



T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN  
ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Biyoteknoloji Anabilim Dalı

LAMIACEAE FAMILİYASINA AİT ENDEMİK  
BİR TÜR OLAN *SIDERİTIS BREVIDENS*  
L'DEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN  
(AGNP) YEŞİL SENTEZİ,  
KARAKTERİZASYONU VE  
ANTİMİKROBİYAL-SİTOTOKSİK  
AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

AHMET AFŞAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ocak-2025  
KONYA  
Her Hakkı Saklıdır

## TEZ KABUL VE ONAYI

Ahmet AFŞAR tarafından hazırlanan “LAMIACEAE FAMILYASINA AIT ENDEMİK BİR TÜR OLAN *SIDERİTIS BREVIDENS* L'DEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN (AGNP) YEŞİL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTİMİKROBİYAL-SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ” adlı tez çalışması .../.../... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

### İmza

#### Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Hatice Banu KESKİNKAYA

#### Üye

Doç. Dr. Süleyman DOĞU

#### Üye

Dr. Öğr. Üyesi Numan Emre GÜMÜŞ

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

Prof. Dr. Havvanur UÇBEYİAY  
FBE Müdürü

## 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.

Ahmet AFŞAR

Tarih:

# ÖZET

## YÜKSEK LİSANS TEZİ

### LAMIACEAE FAMILYASINA AİT ENDEMİK BİR TÜR OLAN *SIDERİTİS BREVIDENS* L'DEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN (AGNP) YEŞİL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTIMİKROBİYAL-SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ahmet AFŞAR

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hatice Banu KESKİNKAYA

2025, 125 Sayfa

Jüri

Dr.Öğr.Üyesi Hatice Banu KESKİNKAYA  
Doç. Dr. Süleyman DOĞU  
Dr. Öğr. Üyesi Numan Emre GÜMÜŞ

Üzerinde birçok bilimsel çalışmanın yapıldığı, özellikle antimikrobiyal özellikleri ile öne çıkan gümüş nanopartiküller, son yıllarda nanoteknoloji alanında önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Nanopartiküllerin sentez yöntemleri, çevre dostu ve sürdürülebilir üretim açısından kritik bir öneme sahiptir. Yeşil sentez yöntemi, bitkisel ekstraktların düşük maliyet, çevreci yaklaşım ve basit işlem akışları gibi avantajlarıyla tercih edilmektedir. Bu çalışmada, *Sideritis brevidens* bitkisinden yeşil sentez yöntemiyle üretilen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal ve antikanser aktiviteleri değerlendirilmiştir.

Nanopartiküllerin fizikokimyasal özellikleri, SEM, UV-Vis, FTIR, DLS, Zeta potansiyel ve XRD gibi karakterizasyon yöntemleriyle incelendi. Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteleri, çeşitli bakteri ve mantar türlerine karşı test edilmiştir. Ayrıca, hücre kültürlerinde yapılan antikanser çalışmalarında, gümüş nanopartiküllerin kanser hücreleri üzerindeki etkileri analiz edilmiştir. Sonuçlar, *Sideritis brevidens* bitkisinden sentezlenen gümüş nanopartiküllerin hem antimikrobiyal hem de antikanser özellikleri açısından önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Bu yüksek lisans tezi, çevre dostu bir yöntemle üretilen gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonunu, fitokimyasal içeriğini ve biyolojik aktiviteleri incelendi. HPLC analizine göre, *Sideritis brevidens* bitki ekstraktı, antioksidan, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özelliklere sahip birçok biyoaktif bileşik içermektedir. UV analizinde grafikte, 24 saatlik süre zarfında absorbans pikinde belirgin bir artış gösterdiğini ve yaklaşık 420-430 nm civarında yüksek absorbans değeri elde edildiğini ortaya koymaktadır. FTIR analizi, *Sideritis brevidens* L. -AgNPs'nin organik ve inorganik bileşiklerden oluşan karmaşık bir yapıya sahip olduğunu ve gümüş nanopartiküllerinin biyolojik ve kimyasal özelliklerini etkileyebilecek organik moleküllerle etkileşimde olduğunu göstermektedir. SEM görüntüleri, nanopartikül boyutlarında farklılıklar ve yoğun birikim bölgelerini göstermektedir. Boyut dağılımı dar olup, ortalama çap 66 nm olarak belirlenmiştir. Zeta potansiyeli -33.66 mV olan *Sideritis brevidens* L-AgNPs, çözelti içinde yüksek stabiliteye sahiptir. EDS analizi, gümüş nanopartiküllerinin varlığını doğrulamaktadır.

Sitotoksik aktivite testlerinde, *Sideritis brevidens* L AgNP'lerin IC50 değerleri HT-29 ve HeLa hücrelerinde sırasıyla 472.3 µg/mL ve 384.3 µg/mL olarak belirlenmiştir. Mikrodilüsyon yöntemiyle yapılan testlerde, *Sideritis brevidens* L AgNP'lerin Gram-negatif bakterilere karşı düşük MİK değerleri (0.09 mg/ml) ile güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiği, diğer bakterilere karşı ise 0.19 mg/ml MİK değeri ile etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Disk difüzyon yöntemiyle yapılan testlerde, *E. coli*'de *Sideritis brevidens* L. AgNP'lerin inhibisyon zonu çapı 26.55 mm ile 36.19 mm arasında değişmiş, *S. aureus*'ta ise 23.73 mm ile 29.74 mm arasında

değişen inhibisyon zonları ile daha yüksek etkinlik göstermiştir. Bu sonuçlar, *Sideritis brevidens* L. AgNP'lerin hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilere karşı güçlü antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğunu doğrulamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** gümüş nanopartikül, yeşil sentez, antimikrobiyal aktivite, sitotoksik aktivite, *Sideritis brevidens*



## ABSTRACT

### MS THESIS

# EVALUATION OF GREEN SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, AND ANTIMICROBIAL-CYTOTOXIC ACTIVITIES OF SILVER NANOPARTICLES (AGNP) FROM *SIDERITIS BREVIDENS L.*, AN ENDEMIC SPECIES OF LAMIACEAE FAMILY

Ahmet AFŞAR

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF  
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE / DOCTOR OF PHILOSOPHY  
IN MECHANICAL ENGINEERING

Advisor: Assist. Prof. Dr. Hatice Banu KESKİNKAYA

2025, 125 Pages

Jury

Assist. Prof. Dr. Hatice Banu KESKİNKAYA

Associate Prof. Dr. Süleyman DOĞU

Assist. Prof. Dr. Hatice Banu KESKİNKAYA

Silver nanoparticles, which have been the subject of numerous scientific studies, are particularly known for their antimicrobial properties and have become an important research topic in nanotechnology in recent years. The synthesis methods of nanoparticles are critically important for environmentally friendly and sustainable production. The green synthesis method is preferred due to its advantages such as low cost, eco-friendly approach, and simple process flow.

In this study, silver nanoparticles produced by the green synthesis method from the *Sideritis brevidens* plant were evaluated for their antimicrobial and anticancer activities. The physicochemical properties of the nanoparticles were examined using characterization techniques such as SEM, UV-Vis, FTIR, DLS, Zeta potential, and XRD. The antimicrobial activities of the silver nanoparticles were tested against various bacterial and fungal species. Additionally, anticancer studies conducted on cell cultures analyzed the effects of the silver nanoparticles on cancer cells. The results show that the silver nanoparticles synthesized from *Sideritis brevidens* have significant potential in both antimicrobial and anticancer properties.

This master's thesis investigates the characterization, phytochemical content, and biological activities of silver nanoparticles produced through an eco-friendly method. According to HPLC analysis, *Sideritis brevidens* plant extract contains various bioactive compounds with antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory properties. UV analysis showed a significant increase in absorbance in the 24-hour period, with a high absorbance value around 420-430 nm. FTIR analysis revealed that *Sideritis brevidens* L.-AgNPs have a complex structure composed of organic and inorganic compounds, and the silver nanoparticles may interact with organic molecules that could influence their biological and chemical properties. SEM images showed differences in nanoparticle sizes and regions with intense silver nanoparticle accumulation. The size distribution was narrow, and the average diameter was determined to be 66 nm. The Zeta potential value of -33.66 mV indicates high stability of *Sideritis brevidens* L.-AgNPs in solution. EDS analysis confirmed the presence of silver nanoparticles.

In cytotoxic activity tests, the IC50 values of *Sideritis brevidens* L. AgNPs were determined to be 472.3 µg/mL for HT-29 cells and 384.3 µg/mL for HeLa cells. In the microdilution tests, *Sideritis brevidens*

L. AgNPs showed strong antimicrobial activity against Gram-negative bacteria with low MIC values (0.09 mg/ml) and were also effective against other bacteria with an MIC value of 0.19 mg/ml.

In disk diffusion tests, *Sideritis brevidens* L. AgNPs showed an inhibition zone diameter ranging from 26.55 mm to 36.19 mm against *E. coli*, and from 23.73 mm to 29.74 mm against *S. aureus*, indicating higher antimicrobial activity compared to the extract. These results confirm that *Sideritis brevidens* L. AgNPs possess strong antimicrobial activity against both Gram-negative and Gram-positive bacteria.

**Keywords:** Silver nanoparticle, green synthesis, antimicrobial activity, cytotoxic activity, *Sideritis brevidens*



## ÖNSÖZ

Bu yüksek lisans tez çalışmasında yeşil sentez yöntemi ile *Sideritis brevidens L.* türünden Gümüş Nanopartikül Sentezlenmesi, Antimikrobiyal ve Sitotoksik Aktivite Değerlendirilmesi incelenmiştir. Tez çalışmamın her aşamasında büyük bir titizlikle yönlendiren, çalışmalarım boyunca engin bilgi ve deneyimlerini paylaşarak değerli öneri ve destekleriyle her zaman yanımda olan kıymetli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hatice Banu KESKİNKAYA'ya, tez çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, değerli arkadaşım doktora öğrencisi Merve KOÇAK'a, bitki materyali temini ve teşhisi hususunda yardımlarını esirgemeyen Tıbbi ve Kozmetik Bitkiler UAM Müdürü Sayın Doç.Dr. Süleyman DOĞU'ya ve tüm TİBAM ekibine, sitotoksik aktivite çalışmalarındaki destek ve katkılarından dolayı Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Öğretim Üyesi Doc.Dr. Bahar Yılmaz ALTINOK' a çalışmalarına yardımcı olan Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (BİTAM) personeline , Iğdır Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (ALUM) personeline ve tez çalışmamın değerlendirilmesinde değerli zamanlarını ayıran ve katkılarıyla çalışmama yön veren kıymetli jüri üyeleri Sayın Doç. Dr. Süleyman DOĞU ve Dr. Öğr. Üyesi Numan Emre GÜMÜŞ'e içtenlikle teşekkür ederim.

Son olarak bu süreçte, bana her zaman inanan, destekleyen ve sevgisiyle güç veren kıymetli eşim Ayşenur AFŞAR'a sonsuz teşekkür ederim. Zorlu dönemlerde gösterdiği sabır, anlayış ve motivasyon, bu süreci benim için daha anlamlı ve kolay hale getirmiştir. Ayrıca, her zaman yanımda olan, sevgileri ve dualarıyla beni destekleyen değerli aileme şükranlarımı sunarım.

AHMET AFŞAR  
KONYA-2025

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	vi
ÖNSÖZ .....	viii
İÇİNDEKİLER .....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xi
GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....	2
2.1. Nanoteknoloji.....	2
2.2. Nanopartikül Kavramı ve Özellikleri .....	4
2.3. Nanopartiküllerin Sınıflandırılması .....	5
2.3.1. Organik Nanopartikülleri .....	6
2.3.2. Karbon Bazlı Nanopartiküller.....	9
2.3.3. Metalik Nanopartiküllerin Sınıflandırılması.....	11
2.4. Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri .....	15
a-) Yukarıdan Aşağıya (Top Down) Yaklaşımı.....	15
b-) Aşağıdan Yukarıya (Bottom-Up) Yaklaşımı .....	16
2.4.1. Fiziksel Yöntemler.....	16
2.4.2. Kimyasal Yöntemler .....	18
2.4.3. Yeşil Sentez .....	20
2.5. Nanopartikül Karakterizasyon Teknikleri .....	28
2.5.1. UV-Vis Spektroskopisi .....	28
2.5.2. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) .....	28
2.5.3. X-Işını Difraksiyonu (XRD).....	28
2.5.4. Elektron Mikroskopisi .....	29
2.5.5. Atomik Kuvvet Mikroskopisi .....	29
2.5.6. Dinamik Işık Saçılması (DLS).....	29
2.5.7. Yüzey Plazmon Rezonansı (SPR).....	29
2.5.8. Zeta Potansiyel Analizi .....	30
2.5.9. Termal Analiz Teknikleri.....	30
2.6. Nanopartiküllerin Uygulama Alanları .....	30
2.6.1. Tıp ve Biyoteknoloji .....	30
2.6.2. Elektronik ve Bilgi Teknolojileri .....	31
2.6.3. Çevre Bilimleri .....	31
2.6.4. Enerji.....	31
2.6.5. Tarım.....	32
2.7. Antimikrobiyal Aktivite.....	32
2.7.1. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesini Etkileyen Faktörler .....	32
2.7.2. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktiviteleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar	34
2.8. Sitotoksik Aktivite .....	35
2.8.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Hücre Hatlarının Genel Özellikleri .....	35
2.8.2. Nanopartiküllerin Sitotoksik Aktivitesini Etkileyen Faktörler .....	37
2.8.3. Nanopartiküllerin Sitotoksik Aktiviteleri ile Yapılan Çalışmalar .....	39

2.9. Lamiacea Familyası .....	40
2.10. <i>Sideritis</i> Cinsinin Genel Özellikleri .....	41
2.10.1. <i>Sideritis</i> 'in Sistematikteki Yeri .....	42
2.10.2. <i>Sideritis</i> 'in Tarihçesi .....	42
2.10.3. Halk Arasında Kullanımı .....	42
2.10.4. Tez Çalışmasında Kullanılan <i>S. brevidens</i> L. Türünün Özellikleri .....	43
2.10.5. <i>S. brevidens</i> 'in Kimyasal Bileşimi ve Biyoaktif Özellikleri .....	45
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>47</b>
3.1. <i>S. brevidens</i> L. Bitkisinin Toplanması ve Hazırlanması .....	47
3.2. <i>S. brevidens</i> L. Ekstraktlarının Hazırlanması .....	47
3.3. Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP) Yeşil Sentezi .....	48
3.4. Nanopartiküllerin Fitokimyasal Analizi .....	50
3.4.1. <i>S. brevidens</i> L. Ekstraktının Fitokimyasal İçeriğinin HPLC-DAD Analizi ..	50
3.5. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu .....	53
3.5.1. UV-Vis Spektroskopisi .....	53
3.5.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) .....	53
3.5.3. X Işını Difraktometresi Analizi (XRD) .....	54
3.5.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Geçirimli Elektron Mikroskobu	54
3.5.5. Dinamik Işık Saçılması (DLS) ve Nanopartikül Boyut Analizi ve Zeta	
Potansiyel Ölçümü .....	55
3.6. S.B. AgNP'lerin Antimikrobiyal Aktivite Deneyleri .....	56
3.6.1. Kimyasallar .....	56
3.6.2. Test Mikroorganizmaları .....	56
3.6.3. Solüsyonların Hazırlanması .....	61
3.6.5. Sıvı Mikrodilüsyon (Broth Dilüsyon) Yöntemi .....	62
3.6.6. Disk Difüzyon Yöntemi .....	65
3.7. S.B. AgNP'lerin Sitotoksik Deneyleri .....	68
<b>4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....</b>	<b>70</b>
4.1. <i>S. brevidens</i> L. İle Yeşil Sentezle Elde Edilen Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP)	
Sonuçları .....	70
4.1.1. <i>S. brevidens</i> L. Ekstraktının Fitokimyasal İçeriğinin HPLC-DAD Analizi	
Sonuçları .....	70
4.1.2. UV-Vis Spektroskopisi Sonucu .....	71
4.1.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Sonucu .....	73
4.1.4. X-Işınları Difraksiyonu (XRD) Sonucu .....	76
4.1.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Sonucu .....	77
4.1.6. Enerji Dağılım X-Ray Spektroskopisi (EDS) .....	80
4.1.7. DLS ile Boyut Analizleri ve Zeta Potansiyeli Analizi Sonuçları .....	81
4.1.8. Sentezlenen AgNP'lerin Sitotoksik Aktivite Sonuçları .....	85
4.1.9. Sentezlenen AgNP'lerin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları .....	90
<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>93</b>
5.1 Sonuçlar .....	93
5.2 Öneriler .....	95
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>96</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

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

### Kısaltmalar

AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
AgNP	Gümüş nanopartiküller
APS	American Physical Society
AR-GE	Araştırma-Geliştirme
Au	Altın
BHT	Butylated HydroxyToluene
BHA	Butylated HydroxyAnisole
CENG	Grenoble Nükleer Araştırma Merkezi
C60	Fullerenler
CLSI	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CT	Bilgisayarlı Tomografi
CR	Critically Endangered
Cu	Bakır
CVC	Kimyasal buhar yoğunlaştırma yöntemi
DLS	Dinamik Işık Saçılması
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDS	Enerji Dağılımı Spektroskopisi
EUCAST	Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi
Fe2O3	Demir oksit
FTIR	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi
Gr	Grafen
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
HÜS	Hemolitik Üremik Sendrom
IGC	Asal Gaz Yoğunlaştırma
MHB	Muller Hinton Broth
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MNP	Metalik Nanopartiküller

<b>MRI</b>	Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>MWCNT</b>	Çok Duvarlı Karbon Nanotüpler
<b>NaBH<sub>4</sub></b>	Sodyum Borohidrür
<b>Nm</b>	Nanometre
<b>NP</b>	Nanopartikül
<b>PBS</b>	Phosphate Buffered Saline
<b>PDI</b>	Polidispersite İndeksi
<b>PEG</b>	Polietilen Glikol
<b>Pt</b>	Paladyum
<b>RT</b>	Retention Time
<b>ROS</b>	Reaktif Oksijen Türleri
<b>SCF</b>	Süper Kritik Akışkan Teknolojisi
<b>SEM</b>	Taramalı Elektron Mikroskopi
<b>SF</b>	Serum Fizyolojik
<b>SWCNT</b>	Tek Duvarlı Karbon Nanotüpler
<b>TGA</b>	Termogravimetrik Analiz
<b>TTC</b>	2,3,5-Trifeniltetrazolyum Klorid
<b>UV:</b>	Ultraviyole
<b>XRD:</b>	X-Işım Difraktometresi
<b>ZnO:</b>	Çinko Oksit

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Farklı cisimleri nanoskalada örnek gösterimi.....	3
Şekil 2.2. Nanopartiküllerin doğaya salınım yollarından bazıları.....	5
Şekil 2.3. Üç dendronlu 4 jenerasyon bir dendrimerin şematik gösterimi.....	7
Şekil 2.4. Lipozomların Üç Boyutlu Yapısı.....	8
Şekil 2.5. Çeşitli karbon nanotüplere tipik örnekler.....	11
Şekil 2.6. Genel XRD çalışma şeması.....	28
Şekil 2.7. <i>S. brevidens</i> L.....	43
Şekil 2.8. <i>S. brevidens</i> L. ....	44
Şekil 3.1. <i>S. brevidens</i> L. Ekstraktı.....	47
Şekil 3.2. <i>S. brevidens</i> ekstraktı ile gümüş nanopartikül sentezinin zamanla renk değişimi.....	48
Şekil 3.3. AgNO <sub>3</sub> çözeltisine ekstrakt eklenmesi.....	49
Şekil 3.4. Laboratuvar ortamında deneysel numunelerin hazırlanması.....	50
Şekil 3.5. HPLC ile kromatografik ayırmada kullanılan mobil faz A, B ve C.....	51
Şekil 3.6. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi.....	52
Şekil 3.7. Standartlara ait kalibrasyon eğrileri.....	52
Şekil 3.8. UV-Vis spektroskopisi ölçüm cihazı.....	53
Şekil 3.9. Fourier Dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi cihazı.....	54
Şekil 3.10. X- Işını Difraktometresi Cihazı (BİTAM, Panalytical EMPYREAN XRD).....	54
Şekil 3.11. SEM Analizi (ZEISS GeminiSEM).....	55
Şekil 3.12. Zeta potansiyeli ölçüm cihazı (BİTAM, Micromeritics Nanoplus 3)...	56
Şekil 3.13. Minimum İnhibitör Konsantrasyonu Metodu.....	63
Şekil 3.14. Bakteri kontrol, negatif kontrol, <i>S. brevidens</i> nanopartikül, <i>S. Brevidens</i> ekstraktlarının uygulandığı kuyucuklu plaka.....	64
Şekil 3.15. Bakteri süspansiyonunda Mc Farland bulanıklığının ayarlanması.....	66
Şekil 3.16. <i>S. aureus</i> suşuna karşı AgNP'lerin inhibisyon zonları.....	67
Şekil 3.17. <i>E. coli</i> suşuna karşı AgNP'lerin inhibisyon zonları.....	68
Şekil 4.1. Standart bileşiklerin kromatogramı.....	70
Şekil 4.2. 1 ml ext- 5mM'da sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ve ekstraktın UV-vis spektrumu.....	72
Şekil 4.3. S.B. AgNP'nin FTIR spektrumu.....	73

Şekil 4.4. FTIR Spektrumu.....	75
Şekil 4.5. S.B. AgNP'lerin XRD Sonucu.....	76
Şekil 4.6. S.B. AgNP'lerin SEM görüntüsü.....	77
Şekil 4.7. S.B. AgNP'lerin SEM görüntüsü.....	78
Şekil 4.8. S.B. AgNP'lerin SEM görüntüsü .....	78
Şekil 4.9. S.B. AgNP'lerin SEM görüntüsü.....	79
Şekil4.10. S.B. AgNP'lerin SEM görüntüsü.....	79
Şekil 4.11. S.B. AgNP'lerin EDS görüntüsü ve grafiği.....	80
Şekil 4.12. S.B. AgNP'lerin Normalleştirilmiş yoğunluk dağılımı.....	81
Şekil 4.13. S.B. AgNP'lerin Kümülatif yoğunluk dağılımı.....	82
Şekil 4.14. S.B. AgNP'lerin Zeta Potansiyeli.....	84
Şekil 4.15. S.B ve S.B. AgNP'lerin HeLa hücre canlılığı üzerine etkileri.....	86
Şekil 4.16. S.B ve S.B. AgNP'lerin HT-29 hücre canlılığı üzerine etkileri.....	87
Şekil 4.17. S.B ve S.B. AgNP'lerin L9-29 canlılığı üzerine etkileri.....	89

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 2.1.</b> Nanopartiküllerin Sınıflandırılması.....	6
<b>Çizelge 2.2.</b> Metalik nanopartiküllerin avantajları, dezavantajları ve karakterizasyonunda kullanılan yöntemler.....	12
<b>Çizelge 3.1.</b> <i>Sideritis brevidens</i> ekstraktlarının 96 kuyucuklu plakalarda seyretilmesi.....	65
<b>Çizelge 4.1.</b> S.B ve S.B. AgNP'lerin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) sonuçlar.....	90
<b>Çizelge 4.2.</b> S.B ve S.B. AgNP ve ampilisinin disk etrafında oluşturdukları inhibisyon zon çapı ölçümlerinin dağılım şeması.....	92



## GİRİŞ

Nanoteknoloji, günümüzde sürekli gelişen bir alan olmasının yanı sıra, gelecekte daha fazla bilimsel araştırma sayesinde kullanım alanını genişletme potansiyeline sahiptir (Haverkamp ve Marshall, 2009). Nanoteknoloji; bilgisayar bilimleri, biyolojik araştırmalar, elektrik-elektronik, fizik ve kimya gibi birçok disiplinle iç içe geçmiş bir yapıya sahiptir. Geniş bir etki alanına sahip bu teknoloji, geleceğimizde de önemli bir rol oynayacaktır. Bu kapsamda, nanoteknolojide kullanılan nanopartiküllerin üretim yöntemleri büyük bir önem arz etmektedir. Zehirli kimyasallar kullanılmadan, herhangi bir toksik yan ürün ortaya çıkarmadan ve ortam sıcaklığı ile basınç koşullarında metal nanopartiküllerin üretimi için biyolojik sistemlerin kullanılması gerekliliği doğmuştur (Gopalkrishnan ve ark., 2012). Şimdiye kadar, nanopartiküllerin biyosentezi için çeşitli mantarlar, bakteriler, aktinomisetler, likenler ve virüsler kullanılmıştır. Bununla birlikte, bitkiler, kolay erişilebilir olmaları, düşük maliyetli üretim sağlamaları, çevre dostu bir yaklaşım sunmaları, daha basit bir işleyişe sahip olmaları ve daha kolay aşağı işlem süreçleri sunmaları nedeniyle, oldukça verimli bir sistem olarak ön plana çıkmıştır (Al-Whaibi ve Mohammad, 2015).

Gümüş nanopartiküller (AgNP), nanoteknolojinin önemli bir bileşeni olarak son yıllarda yoğun bir şekilde incelenmektedir. Gümüş, tarih boyunca antimikrobiyal özellikleri nedeniyle tıp ve sağlık alanında geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Gümüş nanopartiküller ise bu özellikleri daha etkili bir şekilde sunarak biyomedikal, çevresel ve endüstriyel uygulamalarda yenilikçi çözümler sunmaktadır. Geleneksel nanopartikül üretim yöntemlerinin çevresel ve ekonomik maliyetleri, "yeşil sentez" olarak adlandırılan çevre dostu üretim yöntemlerine olan ilgiyi artırmıştır. Bitkisel ekstraktlar kullanılarak gerçekleştirilen yeşil sentez, hem düşük maliyetli hem de sürdürülebilir bir yaklaşım sunarak nanopartiküllerin üretiminde kimyasal yöntemlere kıyasla daha güvenli bir alternatif oluşturmaktadır.

*Sideritis Labiatae* L. genel olarak Akdeniz havzasında yaşar ve farklı yaşam alanlarında ve rakımlarda yetişir. Bu sebeple yaşam alanları bakımından oldukça geniş yayılıma sahiptir. *Sideritis* cinsi, 46 tür, 2 varyete ve 12 alt tür ile Türkiye'de en yaygın bitki cinslerinden biridir. *Sideritis* cinsi, %78 Türkiye'de yetişip en yüksek oranda endemizme sahip olan cinslerden biridir (Duman, 2000). *Sideritis* türleri, geleneksel tıpta yüzyıllardır kullanılan, biyoaktif bileşikler açısından zengin bitkilerdir. Bu bitkinin ekstraktlarının, gümüş nanopartiküllerin sentezinde indirgeyici ve stabilize edici ajan

olarak etkili bir şekilde kullanılabilmesi düşünülmemektedir. Böylece, nanopartiküllerin antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitelerinin hem çevre dostu hem de ekonomik bir şekilde araştırılması mümkün olacaktır.

Tez kapsamında, sentezlenen gümüş nanopartiküllerin fizikokimyasal özellikleri çeşitli ileri karakterizasyon teknikleriyle incelenmiştir. Nanopartiküllerin boyut, şekil ve yüzey özelliklerini belirlemek amacıyla UV-Vis spektroskopisi, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), dinamik ışık saçılması (DLS), taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve geçirimli elektron mikroskopu (TEM) gibi analiz yöntemleri kullanılmıştır. Ayrıca, bu nanopartiküllerin antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri laboratuvar ortamında test edilerek biyolojik etkinlikleri değerlendirilmiştir.

*S. brevidens* gibi endemik bitkilerin nanoteknoloji alanındaki potansiyel uygulamalarını keşfetmek ve bu alana katkı sağlamaktır. Bu çalışmanın sonuçları, sadece gümüş nanopartiküllerin biyolojik aktiviteleri ve karakterizasyonu hakkında bilgi sağlamakla kalmayacak, aynı zamanda yeşil sentez yöntemlerinin gelecekteki uygulamalarına da ışık tutacaktır.

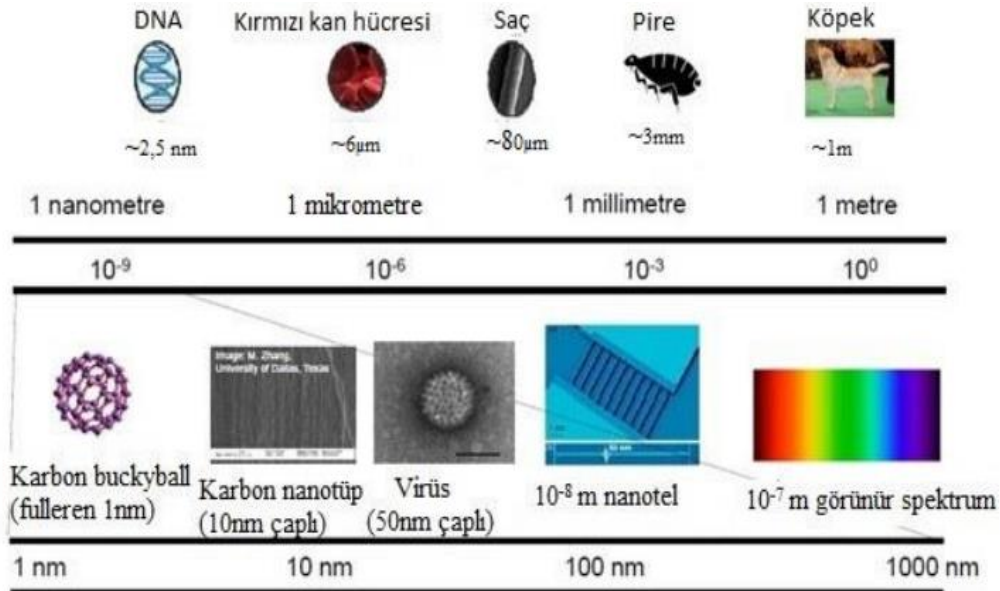
Bu bağlamda, tez çalışmasının literatüre yeni bir bakış açısı kazandıracığı ve çevresel sürdürülebilirlik hedefleri doğrultusunda yenilikçi çözümler sunacağı öngörülmektedir. Araştırmanın sonunda, hem bilimsel hem de endüstriyel açıdan faydalı çıktılar elde edilmesi beklenmektedir.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Nanoteknoloji

“Nano” terimi, Yunanca kökenli "nanos" kelimesinden gelmekte olup, bir yönde dizilmiş üç atomun uzunluğuna eşdeğer olan, metrenin milyarda birini ifade eder (Thakkar ve ark., 2010). Nanoteknoloji kavramı ise ilk kez Richard Feynman tarafından 1959 yılında American Physical Society'nin (APS) toplantısında ortaya konulmuştur (Feynman, 1959). Nanoteknolojinin birçok tanımı boyutlar üzerinden yapılmaktadır (Whitesides, 2005; Sanchez, & Sobolev, 2010; Adams, & Barbante, 2013). Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Ulusal Nanoteknoloji Girişimi'ne (NNI) göre nanoteknolojinin tanımı: Nano ölçekte, yaklaşık 1 ile 100 nanometre arasındaki boyutlarda maddenin anlaşılması ve kontrol edilmesine odaklanır. Bu boyutlardaki çalışmalar, benzersiz fenomenlerin ortaya çıkmasına ve yeni uygulama alanlarının geliştirilmesine olanak tanır. Nano ölçekte bilimi, mühendisliği ve teknolojiyi bir araya getiren bu alan, malzemeleri

görüntüleme, ölçme, modelleme ve manipüle etme süreçlerini kapsar. Nano boyutta, malzemelerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri, bireysel atom ve moleküllerin veya kütsel malzemelerin özelliklerinden temel olarak farklılık gösterir ve bu farklılıklar genellikle yararlı bir şekilde ortaya çıkar.



Şekil 2.1. Farklı Cisimlerin Nanoskalada Örnek Gösterimi (Nonoyou Project, 2016)

Nanoteknoloji alanındaki Araştırma ve Geliştirme (AR-GE) çalışmaları, gelişmiş malzemelerin, cihazların ve sistemlerin sahip olduğu yeni özelliklerin anlaşılmasına ve bu özelliklerden yararlanılarak yenilikçi ürünlerin geliştirilmesine odaklanmaktadır. (Anonim, 2021). 21. yy. teknolojisi olarak atıfta bulunulan nanoteknoloji, nano boyutun hali hazırda ispatlanan ve var olması beklenen özelliklerinden dolayı hayatımızı birçok alanda etkileyecek hatta çığır açacak yeniliklere ortam sağlamaktadır (Havancsak, 2003; McNeil, 2005). İngiliz bilim insanı Michael Faraday'ın 1857 yılında yayınlanan "Altının (ve diğer metallerin) Işıkla Deneysel İlişkileri" adlı makalesinde; altının boyutunu küçülterek sergilediği özellikleri incelediğini ve boyutları küçültülen altının ışığı farklı dalga boylarında yansıtarak aşına olunan altın sarısı renginin dışında mavi, mor, yeşil renkler sergilediğini bildirmiştir (Faraday, 1857). Faraday'ın çalışması, tarihte nano boyutta materyallerin araştırıldığı ilk çalışma olarak gösterilmektedir (Esmeray, 2019). Nanobilim ve nanoteknolojinin başlangıç noktası olarak kabul edilen olay ise kuantum termodinamiği noktasında yapmış olduğu çalışmalarla Nobel Ödülü kazanan Richard Feynman'ın 1959 yılında yaptığı 'Aşağıda Yeterince Boş Yer Var' başlıklı konuşmasıdır (Kulik, 2007). Feynman, Amerikan Fizik Cemiyeti Kaliforniya Teknoloji Enstitüsü'nde (Caltech) yapmış olduğu konuşmada, 32640 sayfadan oluşan Britanya Ansiklopedisi'nin

bir toplu iğnenin başına sığdırılabileceğini savunmuştur. Feynman, küçük boyutlarda yerçekimi gibi makro düzeyde etkili olan kuvvetlerin öneminin azalacağını, buna karşın Van der Waals gibi mikro düzeydeki zayıf kuvvetlerin daha belirgin hale geleceğini öne sürmüştür. Nanoteknoloji terimini kullanmaksızın, nano ölçekte özel ölçme ve üretim yöntemlerinin geliştirilmesiyle atomik ve moleküler boyutta üretim yapmanın mümkün olabileceğini belirtmiş ve bu yaklaşımın çığır açıcı keşifler için bir temel oluşturacağını savunmuştur. Feynman'ın bu vizyonu, birçok bilim insanını bu alanda çalışmaya teşvik etmiştir (Feynman, 1960). 1974 yılına gelindiğinde ise nanoteknoloji terimi ilk defa Japon araştırmacı Norio Tanuguchi tarafından literatüre girmiştir (Hulla, Sahu, 2015; Hayes, 2015). Nanoteknoloji çalışmalarının önünü açan asıl gelişme Gerd Binnig ve Heinrich Röhrer'in 1981'de icat ettikleri Taramalı Tünelleme Mikroskobu (TTM) olmuştur. TTM materyalleri atomik düzeyde incelemeye ve manipüle etmeye olanak sağlamıştır. Bu icat G. Binnig ve H. Röhrer'e 1986'da Nobel Ödülü kazandırmıştır (Binnig, 1983; Rohrer, 1983; Menceloğlu, 2008). Nanoteknoloji konusunda diğer bir dönüm noktası ise 1985'te Robert Curl, Harold Kroto ve Richard Smalley fulleren denilen yapıyı keşfetmeleridir. Fulleren, karbon atomlarından oluşan kapalı kafes yapılardır. Bu yapılar çelikten daha güçlü, plastikten daha hafif, elektrik ve ısı iletkenliğine sahiptirler. İlk bulunan fulleren 60 karbon (C60) atomundan oluşmaktadır (Curl, 1997; Smalley, 1997). 1990'lara gelindiğinde ABD, Avrupa ve Japonya'daki federal hükümetler nanoteknolojinin çeşitli dallarına yatırımlar yaparak nanobilimi geliştirmeye ve artarak çoğalan uygulamaları yaşamımıza dahil etmeye başlamıştır (Menceloğlu, 2008). Günümüzde hala aydınlatılmayı bekleyen yönlerinin olması, keşfedilen yeni özelliklerinden dolayı nano materyaller gelecekte dünya gündeminde çok daha fazla yer alacaktır.

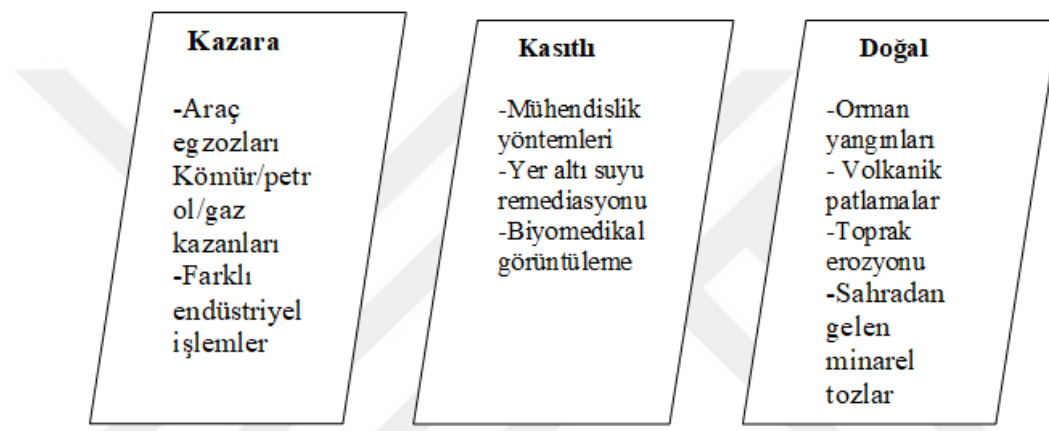
## 2.2. Nanopartikül Kavramı ve Özellikleri

Nanoteknoloji, atomik ve moleküler düzeyde işlevsel malzemelerin, cihazların ve sistemlerin geliştirilmesini ifade eder. Özellikle son 20 yılda bu alandaki gelişmeler hızla artmış ve nanoteknolojiye yapılan yatırımlar giderek büyümüştür. Nanoteknolojinin ilerlemesiyle birlikte nanokristaller, nanopartiküller ve nanotüpler gibi nano boyutlu malzemelerin üretimi mümkün hale gelmiştir.

Son yıllarda büyük önem kazanan nanopartiküller (NP'ler), nanoteknolojinin temel yapı taşlarından birini oluşturmaktadır. Çevreye ve insan sağlığına olan potansiyel etkileri ve riskleri hakkında sınırlı bilgi bulunmasına rağmen, mühendislik ürünü NP'ler

birçok ticari ürünün bileşimine entegre edilmiştir (Andreotti ve ark., 2015). Bunlar arasında ev aletleri ve ürün kaplamaları (Hanks ve ark., 2015), biyomedikal uygulamalar (Uskokovic, 2015), mücevhercilik (Asztemborska ve ark., 2015), elektrokimyasal sensörler ve biyosensörler (Haverkamp ve ark., 2009), tıp (Schwaminger, 2015) gibi birçok alan bulunmaktadır.

NP'lerin geniş endüstriyel kullanım alanları, nanopartikül sentezinin önemini artırmıştır. Mühendislik yöntemleriyle üretilen NP'ler, aynı zamanda doğal yollarla da oluşabilmektedir. Doğada hali hazırda bulunmaları ve nanoteknolojinin ilerlemesiyle NP konsantrasyonlarının çevresel ortamlarda artması da olasıdır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Nanopartiküllerin doğaya salınım yollarından bazıları

Nanopartiküllerin (NP'ler) boyutları genellikle 1-100 nm arasında değişmektedir (Ma, 2010). Küçük boyutları sayesinde NP'ler, nano ölçek, yüksek yüzey-kütle oranı (Capaldi ve ark., 2015) ve kuantum etkileri gibi benzersiz fizikokimyasal ve morfolojik özelliklere sahiptir. Bu özellikler, nanomateryalleri diğer ticari malzemelere kıyasla daha değerli ve işlevsel hale getirmektedir.

Herhangi bir maddeye mekaniksel ya da kimyasal yollarla enerji uygulanarak nanoboyuta parçalanması sağlanabilmekte ve bu amaç doğrultusunda NP sentezi için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir.

### 2.3. Nanopartiküllerin Sınıflandırılması

Nanopartiküller, bütün halde bulunan malzemelere kıyasla gelişmiş kimyasal ve fiziksel özelliklere sahiptirler. Bu özellikleri yüksek yüzey-hacim oranı ve belirli elektronik yapılar ile gerçekleştirir. Kimyasal yapılarına ek olarak kontrol edilebilir boyut

ve şekillere sahip olmaları ve hücre içine girebilmeleri biyomedikal uygulamalarda tanısal, terapötik ve taşıyıcı ajan olarak kabul görmesini sağlamıştır (Mauricio ve ark., 2018). Çizelge 2.1'de gösterildiği üzere, nanopartiküller ve nano yapılı materyaller, farklı özelliklerine göre çeşitli şekillerde sınıflandırılmaktadır. En güncel yaklaşıma göre bu materyaller, dört materyal temelli kategori altında gruplandırılabilir (Jeevanandam, 2018).

**Çizelge 2.1.** Nanopartiküllerin Sınıflandırılması (Li,2007)

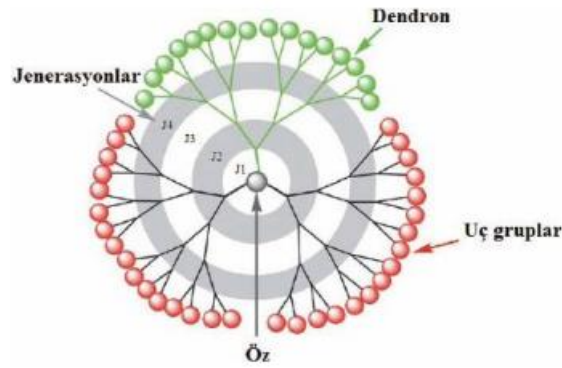
<b>Nanopartiküller- Nano yapılı materyaller</b>			
<b>Karbon bazlı nanomateryaller</b>	<b>İnorganik Bazlı Nano materyaller</b>	<b>Organik Bazlı nanomateryaller</b>	<b>Kompozit bazlı nanomateryaller</b>
Grafen (Gr)	Gümüş	Lipozomlar	Hidroksi Etil Metkrilat
Fullerenler (C60)	Titanyum dioksit	Dendrimerler	Kitosan
Karbon Nanofiberler	Demir oksit	Polimer Nanopartiküller	Poliaktik asit
Karbon nanotüpler	Altın	Miseller	
	Kuantum noktalar		
	Silisyum		

### **2.3.1.Organik Nanopartikülleri**

Dendrimerler, miseller, lipozomlar ve polimerler organik nanopartiküller için örnek yapılarıdır Organik nanopartiküller biyolojik olarak parçalanabilir ve toksik değildirler. Isı, ışık gibi termal ve elektromanyetik radyasyona duyarlılardır. Bu ve benzeri özellikleri onları ilaç dağıtım ve biyomedikal uygulamalar için ideal bir seçim haline getirmektedir. Organik nanopartiküller biyoteknoloji alanında ve özellikle hedeflendirilmiş ilaç dağıtım sisteminde yaygın şekilde kullanılmaktadır (Ealies ve ark., 2017).

#### **2.3.1.1. Dendrimerler**

Dendrimerler merkezi bir çekirdekte radyal olarak yayılan dallardan oluşan iyi tanımlanmış, homojen ve tek dağılımlı yapıya sahip nano boyutlu, simetrik moleküllerdir. Dallanmalı yapısı dendrimerlere farklı fiziksel ve kimyasal özellik vermektedir. Bu özellikleri sayesinde biyoteknoloji ve endüstriyel uygulamalarda büyük ilgi görmektedir (Romero ve ark., 2012).



**Şekil 2.3.** Üç dendronlu 4 jenerasyon bir dendrimerin şematik gösterimi (Namırtı ve Atav, 2011)

Dendrimerler iraksak ve yakınsak olarak iki farklı yöntem ile sentezlenebilmektedir. Iraksak yöntemde dendrimer çekirdekten dışarı doğru dallanmakta ve bir aktif, iki inaktif grup taşıyan monomer ile etkileşime girmektedir. Bu işlem defalarca tekrarlanabilir. Fakat bu birleşmeler sırasında oluşan yan reaksiyonların tamamlanmamasından dolayı yapısal bozukluklar oluşabilmektedir. Yan reaksiyon oluşumunu engellemek ve yapısal bozuklukların oluşmaması için reaktif maddelerin kullanılması gerekmektedir. Bu durum ürünün saflaştırılmasını zorlaştırırsa da sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir (Karabulut ve ark., 2015).

Yakınsak yöntemde ise uç gruplardan içe doğru adım adım sentezlenmektedir. Dallı moleküller yeterince büyük olduğunda, bir çekirdek moleküle bağlanmaktadır. Bu yöntemlerle üretilen dendrimerlerin saflaştırılması daha kolay ve kontrollüdür. Yüzeylerini ve çekirdeğini farklı moleküllerle uyarlama kolaylığı nedeniyle, dendrimerler birçok biyomedikal ve endüstriyel uygulama için uygundur (Romero ve ark., 2012).

### 2.3.1.2. Miseller

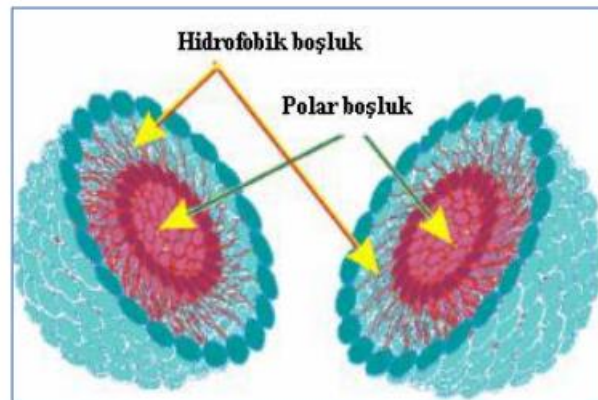
Misel, suda kendiliğinden (genellikle) küresel bir kesecik halinde toplanan amfifilik yüzey aktif madde moleküllerinin bir koleksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Miselin merkezi hidrofobiktir ve bu nedenle hidrofobik ilaçları bazı ilaç verme mekanizmalarıyla salınana kadar ayırabilir. Geleneksel miseller, hidrofilik, polar veya yüklü bir “baş” grubuna ve genellikle uzun yağlı asitlerin hidrokarbon kısmından oluşan hidrofobik bir kuyruğa sahip küçük moleküllerden oluşmaktadır. Misellerin şekli ve boyutu, amfifilik molekülün doğası, konsantrasyon, sıcaklık, pH ve iyonik kuvvet gibi çözelti koşulları tarafından kontrol edilebilmektedir. Amfifilik molekülün konsantrasyonu, misel oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Miseller başlangıçta

küresel şekil sergilerler (Romero ve ark., 2012) ve boyutları daha fazla yüzey aktif maddenin eklenmesiyle, şekil değiştirdikleri ve silindir olarak büyümeye başladıkları bir noktaya kadar ilerleyebilmektedir (Husseini ve ark., 2008).

### 2.3.1.3. Lipozomlar

Lipozomlar, sulu çözeltileri taşıyabilen, kapalı, zarı olan küresel çift lipit tabakasıdır. Çift lipit tabakasını iki fosfolipit tabakası oluşturmaktadır (Panahi ve ark., 2017). Bir lipozomun sentezi birkaç parametreye bağlıdır (Mozofari.2005). :

- Yakalanacak malzemenin ve lipozomal bileşiklerin fiziko-kimyasal özellikleri,
- Lipit keseciklerinin çözündüğü ortamın doğası, hapsedilen maddenin konsantrasyonu ve potansiyel toksisitesi,
- Veziküllerin üretimi, uygulanması veya verilmesi sırasında ortaya çıkan ek işlemler,
- Amaçlanan uygulama için veziküllerin dağılımı, boyutu ve raf ömrü,
- Partiden partiye tekrarlanabilirlik, güvenli ve verimli lipozomal ürünlerin büyük ölçekli üretim olasılığı.



Şekil 2.4. Lipozomların Üç Boyutlu Yapısı

Lipozomlar esas olarak kanser tedavisinde kemoterapötik ilaçların verilmesi için kullanılmaktadır (Malam ve ark., 2009). Biyomalzeme içeriği konusunda geniş ve zengin bir alana hitap edebilmektedirler. Sadece ilaç endüstrisiyle sınırlı kalmayıp gıda ve kozmetik gibi alanlarda da yaygın kullanıma sahip olan lipozomların biyoyumluluk ve biyobozunurluk derecelerinin yüksek olduğu bilinmektedir. Medikal ve ilaç uygulamalarında istenilen aktif maddenin taşınması ve hedeflenmesinde yaygın olarak lipozomlar kullanılmaktadır (Panahi ve ark., 2017).

### 2.3.1.4. Polimerik Nanopartiküller

Polimerik nanopartiküller biyolojik olarak parçalanabilirlikleri (Farokhzad ve ark., 2009) ve biyoyumlulukları ile ön plana çıkmıştır ve ilaç dağıtım sistemlerinde en sık kullanılan NP'leri oluştururlar (Patel ve ark., 2011).

Polimerik nanopartiküller doğal ve sentetik kaynaklı olarak iki farklı polimer türünden elde edilebilmektedir (El-Say ve ark., 2017). Hazırlanma yöntemine göre nanoküre veya nanokapsül olarak şekillenir. Etken madde bu yapıların içerisinde çözünebilir, hapsedilebilir veya yüzeye bağlanabilmektedir (Derman ve ark., 2013). Polimerik nanopartiküller yüzey modifikasyonu için büyük bir potansiyel sergilemektedirler. Bu nanopartiküller, çözücü difüzyon/evaporasyon tekniği, tekli emülsiyon (w/o) çözücü difüzyon/evaporasyon tekniği, ikili emülsiyon (w/o/w) çözücü buharlaştırma yöntemi, salting-out tekniği, süper kritik akışkan teknolojisi yöntemi (SCF), diyaliz ve nano çöktürme yöntemi ile hazırlanmaktadır (Derman ve ark., 2013).

### 2.3.2. Karbon Bazlı Nanopartiküller

Karbon nanopartiküller olağanüstü iletkenliğe (elektrik, ısı vb.) ve mekanik özelliklere sahiptir. Yapılarında bulunan saf karbon nedeniyle yüksek oranda stabilite, iyi iletkenlik, düşük toksisite ve çevre dostu özellikler sergilemektedir. İnsan vücudunun büyük bir bölümü karbondan oluştuğu için genellikle biyoyumlu bir malzeme olduğu düşünülmektedir (Creative Diagnostis, 2020). Karbon bazlı nanopartiküller fullerenler, grafenler ve nanotüpleri içermektedir.

#### 2.3.2.1. Fullerenler

Fullerenler özellikle 60 karbon atomundan oluşan çokgen bir yapıya sahip yeni karbon allotroplarıdır Küresel yapıya sahip olan bu molekül,  $sp^2$  hibritleşmesi ile bir arada tutulan karbon atomlarından oluşmuş bir karbon molekülüdür.

En yaygın bilinen fullerene türü olan C<sub>60</sub>, "buckminsterfullerene" veya basitçe "buckyball" olarak adlandırılır ve 1985 yılında keşfedilmiştir (Cha ve ark., 2013). Bu molekül, 12 pentagon ve 20 hegzagon içeren bir futbol topu yapısına sahiptir. Fullerenler, elektronik, enerji depolama, ilaç taşıma ve malzeme bilimi gibi birçok alanda dikkat çekmektedir (Dresselhaus ve arkadaşları, 1993; Johnson ve ark., 1992).

Fullerenlerin elektronik uygulamalarda kullanımı, benzersiz elektriksel ve kimyasal özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Örneğin, fulleren bazlı malzemeler yüksek performanslı pillerde ve güneş panellerinde kullanılmaktadır. Ayrıca, biyomedikal alanda fullerenler, ilaç taşıma sistemlerinde ve antikanser tedavilerinde potansiyel göstermektedir (Montellano Lopez ve ark., 2011; Bakry ve ark., 2007).

Fullerenlerin yüzey modifikasyonu, su çözünürlüğünü artırarak biyolojik uygulamalarda kullanımını kolaylaştırır. Bu nedenle, fullerene türevleri, antioksidanlar ve antibakteriyel ajanlar olarak kullanılabilir (Da Ros ve ark., 1996; Foley ve ark., 2002).

### **2.3.2.2. Grafen**

Grafen, karbonun bir allotropudur ve iki boyutlu düzlemsel bir yüzeyde karbon atomlarının altıgen bir bal peteği şeklinde düzenlenmesiyle oluşur. Genellikle grafen levhalarının kalınlığı yaklaşık 1 nm civarındadır (Mondal ve ark., 2014). Grafen, son 15 yılda bilim ve mühendislik toplulukları tarafından yoğun bir şekilde incelenmiştir. Tek katmanlı iki boyutlu karbon atomlarının altıgen kafes yapısında düzenlendiği grafen, benzersiz yüksek yüzey alanı, termal ve elektriksel iletkenlik ile mekanik dayanıklılığı nedeniyle birçok uygulamada geniş bir kullanım alanına sahiptir. Grafen esaslı nanomalzemeler, indirgenmiş grafen oksit, grafen kuantum noktaları ve grafen oksitler gibi çeşitli formlarda bulunur.

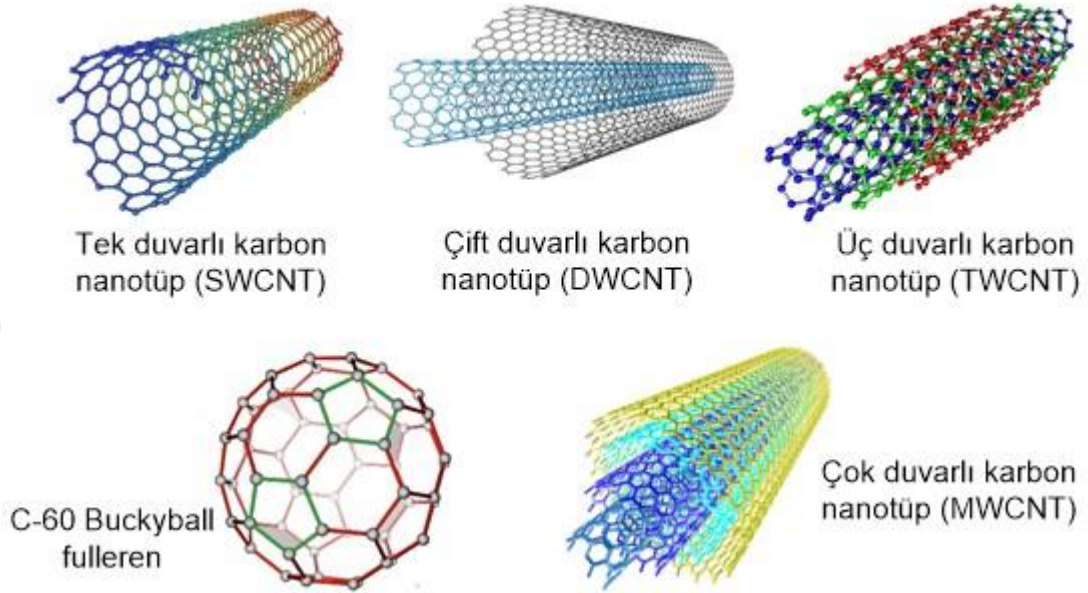
Grafenin elektronik, enerji depolama pilleri, süperkapasitörler, yakıt hücreleri ve güneş hücreleri gibi alanlardaki uygulamaları dikkat çekicidir. Örneğin, grafenin yüksek elektron mobilitesi ve mükemmel elektriksel iletkenliği, onu elektronik cihazlar ve sensörler için ideal bir malzeme haline getirir. Ayrıca, çevresel çözümler için de umut vaat etmektedir, zira grafen bazlı malzemeler su arıtma ve kirlilik kontrolü gibi alanlarda kullanılabilir (ScienceDaily, 2024; Kuganathan, 2021).

Grafen, benzersiz özellikleri ve geniş uygulama yelpazesi ile gelecekte bilimsel ve teknolojik yeniliklerin merkezinde yer almaya devam edecektir. Araştırmalar, grafenin üretim yöntemlerinin geliştirilmesi ve maliyet etkin üretiminin sağlanması yönünde ilerlemektedir (Kuganathan, 2021).

### **2.3.2.3. Karbon Nanotüpler**

Karbon nanotüpler iki ana sınıfa ayrılır: tek duvarlı karbon nanotüpler (SWCNT) ve çok duvarlı karbon nanotüpler (MWCNT). Çok duvarlı karbon nanotüplerin

antimikrobiyal özellikler gösterdiği bilinmektedir (Maleki ve ark., 2015). Karbon nanotüplerin uygulama esnasında avantajlı ve dezavantajlı oldukları yerler vardır (Migliet ve ark., 2009). Bunlar göz önünde bulundurularak uygulama alanlarının belirlenmesi gerekmektedir.



Şekil 2.5. Çeşitli karbon nanotüplerine tipik örnekler (Bilsen,2015)

Örneğin, iletkenlik ve dayanıklılıkları yüksek olduğundan biyomedikal uygulamalarda avantajlı hale gelmektedirler (Patra ve ark., 2011). Fakat agregasyon özellikleri fazla olduğu için biyolojik olarak dezavantaj oluşturmaktadır (Vardhalajula ve ark., 2012). Görüntüleme uygulamalarında kullanılmak için optik özelliklere de sahiplerdir (Cha ve ark., 2013).

### 2.3.3. Metalik Nanopartiküllerin Sınıflandırılması

Metalik nanopartiküller (MNP), saf metaller (örneğin altın, platin, gümüş, titanyum, çinko, seryum, demir ve talyum) veya bu metallerin bileşikleri (örneğin oksitler, hidroksitler, sülfidler, fosfatlar, florürler ve klorürler) kullanılarak üretilen submikron ölçekli maddelerdir (Piñón-Segundo E, 2017). Çizelge 2.2 de belirtildiği gibi çeşitli nanomateryaller arasında metalik nanopartiküller bazı dezavantajlar sunmalarına rağmen belirgin avantajlara sahiptirler (Granqvist, 1976).

**Çizelge 2.2.** Metalik nanopartiküllerin avantajları, dezavantajları ve karakterizasyonunda kullanılan yöntemler

<b>Metalik Nanopartikülleri</b>		
<b>Avantajları</b>	<b>Dezavantajları</b>	<b>Karakterizasyonları</b>
Artmış rayleigh saçılımı	Nanopartiküllerin kararsızlığı	Absorbans Spektroskopisi
Yüzeysel güçlendirilmiş raman saçılması	Safsızlık	Infrared Spektroskopisi
Güçlü plazma emilimi	Nanomalzemelerin biyolojik olarak toksik olmaları	Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)
Biyolojik sistemleri görüntüleme	Patlayıcı olmaları	Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)
Nano skaladaki metalik substrat hakkındaki kimyasal bilgileri belirleme	Sentez zorluğu	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR)

### 2.3.3.1. Gümüşün Temel Nitelikleri

Gümüş (Ag), periyodik tablodaki atom numarası 47 olan ve d-blok elementleri arasında yer alan bir geçiş metalidir. Doğada genellikle sülfür ve klorür mineralleri ile bileşik halinde bulunur (Greenwood & Earnshaw, 1997). Gümüş, mükemmel elektrik ve ısı iletkenliği, yansıtıcılık ve dövülebilirlik özellikleriyle tanınır (Callister & Rethwisch, 2007). Bu özellikler, onu çeşitli endüstriyel ve teknolojik uygulamalarda vazgeçilmez kılar.

Elektrik ve ısı iletkenliği açısından, gümüş tüm metaller arasında en yüksek iletkenliğe sahiptir. Bu nedenle, elektrikli cihazlarda, devre kartlarında ve yüksek performanslı elektronik ekipmanlarda yaygın olarak kullanılır (Chen, 2005). Ayrıca, güneş panelleri ve fotovoltaik hücrelerde de verimliliği artırmak için tercih edilmektedir.

Gümüşün yansıtıcılığı, özellikle ayna üretiminde ve teleskoplar gibi optik cihazlarda kullanılır (Jenkins & White, 1957). Ayrıca, bu yansıtıcı özellik, dekoratif kaplamalar ve mücevherat sektöründe de büyük bir değer taşır.

Antimikrobiyal özellikleri nedeniyle, gümüş tıpta da önemli bir rol oynar. Gümüş iyonları, bakterilerin hücre duvarlarına zarar vererek enfeksiyonları önlemeye yardımcı olur. Bu nedenle, yara bandajları, kateterler ve tıbbi cihazların kaplamasında kullanılır (Rai, Yadav, & Gade, 2009; Klasen, 2000).

Gümüşün kaynakları arasında Meksika, Peru ve Çin gibi ülkeler öne çıkmaktadır. Bu ülkeler, dünya gümüş üretiminin büyük bir kısmını karşılamaktadır (World Silver

Survey, 2020). Ayrıca, geri dönüştürülebilir bir metal olması, sürdürülebilir kullanım açısından önemlidir (Mineral Commodity Summaries, 2020).

### **2.3.3.2. Gümüş Nanopartiküllerin Temel Özellikleri ve Kullanım Alanları**

Gümüş nanopartiküller (AgNPs), nanoteknoloji alanında geniş bir uygulama yelpazesine sahip olan, boyutları 1 ile 100 nanometre arasında değişen gümüş parçacıklardır. Bu nanopartiküller, yüksek yüzey alanı/hacim oranı ve benzersiz fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir.

Gümüş nanopartiküllerin temel özellikleri arasında güçlü antimikrobiyal aktiviteleri öne çıkar. Gümüş iyonlarının bakterilerin hücre duvarına bağlanarak hücresel süreçleri bozması, bu partikülleri enfeksiyon kontrolünde etkili kılar. Bu özellik, yara örtüleri, tıbbi cihazlar ve antimikrobiyal kaplamalar gibi tıbbi uygulamalarda yaygın olarak kullanılmalarını sağlar (Rai, Yadav, & Gade, 2009).

Ayrıca, gümüş nanopartiküller yüksek iletkenlikleri nedeniyle elektronik sektöründe de önemli bir rol oynar. Özellikle, sensörler, iletken mürekkepler ve elektronik bileşenlerde kullanılır. Yüksek yansıtıcılık özellikleri ise onları optik cihazlar ve güneş panelleri gibi enerji uygulamalarında değerli kılar (Zhang, Liu, Shen, & Gurunathan, 2016).

Gümüş nanopartiküllerin anti-kanser potansiyeli de araştırma konusudur. Hücre proliferasyonunu inhibe edebilme kapasiteleri, kanser tedavilerinde kullanılmalarını desteklemektedir. Ek olarak, bu nanopartiküller ilaç taşıyıcı sistemlerde de kullanılmaktadır. Yüksek yüzey enerjileri sayesinde, ilaç moleküllerini etkin bir şekilde bağlayabilir ve hedef hücrelere yönlendirebilirler (Prabhu & Poulouse, 2012).

Çevre alanında da gümüş nanopartiküller önemli bir yer tutar. Su arıtma sistemlerinde, bakteriyel kontaminasyonu azaltmak için kullanılırlar. Gümüş nanopartiküllerin fotokatalitik özellikleri, organik kirleticilerin parçalanmasını kolaylaştırarak çevresel temizliğe katkıda bulunur (Rai, Yadav, & Gade, 2009).

### **2.3.3.3. Gümüş Nanopartiküllerin Bitkilere Etkisi**

Gümüş nanopartiküllerin (AgNPs) bitkiler üzerindeki olumlu etkileri oldukça çeşitlidir ve bu etkiler bitki türüne, nanopartikül konsantrasyonuna ve uygulama yöntemine bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Düşük konsantrasyonlarda kullanılan gümüş nanopartiküller, bazı bitkilerin büyümesini teşvik edebilir ve biyokimyasal

özelliklerini iyileştirebilir. Örneğin, *Ocimum basilicum* (fesleğen) ve *Mangifera indica* (mango) yaprak ekstraktları ile sentezlenen gümüş nanopartiküller, bu bitkilerin klorofil içeriğini artırarak ve fotosentetik aktiviteyi iyileştirerek büyümelerini teşvik ettiği gösterilmiştir (Latif ve ark., 2017).

Ayrıca, gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal özellikleri, bitkilerin patojenlere karşı direncini artırabilir. Bu nanopartiküller, bitkilerin kök ve yaprak dokularında patojenlerin neden olduğu hastalıkları azaltabilir. Örneğin, gümüş nanopartiküllerin, bitkilerin fungal enfeksiyonlara karşı direncini artırarak bitki sağlığını ve verimini olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir (Calderón-Jiménez ve ark., 2017).

Gümüş nanopartiküller, bitkilerin besin alımını da artırabilir. Düşük konsantrasyonlarda uygulandığında, bu nanopartiküller bitkilerin kök gelişimini teşvik edebilir ve toprakta bulunan besin elementlerinin daha verimli bir şekilde alımını sağlayabilir. Bu durum, bitkilerin genel büyüme hızını ve verimliliğini artırabilir (Chung ve ark., 2018).

Bunun yanında, AgNP'ler bitkilerin abiyotik streslere (kuraklık, tuzluluk, ağır metaller) karşı toleransını artırabilir. Gümüş nanopartiküllerle muamele edilen bitkiler, oksidatif strese karşı daha iyi savunma mekanizmaları geliştirir ve stres koşullarında daha iyi büyüme performansı sergiler (Cvjetko ve ark., 2017).

Sonuç olarak, gümüş nanopartiküller, uygun konsantrasyonlarda ve doğru uygulama yöntemleriyle kullanıldığında bitki gelişimi üzerinde olumlu etkiler yaratabilir

#### **2.3.3.4. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi**

AgNP'lerin sentez yöntemleri, kimyasal, fiziksel ve biyolojik yaklaşımlar olarak üç ana kategoriye ayrılabilir.

Kimyasal sentez yöntemleri, AgNP'lerin üretiminde en yaygın olarak kullanılan tekniklerdendir. Bu yöntemler arasında kimyasal indirgeme, çöktürme ve sol-gel yöntemleri bulunmaktadır. Kimyasal indirgeme yöntemi, metal tuzlarının uygun bir indirgeyici ajan ile indirgenmesiyle nanopartiküllerin elde edilmesini içerir. Yaygın olarak kullanılan indirgeyiciler arasında sodyum borohidür ( $\text{NaBH}_4$ ), sitrik asit ve askorbik asit yer almaktadır. Bu yöntemde, genellikle bir stabilizatör veya kaplama maddesi de kullanılarak nanopartiküllerin aglomerasyonu önlenir ve kararlılığı artırılır (Rai ve ark., 2009).

Fiziksel sentez yöntemleri, genellikle yüksek enerji gerektiren ve özel ekipmanlar gerektiren tekniklerdir. Bu yöntemler arasında lazer ablasyonu, buhar fazı kondenzasyonu ve ark deşarj yöntemleri bulunmaktadır. Lazer ablasyonu yöntemi, katı bir metal hedefinin lazer ışını ile buharlaştırılması ve bu buharın kondenzasyonu ile nanopartiküllerin oluşturulmasını içerir. Bu yöntemin avantajları arasında saflık derecesinin yüksek olması ve kimyasal kalıntıların bulunmaması sayılabilir (Amendola ve Meneghetti, 2009).

Son yıllarda, çevre dostu ve sürdürülebilir yöntemlere olan ilgi artmıştır. Bu bağlamda biyolojik sentez yöntemleri, biyomoleküller kullanılarak AgNP'lerin üretimini içerir. Bitkiler, mikroorganizmalar ve enzimler gibi biyolojik ajanlar, gümüş iyonlarının indirgenmesi için kullanılmaktadır. Bitki ekstraktları, çeşitli biyoaktif bileşenler içerdikleri için yaygın olarak tercih edilmektedir. Bu yöntemin avantajları arasında düşük maliyet, çevre dostu olması ve biyolojik olarak parçalanabilir kaplama maddeleri ile kaplanmış nanopartiküller üretme potansiyeli sayılabilir (Kharissova ve ark., 2013; Singh ve ark., 2016).

## **2.4. Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri**

Nanopartiküller, farklı şekillerde üretim kolaylığı sunmaları nedeniyle ilgi çekici nano ölçekli sistemlerdir. Bu partiküllerin üretiminde genellikle iki ana yaklaşım tercih edilir: yukarıdan aşağıya ("top-down") ve aşağıdan yukarıya ("bottom-up") yöntemleri (Ravichandran, 2010).

### **a-) Yukarıdan Aşağıya (Top Down) Yaklaşımı**

Yukarıdan aşağıya ("top-down") yaklaşımı, hacimsel bir malzemenin mekanik veya kimyasal işlemlerle enerjiye maruz bırakılarak nano boyuta kadar küçültülmesi esasına dayanır. Bu yaklaşımda kullanılan yöntemlere mekanik öğütme ve aşındırma örnek olarak verilebilir. Bu teknikler, klasik öğütme yöntemlerine göre daha fazla enerji tükettiği için yüksek enerjili öğütme veya yüksek hızlı değirmenler olarak adlandırılır.

Yukarıdan aşağıya yaklaşımında, genellikle daha büyük malzemelerden başlanarak mikro düzeye ulaşılır. Örneğin, kuru öğütme yöntemiyle buğdayın un haline getirilmesi, su tutma yeteneğinin artırılmasıyla birlikte, bu yöneme iyi bir örnek olarak gösterilebilir (Shibata, 2009). Yapılan bir çalışmada, yeşil çay partiküllerinin 1000 nm'ye kadar küçültülmesiyle sindirim ve emilimin kolaylaştığı, bunun sonucunda oksijeni

uzaklaştıran enzimlerin faaliyetlerinin ve dolayısıyla antioksidan etkinin arttığı rapor edilmiştir (Machado ve ark., 2013).

### **b-) Aşağıdan Yukarıya (Bottom-Up) Yaklaşımı**

Bu yöntemin temeli, atomlar veya moleküller kullanılarak organik ya da inorganik yapıların inşa edilmesine dayanır. Nano yapıların birleştirilmesinde, doğadaki kuvvetlerden ve DNA gibi biyolojik sistemlerin kendiliğinden birleşme özelliklerinden faydalanılarak karbon nanotüplerin kontrolü sağlanabilir. Yöntemin uygulanma amacı, atomik veya moleküler boyuttaki yapıları kimyasal reaksiyonlarla büyütürük partikül oluşumunu gerçekleştirmektir.

Aşağıdan yukarıya ("bottom-up") yaklaşımının bir örneği, nano metal ve alaşımlarının üretiminde kullanılan ilk yöntem olan gaz yoğunlaştırma tekniğidir. Bunun yanı sıra, kimyasal buhar kaplama, kimyasal buhar yoğunlaştırma, sol-jel ve sprey piroliz gibi yöntemler de bu yaklaşımın en yaygın bilinen uygulamaları arasındadır (Wolfgang, 2007; Zaki, 2007).

Partikül üretiminde kullanılan yöntemler, yukarıda açıklanan yaklaşımların yanı sıra fiziksel veya kimyasal temelli olmak üzere iki ana sınıfa da ayrılabilir. Mekanik enerjinin kullanıldığı ve fiziksel özelliklerin ön planda olduğu yöntemler fiziksel temelli olarak değerlendirilirken, kimyasal reaksiyonların gerçekleştiği yöntemler ise kimyasal temelli olarak kabul edilmektedir (Wolfgang, 2007).

### **2.4.1. Fiziksel Yöntemler**

#### **2.4.1.1. Asal Gaz Yoğunlaştırma (IGY) Yöntemi**

Nanopartikül üretiminde ilk kez Birringer ve arkadaşları tarafından 1984 yılında kullanılan asal gaz yoğunlaştırma (IGC) yöntemi, nanokristalin metal ve alaşımlarının doğrudan aşırı doygun buhar fazından üretilmesinde kullanılan en eski tekniklerden biridir. Çok yönlü bir yöntem olması nedeniyle günümüzde laboratuvar ölçekli nano-yapılı tozların sentezinde yaygın olarak tercih edilmektedir.

IGC yöntemi, yalnızca metalik, seramik ve kompozit nanopartiküllerin üretiminde değil, oksijen gibi bir reaktif gaz kullanılarak oksitler veya diğer bileşiklerin sentezinde de kullanılabilir. Teknik, soğuk bir günde suyun ısıtılmasına benzer bir prensip ile çalışır.

Isıtılan su buharlaşır, bulunduğu ortamla etkileşime geçerek ısı kaybeder ve soğuk bir cam yüzeyinde su damlacıklarının yoğunlaşmasıyla sonuçlanır (Kevin, 1997; Ganesh, 1998; Swihart, 2003).

#### **2.4.1.2. Mekanik Aşındırma Yöntemi**

Toz partiküllerin mekanik aşındırma (MA) yöntemi ile üretimi, 1970'li yıllarda endüstriyel uygulamalar için geliştirilmiş olup, bu teknik sayesinde yeni alaşımlar ve faz karışımlarının üretimi başarıyla gerçekleştirilmektedir. Yukarıdan aşağıya üretim yaklaşımını benimseyen bu yöntemde, nanoyapılar atomik veya moleküler düzeyde kümesel toplanma yoluyla değil, kaba taneli yapıların plastik deformasyonu sonucunda parçalanmasıyla oluşur.

Mekanik aşındırma yöntemi, amorf veya nano yapılı malzemelerin alaşım, intermetalik, seramik ve kompozit gibi geniş bir bileşim aralığında üretimine olanak sağlar. Ancak tekniğin endüstriyel kullanımı, işlem sırasında kolaylıkla kırılabilen sert ve gevrek malzemeler ile sınırlıdır. Bu amaçla kullanılan çeşitli bilyalı öğütücüler aşağıda sıralanmıştır:

- Aşındırma Öğütücüler
- Gezegen Öğütücüler
- Titreşimli Öğütücüler
- Yüksek Enerjili Bilyalı Değirmenler

Tozların ince partikül boyutlarına indirgenmesi için gereken enerji, yüksek frekans ve düşük genlikli titreşimler aracılığıyla sağlanır.

#### **2.4.1.3. Mikroheterojen Sistemlerden Nanopartikül Üretimi**

Aşağıdan yukarıya yaklaşım, moleküler seviyeden nanopartikül üretiminde kullanılan sentetik metotların, farklı mikroheterojen sistemlerin kullanımını esas alır. Bu mikroheterojen sistemler sıvı kristaller, jeller, misel çözeltileri ve mikroemülsiyonlar gibi yapılar olabilir. Bu yöntemler, hızlı ve düşük maliyetli olmalarının yanı sıra metaller, oksitler, sülfatlar, suda çözünmeyen maddeler ile suda çözünebilir inorganik ve organik malzemelerin nano boyutta sentezlenmesini mümkün kılar.

Ayrıca, bu yöntem çekirdek-kabuk, katkılı, sandviç veya poröz nanopartiküllerin üretimi için de kolaylıkla uygulanabilir. Mikroheterojen sistemler, manyetik, elektrik, ıslatma ve yağlayıcı gibi özellikler taşıyan ve pratik uygulamalara uygun ürünler sunar.

Bu tür sistemler genel olarak "nano akışkanlar" olarak adlandırılır ve günümüzde artan bir ilgi görmektedir. Özellikle manyetik nano akışkanlar, medikal sektörden otomotive kadar geniş bir kullanım alanı bulmuştur (Liveri, 2006).

## **2.4.2. Kimyasal Yöntemler**

### **2.4.2.1. Kimyasal Buhar Yoğunlaştırma Yöntemi**

Kimyasal buhar yoğunlaştırma (CVC) yöntemi, ilk olarak 1994 yılında Almanya'da geliştirilmiş olup, yüksek miktarda nanopartikül üretimi için ideal bir tekniktir. Bu yöntemde başlangıç malzemesi olarak, buhar fazına kolaylıkla geçebilen metalorganikler, karboniller, klorürler ve hidrürler gibi bileşikler kullanılmaktadır.

CVC yönteminin en büyük avantajlarından biri, farklı kimyasal içerikli başlangıç malzemelerinin ticari olarak kolaylıkla temin edilebilmesi sayesinde geniş bir kimyasal bileşimde neredeyse her tür malzemenin üretiminin mümkün olmasıdır. Ayrıca, aglomere olmamış nanopartiküllerin hazırlanabilmesi ve isteğe bağlı olarak çekirdek-kabuk ya da içi boş partiküllerin üretilebilmesi, yöntemin diğer önemli avantajları arasında yer alır (Zaki, 2007; Wang, 2003; Markus, 2007; Lee, 2004).

### **2.4.2.2. Hidrojen Redüksiyon Yöntemi**

Gaz fazında redüksiyon, metalik nanopartiküllerin üretimi için kullanılan bir yöntemdir ve yapılan çalışmalar, özellikle demir grubu metaller (Fe, Ni ve Co) için laboratuvar ölçekli sentezlerde yaygın olarak kullanıldığını göstermektedir. Bu yöntem, partikül oluşumu, partikül toplanması ve gaz yıkama olmak üzere üç temel adımdan oluşur.

Yöntemin ilk aşamasında, başlangıç çözeltilisi buharlaştırılır ve taşıyıcı ve/veya redükleyici bir gaz yardımıyla ön ısıtılmış bir bölgeye, ardından redüksiyonun gerçekleşeceği daha yüksek sıcaklıktaki bir bölgeye taşınır. Bu süreçte partiküller oluşur. Hidrojen gazı işlem sırasında hem redükleyici hem de taşıyıcı gaz olarak tek başına kullanılabilirken, azot ve argon gibi inert gazlar da taşıyıcı olarak kullanılabilir.

Reaktanların konsantrasyonu, reaksiyon sıcaklığı, ön ısıtılmış bölgenin sıcaklığı ve buhar/partikülün fırın içerisindeki kalış süresi, partikül boyutunu, boyut dağılımını ve kristalin özelliklerini kontrol eden temel faktörlerdir (Jahn, 2004; Suh, 2006).

### 2.4.2.3. Alev Sentezi Yöntemi

Nanopartiküllerin ticari ölçekte üretiminde yaygın olarak kullanılan alev sentezi tekniği, diğer yöntemlere kıyasla bazı önemli avantajlar sunar. Bu avantajlar arasında geniş kimyasal bileşim aralığı, partikül morfolojisinin ve boyut dağılımının kontrolü ile düşük maliyet yer alır. Ayrıca, alev ortamının yüksek oksitleyici etkisi sayesinde bu yöntem, özellikle oksit nanopartiküllerin üretimi için oldukça uygundur.

Buhar fazından sentez yöntemlerinden biri olan alev sentezi tekniğinde, başlangıç malzemesi olarak kolayca uçucu hale gelebilen metal halojenürler kullanılır. Oluşan buhar fazı, hava, hidrojen veya oksijen gibi gazlarla alev ortamına taşınır ve gaz fazında gerçekleşen reaksiyonlar sonucu atom kümeleri oluşur. Bu kümelerin birleşimiyle nanopartikül oluşumu tamamlanır (Swihart, M. 2003; Roth, P. 2007; Zhao, Y., 2007).

### 2.4.2.4. Ultrasonik Sprey Piroiliz (USP) Yöntemi

Ultrasonik atomizasyon ile sprey elde etme tekniği, uzun süredir özellikle medikal uygulamalarda ve ince film üretiminde kullanılmaktadır. Ancak, mikron altı boyutlu partiküllerin bu yöntemle üretimi son yirmi yılda mümkün hale gelmiştir. Bu teknik, Grenoble Nükleer Araştırma Merkezi (CENG) tarafından geliştirilmiş ve 1971 yılında "Pirosol" adıyla patentlenmiştir. O tarihten bu yana, farklı uygulamalar için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Özellikle ultrasonik atomizasyon yöntemi, üstün kaliteli yarıiletken oksit ince filmlerin üretiminde dikkat çekmektedir. 1982 yılında, "Laboratoire des Materiaux et du Genie Physique" (LMGP) araştırma merkezi, CENG'den Pirosol tekniğinin geliştirilmesi için izin almıştır. O zamandan itibaren, bu sistem kontrol kolaylığı ve güvenilirliği sayesinde Grenoble ve dünya genelindeki birçok laboratuvarında farklı malzemelerin ince filmler ya da çok ince tozlar halinde elde edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Raa, C, 1992).

Nanopartiküllerin çözelti ortamında sentezi için geçmişte fiziksel ve kimyasal birçok klasik yöntem kullanılmıştır. Ancak günümüzde, daha düşük maliyetli, çevre dostu ve toksik etki oluşturmayan biyolojik yöntemlerin ön planda olduğu "yeşil nanoteknoloji" yaklaşımı öne çıkmaktadır (Bar ve ark., 2009).

### 2.4.3. Yeşil Sentez

Nanoparçacık üretiminde kullanılan kimyasalların, partiküllerin toksisitesini ve reaktivitesini artırarak insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceği gösterilmiştir. Geleneksel yöntemlerde karşılaşılan bu kısıtlamalar ve son yıllarda insan sağlığı ile çevreye yönelik artan bilinç, nanoparçacık üretimi için daha sürdürülebilir metotların geliştirilmesini teşvik etmiştir. Bu doğrultuda, sürdürülebilirlik hedeflerini karşılayan "yeşil nanoteknoloji," günümüzde büyük ilgi görmektedir (Singh ve ark., 2016).

Yeşil sentez yönteminde toksik kimyasallara ve çözücülere ihtiyaç duyulmaz (Alkhalaf, 2020). Bu yöntemle, antineoplastik, antibakteriyel, antifungal ve antiviral özelliklere sahip nanoparçacıklar kolaylıkla üretilebilmektedir. Ayrıca, kimyasal yöntemlerin neden olduğu toksik etkilerin ve fiziksel yöntemlerde karşılaşılan yüksek enerji ve zaman kayıplarının önüne geçilmesi, bu yöntemin önemli avantajları arasında yer almaktadır.

#### 2.4.3.1. Nanopartiküllerin Yeşil Sentez Yaklaşımıyla Sentezlenmesi

Yeşil nanoteknoloji, metal iyonlarının biyolojik organizmaların hücre içi ve hücre dışı metabolitleri aracılığıyla indirgenmesini ve biyolojik polisakkaritlerle kaplanarak stabil hale getirilmesini amaçlayan bir yaklaşımdır (Singh ve ark., 2016). Biyolojik organizmalar, sahip oldukları redüktaz enzimleri sayesinde metal tuzlarını hücre içinde depolayabilir ve detoksifikasyonlarını gerçekleştirebilir (Singh ve ark., 2016). Bu özellikleri sayesinde, hücre içine aldıkları metal iyonlarını indirgeme yoluyla metal nanopartiküllere dönüştürebilirler.

Ayrıca, redüktaz enzimlerini içeren ham ekstraktlar veya saflaştırılmış redüktaz enzimleri kullanılarak hücre dışı ortamda da metal iyonlarının metal nanopartiküllere indirgenmesi mümkündür. Geleneksel yöntemlere alternatif olan bu biyolojik sentez yaklaşımı, indirgeyici ve stabilize edici kimyasallara ihtiyaç duymadan nanopartikül sentezini mümkün kılmaktadır.

#### 2.4.3.2. Yeşil Sentezin Avantajları

Fiziksel ve kimyasal yöntemler üzerine yapılan araştırmalar, metal esaslı nanopartiküllerin (NP'ler) boyutu, morfolojisi, stabilitesi ve reaktivitesi gibi

fizikokimyasal özelliklerin, deneysel koşullardan, metal iyonları ile indirgeyici ajanlar arasındaki etkileşim kinetiğinden ve stabilize edici ajan ile metal arasındaki adsorpsiyon süreçlerinden güçlü bir şekilde etkilendiğini göstermektedir (Sharma ve ark., 2009). Yeşil sentez, mevcut koşullarda diğer yöntemlere göre daha düşük verimliliğe sahip olsa da, enerji ihtiyacının olmaması, çevre dostu koşullar ve toksik kimyasal ile çözücü kullanımının gerekmemesi gibi avantajları nedeniyle güvenli bir yöntem olarak yaygın şekilde tercih edilmektedir (Mohanpuria ve ark., 2008).

Oldukça kararlı ve iyi karakterize edilmiş nanopartiküller, biyolojik yöntemlerle üretildiğinde organizma türleri, hücre büyümesi, enzim aktivitesi, optik yoğunluk, reaksiyon koşulları ve uygun biyokatalizör gibi parametrelerin optimize edilmesiyle elde edilebilir (Shankar ve ark., 2004). Ayrıca, yeşil sentezle üretilen nanopartiküllerin, diğer yöntemlerle sentezlenenlere kıyasla daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir. Bu üstün antimikrobiyal etkinin, biyosentez sırasında nanopartiküllerin yüzey kaplanmasında ve stabilizasyonunda rol oynayan proteinlerin sinerjistik etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Roy ve ark., 2019).

Nanopartiküllerin elektronik, optik, manyetik ve katalitik gibi temel özellikleri, boyut ve şekilleri tarafından kontrol edilmektedir. Biyolojik sistemlerin sunduğu kolay kontrol edilebilirlik avantajı nedeniyle, nanopartiküllerin yeşil sentezi, kimyasal senteze göre daha uygun bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (Ghorbani ve ark., 2011).

#### **2.4.3.3. Bitki Ekstraktıyla Nanopartikül Sentezini Etkileyen Faktörler**

Nanopartiküllerin oluşumu ile metal iyonlarının indirgenme süreci; farklı biyoaktif moleküller içeren bir bitki ekstraktının içeriğinin yanı sıra, pH, sıcaklık, reaksiyon süresi, konsantrasyon ve bir metal iyonunun elektrokimyasal potansiyeli gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Makarov ve ark., 2014).

pH, nanopartikül sentezinde kritik bir parametredir. Metal iyonlarının indirgenme oranı ve oluşan nanopartiküllerin büyüklüğü, pH değerine bağlı olarak değişir. Genellikle, pH değeri arttıkça nanopartiküllerin boyutu küçülür ve daha homojen bir dağılım elde edilir. Örneğin, düşük pH değerlerinde (asitik ortam) metal iyonlarının indirgenmesi daha yavaş olur ve bu da daha büyük ve düzensiz şekilli nanopartiküllerin oluşumuna yol açar. Yüksek pH değerlerinde (alkalik ortam) ise indirgeme işlemi hızlanır ve daha küçük, monodispers nanopartiküller elde edilir (Iravani, 2011).

Sıcaklık ve reaksiyon süresi, nanopartikül sentezi sırasında önemli rol oynar. Genellikle, sıcaklık arttıkça metal iyonlarının indirgenme hızı artar ve nanopartikül oluşumu hızlanır. Ancak, çok yüksek sıcaklıklar, nanopartiküllerin aglomerasyonuna ve daha büyük partiküllerin oluşumuna neden olabilir. Optimum sıcaklık, belirli bir metal ve bitki ekstraktı kombinasyonu için deneysel olarak belirlenmelidir (Mittal ve ark., 2013).

Reaksiyon süresi de benzer şekilde önemli bir faktördür. Yeterli bir reaksiyon süresi, metal iyonlarının tamamen indirgenmesi ve stabil nanopartiküllerin oluşumu için gereklidir. Çok kısa bir reaksiyon süresi, tam indirgenme sağlamayabilirken, çok uzun bir süre, nanopartiküllerin aglomerasyonuna neden olabilir (Mittal ve ark., 2013).

Bitki ekstraktının miktarı, nanopartikül sentezinin verimliliğini ve elde edilen nanopartiküllerin özelliklerini etkiler. Ekstrakt miktarı, metal iyonlarının indirgenmesinde ve nanopartiküllerin stabilizasyonunda rol oynayan biyomoleküllerin konsantrasyonunu belirler. Genellikle, bitki ekstraktının miktarı arttıkça, indirgeme kapasitesi artar ve daha küçük ve homojen dağılımlı nanopartiküller elde edilir (Kharissova ve ark., 2013). Optimum ekstrakt miktarı, hem indirgeme etkinliği hem de nanopartiküllerin stabilitesi açısından dikkatlice ayarlanmalıdır (Rai ve ark., 2018).

Bitkilerin metal iyonlarını azaltma yeteneğinin sınırlı olduğu ve metal nanopartikül sentezinin verimliliğinin aynı zamanda metal iyonunun elektrokimyasal potansiyeline de bağlı olduğu düşünülmektedir. Daha kolay indirgenen iyonlar nanopartikül sentezi için daha uygun olup, bitkinin etkin indirgeme kapasitesi bu iyon için daha büyük olmaktadır (Haverkamp ve ark., 2009).

#### **2.4.2.4. Biyolojik Sentezde Kullanılan Biyolojik Ajanlar**

Nanopartiküllerin yeşil sentezi için mikroorganizmalar, mantar ve likenler, algler, bitkiler gibi biyolojik organizmaların hücre içi metabolitlerini içeren ham ekstraktlar veya saflaştırılmış enzimler, pigmentler ve polisakaritler gibi biyomoleküller indirgeyici ve stabilize edici ajanlar olarak kullanılabilir (Shah ve ark., 2015).

Nanopartiküllerin biyolojik sentezi, mikroorganizmalar tarafından üretilen enzimler ve proteinler gibi biyomoleküller aracılığıyla gerçekleşmektedir (Shah ve ark.,

2015). Mikroorganizmalar, metal iyonlarının oksidasyon durumunu değiştirerek bunları akümüle edebilmekte ve bu özellikleri sayesinde nanopartikül sentezi için önemli bir potansiyel sunmaktadır (Babitha ve ark., 2013).

Önceki çalışmalar, mikroorganizmaların hem hücre içi hem de hücre dışı ortamda nanopartikül oluşumunu sağladığını göstermiştir. Bu süreçlerde, ışık, besin, sıcaklık ve pH gibi faktörlerin optimize edildiği karmaşık koşullarda bakteri kültürleri hazırlanmakta ve nanopartikül sentezi gerçekleştirilmektedir (Shah ve ark., 2015).

Örneğin, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi bakteriler, gümüş ve altın nanopartiküllerinin biyosentezinde etkili ajanlar olarak bilinmektedir. Bu mikroorganizmalar, metal iyonlarını hücre dışına atarak veya hücre içi enzimler aracılığıyla nanopartiküllere dönüştürebilirler (Singh ve ark., 2016; Rai ve ark., 2018).

Hücre duvarında bulunan indirgeyici ajanları sayesinde nanopartikül sentezini gerçekleştiren mantarlar, enzim ve protein içeriği açısından oldukça zengindir (Shah ve ark., 2015). Özellikle saprofit mantarlar, yüksek miktarda nanopartikül üretimi yapma kapasitesine sahiptir (Arun ve ark., 2014). Mantarlar, bakterilere kıyasla daha ekonomik bir seçenek sunar ve nanopartiküllerin kullanımında yüksek akümülyasyon kapasitesi ile metal iyon toleransı gibi önemli avantajlar sağlar (Baskar ve ark., 2013). Sentez süreci boyunca proteinler ve enzimler, kaplayıcı ve indirgeyici ajan olarak etkin bir şekilde rol almaktadır.

Nanopartikül sentezinde kullanılan algler, düşük maliyetli, etkili ve çevre dostu olmaları nedeniyle tarım, ilaç, tıp ve kozmetik gibi çeşitli sektörlerde önemli bir rol oynamaktadır (Hulkoti ve ark., 2014). Özellikle deniz algleri, yağ, protein, fenolik bileşikler ve mineraller açısından oldukça zengindir. Alglerin içerdikleri hidroksil ve karboksil grupları, metallerin indirgenmesi ve kaplanmasında etkili olup nanopartikül sentezi için uygun bir yöntem sunmaktadır (Mahdavi ve ark., 2013).

Nanopartikül (NP) sentezinde işlemin kısa sürede tamamlanması, bitki ekstraktlarının kullanımıyla mümkün olmaktadır (Ajitha ve ark., 2015). Bitkisel sentez yöntemi, toksik maddelerin kullanılmaması ve yüksek sıcaklık ya da basınç gerektiren süreçlerde maliyetin ortadan kalkması nedeniyle büyük avantajlar sunar (Mittal ve ark., 2014). Ayrıca, bu yöntem oldukça kolay ve hızlı bir şekilde gerçekleştirildiği için diğer yöntemlere kıyasla daha üstün kabul edilmektedir (Fenfen ve ark., 2014).

Bitkisel sentez, ekonomik ve çevre dostu bir yaklaşım olarak kristallerin yapısını ve stabilitesini kontrol etme imkanı sağlar (Mittal ve ark., 2014). Bitkilerde bulunan proteinler, amino asitler, enzimler, polisakkaritler, fenolik bileşikler ve organik asitler gibi bileşikler, sentez süreci boyunca kaplayıcı ve indirgeyici ajanlar olarak işlev görmektedir (Makarov ve ark., 2014; Raut ve ark., 2014).

Ayrıca, bitki ekstraktının kullanılması nanopartiküllerin boyut ve morfolojik özelliklerini etkilediği de bilinmektedir (Kumar ve ark., 2009). Yeşil sentez işlemlerinde metal nanopartiküllerden en çok gümüş, altın, demir, titanyum ve talyum gibi metaller tercih edilmektedir (Patil Sp, 2022).

#### **2.4.2.5. Yeşil Sentez Yöntemiyle Çeşitli Nanomalzemelerin Üretilmesi**

##### **Gümüş Nanopartikülleri ve Yapılan Çalışmalar**

Gümüş (Ag), birçok hastalığın tedavisinde terapötik ajan olarak kullanılmaktadır. Gümüş nanopartikülleri (AgNP), hem aşağıdan yukarıya hem de yukarıdan aşağıya yaklaşımlar kullanılarak üretilmektedir (Ahmed ve ark., 2016). Ag NP üretimi için genellikle gümüş metal iyonu çözeltisi ve bir indirgeyici ajan gereklidir. Bu süreçte bitkiler, vitaminler, proteinler ve amino asitler gibi çeşitli biyolojik materyaller kullanılabilir. Üretilen nanopartiküllerin şekli, kullanılan indirgeyici ajan ve solventin içeriğine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Ayrıca, ortamın pH değeri nanopartiküllerin boyutunu önemli ölçüde etkileyebilmektedir.

AgNP'ler, antibakteriyel ve antimikrobiyal özellikleri sayesinde tıbbi alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, yüksek katalitik aktivite ve antioksidan özellikler sergilemeleri, kullanım alanlarını genişletmektedir (Singh ve ark., 2010). Kanser tedavisinde de etkinlikleri bilinmektedir. AgNP'lerin biyolojik sentez yöntemleriyle üretimi üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin, bazı bakteri türleri kullanılarak 140 nm'den daha küçük boyutta AgNP'ler üretilmiştir. Başka bir çalışmada, zeytin yaprakları kullanılarak üretilen AgNP'lerin antibakteriyel özellik gösterdiği bildirilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, Japon nanesi kullanılarak AgNP'ler üretilmiş ve kanser tedavisinde kullanım potansiyeli olduğu rapor edilmiştir (Han ve ark., 2022). Ayrıca, Iqbal ve arkadaşları "neem" ağacının yapraklarını kullanarak AgNP'ler üretmiş ve bu nanopartiküllerin gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı yüksek antidiyabetik özellik sergilediğini bildirmiştir (Iqbal ve ark., 2021).

### **Altın Nanopartikülleri ve Yapılan Çalışmalar**

Altın (Au), 1064°C erime noktasına ve 2808°C kaynama noktasına sahip olup, sıradışı iletkenlik özellikleri sergilemektedir (Parida ve ark., 2016). Ayrıca, biyoyumluluk, düşük toksisite, güçlü ışık saçılma ve absorpsiyon özellikleri gibi avantajlara sahiptir. Bu nitelikleri sayesinde altın, özellikle tıp alanında geniş bir kullanım alanı bulmaktadır. Altın metal iyonlarına indirgeyici ajan eklenerek kararlı altın nanopartikülleri (AuNP) elde edilebilmektedir (Begüm ve ark., 2009).

Bitki ekstraktlarında bulunan flavonoid ve fenoller, AuNP sentezinde önemli bir role sahiptir. Bu bileşenler sayesinde AuNP'ler üçgenel, küresel gibi farklı geometrik formlarda üretilebilmektedir (Ralph ve ark., 2008). Ayrıca, altın ve gümüş nanopartikülleri, ışık yayan diyotlar gibi elektronik cihazlarda kullanılmaktadır. AuNP üretiminde sardunya ve aloe vera gibi bitki ekstraktları başarıyla kullanılmıştır (Jadoun ve ark., 2021).

Bunun yanı sıra, bakteri ve algler de altın nanopartiküllerinin üretiminde doğal ajanlar olarak tercih edilmektedir. Amla, demirhindi ve mantar gibi doğal ajanlar, biyolojik sentez yöntemlerinde AuNP tozu üretiminde kullanılmaktadır. Bu yöntemle üretilen nanopartiküller, antibakteriyel, antioksidan ve antikanser özellikler göstermektedir. Altın nanopartikülleri, ağrı kesici özelliklere sahip olup, protein-protein etkileşimlerinin belirlenmesinde de rol oynamaktadır. AuNP üretiminde kullanılan diğer bitkisel ekstraktlara arabika kahve (Keijok ve ark., 2019), kraton bitkisi (Kumar ve ark., 2019) ve limon (Bhagat ve ark., 2020) örnek olarak verilebilir.

### **Bakır Nanopartikülleri ve Yapılan Çalışmalar**

Bakır (Cu) nanopartikülleri, genellikle fiziksel ve kimyasal yöntemlerle indirgenirken, bu süreçlerde organik çözücüler ve toksik indirgeyici ajanlar kullanılmaktadır (Cheirmadurani ve ark., 2014). Bakırın hızlı oksidasyona uğraması, kararlı nanopartiküllerin üretimini oldukça karmaşık bir hale getirmektedir. Bununla birlikte, Cu nanopartikülleri yüksek yüzey alanına sahip olduklarından, bakterilerle temas ettiklerinde geniş yüzey alanı nedeniyle yüksek antibakteriyel özellikler sergilerler.

Cu nanopartiküllerinin sentezinde bitki ekstraktları ve mikroorganizmaların kullanıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bakır, iyi bir iletken olması nedeniyle

genellikle elektronik cihazlarda kullanılır, ancak sentezlenen Cu nanopartiküllerinin saf bakıra kıyasla iletkenliği daha düşüktür (Mallikarjuna ve ark., 2011).

Karimi ve arkadaşları, aloe vera ekstraktı kullanarak Cu iyonlarını indirgemiş ve Cu nanopartikülleri üretmişlerdir. Çalışmalarında, UV ölçümleri sonucunda 578 nm pik değerinde, ortalama 40 nm boyutunda toz elde ettiklerini bildirmişlerdir (Karimi ve ark., 2015). Ayrıca, Cu<sup>2+</sup> iyonlarından *Cuscuta reflexa* bitkisi kullanılarak sentezlenen Cu nanopartikülleri, Grafen/MnO<sub>2</sub> yüzeyine immobilize edilmiştir (Naghdi ve ark., 2018).

Cheirmadurani ve arkadaşları, kına yaprağı ekstraktı kullanarak Cu nanopartiküllerini sentezlemiş ve bu nanopartikülleri kolajen lifleriyle birleştirerek nanobiyokompozit biyofilmler üretmişlerdir. Bu filmlerin, çeşitli elektronik cihazlarda kullanılmaya uygun olduğu belirtilmiştir (Cheirmadurani ve ark., 2014). Sastry ve arkadaşları ise limon ve demirhindi kullanarak 20-50 nm boyutunda Cu nanopartikülleri sentezlemişlerdir (Sastry ve ark., 2013).

### **Paladyum Nanopartikülleri ve Çalışmaları**

Paladyum (Pd) nanopartikülleri, paladyum iyonlarının indirgeyici ajanlar aracılığıyla indirgenmesi temel alınarak iyon değişimi, termal ve kimyasal bozunma gibi farklı yöntemlerle üretilmektedir. Pd nanopartiküllerinin üretiminde, kâfur ağacı, muz kabuğu, çay, soya ağacı yaprağı ve klorella gibi çeşitli ekstraktlar kullanılmıştır (Hussain ve ark., 2016). Ayrıca, çay ve kahve ekstraktları da Pd nanopartiküllerinin sentezinde başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Pervane çiçeği ekstraktında bulunan fenolik bileşikler sayesinde paladyum iyonları sıfır değerlikli Pd'a dönüştürülebilmektedir (Hussain ve ark., 2016; Kalaiselvi ve ark., 2015). Pd nanopartikülleri, yüksek katalitik aktivite göstermekte ve hidrojene karşı güçlü bir afinitesi bulunması nedeniyle dikkat çekmektedir.

### **Platin Nanopartikülleri ve Çalışmaları**

Hem paladyum (Pd) hem de platin (Pt), yüksek yoğunlukları ve değerli özellikleri nedeniyle pahalı metallerdir. Platin, ilaç üretimi ve dağıtımında kritik bir rol oynamaktadır. Özellikle sisplatin ve karboplatin gibi kemoterapi ilaçlarının geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, antimikrobiyal ajan olarak etkili bir şekilde kullanılmakta ve sensör uygulamalarında tercih edilmektedir (Al-Radadi ve ark., 2019).

## Çinko Oksit Nanopartikülleri ve Çalışmaları

Çinko oksit (ZnO), optik, elektronik ve biyomedikal gibi çeşitli alanlarda kullanılabilme potansiyeli sayesinde son yıllarda araştırmacıların ilgisini çeken bir malzemedir. ZnO nanopartiküllerinin sentezlenmesi ucuz, güvenli ve kolaydır. Yüksek bağlanma enerjisi ve geniş bant aralığı gibi özelliklere sahip olan ZnO nanopartikülleri, yüksek katalitik aktivite, UV koruma ve yara iyileştirici özellikler sergileyerek optik ve biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle biyomedikal alanda antifungal, antibakteriyel ve antidiyabetik özellikleri ile dikkat çekmektedir.

Genellikle çinko oksit, çinko sülfat, çinko asetat veya çinko nitrat gibi çinko bileşikleri, bitki ekstraktları ile karıştırılarak ZnO nanopartikülleri elde edilmektedir. Solüsyonda oluşan renk değişikliği nanopartikül oluşumunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bakteri kullanılarak ZnO nanopartiküllerinin sentezi zaman alıcıdır ve algler ile üretimine dair sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Literatürde, ZnO nanopartiküllerinin *Bacillus licheniformis* ve *Lactobacillus plantarum* gibi mikroorganizmalar kullanılarak üretildiği rapor edilmiştir (Agarwal ve ark., 2017). Ayrıca, ZnO nanopartikülleri altın yağmur sinamekisi, tesbih ağacı, papatya, zeytin yaprağı ve domates gibi çeşitli bitki ekstraktları ile de sentezlenmiştir (Naseer ve ark., 2020).

## Titanyum Dioksit ve Çalışmaları

Titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>) nanopartikülleri, yüzey kimyası ve morfolojik özellikleri nedeniyle yoğun ilgi görmekte ve antimikrobiyal, antibakteriyel ve antifungal özellikler sergilemektedir. Ayrıca, yüksek fotokatalitik aktivite göstermesiyle öne çıkmaktadır. TiO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin toksik özellik taşımayan biyolojik yöntemlerle üretilmesi, çevre dostu ve güvenli bir yaklaşım sunarak daha uygun bir seçenek olarak kabul edilmektedir.

Şimdiye kadar TiO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin sentezi için çeşitli bitki ekstraktları ve uygulamalar kullanılmıştır. Örneğin, yapılan bir çalışmada pervane çiçeği kullanılarak, düzensiz morfolojiye sahip ve 25-110 nm boyutunda nanopartiküllerin üretildiği rapor edilmiştir (Goutam ve ark., 2018).

## 2.5. Nanopartikül Karakterizasyon Teknikleri

### 2.5.1. UV-Vis Spektroskopisi

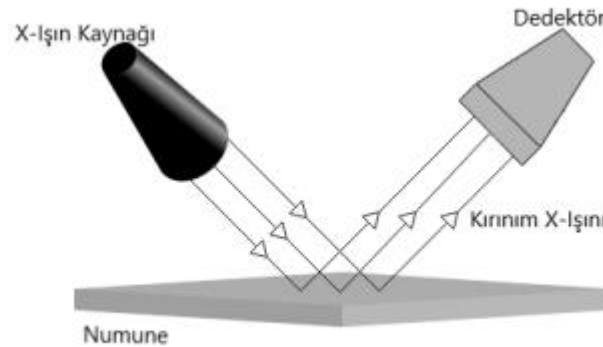
Nanomalzemelerin optik özelliklerini incelemek için kullanılır. Bu teknik, ultraviyole ve görünür ışık spektrumundaki ışığın numune tarafından absorbe edilme miktarını ölçer. Nanomalzemelerin boyutu, şekli ve yüzey özellikleri, UV-Vis spektrumunda belirgin absorpsiyon bantları oluşturur. Bu bantlar, nanomalzemelerin plasmon rezonansı ve diğer optik özellikleri hakkında bilgi sağlar (Skoog ve ark., 2007).

### 2.5.2. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Nanopartiküllerin kimyasal bileşimini ve fonksiyonel gruplarını belirlemek için kullanılır. Bu teknik, moleküllerin farklı frekanslardaki kızılötesi ışığı nasıl absorbe ettiğini ölçer ve bu absorpsiyon spektrumunu analiz eder. FTIR, nanopartiküllerin yüzey kimyasını ve kaplama maddelerini karakterize etmek için yaygın olarak kullanılır (Stuart, 2004).

### 2.5.3. X-Işını Difraksiyonu (XRD)

Nanopartiküllerin kristal yapısını ve faz bileşenlerini belirlemek için kullanılır. Bu teknik, X-ışınlarının bir numuneye çarpması ve numunenin atomik yapısına göre saçılması prensibine dayanır. XRD, nanopartiküllerin kristal yapılarını ve faz bileşimlerini belirlemenin yanı sıra kristal boyutlarını da hesaplayabilir (Cullity ve Stock, 2001).



Şekil 2.6. Genel XRD çalışma şeması (Cullity ve Stock 2001).

#### 2.5.4. Elektron Mikroskopisi

**Elektron mikroskopisi**, nanopartiküllerin morfolojisini ve boyut dağılımını incelemek için kullanılan güçlü bir tekniktir. İki ana türü vardır:

**Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM):** SEM, yüksek çözünürlüklü görüntüler elde etmek için elektron ışınları kullanır. Bu teknik, nanopartiküllerin yüzey morfolojisini ve boyut dağılımını incelemek için idealdir. SEM, yüzey pürüzlülüğü ve partikül şekilleri hakkında detaylı bilgi sağlar (Goldstein ve ark., 2003).

**Geçirgen Elektron Mikroskopisi (TEM):** TEM, elektronların bir numuneden geçmesiyle görüntü oluşturur ve atomik çözünürlükte görüntüler sağlar. TEM, nanopartiküllerin iç yapısını ve kristal yapılarını incelemek için kullanılır. Ayrıca, TEM ile yapılan enerji dağılımı spektroskopisi (EDS), nanopartiküllerin kimyasal bileşimini analiz etmeye yardımcı olur (Egerton, 2011).

#### 2.5.5. Atomik Kuvvet Mikroskopisi

Yüzey topografisini ve fiziksel özellikleri nanometre ölçeğinde incelemek için kullanılan bir tekniktir. AFM, bir numunenin yüzeyi boyunca hareket eden keskin bir prob kullanarak yüzeyin üç boyutlu bir haritasını oluşturur. Bu teknik, nanopartiküllerin boyutunu, şeklini ve yüzey pürüzlülüğünü belirlemek için idealdir (Binnig ve ark., 1986).

#### 2.5.6. Dinamik Işık Saçılması (DLS)

Nanopartiküllerin hidrodinamik çapını ve boyut dağılımını belirlemek için kullanılan bir tekniktir. Bu teknik, partiküllerin çözeltideki Brown hareketi nedeniyle ışığı nasıl saçtığını analiz eder. DLS, özellikle sulu çözeltilerdeki nanopartiküllerin karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılır ve hızlı sonuçlar sağlar (Berne ve Pecora, 2000).

#### 2.5.7. Yüzey Plazmon Rezonansı (SPR)

Nanopartiküllerin yüzey etkileşimlerini incelemek için kullanılan bir tekniktir. Bu teknik, yüzey plazmonlarının ışıkla uyarılması sonucunda oluşan rezonans sinyalinin ölçer. SPR, özellikle biyosensörlerin geliştirilmesinde ve nanopartiküllerin biyolojik sistemlerle etkileşimlerini incelemek için kullanılır (Homola, 2008).

### 2.5.8. Zeta Potansiyel Analizi

Nanopartiküllerin yüzey yükünü ve elektrokinetik potansiyelini belirlemek için kullanılan bir tekniktir. Zeta potansiyeli, partiküllerin stabilitesi ve dispersiyon özellikleri hakkında bilgi verir. Yüksek zeta potansiyeli değerleri, partiküllerin elektrostatik olarak stabilize olduğunu gösterirken, düşük zeta potansiyeli değerleri, aglomerasyon riskinin yüksek olduğunu belirtir (Hunter, 1981).

### 2.5.9. Termal Analiz Teknikleri

Nanopartiküllerin termal özelliklerini incelemek için kullanılır. Bu teknikler arasında **Termogravimetrik Analiz (TGA)** ve **Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)** bulunur.

**Termogravimetrik Analiz (TGA):** TGA, bir numunenin ısıtılması sırasında kütle değişimlerini ölçer. Bu teknik, nanopartiküllerin termal stabilitesini ve bileşimlerini belirlemek için kullanılır (Craig, 2002).

**Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC):** DSC, bir numunenin ısıtılması veya soğutulması sırasında enerji değişimlerini ölçer. Bu teknik, nanopartiküllerin erime noktalarını, kristalizasyon sıcaklıklarını ve diğer termal özelliklerini belirlemek için kullanılır (Höhne ve ark., 2003).

## 2.6. Nanopartiküllerin Uygulama Alanları

### 2.6.1. Tıp ve Biyoteknoloji

Nanopartiküller, tıpta tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde büyük bir potansiyele sahiptir. Özellikle ilaç taşıma sistemlerinde, kanser tedavisinde, görüntüleme tekniklerinde ve biyosensörlerde kullanılmaktadırlar. Nanopartiküller, ilaçların hedef hücrelere spesifik olarak iletilmesini sağlayarak yan etkileri minimize eder ve tedavi etkinliğini artırır (Zhang & Gu, 2013). Ayrıca, bilgisayarlı tomografi (CT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRI) gibi görüntüleme tekniklerinde kontrast ajanı olarak kullanılabilirler (Lammers & Kiessling, 2014).

Örneğin, demir oksit nanopartikülleri, manyetik özellikleri sayesinde MRI kontrast ajanı olarak kullanılmakta ve kanser hücrelerinin erken teşhisinde büyük rol oynamaktadır (Sun, Lee & Zhang, 2008). Ayrıca, altın nanopartiküller, yüzey plazmon

rezonansı özellikleri nedeniyle kanser hücrelerinin tespitinde ve fototermal tedavide kullanılmaktadır (Jain, Hirst & O'Sullivan, 2012).

### 2.6.2. Elektronik ve Bilgi Teknolojileri

Nanopartiküller, elektronik cihazların performansını artırmak ve yeni nesil elektronik malzemeler geliştirmek için kullanılmaktadır. Özellikle, yarı iletken nanopartiküller, kuantum noktaları ve karbon nanotüpler, elektronik devrelerde ve ekran teknolojilerinde devrim yaratmaktadır (Wang & Herron, 1991). Kuantum noktaları, yüksek parlaklık ve renk doğruluğu sunarak, LED ekranlar ve güneş panelleri gibi uygulamalarda kullanılmaktadır (Klimov, 2003).

Örneğin, silisyum nanopartiküller, yüksek verimliliğe sahip güneş hücrelerinin üretiminde kullanılmaktadır (Brabec et al., 2005). Ayrıca, gümüş nanopartiküller, yüksek iletkenlikleri sayesinde esnek elektronik cihazlar ve RFID etiketleri gibi uygulamalarda kullanılmaktadır (Khan & Lorenzelli, 2015).

### 2.6.3. Çevre Bilimleri

Nanopartiküller, çevre kirliliğinin azaltılması ve doğal kaynakların korunması için de önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle, su arıtma sistemlerinde ve hava kirliliği kontrolünde etkili çözümler sunmaktadırlar. Nanopartiküller, kirleticilerin adsorpsiyonunu ve bozunmasını sağlayarak, su ve hava kalitesini iyileştirmektedir (Savage & Diallo, 2005).

Örneğin, titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>) nanopartikülleri, fotokatalitik özellikleri sayesinde su arıtma sistemlerinde kullanılmakta ve organik kirleticilerin parçalanmasını sağlamaktadır (Fujishima & Honda, 1972). Ayrıca, gümüş nanopartiküller, antibakteriyel özellikleri sayesinde su arıtma filtrelerinde kullanılmakta ve mikroorganizmaların büyümesini engellemektedir (Chaloupka, Malam & Seifalian, 2010).

### 2.6.4. Enerji

Nanopartiküller, enerji üretimi ve depolanması alanında da önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle, güneş enerjisi ve batarya teknolojilerinde yenilikçi çözümler sunmaktadırlar. Nanopartiküller, güneş hücrelerinin verimliliğini artırarak, daha fazla enerji üretimini mümkün kılar (Lewis, 2007). Ayrıca, lityum-iyon bataryalarda, enerji

depolama kapasitesini artırmak için kullanılmaktadırlar (Bruce, Scrosati & Tarascon, 2008).

Örneğin, grafen nanopartiküller, yüksek iletkenlikleri ve mekanik dayanımları sayesinde, lityum-iyon bataryaların performansını artırmaktadır (Novoselov ve Geim, 2007). Ayrıca, perovskit nanopartikülleri, güneş hücrelerinin verimliliğini artırmak ve maliyetlerini düşürmek için kullanılmaktadır (Jeong ve Park, 2016).

### **2.6.5. Tarım**

Nanopartiküller, tarımda bitki büyümesini teşvik etmek ve hastalıklarla mücadele etmek için kullanılmaktadır. Özellikle, gübre ve pestisit formülasyonlarında, bitkilerin besin alımını artırmak ve çevresel etkileri minimize etmek için kullanılmaktadırlar (Nair ve ark., 2010). Nanopartiküller, bitkilerin kökleri tarafından daha kolay absorbe edilerek, bitki büyümesini hızlandırır ve verimliliği artırır.

Örneğin, çinko oksit nanopartikülleri, bitki büyümesini teşvik eden ve hastalıklarla mücadele eden özelliklere sahiptir (Wang ve Zhang, 2012). Ayrıca, gümüş nanopartiküller, antimikrobiyal özellikleri sayesinde bitki hastalıklarının kontrolünde etkili bir rol oynamaktadır (Chaloupka, Malam ve Seifalian, 2010).

### **2.7. Antimikrobiyal Aktivite**

Nanopartiküller, mikroorganizmalara karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteleri ile dikkat çekerler. Gümüş nanopartiküllerin (AgNPs) yanı sıra, diğer metal ve metal oksit nanopartiküller de (örneğin, altın, bakır, çinko oksit, titanyum dioksit) güçlü antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Bu nanopartiküller, biyomedikal uygulamalardan su arıtımına kadar geniş bir kullanım yelpazesini sunar.

#### **2.7.1. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesini Etkileyen Faktörler**

Nanopartiküller, özellikle gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), geniş spektrumlu antimikrobiyal özellikleri nedeniyle tıbbi, gıda güvenliği ve çevre koruma gibi birçok alanda önemli uygulamalara sahiptir. Nanopartiküllerin antimikrobiyal etkinliği, çeşitli faktörler tarafından belirlenir. Bu faktörler arasında boyut, şekil, yüzey özellikleri, kaplama maddeleri, konsantrasyon ve çevresel koşullar yer alır.

### **2.7.1.1. Nanopartiküllerin Boyutu**

Nanopartiküllerin boyutu, antimikrobiyal aktivitelerinde kritik bir rol oynar. Genel olarak, daha küçük nanopartiküller daha büyük yüzey alanı sağlar ve mikroorganizmalarla daha fazla etkileşime girer. Bu durum, antimikrobiyal etkinliği artırır. Örneğin, 10 nm boyutundaki gümüş nanopartiküllerin, daha büyük boyutlu nanopartiküllere göre daha etkili olduğu gösterilmiştir (Morones ve ark., 2005). Küçük nanopartiküller, hücre zarını kolayca geçebilir ve hücre içi hedeflerle etkileşime girerek mikrobiyal hücrelerin işlevlerini bozabilir.

### **2.7.1.2. Nanopartiküllerin Şekli**

Nanopartiküllerin şekli de antimikrobiyal aktivitelerini etkileyen önemli bir faktördür. Küresel, çubuk, üçgen ve yıldız şeklindeki nanopartiküller, mikroorganizmalar üzerinde farklı etkilere sahip olabilir. Örneğin, üçgen şeklindeki gümüş nanopartiküllerin, küresel olanlara göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Pal ve ark., 2007). Bu farklılık, şeklin mikroorganizmaların hücre zarına bağlanma ve hücre içine giriş mekanizmalarını etkilemesinden kaynaklanabilir.

### **2.7.1.3. Yüzey Özellikleri ve Kaplama Maddeleri**

Nanopartiküllerin yüzey özellikleri ve kaplama maddeleri, antimikrobiyal etkinliklerini doğrudan etkiler. Yüzey modifikasyonu, nanopartiküllerin kararlılığını artırabilir, hedef hücrelerle etkileşimlerini değiştirebilir ve toksisiteyi azaltabilir. Örneğin, polietilen glikol (PEG) ile kaplanmış nanopartiküller, biyoyumluluğu artırırken, antimikrobiyal etkinliği koruyabilir (Zhang ve ark., 2013). Ayrıca, nanopartiküllerin yüzey yükü, mikrobiyal hücre zarları ile etkileşimlerini etkileyebilir. Pozitif yüklü nanopartiküller, negatif yüklü bakteri hücre zarları ile elektrostatik çekim yoluyla daha güçlü etkileşime girebilir.

### **2.7.1.4. Konsantrasyon**

Nanopartiküllerin antimikrobiyal etkinliği, konsantrasyonlarına bağlı olarak değişir. Daha yüksek konsantrasyonlar genellikle daha güçlü antimikrobiyal etki gösterir. Ancak, yüksek konsantrasyonlar aynı zamanda toksisite riskini de artırabilir. Bu nedenle, optimal antimikrobiyal etkinlik için uygun konsantrasyonların belirlenmesi önemlidir.

Liu ve ark. (2010) çalışmasında, farklı konsantrasyonlarda gümüş nanopartiküllerin *E. coli* üzerindeki etkilerini incelemiş ve en etkili konsantrasyon aralığını belirlemiştir.

### 2.7.1.5.Çevresel Koşullar

Çevresel koşullar, nanopartiküllerin antimikrobiyal etkinliğini etkileyen diğer önemli faktörlerdir. pH, sıcaklık, ve iyonik güç gibi faktörler, nanopartiküllerin stabilitesini ve mikroorganizmalarla etkileşimini değiştirebilir. Örneğin, düşük pH değerlerinde gümüş iyonlarının serbest bırakılması hızlanabilir ve bu da antimikrobiyal etkinliği artırabilir (Zhao ve Stevens, 1998). Benzer şekilde, sıcaklık artışı, nanopartiküllerin difüzyon hızını ve mikrobiyal hücre zarları ile etkileşimlerini etkileyebilir.

### 2.7.2. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktiviteleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Gümüş nanopartiküller, en yaygın kullanılan antimikrobiyal nanopartiküllerdendir. Gümüş iyonları, bakterilerin hücre zarlarına bağlanarak hücre duvarlarını bozar ve hücre içi enzimlerle etkileşime girerek protein fonksiyonlarını bozar. Bu, hücre ölümüne yol açar. Gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), reaktif oksijen türleri (ROS) üreterek oksidatif strese neden olur ve bu mekanizma yoluyla DNA replikasyonunu engelleyerek hücrelerin işlevlerini bozabilir. (Banerjee ve ark., 2014; Bao ve ark., 2015). Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen AgNP'ler, çevre dostu ve etkili antimikrobiyal ajanlardır (Pratap-Singh ve Kandasamy, 2020).

Altın nanopartiküller, biyolojik olarak uyumlu ve kararlı olmaları nedeniyle dikkat çeker. AuNP'ler, genellikle biyomoleküller ile işlevsel hale getirilerek antibakteriyel özelliklerini artırır. AuNP'ler, bakteri hücre zarlarına bağlanarak zarın geçirgenliğini bozar ve hücre içi bileşenlerin sızmasına neden olur (Dykman ve Khlebtsov, 2012). Ayrıca, AuNP'ler, antibiyotiklerle kombine edildiğinde sinerjistik etkiler gösterir, bu da antibiyotik direncinin üstesinden gelmeye yardımcı olabilir (Shahverdi ve ark., 2007).

Bakır nanopartiküller, güçlü antimikrobiyal özellikleri sayesinde bakterilere, mantarlara ve virüslere karşı etkili bir şekilde mücadele edebilir. CuNP'ler, bakteri hücre zarlarını okside eder ve hücre içi bileşenlerin bozulmasına neden olur. Ayrıca, bakır iyonları DNA'ya bağlanarak replikasyonu inhibe eder (Cioffi ve ark., 2005). CuNP'ler, su arıtma ve tarımsal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Ren ve ark., 2009).

Çinko oksit nanopartiküller, geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite gösterir ve hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilere karşı etkili bir şekilde kullanılabilir. ZnO NPs, hücre zarında lipid peroksidasyonuna ve hücre içi proteinlerin denatürasyonuna neden olarak hücre ölümüne yol açar (Raghupathi ve ark., 2011). Ayrıca, ZnO NPs, ultraviyole ışık altında fotokatalitik aktivite gösterir, bu da onların dezenfeksiyon uygulamalarında kullanılmasını sağlar (Jones ve ark., 2008).

Titanyum dioksit nanopartiküller, özellikle fotokatalitik aktiviteleri ile bilinir. TiO<sub>2</sub> NPs, UV ışığı altında reaktif oksijen türleri üretir ve bu da mikroorganizmaların hücre zarlarını ve DNA'sını okside eder (Maness ve ark., 1999). TiO<sub>2</sub> NPs, su arıtma ve yüzey dezenfeksiyonu gibi çevresel uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Gao ve ark., 2012).

Diğer metal nanopartiküller, örneğin magnezyum oksit (MgO) ve demir oksit (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanopartiküller, antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. MgO NPs, hücre zarında porlar oluşturarak bakterilerin hücre içeriğinin sızmasına neden olur (Sawai ve ark., 2003). Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NPs ise genellikle manyetik özellikleri nedeniyle biyomedikal uygulamalarda kullanılır ve antimikrobiyal kaplamalar için idealdir (Berry ve Curtis, 2003).

Sonuç olarak, çeşitli metal ve metal oksit nanopartiküller, geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteleri ile biyomedikal ve çevresel uygulamalarda büyük potansiyele sahiptir.

## **2.8. Sitotoksik Aktivite**

Nanopartiküller, sadece antimikrobiyal aktiviteleriyle değil, aynı zamanda sitotoksik özellikleriyle de dikkat çekerler. Metal nanopartiküller, özellikle gümüş (AgNPs), altın (AuNPs), bakır (CuNPs), çinko oksit (ZnONPs) ve titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub> NPs) nanopartiküller, çeşitli hücre hatlarında sitotoksik etkiler gösterebilirler. Bu nanopartiküller, biyomedikal uygulamalarda önemli potansiyel taşımaktadır.

### **2.8.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Hücre Hatlarının Genel Özellikleri**

#### **HeLa Hücre Hattı**

HeLa hücre hattı, insan rahim ağzı adenokarsinom hücrelerinden türetilmiş ve ilk kez 1951 yılında Henrietta Lacks adlı bir hastadan izole edilmiştir. HeLa hücreleri,

laboratuvar ortamında sınırsız bölünme kapasitesine sahip olmaları nedeniyle "ölümsüz" hücreler olarak tanımlanır. Bu özellikleri, telomeraz enziminin aşırı aktivitesinden kaynaklanmaktadır (Gey ve ark., 1952).

HeLa hücreleri, kanser biyolojisinin yanı sıra viroloji (örneğin, poliovirüsün çoğaltılması), genetik çalışmalar ve ilaç tarama platformlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Scherer ve ark., 1953). Ancak, HeLa hücrelerinin diğer hücre hatlarıyla kontaminasyonu, kanser araştırmalarındaki sonuçların güvenilirliğini etkileyebilecek önemli bir sorundur (Masters 2002).

### **HT-29 Hücre Hattı**

HT-29 hücre hattı, insan kolon adenokarsinom hücrelerinden türetilmiştir ve gastrointestinal sistemle ilgili kanser çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (Fogh ve ark., 1977). Bu hücreler, normal bağırsak epitel hücrelerine benzer özellikler göstermekte ve farklılaşma süreçlerini incelemek için kullanılmaktadır. Örneğin, bütirat veya galaktoz gibi faktörlerle muamele edildiğinde enterosit benzeri bir fenotip kazanabilirler (Pinto ve ark., 1983).

HT-29 hücreleri ayrıca p53 tümör baskılayıcı genindeki mutasyonlar nedeniyle apoptoz mekanizmalarını anlamak için değerli bir modeldir (Leibovitz ve ark., 1976). Bu hücre hattı, özellikle bağırsak kanserine yönelik yeni ilaçların test edilmesinde önemli bir yere sahiptir.

### **L9-29 Hücre Hattı**

L929 hücre hattı, fare (*Mus musculus*) bağ dokusundan türetilmiş fibroblast hücrelerinden oluşur ve biyomedikal araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Kılıç et al., 2021). Bu hücreler adherent özellik gösterir ve genellikle %10 fetal bovin serumu içeren Dulbecco'nun Modifiye Eagle Besiyeri (DMEM) kullanılarak, %5 CO<sub>2</sub> atmosferinde ve 37°C'de kültüre edilir (Kılıç ve ark., 2021).

L929 hücreleri, sitotoksisite testlerinde çeşitli kimyasal maddelerin ve ilaçların etkilerini değerlendirmek için sıklıkla tercih edilir. Örneğin, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ile indüklenen oksidatif stres modellerinde kullanılarak, antioksidan bileşiklerin koruyucu etkileri araştırılmıştır (Çelik ve Aydın, 2013). Bu özellikleri, oksidatif stresin hücre üzerindeki etkilerinin anlaşılmasına ve antioksidan ajanların etkinliğinin değerlendirilmesine olanak tanır.

Ayrıca, L929 hücre hattı, DNA hasarı ve onarım mekanizmalarının incelenmesinde de önemli bir rol oynar. Topoizomeraz II inhibitörü olan etopositin, L929 hücrelerinde çift zincir DNA kırıkları oluşturduğu ve apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Erdoğan ve Kaya, 2013). Bu tür çalışmalar, DNA onarım mekanizmalarının ve gen ekspresyon değişikliklerinin detaylı bir şekilde anlaşılmasına katkı sağlamaktadır.

L929 hücre hattı, yara iyileşmesi modellerinde de kullanılmaktadır. Fibroblast hücreleri olarak, hücresel proliferasyon ve göç mekanizmaları üzerinde çalışılarak, yara iyileşmesi süreçlerinin moleküler detayları aydınlatılmaktadır (Kılıç ve ark., 2021). Bu çalışmalar, yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesine ışık tutmaktadır.

### **Hücre Hatlarının Kanser Araştırmalarındaki Önemi**

Bu hücre hatları, kanserin moleküler biyolojisini anlamak, ilaç taramaları gerçekleştirmek ve yeni tedavi stratejileri geliştirmek için vazgeçilmez araçlardır. Ancak, her hücre hattının spesifik özellikleri ve sınırlamaları bulunduğu için doğru model seçimi büyük önem taşır (Capes-Davis A ve ark., 2010). Ayrıca, hücre hatlarının uzun süreli kültürü sırasında genetik ve fenotipik değişiklikler meydana gelebilir, bu da sonuçların geçerliliğini etkileyebilir.

#### **2.8.2. Nanopartiküllerin Sitotoksik Aktivitesini Etkileyen Faktörler**

Nanopartiküllerin biyolojik sistemde etkileri, özellikle sitotoksikite potansiyeli, dikkatle incelenmelidir. Nanopartiküllerin sitotoksik aktivitesini etkileyen çeşitli faktörler vardır.

##### **2.8.2.1. Nanopartiküllerin Boyutu**

Nanopartiküllerin boyutu, sitotoksik aktivitelerinde kritik bir rol oynar. Genel olarak, daha küçük nanopartiküller, hücre zarlarından geçme ve hücre içi bileşenlerle etkileşime girme konusunda daha yeteneklidir. Bu durum, daha küçük nanopartiküllerin daha yüksek sitotoksikiteye sahip olabileceği anlamına gelir. Örneğin, 10 nm'den küçük gümüş nanopartiküllerin, daha büyük boyutlu nanopartiküllere göre daha yüksek sitotoksikite gösterdiği bulunmuştur (Choi ve ark., 2011). Küçük nanopartiküller, hücre içi organellere kolayca nüfuz edebilir ve mitokondri gibi kritik yapıların fonksiyonlarını bozabilir.

### 2.8.2.2. Nanopartiküllerin Şekli

Nanopartiküllerin şekli, biyolojik sistemlerdeki davranışlarını ve toksisitelerini etkiler. Küresel, çubuk, üçgen ve yıldız şeklindeki nanopartiküller, hücrelerle farklı şekillerde etkileşime girer. Üçgen ve çubuk şeklindeki nanopartiküllerin, küresel nanopartiküllere göre daha yüksek sitotoksik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Powers ve ark., 2006). Bu farklılık, şeklin hücre zarına bağlanma ve hücre içine giriş mekanizmalarını etkilemesinden kaynaklanabilir.

### 2.8.2.3. Yüzey Özellikleri ve Kaplama Maddeleri

Nanopartiküllerin yüzey kimyası ve kaplama maddeleri, sitotoksik aktivitelerini önemli ölçüde etkiler. Yüzey modifikasyonu, nanopartiküllerin biyolojik sistemlerdeki stabilitesini artırabilir, hücrelerle etkileşimlerini değiştirebilir ve toksisiteyi azaltabilir. Örneğin, polietilen glikol (PEG) ile kaplanmış nanopartiküller, biyouyumluluğu artırırken, sitotoksik etkiyi azaltabilir (Alkilany ve Murphy, 2010). Ayrıca, nanopartiküllerin yüzey yükü, hücre zarları ile etkileşimlerini etkileyebilir. Pozitif yüklü nanopartiküller, negatif yüklü hücre zarları ile daha güçlü elektrostatik etkileşimlere sahip olabilir ve bu da sitotoksisiteyi artırabilir.

### 2.8.2.4. Konsantrasyon

Nanopartiküllerin sitotoksik etkisi, konsantrasyonlarına bağlı olarak değişir. Yüksek konsantrasyonlar genellikle daha yüksek sitotoksik etki gösterir. Ancak, bu aynı zamanda hücreler üzerindeki zarar verici etkilerin artmasına da neden olabilir. Bu nedenle, nanopartiküllerin biyolojik uygulamalarda kullanımı için optimal konsantrasyonların belirlenmesi önemlidir (Park ve ark., 2011).

### 2.8.2.5. Çevresel Koşullar

Çevresel koşullar, nanopartiküllerin sitotoksik etkilerini belirleyen diğer önemli faktörlerdir. pH, sıcaklık ve iyonik güç gibi faktörler, nanopartiküllerin stabilitesini ve hücrelerle etkileşimlerini etkileyebilir. Örneğin, düşük pH değerlerinde nanopartiküllerin çözünürlüğü artabilir ve bu da hücrelerdeki toksik etkilerin artmasına neden olabilir (Zhao ve Stevens, 1998). Benzer şekilde, sıcaklık artışı, nanopartiküllerin difüzyon hızını ve hücrelerle etkileşimlerini etkileyebilir.

### 2.8.2.6. Hücre Tipi

Nanopartiküllerin sitotoksik etkileri, etkileşimde oldukları hücre tipine bağlı olarak değişebilir. Farklı hücre tipleri, nanopartiküllere karşı farklı duyarlılıklar gösterebilir. Örneğin, insan akciğer hücreleri ile fare böbrek hücrelerinin nanopartiküllere karşı farklı sitotoksik yanıtlar verdiği gösterilmiştir (Hussain ve ark., 2009). Bu farklılıklar, hücre zarının bileşimi, hücre içi mekanizmalar ve hücrelerin savunma mekanizmaları ile ilişkilidir.

### 2.8.2.7. Sitotoksikite Değerlendirme Yöntemleri

Nanopartiküllerin sitotoksik etkilerini değerlendirmek için çeşitli biyokimyasal ve hücresel testler kullanılır. MTT testi, LDH serbest bırakma testi ve akış sitometrisi gibi yöntemler, hücre canlılığı, membran bütünlüğü ve hücre ölümünü ölçmek için yaygın olarak kullanılır (Wang ve ark., 2013). Bu testler, nanopartiküllerin hücre üzerindeki olumsuz etkilerini belirlemek için güvenilir yöntemler sağlar.

### 2.8.3. Nanopartiküllerin Sitotoksik Aktiviteleri ile Yapılan Çalışmalar

Gümüş nanopartiküller (AgNPs), hücre içi oksidatif stresi artırarak sitotoksik etki gösterir. AgNP'ler, reaktif oksijen türleri (ROS) üretir ve bu da hücre zarında lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına yol açar. Özellikle insan meme kanseri hücre hatları (MCF-7) üzerinde yapılan çalışmalar, AgNP'lerin hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini ve apoptosisi indüklediğini göstermiştir (Bao ve ark., 2015). Ayrıca, *Papaver rhoeas* yaprak ekstraktı kullanılarak sentezlenen AgNP'ler, kolon kanseri (CACO-2), meme kanseri (MCF-7) ve glioblastoma (T98-G) hücre hatlarında yüksek sitotoksik etki göstermiştir (Almuhayawi ve ark., 2023).

Altın nanopartiküller (AuNPs) ise biyouyumlu olmaları ve düşük toksisiteleri nedeniyle dikkat çeker. AuNP'ler, genellikle yüzey modifikasyonları ile biyolojik hedeflere spesifik hale getirilir. Proanthocyanidin kullanılarak sentezlenen AuNP'ler, kolon kanseri (COLO320DM) ve rektum kanseri (HT29) hücre hatlarında güçlü sitotoksik aktiviteler göstermiştir (Raju ve ark., 2023). Altın nanopartiküller ayrıca hücre proliferasyonunu inhibe eder ve apoptosisi indükler (Pratap-Singh ve Kandasamy, 2020).

Bakır nanopartiküller (CuNPs), hücre zarlarını okside ederek hücre ölümüne yol açar. CuNP'ler, DNA'ya bağlanarak replikasyonu inhibe eder ve hücre içi bileşenlerin

bozulmasına neden olur (Cioffi ve ark., 2005). Bu nanopartiküller, özellikle kanser tedavisinde kullanılmak üzere araştırılmaktadır (Ren ve ark., 2009).

Çinko oksit nanopartiküller (ZnO NPs), hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilere karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite gösterir. ZnO NPs, hücre zarında lipid peroksidasyonuna ve hücre içi proteinlerin denatürasyonuna neden olarak hücre ölümüne yol açar. Ayrıca, ZnO NPs, kolon kanseri hücre hatlarında (HCT116) apoptosisi indükleyerek sitotoksik etki gösterir (Raghupathi ve ark., 2011).

Titanyum dioksit nanopartiküller (TiO<sub>2</sub> NPs), UV ışığı altında reaktif oksijen türleri üretir ve bu da mikroorganizmaların hücre zarlarını ve DNA'sını okside eder. TiO<sub>2</sub> NPs, kanser hücrelerinde sitotoksik etki göstererek hücre proliferasyonunu inhibe eder ve apoptosisi indükler (Maness ve ark., 1999).

## 2.9. Lamiacea Familyası

Lamiaceae, bilinen adıyla "Ballıbabagiller" yaklaşık 236 cins ve 7.200'den fazla tür içeren geniş bir bitki familyasıdır. Bu familya, özellikle aromatik bitkiler ve tıbbi bitkiler açısından zengin olmasıyla tanınır (Harley ve ark., 2004). Lamiaceae familyasının üyeleri dünya genelinde yaygın olarak bulunur ve özellikle Akdeniz Bölgesi, Orta Asya ve Kuzey Amerika'da çeşitlilik gösterir

Lamiaceae familyasına ait bitkiler genellikle otsu bitkiler, çalılar ve nadiren küçük ağaçlar olarak bulunur. Bu bitkilerin çoğu dört köşeli gövdeye sahiptir ve bu gövde yapısı familyanın karakteristik özelliklerinden biridir. Yapraklar genellikle karşılıklı ve basit yapıdadır, fakat bazı türlerde yapraklar tüylü veya dişlidir. Çiçekler, genellikle iki dudaklı (bilabiata) ve simetrik bir yapıya sahiptir. Çiçeklerin rengi genellikle mor, pembe, beyaz veya sarı tonlarında olabilir (Harley ve ark., 2004).

Lamiaceae familyasının bitkileri, yüksek miktarda uçucu yağlar ve polifenolik bileşikler içerir. Bu kimyasal bileşenler, bitkilerin aromatik özelliklerini ve tıbbi potansiyellerini belirler. Örneğin, *Mentha* (nane), *Rosmarinus* (biberiye) ve *Salvia* (adaçayı) gibi cinsler, uçucu yağlar açısından zengindir ve bu yağlar antimikrobiyal, antioksidan ve anti-inflamatuar özelliklere sahiptir (Tucker ve DeBaggio, 2000).

Lamiaceae familyasının tıbbi kullanımı, antik çağlara kadar uzanır. Bu bitkiler, soğuk algınlığı, sindirim sorunları, baş ağrıları ve çeşitli cilt hastalıklarının tedavisinde geleneksel olarak kullanılmıştır. Günümüzde, Lamiaceae familyasına ait bitkiler, bitkisel

ilaçlar, aromaterapi ürünleri ve gıda katkı maddeleri olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Perry ve ark., 1999).

Lamiaceae familyası, ekolojik olarak önemli bir gruptur. Bu bitkiler, polinatörler için önemli bir nektar kaynağıdır ve biyolojik çeşitliliğin korunmasında rol oynar. Ekonomik açıdan, Lamiaceae bitkileri, tarım, gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde geniş kullanım alanlarına sahiptir. Özellikle uçucu yağ üretimi ve bitkisel ilaçların üretiminde bu familyanın bitkileri büyük bir pazar payına sahiptir (Cantino ve ark., 1992).

## 2.10. *Sideritis* Cinsinin Genel Özellikleri

Türkiye, zengin florasıyla uzun yıllardır pek çok araştırmacının ilgisini çekmektedir. Bu biyolojik çeşitlilik, ülkemizin Avrupa-Sibirya, İran-Turan ve Akdeniz fitocoğrafik bölgelerinin kesiştiği bir konumda bulunmasından, Asya ve Avrupa kıtaları arasında köprü işlevi görmesinden, iklim ve topoğrafya çeşitliliğinden, ayrıca toprak yapısının büyük bir çeşitlilik göstermesinden kaynaklanmaktadır.

Avrupa kıtasının florası ile karşılaştırıldığında, Türkiye’de yayılış gösteren bitki türlerinin sayısı, Avrupa kıtasındaki bitki türlerinin sayısına oldukça yakındır (Erik ve Tarıkahya, 2004; Avcı, 2005). Türkiye Bitkileri Listesi'ne göre, ülkemiz 167 familya ve 1320 cinse ait toplamda 11.707 takson içermektedir. Bu taksonlardan 3649’u endemik olup, endemizm oranı %31.82’dir (Güner ve ark., 2012).

*Sideritis* bitkisi, farklı biyolojik aktivitelere sahip olup özellikle antioksidan etkisi nedeniyle halk arasında çayı yaygın olarak tüketilmektedir (Arabacı ve ark., 2014). *Sideritis* cinsi, dünya genelinde geniş bir yayılış alanına sahip olup, başlıca Akdeniz Bölgesi'nde yoğunlaşmıştır ve bu bölgede 150'den fazla tür bulunmaktadır. Türkiye’de, *Sideritis* cinsi *Empedoclia* ve *Hesiodia* seksiyonlarıyla temsil edilmektedir. *Sideritis ozturkii* ve *Sideritis rubriflora* taksonları ise *Empedoclia* seksiyonunda yer almaktadır.

Türkiye’deki *Sideritis* cinsi, toplam 46 tür ve 53 takson içerirken, bu taksonların 39’u endemiktir ve cinsin endemizm oranı yaklaşık %80 olarak belirlenmiştir (Aytaç ve Aksoy, 2000; Güvenç ve Duman, 2010). *Sideritis* cinsine ait yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunu farmakolojik araştırmalar oluşturmakta, anatomik çalışmalar ise oldukça sınırlı kalmaktadır. Bu durum, yapılan literatür incelemeleriyle tespit edilmiştir.

### 2.10.1. *Sideritis*'in Sistematikteki Yeri

Kingdom (Alem)

**Plantae (Bitkiler):** Tüm bitkileri kapsar.

Phylum (Şube)

**Magnoliophyta (Kapalı Tohumlular):** Çiçekli bitkiler.

Class (Sınıf)

**Magnoliopsida (Çift Çenekliler):** İki kotiledonlu bitkiler.

Order (Takım)

**Lamiales:** Çoğunlukla aromatik bitkileri içeren bir takım.

Family (Familya)

**Lamiaceae (Ballıbabagiller):** Nane familyası olarak da bilinen bu familya, birçok aromatik bitkiyi içerir.

Genus (Cins)

***Sideritis*:** Bu cins, yaklaşık 150 tür içerir ve Akdeniz Bölgesi'nde yaygındır.

### 2.10.2. *Sideritis*'in Tarihçesi

*Sideritis*, antik çağlardan bu yana Akdeniz Bölgesi'nde bilinen ve kullanılan bir bitki cinsidir. Yunanlılar, *Sideritis* bitkilerini "demir" anlamına gelen "sideros" kelimesi ile tanımlamışlardır, çünkü bu bitkilerin demir içeriği yüksek olduğuna inanılırdı ve yaraların iyileştirilmesinde kullanılırdı. Eski Yunanlılar ve Romalılar, *Sideritis*'i yaralanmalar ve iltihaplanmalar için doğal bir ilaç olarak kullanmışlardır (González-Burgos ve ark., 2011).

### 2.10.3. Halk Arasında Kullanımı

Ülkemizde *Sideritis* cinsine ait türler halk arasında farklı isimlerle bilinir. Bunlar; dağ çayı, yayla çayı, ada çayı, sarı kız çayı, kuyruk çayı gibi değişik yöresel isimlerdir. Halk arasında tedavi edici özelliği olduğu düşünülen *Sideritis L.* bitkilerinin mikrop öldürücü, iştah açıcı, ağrı kesici ve yara iyileştirici olarak kullanımları vardır. (Dincer ve ark., 2017) *Sideritis* cinsine ait bazı bitkilerin aromalarından dolayı başta ülkemizde olmak üzere Akdeniz ve Balkan ülkelerinde çay olarak kullanımları vardır. İran'da çay olarak tüketiminin yanı sıra baharat olarak da kullanımı vardır. (Huber-Morath, 1982)

Ortaçağ boyunca, *Sideritis* bitkileri özellikle Avrupa'da tıbbi bitki olarak popülerdi. Çeşitli hastalıkların tedavisinde, özellikle de soğuk algınlığı ve sindirim sorunları için kullanılmıştır. Günümüzde, *Sideritis* türleri hala geleneksel tıpta kullanılmakta ve modern bilim tarafından da antioksidan, antimikrobiyal ve anti-inflamatuar özellikleri incelenmektedir (Perry ve ark., 1999).

#### 2.10.4. Tez Çalışmasında Kullanılan *S. brevidens* L. Türünün Özellikleri

Çok yıllık otsu bir bitkidir ve tabanda odunsudur. Gövde, 15-56 cm boylarında olup, tabandan itibaren yoğun dallanmış ve dik yapıdadır. Bitkinin alt kısımlarında kısa salgı ve kısa dik örtü tüyleri bulunurken, üst kısımlarında yoğun kısa salgı ve sert, kısa batıcı tüyler yer almaktadır. Yapraklar, gövdenin alt kısmında yoğunlaşmış olup, boyları genellikle internodyumlara eşit ya da daha uzun olmaktadır. İternodyumlar arası mesafe ise 1-5 cm arasında değişiklik göstermektedir (Pérez-Alonso ve ark., 2005; Kaya ve ark., 2010).



Şekil 2.7. *Sideritis brevidens* L. (Ali ve Seyran 2020)

Yapraklar her iki yüzeyde de yoğun basit beyaz ipeksi örtü tüylüdür. Alt yapraklar 1-5 mm kadar kısa saplı olup, lamina eliptik-oblong veya lanseolat şeklindedir (2-3,5 x 0,9-1,4 cm). Bu yaprakların tepesi akut, kenarı krenulat, tabanı ise attenuattır. Orta gövde yaprakları sapsız olup, lamina oblong-ovat, ovat-genişçe lanseolat (1,8-3,7 x 0,8-1,9 cm) şeklindedir. Bu yaprakların tepesi akut, kenarı krenat ve tabanı kordat ya da nadiren obtustur. Üst gövde yaprakları ise sapsız olup, lamina ovat-kordat (2-3,5 x 1-2 cm) şeklindedir ve tepesi akut akuminattır. Yaprak kenarları tamdan krenulat-serrulata kadar değişir (González-Burgos ve ark., 2011).

Çiçek durumu dallanmış veya basit olabilir. Vertisillatlar 3-10 adet olup, her vertisillatta 6 çiçek bulunur. Vertisillatlar arası mesafe alt kısımlarda 5-6,5 cm, üst kısımlarda ise 1-2 cm'dir. Braktelerin dış yüzeyi yoğun dik ince salgı ve ince beyaz örtü tüylü olup, iç yüzeyi seyrek salgı ve örtü tüylüdür. Alt brakteler ovat olup, akümenle birlikte 1,7-2 x 1,2-1,5 cm boyutlarındadır ve akümen 6-8 mm uzunluğundadır. Orta brakteler orbikulat, ovat-orbikulat olup, akümenle birlikte 1-1,6 x 0,9-1,6 cm boyutlarındadır ve akümen 1,5-4 mm uzunluğundadır. Üst brakteler ise orbikulat olup, akümenle birlikte 0,9-1,4 x 0,9-1,3 cm boyutlarındadır ve akümen 1-2,5 mm uzunluğundadır (Tepe ve ark., 2007).

Kaliks, 8-11 mm uzunluğunda olup, dişleri triangular (bazen lanseolat) 2,5-3 x 1-1,5 mm boyutlarındadır ve hemen hemen eşittir. Dişlerin dış yüzeyi yoğun uzun örtü ve seyrek salgı tüylüdür, iç yüzeyi ise seyrek salgı tüylüdür. Tüp, 6-8 mm uzunluğunda olup, dış yüzeyi yoğun uzun ve kısa salgı tüylüdür, iç yüzeyi ise boğaz kısmında halka şeklinde uzun örtü tüylü ve seyrek kısa salgı tüylüdür.

Korolla sarı renkte olup, 12-14 mm uzunluğundadır ve kaliksten uzundur. Tüpün üst kısmı ve loplara dış yüzeyi yoğun basit örtü tüylüdür. Dudakların iç yüzeyi boğaza kadar küçük örtü tüylüdür. Tüpün iç kısmında filamentlerin alt bölgesindeki tüyler tam halka şeklinde değildir. Üst dudağın iç kısmında 2 kahverengi çizgi yoktur (Kılıç ve ark., 2011)



Şekil 2.8. *Sideritis brevidens* L (Ali ve Seyran 2020)

*S. brevidens*, Türkiye'de tehdit altında olan bitki türlerinden biridir ve "CR" (Critically Endangered) kategorisinde yer almaktadır. Bu durum, bitkinin korunması ve sürdürülebilir kullanımı için acil önlemler alınması gerektiğini göstermektedir (Pérez-Alonso ve ark., 2005).

### 2.10.5. *S. brevidens*'in Kimyasal Bileşimi ve Biyoaktif Özellikleri

*S. brevidens*, Türkiye'nin endemik bitkilerinden biridir ve tıbbi olarak önemli bir türdür. Bu bitki, özellikle antioksidan, antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve antikanser özellikleri ile dikkat çeker. Bu özellikler, bitkinin içerdiği çeşitli kimyasal bileşiklerden kaynaklanır.

#### 2.10.5.1. Kimyasal Bileşimi

##### Flavonoidler

*S. brevidens*'in flavonoid profili oldukça zengindir. Bu bitkide apigenin, luteolin, diosmetin ve bunların glikozit türevleri gibi flavonoidler bulunur. Flavonoidler, bitkilerde yaygın olarak bulunan polifenolik bileşiklerdir ve güçlü antioksidan özellikleri ile bilinirler (Kaya ve ark., 2010). Bu bileşikler, serbest radikallerin nötralize edilmesine yardımcı olarak oksidatif stresi azaltır ve hücrel hasarı önler.

##### Fenolik Asitler

*S. brevidens*, kafeik asit, rosmarinik asit ve klorojenik asit gibi fenolik asitler içerir. Fenolik asitler, serbest radikalleri nötralize etme kapasiteleri sayesinde antioksidan özelliklere sahiptir (Tepe ve ark., 2007). Bu bileşikler ayrıca anti-inflamatuar ve antimikrobiyal etkiler gösterir.

##### Diterpenler

Bitki, siderol ve manoyl oksit türevleri gibi diterpenler içerir. Diterpenler, anti-inflamatuar ve antimikrobiyal özellikleri ile bilinir (Berdahl ve ark., 2006). Bu bileşikler, inflamasyonu azaltmada ve mikrobiyal enfeksiyonlarla savaşmada etkilidir.

##### Esansiyel Yağlar

*S. brevidens*'in esansiyel yağları arasında pinen, limonen ve karvakrol bulunur. Esansiyel yağlar, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri ile tanınır (Kılıç ve ark., 2011). Bu bileşikler, bitkinin koruyucu ve tedavi edici özelliklerini artırır.

### 2.10.5.2. Biyoaktif Özellikleri

#### **Antioksidan Aktivite**

*S. brevidens*'de bulunan flavonoidler ve fenolik asitler, güçlü antioksidan özelliklere sahiptir. Bu bileşikler, serbest radikallerle savaşarak hücresel hasarı önler ve oksidatif stresi azaltır (Kaya ve ark., 2010). Antioksidan aktivite, kronik hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynar. Özellikle rosmarinik asit, apigenin ve luteolin'in antioksidan kapasiteleri yüksek bulunmuştur (Russo ve ark., 2013).

#### **Antimikrobiyal Aktivite**

*S. brevidens*'in esansiyel yağları ve diterpenleri, geniş bir antimikrobiyal aktivite yelpazesine sahiptir. Bitkinin ekstraktları, çeşitli bakteri ve mantar türlerine karşı etkilidir. Özellikle *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* gibi patojenlere karşı güçlü bir antimikrobiyal etki göstermiştir (Kılıç et al., 2011). Bu etki, bitkide bulunan karvakrol, timol ve pinen gibi bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Berdahl ve ark., 2006).

#### **Anti-inflamatuar Aktivite**

*S. brevidens*'de bulunan diterpenler, anti-inflamatuar özellikleri ile bilinir. Bu bileşikler, inflamasyonun anahtar bileşenleri olan prostaglandinlerin ve sitokinlerin üretimini inhibe eder (Berdahl ve ark., 2006). Bu özellik, inflammatuar hastalıkların tedavisinde potansiyel bir uygulama alanı sunar. Ayrıca, rosmarinik asit gibi fenolik bileşiklerin de anti-inflamatuar etkileri vardır (Tepe ve ark., 2007).

#### **Antikanser Aktivite**

Son yıllarda yapılan araştırmalar, *S. brevidens*'in potansiyel antikanser özelliklerini de ortaya koymuştur. Bu bitkinin ekstraktları, kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe edebilir ve apoptozu (programlanmış hücre ölümü) indükleyebilir (Russo ve ark., 2013). Bu etkinin, bitkide bulunan flavonoidler ve fenolik asitler gibi polifenolik bileşiklerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Özellikle apigenin ve luteolin, çeşitli kanser hücre hatlarında antikanser aktivite göstermiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. *S. brevidens* L. Bitkisinin Toplanması ve Hazırlanması

*S. brevidens* L. (Lamiaceae), Türkiye'ye ait endemik bir bitkidir. Bu bitkinin örnekleri, Türkiye'nin Akdeniz bölgesinden (Gülnar/Mersin) toplandı. Toplanan örneklere ait toplama kaydı; C4 Mersin, Anamur-Ermenek yolu 1020 m, taşlık yamaçlar, 21.08.2023, S.dogu 3112. Bitkinin örnekleri, güneş ışığına maruz kalmadan nemden arındırılmış bir ortamda kurutuldu. Toplanan bitki örneklerinin bazıları herbaryum örnekleri oluşturmak üzere hazırlandı ve bölgedeki gözlemlenebilir özellikleri kaydedildi. Toplanan bitki materyalleri, içlerinde bulunabilecek kaya, kum ve çamurlardan arındırılmak amacıyla ayıklanıp tatlı su ile yıkandı. Ayıklanan materyaller doğrudan güneşe tabi tutulmadan gölgelik bir alanda laboratuvarında analizleri daha sonra yapılmak üzere kurutuldu. Uygun şekilde kurutulan ve homojenizatör yardımı ile öğütülen bitkiler ekstraksiyon aşamasına kadar oda sıcaklığında muhafaza edildi.

#### 3.2. *S. brevidens* L. Ekstraktlarının Hazırlanması

Çalışmamızda kullandığımız bitkinin ekstraksiyonu için ultra saf su kullanıldı. Bitki örneği homojenizatör yardımıyla öğütülerek toz haline getirildi. Bu toz haldeki numuneden 10 gr alınarak 250 ml ultra saf su içerisinde manyetik ısıtıcıda 80 °C sıcaklığında 1 saat 45 dk kadar bekletildi. Daha sonrasında su içerisinde bulunan bitki örneği Whatman No 1 filtre kağıdı kullanılarak filtre işlemine tabi tutuldu. Karakterizasyon aşamasına kadar bitki ekstraktı +4 °C de muhafaza edildi.



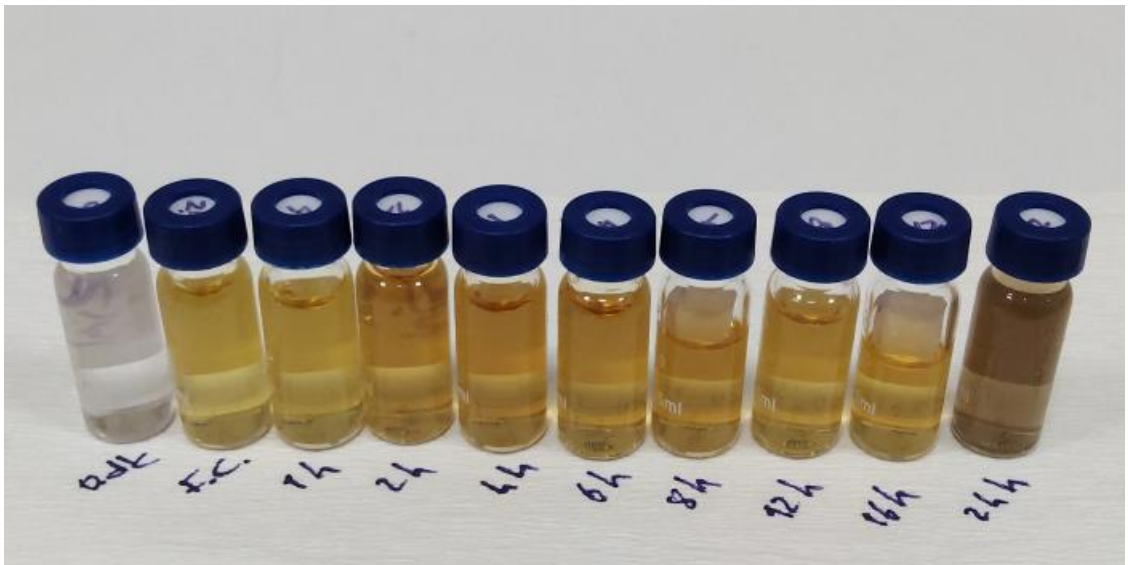
Şekil 3.1. *S. brevidens* ekstraktı

### 3.3. Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP) Yeşil Sentezi

Bu çalışmada, Merck marka gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) solüsyonu kullanılarak gümüş nanopartiküller (AgNPs) sentezlenmiştir. Sentez için 0,042 gram gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ), 50 ml distile su ile karıştırılmış ve  $30^\circ\text{C}$ 'de 15 dakika boyunca manyetik bir karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak gümüş nitrat çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra bu çözeltiliye, 1 ml *S. brevidens* ekstraktı eklenmiş ve şeffaf renkli çözeltinin koyu kahverengi renge dönüşmesi, gümüş nanopartikül sentezi oluşumunun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Renk değişimi sırasında çözelti,  $80^\circ\text{C}$ 'de manyetik ısıtıcılı karıştırıcı üzerinde tutulmuştur.

Renk değişiminden sonra çözelti  $80^\circ\text{C}$ 'de 1 saat daha karıştırılmaya devam edilmiştir. İlk renk değişimi zamanı başlangıç saati olarak kabul edilerek, her bir çözelti için 1 saat, 2 saat, 4 saat, 6 saat, 8 saat, 12 saat 16 saat ve 24 saatlik sürelerde numuneler alınmış ve renk tonu farklılıkları gözlemlenmiştir.

*S. brevidens* ekstraktları ve hazırlanmış metal solüsyonları 1:1 oranında karıştırılmış ve bu karışım oda sıcaklığında, pH 7'ye ayarlanarak, 24 saat boyunca manyetik bir karıştırıcı ile sürekli olarak karıştırılmıştır. Karışım sırasında renk değişimi gözlenmiş ve 24 saat sonunda kolloid bir yapı oluşumu beklenmiştir. Kolloid yapının oluşumu, nanopartikül sentezinin başarılı olduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.2. *S. brevidens* ekstraktı ile gümüş nanopartikül sentezinin zamanla renk değişimi.



Şekil 3.3. *S. brevidens* ekstraktının karıştırıcıda AgNO<sub>3</sub> eklenmesi aşaması.

Nanopartiküllerin boyutlarının büyü oluşturmalarını engellemek amacıyla, 1730 g kuvvetle 5 dakika süreyle santrifüj işlemi birkaç kez tekrarlandı. Bu süreçte sıcaklık değişimi, pH ayarı ve karıştırma hızı gibi fiziksel faktörler optimize edilerek sentez işleminin etkinliği artırıldı. Bu optimizasyonlar sayesinde, nanopartiküllerin boyut farkları tespit edilmeye çalışıldı



Şekil 3.4. Laboratuvar ortamında deneysel numunelerin hazırlanması

### 3.4. Nanopartiküllerin Fitokimyasal Analizi

#### 3.4.1. *S. brevidens* L. Ekstraktının Fitokimyasal İçeriğinin HPLC-DAD Analizi

*S. brevidens* bitkisinden elde edilen örneklerin fenolik bileşik içerikleri, yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) yöntemiyle analiz edildi. Bu analiz, bitkisel ekstraktların içerisinde bulunan fenolik bileşikleri tanımlama ve miktarlarını belirleme amacı taşıyacaktır. HPLC-DAD analizinde Agilent 1260 Infinity Series cihazı kullanıldı, ters fazlı Acegenerix 5c18 kolon (4.6x250 mm, 5 µm) tercih edildi. Kolon sıcaklığı 30°C olarak ayarlandı, dedektör ise 300 ve 200 nm dalga boylarında sinyal alacak şekilde ayarlandı. Bileşiklerin en verimli şekilde ayrılabilmesi amacıyla mobil faz akış hızı, kolon

sıcaklık koşulları optimize edildi ve mobil Faz A Metanol:Su (95:5), mobil Faz B Asetonitril:Diklorometan (9:1) oranlarında hazırlandı. Mobil Faz C Asetonitril (1:1) oranında kolon yıkama olarak hazırlandı (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. HPLC ile kromatografik ayırmada kullanılan mobil faz A, B ve C

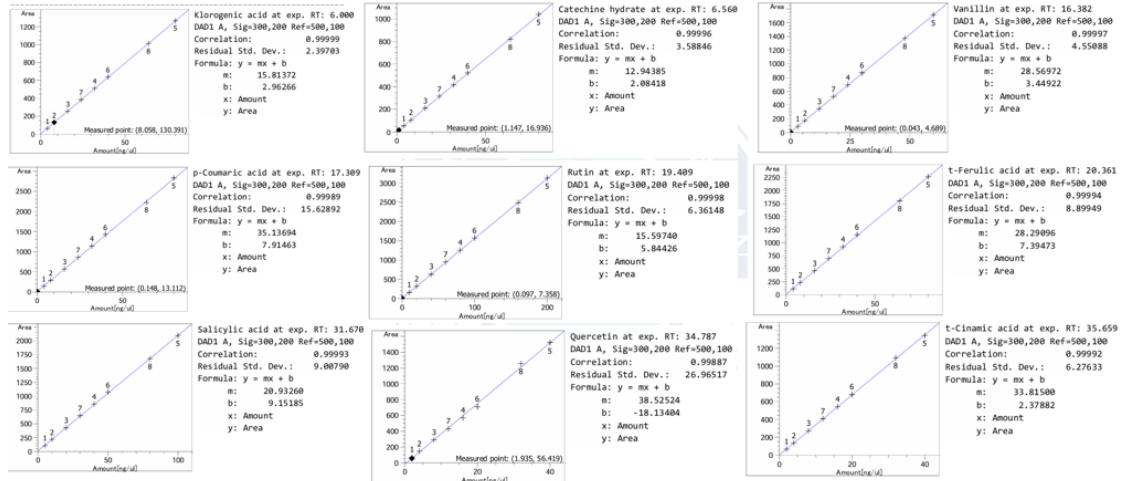
Analiz sırasında her numune 10 µl enjeksiyon hacmiyle HPLC cihazına verildi. Standart bileşikler olarak klorojenik asit, kateşin hidrat, kafeik asit, vanilin, p-kumarik asit, rutin, kersetin ve krisin gibi fenolik bileşikler kullanıldı. Bu standartlar, numunelerdeki fenolik bileşiklerin kalitatif ve kantitatif tespiti için referans olarak hizmet etmiştir.

Numune hazırlığında, *S. brevidens* bitkisinden elde edilen ekstraktlar HPLC analizine uygun hale getirildi. Çözücülerde çözülüp filtrelenerek enjeksiyona hazır duruma getirilen numuneler cihazda analiz edildi. Dedektörden alınan sinyaller, bileşiklerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanması amacıyla kullanıldı. Analiz sonucunda retention time (RT) ve alan (mAU\*s) değerlerine göre klorojenik asit, kersetin, rutin ve krisin gibi bileşiklerin varlığı doğrulanmıştır ve biyolojik aktiviteleri hakkında yorum yapılmıştır.



Şekil 3.6. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

Kalibrasyon Eğrileri, HPLC analizinde kullanılan temel bir araçtır. Bu eğriler, bir analitin konsantrasyonu ile cihazın verdiği ölçüm sinyali (örneğin pik alanı veya pik yüksekliği) arasındaki ilişkiyi tanımlar. HPLC'de kalibrasyon eğrileri, hem analitik yöntemin doğruluğunu hem de hassasiyetini değerlendirmek için gereklidir



Şekil 3.7. Standartlara ait kalibrasyon eğrileri

Yukarıdaki grafiklerde, farklı fenolik bileşiklerin HPLC analizleri sonucu elde edilen kalibrasyon eğrileri başarıyla oluşturulmuş ve yöntemin doğruluğu ile hassasiyeti yüksek korelasyon katsayıları ( $r^2$ ) ile doğrulanmıştır.

### 3.5. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

#### 3.5.1. UV-Vis Spektroskopisi

Çalışmamızda sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin karakterizasyonunu yapmak amacıyla, absorbans ölçümleri Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (BİTAM) gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümler için UV-1800 Shimadzu Europa-Shimadzu Schweiz GmbH cihazı kullanılmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. UV-Vis spektroskopisi ölçüm cihazı <https://www.erbakan.edu.tr/bitam/sayfa/7614>

#### 3.5.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Çalışmamızda FTIR spektroskopi yöntemi, absorpsiyon veya emisyonun IR spektrumlarını kaydetmek için kullanıldı. Tüm frekans aralığını kapsayan (5000-400 cm<sup>-1</sup>) ışık, NP'lerle ilişkili fonksiyonel grupların titreşimini incelemek veya metal NP sentezinden önce bitkilerdeki fonksiyonel grupların ölçümü için kullanıldı (Sharma ve ark., 2014). Çeşitli yapılarıdaki NP'ler, kızılötesi aralıktaki farklı spektroskopik teknikler ile karakterize edilmiş ve tanımlanmış halde olacak ve yüzeylerinde karakteristik kızılötesi absorpsiyonları veya fonksiyonel grupları olan NP'ler doğrudan IR spektroskopisi ile karakterize edildi. Buna ek olarak, FTIR, NP'lere bağlı farklı ligandları belirlemek için hızlı, hassas ve tahribatsız bir yol olarak kullanıldı (López-Lorente ve Mizaikoff, 2016). Analiz işlemi Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde (BİTAM) bulunan Thermo Scientific -Nicolet IS20 cihazda yapıldı (Şekil 3.9).



**Şekil 3.9.** Fourier Dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi cihazı  
(<https://www.erbakan.edu.tr/bitam/sayfa/7666>)

### 3.5.3. X Işını Difraktometresi Analizi (XRD)

BİTAM’da bulunan PANalytical EMPYREAN XRD cihazı X ışını numuneye gönderilerek etkileşiminden dolayı şeklinden yola çıkılarak nanopartiküllerin yapısal analizi için kullanıldı (Şekil 3.10).



**Şekil 3.10.** X- Işını Difraktometresi Cihazı (BİTAM, PANalytical EMPYREAN XRD)

### 3.5.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Geçirimli Elektron Mikroskobu

Çalışmamızda elektron mikroskobu iki farklı aşamada kullanıldı: SEM analizleri ile yüzey karakteristiklerinin belirlenebilmesi için, örneklerden birer damla alınacak ve karbon bant yapıştırılmış stublar üzerine yerleştirildi. Oda sıcaklığında temiz ve kapalı bir petri kabında kurutulduktan sonra altınla kaplanacak ve taramalı elektron mikroskobu ile incelenip ve Enerji Dağılımı X-Işını Spektroskopisi (EDS) dedektörü kullanılarak nanopartiküllerin elementel analizi yapıldı.. Bu amaçla, aynı örnekler bakır gridler üzerine damlatılmış ve tamamen kurutulduktan sonra Necmettin Erbakan Üniversitesi

Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (BİTAM) bulunan ZEISS GeminiSEM cihazı ile incelenmiştir.



Şekil 3.11. SEM Analizi (ZEISS GeminiSEM)

### 3.5.5. Dinamik Işık Saçılması (DLS) ve Nanopartikül Boyut Analizi ve Zeta Potansiyel Ölçümü

Nanoparçacıkların optik özellikleri, spektral analiz yoluyla incelenmiştir. Gümüş nanopartiküllerinin (AgNP) absorbans spektrumu, spektrofotometre ve 10 mm'lik yol uzunluğuna sahip kuvars küvet kullanılarak tespit edildi. Yeşil sentezle elde edilen nanopartiküllerin partikül boyutu, zeta potansiyeli ve elektriksel iletkenlik ölçümleri, zeta potansiyometre cihazı ile yapıldı. Her formülasyon için ardışık üç ölçüm gerçekleştirilmiş ve ölçümler sırasında cihazın sıcaklığı 25°C, ışık saçılım açısı ise 90° olarak ayarlandı.

Dinamik ışık saçılımı (DLS), nanopartiküllerin boyut dağılımını, partikül büyüklüğünü, homojenliğini ve stabilitesini tanımlamak için kullanılan temel bir yöntemdir. Bu çalışmada parçacık boyutu ve polidispersite indeksi (PDI), DLS yöntemi ile belirlendi. Deiyonize su ile seyreltilmiş AgNP'lerin DLS analizleri, Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (BİTAM) bulunan Micromeritics Nanoplus 3 cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.



Şekil 3.12. Zeta potansiyeli ölçüm cihazı (BITAM, Micromeritics Nanoplus 3)

### 3.6. S.B. AgNP'lerin Antimikrobiyal Aktivite Deneyleri

#### 3.6.1. Kimyasallar

Bakteri kültürlerinin hazırlanması ve antimikrobiyal aktivite değerlendirme çalışmalarında kullanılan Mueller-Hinton Broth ve Mueller-Hinton Agar besiyerleri, ticari olarak Merck (Darmstadt, Almanya)'den alındı. Ekstrakların antibakteriyel aktivitelerini araştırmak amacıyla yapılan deneylerde kontrol antibiyotiği olarak kullanılan gentamisin (Genta) eczaneden temin edildi. Ekstrakların ve kontrol antibiyotiğinin sulandırılmasında kullanılan Phosphate Buffered Saline (PBS) tabletleri ve bakterilerin canlılıklarını tespit etmek için kullanılan 2,3,5-Trifeniltetrazolyum klorid (TTC), Sigma-Aldrich (Chemie GmbH, Almanya)'den sağlandı. Disk difüzyon yönteminde kullanılan standart antibiyotik diskleri, ampisilin ve gentamisin ise Oxoid (Unipath Ltd, Basingstoke Hampshire, İngiltere)'den temin edildi.

#### 3.6.2. Test Mikroorganizmaları

Çalışma kapsamında 3 adet gram- pozitif bakteri suşu (*S. aureus* ATCC 43300, *B. cereus* ATTC 11778, *S. lutea* ATTC 9341), 4 adet gram negatif bakteri suşu (*E.coli* ATTC 25922, *P. aeruginosa* ATTC 27853, *K. pneumoniae* ATTC 70603, *S. enteritidis* ATTC 13076) ve 1 adet fungus suşu (*C. albicans*) kullanıldı ve bu suşlar Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarından temin edildi.

### 3.6.2.1. Antimikrobiyal aktivite için çalışılan test mikroorganizmalarının özellikleri

Bakteriler, hücre duvarlarının yapısına göre Gram pozitif ve Gram negatif olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Gram pozitif bakteriler, kalın bir peptidoglikan tabakası içerir ve Gram boyama sırasında mor renkte görünürler. Bu gruba örnek olarak *S. aureus* ve *B. subtilis* gibi türler verilebilir. Gram negatif bakteriler ise daha ince bir peptidoglikan tabakasına sahiptir ve dış membran ile çevrilidir; Gram boyama ile pembe renkte görünürler. Bu grupta *E. coli* ve *P. aeruginosa* gibi bakteriler bulunur (Tortora, Funke, & Case, 2016). Gram negatif bakterilerin dış membranı, antibiyotiklere karşı daha dirençli olmalarına yol açar. Ayrıca, Gram pozitif ve negatif bakteriler patojenlik, antibiyotik direnci ve ekolojik roller açısından farklılık gösterir. Bu temel farklar, bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde antibiyotik seçimini etkiler (Madigan & Martinko, 2014).

#### Gram pozitif bakteriler:

##### 1. *S. aureus*

Gram pozitif, küresel şekilli bir bakteridir ve insanlarda birçok enfeksiyona neden olan patojenlerden biridir. Bu bakteri, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarından, ciddi invaziv enfeksiyonlara kadar geniş bir hastalık yelpazesinde rol oynar. *S. aureus*, insan derisi ve mukozasında yaygın olarak bulunur ve fırsatçı bir patojen olarak hareket eder, bağışıklık sistemi zayıfladığında enfeksiyonlara yol açabilir (Lowy, 1998).

Özellikle metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), antibiyotik tedavisine karşı direnç geliştiren türlerden biridir ve hastane enfeksiyonlarının önemli bir nedeni olarak kabul edilir (Tong ve ark., 2015). Bu bakteri, çeşitli virülans faktörlerine sahiptir; toksinler, hücre duvarı bileşenleri ve bağışıklık sisteminden kaçabilen mekanizmalar sayesinde enfeksiyonları daha tehlikeli hale getirir (Lowy, 1998).

*S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotik direnci büyük bir sorun teşkil eder. Bu nedenle, enfeksiyonların tedavisinde etkili antibiyotiklerin dikkatli seçilmesi ve bakterinin direnç profiline göre hareket edilmesi önemlidir (Tong ve ark., 2015).

##### 2. *B. cereus*

*B. cereus*, Gram pozitif, spor oluşturan ve çubuk şeklinde bir bakteri olup, toprak, bitkiler ve su gibi çevresel ortamlarda yaygın olarak bulunur. Bu bakteri, hem insanlar hem de hayvanlar için çeşitli enfeksiyonlara ve gıda kaynaklı zehirlenmelere neden

olabilen fırsatçı bir patojendir (Drobniewski, 1993). *B. cereus* özellikle gıda zehirlenmesine yol açan enterotoksinleri ile tanınır ve iki ana klinik tabloya neden olur: emetik (kusma) ve diyare (ishal) formu. Emetik form, genellikle pirinç gibi nişastalı yiyeceklerin tüketimi sonrası ortaya çıkar ve toksin önceden pişirilmiş yiyeceklerde gelişir (Granum ve Lund, 1997).

*B.cereus*, endospor oluşturma yeteneği sayesinde zorlu çevresel koşullarda hayatta kalabilir ve bu da onu dezenfeksiyon ve pastörizasyon gibi geleneksel hijyen yöntemlerine karşı dirençli kılar (Drobniewski, 1993). Gıda üretiminde ciddi bir sorun teşkil eden bu bakteri, özellikle yiyeceklerin doğru şekilde pişirilmemesi veya saklanmaması durumunda insan sağlığı için tehlikeli hale gelir.

### 3. *S. lutea*

Gram pozitif, kok (küresel) şekilli ve genellikle dördü paketler halinde görülen bir bakteridir. Bu bakteri, sarı pigmentli koloniler oluşturur ve çevresel ortamlarda yaygın olarak bulunur. *S. lutea*, toprak, hava, su ve insan cildinde bulunabilen bir mikroorganizmadır (Claus ve Berkeley, 1986). Genellikle patojenik olmayan bir bakteri olarak kabul edilse de, nadir durumlarda fırsatçı enfeksiyonlara yol açabilir. Ancak, gıda endüstrisinde ve çeşitli medikal ortamlarda kontaminant olarak bulunabilir (Collins ve Lyne, 1984).

*S. lutea*, düşük sıcaklıklarda hayatta kalma yeteneğine sahiptir ve çevresel koşullara karşı dayanıklıdır. Bu özelliği, bakterinin gıda muhafazasında sorun yaratabilecek potansiyel bir kirletici olmasına neden olur. *Sarcina* türlerinin düşük patojenik riskleri olsa da, kontaminasyonun kontrolü için hijyen önlemlerinin alınması önemlidir (Claus ve Berkeley, 1986).

## **Gram negatif bakteriler:**

### 4. *E. coli*

Gram negatif, çubuk şekilli bir bakteridir ve insan ile hayvanların bağırsaklarında doğal olarak bulunur. Genellikle zararsızdır ve bağırsak florasının önemli bir parçasını oluşturur; ancak bazı patojenik suşlar ciddi enfeksiyonlara yol açabilir (Kaper ve ark., 2004). *E. coli*'nin bazı türleri, özellikle O157 gibi suşlar, gıda kaynaklı enfeksiyonlara

neden olabilir ve hemorajik kolit ile hemolitik üremik sendrom (HÜS) gibi ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir (Nataro ve Kaper, 1998).

Patojenik *E. coli*, kontamine gıdalar veya su yoluyla insanlara bulaşır ve özellikle pişmemiş veya az pişmiş et ürünlerinde sıklıkla bulunur. İshale, karın kramplarına ve kusmaya neden olan bu enfeksiyonlar, bağışıklık sistemi zayıf olan bireyler için ölümcül olabilmektedir (Kaper ve ark., 2004).

### 5. *P. aeruginosa*

Gram negatif, çubuk şeklinde, harekete sahip ve çevresel koşullara son derece dayanıklı bir bakteridir. Bu bakteri, özellikle bağışıklık sistemi zayıflamış bireylerde hastane kaynaklı enfeksiyonların yaygın bir etkenidir (Driscoll ve ark., 2007). *P. aeruginosa*, solunum yolu enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, yara enfeksiyonları ve sepsis gibi çeşitli ciddi enfeksiyonlara neden olabilir. Ayrıca, kistik fibrozis hastalarında ölümcül olabilen kronik akciğer enfeksiyonlarına yol açmasıyla bilinir (Gellatly ve Hancock, 2013).

Bu patojenin en önemli özelliklerinden biri, antibiyotiklere karşı güçlü bir direnç geliştirme yeteneğidir. Özellikle beta-laktamlar ve aminoglikozitler gibi antibiyotiklere karşı direnç göstermesi, tedavi sürecini zorlaştırmaktadır (Livermore, 2002). *P. aeruginosa*, biyofilm oluşturma yeteneği sayesinde dezenfektanlara ve antimikrobiyal ajanlara karşı dirençli hale gelir, bu da hastane ortamlarında yayılma riskini artırır.

### 6. *K. pneumoniae*

Gram negatif, kapsül oluşturan ve hareketsiz bir bakteridir. Genellikle insan bağırsaklarında doğal olarak bulunan bu bakteri, fırsatçı bir patojen olarak bilinir ve bağışıklık sistemi zayıflamış bireylerde ciddi enfeksiyonlara yol açabilir (Podschun ve Ullmann, 1998). *K. pneumoniae*, zatürre, idrar yolu enfeksiyonları, sepsis ve yara enfeksiyonlarına neden olabilen bir patojendir. Özellikle hastane ortamlarında yaygın olarak görülen bu bakteri, ventilatörle ilişkili zatürre ve kateterle ilişkili enfeksiyonlarda sıklıkla izole edilir (Gupta ve ark., 2003).

Bu bakteri, çoklu antibiyotik direnci geliştirme kapasitesine sahiptir. Özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) üreten suşları, antibiyotik tedavisini zorlaştıran ciddi bir sorun teşkil eder (Pitout ve Laupland, 2008). Bu direnç mekanizması

nedeniyle, *K. Pneumoniae* enfeksiyonları, özellikle yoğun bakım ünitelerinde ciddi sağlık problemlerine yol açmaktadır.

### 7. *S. enteridis*

Gram negatif, çubuk şekilli ve hareketli bir bakteri olup, insanlarda gıda kaynaklı hastalıklara neden olan önemli bir patojendir. Bu bakteri, özellikle kontamine yiyecekler (özellikle yumurta, kümes hayvanları ve süt ürünleri) yoluyla insanlara bulaşır (Guard-Petter, 2001). *S. enteritidis*, gastrointestinal sistemi etkileyerek ishal, karın ağrısı, bulantı ve kusma gibi semptomlara yol açar. Bağışıklık sistemi zayıf olan bireylerde enfeksiyon daha ciddi olabilir ve septisemi gibi komplikasyonlara yol açabilir (Bell ve Kyriakides, 2002).

*S. enteritidis*, dünya genelinde yaygın bir halk sağlığı sorunudur ve gıda üretim süreçlerindeki hijyen eksikliklerinden kaynaklanan salgınlara sıkça neden olur. Bakterinin direnç kazanma potansiyeli de gıda güvenliği açısından önemli bir risk oluşturmaktadır (Popoff ve Le Minor, 1997). Bu nedenle, gıda güvenliği standartlarının artırılması ve enfeksiyon kontrol önlemleri *S. enteritidis* ile mücadelede önem taşır.

### **Mantarlar:**

Mantarlar (Fungi), ökaryotik mikroorganizmalar olup, doğada organik maddelerin parçalanmasında önemli bir rol oynarlar. Tek hücreli (maya) veya çok hücreli (küf ve şapkaklı mantarlar) formlarda bulunabilirler. Mantarlar, klorofil içermediklerinden fotosentez yapamazlar ve besinlerini organik maddeleri dışarıdan sindirerek elde ederler (Alexopoulos ve ark., 1996). Mantarlar; doğada, toprakta, suda ve canlıların üzerinde yaygın olarak bulunurlar ve bazen patojenik türler, insanlarda ve bitkilerde enfeksiyonlara neden olabilir.

İnsanlarda hastalığa yol açan patojenik mantarlar arasında *C. albicans*, *A. fumigatus* ve *C. neoformans* gibi türler yer alır (De Hoog ve ark., 2000). Bu türler genellikle bağışıklık sistemi zayıflamış bireylerde fırsatçı enfeksiyonlara neden olur. Ayrıca mantarlar, antibiyotik ve diğer biyoteknolojik ürünlerin üretiminde yaygın olarak kullanılırlar. *Penicillium* türlerinden elde edilen penisilin, mantarların tıp alanındaki en bilinen katkılarından biridir (Wainwright, 1992).

### **8. *C. albicans***

İnsanlarda ve hayvanlarda fırsatçı enfeksiyonlara neden olan bir maya türüdür. Normalde sağlıklı bireylerde ağız, cilt, bağırsak ve genital bölgelerde doğal florada bulunur; ancak bağışıklık sistemi zayıfladığında veya antibiyotik kullanımı gibi dengesizlikler oluştuğunda patojen hale gelebilir (Calderone ve Fonzi, 2001). *C. albicans*, özellikle HIV/AIDS, diyabet, kanser tedavisi gören hastalar gibi bağışıklığı baskılanmış bireylerde yaygın enfeksiyonlara yol açar. En sık görülen enfeksiyon türleri arasında oral pamukçuk, vajinal kandidiyazis ve invaziv kandidiyazis bulunur (Pfaller & Diekema, 2007).

Bu maya, dimorfik bir organizma olup, hem maya hem de hif formlarında bulunabilir. *C. albicans*, biyofilm oluşturma yeteneği ve antifungal ilaçlara direnç geliştirme kapasitesi sayesinde tedavisi zor olan kronik enfeksiyonlara yol açabilir (Chandra ve ark., 2001). Tedavide genellikle antifungal ilaçlar kullanılır, ancak bazı suşların direnç geliştirmesi nedeniyle tedavi stratejileri zorlaşmaktadır.

### **3.6.3. Solüsyonların Hazırlanması**

#### **PBS'nin Hazırlanması**

Ticari olarak Sigma'dan temin edilen PBS (Dulbecco's A) tabletleri, 200 ml distile suya 1 tablet oranında çözülerek istenilen hacimlerde şişelere bölündü. Daha sonra, 121°C'de 1 atmosfer basınç altında 15 dakika süreyle otoklavlanarak sterilizasyon işlemi gerçekleştirildi. Şişelerin kapakları sıkıca kapatıldıktan sonra çözeltiler oda sıcaklığında muhafaza edildi

#### **TTC'nin hazırlanması**

Toz halindeki TTC' nin 0.5 g' ı 100 ml PBS (0.1 M, pH: 7.3) içinde çözülerek % 0.5'lik solüsyonu hazırlandıktan sonra, milipor filtreden (0.45 µm ) geçirilerek steril edildi ve küçük porsiyonlar halinde tüplere dağıtılarak (5'er ml) +4 °C'de karanlıkta muhafaza edildi.

### Stok Gentamisin Solüsyonun Hazırlanması

Ekstraktların antibakteriyal etkinliğinin araştırıldığı deneylerde kontrol amacıyla kullanılan ticari preparat halindeki gentamisin'in PBS ile 10 mg/ml konsantrasyonda stok solüsyonu hazırlandıktan sonra, küçük hacimlerde tüplere bölünerek -20 °C'de muhafaza edildi.

#### 3.6.5. Sıvı Mikrodilüsyon (Broth Dilüsyon) Yöntemi

Sıvı mikrodilüsyon yöntemi, antimikrobiyal maddelerin minimum inhibitör konsantrasyonlarını (MİK) belirlemek amacıyla sıklıkla kullanılan bir laboratuvar testidir. MİK, bir mikroorganizmanın üremesini durdurmak için gerekli olan en düşük antimikrobiyal madde konsantrasyonu olarak tanımlanır. Bu yöntem, özellikle antimikrobiyal dirençli suşların tespiti ve yeni geliştirilen antimikrobiyal ajanların etkinlik değerlendirmelerinde tercih edilmektedir (Andrews, 2001).

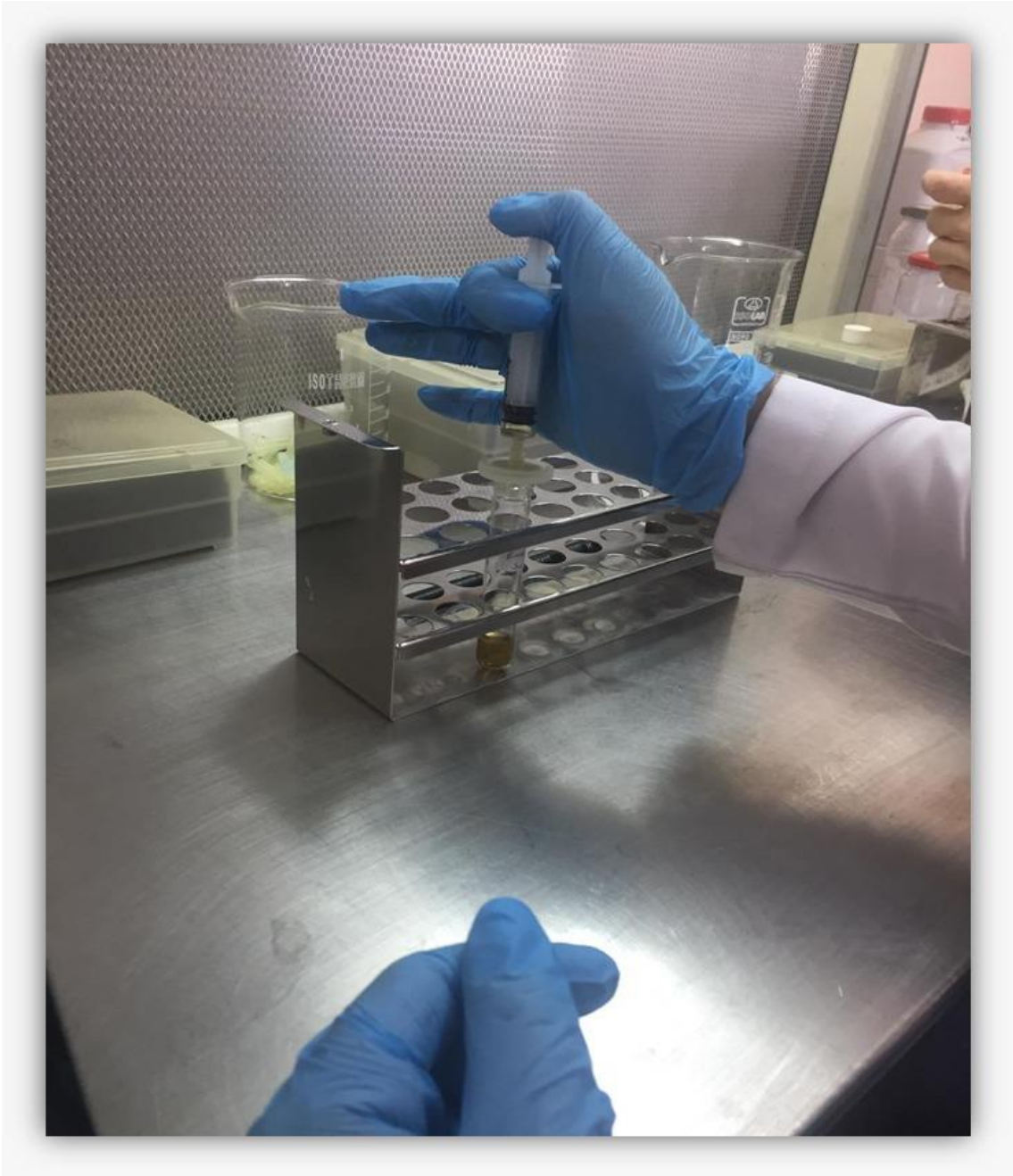
Yöntem, farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış antimikrobiyal maddelerin mikroorganizmalarla etkileşime sokulduğu bir sistem üzerinde çalışır. Bu testte genellikle 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plakaları kullanılır ve her bir kuyucuğa belirli miktarda antimikrobiyal ajan ve mikroorganizma eklenir. Plaka, belirli bir süre inkübe edildikten sonra, mikroorganizmanın üreyip üremediği gözlemlenir. Bu süreçte, mikroorganizmanın üremediği en düşük antimikrobiyal konsantrasyon değeri, MİK olarak belirlenir (Wiegand ve ark., 2008).

Testin uygulanması için öncelikle antimikrobiyal maddenin stok çözeltisi hazırlanır ve seri dilüsyon yöntemi ile farklı konsantrasyonlar elde edilir. Her kuyucuğa besiyeri ve test mikroorganizması eklenir, ardından farklı konsantrasyonlardaki antimikrobiyal ajanlar aktarılır. Bu işlem sonrasında, mikroorganizmaların büyümesi için plakalar belirli bir sıcaklıkta, genellikle 35-37°C'de inkübe edilir (CLSI, 2015).

Sonuçların değerlendirilmesi aşamasında, inkübasyonun ardından her bir kuyucuk gözlemlenir ve üreme olup olmadığına karar verilir. Eğer bir kuyucukta gözle görülür bir üreme yoksa, o kuyucuktaki antimikrobiyal madde konsantrasyonu mikroorganizmayı inhibe etmiştir. Böylece, en düşük inhibitör konsantrasyon olarak belirlenen değer, MİK olarak kaydedilir (Andrews, 2001).

Çalışmamızda mikrotitre plak metodu kullanılarak, öncelikle ekstraktın stok solüsyonu çözücü (Grierson ve Afolayan, 1999) veya DMSO (Salie ve ark., 1996; Nostro ve ark., 2000; Bariş ve ark., 2006) kullanılarak hazırlandı. Mikrotitrasyon plakasındaki

kuyucuklara stok solüsyonun eşit miktarları aktarılmadan önce, Mueller-Hinton broth sulandırıcı olarak kullanıldı. Konsantrasyon aralıkları elde etmek için ilk kuyucuktan başlayarak iki misli seri dilüsyonlar hazırlandı.

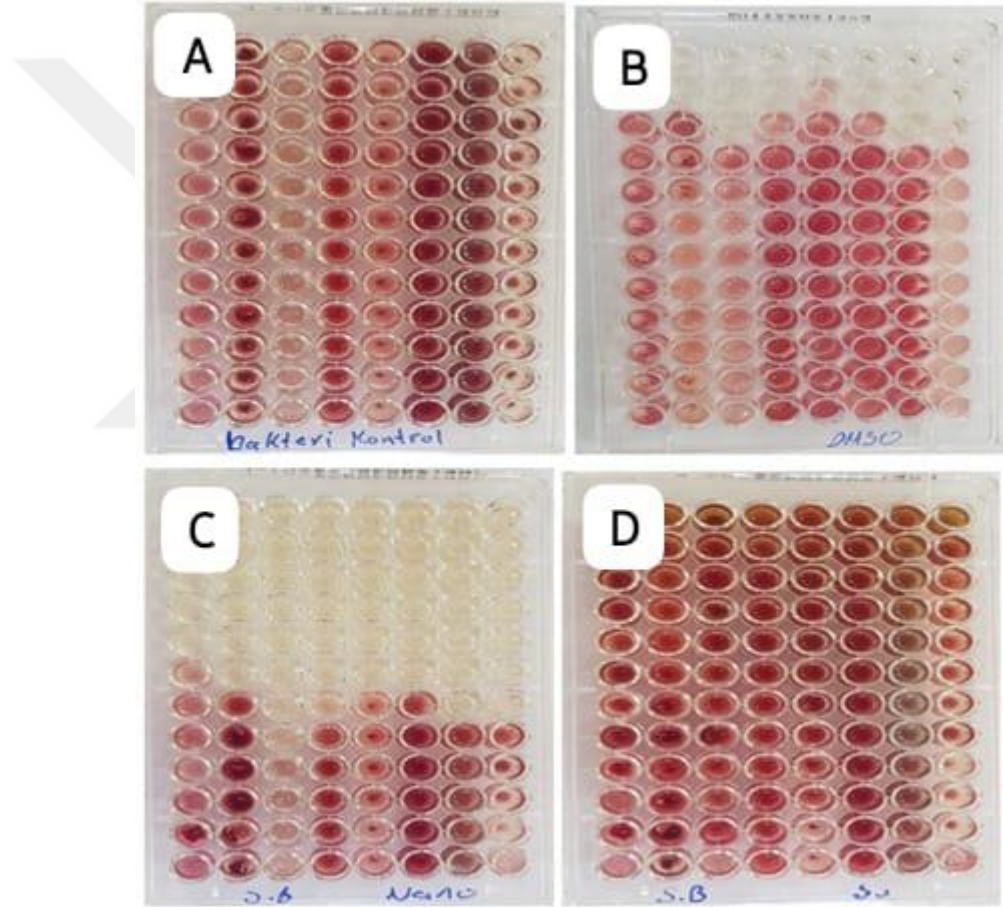


Şekil 3.13. Minimum inhibitör konsantrasyonu metodu

MİK (Minimum İnhibitör Konsantrasyon) 5-8 aralığı, kullanılan antimikrobiyaller için uygun konsantrasyonları temsil etmektedir (Mendoza, 1998). Bu prosedürde inokulum hacmi genellikle  $5 \times 10^5$  kob/ml olarak belirlenmiştir (Lourens ve ark., 2004; Basri ve Fan, 2005). Bazı araştırmacılar, 620 nm’de 0.4 optik dansiteye sahip

mikrobiyal kültürler veya 0.5 McFarland bulanıklık standardına göre ayarlanmış 12 saatlik broth kültürü kullandı (Bariş ve ark., 2006).

Mikrobiyal kültür, eşit hacimlerde kuyucuklara yerleştirilmiş ve plaklar 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir (Lourens ve ark., 2004). İnkübasyonun ardından, plaklar üreme göstergesi olarak bulanıklıktaki değişiklikler açısından incelendi. Berrak görünen ilk kuyucuk, ekstraktın MİK değeri olarak kabul edildi. Spektrofotometrik yöntemde, 620 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri değerlendirildi (Salie ve ark., 1996). Absorbans değerinde ani düşüş gösteren konsantrasyon (Devienne ve Raddi, 2002) veya sıfır absorbans veren en düşük konsantrasyon, bitki ekstraktının ya da test edilen fitokimyasalın MİK değeri olarak belirlendi (Salie ve ark., 1996).




Şekil 3.14. A. Bakteri kontrol B. Negatif kontrol C. *S.brevidens* nanopartikül D. *S.brevidens* ekstraktlarının uygulandığı kuyucuklu plaka

Çalışmamızda antimikrobiyal testler için, 96 adet "U" tipi kuyucuklara sahip steril mikrotitrasyon plakaları (Brand) kullanıldı. Hazırlanan Muller Hinton Broth (MHB) besiyerinden, her bir kuyucuğa 100'er µl dağıtıldı. Daha sonra, PBS:DMSO (1:1) karışımı ile 25 mg/ml konsantrasyonunda sulandırılan ekstraktlardan, plakanın ilk kuyucuklarına 100'er µl eklendi.

Çok kanallı pipet kullanılarak, ilk kuyucuklardan alınan 100'er µl'lik hacimler bir sonraki kuyucuklara aktarıldı ve bu işlem, Log2 tabanına göre konsantrasyon dilüsyonları (12.5 mg/ml'den 12.2 µg/ml'ye kadar) oluşturulana kadar tekrarlandı. Kontrol amacıyla, plakanın son kuyucuğuna herhangi bir ekstre ya da kültür eklenmeyip yalnızca besiyeri bırakıldı (Çizelge 3.1).

Bu prosedür için inokulum hacmi  $5 \times 10^5$  kob/ml olarak belirlendi. McFarland 0.5 bulanıklığına sahip bakteri süspansiyonu, steril serum fizyolojik (SF) kullanılarak  $10^{-2}$  oranında seyreltilmiş ve böylece her mililitresinde  $10^6$  bakteri bulunan bir süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyondan, her kuyucuğa 100'er µl eklenerek, ekstraktların 6.25 mg/ml ile 6.1 µg/ml konsantrasyonları arasında dilüsyonları elde edildi.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
100 µl MHB	100 µl MHB	100 µl MHB	100 µl MHB	100 µl MHB	100 µl MHB	100 µl MHB	100 µl MHB	100 µl MHB	100 µl MHB	100 µl MHB	100 µl MHB
+ 											Besiyeri kontrol
100 µl ekstre	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	

Çizelge 3.1. *Sideritis brevidens* ekstraktlarının 96 kuyucuklu plakalarda seyreltilmesi

Bu çalışmaya paralel olarak farklı pleytlerde negatif kontrol (DMSO: PBS), kontrol antibiyotiği gentamisin ve bakterilerin pozitif üremeleri test edildi. Gentamisinin 10 mg/ml konsantrasyonundaki çözeltisinden, ekstre ilavesinde olduğu gibi ilk kuyucuklara 100 µl ilave edilerek, 1-11. kuyucuklar arasında 0.025 mg/ml-0.02 µg/ml konsantrasyonlarda dilüsyonları yapıldı.

### 3.6.6. Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon yöntemi, antimikrobiyal ajanların etkinliğini değerlendirmek amacıyla kullanılan yaygın bir in vitro test yöntemidir. Bu yöntem, belirli bir bakteri suşunun bir antimikrobiyal maddeye karşı duyarlılığını belirlemek için basit ve güvenilir bir yöntem olarak kabul edilir. Aynı zamanda antibiyotik direnci araştırmalarında da önemli bir araçtır (Bauer ve ark., 1966).

Yöntemin uygulanışı, genellikle katı bir besiyeri üzerinde yapılır. Testin başlangıcında, standart bir bakteri süspansiyonu hazırlanır ve bu süspansiyon, Mueller-Hinton agar gibi uygun bir katı besiyerinin yüzeyine eşit şekilde yayılır. Daha sonra, antibiyotik emdirilmiş diskler bu agarın üzerine yerleştirilir. Diskler, belirli bir miktar

antibiyotikten oluşur ve inkübasyon süresince bu antibiyotik agara difüze olur. Difüze olan antibiyotik, bakterilerin üremesini durdurur ya da inhibe eder (Andrews, 2001).

İnkübasyonun ardından, disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonları gözlemlenir. Bu zonların çapı ölçülerek, bakterinin test edilen antibiyotiğe karşı duyarlılığı belirlenir. İnhibisyon zonunun genişliği, bakterinin antibiyotiğe duyarlılığının bir göstergesidir. Daha büyük zonlar, bakterinin antibiyotiğe daha duyarlı olduğunu gösterirken, küçük ya da hiç zon oluşmaması, bakterinin antibiyotiğe dirençli olduğunu gösterir. Sonuçlar, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) veya Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) gibi referans kuruluşların belirlediği standartlarla karşılaştırılarak yorumlanır (CLSI, 2015).

Disk difüzyon yöntemi, özellikle pratikliği ve düşük maliyeti nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, aynı anda birden fazla antibiyotikle duyarlılık testi yapılabilmesine olanak sağlar. Ancak yöntemin bazı sınırlamaları da bulunmaktadır. Bu sınırlamalar arasında, bakterilerin antibiyotiğe karşı gelişebilecek tolerans düzeylerinin tam olarak belirlenememesi ve yalnızca antibakteriyel etkilerin değerlendirilmesi yer alır. Bununla birlikte, standart test koşullarına sıkı bir şekilde uyulması gerekmektedir. Örneğin, inkübasyon süresi, ortamın pH değeri ve inokulum yoğunluğu gibi faktörler, test sonuçlarını etkileyebilecek unsurlardır (Jorgensen ve Turnidge, 2015).

Yöntemin uygulanmasında en yaygın kullanılan besiyeri Mueller-Hinton agardır. Bu besiyeri, antimikrobiyal maddelerin difüzyonunu etkileyen faktörlerin en aza indirildiği bir ortam sağlar ve bu nedenle disk difüzyon testlerinde tercih edilmektedir. Aynı zamanda, testte kullanılacak olan bakteri süspansiyonunun yoğunluğu 0.5 McFarland standardına göre ayarlanmalıdır. Bu, yaklaşık olarak  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml'ye karşılık gelmektedir ve sonuçların güvenilirliği açısından önemli bir adımdır (Bauer ve ark., 1966).

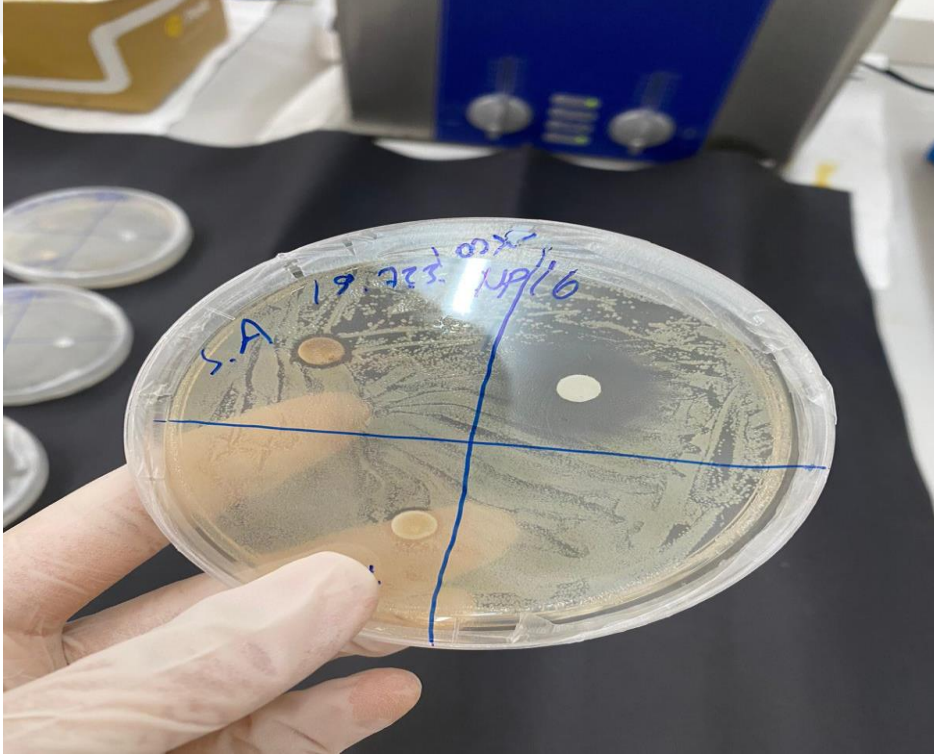


Şekil 3.15. Bakteri süspansiyonunda Mc Farland bulanıklığının ayarlanması

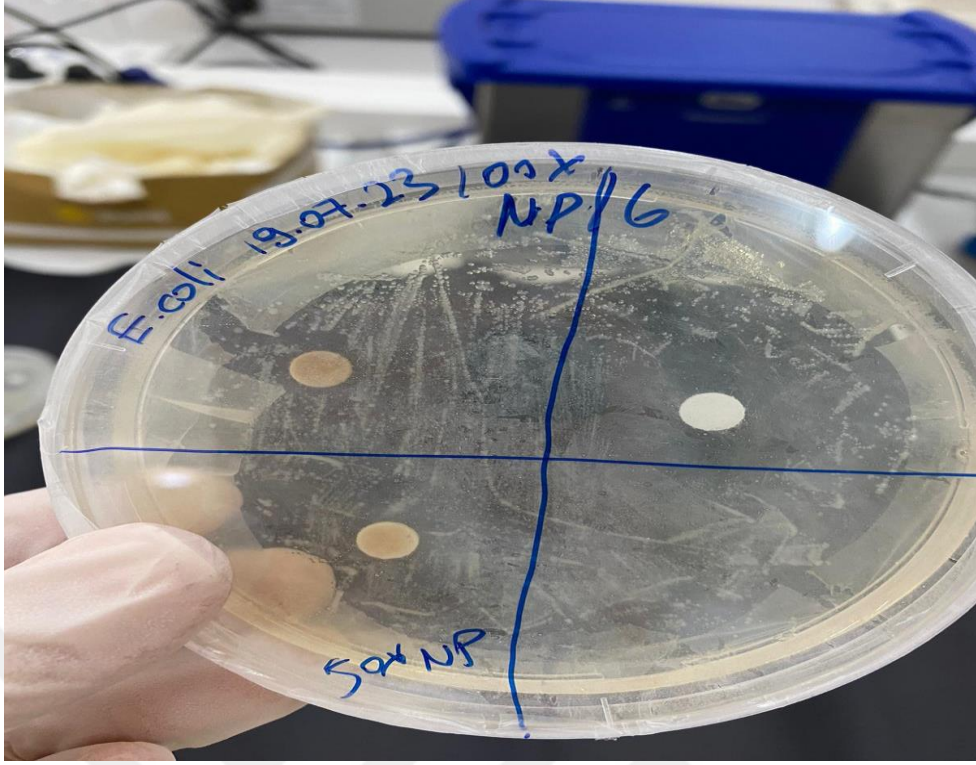
Nanopartiküllerin ve bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerini değerlendirmek için disk difüzyon yöntemi kullanıldı. Çalışmada Gram negatif bakteri olarak *E. coli* ve Gram pozitif bakteri olarak *S. aureus* seçildi

Bakteri süspansiyonları, McFarland 0.5 bulanıklık standardına göre hazırlanmış ve yaklaşık  $10^8$  cfu/ml yoğunluğa ayarlanmıştır. Mueller-Hinton agar plaklarına homojen şekilde yayılan süspansiyonlar, test edilecek maddelerin etkilerini değerlendirmek için kullanılmıştır.

Test edilen maddeler arasında *S. brevidens* (S.B.) ekstraktı, yeşil sentezle üretilmiş *S. brevidens* gümüş nanopartiküller (S.B. AgNP) ve pozitif kontrol olarak ampisilin yer almıştır. Hazırlanan maddeler, steril filtre kağıdı disklerine emdirilmiş ve kurutulmuştur. Bu diskler, agar yüzeyine eşit aralıklarla yerleştirilmiş ve plaklar  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildi.



Şekil 3.16. *S. aureus* suşuna karşı AgNP'lerin inhibisyon zonları



Şekil 3.17. *E. coli* suşuna karşı AgNP'lerin inhibisyon zonları

İnkübasyonun ardından, disklerin çevresindeki antibakteriyel zon çapları milimetre (mm) olarak ölçülmüş ve analiz edilmiştir. Bu yöntem, nanopartiküllerin ve ekstraktların bakterilere karşı etkilerini değerlendirmek için uygun bir model sunmuştur.

### 3.7. S.B. AgNP'lerin Sitotoksik Deneyleri

Sentezlenen NPs'in biyoyumlu, suda çözünebilen, fotoluminesans özelliği olan düşük toksisiteye sahip nanomalzemeler olduğu düşünülerek insan epitelyal ve kanser hücre hatları (Hela, L929, HT-29) üzerine sitotoksik etkileri "Alamar Mavisı" yöntemiyle kolorimetrik olarak çalışıldı ve IC<sub>50</sub> değerleri belirlendi. *S. brevidens* bitkisinden sentezlenen AgNP'lerin ve saf bitki ekstraktının sitotoksitesisi, Alamar Blue® testi kullanılarak değerlendirildi. Hücreler DMEM (4.5 g/L glukoz; Gibco, Invitrogen, Karlsruhe Almanya) ortamında (Hücre büyümesi için DMEM, streptomisin ve penisilin (%1) içerir) 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> atmosferinde inkübatör içerisinde büyütüldükten sonra 10 mM fosfat tamponu ile yıkanarak tripsin-EDTA solüsyonu yardımıyla büyüme ortamlarından kaldırılarak NPs ile muamele işlemlerinin yapılacağı 96 kuyucuklu hücre kültürü plakalarına aktarıldı (Yani 10,000 hücre yetiştirildikten sonra toplanır). Daha sonra hücreler, 24 saat boyunca 0,1µM ile 1000 µM arasında 9 farklı dozda AgNP ile

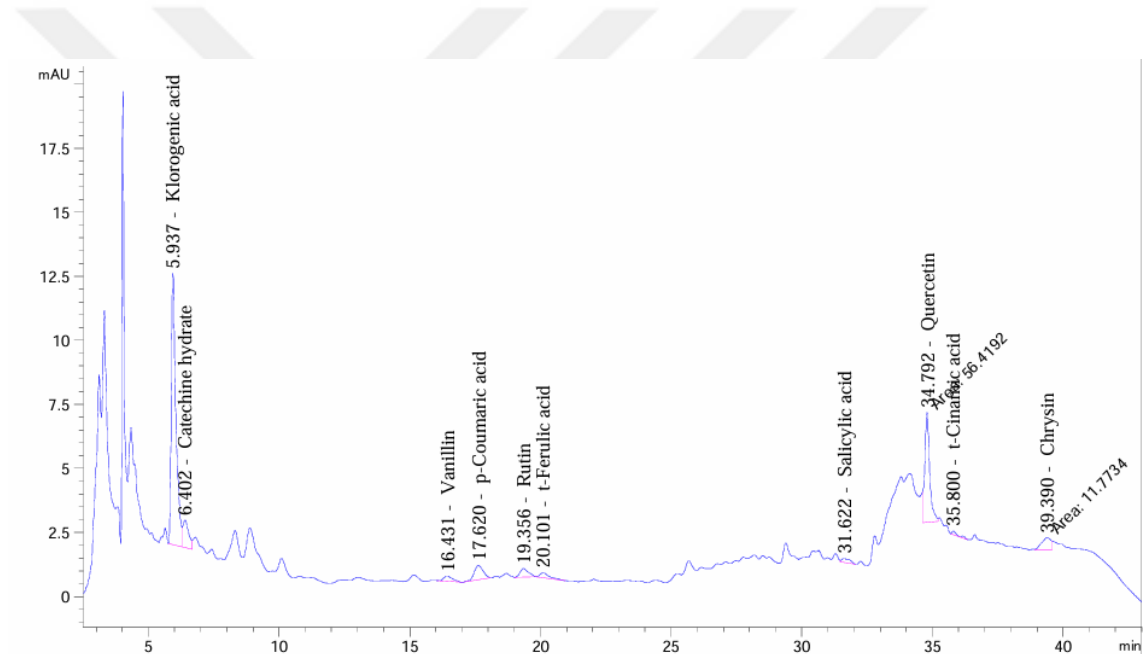
inkübe edildi. Numuneler üç kopya halinde hazırlanıp ve negatif kontrol kuyucukları olarak sadece hücre, her konsantrasyon için test bileşiklerini içeren ortam kullanıldı. 24 saatlik inkübasyondan sonra, kuyucuklara Alamar Blue® reaktifi (1:10, v/v) ilave edilerek ve 4 saat daha inkübasyon gerçekleştirildi. Daha sonra iki farklı dalgaboyu olan 570 nm ve 600 nm’de spektrofotometrik ölçümler yapıldı. Her örneğin hücre canlılıkları hesaplanmış ve kontrol kuyucukları %100 olarak alındı. Test edilen bileşiklerin varlığında canlılık yüzdesi, kontrol yüzdesi olarak ifade edildi. Mavi renkli zayıf bir floresans madde olan resasurinin pembe renkli kuvvetli bir fluoresans madde olan resorufine hücrel indirgenmesiyle oluşan resorufine miktarına bağlı absorban değerleri mikropilaka okuyucu spektrofotometrede ölçüldü. Hücre canlılığı, % olarak hesaplandı. Canlılık oranının sigmoidal grafiğinden CQDs’ın sitotoksik etkisi hesaplanacak IC<sub>50</sub> değerleri belirlenmiştir (Yılmaz, 2022; Yılmaz ve ark., 2020).

## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

### 4.1. *S. brevidens* L. İle Yeşil Sentezle Elde Edilen Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP) Sonuçları

#### 4.1.1. *S. brevidens* L. Ekstraktının Fitokimyasal İçeriğinin HPLC-DAD Analizi Sonuçları

Şekil 4.1. de *S. brevidens* bitki ekstraktının içerdiği bileşiklerin HPLC analizi sonucu gösterilmektedir. Bu analiz, ekstrakttaki fenolik bileşikler ve diğer biyoaktif maddelerin tanımlanmasını sağlamaktadır.



Şekil 4.1. Standart bileşiklerin kromotogramı 1-Klorojenik asit, 2-Kateşin hidrat, 3-Vanilin, 4-p-Kumarik asit, 5-Rutin, 6-Ferulik asit, 7- Salisilik asit, 8-Kerstin, 9-Kafeik asit, 10-Krisin

Şekil 4.1. de *S. brevidens* bitki ekstraktının içerdiği bileşiklerin HPLC analizi sonucu gösterilmektedir. Bu analiz, ekstrakttaki fenolik bileşikler ve diğer biyoaktif maddelerin tanımlanmasını sağlamaktadır.

Analizde ilk olarak 5.937 dakikada klorojenik asit tespit edilmiştir. Klorojenik asit, bitkisel kaynaklarda yaygın olarak bulunan ve antioksidan özelliklere sahip bir fenolik bileşiktir. 6.102 dakikada ise kateşin hidrata ait pik görülmektedir; kateşin güçlü bir antioksidan olup, anti-inflamatuar özellikleriyle de bilinir. 16.431 dakikada tespit edilen vanilin, fenolik bir aldehit olup antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri ile öne

çıkar. 17.620 dakikada gözlenen p-kumarik asit, serbest radikalleri nötralize etme kabiliyetiyle bilinen bir fenolik asittir.

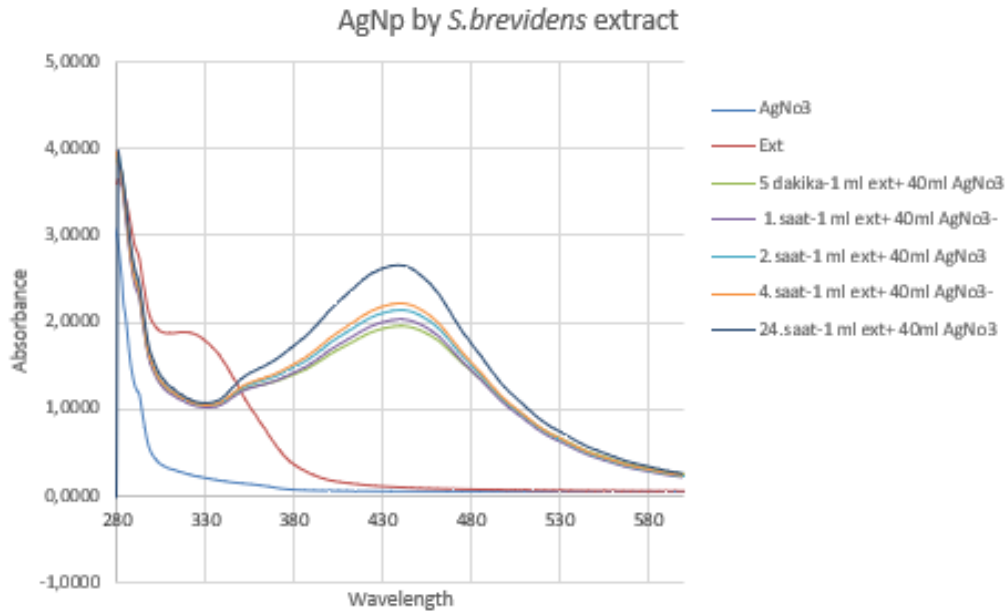
Rutin, ekstraktın içeriğinde 19.356 dakikada tespit edilmiş olup, kan damarlarını güçlendiren ve antioksidan özellikler sergileyen bir flavonoiddir. Ferulik asit, 20.101 dakikada ölçülmüş ve serbest radikallere karşı koruyucu etkisiyle tanınan bir fenolik asittir. 31.622 dakikada salisilik asit tespit edilmiştir; bu bileşik antiseptik ve antiinflamatuvar özelliklere sahip olup, hücresel sağlığı desteklemektedir.

34.792 dakikada kuersetin belirlenmiştir; kuersetin, antioksidan ve antikanser özellikleriyle bilinen bir flavonoiddir. 35.419 dakikada tekrar gözlemlenen p-kumarik asit, ekstrakttaki antioksidan aktiviteye katkı sağlamaktadır. İz-kaempferol 35.800 dakikada tespit edilmiştir ve güçlü bir antioksidan flavonoid olarak hücreleri oksidatif hasardan korumaktadır. Son olarak, 39.390 dakikada krizin tespit edilmiştir; bu bileşik de antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir.

HPLC analiz sonuçlarına göre, *S. brevidens* bitki ekstraktı içerisinde antioksidan, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özelliklere sahip birçok biyoaktif bileşik bulunmaktadır. Elde edilen piklerin retansiyon sürelerine göre grafikte belirgin şekilde gözlenmesi, ekstraktın zengin fenolik ve flavonoid bileşikler içerdiğini göstermektedir. Klorojenik asit, kateşin, kuersetin, rutin ve ferulik asit gibi bileşiklerin varlığı, ekstraktın potansiyel biyolojik aktivitelerini desteklemekte ve sağlık alanında kullanılabilirliğini göstermektedir. Bu analiz, *S. brevidens*'in çeşitli biyomedikal uygulamalarda etkili bir biyoaktif bileşik kaynağı olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır.

#### 4.1.2. UV-Vis Spektroskopisi Sonucu

Aşağıdaki grafikte, *S. brevidens* bitki ekstraktı ile gümüş nanopartiküllerin (AgNP) sentezinin farklı zaman dilimlerinde elde edilen UV-Vis spektrumları gösterilmektedir. Bu grafik, çeşitli zaman dilimlerinde elde edilen absorbans değerlerinin dalga boyuna karşı değişimini inceleyerek nanopartikül oluşum sürecini değerlendirmemizi sağlamaktadır.



Şekil 4.2. 1 ml ext- 5mM'da Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ve ekstraktın UV-vis spektrumu

UV spektrumları incelendiğinde,  $\text{AgNO}_3$  çözeltisinin (mavi eğri) spektrumu özellikle 300 nm civarında yüksek bir absorbanans göstermektedir. Bu durum, gümüş nitratin UV bölgesinde belirgin bir absorbanans pikine sahip olduğunu işaret eder. Bitki ekstraktının (kırmızı eğri) spektrumu ise 280-320 nm aralığında absorbanans göstermekte olup, ekstraktın içerdiği biyoaktif bileşiklerin bu dalga boylarında aktif olduğunu ve ışığı emdiğini göstermektedir.

Farklı zaman dilimlerinde elde edilen AgNP spektrumları, 5 dakika, 1 saat, 2 saat, 4 saat ve 24 saat sonra ölçülmüş olup, yaklaşık 420-460 nm arasında belirgin bir absorbanans piki sergilemektedir. Bu pik, gümüş nanopartiküllerin başarılı bir şekilde oluştuğuna işaret etmektedir. Zaman ilerledikçe pikin yoğunluğu ve şekli küçük değişiklikler göstermektedir; bu durum, partiküllerin büyüklüğünün ve morfolojisinin zamanla değiştiğine dair bilgi sunar. Örneğin, 5 dakika sonrasında (yeşil eğri), 420-430 nm civarında bir pik görülmesi, gümüş iyonlarının hızlı bir şekilde nanopartiküllere dönüştüğünü gösterir. 1 saat ve sonrasında (diğer renkli eğriler) pikin konumunda büyük bir değişiklik olmamakla birlikte, absorbanans değerlerinde hafif bir artış gözlemlenmektedir. Bu durum, nanopartiküllerin zamanla büyüdüğünü veya daha fazla nanopartikül oluştuğunu düşündürmektedir.

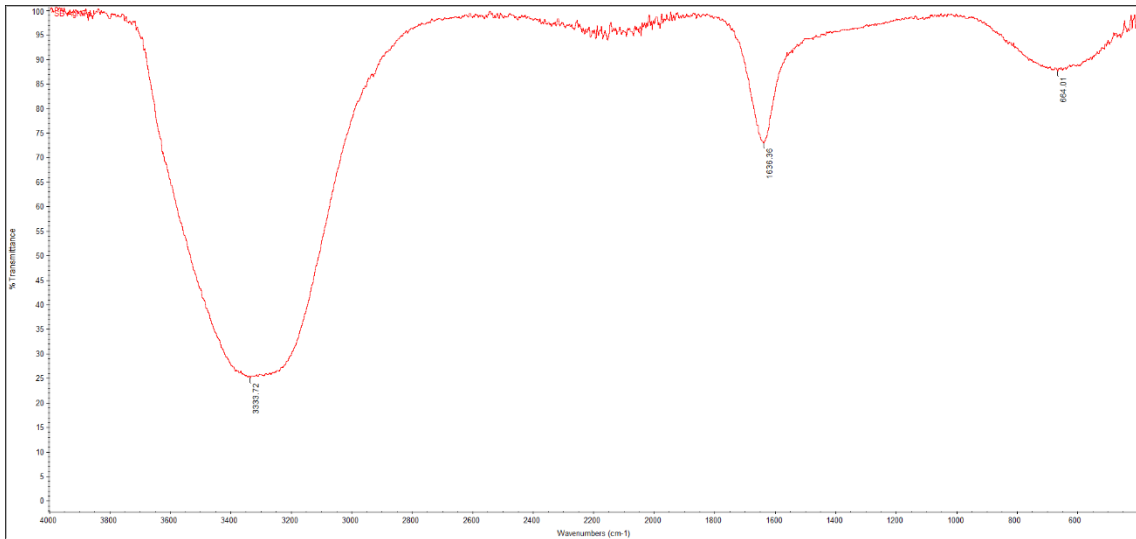
Sonuç olarak, bitki ekstraktının gümüş iyonları ile etkileşime girerek gümüş nanopartikülleri başarıyla oluşturduğu gözlemlenmiştir. Bu nanopartiküllerin karakteristik piki 420-460 nm arasında yer almakta olup, zamanla partikül büyüklüğü ve dağılımında küçük değişiklikler meydana gelmiştir. Ayrıca, ekstraktın kendisinin gümüş

nanopartikül oluşumuna katkıda bulunan biyoaktif bileşikler içerdiği ve bu bileşiklerin UV-Vis spektrumunda 280-320 nm aralığında aktif olduğu belirlenmiştir. Bu analiz, gümüş nanopartiküllerin biyosentezi için *S. brevidens* ekstraktının etkili bir biyo-reduksiyon ajanı olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Grafiğe göre, en etkili zaman dilimi 24 saat olarak belirlenmiştir. Bu zaman diliminde absorbans pikinde belirgin bir artış gözlemlenmekte ve yaklaşık 420-430 nm civarında yüksek bir absorbans değeri elde edilmektedir. Bu durum, gümüş nanopartiküllerinin en verimli şekilde bu zaman diliminde oluştuğunu ve bu sürede en iyi sonuçların elde edildiğini göstermektedir. Diğer zaman dilimlerinde (5 dakika, 1 saat, 2 saat ve 4 saat) de nanopartikül oluşumu gözlemlense de, en yüksek ve en belirgin absorbans değeri 24 saat sonrasında elde edilmiştir. Bu, partiküllerin büyüklüğünün ve oluşum yoğunluğunun en ideal noktaya 24 saat içinde ulaştığını işaret etmektedir.

#### 4.1.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Sonucu

Aşağıdaki şekilde, SB-AgNPs (*S. brevidens*'ten türetilmiş gümüş nanoparçacıklar) numunesine ait FTIR analiz spektrumu görülmektedir. Bu spektrum, numunedeki kimyasal bağlar ve bileşenler hakkında bilgi sağlayan karakteristik dalga sayısı bölgelerinde belirgin pikler içermektedir. Grafikte dalga sayısı ( $\text{cm}^{-1}$ ) x ekseninde, geçirgenlik yüzdesi (%T) ise y ekseninde gösterilmiştir. Belirgin piklerin analizine dayanarak numunenin yapısal bileşenleri hakkında yorum yapılabilir.



Şekil 4.3. S.B. AgNP'nin FTIR spektrumu

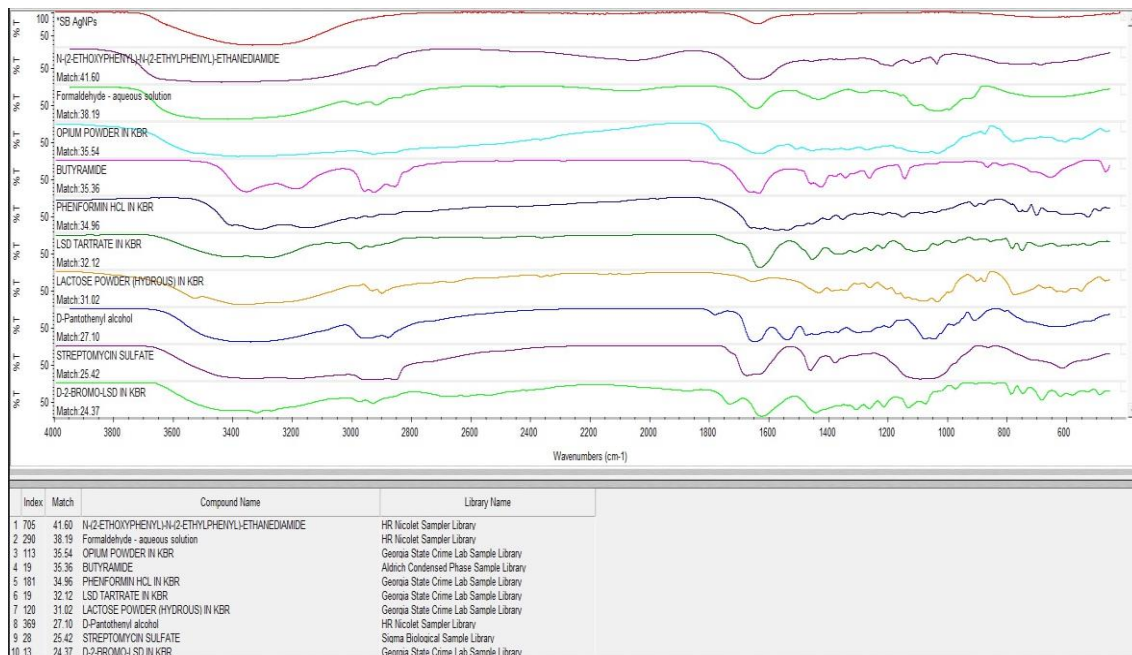
Spektrumda öne çıkan ilk pik,  $3350 \text{ cm}^{-1}$  civarında geniş bir bant olarak görülmektedir. Bu bölgede gözlemlenen geniş pik, genellikle -OH (hidroksil) gruplarının

geniş gerilme titreşimlerini temsil eder. Bu durum, numunede su moleküllerinin veya alkol, fenol gibi hidroksil içeren bileşiklerin varlığına işaret edebilir. Ayrıca, bu geniş bant gümüş nanoparçacıkların çevresinde bulunan organik bileşiklerdeki hidroksil gruplarından kaynaklanabilir.

1638  $\text{cm}^{-1}$  civarında yer alan ikinci pik ise karbonil (C=O) veya C=C çift bağlı grupların gerilme titreşimlerini temsil eder. Karbonil grupları, aldehit, keton veya amid gruplarında bulunabilir ve bu dalga sayısı bölgesinde pik vermesi, numunede bu tür fonksiyonel grupların varlığını düşündürür. Ayrıca, bu bölge bazı aromatik bileşiklerde C=C çift bağlarının titreşimleri ile ilişkilendirilebilir. Bu durum, gümüş nanoparçacıkların etrafında aromatik organik moleküller veya karbonil gruplarının bulunduğunu işaret edebilir.

684  $\text{cm}^{-1}$  civarında görülen üçüncü pik, 600-700  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde yer almakta olup genellikle C-H eğilme titreşimleri veya aromatik halka titreşimleri ile ilişkilidir. Bu dalga sayısında görülen pik, numunede aromatik bir yapı veya bazı karbon-hidrojen bağlarının varlığına işaret edebilir. Aynı zamanda bu bölge, "parmak izi" olarak bilinen spesifik bir alan olduğundan her bileşik için ayırt edici özellikler gösterir.

Bu FTIR analizinden elde edilen spektrum, SB-AgNPs numunesinin çeşitli organik fonksiyonel gruplar ve bileşikler içerdiğini göstermektedir. Özellikle hidroksil (-OH) ve karbonil (C=O) gruplarının varlığı, numunenin yüzeyinde su molekülleri, alkol, fenol veya aldehit, keton gibi bileşiklerin bulunduğunu düşündürmektedir. Gümüş nanoparçacıkların bu organik gruplarla etkileşime girerek yüzeyde bir stabilite kazandığı veya yüzey kaplama işlemlerinde bu tür grupların kullanıldığı yorumu yapılabilir. Bu FTIR analizi, SB-AgNPs'nin kompleks bir kimyasal yapıya sahip olduğunu, yüzeyinde organik ve inorganik bileşenlerin bulunduğunu ve potansiyel biyomedikal ve kimyasal uygulamalarda kullanım için uygun bir profile sahip olabileceğini göstermektedir. Özellikle, -OH ve C=O gruplarının gümüş nanoparçacıklarla etkileşimi, numunenin stabilite ve biyolojik etkileşim potansiyelini artırabilir. Bu spektrum, SB-AgNPs'nin yapısal özellikleri hakkında önemli bilgiler sunarak uygulama alanlarına yönelik ipuçları sağlayabilir.



Şekil 4.4. FTIR Spektrumu

Şekil 4.4.'de numune ile en çok uyum sağlayan bileşikler listelenmiştir. Örneğin, N-(2-Ethoxyphenyl)-N-(2-Ethylphenyl)-Ethanediamide bileşiği, %41.60 uyumla numunedeki bulunan bileşiklerden biri olarak tanımlanmıştır. Formaldehyde - aqueous solution ve Butyramide gibi diğer bileşikler de benzer uyum oranlarına sahip olarak numunedeki bulunmuştur. "Match" yüzdesi, numunedeki spektrumun kütüphane spektrumları ile ne kadar uyumlu olduğunu gösterir; bu oran ne kadar yüksekse, bileşiğin numunedeki bulunma olasılığı o kadar yüksektir.

Dalga sayısı bölgelerine göre yapılan değerlendirmede, 3000-2800  $\text{cm}^{-1}$  aralığında genellikle C-H gerilme titreşimleri görülür ve bu bölge çoğu organik bileşik için karakteristiktir. 1700-1500  $\text{cm}^{-1}$  bölgesi, karbonil (C=O) ve diğer çift bağlı grupların titreşimlerine karşılık gelir; formaldehit gibi bileşikler bu bölgede karakteristik pikler verir. 1000-600  $\text{cm}^{-1}$  bölgesi ise "parmak izi" bölgesi olarak bilinir ve her bileşik için oldukça spesifik pikler içerir.

SB-AgNPs numunesinin FTIR spektrumları, belirli organik bileşiklerle yüksek oranda uyum göstermektedir. Bu durum, numunenin çeşitli organik bileşenler ve gümüş nanoparçacıklarla kompleks bir yapı oluşturduğunu gösterir. N-(2-Ethoxyphenyl)-N-(2-Ethylphenyl)-Ethanediamide gibi bileşiklerin numunedeki tespit edilmesi, belirli organik moleküllerin gümüş nanoparçacıklarla etkileşime girebileceğini düşündürmektedir. Diğer bileşiklerin (örneğin, formaldehit, butiramid) spektrumlarının numunedeki bulunan diğer kimyasal bileşenlerle eşleşmesi, numunenin kompleks kimyasal yapısını destekler.

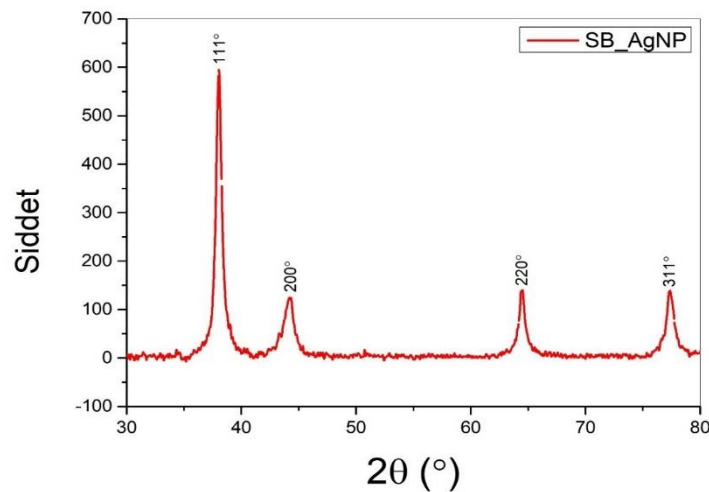
Bu FTIR analizi, SB-AgNPs numunesinin çeşitli organik ve inorganik bileşiklerden oluşan kompleks bir yapı olduğunu ortaya koymaktadır. Numunede tespit edilen bileşikler, gümüş nanoparçacıkların biyolojik ve kimyasal özelliklerini etkileyebilecek farklı organik moleküllerle etkileşim halinde olabileceğini göstermektedir. Bu analiz, SB-AgNPs'nin potansiyel biyolojik aktivitelerini ve uygulama alanlarını değerlendirmede önemli bilgiler sunabilir.

#### 4.1.4. X-Işınları Difraksiyonu (XRD) Sonucu

Şekil 4.5. de X-ışını kırınımı (XRD) analizi sonucunda, sentezlenen SB-AgNPs kristal yapısı belirlenmiştir. Elde edilen difraktogramda,  $2\theta$  değerleri sırasıyla  $111^\circ$ ,  $200^\circ$ ,  $220^\circ$  ve  $311^\circ$  düzlemlerine karşılık gelen keskin ve belirgin kırınım pikleri gözlemlenmiştir. Bu pikler, FCC (Face-Centered Cubic) yapıya sahip kristal gümüşün karakteristik özellikleri ile uyum göstermektedir.

Özellikle 111 düzlemi, diğer düzlemlere göre daha yüksek şiddetle bir pik göstermiştir ve bu, gümüş nanopartiküllerin baskın kristal yönelimi olarak literatürde sıklıkla rapor edilmiştir (Umaz & Demir, 2019). Piklerin keskin olması, sentezlenen nanopartiküllerin yüksek kristal yapıya sahip olduğunu ve amorf yapı içermediğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, grafikte başka herhangi bir faza ait piklerin olmaması, sentezlenen nanopartiküllerin yüksek saflıkta olduğunu desteklemektedir.

Bu analiz, sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin FCC yapısında kristalleştiğini ve yöntemin etkin bir şekilde çalıştığını göstermektedir.

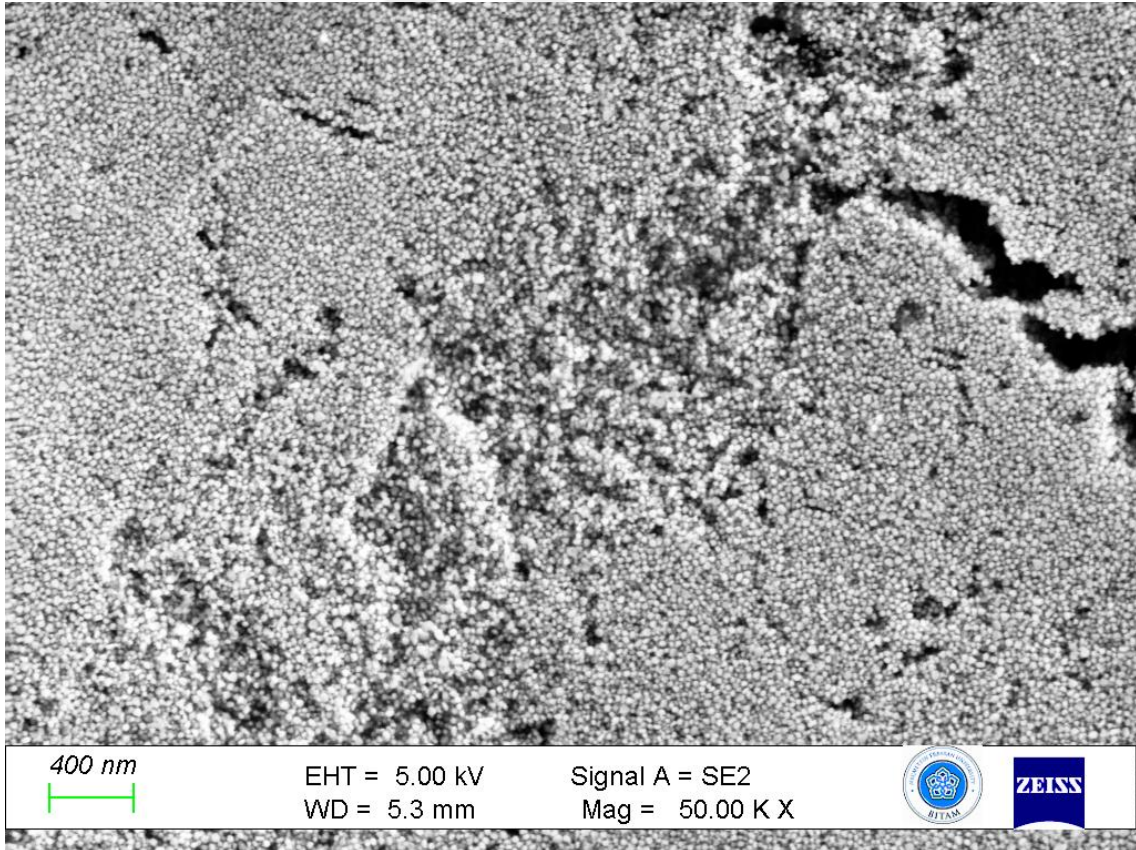


Şekil 4.5. S.B. AgNP'lerin XRD sonucu

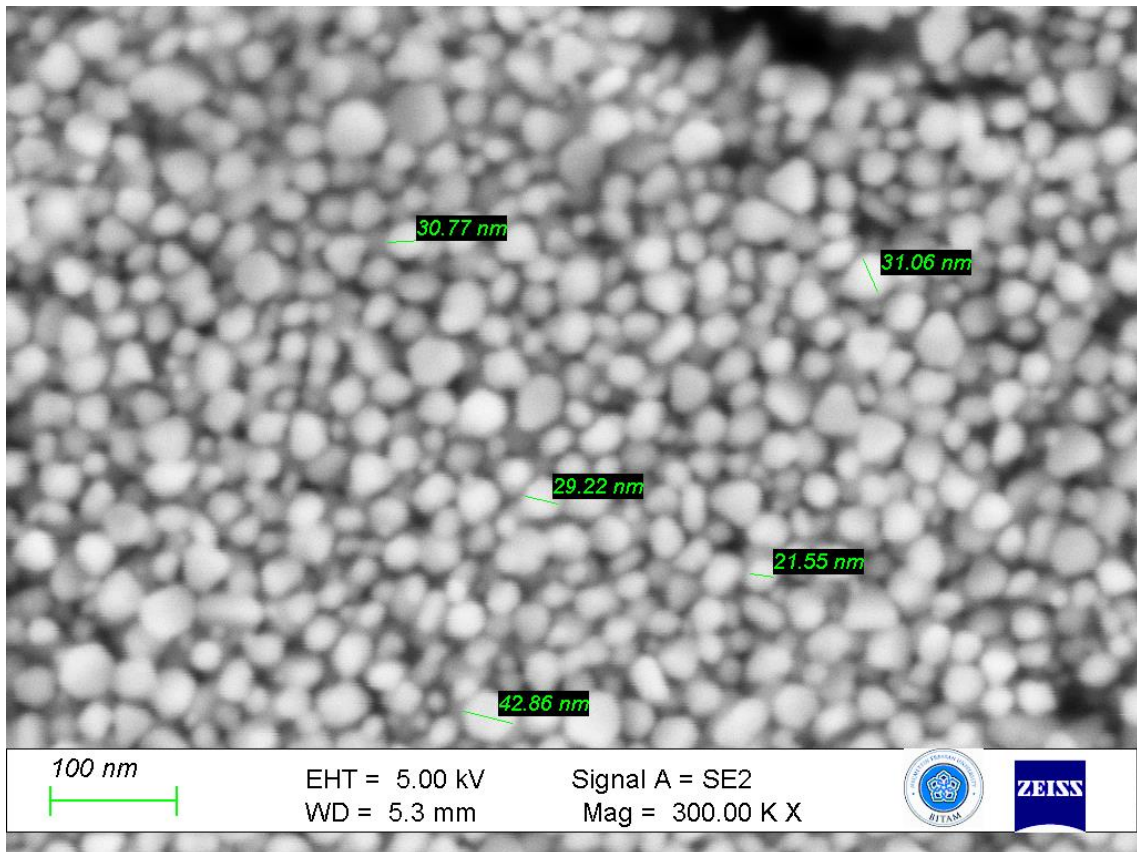
#### 4.1.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Sonucu

Şekil 4.6., 4.7., 4.8., 4.9. ve 4.10'da, çözültiden üretilen gümüş nanopartiküllerin SEM görüntüleri, homojen, küresel ve oldukça küçük nanopartiküllerin varlığını göstermektedir (Santhoshkumar ve ark., 2017). Ancak, numunenin hazırlanması sırasında çözücünün buharlaşmasıyla meydana gelen reaksiyonlar nedeniyle gümüş nanopartiküllerin beklenenden daha büyük boyutlarda olduğu SEM görüntülerinde gözlemlenmiştir.

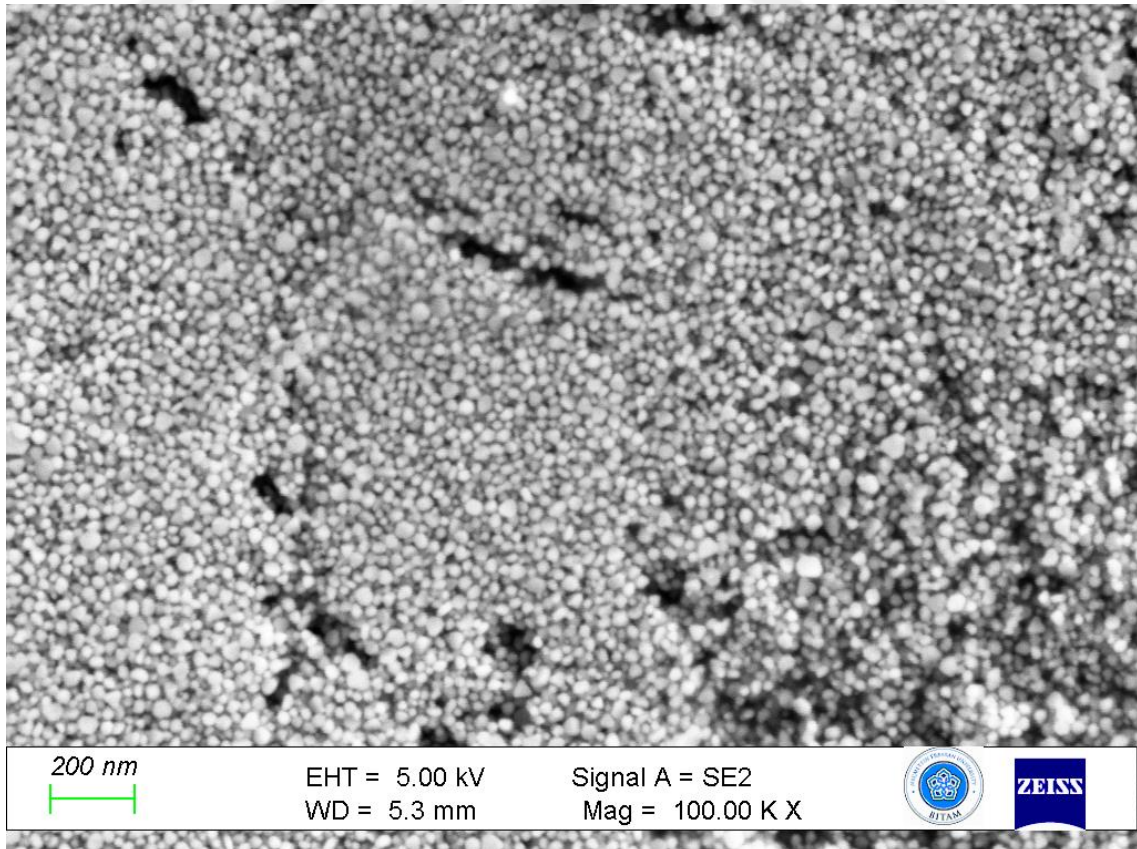
Bu süreçte, nanopartiküllerin birikimi bu reaksiyonların bir sonucu olarak ortaya çıkmıştır. Bu durum, partikül boyutundaki farklılıkların oluşmasına yol açabilir (Ramirez-Acosta ve ark., 2020; Vijay Kumar ve ark., 2014). SEM görüntüleri, nanopartikül boyutları arasında belirgin dağılım farklılıkları bulunduğunu ve bazı bölgelerde yoğun miktarda gümüş nanopartikül birikimi olduğunu göstermektedir.



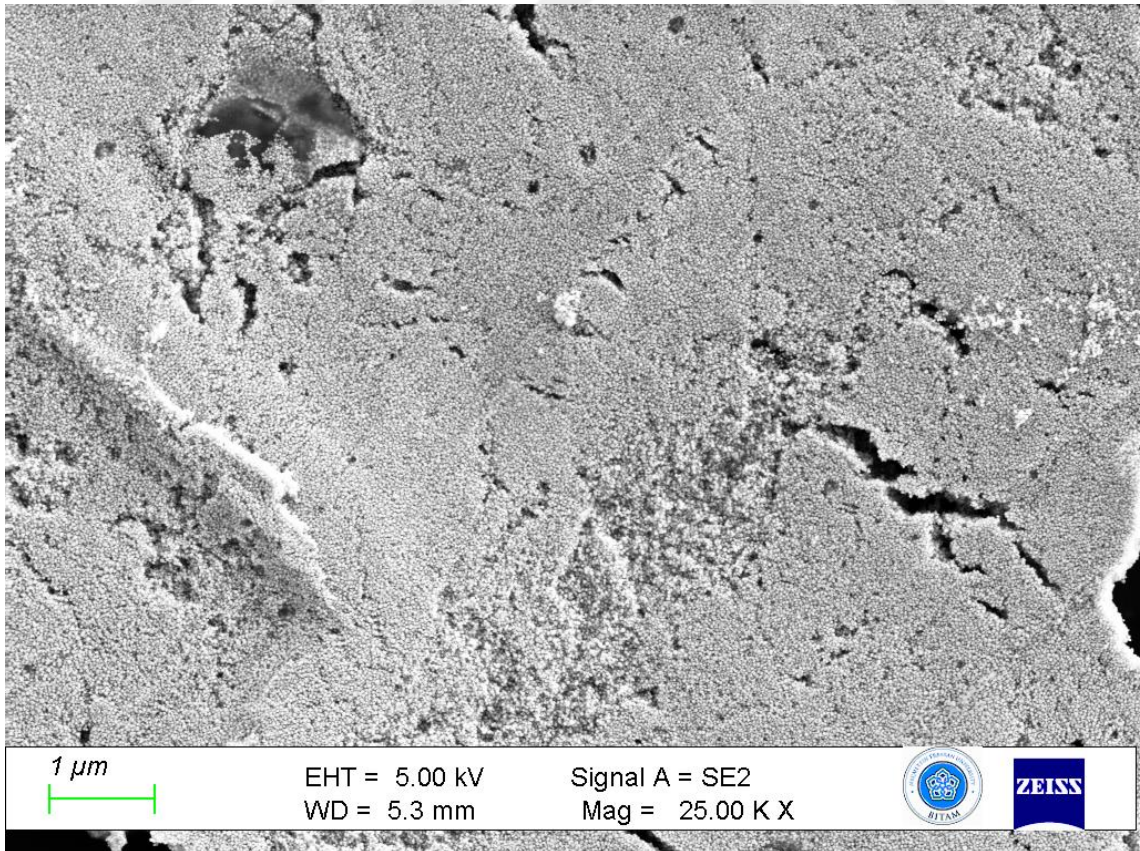
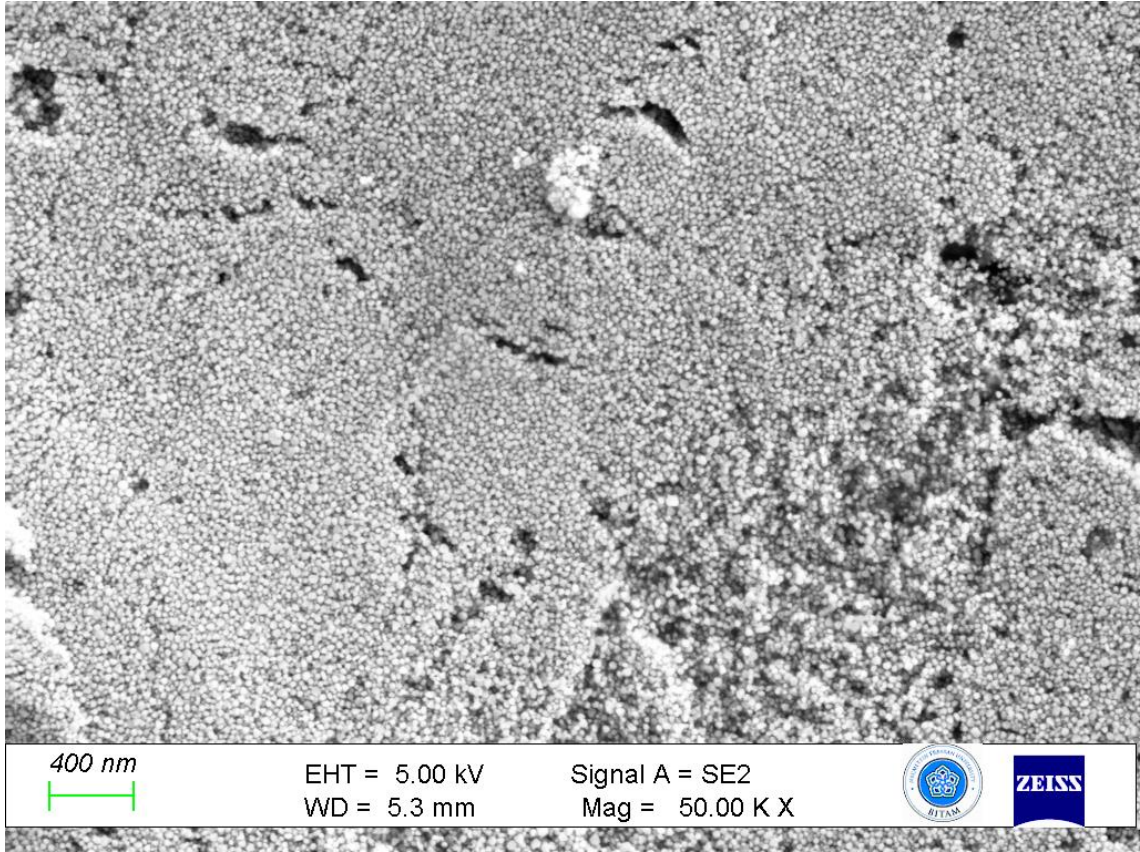
Şekil 4.6. S.B. AgNP'lerin SEM Görüntüsü



Şekil 4.7. S.B. AgNP'lerin SEM görüntüsü



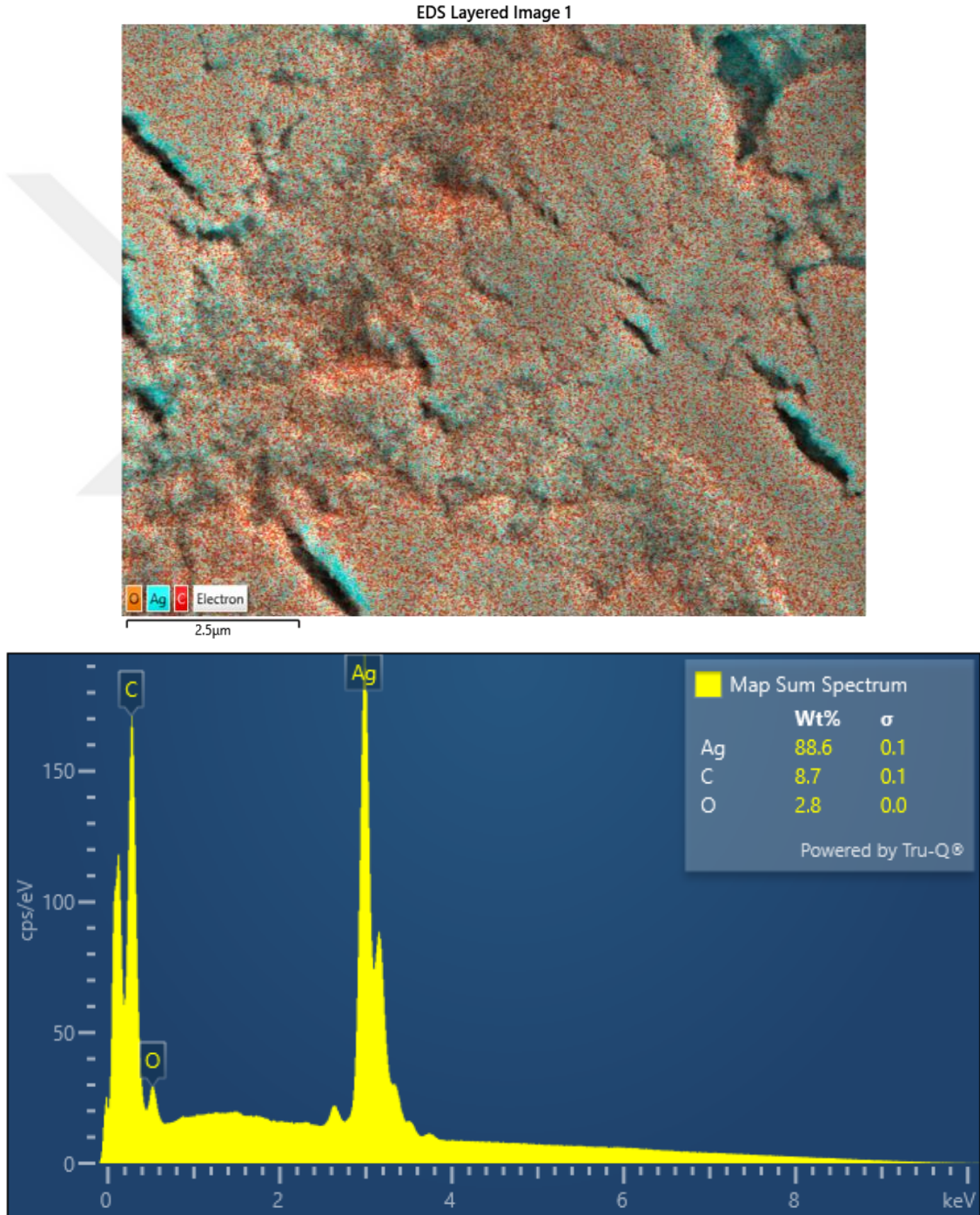
Şekil 4.8. S.B. AgNP'lerin SEM görüntüsü



#### 4.1.6. Enerji Dağılım X-Ray Spektroskopisi (EDS)

Enerji dağılım X-ray spektroskopisi (EDS), hem katıların element bileşimlerini belirlemede hem de nanopartiküllerin kimyasal incelemesinde sıkça kullanılan analitik yöntemlerden biridir (Hodoroaba, 2020). Çalışmada, EDS analizi için ekstraktan alınan örnekler karbon kaplı bakır ızgaralara ince bir film olarak damlatılarak hazırlanmıştır.

EDS analizi, 2.983 keV enerji seviyesinde güçlü bir gümüş sinyali oluşturmuş, bu da gümüş nanopartiküllerin varlığını doğrulamaktadır (Vijay Kumar ve ark., 2014).



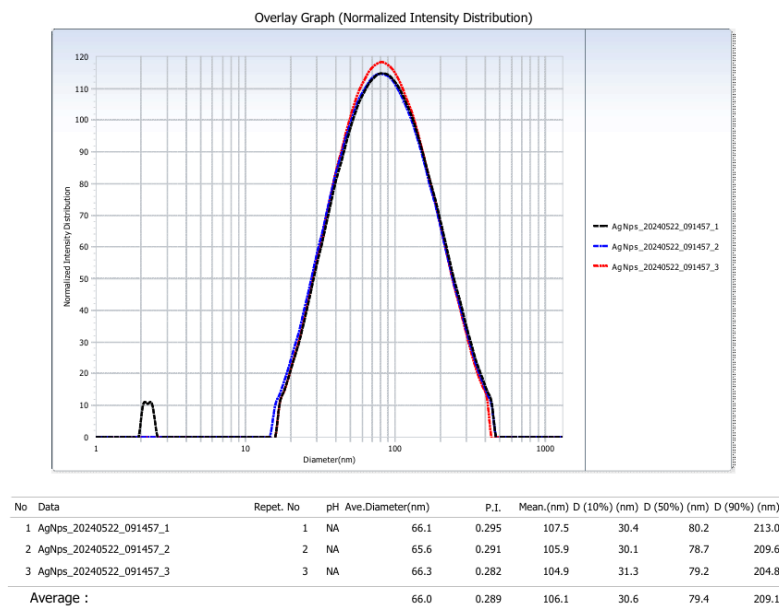
Şekil 4.11. S.B. AgNP'lerin EDS görüntüsü ve grafiği

#### 4.1.7. DLS ile Boyut Analizleri ve Zeta Potansiyeli Analizi Sonuçları

DLS (Dinamik Işık Saçılımı), yarı elastik ışık saçılma veya foton korelasyon spektroskopisi olarak da bilinen bir yöntemdir. Nanomalzemelerin çözelti içerisindeki boyut dağılımı, zeta potansiyeli (yüzey yükü) ve parçacık boyutu hakkında bilgi edinmek için yaygın olarak kullanılan etkili bir araçtır (Shah ve Rather, 2020). Bu yöntem, süspansiyonun stabilitesini ve partikül boyutlarını değerlendirmede oldukça etkilidir ve nano ölçekli koloidal süspansiyon içerisindeki nanopartiküllerin boyutlarını ölçmek için Brownian hareketine dayalı bir ölçüm metodolojisi sunar.

DLS yönteminde, parçacıklara ışık gönderilir ve saçılan ışığın yoğunluğundaki değişiklikler ölçülür. Yöntem, 1  $\mu\text{m}$ 'den küçük çaplı partiküllerin medyan sayı oranını yüzde olarak belirlemek ve ortalama çaplarını (nm) hesaplamak için kullanılmaktadır. Bu teknik, ölçülen nanopartiküllerle eşit hızda yayılan teorik bir kürenin hidrodinamik çapını belirler. Bu hidrodinamik çap, parçacığın elektriksel çift katman kalınlığından, metalik çekirdeğinden ve yüzeyinde adsorbe edilen maddelerden etkilenir.

Nanopartiküllerin boyutu ve elektrikli çift katman kalınlığı, ölçüm yapılan ekstrakt ve nanopartiküllerin yüzey özelliklerine bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Bu nedenle, DLS yöntemi ile elde edilen boyutlar, genellikle makroskopik yöntemlerle elde edilen değerlerden daha büyük olabilmektedir (Tomaszewska ve ark., 2013).

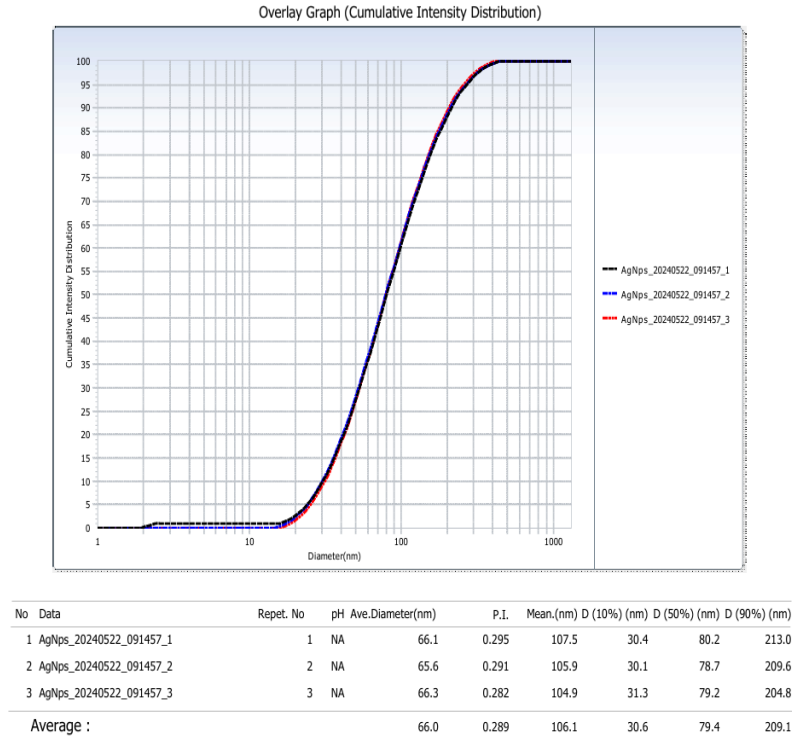


Şekil 4.12. S.B. AgNP'lerin parçacık boyut dağılımı (normalleştirilmiş yoğunluk dağılımı)

Yukarıdaki grafikte, farklı çaplarda gümüş nanoparçacıkların yoğunluk dağılımı gösterilmektedir. X eksenini nanoparçacıkların çapını (nm cinsinden) yansıtırken, Y eksenini normalize edilmiş yoğunluk dağılımını ifade etmektedir. Bu grafik, farklı çaplara sahip nanoparçacıkların yoğunluklarını görselleştirerek boyut dağılımı hakkında bilgi sunmaktadır.

Verilerin yorumlanması sonucunda, üç farklı tekrar için ortalama çapların 65.6 nm ile 66.3 nm arasında değiştiği, ortalama çapın ise 66.0 nm olarak hesaplandığı görülmektedir. Boyut dağılımının genişliğini ifade eden polidispersite indeksi (P.I.) 0.282 ile 0.295 arasında değişiklik göstermekte olup, düşük bir P.I. değeri, nanoparçacıkların boyut dağılımının daha dar ve homojen olduğunu göstermektedir. Partiküllerin boyut dağılımını daha detaylı incelemek amacıyla D(10%), D(50%) ve D(90%) değerleri kullanılmıştır. Bu değerlere göre, partiküllerin %10'u 30.6 nm, %50'si 79.4 nm ve %90'ı 209.1 nm'den daha küçüktür.

Boyut dağılımının değerlendirilmesi incelendiğinde, SB-AgNPs numunesinin genel olarak dar bir boyut dağılımına sahip olduğu ve ortalama çapın 66 nm civarında olduğu belirlenmiştir. Düşük polidispersite indeksi (0.289), bu nanoparçacıkların oldukça homojen olduğunu ve üretim sürecinin kontrollü bir şekilde gerçekleştirildiğini düşündürmektedir.

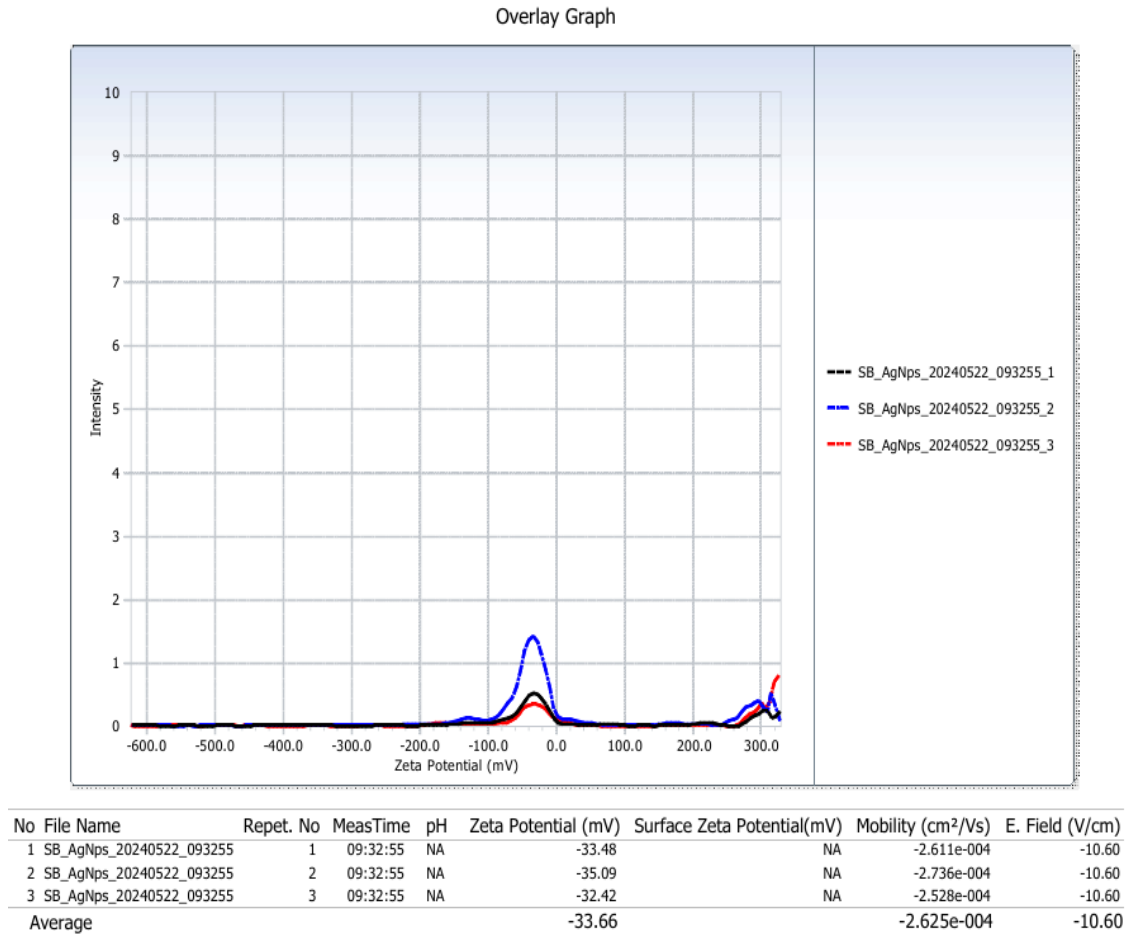


Şekil 4.13. S.B. AgNP'lerin parçacık boyut dağılımı (kümülatif yoğunluk dağılımı)

Şekil 4.13.'de SB-AgNPs (*Sideritis brevidens*'ten türetilmiş gümüş nanoparçacıklar) numunesinin kümülatif yoğunluk dağılımı grafiği ve ilgili veriler bulunmaktadır. Bu tür grafikler ve veriler, numunenin boyut dağılımını ve polidispersitesini analiz etmek için kullanılır. Grafik, farklı çaplarda bulunan nanoparçacıkların kümülatif yoğunluk dağılımını göstermektedir. X eksenini, nanoparçacıkların çapını (nm cinsinden) gösterirken, Y eksenini belirli bir boyuttan daha büyük partiküllerin kümülatif yoğunluk yüzdesini temsil eder. Örneğin, 100 nm'lik çapa kadar olan tüm nanoparçacıkların toplam yoğunluğu %50'ye ulaşabilir.

Numunenin ortalama çapı 65.6 nm ile 66.3 nm arasında değişmekte olup, ortalama 66.0 nm olarak hesaplanmıştır. Boyut dağılımının genişliğini ifade eden polidispersite indeksi (P.I.) 0.289 olarak hesaplanmış olup, 0.3'ün altında bir değerde olması, nanoparçacık boyutlarının oldukça homojen olduğunu gösterir. Partiküllerin boyut dağılımını daha ayrıntılı anlamak için D(10%), D(50%) ve D(90%) değerleri kullanılmıştır; D(10%) 30.6 nm, D(50%) 79.4 nm ve D(90%) ise 209.1 nm olarak verilmiştir. Bu değerler, partiküllerin %10'unun 30.6 nm'den, %50'sinin 79.4 nm'den ve %90'ının ise 209.1 nm'den daha küçük olduğunu göstermektedir.

Bu veriler, SB-AgNPs numunesinin genel olarak dar bir boyut dağılımına sahip olduğunu ve ortalama boyutun 66 nm civarında olduğunu göstermektedir. D(50%) değerinin 79.4 nm olması, numunenin yarısının bu boyuttan daha küçük nanoparçacıklar içerdiğini, D(90%) değerinin ise 209.1 nm olduğunu belirtir; bu durum, numunenin büyük bir kısmının küçük nanoparçacıklardan oluştuğunu ve daha az sayıda büyük parçacık içerdiğini gösterir. Ayrıca, P.I. değerinin 0.289 olması, SB-AgNPs'nin oldukça homojen bir yapıya sahip olduğunu ve parçacık boyutlarının dar bir aralıkta dağıldığını işaret eder. Bu durum, kontrollü ve tek tip partikül üretiminin başarılı olduğunu düşündürmektedir. Sonuç olarak, SB-AgNPs'nin kümülatif yoğunluk dağılımı verileri, gümüş nanoparçacıklarının boyutlarının oldukça homojen olduğunu ve büyük çoğunluğunun 66 nm civarında bir ortalama boyuta sahip olduğunu göstermektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar biyomedikal uygulamalar, ilaç taşıma sistemleri ve antimikrobiyal kaplamalar gibi alanlarda kullanılacak uygun bir nanoparçacık profilidir ve elde edilen sonuçlar, bu nanoparçacıkların üretim sürecinin kontrollü ve etkili olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.14. S.B. AgNP'lerin Zeta potansiyeli

Şekil 4.14.'de SB-AgNPs numunesinin zeta potansiyeli ile ilgili veriler bulunmaktadır. Zeta potansiyeli, nanoparçacıkların stabilitesi ve yüzey yükü hakkında bilgi sağlayan kritik bir parametre olup, bu veriler numunenin kararlılığına dair önemli bilgiler sunmaktadır. Üç farklı tekrar ölçümünde zeta potansiyel değerleri sırasıyla -33.48 mV, -35.09 mV ve -32.42 mV olarak ölçülmüş ve bu değerlerin ortalaması -33.66 mV olarak hesaplanmıştır. Zeta potansiyeli ile bağlantılı olarak ölçülen mobilite değerleri  $-2.611 \times 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{Vs}$  ile  $-2.736 \times 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{Vs}$  arasında değişmiştir; bu, partiküllerin çözelti içindeki hareket kabiliyetini gösterir. Sabit bir elektrik alanı (10.60 V/cm) altında gerçekleştirilen ölçümlerde, zeta potansiyeli değerlerinin yoğunluk dağılımı, partiküllerin yüzey yükünü ve bu yükün çözeltiyle etkileşimini temsil etmektedir. Ölçülen negatif zeta potansiyel değerleri, partiküllerin negatif yüklü olduğunu gösterir.

Ortalama zeta potansiyel değeri -33.66 mV olan SB-AgNPs, çözelti içinde yüksek bir stabiliteye sahiptir. Genellikle, zeta potansiyeli mutlak değeri 30 mV'nin üzerinde olan nanoparçacıklar elektrostatik itme kuvvetleri sayesinde çözelti içinde kararlı kalmakta ve agregasyon (çökme) eğilimi göstermemektedir. Negatif zeta potansiyeli,

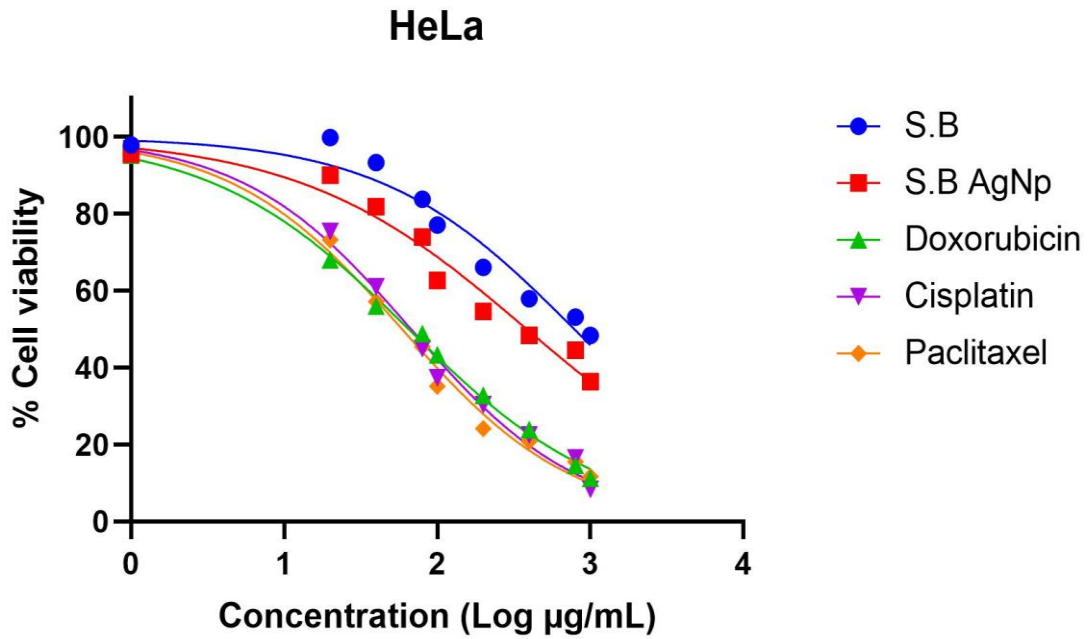
nanoparçacıkların yüzeyinde negatif yüklü grupların varlığını işaret eder; bu da parçacıkların birbirini iterek bir arada toplanmasını önlemekte ve stabil bir süspansiyon oluşturmalarına yardımcı olmaktadır. Zeta potansiyeline karşılık gelen negatif mobilite değerleri ( $\text{cm}^2/\text{Vs}$  cinsinden), partiküllerin elektrik alanına belirli bir yönde tepki verdiğini ve negatif yüklü olduğunu desteklemektedir. Bu veriler, SB-AgNPs'nin yüksek zeta potansiyeli sayesinde oldukça kararlı bir süspansiyon oluşturduğunu ve yüzeyinde negatif yüklü gruplar barındırdığını göstermektedir. Bu özellikleri sayesinde SB-AgNPs, biyomedikal uygulamalar, ilaç taşıma sistemleri ve antimikrobiyal kaplamalar gibi alanlarda yüksek performans gösterebilecek uygun bir nanoparçacık profiline sahiptir. Elde edilen sonuçlar, SB-AgNPs'nin stabilitesi ve çözelti içindeki davranışına dair önemli bilgiler sunarak kullanım alanlarında üstün kararlılık sağlayabileceğini işaret etmektedir.

#### 4.1.8. Sentezlenen AgNP'lerin Sitotoksik Aktivite Sonuçları

SB ve SB-AgNPs'ile yapılan çalışmalar, HT-29, HeLa ve L9-29 hücre hatları üzerinde test edilmiştir. HT-29 ve HeLa gibi kanser hücre hatlarında, bu maddelerin sitotoksik etki gösterdiği gözlemlenmiştir. S.B. AgNp'nin IC50 değerleri HT-29 ve HeLa hücrelerinde sırasıyla 472.3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ve 384.3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  olarak belirlenmiştir. Bunun yanında, doksorubisin, sisplatin ve paklitaksel gibi standart kemoterapi ilaçlarıyla karşılaştırıldığında, S.B. ve S.B. AgNp'nin sitotoksik etkisinin daha zayıf olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle sisplatin, her iki hücre hattında da en güçlü etkiyi göstermiştir (IC50: 42.51  $\mu\text{g}/\text{mL}$  - HT-29, 65.07  $\mu\text{g}/\text{mL}$  - HeLa).

Sağlıklı hücre hatlarına (L9-29) yönelik yapılan testlerde, S.B. ve S.B. AgNp'nin sitotoksik etkisinin düşük olduğu ve sağlıklı hücrelerin büyük oranda zarar görmediği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, S.B. ve S.B. AgNp'nin selektif toksisiteye sahip olabileceğini ve kanserli hücreler üzerinde daha etkili olduğunu, ancak sağlıklı hücrelere karşı daha az zararlı olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, S.B. ekstraktlarının HT-29 ve HeLa hücre hatlarında belirli bir sitotoksik etkiye sahip olduğu, sağlıklı hücrelerin ise bu maddelere karşı daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, potansiyel olarak antikanser tedavilerde kullanılacak biyolojik ajanların geliştirilmesi için önemli bir veri sağlamaktadır. S.B'nin nanopartikül formunun daha güçlü sitotoksik etki gösterdiği ve bu etkinin özellikle kanser hücrelerine karşı yoğunlaştığı dikkat çekmiştir.



Şekil 4.15. S.B ve S.B. AgNP'lerin Hela hücre canlılığı üzerine etkileri

Şekil 4.15. S.B. ve S.B. AgNP HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkilerinin yanı sıra, Doxorubicin, Cisplatin ve Paclitaxel gibi bilinen antikanser ilaçları ile karşılaştırmalı olarak hücre yaşama oranlarını gösteren bir grafik bulunmaktadır. Grafik, artan konsantrasyonlarla hücre viabilitesindeki değişimi yansıtmaktadır.

Grafikte, y eksenini hücre yaşama oranını (% Cell viability) gösterirken, x eksenini artan konsantrasyonları (Log µg/mL) temsil etmektedir. Sonuçlar, HeLa hücrelerinin bu farklı ajanlara karşı duyarlılığını ortaya koymaktadır.

S.B. mavi renkle gösterilen eğri ile temsil edilmektedir. Bu eğri, S.B. ekstraktının HeLa hücre hattı üzerindeki etkisini göstermekte olup, diğer ajanlarla karşılaştırıldığında, S.B. ekstraktının hücre viabilitesi üzerindeki azaltıcı etkisinin daha sınırlı olduğu görülmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda bile hücre yaşama oranı belirgin şekilde devam etmekte olup, bu durum S.B. ekstraktının sitotoksik etkinliğinin nispeten düşük olduğunu göstermektedir.

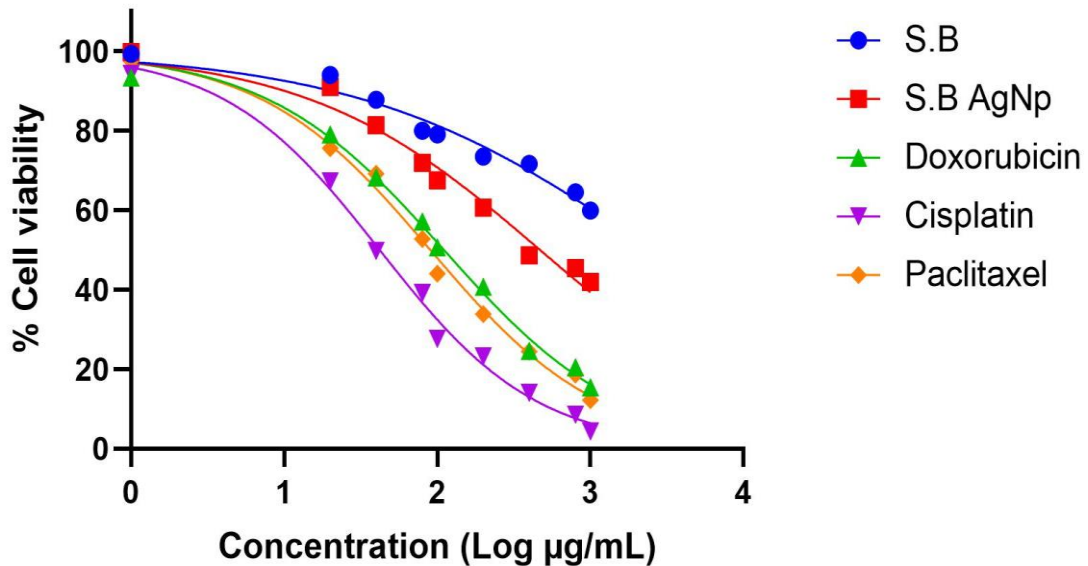
S.B. ekstraktından türetilen gümüş nanopartiküllerin etkisi ise kırmızı renkle gösterilen eğri ile yansıtılmıştır. S.B. AgNP, S.B. ekstraktına göre daha yüksek bir sitotoksik etki göstermektedir. Hücre viabilitesi, artan konsantrasyonlarla birlikte hızlı bir şekilde azalmakta olup, bu durum gümüş nanopartiküllerin S.B.'ye kıyasla daha etkili bir antikanser potansiyele sahip olduğunu düşündürmektedir.

Antikanser ilaçlarla karşılaştırma yapıldığında; yeşil (Doxorubicin), mor (Cisplatin) ve turuncu (Paclitaxel) eğriler, bu üç bilinen antikanser ilacın etkilerini göstermektedir. Bu ilaçlar, hücre yaşama oranını hızlı bir şekilde azaltarak daha yüksek bir sitotoksik etki göstermektedir. S.B. AgNp'nin etkisi, bu ilaçlara göre bir miktar daha zayıf olsa da, belirgin bir antikanser aktivite sergilemektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, grafikteki eğriler, S.B. AgNp'nin HeLa hücrelerinde belirgin bir sitotoksik etki gösterdiğini ve S.B.'ye göre daha güçlü bir antikanser potansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır. S.B. AgNp'nin etkisi, Doxorubicin, Cisplatin ve Paclitaxel gibi yaygın olarak kullanılan antikanser ajanlara göre daha zayıf olmakla birlikte, doğal kaynaklı bir ajan için kayda değer bir etkiye sahip olduğu gözlenmektedir. Bu sonuçlar, *Sideritis brevidens*'ten türetilen gümüş nanopartiküllerin antikanser özelliklere sahip olduğunu ve alternatif bir tedavi yöntemi olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

Bu analiz, S.B. AgNp'nin HeLa hücre hattında potansiyel bir antikanser ajan olarak değerlendirilebileceğini ve S.B.'den daha etkili bir sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, Doxorubicin, Cisplatin ve Paclitaxel gibi ilaçlar ile karşılaştırıldığında, bu nanopartiküllerin doğal ve daha az toksik alternatifler olarak geliştirilme potansiyeli bulunmaktadır.

## HT-29



Şekil 4.16. S.B ve S.B. AgNP'lerin HT-29 hücre canlılığı üzerine etkileri

Şekil 4.16.'da S.B. ve S.B. AgNp HT-29 kolon kanseri hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkilerinin yanı sıra, Doxorubicin, Cisplatin ve Paclitaxel gibi bilinen antikanser ilaçları ile karşılaştırmalı olarak hücre yaşama oranlarını gösteren bir grafik bulunmaktadır. Grafik, artan konsantrasyonlarla hücre viabilitesindeki değişimi inceleyerek bu farklı ajanların HT-29 hücreleri üzerindeki etkinliğini değerlendirmektedir.

Grafikte, y eksenini hücre yaşama oranını (% Cell viability) gösterirken, x eksenini artan konsantrasyonları (Log  $\mu\text{g/mL}$ ) temsil etmektedir. Sonuçlar, HT-29 hücrelerinin bu çeşitli ajanlara karşı duyarlılığını ortaya koymaktadır.

S.B. mavi renkle gösterilen eğri ile temsil edilmiştir. Diğer ajanlarla karşılaştırıldığında, S.B. ekstraktının hücre viabilitesi üzerindeki azaltıcı etkisi daha sınırlıdır. Yüksek konsantrasyonlarda bile hücre yaşama oranı önemli ölçüde devam etmektedir, bu da S.B. ekstraktının sitotoksik etkinliğinin düşük olduğunu göstermektedir.

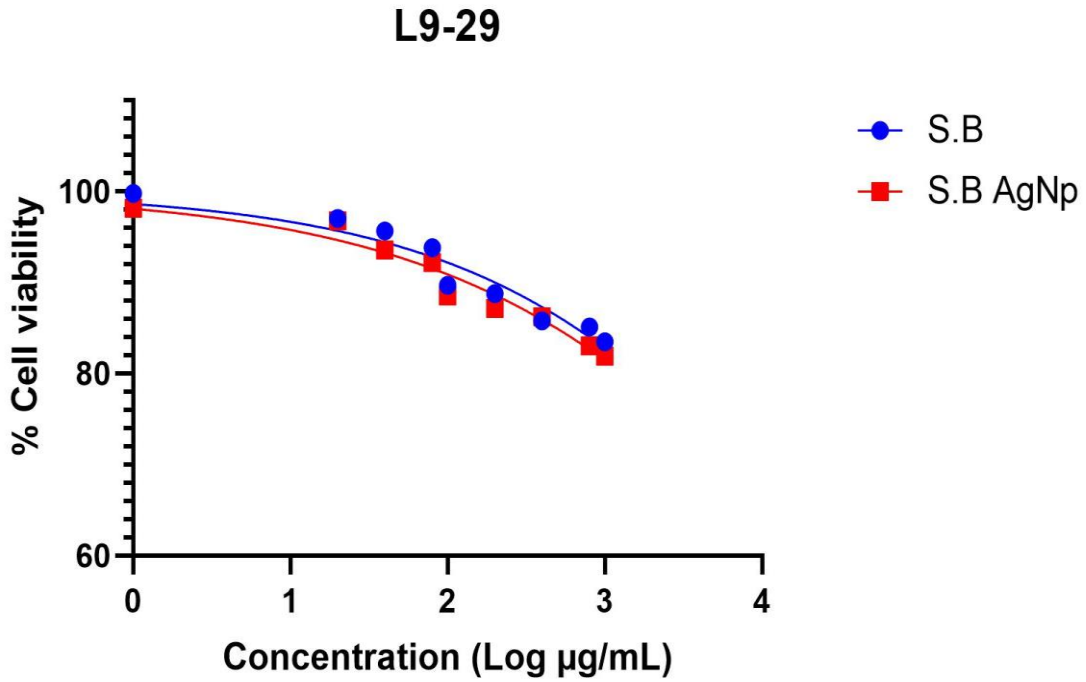
S.B. ekstraktından türetilen gümüş nanopartiküller (S.B. AgNp) ise kırmızı renkle gösterilmiş olup, daha güçlü bir sitotoksik etki sergilemektedir. Hücre viabilitesi, artan konsantrasyonlarla birlikte belirgin bir şekilde azalmaktadır, bu da S.B. AgNp'nin, S.B.'ye kıyasla daha etkili bir antikanser potansiyele sahip olduğunu düşündürmektedir.

Doxorubicin, Cisplatin ve Paclitaxel gibi bilinen antikanser ilaçlar da grafikte sırasıyla yeşil, mor ve turuncu eğriler ile gösterilmiştir. Bu ilaçlar, HT-29 hücre hattında yüksek sitotoksik etki göstererek hücre yaşama oranını hızlı bir şekilde azaltmaktadır. S.B. AgNp'nin etkisi, bu antikanser ilaçlara göre bir miktar daha zayıf kalmakla birlikte, doğal bir ajan olarak belirgin bir antikanser aktivite sergilediği gözlenmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, S.B. AgNp, HT-29 hücre hattında S.B. ekstraktına göre daha güçlü bir sitotoksik etki göstermekte olup, belirgin bir antikanser potansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak, S.B. AgNp'nin sitotoksik etkisi, Doxorubicin, Cisplatin ve Paclitaxel gibi güçlü antikanser ilaçlara kıyasla daha düşük düzeydedir. Buna rağmen, doğal kaynaklı bir ajan olarak kayda değer bir etkinlik göstermesi, alternatif tedavi yaklaşımlarında değerlendirilme potansiyeline işaret etmektedir.

Bu analiz, S.B. AgNp'lerin HT-29 kolon kanseri hücreleri üzerinde belirli bir antikanser aktiviteye sahip olduğunu ve daha güçlü antikanser ajanlara kıyasla daha düşük toksisite sunabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçlar, S.B. AgNp'nin doğal bir

antikanser ajan olarak geliştirilebileceğini ve kemoterapötik ilaçlara alternatif veya tamamlayıcı bir tedavi olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.



Şekil 4.17. S.B. ve S.B. AgNP'lerin L9-29 hücre canlılığı üzerine etkileri

Şekil 4.17 'de S.B. ve bu ekstraktan türetilmiş gümüş nanopartiküllerin S.B. AgNp L9-29 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri gösterilmektedir. Grafik, artan konsantrasyonlarla hücre yaşama oranlarındaki değişimi yansıtarak bu iki ajan arasındaki etkinlik farkını değerlendirmemizi sağlamaktadır.

Grafikte, y eksenini hücre yaşama oranını (% Cell viability) gösterirken, x eksenini artan konsantrasyonları (Log µg/mL) temsil etmektedir. L9-29 hücre hattında S.B. ve S.B. AgNp'nin hücre yaşama oranları üzerindeki etkisi gözlemlenmiştir.

Mavi renkle gösterilen eğri, *Sideritis brevidens* bitki ekstraktının (S.B.) L9-29 hücre hattı üzerindeki etkisini yansıtmaktadır. S.B. ekstraktının hücre viabilitesi üzerindeki etkisi oldukça sınırlıdır; bu, düşük sitotoksik etki gösterdiğini ve hücre yaşama oranında ciddi bir azalma meydana getirmediğini göstermektedir. Bu durumda, S.B. ekstraktının L9-29 hücrelerinde çok düşük düzeyde toksisiteye sahip olduğu yorumu yapılabilir.

Kırmızı renkle gösterilen eğri ise S.B. AgNp'nin L9-29 hücreleri üzerindeki etkisini temsil etmektedir. Gümüş nanopartiküller (S.B. AgNp), S.B. ekstraktına kıyasla bir miktar daha yüksek bir sitotoksik etki göstermektedir; ancak, bu etki de oldukça sınırlıdır. Artan konsantrasyonlarla birlikte hücre viabilitesinde hafif bir azalma

gözlemlense de, genel olarak S.B. AgNP'nin de L9-29 hücre hattında düşük düzeyde sitotoksositeye sahip olduğu görülmektedir.

#### 4.1.9. Sentezlenen AgNP'lerin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

##### 4.1.9.1. Broth Mikrodilüsyon Yöntemi Sonuçları

Yapılan çalışma, S.B. ve S.B. AgNP çeşitli mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmiştir. Çalışmada karşılaştırma amacıyla Gentamisin gibi bilinen bir antibiyotik de kullanılmıştır. S.B ekstraktı mikroorganizmalar üzerinde belirgin bir antimikrobiyal etki göstermemiştir; test edilen bakteriyel suşlar üzerinde minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri belirlenememiştir, bu da ekstraktın test edilen konsantrasyonlarda inhibitör bir etkisi olmadığını göstermektedir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. S.B ve S.B. AgNP'lerin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) sonuçları

Test Mikroorganizmaları	S.B. ext MİK Değerleri (mg/ml)	S.B AgNP MİK Değerleri (mg/ml)	Gentamisin MİK Değerleri (mg/ml)	DMSO (%100)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	*AD	0.09	$2.44 \times 10^{-6}$	%25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATTC 27853	*AD	0.09	$9.76 \times 10^{-6}$	%12.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	*AD	0.19	$2.44 \times 10^{-6}$	%12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	*AD	0.19	$78.12 \times 10^{-6}$	%25
<i>Salmonella enteritidis</i> ATTC 13076	*AD	0.19	$4.88 \times 10^{-6}$	%25
<i>Sarcina lutea</i> ATTC 9341	*AD	0.09	$4.88 \times 10^{-6}$	%12.5
<i>Bacillus cereus</i> ATTC 11778	*AD	0.19	$2.44 \times 10^{-6}$	%12.5
<i>Candida albicans</i> NRRL Y-414	*AD	0.39	$9.76 \times 10^{-6}$	%12.5

S.B. AgNP ise, bazı bakteriler üzerinde güçlü bir antimikrobiyal etki göstermiştir. *E. coli* ve *P. aeruginosa* gibi Gram-negatif bakterilere karşı 0.09 mg/ml gibi düşük bir MİK değeri ile etkili olduğu gözlemlenmiştir, bu da nanopartiküllerin bu bakterilere karşı güçlü bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. *K. pneumoniae*, *S. aureus* ve *S. enteritidis* gibi suşlar üzerinde ise MİK değeri 0.19 mg/ml olarak tespit

edilmiştir ve bu değerler, nanopartiküllerin bu bakterilerde de belirgin bir inhibisyon etkisi sağladığını ortaya koymaktadır. Ayrıca, Gram-pozitif bir bakteri olan *S. lutea* üzerinde de 0.09 mg/ml MİK değeri ile güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. *B. cereus* üzerinde ise 0.19 mg/ml MİK değeri ile etkili olduğu gözlemlenmiştir. Fungal bir suş olan *C. albicans* üzerinde, S.B. AgNP'nin MİK değeri 0.39 mg/ml olarak belirlenmiştir. Bu daha yüksek MİK değeri, *C. albicans*'in nanopartiküllere karşı diğer suşlara göre daha dirençli olduğunu gösterebilir.

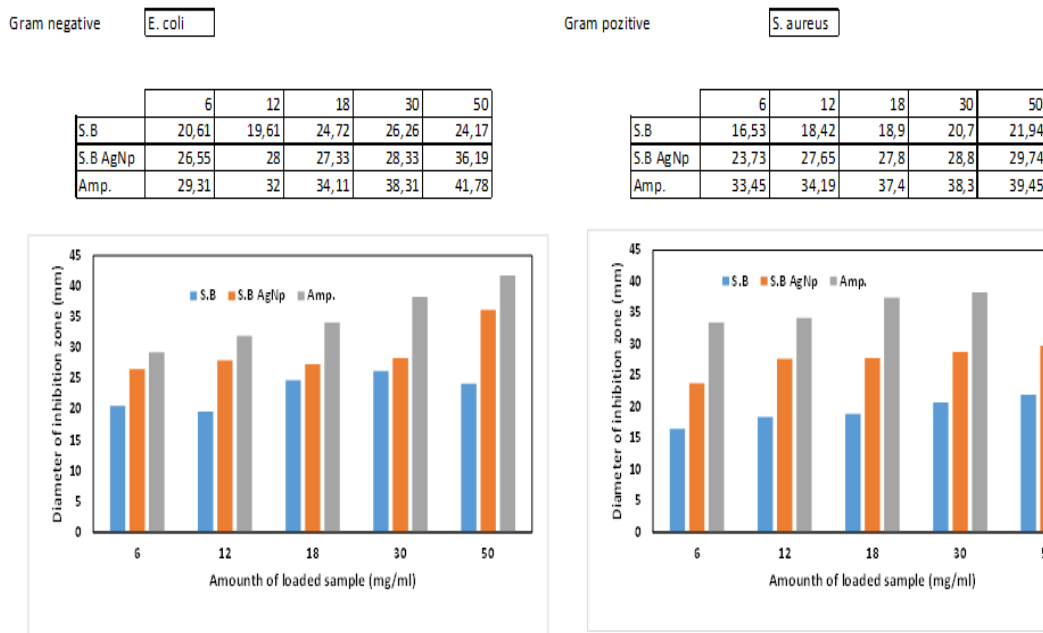
Gentamisin, tüm test edilen mikroorganizmalar üzerinde çok düşük MİK değerleri ile etkili olmuştur, bu da Gentamisin'in geniş spektrumlu ve yüksek etkili bir antibiyotik olduğunu doğrulamaktadır. Örneğin, *E. coli* için MİK değeri  $2.44 \times 10^{-6}$  mg/ml olarak belirlenmiştir; bu, antibiyotik'in bakteriyel hücre duvarını etkin bir şekilde hedefleyerek bakteriyel büyümeyi engellediğini göstermektedir. Antimikrobiyal testlerde çözücü olarak kullanılan DMSO (%100), test edilen mikroorganizmalar üzerinde bir inhibitör etki göstermemiştir ve genellikle kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Bu çalışmanın sonuçları, S.B. AgNP'lerin hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakteriler ile bir fungal suş üzerinde belirgin antimikrobiyal etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. lutea* gibi mikroorganizmalar üzerinde düşük MİK değerleri ile etkili olması, bu nanopartiküllerin potansiyel bir antimikrobiyal ajan olarak değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. Gümüş nanopartiküllerin, geleneksel antibiyotiklere direnç geliştirmiş suşlara karşı alternatif tedavi yöntemleri sunabileceği öngörülmektedir. Bu analiz sonuçları, gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilmesi için daha fazla araştırmanın yapılmasının gerekli olduğunu vurgulamaktadır.

#### 4.1.9.2. Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçları

Çizelge 4.2. 'de S.B. ekstraktı, S.B. AgNP ve ampisilin ile yapılan disk difüzyon testlerinin sonuçları, *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkinliklerini değerlendirmek amacıyla elde edilmiştir. Ampisilin, bu çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılmıştır, çünkü bilinen antimikrobiyal etkinliğiyle test edilen maddelerin etkinliğini karşılaştırmak için standart bir referans maddesi olarak yer almıştır.

**Çizelge 4.2.** S.B , S.B. AgNP'lerin ve ampilisinin disk etrafında oluşturdukları inhibisyon zon çapı ölçümlerinin dağılım şeması



Elde edilen verilere göre, *E. coli* üzerinde yapılan testlerde S.B. ekstraktı, 6 mg/ml'den 50 mg/ml'ye kadar olan konsantrasyonlarda inhibisyon zonu çapını 20 mm ile 24.17 mm arasında değiştirmiştir. Bu bulgu, S.B. ekstraktı'nın Gram negatif bakterilere karşı orta seviyede bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, S.B. AgNP'ler kullanıldığında inhibisyon zonu çapı 26.55 mm ile 36.19 mm arasında değişmiş olup, gümüş nanopartiküllerinin S.B. ekstraktı'na kıyasla daha güçlü bir antimikrobiyal etkinlik gösterdiği belirlenmiştir.

*S. aureus* üzerinde yapılan testlerde ise S.B. ekstraktı, 6 mg/ml'den 50 mg/ml'ye kadar inhibisyon zonu çapını 16.53 mm ile 21.94 mm arasında değiştirmiştir. Bu, S.B. ekstraktı'nın Gram pozitif bakteriler üzerinde de orta seviyede bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermektedir. S.B. AgNP'ler, *S. aureus* üzerinde 23.73 mm ile 29.74 mm arasında değişen inhibisyon zonu çapları ile daha yüksek etkinlik göstermiştir. Bu sonuç, gümüş nanopartiküllerinin Gram pozitif bakterilere karşı da etkili olduğunu doğrulamaktadır..

Sonuç olarak, S.B. ekstraktı ve S.B. AgNP'nin her iki bakteri türüne karşı da etkili olduğu görülmüştür. Ancak, S.B. AgNP'lerin her iki bakteri türü üzerinde de daha yüksek etkinlik sergilediği, nanopartiküllerin güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Ampisilin ise hem *E. coli* hem de *S. aureus* üzerinde en yüksek inhibisyon zonlarını oluşturarak daha güçlü bir etki göstermiştir.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

### 5.1 Sonuçlar

Yapılan bu araştırmada *S. brevidens L.* türünden gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) yeşil sentez yöntemi kullanılarak elde edilmiş ve bu nanopartiküllerin karakterizasyonu detaylı bir şekilde incelenmiştir. Bunun yanında, üretilen AgNP'lerin antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri de belirlenmiştir. Literatür incelemelerine göre, *S. brevidens* türünden yeşil sentez yöntemiyle üretilen nanopartiküllerin antimikrobiyal ve sitotoksik özellikleri üzerine geniş spektrumda daha önce herhangi bir çalışma yapılmamış olması, bu araştırmanın önemini artırmaktadır.

Nanopartiküller, nanoteknoloji alanında temel ürünler arasında yer almaktadır. Geleneksel kimyasal yöntemler, nanopartikül sentezi için genellikle toksik organik çözücüler ve biyolojik açıdan zararlı indirgeme maddeleri kullanır. Bitki ekstraktlarının kullanılması ise daha çevre dostu, toksik olmayan, hızlı ve etkin bir alternatif sunmaktadır (Tümen, 1994). Bu çalışmada, antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteye sahip olduğu bilinen *S. Brevidens L.* türü, nanopartikül sentezinde tercih edilmiştir. Literatürde yapılan incelemeler, bitkilerden elde edilen nanopartiküllerin daha verimli olduğuna dair bulguları desteklemektedir.

*S. brevidens* bitki ekstraktı, HPLC analizine göre, antioksidan, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özelliklere sahip birçok biyoaktif bileşik içermektedir. Yapılan analizler, ekstraktın fenolik ve flavonoid bileşikler açısından zengin olduğunu ve bu bileşiklerin sağlık üzerindeki potansiyel biyolojik aktivitelerini desteklediğini göstermektedir. Ayrıca, gümüş nanopartiküllerinin (*S. brevidens* -AgNP) oluşumunda, ekstraktın biyoaktif bileşenlerinin katkı sağladığı ve bu nanopartiküllerin başarılı bir şekilde oluşturulduğu gözlemlenmiştir.

Nanopartiküller, 420-460 nm arasında karakteristik bir pik göstererek, zamanla partikül büyüklüğünde ve dağılımında küçük değişiklikler yaşandığı belirlenmiştir. En etkili zaman diliminin 24 saat olduğu gözlemlenmiştir. Bu sürede absorbans pikinde belirgin bir artış olmuş ve 420-430 nm civarında yüksek bir absorbans değeri elde edilmiştir. Bu, nanopartiküllerin en verimli şekilde bu süre zarfında oluştuğunu ve en iyi sonuçların elde edildiğini ortaya koymaktadır. Diğer zaman dilimlerinde de nanopartiküller gözlemlenmiş ancak en yüksek ve en belirgin absorbans değeri 24 saat sonrasında elde edilmiştir.

FTIR analizi, S.B. AgNP numunesinin, organik ve inorganik bileşiklerden oluşan karmaşık bir yapıya sahip olduğunu ve gümüş nanoparçacıklarının biyolojik ve kimyasal özelliklerini etkileyebilecek organik moleküllerle etkileşime girdiğini göstermektedir. SEM görüntüleri, homojen, küresel ve küçük nanopartiküllerin varlığını doğrularken, bazı bölgelerde nanopartiküllerin beklenenden daha büyük olduğu gözlemlenmiştir. Partiküllerin boyutları, çözücünün buharlaşmasıyla reaksiyonlar sonucu farklılık gösterebilir.

Boyut dağılımı dar olup, ortalama çapın 66 nm olduğu ve polidispersite indeksi (P.I.) değerinin 0.282 ile 0.295 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu, nanopartiküllerin oldukça homojen olduğunu ve üretim sürecinin kontrollü şekilde yapıldığını göstermektedir. DLS analizi ile, %10'luk nanopartiküllerin boyutlarının 30.6 nm, %50'sinin 79.4 nm ve %90'ının ise 209.1 nm'den küçük olduğu belirlenmiştir.

EDS analizi, 2.983 keV enerji seviyesinde güçlü bir gümüş sinyali oluşturarak, gümüş nanopartiküllerinin varlığını doğrulamaktadır.

Sitotoksik testlerde, S.B. -AgNP'lerin HT-29 ve HeLa hücrelerinde sırasıyla 472.3 µg/mL ve 384.3 µg/mL IC50 değerleri ile etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu S.B. ekstraktlarının kanser hücreleri üzerinde belirgin sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Mikrodilüsyon yönteminde, SB -AgNP'lerin Gram-negatif bakterilere karşı 0.09 mg/ml gibi düşük MİK değerleriyle güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiği, diğer bakterilere karşı ise 0.19 mg/ml MİK değeri ile etkili olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, Gram-pozitif bakteriler üzerinde de etkili olmuş ve *C. albicans* üzerinde 0.39 mg/ml MİK değeriyle daha yüksek bir direnç gözlemlenmiştir.

Disk difüzyon yöntemi ile yapılan testlerde, *E. coli* üzerinde SB ekstraktının 6 mg/ml'den 50 mg/ml'ye kadar olan konsantrasyonlarda inhibisyon zonu çapı 20 mm ile 24.17 mm arasında değişmiş, SB AgNP'ler ise 26.55 mm ile 36.19 mm arasında değişen daha geniş inhibisyon zonları göstermiştir. *S. aureus* üzerinde yapılan testlerde de, SB AgNP'ler, 23.73 mm ile 29.74 mm arasında değişen inhibisyon zonları ile daha yüksek etkinlik göstermiştir.

SB ekstraktı ve SB AgNP'lerin her iki bakteri türüne karşı etkili olduğu, ancak SB AgNP'lerin daha yüksek etkinlik sergilediği, bu nanopartiküllerin güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, SB AgNP'lerin antibiyotiklere alternatif veya destekleyici bir seçenek olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, S.B AgNP'ler güçlü antimikrobiyal ve antikanser aktiviteleri sergileyerek çeşitli alanlarda potansiyel bir ajan olarak değerlendirilebilir. Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen bu nanopartiküller, çevre dostu ve sürdürülebilir üretim süreçlerine katkı sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda farmasötik ve biyoteknolojik uygulamalarda önemli bir yer edinebilir. Bu çalışma, S.B. AgNP'lerin antibiyotiklere alternatif ya da destekleyici bir tedavi seçeneği olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

## 5.2 Öneriler

Nanobilim, birçok yenilik ve büyük ilerlemenin öncüsü olarak gelecekte pek çok önemli gelişmeye zemin hazırlayacaktır. Yeşil sentez yöntemiyle gümüş nanopartiküllerin elde edilmesi, bu yeniliklerin en dikkat çekici sonuçlarından biridir. Yeşil sentezle üretilen gümüş nanopartiküller hem biyolojik uygulamalarda kullanılabilir hem de çevre dostu bir yaklaşıma sahiptir. Geleneksel maddelere kıyasla, nanopartiküller üstün özellikler sergiler. Geniş yüzey alanı, biyoyumluluk, kimyasal stabilite, antimikrobiyal ve antioksidan aktivite gibi özellikler gümüş nanopartiküllerde öne çıkar.

Antimikrobiyal aktiviteler, zararlı mikroorganizmaların büyümesini ve yayılmasını engelleyerek enfeksiyonların önlenmesine katkı sağlar. Sitotoksik aktiviteler ise, kanser gibi hastalıklara yol açan anormal hücrelerin yok edilmesinde kritik bir rol oynar. Bu aktiviteler, hem hücrelerin sağlığını koruma hem de zararlı organizmaların neden olduğu toksisiteyi azaltma açısından hayati öneme sahiptir. Özellikle bitkisel kaynaklardan elde edilen bu tür aktiviteler, çevre dostu ve biyoyumlu yaklaşımlarla modern tıpta yenilikçi uygulamalara olanak tanımaktadır.

Yeşil sentez yöntemiyle *S. brevidens* türünden elde edilen gümüş nanopartiküller, etkili antimikrobiyal, farmakolojik ve biyolojik özelliklere sahiptir. Bu özelliklerin daha yaygın bir şekilde kullanılabilmesi için fitokimyasal araştırmaların öncülüğünde hem in vivo hem de in vitro çalışmaların gerçekleştirilmesi gereklidir.

## 6. KAYNAKLAR

- Adams, F., & Barbante, C. (2013). Nanoscience and nanotechnology: Evolution or revolution? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(1), 1–2.
- Agarwal, H., Venkat Kumar, S. and Rajeshkumar, S., 2017, A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles—an eco-friendly approach, *Resource-Efc Technol* 3, 406–413.
- Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B.L. and Ikram, S., 2016, A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise, *J. Adv. Res.*, 7, 17-28.
- Ajitha, B., Reddy, Y.A.K. and Reddy, P.S., 2015, Biosynthesis of silver nanoparticles using *Momordica charantia* leaf broth: Evaluation of their innate antimicrobial and catalytic activities, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 146, 1-9.
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). *Introductory Mycology*. John Wiley & Sons.
- Alkilany, A. M., & Murphy, C. J. (2010). Toxicity and cellular uptake of gold nanoparticles: what we have learned so far?. *Journal of Nanoparticle Research*, 12, 2313-2333.
- Almuhayawi, M. S., Elbahnasawy, M. A., & Kandasamy, M. (2023). Green synthesis of silver nanoparticles derived from *Papaver rhoeas* L. leaf extract: cytotoxic and antimicrobial properties. *Molecules*, 28(17), 6424.
- Al-Radadi, N.S., 2019, Green synthesis of platinum nanoparticles using Saudi's Dates extract and their usage on the cancer cell treatment, *Arab J Chem*, 12, 330–349.
- Al-Whaibi, M. H., & Mohammad, F. (2015). Plant-based synthesis of nanoparticles: A sustainable approach for nanotechnology. *Advances in Plant Biotechnology*, 15(2), 112-125.
- Amendola, V., & Meneghetti, M. (2009). Laser ablation synthesis in solution and size manipulation of noble metal nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 11(20), 3805-3821.
- Andreotti, G., Silverman, D. T., Lebailly, P., ve ark.. (2015). Nanoparticles in the environment and their potential impact on human health. *Environmental Research*, 138, 24–32.
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(suppl\_1), 5-16.
- Anonim. (2021). Nanoteknoloji ve AR-GE çalışmaları: Yenilikçi ürünlerin geliştirilmesi. *Teknoloji ve Bilim Dergisi*, 15(3), 45-58.
- Arun, G., Eyini, M. and Gunasekaran, P., 2014, Green Synthesis of silver nanoparticles using the mushroom fungus *Schizophyllum commune* and its biomedical applications, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 19(6), 1083-1090.
- Asztemborska, M., ve ark., (2015). Applications of nanotechnology in jewelry manufacturing. *Materials Chemistry and Physics*, 163, 162–167.
- Aydın, E., & Çelik, A. (2019). Synthesis and antimicrobial activity of silver nanoparticles using Lamiaceae plant extracts. *Biotechnology Advances*, 37(2), 213-221.
- Babitha, S. and Korrapati, P.S., 2013, Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles using a probiotic from coal fly ash effluent, *Materials Research Bulletin*, 48 (11), 4738–4742.
- Bakry, R., Vallant, R. M., Najam-ul-Haq, M., Rainer, M., Szabo, Z., Huck, C. W., & Bonn, G. K. (2007). *Int. J. Nanomedicine*, 2(4), 639-649.

- Banerjee, P., Satapathy, M., Mukhopadhyay, M., & Das, P. (2014). Leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles from widely available Indian plants: synthesis, characterization, antimicrobial property and toxicity analysis. *Bioresour Bioprocess*, 1:3.
- Bao, H., Yu, X., Xu, C., Li, X., Li, Z., Wei, D., & Liu, Y. (2015). New toxicity mechanism of silver nanoparticles: promoting apoptosis and inhibiting proliferation. *PLoS One*, 10(3), e0122535.
- Bar, H., Bhui, D. K., Sahoo, G. P., Sarkar, P., De, S. P., & Misra, A. (2009). Green synthesis of silver nanoparticles using latex of *Jatropha curcas*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 339(1–3), 134–139.
- Barış, Ö., Kıralan, S., Kültür, Ş., Karabacak, E., & Koca, U. (2006). Essential oil composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *linearis* (Benth) Benth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(7), 2875-2879.
- Baskar, G., Chandhuru, J., Fahad, K.S. and Praveen, A.S., 2013, Mycological synthesis, characterization and antifungal activity of zinc oxide nanoparticles, *Asian Journal of Pharmacy and Technology*, 3 (4), 142-146.
- Begum, N.A., Mondal, S., Basu, S., Laskar, R.A. and Mandal, D., 2009, Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of Black Tea leaf extracts, *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 71, 113–118.
- Bell, C., & Kyriakides, A. (2002). *Salmonella: A practical approach to the organism and its control in foods*. Blackwell Science.
- Berdahl, D. R., & McKeague, J. (2006). Diterpene composition of *Sideritis* species. *Journal of Essential Oil Research*, 18(4), 386-391.
- Berne, B. J., & Pecora, R. (2000). *Dynamic Light Scattering: With Applications to Chemistry, Biology, and Physics*. Dover Publications.
- Berry, C. C., & Curtis, A. S. (2003). Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 36(13), R198.
- Beykaya, M., Çağlar, A. (2016). Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi. Cilt. 16. Sayı. 3, 631-641.
- Bhagat, D.S., Gurnule, W.B., Pande, S.G., et al., 2020, Biosynthesis of gold nanoparticles for detection of dichlorvos residue from different samples, *In: Materials today: proceedings*, 29 (3).
- Binnig, G., Quate, C. F., & Gerber, C. (1986). Atomic Force Microscope. *Physical Review Letters*, 56(9), 930-933.
- Brabec, C. J., Hauch, J. A., Schilinsky, P., & Waldauf, C. (2005). Production aspects of organic photovoltaics and their impact on the commercialisation of devices. *MRS bulletin*, 30(1), 50-52.
- Bruce, P. G., Scrosati, B., & Tarascon, J. M. (2008). Nanomaterials for rechargeable lithium batteries. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(16), 2930-2946.
- Calderone, R. A., & Fonzi, W. A. (2001). Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*, 9(7), 327-335.
- Calderón-Jiménez, B., Johnson, M. E., Montoro Bustos, A. R., Murphy, K. E., Winchester, M. R., & Vega Baudrit, J. R. (2017). Silver nanoparticles: technological advances, societal impacts, and metrological challenges. *Frontiers in Chemistry*, 5, 6.
- Callister, W. D., & Rethwisch, D. G. (2007). "Materials Science and Engineering: An Introduction" (7th ed.). John Wiley & Sons.

- Callister, W. D., & Rethwisch, D. G. (2018). *Materials Science and Engineering: An Introduction*. Wiley.
- Cantino, P. D., Harley, R. M., & Wagstaff, S. J. (1992). "Genera of Labiatae: Status and Classification." In: *Advances in Labiate Science*, Royal Botanic Gardens, Kew.
- Capaldi, F. M., ve ark., (2015). Surface area and mass ratio in nanoscale materials: Implications for applications. *Materials Science and Engineering: C*, 49, 456–462.
- Capes-Davis A, Reid YA, Kline MC, et al. Match criteria for human cell line authentication: where do we draw the line? *International Journal of Cancer*. 2010.
- Chaloupka, K., Malam, Y., & Seifalian, A. M. (2010). Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications. *Trends in Biotechnology*, 28(11), 580-588.
- Chandra, J., Kuhn, D. M., Mukherjee, P. K., Hoyer, L. L., McCormick, T., & Ghannoum, M. A. (2001). Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *Journal of Bacteriology*, 183(18), 5385-5394.
- Cheirmadurai, K., Biswas, S., Murali, R. and Thanikaivelan, P., 2014, Green synthesis of copper nanoparticles and conducting nanobiocomposites using plant and animal sources, *RSC Adv.*, 37.
- Chen, G. (2005). "Nanoscale energy transport and conversion: a parallel treatment of electrons, molecules, phonons, and photons." Oxford University Press.
- Choi, J. E., Kim, S., Ahn, J. H., Youn, P., Kang, J. S., Park, K., Yi, J., & Ryu, D. Y. (2011). Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. *Aquatic Toxicology*, 100(2), 151-159.
- Chung, I. M., Rajakumar, G., & Thiruvengadam, M. (2018). Effect of silver nanoparticles on phenolic compounds production and biological activities in hairy root cultures of *Cucumis anguria*. *Acta Biologica Hungarica*, 69, 97–109.
- Cioffi, N., Torsi, L., Ditaranto, N., Tantillo, G., Ghibelli, L., Sabbatini, L., & Zambonin, P. G. (2005). Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties. *Chemistry of Materials*, 17(21), 5255-5262.
- Claus, D., & Berkeley, R. C. W. (1986). The genus *Sarcina*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Vol. 2, pp. 1204-1206). Williams & Wilkins.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2015). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard—tenth edition. *CLSI document M07-A10*. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Collins, C. H., & Lyne, P. M. (1984). *Microbiological Methods*. Butterworth-Heinemann.
- Craig, D. Q. M. (2002). *Thermal Analysis of Pharmaceuticals*. CRC Press.
- Cullity, B. D., & Stock, S. R. (2001). *Elements of X-ray Diffraction*. Prentice Hall.
- Curl, R. F. (1997). Nobel Lecture: The newly discovered carbon solids. *Reviews of Modern Physics*, 69(3), 691–702. DOI: 10.1103/RevModPhys.69.691
- Creative Diagnostics. (2020). Biocompatibility of carbon-based materials. Retrieved from
- Cvjetko, P., Zovko, M., Štefanić, P. P., Biba, R., Tkalec, M., Domijan, A. M., Vrčec, I. V., Letofsky-Papst, I., & Balen, B. (2017). Phytotoxic effects of silver nanoparticles in tobacco plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(6), 5590–5602.
- Çelik, Y., ve Aydın, E. (2013). L929 Hücrelerinde Oksidatif Stres Modeli. *Journal of Biomedical Studies*.
- Da Ros, T., Maggini, M., & Prato, M. (1996). *J. Org. Chem.*, 61(25), 9070-9072.
- De Hoog, G. S., Guarro, J., Gene, J., & Figueras, M. J. (2000). *Atlas of Clinical Fungi*. ASM Press.

- Derman, S., ve ark., (2013). Methods of preparation and characterization of polymeric nanoparticles. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(1), 15–21.
- Dolatabadi, A., Noorbazargan, H., Khayam, N., Moulavi, P., Zamani, N., Asghari Lalami, Z., Ashrafi, F. (2021). „„Ecofriendly Biomolecule-Capped Bifidobacterium bifidum Manufactured Silver Nanoparticles and Efflux Pump Genes Expression Alteration in Klebsiella pneumoniae““. *Microbial Drug Resistance. Cilt. 27. Sayı. 2*, 247-257.
- Dresselhaus, M. S., Dresselhaus, G., & Eklund, P. C. (1993). *J. Mater. Res.*, 8, 2054.
- Driscoll, J. A., Brody, S. L., & Kollef, M. H. (2007). The epidemiology, pathogenesis and treatment of Pseudomonas aeruginosa infections. *Drugs*, 67(3), 351-368.
- Duman, H., “Sideritis L.”, *Flora of Turkey and East Aegean Islands (Supplement II)*, (eds: Güner A., Özhatay, N., Ekim, T. and Baser, K.H.C.), 11, Edinburgh: University Press, 5 201, (2000).
- Dykman, L. A., & Khlebtsov, N. G. (2012). Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives. *Chemical Society Reviews*, 41(6), 2256-2282.
- Ealias, A.M. and Saravanakumar, M.P., 2017, A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application, *Material science and engineering*.
- Egerton, R. F. (2011). *Electron Energy-Loss Spectroscopy in the Electron Microscope*. Springer.
- El-Say, K. M., & El-Sawy, H. S. (2017). Polymeric nanoparticles: Promising platforms for drug delivery. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 1–18
- Erdoğan, F., ve Kaya, T. (2013). DNA Hasarının Moleküler Mekanizmaları. *Citius Technology Reports*.
- Esmeray, E. (2019). Nanoteknoloji: Tarihi Gelişim ve Uygulama Alanları. *Bilim ve Teknik Dergisi*, 620, 45-50.
- Farokhzad, O. C., & Langer, R. (2009). Impact of nanotechnology on drug delivery. *ACS Nano*, 3(1), 16–20.
- Fenfen, L., Yixian, G., Jiale, H., Daohua, S. and Qingbiao, L., 2014, Roles of biomolecules in the biosynthesis of silver nanoparticles: case of Gardenia jasminoides Extract, *Biotechnology and Bioengineering*, 22 (6), 706-712,
- Feynman, R., 1959, There’s plenty of room at the bottom at California institute of technology, *Caltech Eng Sci*, 23, 22-36.
- Fogh J, Fogh JM, Orfeo T. One hundred and twenty-seven cultured human tumor cell lines producing tumors in nude mice. *Journal of the National Cancer Institute*. 1977.
- Foley, S., Crowley, C., Smahi, M., Bonfils, C., Erlanger, B. F., Seta, P., & Larroque, C. (2002). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 294, 116-119.
- Fujishima, A., & Honda, K. (1972). Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. *Nature*, 238(5358), 37-38.
- Gao, L., Gan, H., & Cao, W. (2012). Bactericidal and photocatalytic activity of Ag-decorated TiO<sub>2</sub> hollow spheres. *Applied Surface Science*, 258(14), 5867-5871.
- Ganesh, A. (1998). Vapor condensation and heat transfer mechanisms. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 41(12), 2301–2310
- Gellatly, S. L., & Hancock, R. E. (2013). Pseudomonas aeruginosa: new insights into pathogenesis and host defenses. *Pathogens and Disease*, 67(3), 159-173.
- Gey GO, Coffman WD, Kubicek MT. Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. *Cancer Research*. 1952.

- Ghorbani, H.R., Safekordi, A.A., Attar, H. and Rezayat, M., 2011, Biological and non-biological methods for silver nanoparticles synthesis. *Chem Biochem Eng Q*, 25(3), 317–326.
- Goldstein, J., Newbury, D. E., Joy, D. C., Lyman, C. E., Echlin, P., Lifshin, E., Sawyer, L., & Michael, J. R. (2003). *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis*. Springer.
- González-Burgos, E., Carretero, M. E., & Gómez-Serranillos, M. P. (2011). Sideritis spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities—A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(2), 209-225.
- Gopalkrishnan, B., Ayyappan, P., Sundaramoorthy, S., & Kumaravel, T. S. (2012). Biosynthesis of metallic nanoparticles using biological systems: A green approach. *Journal of Biotechnology Applications*, 8(1), 78-85.
- Goutam, S.P., Saxena, G., Singh, V., et al, 2018, Green synthesis of TiO<sub>2</sub> nanoparticles using leaf extract of *Jatropha curcas* L. for photocatalytic degradation of tannery wastewater, *Chem Eng J*, 336, 386-396.
- Greenwood, N. N., & Earnshaw, A. (1997). "Chemistry of the Elements" (2nd ed.). Butterworth-Heinemann.
- Grierson, D. S., & Afolayan, A. J. (1999). Antibacterial activity of some indigenous plants used for the treatment of wounds in the Eastern Cape, South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, 66(1), 103-106.
- Guard-Petter, J. (2001). The chicken, the egg and *Salmonella enteritidis*. *Environmental Microbiology*, 3(7), 421-430.
- Gupta, A., Ampofo, K., Rubenstein, D., & Saiman, L. (2003). Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: a review of the literature. *Journal of Perinatology*, 23(6), 439-443.
- Gurunathan, S., Han, J. W., Dayem, A. A., Eppakayala, V., & Kim, J. H. (2013). Oxidative stress-mediated antibacterial activity of graphene oxide and reduced graphene oxide in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Nanomedicine*, 8, 5901-5914.
- Granqvist, C.G. and Buhrman, R.A., 1976, Ultrafine metal particles. *Journal of applied Physics*, 47, 2200-19.
- Han, J., Yang, F., Wang, M., Wang, M. and Xing, N., 2022, Green synthesis of Ag nanoparticles using *Mentha arvensis* extract: Preparation, characterization and investigation of its anti-human bladder cancer application, *Inorganic Chemistry Communications*, 110060.
- Hanks, S., ve ark., (2015). Advances in nanotechnology for household appliances and coatings. *Materials Today*, 18(10), 543–549.
- Harley, R. M., Atkins, S., Budantsev, A. L., Cantino, P. D., Conn, B. J., Grayer, R., Harley, M. M., de Kok, R., Krestovskaja, T. V., Morales, R., Paton, A. J., Ryding, O., & Upton, T. (2004). "Labiatae." In: Kadereit, J.W. (Ed.), *The Families and Genera of Vascular Plants Vol. VII*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Havancsak, K. (2003). Nanotechnology: Revolutionizing the Future. *Technology Review*.
- Haverkamp, R. G., ve ark., (2009). Nanotechnology in the development of electrochemical sensors and biosensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 139(2), 577–583.
- 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.
- Homola, J. (2008). Surface Plasmon Resonance Sensors for Detection of Chemical and Biological Species. *Chemical Reviews*, 108(2), 462-493.

- Höhne, G. W. H., Hemminger, W. F., & Flammersheim, H. J. (2003). *Differential Scanning Calorimetry*. Springer.
- Hulla, J. E., Sahu, S. C., & Hayes, A. W. (2015). Nanotechnology: History and future. *Human & Experimental Toxicology*, 34(12), 1318–1321.
- Hulkoti, N.I. and Taranath, T.C., 2014, Biosynthesis of nanoparticles using microbes A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474-83. doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.05.027
- Hunter, R. J. (1981). *Zeta Potential in Colloid Science: Principles and Applications*. Academic Press.
- Hussain, S. M., Javorina, A. K., Schrand, A. M., Duhart, H. M., Ali, S. F., & Schlager, J. J. (2009). The interaction of manganese nanoparticles with PC-12 cells induces dopamine depletion. *Toxicological Sciences*, 92(2), 456-463.
- Husseini, G.A. and Pitt, W.G., 2008, Micelles and nanoparticles for ultrasonic drug and gene delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*.
- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638-2650. <https://doi.org/10.1039/C1GC15386B>
- Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V., & Zolfaghari, B. (2014). Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 9(6), 385-406.
- Iqbala, Y., Malik, A.R., Iqbal, T., Aziza, M.H., Ahmed, F., Abolaband, F.A., Ali, S.M. and Ullah, H., 2021, Green synthesis of ZnO and Ag-doped ZnO nanoparticles using *Azadirachta indica* leaves: Characterization and their potential antibacterial, antidiabetic, and wound-healing activities, *Materials Letters*, 305, 2021.
- Jadoun, S., Arif, R., Jangid, N.K. and Meena, R.K., 2021, Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: a review, *Environ. Chem. Lett.*, 19, 355–374.
- Jain, S., Hirst, D. G., & O'Sullivan, J. M. (2012). Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy. *The British Journal of Radiology*, 85(1010), 101-113.
- Jahn, A., Stavis, S. M., Hong, J. S., Vreeland, W. N., DeVoe, D. L., & Gaitan, M. (2004). Microfluidic mixing and the formation of monodisperse nanoparticles with defined size distributions. *Nature Materials*, 3(9), 686–690.
- Jeevanandam, J., ve ark., (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: History, sources, toxicity, and regulations. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 9, 1050–1074.
- Jenkins, F. A., & White, H. E. (1957). "Fundamentals of Optics." McGraw-Hill.
- Jeong, D. Y., & Park, S. H. (2016). Perovskite-based solar cells: Toward commercialized photovoltaic devices. *Small Methods*, 1(1), 1600003.
- Johnson, R. D., Bethune, D. S., & Yannoni, C. S. (1992). *Acc. Chem. Res.*, 25, 169.
- Jones, N., Ray, B., Ranjit, K. T., & Manna, A. C. (2008). Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS microbiology letters*, 279(1), 71-76.
- Kalaiselvi, A., Roopan, S.M., Madhumitha, G., et al., 2015, Synthesis and characterization of palladium nanoparticles using *Catharanthus roseus* leaf extract and its application in the photo-catalytic degradation, *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc*, 135, 116-119, <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.07.010>, 2015.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123-140.
- Karabulut, B., Kerimoğlu, O. ve Uğurlu, T., 2015, Dendrimerler-ilaç taşıyıcı sistemler, *MÜSBED*, (36).

- Karimi, J., Mohsenzadeh, S., 2015, Rapid, green, and eco-friendly biosynthesis of copper nanoparticles using fower extract of Aloe vera, *Synth React Inorg Met-Org Nano-Met Chem*, 895-898.
- Karousou, R., & Kokkini, S. (1997). A comparative study on the essential oils of *Sideritis* from Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 25(5), 379-391.
- Kaya, D. A., Şahin, F. P., & Kara, M. (2010). Antioxidant activities of some endemic *Sideritis* species. *Turkish Journal of Biology*, 34(2), 129-134.
- Kaya, Y., Doğan, S., & Akgün, M. (2021). Evaluation of antimicrobial and antibiofilm activities of silver nanoparticles synthesized using *Ruscus aculeatus* leaf extract. *Advances in Applied Microbiology*,
- Keijok, W.J., Pereira, R.H.A., Alvarez, L.A.C., et al., 2019, Controlled biosynthesis of gold nanoparticles with *Cofea arabica* using factorial design, *Sci Rep.*, 9, 2019.
- Kevin, M. T. (1997). Principles of condensation and evaporation processes in controlled environments. *Journal of Chemical Engineering*, 34(5), 623–629
- Khan, S., & Lorenzelli, L. (2015). Flexible electronics: The next ubiquitous platform. *Proceedings of the IEEE*, 103(4), 665-681.
- Kharissova, O. V., Dias, H. R., Kharisov, B. I., Pérez, B. O., & Pérez, V. M. J. (2013). The greener synthesis of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, 31(4), 240-248.
- Khwaja, S., Siddiqi, K.S., Azamal, H., Rifaqat, A. K. (2018): A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. – *J. Nanobiotechnol.* 16:14.
- Kılıç, R., Demir, H., & Şahin, M. (2021). L929 hücre hattının genel özellikleri ve kullanım alanları. *Dergi Adı*, 10(2), 123-130.
- Kılıç, T., Tümen, G., & Dirmenci, T. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of some *Sideritis* species. *Journal of Essential Oil Research*, 23(5), 1-6.
- Klasen, H. J. (2000). "Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses." *Burns*, 26(2), 117-130.
- Klimov, V. I. (2003). Semiconductor and metal nanocrystals: Synthesis and electronic and optical properties. *Dekker*.
- Kuganathan, N. (2021). Graphene synthesis and its recent advances in applications—A review. *C—Journal of Carbon Research*, 7(4), 76.
- Kulik, S. P. (2007). Nanotechnology: Introduction and Fundamentals. In B. Bhushan (Ed.), *Springer Handbook of Nanotechnology* (pp. 1-25). Springer. DOI: 10.1007/978-3-540-29857-1
- Kumar, P.V., Kala, S.M.J. and Prakash, K.S., 2019, Green synthesis of gold nanoparticles using *Croton Caudatus* Geisel leaf extract and their biological studies, *Mater Lett*, 236, 19–22.
- Lammers, T., & Kiessling, F. (2014). Nanoparticles for cancer imaging and therapy: Current perspectives. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 10(1), 1-3.
- Latif, H. H., Ghareib, M., & Abu Tahon, M. (2017). Phytosynthesis of silver nanoparticles using leaf extracts from *Ocimum basilicum* and *Mangifera indica* and their effect on some biochemical attributes of *Triticum aestivum*. *Gesunde Pflanzen*, 69, 39–46.
- Leibovitz A, Stinson JC, McCombs WB 3rd, et al. 1976 Classification of human colorectal adenocarcinoma cell lines. *Cancer Research*.
- Lewis, N. S. (2007). Toward cost-effective solar energy use. *Science*, 315(5813), 798-801.
- Li, X. (2007). Nanoparticle classification and applications. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 7(3), 1025–1040

- Liu, Y., He, L., Mustapha, A., Li, H., Hu, Z. Q., & Lin, M. (2010). Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli O157: H7. *Journal of Applied Microbiology*, 107(4), 1193-1201.
- Livermore, D. M. (2002). Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare?. *Clinical Infectious Diseases*, 34(5), 634-640.
- López-Lorente ÁI, Mizaikoff B. Mid-infrared spectroscopy for protein analysis: potential and challenges. *Anal Bioanal Chem.* 2016 Apr;408(11):2875-89. doi: 10.1007/s00216-016-9375-5. Epub 2016 Feb 16. PMID: 26879650.
- Lowy, F. D. (1998). Staphylococcus aureus infections. *New England Journal of Medicine*, 339(8), 520-532.
- Ma, X. (2010). Size-dependent properties of nanoparticles: An overview. *Journal of Nanomaterials*, 2010, 1–15.
- Machado, S., Pinto, S.L., Grosso, J.P., Albergaria, J.T. and Delerue-Matos, C., 2013, Green production of zero-valent iron nanoparticles using tree leaf extracts, *The Science of the Total Environment*, 445-446, 1-8.
- Madigan, M. T., & Martinko, J. M. (2014). Brock Biology of Microorganisms. Pearson.
- Mahdavi, M., Namvar, F., Ahmad, M.B., Mohamad, R., 2013, Green biosynthesis and characterization of magnetic iron oxide (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles using seaweed (*Sargassum muticum*) aqueous extract, *Molecules*, 18 (5), 5954-5964.
- Makarov, V.V., Love, A.J., Sinitsyna, O.V., Makarova, A.S., Yaminsky, I.V., Taliansky, M.E. and Kalinina, N.O., 2014, Green nanotechnologies: Synthesis of metal nanoparticles using plant, *Acta Nature*, 6 (1), 34-44.
- Malam, Y., Loizidou, M., & Seifalian, A. M. (2009). Liposomes and nanoparticles: Nanoscale tools in the treatment of disease. *Journal of Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 5(3), 253–269.
- Maleki Dizaj, S., Mennati, A., Jafari, S., Khezri, K. and Adibkia, K., 2015, Antimicrobial activity of carbon-based nanoparticles, *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 5 (1), 19–23.
- Mallikarjuna, K., Narasimha, G., Dillip, G.R., Praveen, B., Shreedhar, B., Sree Lakshmi, C., Reddy, B.V.S. and Deva Prasad Raju, B., 2011, Green synthesis of silver nanoparticles using *Ocimum* leaf extract and their characterization, *Dig. J. Nanomater, Biostructures*. 6, 181–186.
- Maness, P. C., Smolinski, S., Blake, D. M., Huang, Z., Wolfrum, E. J., & Jacoby, W. A. (1999). Bactericidal activity of photocatalytic TiO<sub>2</sub> reaction: toward an understanding of its killing mechanism. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(9), 4094-4098.
- Masters JR. 2002 HeLa cells 50 years on: the good, the bad and the ugly. *Nature Reviews Cancer*.
- Mauricio, M. D., ve ark., (2018). Nanoparticles as diagnostic, therapeutic, and delivery agents in biomedical applications. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 14(2), 345–362.
- McNaught, A. D., & Wilkinson, A. (2014). *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*. IUPAC.
- McNeil, S. E. (2005). Nanotechnology for the biologist. *Journal of Leukocyte Biology*, 78(4), 585–594. DOI: 10.1189/jlb.0205049
- Menceloğlu, Y. (2008). Nanoteknoloji: Geçmişten Geleceğe. *Bilim ve Teknik Dergisi*, 510, 36-40.

- Miglietti, M., Rametta G. and G. Francia, D.Ì., 2009, Characterization of carbon based nanoparticles dispersion in aqueous solution using dynamic light scattering technique, *Macromolecular Symposia*, 95–100.
- Mills, S. Y., & Bone, K. (2000). Principles and Practice of Phytotherapy: Modern Herbal Medicine. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Mineral Commodity Summaries 2020." U.S. Geological Survey.
- Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, 31(2), 346-356.
- Mohanpuria, P., Rana, N., Yadav, S., 2008, Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications, *J. Nanopart Res.*, 10(3), 507–517.
- Mondal, S., Ganguly, S., Das, P., & Mitra, R. K. (2014). Graphene and its derivatives as nanomaterials: Structure, properties, and applications. *Journal of Materials Chemistry A*, 2(36), 14232–14248.
- Montellano Lopez, A., Mateo-Alonso, A., & Prato, M. (2011). *J. Mater. Chem.*, 21, 1305-1318.
- Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T., & Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10), 2346.
- Mozafari, M. R. (2005). Liposomes: An overview of manufacturing techniques. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 10(1), 711–719.
- Naghdi, S., Sajjadi, M., Nasrollahzadeh, M., et al, 2018, Cuscuta reflexa leaf extract mediated green synthesis of the Cu nanoparticles on graphene oxide/manganese dioxide nanocomposite and its catalytic activity toward reduction of nitroarenes and organic dyes, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 86, 158–173.
- Nair, R., Varghese, S. H., Nair, B. G., Maekawa, T., Yoshida, Y., & Sakthi Kumar, D. (2010). Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Science*, 179(3), 154-163.
- Namırtı, O., Atav, R., 2011, Tekstilde Yeni Bir Konsept Olan Dendrimerlerin Tarihiçesi, Sınıflandırılması, Molekül Yapısı ve Özellikleri, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, Cilt 17, Sayı 2, Sayfa 109-115.
- Nanoyou Project. (2016). Nano for youth is a project funded by the european commission's seventh framework programme. Retrieved from <https://nanoyou.eu/>
- Naseer, M., Aslam, U., Khalid, B. and Chen, B., 2020, Green route to synthesize Zinc Oxide Nanoparticles using leaf extracts of Cassia fistula and Melia azadarach and their antibacterial potential, *Nature*.
- Nataro, J. P., & Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic Escherichia coli. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(1), 142-201.
- Nostro, A., Germano, M. P., D'Angelo, V., Marino, A., & Cannatelli, M. A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters in Applied Microbiology*, 30(5), 379-384.
- Novoselov, K. S., & Geim, A. K. (2007). The rise of graphene. *Nature materials*, 6(3), 183-191.
- Özkan, B., & Demir, K. (2020). Antibacterial and cytotoxic properties of nanoparticles synthesized using Thymbra spicata extract. *Journal of Nanotechnology Research*, 12(3), 115-125.
- Pal, S., Tak, Y. K., & Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(6), 1712-1720.

- Panahi, Y., ve ark., (2017). Liposomes as a novel drug delivery system in the treatment of diseases: Current and future perspectives. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 233–241.
- Parida, U.K., Das, S., Jena, P.K., Rout, N. and Bindhani, B.K., 2016, Plant mediated green synthesis of metallic nanoparticles: Challenges and opportunities, *Fabrication and Self-Assembly of Nanobiomaterials*, 1, 149-177, 2016.
- Patel, S. C., ve ark., (2011). Polymeric nanoparticles for drug delivery: Applications and recent advances. *Journal of Controlled Release*, 150(3), 104–116.
- Park, E. J., Yi, J., Kim, Y., Choi, K., & Park, K. (2011). Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism. *Toxicology in Vitro*, 24(6), 1327-1333.
- Patil, S.P., Chaudhari, R.Y. and Nemade, M.S., 2022, Azadirachta indica leaves mediated green synthesis of metal oxide nanoparticles: A review, *Talanta Open*, 5, 100083. doi: 10.1016/j.talo.2022.100083.
- Pérez-Alonso, M. J., Velasco-Negueruela, A., Pérez de Paz, P. L., & Sanz, J. (2005). Essential oil composition of three *Sideritis* species from Spain. *Journal of Essential Oil Research*, 17(6), 636-639.
- Perry, N. B., van Klink, J. W., Brennan, N. J., & Harris, W. (1999). "Essential oils from dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.): variations among individuals, plant parts, seasons, and sites." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5), 2048-2054.
- Petreska Stanoeva, J., Stefova, M., & Kulevanova, S. (2016). Flavonoids and other phenolic compounds in *Sideritis scardica* extracts. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 62(1), 23-32.
- Piñón-Segundo, E., Mendoza-Muñoz, N. and Quintanar-Guerrero, D., 2013, Nanoparticles as dental drug-delivery systems, *Nanobiomaterials in Clinical Dentistry*, 475-95.
- Pfaller, M. A., & Diekema, D. J. (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(1), 133-163.
- Pinto M, Robine-Leon S, Appay MD, et al.1983 Enterocyte-like differentiation and polarization of the human colon carcinoma cell line Caco-2 in culture. *Biology of the Cell*.
- Pitout, J. D., & Laupland, K. B. (2008). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *The Lancet Infectious Diseases*, 8(3), 159-166.
- Podschun, R., & Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(4), 589-603.
- Popoff, M. Y., & Le Minor, L. (1997). Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur.
- Powers, K. W., Palazuelos, M., Moudgil, B. M., & Roberts, S. M. (2006). Characterization of the size, shape, and state of dispersion of nanoparticles for toxicological studies. *Nanotoxicology*, 1(1), 42-51.
- Prabhu, S., & Poulouse, E. K. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2(1), 32.
- Pratap-Singh, A., & Kandasamy, M. (2020). Efficacy of antimicrobial and larvicidal activities of green synthesized silver nanoparticles using leaf extract of *Plumbago auriculata* Lam. *Plants*, 9(11), 1577.

- Raa, C.N.R., 1992, *International Union of Pure and Applied Chemistry*, Blackwell Scientific Publications.
- Raghupathi, K., Koodali, R. T., & Manna, A. C. (2011). Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir*, 27(7), 4020-4028.
- Ralph, W.J.P., Sperling, A., Gil, P.R., Zhang, F. and Zanella, M., 2008, Biological applications of gold nanoparticles, *Chem. Soc. Rev.* 37, 1909–1930.
- Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. (2009). "Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials." *Biotechnology Advances*, 27(1), 76-83.
- Raju, M., Ahmad, I., & Siddiqui, W. (2023). Cytotoxic and antimicrobial activities of silver and iron nanoparticles synthesized using proanthocyanidin. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 21(1), 23-35.
- Ravichandran, R., 2010, Nanotechnology applications in food and food processing: innovative green approaches, opportunities and uncertainties for global market, *Int J Green Nanotechnology, Physics and Chemistry*, 1, P72-P96.
- Raut, R.W., Mendhulkar, V.D. and Kashid, S.B., 2014, Photosensitized synthesis of silver nanoparticles using *Withania somnifera* leaf powder and silver nitrate, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 132 (5), 45–55.
- Ren, G., Hu, D., Cheng, E. W., Vargas-Reus, M. A., Reip, P., & Allaker, R. P. (2009). Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *International journal of antimicrobial agents*, 33(6), 587-590.
- Romero G. and Moya, S.E., 2012, Synthesis of organic nanoparticles, *Nanobiotechnology: inorganic nanoparticles vs organic nanoparticles*, 115-141.
- Roth, P., 2007, Particle synthesis in flames, *Proceedings of Combustion Institute*, 31, 1773-1788.
- Roy, A., Bulut, O., Some, S., Mandal, A.K. and Yilmaz, M.D., 2019, Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity, *RSC Adv*, 9, 2673-2702.
- Russo, M., Spagnuolo, C., Tedesco, I., & Russo, G. L. (2013). Anti-inflammatory and anti-oxidant properties of flavonoids: A likely convergence between actions and benefits. *Food Chemistry*, 140(4), 660–674.
- Salie, F., Eagles, P. F., & Leng, H. M. (1996). Preliminary antimicrobial screening of four South African Asteraceae species. *Journal of Ethnopharmacology*, 52(1), 27-33.
- Sanchez, F., & Sobolev, K. (2010). Nanotechnology in concrete – A review. *Construction and Building Materials*, 24(11), 2060–2071.
- Sastry, A.B.S., Karthik Aamanchi, R.B., Sree Rama Linga Prasad, C. and Murty, B.S., 2013, Large-scale green synthesis of Cu nanoparticles, *Environm Chem Lett.*, 183-187.
- Savage, N., & Diallo, M. S. (2005). Nanomaterials and water purification: Opportunities and challenges. *Journal of Nanoparticle Research*, 7(4), 331-342.
- Sawai, J., Shoji, S., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T., Shimizu, M., & Kojima, H. (2003). Hydrogen peroxide as an antibacterial factor in zinc oxide powder slurry. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 86(5), 521-522.
- Scherer WF, Syverton JT, Gey GO. Studies on the propagation in vitro of poliomyelitis viruses. *Journal of Experimental Medicine*. 1953.
- Schwaminger, S., ve ark., (2015). Nanotechnology in medicine: A revolution in health care. *Nanomedicine*, 10(14), 2265–2278.
- ScienceDaily. (2024). Graphene research: Numerous products, no acute dangers found by study. Retrieved from ScienceDaily

- Shah, H. A., Rather, M. A., 2020, Effect of calcination temperature on the crystallite size, particle size and zeta potential of TiO<sub>2</sub> nanoparticles synthesized via polyol-mediated Materials Today: Proceedings, ISSN method,
- Shahverdi, A. R., Fakhimi, A., Shahverdi, H. R., & Minaian, S. (2007). Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 3(2), 168-171.
- Shankar, S.S., Rai, A., Ahmad, A. and Sastry, M., 2004, Rapid synthesis of Au Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth, *J. Coll. Interf. Sci.*, 275(2), 496-502.
- Sharma, B., Purkayastha, D.D., Hazra, S., Thajamanbi, M., Bhattacharjee, C.R., Ghosh, N.N., & Rout, J. (2014). Biosynthesis of fluorescent gold nanoparticles using an edible freshwater red alga, *Lemanea fluviatilis* (L.) C.Ag. and antioxidant activity of biomatrix loaded nanoparticles. *Bioprocess Biosystem Engineering*, 37(12), 2559-65.
- Shibata, N., 2009, The cell wall galactomannan antigen from *malassezia furfur* and *malassezia* detection has diagnostic potential, *Microbiology (Reading)*, 155, 3420-3429.
- Skaltsa, H. D., Demetzos, C., Lazari, D., & Sokovic, M. (1999). Antimicrobial activity of *Sideritis erythrantha* and *Sideritis perfoliata*. *Planta Medica*, 65(03), 253-254.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2007). *Principles of Instrumental Analysis* (6th ed.). Thomson Brooks/Cole
- Stojanović-Radić, Z., Pejčić, M., Dimitrijević, M., & Stojanović, S. (2012). Antimicrobial activity and cytotoxicity of various herb extracts. *Hemijska industrija*, 66(1), 17-20.
- Stuart, B. H. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons.
- Suh, J. K. F. (2006). Effects of thermal and concentration parameters on particle synthesis: A comprehensive review. *Journal of Nanoparticle Research*, 8(2), 123–134.
- Sun, C., Lee, J. S., & Zhang, M. (2008). Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(11), 1252-1265.
- Swihart, M. T. (2003). Vapor-phase synthesis of nanoparticles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 8(1), 127–133.
- Tadić, V. M., Dobrić, S., Marković, G. M., Đorđević, S. M., Arsić, I. A., Menković, N. R., & Stević, T. (2012). Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radical-scavenging, and antimicrobial activity of hawthorn berries ethanol extract. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(17), 7700-7709.
- Thakkar, K.N., Mhatre, S.S., Parikh, R.Y., 2010, Biological synthesis of metallic nanoparticles, *Nanomedicine: NBM*, 6, 257-262
- Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., & Polissiou, M. (2007). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, 100(3), 1046-1054.
- 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,
- Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603-661.

- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2016). *Microbiology: An Introduction*. Pearson.
- Tucker, A. O., & DeBaggio, T. (2000). "The Big Book of Herbs: A Comprehensive Illustrated Reference to Herbs of Flavor and Fragrance." Interweave Press.
- Tümen, G. Ermin, N. Özek, T. Kürkçüoğlu, M. ve Baser, K.H.C., (1994). "Composition of Essential Oils from Two Varieties of *Thymbra spicata* L", *Journal of Essential Oil Research*, 6: 463-468.
- Umaz, A., & Demir, S. (2019). *Hypericum triquetrifolium* Turra Bitkisinden Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Etkinliğinin İncelenmesi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 9(3), 1467-1475.
- Uskokovic, V. (2015). Nanotechnologies in biomedical applications: Advancing health care. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 11(5), 727–741.
- Vardharajula, S., Ali, S. and Tiwari, P., 2012, Functionalized carbon nanotubes: biomedical applications, *International Journal of Nanomedicine*, 5361–5374.
- 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,
- Wainwright, M. (1992). *An Introduction to Fungal Biotechnology*. John Wiley & Sons.
- Wang, X., Ji, Z., Chang, C. H., Zhang, H., Wang, M., Liao, Y. P., Lin, S., Meng, H., Li, R., Sun, B., & Wang, X. (2013). Use of coated silver nanoparticles to understand the relationship of particle dissolution and bioavailability to cell and lung toxicological potential. *Small*, 10(2), 385-398.
- Wang, Y., & Herron, N. (1991). Nanometer-sized semiconductor clusters: Materials synthesis, quantum size effects, and photophysical properties. *The Journal of Physical Chemistry*, 95(2), 525-532.
- Wang, Z. H., & Zhang, W. (2012). Nanoparticle-mediated gene delivery and silencing in plants. *Nature protocols*, 7(7), 1589-1599.
- Whitesides, G. M. (2005). Nanoscience, nanotechnology, and chemistry. *Small*, 1(2), 172–179.
- Wolfgang, L., 2007, Bottom-up methods for making nanotechnology products,
- Wolfgang, S. (2007). Gas condensation technique: A historical overview and recent developments. *Advanced Materials*, 19(12), 1908–1912.
- World Silver Survey (2020). The Silver Institute.
- Yilmaz, B. (2022). Release of nifedipine, furosemide, and niclosamide drugs from the biocompatible poly (HEMA) hydrogel structures. *Turkish Journal of Chemistry*, 46(5), 1710-1722.
- Yilmaz, B., Bayrac, A. T., & Bayrakci, M. (2020). Evaluation of anticancer activities of novel facile synthesized calix [n] arene sulfonamide analogs. *Applied biochemistry and biotechnology*, 190, 1484-1497
- Zaki, M. (2007). Bottom-up approaches for nanoparticle synthesis: Applications in materials science. *Journal of Materials Science*, 42(8), 3001–3010.
- Zhang, L., & Gu, F. X. (2013). Nanoparticle-based drug delivery systems for cancer treatment. *The AAPS Journal*, 15(4), 609-618.
- Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W., & Gurunathan, S. (2013). Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(10), 20436-20437.

- Zhao, G., & Stevens Jr, S. E. (1998). Multiple parameters for the comprehensive evaluation of the susceptibility of *Escherichia coli* to the silver ion. *BioMetals*, 11(1), 27-32.
- Zhao, Y., 2007, Facile flame synthesis and photoluminescent properties of core/shell TiO<sub>2</sub>/SiO<sub>2</sub> nanoparticles, *Journal of Alloys and Compounds*, 432, L5-L9.

