



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA PROGRAMI

**ARONYA (*Aronia melanocarpa*) MEYVESİ EKSTRAKTI ile GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU ve *in vitro*
ANTİKANSER AKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

ESRA MELEK

Danışman: Doç. Dr. Kadriye Özlem Saygı

TOKAT-2023

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. Kadriye Özlem Saygı danışmanlığında hazırlamış olduğum “Aronya (*Aronia Melanocarpa*) Meyvesi Ekstraktı İle Gümüş Nanopartikül Sentezi, Karakterizasyonu ve *İn Vitro* Antikanser Aktivitenin Değerlendirilmesi” adlı Doktora tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

ESRAMELEK

22.08.2023

JÜRİ KABUL VE ONAY

ESRA MELEK tarafından hazırlanan “**Aronya (*Aronia Melanocarpa*) Meyvesi Ekstraktı İle Gümüş Nanopartikül Sentezi, Karakterizasyonu Ve *İn Vitro* Antikanser Aktivitenin Değerlendirilmesi**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 22.08.2023 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı**’nda Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Üye (Başkan):

.....

Üye :

Üye :

Üye :

Üye :

ONAY

.....

Doç. Dr. Yusuf TEMUR
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖNSÖZ

Doktora eğitimi ve tez dönemi süresinde bilgi birikimi ve tecrübeleriyle çalışmamın her aşamasında bana rehberlik eden, akademisyen ve hümanist kişiliği ile beni yönlendiren danışman hocam Doç. Dr. Kadriye Özlem SAYGI'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarında bana bilgi ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Ayşegül ŞENOCAK, Doç. Dr. Derya KAHRAMAN DÖĞÜŞCÜ, Doç. Dr. Hüseyin AKBAŞ'a, antikanser aktivite çalışmaları için Doç. Dr. Ercan ÇAÇAN ve Dr. Feyzanur YILDIRIMTEPE ÇALDIRAN'a, tez izleme komitemde bulunan Doç. Dr. Nilüfer VURAL ve Prof. Dr. Ömer IŞILDAK'a ve bitkilerin teminini sağlayan Dr. Aslı YILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Her türlü fedakarlıkla bana destek olan aileme, eşime ve can kızlarım İpek ve İdil'e sonsuz teşekkürler.

Esra MELEK

AĞUSTOS 2023

ÖZET
ARONYA (*Aronia melanocarpa*) MEYVESİ EKSTRAKTI ile GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU ve *in vitro*
ANTİKANSER AKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Melek, Esra
Doktora, Kimya Bilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç.Dr. Kadriye Özlem Saygı
AĞUSTOS 2023, XIV + 71

Metal Nanopartiküllerin (NP'ler) sağlık, gıda ve çevre gibi alanlarda uygulamaları yer almaktadır. Günümüzde sentez protokollerinde toksik kimyasal kullanmayan, çevre dostu ve düşük maliyetli prosesler geliştirmeye yönelik artan bir ihtiyaç bulunmaktadır. Bu çalışma kapsamında Aronya (*Aronia Melanacarpa*) bitkisinin Aron (A), Galijenka (G), Nero (N) ve Viking (V) alt çeşit meyvelerine ait ekstraktlarda gümüş nanopartiküllerin (AgNP'lerin) yeşil sentezi, karakterizasyonu ve antikanser aktiviteleri araştırılmıştır. Araştırmanın ilk bölümünde Aronya türlerine ait meyve ekstraktları ile AgNP'ler sentezlenmiştir. AgNP'lerin karakterizasyonları Ultraviyole-Görünür Spektroskopisi (UV-vis), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), X-ışını Difraksiyonu (XRD) Dinamik Işık saçılım Spektroskopisi (EDX) yapılmıştır ve hücre canlılığına etkileri MTT testi ile Cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780, diğeri ise cisplatine dirençli AD-A2780 hücre hatları üzerinde incelenmiştir. Elde edilen verilere göre AgNP'ler Cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780 hücre hattı ile yapılan çalışma da 400 µg/mL olacak şekilde hazırlanan konsantrasyonda A, G ve N aktivite göstermiş olsada V çeşidinden sentezlenen AgNP'ler cisplatine duyarlı hücrelerin canlılığını %20 olacak şekilde azaltmıştır. Cisplatine dirençli AD-A2780 hücre hattı ile yapılan çalışmada ise 400 µg/mL olacak şekilde hazırlanan konsantrasyonda tüm türlerden sentezlenen AgNP'ler cisplatine dirençli hücrelerin canlılığını %20 nin altına düşürerek aktivite göstermiştir. Literatürde çalışma bitkisinden bu şekilde sentezlenen ve aktivitesine ait herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bunların yanısıra A, G, N ve V çeşitlerine ait meyvelerin metanol/diklorometan (1:1) ekstraktlarının fenolik bileşikleri LC-MS/MS ile incelendi. Tüm meyvelerde klorjenik asit en çok bulunan fenolik bileşiktir. Ekstraktlar MCF7 (meme kanseri) ve A2780 (yumurtalık kanseri) kanser hücre hattında MTT yöntemi kullanılarak test edildi. MCF7 hücre hattı için A, N ve V çeşitleri için konsantrasyon 400 µg/mL'de hücre canlılığını %50 nin altında azaltıp G çeşidinden hazırlanan ekstrakt aktivite göstermemiştir. A2780 hücre hattı için A, G ve N türleri 400

$\mu\text{g/ml}$ 'de %50 nin altında hücre canlılığını azaltırken V çeşidinden hazırlanan ekstrakt aktivite göstermemiştir.

Anahtar Kelimeler: Nanopartikül, Nanoteknoloji, Gümüş Nanopartikül, Yeşil Sentez, *Aronia Melanocarpa*



ABSTRACT
SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES, CHARACTERISTICS AND
ASSESSMENT OF ANTI-CANCER ACTIVITY IN Vitro WITH ARONIA FRUIT
EXTRACT (*Aronia melanocarpa*)

Melek, Esra

Doctorate, Department of Chemistry

Advisor: Associate Prof. Dr. Kadriye Özlem Saygı

Agustos 2023, XIV + 71

Metal Nanoparticles (NPs) have applications in fields such as health, food and environment. Today, there is an increasing need to develop environmentally friendly and low-cost processes that do not use toxic chemicals in synthesis protocols. In this study, green synthesis, characterization and anticancer activities of silver nanoparticles (AgNPs) in extracts of Aron (A), Galijenka (G), Nero (N) and Viking (V) varieties of Aronia (*Aronia Melanacarpa*) plant were investigated. In the first part of the study, AgNPs were synthesized with fruit extracts of Aronia species. Characterizations of successfully synthesized AgNPs Ultraviolet-visible spectroscopy (UV-vis), Fourier Transform Infrared spectroscopy (FT-IR), Scanning Electron Microscopy (SEM), X-ray Diffraction (XRD) Dynamic Light Scattering Spectroscopy (EDX) and its effects on cell viability were investigated on the cisplatin-sensitive cell line A2780 and the other on cisplatin-resistant AD-A2780 cell lines. According to the data obtained, AgNPs synthesized from the V type decreased the viability of cisplatin-sensitive cells by 20%, although AgNPs showed A, G and N activity at a concentration of 400 µg/ml in the study conducted with the A2780 cell line, which is a cisplatin-sensitive cell line . In the study conducted with the cisplatin-resistant AD-A2780 cell line, AgNPs synthesized from all species at a concentration of 400 µg/ml showed activity by reducing the viability of cisplatin-resistant cells below 20%. There is no study in the literature that synthesized from the study plant in this way and its activity. In addition, phenolic compounds of methanol/dichloromethane (1:1) extracts of fruits belonging to Aron (A), Galijenka (G), Nero (N) and Viking (V) varieties were investigated by LC-MS/MS. Chlorogenic acid is the most abundant phenolic compound in all fruits. The extracts were tested in the MCF7 (breast cancer) and A2780 (ovarian cancer) cancer cell line using the MTT method. For the MCF7 cell line, for the A, N and V varieties, the cell viability was reduced below 50% at a concentration of 400 µg/ml, and the extract prepared from the G variety did not show

activity. For the A2780 cell line, A, G and N varieties reduced cell viability below 50% at 400 µg/ml, while the extract prepared from the V variety did not show activity.

Keywords: Nanoparticle, Nanotechnology, Silver nanoparticles, Green Synthesis, *Aronia Melanocarpa*



İÇİNDEKİLER

ETİK SÖZLEŞME	i
JÜRİ KABUL VE ONAY	ii
ÖNSÖZ	1
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1.GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	10
3. MATERYAL ve YÖNTEM	17
3.1 Materyal	17
3.2 Yöntem	17
3.2.1 Bitkilerin toplanması ve su ekstraktların hazırlanması	17
3.2.2 Gümüş nanopartiküllerin (AgNP) hazırlanması	20
3.2.3 Sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonu	23
3.2.4 Bitkilerin fenolik bileşen analizi	24
3.2.5 Hücre kültürü antikanser aktivitelerinin belirlenmesi	26
3.1.1 LC-MS/MS cihazı ve kullanım koşulları	27
3.3. İstatistik Analizi	28
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	29
4.1. Sentezlenen AgNP'lerin UV-Vis Analiz Bulguları	29
4.2. FTIR Analiz Bulguları	32
4.3. Sentezlenen AgNP'lerin XRD Bulguları	34
4.4. Sentezlenen AgNP'lerin SEM Analiz Bulguları	40
4.5. Sentezlenen AgNP'lerin EDX Analiz Bulguları	45
4.6. Ekstraktların LC-MS/MS Analiz Bulguları	48
4.7. Fenolik Ekstraktların Antikanser Çalışmaları	51
4.8 Sentezlenen AgNP'lerin Antikanser Çalışmaları	56

5. SONUÇ ve ÖNERİLER	62
6. KAYNAKLAR.....	64
7. ÖZGEÇMİŞ.....	71



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4. 1. *Aronya (Aronia Melanocarpa)* bitkisinin dört alt çeşidine ait fenolik bileşikler49



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. 1. Aronya çiçeği	4
Şekil 1. 2. Aronya meyvesi.....	5
Şekil 1. 3. Sonbaharda Aronya yaprakları	5
Şekil 1. 4. Nero meyvesi	7
Şekil 1. 5. Viking meyvesi	7
Şekil 1. 6. Aron meyvesi	8
Şekil 1. 7. Galijenka meyvesi.....	8
Şekil 3. 1. Aronya meyvesinin kurutulması.....	18
Şekil 3. 2. Aronya meyvesi Öğütülmesi	18
Şekil 3. 3. Aronya meyvesi ekstraktı.....	19
Şekil 3. 4. Aronya meyvesi ekstraktının süzülmesi	19
Şekil 3. 5. AgNO ₃ çözeltisi.....	20
Şekil 3. 6. AgNO ₃ stok çözeltisinin ilave edilmesi	21
Şekil 3. 7. Bitki ekstraktının renk değişimi	21
Şekil 3. 8. Soldan sağa gümüş nitrat (AgNO ₃), meyvelerin su ekstraktı, AgNP'ler	22
Şekil 3. 9. AgNP'lerin santrifüjlenmesi	22
Şekil 3. 10. Santrifüj sonrası AgNP'ler.....	23
Şekil 3. 11. Ekstraksiyon çözücülerinin döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırılma işlemi	25
Şekil 3. 12. Fenolik tayini için ekstraksiyon çözücülerinin uzaklaştırılmış görüntüsü.....	25
Şekil 4. 1. A-AgNP lerin UV-Vis spektrumu.....	30
Şekil 4. 2. G-AgNP lerin UV-Vis spektrumu	30
Şekil 4. 3. N-AgNP lerin UV-Vis spektrumu	31
Şekil 4. 4. V- AgNP lerin UV-Vis spektrumu	31
Şekil 4. 5. A-AgNP'lerin FTIR analizi.....	32
Şekil 4. 6. G-AgNP'lerin FTIR analizi	33
Şekil 4. 7. N-AgNP'lerin FTIR analizi	33
Şekil 4. 8. V-AgNP'lerin FTIR analizi.....	34
Şekil 4. 9. A- AgNP'lerin XRD analizi	36
Şekil 4. 10. G- AgNP'lerin XRD analizi	37
Şekil 4. 11. N-AgNP'lerin XRD analizi.....	38
Şekil 4. 12. V-AgNP'lerin XRD analizi	39
Şekil 4. 13. A-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (50kx)	41
Şekil 4. 14. A-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (100kx)	41
Şekil 4. 15. G-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (50kx).....	42
Şekil 4. 16. G-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (100kx).....	42
Şekil 4. 17. N-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (50kx).....	43
Şekil 4. 18. N-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (100kx).....	43
Şekil 4. 19. V-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (50kx)	44
Şekil 4. 20. V-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (100kx)	44
Şekil 4. 21. A-AgNP'lerin EDX analizi	46

Şekil 4. 22. G-AgNP'lerin EDX analizi	46
Şekil 4. 23. N-AgNP'lerin EDX analizi	47
Şekil 4. 24. V-AgNP'lerin EDX analizi	47
Şekil 4. 25. A çeşidine ait fenolik bileşiklerin MCF7 antikanser aktivitesi	51
Şekil 4. 26. G çeşidine ait fenolik bileşiklerin MCF7 antikanser aktivitesi	52
Şekil 4. 27. N çeşidine ait fenolik bileşiklerin MCF7 antikanser aktivitesi	52
Şekil 4. 28. V çeşidine ait fenolik bileşiklerin MCF7 antikanser aktivitesi	53
Şekil 4. 29. A çeşidine ait fenolik bileşiklerin A2780 antikanser aktivitesi	54
Şekil 4. 30. G çeşidine ait fenolik bileşiklerin A2780 antikanser aktivitesi	54
Şekil 4. 31. N çeşidine ait fenolik bileşiklerin A2780 antikanser aktivitesi	55
Şekil 4. 32. V çeşidine ait fenolik bileşiklerin A2780 antikanser aktivitesi	55
Şekil 4. 33. A-AgNP'lerin Cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780	57
Şekil 4. 34. G-AgNP'lerin Cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780	57
Şekil 4. 35. N-AgNP'lerin Cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780	58
Şekil 4. 36. V-AgNP'lerin Cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780	58
Şekil 4. 37. A-AgNP'lerin Cisplatine dirençli hücre hattı olan A2780	59
Şekil 4. 38. G-AgNP'lerin Cisplatine dirençli hücre hattı olan A2780	60
Şekil 4. 39. N-AgNP'lerin Cisplatine dirençli hücre hattı olan A2780	60
Şekil 4. 40. V-AgNP'lerin Cisplatine dirençli hücre hattı olan A2780	61

SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

Ag: Gümüş

Cu: Bakır

Au: Altın

Fe: Demir

Zn: Çinko

Pt: Platinyum

μ L: Mikrolitre

g: Gram

nm: Nanometre

KISALTMALAR

NP: Nanopartikül

AgNP: Gümüş nanopartikül

DMSO: Dimetil Sülfoksit

SPR: Yüzey plazmon rezonans

MCF7: Meme kanseri

A2780: Yumurtalık kanseri

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

UV-Vis: Ultraviyole- Görünür Alan Spektroskopisi

XRD: X Işını Difraksiyonu Spektroskopisi

FTIR: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

HPLC: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

UHPLC/Qtof-MS: Ultra Yüksek Performanslı Kuadropol Sıvı Kromatografi Kütle Spektroskopisi

LC-MS/MS: Sıvı Kromatografi Kütle Spektroskopi

TAGEM: Tarımsal Araştırma ve Politikalar Genel Müdürlüğü

1.GİRİŞ

Nanoteknoloji bilim dalı kimya, fizik, biyoloji, tıp, biyoteknoloji ve malzeme gibi alanları içeren disiplinlerarası bir alandır (Alabdallah & Hasan, 2021). Bu bilim dalının günümüzde popüler olmasının en önemli sebebi nano boyutlardaki malzemelerin yüzey/hacim oranlarının büyük olmasıyla birim yüzeye düşen atom miktarının da fazla olmasıdır (Roy, Bulut, Some, Mandal & Yilmaz, 2019). Bu durum bilim insanlarını bu materyalleri kullanmaya teşvik etmektedir ve tıp alanındaki ileri görüntüleme, ilaç, medikal malzemeler ve nanosensörler başlıcalarıdır (Jain, Jain, Rajput & Patil, 2021).

Nanopartikül (NP) sentezinde fiziksel ve kimyasal metotlar kullanılmaktadır. Kimyasal metot olarak NP'lerin sentezinde 'aşağıdan yukarıya' ve 'yukarıdan aşağıya' olmak üzere iki yöntem vardır (Dada et al., 2019). Aşağıdan yukarıya metodunda nano malzemelerin en küçük parçaları olan atomlarının bir araya getirilerek büyütülmesi, yukarıdan aşağıya metodunda ise malzeme boyutunun uygun fiziksel veya kimyasal yöntemlerle daha küçük parçacıklara ayrılması esastır (H. Zhang et al., 2021).

Çeşitli organik ve inorganik indirgeyici ajanlar kullanılarak kimyasal indirgeme, elektrokimyasal teknikler, fizikokimyasal indirgeme ve radyoliz dahil olmak üzere en popüler kimyasal yaklaşımlar, gümüş nanopartiküllerin (AgNP) sentezi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin çoğu hala geliştirme aşamasındadır ve NP'lerin kararlılığı ve agregasyonu, kristal büyümesinin kontrolü, morfoloji, boyut ve boyut dağılımı gibi sorunlar yer almaktadır. AgNP'lerin sentezinde fiziksel yöntemler arasında evaporasyon-yoğunlaştırma ve lazer ablasyon gibi yöntemler yer almaktadır. AgNP'lerin atmosferik basınçta bir tüp fırın kullanılarak fiziksel sentezinin bazı dezavantajları vardır, örneğin, tüp fırın geniş bir alanı kaplar, kaynak malzemenin etrafındaki çevre sıcaklığını yükseltirken büyük miktarda enerji tüketir ve elde edilmesi çok zaman gerektirir. Ayrıca, tipik bir tüp fırın, sabit bir çalışma sıcaklığına ulaşmak için birkaç kilovattan fazla güç tüketimi ve ön ısıtma süresi gerektirir.

Fiziksel ve kimyasal yöntemlerle NP sentezi; hedeflenen boyutta malzeme üretilmemesi, uzun süre alması, zararlı kimyasalların kullanımı ve maliyetli olması gibi sebeplerden alternatif yeni yöntemlere ihtiyaç duymuştur (Wypij et al., 2021). Bu etkilerin yer

almadığı çevre dostu, yeşil sentez yöntemi diye tanımlanan bitki, mantar, alg, vitamin, enzim ve mikroorganizmaların kullanıldığı metotlar birçok çalışma grubu tarafından tercih edilmektedir (Barabadi et al., 2021). Günümüzde artan enerji ihtiyacı sebebiyle enerji tasarrufu sağlaması diğer klasik yöntemlerle karşılaştırıldığında sürdürülebilir ve yenilenebilir olması da önem arz etmektedir. Bunun sonucu olarak ‘**Yeşil Sentez**’ terimi yaygınlaşmıştır (Ijaz, Zafar & Iqbal, 2020). Yeşil sentez yöntemi, çevre dostu olması, insan sağlığına zararlı olmaması, enerji tasarrufu sağlaması, kolay uygulanması ve hızlı olması gibi avantajlara sahiptir (Ahmed, Damra & Mustafa, 2019). NP’lerin bitki tohum, kök, meyve, dal, yaprak hatta atıklarının kullanıldığı yeşil sentezi kadar karakterizasyonu, yorumlanması ve çeşitli alanlarda uygulanması günümüzde bu çalışma alanını yaygın hale getirmektedir (Garibo et al., 2020).

NP’ler hangi alanda kullanılacaksa o alana göre ilgili metal seçilerek sentezlenmektedir. Çoğunlukla bakır (Cu), altın (Au), gümüş (Ag), nikel (Ni), platin (Pt), çinko (Zn) ve demir (Fe) metalleri NP sentezinde kullanılsa da son çalışmalara göre AgNP en fazla yer almaktadır (Tailor, Yadav, Chaudhary, Joshi & Suvalka, 2020). AgNP’lerle olan çalışmaların günden güne artmasındaki neden optik, manyetik ve elektriksel özelliklerinden dolayı biyolojik aktivite ve çevre ile ilgili çalışmalarda elde edilen sonuçları ile ilgilidir (Oves et al., 2022).

AgNP sentezinde çeşitli bitki ekstraktları gümüş nitrattaki (AgNO_3) gümüş(I) iyonlarının gümüş(0) iyonlarına indirgenmesinde kullanılmaktadır (Saygi & Cacan, 2021a). Bitki ekstraktları içerdikleri biyoaktif maddeler ile (fenolik bileşenler, asitler, enzimler, vs) bu sentezi tek basamaklı hızlı ve başka herhangi bir kimyasala ihtiyaç duyulmadan sentezlenmesini sağlamaktadır (Saygi, Bayram & Bayram, 2022).

Bitkiler çevre koşullarına karşı kendilerini koruma ve savunma mekanizmaları için içeriklerinde biyoaktif maddeler diye adlandırılan bileşikler oluştururlar. Bunlardan en fazla bulunanı fenolik bileşiklerdir ve bir ya da daha fazla aromatik halkaya bağlı hidroksil (-OH) gruplarından meydana gelmektedir (Alara, Abdurahman & Ukaegbu, 2021a). Doğada bilinen 8000 civarında fenolik bileşik bulunmaktadır (Joon Hwang, Byong Yoon, Lee, Ju Cha & Dai Kim, 2013a). Kromatografideki gelişmeler sonucunda fenolik bileşikler yaygın HPLC, LC-MS ve LC-MS/MS teknolojileri ile kantitatif olarak tayin edilmektedir (Acero, Gradillas, Beltran, García & Muñoz Mingarro, 2019). Fenolik

bileşiklerin HPLC ile tayinine ilgi oldukça fazla bulunmaktadır. Fakat son yıllarda LC-MS/MS tekniği tercih edilmeye başlanmıştır(Orsavová, Hlaváčová, Mlček, Snopek & Mišurcová, 2019). Çalışma prensibine göre kolondan geçen aynı kütle/yük (m/z) sahip birçok molekül olsada aynı parçalanma iyonlarına sahip moleküllerin bulunma ihtimali %0,1 dir. LC-MS/MS tekniği çok düşük konsantrasyonlarda, hızlı, duyarlılığı ve kesinliği yüksek tayin yapmaktadır(Acero et al., 2019; Aly & Górecki, 2023; Oniszcuk, Olech, Oniszcuk, Wojtunik-Kulesza & Wójtowicz, 2019; Orsavová et al., 2019; X. Zhang et al., 2023).

Aronya *Rosacea* familyasına ait *Aronia arbutifolia*, *Aronia prunifolia* ve *Aronia melanocarpa* türler bulunmaktadır (WatreLOT & Bouska, 2022) Çalışma konumuzda yer alan Aronya (*Aronia melanocarpa*) bitkisi son yıllarda tarım sektöründe yerini artırmıştır. Kuzey Amerika ve Kanada'nın güneydoğusunda yetişen üzümsü meyveler grubunda yer alan kışın yapraklarını döken çalı formunda bir bitkidir. Antioksidan içeriği çok yüksektir, kanserli hücreleri yok etme potansiyeline sahiptir ve bu nedenle **süper meyve** de denilmektedir. Aronya antioksidan, vitamin, minarel ve fenoller (fenolik asitler, flavonoid ve flavanoller, proantosiyanidinler, antosiyaninler) yönünden oldukça zengindir(Jurikova et al., n.d.-a; WatreLOT & Bouska, 2022). D vitamini ve B12 hariç tüm vitaminleri içermektedir. K, Zn, Na, Mg, Fe, folik asit, klorogenik asit, tartarik asit ve sitrik asit içeriği yönünden de zengindir (Christiansen, Mellbye, Hermansen, Jeppesen & Gregersen, 2022; Deng et al., 2021; Zhao, Liu, Zheng, Liu & Ding, 2021). İçerdiği bu kimyasalların kalp hastalıkları ve kanseri önlemede etkili olduğu belirtilmektedir (Zhao et al., 2021). Aronyanın hem gıda sanayi hem de eczacılıkta kullanılarak gelecek vadeden bir sağlık meyvesi olduğu söylenmektedir. Meyve suyu, çay, reçel, şurup, sos gibi değişik şekillerde tüketilmektedir. Ayrıca besin takviyesi ve gıda renklendirici olarak da kullanılmaktadır (Efenberger-Szmechtyk et al., 2021). Mide rahatsızlıkları, soğuk algınlığı, karaciğer, bağırsak hastalıkları ve radyasyon zehirlenmesi tedavisinde de kullanılmaktadır. Ek olarak bağışıklık sistemini ve metabolizmayı güçlendirici etkisi de bulunmaktadır (Deng et al., 2021).

Aronya meyvesi (Şekil 1.2) zengin içeriğinden dolayı Rusya'da tıbbi aromatik bitki olarak kabul edilmiştir. Aronya taze meyve olarak ya da kurulmuş meyve olarak tüketilmesinin yanında süs bitkisi olarak da yetiştirilmektedir. Son baharda yaprakları

kırmızı renk aldığı için görsel olarak güzelliği ile s s bitkisi olarak tercih edilir ( ekil 1.3). Aronya hem gıda hem sağlık hem de görsel olarak peyzajda kullanılmaktadır (Zduni  et al., 2020).

Belirtilen bütün bu özelliklerinden dolayı dünyada yetiştiriciliği gittikçe artmaktadır.  i eklenmesi bahar mevsiminde olur ( ekil 1.1) Genellikle nisan ve mayıs ayında çiçeklenmeye ba lar. Salkım şeklinde  i ek açar, her salkımda 25-30 adet  i ek bulunur ( ekil 1.1). Dolayısıyla meyve sayısı da her salkımda 25-30 kadardır. Meyvelerini ağustos ayında vermeye ba lar. Meyveler mor-siyah renklidir ( ekil 1.2).  ekilleri Aronya çeşitlerine göre hafıf değişiklikler gösterse de genellikle yuvarlaktır (Sidor, Dro dzy ska & Gramza-Micha owska, 2019).



Şekil 1. 1. Aronya  i eği



Şekil 1. 2. Aronya meyvesi



Şekil 1. 3. Sonbaharda Aronya yaprakları

Aronya yetiştirilmesi kolay, her toprak ve rakımda büyüyeabilen bir bitkidir. İki-üç yaşındayken meyve vermeye başlar (Platonova et al., 2021). Hasadı daha çok elle yapılır. Olgunlaşmış meyveleri çürümediği için hasat kolaylığı sağlar.

Ülkemizde de aronya bitkisine ait ilk çalışmalar 2012 yılında Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde başlamış ve deneme alanı kurularak 2017 yılında da yetiştiriciliğı başlamıştır. 2017 yılında ise ilimizin de içinde bulunduğı 4 farklı bölgede yer alan 4 enstitüde adaptasyon çalışmaları başlatılmış ve (denenen tüm çeşitler verimleri yüksek ve bölgeye uyumludur) sonuçlandırılmıştır. TAGEM (Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü) tarafından desteklenen bu projeler ve faaliyetlerce alınan olumlu sonuçlarla birlikte meyve türünün tanıtım ve yayım faaliyetlerine başlanmıştır. Aronya meyvesinin bazı alt çeşitleri mevcuttur.

Nero ve *Viking* çeşitleri son derece verimli, antioksidan içeriğı yüksek çeşitlerdir(Tubitak, n.d.). Dünyada en çok yetiştiriciliğı yapılan çeşitlerdir. *Aron* Danimarka'da ıslah edilmiş oldukça iri meyveli, verimli ve antioksidan içeriğı yüksek, *Nero* ve *Viking*'den sonra dünyada en çok yetiştiriciliğı yapılan çeşittir (Kulling & Rawel, 2008; Wangenstein et al., 2014). *Galijenka*, Polonya'da son zamanlarda yeni geliştirilmiş bir çeşittir. Makineli hasada uygundur. Meyvelerinin hepsi aynı anda hasada gelmektedir.

Nero çalı formu, Sonbaharda yaprakları çok güzel kızardığı için süs bitkisi olarak da kullanılmaktadır (Jeppsson & Johansson, 2000). Meyveleri ağustos ayında olgunlaşır ve çok uzun süre dalında kalır (Şekil 1.4). Ayrıca soğğa karşı çok dayanıklıdır (Jeppsson & Johansson, 2000). Meyve rengi siyah ve yuvarlak ince kabuklu meyve suyu sanayisi içinde elverişlidir.



Şekil 1. 4. Nero meyvesi

Viking çalı formulu, Soğuk koşullarda dayanıklıdır. Yoğun dalları vardır. Meyveleri ağustos sonunda olgunlaşır (Şekil 1.5). C vitamini, demir ve iyot açısından oldukça zengindir. Meyve mor siyah, şekli kutuplardan biraz baskın kabuk kalınlığı fazla su miktarı daha azdır. Taze tüketim ve kurutma için uygundur. Hastalık ve zararlılara karşı da çok dayanıklıdır.



Şekil 1. 5. Viking meyvesi

Aron çalı formulu olup dalları yoğundur. En çok yetiştirilen çeşitler arasındadır. Meyvelerini ağustos ayında vermektedir. İri meyveli, verimli ve antioksidan içeriği

oldukça yüksektir. Meyveleri mor siyah renklidir. Gıda, ilaç ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadır.



Şekil 1. 6. Aron meyvesi

Galijenka çalı formudur. Meyvelerini ağustos ayında vermektedir. Meyveleri mor siyah renklidir (Şekil 1.5). İlk olarak Polonya’da geliştirilmiş yeni bir türdür. Meyve içeriği çok zengindir. Meyveleri mor siyah renklidir.



Şekil 1. 7. Galijenka meyvesi

Aronya (*Aronia melanocarpa*) bitkisinin meyvesine ait çalışmalar genel tür olarak daha fazla bulunmaktadır. Alt çeşitlerine ait çalışmalar sınırlı sayıdadır (Vagiri & Jensen, 2016). Genel türün meyvelerine ait çalışmaları çoğunlukla toplam fenolik madde, antosiyanin ve siyanidin türevleri tayini ve tayin yöntemleri hakkındadır (Sidor et al., 2019). Toplam fenolik miktarı diğer zms meyveler olan yaban mersini, ahududu, frenk üzümü, ilek ve böğürtlen meyvelerinden daha fazla olarak ölçülmüştür (Jurikova et al., n.d.-b). Fenolik miktarının fazla olması yani fenolik içeriği; genetik özellikler (eşit, genotip) ya da yetiştirme şartlarına (konum, teknik) bağlı olarak önemli değişiklikler göstermektedir. Bir çalışmaya göre optimum deplama sıcaklığı 3°C olması gerektiği yönündedir. Aylık bazda yapılan çalışmada bu sıcaklığın altında tutulursa toplam fenolik miktarı %30 değişmektedir (Jurikova et al., n.d.-a). Çoğunlukla meyve suyu sanayiinde kullanılan meyvelerin posaları (atıkları) fenolik bileşen yönünden karşılaştırılmış ve posadaki miktar meyve suyundan çok daha fazla bulunmuştur.

Daha nceki çalışmalarda meyvelerde fenolik asit olan klorjenik asit miktarının fazla olduğu rapor edilmiştir. Klorjenik asit, kinik aside ester bağı ile bağlı bir kafeik asit kompleksidir. Bir çok yazar tarafından fenolik bileşikler ve klorjenik asit dahil olmak üzere fitokimyasalların antioksidan özellikleri ve kronik hastalıklara (kanseri, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar) karşı aktivite sonuçları bildirilmiştir (Jiang, Fang, Leonard & Zhang, 2021; Joon Hwang, Byong Yoon, Lee, Ju Cha & Dai Kim, 2013b).

Bu alışma kapsamında Tokat ilinde yetiştirilen Aronya (*Aronia melanocarpa*) bitkisine ait dört alt çeşit olan *Viking*, *Nero*, *Galijenka* ve *Aron* meyveleri fenolik bileşen açısından LC-MS/MS yöntemi ile kantitatif olarak incelenip ve aynı meyvelerin su ekstraktından sentezlenen AgNP'ler kendi aralarında karşılaştırılarak biyolojik aktivite yönünden tartişılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Jalab ve çalışma arkadaşları *Acacia cyanophylla* bitki özütünü kullanarak çevreyle dost, ekonomik olarak gümüş nanopartikülleri yeşil sentez metodu ile elde ederek antibakteriyel aktivite yönünden incelemişlerdir. *E. coli* izolatları üzerinde yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir (Jalab, Abdelwahed, Kitaz & Al-Kayali, 2017).

Manosalva ve çalışma arkadaşları $AgNO_3$ ile *Galega officinalis* ekstresi kullanarak AgNP'lerin biyosentezini gerçekleştirmişlerdir. Biyosentez için reaksiyon parametreleri belirlenerek ve *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas syringae*'ye karşı antimikrobiyal özellikleri test edilmiştir. *E. coli*, *S.aureus* ve *P.syringae*'ye karşı etkinlik göstermiştir (Manosalva et al., 2019).

Gomathi ve çalışma arkadaşları indirgeyici madde olarak toksik olmayan sulu *Gymnema sylvestre* yaprak özünden gümüş nanopartiküllerin (AgNP'ler) üretilmesi için çevre dostu ve uygun maliyetli yeşil sentez kullanılmıştır. Sentezlenen AgNP'ler, hem *Staphylococcus aureus* hem de *Escherichia coli*'nin üzerinde iyi antibakteriyel aktivite göstermiştir. Bakteri ilişkili hastalıkların kontrolünde antibakteriyel olarak kullanılabileceğine işaret etmişlerdir (Gomathi et al., 2019) .

Ahmed ve çalışma arkadaşları derleme çalışmalarında Sudan' da yer alan tıbbi ve aromatik geleneksel olarak kullanılan 45'ten fazla tıbbi bitkiden sentezlenen AgNP'leri inceleyerek sentezi etkileyen parametreler, karakterizasyon teknikleri ve çeşitli biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır (Ahmed et al., 2019).

Hashemi ve çalışma arkadaşları *T.polium* bitkisinin su ekstraktı indirgeyici doğası nedeniyle yeşil sentez yöntemi uygulanarak AgNP'lerinin sentezi ve antikanser özelliği test edilmiştir. T. Polium AgNP'lerin MNK45 insan mide kanseri hücre hattı üzerinde antikanser etki sergilediğini göstermiştir (Hashemitabar, Aflakian & Sabzevar, 2023).

Bindhu ve çalışma arkadaşları *Moringa oleifera* çiçeğinin ekstraktı AgNP sentezi için kullanılmıştır. Hazırlanan AgNP'lerin karakterizasyonu yapılarak antimikrobiyal özellikleri belirlenmiştir. Gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel etkiler göstermiştir. AgNP lerin su arıtma ve biyomedikal uygulamalarda kullanım için mükemmel olabileceği sonucuna varılmıştır (Bindhu & Umadevi, 2015).

Aryan ve çalışma arkadaşları AgNP'ler *Kalanchoe pinnata* yaprak ekstraktı kullanarak yeşil sentez yoluyla elde edilmiştir. AgNP'ler yüzey plazmon rezonansı nedeniyle güçlü absorpsiyon spektrumları Uv-Vis'de gözlemlenmiştir. Ayrıca AgNP'lerin morfolojisi FESEM ve HRTEM kullanılarak incelenmiştir. AgNP'ler gram-negatif E.Coli bakterisine karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Rodamin B boyar maddesinin fotokatalitik olarak parçalanmasında aktivite göstermiştir (Aryan, Ruby & Mehata, 2021).

Jabir ve çalışma arkadaşları *Eriobotrya japonica* ekstraktından AgNP'lerin yeşil senteziyle kanser hücrelerinin çoğalmasına, iltihaplanmaya, alerjik bozukluklara ve fagositoz indüksiyonuna etkileri araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonuçlarına göre AgNP'ler ile alerji tedavisinde önemli ölçüde etkili olmuştur. Ayrıca AgNP'ler BMDM'lerde (bone marrow-derived macrophages) kemik iliği kaynaklı makrofajlarda fagositoz sürecini uyarmıştır. AgNP'lerin gelecekte farklı kanser türlerini tedavi etmek ve bağışıklık sistemi işlevlerini desteklemek için tıbbi bir ilaç olarak kullanılabileceği önerilmiştir (Jabir et al., 2021).

Mehwish ve çalışma arkadaşları *Moringa oleifera* tohumu (MOS) kullanılarak uygun maliyetli, AgNP'lerin yeşil sentezi gerçekleştirilmiştir. MOS-AgNP'lerin kristal küre şeklinde olduğu, gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca, MOS-AgNP'ler sudaki toksik Pb metal iyonlarını %80 oranında fotokatalitik olarak uzaklaştırdığını bu nedenle endüstriyel atık suların arıtılmasında kullanım için uygun olabileceğini önermişlerdir (Mehwish et al., 2021).

Vanlalveni ve çalışma arkadaşları derleme çalışmalarında 2015 yılından bu yana literatürü kapsayan farklı bitki ekstraktları kullanılarak AgNP'lerin yeşil sentezine ilişkin yeni bulguları ve bunların antimikrobiyal ajanlar olarak potansiyel uygulamalarını özetlemekte ve detaylandırmaktadırlar. AgNP'lerin bakteri hücre duvarı ile etkileşimini, hücre ölümüne yol açmasını ve yüksek antimikrobiyal aktivitelerinin mekanizmasını kapsamlı bir şekilde ele almışlardır (Vanlalveni et al., 2021).

Singh ve çalışma arkadaşları *Ligustrum vulgare* (kurt üzümü) meyvelerinden yeşil sentezle elde ettikleri altın ve gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel özelliklerini araştırmışlardır. *L. vulgare* meyveleri çoğunlukla herhangi bir amaç için kullanılmaz ve bu nedenle atık olarak değerlendirilmektedir. Çalışma atık ya da kullanılmayan *L. vulgare* meyvelerinin değerli ürünlere dönüştürülerek kullanımı açısından da önemlidir. *L.*

vulgare meyvelerinden, oda sıcaklığında 5 dakika içinde altın nanopartikülleri (LV-AuNPs) ve 90 °C'de 15 dakika içinde de gümüş nanopartikülleri (LV-AgNPs) elde edilmiştir. LV-AuNPs ve LV-AgNPs, çeşitli spektroskopik yöntemlerle karakterize edilmiştir. LV-AuNP'lerin 50-200 nm boyut aralığında küresel, üçgen, altıgen, çubuk, küboid vb. gibi çeşitli şekillerde, LV-AgNP'ler ise 20-70 nm olup çoğu küreseldir. LV-AgNP'ler *P. aeruginosa*'ya karşı 150 µg/mL ve *E. coli*'ye karşı 100 µg/mL MBC (en düşük bakteri yok edici konsantrasyon) değeri ile antimikrobiyal potansiyel göstermiştir (Singh & Mijakovic, 2022a).

Oves ve çalışma arkadaşları *Conocarpus lancifolius* bitki ekstraktı ile AgNP'leri yeşil sentezi ve bunların antimikrobiyal ve antikanser aktiviteleri araştırılmıştır. AgNP'lerin mantar patojeni olan *Rhizopus stolonifera*'ya karşı önemli aktivite gösterdiğini ve önde gelen bulaşıcı hastalıklara neden olan *Aspergillus flavus*' a karşı aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, AgNP'ler meme kanseri hücreleri üzerinde de aktivite göstermiştir (Oves et al., 2022).

Nagaraj ve çalışma arkadaşları tarafından *Cassia alata* bitki yaprak ekstraktı ile AgNP'ler sentezlenmiştir. Çeşitli boyar maddelerin (metilen mavisi, rodamin, metil turuncusu) ve nitro fenolin katalitik olarak giderimini test ederek tehlikeli atıkların arıtılması için kullanılmıştır. Bu yaklaşım AgNP'lerin büyük ölçekli üretimi için oldukça cazip olma potansiyeline sahip olabileceğini önermişlerdir (Nagaraj et al., 2023).

Allaka ve çalışma arkadaşları çok sayıda biyolojik bileşenin varlığı nedeniyle gomutra (İnek idrarı) ile gümüş oksit nanopartikülleri sentezleyerek antioksidan özelliklerini araştırmışlardır. Bu çalışma ayrıca, bir dizi biyomedikal uygulama için gümüş nanopartiküllerin uygun maliyetli endüstriyel ölçekte üretilebileceğini ortaya koymuştur (Allaka, Francis Luther King, Yepuri & Lalitha Narayana, 2023).

Devanesan ve çalışma arkadaşları *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, halk arasında bamya olarak bilinen vitamin ve mineral açısından zengin, ekonomik olarak önemli bitkinin çiçeklerinden AgNP sentezleyerek karakterizasyonunu yapmışlardır. Antibakteriyel aktivite taraması için agar kuyu difüzyon yöntemini gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı kullanmışlardır. Ayrıca akciğer kanseri hücre hattına karşı antikanser aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir (Devanesan & Alsalhi, 2023).

Christian ve çalışma arkadaşları derleme çalışmalarında Aronya (*Aronia Melanocarpa*)’nın kardiyometabolik hastalıklar üzerine etkilerini incelemiştir. İçeriğinde çok fazla polifenol olduğu antioksidan özellik gösterebileceği bundan dolayıda sağlık yönünden faydalı olabileceği ancak bu konuda yeterli çalışma olmadığını belirtmişlerdir. Kardiyometabolik hastalıklar açısından bitki ile ilgili çalışmaları da taramışlardır. Kan şekeri, kolesterol, tansiyon ve obezitede kullanılabileceğini ve daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır (Christiansen et al., 2022).

Sidor ve çalışma arkadaşları rapor ettikleri derlemelerinde chokeberry meyvesinin tansiyon, obezite ve diyabet gibi metabolik hastalıklara ve meme, bağırsak ve kan kanserine karşı etkinliğini belirtmişlerdir. Ayrıca bitkiden izole edilen bileşiklerin faydalarına da yer vermişlerdir. Gelecekte fonksiyonel gıda ürünü olabileceğini daha fazla kapsamlı çalışma gerektirdiğini etkin mekanizmaları açısından gereklilik olduğunu bildirmişlerdir (Sidor et al., 2019).

Ren ve çalışma arkadaşları Aronyanın (*Aronia melanocarpa*) insan sağlığının iyileştirilmesinde potansiyel faydaları ve bileşenleri üzerinde çalışmışlardır. Antioksidan aktivitesi yönünden incelendiğinde güçlü antioksidan etki göstermiştir (Ren et al., 2022).

Watrolet ve çalışma arkadaşları içerdikleri polifenoller ile aronyayı üzümde elde edilen şarapların iyileştirilmesi için önererek çeşitli ekstraksiyon yöntemlerini araştırmışlardır (Watrelet & Bouska, 2022).

Platonova ve çalışma arkadaşları tarafından yapılan derleme makalesinde siyah chokeberry (*Aronia melanocarpa*) ekstraktlarının in vitro ve in vivo etkilerine yer verilmiştir. İçerikleri sebebiyle yaşlanma karşıtı, antiproliferatif aktivite, glikoz ve lipid metabolizmasının iyileştirilmesi, nörodejeneratif bozuklukların iyileştirilmesi, antiviral ve antibakteriyel aktivite, gastrointestinal sistemin korunması gibi aktivite sergilediği raporlanmıştır (Platonova et al., 2021).

Zhang ve çalışma arkadaşları birçok çalışmayı inceleyerek aronyanın fenolik bileşenler özellikle klorjenik asit ve neoklorojenik asit açısından zengin olması sebebiyle antimutajenik, antikanser aktivitesi üzerine çok sayıda tümör hücre hattında çalışılarak aronyanın antikanser aktivitesinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Çeşitli maddelerin toksik

etkilerinin önlenmesi, anti-enflamatuar etki ve antidiyabet sonuçları değerlendirilmiştir (Yeasmin, Zhang, Zhang & Zhu, 2023).

Deng ve çalışma arkadaşları çalışmalarında *Aronia melanocarpa* antosiyaninlerini %75 lik etanol ekstraktını HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) kullanarak saflaştırmışlardır. *Escherichia coli*'ye karşı antibakteriyel aktivitesini hücre duvarı ve membran yapısını tahrip ederek etki mekanizmasını değerlendirmişlerdir. *Aronia melanocarpa* antosiyaninlerinin (AMA) *E. coli*'ye karşı minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBC) sırasıyla 0.625 mg/mL ve 1,25 mg/mL olarak bulmuşlardır. Ayrıca AMA'ların doğal gıda koruyucu olarak kullanılabileceğine vurgu yapmışlardır (Deng et al., 2021).

Smaoui ve çalışma arkadaşları atık nar kabuğu içerik olarak fenolik bileşence zengin olması sebebiyle antioksidan özelliklerinden yararlanarak farklı et ve et ürünlerini koruma için sentetik antioksidanlara iyi bir alternatif olabileceğini derleme çalışmalarında geniş bir şekilde incelemişlerdir. Ekstraktın et pigmentlerinin degradasyonunu engellemekte ve böylece etin rengini stabilize ederek raf ömründe uzatabileceği ancak daha ileri çalışmaların yapılması gerektiğinin de belirtmişlerdir (Smaoui et al., 2019).

Alara ve çalışma arkadaşları derleme çalışmalarında fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için yöntem seçimine yer vermişlerdir. Geleneksel ve geleneksel olmayan yöntemlerden bahsedilmiştir. Geleneksel ekstraksiyon yöntemleri fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemler Soxhlet, perkolasyon ve maserasyondur. Bu teknikler halen kullanılmakla birlikte, bazı aksaklıklara sebep olması nedeniyle geleneksel olmayan yöntemlerin ortaya çıkmasını teşvik ettiği belirtilmiştir (Alara, Abdurahman & Ukaegbu, 2021b).

Acero ve çalışma arkadaşları farklı tatlı kiraz (*Prunus avium* L.) çeşitlerinin fenolik bileşik profillerini kantitatif olarak UHPLC/qTOF-MS belirterek ve antioksidan özellik karşılaştırılmasını çalışmışlardır. Bu çalışmada, üç İspanyol yerel *Prunus avium* (L.) çeşidinin yanı sıra iki yabancı çeşit incelenmiştir. Her bir çeşidin ayrı ayrı olgun meyveleri analiz edilmiştir. Ekstraktlardaki fenolik bileşik grupları: hidroksisinnamik asitler, antosiyaninler ve flavonoidlerdir. Analiz edilen tüm metanol ekstrakt bileşenleri hidroksisinnamik asitler, antosiyaninler ve flavonoidlerdir. Elde edilen sonuçlara göre

toplam fenolik bileşen miktarı yüksek olan türün daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. İlavaten hepatoselüler karsinom karaciğer hücrelerine etkilerininide test etmişlerdir (Acero et al., 2019).

Orsavova ve çalışma arkadaşları Frenk üzümü (*Ribes L.*) ve beктаşı üzümünün (*Ribes uva-crispa L.*) antioksidan aktivitesine fenolik bileşikler, askorbik asit ve E vitamininin etkisini araştırmışlardır. Invicta, Rixanta, Karat ve Black Negus olmak üzere dört beктаşı üzümü (*Ribes uva-crispa L.*) çeşidinin meyveleri ve beş NS 11, Focus, Ben Gairn, Otelo ve Viola frenk üzümü (*Ribes L.*) çeşitleri potansiyel besin kaynağı olarak değerlendirilmiştir. Olağanüstü antioksidan aktiviteye sahip biyoaktif bileşikler içerirler. Toplam fenolik, flavonoid ve antosiyanin içeriklerini ve vitaminlerin miktar tayini yüksek performanslı sıvı kromatografi ile belirlenmiştir. Antioksidan aktiviteleri, kırmızı beктаşı üzümü; Black Negus ve siyah frenk üzümü; Otelo en iyi çeşitler olduğu belirlenmiştir (Orsavová et al., 2019).

Oniszcuk ve çalışma arkadaşları Mürver çiçeğindeki fenolik bileşenleri farklı ekstraksiyon yöntemleri ile hazırlayıp LC-ESI-MS/MS ile kalitatif ve kantitatif olarak tayin etmişlerdir. Protokatekuik, 4-OH-benzoik, kafeik, p-kumarik, salisilik, ferulik asitler ve rutin en fazla bulunan bileşiklerdir. Mısırdan elde edilen atıştırmalıklara ilave edilerek tüketilebileceği anti radikal özelliklerinden dolayı önem taşıdığını bildirmişlerdir (Oniszcuk et al., 2019).

Bursal ve çalışma arkadaşları endemik bir tıbbi bitki olan *Rumex nepalensis*'in fenolik içeriğini, antioksidan potansiyelini ve enzim inhibitör özelliklerini in vitro olarak spektrofotometrik yöntemlerle incelemişlerdir. Ektraktlarını su ve methanol kullanarak hazırlamışlardır. LC-MS/MS analizine göre kinik asit (15.61 mg/g), mikelianin (2.06 mg/g), kuersitrin (1.97 mg/g) ve protokateşuik asit (0.217 mg/g) bitki ekstraktının ana fenolik bileşikleri olarak tanımlanmıştır. Çalışma Glutasyon S-transferaz (GST), α -glikozidaz (α -Gly), asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimlerinin *R. nepalensis* ekstraktları tarafından güçlü bir şekilde inhibe edildiğini göstermiştir. GST, α -Gly, AChE ve BChE enzim inhibisyonları için IC₅₀ değerleri sırasıyla 21.01 mg/mL, 34.65 mg/mL, 27.72 mg/mL ve 17.32 mg/mL olarak hesaplanmıştır (Bursal, Köksal, Gülçin, Bilisel & Gören, 2013).

Aly ve çalışma arkadaşları üzüm suları ve şarapların özel ayırma tekniği gerektiren örnekler oldukları için HPLC yerine LC-MS/MS'i daha iyi pik kapasitesi sağladığı için kullanmışlardır. Çevrenin korunmasına yönelik sürekli artan talep, analitik prosedürlerin çevre dostu olmasını iyileştirmek için tehlikeli çözücülerin azaltılmasını veya ortadan kaldırılmasını bildirerek yöntem geliştirmişlerdir. MS verilerine göre örneklerde toplam 70 fenolik bileşiği tespit edebilmişlerdir (Aly & Górecki, 2023).

Goulas ve çalışma arkadaşları keçiboynuzu meyvesinde (*Ceratonia siliqua L.*) bulunan fenolik bileşiklerdeki sindirim sırasındaki değişimleri incelemişlerdir. Sonuçlar gastrik ve bağırsak aşamalarının fenoliklerin miktarlarında önemli değişikliklere neden olduğunu göstermiştir; geri kazanımları oral aşamada %61-88, gastrik aşamada %40-87 ve bağırsak aşamasında %16-57 arasında değişmiştir. Genel olarak, fenolik asitlerin sindirim altında oldukça dirençli olduğu belirtilmiştir. Mevcut çalışma, keçiboynuzu ürünlerinde önemli miktarlarda fenolik antioksidanların sindirimden sonra kaldığını göstermiştir (Goulas & Hadjisolomou, 2019).

Ismail ve çalışma arkadaşları afrikaya özgü olan Baobab (*Adansonia digitata*) ağacının meyve kabuğundaki 45 farklı fitokimyasalları ve fenolik bileşenlerini ilk defa LC-MS/QTOF ile tayin etmişlerdir. Atık olan bu kabuklar önemli ekonomik ve çevre bakımından değerlendirilmesi ve ticari kullanımı için de bir fırsat sunmaktadır. Bu araştırma, meyve kabuğunun gıda ve farmasötik uygulamalar için kullanılabilecek iyi bir fenolik bileşik kaynağı olarak umut verici potansiyelini ortaya koymuştur (Ismail, Pu, Guo, Ma & Liu, 2019).

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Tez çalışmasındaki bütün kimyasallar analitik saflıkta kullanılmıştır. Sentez ve yıkama işlemlerinde deiyonize su kullanılmıştır. Gümüş nitrat (%99.8) ve antikanser aktivite çalışmalarında kullanılan kimyasallar ; Sigma-Aldrich firmasından satın alınmıştır.

Araştırma kapsamında yer alan Aronya (*Aronia Melanocarpa*) bitkisinin alt çeşitleri olan Aron (A), Galijenka (G), Nero (N) ve Viking (V), meyveleri **Tokat Orta Karadeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü** deneme alanından Ziraat Mühendisi Dr. Aslı Yılmaz tarafından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan diğer materyaller; beher, erlen, huni, pamuk, makas, baget, hassas terazi, buz dolabı, etiket, kalem, ısıtıcı, karıştırıcı, gümüş nitrat, metanol, diklormetan, ependorf tüp, saf su, whatman filtre kağıdı, damlatma hunisi, santrifüj, ısıtıcı, Hettich Zentrifugen 1123 santrifüj, Heidolph marka döner buharlaştırıcı cihazları kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Bitkilerin toplanması ve su ekstraktların hazırlanması

Tokat ili **TAGEM** tarafından temin edilen Aronya (*Aronia Melanocarpa*) meyvesinin dört alt çeşidi (Nero, Viking, Galijenka ve Aron) oda koşullarında gölgede nemsiz bir ortamda bir hafta boyunca kâğıt üzerine serilerek kurutulmuştur (Şekil 3.1). Daha sonra kurutulmuş olan bitki öğütücü ararılığı ile öğütülmüştür (Şekil 3.2). Öğütülmüş bitkiden 20 g alınarak 800 mL deiyonize su ilave edilerek 30 dk kaynama sıcaklığına ulaşmadan 70°C de manyetik karıştırıcıda çalkalanmıştır (Şekil 3.3) (Saygi & Cacan, 2021a; Saygi & Usta, 2021). Çalkalama işleminden sonra whatman filtre kağıdında süzölmüştür (Şekil 3.4). Elde edilen bitki ekstraktı -18°C’de buzdolabında daha sonraki nanopartikül sentezlerinde kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir. Bütün bu işlemler Aronya (*Aronia Melanocarpa*) meyvesinin dört çeşidi için de ayrı ayrı tekrarlanmıştır.



Şekil 3. 1. Aronya meyvesinin kurutulması



Şekil 3. 2. Aronya meyvesi Öğütülmesi



Şekil 3. 3. Aronya meyvesi ekstraktı



Şekil 3. 4. Aronya meyvesi ekstraktının süzülmesi

3.2.2 Gümüş nanopartiküllerin (AgNP) hazırlanması

AgNP'leri elde etmek için 1 mM AgNO_3 tan 100 mL alınarak (Şekil 3.5) üzerine 20 mL Aronya ekstraktından damlatma hunisiyle yavaş yavaş ilave edildi. (Şekil 3.6) Reaksiyona manyetik karıştırıcı üzerinde 50°C de 8 saat boyunca devam edildi. AgNO_3 ilavesinden önce açık pembe renkli olan bitki ekstraktı AgNO_3 ilavesinden sonra koyu kahverengiye dönüşmüştür (Şekil 3.7-8) (Saygi & Usta, 2021). Bu işlemler seçilen bitkinin 4 çeşidi içinde yapıldı. AgNO_3 ilavesiyle koyu kahverengiye dönüşen reaksiyon çözeltisi 5000 rpm de 10 dk boyunca santrifüjlenerek (Şekil 3.9), AgNP'lerin çöktürülmesi sağlanmıştır (Şekil 3.10). Elde edilen kahverengi çökelti saf su ile birkaç defa yıkanarak safsızlıklar giderildikten sonra etüvde 60°C derecede kurutuldu. Kurutulan AgNP'ler daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere kapaklı kaplarda muhafaza edildi (Saygi & Cacan, 2021b)(Erenler & Dag, 2021)(Korkmaz et al., 2020a).



Şekil 3. 5. AgNO_3 çözeltisi



Şekil 3. 6. AgNO_3 stok çözeltisinin ilave edilmesi



Şekil 3. 7. Bitki ekstraktının renk değişimi



Şekil 3. 8. Soldan sağa gümüş nitrat (AgNO_3), meyvelerin su ekstraktı, AgNP'ler



Şekil 3. 9. AgNP'lerin santrifüjlenmesi



Şekil 3. 10. Satrifüj sonrası AgNP'ler

3.2.3 Sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonu

Yeşil sentez yoluyla elde edilen AgNP'lerin karakterizasyonu uygun spektroskopik yöntemler kullanılarak yapılmıştır. Karakterizasyon işlemi için Ultraviyole-görünür bölge spektroskopisi (UV-vis), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi spektroskopisi (FT-IR), Taramalı Elektron mikroskobu (SEM), X-ışını Difraksiyonu (XRD) Dinamik Işık saçılım Spektroskopisi (EDX) kullanılmıştır(Ahmad et al., 2019; Ahn, Jin & Park, 2019; Barabadi et al., 2021; Talank et al., 2022).

3.2.3.1. UV-Vis Spektrofotometre Analizi

Çeşitlere ait AgNP'lerin sentezindeki ilk kahverengi çözeltinin değerlendirilmesi, UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu UV-2600) ile 200-800 nm dalga boyu aralığında ve 1nm çözünürlükte blank olarak saf su kullanılarak yapılmıştır. Analizler kuvars küvet içine örnekten 100 μ L alınıp son hacmi 2 mL olacak şekilde saf su ile tamamlanarak ölçüm yapılmıştır.

3.2.3.2. SEM-EDX Analizi

Sentezlenen AgNP'lerin morfolojik özellikleri ve elementel analizi SEM-EDX (TESCAN Mira3XMU, Brno, Czechia) kullanılarak farklı büyütme ölçeklerinde görüntülenmesi yapılmıştır.

3.2.3.3. FT-IR Analizi

Kurutulan AgNP'lerin fonksiyonel grup analizinde Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi (Jasco FT-IR-4700) cihazı dalga boyu 400-4000 cm⁻¹ aralığında tarama yapılarak kullanılmıştır.

3.2.3.4. XRD Analizi

AgNP'lerin kristal yapı tayinleri için XRD analizleri Emprean, Malvern Panalytical X'pert PRO Diffractometer (PXRD) cihazında yapılmıştır.

3.2.4 Bitkilerin fenolik bileşen analizi

Kurutulup öğütülmüş numunelerden 10 g tartılarak 50 mL metanol/diklormetan (1:1) karışımında çalkalayıcı üstünde 3 gün (72 saat) oda sıcaklığında ekstrakte edilmiştir (Abid et al., 2017; Alara et al., 2021b). Ekstraktlar kaba süzgeç kâğıdı ile süzildükten sonra döner buharlaştırıcı ile çözücü uzaklaştırılıp (Şekil 3.11-12) +4 °C de muhafaza edilmiştir. Kalıntıdan fenolik bileşen tayini LC-MS/MS ile yapılmıştır. Her bir standart için metanolde 1000 ppm'lik stok çözeltiler hazırlanmıştır. Bu stoklardan farklı çalışma konsantrasyonlarda hazırlanan fenolik bileşiklerin kantitatif miktarlarını hesaplamak için herbir standart için kalibrasyon grafikleri çizilerek ($R^2 > 0.99$) alıkonma zamanları belirlenmiştir.



Şekil 3. 11. Ekstraksiyon çözücülerinin döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırılma işlemi



Şekil 3. 12. Fenolik tayini için ekstraksiyon çözücülerinin uzaklaştırılmış görüntüsü

3.2.5 Hücre kültürü antikanser aktivitelerinin belirlenmesi

3.2.5.1. Fenolik bileşiklerin hücre canlılığına olan etkisi

Bu çalışmada yer alan hücre hatları Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kanser Araştırma Laboratuvarı stoklarından meme kanseri hücre hattı MCF7 ve yumurtalık kanseri hücre hatları A2780 kullanılmıştır.

Hücre kültürü çalışmaları güvenlik kabini içerisinde çalışmaya başlamadan önce UV ışını uygulanarak steril edildikten sonra gerçekleştirildi. Kullanılacak tüm materyaller %70'lik etanol ile steril edilip kabin içine yerleştirildi. Aktivite testleri sentezlenen AgNP'ler ve bitkilerin ham ekstraktları için MCF7 ve A2780 kanser hücre hatlarına MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) testi uygulanarak yapılmıştır.(Bal vd., t.y.). Sitotoksikite testlerinden olan MTT testi tetrazolyum tuzları kullanımında hücrelerde renk değişimi esasına dayalıdır. Bu tuzlar mitokondriyal dehidrojenazlar tarafından parçalanarak formazan kristallerine indirgenir bu sırada renk değişimi meydana gelir. MTT tuzları sarı renklidir, formazan kristalleri mor renkli ve sudan çözünmezler.

Bu nedenle spektroskopik ölçüm yapabilmek için DMSO'da çözündürülür. Çözünen formazon miktarı hücre canlılığı ile doğru orantılıdır.

96 kuyucuklu plaka kullanılarak her bir kuyucuğa 7500 hücre olacak şekilde ekim yapılarak inkübatöre kaldırıldı. 24 saat sonunda AgNP'ler ve ham ekstraktlar farklı konsantrasyonlarda kuyucuklara ilave edildi. 48 saat inkübe edilen plaklar MTT işleminin diğer basamakları:

10 mg MTT tozu 2 mL PBS (fosfat tuzu çözeltisi)'de çözüldü. Filtreledikten sonra RPMI 1640 (besiyer) ile birleştirildi ve inkübe edildi. İnkübatörden alınan 96'lık plaktaki kuyucuklarda yer alan besiyerler mikropipetle uzaklaştırılan kuyucuklar 100 µL PBS ile yıkandı. MTT karışımından 100 µL her bir kuyucuğa eklenerek 4 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda canlı hücreler koyumavi-mor renge dönüştü. Kuyucuklardaki MTT karışımı tamamen alınıp 100 µL DMSO (Dimetil Sülfoksit) ilave edildi. Yaklaşık bir saat

çalkalamalı inkübatörde bekletildikten sonra 540 ve 570 nm de spektroskopik ölçüm yapıldı.

3.2.5.2. Sentezlenen AgNP'lerin hücre canlılığına olan etkisi

AgNP'lerin hücre canlılığına etkisi yukarda belirtilen metod kullanılarak yapılmıştır. Hücre hattı olarak Cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780, diğeri ise Cisplatine dirençli AD-A2780 hücre hatları kullanılmıştır (Ali et al., 2013; Berkel & Cacan, 2021, 2023; Weiss & Christian, 1993) . Yöntem olarak MTT testi uygulanmıştır. Testin yapılmasına ait bilgiler bölüm 3.2.5.1 de detaylı şekilde yer almaktadır. Alınan sonuçlar % canlı hücre oranının konsantrasyona karşı grafiği ile verilmiştir (Devanesan & Alsahli, 2023).

3.1.1 LC-MS/MS cihazı ve kullanım koşulları

Fenolik bileşen analizi için 1260 Infinity II sıvı kromatografi sistemi ve 6460 triple Quad kütle spektrometre (Agilent Technologies) cihazı kullanıldı. Ayırma işlemi için kolon olarak Poroshell 120 EC-C18 (100 mm x 4.6 mm I.D.2.7 um) kullanıldı. Mobil faz A(%97.5):H₂O, mobil faz B(%2.5): metanol olmak üzere 0.4 mL/dak akış hızında A mobil fazı için 0-3 dak %75, 3-12 dak %50, 12-16 dak %10, 16-21 dak %10, 21-24 dak %97.5 şeklindedir.

Enjeksiyon hacmi: 0.64 µL

Kolon sıcaklığı: 40 °C

Fenolik bileşiklerin kütle/iyon (m/z) oranını tespit etmek için hem negatif hem pozitif iyonizasyon modlarında elektrosprey iyonizasyon (ESI) kullanılmıştır. İyonizasyon işlemi 4000 V nebulizer gaz, 35 psi nebulizatör basıncında, 8 L/dak gaz akışında, 300°C gaz sıcaklığında olacak şekilde gerçekleştirildi.

3.3. İstatistik Analizi

Tez kapsamındaki MTT testlerinde kontrol grupları, deney grupları ile karşılaştırılarak analizi yapıldı. Bunun için kontrol gruplarının canlılıkları %100 olarak alınarak deney gruplarındaki değişimler gözlemlendi. Analiz için Student's T-test metodu kullanılmıştır. P değerlerinin ≤ 0.05 olduğu durumlarda istatistiksel olarak anlamlı olduğunda yıldızlı simgelerle kullanılarak ifade edildi (****: $P \leq 0.0001$; ***: $P \leq 0.001$; **: $P \leq 0.01$; *: $P \leq 0.05$).



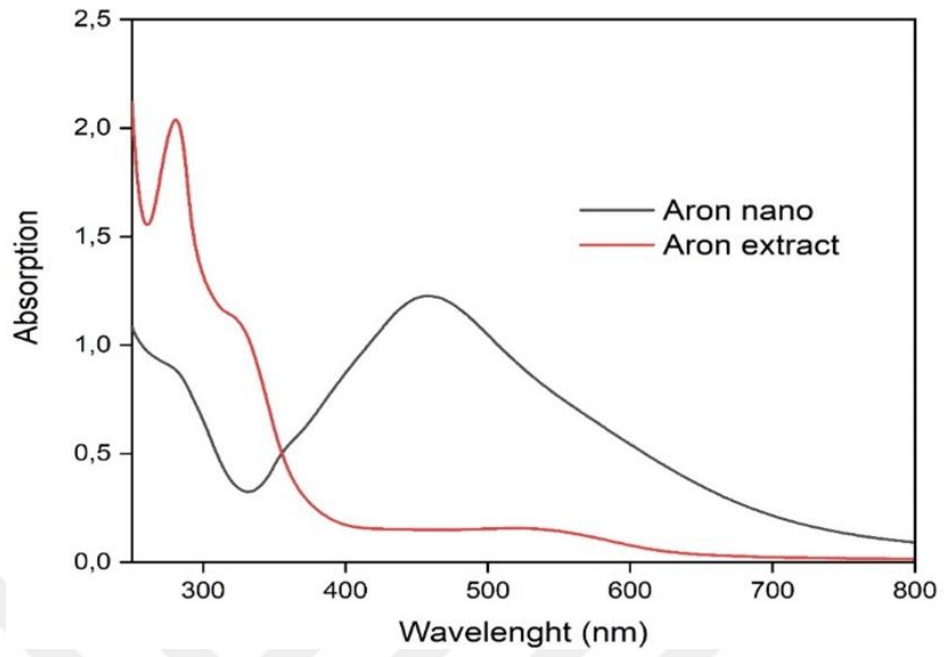
4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Sentezlenen AgNP'lerin UV-Vis Analiz Bulguları

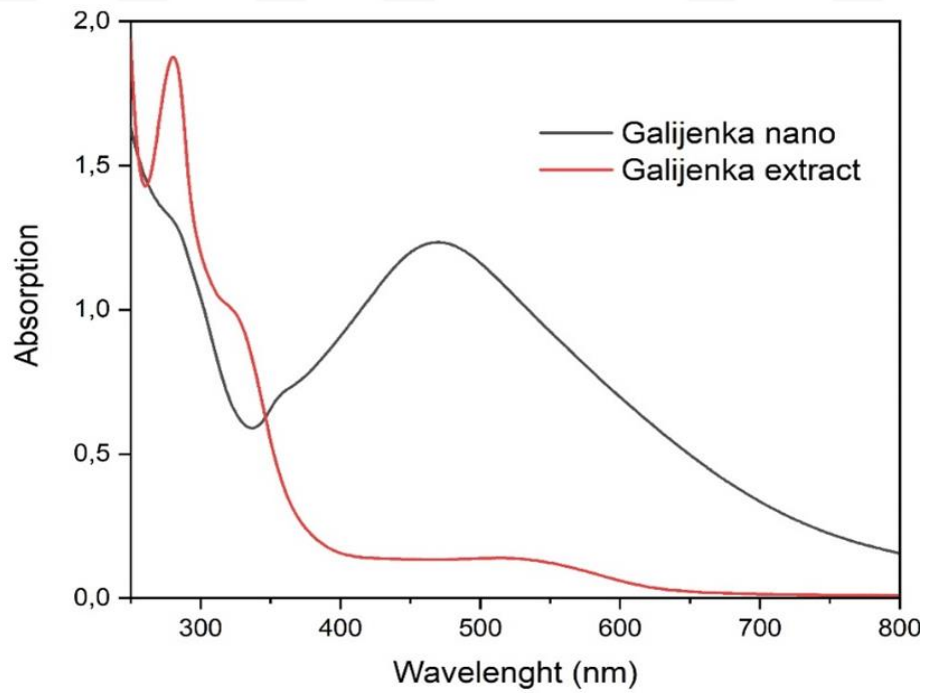
Aronya (*Aronia Melonacarpa*) bitkisinden elde edilen su ekstraktları kullanılarak AgNP'ler Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarları'nda sentezlendi. UV-Vis spektroskopi analizi AgNP'lerin biyolojik olarak indirgenmesi ve optik özellikleri bakımından incelenmesi için yapılması gereken ilk karakterizasyon basamağıdır (Kanniah et al., 2020). Görünür bölgedeki ışınlar rezonans etkisiyle metallerle olan etkileşimi sırasında serbest halde bulunan elektronların uyarılması yüzey plazmon rezonans (SPR) diye adlandırılır (Bar et al., 2009) (Swilam & Nematallah, 2020). AgNP'ler UV-Vis'de SPR bandını oluşturmaktadır. Sentezlenen nanopartikülün boyutu ve yoğunluğu dalga boyu ve genişliği ile orantılıdır.

Ag⁺ iyonlarının bitkide bulunan bileşenler ile Ag⁰'a indirgenmesi plazma yüzeyindeki titreşimler sonucu (SPR) sentez çözeltisinin pembe renginin kahverengiye dönüşmesi AgNP oluşumunun ilk işaretidir. Daha önceki çalışmaya göre AgNP'lerin absorbans aralıkları genellikle 400-500 nm aralığında meydana gelmektedir. Analiz edilen numunelerin UV-Vis spektrumları literatürlerle uyumludur (Saygi & Usta, 2021) (Saygi, Bayram & Bayram, 2022).

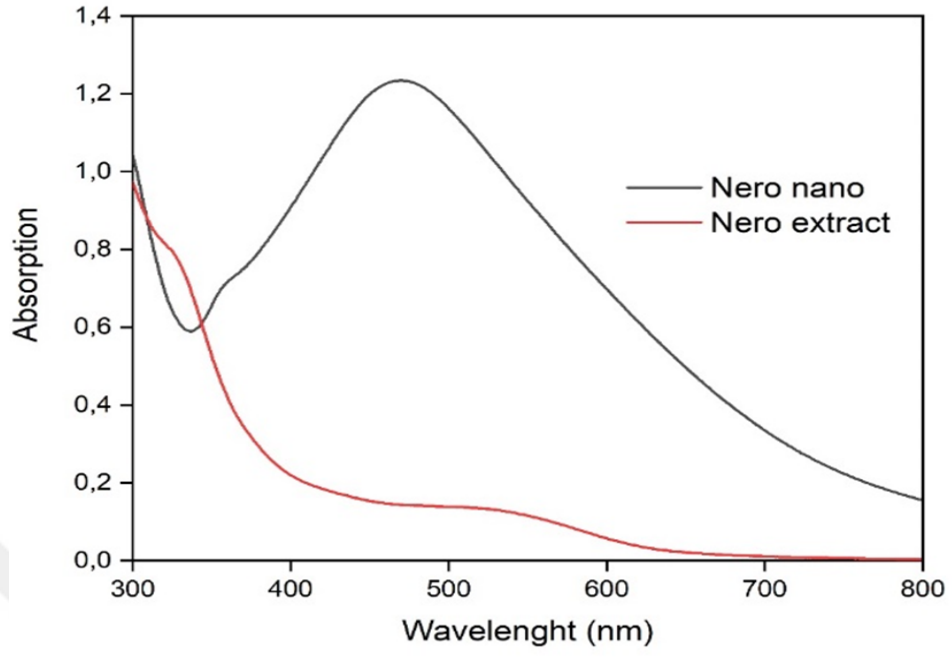
Aronya meyvelerinin 4 alt çeşidinden sentezlenen AgNP'lerin UV-Vis spektrumları alındı. Şekil 4.1-4.4' te görüldüğü üzere absorbans değerleri 400-500 nm aralığındadır. Aynı işlem bitkinin su ekstraktı için tekrarladığında herhangi bir bant gözlenmemiştir.



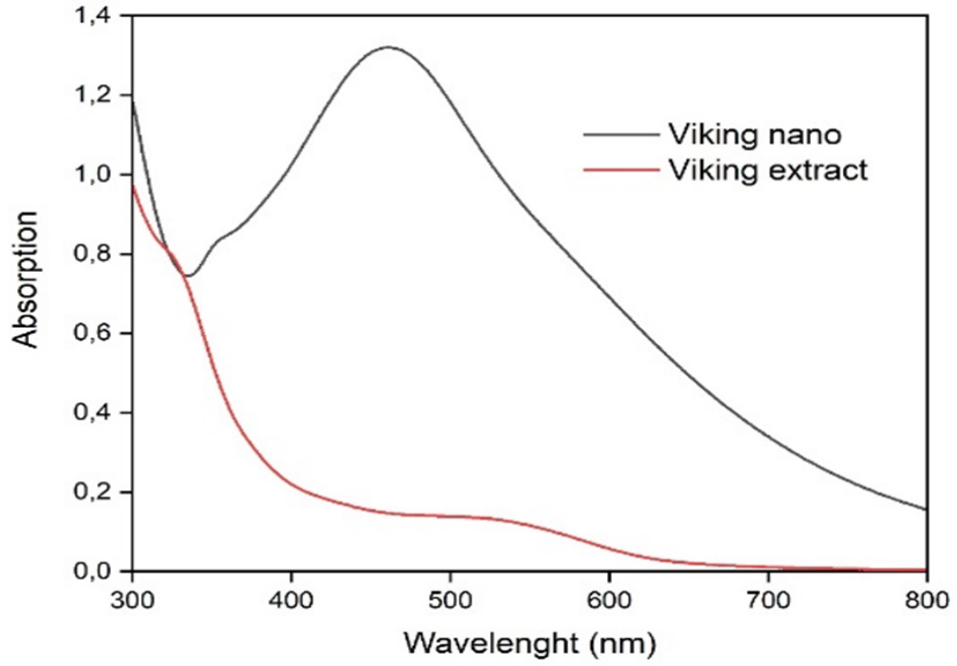
Şekil 4. 1. A-AgNP lerin UV-Vis spektrumu



Şekil 4. 2. G-AgNP lerin UV-Vis spektrumu



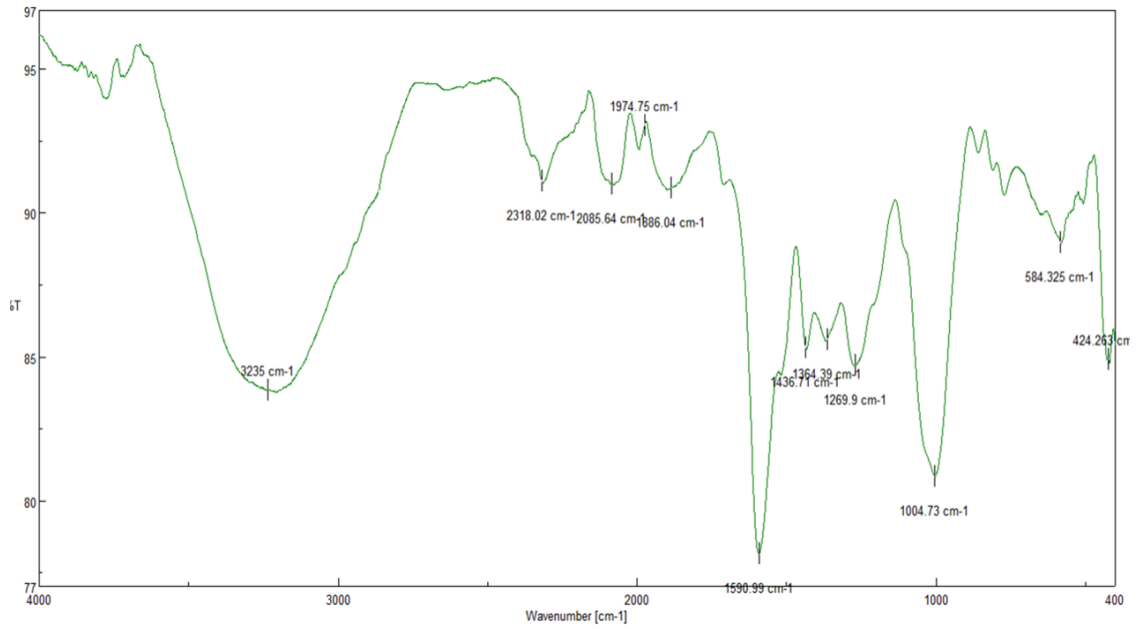
Şekil 4. 3. N-AgNP lerin UV-Vis spektrumu



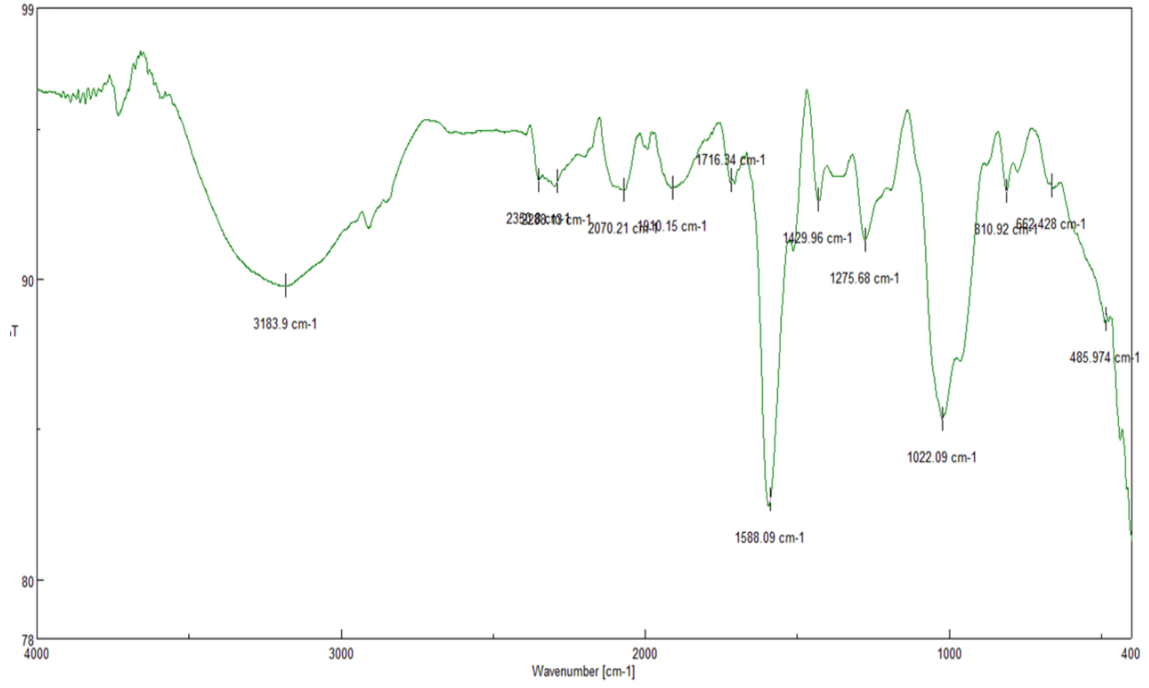
Şekil 4. 4. V- AgNP lerin UV-Vis spektrumu

4.2. FTIR Analiz Bulguları

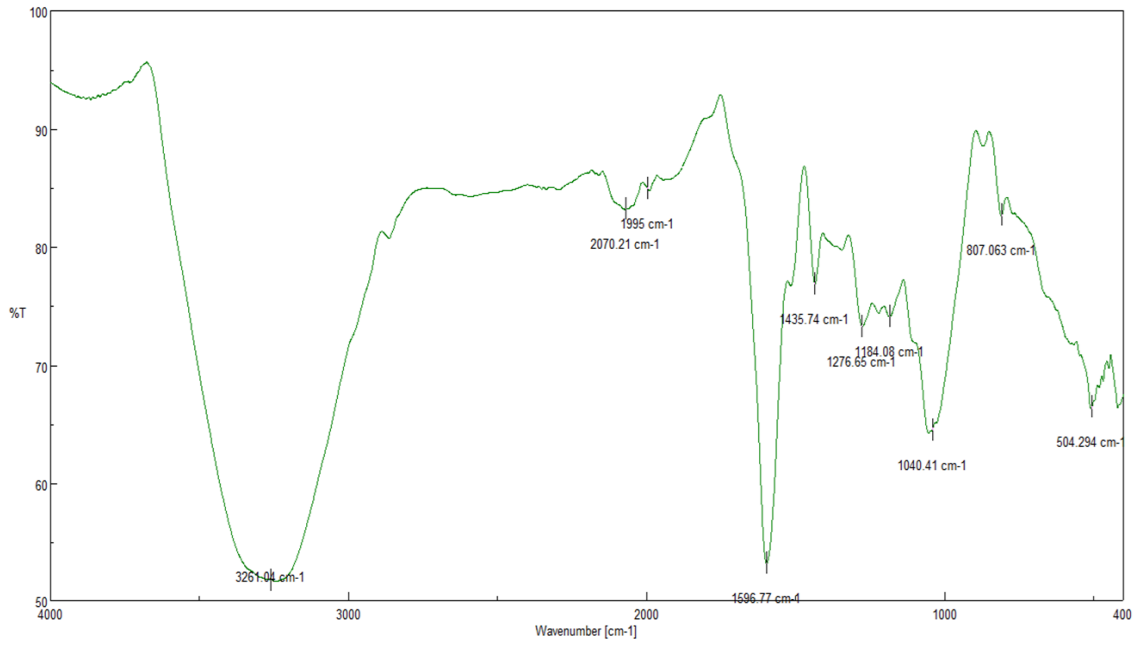
Aronya meyvesinin dört alt çeşidinden sentezlenen AgNP'lerin içeriğindeki fonksiyonel gruplar FT-IR analizleri ile belirlenmiştir. Ag(I) katyonlarının nötral Ag (0) türüne indirgenmesinin hangi fonksiyonel gruplara bağlanarak gerçekleştiğini belirlemek için yapılan FT-IR analiz sonuçları Şekil 4.5-4.8' de sırasıyla verilmiştir.



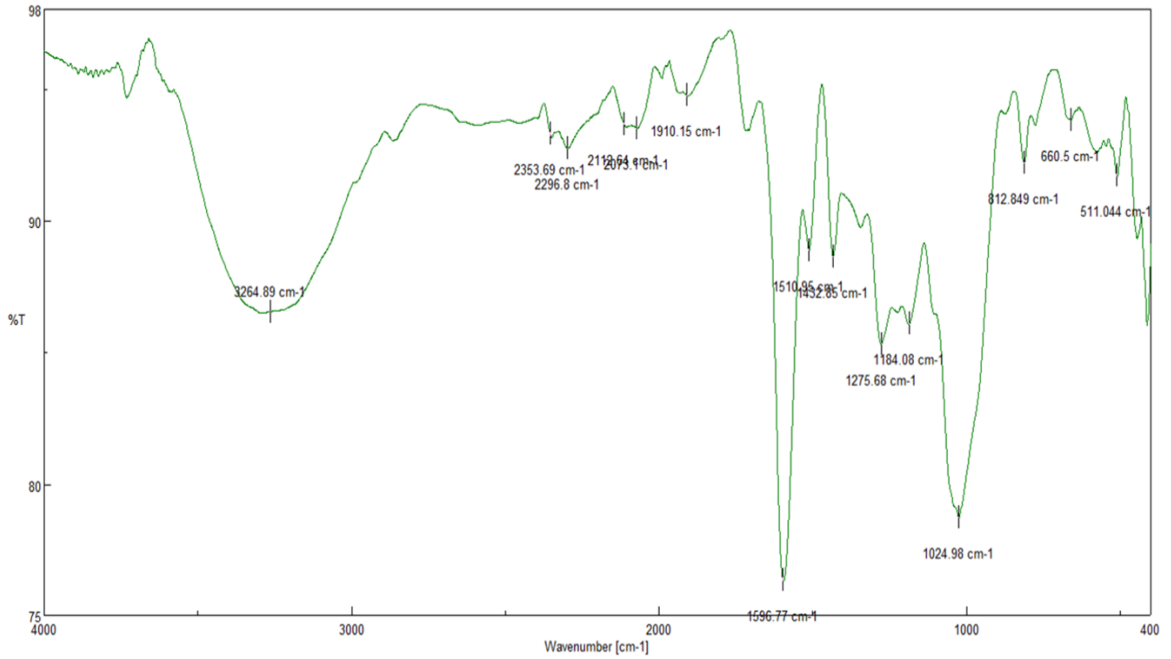
Şekil 4. 5. A-AgNP'lerin FTIR analizi



Şekil 4. 6. G-AgNP'lerin FTIR analizi



Şekil 4. 7. N-AgNP'lerin FTIR analizi



Şekil 4. 8. V-AgNP'lerin FTIR analizi

Sentezlenen AgNP'lerde yer alan fonksiyonel gruplar FT-IR sonuçlarına göre her bir çeşit için A, G, N ve V için 3235-3183.9-3261.04-3264,89 cm^{-1} noktalarında yer alan titreşim -NH ve -OH bağlarına aittir. 2318.02-2352-2070-2353 cm^{-1} noktalarında yer alan zayıf titreşim alifatik -CH grubundan kaynaklanmaktadır. 1590.99-1588.09-1596.77-1596,77 cm^{-1} noktalarında görülen titreşim yapıda bulunan proteinlerdeki -C-C ve -C-N gruplarını göstermektedir (Oves et al., 2022) (Kumar Panda, Kumar Dhal, Kumar, Manjari Mishra & Kumar Behera, 2021). Proteinlerdeki bu amid grupları metal bağlama yeteğine sahiptir. Yaklaşık 500 cm^{-1} civarında yer alan titreşim sentezlenen AgNP'lerdeki Ag-O bağını işaret etmektedir (Hashemitabar, Aflakian & Sabzevar, 2023).

4.3. Sentezlenen AgNP'lerin XRD Bulguları

Ekstrakte edilerek elde edilen gümüş nanopartiküllerin kristal yapısını belirlemek için XRD yöntemi ile analiz edilmiştir (Göl et al., 2020) (Korkmaz et al., 2020b). Genel olarak

XRD piklerinin genişliği kristal boyutuyla ilgili olmaktadır. Daha sonra yaklaşık partikül boyutu Debye-Scherrer denklemiyle hesaplanmıştır. Aronya bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin X-ışınları kırınım deseni sırasıyla Şekil 4.9-4.12’de verilmiştir.

Kristal yapılu maddeler XRD analizinde daha keskin pikler gösterirken amorf yapılar daha geniş pik gösterirler. Buradan AgNP ‘lerin kristal yapılu olduğu söylenebilir. AgNP ‘lerin partikül boyutu Debye-Scherrer denklemiyle hesaplanmıştır.

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta}$$

Denklemde,

D; Partikül boyutu (nm),

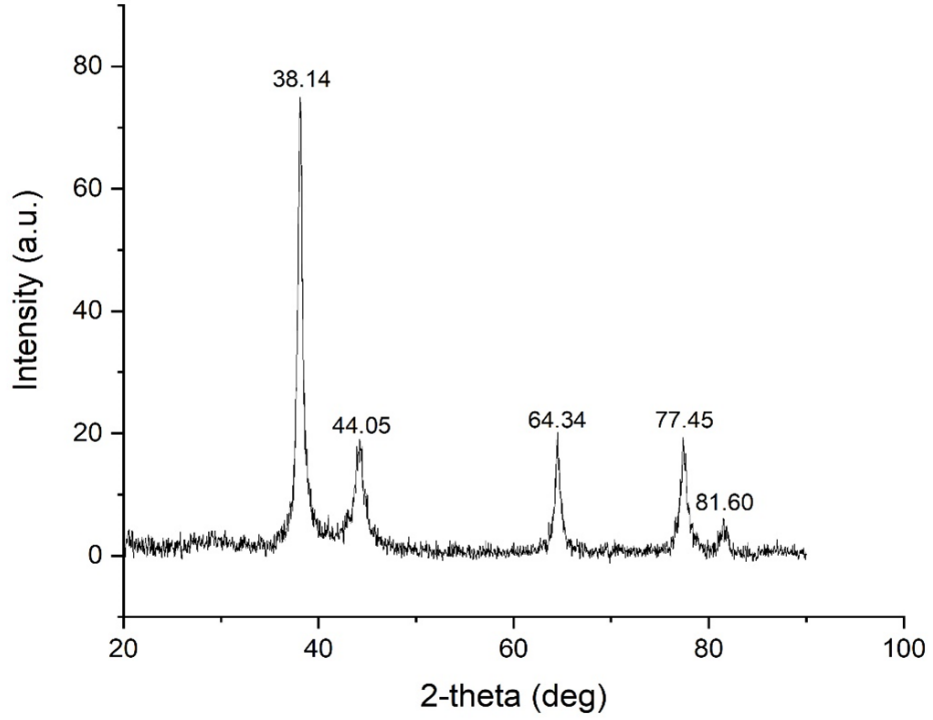
K; Scherrer sabiti (Küresel kristalitler için K=0.94),

λ ; X-Ray dalgaboyu (0.139225 Å),

β ; Yarı maximumda tam genişlik (FWHM),

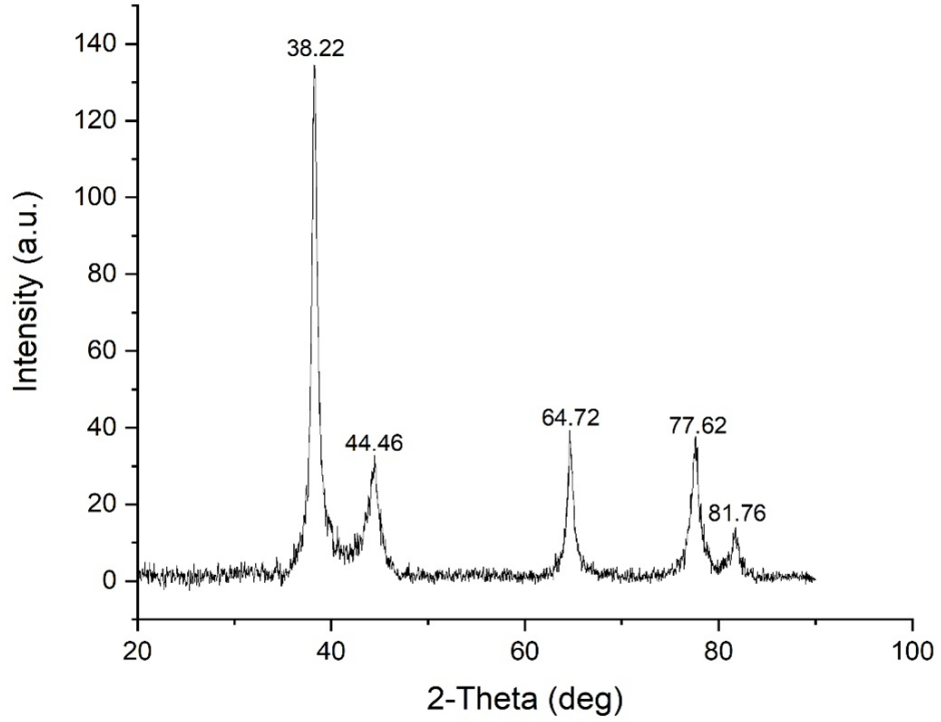
θ ; Bragg saçılma açısı ile ifade edilmektedir.

2 θ açısı değerleri Cu K α ($\lambda = 0.139225$ Å) radyasyonu ile 20° ve 100° aralığında ölçülmüştür.



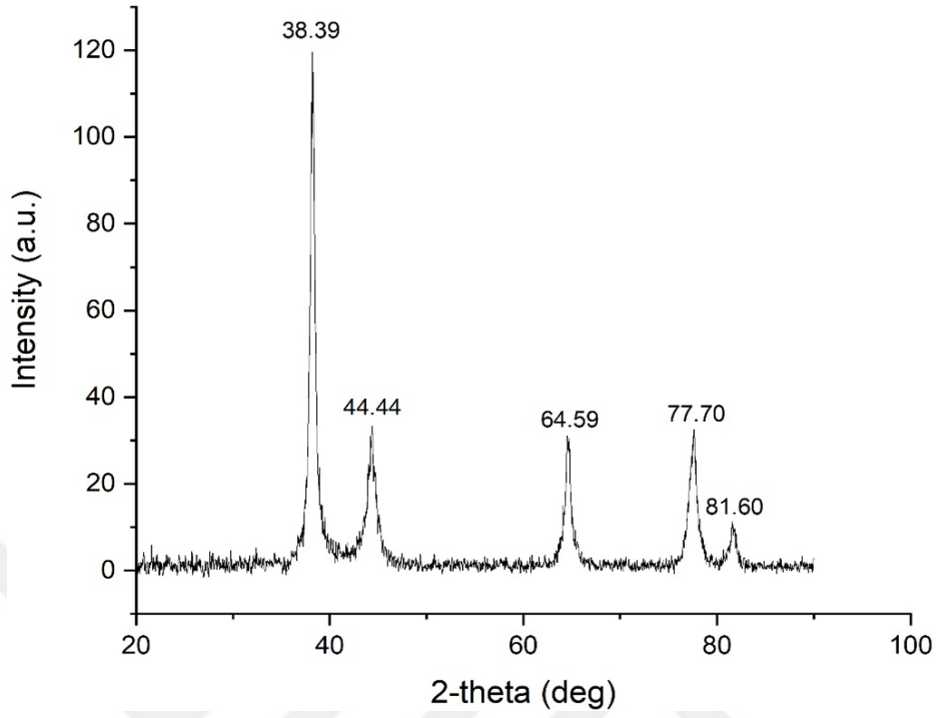
Şekil 4. 9. A- AgNP’lerin XRD analizi

Şekil 4.9 ‘a göre A-AgNP’lerin XRD spektrumları yüzey merkezli küpün karakteristik pikleri, elde edilen grafikte 38.14°, 44.05°, 64.34°, 77.45° ve 81.60° ‘de kırınım pikleri şeklinde gözlenmiştir. Bu pikler Bragg saçılmasındaki (111), (200), (220), (311), (222) piklerine karşılık gelmektedir(Gade, Gaikwad, Duran & Rai, 2014) . Debye-Scherrer denkleminde göre yapılan hesaplamalar sonucunda A-AgNP’lerin ortalama partikül boyutu 11.049 nm olarak hesaplanmıştır .



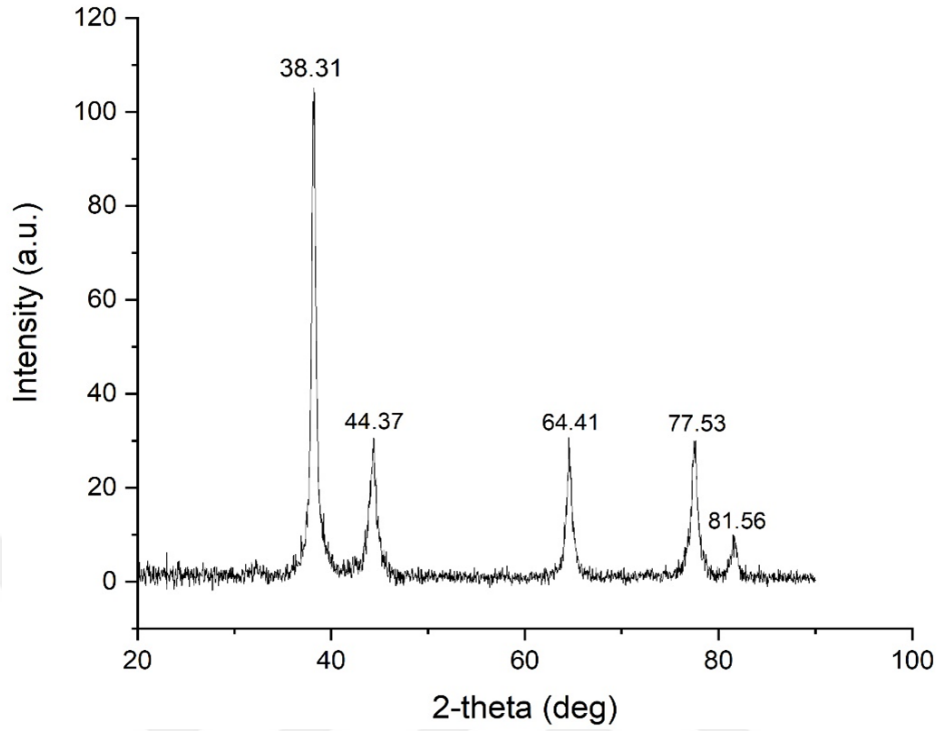
Şekil 4. 10. G- AgNP’lerin XRD analizi

Şekil 4.10 ‘a göre G-AgNP’lerin XRD spektrumları yüzey merkezli küpün karakteristik pikleri, elde edilen grafikte 38.22°, 44.46°, 64.72°, 77.62° ve 81.76° ‘de kırınım pikleri şeklinde gözlenmiştir. Bu pikler Bragg saçılmasındaki (111), (200), (220), (311), (222) piklerine karşılık gelmektedir. Buna denkleme göre yapılan hesaplamalar sonucunda A-AgNP’lerin ortalama partikül boyutu 8.96 nm olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4. 11. N-AgNP'lerin XRD analizi

Şekil 4.11 'e göre N-AgNP'lerin XRD spektrumları yüzey merkezli küpün karakteristik pikleri, elde edilen grafikte 38.39°, 44.44°, 64.59°, 77.70° ve 81.60° 'de kırınım pikleri şeklinde gözlenmiştir. Bu pikler Bragg saçılmasındaki (111), (200), (220), (311), (222) piklerine karşılık gelmektedir. Buna denkleme göre yapılan hesaplamalar sonucunda A-AgNP'lerin ortalama partikül boyutu 11.44 nm olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4. 12. V-AgNP'lerin XRD analizi

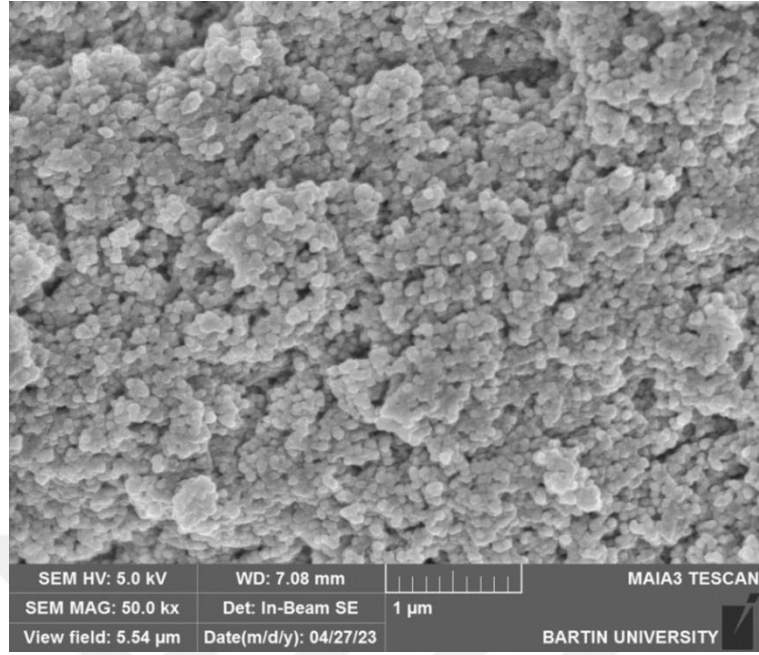
Şekil 4.12 'e göre V-AgNP'lerin XRD spektrumları yüzey merkezli küpün karakteristik pikleri, elde edilen grafikte 38.31°, 44.37°, 64.41°, 77.53° ve 81.56° 'de kırınım pikleri şeklinde gözlenmiştir. Bu pikler Bragg saçılmasındaki (111), (200), (220), (311), (222) piklerine karşılık gelmektedir. Buna denklem göre yapılan hesaplamalar sonucunda A-AgNP'lerin ortalama partikül boyutu 13.052 nm olarak hesaplanmıştır.

Tüm numunelerde elde edilen XRD sonuçlarına göre AgNP'lerin ortalama parçacık büyüklükleri yaklaşık 38° (111)'deki en şiddetli piki baz alınarak hesaplandı. Parçacık büyüklüğü 15 nm den daha küçük olarak bulunmuştur. Bu pik numunelerin kristal yapılarının iyi olduğunu gösterir. XRD analizine ait şekiller incelendiğinde tüm tepe noktalarının keskin olması sentezlenen ANP'lerin yüksek saflıkta olduğunu ispat etmiştir. Çalışma sonuçları literatürle uyumludur (Aryan, Ruby & Mehata, 2021) (Anis et al., 2023). Bindhu ve arkadaşları *Moringa oleifera* çiçeklerinden sentezledikleri AgNP'leri karakterize ederek antibakteriyel özellik ve Cu^{+4} iyonlarına karşı sensör özelliklerini test etmişlerdir. Bragg saçılmasındaki (111), (200), (220),(311) pikler sunulan çalışmamızla benzerlik göstermektedir (Bindhu, Umadevi, Esmail, Al-Dhabi & Arasu, 2020).

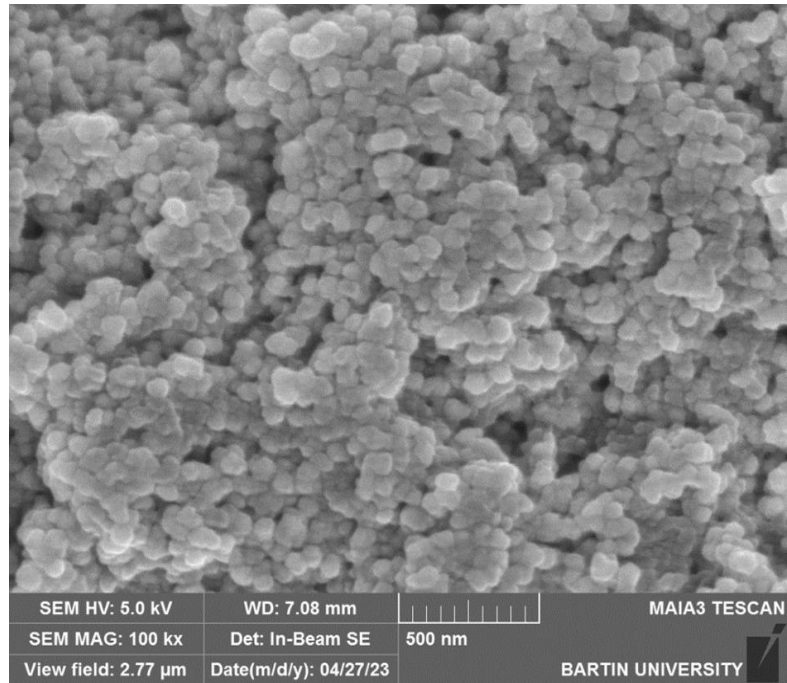
4.4. Sentezlenen AgNP'lerin SEM Analiz Bulguları

Tez kapsamında sentezlenen AgNP 'lerin yüzey morfolojisini belirlemek amacıyla taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılmıştır. AgNP'lerin SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.13-20'de verilmiştir.

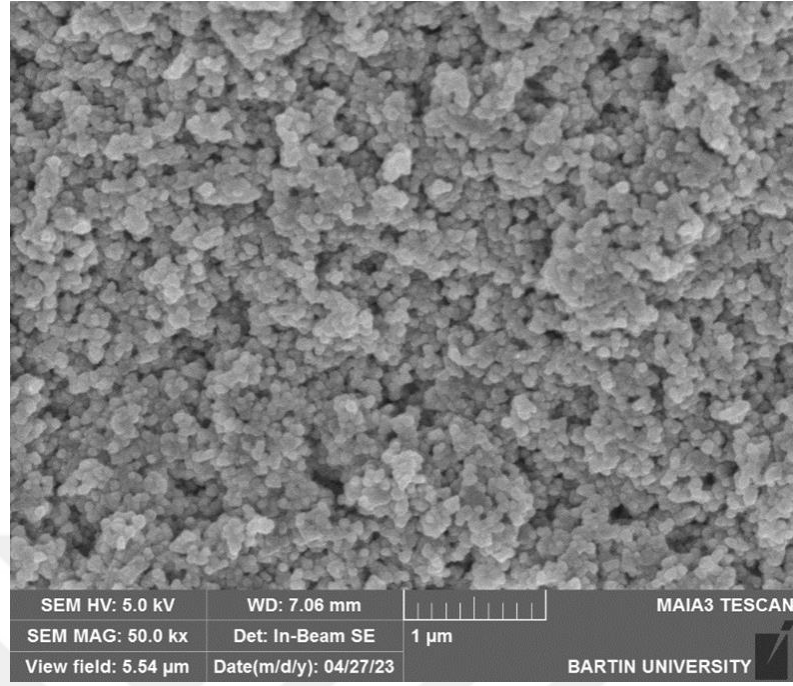




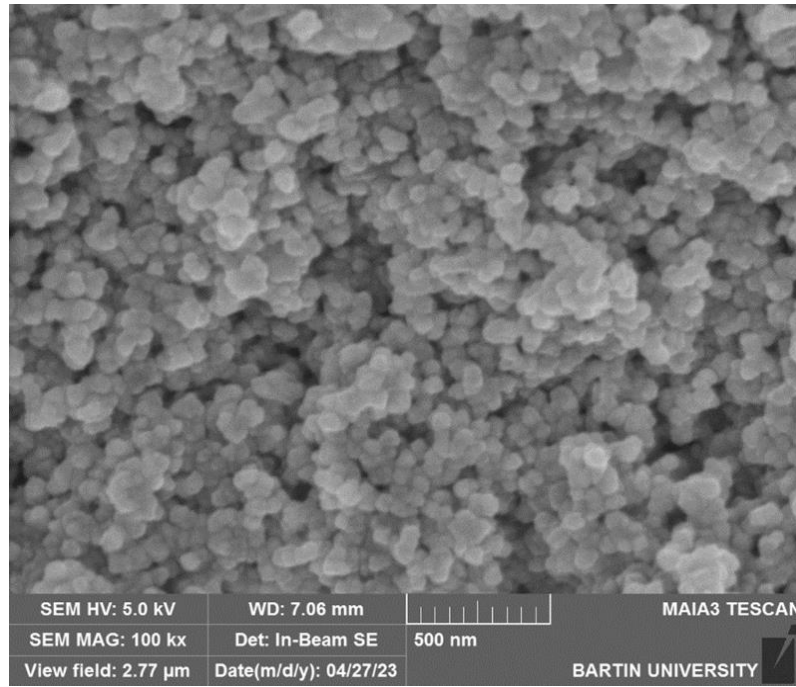
Şekil 4. 13. A-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (50kx)



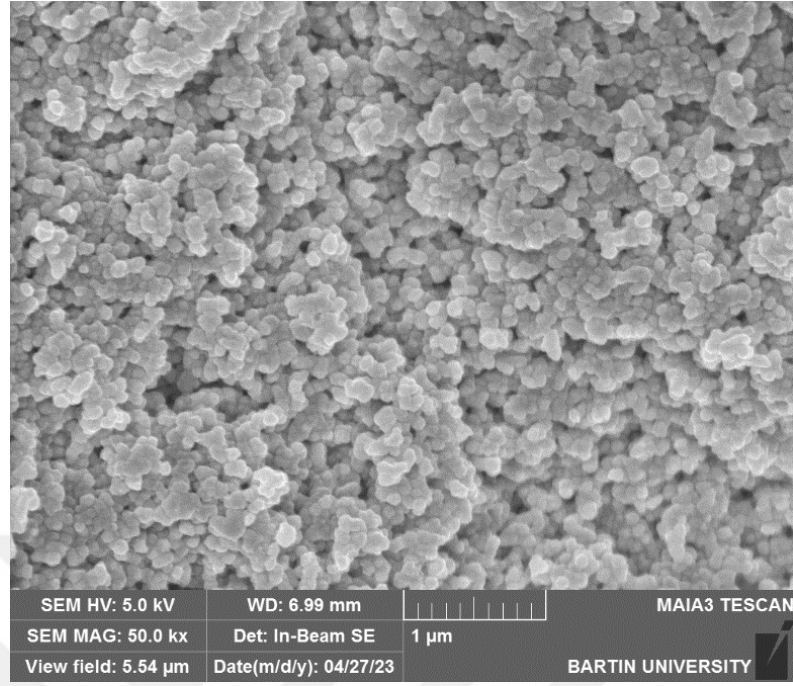
Şekil 4. 14. A-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (100kx)



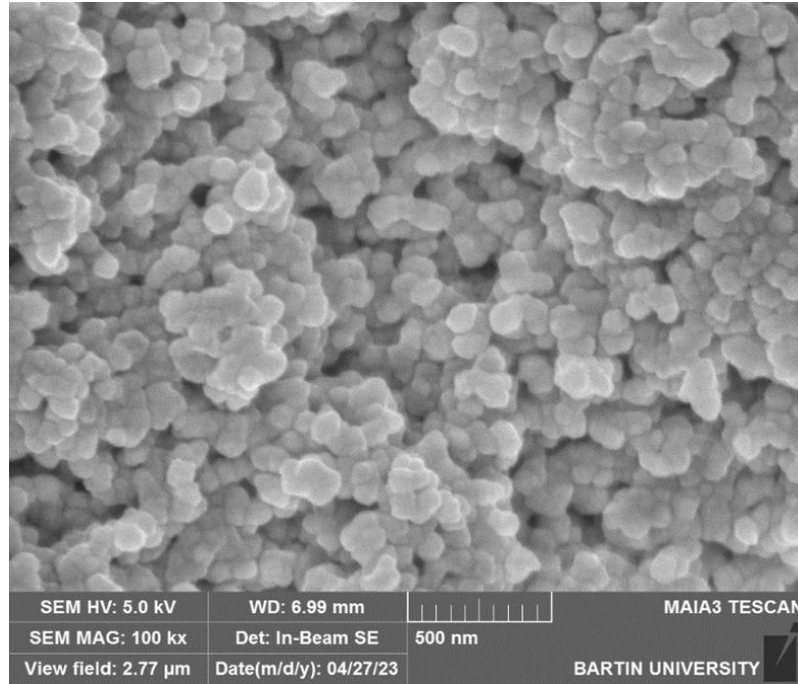
Şekil 4. 15. G-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (50kx)



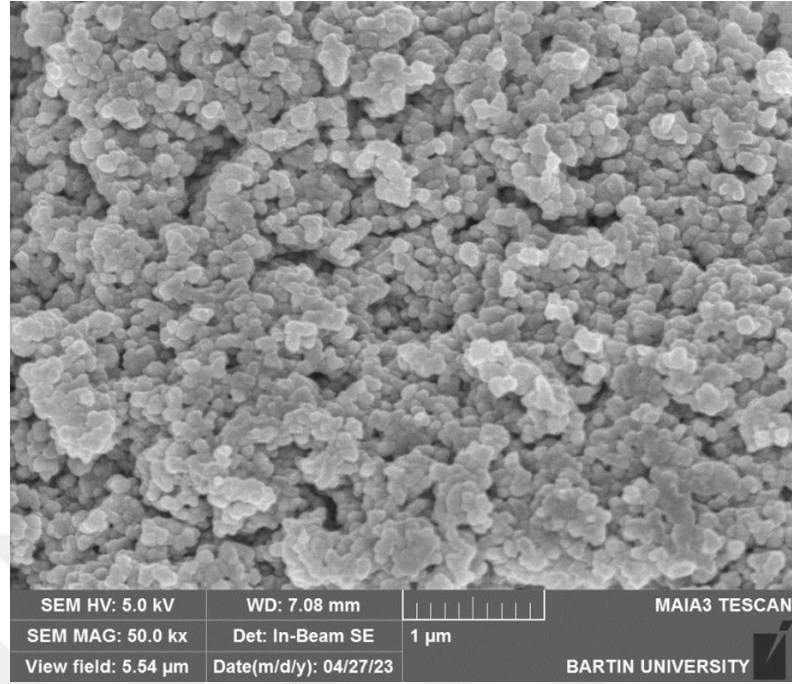
Şekil 4. 16. G-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (100kx)



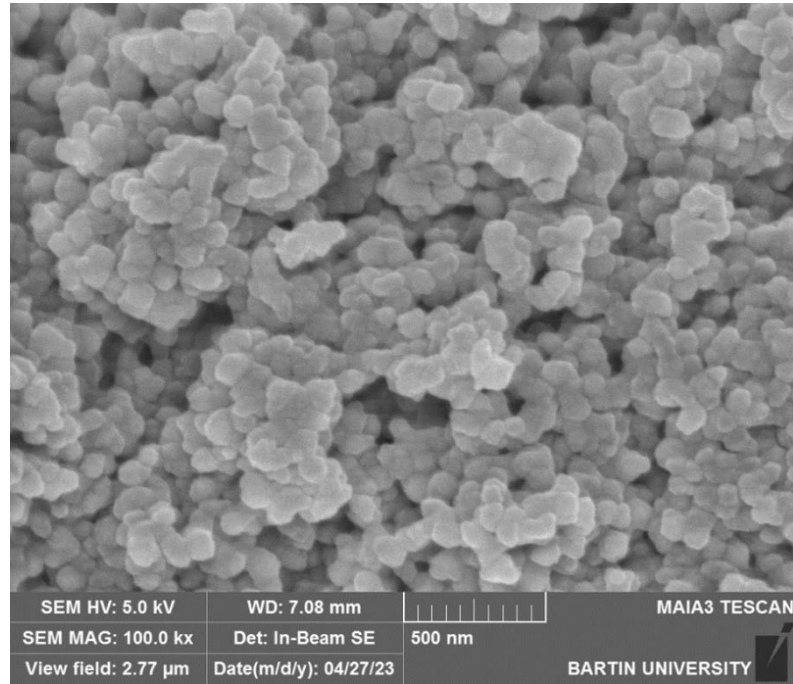
Şekil 4. 17. N-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (50kx)



Şekil 4. 18. N-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (100kx)



Şekil 4. 19. V-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (50kx)

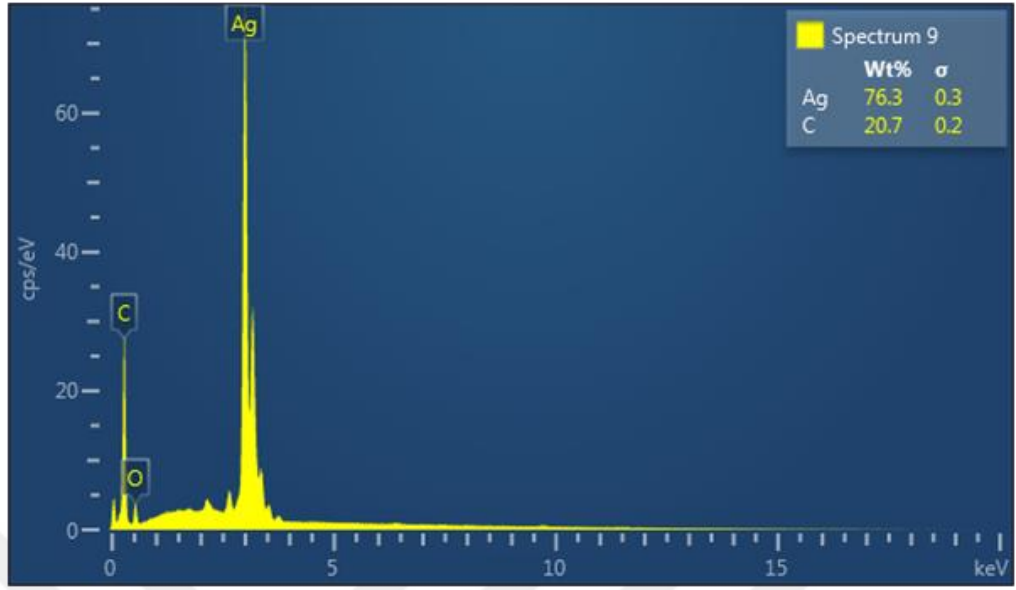


Şekil 4. 20. V-AgNP'lerin SEM görüntüleri farklı ölçeklerde (100kx)

AgNP'lerin yüzey morfolojileri farklı büyütme oranlarında yapılarak görselleri Şekil 4.13-4.20'de verilmiştir. Bu görüntüler incelediğinde homojen tanecik dağılımlarının her yerde (homojen) aynı olduğu ve genelde küre-kısmen kübik şeklinde olduğu görülmüştür (Ravichandran et al., 2019) (Singh & Mijakovic, 2022b). AgNP 'ler üzerinde çatlak ve gözenek yer almamıştır. Biyolojik aktivite açısından olumsuz etki gösteren topaklanmaya (aglomerasyon) rastlanmamıştır. Çalışma bitkisine ait dört alt çeşit içinde görüntüler benzer şekildedir. Çalışma bu düzgün dağılımlı küresel ve küçük boyutlu şekiller bakımından literatürdeki diğer AgNP'lerle yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında üstünlükte göstermektedir. Hashemitabar ve arkadaşları *Teucrium polium* bitki ekstraktlarından sentezledikleri AgNP'leri karakterize ederek antibakteriyel ve antikanser özellikler bakımından incelemişlerdir. AgNP'ler küresel, 8-28 nm boyutlarında elde edilmiştir. Ancak çalışmalarında yer alan SEM görüntüleri net ve çözünürlük bakımından bizim çalışmamızda yer alan SEM görüntüleriyle karşılaştırıldığında düzgün dağılımlı olmadığı görülmektedir (Hashemitabar et al., 2023)

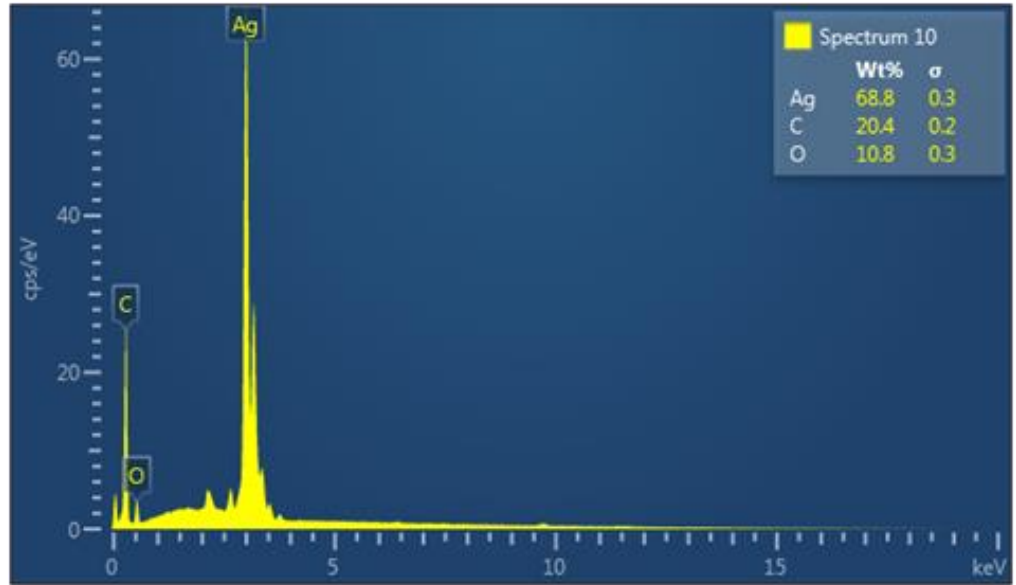
4.5. Sentezlenen AgNP'lerin EDX Analiz Bulguları

Sentezlenen AgNP'lerin element bileşimleri Enerji Dağılım X-Ray Spektroskopisi (EDX) analizleri yapılarak tespit edilmiştir (Padalia, Moteriya & Chanda, 2015) (Dipankar & Murugan, 2012). Birçok bölge taranarak EDX analizinde AgNP 'lerin en iyi sonuç vereceği bölge tespit edilmiştir. EDX analizlerinde gümüş bölgede (Gomathi et al., 2019) güçlü sinyallerin bulunması AgNP'lerin oluşumunun diğer bir göstergesidir. EDX analiz bulgularında gözlemlenen diğer zayıf element pikleri ise bitki içeriğindeki enzim ve proteinlerden kaynaklanmaktadır. AgNP'lerin EDX analiz sonuçları sırasıyla Şekil 4.21-4.24 'de verilmiştir.



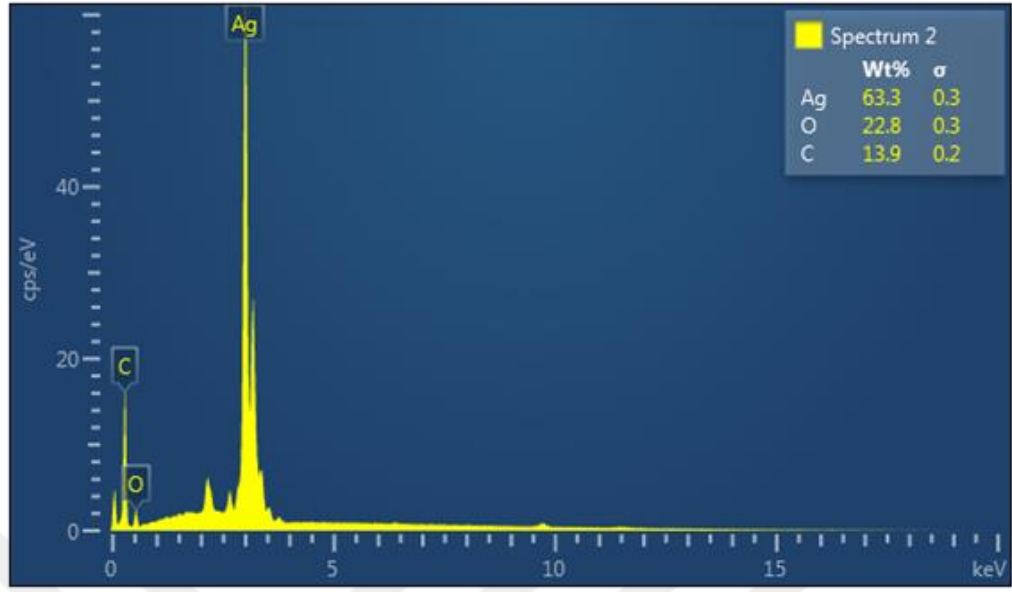
Şekil 4. 21. A-AgNP'lerin EDX analizi

Şekil 4.21 'e göre A-AgNP'lerin EDX analizine göre gümüş bölgede (~3 KeV) % 76,3 oranında güçlü sinyal verdiği belirlenmiştir.



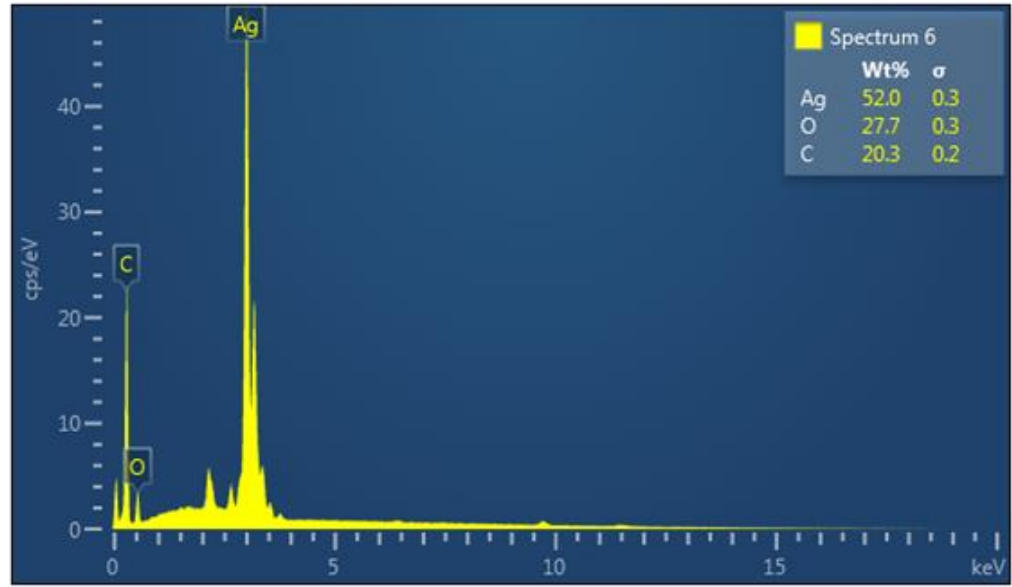
Şekil 4. 22. G-AgNP'lerin EDX analizi

Şekil 4.23 'e göre G-AgNP'lerin EDX analizine göre gümüş bölgede (~3 KeV) %68,8 oranında güçlü sinyal verdiği belirlenmiştir.



Şekil 4. 23. N-AgNP'lerin EDX analizi

Şekil 4.23'e göre N-AgNP'lerin EDX analizine göre gümüş bölgede (~3 KeV) %63,3 oranında güçlü sinyal verdiği belirlenmiştir.



Şekil 4. 24. V-AgNP'lerin EDX analizi

Şekil 4.24 'e göre V-AgNP'lerin EDX analizine göre gümüş bölgede (~3 KeV) %52,0 oranında güçlü sinyal verdiği belirlenmiştir.

AgNP'lerin yeşil sentez yoluyla bitkilerden elde edilmesine ait EDX analizi sonuçları daha önceki çalışmalarla paraleldir (Saygi & Cacan, 2021a). Ayrıca EDX görüntüleri ve Ag yüzdelерinin tezimizde yer alması AgNP'lerin başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermektedir. Literatürde yer alan bir çok çalışmada yalnızca EDX görüntüleri yüzdeleri verilmeden yer almaktadır (Gomathi et al., 2019).

4.6. Ekstraktların LC-MS/MS Analiz Bulguları

Aronya (Aronia Melanocarpa) bitkisinin dört farklı çeşidi olan A, G, N ve V meyvelerine ait metanol/diklormetan (1:1) ekstraktlarındaki fenolik bileşenler LC-MS/MS (Yüksek performanslı Sıvı Kromatografisi) ile tayin edilmiştir (Ozdal et al., 2019) (Aly & Górecki, 2023). Cihazın çalışma şartları Bölüm 3.1.1 de verilmiştir.

Standart HPLC tekniğinde madde sadece alıkonma zamanı ile teşhis edilir iken LC-MS/MS teknolojisi ile alıkonma zamanına ek olarak molekül ve ürün iyonlar ile tartışılmaktadır. Bu tez çalışması *Aronya (Aronia Melanocarpa)* meyvelerindeki fenolik bileşenlerin tayininde ileri teknolojiye sahip LC-MS/MS cihazının kullanılması bakımından da yeniliğe sahiptir. Üzümsü meyvelerden olan bitki fenolik içerik bakımından kapsamlı bir şekilde daha önce tayin edilmemiş olup bitkiye ait dört alt çeşit de birbiri ile kıyaslanmamıştır. Bu çalışmada 45 farklı standart kullanılmış olup 13 tane fenolik bileşik tayin edilmiştir.

Tablo 4. 1. *Aronya (Aronia Melanocarpa)* bitkisinin dört alt çeşidine ait fenolik bileşikler

Fenolik Bileşik	RT	Prec Ion	Prod Ion	Frag	CE	Fenolik miktar (mg/g)			
						N	A	V	G
Protocatechuic acid	5.483	153	109	80	14	200.74	192.06	138.34	139.26
Chlorogenic acid	7.412	353	191	110	12	757.25	803.04	660.15	757.45
Caffeic acid	7.875	178.9	135.1	60	14	7.39	7.39	5.53	5.98
Caffein	8.506	195	137.9	111	18	1.12	0.66	1.15	0.39
O-coumaric acid	9.479	163	119	85	10	3.06	3.06	ND	2.17
Polydatine	9.865	390.9	228.9	85	8	0.1217	0.21	ND	0.24
Scutellarin	11.211	462.8	286.8	125	16	0.3487	0.38	0.35	0.42
Hesperidin	11.875	611	302.9	100	14	377.52	309.67	215.73	336.08
Isoquercitrin	11.742	464.9	302.8	95	8	453.79	406.98	260.31	401.55
Quarcetin -3-Ksilozid	12.481	432.7	299.5	165	24	77.76	28.95	29.43	56.34
Kaempferol-3-glucoside	13.257	448.8	286.9	105	10	5.35	5.35	3.95	5.58
Trans-cinnamic acid	14.306	149	131.1	75	6	7.32	18.29	9.26	8.7
Quercetin	14.914	300.8	151	130	22	41.01	38.53	24.40	23.88

Aronya (Aronia Melanocarpa) bitkisi ve bölümleri ile ilgili fenolik madde miktarı ile taylorlarda daha çok toplam fenolik madde miktarı hesaplanmıştı (Oszmiański & Wojdylo, 2005a). Frenk ve bektaşı üzümüleri ile yapılan benzer bir çalışmada su ve metanol ekstraktlarını HPLC ile biyoaktif bileşenler açısından incelemişlerdir. Fakat bu çalışmada da bileşenler toplam fenolik, toplam flavonoid, toplam antisiyonin açısından değerlendirilirken bu çalışmada yer alan bazı fenoliklerle (klorjenik asit, protocatchuic asit , kafeik asit gibi) benzerlik taşımaktadır (Orsavová et al., 2019).

Klorjenik asit miktarı 757.25, 803.04, 660.15, 757,45 mg/g tüm meyvelerde en çok bulunan fenolik bileşiktir. Klorjenik asit 353 m/z M-H iyonu vermiştir. Moleküler iyonları, bozulmamış Qunik asit ve kafeoil molkekülleriine bölünmesi nedeniyle 191 m/z ve 179 m/z 2 pik verecek şekilde parçalanmıştır. Qunik asit 1 mol H₂O kaybederek (18 Da) kafeoile dönüşmüştür (Zhang et al., 2023). Temel ve klinik çalışmalar klorjenik asidin sağlığa faydalarını ortaya koymuştur (Ismail et al., 2019) (Oszmiański & Wojdylo, 2005b) (Orsavová et al., 2019).

Klorjenik asit (5-kafeoilquinik asit) hidroksisinnamik asit ailesinden olup kafeik asit ie quinik asitten oluşmaktadır. Klorjenik asit yapısında bulunan polihidroksil grupları tarafından serbest radikalleri inhibe ederek yüksek antoksidan özelliği gösterir (Ren et al., 2022). Enzim ve proteinlerin ekspresyonu üzerinde oksidatif sistemin sebep olduğu karaciğer ve böbrek hasarını engeller. Gram pozitif ve gram negatif bakteri hücre zarlarının yapısını bozarak hücrelerin aktivasyonunu bozarak normal hücre döngüsünü engelleyerek antibakteriyel özellik gösterir. Kanseri hücrelerinin bölünme, çoğalma, metastazı ve yayılmasını engeleyerek antikanser özellik gösterir. Metabolik hastalıklardan tansiyon, diyabet ve obezitede enzimlerin ve genlerin ekspresyonunu düzenler. İnsan sağlığı üzerine olan birçok faydası yanında gıda sanayinde koruyucu bileşen olarakta kullanılmaktadır.

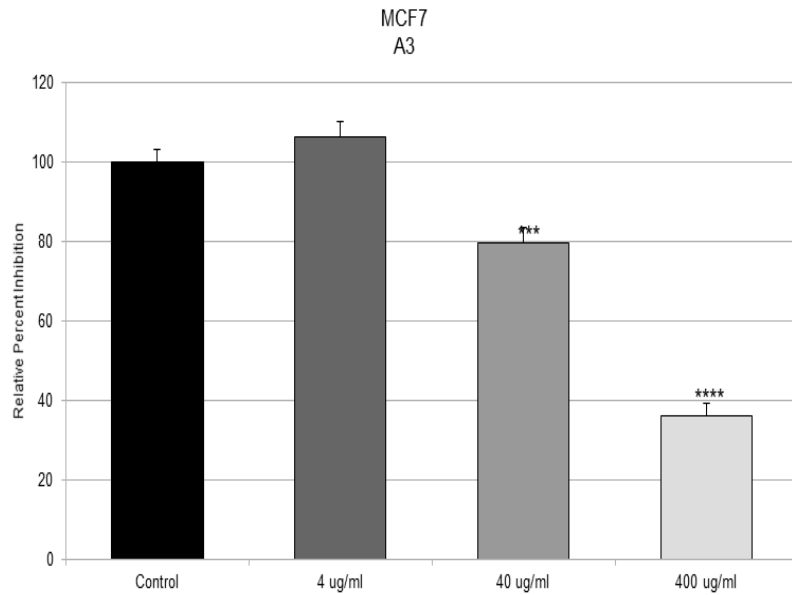
Fenolik bileşik analizi sonuçlarına göre tüm meyvelerde ikinci olarak en fazla Isoquercitrin (453.79, 406.98, 260.31, 401.55 mg/g) bulunmaktadır.

Isoquercitrin (quercetin3-O-β-d-glucopyranoside) flavonoid sınıfına ait bir fenolik bileşiktir (Zdunić et al., 2020) . Mürver, kapari, üzümü meyveler, soğan ve zeytinde ana bileşen olarak bulunmaktadır. *In vivo* ve *in vitro* alışmalara göre antioksidan, antikanser, anti-enflamatuar, nöroprotektif, antidiyabetik özelliklere sahip olduğu ispatlanmıştır.

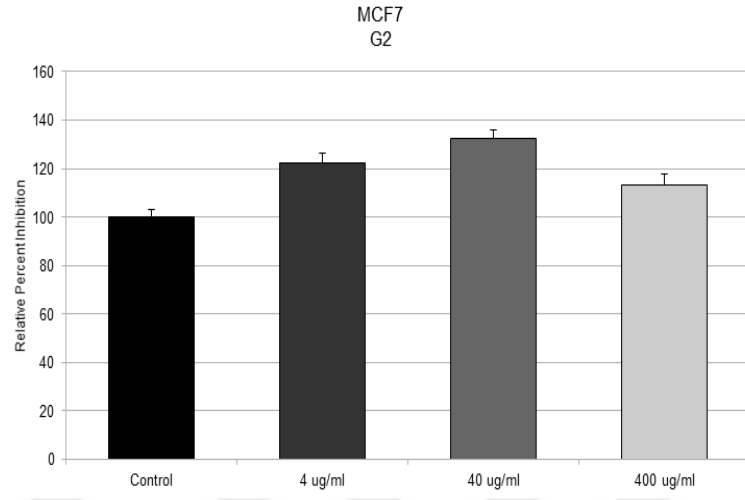
Platonova ve arkadaşlarının derleme çalışmasında *Aronia melanocarpa* bitkisi yaprak ve meyveleri fenolik bileşen miktarı açısından değerlendirilmiştir. Buna göre tez çalışmamızdaki A, G, N ve V alt türlerine ait meyvelerdeki klorjenik asit miktarı derlemede yer alan bir çok türden oldukça fazla bulunmuştur. Bunun sebebi de yetiştirildiği ortam ve iklim şartlarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Platonova et al., 2021).

4.7. Fenolik Ekstraktların Antikanser Çalışmaları

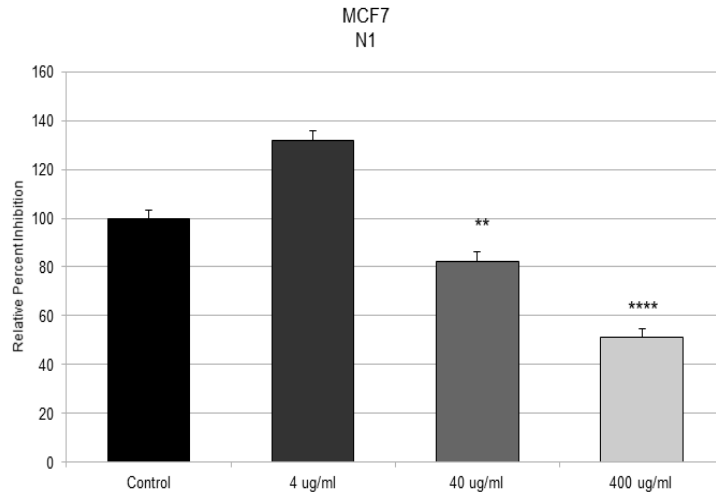
Hücre canlılık testleri Bölüm 3.2.4. 'te belirtildiği gibi hazırlanan ekstraktlar artan dozları (4-40-400 µg/mL) MCF7 (meme kanseri) ve A2780 (yumurtalık kanseri) kanser hücre hattında MTT yöntemi kullanılarak canlılık düzeyleri incelendi (Saygi & Cacan, 2021c) (Saygi & Cacan, 2021c). Ekstraktların iki hücre hattı üzerindeki yüzde canlılık oranları, MTT testlerinde elde edilen verilerin analizlerine göre belirlendi. MTT testleri kontrol grupları ile deney gruplarının karşılaştırılması ile yapıldı. Kontrol gruplarındaki canlılıkları %100 olarak baz alındı ve deney gruplarındaki değişimler incelendi.



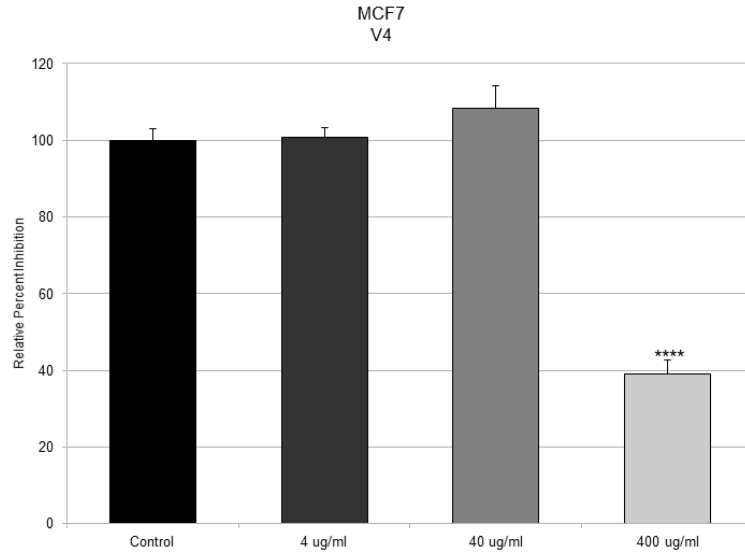
Şekil 4. 25. A çeşidine ait fenolik bileşiklerin MCF7 antikanser aktivitesi



Şekil 4. 26. G çeşidine ait fenolik bileşiklerin MCF7 antikanser aktivitesi

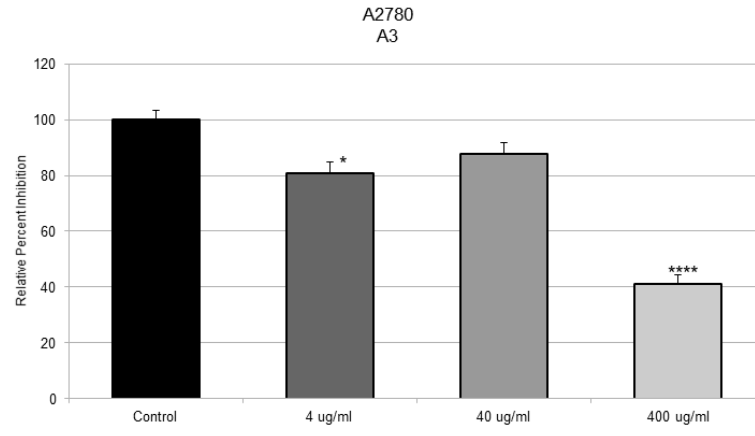


Şekil 4. 27. N çeşidine ait fenolik bileşiklerin MCF7 antikanser aktivitesi

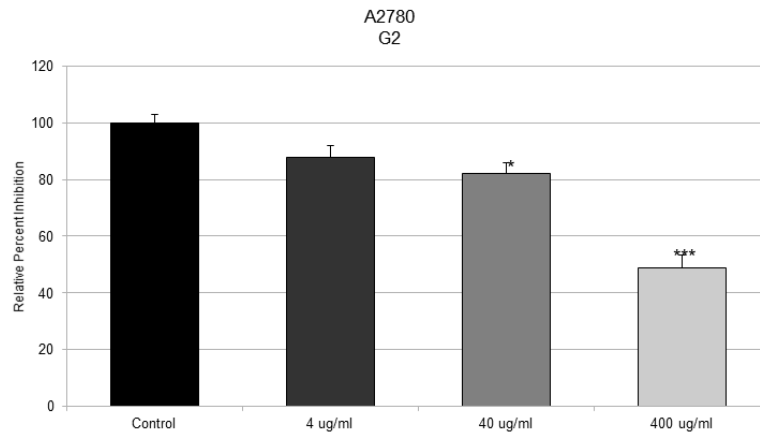


Şekil 4. 28. V çeşidine ait fenolik bileşiklerin MCF7 antikanser aktivitesi

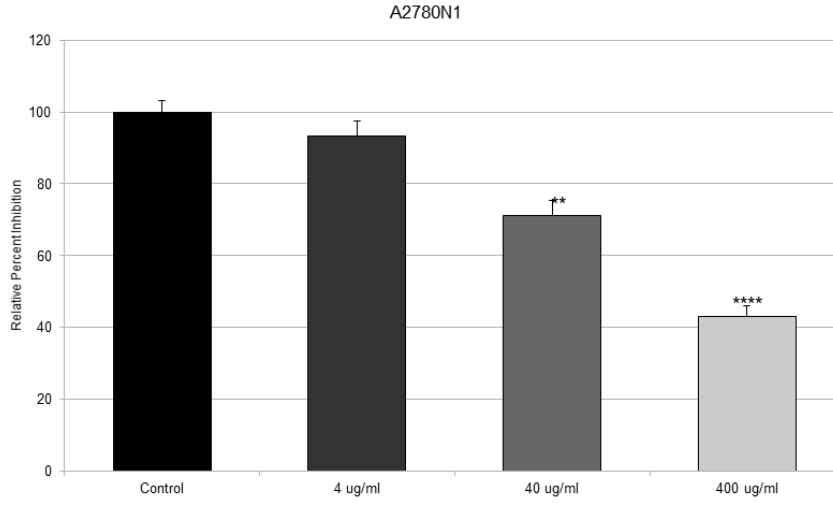
MCF7 (meme kanseri) antikanser aktivitesi Şekil 4.25-4.28’de verilmiştir. Buna göre ekstraktların artan konsantrasyonlarda hazırlanan örnekleri kontrol grubuna karşı test edildi. A, N ve V çeşitleri %50 nin altında hücre canlılığını azalttığı gözlenmiştir. Benzer şekilde G çeşidinden hazırlanan ekstrakt aktivite göstermemiştir. A, N ve V çeşitlerinin ekstraktlarından 4-40-400 µg/mL konsantrasyonlarında çalışma tekrarlandığında en iyi aktivite 400 µg/mL olacak şekilde hazırlanan konsantrasyonda elde edilmiştir.



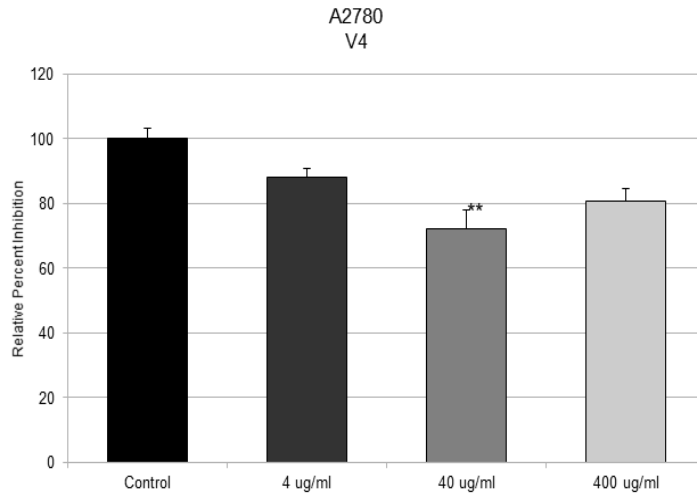
Şekil 4. 29. A çeşidine ait fenolik bileşiklerin A2780 antikanser aktivitesi



Şekil 4. 30. G çeşidine ait fenolik bileşiklerin A2780 antikanser aktivitesi



Şekil 4. 31. N çeşidine ait fenolik bileşiklerin A2780 antikanser aktivitesi



Şekil 4. 32. V çeşidine ait fenolik bileşiklerin A2780 antikanser aktivitesi

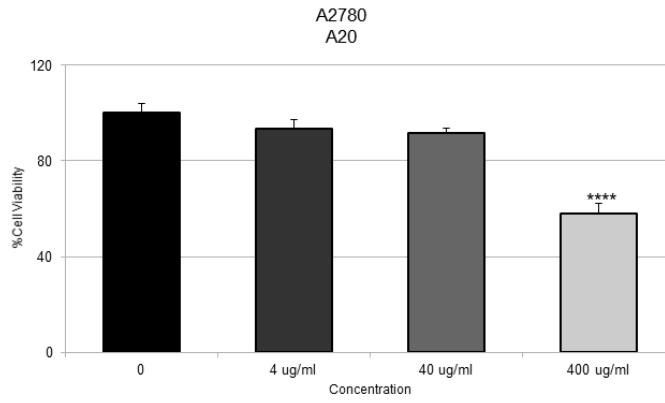
A2780 (yumurtalık kanseri) antikanser aktivitesi Şekil 4.29-4.32’de verilmiştir. Buna göre ekstraktların artan konsantrasyonlarda hazırlanan örnekleri kontrol grubuna karşı test edildi. A, G ve N çeşitleri %50 nin altında hücre canlılığını azalttığı gözlenmiştir. Benzer şekilde V çeşidinden hazırlanan ekstrakt aktivite göstermemiştir. A, G ve N

eşitlerinin ekstraktlarından 4-40-400 µg/mL konsantrasyonlarında çalışma tekrarlandığında en iyi aktivite 400 µg/mL olacak şekilde hazırlanan konsantrasyonda elde edilmiştir. Devanesan ve arkadaşları *Abelmoschus esculentus* iek ekstraktları ile sentezledikleri AgNP'leri biyolojik aktivite bakımından inceleyip rapor ettikleri çalışmalarında MTT testi ile akciğer kanseri hücre hattına karşı antikanser özelliklerini araştırmışlardır. Farklı konsantrasyonlarda hazırladıkları (µg/mL) AgNP'lerin artan konsantrasyonlara bağlı olarak antikanser aktiviteninde doğru orantılı olarak değiştiğini gözlemlemişlerdir (Devanesan & Alsalhi, 2023).

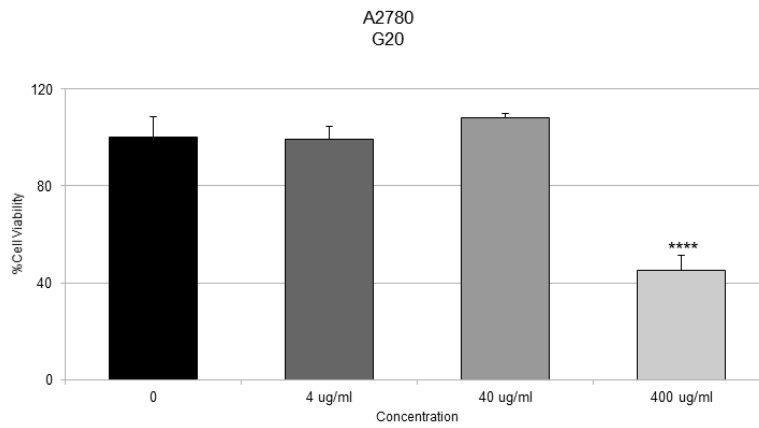
NP'lerin boyutu ve bitki özü hücre içi oksidadif stres artışını tetikler ve reaktif hidroksi radikallere DNA ya zarar vererek kanser hücresi ölümüne neden olur (Devanesan & Alsalhi, 2023) .

4.8 Sentezlenen AgNP'lerin Antikanser alışmaları

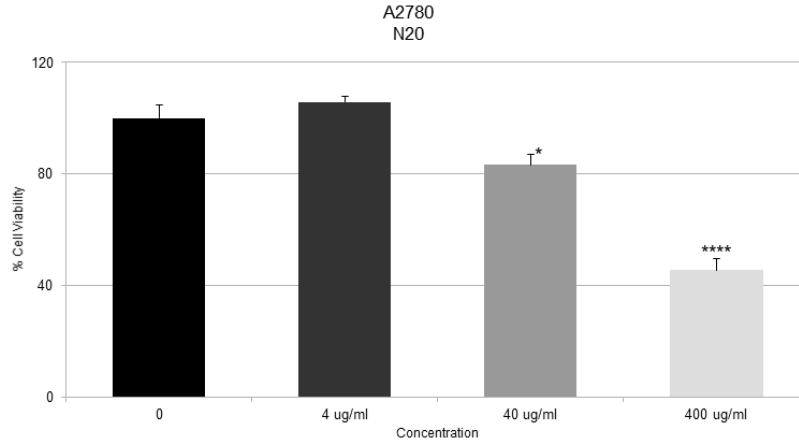
AgNP'lerin hücre canlılığına etkisi MTT testi kullanılarak yapılmıştır. Hücre hattı olarak cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780, diğeri ise Cisplatine dirençli AD-A2780 hücre hatları kullanılmıştır (Ali et al., 2013) . Testin yapılışına ait bilgiler bölüm 3.2.5.1 de detaylı şekilde yer almaktadır. Alınan sonuçlar % canlı hücre oranının konsantrasyona karşı grafikleri şekil 4.33-4.40 ile verilmiştir.



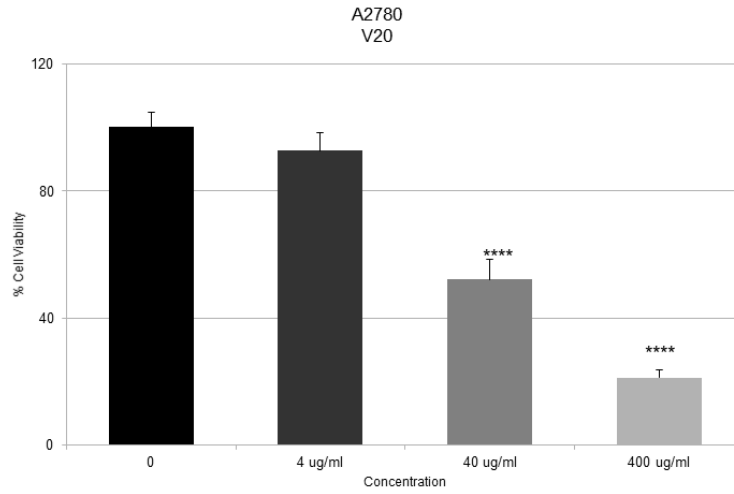
Şekil 4. 33. A-AgNP'lerin Cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780



Şekil 4. 34. G-AgNP'lerin Cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780



Şekil 4. 35. N-AgNP'lerin Cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780

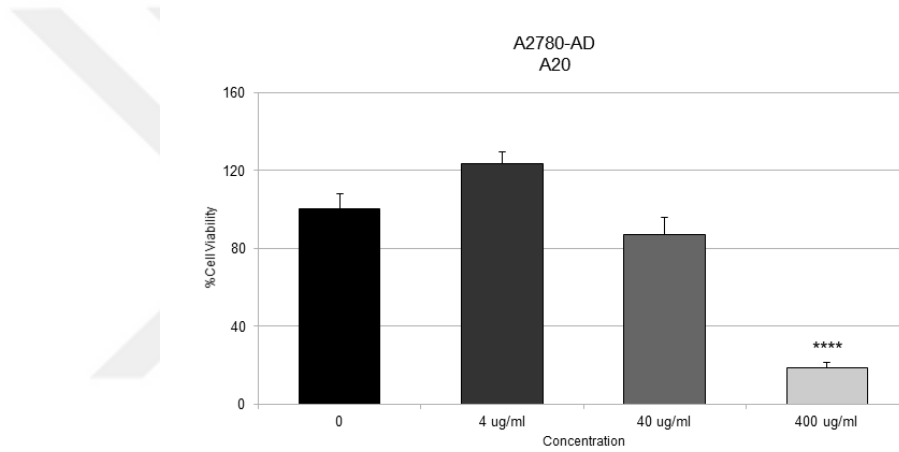


Şekil 4. 36. V-AgNP'lerin Cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780

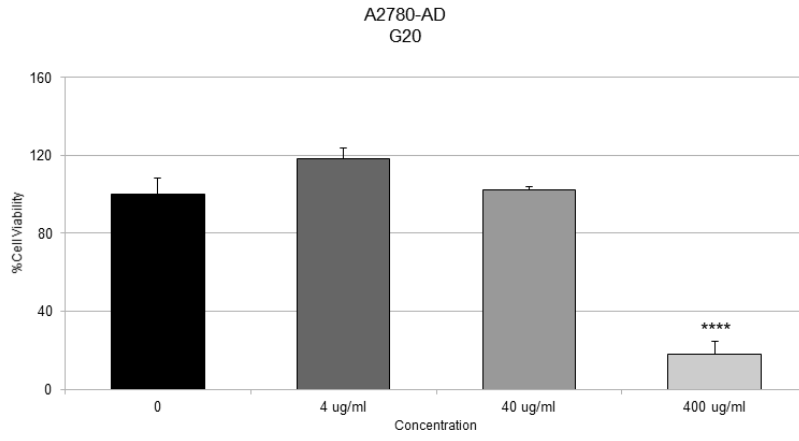
Ayrıca yumurtalık kanserinde kemodirenci düşürmek amacıyla AgNP'lerin potansiyelleri hücre canlılığına etkisi MTT testi uygulanarak araştırıldı. AgNP'lerin, hücre canlılığına etkisini incelemek amacıyla yumurtalık kanserine ait iki farklı hücre hattı kullanılmıştır. Bunlardan biri cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780, diğeri ise Cisplatine dirençli AD-A2780 hücre hattıdır. Platin içerikli Cisplatine, yumurtalık kanserinin tedavisinde kemoterapik ajan olarak kullanılmaktadır. Birkaç tur yinelenen tedaviden sonra ortaya

ıkan sisplatin direnci tedavide başarıszlığa neden olmaktadır. Yumurtalık kanserinde sisplatin direncinin ortadan kaldırılması etkili tedavi yöntemlerinde büyük önem taşımaktadır (Berkel & Cacan, 2023).

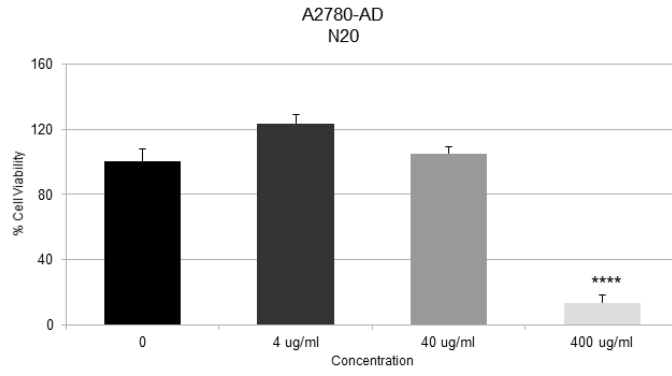
Cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780 hücre hattı ile yapılan çalışma da ; 400  g/mL olacak şekilde hazırlanan konsantrasyonda A, G ve N aktivite göstermiş olsada V çeşidinden sentezlenen AgNP'ler Cisplatine duyarlı hücrelerin canlılığını %20 olacak şekilde azaltmıştır.



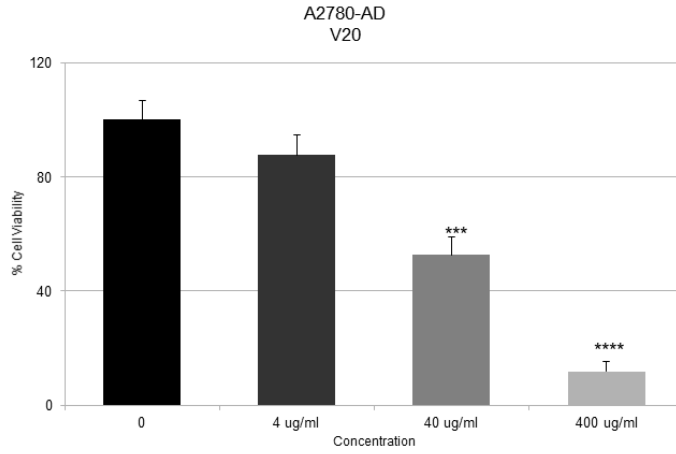
şekil 4. 37. A-AgNP'lerin Cisplatine dirençli hücre hattı olan A2780



Şekil 4. 38. G-AgNP'lerin Cisplatine dirençli hücre hattı olan A2780



Şekil 4. 39. N-AgNP'lerin Cisplatine dirençli hücre hattı olan A2780



Şekil 4. 40. V-AgNP'lerin Cisplatine dirençli hücre hattı olan A2780

Cisplatine dirençli AD-A2780 hücre hattı ile yapılan çalışmada ise ;400 µg/ml olacak şekilde hazırlanan konsantrasyonda tüm türlerden sentezlenen AgNP'ler Cisplatine dirençli hücrelerin canlılığını %20' nin altına düşürerek aktivite göstermiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Aronya (*Aronia Melanocarpa*) meyvesinin dört alt çeşidi (Nero, Viking, Galijenka ve Aron) için tezin ilk bölümünde türlerden yeşil sentez yoluyla AgNP'ler sentezlenmiştir. Sentez çözeltisi ilk önce UV-Vis sonuçları ile değerlendirilmiştir. Kurutulan NP'lerin morfolojik ve kristal yapıları, şekilleri, boyutları SEM, XRD, EDX ve FT-IR yöntemleri ile karakterize edilmiştir.

Buradan elde edilen sonuçlara göre yeşil sentezle elde edilen çeşitlere ait AgNP'lerin SEM görüntülerine göre homojen ve genellikle küre-kısmen kübik şeklinde olduğu topaklanmanın olmadığı kristal yapıları olduğu görülmüştür.

EDX analizine göre tüm AgNP'lerin gümüş bölgede (~3 KeV) A-AgNP'lerin % 76,3, G-AgNP'lerin % 68,8, N-AgNP'lerin % 63,3, V-AgNP'lerin % 52 oranlarında güçlü sinyalleri tespit edilmiştir.

XRD sonuçlarından Debye-Scherrer denklemiyle hesaplanan boyut ölçüleri ise sırasıyla A-AgNP, G-AgNP, N-AgNP ve V-AgNP için 11.049 nm, 8.96 nm, 11.44 nm ve 13.052 nm olarak bulunmuştur.

Fenolik bileşik bakımından türlere ait metanol/diklormetan (1:1) ekstraktları LC-MS/MS ile tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm türlerde en fazla bulunan fenolik bileşik klorjenik asittir.

Antikanser aktivite çalışmalarında çeşitlere ait ekstraktların MCF7 (meme kanseri) ve A2780 (yumurtalık kanseri) kanser hücre hatlarında gösterdikleri sitotoksik etkileri incelenmiştir. MCF7 hücre hattı için A, N ve V çeşitleri için konsantrasyon 400 µg/mL'de hücre canlılığını %50' nin altında azaltmıştır. Benzer şekilde G çeşidinden hazırlanan ekstrakt aktivite göstermemiştir. A2780 hücre hattı için A, G ve N çeşitlerinin 400 µg/ml'de %50'nin altında hücre canlılığını azalttığı gözlenmiştir. Benzer şekilde V'den hazırlanan ekstrakt aktivite göstermemiştir.

Cisplatine dirençli AD-A2780 hücre hattı ile yapılan çalışmada ise 400 µg/mL olacak şekilde hazırlanan konsantrasyonda tüm çeşitlerden sentezlenen AgNP'ler cisplatine dirençli hücrelerin canlılığını %20'nin altına düşürerek aktivite göstermiştir.

Cisplatine duyarlı hücre hattı olan A2780 hücre hattı ile yapılan çalışma da ;400 µg/ml olacak şekilde hazırlanan konsantrasyonda A, G ve N aktivite göstermiş olsada V çeşidinden sentezlenen AgNP'ler cisplatine duyarlı hücrelerin canlılığını %20 olacak şekilde azaltmıştır.

Daha önceki literatür çalışmalarında fazla çalışmanın bulunmadığı Aronya (*Aronia melanocarpa*) bitkisine ait dört alt çeşidi olan Viking, Nero, Galijenka ve Aron meyvelerine ait fenolik bileşiklerin detaylı incelenerek izolasyonu ve bunlara ait aktivite testlerinin yapılmasıdır.Aronya bitki ekstraktlarından farklı metal nanopartiküllerinin hazırlanabilecek olması benzer çalışmalara ışık tutacaktır.



6. KAYNAKLAR

- Abid, Mouna; Yaich, H  la; Cheikhrouhou, Salma; Khemakhem, Ibtihel; Bouaziz, Mohamed; Attia, Hamadi & Ayadi, M. A. 2017, Antioxidant properties and phenolic profile characterization by LC–MS/MS of selected Tunisian pomegranate peels, *Journal of Food Science and Technology*, 54(9), 2890–2901.
- Acero, Nuria; Gradillas, Ana; Beltran, Marta; Garc  a, Antonia & Mu  oz Mingarro, Dolores 2019, Comparison of phenolic compounds profile and antioxidant properties of different sweet cherry (*Prunus avium* L.) varieties, *Food Chemistry*, 279, 260–271.
- Ahmad, Shabir; Munir, Sidra; Zeb, Nadia; Ullah, Asad; Khan, Behramand; Ali, Javed; ... Ali, Saqib 2019, Green nanotechnology: A review on green synthesis of silver nanoparticles — An ecofriendly approach, *International Journal of Nanomedicine*. Dove Medical Press Ltd.
- Ahmed, Reem Hassan; Damra, . & Mustafa, Elhaj 2019, Green synthesis of silver nanoparticles mediated by traditionally used medicinal plants in Sudan, *International Nano Letters* 2019 10:1, 10(1), 1–14.
- Ahn, Eun Young; Jin, Hang & Park, Youmie 2019, Assessing the antioxidant, cytotoxic, apoptotic and wound healing properties of silver nanoparticles green-synthesized by plant extracts, *Materials Science and Engineering: C*, 101, 204–216.
- Alabdallah, Nadiyah M. & Hasan, Md Mahadi 2021, Plant-based green synthesis of silver nanoparticles and its effective role in abiotic stress tolerance in crop plants, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(10), 5631–5639.
- Alara, Oluwaseun Ruth; Abdurahman, Nour Hamid & Ukaegbu, Chinonso Ishamel 2021a, Extraction of phenolic compounds: A review, *Current Research in Food Science*. Elsevier B.V.
- Alara, Oluwaseun Ruth; Abdurahman, Nour Hamid & Ukaegbu, Ishamel 2021b, Extraction of phenolic compounds: A review.
- Ali, Mourad W.; Cacan, Ercan; Liu, Yuying; Pierce, Jennifer Young; Creasman, William T.; Murph, Mandi M.; ... Hooks, Shelley B. 2013, Transcriptional Suppression, DNA Methylation, and Histone Deacetylation of the Regulator of G-Protein Signaling 10 (RGS10) Gene in Ovarian Cancer Cells, *PLoS ONE*, 8(3).
- Aly, Alshymaa A. & G  recki, Tadeusz 2023, Green comprehensive two-dimensional liquid chromatography (LC $\times$ LC) for the analysis of phenolic compounds in grape juices and wine, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 415(13), 2383–2398.
- Anis, Siti Nor Syairah; Liew, Wen Ching; Mohd Marsin, Aishah; Muhamad, Ida Idayu; Teh, Sin Hui & Md Khudzari, Ahmad Zahran 2023, Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles using pineapple leaves waste, *Cleaner Engineering and Technology*, 15.
- Aryan; Ruby & Mehata, Mohan Singh 2021, Green synthesis of silver nanoparticles using *Kalanchoe pinnata* leaves (life plant) and their antibacterial and photocatalytic activities, *Chemical Physics Letters*, 778, 138760.

- Bal, Burcu; Doç, Danişman :. & Çağan, Ercan (n.d.), *BAZI TIBBİ BİTKİSEL AROMATİK YAĞLARIN KOLOREKTAL KANSER HÜCRE HATLARINDA APOPTOTİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE POTANSİYEL HEDEF GEN EKSPRESYONLARININ BELİRLENMESİ YÜKSEK LİSANS TEZİ*.
- Bar, Harekrishna; Bhui, Dipak Kr; Sahoo, Gobinda P.; Sarkar, Priyanka; De, Sankar P. & Misra, Ajay 2009, Green synthesis of silver nanoparticles using latex of *Jatropha curcas*, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 339(1–3), 134–139.
- Barabadi, Hamed; Mojab, Faraz; Vahidi, Hossein; Marashi, Boshra; Talank, Niloufar; Hosseini, Omid & Saravanan, Muthupandian 2021, Green synthesis, characterization, antibacterial and biofilm inhibitory activity of silver nanoparticles compared to commercial silver nanoparticles, *Inorganic Chemistry Communications*, 129, 108647.
- Berkel, Caglar & Cacan, Ercan 2021, Estrogen- and estrogen receptor (ER)-mediated cisplatin chemoresistance in cancer, *Life Sciences*. Elsevier Inc.
- Berkel, Caglar & Cacan, Ercan 2023, Lower expression of NINJ1 (Ninjurin 1), a mediator of plasma membrane rupture, is associated with advanced disease and worse prognosis in serous ovarian cancer, *Immunologic Research*, 71(1), 15–28.
- Bindhu, M. R.; Umadevi, M.; Esmail, Galal Ali; Al-Dhabi, Naif Abdullah & Arasu, Mariadhas Valan 2020, Green synthesis and characterization of silver nanoparticles from *Moringa oleifera* flower and assessment of antimicrobial and sensing properties, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 205, 111836.
- Bursal, Ercan; Köksal, Ekrem; Gülçin, İlhami; Bilsel, Gökhan & Gören, Ahmet C. 2013, Antioxidant activity and polyphenol content of cherry stem (*Cerasus avium* L.) determined by LC-MS/MS, *Food Research International*, 51(1), 66–74.
- Christiansen, Christine B.; Mellbye, Fredrik B.; Hermansen, Kjeld; Jeppesen, Per B. & Gregersen, Søren 2022, Effects of *Aronia melanocarpa* on Cardiometabolic Diseases: A Systematic Review of Quasi-Design Studies and Randomized Controlled Trials, *Review of Diabetic Studies*. Lab and Life Press.
- Dada, Adewumi Oluwasogo; Adekola, Folahan Amoo; Dada, Fehintoluwa Elizabeth; Adelani-Akande, Adunola Tabitha; Bello, Micheal Oluwasesan; Okonkwo, Chidiogo Rita; ... Adetunji, Charles Oluwaseun 2019, Silver nanoparticle synthesis by Bilberry extract: phytochemical screening, characterization, influence of operational parameters, and preliminary antibacterial testing, *Heliyon*, 5(10).
- Deng, Haotian; Zhu, Jinyan; Tong, Yuqi; Kong, Yanwen; Tan, Chang; Wang, Mingyue; ... Meng, Xianjun 2021, Antibacterial characteristics and mechanisms of action of *Aronia melanocarpa* anthocyanins against *Escherichia coli*, *LWT*, 150, 112018.
- Devanesan, Sandhanasamy & Alsalhi, Mohamad S. 2023, Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using the Flower Extract of *Abelmoschus esculentus* for Cytotoxicity and Antimicrobial Studies.
- Dipankar, C. & Murugan, S. 2012, The green synthesis, characterization and evaluation of the biological activities of silver nanoparticles synthesized from *Iresine herbstii* leaf aqueous extracts, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 98, 112–119.

- Efenberger-Szmechtyk, Magdalena; Nowak, Agnieszka; Czyżowska, Agata; Śniadowska, Monika; Otlewska, Anna & Żyżelewicz, Dorota 2021, Antibacterial mechanisms of *Aronia melanocarpa* (Michx.), *Chaenomeles superba* Lindl. and *Cornus mas* L. leaf extracts, *Food Chemistry*, 350, 129218.
- Erenler, Ramazan & Dag, Besir 2021, Biosynthesis of silver nanoparticles using *Origanum majorana* L. and evaluation of their antioxidant activity.
- Gade, Aniket; Gaikwad, Swapnil; Duran, Nelson & Rai, Mahendra 2014, Green synthesis of silver nanoparticles by *Phoma glomerata*, *Micron*, 59, 52–59.
- Garibo, Diana; Borbón-Nuñez, Hugo A.; Díaz De León, Jorge N.; Mendoza, Ernesto García; Estrada, Iván; Toledano-Magaña, Yanis; ... Susarrey-Arce, Arturo 2020, Green synthesis of silver nanoparticles using *Lysiloma acapulcensis* exhibit high-antimicrobial activity, 10, 12805.
- Göl, Fatma; Aygün, Ayşenur; Seyrankaya, Abdullah; Gür, Tuğba; Yenikaya, Cengiz & Şen, Fatih 2020, Green synthesis and characterization of *Camellia sinensis* mediated silver nanoparticles for antibacterial ceramic applications, *Materials Chemistry and Physics*, 250, 123037.
- Gomathi, M.; Prakasam, A.; Rajkumar, P. V.; Rajeshkumar, S.; Chandrasekaran, R. & Anbarasan, P. M. 2019, Green synthesis of silver nanoparticles using *Gymnema sylvestre* leaf extract and evaluation of its antibacterial activity.
- Goulas, Vlasios & Hadjisolomou, Andriani 2019, Dynamic changes in targeted phenolic compounds and antioxidant potency of carob fruit (*Ceratonia siliqua* L.) products during in vitro digestion, *LWT*, 101, 269–275.
- Hashemitabar, Gholamreza; Aflakian, Fatemeh & Sabzevar, Azadeh Hadad 2023, Assessment of antibacterial, antioxidant, and anticancer effects of biosynthesized silver nanoparticles using *Teucrium polium* extract, *Journal of Molecular Structure*, 1291, 136076.
- Ijaz, Mohsin; Zafar, Maria & Iqbal, Tahir 2020, Green synthesis of silver nanoparticles by using various extracts: a review, *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*. Bellwether Publishing, Ltd.
- Ismail, Balarabe B.; Pu, Yunfeng; Guo, Mingming; Ma, Xiaobin & Liu, Donghong 2019, LC-MS/QTOF identification of phytochemicals and the effects of solvents on phenolic constituents and antioxidant activity of baobab (*Adansonia digitata*) fruit pulp, *Food Chemistry*, 277, 279–288.
- Jain, Nancy; Jain, Priyanshu; Rajput, Devyani & Patil, Umesh Kumar 2021, Green synthesized plant-based silver nanoparticles: therapeutic prospective for anticancer and antiviral activity, *Micro and Nano Systems Letters* 2021 9:1, 9(1), 1–24.
- Jalab, Joud; Abdelwahed, Wassim; Kitaz, Adawia & Al-Kayali, Rawaa 2017, Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Acacia cyanophylla* and its antibacterial activity, *Heliyon*, e08033.
- Jeppsson, N. & Johansson, R. 2000, Changes in fruit quality in black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) during maturation, *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 75(3), 340–345.

- Jiang, Yuqin; Fang, Zhongxiang; Leonard, William & Zhang, Pangzhen 2021, Phenolic compounds in Lycium berry: Composition, health benefits and industrial applications, *Journal of Functional Foods*. Elsevier Ltd.
- Joon Hwang, Seok; Byong Yoon, Won; Lee, Ok-Hwan; Ju Cha, Seung & Dai Kim, Jong 2013a, Radical-scavenging-linked antioxidant activities of extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea.
- Joon Hwang, Seok; Byong Yoon, Won; Lee, Ok-Hwan; Ju Cha, Seung & Dai Kim, Jong 2013b, Radical-scavenging-linked antioxidant activities of extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea.
- Jurikova, Tunde; Mlcek, Jiri; Skrovankova, Sona; Sumczynski, Daniela; Sochor, Jiri; Hlavacova, Irena; ... Orsavova, Jana (n.d.-a), molecules Fruits of Black Chokeberry *Aronia melanocarpa* in the Prevention of Chronic Diseases.
- Jurikova, Tunde; Mlcek, Jiri; Skrovankova, Sona; Sumczynski, Daniela; Sochor, Jiri; Hlavacova, Irena; ... Orsavova, Jana (n.d.-b), molecules Fruits of Black Chokeberry *Aronia melanocarpa* in the Prevention of Chronic Diseases.
- Kanniah, Paulkumar; Radhamani, Jila; Chelliah, Parvathiraja; Muthusamy, Natarajan; Joshua, Emmanuel; Sathiya, Jebasingh; ... Shanmugam, Rajeshkumar 2020, Green Synthesis of Multifaceted Silver Nanoparticles Using the Flower Extract of *Aerva lanata* and Evaluation of Its Biological and Environmental Applications, *ChemistrySelect*, 5(7), 2322–2331.
- Korkmaz, Nesrin; Ceylan, Yusuf; Taslimi, Parham; Karadağ, Ahmet; Bülbül, Ali Savaş & Şen, Fatih 2020a, Biogenic nano silver: Synthesis, characterization, antibacterial, antibiofilms, and enzymatic activity, *Advanced Powder Technology*.
- Korkmaz, Nesrin; Ceylan, Yusuf; Taslimi, Parham; Karadağ, Ahmet; Bülbül, Ali Savaş & Şen, Fatih 2020b, Biogenic nano silver: Synthesis, characterization, antibacterial, antibiofilms, and enzymatic activity, *Advanced Powder Technology*.
- Kulling, Sabine E. & Rawel, Harshadai M. 2008, Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) - A review on the characteristic components and potential health effects, *Planta Medica*.
- Kumar Panda, Manasa; Kumar Dhal, Nabin; Kumar, Manish; Manjari Mishra, Pravat & Kumar Behera, Rajendra 2021, Green synthesis of silver nanoparticles and its potential effect on phytopathogens, In *Materials Today: Proceedings* (Vol. 35, pp. 233–238). Elsevier Ltd.
- Manosalva, Nixon; Tortella, Gonzalo; Cristina Diez, María; Schalchli, Heidi; Seabra, Amedea B.; Durán, Nelson & Rubilar, Olga 2019, Green synthesis of silver nanoparticles: effect of synthesis reaction parameters on antimicrobial activity, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(6), 1–9.
- Oniszczyk, Anna; Olech, Marta; Oniszczyk, Tomasz; Wojtunik-Kulesza, Karolina & Wójtowicz, Agnieszka 2019, Extraction methods, LC-ESI-MS/MS analysis of phenolic compounds and antiradical properties of functional food enriched with elderberry flowers or fruits, *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 4719–4730.
- Orsavová, Jana; Hlaváčová, Irena; Mlček, Jiří; Snopek, Lukáš & Mišurcová, Ladislava 2019, Contribution of phenolic compounds, ascorbic acid and vitamin E to antioxidant activity of

- currant (*Ribes L.*) and gooseberry (*Ribes uva-crispa L.*) fruits, *Food Chemistry*, 284, 323–333.
- Oszmiański, Jan & Wojdylo, Aneta 2005a, *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity, *European Food Research and Technology*, 221(6), 809–813.
- Oszmiański, Jan & Wojdylo, Aneta 2005b, *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity, *European Food Research and Technology*, 221(6), 809–813.
- Oves, Mohammad; Ahmar Rauf, Mohd; Aslam, Mohammad; Qari, Huda A.; Sonbol, Hana; Ahmad, Irfan; ... Saeed, Mohd 2022, Green synthesis of silver nanoparticles by *Conocarpus Lancifolius* plant extract and their antimicrobial and anticancer activities, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(1), 460–471.
- Ozdal, Tugba; Ceylan, Fatma Duygu; Eroglu, Nazife; Kaplan, Muammer; Olgun, Elmas Oktem & Capanoglu, Esra 2019, Investigation of antioxidant capacity, bioaccessibility and LC-MS/MS phenolic profile of Turkish propolis, *Food Research International*, 122, 528–536.
- Padalia, Hemali; Moteriya, Pooja & Chanda, Sumitra 2015, Green synthesis of silver nanoparticles from marigold flower and its synergistic antimicrobial potential, *Arabian Journal of Chemistry*, 8(5), 732–741.
- Platonova, Elena Y.; Shaposhnikov, Mikhail V.; Lee, Hye Yeon; Lee, Ji Hyeon; Min, Kyung Jin & Moskalev, Alexey 2021, Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extracts in terms of geroprotector criteria, *Trends in Food Science & Technology*, 114, 570–584.
- Ravichandran, V.; Vasanthi, S.; Shalini, S.; Shah, Syed Adnan Ali; Tripathy, M. & Paliwal, Neeraj 2019, Green synthesis, characterization, antibacterial, antioxidant and photocatalytic activity of *Parkia speciosa* leaves extract mediated silver nanoparticles, *Results in Physics*, 15, 102565.
- Ren, Yulin; Frank, Tyler; Meyer, Gunnar; Lei, Jizhou; Grebenc, Jessica R.; Slaughter, Ryan; ... Kinghorn, A. Douglas 2022, Potential Benefits of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Fruits and Their Constituents in Improving Human Health, *Molecules*. MDPI.
- Roy, Anupam; Bulut, Onur; Some, Sudip; Mandal, Amit Kumar & Yilmaz, M. Deniz 2019, Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity, *RSC Advances*, 9(5), 2673–2702.
- Saygi, Kadriye Ozlem; Bayram, Huda Melike & Bayram, Emre 2022, Green synthesis of silver nanoparticles using artichoke flower petals and application in endodontic dentistry, *Biomass Conversion and Biorefinery*.
- Saygi, Kadriye Ozlem & Cacan, Ercan 2021a, Antioxidant and cytotoxic activities of silver nanoparticles synthesized using *Tilia cordata* flowers extract, *Materials Today Communications*, 27.
- Saygi, Kadriye Ozlem & Cacan, Ercan 2021b, Antioxidant and cytotoxic activities of silver nanoparticles synthesized using *Tilia cordata* flowers extract, *Materials Today Communications*, 27.
- Saygi, Kadriye Ozlem & Cacan, Ercan 2021c, Antioxidant and cytotoxic activities of silver nanoparticles synthesized using *Tilia cordata* flowers extract, *Materials Today Communications*, 27, 102316.

- Saygi, Kadriye Ozlem & Usta, Canan 2021, Rosa canina waste seed extract-mediated synthesis of silver nanoparticles and the evaluation of its antimutagenic action in Salmonella typhimurium, Materials Chemistry and Physics, 266, 124537.
- Sidor, Andrzej; Drożdżyńska, Agnieszka & Gramza-Michałowska, Anna 2019, Black chokeberry (Aronia melanocarpa) and its products as potential health-promoting factors - An overview, Trends in Food Science & Technology, 89, 45–60.
- Singh, Priyanka & Mijakovic, Ivan 2022a, Green synthesis and antibacterial applications of gold and silver nanoparticles from Ligustrum vulgare berries, Scientific Reports 2022 12:1, 12(1), 1–12.
- Singh, Priyanka & Mijakovic, Ivan 2022b, Green synthesis and antibacterial applications of gold and silver nanoparticles from Ligustrum vulgare berries, Scientific Reports 2022 12:1, 12(1), 1–12.
- Smaoui, Slim; Hlima, Hajer Ben; Mtibaa, Ahlem Chakchouk; Fourati, Mariam; Sellem, Imen; Elhadeif, Khaoula; ... Mellouli, Lotfi 2019, Pomegranate peel as phenolic compounds source: Advanced analytical strategies and practical use in meat products, Meat Science. Elsevier Ltd.
- Swilam, Noha & Nematallah, Khaled A. 2020, Polyphenols profile of pomegranate leaves and their role in green synthesis of silver nanoparticles, Scientific Reports 2020 10:1, 10(1), 1–11.
- Tailor, Giriraj; Yadav, B. L.; Chaudhary, Jyoti; Joshi, Manoj & Suvalka, Chetana 2020, Green synthesis of silver nanoparticles using Ocimum canum and their anti-bacterial activity, Biochemistry and Biophysics Reports, 24, 100848.
- Talank, Niloufar; Morad, Hamed; Barabadi, Hamed; Mojab, Faraz; Amidi, Salimeh; Kobarfard, Farzad; ... Mostafavi, Ebrahim 2022, Bioengineering of green-synthesized silver nanoparticles: In vitro physicochemical, antibacterial, biofilm inhibitory, anticoagulant, and antioxidant performance, Talanta, 243, 123374.
- tubitak (n.d.), The effects of harvesting time on the physicochemical.
- Vagiri, Michael & Jensen, Martin 2016, Influence of juice processing factors on quality of black chokeberry pomace as a future resource for colour extraction.
- Wangensteen, Helle; Bräunlich, Marie; Nikolic, Viktoria; Malterud, Karl Egil; Slimestad, Rune & Barsett, Hilde 2014, Anthocyanins, proanthocyanidins and total phenolics in four cultivars of aronia: Antioxidant and enzyme inhibitory effects, Journal of Functional Foods, 7(1), 746–752.
- Watrelot, Aude A. & Bouska, Lindsey 2022, Optimization of the ultrasound-assisted extraction of polyphenols from Aronia and grapes, Food Chemistry, 386, 132703.
- Weiss, Raymond B. & Christian, Michael C. 1993, *New Cisplatin Analogues in Development A Review, Drugs* (Vol. 46).
- Wypij, Magdalena; Jędrzejewski, Tomasz; Trzcińska-Wencel, Joanna; Ostrowski, Maciej; Rai, Mahendra & Golińska, Patrycja 2021, Green Synthesized Silver Nanoparticles: Antibacterial and Anticancer Activities, Biocompatibility, and Analyses of Surface-Attached Proteins, Frontiers in Microbiology, 12, 632505.

- Zdunić, Gordana; Aradski, Ana Alimpić; Gođevac, Dejan; Živković, Jelena; Laušević, Sonja Duletić; Milošević, Dijana Krstić & Šavikin, Katarina 2020, In vitro hypoglycemic, antioxidant and antineurodegenerative activity of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) leaves, *Industrial Crops and Products*, 148, 112328.
- Zhang, Huiling; Chen, Si; Jia, Xiaorong; Huang, Yuxiong; Ji, Rong & Zhao, Lijuan 2021, Comparison of the phytotoxicity between chemically and green synthesized silver nanoparticles, *Science of The Total Environment*, 752, 142264.
- Zhang, Xianan; Su, Mingshen; Du, Jihong; Zhou, Huijuan; Li, Xiongwei; Zhang, Minghao; ... Ye, Zhengwen 2023, Profiling of naturally occurring proanthocyanidins and other phenolic compounds in a diverse peach germplasm by LC-MS/MS, *Food Chemistry*, 403.
- Zhao, Yingchun; Liu, Xinglong; Zheng, Yanan; Liu, Wencong & Ding, Chuanbo 2021, *Aronia melanocarpa* polysaccharide ameliorates inflammation and aging in mice by modulating the AMPK/SIRT1/NF- κ B signaling pathway and gut microbiota, *Scientific Reports* 2021 11:1, 11(1), 1–15.