı bulmaktadır (Şekil 2.10.). Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal özellikleri, farklı tıp alanları, çeşitli endüstriler, hayvancılık, ambalaj, aksesuarlar, kozmetik, sağlık ve askeri uygulamalar için kullanılmaktadır (Kasthuri ve ark., 2009).

Gümüş nanopartiküllerin bir antibakteriyel ajan olarak uygulanması bakteriyel enfeksiyonun tedavisinde ümit vaat ederken ticarileşmeleri artan ve tekrarlanan insan maruziyetine dönüşmektedir. Bu maruz kalmanın bir sonucu olarak cilt tahrişi, gözlerde ve ciltte kalıcı renk değişikliği meydana gelmektedir (Leon-Silva ve ark., 2016).



Şekil 2.10. Gümüş nanopartiküllerin kullanım alanlarının yüzdelik dağılımı (Anjum ve ark., 2013)

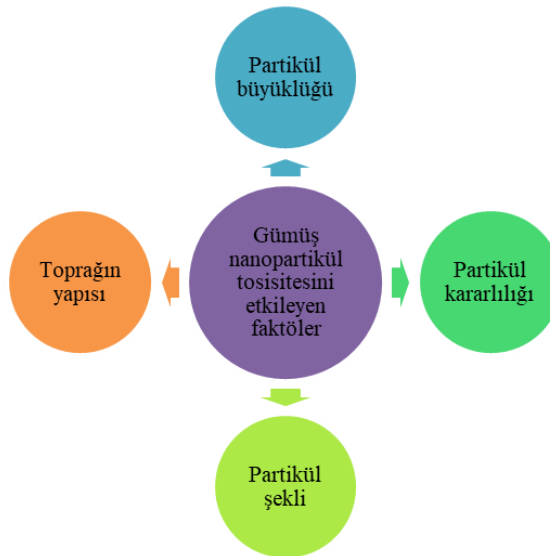
2.4.3. Gümüş Nanopartiküllerin Bitkiler Üzerine Etkileri

Tasarlanmış nanopartiküller 1 ila 100 nm arasında karakteristik boyutlu, aynı kimyasal bileşimdeki nano ölçekli olmayan partiküllerde bulunmayan eşsiz özelliklere sahip, bilinçli olarak üretilen partiküller olarak tanımlanır. Gümüş, bilinen en toksik iz metallerden biridir, ancak toksisitesinin mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır (Ratte, 1999). Toksisitenin özellikle nanopartiküller ile ilişkili olup olmadığı veya nanopartiküllerden salınan çözünmüş Ag formlarının etkilerinden kaynaklanıp kaynaklanmadığı halen tartışma konusu olup Şekil 2.11.' de toksiteye etki eden faktörler belirtilmiştir. Gümüş nanopartiküllerden salınan iyonik gümüşün (Ag^+) solunum enzimlerini inhibe ettiği ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesiyle oksidatif stresi indüklediği bilinmektedir (Kim ve ark., 2009). Gümüş nanopartiküllerden salınan gümüş iyonları bitkilerde olumsuz etkilere neden olabilir (Stampoulis, 2009). Ag^+ 'nın etilen aktivasyonunu kısıtladığı, bitki hormonu ve mitokondriyal fonksiyonu inhibe ettiği bilinmektedir (Knee, 1992).

Gümüş nanopartiküllerin çeşitli ticari ürünlerde artan üretim ve entegrasyonu, bitkiler üzerindeki olası olumsuz etkileri konusunda endişelere yol açmıştır. Bitkilerde gümüş nanopartiküllere maruz kalmak, çimlenme ve çeşitli büyüme süreçlerinde değişiklikler gibi farklı olumsuz fizyolojik etkilere yol açmıştır (Dimkpa ve ark., 2013). Araştırmalar gümüş nanopartiküllerin gıda mahsullerinde birikebileceğini ve gıda zinciri aracılığıyla insanlara ve hayvanlara ulaşabileceğini göstermiştir (Rico ve ark., 2011). Buna rağmen gümüş nanopartiküllerin artan üretimi ve çevreye salınması göz önüne alındığında, gümüş nanopartiküllerin gıda mahsullerindeki fizyolojik ve moleküler düzey etkileri üzerine sadece sınırlı araştırmalar yapılmıştır (Khush, 2005).

Bugüne kadar gümüş nanopartiküllerin bitkiler üzerindeki etkisi hakkında bildirilmiş olan az sayıda çalışma gümüş nanopartiküllerin bitki büyümesi üzerinde zararlı etkileri olduğunu göstermiştir (Gubbins ve ark., 2011, Jiang ve ark., 2012). Gümüş nanopartiküllerin bitki sistemine nüfuz edebildiği ve hücre içi bileşenlere müdahale ederek hücre bölünmesine zarar verebildiğine dair araştırmalar mevcuttur (Kumari ve ark., 2009).

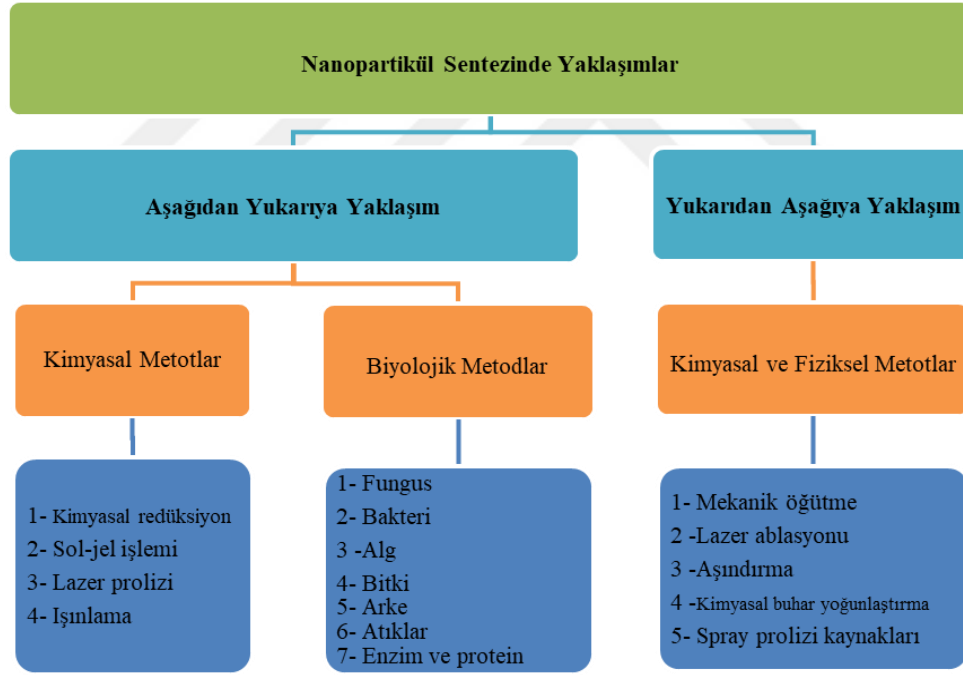
100 ve 500 mg/L' deki 100 nm gümüş nanopartiküllerin kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla *Cucurbita pepo*' nun (kabak) biyokütle ve terleme oranlarında %41 ve %57 azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Stampoulis ve ark., 2009). *Allium cepa* ile yapılan çalışmada gümüş nanopartiküllerin kök ucu hücreleri üzerinde sitotoksik ve genotoksik etkileri olduğu bulunmuştur (Kumari ve ark., 2009). *Lemna minor*' un büyümesininin gümüş nanopartiküller tarafından inhibe edebileceği bildirilmiştir. (Gubbins ve ark., 2011). Gümüş nanopartiküllerin suda yaşayan bir makrofit olan *Spirodela polyrhiza*' nın bitki biyokütlesini, bitki dokusu nitrat-azot içeriğini, klorofil a/b ve klorofil floresanını (Fv/Fm) önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Yin ve ark., 2012). *Oryza sativa L.* fidelerinde gümüş nanopartikül maruziyetinin fizyolojik ve moleküler düzey değişikliklerinin kök uzamasında, sürgün ve kök taze ağırlıklarında, toplam klorofil ve karotenoid içeriklerinde önemli azalmalara sebep olduğu gözlenmiştir (Nair ve Chung, 2014). Yapılan çalışmalar gümüş nanopartikül toksisitesini etkileyen faktörlerin partikülün şekli, büyüklüğü, kararlılığı ve toprağın yapısı ile bitki türüne bağlı olduğunu göstermektedir (Anjum ve ark., 2013).



Şekil 2.11. Gümüş nanopartikül toksisitesini etkileyen faktörler (Anjum ve ark., 2013).

2.5. Metal Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri

Genel olarak gümüş nanoparçacıklar çeşitli uygulamalarda kullanılmak üzere farklı şekil ve boyutlar elde edilmek üzere çeşitli teknikler kullanılarak sentezlenir. Sentez teknikleri yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya yaklaşımlar olarak Şekil 2.12.' deki gibi şematize edilebilir. Yukarıdan aşağı yaklaşımı gümüş metalini toplu formda kullanır daha sonra litografi ve lazer ablasyon gibi özel metodolojilerle boyutunu nano ölçeğe mekanik olarak küçültür (Amendola ve ark., 2007). Aşağıdan yukarıya yaklaşımı, gümüş tuzunun bir çözücü içinde çözülmesini ve müteakiben bir indirgeyici ajanın ilave edilmesini ve gerektiğinde nanoparçacıkların birikmesini önlemek için stabilize edici ajanların ilave kullanımını içerir. Aslında bu işlemlerde kullanılan çözücüler ve indirgeyici ajanlar, üretilen gümüş nanoparçacıkların fiziksel ve morfolojik özelliklerini etkiler (Tan ve ark., 2007).



Şekil 2.12. Nanopartikül sentezinde yaklaşımlar (Patra ve Baek, 2014)

2.5.1. Nanopartiküllerin Biyosentezi

Nanopartiküllerin üretimi için radyasyon, kimyasal çökeltme, fotokimyasal yöntemler, elektrokimyasal ve Langmuir-Blodgett teknikleri de dahil olmak üzere çeşitli kimyasal ve fiziksel hazırlık yöntemleri kullanılmaktadır (Awwad ve ark., 2013). Nanopartiküllerin sentezinde kimyasal ve fiziksel yöntemin kullanımı çok pahalı ve külfetlidir ayrıca yüzeyde emilen ve uygulamalarda olumsuz etkileri olabilecek bazı

toksik kimyasalların varlığına yol açar, bu nedenle çevresel olarak iyi huylu nanopartiküller geliştirmek için artan bir ihtiyaç durumu vardır (Asmathunisha ve Kathiresan, 2013). Mikroorganizmalar veya bitki ekstraktları kullanan biyosentetik yöntemler kimyasal sentetik prosedürlere ve fiziksel yöntemlere karşı basit ve uygulanabilir bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Metal nanopartikül sentezi için mikroorganizmalar, bitkiler veya bitki özleri kullanan biyolojik yaklaşımlar, kimyasal yöntemlere alternatif olarak önerilmiştir. Nanopartiküllerin biyosentezinin önemli bir dalı bitki ekstresinin biyosentez reaksiyonuna uygulanmasıdır (Kasthuri ve ark., 2009).

Nanopartiküllerin biyolojik bazlı sentezi, sentezin indirgeyici ve stabilize edici ajanlar yardımıyla gerçekleştiği aşağıdan yukarıya bir yaklaşımı kullanır. Biyolojik bir sistem kullanılarak nanoparçacıkların sentezi için üç ana adım izlenir: kullanılan çözücü ortamının seçimi, çevre dostu ve çevresel olarak iyi huylu bir indirgeyici ajanın seçimi ve sentezlenen nanoparçacıkları stabilize etmek için bir kapatma ajanı olarak toksik olmayan bir materyalin seçimi (Singh ve ark., 2011). Şekil 2.13.' de biyolojik metotla nanopartikül sentezinin (aşağıdan yukarıya sentez) akış şeması verilmiştir.



Şekil 2.13. Yeşil sentez ile nanopartikül üretim, karakterizasyon ve uygulama aşamaları (Bhati-Kushwaha ve Malik., 2013)

2.6. Nanopartiküllerin Bitkiler Aracılığı ile Sentezi

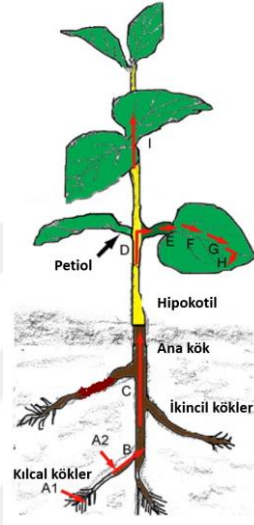
Erişilebilirliklerinin kolay olması nedeniyle nanopartiküllerin bitki özleri kullanılarak yeşil sentezi günümüzde biyonanoteknoloji alanında önemli bir araştırma konusu olarak ortaya çıkmaktadır (Huang ve ark., 2007). Nanopartiküllerin bitki aracılığı ile sentezi tipik fiziksel ve kimyasal yöntemlere kıyasla herhangi özel bir çalışma koşulu gerektirmeden çalışılabilmesi nedeniyle daha basit ve kolaydır. Atık ürünler de dahil olmak üzere işlemin sentezlenmiş ürünleri doğal bitki özlerinden elde edilir ve dolayısıyla bu teknik oldukça çevrecidir. Nanopartiküllerin biyosentezi için bitkiler canlı formlarında veya ölü/inaktif formlarında kullanılabilir (Bali ve ark., 2006). Genel olarak bitki biyokütle parçacığı ya da ekstresi, oda sıcaklığında metal tuz çözeltisinde çalkalanarak veya çalkalanmadan istenen pH ile karıştırılır. Kök, yaprak, çiçek, meyve, lateks, tohum ve tohum kabuğu gibi bitki kısımları metal nanopartiküllerin sentezi için kullanılmaktadır (Bhati-Kushwaha ve Malik, 2013).

Biyolojik temelli nanopartikül sentezi protokolü ile işlemin daha yüksek tekrarlanabilirliği ve sentezlenen nanopartiküllerin daha yüksek stabilitesine ulaşılabilir. Bu nedenle, nanopartiküllerin biyolojik temelli üretimi daha etkili maliyet yatırımı, çevre dostu ve insan terapötik kullanımı için güvenli olan büyük ölçekli üretime uygundur (Pasupuleti ve ark., 2013). Daha önceki çalışmalar bitki ekstraktlarının biyo indirgeme potansiyelinin mikrobiyal kültürden nispeten daha yüksek olduğunu göstermiştir (Abdul Khalil ve ark., 2014). Ayrıca, mikrobiyal tabanlı yöntemden kaynaklanan atık ürünlerin ve sentezde yer alan mikropların türüne bağlı olarak çevreye daha az zararlı olması muhtemeldir (Shakibaie ve ark., 2010). Bu nedenle, bitki aracılı sentez daha az veya neredeyse sıfır kontaminasyon içerir ve böylece çevre üzerindeki baskıyı azaltır. Bahsedilen tüm avantajlar ve diğer yöntemlere göre üstün özellikleriyle bitki özlerini kullanan yeşil sentez yöntemi artık basit, etkili ve uygulanabilir bir teknik olduğu kadar konvansiyonel kimyasal ve fiziksel nanopartikül hazırlama yöntemlerine ve hatta mikrobiyal yöntemlere de iyi bir alternatif olmuştur (Huang ve ark., 2007).

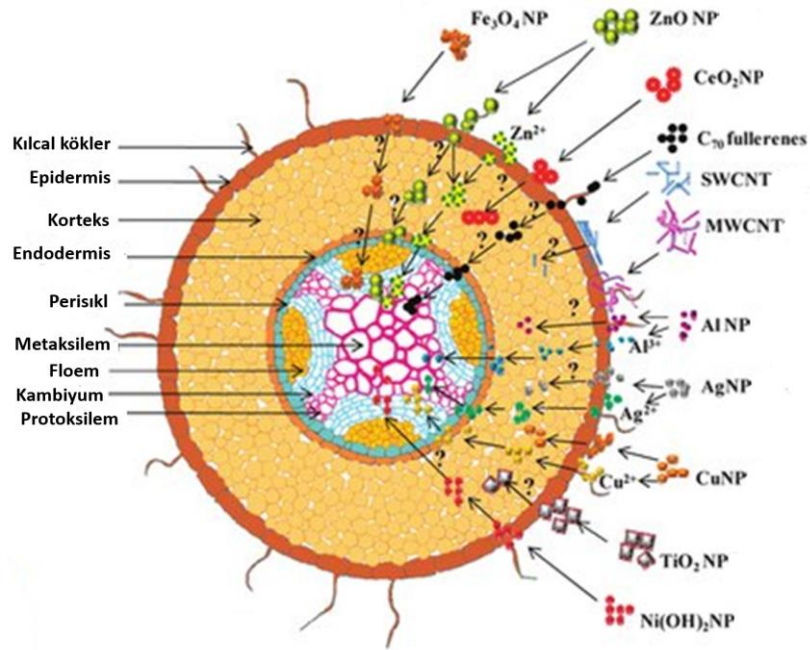
2.6.1. Nanopartiküllerin Bitki Tarafından Alımı

Tasarlanmış nanopartiküller potansiyel olarak bitki kökleri tarafından alınabilir ve bu partiküllerin bileşimine, şekline, büyüklüğüne ve bitki anatomisine bağlı olarak vasküler sistem aracılığıyla sürgünlere kadar taşınabilir. (Ma ve ark., 2010). Mevcut literatür nanopartiküllerin alımı, translokasyonu ve birikiminin bitki türlerine ve nanopartiküllerin boyutuna, tipine, kimyasal bileşimine, işlevselleşmesine ve

stabilitesine bağlı olduğunu ortaya koymuştur (Chen ve ark., 2010). Bitkilere maruz kaldığında gümüş nanopartiküller doğrudan kök hücrelere girer ve vakuollerde saklanır. Çalışmalar nanopartiküllerin bitki büyümesi ve gelişmesi üzerinde düşük konsantrasyonun uyarıcı, yüksek konsantrasyonun ise inhibitör (toksik) etkilerini göstermiştir (Wang ve ark, 2013; Gupta ve ark., 2018). Çeşitli nanopartiküllerin bir bitki tarafından seçici alımı, biyo transformasyonu ve translokasyonu Şekil 2.14. ve Şekil 2.15' de şematik olarak gösterilmiştir.

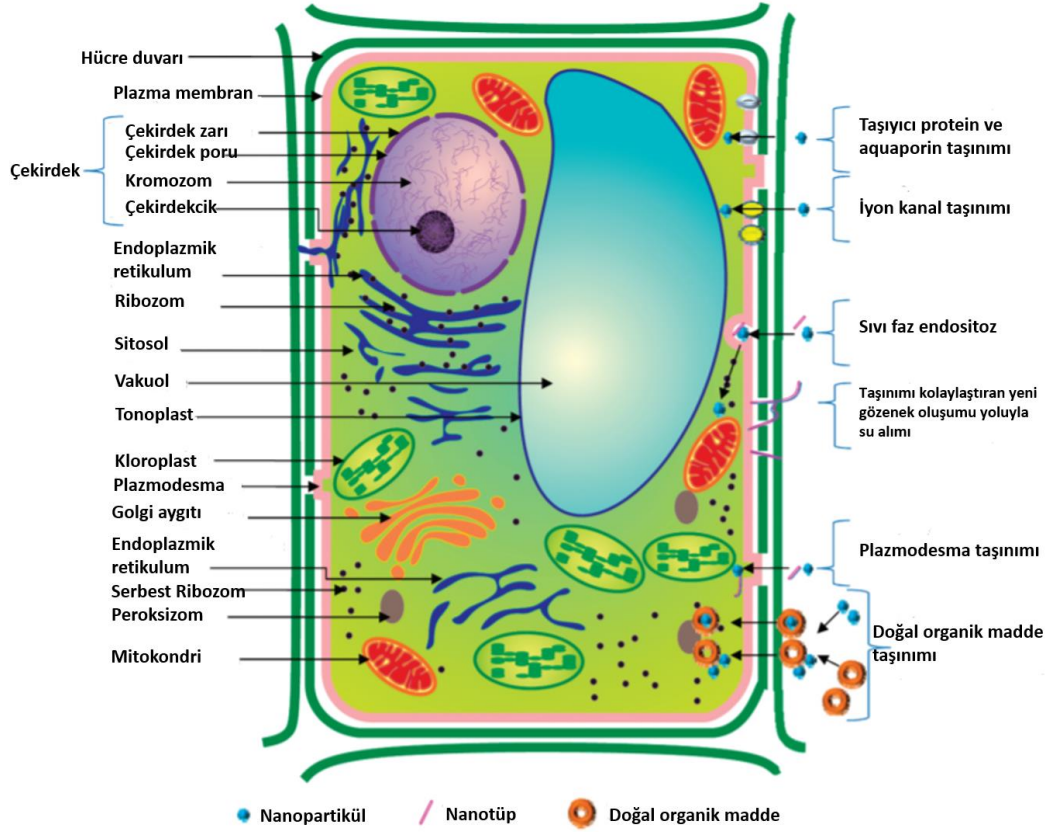


Şekil 2.14. Nanopartiküllerin bitki tarafından alımı ve iletimi (Ma ve ark., 2010)



Şekil 2.15. Nanopartiküllerin bitki kökü tarafından alımı (Rico ve ark., 2011)

Nanopartiküllerin bitki hücreleri tarafından alınması için çeşitli yollar olduğu düşünülmektedir. Şekil 2.16.' da gösterildiği gibi veriler nanopartiküllerin bitki hücrelerine taşıyıcı proteinlere bağlanarak su buharları, iyon kanalları veya endositoz yoluyla, yeni gözenekler oluşturarak veya çevresel ortamdaki organik kimyasallara bağlanarak girebileceğini düşündürmektedir (Watanabe ve ark., 2008). Bitkiler tarafından alındığı bildirilen metal bazlı nanopartiküllerin çoğu iyon taşıyıcılarının tanımladığı elementleri içerir (Hall ve Williams, 2003). Hücrelerin içine girdikten sonra nanopartiküller apoplastik veya sempatik olarak taşınabilir plazmodesmata yoluyla da bir hücreden diğerine taşınabilirler. Bununla birlikte sadece bazı bitki türlerinin neden birkaç nanopartikülü alabildiği ve mekanizmaları hala bilinmemektedir (Rico ve ark., 2011).



Şekil 2.16. Bitki hücresi tarafından nanopartikül alımı (Rico ve ark., 2011)

2.6.2. Bitki Ekstraktlarıyla Nanopartiküllerin Sentezini Etkileyen Faktörler

Bitki aracılı biyosentez sırasında nanopartiküllerin sentezini, karakterizasyonunu ve uygulanmasını etkileyen çeşitli faktörler vardır. Önemli faktörlerden bazıları aşağıda özetlenmiştir.

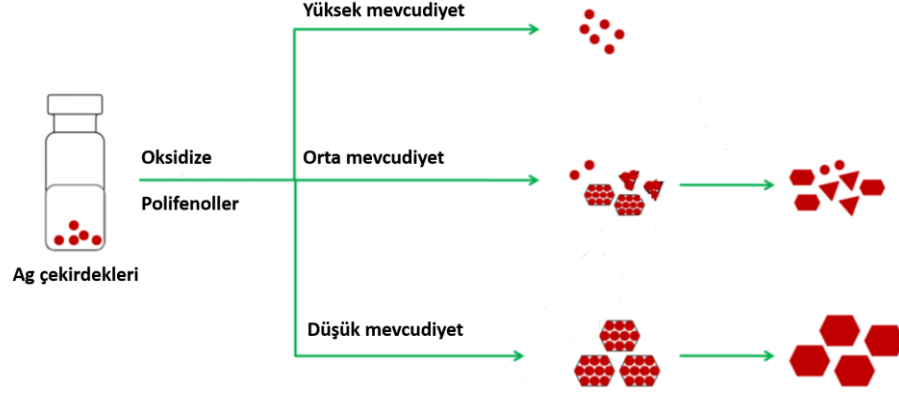
Çözeltinin pH Düzeyi: Çözelti pH' ı nanopartiküllerin bitki aracılı biyosentezinde önemli bir rol oynar. Çalışmalar çözelti ortamının pH değerinin sentezlenen nanopartiküllerin boyutunu, şeklini ve hızını etkilediğini göstermektedir (Armendariz ve ark., 2004). Bu durum pH' daki artışla artan çekirdeklenme merkezlerinin oluşumundan kaynaklanmaktadır. Çekirdeklenme merkezi arttıkça, metalik iyonun metal nanopartiküllerine indirgenmesi de artar. Aynı durumda çözelti pH 'ı bitki ekstraktı içindeki fonksiyonel grupların aktivitesini ve ayrıca bir metal tuzunun indirgeme oranını da etkiler (Bali ve Harris, 2010).

Sıcaklık: Sıcaklık, her üç yöntemi kullanarak nanopartiküllerin sentezini etkileyen bir başka önemli parametredir. Fiziksel yöntem en yüksek sıcaklığı (> 350 °C) gerektirirken, kimyasal yöntemler 350 °C' den daha düşük bir sıcaklığı gerektirir. Çoğu durumda yeşil teknoloji kullanılarak nanopartiküllerin sentezi 100 °C' den düşük sıcaklıklar veya ortam sıcaklığı gerektirir. Reaksiyon ortamının sıcaklığı oluşan nanopartiküllerin doğasını belirler (Rai ve ark., 2006).

Reaksiyon süresi: Yeşil sentez yöntemiyle sentezlenen nanopartiküllerin kalitesi ve tipi reaksiyon ortamının inkübe edildiği süreden büyük ölçüde etkilenir. Nanopartiküllerin bitki aracılı biyosentezi mikroorganizmaya kıyasla genellikle hızlı olsa da bazı yazarlar yüksek reaksiyon sürelerinde verimli üretim oranı gözlemlemişlerdir (Darroudi ve ark., 2011).

Bitki özü/biyokütle dozu: Bitki ekstraktı konsantrasyonu genellikle nanopartikül sentezinin verimliliğine karar verir. Bazı araştırmacılar biyokütle dozajındaki artışın nanopartiküllerin üretimini arttırdığını ve nanopartiküllerin şeklini değiştirdiğini tespit etmişlerdir (Balamurugan ve ark., 2014).

Basınç: Reaksiyon ortamına uygulanan basınç sentezlenen nanoparçacıkların şeklini ve boyutunu etkiler. Biyolojik maddeler kullanarak metal iyonlarının indirgenme oranının ortam basıncı koşullarında çok daha hızlı olduğu bulunmuştur (Tran ve ark., 2013). Farklı boyutlardaki gümüş nanopartiküllerin oluşum mekanizması ve form değişikliğinin kontrol edilmesi Şekil 2.17.' de açıklanmıştır. Eklenen ekstrakt miktarı 1 ml olduğunda sentezde altıgen nanopartiküllerin oluşumu gözlenmiştir. Buna karşılık, kullanılan ekstrakt hacmini 3 ve 4 ml' ye yükseltildiği zaman küresel gümüş nanopartiküllerin oluştuğu gözlemlenmiştir. Ekstrakt hacmi arttıkça daha küçük boyutlu küresel gümüş nanopartiküller oluşmaktadır (Babu Maddinedi ve ark., 2015; Babu Maddinedi ve ark., 2017).



Şekil 2.17. Oksitlenmiş polifenollerin, gümüş nanopartiküllerin boyutunun ve şeklinin ayarlanmasında rolünü gösteren mekanizma (Babu Maddinedi ve ark., 2017)

2.7. Biyolojik Sentez Sonrası Nanopartiküllerin Ayrıştırılması

2.7.1. Yoğunluk Gradyanlı Santrifüj

Biyokromolekülleri ayırmak için kullanılan yoğunluk dereceli santrifüjleme yöntemi de nanopartiküllerin izole edilmesi için büyük bir potansiyel göstermektedir. Kısaca, farklı yoğunluklarda sırayla katmanlama çözeltileri ile santrifüj tüpünde bir yoğunluk gradyanı oluşturulur daha sonra numuneler yoğunluk derecesinin üstüne eklenir ve santrifüjlemeye tabi tutulur. Farklı boyutlar, şekiller veya yoğunluklar nedeniyle numunelerdeki farklı partiküllerin sedimentasyon katsayısı değişir. Bu nedenle çeşitli bileşenler gradyandan farklı hızlarda birikir ve sonuçta farklı bölgeler yoğunluk gradyanında oluşur. Belirli bir bölgede parçacıklar benzer boyut ve şekle sahiptir ve izole edilebilir (Liu ve ark., 2012).

2.7.2. Liyofilizasyon

Liyofilizasyon olarak da bilinen dondurarak kurutma vakum altında süblimasyon ve desorpsiyon yoluyla dondurulmuş bir örnekten suyun uzaklaştırılmasını içeren endüstriyel bir işlemdir. Bununla birlikte, bu işlem dondurma ve kurutma aşamaları sırasında çeşitli gerilimler üretmektedir. Bu nedenle nanoparçacıkları donma ve kuruma gerilmelerinden korumak için formülasyona genellikle koruyucu maddeler eklenir (Franks, 1998).

2.7.3. Alan-Akış Ayırma Yöntemi

Alan-akış ayırma yöntemi (FFF), karmaşık makromolekülleri, kolloidleri ve partikülleri ayırmak için tasarlanmış akış destekli bir hidrodinamik ayırma

teknigidir. Sabit bir faza ihtiyaç duymaması dışında sıvı kromatografisi ve alan güdümlü bir teknik kombinasyonu olarak kabul edilebilir. Temel olarak örnekleri taşıyan akan akım FFF kanalından göç ettiğinde, analitlerin tutulmasına neden olan akış kanalının eksenine dik bir harici alan uygulanır. Geniş boyut dağılımı ve farklı fizikokimyasal özellikler nedeniyle partiküller farklı difüzyon katsayılarına sahiptir. Bu yayılabilirliği ve dış alanı dengelemek için parçacıklar birikim duvarından farklı mesafelerde kalır, bu nedenle tutma süresi değişir (Williams ve ark., 2011). Ag, Au, Pd ve Pt dahil olmak üzere birçok nanopartikülü ayırmak için termal FFF kullanılır (Kim ve ark., 2007).

2.7.4. Elektroforez ve Kapiler Elektroforez

Nanopartiküllerin elektroforetik olarak ayrılması esas olarak nanopartiküllerin partikül boyutu, şekli ve yüzey-kimyasal modifikasyonuna dayanmaktadır. Yüzey modifikasyonu olmayan nanopartiküllerin elektron yükü esas olarak iyon adsorpsiyonundan kaynaklanır ve elektroforetik ayırma büyük ölçüde parçacık boyutuna bağlıdır. Yüzey fonksiyonel grup modifikasyonları ile fonksiyonel nanopartiküllerin elektroforezi bu fonksiyonel grupların miktarından, kimyasal gruplarından ve iyonizasyonundan etkilenir. Jel elektroforezi, izoelektrik odaklama (IEF) ve kılcal elektroforez (CE) nanopartikülleri parçalamak için yaygın olarak uygulanmıştır (Kumar, 2010).

2.7.5. Diğer Yöntemler

Gümüş nanopartikülleri ayırmak için membran filtrasyonu, ultrafiltrasyon ve diyaliz gibi başka teknikler de kullanılmaktadır. Santrifüjleme ucuz ve kullanımı kolay olduğundan gümüş nanopartikülleri saflaştırmak için özellikle de yeni hazırlanan nanopartiküllerden kalıntıları uzaklaştırmada yaygın olarak kullanılmaktadır. Membran filtrasyonu veya ultrafiltrasyon basit prosedürü nedeniyle ve başka ayırıcı ajanlar eklenmeden farklı boyutlardaki gümüş nanopartiküllerin ayrılması için etkili bir araç olarak kullanılmaktadır (Benn ve Westerhoff, 2008).

2.8. Biyolojik Sentez Sonrası Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Nanopartiküller tipik olarak boyutları, şekilleri, yüzey alanları ve dağılma yapıları ile karakterize edilir. Nanopartiküllerin karakterizasyonunda genel olarak; UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM), geçirimli

elektron mikroskobu (TEM), enerji dağılımlı X-ışını analizi (EDX), X-ışını kırınımı (XRD), fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi (FTIR), dinamik ışık saçılımı spektroskopisi (DLS), Brunauer-Emmett-Teller (BET) analizi vb. teknikler kullanılır (Vijayaraghavan ve Ashokkumar, 2017).

2.8.1. Sentezlenmiş Nanopartiküllerin X-ışını Kırınımı

X ışını kırınımı (XRD) tekniği metalik nanopartikül hakkındaki yapısal bilgileri incelemek için kullanılır. Enerjik X-ışınları malzemelerin derinlerine nüfuz edebilir ve yapı hakkında bilgi sağlayabilir. Nanopartiküller amorf bir yapıda üretilirse kırınım piki gözlenmez ve bu teknik numunenin tanımlanmasına yardımcı olamaz (Noruzi, 2015). XRD' deki piklerin genişlemesi nano boyutta parçacıkların oluşumunu doğrular. Nanopartikül büyüklüğü aşağıda sunulan Debye-Scherrer denklemi ile hesaplanabilir (Alexander ve Klug, 1950).

$$D = K\lambda/(\beta \cos\theta)$$

Denklemden D, parçacığın kristal çapını (nm); K, sabit sayıyı (0.90); λ , dalga boyu X-ray' ı (1.5406 Å); β , maksimum pikin yarı yükseklikteki genişliğini (rad.); θ , Bragg açısı' nı (derece) ifade etmektedir (Eren ve Baran, 2019)

2.8.2. Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM)

TEM nanopartiküllerin şekil, boyut ve morfolojisini belirlemek için en sık kullanılan yöntemlerden biridir (Chauhan ve ark., 2012). Bununla birlikte TEM için numune hazırlama çok karmaşık ve zaman alıcıdır, çünkü numuneler elektron geçirgenliği için ultra ince olmalıdır. Bu nedenle numuneleri içeren ince filmler karbon kaplı bakır ızgaralar üzerinde hazırlanır. Mikroskopun vakum basıncına dayanmak ve uygun kullanımı kolaylaştırmak için nanopartikül negatif bir boyama çözeltisi veya türevleri kullanılarak sabitlenir, daha sonra plastik içine gömülür veya gömüldükten sonra sıvı azota maruz bırakılır (Pal ve ark., 2011).

Parçacıkların bir civa lambası altında kurumasına izin verilir ve akabinde numuneye nüfuz eden ve bir görüntü oluşturmak için görüntüleme ekranına yansıtılan tek renkli bir elektron ışınına maruz bırakılır (Prasad ve ark., 2011).

TEM kullanılarak küçük parçacıklar (atom seviyesine yakın olan 10^{-10} m boyutunda) görüntülenebilir ve bir numunenin kristalografik yapısı atom ölçeğinde analiz edilebilir (Patra ve Baek, 2014).

2.8.3. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)

SEM nanopartiküllerin morfolojisini doğrudan görüntüleme yoluyla karakterize etmek için kullanılan bir başka tekniktir. Bu yöntem elektron mikroskopisine dayanır ve morfolojik ve boyut analizi için çeşitli avantajlar sunar; bununla birlikte, boyut dağılımı ve gerçek dağılım ortalaması hakkında sadece sınırlı bilgi sağlama yeteneği gibi çeşitli dezavantajlarla da ilişkilidir (Pal ve ark., 2011). Cihaz bir elektron tabancası, kondenser mercekleri ve bir vakum sistemine sahiptir. SEM üç tip ana görüntü üretir; harici X-ışını haritaları, geri saçılmış elektron görüntüleri ve ikincil elektron görüntüleri (Gupta ve ark., 2013).

SEM analizi için nanopartikül çözeltisi bir toz halinde kurutulur, bir numune tutucu üzerine monte edilir ve bir püskürtme kaplayıcı kullanılarak altın, altın/paladyum alaşımı, platin, osmiyum, iridyum, tungsten, krom veya grafit gibi iletken bir metalle kaplanır (Suzuki, 2002). Daha sonra numunelerin yüzeyinde çeşitli sinyaller üretmek için yüksek enerjili elektron demeti numuneye yönlendirilir (Jores ve ark., 2004). Elektron ışınlarına maruz kalan numuneden alınan sinyaller dokuları (dış morfoloji), kristal yapı ve numunedeki materyallerin kimyasal bileşimi ve yönlendirilmesi dahil olmak üzere numuneler hakkında bilgi veren bir dedektör tarafından kaydedilir (Linga Rao ve Savithramma, 2011).

Başarılı bir analiz için nanopartiküller vakum basıncına ve nanopolimerlere zarar verebilecek elektron ışınının olumsuz etkilerine dayanabilmelidir. Çoğu durumda nano malzemenin yüzeyinin seçilen bir alanı için veriler toplanır ve mekansal varyasyonlara sahip iki boyutlu bir görüntü gösterilir Tüm avantajlarına rağmen bu teknik zaman alıcı ve maliyetlidir ve genellikle boyut dağılımı hakkında tamamlayıcı bilgi gerektirir (Prashanth ve ark., 2011).

2.8.4. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

FTIR spektroskopisi nanopartiküller üzerinde bulunan fonksiyonel grupları tanımlamak için yapılır. FTIR analizi kullanılarak bir katı, sıvı veya gazın kızılötesi emisyon spektrumu, Emilimi, foto iletkenliği veya Raman saçılması değerlendirilebilir. Spektrum nanopartiküldeki atom bağları arasındaki titreşim

frekanslarına karşılık gelen emilim tepelerinden oluşan nanopartiküllerin bir parmak izini temsil eder. Her bir nanopartikül tipi benzersiz bir atom kombinasyonu içerdiğinden nanopartiküllerin içinde bulunan fonksiyonel grupları FTIR spektrumlarına göre belirlenebilir (Faraji ve ark., 2010).

Bu durum yeşil teknolojiyi kullanarak nanoparçacık sentezini kolaylaştırmaya yardımcı olabilir. Nano malzemede bulunan fonksiyonel grupların sayısı spektrumun tepe noktalarının büyüklüğü ile belirlenebilir (Chauhan ve ark., 2012). Nanopartiküller için transmisyon spektrumları ilgili malzemeleri içeren şeffaf ince potasyum bromür (KBr) topakları oluşturularak elde edilir. KBr karışımları topak oluşumundan önce gece boyunca bir vakum hattına yerleştirilir. Transmisyon spektrumları kuru havada temizlendikten sonra elde edilir ve referans KBr topağı kullanılarak arka plan düzeltilir (Gupta ve ark., 2013).

Modern yazılım araçlarının uygulanması ile gelecekte nanopartiküllerin kantitatif analizi birkaç saniye içinde tamamlanabilir (Brice-Profeta ve ark., 2005).

2.8.5. UV-Vis Spektroskopisi

Altın ve gümüş gibi metalik nanopartiküller metalik nanopartiküllerde meydana gelen ayarlanabilir yüzey plazmon rezonansının (SPR) mevcudiyeti nedeniyle sırasıyla en fazla 500-600 ve 400-450 nm aralığında güçlü absorpsiyonlara sahiptir. Bu durum metalik nanopartiküllerle etkileşen bir elektromanyetik alanın neden olduğu serbest iletim elektronlarının kolektif salınımına atfedilir. (Noruzi ve ark., 2011). Dolayısıyla UV-vis spektroskopisi genellikle metalik nanopartiküllerin karakterizasyonunda kullanılan ilk tekniktir (Vilchis-Nestor ve ark., 2008). Ekstrakt renginin altın nanopartiküller için kırmızı veya menekşe ve gümüş nanopartiküller için kahverengiye dönüşmesinden sonra bahsedilen dalga boyu bölgelerinde bir absorpsiyon bandının gözlemlenmesi bu nanopartiküllerin üretimini doğrular. SPR bandı sentezlenen nanopartiküllerin boyutu ve şekli hakkında faydalı bilgiler verebilir. Partikül boyutundaki artış maksimum dalga boyunda (kırmızı kayma) artışa neden olur ve partikül boyutundaki azalma, maksimum dalga boyunda (mavi kayma) azalmaya yol açar (Huang ve ark., 2007).

2.8.6. Dinamik Işık Saçılması (DLS) ve Zeta Potansiyeli

Foton-korelasyon spektroskopisi olarak da bilinen DLS partikül boyutu dağılımını belirlemek için en hızlı ve en popüler yöntemlerden biridir. DLS kolloidal

süspansiyonlardaki Brownian nanopartiküllerinin boyutunu ölçmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (De Jaeger ve ark., 1991).

Tek renkli bir ışık demeti (lazer) Brownian hareketindeki küresel parçacıkların çözeltisine yönlendirildiğinde ışık hareketli parçacıklara çarpar ve Doppler kayması meydana gelir, böylece gelen ışık demetinin dalga boyunu parçacık boyutuyla ilgili bir değerle değiştirir. Buna göre DLS ile ortam içindeki parçacığın difüzyon katsayısı ölçülerek parçacığın boyut dağılımı ve hareketi hesaplanabilir (Saxena ve ark., 2010).

Zeta potansiyel analizi dış Helmholtz düzlemi ile kesme yüzeyi arasındaki potansiyel farka karşılık gelir. Zeta potansiyelinin ölçümü kolloidal dispersiyonun depolama stabilitesini öngörür. Stabilitiyi sağlamak ve partikül birikmesini önlemek için yüksek pozitif veya negatif zeta potansiyel değerleri elde edilmelidir. Ek olarak yüzey hidrofobikliğinin derecesi tahmin edilebilir. Nanoparçacık içinde kapsüllenmiş veya partikül yüzeyi üzerine kaplanmış malzemelerin doğası da zeta potansiyeline göre analiz edilir (Otsuka ve ark., 2003).

2.8.7. Enerji Dağılım X-RAY Spektroskopisi (EDS)

EDS analizi yeşil sentez teknolojisi ile sentezlenen nanopartikülleri karakterize etmek için kullanılır. Bu yöntemde X ışınları bir elektron ışını tarafından bombardımana tutulduktan sonra nanopartiküllerden saçılır. Buna bağlı olarak nanopartiküllerin elementel kompozisyonu belirlenebilir. Taramalı elektron mikroskobuna takılabilen bir EDS dedektörü iki elektron arasındaki enerji farkını dengelemek için yayılan X ışınlarının sayısını tespit edebilir. Yayılan X ışınının enerjisi elementin karakteristik bir özelliğidir ve bu nedenle element kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilebilir. (Mubarak ve ark., 2011; Prasad ve ark., 2011).

2.8.8. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)

AFM nanopartiküllerin ve biyomoleküllerin morfolojisini incelemek için kullanılır. SEM ve TEM' den farklı olarak AFM parçacık hacmi ve yüksekliğinin değerlendirilebilmesi için üç boyutlu görüntüler üretir (Mucalo ve ark., 2002). Bu yöntem partikül boyutu ölçümü için ultra yüksek çözünürlük kapasitesine sahiptir ve bir prob ucu kullanılarak numunelerin mikron altı seviyede fiziksel olarak taranmasına olanak sağlar (Zur Mühlen ve ark., 1996). AFM kullanılarak münferit nanopartiküller ve boyut (uzunluk, genişlik ve yükseklik), morfoloji ve yüzey dokusu gibi partikül

grupları ile ilgili kantitatif bilgiler yazılım tabanlı görüntü işleme yardımıyla değerlendirilebilir (Chauhan ve ark., 2012).

AFM, sıvı veya gaz ortamında çalıştırılabilir. Bu yöntem için küçük hacimli nanopartikül AFM üzerine monte edilmiş bir cam kapak üzerine yayılır ve oda sıcaklığında azot gazı ile kurutulur. Daha sonra verilerin daha iyi yorumlanmasını sağlamak adına tek bir örnek için yaklaşık altı ila on görüntü alınır. Cihaz temas modunda taranan numunenin ucu ve yüzeyi arasındaki kuvvetlere dayanarak numunenin topografik haritasını oluşturur. Prob numuneye özgü özelliklere bağlı olarak temassız modda iken iletken yüzey üzerinde gezer. AFM herhangi bir özel işlem yapılmadan iletken olmayan numuneleri görüntüleme ve hassas biyolojik veya polimerik mikro ve nano yapıları görüntüleme yeteneğine sahiptir (Shi ve ark. 2003).

2.9. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış orbitalinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan yüksek enerjili atom veya moleküller olarak tanımlanmaktadır (Bast ve ark., 1991). Serbest radikaller eşlenmemiş elektron bulundurduklarından dolayı diğer maddelerle kolaylıkla reaksiyona girebilirler. Elektronlarını çiftler halinde (eşlenik) bulunduran atomlar veya moleküller ise kararlı bir yapıya sahip olduklarından başka moleküller ile reaksiyonlara girme eğilimleri serbest radikaller kadar yüksek değildir. Bu yüzden kararlı yapıda bulunan, eşlenmemiş elektronu bulunmayan ve diğer maddeler ile radikallerden daha zayıf bir şekilde reaksiyona giren moleküller nonradikaller olarak tanımlanır (Valko ve ark., 2007).

Serbest radikaller oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilir. Oksijen kaynaklı olanlar reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrojen kaynaklı olanlar reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak isimlendirilir (Halliwell, 1999; Valko ve ark., 2007).

Organizmadaki serbest radikaller hem endojen hem de eksojen kaynaklar tarafından meydana getirilebilir (Şekil 2.18.). Serbest radikaller hücrede ve çevrede sürekli olarak üretilir (Sen ve ark., 2010). Serbest radikaller mitokondride aerobik solunum sırasında, nötrofiller ve makrofajlar tarafından yangı durumunda, düz kas hücreleri tarafından, endoplazmik retikulumda otooksidasyon reaksiyonları sırasında, zihinsel stres veya vücut yorgunluğundan kaynaklanan strese toksik yan ürün olarak, immun sistem hücrelerinde ise patojenlere yanıt anlamında endojen olarak üretilebilir. Eksojen kaynaklar ise, UV ışınlar, X ışınları, gamma ışınları, mikrodalga ışınları, pişirme sırasında organik maddelerin yakılması, orman yangınları, volkanik faaliyetler,

asbest, benzen, karbonmonoksit, formaldehit, ozon ve toluen gibi hava kirleticiler vb. olarak gösterilebilir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Hücre içi organellerin membranlarında bulunan lipitler serbest radikal hasarına karşı son derece hassastır. Serbest radikaller lipitler ile reaksiyona girdiğinde şekillenen lipit peroksidasyonu yüksek derecede zararlı etkilerine yol açabilir. Lipit peroksidasyonu toksik yan ürünlerin çok miktarda üretilmesine yol açar ve üretilen bu yan ürünler ikinci haberciler gibi hareket ederek üretildiği alandan uzak bir bölgede etkilerini gösterir. Serbest radikaller proteinleri doğrudan etkilerken proteinlerin etkilene derecesini amino asit içerikleri belirler. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküller serbest radikaller ile daha yüksek reaktiviteye sahip olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitler içeren proteinler serbest radikallerle daha kolay reaksiyona girer. Serbest radikaller yapısal proteinlerin fonksiyonunu ve enzim aktivitesini engelleyerek birçok proteinin hasarına neden olabilir (Devasagayam ve ark., 2003).

Reaktif oksijen türleri ve RNS, DNA ile etkileşime geçerek oksidatif hasara yol açar. DNA, -OH gibi serbest radikaller tarafından kolaylıkla hasara uğratılabilir. Bu serbest radikaller DNA ile reaksiyona girerek hidrojen atomlarının kaybına veya ilavesine sebep olabilir. Özellikle pirimidinin C4-C5 çift bağı hidroksil radikalının saldırılarına karşı çok hassastır (Fang ve ark., 2002).

Hidroksil gibi serbest radikaller karbonhidratlar ile reaksiyona girer ve karbon atomlarının birinden bir hidrojen atomu çıkararak karbon merkezli radikal üretirler. Bunlar hyaluronik asit gibi önemli moleküllerde zincir kırılmalarına yol açar (Devasagayam ve ark., 2004).

Düşük yoğunluklarda olduklarında ROS ve RNS' nin yararlı etkilerinden söz etmek mümkündür. Birçok hücrel yanıtı karşı normal fizyolojik bir fonksiyon olarak birçok hücrede O_2^- , H_2O_2 ve NO üretiminden söz edilebilir. Ayrıca bazı hücreler etkilerini ROS ve RNS salınım sistemini uyararak gösterirler. Reaktif oksijen türleri ve RNS' nin bazı yararlı faaliyetleri arasında fagositoz aracılığıyla enfeksiyonlara karşı savunma, sitotoksik lenfositler ve makrofajlar tarafından kanser hücrelerini öldürme, sitokrom p450 tarafından ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, mitokondride ATP üretimi, hücre büyümesi ve düşük konsantrasyonda mitojenik yanıtlara neden olma sayılabilir (Lander, 1997).



Şekil 2.18. Organizmada serbest radikal oluşma yolları (Uysal, 1998)

2.10. Antioksidanlar

İndirgeyici ve oksidan kimyasal terimlerken antioksidan ve pro-oksidan biyolojik sistem bağlamında bir anlama sahiptir. Bir antioksidan, oksitlenebilir bir substratinkine kıyasla düşük konsantrasyonlarda mevcut olduğunda substratın pro-oksidan tarafından başlatılan oksidasyonunu önemli ölçüde önleyen veya geciktiren bir madde olarak tanımlanabilir. Pro-oksidanlar lipidlerde, proteinlerde ve nükleik asitlerde oksidatif hasara ve çeşitli patolojik olaylara veya hastalıklara neden olabilecek toksik bir maddedir. Pro-oksidan reaktif türler ile eşanlımlıdır. Dolayısıyla kimyasal olarak bir pro-oksidan, patolojik öneme sahip bir oksidandır. Bir antioksidan, toksisitesi olmayan veya düşük olan oluşturulmuş ürünlerle bir pro-oksidanı etkili bir şekilde azaltabilir. Bir

antioksidan bir indirgeyicidir, ancak bir indirgeyici mutlaka bir antioksidan değildir ve sadece biyolojik hedefi koruyabilen bileşikler bu kriterleri karşılar (Prior ve Cao, 1999). Bu koruma çeşitli etki mekanizmalarına dayanabilir: (i) ROS/RNS' ye karşı üretim ve temizleme kapasitesinin engellenmesi; (ii) kapasitenin azaltılması; (iii) metal şelatlama kapasitesi; (iv) antioksidatif enzim aktivitesi; (v) oksidatif enzimlerin inhibisyonu (Hwang ve Bowen, 2007; Wardman, 2007).

Antioksidanlar potansiyel olarak diğer moleküllerin oksidasyonunu yavaşlatabilir veya önleyebilir. Oksidasyon reaksiyonunda bir elektron bir maddeden oksitleyici maddeye aktarılır. Böylece oksidasyon reaksiyonu hücrelere zarar vermek için zincir reaksiyonlarını başlatan serbest radikaller üretebilir. Antioksidanlar serbest radikalleri ortadan kaldırarak veya stabilize ederek bu zincir reaksiyonlarını sonlandırır ve kendi kendine oksidasyon ile diğer oksidasyon reaksiyonlarını engeller (Valentão ve diğerleri, 2002).

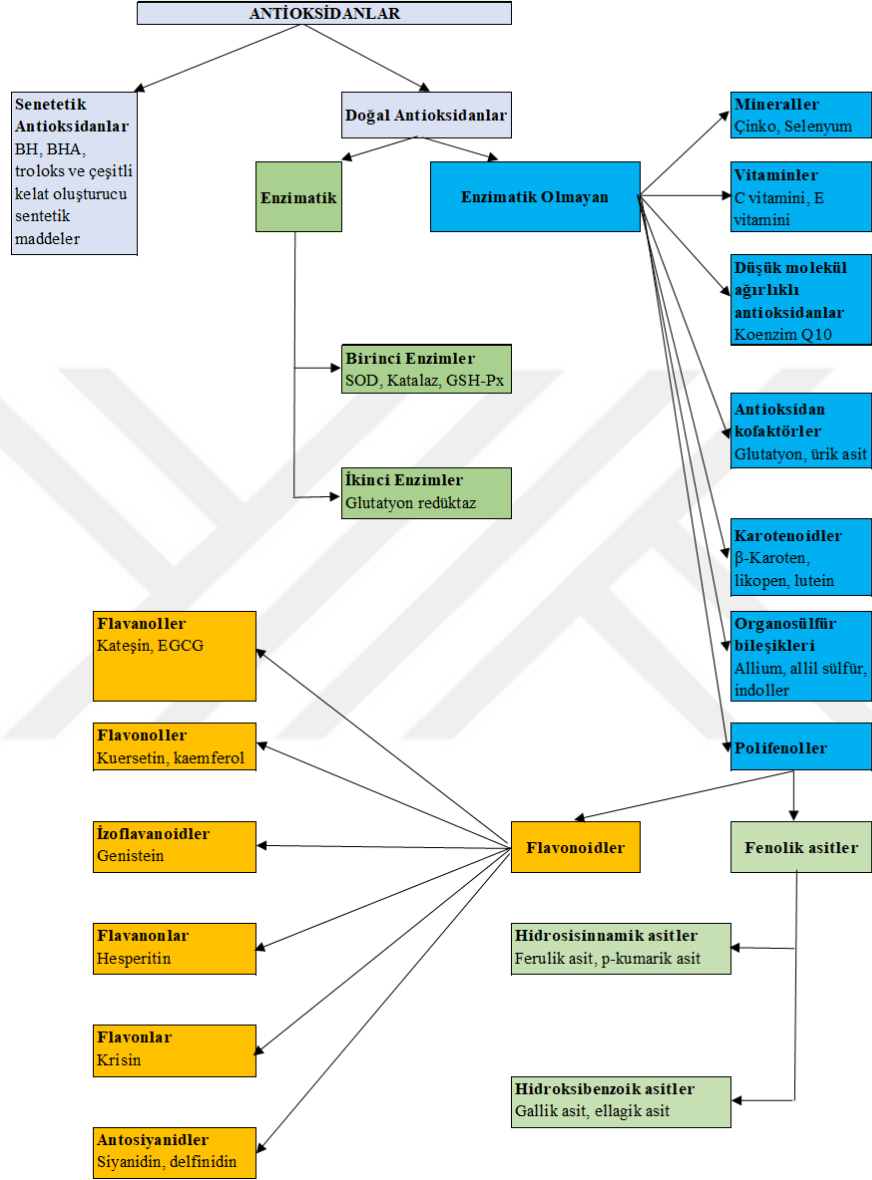
Antioksidan sistemler reaktif oksijen türlerine karşı onları korumak için hücrelerde bulunur. Sitosol veya hücre dışı sıvılar gibi hücresel sulu bölmeler düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlardan oluşur; glutatyon ve askorbat (C vitamini) ile birlikte bazı antioksidan enzimler, oksidatif hücre hasarını önlemek için ise süperoksit dismutazlar (SOD), katalazlar ve peroksidazlar bulunur. Antioksidanlar oksidatif stresi azaltarak hücresel hasarı önlemek için serbest radikalleri temizleyebilir ve böylece insan sağlığı üzerinde faydalı bir etkiye sahip olabilir (Pisoschi ve Pop, 2015).

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları hakkında fikir vermesi açısından önemlidir. Genellikle toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi arasında doğrusal bir korelasyon görülür (Huang ve ark., 2005).

Canlı sistemlerde farklı antioksidan savunma seviyeleri vardır. Bunlar radikal önleyici, radikal temizleyici ve radikal kaynaklı hasarları onaran sistemler olarak tanımlanır. Birinci basamak savunma antioksidanları serbest radikal haline gelebilecek diğer radikallerin veya moleküllerin üretimini tetikleyen serbest radikalleri hızla etkisiz hale getirir. İkinci basamak savunma antioksidanları tipik olarak temizleyici antioksidanlardır. Aktif radikallere bağlanırlar, zincirleme reaksiyonun başlamasını önlerler ve zincir yayılma reaksiyonlarını kırarlar. Serbest radikal hasarının ardından üçüncü basamak savunma antioksidanları aktif hale gelir. Bunlar serbest radikallerin neden olduğu hasarlı DNA, protein ve lipitleri onaran enzimlerdir (Nimse ve Pal, 2015; Steckiewicz ve ark., 2019).

2.10.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Normal fizyolojik koşullarda oluşan radikalik ya da radikalik olmayan oksidanları etkisiz hale getiren antioksidanlar doğal ve sentetik olarak iki gruba ayrılır (Şekil 2.19.).



Şekil 2.19. Antioksidanların sınıflandırılması (Shalaby ve Shanab, 2013).

2.10.1.1. Sentetik Antioksidanlar

Sentetik antioksidanlar enzimatik olmayan antioksidanlar veya diyet takviyeleri olarak da bilinir. Vücudun karmaşık antioksidan sistemi C vitamini, E vitamini, çinko, taurin, hipotaurin ve glutatyon gibi antioksidanların, vitaminlerin ve minerallerin diyetle alımından etkilenir (Agarwal ve ark., 2005). Birçok alanda BHA (bütilendirilmiş hidroksi anisol), BHT (bütilendirilmiş hidroksi toluen), PGE (propil gallat) ve TBHQ

(tersiyer-butil hidrokinon) gibi sentetik antioksidanlardan faydalanılmaktadır. Bu antioksidanların etkili, kalıcı ve ucuz oldukları bilinmesine rağmen birçok potansiyel yan etkileri tespit edilmiştir (Sohaib ve ark., 2016; Yang ve ark., 2018). Sentetik antioksidan maddelerin mevcut yan etkileri ve eski çağlardan beri insanoğlunun tedavi amaçlı sayısız tıbbi aromatik bitkiyi kullanmış olmasından dolayı birçok araştırmacı doğal antioksidanlar üzerinde çalışmaya başlamıştır (Emsen ve ark., 2019).

2.10.1.2. Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanların güvenilirlikleri ve yan etkilerinin olmaması gibi nedenlerle sentetik antioksidanlara kıyasla daha avantajlı olduğu bilinmektedir (Pellegrini ve ark., 2009). Doğal antioksidanlar özelliklerine göre enzimatik olanlar ve enzimatik olmayanlar olarak sınıflandırılır. Enzimatik olanlara süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidazlar (GPX), tiyoredoksinler (TRX) ve peroksiredoksinler (PRX) örnek olarak verilebilir. Enzimatik olmayanlar arasında ise glutatyon, alfa-lipoik asit, koenzim Q, ferritin, ürik asit, bilirubin, l-karnitin ve melatonin sayılabilir. Bununla birlikte diğer antioksidanlar, örneğin askorbik asit (Vitamin C), tokoferol, β -karoten, lipoik asit, ürik asit, glutatyon ve polifenoller diyet kaynaklı olarak alınabilir (Shalaby ve Shanab, 2013).

2.11. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki ayrı başlık altında incelenmektedirler.

Flavonoidler fenilalaninden biyosentezlenen ve doğada özellikle yeşil bitkilerde yaygın olarak bulunan büyük bir ikincil metabolit grubu temsil eder. Doğal flavonoidlerin çoğunluğu pigmentlerdir ve genellikle bazı hayati farmakolojik işlevlerle anılırlar. Flavonoidler aglikon halka yapısındaki farklılıklar ve oksidasyon/indirgeme durumu temelinde birbirinden ayrılır. Ayrıca aglikonun hidroksilasyonunun derecesine, hidroksil gruplarının pozisyonlarına, piran halkasının doymunluğuna ve hidroksil gruplarının türevlendirilmesindeki farklılıklara dayanarak, çeşitli flavonoid sınıfları oluşturulmuştur (Havsteen, 2002; Manach ve ark., 2005). Flavonoidlerin temel kimyasal yapısı bir piran halkası bağlanan iki benzen halkası içerir. Benzen halkasından biri piran halkası ile birleştirilirken diğer benzen halkası piran halkasına ikame edici olarak eklenir. Benzen halkalarının ikame paternine ve piran halkasının ikame, oksidasyon ve doymunluğuna bağlı olarak nörodejeneratif hastalıkların etkin yönetimi

için kabul edilebilir benzersiz fizikokimyasal özelliklere ve biyolojik aktivitelere sahip çeşitli flavonoid türevleri sentezlenebilir (Ayaz ve ark., 2019). Flavonoidler bitkilerde ikincil metabolitlerin ürünleri olan polifenoller şeklinde bol miktarda bulunur. Yaygın olarak kullanılan flavonoidler arasında kuersetin, kaempferol (flavonoller), myricetin, luteolin ve apigenin bulunmaktadır. Diğer yaygın flavonoid türleri arasında, soya ve soya ürünlerinde doğal olarak var olan izoflavonlar (daidzein, genistein), narenciye ve domateslerde bulunan flavanonlar sayılabilir (Manach ve ark., 2005). Flavonoidler çok sayıda vücut proteinine bağlanma ve taşıyıcıları, enzimleri, hormonları, DNA' yı, ağır metallerin şelasyonunu değiştirme ve serbest radikalleri temizleme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle güçlü bir antioksidan olarak anılırlar (Cushnie ve Lamb, 2005).

Fenolik asitler terimi genellikle bir karboksilik asit grubuna sahip fenolik bileşikler tarif eder. Fenolik veya fenolkarboksilik asitler (polifenol adı verilen bir fitokimyasal türü), bitki fenolik bileşiklerinin ana sınıflarından biridir. Tipik olarak amidler, esterler veya glikozitler gibi bağlı halde bulunurlar ve nadiren serbest formdadırlar (Pereira ve ark., 2009). Fenolik bileşikler, yapısı bir veya daha fazla hidroksil grubu ile yer değiştirmiş bir veya daha fazla aromatik halka içeren sekonder bitki metabolitleridir (Rodríguez ve ark., 2009).

Fenolik bileşikler proteinleri çökttikleri, sindirim enzimlerini inhibe ettikleri ve vitaminlerin ve minerallerin kullanımını etkileyerek gıdaların besin değerlerini düşürdüğü için günlük diyetle istenmeyen olarak kabul edilir. Diyetle fenolik bileşiklerin varlığı kanserojenez ve mutajenezle karşı kemopreventif aktiviteleri nedeniyle sağlığa faydalıdır. Fenolik bileşiklerin sağlık üzerindeki etkileri tüketilen miktara ve biyoyararlanımlarına bağlıdır (Chung ve ark., 1998 , Shen ve ark., 2007). Fenolik bileşikler antioksidan, antienflamatuar, antimutajenik ve antikanser özellikleri dahil olmak üzere geniş bir potansiyel olarak faydalı biyolojik aktivite sergiledikleri bildirilmiştir (Dai ve ark., 2017). Fenolik bileşikler doğrudan antioksidanlar olarak bilinir, aynı zamanda endojen koruyucu enzimleri indükleyerek dolaylı antioksidan aktivite ve sinyal yolları üzerinde olumlu düzenleyici etkiler de gösterirler (Rice-Evans ve ark., 1996).

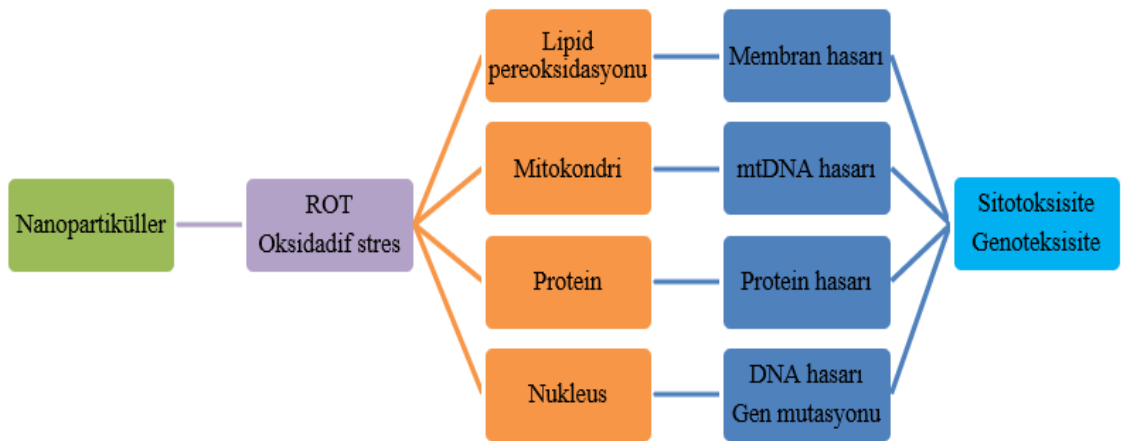
2.12. Nanopartiküllerin Oksidatif Stres Üzerine Etkisi

Oksidatif stres canlı organizmaların birçok zararlı çevresel faktöre genel bir yanıttır ve reaktif oksijen (ROS) ve reaktif azot (RNS) türleri ile doğal antioksidan savunma arasında bir dengesizlik olduğunda ortaya çıkar (Sharma ve ark., 2012).

Reaktif oksijen türleri bitkilerde normal hücresel fonksiyonlar sırasında üretilir ve bu reaktif türlerin üretimi ve uzaklaştırılması arasındaki denge bitkilerin oksidatif hasarı önlemesine yardımcı olur (Mittler, 2017).

Nano malzemeler ve hücreler arasındaki etkileşimler hücresel alım ve daha sonra hücrenin toksik yanıtı gümüş nanopartiküllerin neden olduğu toksisite ile ilgili en önemli konular arasındadır. Gümüş nanopartiküllerin hücre içine taşınması hücre zarı reseptörünün tanınması, içselleştirilmesi ve translokasyonu ile başlar ve hücreler tarafından bozulma, birikme veya tasfiye ile sona erer. Çoğu hücre için gümüş nanopartiküllerin endositoz yoluyla alınması zamana, doza ve enerjiye bağlı bir süreç olup ana hedefte olan organeller, endozomlar ve lizozomlardır (Luther ve ark., 2011; Asha Rani ve ark., 2009). Gümüş nanopartiküller tarafından salınan Ag⁺ iyonlarının neden olduğu oksidasyon stresine bağlı olarak sitotoksosite meydana gelir (Zhou ve ark., 2012). Bitkiler moleküler seviyede hücresel mekanizmalarını reaktif oksijen türleri nedenli oksidatif hasardan korumak için antioksidan enzimlerin aşırı üretimi yoluna giderek gümüş nanotoksositeye cevap verir (Cvjetko ve ark., 2017).

Gümüş nanopartiküllerin bitkiler üzerindeki ölümcül toksisitesinin arkasındaki ana sebep bitkilerin biyokimyasal özellikleri üzerindeki etkisidir ve radikal oluşumunu tetikleyerek bitki hücrelerinde oksidatif strese neden olur (Nair ve ark., 2010). Nanopartikül uygulaması ile artan reaktif oksijen üretimi ve oksidatif stres sonucu oluşan etkiler Şekil 2.20.' de belirtilmiştir (Fu ve ark., 2014).



Şekil 2.20. Nanopartiküllerin indüklediği ROT üretimi ve etkileri (Fu ve ark., 2014).

2.13. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi

Stres, bitkinin kendi doğal yaşam alanı içinde metabolik homeostazı değiştiren veya bozan, büyüme koşullarında meydana gelen herhangi bir değişiklik olarak tanımlanır (Shulaev ve ark., 2008). Bitkisel stres faktörleri biyotik ve abiyotik olmak üzere ikiye ayrılabilir. Biyotik faktörler; mikroorganizmaların (fungus, bakteri ve virüs) enfeksiyonu ve zararlı hayvanların saldırıları sonucu oluşan stres faktörleridir. Abiyotik faktörler ise su, sıcaklık, radyasyon, kimyasallar, manyetik ve elektriksel alanlar gibi çevresel faktörlerdir (Lichtenhaler, 1996). Bitkilerde stres koşullarına karşı oluşan moleküler cevap mekanizmaları makromoleküllerin ve iyonların homeostasisi, koruyucu moleküllerin sentezi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ve detoksifikasyon olmak üzere üç grupta toplanabilir (Büyük ve ark., 2012).

Oksidatif stres serbest radikal üretimi dokunun antioksidan kapasitesini aştığı durumlarda ortaya çıkar. Bu koşullar altında serbest radikaller lipitler, proteinler ve DNA gibi hayati hücresel bileşenlerin elektronca zengin alanlarına saldırırlar (Benson ve Bremner, 2004). Serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemek için aeroblar, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan koruma sistemlerinin karmaşık bir dizisini geliştirmiştir. Metabolik süreçler stresle yavaşladığında veya bozulduğunda, serbest radikallerin ve reaksiyon ürünlerinin başlatılmasını, yayılmasını ve ikincil etkilerini kontrol etmek için etkili antioksidan koruma sistemleri bulunmalıdır. Bu nedenle antioksidan durumunun izlenmesi normal fizyolojik süreçlerde ve stres yanıtlarında serbest radikallerin ve oksidatif mekanizmaların rollerini anlamak için önemlidir (Johnston ve ark., 2006).

Bitkiler fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler seviyelerde çeşitli hücresel süreçleri değiştirerek stres tolerans stratejileri uygular. Bitkiler enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemlerini tetikleyerek oksidatif stresle mücadele eder. Enzimatik antioksidan sistem, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POX), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) içeren bir dizi enzimden oluşur. Enzimatik olmayan antioksidan sistem, kloroplastlar, mitokondri, peroksizomlar, sitozol ve apoplastta çalışan Halliwell-Asada yolu olarak da bilinen askorbat (ASC) -glutatyon (GSH) döngüsü yoluyla işlev görür (Noctor ve Foyer, 1998).

Hasarın başlamasından önce antioksidan savunma sistemlerinin zamanında ve hassas bir şekilde etkinleştirilmesi bitkilerin stres koşullarında hayatta kalması için gereklidir. Savunma sisteminin aktivasyonu çeşitli sinyal molekülleri tarafından gerçekleştirilir (Lamattina ve ark., 2003).

2.14. Antioksidan Kapasite Belirleme Yöntemleri

Reaktif oksijen ve azot türleri de dahil olmak üzere pro-oksidan moleküller ile antioksidan savunmalar arasındaki dengesizliğin neden olduğu oksidatif stres biyomedikal disiplinlerin çoğunda ve birçok klinik araştırma türünde önemli bir araştırma konusudur (Al-Gubory ve ark., 2010). Antioksidanlar reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girerek, katalitik metalleri şelatlayarak veya serbest radikalleri temizleyerek biyolojik sistemleri oksidatif stresin zararlı etkilerinden koruyabilir (Jia, 2014). Bu nedenle araştırmacılar antioksidan aktiviteyi ve doğal bileşiklerin ilgili mekanizmalarını değerlendirmek için analitik yöntemleri araştırmaya başlamıştır (Sridhar ve Charles, 2018). Antioksidan kapasite serbest radikalleri temizleme veya nötralize etme yeteneği ile farklı maddeleri ve gıda örneklerini karakterize etmek için yaygın olarak kullanılan bir terimdir. Bu kapasite zararlı oksidasyona karşı biyolojik bir sistemi koruyabilen bileşiklerin varlığı ile ilişkilidir (Pyrzynska ve Pękal, 2013). Antioksidan kapasite değerlendirmesi ile ilgili elektrokimyasal, kromatografi, spektrofotometrik, kolorimetrik, elektron spin rezonansı ve floresan yöntemi dahil olmak üzere pek çok yöntem vardır (Şekil 2.21.). Bu yöntemler arasında basitliği, rahatlığı ve yüksek duyarlılığı nedeniyle floresan yöntemler tercih edilmektedir (Nau, 1998).

Antioksidan Tayin Yöntemleri	Total Antioksidan Aktivite Tayini (Ferric Thiocyanate Content/FTC)
	DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH Free Radical Scavenger Activity/DPPH)
	Toplam Fenolik Bileşik Tayini (Total Phenolic Content/TPC)
	Toplam Flavonoid Tayini
	Toplam Flavonol Tayini
	Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (Cupric Reducing Antioxidant Capacity/CUPRAC)
	Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi Yöntemi (Oxygen Radical Absorbance Capacity/ORAC)
	Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini
	Süperoksit Anyonu Süpürücü Aktivite Tayini İndirgeme Gücü Tayini Demir (III)
	İndirgeyici Antioksidan Güç (Ferric Reducing Antioxidant Power/FRAP)
	Trolox EĞdeğeri Antioksidan Kapasite Yöntemi (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity/TEAC)

Şekil 2.21. Antioksidan tayin yöntemleri (Huang ve ark., 2005).

2.15. *Thymelaeaceae* Familyası ve *Daphne* Cinsi

Dicotyledones sınıfına ait olan *Thymelaeaceae* familyası yaklaşık olarak 40-50 cins içerisinde dağılım gösteren 1200 tür ile temsil edilmektedir (Baytop, 1996). Tropikal ve ılıman bölgelerde yayılış gösteren ve yıllık türleri içeren *Thymelaeaceae* familyasının üyelerinden biri olan *Daphne* cinsi Anadolu'ya dağılmıştır ve Türkiye'de 7 tür ile temsil edilmektedir. Bunlar, *D. mezereum* L., *D. pontica* L., *D. glomerata* Lam., *D. sericea* Vahl., *D. oleoides* Schreber, *D. gnidioides* Jaub. and Spach. ve *D. mucronata* Royle türleridir (Tan, 1982).

Fitokimyasal çalışmalar *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' in terpenoidler, steroller, kumarinler, liganlar, flavonoidler ve aromatik bileşikler içerdiğini göstermiştir (Baytop, 1999; Ullah ve ark., 1999). Türk halk tıbbında *Daphne* cinsi geleneksel olarak romatizma, bel ağrısı, ödem, apse ve sıtma, yara iyileşmesinde ve sakatlanmış hayvanların tedavisi için kullanılır. Bu türe halk arasında ezenteri, çoban süpürgesi, çıtlak, havadana ve develikotu gibi farklı yerel isimler verilmiştir (Yeşilada ve ark., 1995; Sezik ve ark., 2001). *Daphne* türleri toksik reçineleri nedeniyle potansiyel olarak zehirli bitkiler olup insanlar için oldukça tehlikelidir (Baytop, 1999). Ülkemizde *Daphne* türleri üzerine yapılan çalışmalar genel olarak aktif bileşiklerinin, antiinflamatuvar ve analjezik aktivitelerinin değerlendirilmesine odaklanmıştır (Yeşilada ve ark., 2001; Tosun, 2006). Türkiye florasına ait istatistiki veriler Çizelge 2.1. 'de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Türkiye florası ile ilgili istatistiksel veriler (Baser, 2002).

	Yerli	Endemik	%	Yabancı	Kültür	Toplam
Aile	163	0	0.0	2	8	174
Cins	1168	16	1.4	31	52	1251
Tür	8988	2991	33.3	96	138	9222
Alt tür	1683	497	29.5	6	8	1702
Varyete	1074	390	36.3	1	11	1086
Hibrit	298	160	53.7	1	8	307
Toplam	10754	3708	34.5	101	159	11014

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER ve Özellikleri

Çalışmada kullanılan takson (*Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER) Konya' da toplanmıştır.

Taksonomik Hiyerarşi;

Kingdom *Plantae*

Subkingdom *Tracheobionta*

Division *Magnoliophyta*

Class *Magnoliopsida*

Subclass *Rosidae*

Order *Myrtales*

Family *Thymelaeaceae*

Genus *Daphne*

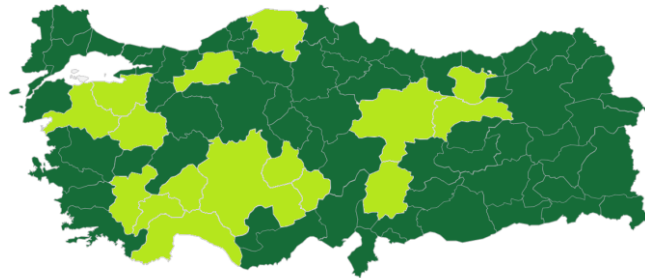
Species *Daphne oleoides* SCHREBER

Taksona İlişkin Genel Bilgiler;

Ömür	•Çok yıllık
Yapı	•Çalı
Çiçeklenme	•5-9
Habitat	•Kireçtaşı, yamaçlar ve kayalar, meşe çalılığı, Pinus nigra ormanları, Astragalus stepleri
Yükseklik	•1050-3200
Endemik	•Endemik değil
Türkiye dağılımı	•Dış ve Orta Anadolu
Genel Dağılımı	•Avrupa, Kuzey batı Afrika, Lübnan

Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan taksona ait bilgiler (www.tubives.com)

Taksonun Türkiye’ deki Dağılımı;



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan taksonun Türkiye’ deki dağılımı (www.tubives.com)

3.2. Bitkisel Ekstraktın Hazırlanması

Daphne oleoides SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER ekstresi maliyet etkinliği, bulunabilirlik ve tıbbi özelliklerinden dolayı gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezinde kullanıldı. Ekstraktı hazırlamak için gerekli olan *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER örneği Konya’ dan toplanmıştır. Bitki üzerindeki kalıntıları ve kontamine organik bileşimleri uzaklaştırmak amacıyla önce akan musluk suyu ile sonrasında ise iki kez distile su ile yıkanmış ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Toplamda 5 gr olacak şekilde kesilen parçalar 100 ml distile su içeren bir behere alınarak 30 dakika boyunca infüzyon işlemine tabi tutulmuştur. Ekstrakt daha sonra 1 numaralı Whatman No:1 filtre kâğıdı (0.44 µm) ile süzölmüş ve daha sonra kullanılmak üzere 4 °C’ de güneş ışığı görmeyecek şekilde muhafaza altına alınmıştır.

3.3. Gümüş Nanopartiküllerin Biyolojik Sentezi

Gümüş nanopartiküllerin hazırlanması için kullanılacak gümüş nitrat (AgNO_3) çözeltisi (5 mM), 50 mL distile su eklendikten sonra manyetik ısıtıcılı karıştırıcı üzerinde oda sıcaklığında karıştırılarak elde edilmiştir.

İncelenmesi amaçlanan gümüş nanopartiküllerin hazırlanması için oda sıcaklığına kadar soğutulan ekstraktan 3 mL alınarak, 50 mL 5 mM AgNO_3 çözeltisi içine eklenmiş ve 85 °C su banyosunda 45 dakika süre ile karıştırılmıştır. Bu süreçte, literatürde de bilinen bir olgu olan ve gümüş nanopartiküllerin oluşumunun göstergesi olarak kabul edilen şeffaf renkli çözeltinin koyu kahverengiye doğru renk değişimi 45 dakika içinde gözlenmiştir. Oluşan koyu renkli çözelti 14.000 rpm’ de 20 dakika santrifüj edilerek üstte yer alan sıvı faz uzaklaştırılmış ve altta kalan katı kısım 3 kez distile su ile yıkanmıştır. Elde edilen katı kısım (gümüş nanopartiküller) etüvde 65 °C’de 24 saat kurumaya bırakılmış ve daha sonraki karakterizasyon işlemlerinde kullanılmak üzere saklanmıştır (Demirbas ve ark., 2016).

3.4. Biyolojik Sentez Sonrası Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

3.4.1. Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM)

Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin yapısal karakterizasyonu ve nanopartikül boyutunu belirlemek amacıyla Resim 3.1.’ de gösterilen ve Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi’ nde (İLTEK) bulunan JEM-2100 JEOL Ltd. Electron Microscope model elektron mikroskobundan yararlanılmıştır.



Resim 3.1. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)

3.4.2. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)

Elde edilen gümüş nanopartiküllerin şekil, yüzey topolojisi ve morfolojisinin karakterizasyonu Resim 3.2.' de gösterilen ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi' nde (BİTAM) bulunan Hitachi VP-SEM SU1510 model taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak ile gerçekleştirilmiştir.



Resim 3.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

3.4.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Gümüş nanopartikül sentezinde yer alan fonksiyonel grupları tespit etmek için Resim 3.3.' de gösterilen ve Necmettin Erbakan Üniversitesi' nde bulunan Thermo Scientific Nicolet iS5 model FTIR cihazı kullanılmıştır.



Resim 3.3. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi cihazı (FTIR)

3.4.4. UV-Vis Spektroskopisi

Yeşil sentez yöntemi ile elde edilen gümüş nanopartiküllerinin karakterizasyonu amacıyla yapılan absorbans ölçümleri Resim 3.4.' de gösterilen ve Necmettin Erbakan Üniversitesi' nde bulunan UV-1800 Shimadzu Europa - Shimadzu Schweiz GmbH model cihaz ile yapılmıştır.



Resim 3.4. UV-Vis spektroskopisi ölçüm cihaz

3.4.5. Dinamik Işık Saçılması (DLS) ve Zeta Potansiyeli

Ekstrakt çözeltisindeki gümüş nanopartiküllerin parçacık büyüklüğünü ve gümüş nanopartiküllerin yüzeyindeki “etkili” elektrik yükünün belirlenmesinde Resim 3.5.’ de gösterilen ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi’ nde (BİTAM) bulunan Micromeritics Nanoplus 3 Brookhaven Instruments Co. model cihaz kullanılmıştır.



Resim 3.5. Zeta potansiyeli ölçüm cihazı

3.4.6. Enerji Dağılım X-RAY Spektroskopisi (EDS)

Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin element analizi için Resim 3.6.’ de gösterilen ve Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi’ nde (İLTEK) bulunan JEM-2100 JEOL Ltd. Electron Microscope model elektron mikroskobundan yararlanılmıştır.



Resim 3.6. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)

3.5. Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesinde Uygulanan Metotlar

3.5.1. Toplam Antioksidan Aktivite Belirleme

3.5.1.1. Fosfomolibdat Testi

Daphne oleoides SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ve özütün toplam antioksidan kapasitesi Berk ve ark. (2011) tarafından bildirilen yöntemle göre tayin edildi. Buna göre; 0.3 mL numune çözeltisi, 3 mL reaktif çözeltisi (0.6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4mM amonyum molibdat) ile karıştırıldıktan sonra 95 °C' de 90 dakika inkübe edilip örnek absorbansı 695 nm' de okundu.

Toplam antioksidan kapasite, troloks kalibrasyon eğrisinden mmol troloks eşdeğeri (mmol TE/g extract) olarak ifade edildi.

3.5.2. Radikal Süpürme Potansiyeli Belirleme

3.5.2.1. DPPH Yöntemi

Daphne oleoides SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ve özütün serbest radikal giderim aktivitesi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak Sarikurkcu (2011) tarafından belirlenen yöntemle göre belirlendi. Buna göre; numune çözeltisi (1 mL), DPPH çözeltisine (0.267 mM, 4 mL, % 0.004 metanol çözeltisi) ilave edildi.

Numunenin absorbansı oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 30 dakikalık inkübasyonun ardından 517 nm' de okundu. Ölçüm birimi olarak gram ekstrakt başına miligram Troloks eşdeğeri (mg TE/g) kullanıldı.

3.5.2.2. ABTS Yöntemi

Daphne oleoides SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ve özütün serbest radikal giderim aktivitesinin tespiti için Re ve ark. (1999) tarafından belirlenen ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) yöntemi kullanıldı. Buna göre; ABTS⁺ radikal katyonu, 7 mM ABTS çözeltisi ile 2.45 mM potasyum persülfat reaksiyonu ile oluşturuldu ve oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi. Öncelikle ABTS çözeltisi, absorbansı 734 nm' de 0.700 ±0.02 değerine ulaşana kadar metanol içinde seyreltilti. Daha sonra ABTS çözeltisi (2 mL) ile test çözeltisi (1 mL) karıştırıldı ve absorbans, oda sıcaklığında 30 dakikalık inkübasyonun ardından 734 nm' de okundu. Sonuçlar gram ekstrakt başına miligram Troloks eşdeğeri (mg TE/g) olarak ifade edildi.

3.5.3. İndirgeme Potansiyeli Belirleme

3.5.3.1. CUPRAC Testi (Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite)

Daphne oleoides SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ve özütün indirgeyici antioksidan kapasite tayini Zengin ve ark. (2015) tarafından belirtilen yöntemle göre yapıldı. Buna göre; 0.5 mL numune çözeltisi önceden karıştırılmış CuCl_2 (1 mL, 10 mL), neocuproin (Sigma-Aldrich) (1 mL, 7.5 mL) ve amonyum asetat tamponu (1 mL, 1M, pH 7.0) içeren reaksiyon karışımına ilave edildi. Benzer şekilde önceden karıştırılmış reaksiyon karışımına (3 mL) CuCl_2 içermeyen numune çözeltisi (0.5 mL) ilave edilerek kontrol numunesi hazırlandı. Daha sonra numune ve kontrol numunesi oda sıcaklığında 30 dakikalık bir inkübasyonun ardından kontrol numunesinin emilimi, numunenin emiliminden çıkarılarak 450 nm' de okundu. CUPRAC aktivitesi Troloks eşdeğeri (mg TE/g) olarak ifade edildi.

3.5.3.2. FRAP Testi (Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite)

Daphne oleoides SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ve özütün indirgeyici antioksidan kapasite tayini Zengin ve ark. (2018) tarafından belirtilen yöntemle göre yapıldı. Buna göre; 0.1 mL numune çözeltisi 40 mM HCl içinde demir tamponu (0.3M, pH 3.6), 2,4,6-tris(2-pyridyl)-S-triazine (TPTZ) (Merck, Darmstadt, Germany) (10mM) ve ferrik klorür (20 mM) içeren önceden karıştırılmış FRAP reaktifine (2 mL) ilave edildi. Akabinde numunenin absorbansı oda sıcaklığında 30 dakikalık bir inkübasyonun ardından 593 nm' de okundu. FRAP aktivitesi Troloks eşdeğeri (mg TE/g) olarak ifade edildi.

3.5.3.3. Metal Şelatlama Aktivite Testi

Daphne oleoides SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ve özütün indirgeyici antioksidan kapasite tayini Dinis ve ark. (1994) tarafından belirtilen yöntemle göre yapıldı. Buna göre; içerisinde 2 ml bitkisel özüt (2 mg/ml) bulunan deney tüplerine 2 mM 0.05 ml FeCl_2 çözeltisi ilave edildi. Reaksiyon 0.2 ml 5 mM ferrozin ilavesi ile başlatıldı. Uygun şekilde karıştırılan tüpler oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilerek 562 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı. Ferrozin- Fe^{2+} oluşum inhibisyonu aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı ve analiz sonuçları EDTA eş değeri olarak değerlendirildi (mg EDTA/g).

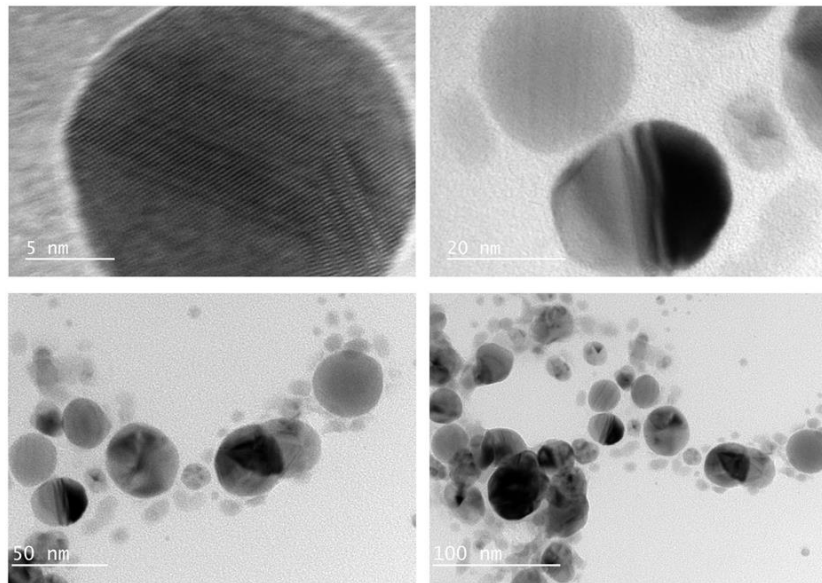
$$\text{Metal şelatlama kapasitesi (\%)} = \frac{(\text{Akontrol} - \text{Aörnek})}{\text{Akontrol}} \times 100$$

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

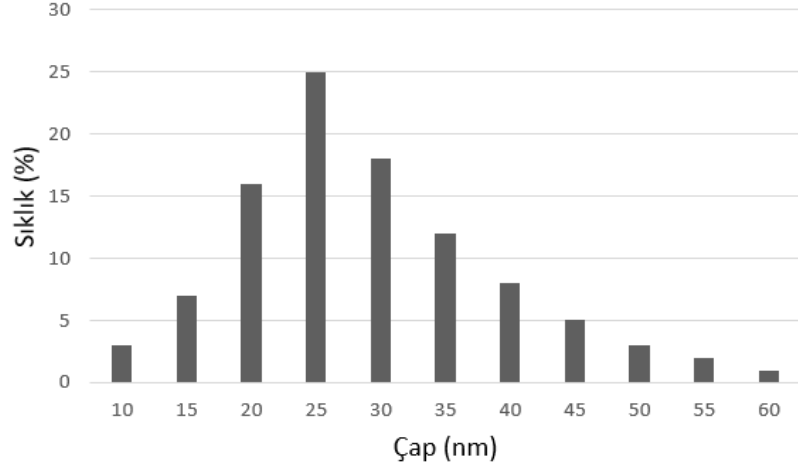
4.1. *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' e Ait Sonuçlar

4.1.1. Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM)

Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin boyut, şekil ve morfolojisini karakterize etmek için geçirimli elektron mikroskobu (TEM) kullanılmıştır. Numunenin ince filminin hazırlanması için karbon kaplı bakır ızgara tercih edilmiştir. İncelenen örnek kurutma için bir cıva lambası altında 5 dakika bekletilmiş olup gümüş nanopartiküllerin TEM görüntüsü Şekil 4.1.' de sunulmuştur. Bu görüntüden gümüş nanopartiküllerin morfolojisinin UV-Vis spektrumundaki SPR bandının şekli ile uyumlu olan küresel yapıda ve ortalama çaplarının ise Şekil 4.2.' de görüldüğü üzere 25 nm olduğu anlaşılmaktadır. Elde ettiğimiz sonuç Haq ve ark. (2020) tarafından *Daphne alpina* 'dan elde edilen 27 nm' lik gümüş nanopartikül boyut sonucu ile uyumluluk göstermektedir. Yine Shah ve ark. (2018) tarafından *Daphne mucronata* üzerinde yapılan çalışmada TEM analiz sonucunda 16 nm boyutunda gümüş nanopartiküller rapor edilmiştir. Santhoshkumar ve ark. (2017) tarafından *Thymelaeaceae* ailesine ait bir tür olan *Gnidia glauca* üzerinde yapılan çalışmada TEM analiz sonucunda 20 nm boyutunda gümüş nanopartiküllerin varlığı bildirilmiştir. Genellikle biyo sentezlenen nanopartiküllerin biyomoleküller tarafından kaplanmasından dolayı çok büyük biyo molekülün yüzeyine bağlı küçük gümüş nanopartiküller de görülebilmektedir (Vijay Kumar ve ark., 2014). Ayrıca alınan görüntülerde gümüş nanopartiküllerin agregasyonu da gözlenmiştir.



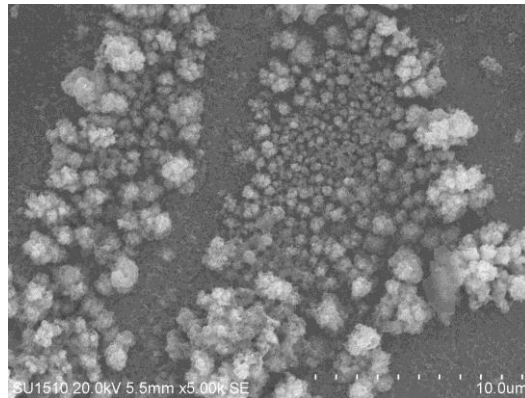
Şekil 4.1. Gümüş nanopartiküllerin TEM görüntüsü



Şekil 4.2. Gümüş nanopartiküllerin ortalama boyutu

4.1.2. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)

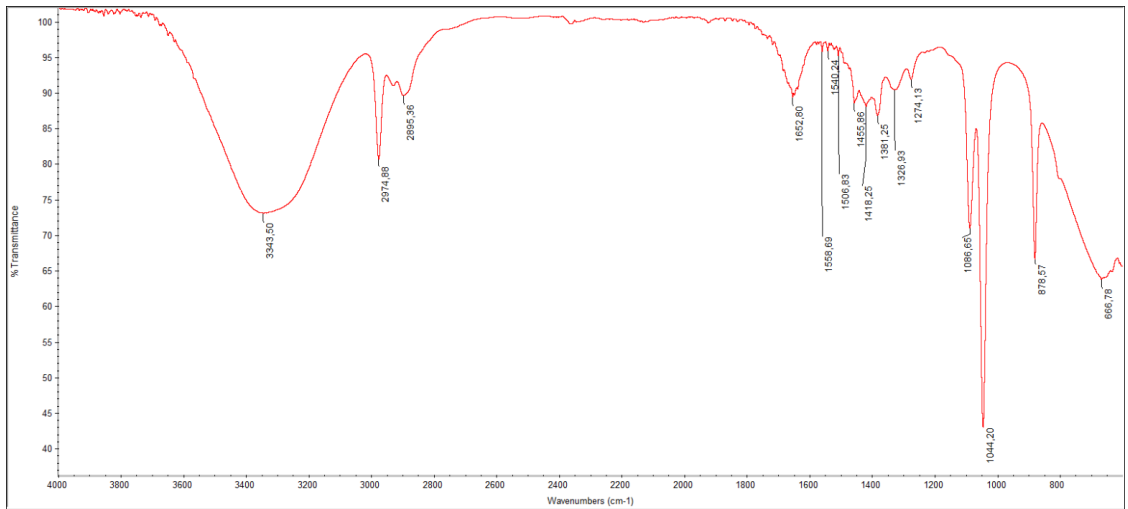
Hazırlanan çözeltiden elde edilen numunenin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 4.3.' de çok küçük ve homojen küresel nanopartiküllerin varlığını doğrular niteliktedir. Shah ve ark. (2018) tarafından *Daphne mucronata* ve Santhoshkumar ve ark. (2017) tarafından *Thymelaeaceae* ailesine ait bir tür olan *Gnidia glauca* üzerinde yapılan çalışmalar SEM analiz sonuçlarının gümüş nanopartiküllerin küresel yapıda olduklarını göstermektedir. SEM görüntülerinden numune hazırlama sırasında çözücünün buharlaştırılmasıyla tetiklenen bir dizi reaksiyon sonucunda (nanopartiküllerin birikmesi nedeniyle) gümüş nanopartiküllerin beklenenden daha büyük olduğu gözlenebilir. Bu durum partikül boyutundaki farklılıklara neden olmuş olabilir (Vijay Kumar ve ark., 2014; Ramirez-Acosta ve ark., 2020). Elde ettiğimiz SEM görüntüsü büyük miktarda gümüş nanopartikül içeren bölgelerin varlığını ve nanopartikül boyutları arasında dağılım açısından belirgin farklılıkların oluşumunu göstermiştir.



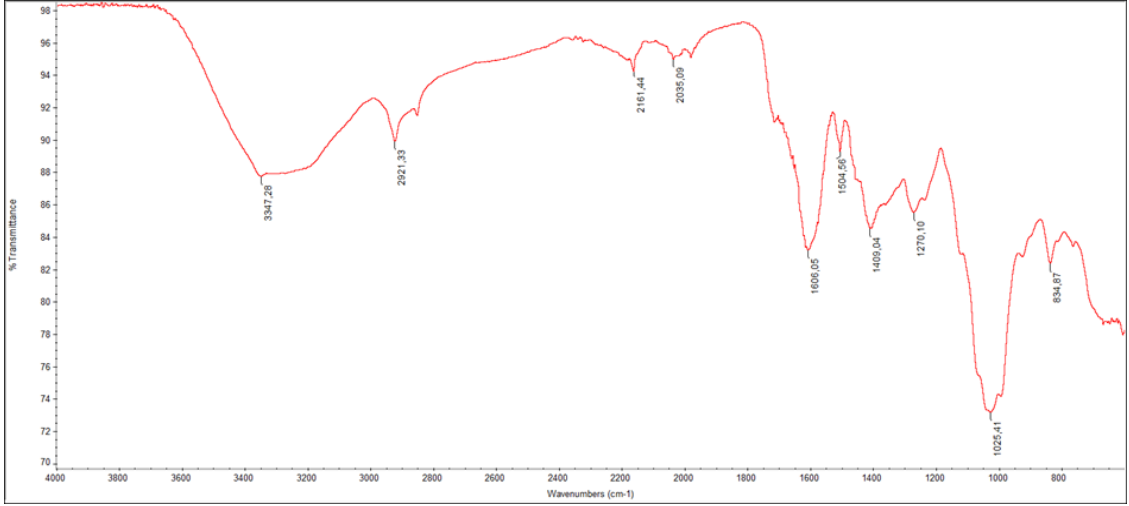
Şekil 4.3. Gümüş nanopartiküllerin SEM görüntüsü

4.1.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

FTIR analiz yöntemi metal nanopartiküller ve biyomoleküller arasındaki fonksiyonel grupların ilişkisini anlamada kullanılan önemli bir yöntemdir. FTIR ölçümleri gümüş nanopartiküllerin indirgenmesinden, kaplanmasından ve etkin stabilizasyonundan sorumlu olası biyomolekülleri tanımlamak için gerçekleştirilmiştir. Flavonoidler ve triterpenoidlerce zengin *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER ekstraktındaki 3343.50 cm^{-1} pik değeri -NH ve -OH gruplarının varlığını doğrulamaktadır. Benzer şekilde 2974.88 cm^{-1} pik değeri C-H asimetrik metilen gerilmesinin varlığına karşılık gelen bir tepe noktasına işaret etmektedir. Yine 2895.36 cm^{-1} pik değerine karşılık gelen C-H simetrik metilen ve 1652.80 cm^{-1} pik değerine karşılık gelen aromatik C=C gruplarının varlığını gösteren başka bir karakteristik pik değeri de mevcuttur. Terpenoidler, flavonlar ve polisakkaritler gibi -C-O gruplarına karşılık gelen 1274.13 cm^{-1} pik değeri Şekil 4.4.' de görülmektedir. Bu yüksek lisans tez çalışmamızda elde edilen bulgulara göre *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerdeki -OH grubunun varlığından dolayı (Şekil 4.5.) AgNO_3 ' ün indirgendiği de saptanmış oldu. FTIR analiz sonuçları amin grubu proteinlerin metal nanopartiküllere bağlanma konusunda daha güçlü bir yeteneğe sahip olduğunu, proteinlerin agregasyonunu önlediğini ve böylece ortamın stabilize edilmesi için metal nanopartikülleri kapsayan bir tabaka oluşturabileceğini (gümüş nanopartiküllerin kaplanmasını) Kim ve ark., (2016) tarafından yapılan çalışmaları destekleyici şekilde göstermiştir. Ayrıca kullandığımız bitki ekstraktının indirgeyici ve kaplayıcı bir ajan olarak ikili rolü ve bazı fonksiyonel grupların varlığı gümüş nanopartiküllerin FTIR analizi ile doğrulanmıştır.



Şekil 4.4. Özüütün FTIR spektrumu

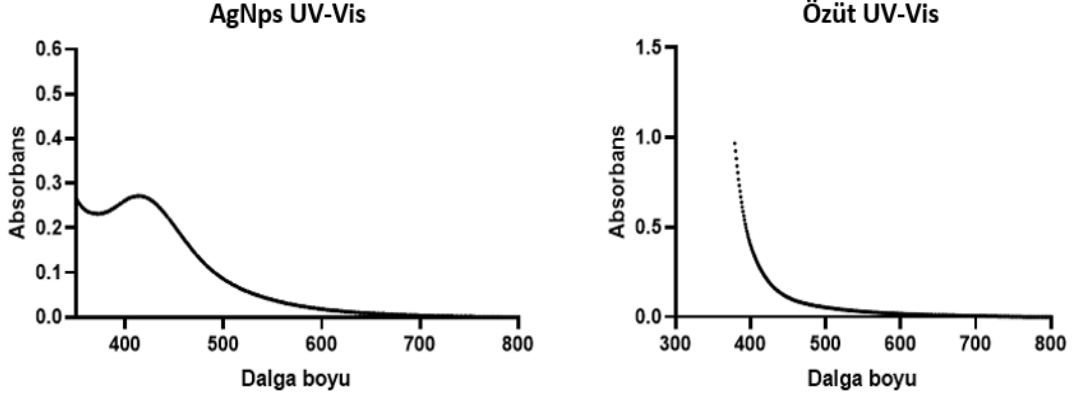


Şekil 4.5. Gümüş nanopartiküllerin FTIR spektrumu

4.1.4. UV-Vis Spektroskopisi

Gümüş nanopartiküllerin sentezlenme süreci ekstraktın oda sıcaklığında 45 dakika boyunca ısıtılmasının ardından saydam renkten kahverengi renk tonlarına doğru değişiminin gözlemlenmesi ile tamamlanmıştır. Bu renk değişimi ile bir redoks reaksiyonunun oluşumu doğrulanmıştır. Redoks reaksiyonu sonucunda Ag^+ iyonları oksitlenen bitki bileşenleri tarafından Ag^0 a indirgenir. Gerçek mekanizma tam olarak anlaşılamasada, indirgeyici ajan olarak hareket etme kabiliyetine sahip olan bileşiklerden bazıları fenolikler, polioller, aminler, flavonoidler gibi organik yapılardır. Renk değişikliklerinin yüzey plazmon rezonansının (SPR) gümüş nanopartikülleri uyarmasından kaynaklandığı bilinmektedir. UV-spektrumundaki SPR bandının konumu parçacığın şekline, büyüklüğüne, ortam ile olan etkileşimine, lokal kırılma indisine ve ortam ile parçacıklar arasındaki yük aktarımının derecesine duyarlıdır (Vijay Kumar ve ark., 2014).

Yeşil sentezi yapılan gümüş nanopartiküllerin optik özelliklerini belirlemek için numunemiz 250-800 nm dalga boyu aralığında 1 nm' lik çözünürlükte incelenmiştir. Reaksiyon karışımının UV-Vis absorbansı 0-2 dakika arasında alınmıştır. UV-Vis spektrum analizimizde 430 nm' de konumlanmış bir tepe noktasına sahip, güçlü ve geniş emme bandının varlığı görülmüştür (Şekil 4.6.). Gümüş nanopartiküllerin kahverengimsi tonu 430 nm dalga boyunda metal nanopartiküllerde bulunan SPR bandındaki titreşimler nedeniyle ortaya çıkmaktadır (Tripathi ve ark., 2017). Ayrıca renk değişimi gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezinin başarılı bir şekilde yapıldığını teyit etmiştir.

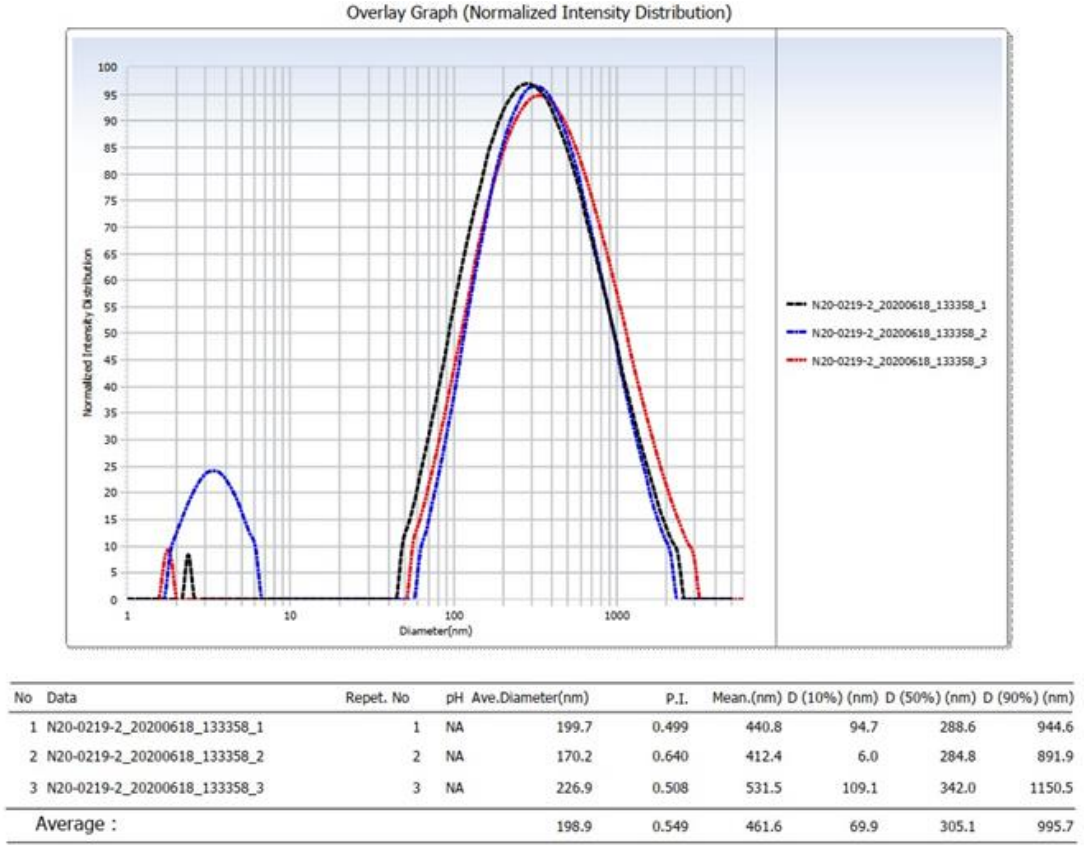


Şekil 4.6. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ve özütün UV-vis spektrumu

4.1.5. Dinamik Işık Saçılması (DLS) ve Zeta Potansiyeli

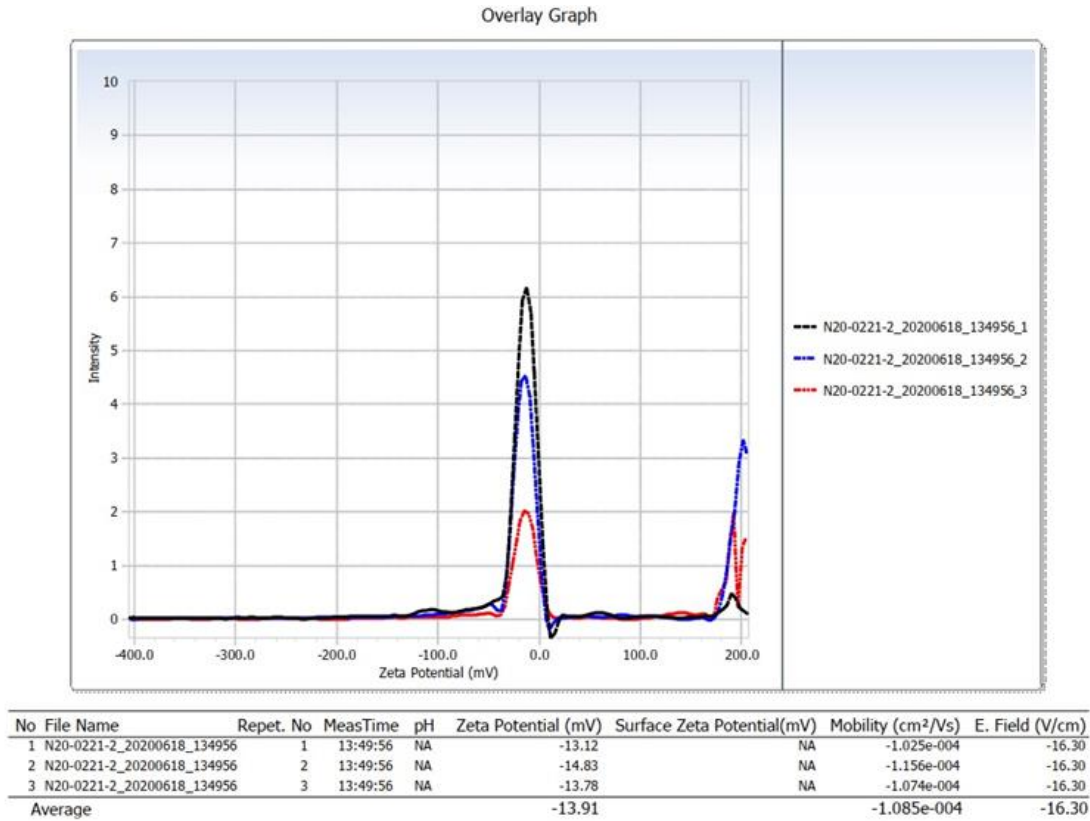
DLS (dinamik ışık saçılımı) foton korelasyon spektroskopisi veya yarı elastik ışık saçılımı olarak da bilinir (Bhattacharjee, 2016). Çözeltide dağılan nanomalzemelerin parçacık boyutu, boyut dağılımı ve zeta potansiyelini (yüzey yükü) incelemek için farklı yöntemler önerilmiştir. DLS yöntemi nanopartiküllerin parçacık boyutunu ve süspansiyon stabilitesini değerlendirmek için güçlü bir yöntemdir (Shah ve Rather, 2020). DLS yöntemi parçacıkların Brownian hareketine dayalı bir ölçümdür ve nano boyut ölçeğinde koloidal süspansiyondaki nanopartiküllerin boyutunu belirlemek için kullanılır. Bu yöntemde parçacıklara ışık gönderilir ve saçılan ışıktaki yoğunluk dalgalanmaları ölçülür (Duman ve ark., 2019). Günümüzde DLS yöntemi 1 μm ' den daha küçük çaplı partiküllerin ortalama çapını (nm) ve ortalama sayısını (%) tespit etmek için kullanılmaktadır. DLS yöntemi ile ölçülen boyut aslında ölçülen nanopartiküller ile aynı hızda yayılan teorik bir kürenin hidrodinamik çapıdır. Bu boyut nanopartiküllerin metalik çekirdeğiyle birlikte nanopartiküllerin yüzeyinde absorbe edilen tüm maddelerden ve parçacık ile birlikte hareket eden elektrikli çift katmanın kalınlığından etkilenir. Elektrikli çift katmanın kalınlığı ve ölçülen nanopartikül büyüklüğü ekstraktta ve nanopartiküllerin yüzeyinde bulunan maddelere bağlıdır. Bu nedenle DLS tekniğinde ölçülen boyut makroskopik tekniklere kıyasla daha büyüktür (Tomaszewska ve ark., 2013). *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den yeşil sentez yöntemi ile elde edilen gümüş nanopartiküllerin DLS analiz sonuçları [0,310 polidispersite indeksi (PDI) ile] ortalama boyutun 198.9 nm olduğunu ortaya koymaktadır (Şekil 4.7.). DLS yöntemi hidrodinamik yarıçapı baz aldığından dolayı ölçülen DLS boyutu TEM ile ölçülen parçacık boyutuna kıyasla daha büyüktür (Hinterwirth ve ark. 2013). Ayrıca moleküllerin veya iyonların yüzeyindeki ek

hidrat tabakaları DLS analizinde daha büyük boyutların tespitine yol açan bir unsurdur (Rolim ve ark., 2018).



Şekil 4.7. Gümüş nanopartiküllerin parçacık boyut dağılımı

Elektrokinetik potansiyel olarak da bilinen Zeta potansiyeli yükün bir kararlılık ölçüsüdür ve süspansiyondaki parçacıklar arasındaki etkileşimlerden sorumludur ve +100 mV ile -100 mV arasında değerlere sahiptir. Zeta potansiyeli elektrik alanının etkisi altındaki hareketli parçacığın hızı ve dispersiyon ortamı viskozitesi gibi bir dizi faktöre bağlıdır (Naser ve ark., 2020). Zeta potansiyeli sulu çözeltide sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin yüzey yükü ve kararlılığının tespiti için önemli bir parametredir. 30 mV' den yüksek veya -30 mV' den düşük zeta potansiyeli değerleri kararlı bir sistemin göstergesi olarak kabul edilir ve zeta potansiyeli -15 mV' den daha pozitif olan partiküller agregasyon eşiğindeki süspansiyona işaret eder (Gengan ve ark., 2013). Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin Zeta potansiyeli ölçümü sonucunda -13.91 mV değeri elde edildi (Şekil 4.8.). Yüksek negatif değer partiküller arasındaki itmeyi doğrular ve bu durum partiküllerin kararlılığını artırır. Alınan Zeta potansiyeli sonuçları sentezlenen gümüş partiküllerin kararlı olduğunu göstermektedir.

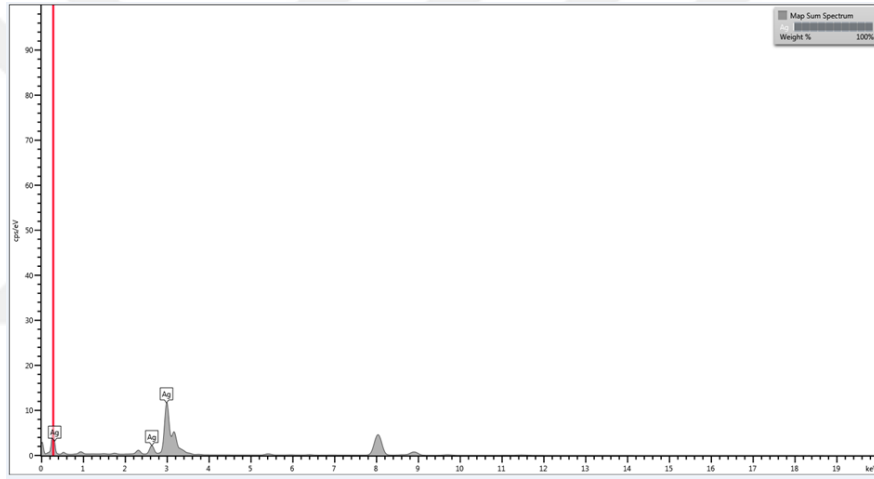
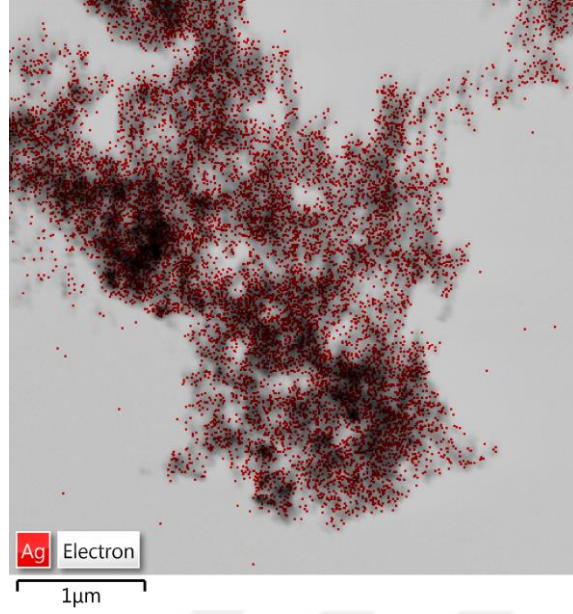


Şekil 4.8. Gümüş nanopartiküllerin Zeta potansiyeli

4.1.6. Enerji Dağılım X-RAY Spektroskopisi (EDS)

Katı maddelerin element bileşiminin tespit edilmesinde yaygın olarak kullanılan analitik yöntemlerden biri olan Enerji dağılım X-Ray spektroskopisi (EDS), nanopartiküllerin kimyasal analizinde de kullanılan önemli bir yöntemdir (Hodoroaba, 2020). EDS analizini gerçekleştirmek için ekstraktan alınan numune ince film ızgara üzerine çok az miktarda damlatılarak karbon kaplı bir bakır ızgara üzerinde hazırlanmıştır. EDX analizi gümüş bölgede (~2.983 KeV) güçlü sinyaller ürettiğinden gümüş nanopartiküllerin oluşumuna da kanıt olarak gösterilir (Vijay Kumar ve ark., 2014). Numune ekstraktımız gümüş nanopartiküllerin yüzey plasmon rezonansından dolayı Shah ve ark. (2018) tarafından *Daphne mucronata* ve Haq ve ark. (2020) tarafından *Daphne alpina* üzerinde yapılan çalışmalara benzer şekilde 3 Kev' de tipik bir optik absorpsiyon piki göstermiştir.

Kaydedilen diğer zayıf element sinyalleri muhtemelen *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' de bulunan enzimler veya proteinlerden kaynaklanmakta olup gümüş nanopartiküllerin yüzeyine bağlı biyomoleküllerin varlığına atfedilebilir. Elemental gümüşün varlığı EDX analizi ile tespit edilmiş olup Şekil 4.9.' da gösterilmiştir.



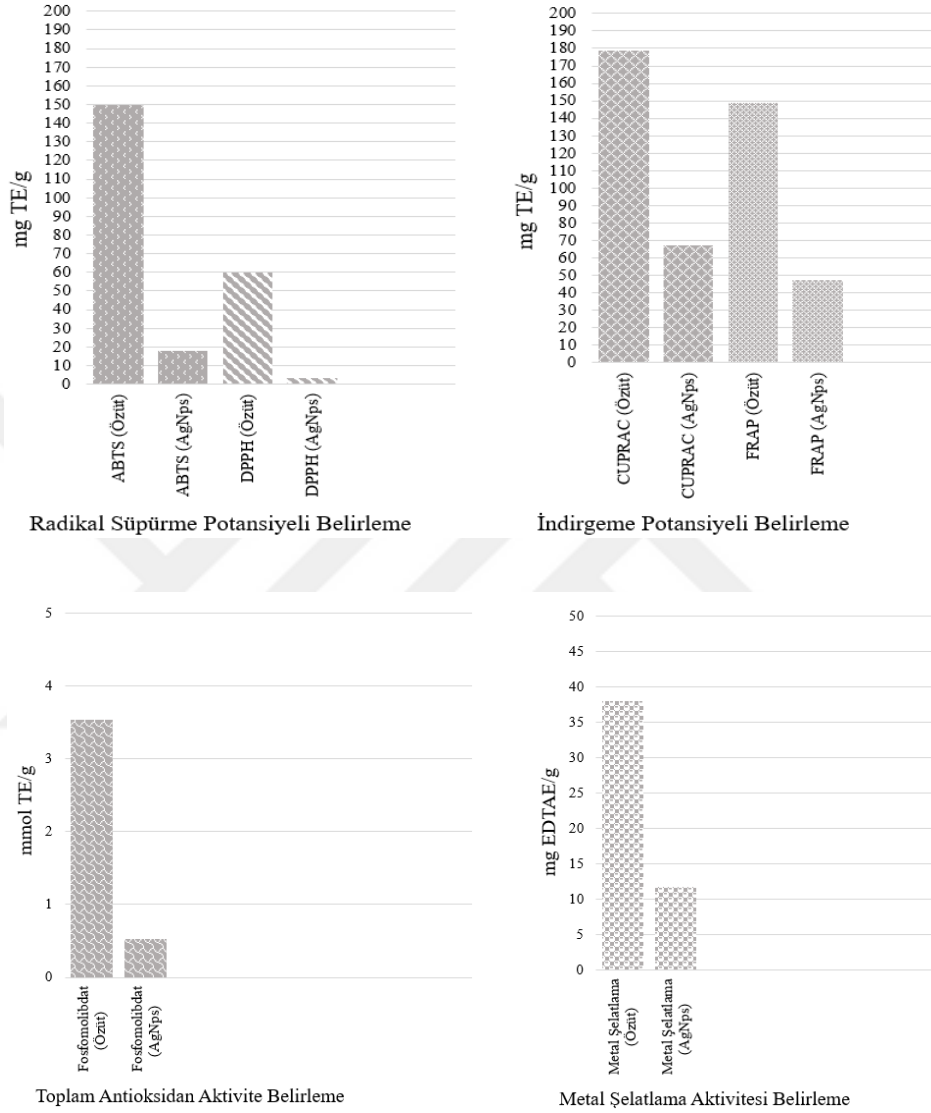
Şekil 4.9. Gümüş nanopartiküllerin EDX görüntüsü ve grafiği

4.2. Antioksidan Kapasite Testlerine Ait Sonuçlar

Bitki ekstraktının antioksidan kapasitesi çok sayıda faktörden etkilenebilir ve tek bir yöntemle tam olarak değerlendirilemez. Bu yüzden birden fazla tipte antioksidan kapasite ölçümünün yapılması gerekir (Frankel ve Meyer, 2000). Dolayısıyla tez çalışmamızda *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ekstraktının antioksidan özelliklerini değerlendirmek için farklı yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemler toplam antioksidan aktiviteyi belirlemek için Fosfomolibdat testi, radikal süpürme potansiyelini belirlemek için DPPH ve ABTS testi, indirgeme potansiyelini belirlemek için ise CUPRAC, FRAP ve Metal Şelatlama Testi' dir. Antioksidan kapasite testlerine ilişkin sonuçlar Çizelge 4.1.' de ve Şekil 4.10.' da verilmiştir.

Çizelge 4.1. Özüt ve gümüş nanopartiküle ait antioksidan test sonuçları

	Fosfomolibdat	DPPH	ABTS	CUPRAC	FRAP	Metal Şelatlama
Özüt	3.54 mmol TE/g	60.08 mg TE/g	149.72 mg TE/g	178.94 mg TE/g	148.64 mg TE/g	37.96 mg EDTAE/g
AgNps	0.53 mmol TE/g	3.35 mg TE/g	17.93 mg TE/g	67.33 mg TE/g	47.61 mg TE/g	11.73 mg EDTAE/g

**Şekil 4.10.** Özüt ve gümüş nanopartiküle ait antioksidan test sonuç grafiği

4.2.1. Fosfomolibdat Testi

Total antioksidan kapasite testi (fosfomolibdat testi) bitki özlerinin veya bileşiklerinin toplam antioksidan kapasitesinin değerlendirilmesi için kullanılan alternatif bir yöntemdir. Kullanılan reaktiflerin düşük maliyetli olması ve analizin kolay olması bu yöntemin tercih edilmesinin yegâne sebebidir. Fosfomolibdat testi asidik ortamda antioksidan bileşiklerin Mo(VI)' yı Mo(V)' e indirgemesi ve sonuçta yeşil renkli fosfat/Mo(V) oluşması esasına dayanır. Oluşan bu yeşil renkli fosfat/Mo(V)

kompleksinin ölçümü 695 nm’ de yapılır (Uysal ve ark., 2016). Absorbansın yüksekliği ile antioksidan kapasite arasında doğru bir orantı vardır. Sonuçlar antioksidan aktivitesi bilinen bir maddeye eşdeğer olarak verilir ve genellikle antioksidan madde olarak troloks kullanılır. *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER’ den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin analiz sonucu 0.53 mmol TE/g, özütün analiz sonucu ise 3.54 mmol TE/g olarak bulunmuştur. Zengin ve ark. (2019) *Sideritis ozturkii* ile yaptıkları çalışmanın sonucunda 1.99 mmol TE/g değerini raporlamışlardır. Sanda ve ark. (2015) tarafından *Daphne gnidioides* ve *Daphne pontica* üzerinde yapılan çalışmada gümüş nanopartiküller ile özütün antioksidan test sonuçları arasında benzer bir farktan bahsedilmekte olup bu durumun gümüşün indirgenmesinde kullanılan -OH gruplarından kaynaklandığı belirtilmektedir. Yine Badoei-dalfard ve ark. (2019) benzer bir durumu rapor etmişlerdir.

4.2.2. DPPH Testi

DPPH aktivitesinin antioksidanların hidrojen verme yeteneklerinden kaynaklandığı kabul edilmektedir. Antioksidan kapasite testlerinde genellikle en az bir serbest radikal kullanılarak incelenen numunenin radikali giderme oranı bulunur. Kullanılan radikaller içinde en çok tercih edileni 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)’ dir. Mor renkli stabil bir radikal olan DPPH reaksiyona girdiği antioksidan moleküllerden bir elektron alarak (indirgenerek) sarı renkli pikrilhidrazil formuna dönüşmektedir. Bu dönüşüm spektrofotometrik olarak 517 nm dalga boyunda gözlenebilmektedir (Uysal ve ark., 2016). *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER’ den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin analiz sonucu 3.35 mg TE/g, özütün analiz sonucu ise 60.08 mg TE/g olarak bulunmuştur. Zengin ve ark. (2019) *Sideritis ozturkii* ile yaptıkları çalışmanın sonucunda 74.16 mg TE/g değerini raporlamışlardır. Zengin ve ark. (2017) *Ipomoea batatas* ile yaptıkları çalışmanın sonucunda 2.84 mmol TE/g değerini raporlamışlardır. DPPH katyon radikalleri moleküllerin antioksidan aktivitesini tespit etmek için kullanılan kararlı ve iyi bilinen serbest radikallerdir. Bu radikallerin aktivitesi zayıf A-H bağları olan antioksidan moleküllerden hidrojen veya elektron kabul etmesi esasına dayanır. Gümüş nanopartiküller serbest radikallerle reaksiyona girip hidrojen kaybederler ve onları daha kararlı ürünlere dönüştürürler (Biswal ve Misra, 2020). Bu sebeple özüte göre gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinde azalma görülmektedir. Balkan ve ark. (2017) ve Küp ve ark. (2019) da yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçları rapor etmişlerdir.

4.2.3. ABTS Testi

ABTS radikal katyonunun üretilmesi saf maddelerin ve sulu karışımların antioksidan aktivitesinin ölçülmesine uygulanan spektrofotometrik yöntemlerin temelini oluşturur. ABTS bazlı analizler, Scopus atıf oranlarına göre DPPH ve FRAP analizleriyle birlikte en çok kullanılan antioksidan kapasite testleri arasında yer almaktadır (Ilyasov ve ark. 2020). Kararlı bir serbest radikal olan ABTS^{•+} [2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] polifenoller, fenolik asitler ve flavonoidlerin antioksidan kapasitesini tespit etmek için kullanılır ve 734 nm' de maksimum emilim göstererek antioksidan ajanlara karşı rengini kaybeder (Dong ve ark., 2015). *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin analiz sonucu 17.93 mg TE/g, özütün analiz sonucu ise 149.72 mg TE/g olarak bulunmuştur. Li ve ark. (2019) *Thymelaeaceae* ailesine ait bir tür olan *Aquilaria sinensis* ile yaptıkları çalışmanın sonucunda 98 mg TE/g değerini rapor etmişlerdir. Zengin ve ark. (2019) *Sideritis ozturkii* ile yaptıkları çalışmanın sonucunda 148.88 mg TE/g değerini raporlamışlardır. Bulunan bu değer daha önce yapılan çalışmalar (Genc, 2020; Genc ve ark., 2020) ile uyumluluk göstermekte olup gümüş nanopartiküllerin serbest radikal temizleme gücü gümüş nanopartiküllerin indirgenmesinden ve kaplanmasından sorumlu farklı fonksiyonel grup türleri ile alakalıdır. Bu fonksiyonel gruplar serbest radikallerin zincir reaksiyonunu kırabilen polifenoller, proteinler ve alkaloidler gibi bir dizi aktif biyolojik bileşen içerirler. Elde edilen sonuçlar gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinin bu biyolojik bileşenler tarafından artırıldığını göstermiştir (Otunola ve Afolayan, 2018).

4.2.4. CUPRAC Testi

Bitki özütünün indirgeme gücü potansiyel antioksidan aktivitenin değerlendirilmesinde önemli bir gösterge olabilir (Meir ve ark., 1995). Bu nedenle araştırmamızda *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin bakır indirgeme gücü (CUPRAC) belirlenmeye çalışılmıştır. CUPRAC test sistemi bitkisel özütlerin veya antioksidanların Cu(II)-neocuproine kompleksini Cu(I)-neocuproine indirgemesiyle oluşan renkli kompleksin absorbansının 450 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır (Güner ve ark., 2014). Testte standart olarak Troloks kullanılmıştır. *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin analiz sonucu 67.33 mg TE/g, özütün analiz sonucu ise 178.94 mg TE/g olarak bulunmuştur. Zengin ve ark.

(2019) *Sideritis ozturkii* ile yaptıkları çalışmanın sonucunda 208.18 mg TE/g değerini raporlamışlardır. Bu değerler daha önce Sanda ve ark., (2015) tarafından yapılan çalışmalara benzer nitelikte olup tüm fenolik bileşenlerin gümüş redüksiyonuna katılmamasından ve konsantrasyonu yükselen diğer bileşiklerin varlığından dolayı gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesi özüte oranla düşük çıkmıştır (Dzul-Erosa ve ark., 2018).

4.2.5. FRAP Testi

Daphne oleoides SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' deki biyo aktif bileşikler nedeniyle özüt ve biyo sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin indirgeme gücü FRAP (Ferrik indirgeyici antioksidan gücü) yöntemi ile belirlendi. Bu yöntem antioksidan özelliklere sahip numunenin Fe^{3+} -TPTZ demir kompleksini Fe^{2+} -TPTZ kompleksine indirgeme kabiliyetinin 593 nm' de ölçülmesi esasına dayanır (Długosz ve ark., 2020). FRAP değerleri optik yoğunluk okumaları olarak belirlenir ve yüksek optik yoğunluk daha yüksek demir içeren indirgeme gücüne işaret eder (Divya ve ark., 2019). FRAP testi radikal söndürme görevi gören antioksidan ve tayinin dalga boyundaki emici bileşikler için kullanılamaz. Gümüşün, Ag^{+0} a biyo redüksiyonunda etkili olan özütteki fitokimyasal bileşenler FRAP testi ile ortaya çıkabilir (Bedlovičová ve ark., 2020). *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin analiz sonucu 47.61 mg TE/g, özütün analiz sonucu ise 148.64 mg TE/g olarak bulunmuştur. Wang ve ark. (2018) *Thymelaeaceae* ailesine ait bir tür olan *Aquilaria sinensis* ile yaptıkları çalışmanın sonucunda 80 mg TE/g değerini bildirmişlerdir. Mekhelfi ve ark. (2016) *Thymelaeaceae* ailesine ait bir tür olan *Thymelaea microphylla* ile yaptıkları FRAP testi çalışmasını sonucunu 209.7 mg TE/g olarak rapor etmişlerdir. Bu sonuçlar özütteki yüksek fenolik bileşik ve flavonoid miktarının gümüşün indirgenmesinden ve gümüş nanopartiküllerin oluşumundan sorumlu olduğunu göstermekte olup (Nikaeen ve ark., 2020) özüt ile gümüş nanopartiküller arasında ortaya çıkan farkın nedenini açıklar niteliktedir. Bharathi ve Bhuvaneshwari (2018) tarafından da benzer bir durum bildirilmiştir.

4.2.6. Metal Şelatlama Testi

Metallerin organizmaya karşı oluşturduğu toksik etkilerden kaçınmanın yollarından biri de şelasyon mekanizmasıdır. Şelatlama esnasında metaller kovalent bir bağ oluşumu nedeniyle stabil hale gelirler ve zararları azalır (Sobral-Souza ve ark.,

2014). Organizmada metallerin birikmesinden kaynaklanan sorunlar bu metallerin pro-oksidatif etkileri ve oksidatif stres oluşturmaları ile ilgilidir. Bu durum organizmanın bazı dokularında hasara neden olan ROS oluşumuna neden olur ve oksidatif stres olarak bilinir. (Pinho ve ark., 2016). Bitkiler çeşitli antioksidanlar ve şelatlama maddeleri üreterek kendilerini metaller ve metaloidlerle kontaminasyona karşı korumak için çalışırlar (Figueredo ve ark., 2016). Gümüş nanopartiküllerdeki metal şelatlama yeteneği lipid peroksidlerde bulunan geçiş metallerinin katalize edici reaksiyon konsantrasyonunun azaltılmasına da yardımcı olur (Moukette ve ark., 2015). *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin analiz sonucu 11.73 mg EDTAE/g, özütün analiz sonucu ise 37.96 mg EDTAE/g olarak bulunmuştur. Djermane ve ark. (2020) *Thymelaeaceae* ailesine ait bir tür olan *Thymelaea hirsuta* ile yaptıkları çalışmada 8.57 mg EDTAE/g, Arika ve ark. (2019) *Thymelaeaceae* ailesine ait bir tür olan *Gnidia glauca* ile yaptıkları çalışmada 20 mg EDTAE/g, Noman ve ark. (2018) *Thymelaeaceae* ailesine ait bir tür olan *Thymelaea microphylla* ile yaptıkları çalışmada 93.1 mg EDTAE/g sonucuna ulaşmışlardır. Metal şelatlama testindeki düşük değerler düşük konsantrasyonlarda ikincil metabolitlerin varlığına atfedilebilir. İkincil metabolitler gümüş ile bağlandıklarından serbest değildirler ve bu nedenle düşük metal şelatlama değerleri ortaya çıkabilir (Kumar ve ark., 2019).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Gümüş nanopartiküller son yıllarda çeşitli alanlardaki geniş uygulamaları nedeniyle araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Spesifik boyut ve morfolojilere sahip metalik nanopartiküller kimyasal ve fiziksel yöntemler kullanılarak kolayca sentezlenebilmektedir. Bu yöntemler uygulanırken indirgeyici ajanlar veya biyolojik olarak bozunmayan stabilize edici ajanlar olarak toksik kimyasallar kullanıldığından çevre ve biyolojik sistemler için potansiyel olarak tehlikelidir. Ayrıca, bu yöntemlerin çoğu karmaşık kontroller veya standart dışı prosedürler içerir. Günümüzde biyolojik kaynaklar kullanılarak yeşil nanopartikülleri elde etmek için bakteriler, mayalar, mantarlar ve bitkiler de dahil olmak üzere temiz, toksik olmayan ve uygun maliyetli çevre dostu olarak kabul edilen kaynaklar tercih edilmektedir (Zayed ve ark., 2012). Nanopartiküllerin sentezi için bitki ekstraktlarının kullanımı ölçek büyütme kolaylığı, daha az biyolojik tehlike ve düşük maliyet nedeniyle yaygınlaşmaktadır.

Serbest radikaller, eşleşmemiş elektronları olan ve genellikle kararsız ve yüksek derecede reaktif olan atomlar veya moleküllerdir (Finkel ve Holbrook, 2000). Biyolojide iki tür serbest radikal vardır: reaktif oksijen türleri (ROS) olarak da adlandırılan oksijen türevi radikaller ve reaktif azot türleri (RNS) olarak da adlandırılan azot bazlı radikaller. Serbest radikaller, lipid peroksidasyonunu (LPO) indükleyebilir, DNA zincir kopmalarına neden olabilir ve proteinleri ve diğer önemli molekülleri gelişigüzel bir şekilde okside ederek hasara neden olabilir (Li ve ark., 2015). Bununla birlikte, hücreler endojen antioksidanları ve bu zararlı reaktif moleküllere karşı koymak için özel olarak tasarlanmış sistemleri kullanarak bu radikalleri bir dereceye kadar nötralize edebilir. ROS ve RNS önemli fizyolojik fonksiyonları yerine getirmek için vücutta belirli bir seviyede gereklidir. Bu nedenle, antioksidanlar ve ROS/RNS (redoks durumu) arasındaki denge normal çalışma için kritiktir (Ramos-Tovar ve Muriel, 2019).

Antioksidanlar oksitlenebilir bir substratın oksidasyonunu önleyebilen veya geciktirebilen moleküllerdir (Halliwell, 1990). Canlı organizmalar redoks durumlarını dengelemek için vücut dokularında karmaşık antioksidan sistemlerine sahiptir. Bu antioksidanlar dahili olarak (yani süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve azaltılmış glutatyon [GSH]) üretilir veya diyet yoluyla (yani C vitamini, karotenoidler, polifenoller ve antosiyaninler) elde edilebilir. Antioksidanlar ROS/RNS'ye karşı yüksek bir afiniteye sahiptir ve sağlığımızı korumak için bu molekülleri temizler. Antioksidan özelliklere sahip bileşikler, aktivitelerini azaltmak ve hücresel

redoks dengesini korumak için serbest radikallere elektron verirler. Antioksidan aktiviteye sahip birçok molekül türü vardır. *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den elde edilen ekstraktlar kapsamlı bir şekilde incelenmiştir ve doğal antioksidan kaynağı olabilecekleri çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Zengin ve ark., 2012; Gurbuz ve ark., 2013; Suntar ve ark., 2014; Riaz ve ark., 2015; Balkan ve ark., 2017; Uysal ve ark., 2016). Ülkemizde 7 türü bulunan *Daphne* (*Thymelaeaceae*) türleri Anadolu' nun çeşitli bölgelerinde görülmekte olup geleneksel Türk tıbbında kendisine kullanım alanı bulmuştur. Bu türlerden biri olan *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalarda terpenoidler, steroller, kumarinler, lignanlar, flavonoidler ve aromatik bileşikler içerdiği tespit edilmiştir (Baytop, 1999; Ullah ve ark., 1999).

Konya' dan toplanan *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartiküller sentezlenmiştir. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM) sonuçları partiküllerin küresel yapıda ve ortalama çapının 25 nm olduğunu göstermektedir. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) görüntüleri çok küçük ve homojen küresel nanopartiküllerin varlığını doğrulamaktadır. Metal nanopartiküller ve biyomoleküller arasındaki fonksiyonel grupların ilişkisini anlamaya yardımcı olan Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) sonuçları flavonoidler ve triterpenoidlerce zengin *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER ekstraktındaki 3343.50 cm⁻¹ pik değeri -NH ve -OH gruplarının varlığını doğrulamaktadır. Bu sonuçla birlikte -OH grubunun mevcudiyetinden dolayı AgNO₃' ün indirgendiği de teyit edilmiştir. Ayrıca amin grubu proteinlerin metal nanopartiküllere bağlanma konusunda daha güçlü bir yeteneğe sahip olduğu, proteinlerin agregasyonunu önlediği ve böylece ortamın stabilize edilmesi için metal nanopartikülleri kapsayan bir tabaka oluşturabileceği anlaşılmıştır. UV-Vis spektrum analizinde 430 nm' de konumlanmış tepe noktasına sahip, güçlü ve geniş bir emme bandının varlığı ve sentez esnasında saydam renkten kahverengi renk tonlarına doğru değişiminin gözlemlenmesi gümüş nanopartikül sentezinin başarılı olduğunun kanıtı niteliğindedir. Dinamik Işık Saçılımı (DLS) yöntemi ile partiküllerin ortalama çapının (elektrikli çift katmanın kalınlığı ve nanopartiküllerin yüzeyinde bulunan maddelerden dolayı) 198.9 nm olduğu tespit edilmiştir. Sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin yüzey yükü ve kararlılığının tespiti için Zeta potansiyeli analizi kullanılmış olup analiz sonucunda elde edilen -13.91 mV değeri bize sentezlenen gümüş partiküllerin kararlı bir yapıda olduğunu göstermiştir. X-

Ray spektroskopisi (EDS) analiz sonuçları ekstraktımızdaki gümüş nanopartiküllerin yüzey plasmon rezonansından dolayı 3 Kev' de tipik bir optik absorpsiyon pikine işaret etmektedir. Bir bitki ekstraktının (toplam kapasiteye katkıda bulunan bileşiklerden bağımsız olarak) serbest radikalleri giderme kapasitesini ölçmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler tipik olarak oksitlenmiş ürünlerin birikiminin azaltılması esasına dayanır, çünkü serbest radikal türlerinin üretimi antioksidanların eklenmesi ile birlikte düşer. Serbest radikalleri giderme kapasitesini belirlemek için kullanılan yöntemler serbest radikallerin azalmasının bir spektrofotometre yardımıyla ölçülmesini temel alan yöntemlerdir (Choi ve ark., 2002).

Daphne oleoides SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den yeşil sentez yöntemi ile elde edilen gümüş nanopartiküllerin Total Antioksidan Kapasitesi (fosfomolibdat testi) 695 nm' deki absorbansın ölçülmesi neticesinde 0.53 mmol TE/g, özütün ise 3.54 mmol TE/g olarak bulunmuştur. Elde edilen bu sonuç yüksek bir antioksidan aktivitenin göstergesi olarak kabul edilmektedir. Antioksidan kapasite testlerinde genellikle 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak incelenen numunenin radikali giderme oranı tespit edilmeye çalışılır. Gümüş nanopartiküllerin DPPH aktivitesi 517 nm dalga boyunda yapılan ölçümün ardından 3.35 mg TE/g, özütün ise 60.08 mg TE/g olarak tespit edilmiştir. Analiz sonuçları ekstraktın yüksek DPPH aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir. Gümüş nanopartiküllerin antioksidan kapasitesinin değerlendirilmesi için kullandığımız bir diğer yöntem ABTS testidir. *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER gümüş nanopartikül ekstraktının analiz sonucu 734 nm' deki ölçüm sonucunda 17.93 mg TE/g, özütün ise 149.72 mg TE/g olarak bulunmuştur. Bu değer yüksek bir antioksidan aktivite göstergesi olup önceki çalışmalara benzerlik arz etmektedir. Bitki ekstraktının indirgeme gücü potansiyel antioksidan aktivitenin değerlendirilmesinde önemli bir gösterge olduğundan ekstraktımızın Bakır İndirgeme Gücü (CUPRAC) belirlenmeye çalışmıştır. Numunemizin ekstraktının analiz sonucu 67.33 mg TE/g, özütün ise 178.94 olarak bulunmuştur. Bakır indirgeme gücünün ekstraktın konsantrasyon yoğunluğu ile doğru orantılı olduğu da görülmüştür. Ekstraktın indirgeme gücünün tespiti için bir diğer yöntem olarak FRAP (Ferrik indirgeyici antioksidan gücü) yöntemi kullanıldı ve numune ekstraktının analiz sonucu 47.61 mg TE/g, özütün ise 148.64 mg TE/g olarak tespit edilmiştir. Bitki ekstraktının metal şelatlama gücü analiz sonucunda ekstrakt için 11.73 mg EDTAE/g, özüt için ise 37.96 mg EDTAE/g olarak bulunmuştur.

5.2 Öneriler

Nanoteknoloji farklı teknolojilerin ve temel yeniliklerin öncüsü olan önemli bir araştırma alanıdır ve gelecekte diğer birçok önemli yeniliğin ilham kaynağı olması beklenmektedir. Günümüzde bu yeniliklerin en önemli çıktılarında biri yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartikül üretimidir. Biyosentezlenmiş gümüş nanopartiküller çevre dostu ve biyolojik uygulamalarda kullanılabilir olması nedeniyle tercih edilmektedir. Nanopartiküller geleneksel malzemelere kıyasla bazı gelişmiş özellik gösterirler. Gümüş nanopartiküller geniş bir yüzey alanına, kimyasal stabiliteye, biyoyumluluğa ve antioksidan aktiviteye sahiptir. Antioksidan moleküller serbest radikalleri temizleyerek oksidatif stres riskini azaltır. Bitkisel antioksidanlar oksidatif stres nedeniyle ortaya çıkan toksisiteyi düşürür ve normal hücrelerin zarar görmesini önler. *Daphne oleoides* SCHREBER subsp. *oleoides* SCHREBER' den yeşil sentez yöntemi ile elde edilen gümüş nanopartiküllerin etkin biyolojik, farmakolojik ve antioksidan özellikleri nedeniyle günlük kullanım alanını genişletmek adına fitokimyasal çalışmalarla birlikte daha kapsamlı bir in vitro ve in vivo çalışmaya ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

- Abdul Khalil, H. P. S., Davoudpour, Y., Islam, M. N., Mustapha, A., Sudesh, K., Dungani, R., Jawaid, M., 2014, Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review. *Carbohydrate Polymers*, 99, 649–665, doi10.1016/j.carbpol.2013.08.069.
- Aeran H, Kumar V, Uniyal S., Tanwer P., 2015, Nanodentistry: Is just a fiction or future, *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 5(3), 207-11.
- Agarwal, A., Gupta, S., Sharma, R. K., 2005, “Role of oxidative stress in female reproduction, *Reproductive Biology and Endocrinology*, vol. 3, article 28.
- Akbarieh, M., Besner, J. G., Galal. A., Tawashi, R., 1992, Liposomal delivery system for the targeting and controlled release of praziquantel. *Drug Dev. Ind Pharm.*, 18, 303–317.
- Alexander, L., Klug, H. P., 1950, Determination of crystalline size with the Xray spectrometer, *J. Appl. Phys.*, 21, pp. 137-142.
- Al-Gubory, K. H., Fowler, P. A., Garrel, C., 2010, The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes, *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 42(10), 1634–1650, doi10.1016/j.biocel.2010.06.001.
- Amendola, V., Polizzi, S., Meneghetti, M., 2007, Free silver nanoparticles synthesized by laser ablation in organic solvents and their easy functionalization, *Langmuir*, 23, 6766–70.
- Anjum, N. A., Gill, S. S., Duarte, A. C., Pereira, E., Ahmad, I., 2013, Silver nanoparticles in soil–plant systems, *Journal of Nanoparticle Research*, 15(9), 1896.
- Anraku, M., Gebicki, J. M., Iohara, D., Tomida, H., Uekama, K., Maruyama, T., Hirayama, F., Otagiri, M., 2018, Antioxidant activities of chitosans and its derivatives in in vitro and in vivo studies, *Carbohydr Polym.*, 199, 141–149.
- Apak, R., Ozyurek, M., Güçlü, K., Capanoğlu, E., 2016, Antioxidant activity/capacity measurement, 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays, *J. Agric Food Chem.*, 64, 997–1027.
- Arika, W., Kibiti, C. M., Njagi, J. M., Ngugi, M. P., 2019, In Vitro Antioxidant Properties of Dichloromethanolic Leaf Extract of *Gnidia glauca* (Fresen) as a Promising Antiobesity Drug, *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 24, 2515690X1988325, doi:10.1177/2515690x19883258.
- Armendariz, V. Herrera, I. Jose-yacaman, M. Troiani, H. Santiago, P., Gardea-Torresdey, J.L., 2004, "Size controlled gold nanoparticle formation by *Avena sativa* biomass: use of plants in nanobiotechnology", *Journal of Nanoparticle Research*, 6, 377-382.

- AshaRani, P. V., Low Kah Mun, G., Hande, M. P., Valiyaveetil, S., 2008, Cytotoxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles in Human Cells, *ACS Nano*, 3(2), 279–290.
- Asmathunisha, N., Kathiresan, K., 2013, A review on biosynthesis of nanoparticles by marine organisms, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 103, 283–287, doi:10.1016/j.colsurfb.2012.10.030.
- Aulenta, F., Hayes, W., Rannard, S., 2003, Dendrimers: a new class of nanoscopic containers and delivery devices, *European Polymer Journal*, 39(9), 1741–1771, doi:10.1016/s0014-3057(03)00100-9.
- Awwad, A., Salem, N., Abdeen, A., 2013, Green synthesis of silver nanoparticles using carob leaf extract and its antibacterial activity, *Int. J. Ind. Chem.*, 4(1), 1–6, doi:10.1186/2228-5547-4-29.
- Ayaz, M., Sadiq, A., Junaid, M., Ullah, F., Ovais, M., Ullah, I., Shahid, M., 2019, Flavonoids as Prospective Neuroprotectants and Their Therapeutic Propensity in Aging Associated Neurological Disorders, *Frontiers in Aging Neuroscience*, 11, doi:10.3389/fnagi.2019.00155.
- Aydın, A., Sipahi, H. Charehsaz, M., 2012, Nanoparticles Toxicity and Their Routes of Exposures, A. D. Sezer (Ed.), *Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems* (s. 483 500). Rijeka: In Tech.
- Babu Maddinedi, S. Mandal, B.K. Ranjan, S., Dasgupta, N., 2015, "Diastase assisted green synthesis of size-controllable gold nanoparticles", *RSC Advances*, 5, 26727-26733.
- Babu Maddinedi, S. Mandal, B. K., Maddili, S. K., 2017, "Biofabrication of size controllable silver nanoparticles–A green approach", *Journal of Photochemistry and Photobiology B, Biology*, 167, 236-241.
- Badoei-dalfard, A., Shaban, M., Karami, Z., 2019, Characterization, antimicrobial, and antioxidant activities of silver nanoparticles synthesized by uricase from *Alcaligenes faecalis* GH3, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, doi:10.1016/j.bcab.2019.101257.
- Balamurugan, M., Kandasamy, N., Saravanan, S., 2014, Ohtani, N. Synthesis of uniform and high-density silver nanoparticles by using *Peltophorum pterocarpum* plant extract, *Jap. J. Appl. Phys.*, 53, pp. 1-7.
- Bali, R., Harris, A. T., 2010, Biogenic synthesis of Au nanoparticles using vascular plants, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 49, pp. 12762-12772.
- Bali, R., Razak, N., Lumb, A., Harris, A. T., 2006, The synthesis of metal nanoparticles inside live plants, *International Conference on Nanoscience and Nanotechnology (ICONN'06)*, pp. 224-227.

- Balkan, İ. A., Taşkın, T., Doğan, H. T., Deniz, İ., Akaydın, G., Yesilada, E., 2017, A comparative investigation on the in vitro anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial potentials of subextracts from the aerial parts of *Daphne oleoides* Schreb. subsp. *oleoides*. *Industrial Crops and Products*, 95, 695–703, doi:10.1016/j.indcrop.2016.11.038.
- Bang, J. H., Kamat, P. V., 2011, Cd Se quantum dot-fullerene hybrid nanocomposite for solar energy conversion: electron transfer and photoelectrochemistry, *ACS Nano*, 5(12), 9421–7.
- Bangham A. D., Standish, M. M., Watkins, J. C., 1965, Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids, *J. Mol. Biol.*, 13, 238–252.
- Baser, K. H. C., 2002, Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey, *Pure and Applied Chemistry*, 74(4), 527–545, doi:10.1351/pac200274040527.
- Bast, A., Haenen, G., Goelmen, J. A., 1991, Oxidants and antioxidants: State of the art. *Am. J. Med.*, 91, (3 Suppl 3), 2-13.
- Baytop, A., 1996, Farmasötik Botanik Ders Kitabı, İstanbul Üniversitesi Yayınlan No: 3637, Eczacılık Fakültesi Yayınlan No: 58, İstanbul, 215.
- Baytop, T., 1990, Therapy with Medicinal Plants in Turkey, in the Past and the Present, Nobel Tıp Basımevi, Istanbul.
- Bedlovičová, Z., Strapáč, I., Baláž, M., Salayová, A., 2020, A Brief Overview on Antioxidant Activity Determination of Silver Nanoparticles, *Molecules*, 25(14), 3191, doi:10.3390/molecules25143191.
- Benn, T. M., Westerhoff, P., 2008, *Environ. Sci. Technol.*, 42, s. 4133.
- Benson, E. E., Bremner, D. H., 2004, Oxidative stress in the frozen plant: a free radical point of view, B. Fuller, N. Lane, E. E. Benson (Eds.), *Life in The Frozen State*, CRC Press, London, pp. 205-242.
- Berk, S., Tepe, B., Arslan, S., Sarikurkcu, C., 2011, C. Screening of the antioxidant, antimicrobial and DNA damage protection potentials of the aqueous extract of *Asplenium ceterach* DC. *Afr. J. Biotechnol.*, 10, pp. 8902-8908.
- Bharathi, D., Bhuvaneshwari, V., 2018, Evaluation of the Cytotoxic and Antioxidant Activity of Phyto-synthesized Silver Nanoparticles Using *Cassia angustifolia* Flowers, *Bio Nano Science*, doi:10.1007/s12668-018-0577-5.
- Bhati-Kushwaha H., Malik, C. P., 2013, Biopotential of *Verbesina encelioides* (stem and leaf powders) in silver nanoparticle fabrication, *Turk. J. Biol.*, 37, pp. 645-654.
- Bhattacharjee, S., 2016, DLS and zeta potential – What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*, 235, 337–351, doi:10.1016/j.jconrel.2016.06.017.

- Bhattacharya, R. P., 2008, Mukherjee, Biological properties of “naked” metal nanoparticles, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 60 (11), pp. 1289-1306.
- Biswal, A. K., Misra, P. K., 2020, Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles for prospective application in food packaging and biomedical applications. *Materials Chemistry and Physics*, 123014, doi:10.1016/j.matchemphys.2020.123014.
- Brice-Profeta, S., Arrio, M.-A., Tronc, E., ve ark., 2005, “Magnetic order in γ -Fe₂O₃ nanoparticles: a XMCD study,” *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol. 288, pp. 354–365.
- Bulut, N., Koçyiğit, U. M., Geçibesler, I. H., Dastan, T., Karci, H., Taslimi, P., Durna Dastan, S., Gulcin, I., Cetin, A., 2018, bis-1,2,4-triazole moiety içeren bazı yeni piridin bileşiklerinin sentezi ve incelenmesi antioksidan özellikleri, karbonik anhidraz ve asetilkolinesteraz enzimleri inhibisyon profilleri. *J. Biyokimya Mol. Toxicol*, 32 (1), e22006.
- Büyük, İ., Soydam-Aydın, S., Aras, S., 2012, Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar, *Türk Hij. Den. Biyol. Derg.*, 69(2), 97-110, doi: 10.5505/TurkHijyen.2012.40316.
- Chauhan, R. P. S., Gupta, C., Prakash, D., 2012, “Methodological advancements in green nanotechnology and their applications in biological synthesis of herbal nanoparticles,” *International Journal of Bioassays*, vol. 1, no. 7, pp. 6–10.
- Chen, R., Ratnikova, T. A., Stone, M. B., Lin, S., Lard, M., Huang, G., Hudson, J. S., Ke, P. C., 2010, Differential uptake of carbon nanoparticles by plant and mammalian cells. *Small*, 6, 612–617.
- Chen, W. 2008. Nanoparticle fluorescence based technology for biological applications. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 8 (3), 1019–1051.
- Choi, C. W., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., Kim, S. K., 2002, Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Science*, 163(6), 1161–1168, doi:10.1016/s0168-9452(02)00332-1.
- Chung, K. T., Wei, C. I., Johnson, M. G., 1998, Are tannins a double-edged sword in biology and health? *Trends in Food Science and Technology*, 9, pp. 168-175.
- Cushnie, T. P. T., Lamb, A. J., 2005, Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 26, 343–356, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002.
- Cvjetko, P., Zovko, M., Štefanić, P. P., Biba, R., Tkalec, M., Domijan, A.-M., Balen, B., 2017, Phytotoxic effects of silver nanoparticles in tobacco plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(6), 5590–5602, doi:10.1007/s11356-017-0928-8.

- Dahlman, C., 2007, Technology, Globalization, and International Competitiveness. Challenges for Developing Countries, United Nations Department of Economic and Social Affairs (Ed.). Industrial Development for the 21st Century: Sustainable Development. *United Nations Publications*, ss. 29-84.
- Dai, H., 2002, Carbon nanotubes: opportunities and challenges, *Surf Sci*, 500:218–41.
- Dai, H., Rinzler, A. G., Nikolaev, P., Thess, A., Colbert, D. T., Smalley, R. E., 1996, Single-wall nanotubes produced by metal-catalyzed disproportionation of carbon monoxide, *Chem. Phys. Lett.*, 260(3–4), 471–5.
- Dai, T. T., Yan, X. Y., Li, Q., Li, T., Liu, C. M., McClements, D. J., Chen, J., 2017, Characterization of binding interaction between rice glutelin and gallic acid: Multi-spectroscopic analyses and computational docking simulation, *Food Research International*, 102, pp. 274-281.
- Darroudi, M., Ahmad, M. B., Zamiri, R. A., Zak, K., Abdullah, A. H., Ibrahim, N. A., 2011, “Time-dependent effect in green synthesis of silver nanoparticles,” *International Journal of Nanomedicine*, vol. 6, no. 1, pp. 677–681.
- De Jaeger, N., Demeyere, H., Finsy, R. ve ark., 1991, “Particle sizing by photon correlation spectroscopy, Part I. Monodisperse latices. Influence of scattering angle and concentration of dispersed material, *Particle and Particle Systems Characterization*, vol. 8, no. 1–4, pp. 179–186.
- Demir, M., 2000, Analitik Kimya Uygulaması Kitabı (Nitel Analiz Laboratuvarı Kitabı), Üçüncü Baskı. 35-35.
- Demirbas, A., Welt, B. A., Ocsoy, I., 2016, Biosynthesis of red cabbage extract directed Ag NPs and their effect on the loss of antioxidant activity, *Materials Letters*, 179, 20-23.
- Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Bloor, K. K., 2004, Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects, *J. Assoc. Physicians India*, 52, 794-804.
- Devasagayam, T. P., Bloor, K. K., Ramsarma, T., 2003, Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits (minireview), *Indian J. Biochem. Biophys.*, 40(5), 300-308.
- Dimkpa, C. O., McLean, J. E., Martineau, N., Britt, D. W., Haverkamp, R., Anderson, A. J., 2013, Silver nanoparticles disrupt Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth in a sand matrix, *Environ. Sci. Technol.*, 47, pp. 1082-1090.
- Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C., Almeida, L. M., 1994, Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid-peroxidation and as peroxyl radical scavengers, *Arch. Biochem. Biophys.*, 315, 161–169.

- Divya, K. S., Harshitha, B. S., Dilip Kumar, R., Chauhan, J. B., 2019, In vitro investigation of antioxidant potentiality of methanol and silver nanoparticles extract from *Trigonella foenum-graecum*, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3), 2213-2221.
- Djermane, N., Gali, L., Arhab, R., Gherraf, N., Bensouici, C., Erenler, R., Gok, M., Abdessamed, A., 2020, A. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, and enzyme inhibitory activities of *Erucaria uncata* and *Thymeleae hirsuta*, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, Volume 29, 101834, ISSN 1878-8181, doi:10.1016/j.bcab.2020.101834.
- Długosz, O., Chwastowski, J., Banach, M., 2020, Hawthorn berries extract for the green synthesis of copper and silver nanoparticles, *Chem. Pap.*, 74, 239–252, doi:10.1007/s11696-019-00873-z.
- Dong, J.-W., Cai, L., Xing, Y., Yu, J., Ding, Z.-T., 2015, Re-evaluation of ABTS^{•+} Assay for Total Antioxidant Capacity of Natural Products, *Natural Product Communications*, 10(12), 1934578X1501001, doi:10.1177/1934578x1501001239.
- Dulińska-Litewka, J., Łazarczyk, A., Hałubiec, P., Szafranski, O., Karnas, K., Karewicz, A., 2019, Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles—Current and Prospective, *Medical Applications Materials*, 12, 617.
- Duman, F., Sahin, U., Atabani, A. E., 2019, Harvesting of blooming microalgae using green synthesized magnetic maghemite (γ -Fe₂O₃) nanoparticles for biofuel production. *Fuel*, 256, 115935, doi:10.1016/j.fuel.2019.115935.
- Dzul-Erosa, M. S., Cauich-Díaz, M. M., Razo-Lazcano, T. A., Avila-Rodriguez, M., Reyes-Aguilera, J. A., González-Muñoz, M. P., 2018, Aqueous leaf extracts of *Cnidioscolus chayamansa* (Mayan chaya) cultivated in Yucatán México. Part II: Uses for the phytomediated synthesis of silver nanoparticles, *Materials Science and Engineering*, C, 91, 838–852, doi:10.1016/j.msec.2018.06.007.
- Edwards, P. P., Thomas, J. M., 2007, Gold in a metallic divided state—from faraday to present-day nanoscience *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46, pp. 5480-5486.
- Emsen, B., Güven, B., Kaya, A., 2019, *KSÜ Tarım ve Doğa Derg.*, 22(5): 724-732.
- Eren, A., Baran, M., 2019, Fıstık (*Pistacia vera* L.) Yaprğından Gümüş Nanopartikül (AgNP)'lerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Aktivitesinin İncelenmesi, 6. 165-173. 10.19159/tutad.493006.
- Fang, Y. Z., Yang, S., Wu, G., 2002, Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.
- Faraji, M., Yamini, Y., Rezaee, M., 2010, “Magnetic nanoparticles: synthesis, stabilization, functionalization, characterization, and applications,” *Journal of the Iranian Chemical Society*, vol. 7, no. 1, pp. 1–37.

- Fielding, M. R., 1991, Liposomal drug delivery: advantages and limitations from a clinical pharmacokinetics and therapeutic perspective, *Clin Pharmacokinet*, 21, 155–164.
- Figueredo, F. G., Lima, L. F., Morais-Braga, M. F. B., Tintino, S. R., Farias, P. A. M., Matias, E. F. F., Coutinho, H. D. M., 2016, Cytoprotective Effect of *Lygodium venustum* Sw. (*Lygodiaceae*) against Mercurium Chloride Toxicity. *Scientifica*, 2016, 1–5. doi:10.1155/2016/4154265, doi:10.1155/2016/4154265.
- Finkel, T., Holbrook, N. J., 2000, Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809), 239–247, doi:10.1038/35041687.
- Frankel, E. N., Meyer, A. S., 2000, The problems using one dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants, *J. Sci. Food Agric.*, 80, 1925–1941.
- Franks, F., 1998, Freeze-drying of bioproducts: putting principles into practice, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 45, pp. 221–229.
- Freitas. R. A., 2000. Nanodentistry, *J. Am. Dent. Assoc.*, 131, 1559–1565.
- Frezard. F., 1999, Liposomes: from biophysics to the design of peptide vaccines, *Braz. J. Biol. Res.*, 32(2), 181–189.
- Fu, P. P., Xia, Q., Hwang, H., Ray, P. C., 2014, ScienceDirect Mechanisms of nanotoxicity: Generation of reactive oxygen species, *Journal of Food and Drug Analysis*, 22,1, 64–75.
- Garima, M., Vivek, D., Kyong, Y., Rhee, S., Wi, R. L., 2015, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, Volume 21, 25 January 2015, Pages 11–25.
- Geethalakshmi, R., Sarada, D. V., 2012, Gold and silver nanoparticles from *Trianthema decandra*: synthesis, characterization, and antimicrobial properties *Int. J. Nanomed.*, 7, pp. 5375–5384.
- Genc, N. ,2020, Biosynthesis of silver nanoparticles using *Origanum onites* extract and investigation of their antioxidant activity, *Particulate Science and Technology*, 1–7, doi:10.1080/02726351.2020.1786868.
- Genc, N., Yildiz, I., Chaoui, R., Erenler, R., Temiz, C., Elmastas, M., 2020, Biosynthesis, characterization and antioxidant activity of oleuropein-mediated silver nanoparticles, *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 1–9, doi:10.1080/24701556.2020.1792495.
- Gengan, R. M., Anand, K., Phulukdaree, A., Chuturgoon, A., 2013, A549 lung cell line activity of biosynthesized silver nanoparticles using *Albizia adianthifolia* leaf, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 105, 87–91, doi:10.1016/j.colsurfb.2012.12.044.

- Gitipour, A., El Badawy, A., Arambewela, M., Miller, B., Scheckel, K., Elk, M., Tolaymat, T., 2013, The impact of silver nanoparticles on the composting of municipal solid waste, *Environmental science and technology*, 47(24), 14385–14393.
- Gubbins, E. J., Batty, L. C., Lead, J. R., 2011, Phytotoxicity of silver nanoparticles to *Lemna minor* L. *Environmental Pollution*, 159, 1551–1559.
- Gulcin, I., 2006, Antioxidant and antiradical activities of L-Carnitine, *Life Sci*, 78,803–811.
- Gulcin, İ., 2020, Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview, *Arch. Toxicol*, 94, 651–715, doi:10.1007/s00204-020-02689-3.
- Gupta, S. D., Agarwal, A., a Pradhan, S., 2018, Phytostimulatory effect of silver nanoparticles (AgNPs) on rice seedling growth: An insight from antioxidative enzyme activities and gene expression patterns, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 161, 624–633.
- Gupta, V., Gupta, A. R., Kant, V., 2013, “Synthesis, characterization and biomedical application of nanoparticles” *Science International*, vol. 1, no. 5, pp. 167–174.
- Gurbuz, I., Demirci, B., Franz, G., Baser, K. H. C., Yesilada, E., Demirci, F., 2013, Comparison of the volatiles of *Daphne pontica* L. and *D. oleoides* Schreber subsp. *oleoides* isolated by hydro- and microdistillation methods, *Turk J. Biol.*, (2013) 37, 114–121, doi:10.3906/biy-1204-20.
- Güner, S., Zengin, G., Aktümsek, A., 2014, *Acanthus hirsutus* ‘un aseton özütünün antioksidan özelliklerinin araştırılması, *SUFEFD* (2014), 38, 1-9.
- Hall, J. L., Williams, L. E., 1991, Transition metal transporters in plants, *J. Exp. Bot.*, 54, 2601–2613.
- Halliwell, B., 1990, How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Research*, 9(1), 1–32.
- Halliwell, B., 1997, Antioxidants in human health and disease, *Ann. Rev. Nut.*, 16, 33–50.
- Halliwell, B., 1999, Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning), *Free Radic Res.*, 31(4), 261–272.
- Han, H., Yılmaz, H., Gulcin, I., 2018, Antioxidant activity of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) and analysis of its polyphenol contents by LC-MS/MS. *Rec. Nat. Prod.*, 12(4):397–402.
- Haq, S., Yasin, K. A., Rehman, W., Waseem, M., Ahmed, M. N., Shahzad, M. I., Khan, B., 2020, Green Synthesis of Silver Oxide Nanostructures and Investigation of Their Synergistic Effect with Moxifloxacin Against Selected Microorganisms,

Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials, doi:10.1007/s10904-020-01763-8.

- Havsteen, B. H., 2002, The biochemistry and medical significance of the flavonoids, *Pharmacol. Ther.*, 96, 67–202, doi: 10.1016/s0163-7258(02)00298-x.
- Hinterwirth, H., Wiedmer, S. K., Moilanen, M., Lehner, A., Allmaier, G., Waitz, T., Lämmerhofer, M., 2013, Comparative method evaluation for size and size-distribution analysis of gold nanoparticles, *Journal of Separation Science*, 36(17), 2952–2961, doi:10.1002/jssc.201300460.
- Hochella, M. F., Jr., Spencer, M. G., Jones, K. L., 2015, *Environ. Sci., Nano*, 2015, 2, 114–119.
- Hodoroaba, V. D., 2020, Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS), Characterization of Nanoparticles, 397–417, doi:10.1016/b978-0-12-814182-3.00021-3.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. L., 2005, The chemistry behind antioxidant capacity assay, *J. Agric. Food Chem.*, 53: 1841-1856.
- Huang, J., Qingbiao, L., Daohua, S., Lu, Y., Su, Y., Xin, Y., Huixuan, W., Yuaneng, W., Wenyao, S., Ning, H., Jinjing, H., Chen, C., 2007, Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf. *Nanotechnology*, doi:10.1088/0957-4484/18/10/105104.
- Hulkoti, N. I., Taranath, T., 2014, "Biosynthesis of nanoparticles using microbes, a review", *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474-483.
- Hulla, J., Sahu, S., Hayes, A., 2015, *Nanotechnology, Human and Experimental Toxicology*, 34(12), 1318–1321, doi:10.1177/0960327115603588.
- Huyut, Z., Beydemir, Ş., Gülçin, İ., 2017, Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds, *Biochem. Res. Int.*, 2017, 1–10.
- Hwang, E. S., Bowen, P. E., 2007, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 47, p. 27.
- Iijima, S., 1991, Helical microtubules of graphitic carbon, *Nature*, 1991, 345:56–8.
- Iijima, S., Ichihashi, T., 1993, Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter, *Nature*, 363:603–5.
- Ilyasov, I. R., Beloborodov, V. L., Selivanova, I. A., Terekhov, R. P., 2020, ABTS/PP Decolorization Assay of Antioxidant Capacity Reaction Pathways, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), 1131, doi:10.3390/ijms21031131.
- Jacobs, K. ve ark., 2001, Activation volumes for solid–solid transformations in nanocrystals, *Science*, 293 (5536), 1803–1806.
- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y.S., Dufresne, A., Danquah, M. K., 2018, Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity

- and regulations, *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 9, 1050–1074, doi:10.3762/bjnano.9.98.
- Jia, L., Fei, R., Zhang, X., Tang, H., Hu, Y., 2014, Sustainable Endospore-Based Microreactor System for Antioxidant Capacity Assay. *Analytical Chemistry*, 86(23), 11578–11585, doi:10.1021/ac500866r.
- Jiang, H., Li, M., Chang, F., Li, W., Yin, L., 2012, Physiological analysis of silver nanoparticles and AgNO₃ toxicity to *Spirodela polyrrhiza*, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31, 1880–1996.
- Jin, R. C., Cao, Y. W., Mirkin, C. A., Kelley, K. L., Schatz, G. C., Zheng, J. G., 2001, *Science*, 2001, 294, 1901.
- Johnston, J. W., Dussert, S., Gale, S., Nadarajan, J., Harding, K., Benson, E. E. 2006, Optimisation of the azinobis-3-ethyl-benzothiazoline-6-sulphonic acid radical scavenging assay for physiological studies of total antioxidant activity in woody plant germplasm, *Plant Physiology and Biochemistry*, 44(4), 193–201, doi:10.1016/j.plaphy.2006.04.005.
- Jores, K., Mehnert, W., Drechsler, M., Bunjes, H., Johann, C., Mäder, K., 2004, “Investigations on the structure of solid lipid nanoparticles (SLN) and oil-loaded solid lipid nanoparticles by photon correlation spectroscopy, field-flow fractionation and transmission electron microscopy,” *Journal of Controlled Release*, vol. 95, no. 2, pp. 217–227.
- Jun, Y-W., Seo, J-W., Cheon, J., 2008, Nanoscaling laws of magnetic nanoparticles and their applicabilities in biomedical sciences *Acc., Chem. Res.*, doi:10.1021/ar700121f.
- Karabulut, H., Gülay, M. Ş., 2016, Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi.*, 2016, 4(1).
- Kasthuri, J., Veerapandian, S., Rajendiran, N., 2009, Biological synthesis of silver and gold nanoparticles using apiin as reducing agent, *Colloids Surf. B*, 68, pp. 55-60.
- Khush, G. S., 2005, What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030, *Plant Mol. Biol.*, 59, pp. 1-6.
- Kim, S., Choi, J. E., Choi, J., Chung, K. H., Park, K., Yi, J., Ryu, D. Y., 2009, Oxidative stress dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicol in Vitro*, 2009, 23 (6), 1076–1084.
- Kim, S. T., Kang, D. Y., Lee, S. H., Kim, W. S., Lee, J. T., Cho, H. S., Kim, S. H., J., 2007, *Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 30 (2007), p. 2533.
- Kim, Y. J., Mathiyalagan, R., Markus, J., Wang, C., Singh, P., Ahn, S., Abbai, R., 2016, Green synthesis of multifunctional silver and gold nanoparticles from the oriental herbal adaptogen: Siberian ginseng. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 11, 3131–3143, doi:0.2147/ijn.s108549.

- Knee, M., 1992, Sensitivity of ATPases to silver ions suggests that silver acts outside the plasma membrane to block ethylene action, *Phytochemistry*, 31, pp. 1093-1096.
- Kroto, H. W., Heath, J. R., O'Brien, S. C., Curl, R. F., Smalley, R. F., 1985, C60: buckminsterfullerene, *Nature*, 318: 162–3.
- Kumar, S., Bolan, M. D. and Bigioni, T. P. J., 2010, *Am. Chem. Soc.*, 132, p. 13141.
- Kumar, N., Kumbhat, S., 2016, Carbon-Based Nanomaterials. Essentials in Nanoscience and Nanotechnology, John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, NJ, U.S.A., pp 189–236, doi:10.1002/9781119096122.ch5.
- Kumar, V., Singh, S., Srivastava, B., Bhadouria, R., Singh, R., 2019. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Leaf Extract of *Holoptelea integrifolia* and Preliminary Investigation of Its Antioxidant, Anti-inflammatory, Antidiabetic and Antibacterial Activities, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, doi:10.1016/j.jece.2019.103094.
- Kumari, M., Mukherjee Chandrasekaran, N., 2009, Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*, *The Science of the total environment*, 407, 19, 5243-6.
- Kut, D., Güneşoğlu, C., 2005, Nanoteknoloji ve tekstil sektöründeki uygulamaları, *Tekstil ve Teknik*, Şubat, 224-230.
- Küp, F. Ö., Çoşkunçay, S., Duman, F., 2019., Biosynthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Aesculus hippocastanum* (horse chestnut): Evaluation of their antibacterial, antioxidant and drug release system activities, *Materials Science and Engineering*, C, 110207, doi:10.1016/j.msec.2019.110207.
- Lackner, P., Beer, R., Broessner, G., Helbok, R., Galiano, K., Pleifer, C., Schmutzhard, E., 2008, Efficacy of Silver Nanoparticles-Impregnated External Ventricular Drain Catheters in Patients with Acute Occlusive Hydrocephalus, *Neurocritical Care*, 8(3), 360–365, doi:10.1007/s12028-008-9071-1.
- Lamattina, L., Garcia-Mata, C., Graziano, M., Pagnussat, G., 2003, Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 54, pp. 109-136.
- Lander, H. M., 1997, An essential role for free radicals and derived species in signal transduction, *FASEB J.*, 11(2), 118-124.
- Lee, H., Yu, M. K., Park, S., Moon, S., Min, J. J., Jeong, Y. Y., Kang, H-W., Jon. S., 2007, Thermally cross-linked superparamagnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and application as a dual imaging probe for cancer in vivo, *J. Am. Chem. Soc.*, doi:10.1021/ja072210i.
- Lee, J., Farha, O. K., Roberts, J. K. A., Scheidt, S. T., Nguyen, J.T., 2009, HuppMetal–organic framework materials as catalysts, *Chem. Soc. Rev.*, 38, pp. 1450-1459.

- León-Silva, S., Fernández-Luqueño, F., López-Valdez, F., 2016, Silver Nanoparticles (AgNP) in the Environment: a Review of Potential Risks on Human and Environmental Health, Water, Air and Soil Pollution, 227(9), doi:10.1007/s11270-016-3022-9.
- Li, S., Tan, H.-Y., Wang, N., Zhang, Z.-J., Lao, L., Wong, C.-W., Feng, Y., 2015, The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(11), 26087–26124, doi:10.3390/ijms161125942.
- Li, C.-G., Pan, L., Han, Z.-Z., Xie, Y.-Q., Hu, H.-J., Liu, X.-L., Wang, Z.-T., 2019, Antioxidative 2-(2-phenylethyl)chromones in Chinese eaglewood from *Aquilaria sinensis*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 1–8, doi:10.1080/10286020.2019.1607841.
- Lichtenhaler, H. K., 1996, Vegetation stress: An introduction to the stress concept in plants, *J. Plant Physiol*, 148: 4-14.
- Lidgate, D. M., Felgner, P.L., Fleitman, J.S., Whatley, J., Fu, R. C, 1988, Invitro and invivo studies evaluating a liposome system for drug solubilisation, *Pharm Res.*, 1988, 5, 759–764.
- Linga Rao, M., Savithramma, N., 2011, “Biological synthesis of silver nanoparticles using *Svensonia Hyderabadensis* leaf extract and evaluation of their antimicrobial efficacy,” *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 3, no. 3, pp. 1117–1121.
- Liong, M., Lu, J., Kovochich, M., Xia, T., Ruehm, S. G., Nel, A. E., Tamanoi, F., Zink, J. I., 2008, Multifunctional inorganic nanoparticles for imaging, targeting, and drug delivery, *ACS Nano*, doi:10.1021/nn800072t.
- Liu, J., Yu, S., Yin, Y., Chao, J., 2012, "Methods for separation, identification, characterization and quantification of silver nanoparticles", *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 33, 95-106.
- Luther, E.M., Koehler, Y., Diendorf, J., Epple, M., Dringen, R., 2011, Accumulation of silver nanoparticles by cultured primary brain astrocytes. *Nanotechnology*, 2011, 22, 375101.
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., Kolmakov, A., 2010, Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation, *Science of The Total Environment*, 408(16), 3053–3061, doi:10.1016/j.scitotenv.2010.03.031.
- Malhotra, B. D., Ali, M. A., 2018, Nanomaterials in Biosensors: Fundamentals and Applications. *Nanomaterials in Biosensors*, 1–74, doi:10.1016/B978-0-323-44923-6.00001-7.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Rémésy, C., 2005, Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans, I. Review of 97

- bioavailability studies, *Am. J. Clin. Nutr.*, 81, 230S–242S, doi: 10.1093/ajcn/81.1.230s.
- Mandal, S., Selvakannan, P. R., Pasricha, R., Sastry, M. J., 2003, *Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 8440.
- Meir, S., Kanner, J., Akiri, B., Philosophhadas, S., 1995, Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves, *J. Agric. Food Chem.*, 43, 1813–1815.
- Mekhefi, T., Khaoula, A., Zaiter, L., Graziano, G., Benayache, S., Benayache, F., Rimantas, V., 2016, Antioxidant activity of extracts, cis and trans tilirosides, and other compounds from *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. 8. 233-239.
- Mie, R., Samsudin, M. W., Din, L. B., Ahmad, A., Ibrahim, N., Adnan, S. N. A., 2014, Synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activity using the lichen *Parmotrema praesorediosum*, *International journal of nanomedicine*, 9, 121.
- Mittler, R., 2017, ROS are good, *Trends Plant Sci.*, 22, pp. 11-19.
- Mohan Gokhale, M., Ravindra, Somani, R., 2015, Fullerenes: chemistry and its applications, *Mini Rev. Org. Chem.*, 2015, 12, 355–66.
- Moukette, B. M., Pieme, A. C., Biapa, P. C. N., Njimou, J. R., Stoller, M., Bravi, M., Yonkeu Ngogang, J., 2015, In Vitro Ion Chelating, Antioxidative Mechanism of Extracts from Fruits and Barks of *Tetrapleura tetraptera* and, Their Protective Effects against Fenton Mediated Toxicity of Metal Ions on Liver Homogenates, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1–14, doi:10.1155/2015/423689.
- Mubarak, D., Sasikala, M., Gunasekaran, M., Thajuddin, N., 2011, “Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using marine cyanobacterium, *Oscillatoria willei* ntdm01,” *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, vol. 6, no. 2, pp. 385–390.
- Mucalo, M. R., Bullen, C. R., Manley-Harris, M., McIntire, T. M., 2002, “Arabinogalactan from the Western larch tree: a new, purified and highly water-soluble polysaccharide-based protecting agent for maintaining precious metal nanoparticles in colloidal suspension,” *Journal of Materials Science*, vol. 37, no. 3, pp. 493–504.
- Nair, P. M. G., Chung, I. M., 2014, Physiological and molecular level effects of silver nanoparticles exposure in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Chemosphere*, 112, 105–113, doi:10.1016/j.chemosphere.2014.03.056.
- Nair, R., Varghese, S. H., Nair, B. G., Maekawa, T., Yoshida, Y., Kumar, D. S., 2010, Nanoparticulate material delivery to plants, *Plant Sci.*, 179, 154–163, 10.1016/j.plantsci.2010.04.012.

- Naser, D. K., Abbas, A. K., Aadim, K. A., 2020, Zeta Potential of Ag, Cu, ZnO, CdO and Sn Nanoparticles Prepared by Pulse Laser Ablation in Liquid Environment. *Iraqi Journal of Science*, 61(10), 2570-2581, doi:10.24996/ij.s.2020.61.10.13.
- Nath, D., Banerjee, P., 2013, "Green nanotechnology—a new hope for medical biology", *Environmental toxicology and pharmacology*, 36: 997-1014.
- Nau, W. M., 1998, A fluorescent probe for antioxidants, *J. Am. Chem. Soc.*, 120, pp. 12614-12618.
- Neuberger, T., Schopf, B., Hofmann, H., Hofmann, M., Vonrechenberg, B., 2005, Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: possibilities and limitations of a new drug delivery system, *J. Magn. Magn. Mater.*, doi:10.1016/j.jmmm.2005.01.064.
- Nikaeen, G., Yousefinejad, S., Rahmdel, S. ve ark., 2020, Central Composite Design for Optimizing the Biosynthesis of Silver Nanoparticles using Plantago major Extract and Investigating Antibacterial, Antifungal and Antioxidant Activity. *Sci Rep.*, 10, 9642, doi:10.1038/s41598-020-66357-3.
- Nimse, S. B., Pal, D., 2015, Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006, doi:10.1039/c4ra13315c.
- Noctor, G., Foyer, C. H., 1998, Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 49, pp. 249-279.
- Noguez, C., 2007, Surface Plasmons on Metal Nanoparticles: The Influence of Shape and Physical Environment. *J. Phys. Chem.*, C. 111, 3806–3819.
- Noman, L. Oke-Altuntas, F., Zellagui, A., Demirtas, I., Rhouati, S., 2018, Isochamaejasmin and other flavonoids isolated from an endemic Algerian desert species, *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A, Chemistry.*, 5, 347-354.
- Noruzi, M., 2015, Biosynthesis of gold nanoparticles using plant extracts, *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 38, pp. 1-14.
- Noruzi, M., Zare, D., Khoshnevisan, K., Davoodi, D., 2011, Rapid green synthesis of gold nanoparticles using Rosa hybrida petal extract at room temperature. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc*, 79, 1461–1465.
- Otsuka, H., Nagasaki, Y., Kataoka, K., 2003, “PEGylated nanoparticles for biological and pharmaceutical applications,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 55, no. 3, pp. 403–419.
- Otunola, G. A., Afolayan, A. J., 2018, In vitro antibacterial, antioxidant and toxicity profile of silver nanoparticles green-synthesized and characterized from aqueous extract of a spice blend formulation, *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 32(3), 724–733, doi:10.1080/13102818.2018.1448301.

- Oztaskin, N., Taslimi, P., Maraş, A., Göksu, S., Gulcin. I., 2017, Asetilkolinesteraz, butirilkolinesteraz ve karbonik anhidraz inhibitör etkilerine sahip yeni antioksidan bromofenoller, *Bioorg. Chem.*, 74, 104–114.
- Pal, S. L., Jana, U., Manna, P. K., Mohanta, G. P., Manavalan, R., 2011, “Nanoparticle: an overview of preparation and characterization,” *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, vol. 1, no. 6, pp. 228–234.
- Pasupuleti, V. R., Prasad, T., Shiekh, R. A., Balam, S. K., Narasimhulu, G., Reddy, C. S., Rahman, I. A., Gan, S. H., 2013, Biogenic silver nanoparticles using *Rhinacanthus nasutus* leaf extract: synthesis, spectral analysis, and antimicrobial studies. *Int. J. Nanomed*, 8, 3355–3364, doi:10.2147/IJN.S49000.
- Patra, J. K., Baek, K. H., 2014, Green Nanobiotechnology: Factors Affecting Synthesis and Characterization Techniques, *Journal of Nanomaterials*, 2014, 1–12, doi:10.1155/2014/417305.
- Pellegrini, N., Miglio, C., Del Rio, D., Salvatore, S., Serafini, M., Brighenti, F., 2009, Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 (2): 12–22.
- Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A., 2009, Phenolics: from chemistry to biology, *Molecules*, 14 (6), pp. 2202–2211.
- Perez, E., Sandgren, P., 2008, “Nanotechnology in Sweden: An Innovation System Approach to an Emerging Area, Stockholm”, *VINNOVA*, s. 11.
- Peter, S., Wirz, L. N., Avery, J., 2015, *WIREs Comput Mol. Sci.*, 2015, 5:96–145.
- Petering, H. G., Mc Clain, C. J., 1991, Silver, metals and Their Compounds in the Environment (Edited by Ernest Merian), 1191 – 1198.
- Pietrobon, B., Kitaev, V., 2008, Photochemical Synthesis of Monodisperse SizeControlled Silver Decahedral Nanoparticles and Their Remarkable Optical Properties. *Chem. Mater.*, 20: 5186–5190.
- Pinho, F. V. S. de A., da Cruz, L. C., Rodrigues, N. R., Waczuk, E. P., Souza, C. E. S., Coutinho, H. D. M., Menezes, I. R. A., 2016, Phytochemical Composition, Antifungal and Antioxidant Activity of *Duguetia furfuracea* A. St.-Hill. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–9, doi:10.1155/2016/7821051.
- Pisoschi, A. M., Pop, A., 2015, The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review, *European Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 97, pp. 55–74, doi:10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
- Pokropivny, V. V., Skorokhod, V. V. 2007, *Mater. Sci. Eng., C* 2007, 27, 990–993, doi:10.1016/j.msec.2006.09.023.

- Prasad, K. S., Pathak, D., Patel, A., 2011, "Biogenic synthesis of silver nanoparticles using *Nicotiana tabaccum* leaf extract and study of their antibacterial effect," *African Journal of Biotechnology*, vol. 10, no. 41, pp. 8122–8130.
- Prasanna, B. M., 2007, Nanotechnology in agriculture, ICAR National Fellow, Division of Genetics, IARI, New Delhi, 110012.
- Prashanth, S., Menaka, I., Muthezhilan, R., Sharma, N. K., 2011, "Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using medicinal plant extract and evaluation of its antimicrobial activities," *International Journal of Engineering Science and Technology*, vol. 3, no. 8, pp. 6235–6250.
- Prior, R. L., Cao, G., 1999, In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods, *Free Radical Biology and Medicine*, 27(11-12), 1173–1181, doi:10.1016/s0891-5849(99)00203-8.
- Pyrzynska, K., Pękal, A., 2013, Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples, *Analytical Methods*, 5(17), 4288, doi:10.1039/c3ay40367j.
- Rai, A., Singh, A., Ahmad, A., Sastry, M., 2006, "Role of halide ions and temperature on the morphology of biologically synthesized gold nanotriangles," *Langmuir*, vol. 22, no. 2, pp. 736–741.
- Ramirez-Acosta, C. M., Cifuentes, J., Cruz, J. C., Reyes, L. H., 2020, Patchy Core/Shell, Magnetite/Silver Nanoparticles via Green and Facile Synthesis, Routes to Assure Biocompatibility. *Nanomaterials*, 10(9), doi:10.3390/nano10091857.
- Ramos-Tovar, E. Muriel, P., 2019, Free radicals, antioxidants, nuclear factor-E2-related factor-2 and liver damage, *Journal of Applied Toxicology*, doi:10.1002/jat.3880.
- Ratte, H. T., 1999, Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: A review. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18 (1), 89–108.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical in Biology and Medicine*, 26, 1231–1237.
- Renn, O., Roco, M. C. ,2006, "Nanotechnology and the Need for Risk Governance" *Journal of Nanoparticle Research*, 8, 2, s. 153.
- Riaz, M., Saleem, A., Siddique, S., Khan, B. A., Nur-e-Alam, M., Shahzad-ul-Hussan, S., Khan, M. Q., 2015, Phytochemistry of *Daphne oleoides*, *Natural Product Research*, 30(8), 880–897, doi:10.1080/14786419.2015.1092146.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G., 1996, Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Rad Biol Med*, 20, pp. 933–956.

- Rico, C. M., Majumdar, S., Duarte-Gardea, M., Peralta-Videa, J. R., Gardea-Torresdey, J. L., 2011, Interaction of Nanoparticles with Edible Plants and Their Possible Implications in the Food Chain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8), 3485–3498, doi:10.1021/jf104517j.
- Roco, M. C., 2005, International perspective on government Nanotechnology funding in 2005, *J. Nanopart Res.*, 7, 707-712.
- Rodríguez, H., Curiel, J. A., Landete, J. M., de Las Rivas, B., de Felipe, F. L., Gómez Cordovés, C., 2009, Food phenolics and lactic acid bacteria, *Int. J. Food Microbiol.*, 132, pp. 79-90.
- Rolim, W. R., Pelegrino, M. T., de Araújo Lima, B., Ferraz, L. S., Costa, F. N., Bernardes, J. S., Seabra, A. B., 2018, Green tea extract mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles: Characterization, cytotoxicity evaluation and antibacterial activity, *Applied Surface Science*, doi:10.1016/j.apsusc.2018.08.203.
- Salata, O. V., 2004, "Applications of nanoparticles in biology and medicine", *Journal of nanobiotechnology*, 2: 3.
- Sanda, M., Zengin, G., Aktumsek, A., Cakmak, Y., 2015, Evaluation of antioxidant potential of two *Daphne* species (*D. gnidioides* and *D. pontica*) from Turkey, *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 27(6), 488, doi:10.9755/ejfa.2015.04.030.
- Santhoshkumar, J., Rajeshkumar, S., Venkat Kumar, S., 2017, Phyto-assisted synthesis, characterization and applications of gold nanoparticles – A review, *Biochemistry and Biophysics Reports*, 11, 46–57, doi:10.1016/j.bbrep.2017.06.004.
- Sarikurkcü, C., 2011, Antioxidant activities of solvent extracts from endemic *Cyclamen mirabile* Hildebr. tubers and leaves, *Afr. J. Biotechnol.*, 10, pp. 831-839.
- Saxena, A., Tripathi, R. M., Singh, R. P. 2010, "Biological synthesis of silver nanoparticles by using onion (*Allium cepa*) extract and their antibacterial activity," *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, vol. 5, no. 2, pp. 427–432.
- Sayes, C. M., Gobin, A. M., Ausman, K. D., Mendez, J., West, J. L., Colvin, V. L., 2005, Nano-C60 cytotoxicity is due to lipid peroxidation. *Biomaterials*, 26:7587–95.
- Schimanski ve ark., 2012, *BMC Cancer*, Vol. 12, 144, doi:10.1186/1471-2407-12-144.
- Schmidt, G., 2004, Nanoparticles: From Theory to Applications, Weinheim: Wiley.
- Sekowski, S., Milowska, K., Gabryelak, T., 2008, Dendrymery w naukach biomedycznych i nanotechnologii, *Postepy Hig. Med. Dosw.*, 62, 725-733.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., De, B., 2010, Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect,

International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 3, 1, 91-100.

- Sezik, E., Yesilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., 2001. Traditional medicine in Turkey, Folk medicine in Central Anatolia, *Journal of the Ethnopharmacology*, 75, 95–115.
- Shah, A., Lutfullah, G., Ahmad, K., Khalil, A. T., Maaza, M., 2018. *Daphne mucronata*-mediated phytosynthesis of silver nanoparticles and their novel biological applications, compatibility and toxicity studies. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 11(3), 318–333, doi:10.1080/17518253.2018.1502365.
- Shah, H. A., Rather, M. A., 2020, Effect of calcination temperature on the crystallite size, particle size and zeta potential of TiO₂ nanoparticles synthesized via polyol-mediated method, *Materials Today: Proceedings*, ISSN 2214-7853, doi:10.1016/j.matpr.2020.10.199.
- Shakibaie, M., Forootanfar, H., Mollazadeh-Moghaddam, K., Bagherzadeh, Z., Nafissi-Varcheh, N., Shahverdi, A. R., Faramarzi, M. A., 2010, Green synthesis of gold nanoparticles by the marine microalga *Tetraselmis suecica*. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 57(2), 71–75, doi:10.1042/ba20100196.
- Shalaby, E. A., Shanab, S. M. M., 2013, Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7(10), 528-539.
- Sharma, D., Kanchi, S., Bisetty, K., 2015, Biogenic synthesis of nanoparticles: A review, *Arabian Journal of Chemistry*, 25.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., Pessarakli, M., 2012, Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions, *J. Bot.*, pp. 1-26.
- Shen, L., Ji, H. F., Zhang, H. Y., 2007, How to understand the dichotomy of antioxidants, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 362, pp. 543-545.
- Shi, H. G., Farber, L., Michaels, J. N. ve ark., 2003, “Characterization of crystalline drug nanoparticles using atomic force microscopy and complementary techniques,” *Pharmaceutical Research*, vol. 20, no. 3, pp. 479–484.
- Shimoda, H., Oh, S. J., Geng, H. Z., Walker, R. J., Zhang, X. B., Mcneil, L. E., Zhou, O., 2002, Self-assembly of carbon nanotubes, *Adv, Mater*, 2002, 14, 899–901.
- Shulaev, V., Cortes, D., Miller, G., Mittler, R., 2008, Metabolomics for plant stress response, *Physiologia Plantarum*, 132(2), 199–208, doi:10.1111/j.1399-3054.2007.01025.x.
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., Dhaka, N., 2013, Potential applications of antioxidants—a review, *J. Pharm. Res.*, 7, 828–835.

- Singh, M., Manikandan, S., Kumaraguru, A. K., 2011, "Nanoparticles: a new technology with wide applications," *Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 1, no. 1, pp. 1–11.
- Sobral-Souza, C. E., Leite, N. F., Cunha, F. A. B., Pinho, A. I., Albuquerque, R. S., Carneiro, J. N. P., Coutinho, H. D. M., 2014, Cytoprotective effect against mercury chloride and bioinsecticidal activity of *Eugenia jambolana* Lam. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(1), 165–170, doi:10.1016/j.arabjc.2013.10.003.
- Sohaib, M., Anjum, F. M., Sahar, A., Arshad, M. S., Rahman, U. U., Imran, A., Hussain, S., 2016, Antioxidant proteins and peptides to enhance the oxidative stability of meat and meat products: A comprehensive review. *International Journal of Food Properties*, 20 (11), 2581–2593, doi: 10.1080/ 10942912 .2016 .1246456.
- Sridhar, K., Charles, A. L., 2018, In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH[•] and ABTS[•] assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs. *Food Chemistry*, doi:10.1016/j.foodchem. 2018.09.040.
- Stampoulis, D., Sinha, S. K., White, J. C., 2009, Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants, *Environmental Science and Technology*, 43, 9473–9479.
- Steckiewicz, K. P., Zwara, J., Jaskiewicz, M., Kowalski, S., Kamysz, W., Zaleska-Medynska, A., Inkielewicz-Stepniak, I., 2019, Shape-Depended Biological Properties of Ag₃PO₄ Microparticles: Evaluation of Antimicrobial Properties and Cytotoxicity in In Vitro Model—Safety Assessment of Potential Clinical Usage, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–19, doi:10.1155/2019/6740325.
- Suntar, I., Kupeli Akkol, E., Keles, H., Yesilada, E., Sarker, S., Baykal, T., 2014, *Daphne oleoides* Schreber ssp. *oleoides* Exhibits Potent Wound Healing Effect: Isolation of the Active Components and Elucidation of the Activity Mechanism. *Rec. Nat. Prod.* 8,2 (2014) 93-109.
- Suzuki, E., 2002, "High-resolution scanning electron microscopy of immunogold-labelled cells by the use of thin plasma coating of osmium," *Journal of Microscopy*, vol. 208, no. 3, pp. 153–157.
- Süzer, Ş., 2005, "Metrenin bir milyarda birinde bilim ve teknoloji", *Bilim ve Teknik Yeni Ufuklara, TÜBİTAK*, s6-8.
- Szymanski, P., Markowicz, M., Mikiciuk-Olasik, E., 2011, Nanotechnology in pharmaceutical and biomedical applications, Dendrimers, *NANO*, Brief Report. *Rev.* 6, 1-32.
- Tan, K, 1982, *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol.7. Edinburgh University Press, pp. 521–526.

- Tan, S., Erol, M., Attygalle, A., Du, H., Sukhishvili, S., 2007, Synthesis of positively charged silver nanoparticles via photoreduction of AgNO₃ in branched polyethyleneimine/HEPES solutions. *Langmuir*, 23, 9836–43.
- Tomaszewska, E., Soliwoda, K., Kadziola, K., Tkacz-Szczesna, B., Celichowski, G., Cichomski, M., Grobelny, J., 2013, Detection Limits of DLS and UV-Vis Spectroscopy in Characterization of Polydisperse Nanoparticles Colloids, *Journal of Nanomaterials*, 2013, 1–10, doi:10.1155/2013/313081.
- Tosun, A., 2006, Daphne L. türlerinin kimyasal içeriği ve biyolojik aktiviteleri, *Journal of Faculty Pharmacology*, Ankara, 35, 43-68.
- Tran, Q. H., Nguyen, V. Q., Le, A. T., 2013, “Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives,” *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 4, Article ID 033001.
- Tripathi, D. K., Singh, S., Singh, S., Srivastava, P. K., Singh, V. P., Singh, S., Chauhan, D. K., 2017, Nitric oxide alleviates silver nanoparticles (AgNps)-induced phytotoxicity in *Pisum sativum* seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 167–177, doi10.1016/j.plaphy.2016.06.015.
- Tubives, 2020. Erişim adresi: <http://www.tubives.com>, erişim tarihi 02.11.2020.
- Tzelepi K., Garcia C.E., Williams P., Golding J., 2019, Galactose: PEGamine coated gold nanoparticles adhere to filopodia and cause extrinsic apoptosis, *Nanoscale Adv.*, 1, 807-816, doi: 10.1039/C8NA00270C.
- Ullah, N., Ahmed, S., Mohammad, P., ve ark., 1999, Chemical constituents of *Daphne oleoides*, *Fitoterapia*, 70: 214–215.
- Upadhyay, Y., 2013, Current state and future perspectives of nanotechnology in dentistry, *Int. Organ. Sci. Res. J. Pharm.*, 3, 68–71.
- Uysal, M., 1998, Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar, *Klinik Gelişim*, 11, 336-341.
- Uysal, A., Zengin, G., Aktumsek, A., Rigano, D., Senatore, F., Sanda, M. A., 2016, *Daphne oleoides*: An alternative source of important sesquiterpenes, *International Journal of Food Properties*, 20(3), 549–559, doi:10.1080/10942912.2016.1168836.
- Ün, R., 1968, Metal Kimyası Dersleri, İstanbul, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 294-465 s.
- Valentão, P., Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P. B., Seabra, R. M., Bastos, M. de L., 2002, Antioxidant Activity of *Hypericum androsaemum* Infusion: Scavenging Activity against Superoxide Radical, Hydroxyl Radical and Hypochlorous Acid. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(10), 1320–1323, doi:10.1248/bpb.25.1320.

- Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *Int. J. Biochem Cell Biol.*, 39, 44-84.
- Vigneshwaran, N., Ashtaputre, N. M., Varadarajan, P. V., Nachane, R. P., Paralikar, K. M., Balasubramanya, R. H., 2007, Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus*. *Materials Letters*, 61(6), 1413–1418, doi:10.1016/j.matlet.2006.07.042.
- Vijay Kumar, P. P. N., Pammi, S. V. N., Kollu, P., Satyanarayana, K. V. V., Shameem, U., 2014, Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Boerhaavia diffusa* plant extract and their anti bacterial activity. *Industrial Crops and Products*, 52, 562–566, doi:10.1016/j.indcrop.2013.10.050.
- Vijayaraghavan, K., Ashokkumar, T., 2017, Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(5), 4866–4883, doi:10.1016/j.jece.2017.09.026.
- Vilchis-Nestor, A. R., Sánchez-Mendieta, V., Camacho-López, M. A., Gómez-Espinosa, R. M., Camacho-Lopez, M. A., Arenas-Alatorre, J. A., 2008, Solventless synthesis and optical properties of Au and Ag nanoparticles using *Camellia sinensis* extract, *Mater Lett*, 62, 3103–3105.
- Villaraza, A. J. L., Bumb, A., Brechbiel, M. W., 2010, Macromolecules, dendrimers, and nanomaterials in magnetic resonance imaging: the interplay between size, function, and pharmacokinetics, *Chem. Rev.*, doi:10.1021/cr900232t.
- Wagner, S., Gondikas, A., Neubauer, E., Hofmann T., von der Kammer, F., 2014, *Chem., Int. Ed.*, 2014, 53, 12398–12419, doi:10.1002/anie.201405050.
- Wang, J., Koo, Y., Alexander, A., Yang, Y., Westerhof, S., Zhang, Q., Alvarez, P. J. J., 2013, Phytostimulation of Poplars and Arabidopsis Exposed to Silver Nanoparticles and Ag⁺ at Sublethal Concentrations, *Environmental Science and Technology*, 47(10), 5442–5449, doi:10.1021/es4004334.
- Wang, M.-R., Li, W., Luo, S., Zhao, X., Ma, C.-H., Liu, S.-X., 2018, GC-MS Study of the Chemical Components of Different *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilgorgans and Agarwood from Different Asian Countries. *Molecules*, 23(9), 2168, doi:10.3390/molecules23092168.
- Wardman, P., 2007, Free Radic. *Biol. Med.*, 43, p. 995.
- Watanabe, T., Misawa, S., Hiradate, S., Osaki, M., 2008, Root mucilage enhances aluminum accumulation in *Melastoma malabathricum*, an aluminum accumulator. *Plant Signal. Behavior*, 3, 603–605.
- Weiner, N., Martin, F., Riox, M., 1989, Liposomes as drug delivery system, *Drug Dev Ind Pharm*, 15(10): 1523–1554.
- Williams, S. K. R., Runyon, J. R., Ashames, A. A., 2011, *Analitic Chem.*, 83, p. 634.

- Wullweber, J., 2015, Innovation Policies, the Competition State: The Case of Nanotechnology, Kees van der Pijl (Ed.), Handbook of the International Political Economy of Production (s. 43-58), Edward Elgar Publishing.
- Yang, X., Song, W., Liu, N., Sun, Z., Liu, R., Liu, Q. S., Zhou, Q., Jiang, G., 2018, Synthetic Phenolic Antioxidants Cause Perturbation in Steroidogenesis In Vitro and In Vivo, *Environmental Science and Technology*, 52(2): 850–858.
- Yesilada, E., Taninaka, H., Takaishi, Y., Honda, G., Sezik, E., Momota, H., Ohmoto, Y., Taki, T., 2001, In vitro inhibitory effects of *Daphne oleoides* subsp. *oleoides* on inflammatory cytokines and activity-guided isolation of active constituents, *Cytokine*, 13, 359–364.
- Yeşilada, E., Honda, G., Sezik, E. ve ark., 1995, Traditional medicine in Turkey, Folk medicine in the inner Taurus Mountains, *J. Ethnopharmacol*, 46: 133–152.
- Yıldırım, A., Bardakçı, F., Karataş, M., Tanyolaç, B., 2010, Moleküler Biyoloji Bölüm 16 Biyoteknoloji ve Biyoinformatik s. 625-632, ISBN 978-9944-77-184-9.
- Yin, L., Benjamin, P., Colman, B. M., McGill, J. P., Wright, E. S., 2012, Effects of Silver Nanoparticle Exposure on Germination and Early Growth of Eleven Wetland Plants, doi:10.1371/journal.pone.0047674.
- Zayed, M. F., Eisa, W. H., Shabaka, A. A., 2012., Malva parviflora extract assisted green synthesis of silver nanoparticles, *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 98, 423–428, doi:10.1016/j.saa.2012.08.072.
- Zengin, G., Arkan, T., Aktumsek, A., Guler, G. O., Cakmak, Y. S., 2012, A Study on Antioxidant Capacities and Fatty Acid Compositions of Two Daphne Species from Turkey: New Sources of Antioxidants and Essential Fatty Acids. *Journal of Food Biochemistry*, 37(6), 646–653, doi:10.1111/j.1745-4514.2012.00659.x.
- Zengin, G., Locatelli, M., Ceylan, R., Aktumsek, A., 2015, Anthraquinone profile, antioxidant and enzyme inhibitory effect of root extracts of eight Asphodeline taxa from Turkey: can Asphodeline roots be considered as a new source of natural compounds? *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 31, pp. 754-759.
- Zengin, G., Locatelli, M., Stefanucci, A., Macedonio, G., Novellino, E., Mirzaie, S., Mollica, A., 2017, Chemical characterization, antioxidant properties, anti-inflammatory activity, and enzyme inhibition of *Ipomoea batatas* L. leaf extracts. *International Journal of Food Properties*, 1–13, doi:10.1080/10942912.2017.1357127.
- Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Aktumsek, A., Ceylan, R., Uysal, S., Mocan, A., Soković, M., 2018, Functional constituents of six wild edible *Silene* species: A focus on their phytochemical profiles and bioactive properties, *Food Bioscience*, 23, 75–82, doi:10.1016/j.fbio.2018.03.010.

- Zengin, G., Uğurlu, A., Baloglu, M. C., Diuzheva, A., Jekő, J., Cziáky, Z., Ceylan, R., Aktumsek, A., Picot-Allain, C. M., Mahomoodally, F., 2019, Chemical fingerprints, antioxidant, enzyme inhibitory, and cell assays of three extracts obtained from *Sideritis ozturkii* Aytaç and Aksoy: An endemic plant from Turkey, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 171, 2019, Pages 118-125, ISSN 0731-7085, doi:10.1016/j.jpba.2019.04.011.
- Zhou, O. W., Wamer, Y.T., Boudreau, W. G., Yin, J. J., 2012, Ag nanoparçacıkların indüklediği hidroksil radikallerinin ve oksijenin pH'a bağlı üretim mekanizmaları, *Biyomalzemeler*, 2012, 33, 7547-7555.
- Zur Mühlen, A., Zur Mühlen, E., Niehus, H., Mehnert, W., 1996, "Atomic force microscopy studies of solid lipid nanoparticles," *Pharmaceutical Research*, vol. 13, no. 9, pp. 1411–1416.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Tevfik ERASLAN
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Konya - 1979
Telefon : 5054974993
Faks : 3322610642
e-mail : teeraslan@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Meram Endüstri Meslek Lisesi	1996
Üniversite	: Selçuk Üniversitesi	2001
Yüksek Lisans	: Selçuk Üniversitesi	2008
Doktora	:	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
18	MEB	Öğretmen

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR