

**T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİK SENTEZ (GREEN SENTEZ) İLE HAZIRLANMIŞ
BAKIR NANOPARTİKÜLLERİN AZO BOYALARIN
GİDERİMİNDE KULLANILMASI VE BAZI BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MURAT POLAT

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. BÜLENT KAYA**

BİNGÖL-2023



T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİYOLOJİK SENTEZ (GREEN SENTEZ) İLE HAZIRLANMIŞ BAKIR
NANOPARTİKÜLLERİN AZO BOYALARIN GİDERİMİNDE KULLANILMASI
VE BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Doç. Dr. Bülent KAYA danışmanlığında, Murat POLAT tarafından hazırlanan bu çalışma/...../..... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan :	İmza :
Üye :	İmza :
Üye :	İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun// tarih ve/ nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer ŞİAR
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ

Plantago lanceolata L. ekstraktı kullanılarak sentezlenen bakır nanopartiküller, metilen mavisi ve kongo kırmızısı gibi azo boyaların sudan uzaklaştırılması çalışılmış olup bunların yanında antikanser, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin incelenmesi ile devam etmiş geniş kapsamlı bir yüksek lisans tezidir. Bu tezde her türlü maddi ve manevi desteğini esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Bülent KAYA'ya en içten duygularım ile saygılarımı sunarım ve Doç. Dr. Fatma CAF'a bunun yanı sıra gerek labaratuvar çalışmalarında gerekse sosyal ilişkilerde bana destek olan KAYA LAB Grubu'na, ayrıca çalışma arkadaşlarım Semih GÖKDAĞ ve Deniz ÖZDEMİR'e de teşekkür ederim. Yanımda olmasalar da varlıklarını hep hissettiğim aileme ve kardeşim Samet POLAT'a özellikle sevgilerimi sunar, teşekkür eder en güzel dileklerimin onlarla olmasını dilerim.

Murat POLAT

Bingöl 2023

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	v
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1. Materyal	29
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Sinirli Ot (<i>Plantago lanceolata</i> L.) Ekstraktının Hazırlanması	29
3.2.2. CuSO ₄ (Bakır Sülfat) Nanopartiküllerin Sentezi	30
3.2.3. 25 °C ve 40 °C İçin Metilen Blue ve Kongo Red pH Taraması	30
3.2.4. Başlangıç Konsantrasyon Analizi ve Etkisinin İncelenmesi	31
3.2.5. Antioksidan Testleri.....	31
3.2.5.1. Toplam Fenolik Madde Belirlenmesi.....	31
3.2.5.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi.....	32
3.2.5.3. Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	32
3.2.5.4. DPPH Giderimi.....	33
3.2.5.5. Metal Şelatlama Aktivitesi.....	33
3.2.6. Antimikrobiyal Aktivitenin İncelenmesi	34
3.2.7. Antikanser Aktivitesinin İncelenmesi	35
3.2.7.1. Medium Hazırlama.....	35
3.2.8. Hücre kültürü	35
3.2.8.1. Hücre Canlılık Testi.....	35
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	36

4.1.1. UV-Vis (Ultraviyole-Görünür Spektroskopi	36
4.1.2. FT-IR Analizi	37
4.1.3. X-Işını kırınım (XRD) Analizi	38
4.1.4. Transmisyon elektron mikroskobu (TEM).....	40
4.1.5. Taramalı elektron mikroskobu (SEM).....	41
4.1.6. Zeta Potansiyeli.....	42
4.2. Boya Giderim Çalışmaları.....	42
4.2.1. 25°C ve 40°C Metilen Mavisi Giderimi	42
4.2.2. 25 °C Metilen Mavisi	43
4.2.3. 40°C Metilen Mavisi	44
4.2.4. Kongo Kırmızısı Giderim Çalışması	45
4.2.5. 25°C Kongo Kırmızısı Giderimi	46
4.2.6. 40°C Kongo Kırmızısı Giderimi	47
4.3. Antikanser Aktivitesi.....	47
4.4. Antioksidan Aktivitesi.....	49
4.4.1. Toplam Fenolik Madde Belirlenmesi	49
4.4.2. Toplam Flavanoid Madde İçeriği	50
4.4.3. Toplam Antioksidan Kapasitesi	50
4.4.4. DPPH Giderme Aktivitesi	51
4.4.5. Metal Şelatlama Aktivitesi	52
4.5. Antimikrobiyal Aktivite.....	53
4.5.1. Mikrodilüsyon yöntemi (MIK).....	53
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	56
KAYNAKLAR.....	60
ÖZGEÇMİŞ.....	68

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

$(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7 \text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	: Amonyum molibdat
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrad derece
μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
A549	: İnsan akciğer kanseri hücre hattı
ABTS	: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asid)
AlCl_3	: Alüminyum klorür
BHA	: Beta hidroksi asitler
XRD	: X-ışınları difraksiyon analizi
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
TEM	: Geçirgen elektron mikroskobu
EDS	: Enerji dağılımı spektrometresi
BHT	: Bütillendirilmiş hidroksi tolüen
DMEM	: Dulbecco's modified eagle media
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrihidrazil
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
ELİSA	: Enzim aracılı immünosorbent deneyi
FBS	: Fetal bovine serum
FTIR	: Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi
H_2SO_4	: Hidrojen sülfat
MIC	: Minimal inhibisyon konsantrasyonu
Na_2CO_3	: Sodyum karbonat
NaNO_2	: Sodyum nitrat
NaOH	: Sodyum hidroksit
Cu@NP	: Bakır nanopartikül

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Nanoteknoloji uygulama alanları	2
Şekil 1.2.	Nanoteknolojinin uygulama alanlarındaki yapıları.....	6
Şekil 1.3.	Nanopartiküllerin sentezi için farklı yaklaşımların kullanımı.....	13
Şekil 1.4.	Bitki özü kullanılarak nanopartiküllerin yeşil sentezi için çevre dostu ve ucuz yol.....	14
Şekil 1.5.	<i>Plantago lanceolata</i> L. kullanılarak bakır($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) nanopartiküllerin yeşil sentez yolu.....	20
Şekil 2.1.	<i>Labeo rohita</i> balık pulları kullanılarak sentezlenen bakır nanopartiküllerin XRD, FT-IR, UV ve EDX sonuçları.....	23
Şekil 2.2.	Fotokatalizör olarak sentezlenmiş CuNP'ler kullanılarak güneş ışınımı ile MB boyasının fotodegradasyonu. MB boyanın zamanla fotodegradasyonunun yüzde verimliliği.....	23
Şekil 2.3.	<i>Cissus vitiginea</i> kullanılarak sentezlenen bakır nanopartiküllerin XRD spektrumu ve XPS analizi.....	24
Şekil 2.4.	Sırasıyla <i>Moringa oleifera</i> yaprakları kullanılarak sentezlenen bakır nanopartiküllerin TEM, EDX, SEM, XRD, <i>M. oleifera</i> yaprak ekstraktının Fourier Dönüşümü Kızılötesi (FTIR) spektrumu, Sentezlenen bakır nanoparçacıkların FTIR spektrumu, <i>M. oleifera</i> yaprağı ekstresinin UV-Vis spektrumu ve Sentezlenen bakır nanoparçacıkların UV-Vis spektrumu.....	25
Şekil 2.5.	Belirtilen bakteri türlerinin farklı konsantrasyonlarda (7.8-1000 $\mu\text{g/mL}$) <i>M. oleifera</i> yaprağı ekstresi ve bakır nanoparçacıklarının varlığında büyümesi gösterilmektedir.....	26
Şekil 2.6.	(a) UV ışığında ve (b) Güneş ışığında <i>Tinospora cordifolia</i> yaprakları kullanılarak sentezlenen CuO nanoparçacıklarının varlığında boyanın yüzde bozulması	26

Şekil 2.7.	<i>Tinospora cordifolia</i> yapraklarının ekstraktı kullanılarak sentezlenen CuO nanoparçacıklarının varlığında (a) UV ışığına ve (b) Güneş ışığına maruz bırakıldığında farklı katalitik yükler (50, 100, 150, 200 mg) altında MB'nin bozunma yüzdesi.....	27
Şekil 2.8.	(a) UV ışığı ve (b) <i>Tinospora cordifolia</i> yapraklarının ekstraktı kullanılarak sentezlenen CuO nanoparçacıklarının varlığında güneş ışığı altında farklı pH değerlerinde MB'nin bozunma yüzdesi.....	27
Şekil 2.9.	<i>Tinospora cordifolia</i> yapraklarının ekstraktı kullanılarak sentezlenen CuO nanoparçacıklarının DPPH süpürme aktivitesi.....	28
Şekil 4.1.	Yeşil sentezleniş bakır nanopartiküllerin UV-Vis Spektrum taraması....	37
Şekil 4.2.	Yeşil sentezleniş bakır nanopartiküllerin FT-IR analizi.....	38
Şekil 4.3.	Yeşil sentezleniş bakır nanopartiküllerin XRD (X-Işını kırınım) Analizi	39
Şekil 4.4.	Sinir otu(<i>Plantago lanceolata</i> L.) sulu ekstraktı ile sentezlenmiş bakır nanopartiküllerin TEM görüntüsü.....	40
Şekil 4.5.	Sinir otu(<i>Plantago lanceolata</i> L.) sulu ekstraktı ile sentezlenmiş bakır nanopartiküllerin SEM görüntüsü	41
Şekil 4.6.	Sinir otu(<i>Plantago lanceolata</i> L.) sulu ekstraktı ile sentezlenmiş bakır nanopartiküllerin Zeta görüntüsü.....	42
Şekil 4.7.	(a) 25 °C ve (b) 40 °C, 15 mg, 20 ppm konsantrasyonda metilen mavisinin pH 2-8 aralığındaki giderim sonuçları.....	43
Şekil 4.8.	25 °C'de (a) pH 4, 5 mg Cu@NP, (b) pH 4, 10 mg Cu@NP, (c) pH 4, 15 mg Cu@NP, (d) pH 4, 20 mg Cu@NP'nin 10, 20, 50, 100 ve 200 ppm konsantrasyonlarında metilen mavisi giderim özellikleri.....	44
Şekil 4.9.	40 °C'de (a) pH 8, 5 mg Cu@NP, (b) pH 8, 15 mg Cu@NP, (c) pH 8, 10 mg Cu@NP, (d) pH 8, 20 mg Cu@NP'nin 10, 20, 50, 100 ve 200 ppm konsantrasyonlarında metilen mavisi giderim özellikleri.....	45
Şekil 4.10.	(a) 25 °C ve (b) 40 °C, 15 mg, 20 ppm konsantrasyonda Kongo kırmızısının pH 2-8 aralığındaki giderim sonuçları.....	45
Şekil 4.11.	25 °C'de (a) pH 6, 5 mg Cu@NP, (b) pH 6, 10 mg Cu@NP, (c) pH 6, 15 mg Cu@NP, (d) pH 6, 20 mg Cu@NP'nin 10, 20, 50, 100 ve 200 ppm konsantrasyonlarında kongo kırmızısı giderim özellikleri.....	46

Şekil 4.12.	40 °C’de (a) pH 6, 5 mg Cu@NP, (b) pH 6, 10 mg Cu@NP, (c) pH 6, 15 mg Cu@NP, (d) pH 6, 20 mg Cu@NP’nin 10, 20, 50, 100 ve 200 ppm konsantrasyonlarında kongo kırmızısı giderim özellikleri.....	47
Şekil 4.13.	CuNPs ve <i>Plantago lanceolata</i> L. ekstraktının A549 hücrelerine uygulanması ve onlar üzerindeki etkisi.....	48
Şekil 4.14.	CuNPs ve <i>Plantago lanceolata</i> L. ekstraktının SH-SY5Y hücrelerine uygulanması ve onlar üzerindeki etkisi.....	48
Şekil 4.15.	CuNPs ve <i>Plantago lanceolata</i> L. ekstraktının toplam fenolik madde içeriği (µg gallik asit/g).....	49
Şekil 4.16.	CuNPs ve <i>Plantago lanceolata</i> L. ekstraktının metal şelatlama aktivitesi (µg/mL).....	50
Şekil 4.17.	CuNPs ve <i>Plantago lanceolata</i> L. ekstraktının toplam flavanoid madde içeriği (µg kuersetin /g).....	51
Şekil 4.18.	CuNPs ve <i>Plantago lanceolata</i> L. ekstraktının DPPH giderme aktivitesi (µg/mL).....	52
Şekil 4.19.	CuNPs ve <i>Plantago lanceolata</i> L. ekstraktının metal şelatlama aktivitesi (µg/mL).....	53

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4.1. Antimikrobiyal aktivite için mikroorganizmaların absorbans değerleri...	54
Tablo 4.2. Antimikrobiyal aktivite için minumum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri.....	54



BİYOLOJİK SENTEZ (GREEN SENTEZ) İLE HAZIRLANMIŞ BAKIR NANOPARTİKÜLLERİN AZO BOYALARIN GİDERİMİNDE KULLANILMASI VE BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada; *Plantago lanceolata* L. ekstraktı kullanılarak sentezlenen bakır nanopartiküllerinin yeşil sentezi yapıldı. Sentezlenen CuNPs'lerin ilk olarak şekil, kimyasal form, boyut ve morfolojik yapılarının belirlenmesi için UV-vis, FT-IR, XRD, TEM, SEM, EDX ve Zeta potansiyel analizleri yapıldı. Tüm bu karakterizasyon işlemleri sonucunda elde edilen CuNPs'lerin ortalama 70-80 nm boyutunda ve kübik şeklinde olduğu tespit edildi. CuNPs'lerin metilen mavisi ve kongo kırmızı boya gideriminde ilk olarak pH'a bağlı değişim, daha sonra nanopartikül miktarı ve her iki boyanın da konsantrasyonuna bağlı olarak 25 °C ve 40 °C'de boya giderim deneyleri yapıldı. Elde edilen sonuçlarda metilen mavisinin en iyi giderimi 20 mg CuNPs ve 50 ppm MB başlangıç konsantrasyonunda kullanılarak yapılan deneyde %97,49 giderim gerçekleştiği görüldü. CuNPs'lerin antikanser aktivitesinde 1000 µg/mL'nin hem nanopartikül hem de bitki ekstraktı için en etkili dozumu olduğu ve sırasıyla; %76 ve %84 hücre ölümünün gerçekleştirdiği görüldü. SH-SY5Y hücreleri için yapılan sitotoksikite deneyinde CuNPs aktivitesi 1000 µg/mL'de %84, *Plantago lanceolata* L. ise %65 canlılık göstermiştir. Antioksidan çalışmaları için *Plantago lanceolata* L. ekstraktı ve CuNPs'ler 1 mg/mL konsantrasyonda *Plantago lanceolata* L. için 294,2691±79,13, CuNPs için bulunan toplam fenolik madde içeriği 23,015±61,12 olarak hesaplandı. Toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesinde *Plantago lanceolata* L. için toplam flavonoid madde içeriği 1772,00±200,14 , CuNPs için bulunan toplam flavonoid madde içeriği 1015,333±200,12 olarak hesaplandı. *Plantago lanceolata* L. ve CuNPs için bulunan toplam antioksidan aktivitesi sırasıyla 29794,67±190,07 ve 8304,6±150,04 olarak hesaplandı. 1000 µg/mL konsantrasyondaki DPPH radikali giderme aktivitesi, sentetik antioksidan olan BHA'nın, *Plantago lanceolata* L. ekstraktının ve CuNPs'nin DPPH giderim aktivitesi sırasıyla %69,8956±0,5836, %78,8612±0,6511, %89,7905±0,2137 olarak hesaplandı. Kontrol grubu olarak kullanılan EDTA'nın metal şelatlama aktivitesi %98,7600±0,9601, *Plantago lanceolata* L. ekstraktının metal şelatlama aktivitesi %13,5265±0,9755, CuNPs'nin metal şelatlama aktivitesi %74,3961±0,7889 olarak hesaplandı.

Anahtar Kelimeler: Bakır Nanopartikül, Yeşil Sentez, Su Giderimi, Metilen Mavisi, Kongo Kırmızısı, *Plantago lanceolata* L., Antioksidan, Antikanser, Antimikrobiyal

USAGE OF COPPER NANOPARTICLES PREPARED BY BIOLOGICAL SYNTHESIS (GREEN SYNTHESIS) FOR THE REMOVAL OF AZO DYES AND DETERMINATION OF SOME BIOLOGICAL ACTIVITIES

ABSTRACT

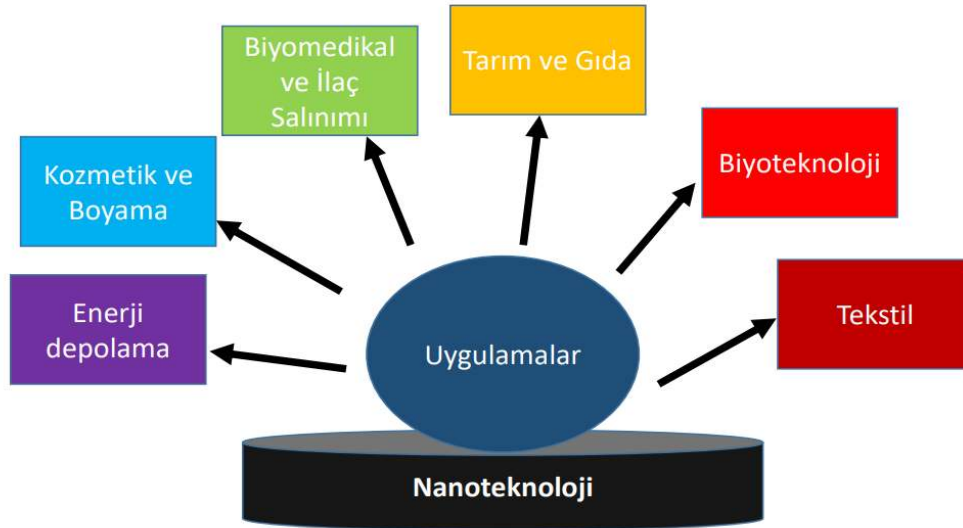
In this study, green synthesis of copper nanoparticles synthesized using *Plantago lanceolata* L. extract was carried out. First, some characterization processes were carried out to determine the shape, chemical form, size and morphological structures of the synthesized CuNPs. These characterization processes; UV-vis, FT-IR, XRD, TEM, SEM, EDX and Zeta potential. As a result of all these characterization processes, it was determined that the CuNPs obtained were approximately 70-80 nm in size and in cubic shape. In the methylene blue and congo red dye removal of CuNPs, experiments were first performed at 25 °C and 40 °C depending on the pH-dependent change, then the amount of nanoparticles and the concentration of both dyes. In the results obtained, it was observed that the best removal of methylene blue was achieved with 97.49% and 50 ppm MB concentration in the process using 20 mg CuNPs. In the anticancer activity of CuNPs, 1000 µg/mL is more effective for both nanoparticle and plant extract, respectively; 76% and 84%. In the cytotoxicity experiment performed for SH-SY5Y cells, CuNPs activity showed the best activity at 1000 µg/mL with 84% and *Plantago lanceolata* L. 65%. For antioxidant studies, *Plantago lanceolata* L. plant extract and CuNPs were calculated as 294.2691 ± 79.13 for *Plantago lanceolata* L. at 1 mg/mL concentration. The total phenolic content for CuNPs was calculated as 23.015 ± 61.12 . In determining the total flavonoid content, the total flavonoid content of *Plantago lanceolata* L. was calculated as 1772.00 ± 200.14 . The total flavonoid content for CuNPs was calculated as 1015.333 ± 200.12 . Total antioxidant activity for *Plantago lanceolata* L. and CuNPs was calculated as 29794.67 ± 190.07 and 8304.6 ± 150.04 , respectively. DPPH scavenging activity of DPPH radical scavenging activity, synthetic antioxidant BHA, *Plantago lanceolata* L. plant extract and CuNPs at 1000 µg/mL concentration were $69.8956 \pm 0.5836\%$, $78.8612 \pm 0.6511\%$, respectively $89.7905 \pm 0.2137\%$ was calculated. The metal chelating activity of EDTA, which was used as the control group, was calculated as $98.7600 \pm 0.9601\%$. The metal chelating activity of *Plantago lanceolata* L. plant extract was calculated as $13.526 \pm 0.9755\%$. The metal chelating activity of CuNPs was calculated as $74.3961 \pm 0.7889\%$. The metal chelating activity is EDTA > CuNPs > *Plantago lanceolata* L., respectively.

Keywords: Copper Nanoparticle, Green Synthesis, Water Removal, Methylene Blue, Congo Red, *Plantago lanceolata* L., Antioxidant, Anticancer, Antimicrobial

1. GİRİŞ

Nanoteknoloji, bilim, tıp, mühendislik ve teknolojinin nano ölçekte birleştirilmesinin incelenmesidir. Temel nokta, nanoteknolojinin esas olarak 1 nm ila 100 nm arasında değişen nanoparçacıkların kullanımını içermesidir. Richard Feynman nanoteknoloji düşüncesini ilk olarak 29 Aralık 1959'da Caltech'te bir Amerikan Fizik Derneği toplantısında “Altta Çok Yer Var” başlıklı konferansında tanıttı. Feynman'ın benzetmesinden esinlenerek K. Eric Drexler “nano teknoloji” terimini açıkladı(Bera ve Belhaj, 2016). Nanoteknoloji, nano ölçekte şekil ve boyutu kontrol ederek yapıların üretimi, sunumu, manipülasyonu ve uygulanması için kullanılan terimdir. Günümüzde nanoteknoloji, tıp, elektronik, elektrik, uzay ve bilgi, bilim ve mühendislikte yaygın olarak kullanılmaktadır(Rafique et al., 2017). Nanoteknolojinin gelişimi, insan yaşamının her alanında devrim niteliğinde bir etki yarattı. Madde parçacıkları genel olarak 1-100 nm ölçekte olduklarında ilginç ve şaşırtıcı özellikler sergilerler. Bu özelliklerden dolayı nano ölçekli malzemeler çeşitli optoelektronik, elektronik, kimyasal algılama ve biyolojik uygulamalar için yapı taşları olarak kullanılabilirler (Mukhopadhyay and Dauthal, 2016). Küresel araştırma çalışmaları, yeşil nanoteknolojiye büyük ilgi göstermektedir, çünkü yeşil nanoteknoloji, nanoteknolojinin bir sonucu olarak ortaya çıkan ve yeni doğmakta olan bir dalıdır. Yeşil nanoteknoloji, nanomalzemelerin üretim ve uygulamasının olumsuz etkilerini azaltmak, nanoteknoloji riskini azaltmak için mükemmel bir çözümdür. Tasarlanmış nanomalzemelerin üretimi, nanoteknoloji ve malzeme biliminde önemli bir atılımı temsil ediyor. Bu ürünleri laboratuvarın ötesine taşıyarak gerçek dünyaya yansıtmak gereklidir. Son yıllarda nanoteknoloji, sahip olduğu geniş potansiyel ve çeşitli endüstriyel alanlardaki uygulamaları nedeniyle en çok araştırılan alanlardan biri haline geldi (Olga et al., 2022). Nanoteknoloji, antibakteriyel yara bantları, şeffaf güneş kremleri, leke tutmaz kumaşlar, arabalar için çizilmeye karşı dayanıklı boyalar ve kendi kendini temizleyen camlar gibi tıp, tekstil, bilgi ve iletişim teknolojisi ve enerji alanlarında devrim yaratırken, nanoteknolojinin tüm gıda endüstrisini dönüştürme, üretim, işleme, paketlenme, taşıma ve tüketim şeklini değiştirme potansiyeline de sahiptir. Bununla birlikte, nanoteknolojinin tarım biliminde ve çevrede uygulanması henüz gelişme aşamasındadır. Ekilebilir arazilerin

düşük verimliliği, ekilmeyen birçok alan, ekilebilir arazilerin daralması, su, gübre, böcek ilacı gibi girdilerin israfı, mahsul ekimi israfı ve birçok gıda güvenliği sorunu gibi tarımdaki büyük zorluklar, çeşitli nanoteknolojik uygulamalarla kesinlikle çözülebilir. Sonuç olarak, kaynaklar (özellikle su ve mahsuller) üzerindeki tehlike nüfus ve bilinçsiz tüketim arttıkça artacaktır (Noah, 2019). Gıda enerjisi ve diğer endüstriyel kullanımlara olan talebi karşılamak için dünya çapında bitkisel üretime ayrılan arazi alanı artırılacaktır. Bununla beraber, bazı alanlarda çevresel etki yüksek olabilir. Temel ürünleri ve diğer hammaddeleri sürdürülebilir bir şekilde elde etmek için mevcut üretim sistemlerini iyileştirmek ve aşağıdakileri etkileyen çevresel etkiyi kontrol etmek gereklidir. Nanoteknolojinin kullanımı, tarımsal uygulamaların iyileştirilmesine ve çevresel sorunların ele alınmasına yardımcı olur. Aslında, yeşil teknoloji ile emisyon kontrolü ile tehlikeli yan ürünlerin oluşumu önlenabilir ve kirleticiler, arıtılmış akiferler veya kirlenmiş alanlar aracılığıyla su ve toprak kaynaklarından tespit edilebilir veya uzaklaştırılabilir. Nanomalzemeler için yaygın uygulamalar arasında su arıtma, atık su arıtma, endüstriyel ve ev uygulamaları, akıllı sensör geliştirme, çevre arıtma, ürün işleme, paketleme gıda endüstrisi, ürünler ve ilaçlar yer alır. (Mura et al., 2013).



Şekil 1.1 Nanoteknoloji uygulama alanları(Nasrollahzadeh et al., 2019)

Nanomalzemelerin geliştirilmesi ve kullanılması, güneş enerjisi dönüşümü, ilaç dağıtımı, kataliz, atık su arıtma ve hidrojen üretimi gibi çeşitli alanlarda farklı teknolojik ve çevresel zorluklara daha güvenilir ve sürdürülebilir bir alternatif çözüm sağladı (Pal et al., 2019). Örneğin, tıp alanında, farklı rahatsızlıklardan iyileşmeyi hızlandıran etkili ve bölgeye özgü ilaç dağıtımını sunan çeşitli etkileyici ilaç dağıtım sistemleri geliştirilmiştir. Nanoteknoloji alanındaki ilerlemeler, minimum kaynak kullanımı ve atık üretimi ile daha iyi verimlerle sonuçlanmıştır. Uluslararası Standardizasyon Örgütü'nün (ISO) 229 sayılı Dijital Komitesi, nanoteknolojiyi 2010 yılında "1-100 nm nanometre ölçeğinde nesnelerin ve organizmaların anlaşılması ve kullanılması" olarak tanımladı. Sonuç olarak, Geleceğe Yönelik Teknoloji Analizi (FTA), son elli yıldır gelişmekte olan nanoteknoloji alanında farklı kurallar, haklar ve yönetim yapıları formüle etmek için meşgul oldu. Diğer ülkelerle karşılaştırıldığında, Amerika Birleşik Devletleri ve Almanya nanoteknolojinin oluşumunda ve gelişmesinde öncüdür. On yıl önce, ABD Ulusal Bilim ve Teknoloji Konseyi nanoteknoloji araştırma ve geliştirmeye başladı (Singh et al., 2021).

Sanayi devriminden bu yana, insan faaliyetleri, kirlilik kaynaklı veya yoğun enerji gerektiren kaynaklara, çeşitli kimyasal ve fiziksel süreçlere büyük ölçüde bağımlı oldu. Bununla birlikte, tarımsal kimyasalların yaygın kullanımında geliştirilen kimyasal tarım ilaçları yıllar geçtikçe, üretilen gıda miktarını artırmış ancak toprak verimliliğini ve doğal kaynakların çevresel kalitesini ciddi şekilde düşürmüştür. Tarım kimyasallarının tarımsal ekosistemler (yani toprak, flora, ve su kütleleri) üzerindeki olumsuz etkileri ve ayrıca bunları kullanan çiftçilerin ve kimyasal olarak yetiştirilen gıdaları tüketen toplum üzerindeki olumsuz etkileri artık tüm dünyada daha belirgin hale gelmeye başladı. Sonuç olarak, çevresel zararı azaltmak için yeşil teknolojinin kullanımı yüksek bir öncelik haline geldi. Biyo-tabanlı teknolojilerin kullanımı, gıda, enerji, ilaç, kirlilik kontrolü vb. gibi insan ihtiyaçlarının kirlilik içermeyen stratejiler ve enerji içeren biyo-dönüşüm ve biyorafineri süreçleri ile karşılanması gerektiğine göre yeşil teknolojinin en büyük bölümünü temsil eder.

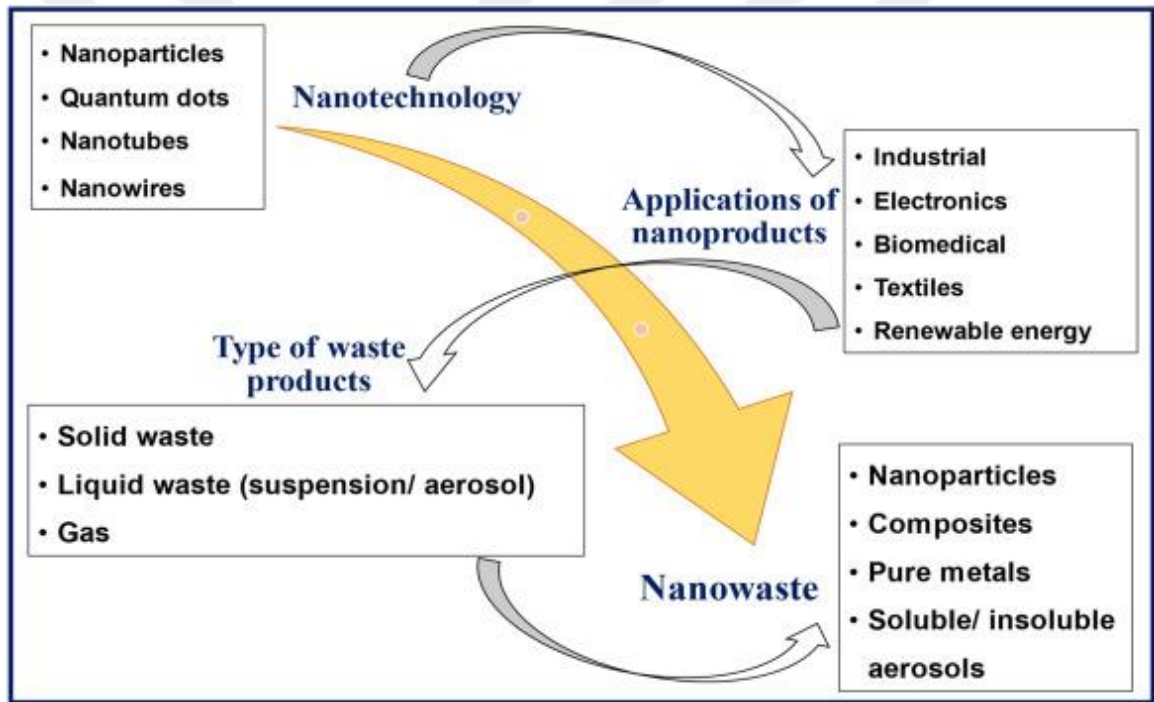
Nano ölçekte bir veya daha fazla dış boyuta veya bir iç yapıya sahip nanomalzemeler, daha büyük ölçekte aynı malzemeye kıyasla yeni özellikler sergileyebilir. Nanopartiküller (NP'ler) en iyi bilinen nanomalzemelerdir; yüzeylerinde bulunan atomların yüksek oranı

için baskın yüzey etkilerine sahiptirler ve bu da reaktivitelerinde önemli bir artışa yol açar. Ayrıca, bu parçacıklar faz dönüşümüne tabi tutulur. Aslında, kuantum noktalarında açıkça görüldüğü gibi, boyutlarını ve şekillerini değiştirmek kimliklerini de değiştirir. Boyutta nano ölçekte bir azalma, öncelikle artan yüzey/hacim oranı nedeniyle parçacıkların özelliklerini değiştirir. Karakteristiklerdeki bu değişikliklerin herhangi birinin önemini tahmin etmek için henüz hiçbir paradigma yoktur, bu nedenle NP'lerin ve nanoyapıların güvenlik değerlendirmesi, dökme malzemenin tarihsel olarak belirlenmiş toksikolojik ve ekotoksikolojik profiline dayanamaz. Çeşitli kimyasalların (metaller, karbon, diğer inorganik ve organik kimyasallar) nanoparçacık formları, diğer fiziksel formlarından niteliksel veya niceliksel olarak farklı özelliklere sahip yeni ürünler üretmek için geliştirilmektedir. Bu nedenle, biyolojik sistemlerle ve biyolojik sistemlerdeki etkileşimlerinin de değişmesi şaşırtıcı olmayacaktır. NP'lerin biyolojik davranışı, yüzeydeki kaplamalar, boyuttaki azalma ve buna karşılık gelen kimyasal ve fiziksel özelliklerdeki kaymalar, yüzey/hacim oranındaki ilişkili artış ve şekil dahil olmak üzere kimyasal bileşim tarafından belirlenir. Ek olarak, NP kümelenmelerinin biyolojik davranışları üzerinde de etkisi olabilir(Mura et al., 2013).

Nanopartiküllerin bitki aracılı sentezi, çevre dostu ve uygun maliyetli özelliklerinden dolayı büyük ilgi gördü. Bitkiler (inaktive edilmiş bitki dokusu, bitki özleri ve canlı bitki) kullanılarak metal nanoparçacıkların (özellikle altın ve gümüş nanoparçacıkların) biyolojik sentezi, kimyasal sentetik yöntemlere uygun bir alternatif olarak büyük ilgi gördü. Doğal indirgeyici, kapatıcı ve stabilize edici ajanların kullanıldığı yeşil sentez, alıcıda toksik etkilerin sıklığını ve şiddetini önemli ölçüde azaldı. Metal nanoparçacıklar, manyetik kayıt ortamı veya mikroelettronik, kataliz, nanosensörler, nanoelettronik, optoelettronik ve bilgi depolama cihazları gibi farklı bilim alanlarında yaygın olarak sentezlenmekte ve sırasıyla geniş kullanım alanları buldu(Sharma et al., 2018). Gelişmekte olan yeşil kimya sektörünün temel yönü, bir grup temelin kullanılması, tasarım veya üretim ve kimyasal ürünlerin uygulanması ile ilgili tehlikeli madde kullanımını veya oluşumunu azaltır veya ortadan kaldırırken, yeni kimyasal prosesler tasarlarken küçük riskleri yürütme kriteri olarak görselleştirir (El Shafey, 2020). Çok sayıda çalışma, nanometre ölçekli malzemelerin, toplu ölçekli benzerlerinden önemli ölçüde farklı olan benzersiz kimyasal, fiziksel, elektronik, optik, termal, mekanik ve biyolojik özellikler sergilediğini gösterdi

(Fawcett et al., 2017). Nanomalzemelerin biyoteknolojide kullanılması, biyoloji ve malzeme bilimi alanlarını birleştirdi. Nanopartiküller, potansiyel olarak geniş kapsamlı uygulama ile benzersiz özellikler gösteren, esasen kullanışlı bir platform ortaya koydu (Ingale and Chaudhari, 2013). Nanoteknolojide en kullanışlı şey nanoparçacıktır ve genellikle "mühendislik ürünü nano malzeme" olarak da adlandırılır. Genel anlamda nanoparçacıklar, yukarıda belirtildiği gibi en küçük boyutlarla birbirine bağlanmış atom topluluklarıdır. Nanopartikülün bir başka yüksek derecede çekici özelliği, süspansiyon yapmak için eklendiğinde çözücü molekülleri ile etkileşimi daha verimli hale getiren geniş yüzey alanıdır (Tamil et al., 2022). Bununla birlikte nanomalzemelerin en önemli özellikleri arasında optik şeffaflık (bakır nanoparçacık) ve renk değişimi (altın nanoparçacık), kimyasal kataliz (platin nanoparçacık), elektriksel iletkenlik (silikon nanoparçacık), ısı transferi, soğutma ve malzemenin ultra yüksek mukavemeti gibi mekanik mukavemetin yalıtımı ve özelliği ön plana çıktı (Bera and Belhaj, 2016). Nanopartiküller, katalitik aktivite, su arıtma, kimyasal ve biyolojik sensörler, kablosuz elektronik mantık ve hafıza şemaları gibi biyolojik ve tıbbi yönlerle ilgili çeşitli uygulamalara sahiptir. Nanopartiküller küçük boyut aralığı (1-100 nm) nedeniyle, yüksek bir yüzey alanı ve reaktivite sağlarlar, bu da onları terapötik amaçlar için biyotıpta popüler hale getirdi (Chandraker et al., 2019). Bilim ve teknolojinin ilerlemesiyle birlikte, yaşamın hemen her alanındaki ilerlemeler artık kilit bir ilgi kazandı. Buna doğru, çok işlevli nano yapı malzemeler, özellikle günlük yaşamda çok sayıda potansiyel uygulama topladı. Ek olarak, kimyasal sentez, tehlikeli kimyasalların kullanımını ve toksik yan ürünlerin oluşumunu içerir. Yeşil teknoloji ise, bitki ekstraktlarında bulunan bakteri, alg, mantar, virüs ve fitokimyasallar gibi mikroorganizmaların kapatma ajanlarının yanı sıra indirgeme görevini yerine getirmesi nedeniyle kimyasalların kullanımını azalttı. Bitkiler ve mikroorganizmalardan bitkiler, kolay temin edilebilmeleri, herhangi bir karmaşık prosedür izlenmeden doğrudan kullanılabilmesi ve terpenoidler, proteinler, şeker, fenolik bileşikler, flavonoidler ve alkaloidler gibi biyoaktif maddeler içermeleri nedeniyle daha uygundur. metal iyonlarını kolayca kararlı nanoparçacıklara dönüştürür (Sharma et al., 2021). Yeşil nanoteknoloji yaklaşımlarıyla sentezlenen nano nesneler arasında belki de en umut verici olanı, bu nanoyapıların benzersiz bir şekilde erişebildiği özelliklerden dolayı fonksiyonel malzemeler olarak yaygın olarak kullanılan metal nanoparçacıklardır (Silva et al., 2015).

Nano yapılar elde etmek için iki temel yaklaşım vardır, yani yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya yöntemler. Yukarıdan aşağıya yaklaşım, çeşitli litografik teknikler kullanılarak boyut küçültme yoluyla dökme malzemenin ince parçacıklara ayrılmasını içerir; taşlama, frezeleme, püskürtme ve termal/lazer ablasyon. Aşağıdan yukarıya yaklaşımda, nanoparçacıklar, örneğin atomları, molekülleri ve daha küçük parçacıkları birleştirerek daha küçük varlıklardan üretilir. Aşağıdan yukarıya sentez çoğunlukla kimyasal ve biyolojik üretim yöntemlerine dayanır. Aşağıdan yukarıya yaklaşımın önemli bir yararı, nispeten daha az kusurlu ve daha homojen kimyasal bileşime sahip metalik nanoparçacıklar hazırlama olasılığının artmasıdır(Vijayaraghavan and Ashokkumar, 2017).



Şekil 1.2 Nanoteknolojinin uygulama alanlarındaki yapıları(Sharma et al., 2022)

Nano ölçekteki malzemelerin çeşitli özelliklere sahip olmasının iki temel nedeni, yüzey/hacim oranındaki artış ve yeni kuantum etkileridir. Nanomalzemeler, daha dikkat çekici katalitik reaktiviteye yol açabilen ve kalitelerini etkileyebilen, dökme malzemelerinkinden çok daha belirgin bir yüzey alanı-hacim oranına sahiptir. Benzer şekilde nano ölçekte, kuantum etkileri, malzeme özellikleri ve niteliklerine karar vermede önemli ölçüde daha hayati olabilir. NP'lerin optik özellikleri, aynı bileşime sahip tek kristalinkinden oldukça farklıdır.

Metalik NP'ler arasında gümüş, alüminyum, altın, çinko, platin, titanyum, paladyum, demir ve bakır yaygın olarak kullanılmaktadır. Altın NP'ler 16. yüzyılda bile hem terapötik hem de yeniden renklendirme amacıyla kullanıldığından, yeşil sentez ve diğer organik metodolojiler yoluyla ekolojik olarak prosedürlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır (Rafique et al., 2017). Nanopartiküller, çeşitli kimyasal nitelikler sergiler ve metalik (gümüş, altın, bakır, çinko, vb.) olabilir veya metal oksit, silikatlar, polimerler, organikler veya karbondan oluşabilir. Nanopartiküller, farklı kimyasal yapılarına ek olarak, küreler, silindirler, levhalar veya tüpler gibi farklı morfolojilerde üretilebilir. Nanopartiküllerin bu şaşırtıcı morfolojik ve kimyasal çeşitliliği, oluştukları ortamın türüne ve ayrıca ortamda bulunan biyoaktif bileşiklerin sayısına bağlı olarak şekil alır (Pal et al., 2019). NP'lerin hem hidrofilik hem de hidrofobik maddeleri tutma özelliği onları uygun ilaç taşıyıcıları yapar. Nanomalzemeler farklı fiziksel ve kimyasal yöntemlerle üretilir. Bununla birlikte, yüksek enerji gereksinimleri, karmaşık enstrümantal tasarım, yüksek pahalılık ve düşük verim, fiziksel yaklaşımla ilişkili birkaç önemli eksikliktir. Kimyasal sentez yöntemi daha ekonomiktir ve basit deney düzeneği ile yüksek verim sağlar. Ancak kimyasal yöntem, çevre için çok tehlikeli ve zararlı olan toksik ve uçucu kimyasal reaktanların kullanımını içerir. Yüksek buhar basıncı nedeniyle aromatik aminler ve tiyoller gibi uçucu çözücüler hava kirliliğine neden olur. Sodyum borohidrat ve hidrazin türevleri gibi indirgeyici maddelerin kullanımı çevre için oldukça zararlıdır. Bu gerekçeler, araştırmacıları, NP'lerin sentezi için çevre dostu ve sürdürülebilir alternatif yollar geliştirmeye yöneltti. Bu nedenle, sentetik amaçlara yönelik yeşil protokoller, bilim camiasından önemli ölçüde kabul gördü (Singh et al., 2020). Ayrıca NP'ler, antimikrobiyal aktivitelerinden dolayı nano antibiyotikler olarak kabul edilmeye başlandı. Nanopartiküller, sentezlerine yeşil ve çevre dostu bir yaklaşım gerektiren tüketicilerin çeşitli endüstriyel, sağlık, gıda, yem, uzay, kimya ve kozmetik endüstrilerine entegre edildi (Agarwal et al., 2017). Genel olarak özetleyecek olursak, nanoparçacıklar üç farklı yöntemle sentezlenir: fiziksel, kimyasal ve biyolojik. Nanoparçacıkların sentezi için kullanılan fiziksel yöntemler arasında termal ayrıştırma konumu, lazer ışınlama ve elektroliz bulunur. Örneğin termal ayrıştırma yönteminde sentezleme işlemi çok yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Fiziksel yöntemlerin genel dezavantajları, genellikle enerji yoğun olmaları ve nanoparçacıkları hazırlamak için maliyetli vakum sistemleri veya ekipmanı gerektirmeleridir. Nanopartiküllerin kimyasal sentezi için en sık kullanılan yöntem, indirgeyici ajan olarak

sodyum borohidrit veya sodyum sitrat gibi kimyasalların kullanıldığı kimyasal indirgeme yöntemidir. Kimyasal sentezlerin çeşitli avantajları olmasına rağmen, sentez prosedüründe nano partiküllerin ve polar olmayan solventlerin yüzeyinde toksik kimyasalların kullanılması, klinik alanlardaki uygulamalarını sınırlandırmaktadır. Bu nedenle, birkaç araştırmacı nanoparçacık sentezi için temiz, biyouyumlu, toksik olmayan ve çevre dostu yöntemler geliştirmeye çalıştı. Bu yoğun araştırma, nanoparçacık üretimi için biyolojik sentez yolunun geliştirilmesine yol açar. Nanopartiküllerin biyolojik sentezi bakteri, mantar, maya, virüs, mikroalg, makroalg ve bitki biyokütlesi/ekstresi gibi farklı biyomalzemeler kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Çeşitli biyolojik organizmaların bu alanda kullanımı, artan başarıları ve nanopartikül oluşum kolaylıkları nedeniyle hızla gelişmektedir. Çeşitli biyolojik materyallerden, bitki biyokütlesi/özü, nanoparçacık sentezinde diğer mikroskobik organizmalara göre birkaç eylemsiz avantaja sahiptir. Metalik nanopartiküllerin bitki aracılı biyo sentezi, bitki biyokütlesinde bulunan biyomoleküller (proteinler, vitaminler, amino asitler, enzimler, polisakaritler ve veya sitratlar gibi organik asitler gibi) aracılığıyla gerçekleşti (Vijayaraghavan and Ashokkumar, 2017). Üretilen nanoparçacıkların özelliklerinin büyük ölçüde parçacık boyutu, morfoloji ve boyut dağılımı gibi belirli parametrelere bağlı olduğu yapılan çalışmalarda gösterildi. Sonuç olarak, sentez sırasında hem partikül boyutu hem de şekli çok önemlidir. Böylece üretim sırasındaki etkin kontrol, nanopartiküllerin belirli uygulamalar için özelleştirilmesini sağladı (Fawcett et al., 2017). Metal nanoparçacıklar en sık tanımlanan nanomalzemelerden biridir. Nanoparçacık üretiminin biyolojik yöntemleri, çevre için daha iyi, daha ucuz ve geleneksel işlemlerden daha az enerji yoğun olabilir. Biyolojik yaklaşımlar, bakteri, maya ve mantarlar gibi bitki özleri veya mikro organizmaların kullanılmasını içerir (Zawadzka et al., 2021). Nanopartiküllerin boyuta bağlı fiziksel özellikleri, çoğunlukla ilaç dağıtımı, gen dağıtımı, doku mühendisliği, floresan biyolojik etiketler, protein tespiti ve DNA yapılarının araştırılması alanında uygulanmaktadır. İçinde bulunduğumuz on yılda, nanoteknolojideki ilerleme, nanotıp ve malzeme bilimleri alanlarında yeni fırsatlar sunan yeni nanoparçacıkların geliştirilmesine yol açtı.

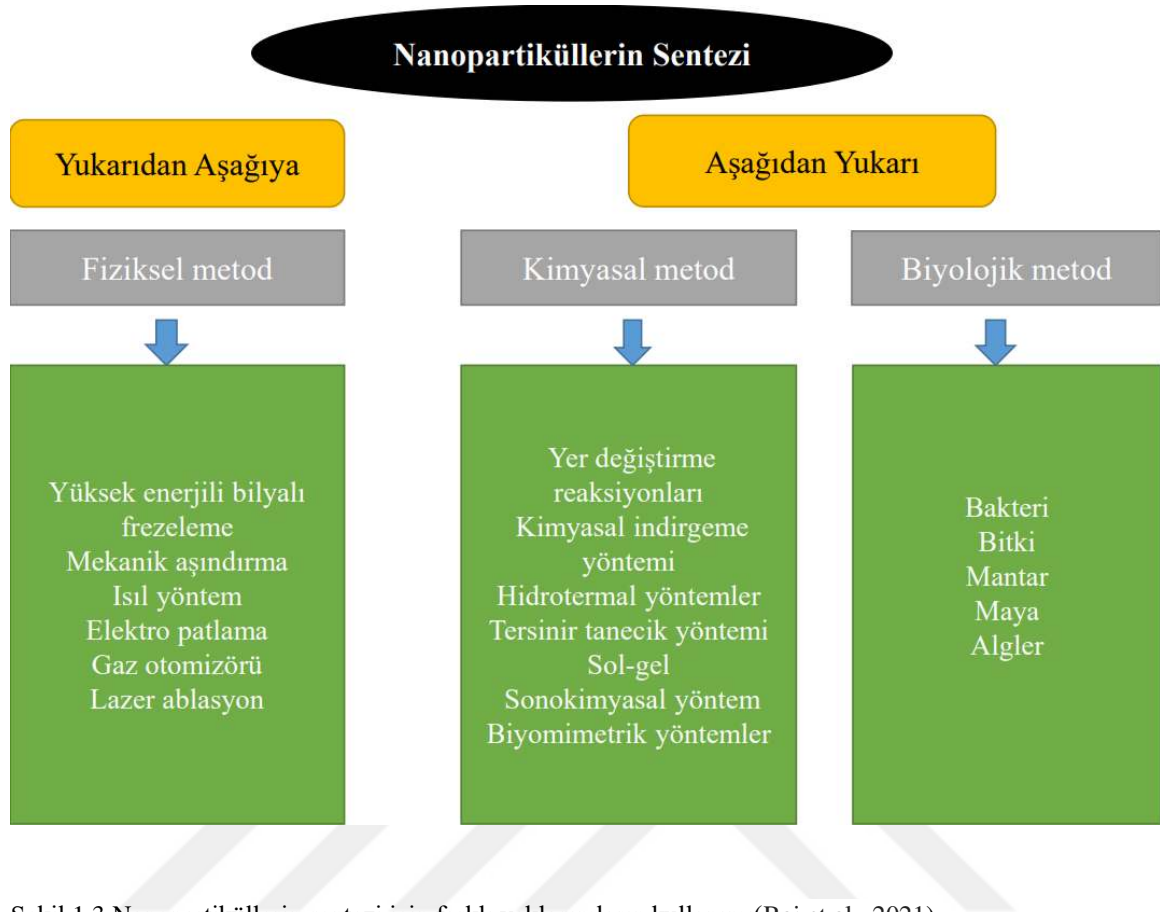
Bakır oksit nanoparçacıkları (CuONP'ler) kişisel bakım ürünleri, gıda saklama ev aletleri, kaplar, boyalar, gıda takviyeleri, tekstil ve çamaşır katkı maddeleri gibi çok sayıda üründe yaygın olarak kullanılmaktadır. Metal nanoparçacıklar arasında, bakır oksit

nanoparçacıkları (CuONP'ler), mükemmel manyetik özellikler gösterdikleri için hücresel hedefleme ve ilaç dağıtımındaki potansiyel uygulamaları nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekti. Ayrıca, metal nanopartiküller, biyo makromoleküllerle konjugasyonunu destekleyen tiyol gruplarına (S-S) yüksek bağlanma afinitesine sahiptir. Konjugasyon ayrıca hedef hücrede spesifik bağlanmaya da izin verir. Son birkaç yılda NP'ler, bitki, yaprak, kök ve tohum ekstresi gibi çok sayıda biyolojik kaynak kullanılarak sentezlendi. NP'lerin sentezinde bakteri, maya ve mantarlar da kullanıldı. Bu biyolojik kaynaklar metal iyonlarını saf metal/oksite indirger. Biyolojik sistemde birkaç metal oksit bazlı nano partikül incelenmektedir, ancak çalışmaların çoğu öncelikle biyojenik/yeşil sentezden ziyade kimyasal olarak sentezlenen NP'lere odaklandı. Daha önce bahsedildiği gibi, NP'ler biyomedikal alanlarda uygulama bulur, bu nedenle yeşil sentezlenmiş nanopartiküllerin antikanser, antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin incelenmesi çok olağan oldu. NP'ler kendilerini biyo-teşhis sistemleri için sondalar haline getirmiştir ve birkaç karsinomaya karşı hedeflenen ilaç dağıtımında faydalıdır. Bu nedenle, CuONP'lerin biyomedikal uygulamalarının gereksinimleri giderek arttı(Siddiquee et al., 2021). Bitki özlerinin, nanopartiküllerin sentetik sürecinde hem indirgeyici hem de kapatıcı ajan olarak görev yaptığı tespit edildi. Bitki özleri kullanılarak CuNP'lerin yeşil sentezi, basit ve uygun maliyetli olduğu için fiziksel ve kimyasal sentetik yöntemlere göredaha çok gelecek vaat eder. Ayrıca bu yöntemde yüksek basınç, sıcaklık, enerji, toksik, pahalı ve tehlikeli kimyasal indirgeyiciler, kullanımına gerek yoktur(Nasrollahzadeh et al., 2019). Biyolojik aktivite ile ilgili olarak, CuNP'ler, antioksidan, antiradikal, metal şelatlayıcı, antiinflamatuvar ve özelliklere ek olarak antimikrobiyal aktivite de gösterdi. Aslında CuNP'lerin toksisitesi bakteri, mantar, virüs gibi birçok patojenik organizma üzerinde doğrulandı. CuNP'lerin etki mekanizması, tam olarak anlaşılmasa da, nanopartiküller tarafından salınan bakır iyonik türlerin içsel toksisitesi ile ilgilidir, bu da onların redoks davranışlarına ve reaktif oksijen türlerinin üretimini tetikleme kapasitelerine bağlıdır. Ayrıca, CuNP'ler, nano ölçekli boyutlarından dolayı ek bir toksisite sergilerler. Daha ayrıntılı olarak, Cu(0)NP'lerin ve Cu₂ONP'lerin toksisitesi, bakteriyel büyümeyi inhibe etme seviyesinin altında salınan Cu²⁺ konsantrasyonlarının varlığında uygulandı, böylece bakır tuzu çözeltileri yerine CuNP'lerin kullanılmasının önemi ortaya çıkmış oluyor (Benassai et al., 2021). Geniş yüzey alanı ve yüksek yüzey enerjisi nedeniyle de katalitik aktivitede üstün performans gösterirler ve bazıları alkol dehidrojenasyonu, aminlerin

alkilasyonu, karbon monoksit oksidasyonu ve kirleticilerin bozulması gibi çeşitli kimyasal reaksiyonlarda mükemmel sonuçlar gösterdi. Bununla birlikte, nano boyutlu bakır partiküller, yüksek yüzey enerjileri ve Van der Waal bağı kurmaları nedeniyle kolayca toplanır. Nanopartiküllerin bu şekilde toplanması, katalitik performanslarının düşmesine neden olur. Bu nedenle, nanopartikülleri stabilize etmek ve agregasyonlarını önlemek için sistemlere ihtiyaç vardır. Asil metal nanopartiküller yüksek katalitik performans gösterse de, yüksek maliyetleri ve geri kazanımlarındaki zorluklar ticari olarak benimsenmesinin önündeki ana engellerdir. Bu nedenle, uygun maliyetli ve soy metal katalizörlerine benzerlerinin geliştirilmesi, mevcut araştırmanın odak noktasıdır. Bu bağlamda geçiş metali nanoparçacıkları en iyi alternatifler olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte, havaya maruz kaldıklarında hızlı oksidasyon konusunda büyük sınırlamaları vardır. Örneğin bakır (Cu), hazırlık ve depolama sırasında CuO ve Cu₂O'ya oksitlenir ve Cu²⁺'ya dönüşür, bu nedenle Cu nanoparçacıklarını sentezlemek zordur. Bu nedenle, adsorpsiyonla birlikte katalitik bozunma, organik kirleticileri ortadan kaldırmak için en umut verici ve yeşil teknolojilerden biridir (Haider et al., 2016). CuNP'ler, düşük maliyeti, kolay bulunabilirliği ve sahip oldukları özelliklerin diğer metalik NP'lerinkine benzer olması nedeniyle büyük ilgi gördü. CuNP'ler, ısı transfer sıvılarında, sensörlerde, antimikrobiyal ve katalizde uygulamalar bulur. Mevcut literatür ayrıca, *T. arjuna* kabuğu özütü, *Cappariouss zeylanica* yaprak suyu, *Ocimum sanctum* yaprak suyu, *Syzygium aromaticum* (karanfil) sulu özü ve *Vitis vinifera* yaprak suyunun yanı sıra çeşitli diğer bitki özütlerinin indirgeyici ve kapatıcı olarak kullanımının bulunduğu yeşil bir yolla CuNP'lerin başarılı sentezini bildirmektedir. Nanopartiküllerin özellikleri, bitki ekstraktının içeriğinden kaynaklanır, çünkü her bitki özü, benzersiz konsantrasyon ve organik indirgeyici ajanların kombinasyonunu içerir. CuNP'lerin sentezi için bu yeni biyolojik kaynakların icadı, bu kaynaklar bol miktarda mevcut, uygun maliyetli ve uygun şekilde uygulanabilir olduğundan, fiziksel ve kimyasal yöntemlerden daha faydalıdır. Aslında, sulu bir fazdaki saf metalik CuNP'ler, araştırmacı için hala zorlayıcıdır. Ayrıca, basit ve yeşil bir yolla monodispers CuNP'lerin elde edilmesi çok ilgi çekicidir. Bitki özleri genellikle flavonoidler, proteinler, terpenoidler, polifenoller vb. içerir, bu biyomoleküller metal iyonu için indirgeyici ajan ve NP'lerin aglomerasyonunu en aza indirmek için kapak ajanları olarak işlev görür, böylece biyolojik potansiyeli en iyi hale getirdi (Nagar and Devra, 2018). Diğer asil MNP'lere benzer şekilde, CuNP'ler mükemmel elektriksel ve termal iletkenlik ve antimikrobiyal aktiviteler gösterdi.

Son yıllarda, yeşil yöntemler, saf veya oksit MNP'lerin sentezinde büyük ilgi gördü. Ancak, bu yöntemlerin gerçek yeşil olmaması büyük bir sorundur. Genel olarak, bitki ve bakteri, NP'lerin yeşil sentezi için iki önemli kaynaktır. Bitkisel türün aksine, bakteriler tarafından NP'lerin biyosentezi, polifenoller ve flavonoidler dahil olmak üzere çoklu sekonder metabolitlerin olmaması nedeniyle NP üretiminde yüksek polidispersite indeksi (PDI) dezavantajlarına sahip değildir. NP'lerin biyosentezi için bakteriyel yaklaşım durumunda, kültür süpernatanı, bakteriyel biyokütle, hücresiz ekstrakt ve bakteri kaynaklı bileşenleri kullanabilir (Rad et al., 2018). Bakırın mevcudiyeti, gümüş ve altın dahil olmak üzere diğer pahalı asil metallerin özelliklerine benzer özellikleri paylaştığı için, çalışmak için daha iyi bir seçimdir. Mevcut araştırmalarda bakır seçimi yukarıda belirtilen faktörlere dayandırılmaktadır ayrıca bakır nanopartiküllerin bir dizi bakteri ve mantar türüne karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir. Daha önceki çalışmalarda bakır nanopartiküllerin *E. coli* ve *Staphylococcus* türlerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirtilmiş ve benzer antifungal özellikler de rapor edildi. Bununla birlikte, bakır nanopartiküllerin havaya maruz kaldığında hızlı oksidasyonu içeren büyük sınırlamaları vardır (Usman et al., 2013). Son yıllarda nanoparçacıkların mikrobiyal sentezi de, nanobiyoteknolojide umut verici bir araştırma alanı olarak ortaya çıktı. Bakteriler, mantarlar, aktinomisetler, mayalar ve virüsler gibi mikroorganizmaların, hücre içi veya hücre dışı olarak metal nanoparçacıklar üretme potansiyeline sahip olduğu ve nanoparçacık sentezi için potansiyel biyofabrikalar olarak kabul edildiği bildirilmektedir. Bakteriler, mantarlar, aktinomisetler, maya ve virüsler kullanılarak metal nano parçacıkların biyosentezine yönelik büyük çaba sarf edildi. Yukarıda bahsedilen sentez yöntemlerine ek olarak, metalik nanoparçacıkların sentezlenmesi için tüm bitkilerin parçalarını biyolojik fabrikalar olarak kullanan bitki aracılı sentez ayrıca avantajlı ve karlı bir yaklaşımdır. Mikroorganizmalarla karşılaştırıldığında, bitki ile sentez yöntemi mikrobiyal izolasyon, kültürleme, bakım vb. gibi karmaşık ve çok adımlı işlemler gerektirmez ve nanopartiküllerin toplu üretimi için kolayca ölçeklenebilen çok hızlı ve uygun maliyetli bir yaklaşımdır. Ayrıca, bitkiler kullanılarak nanoparçacık sentez hızının mikroorganizmalardan daha hızlı olduğu ve üretilen nanoparçacıkların daha kararlı olduğu gözlemlendi. Ayrıca bitki ile sentezi bilinen diğer nanoparçacık sentez yöntemlerine kıyasla gerçekten "yeşil" bir sentez yoludur. Bitkilerin çok çeşitli metabolitleri barındırdığı bilinmektedir (Akhtar et al., 2013). Son yıllarda, CuNP'ler, malzeme bilimcileri ve

araştırmacıları için araştırma odağı oldu. Bunun nedeni, gümüş ve altın nanoparçacıklara kıyasla daha düşük maliyetleri ve çabuk bulunabilirlikleridir. CuNP'lerin kataliz, elektronik ve anti bakteriyel aktivite alanında birçok uygulaması vardır. Bununla birlikte, nispeten daha düşük redoks potansiyeline sahiptirler ve havaya maruz kaldıklarında oksidasyona eğilimlidirler. Bu nedenle, bu CuNP'lerin sentezi çok zorlu bir iştir. Bu oksitlenebilir CuNP'lerin üretimine ilişkin literatür genellikle hidrotermal yöntemi, ters misel sentezini, termal indirgemeyi ve mikro dalga destekli pilol yöntemini içerir. Tekstil ve diğer endüstrilerden çeşitli boyaların salınması suyu kirletir ve ekosistemimiz için bir tehdit oluşturur. Bu nedenle, su kirliliğinin en aza indirilmesi için bunların tamamen ortadan kaldırılması esastır (Pal et al., 2019). Geçmişte bunun için çeşitli metodolojiler rapor edilmiştir. Ancak, tüm bu yöntemlerin belirli dezavantajları vardır. Aksine, uygun nanokatalizörün varlığında fotokatalitik yaklaşım, çeşitli kirleticilerin sulu ortamdan tamamen ortadan kaldırılması için bir potansiyel sunar. Bu nedenle, boyaların bozunması için bir fotokatalizör olarak CuNP'leri (herhangi bir yarı iletken metal oksit NP'leri ile katkı yapmadan) seçilebilir. Bu CuNP'ler yüksek yüzey alanına ve çok sayıda aktif bölgeye sahiptir. Sinha ve Ahmaruzzaman (2015) yaptığı bir araştırmada, bir azo boya olan metil kırmızısı doğası gereği kanserojendir ve solunum ve sindirim sorunlarına neden olur. Bu nedenle, bu çalışmalarında, metil kırmızı boyanın güneş ışınımı ile bozunması için sentezlenen CuNP'lerin fotokatalitik aktivitesini rapor edildi (Sinha and Ahmaruzzaman, 2015).



Şekil 1.3 Nanopartiküllerin sentezi için farklı yaklaşımların kullanımı(Raj et al., 2021)

Düşük maliyetli ve çevre dostu bir yol geliştirme girişiminde, araştırmacılar metalik nanoparçacıkların sentezi için biyolojik malzemelerin potansiyelini kullandılar. Biyolojik (yeşil) sentez, hücre dışı veya hücre içi indirgeyici kaynağı olarak biyolojik kütle/ekstre kullanılarak metal iyonlarının indirgenmesini içerir. Maliyet etkinliği ve çevre dostu olmanın yanı sıra, biyolojik yaklaşımın geleneksel fiziksel ve kimyasal yöntemlere göre avantajları arasında, standart sıcaklık ve basınçta sulu ortamdaki reaksiyonları katalize etme işleminin etkinliğinin yanı sıra, neredeyse her ortamda ve her ölçekte uygulanabileceği için işlemin esnekliği yer alır. Biyolojik malzemelerin bileşenleri indirgmeden sorumludur ve süreç genellikle hücrede bulunan fenolik, karbonil, amin, amid grupları, proteinler, pigmentler, flavononlar, terpenoidler, alkaloidler ve diğer indirgeyici maddeler gibi çeşitli bileşikler tarafından tetiklenir (Shubhashree et al., 2022). Metalik nanoparçacıkların üretiminden bu gruplardan/ajanlardan birden fazlası sorumlu olabilir. Bu grupların/ajanların bileşiminin her biyomateryal tipine göre değiştiği göz önüne alındığında, nanoparçacıkların biyosentezi ile bağlantılı kesin mekanizmanın

aydınlatılması zor olabilir ve henüz tam olarak anlaşılmadı. Bakteriler, mantarlar, maya, virüs, mikroalgler, makroalgler ve bitki biyokütlesi/özü, metalik nanoparçacıkların sentezinde kullanılan önemli biyolojik materyallerden bazılarıdır (Vijayaraghavan and Ashokkumar, 2017; Ahmad et al., 2019). Biyolojik malzemelerin nanoparçacıkları sentezleme yeteneği yeni bir teknik olmasına rağmen, metal iyonları ve mikro/makro-organizma arasındaki etkileşimler, mikroorganizmaların biyoliç ve biyobirikim süreçlerinde metalleri çıkarma veya biriktirme yeteneği gibi onlarca yıldır bilinmektedir. Nanopartiküllerin biyosentezi için bitkiler canlı veya ölü/aktif olmayan formlarında kullanılabilir. Bununla birlikte, son zamanlarda, nanoparçacıkların sentezi için indirgeyici olarak aktif olmayan bitki parçaları kullanılarak çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bitkilerde bulunan terpenoidler, flavonlar, ketonlar, aldehytler, proteinler, amino asitler, vitaminler, alkaloidler, tanenler, fenolikler, saponinler ve polisakkaritler gibi biyomoleküller metallerin indirgenmesinde hayati bir rol oynamaktadır. Bitki biyokütlesi ya toz halinde ya da özüt olarak kullanılabilir. Genel olarak, bitki biyokütle partikülü/özü, çalkalamalı veya çalkalamasız olarak oda sıcaklığında ve istenen pH'da metal tuzu çözeltisi ile karıştırılır (Rana et al., 2020).



Şekil 1.4 Bitki özü kullanılarak nanopartiküllerin yeşil sentezi için çevre dostu ve ucuz yol(Jadoun et al., 2021)

Son birkaç on yılda, yeşil kimya ve nanoteknolojiye yönelik artan talep, bitkiler, mikroorganizmalar ve diğerleri aracılığıyla nanomalzemelerin sentezi için yeşil sentetik yolların benimsenmesine doğru itmektedir. Nanopartiküllerin yeşil sentezi, çevre dostu bir yaklaşım benimseyerek son yıllarda araştırmacıların odaklandığı araştırma alanı olmuştur. Bitki özü aracılı nanoparçacıkların sentezi ve bunların maliyet etkinliği, toksik olmayan yolu, kolay bulunabilirliği ve çevre dostu doğası nedeniyle çeşitli alanlardaki potansiyel uygulamaları hakkında çok sayıda araştırma yapıldı. Ayrıca kataliz, tıp, su arıtma, boya bozunma, tekstil mühendisliği, biyomühendislik bilimleri, sensörler, görüntüleme, biyoteknoloji, elektronik, optik ve diğer biyomedikal alanlar gibi geniş bir uygulama alanına sahiptirler. Ek olarak bitkiler, senteze yardımcı olan ve sentez oranını artıran bazı benzersiz bileşikler içerir(Khan et al., 2019). Bitkilerin nanoparçacıkların yeşil sentezi için kullanılması, nano teknolojinin heyecan verici ve gelişen bir parçasıdır ve çevre üzerinde sürdürülebilirliğe ve nanobilim alanında daha fazla gelişmeye yönelik kayda değer bir etkiye sahiptir. Yeşil nanoparçacık sentezi yolundan gelecekteki beklentiler, bunların uygulamalarının katlanarak artacağıdır, ancak bunların hayvan ve insan üzerindeki uzun vadeli etkilerinin yanı sıra bunların çevrede birikmesi konusunda endişeler vardır. Bu biyojenik nanopartiküller, fitopatojenlere karşı nanosilahlarda ve çevresel iyileştirme için suyun çeşitli şekillerde dezenfeksiyonunda kullanılabilir. İlaç dağıtım sisteminde, bu nanopartiküller biyomedikal alanın geleceği için itici güç olabilir (Jadoun et al., 2021). Tekstil endüstrisi ve buna bağlı atık sular muazzam bir şekilde artmakta, bu da onu dünya çapındaki ciddi su kirliliğinin başlıca kaynaklarından biri haline getirmektedir. Metalik nanoparçacıklar, sularla ilgili sorunları ele almak için mümkün olan alternatif olarak araştırmacıların büyük ilgisini çekiyor. Eşsiz yapıları, geniş yüzey alanları ve iyi termal ve mekanik kararlılıkları ve farklı kimyasal, optik, manyetik ve katalitik özellikleri nedeniyle metalik nanoparçacıklar, günümüzde sürekli olarak araştırılmaktadır. Çinko, bakır altın vb. gibi çeşitli metallerin etkileyici antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Nanoparçacık olarak bilinen nanopartiküllerin kumaşa dahil edilmesi için ileri teknik, çeşitli tekstil endüstrileri tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknik, yapay olarak, kumaşa çeşitli özellikler kazandırır. Tekstil endüstrilerinde kullanılan çeşitli boyalar sıklıkla çeşitli ciddi çevresel toksisitelerle ilişkilendirilir. Kumaşın yıkanması sırasında bu boyalar süzülür ve suya karışır(Sharma et al., 2018).

Son yıllarda, baskı, tekstil ve kozmetik vb. gibi bazı endüstriler ekonomik kalkınmayı teşvik etmiş ve insanların yaşam kalitesini iyileştirmiş olsa da, bu endüstriler büyük miktarda organik boyaları ve diğer zararlı kimyasalları doğal çevreye bıraktı. Atık sulardaki organik boyalar, çevreye mutajenik, tera tojenik ve kanserojen risklere neden olabilir. Bu toksik kirleticilerin çevre dostu bileşiklere dönüştürülmesi büyük önem taşıyordu. Bu boyaların güvenli bir şekilde bertarafı için katalitik indirgeme, fotokatalitik bozunma ve adsorpsiyon gibi çeşitli yöntemler kullanıldı. Sık kullanılan katalizörler, Ag, Au ve Pt gibi bazı soy metal nanoparçacıklarıdır. Nanoparçacıkların hazırlanması, termal indirgeme, vakumlu buhar biriktirme, mikrodalga ısınlama yöntemleri ve kimyasal indirgeme gibi yöntemler kullanılarak rapor edildi. Bu metal partiküller arasında, bakır nanopartiküller (CuNP'ler), mükemmel katalitik aktiviteleri, nispeten daha düşük toksisitesi ve cazip düşük maliyetleri nedeniyle artan bir ilgi görmektedir. Akonitik asit, meyveler (suları ve kalıntıları), askorbik asit, bitki özleri, bitki zamları, mikroorganizmalar dahil olmak üzere bazı doğa ürünleri, metal nanoparçacık sentezlemek için indirgeyici ajanlar olarak kullanıldı. Bitki özleri, düşük maliyetleri nedeniyle özellikle geniş çapta araştırıldı. Ultra küçük partikül boyutuna sahip CuNP'ler, çevre kirliliğinin azaltılmasında kullanımı nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekti.

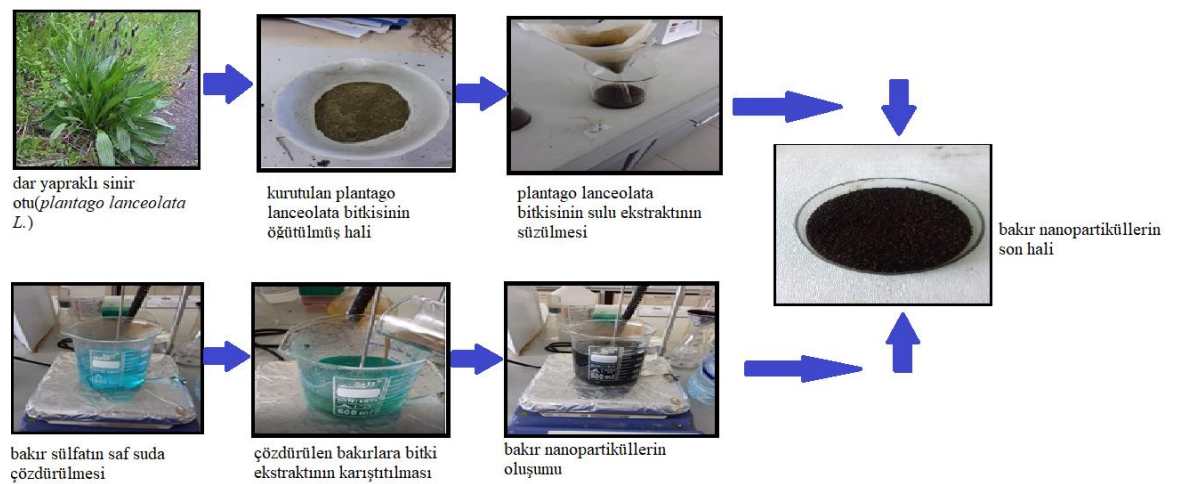
İndirgeyici ajanlar olarak bitki özleri kullanıldığında, hazırlanan metal nanoparçacıkların boyutu nispeten küçüktü ve nanoparçacıkların yüzeyinde emilen bitki özlerinden oluşan bir içerik katmanı, nanoparçacıkları sulu çözeltide stabilize edebilir ve nanoparçacıkların havada oksitlenmesini ve topaklaşmasını önlemeye yardımcı olabilir (Wang et al., 2021; Hasanin et al., 2021). Bu nanoparçacıklar, bileşiklerin bozunmasıyla ilgili kimyasal reaksiyonların çoğunda kullanıldı. Bu nedenle boya atıklarının bozunması endüstriler için elzemdir. Bu boyalara sürekli maruz kalma, anaerobik biyokütle, solunum ve mide bağırsak yolunda tahrişe sebep oldu. Bu nedenle, bu boyaları içeren atık suların arıtılması için fiziksel veya kimyasal ileri arıtma prosesleri esastır. Boyaların yaklaşık %15'i doğal kaynaklara bırakılır. Bu atık boyaların toksisitesi insan ve çevre sağlığı için büyük bir tehlike oluşturmaktadır. Adsorpsiyon nanofiltrasyon biyolojik arıtma ve benzeri gibi bu boyaların uzaklaştırılması için birçok teknik mevcuttur. Tekstil sektörü, dünyadaki en yaygın ve temel sanayi sektörlerinden biridir ve ülke ekonomisinde önemli bir rol oynamaktadır. Müşterilerin taleplerindeki hızlı değişiklikler nedeniyle, tekstil endüstrisi,

modern tekstil işleme için gerekli olan yüksek miktarda boya ve yardımcı madde kullanmak zorunda kalıyor (Junejo et al., 2021). Son birkaç yılda, çeşitli kompozisyon, morfoloji, boyut ve yapıya sahip birleşebilen yarı iletken nanomalzemeler, basit sentetik prosedürleri ve çekici optik özellikleri sayesinde organik kirleticilerin bozunması için fotokatalizörler olarak imal edildi. Organik boyaların metal nanoyapılar kullanılarak katalitik indirgenmesi, sadece verimliliği ve düşük maliyeti nedeniyle değil, aynı zamanda mikroplar tarafından kolayca parçalanabilen aromatik aminler gibi biyolojik olarak parçalanabilen son ürünlerin oluşması nedeniyle de tercih edilmektedir. Bu nedenle, metal parçacıklarının yardımıyla fotokatalitik aktiviteyi arttırmaya yönelik çok sayıda araştırma yapıldı. Organik boyaların fotodegradasyonu için alternatif bir katalizör tipi, boyut, şekil, geniş yüzey alanı-hacim oranı ve kütleyle bağlı reaktivitenin aktivitelerini arttırdığı geçiş metallerinin nanopartikülleridir. Şu anda, nanokatalizörlerin biyosentezi, boya partiküllerinin etkin bir şekilde uzaklaştırılması için yaygın olarak kullanılmaktadır (Fathima et al., 2018). Sentetik boyaların kağıt işleme, tekstil, tabakhane, kağıt hamuru baskı, kalıcı olmayan dövmeler ve ilaç endüstrileri gibi çok sayıda endüstride kullanılması, toksik kimyasalların ve renkli atık suların ortadan kaldırılmasına ve dolayısıyla hem yüzey hem de yeraltı sularının kirlenmesine neden olur. Günümüzde araştırmacılar, bu inatçı kirleticilerin biyolojik olarak daha fazla bozunabilir moleküllere arıtılması için geleneksel tekniklerin yerini alacak ve umut vaat eden gelişmiş oksidasyon prosedürlerini ortaya çıkardılar (Usman et al., 2019). Nüfus artışı, su, enerji ve gıda gibi doğal kaynaklara olan talebin artması anlamına gelir. Bu bağlamda karşılaşılmaması beklenen en ciddi sorunlardan biri artan su kıtlığıdır. Bu kavram, su talebi ve kullanılabilirliği arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır ve su rezervlerinin dengesiz tüketimi, yüzey sularının ve akiferlerin kirlenmesi veya tuzlu su karışması nedeniyle içme suyunun kalitesinin düşmesi ve artan kuraklık ile ilgilidir (Sebeia et al., 2020). Güvenli içme suyuna erişimin önemi vurgulanmakta ve Birleşmiş Milletler Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri'nin 6. Hedefinde yer almaktadır. Su kirliliği ile ilgili sorunları gidermek için atıksu arıtma tesislerine (AAT) büyük yatırımlar yapıldı (Conde et al., 2022). Dünya çapında hava ve su kirliliği sorunları, nehir suyuna ve çevreye salınan zararlı endüstriyel organik atıklardan kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, bilim insanlarının atık suların potansiyel arıtımı için acilen modern teknikler geliştirmeleri gerekmektedir. Serbest kalan tehlikeli azo boyalar suda organik olarak çözünürler. Bu durum bitkiler, suda yaşayan hayvanlar için çeşitli tehlikelere neden olur.

Geleneksel atıksu arıtımı, atık su kaynaklarından toksisiteyi gidermek için etkili olmayan buharlaştırma, pıhtılaşma-flokülasyon, oksidasyon, yüzdürme, membran ayırma ve iyon değişimi gibi teknikleri kullanır. Günümüzde metal oksit NP'leri ile koordineli doğal biyopolimerler, modern adsorpsiyon teknikleri ile endüstriyel atık sulardan zararlı boyaların uzaklaştırılması için etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Sathiyavimal et al., 2020). Nanopartiküller, esas olarak, tehlikeli ve toksik kirleticilerin parçalanmasında kullanıldı. Bir anyonik azo boyası olan kongo kırmızısı, tekstil endüstrilerinde pamuğu boyamak için ve ayrıca histolojide mikroskopik çalışmalar için dokuları boyamak için yaygın olarak kullanılan, doğaları gereği kanserojendir, bu nedenle kullanımları çok sınırlı ve kısıtlıdır. Bu kanserojen boyanın su kütlelerinden ve çevreden etkin bir şekilde arıtılması ve uzaklaştırılması son derece gereklidir (Maheo et al., 2022). En büyük kaynak olan tekstil endüstrileri, boyama ve yıkama işlemleri sırasında çok miktarda su kullanmakta ve daha sonra çevreye atık su olarak deşarj edilmektedir. Kumaş boyamanın kg başına 40-65 L atık su üretimi ile sonuçlandığı tahmin edilmektedir. Tekstil atık suları, molekül tipine bağlı olarak değişen konsantrasyonlarda pratik olarak sabitlenmemiş sentetik boyalar ve diğer kirleticiler içerir. Bu boyalar, inatçı yapıları nedeniyle çevre için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Boyama ve yıkama işlemi sırasında, başlangıçtaki boya miktarının %20'si kaybolur ve herhangi bir ön arıtma olmaksızın atık sulara boşaltılır. Atık sularda bulunan azo boyalar sadece toprağın biyolojik özelliklerini (mikrobiyal topluluk değişimi ve enzimatik reaksiyonlar gibi) olumsuz etkilemekle kalmaz, aynı zamanda toprak besin değerini ve fiziko-kimyasal özelliklerini de değiştirir. Ayrıca CuNP'ler son zamanlarda içme suyu için dezenfektan olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle, tekstil atıklarının detoksifikasyonu, dünya çapında çevreciler, devlet kurumları ve araştırmacılar için birincil ilgi konusudur (Noman et al., 2020; Ahmad et al., 2019). Bununla birlikte, gümüş ve bakır nanopartiküller, çok çeşitli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal özelliklerini sergileyerek diğer tüm metalik nanopartiküllere göre ek avantajlar sunar ve çoklu ilaca dirençli mikroplar, tıbbi hizmetler, kişisel bakım ürünleri, gıda ambalajları, buzdolabı dış yapımı ve tekstil amaçları için antimikrobiyal ajanlar olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle metal nanoparçacıkların sentezi, geniş uygulamaları nedeniyle büyük önem kazanmıştır. Buna karşılık, bakır nispeten daha bol ve daha ucuzdur ve bu nedenle, geniş spektrumlu biyoaktivite gösterdikleri için CuNP'lerin sentezi daha karlıdır. Ek olarak, CuNP'lerin bir başka ayrıcalığı, oksidasyon işlemi ile bakır oksit

nanoparçacıklarına dönüştürülebilmeleridir, bu da onların daha sonraki kullanımlar için polimerler veya makromoleküllerle karışmalarına yardımcı olur (Jahan et al., 2021; Khani et al., 2018). Tıbbi bitki parçalarından elde edilen fitokimyasalların, diğer sentetik tıbbi bileşimlere göre çok daha güvenli ve metabolize edilmesinin daha kolay olduğuna inanılmaktadır. Bitkilerin çeşitli bölgelerinden elde edilen biyoaktif bileşikler, ilaçların sentezinde önemli rol oynar. Gelişmiş ülkeler, toplam tıbbi biyoaktif bileşiklerin neredeyse dörtte birini doğal bileşiklerden kullanır. WHO'ya göre her yıl 1,3 milyon kadın meme kanserine yakalanıyor. Ve bu kanser, ortaya çıkmasından bu yana küresel bir sorun olmuştur. Ancak etkili terapötik seçenekler oldukça sınırlıdır. Dünya genelinde kadınlarda kansere bağlı ölümlerin en önemli nedeni meme kanseridir. Teşhis ve kemoterapide ilerleme olsa da, dünya çapında özellikle gelişmiş ülkelerde birçok kadının ölmesinin ana nedeni olmaya devam etmektedir. Alkilleyici ajanlar, antimetabolitler ve diğer farklı kanser tedavi yöntemleri kanserli hücreler ve normal hücreler arasında ayırım yapmadan yan etkilere sahiptir. Nanomalzemelerin kanser tedavisinde kullanılması, modern kanser ilaçlarının keşfi için önemli bir araç olarak bulundu. Nanoparçacıklara bazen, gelişmiş ilaç etkinliği ve uzun vadeli ilaç salımı sağlayan nano ölçekli yapıları nedeniyle kanser tedavisinde özellikle yararlı olan yapılandırılmış çağdaş farmasötikler olarak atıfta bulunulur (Bera and Belhaj, 2016). Metal nanopartiküllerin (Cu, Ag, Au ve Pt), gram negatif ve gram pozitif bakteri türlerine karşı geniş bir antimikrobiyal aktivite sergilediği bildirilmiştir. Tüm metal nanopartiküller arasında, CuNP'ler, örneğin elektriksel, katalitik, optik, antibakteriyel ve antifungal amaçlarla çok yönlü uygulamaları nedeniyle çok dikkat çekmiştir. Ek olarak, Cu'nun bulunabilirliği ve maliyeti, onu manifold uygulamaları için Ag, Au ve Pt metallerine kıyasla daha iyi bir seçenek haline getirdi (Sharma et al., 2015; Sivaraj et al., 2014). Bakırın bir antimikrobiyal ajan olarak faydası uzun zamandır bilinmektedir. Özellikle biyomedikal alanında önemli olan düşük toksisiteye sahip etkili bir ajandır (Rajesh et al., 2018). Nanoteknoloji, antibiyotiklere karşı ciddi bakteri direnci sorununa verimli bir çözüm getirdi. NP'ler, bakteri yüzeyine verimli bir şekilde bağlanabilir ve hücre duvarlarını parçalayarak hücre ölümüne yol açabilir. 20 nm'den küçük boyutlu NP'lerin bakteri hücre duvarına nüfuz edebildiği ve sırayla hücre organellerini yok ederek biyokimyasal yolları engellediği ve sonuçta bakterilerin ölümüne yol açtığı fark edildi. Biyojenik nanopartiküller, çeşitli mikroorganizmalarda nükleik asitlerin sentezini engelleyen enzimatik aktiviteyi engelleyen doğal flavonoidlerle uygun şekilde

kaplanmışır. NP'lerin, bakteri hücre zarında mekanik hasara neden olan reaktif oksijen türleri (ROS) ürettiği bilinmektedir. NP'lerin antimikrobiyal ajanlar olarak tekrarlayan kullanım için geri dönüştürülebileceği bildirilmektedir. NP'ler aynı anda birkaç hücresel yolu hedeflediğinden, bakterilerin NP'lere karşı direnç geliştirmesi çok zordur. Bu nedenle NP'ler, antibiyotiğe dirençli bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için geleneksel antibiyotiklerin mükemmel bir alternatifi olabilir (Singh et al., 2020; Mali et al., 2020). Antibakteriyel ajanlar genel olarak organik ve inorganik olmak üzere iki tipte sınıflandırılabilir. Organik antibakteriyel malzemeler, inorganik antibakteriyel maddelere kıyasla, özellikle yüksek sıcaklıklarda ve/veya basınçlarda genellikle daha az kararlıdır. Metal ve metal oksitler gibi inorganik malzemeler, zorlu proses koşullarına dayanma yetenekleri nedeniyle son on yılda daha fazla dikkat çekmiştir ve genellikle insanlar ve hayvanlar için güvenli malzemeler olarak kabul edilmektedir. Gümüş, altın, bakır, CuO, TiO₂ ve ZnO gibi inorganik NP'ler derin antibakteriyel aktivitelere sahiptir (Elumalai and Velmurugan, 2015). Antimikrobiyal ajanlar tekstil, ilaç, su dezenfeksiyonu ve gıda ambalajlarında son derece önemlidir. Bu nedenle, inorganik NP'lerin antimikrobiyal özellikleri, biyolojik sistemler için nispeten toksik olan organik bileşiklerle karşılaştırıldığında, bu önemli konuya daha fazla güç katmaktadır. Bu NP'ler, mikrobiyal türlerin seçici olarak üstesinden gelmek için çeşitli gruplarla işlevselleştirilir (Khan et al., 2019).

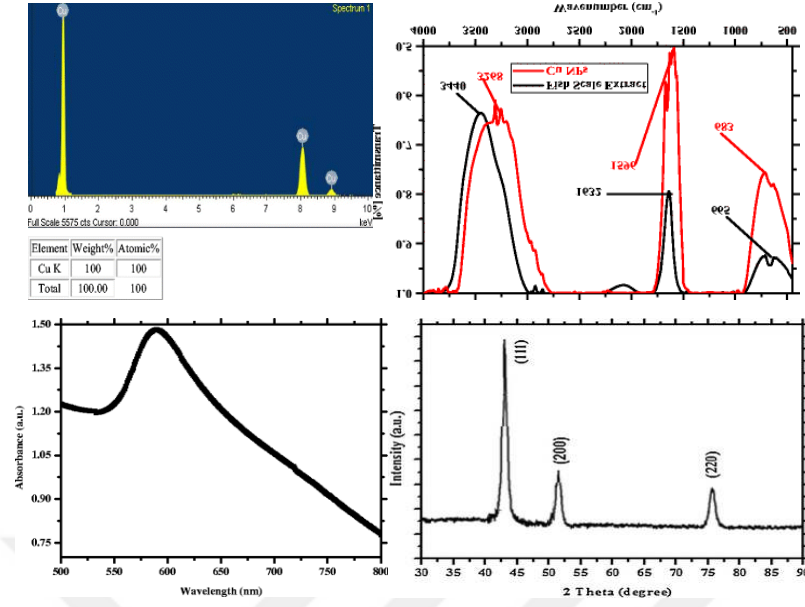


Şekil 1.5 *Plantago lanceolata* L. kullanılarak bakır(CuSO₄.5H₂O) nanopartiküllerin yeşil sentez yolu

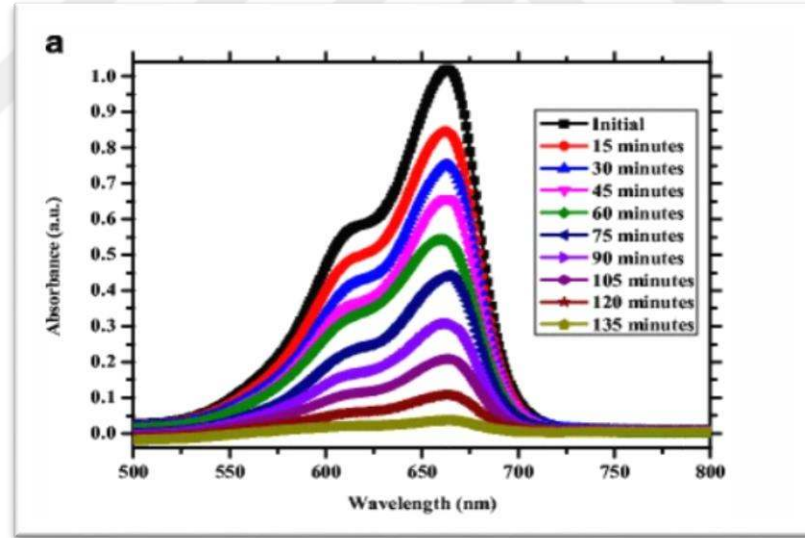
Ailenin en büyük cinsi olan *Plantaginaceae*, *Plantago* L. cinsidir ve yaklaşık 275 tür içerir. Bazı *Plantago* türlerinin kapsamlı geleneksel ve modern tıbbi kullanımları, tıbbi özelliklerinin olağanüstü çeşitliliğinin sonucudur: idrar söktürücü, antibakteriyel, balgam söktürücü ve yatıştırıcı. Ayrıca, birkaç çalışma, bazı *Plantago* türlerinin sitotoksik özellikler gibi önemli biyoaktivite sergilediğini doğrulamaktadır. Kanser hücre hatları üzerine etkileri, antiinflamatuar, immünomodülatör, antioksidan ve antispazmodik etkiler. Çoğunluğu *Plantago* belirteçleri olan tıbbi ajanlar, şimdiye kadar fitokimyasal bileşim ve biyolojik aktivite açısından tanımlanmadı (Beara et al., 2012). Bu bitki, apse ve sivilce gibi cilt sorunları da dahil olmak üzere çeşitli sağlık sorunlarını giderir. Ayrıca kanser, emboli, arı sokması, Tüberküloz (TB) ve diğer pnömoni ile ilgili anomalileri tedavi etmek için kullanılır. Bitki türleri, bakteri, mantar ve diğer mikroplara karşı umut verici antimikrobiyal aktivite sergiledi. Antioksidan ve antiviral aktiviteleri nedeniyle Türkiye ve Hindistan altı kıtası gibi ülkelerde çok popülerlik kazandı. *P. lanceolata*'da birkaç başka reaktif kimyasal metabolit vardır. Yapraklarda başlıca tanenler, flavonoidler, müsilaj, silika, çinko, potasyum tuzları, iridoid glikozitler, fenilpropanoid glikozit, asteroz, flavonoidler ve fenil karboksilik asit bulunur. Katapol ve öncülü aucubin, *P. lanceolata*'daki en yaygın iridoid glikozitlerdir. *Plantago lanceolata*, Avrupa ve Asya'ya özgüdür, ancak uygun bir ortamla Kuzey Amerika'ya ve diğer birçok bölgeye yayıldı (Sharma et al., 2015). Bu bitki, özel terapötik etkilerine katkıda bulunan alkaloidler, yağ asitleri, flavonoidler, terpenoidler, fenolik asit türevleri, vitaminler vb. dahil olmak üzere çeşitli biyoaktif bileşiklere sahiptir (Sukweenadhi et al., 2022).

2. KAYNAK ÖZETİ

MB suda çözünür heterosiklik aromatik bir kimyasal bileşiktir, renklendirici ve farmasötik ilaç olarak da kullanılır. Öldürücüdür ve kardiyovasküler, dermatolojik, gastrointestinal, genitor-pisuar ve hematolojik sorunlara neden olur. Çevreden tamamen uzaklaştırılmaları gerekmektedir. Sinha ve Ahmaruzzaman (2015) yaptıkları çalışmada, bakır nanoparçacıkların sentezi için yaygın bir evsel atık malzemeyi (*Labeo rohita* balık pulları) kullandı. Sentezledikleri bakır nanopartiküller, 25-37 nm aralığında ortalama nanopartikül boyutu ile genel olarak küreseldi. Ayrıca, enerji dağılımlı spektroskopi modeli, bakır nanoparçacıklarında sadece elementel bakırın varlığını da ortaya çıkardı. Hazırlanan nanopartiküller, kanserojen ve zararlı bir tekstil boyası olan metilen mavisinin sulu çözeltiden arındırılması için kullanıldı. Bu çalışmada bakır nanopartiküller kullanılarak 135 dakika içinde metilen mavisinin yaklaşık %96 oranında bozunması gözlemlendi. Boyanın bozunması için olası mekanizma sunulmuş ve bozunmuş ara maddeler sıvı kromatografi-kütle spektroskopisi tekniği kullanılarak tanımlandı. Santrifüjleme ile katalizörden arındırılmış reaksiyon karışımının UV spektrumundaki değişiklikler kaydedilerek boya bozunma süreçleri izlendi. Işığa maruz kalma süresi arttıkça, MB'ye karşılık gelen absorpsiyon zirvesinin kademeli olarak değer kaybettiği ve minimuma ulaştığı gözlemlendi. Şekil 2.1'de, MB'ye karşılık gelen 664 nm'de absorpsiyon zirveleri hızlı bozulma göstermiş ve 135 dakika sonra kayboldu(Sinha and Ahmaruzzaman, 2015).



Şekil 2.1 Labeo rohita balık pulları kullanılarak sentezlenen bakır nanopartiküllerin XRD, FT-IR, UV ve EDX sonuçları

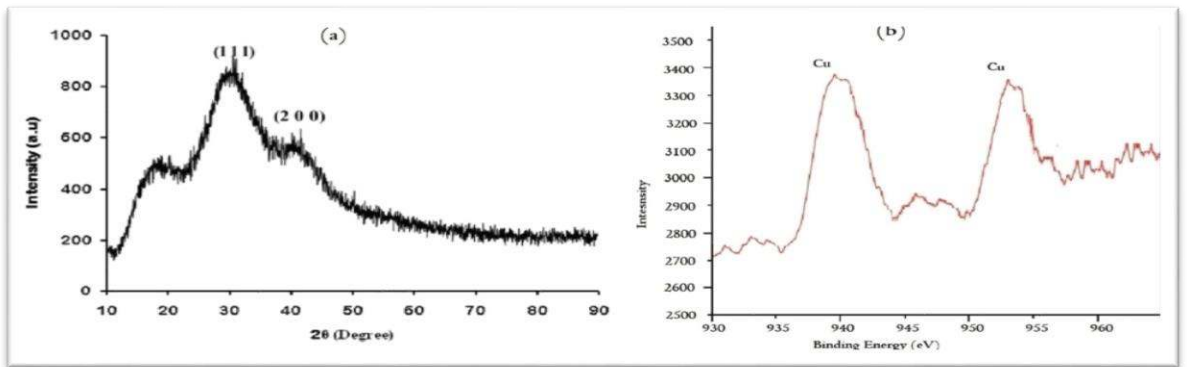


Şekil 2.2 Fotokatalizör olarak sentezlenmiş CuNP'ler kullanılarak güneş ışınımı ile MB fotodegradasyonu. MB boyanın zamanla fotodegradasyonunun yüzde verimliliği

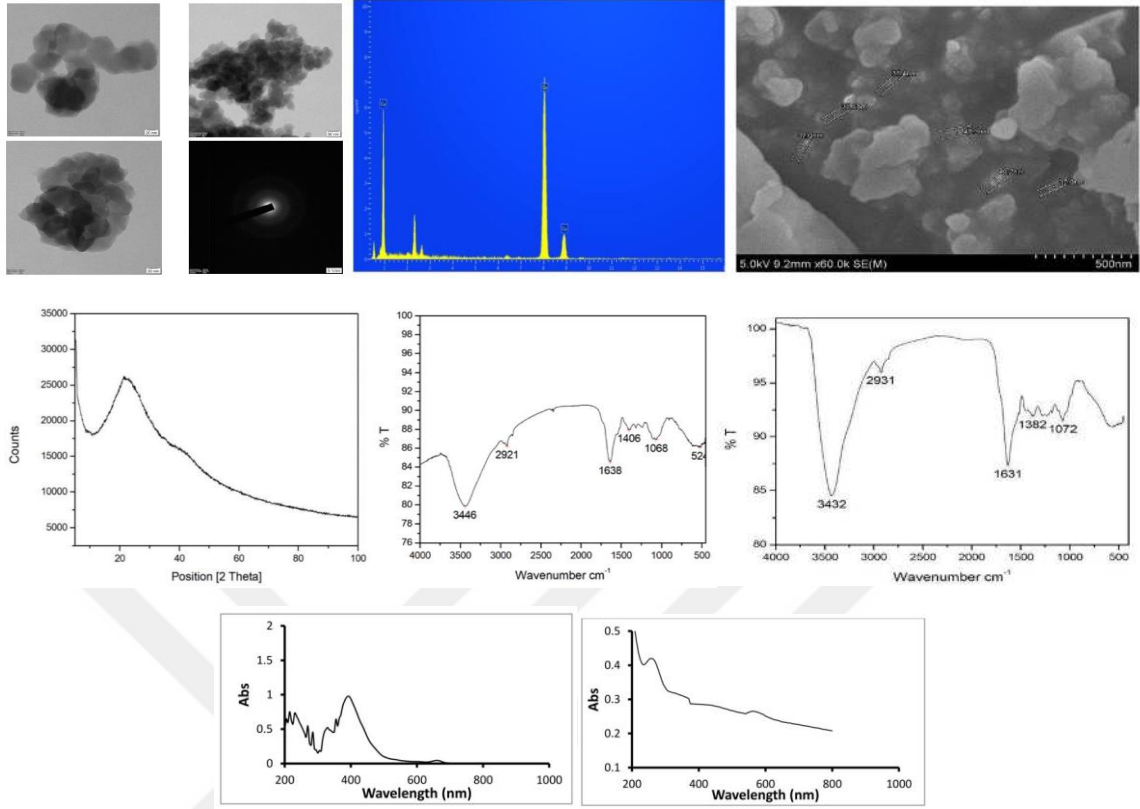
Issaabadi vd. (2017) *Thymus vulgaris L.* yaprağı ekstresi kullanılarak bentonit (bentonit/Cu NP'ler) sentezlendi ve hidrojen kaynağı olarak sodyum borohidrit (NaBH_4) kullanarak sulu ortamda metilen mavisi (MB) ve kongo kırmızısının (CR) bozunmasını incelendi. Bu işlemin temel konsepti, Cu^{2+} iyonlarını CuNP'lere dönüştürmek ve bunların bentonit yüzeyinde immobilizasyonunu sağlamak için indirgeyici ajan ve etkili stabilizatör olarak

Thymus vulgaris L. yaprak ekstraktını kullanmaktır. *Thymus vulgaris L.* yaprak özütünde bulunan biyomoleküller, Cu^{2+} iyonlarının $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 'dan bakır nanopartiküllere indirgenmesini indükler. Yaprak özünde bulunan fenolikler ve diğer kimyasallar, yalnızca bakır tuzlarını ikna edici bir şekilde azaltmakla kalmaz, aynı zamanda mükemmel dayanıklılık sağladığı görüldü (Issaabadi et al., 2017).

Son zamanlarda geleneksel olmayan antioksidan ve antibakteriyel maddeler farmasötik araştırma alanında anahtar hale geliyor. Wu vd. (2020) *C. vitiginea* yaprağı ekstresi bazlı yeşil sentezlenmiş bakır nanopartiküllerin DPPH serbest radikal ve idrar yolu enfeksiyonu patojenlerine karşı güçlü antioksidan ve antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu sonucuna vardı. Sentezlenen nano bakırın antibakteriyel aktivitesi, *E. coli*, *Enterococcus sp.*, *Proteus sp.* ve *Klebsiella sp.* gibi idrar yolu enfeksiyonu patojenlerine karşı agar disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirildi. Bakır nanoparçacıkların yeşil sentezi başlangıçta UV-Vis spektrumlarında 340 nm'de küresel bir şekle sahip yaklaşık 20 nm'lik parçacık boyutu SPR bandının konumu ile doğruladı. XRD spektrumu, kristal nanoyapılı bakır partiküllerini göstermiş ve AFM teknikleri, agregasyon ile nanopartiküllerin küresel şeklini belirtti. TEM görüntüsü, yaklaşık 10–20 nm büyüklüğünde poli dağılmış nanoparçacıkları gösterdi. Bakır nanopartiküller, sırasıyla İYE patojenlerine ve DPPH serbest radikale karşı daha güçlü antibakteriyel ve antioksidan aktivite sergilediği gözlemlendi (Wu et al., 2020).



Şekil 2.3 *Cissus vitiginea* kullanılarak sentezlenen bakır nanopartiküllerin XRD spektrumu ve XPS analizi



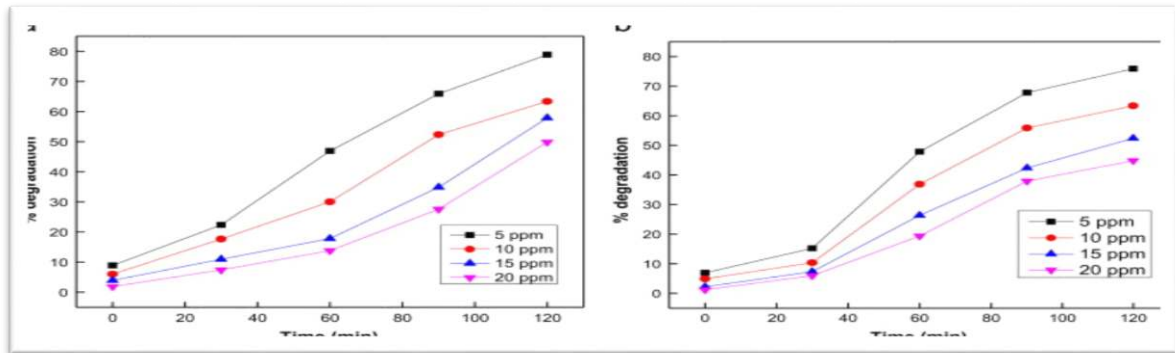
Şekil 2.4 Sırasıyla *Moringa oleifera* yaprakları kullanılarak sentezlenen bakır nanopartiküllerin TEM, EDX, SEM, XRD, *M. oleifera* yaprak ekstraktının Fourier Dönüşümü Kızılötesi (FTIR) spektrumu, sentezlenen bakır nanoparçacıkların FTIR spektrumu, *M. oleifera* yaprağı ekstresinin UV-Vis spektrumu ve sentezlenen bakır nanoparçacıkların UV-Vis spektrumu

Ayrıca, *M. Oleifera* yaprak özütü ve sentezlenen bakır nanoparçacıkları, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı önemli antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtildi (ekstre için MIC değerleri: 500, 250, 250 ve 250 µg/mL; bakır nanopartiküller için MIC değerleri: sırasıyla 500, 500, 500 ve 250 µg/mL). Benzer şekilde, *M. oleifera* özütü bırakır ve sentezlenen bakır nanopartiküller, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans* ve *Candida glabrata*'ya karşı nispeten daha güçlü antifungal aktivite gösterdiği belirtildi (Ekstre için MIC değerleri: 62.5, 62.5, 125 ve 250 µg/mL; bakır nanopartiküller için MIC değerleri: sırasıyla 125, 125, 62.5 ve 31.2 µg/mL). Çalışmada, *M. oleifera* yapraklarının hidroalkolik bir özü kullanılarak bakır nanopartiküllerin yeşil sentezinin başarılı olduğunu ortaya koydu. Ek olarak, sentezlenen bakır nanopartiküller, rapor edilen antioksidan, anti-bakteriyel ve anti-fungal aktivitelerinden dolayı çeşitli mikrobiyal enfeksiyonların tedavisinde potansiyel olarak kullanılabilir.

Bacterial Species		Growth of Bacteria										Streptomycin (10 µg/500 µL)	Negative Control	Nutrient Broth
No.	Concentration (µg/mL)	1000 (1)	500 (2)	250 (3)	125 (4)	62.5 (5)	31.2 (6)	15.6 (7)	7.8 (8)					
M. oleifera leaves extract														
1	Escherichia coli	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+		
2	K. pneumoniae	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+		
3	S. aureus	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+		
4	E. faecalis	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+		
Copper Nanoparticles														
1	E. coli	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+		
2	K. pneumoniae	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+		
3	S. aureus	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+		
4	E. faecalis	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+		

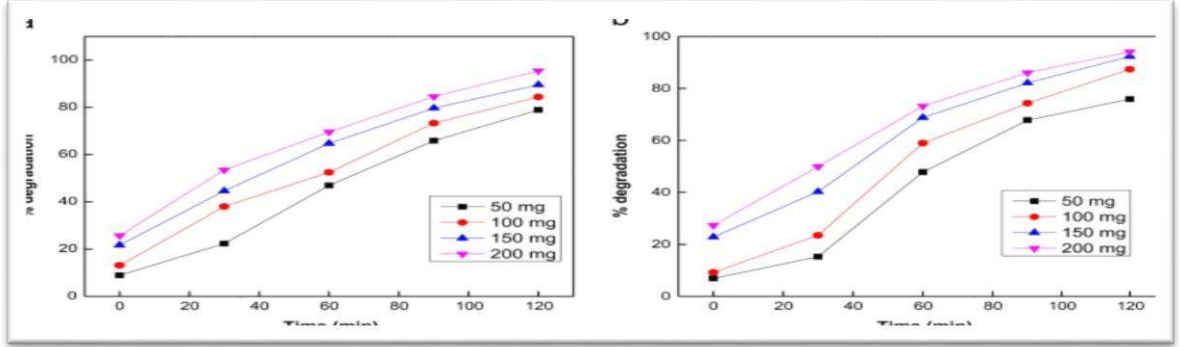
Şekil 2.5 Belirtilen bakteri türlerinin farklı konsantrasyonlarda (7.8-1000 µg/mL) *M. oleifera* yaprağı ekstresi ve bakır nanoparçacıklarının varlığında büyümesi gösterilmektedir (Das et al., 2020)

Metal nanoparçacıkların (Cu, Ag, Au ve Pt) gram negatif ve gram pozitif bakteriler ve ayrıca mantarlar dahil olmak üzere farklı mikroorganizma türlerine karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite sergiledikleri bildirildi. Bu çalışmada, Nethravathi vd. (2015) bakır nitrat ve *T. cordifolia* özütünü kullanarak bakır nanopartikül sentezlendi. Sentezlenen nanopartiküllerin ilk olarak UV, XRD TEM, SEM gibi yapısal ve morfolojik özelliklerin belirlenmesi için karakterizasyon işlemi yapıldı (Nethravathi et al., 2015). Daha sonra metilen mavisinin fotokatalitik aktivitesinin incelenmesi için 100 mL, 5 ppm boya için 50 mg bakır nanopartikül eklendi. Her 30 dakikada bir 3 ml çekilerek spektrofotometrede sonuçlar alındı ve bakır nanopartiküllerin fotokatalitik aktivite yüzdesi hesaplandı.

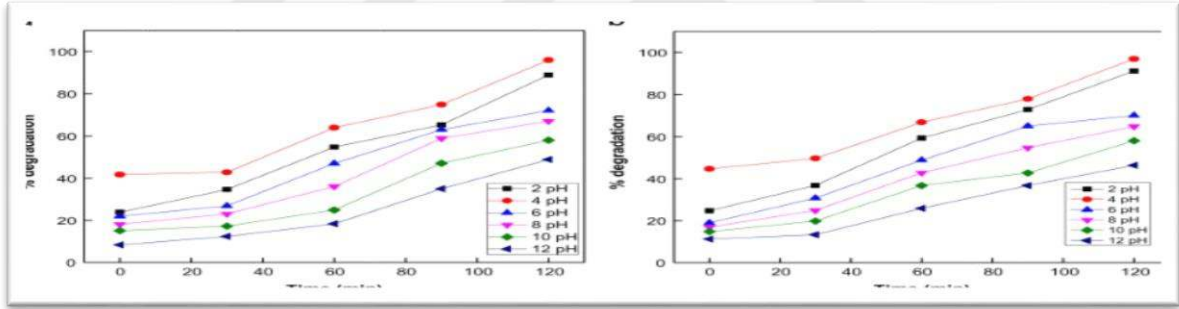


Şekil 2.6 (a) UV ışığında ve (b) Güneş ışığında *Tinospora cordifolia* yaprakları kullanılarak sentezlenen CuO nanoparçacıklarının varlığında boyanın yüzde bozulması

Burada NP miktarı sabit tutularak buya konsantrasyonu değiştirildi ve boya konsantrasyonu arttıkça giderimin azaldığı görüldü.

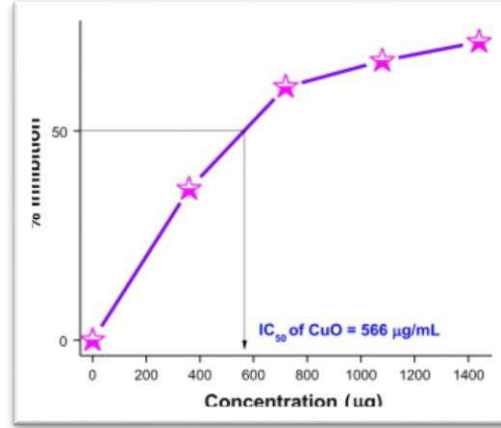


Şekil 2.7 *Tinospora cordifolia* yapraklarının ekstraktı kullanılarak sentezlenen CuO nanoparçacıklarının varlığında (a) UV ışığına ve (b) Güneş ışığına maruz bırakıldığında farklı katalitik yükler (50, 100, 150, 200 mg) altında MB'nin bozunma yüzdesi



Şekil 2.8 (a) UV ışığı ve (b) *Tinospora cordifolia* yapraklarının ekstraktı kullanılarak sentezlenen CuO nanoparçacıklarının varlığında güneş ışığı altında farklı pH değerlerinde MB'nin bozunma yüzdesi

517-520 nm'de karakteristik absorpsiyona sahip stabil bir serbest radikal olan DPPH, *T. cordifolia* yaprak ekstreleri kullanılarak hazırlanan CuO NPs'nin radikal süpürme aktivitesini incelemek için kullanıldı. Absorpsiyondaki azalma, radikal süpürme derecesinin bir ölçüsü olarak kabul edilir. Radikal süpürücü aktivite (RSA) değerleri, 520 nm'de ekstrakt yokluğunda DPPH çözeltisinin absorbansı ve numune absorbans düşüş yüzdesinin oranı olarak ifade edildi. CuO Nps'nin, 566 µg/mL IC₅₀ değeri ile DPPH serbest radikal süpürme aktivitesini inhibe etmede güçlü olduğu gözlemlendi.



Şekil 2.9 *Tinospora cordifolia* yapraklarının ekstraktı kullanılarak sentezlenen CuO nanoparçacıklarının DPPH süpürme aktivitesi

Biyosentezlenen CuNP'lerin antimikrobiyal aktivitesi kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak belirlendi. Antibakteriyel aktivite için kullanılan bakteriler *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 8739 Gram negatif bakterileri temsil ederken *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P Gram pozitif bakterileri temsil ediyordu(Nethravathi et al., 2015). Ayrıca *Candida albicans* ATCC 10231, patojenik bir mantar suşunu temsil eder. Tüm bakteri ve mantar kültürleri Assiut Üniversitesi Mikoloji Merkezi'nden (AUMC), Assiut, Mısır'dan sağlandı. Pozitif kontrol için standart antibakteriyel ajan olarak Cefipime, solvent olarak di-metilsülfoksit (DMSO) kullanıldı. Dört farklı konsantrasyonda CuNP çözeltisinden 50 µl hazırlandı; 25, 50, 100 ve 200 µg/mL ve kuyucuklara döküldü, ardından 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Referans antibiyotik olarak bu çalışmada 150 µg/mL kullanıldı. İlk aşamada, DMSO'daki farklı CuNP konsantrasyonları, farklı Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteri ve patojenik maya türleri için kullanıldı. İkinci olarak, Tilia ve DMSO çözücünün sulu sıvı ekstraktının negatif kontrol testiyle karşılaştırmalı antifungal standart (pozitif kontrol) olarak antimikrobiyallere karşı testler yapıldı (Hassanien et al., 2018).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bütün kimyasal malzeme ve çözücüler Aldrich ve Merck firmalarından temin edildi. Kimyasallar ve çözücüler; bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), sodyum hidroksit (NaOH), hidroklorik asit (HCl), kongo kırmızısı ($\text{C}_{32}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{Na}_2\text{O}_6\text{S}_2$), Metilen Mavisi ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$), etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), metanol (CH_3OH), hidrojen peroksit (H_2O_2), dimetil sülfoksit ($\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$), sodyum karbonat (Na_2CO_3), Folin Ciocalteu reaktifi, sodyum nitrit (NaNO_2), alüminyum klorür (AlCl_3), DPPH ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$), ferrozin ($\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{Na}_2\text{O}_6\text{S}_2$), sülfürik asit (H_2SO_4), monosodyum fosfat (NaH_2PO_4), amonyum molibdat ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)'dır.

Deney sürecinde kullanılan cihazlar:

Mikrobiyolojik emniyet kabini (Bilser), Otomatik pipetler (Brand), Elisa Reader (Spectramax Plus 384), Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) (Jeol Jsm 6510), X-Ray Kırınım Spektrometresi (XRD) (Rıgaku Ultima Iv), FT- IR Spektrofotometre (Perkin Elmer Spektrum 100), Çalkalayıcı (Gerhardt), Ultrasonik banyo (Wise Clean Wuc-D06h), Derin dondurucu (-86°C Hettich/ Nuair), pH-metre (Hanna Instrument), Hassas terazi (Precisa/ Denver), İnkübatör (Elektro-Mag 0- 300oc), Vorteks (Ika Ms3 Basic), Saf su cihazı (Gfl 2004), Santrifüj (Hettich Universal 320), Otoklav (Hirayama), Etüv (Memmert 100- 800).

3.2. Yöntem

3.2.1. Sinirli Ot (*Plantago lanceolata* L.) Ekstraktının Hazırlanması

Aksaray üniversitesi merkez kampüsünden toplanmış Sinirli Ot (*Plantago lanceolata* L.), önceden kurutularak öğütülmeye hazır hale getirildi. Ardından öğütücü ile iyice toz haline getirilen bitkiden 50 g tartıldı ve 1000 mL'lik bir behere aktarıldı. Daha sonra üzerine 500

mL distile su (dH₂O) eklendi ve manyetik karıştırıcıda 24 saat boyunca 40 °C’de ısıtıldı. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra filtre kağıdıyla süzülerek bir erlene alındı. Daha sonra kullanılmak üzere +4 °C’de koyu renkli bir şişede muhafaza edildi.

3.2.2. CuSO₄(Bakır Sülfat) Nanopartiküllerin Sentezi

7 g CuSO₄5H₂O hassas terazide tartılarak 1000 mL’lik boş bir behere eklendi. Ardından behere 700 mL saf su ilave edildi ve manyetik karıştırıcıda 80 °C’de 15 dakika boyunca karıştırıldı. Daha sonra hazırlanmış olan %10’ luk ekstraktan bu solüsyona 350 mL ilave edildi. Ekstrakt ilave edildikten sonra 15 saat boyunca 80 °C manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Ardından nanopartiküller çökmesi için 90 dakika bekletildi ve çöken kısım 3 defa saf su ile 2 defa ise %70’lik etanolle yıkandı. Yıkama işlemi için önce ependorflara alınan nanopartiküllerin üzerine saf su ilave edildi ve iyice karıştırıldıktan sonra 4500 rpm’de 5 dakika santrifüjde çöktürüldü. Süpernatant atıldı ve üzerine tekrar saf su ilave edilip iyice karıştırılarak santrifüjde 4500 rpm’de çöktürüldü. Bu işlem saf su için 3 defa tekrar edildi. Etanolle yıkama için üzerine %70’lik 20’şer mL etanol ilave edildi ve iyice çalkalandıktan sonra 4500 rpm’de çöktürüldü. Etanolle bu işlem 2 defa tekrar edildi. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra örnekler boş bir petriye (darası alındıktan sonra) konuldu ve oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.

3.2.3. 25 °C ve 40 °C İçin Metilen Blue ve Kongo Red pH Taraması

7 farklı steril 50 mL’lik behere 9’ar mL 20 ppm boyalardan eklendi. Daha sonra pH ayarlanması için 0,5 M’lık HCl ve 0,5 M’lık NaOH kullanılarak pH’ları; 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8’e ayarlandı. Hazırlanan boyalardan her biri için 200 µL alınarak başlangıç okuması için 96’lık platelere eklendi. Her behere hazırlanan bakır nanopartiküllerden 15 mg tartılarak eklendi. Son olarak %10’luk H₂O₂’den de 1’er mL eklenerek ısı ayarlı çalkalayıcıya bırakıldı. 30 dakika sonra her numuneden 500 µL alınarak ependorflara aktarıldı. Bu numuneler 14000 rpm’de santrifüj edilerek çöktürüldü. Ardından süpernatantdan 200 µL platelere aktarıldı daha sonra 665 nm dalga boyunda ELISA reader ile ölçüm yapıldı. Daha sonra pellet kısmı tekrar beherlere eklenerek 30 dakika daha karıştırıldı. Bu işlem böylece 150. dakikaya kadar devam etti. Her 30 dakika da örnek alınarak aynı işlemler tekrar

edilerek 96'lık plate içerisine aktararak spektrofotometrik olarak boya konsantrasyonları okutuldu. Son olarak alınan sonuçlara göre aynı koşullar altında en iyi giderimin olduğu pH belirlenerek deneyler gerçekleştirildi. Bu işlemler 25 ve 40 °C'de ayrı ayrı çalışıldı.

3.2.4. 25 °C ve 40 °C' de Metilen Blue ve Kongo Red Başlangıç Konsantrasyon Analizi ve CuNPs Dozajı Etkisinin İncelenmesi

Öncelikle her iki boyadan da 10 mg/L, 20 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, ve 200 mg/L beş farklı konsantrasyonda boya solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan boya solüsyonlarına %10'luk H₂O₂ 1:9 oranında eklendi. Her bir boya konsantrasyonu için 4 farklı dozda (5 mg, 10 mg, 15 mg ve 20 mg) NP ilave edildi. CuNPs'ler de eklendikten sonra ısı ayarlı çalkalayıcıda 30 dakika 25 °C çalkalandı ve 500 µL numune ependorfa alınıp 14000 rpm'de çöktürülerek süpernatant kısmından 200 µL alınıp platelere eklendi. Örnek alındıktan sonra pelet tekrar numunenin içine dökülüp 30 dakikada bir tekrar edilen işlem 150. Dakikaya kadar devam edildi ve alınan her örnekten sonra boya lar için uygun dalga boyları seçilerek ELISA'da ölçüm alındı. Aynı işlem 40 °C için de tekrar edilip gözlemlendi.

3.2.5. Antioksidan Testleri

Antioksidan aktivite tayini için CuNPs'lerden 2 mg alındı ve 2 mL saf suda çözdürüldü. Çözdürme işlemi için sonikatör kullanıldı. Bitki ekstraktından 2 mL alınarak santrifüj edildi. Deney, bitki ekstraktı ve CuNPs olmak üzere iki farklı parametre ile 3'er tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

3.2.5.1. Toplam Fenolik Madde Belirlenmesi

Toplam fenolik madde tayini için Folin-Ciocalteu metodu kullanıldı. %50'lik Folin-Ciocalteu Reaktif (FCR) için: 50 mL FCR alınıp toplam hacim 100 mL olacak şekilde distile su ile tamamlandı. %2'lik Na₂CO₃ çözelti için: 2 g Na₂CO₃ bir miktar distile suda çözülüp toplam hacim 100' ye tamamlandı. Sırasıyla bitki ekstraktı çözeltisinden ve bakır nanopartikül çözeltisinden 100 µL alınarak 96 kuyucuklu plate'ye aktarıldı. Üzerlerine 100 µL Folin-Ciocalteu çözeltisi ilave edilip 5 dakika inkübe edildikten sonra üzerlerine 100

μL sodyum karbonat (20g/100 mL) eklenerek pipetleme yapıldı. Toplam hacim 300 μL olacak şekilde 25 °C’de 90 dakika boyunca karanlıkta bekletildikten sonra Elisa cihazında 760 nm’de absorbansları ölçüldü. Kontrol numuneler için ekstrakt dışındaki çözeltiler kullanıldı. Her ekstrakt örneği için 3’er kuyucuk hazırlandı (Kaya, 2020).

3.2.5.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

%15’lik NaNO_2 çözeltisi için; toplam hacim 100 mL olacak şekilde 15 g NaNO_2 saf suda çözdürüldü. %4’lük NaOH çözeltisi için; toplam hacim 100 mL olacak şekilde 4 g NaOH distile suda çözdürüldü. %10’luk AlCl_3 çözeltisi için; toplam hacim 100 mL olacak şekilde 10 g AlCl_3 distile suda çözdürüldü. Standart quercetin çözeltisi için; 10 mg quercetin 10 mL metanolde çözdürüldü. Bu konsantrasyondan seyreltme metodu kullanılarak daha düşük konsantrasyonlar elde edilerek standart kalibrasyon grafiği çizildi.

Toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi için Estevinho ve ark. (2008) yaptığı metot kullanıldı. Sırasıyla her örnek için ekstrakt çözeltisinden 10 μL alınarak 96 kuyucuklu plate aktarılıp üzerine 40 μL distile su, 6 μL sodyum nitrat (150 g/L) çözeltisi eklenerek vortexlenip 6 dakika bekletildi. Daha sonra bu karışımın üzerine 3 μL alimünyum klorit (2,5 g /25 mL) eklenerek tekrar vorteklendi ve 5 dakika boyunca inkübe edildi. Son olarak 40 μL NaOH (4g /100 mL) çözeltisi ile 100 μL saf su eklenerek vortexlenip 415 nm’de absorbansları ölçüldü. Kontrol numuneleri için ekstrakt dışındaki çözeltiler kuyucuklara konulup her ekstrakt örneği için 3’er kuyucuk hazırlandı.

3.2.5.3. Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Antioksidan aktivite belirlenmesi için kullanılan reaktiflerin hazırlanması;

- 0,6 M’lık H_2SO_4 çözeltisi için; 6,6 mL H_2SO_4 bir miktar distile suda çözdürüldü.
- 4 mM’lık amonyum molibat çözeltisi için; 0,99g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ bir miktar distile su ile çözdürüldü.
- 28 mM’lık NaH_2PO_4 tamponu için; 0,68 g NaH_2PO_4 bir miktar distile suda çözdürüldü.

Bu çözeltiler hazırlandıktan sonra balon jode karıştırıldı ve toplam hacimleri 200 mL olacak şekilde saf su eklendi. Toplam antioksidan kapasitesi Dinis vd. (1994) metodu ile değerlendirildi. Askorbik asit eşdeğeri olarak ifade edildi. Sırasıyla her örnek için ekstrakt çözeltisinden 25 µL alınarak viallere aktarılıp üzerine 250 µL reaktif (28mM sodyum fosfat, 0,6 M sülfirik asit ve 4 mM amonyum molibdat) çözeltisi eklenerek karıştırıldı. Su banyosunda 95 °C’de 90 dakika boyunca bekletildi. Daha sonra numuneler 96 kuyucuklu plate aktarılarak ELİSA reader cihazıyla 695 nm’de absorbansları ölçüldü.

3.2.5.4. DPPH Giderimi

0,1 mM’lık DPPH çözeltisi için; 200 mL metanol içinde 4 mg DPPH karıştırarak tamamen çözdürüldü.

DPPH radikal etkisinin giderilmesi için Hatano vd. (1988) ortaya koyduğu metot kullanıldı. Hazırlanan bitki ekstraktlarının proton veya elektron verebilme yeteneği ile DPPH çözeltisinin mor renginin açması esasına dayanan bir yöntemdir. Sırasıyla her örnek için ekstrakt çözeltisinden 50 µL alınarak 96 kuyucuklu plate aktarılarak üzerine 200 µL DPPH çözeltisi konulup vortexlendi. Daha sonra karanlık bir ortamda 60 dakika inkübe edildikten sonra 517 nm’ absorbansları ölçüldü.

3.2.5.5. Metal Şelatlama Aktivitesi

- 5 mM’lık ferrozin çözeltisi için; 40 mL metanol içinde 0,0492 g ferrozin vorteks yardımı ile çözdürüldü.
- 2 mM’lık FeCl₂ çözeltisi için; 40 mL metanolde 0,0160 g FeCl₂.4H₂O vorteks yardımı ile çözdürüldü.

Metal şelatlama aktivitesinin belirlenmesi için Wenli vd. (2004) yaptığı metod kullanıldı. Sırasıyla her örnek için ekstrakt çözeltisinden 50 µL alınarak 96 kuyucuklu plate’ye aktarıldı ve üzerine 160 µL distile su ile 5 µL FeCl₂ (2 mM) çözeltisi eklenerek vortexlendi. 30 saniye beklendikten sonra 20 µL Ferrozin (5 mM) eklenerek karıştırıldı. 10 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildikten sonra 562 nm’de absorbansları ölçüldü.

3.2.6. Antimikrobiyal Aktivitenin İncelenmesi

Nutrient Broth'tan 8 g alınarak saf su ile 1 litreye tamamlanarak otoklavlandı. Ardından steril kabine alınan malzemeler UV ışınları ile sterilize edildi. Hazırlanan besiyerden cam tüplere bir miktar alınarak + 4 °C'de bekletilen stok bakterilerden öze ucu ile alınarak ekim yapıldı. Bakterilerin uyanması için etüvde 37 °C'de 24 saat bekletildi. 24 saat sonra sıvı besiyerine ekilen bakteriler 96 kuyucuklu plate'ye alınarak 734 nm'de ölçüm alındı ve değer kaydedildi. Bu çalışmada Mc Farland 0.5 standardına uygun bakteri konsantrasyonu hazırlandı (0,08-0,13 Abs). Sıvı besiyerindeki bakteri solüsyonunun absorbansı Mc Farland 0.5. 625 nm'de ölçüm alındıktan sonra 0,08-0,13 Absorbans arası alınan ölçüme göre stok seyreltilir ve stoktan numune alınır. Seyretme işleminden sonra ELİSA reader cihazından ölçüm alındı. Mikrodülsiyon yöntemi ile hem nanopartikül hem de bitki ekstraktı çalışıldı. Deneyde 96 kuyucuklu plate kullanıldı. Deney 4 farklı mikroorganizma ile gerçekleştirildi. İlk 4 kuyucuk için CuNPs farklı konsantrasyonu için kullanıldı. Son 4 kuyucukta ise *Plantago lanceolata* L. ekstraktının farklı konsantrasyonları kullanıldı. İlk olarak 1. Kuyucuğa 200 mL CuNPs aktarılıp daha sonra geri kalan 3 kuyucuğa Nutrient Broth besiyerinden 100 mL eklendi. Ardından ilk kuyucuktaki 200 mL CuNPs'den 100 mL alınarak 2 kuyucuğa aktarıldı ve pipetleme yapıldı. Daha sonra 2. kuyucuktan 100 mL solüsyon alınarak bir sonraki kuyucuğa aktarıldı. Bu şekilde 4 kuyucuk farklı konsantrasyonlarda hazırlandı. En son kuyucukta toplam 200 mL solüsyon olacağı için 100 mL alındı. Aynı işlem *Plantago lanceolata* L. ekstraktı için de yapıldı. İlk kuyucuğa 200 mL konulacak ve geri kalan kuyucuklara 100 mL Nutrient Broth besiyerinden konuldu. Ardından seyreltme işlemi uygulandı. Bu işlem bütün mikroorganizmalar için yapıldı. Son olarak 96 kuyucuklu platelerde hazırlanan farklı konsantrasyondaki solüsyonlar üzerine 100'er mL mikroorganizma eklenerek pipetleme yapıldı. İşlem bittikten sonra 96 kuyucuklu plateler etüvde 24 saat boyunca 35,5 °C'de bekletildi. 24 saat sonra 96 kuyucuklu plateler ELİSA reader ile 625 nm'de absorbansları ölçüldü. Son olarak 96 kuyucuklu platelerin detaylı görüntüsü alındıktan sonra deney son buldu.

Antimikrobiyal deneyi için kullanılan mikroorganizmalar Refik Saydam Umumi Hijyen merkezinden temin edildi. Gram pozitif (+) mikroorganizma *Staphylococcus aureus* ATCC

29213, gram negatif (-) mikroorganizmalar *Klebsiella pneumoniae*; EMCS ve *Escherichia coli* ATCC 25922, maya için *Saccharomyces cerevisiae* kullanıldı.

3.2.7. Antikanser Aktivitesinin İncelenmesi

3.2.7.1. Medium Hazırlama

DMEM miktarına göre %10 Fetal Bovine Serum (FBS) ve %1 penicilin-streptomisin kullanıldı. Çalışmada 500 mL'lik DMEM ile stok hazırlandı.

3.2.8. Hücre kültürü

-80 °C'de stoklanan A549 ve SH-SY5Y hücreleri stok olarak hazırlanan besiyeri ile %5 CO₂ steril inkübatör'de 37 °C'de pasajlanarak çoğaltıldı. Hücreler yeterli miktarda çoğaltıldıktan sonra çalışmada kullanıldı.

3.2.8.1. Hücre Canlılık Testi

Sinirli ot ekstraktı 2 mg tartılarak üzerine 10 µL DMSO eklenerek ekstrakt çözündürüldü. Daha sonra 1 mL besiyeri eklenerek konsantrasyonu 2 mg/mL olarak ayarlandı. Ardından seri dilüsyon ile konsantrasyonlar düşürüldü. CuNPs için ekstarktlar ile aynı şekilde seri dilüsyon halinde konsantrasyonlar ayarlandı.

Birkaç gün önceden çoğaltılan hücreler thoma lamıyla sayılıp 96 kuyucuklu platelere ekildi. %5 CO₂'li inkübatörde 37 °C'de 2 gün hücreler inkübasyona bırakıldıktan sonra Sinirli ot ekstraktı yukarıda anlatıldığı gibi farklı konsantrasyonlarda uygulandı. 96 kuyucuklu plate alınarak ters mikroskopta incelendi. Kontrol grubuna sadece besiyeri uygulandı. 48 saat sonunda her bir kuyucuğa 15 µL WST-1 maddesi eklendi. Hücreler %5 CO₂'li inkübatörde 37 °C'de 4 saat inkübe edildi. Daha sonra 96 kuyucuklu plate ELISA reader cihazına yerleştirildi ve her bir kuyucuğun 450-630 nm'deki absorbans değerleri alınarak kaydedildi.

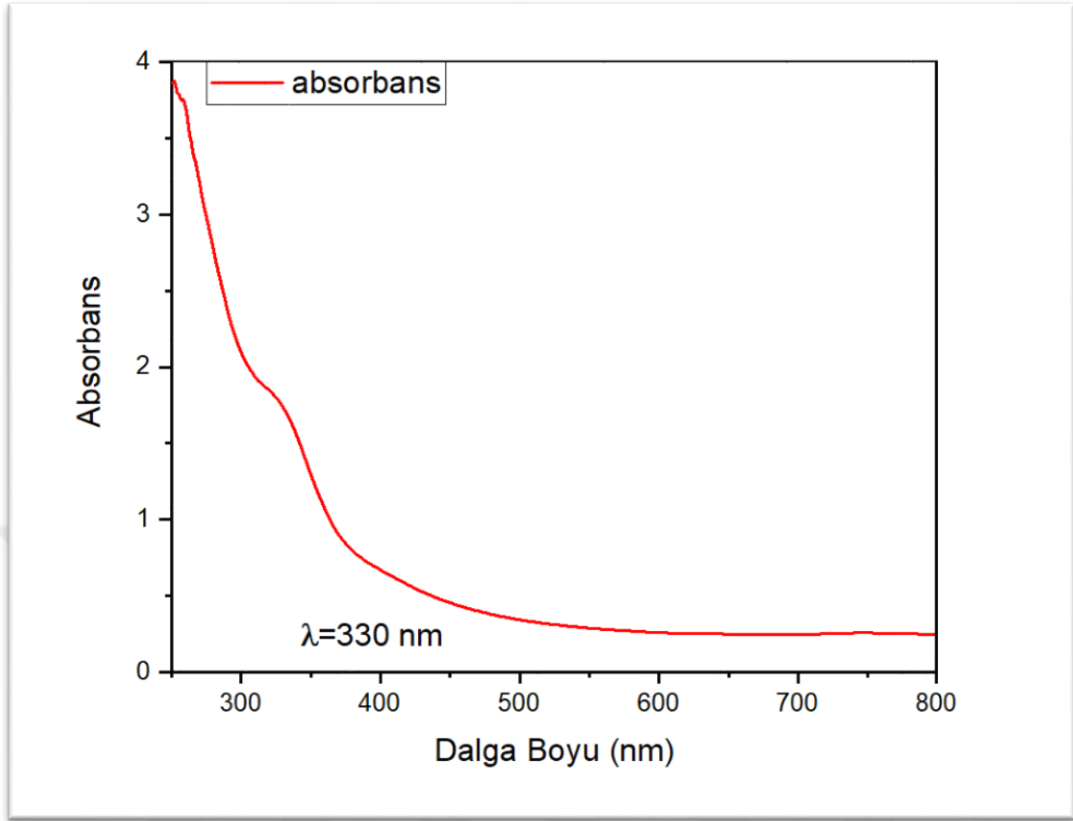
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bakır Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

İlk olarak *Plantago lanceolata* ekstraktı kullanılarak sentezlenen CuNPs'lerin boyut, şekil, kristal yapısı ve kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi için bir takım karakterizasyon işlemi yapıldı.

4.1.1. UV-Vis (Ultraviyole-Görünür Spektroskopi)

Başlangıçta nanopartiküllerin sentezini gözle farketmek mümkündür. Çünkü *Plantago lanceolata* ekstraktını $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ solüsyonu ile karıştırdıktan sonra açık mavi olan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ solüsyonu ilk aşamada açık yeşil renk alırken yaklaşık 30 dakika sonra koyu yeşil renge döndüğü gözlemlenmiştir ve bu da nanopartiküllerin oluştuğunun belirtisidir. Ancak bu nicel gözlem bizlere nano boyuttaki yapıların şekil, boyut, bağ yapma yani moleküler durumu hakkında bir bilgi sunmaz bunun için çeşitli yöntemler kullanılmış. Bunlardan biri de UV-Vis spektroskopisidir. Cu@NP'lerin iletim elektronları ile gelen fotonlar arasındaki etkileşim ve renk değişimini gösterir (Mali et al., 2020). CuNPs'ler ağırlıkça %0,1'lik bir konsantrasyonla su içinde çözdürüldükten sonra, spektrum, 330 nm dalga boyunda CuSO_4 'ün karakteristik bir absorpsiyon zirvesini ortaya koymaktadır. Bu absorpsiyon spektrumu modeli, değerlik bandından iletim bandına elektron geçişleri nedeniyle CuSO_4 'ün içsel bant aralığı absorpsiyonuna atfedilebilir. CuNP sentezi sırasında, çözeltinin rengi kademeli olarak değişir. Bu renk değişikliği, yüzey plazmon rezonansı (SPR) olarak bilinen bir durumdan kaynaklanmaktadır. SPR, metal NP'lerin iletim elektronlarının gelen ışıkla etkileşimi üzerindeki toplu salınımlarından dolayı bir rezonans etkisinin göstergesidir (Shubhashree et al., 2022).



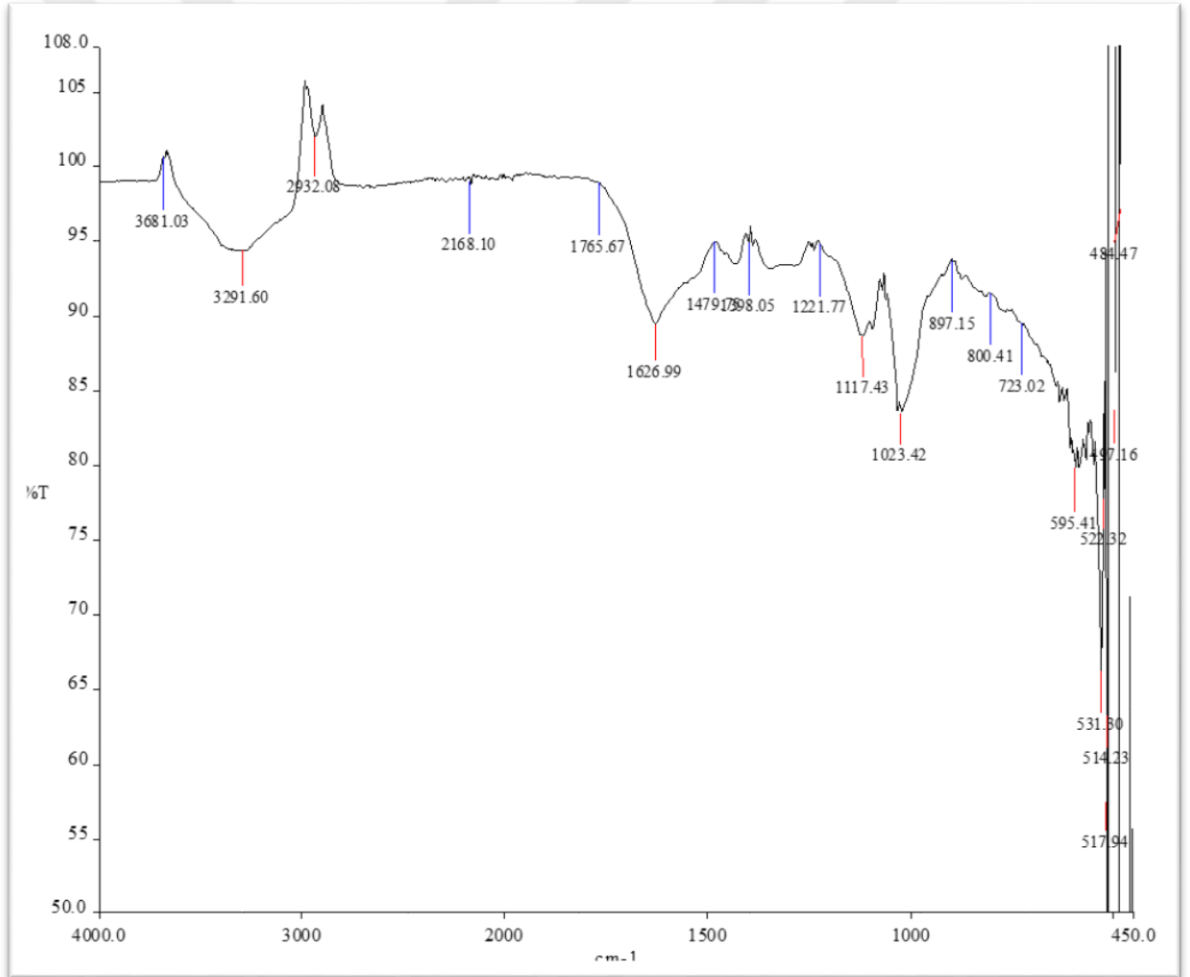
Şekil 4.1 CuNPs UV-Vis Spektrum taraması

Yapmış olduğumuz bu çalışmada sentezlenen CuNPs'lerin UV-Vis spektrumu şekil 4.1'de verilmiştir. Elde edilen verilerde CuNPs'lerin 330 nm'de pik verdiği saptanmıştır. Benzer şekilde Das vd. (2020) sentezlediği CuNP'lerin UV-Vis spektrumu 390 nm'de pik verdiği belirtilmiştir(Das et al., 2020).

4.1.2. FT-IR Analizi

Sentezlenen sinir otu ekstraktının ve CuNP'lerin yüzey bileşenleri ve sahip oldukları biyoaktif bileşiklerin fonksiyonel gruplarını tanımlamak için FT-IR kullanılmıştır. FT-IR analizi, incelenmek istenen numunenin üzerine kızılötesi ışınları gönderilerek numunenin sahip olduğu molekül içi bağlarının titreşim ve dönme hareketlerine göre kızılötesi ışınlarının absorplanmasına dayanan tekniktir. FT-IR analizi sonucunda 3681, 3291, 2932, 2168, 1765, 1626, 1479, 1398, 1221, 1117, 1023, 897, 800 cm^{-1} 'de zirve yapan pikler kaydedilmiştir. Elde edilen pikler CuNPs'lerin bitki ekstraktı ile başarılı sentezini ifade

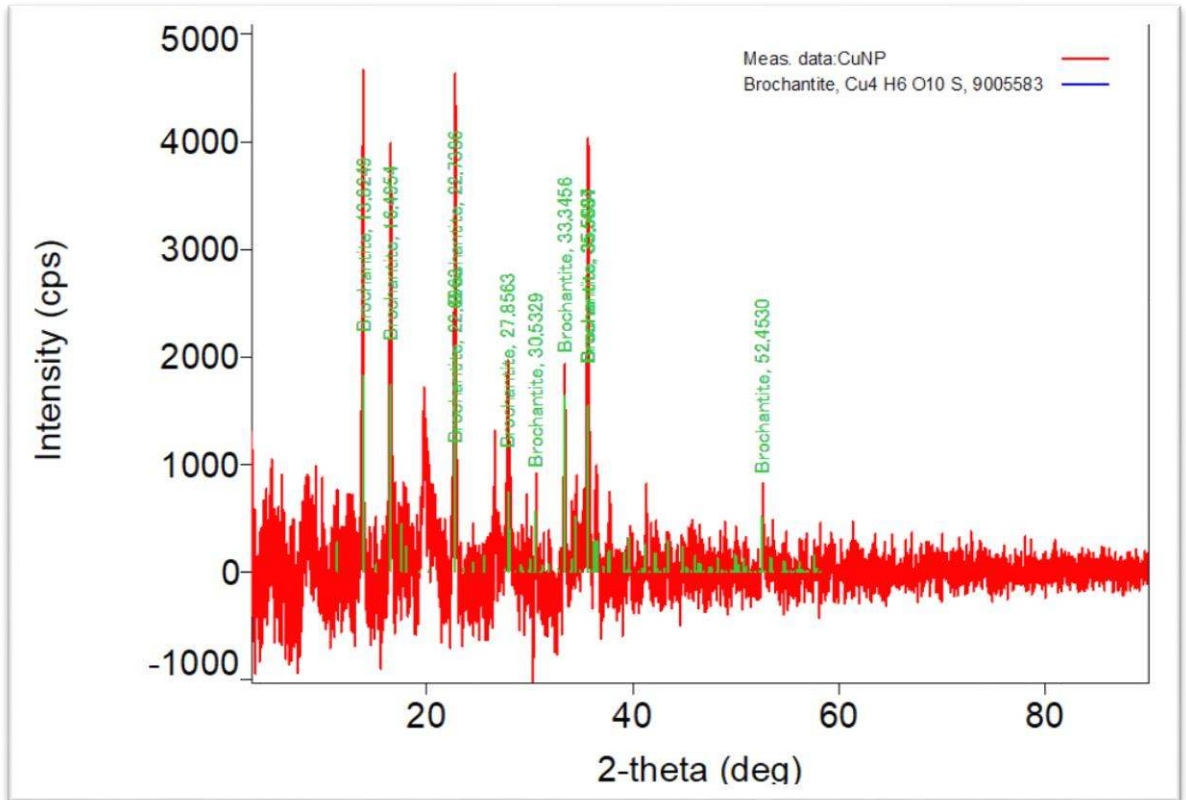
etmektedir. FT-IR analizlerinde dalga sayısı bölgelerinde elde edilen piklerin varlığı metal/metal oksit nanopartiküller hakkında gerekli bilgileri sunmaktadır. Eğer metal nanopartiküller metal oksit şeklinde oluşuyorsa $400-700\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler metal oksijen bağını, diğer bölgelerdeki pikler ise bitki ekstarktlarında bulunan organik bileşiklerin nanopartiküllere bağlanmalarını ifade etmektedir. $3681-2932\text{ cm}^{-1}$ 'deki güçlü pikler fenollerin yanı sıra OH ve alifatik hidrokarbonun CH gerilmesini, $1765-1626\text{ cm}^{-1}$ pikler C=C ve C=O aromatik gerilmesine, $1479-1398\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler C-H alkan bükülmesini, $1023-800\text{ cm}^{-1}$ C- O-C etere atfedilmektedir (Tu et al., 2023; Kashyap et al., 2023; Wu 2023). FT-IR grafiği şekil 4.2' de verilmiştir.



Şekil 4.2 CuNPs'lerin FT-IR analizi

4.1.3. X-Işını Kırınım (XRD) Analizi

Nanopartikül sentezinde kullanılan morfolojik analizlerin en önemli belirteci olan XRD, NP'lerin kristal yapısı hakkında yeterli bilgi verir (Khanat et al., 2019). CuNPs'lerin kristallliği hakkındaki yapısal bilgi, XRD tekniği ile tahmin edilir. Bu teknik, bu tür nanoparçacıklar için kırınım tepe noktasının olmaması nedeniyle amorf yapıya sahip CuNP'leri tanımlayamaz ve yapısal bilgi sağlamaz. Nano boyutta CuNP'lerin oluşumu, XRD üzerindeki piklerin genişlemesi ile ilişkilidir (Akintelu et al., 2021).



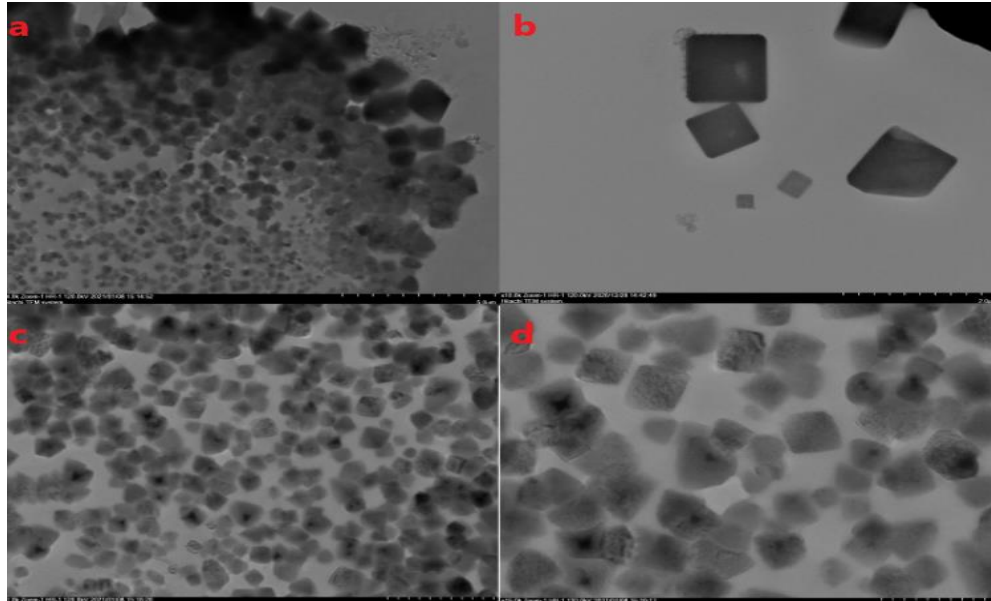
Şekil 4.3 CuNPs XRD (X-Işını kırınım) Analizi

Şekil 4.3'te görüldüğü gibi 2θ 35°-37°-40,3°-41,6°-61,4°-67,9° ve 77°'de gözlemlenen pikler bakırın yüzey merkezli kübik yapısını temsil eden sırasıyla 101, 102, 103, 006, 110, 108 ve 116 endekslerine denk gelmiştir. Bu da bizlere bakır sülfat ve bitki ekstraktının birlikte kullanılmasının, nanoparçacıkların kristallliği üzerinde dikkate değer bir etkiye sahip olduğunu gösterir (Maheo et al., 2022).

Zawadzka vd. (2021) *Gloeophyllum striatum* ile sentezledikleri bakır nanopartiküllerin 111, 200 ve 220 endekslerine karşılık gelen 2θ $38,31^\circ$ - $47,92^\circ$ ve $66,12^\circ$ pozisyonlarında karakteristik tepe noktaları veren XRD analizi çalışmamızı desteklemektedir (Zawadzka et al., 2021). Ayrıca Rad vd. (2018) yaptığı çalışmada $6,12^\circ$ - $39,32^\circ$ - $49,74^\circ$ - $58,69^\circ$ ve $69,22^\circ$ kırınım açıları ile yüksek kristalli bir CuONP numunesi seviyesine denk gelen sırasıyla (002), (111), (202), (202) ve (113) 'de indekslenen bakır hatların karakteristik yüz merkezli kübik (fcc) yapısını desteklemiştir (Rad et al., 2018).

4.1.4. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)

Nanopartiküllerin uygulama alanları her geçen gün artmaktadır. Bununla birlikte biyolojik aktivitelerin belirlenmesi ve uygulanması elzem bir hal almıştır. İstenen morfolojik niteliklere sahip CuNsP'lerin sentezi için mikrodalga ışıması, termal bozunma, sol jel, kolloidal termal sentez, sonokimyasal, hidrotermal ve hızlı çökeltme gibi farklı fiziksel ve kimyasal yaklaşım geliştirilmiştir (Chandraker et al., 2020). Ancak biyolojik olarak sentezlenen nanopartiküllerin istenilen şekle gelmesi kullanılan metale ve kapatıcı ajan yani bitkiye bağlı olarak değişmektedir. CuNPs'lerin morfolojik yapısı TEM cihazı aracılığıyla tespit edildi (Santhoshkumar et al., 2019).

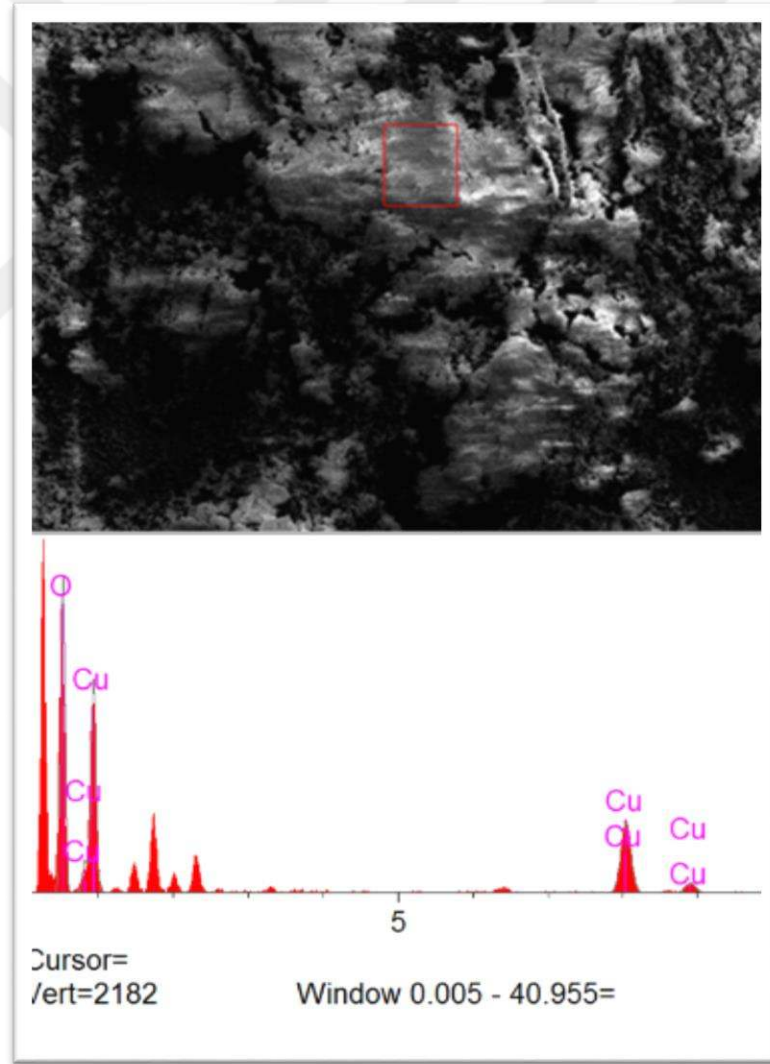


Şekil 4.4 Sinir otu(*Plantago lanceolata*) sulu ekstraktı ile sentezlenmiş bakır nanopartiküllerin TEM görüntüsü

Şekil 4.4'te sentezlenen NP'lerin boyutları ortalama 70-80 nm aralığında olduğu görülmüştür. Bitki ekstraktlarından biyosentezlenen bazı NP'lerin boyut ve dokusu üzerinde pH'ın önemli etkisi olduğu rapor edildi (Akintelu et al., 2020).

4.1.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Ayrıca, sentezlenen CuNPs'lerin yüzey morfolojisi SEM ile incelendi. Elde edilen veriler ışığında CuNPs'lerin sulu ortamda sentezlenmesinden dolayı yoğun şekilde agrege olduğu ve kübik şekillere sahip olduğu tespit edildi.

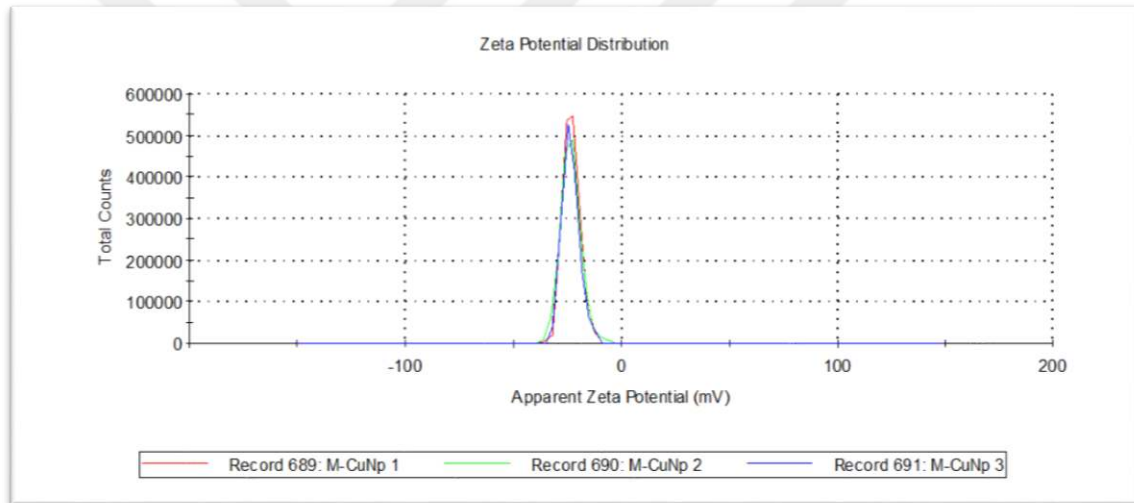


Şekil 4.5 Sinir otu(*Plantago lanceolata*) sulu ekstraktı ile sentezlenmiş bakır nanopartiküllerin SEM görüntüsü

Elumalai ve Velmurugan (2015) yapmış olduğu çalışmada sulu ekstrakt ile sentezlenen NP'lerin yüksek düzeyde agrege olduğunu belirtildi(Elumalai and Velmurugan, 2015).

4.1.6. Zeta Potansiyeli

Bakır nanopartiküllerin zeta potansiyeli -23,3 mV olarak ölçülmüştür. Ölçülen değerin negatif olması negatif-negatif etkileşimin nanopartiküller arasında itmeye sebep olduğunu göstermektedir (Subha et al., 2022). Negatif zeta potansiyel, hidroksil grupları (OH⁻), anyonlar vs. gibi negatif yüklü bileşiklerin oksit yüzeyine tutunmasından dolayı gözlenmektedir (Mandal et al., 2023). Zeta potansiyeline şekil 4.6'de verilmiştir.



Şekil 4.6 Sinir otu(*Plantago lanceolata*) sulu ekstraktı ile sentezlenmiş bakır nanopartiküllerin Zeta görüntüsü

4.2. Boya Giderim Çalışmaları

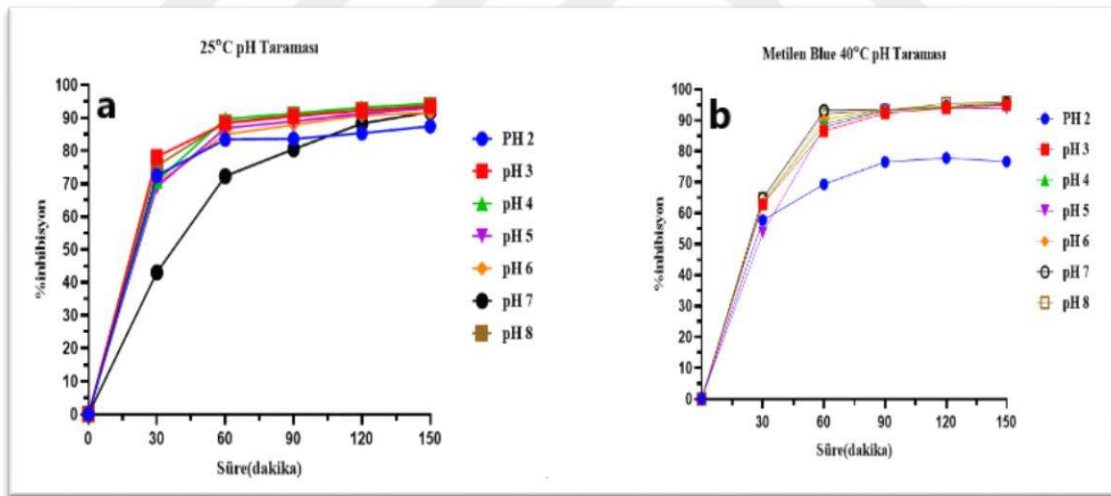
4.2.1. 25°C ve 40°C Metilen Mavisi Giderimi

Metil tioninyum klorür olarak da bilinen metilen mavisi, moleküler formülü $C_{16}H_{18}C_1N_3S$ olan bazik bir anilin boyasıdır. Oksitlenmiş halde mavi bir renge sahiptir ve indirgeme üzerine renksiz metilen mavisi oluşturur. Boyama ve ilaçlamada çeşitli kullanımlara rağmen, MB'nin ciddi CNS toksisitesi ve kanserojen etki gösterdiği rapor edildi.

CuNPs'lerin metilen mavisi giderim çalışmaları için farklı absorbent miktarı, sıcaklık, pH, konsantrasyon ve süre parametreleri uygulandı. Öncelikle optimum pH bulunması için NP dozları, sıcaklık ve konsantrasyonları sabit tutularak 30'ar dakika numune alınıp toplam 150 dakika absorbe edildi. Sentezlenen bakır nanopartiküllerden 20 mg, metilen mavisinden 20 ppm konsantrasyonda hazırlanarak 25 ve 40 °C sıcaklıklarda pH 2-8 aralığında farklı pH taraması gerçekleştirildi. Sonuçlar şekil 4.7'de görüldüğü gibi gözle fark edilir derecede belirgin oldu. Desteklenen en iyi giderim 25 °C'de pH 4, 40 °C'de ise pH 8 olduğu görüldü. MB için renk giderme özelliği, boya bozunması (%) cinsinden hesaplandı.

$$\text{Boya Degredasyonu (\%)} = (C_0 - C) / C_0 * 100 \quad (4.1)$$

Burada C_0 , metilen mavisi çözeltisinin ilk konsantrasyonu (mg/mL), C ise son konsantrasyonu olarak alındı (Khani et al., 2018; Mohmood et al., 2013).

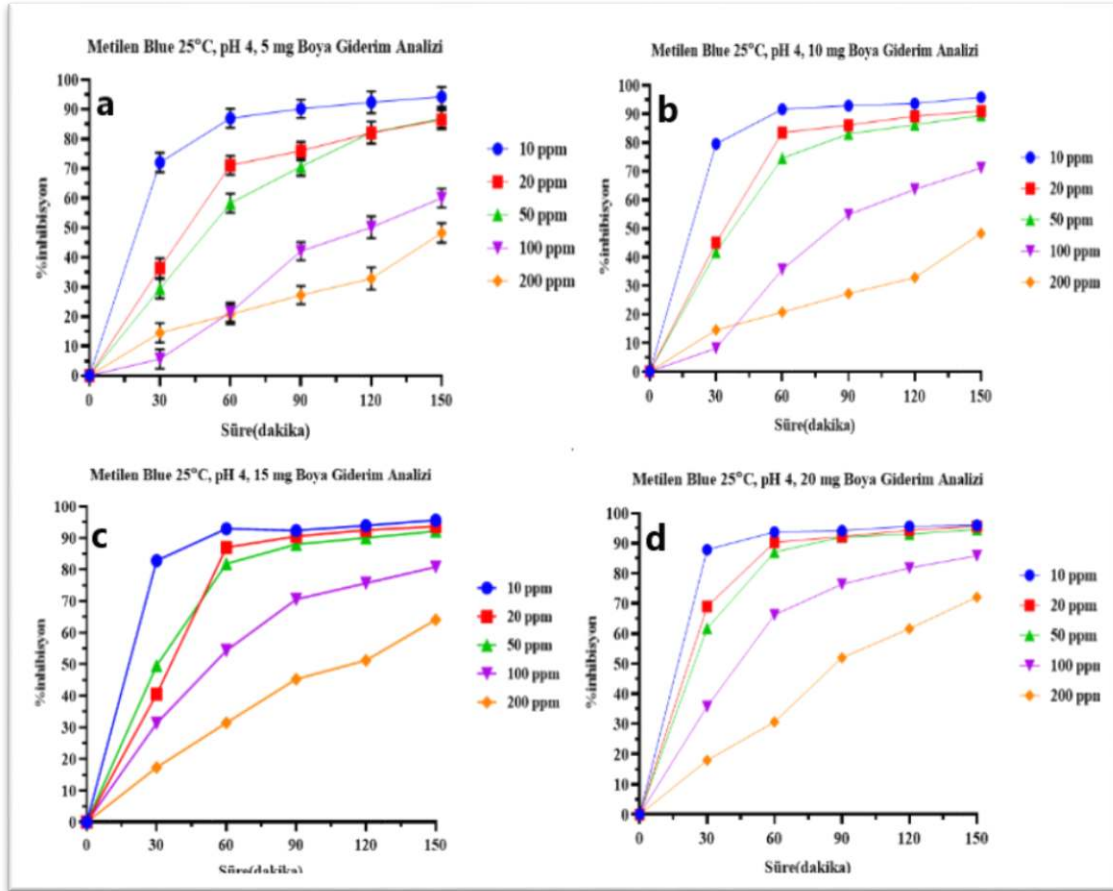


Şekil 4.7 (a) 25°C ve (b) 40°C, 15 mg, 20 ppm konsantrasyonda metilen mavisinin pH 2-8 aralığındaki giderim sonuçları

4.2.2. 25 °C Metilen Mavisi

Bu çalışmamızda sabit sıcaklık, boya konsantrasyonu ve CuNPs dozlarının en iyi absorbasyon kapasitesi sergilediği pH değeri bulunduktan sonra pH sabit tutularak farklı metilen mavisi konsantrasyonu ve CuNPs dozajları çalışılarak boya giderim değerleri

ölçülmüştür. Şekil 4.8’de görüldüğü gibi 25 °C’de boya solüsyonlarının pH 4’te metilen mavisinin farklı konsantrasyonlarına (10 ppm, 20 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm) karşı CuNPs’lerin miktarındaki (5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg) absorpsiyon kapasiteleri belirlendi. Yapılan çalışmalar hem literatürle hem de beklenen sonuçlardan daha iyi olduğu gözlemlendi. Çünkü şekilde de görüldüğü gibi CuNPs miktarı arttıkça giderim artmış, metilen mavisi konsantrasyonu arttıkça ise giderimin azaldığı sonucu ortaya çıktı.

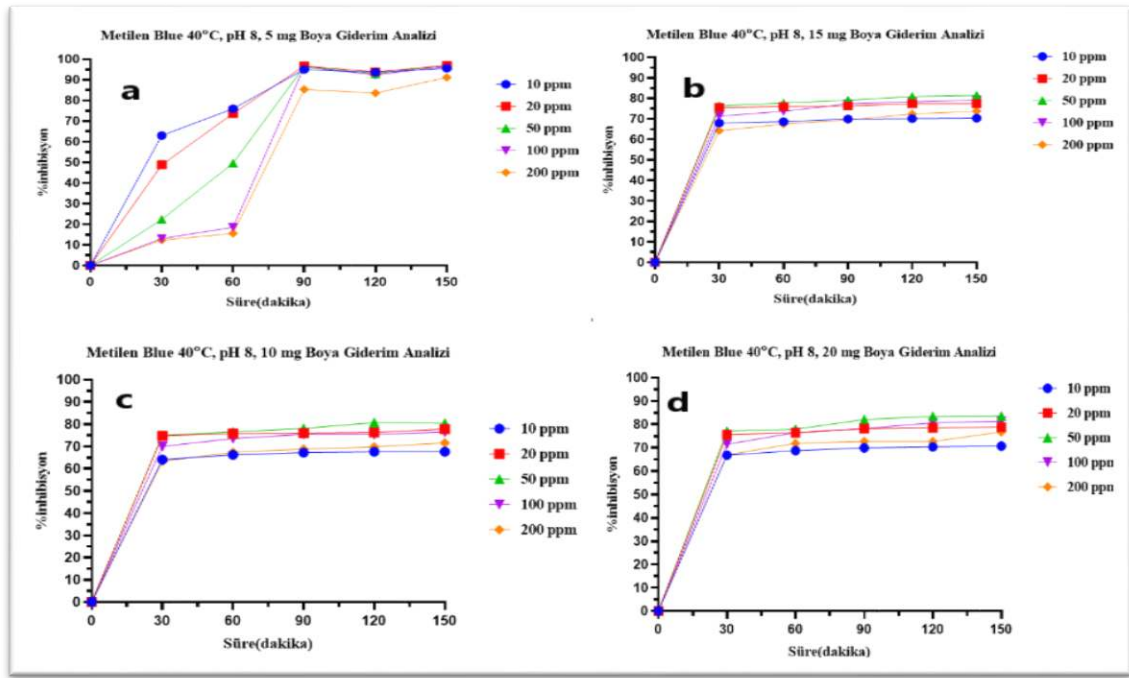


Şekil 4.8 25°C’de (a) pH 4, 5 mg CuNPs, (b) pH 4, 10 mg CuNPs, (c) pH 4, 15 mg CuNPs, (d) pH 4, 20 mg CuNPs’nin 10, 20, 50, 100 ve 200 ppm konsantrasyonlarında metilen mavisi giderim özellikleri

4.2.3. 40°C Metilen Mavisi

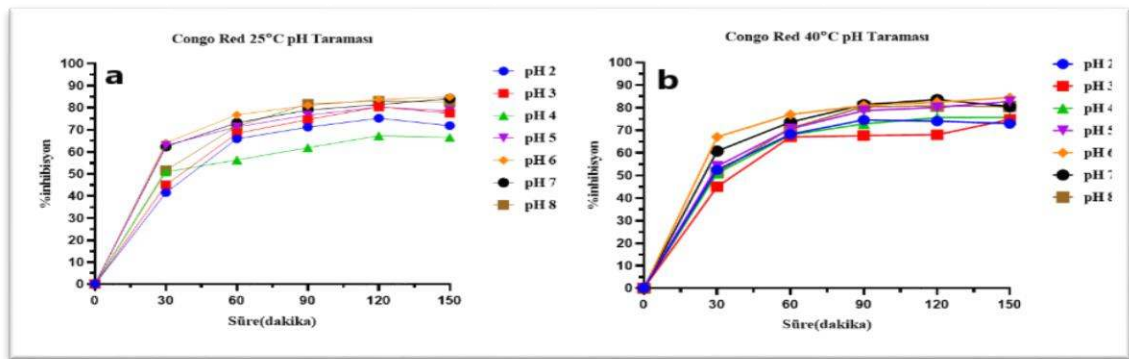
Metilen mavisi için 40 °C’de pH taraması yapıldıktan sonra pH 8’te metilen mavisinin farklı konsantrasyonlarına (10 ppm, 20 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm) karşı CuNPs’lerin miktarındaki (5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg) absorpsiyon kapasiteleri belirlendi.

Şekil 4.9'da görüldüğü gibi giderim MB konsantrasyonuyla ters orantılı olarak azalmaktadır. Ancak CuNPs miktarı ile doğru orantılı olarak da artmaktadır. Şekil 4.9 (d)'de 20 mg CuNPs kullanılarak yapılan işlemde en iyi giderim %97,49 ile 50 ppm MB konsantrasyonunda gerçekleştiği görüldü.



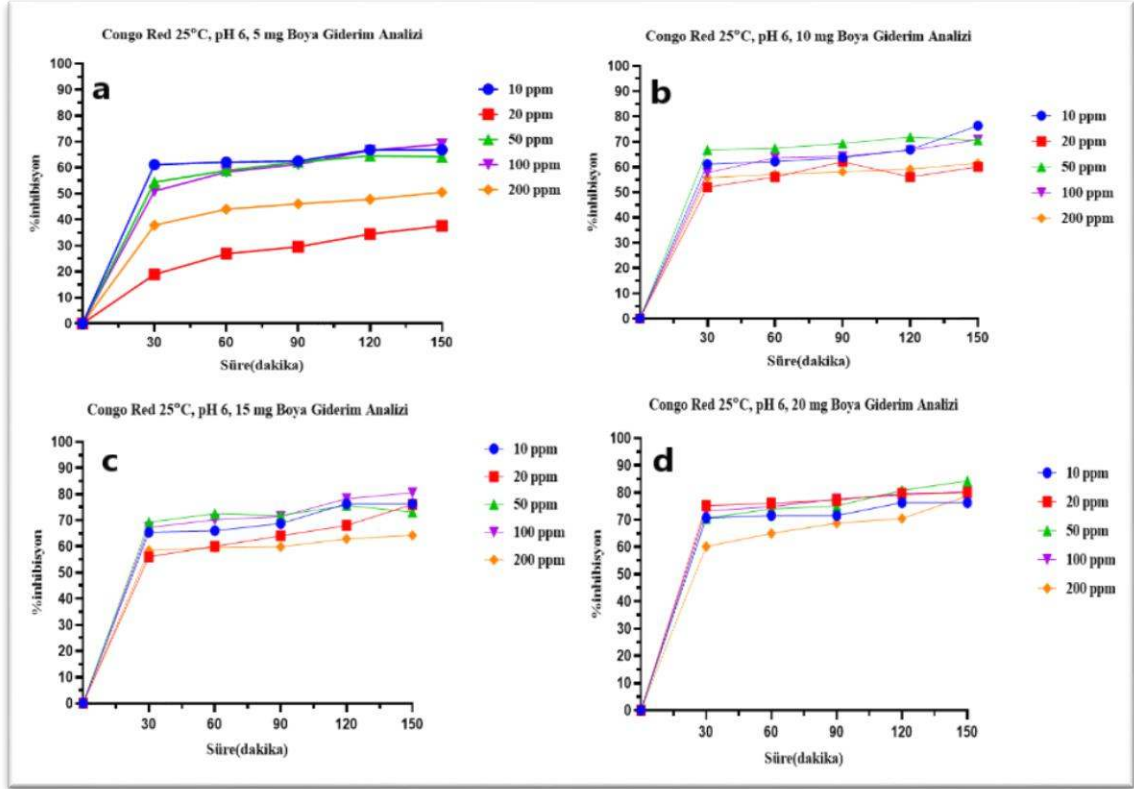
Şekil 4.9 40°C'de (a) pH 8, 5 mg CuNPs, (b) pH 8, 15 mg CuNPs, (c) pH 8, 10 mg CuNPs, (d) pH 8, 20 mg CuNPs'nin 10, 20, 50, 100 ve 200 ppm konsantrasyonlarında metilen mavisi giderim özellikleri

4.2.4. Kongo Kırmızısı Giderim Çalışması



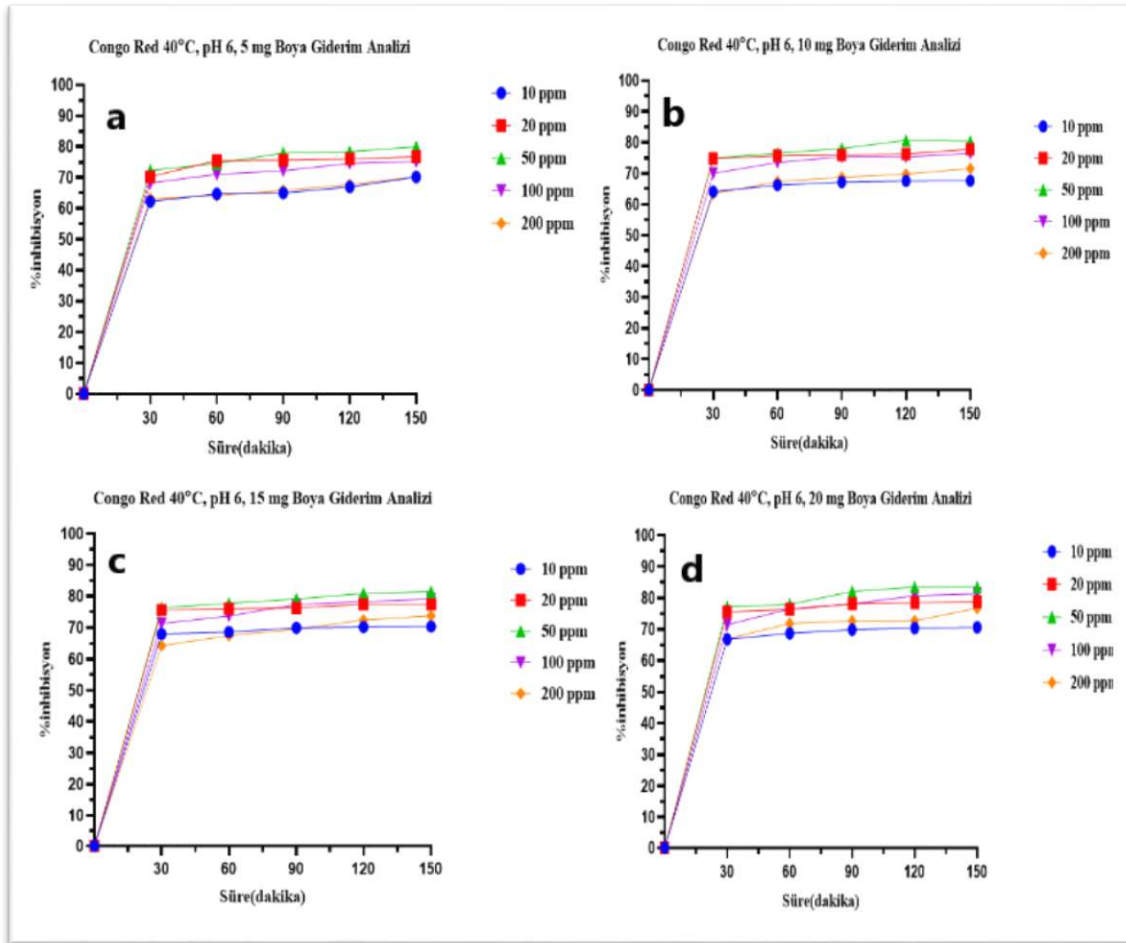
Şekil 4.10 (a) 25°C ve (b) 40°C, 15 mg, 20 ppm konsantrasyonda kongo kırmızısının pH 2-8 aralığındaki pH giderim sonuçları

4.2.5. 25°C Kongo Kırmızısı Giderimi



Şekil 4.11 25°C’de (a) pH 6, 5 mg CuNPs, (b) pH 6, 10 mg CuNPs, (c) pH 6, 15 mg CuNPs, (d) pH 6, 20 mg CuNPs’nin 10, 20, 50, 100 ve 200 ppm konsantrasyonlarında Kongo kırmızısı giderim özellikleri

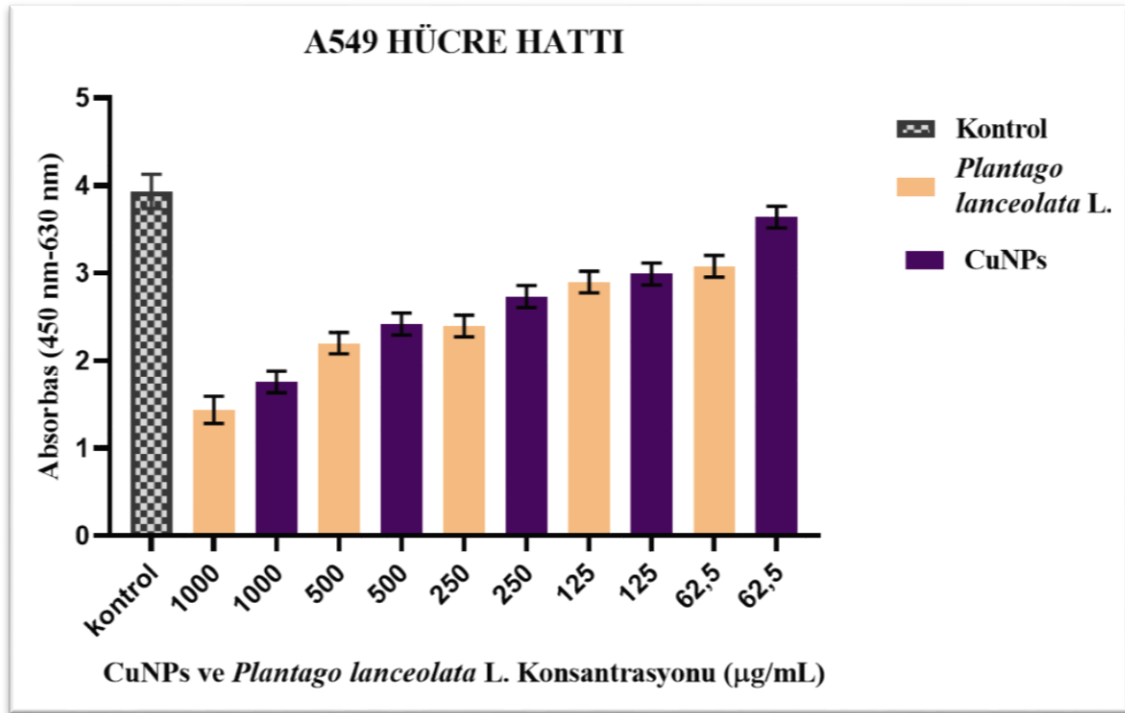
4.2.6. 40°C Kongo Kırmızısı Giderimi



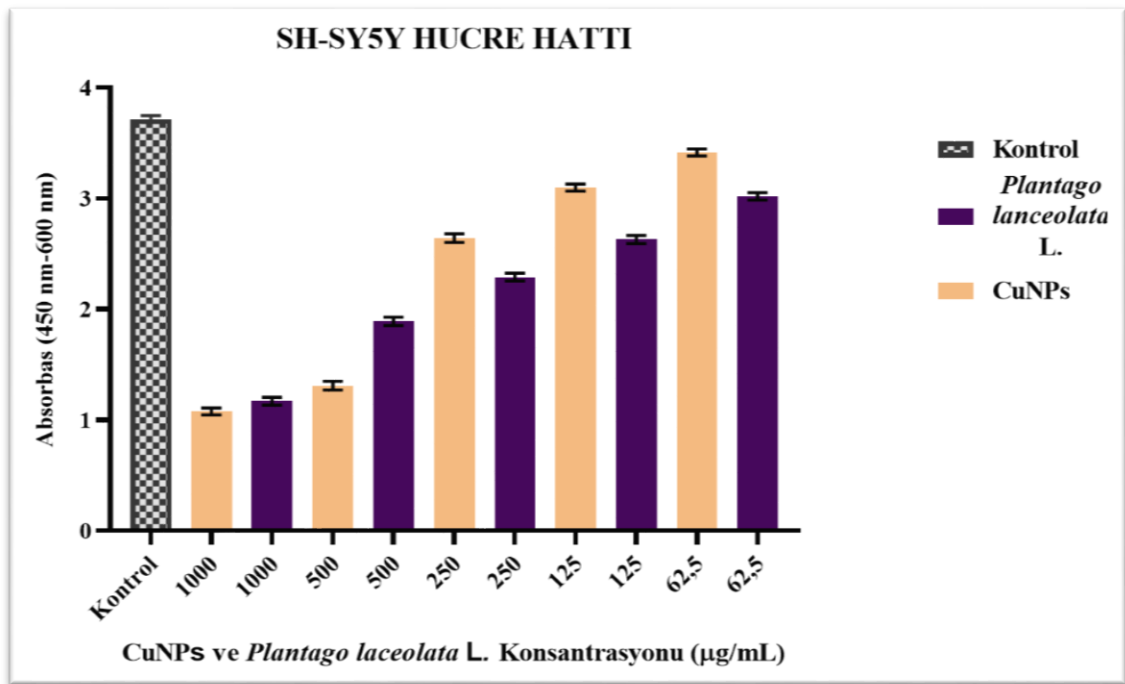
Şekil 4.12 40°C’de (a) pH 6, 5 mg CuNPs, (b) pH 6, 10 mg CuNPs, (c) pH 6, 15 mg CuNPs, (d) pH 6, 20 mg CuNPs’nin 10, 20, 50, 100 ve 200 ppm konsantrasyonlarında Kongo kırmızısı giderim özellikleri

4.3. Antikanser Aktivitesi

Antikanser aktivitesinin belirlenmesi için iki ayrı hücre kullanıldı. Bunlar akciğer kanser hücresi olan A549 ve SHSY-5Y nöroblastoma hücreleridir. Bu deney CuNPs ve *Plantago lanceolata* L. ekstrakt antikanser ve sitotoksitesini araştırmaya yönelik bir çalışmadır. Şekil 4.13 ve şekil 4.14’ de görüldüğü gibi hem CuNPs hem de *Plantago lanceolata* L. ekstrakt konsantrasyonu artıkça hücre canlılığının azaldığı görüldü.



Şekil 4.13 CuNPs ve *Plantago lanceolata* L. ekstraktının A549 hücrelerine uygulanması ve onlar üzerindeki etkisi



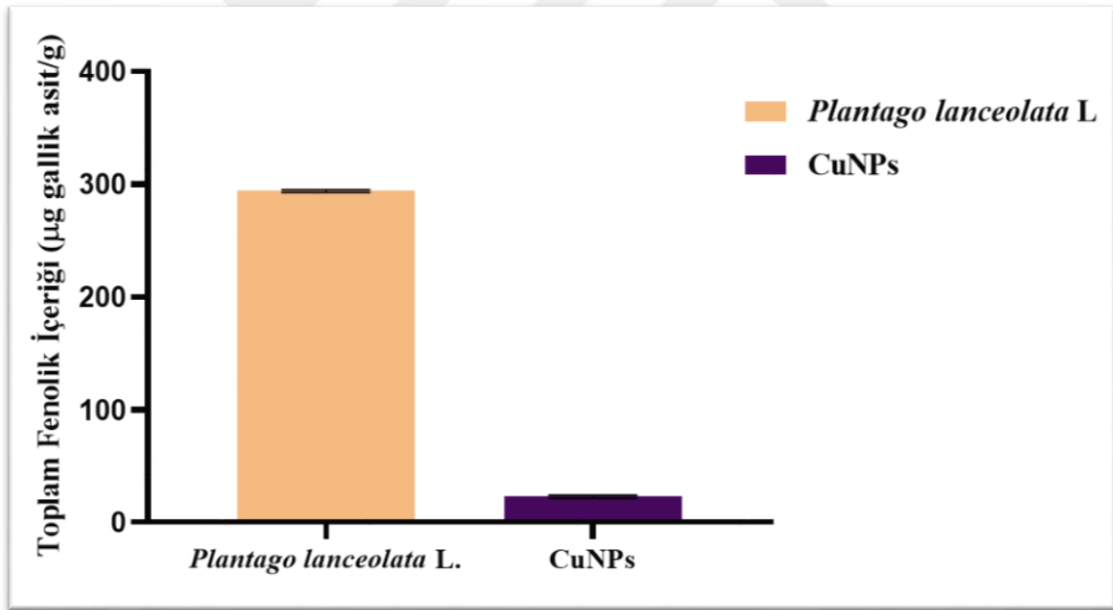
Şekil 4.14 CuNPs ve *Plantago lanceolata* L. ekstraktının SH-SY5Y hücrelerine uygulanması ve onlar üzerindeki etkisi

4.4. Antioksidan Aktivitesi

CuNPs ve *Plantago lanceolata* L. ekstraktının antioksidan özelliklerinin belirlenmesi için toplam fenolik madde içeriği, toplam flavanoid madde içeriği, toplam antioksidan kapasitesi, DPPH giderme aktivitesi ve metal şelatlama aktivitesi incelendi. Bu çalışmada *Plantago lanceolata* L. ekstraktı ve CuNPs'ler 1 mg/mL konsantrasyonda çalışıldı.

4.4.1. Toplam Fenolik Madde Belirlenmesi

İlk olarak toplam fenolik madde tayini için *Plantago lanceolata* L. ekstraktı ve CuNPs değerleri Şekil 4.15'de verilmiştir. Çözeltilerin absorbansları 760 nm'de okutuldu. Sonuçlar μg gallik asit eşdeğeri baz alınarak hesaplandı.

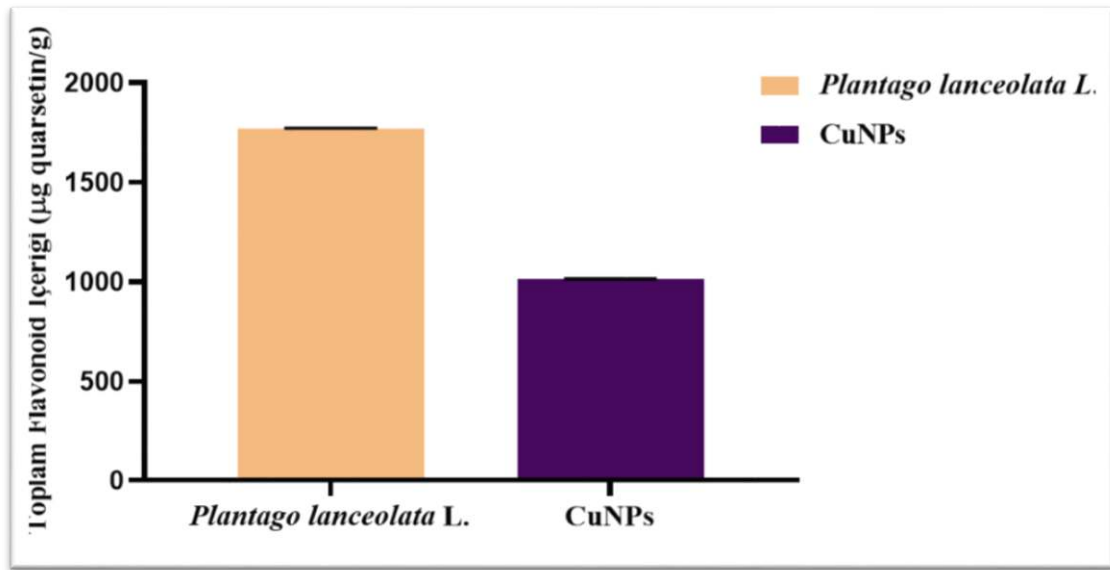


Şekil 4.15 CuNPs ve *Plantago lanceolata* L. ekstraktının toplam fenolik madde içeriği (μg gallik asit/g)

Plantago lanceolata L. içinde toplam fenolik madde içeriği $294,2691 \pm 79,13 \mu\text{g/g}$ olarak hesaplandı. CuNPs için bulunan toplam fenolik madde içeriği $23,015 \pm 61,12 \mu\text{g/g}$ olarak hesaplandı. Buna göre *Plantago lanceolata* L. bitki ekstraktının toplam fenolik madde içeriğinin CuNPs'ye göre 10 kat daha fazla olduğu görüldü.

4.4.2. Toplam Flavanoid Madde İçeriği

Plantago lanceolata L. ekstraktı ve CuNPs için toplam flavanoid madde içeriği Şekil 4.16'de verilmiştir. Çözeltilerin absorbansları 415 nm'de spektrofotometrik olarak okutuldu. Sonuçlar μg kuercetin eşleniği esas alınarak hesaplandı.

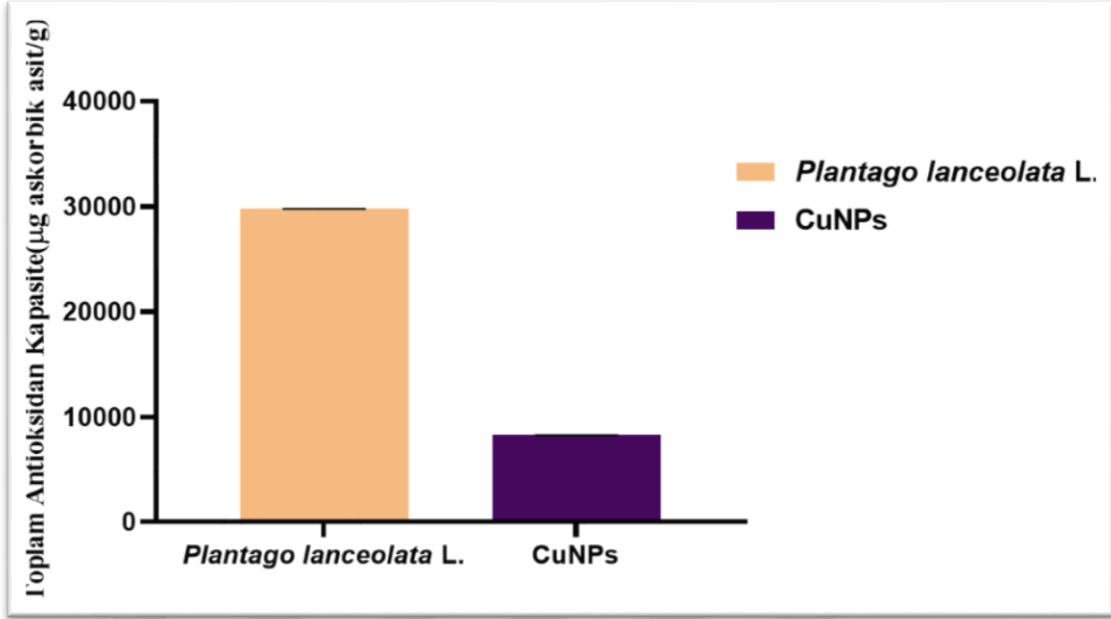


Şekil 4.16 CuNPs ve *Plantago lanceolata* L. ekstraktının toplam flavanoid madde içeriği (μg kuercetin /g).

Şekil 4.16'te verildiği gibi *Plantago lanceolata* L. için toplam flavanoid madde içeriği $1772,00 \pm 200,14 \mu\text{g}$ quercetin/g olarak hesaplandı. CuNPs için bulunan toplam flavanoid madde içeriği $1015,333 \pm 200,12 \mu\text{g}$ quercetin/g olarak hesaplandı. Sonuçlarda belirtildiği üzere *Plantago lanceolata* L. bitki ekstraktının toplam flavanoid madde içeriği CuNPs'ye göre daha fazladır.

4.4.3. Toplam Antioksidan Kapasitesi

Plantago lanceolata L. bitki ekstraktı ve CuNPs'nin içerdiği toplam antioksidan kapasitesi Şekil 4.14'de verildi. Toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için çözeltilerin absorbansları 695 nm'de okundu. Sonuçlar μg askorbik asit eşleniğine göre hesaplandı.



Şekil 4.17 CuNPs ve *Plantago lanceolata* L. ekstraktının toplam antioksidan kapasitesi (µg askorbik asit/g)

Şekil 4.17’te gösterildiği gibi *Plantago lanceolata* L. ve CuNPs için bulunan toplam antioksidan aktivitesi sırasıyla 29794,67±190,07 µg askorbik asit/g ve 8304,6±150,04 µg askorbik asit/g olarak hesaplandı. *Plantago lanceolata* L. ekstraktının toplam antioksidan aktivitesi CuNPs’ye göre 9 katından daha fazla olduğu tespit edildi.

4.4.4. DPPH Giderme Aktivitesi

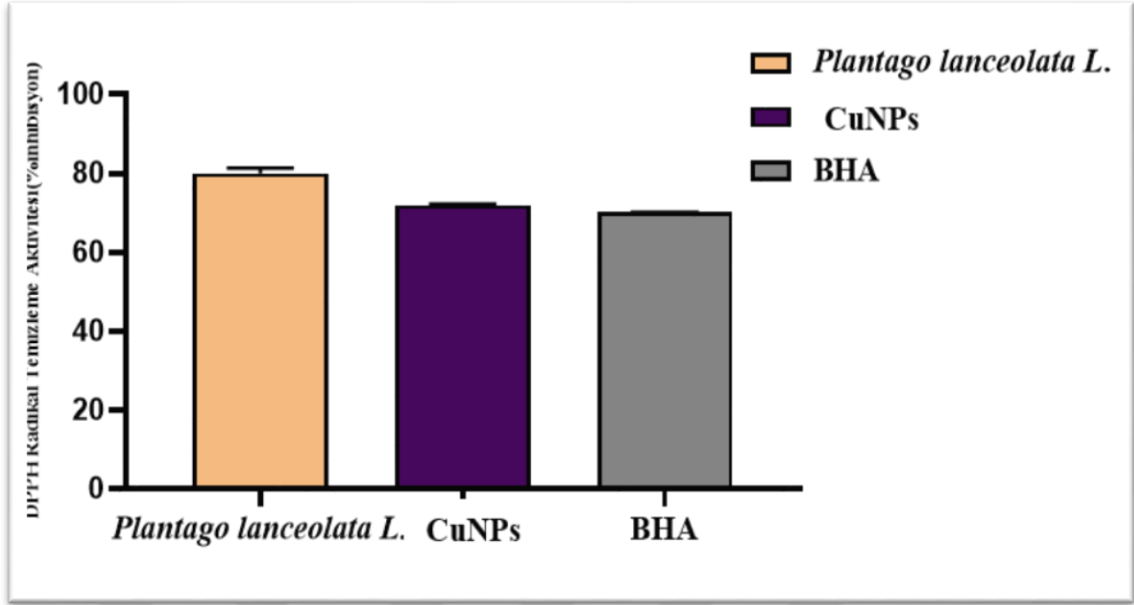
DPPH metanol çözeltisi ile hazırlanan kırmızımsı renkte olan bir çözeltidir ve bu rengin giderilmesi doğrultusunda yapılan bir deneydir. Metanol veya etanol ile hazırlanan DPPH numunenin içindeki sekonder metabolitlerle tepkimeye girerek renk değişiminde bulunur. Bu renk değişimleri 517 nm’de ölçülerek giderek absorbansın azalması beklenir. *Plantago lanceolata* L. ekstraktı ve CuNPsP DPPH giderme aktivitesi Şekil 4.18’te verilmiştir.

DPPH giderim aktivitesi % İnhibisyon olarak hesaplanır.

$$(A_k - A_n / A_k) \times 100$$

(4.2)

A_k: Kontrol numunesinin absorbansı, A_n: Örnek numunesinin absorbansı



Şekil 4.18 CuNPs ve *Plantago lanceolata L.* ekstraktının DPPH giderme aktivitesi (µg/mL)

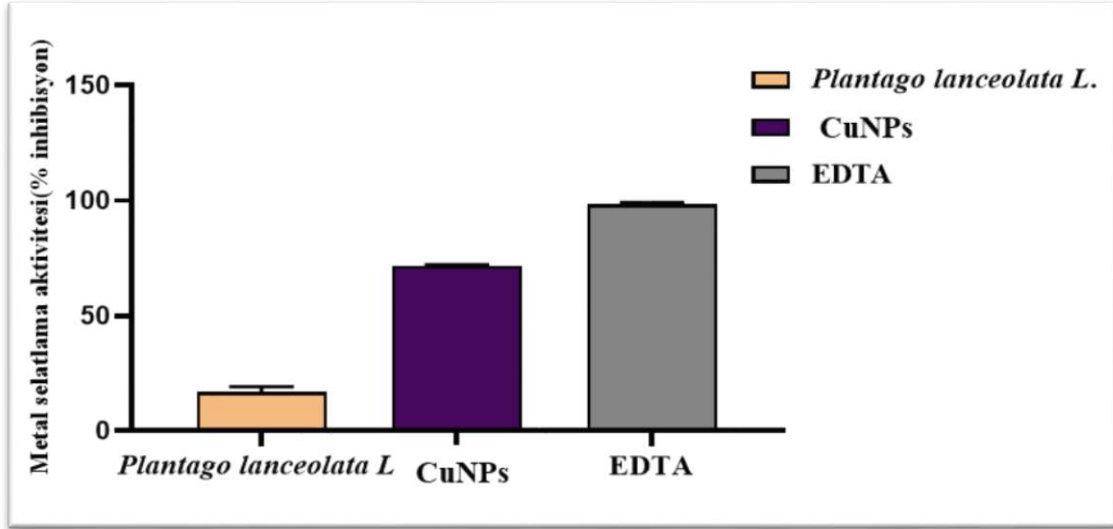
1000 µg/mL konsantrasyondaki DPPH radikali giderme aktivitesi Şekil 4.18’te verilmiştir. Sentetik antioksidan olan BHA’nın, *Plantago lanceolata L.* ekstraktının ve CuNPs’nin DPPH giderim aktivitesi sırasıyla %69,8956±0,5836, %78,8612±0,6511, %89,7905±0,2137 olarak hesaplanmıştır. DPPH giderim aktivitesi sırasıyla *Plantago lanceolata L.* > CuNPs > BHA şeklindedir.

4.4.5. Metal Şelatlama Aktivitesi

Metal şelatlama aktivitesinin amacı CuNPs içindeki metallerin şelatlama özelliğiyle ilgilidir. Bu aktivitenin belirlenmesi için öncelikle *Plantago lanceolata L.* ekstraktı ve daha sonra da CuNPs incelendi. Yine aynı şekilde % inhibisyon hesaplanarak aktivite ölçülmüştür. 562 nm’de ölçülen absorbans değerleri aşağıdaki gibi hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_k - A_n / A_k) \times 100 \quad (4.3)$$

A_k: Kontrol numunesinin absorbansı A_n: Örnek numunesinin absorbansı



Şekil 4.19 CuNPs ve *Plantago lanceolata L.* ekstraktının metal şelatlama aktivitesi (µg/mL)

Şekil 4.19’te verildiği gibi 1000 µg/mL konsantrasyondaki metal şelatlama aktivitesi görülüyor. Kontrol grubu olarak kullanılan EDTA’nın metal şelatlama aktivitesi $98,7600 \pm 0,9601$ olarak hesaplanmıştır. *Plantago lanceolata L.* ekstraktının metal şelatlama aktivitesi $13,5265 \pm 0,9755$ olarak hesaplandı. CuNPs’nin metal şelatlama aktivitesi $74,3961 \pm 0,7889$ olarak hesaplandı. Metal şelatlama aktivitesi sırasıyla EDTA > CuNPs > *Plantago lanceolata L.* şeklindedir.

4.5. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivite için sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Çalışmada *Plantago lanceolata L.* ekstraktı ve CuNPs uygulandı. Deneyde iki parametrenin farklı mikroorganizmalar üzerindeki etkileri incelendi.

4.5.1. Mikrodilüsyon yöntemi (MIK)

Çalışmada 4 farklı mikroorganizma kullanıldı. Antimikrobiyal deneyi için kullanılan mikroorganizmalar Refik Saydam Umumi Hijyen merkezinden temin edildi. Gram pozitif (+) mikroorganizma *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, gram negatif (-) mikroorganizmalar *Klebsiella pneumoniae*; EMCS ve *Escherichia coli* ATCC 25922,

maya için *Saccharomyces cerevisiae* kullanıldı. Bu çalışma 96 kuyucuklu plate’de gerçekleştirildi. Mikroorganizmalar +4°C stoktan alınarak Nutrient Broth sıvı besiyerinde 24 saat boyunca 37°C’de çoğaltıldı. Daha sonra ELİSA cihazında 625 nm’de ölçüm alındı. Mc Farland 0,5 standardına uymayan sonuçlar seyreltme yöntemi ile ayarlandı. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar Mc Farland 0,5 standardına göre ayarlandı.

Tablo 4.1 Antimikrobiyal aktivite için mikroorganizmaların absorbans değerleri

	<i>Klebsiella pneumoniae</i> EMCS	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Mc Farland 0,5	0,11021	0,09856	0,10325	0,0952

Plantago lanceolata L. ekstraktı ve CuNPs mikroorganizmalara uygulandıktan sonra ELİSA cihazında 625 nm’de ölçüm alındı. Deneyde her mikroorganizma için seyreltme işlemi kullanılmıştır. Elde edilen absorbans değerleri incelenerek MIC değerleri belirlendi. *Plantago lanceolata* L. ekstraktı ve CuNPs’lerin MIC değerleri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2 Antimikrobiyal aktivite için minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri

Mikroorganizma	CuNPs (MIC)	<i>Plantago lanceolata</i> L. (MIC)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> EMCS	0,625 mg/mL	0,625 mg/mL
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0,625 mg/mL	2,5 mg/mL
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	0,3125 mg/mL	0,3125 mg/mL
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,3125 mg/mL	0,3125 mg/mL

Kontrolde en etkin MIC (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) değeri diğer mikroorganizmalara göre 0,3125 mg/mL konsantrasyonunda *Staphylococcus aureus*

ATCC 29213 ve *Saccharomyces cerevisiae* mikroorganizmalarıdır. Sonrasında 0.625 mg/mL konsantrasyonuyla *Klebsiella pneumoniae* EMCS ve *Escherichia coli* ATCC 25922 gelmektedir. *Plantago lanceolata* L. ekstraktında ise 0,3125 mg/mL konsantrasyonunda en etkin MIC değeri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Saccharomyces cerevisiae* mikroorganizmalarıdır. *E.coli* ATCC 25922 2,5 mg/mL, *Klebsiella pneumoniae* EMCS mikroorganizmalarında da aynı şekilde 0,625 mg/mL konsantrasyonunda en etkin MIC (Minimal İnhibisyon Konsantrasyon) değeri gösterilmiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Nanoteknoloji ve nanobilim, fizik, kimya elektronik, malzeme bilimi gibi temel bilimlerden ortaya çıkan geniş spektrumlu yeni tekniklerden faydalanan ve nanomalzemenin olağandışı ve benzersiz özelliklerini nano boyutta üreten çok yönlü bir alandır. Bilindiği gibi, bakır uzun zamandır bilinen büyük bir antibakteriyel ajandır. Birçok çalışma, biyouyumlu bakır nanomalzemelerin biyoaktifliğinin daha yüksek çevresel etkisinin daha fazla olduğu ve ayrıca bakteri ve hücre zarlarından daha kolay geçtiği bilinmektedir(Wu et al., 2020).

Bu çalışmada *Plantago lanceolata* L. ekstraktı kullanılarak sentezlenen bakır nanopartiküller farklı sıcaklık ve konsantrasyonlarda kongo kırmızısı ve metilen mavisi giderim çalışılmış olup ayrıca bu nanopartiküllerin antikanser, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri incelendi. İlk olarak sentezlenen CuNPs'lerin morfolojik yapıları, boyutları ve optik özelliklerinin belirlenmesi için XRD, UV-Vis, SEM, TEM, EDX, FTIR ve Zeta potansiyeli karakterizasyon işlemleri yapıldı.

XRD analizinde, NP'lerin kristal yapısı hakkında yeterli bilgi verir. Şekil 4.3'te görüldüğü gibi 2θ 35° , 37° , 40° , 41° , 61° , 67° ve 77° 'de gözlemlenen pikler bakırın yüzey merkezli kübik yapısını temsil eden sırasıyla 101, 102, 103, 006, 110, 108 ve 116 endekslerine denk geldi. Bu da bizlere bakır sülfat ve bitki ekstraktının birlikte kullanılmasının, nanoparçacıkların kristallliği üzerinde dikkate değer bir etkiye sahip olduğunu gösterdi. Benzer bir çalışmada da Gu vd. (2023) *Foeniculum vulgare* ekstraktı kullanarak sentezledikleri bakır nanopartiküllerin pik değerleri (111), (200), (220) kristalografik düzlemlerine karşılık gelen $2\theta=43^\circ$, 50° , 74° civarında gözlemlendi(Gu et al., 2023). UV-Vis analiz sonucunda sentezlenen nanopartiküllerin 330 nm'de pik verdiği saptandı. Farklı bir çalışmada da Dadhwal ve arkadaşlarının 284 nm dalga boyunda pik verdiği gözlemlenmiştir. Birçok çalışmada genel olarak 300 ila 600 nm arasında pik verildiği belirtildi(Dadhwal et al., 2023).

Nanopartiküllerin boyut ve şekillerini tespit etmek için yapılan SEM ve TEM analizlerinde elde edilen CuNPs'lerin içindeki CuNP'lerin ortalama boyutları ve şekilleri kübik ve 70-80 nm olduğu gözlemlendi. Yapılan diğer çalışmalarda örneğin Chompunut vd. (2022) sentezledikleri materyalin boyutunu 120–129 nm aralığında bulurken, Shantkriti vd. (2014) ise 20-80 nm aralığında tespit etti. Bu miktardaki boyut değişimleri çözelti miktarı, pH ve çözeltinin oluşma süresine göre değişiklikler gösterebilir (Shantkriti et al., 2014; Chompunut et al., 2022). CuNPs'lerin öncelikle optimum pH bulunması için NP dozları, sıcaklık ve konsantrasyonları sabit tutularak 30'ar dakika numune alınıp toplam 150 dakika absorbe edildi. Sentezlenen bakır nanopartiküllerden 20 mg, metilen mavisinden 20 ppm konsantrasyonda hazırlanarak 25 ve 40°C sıcaklıklarda pH 2-8 aralığında farklı pH taraması gerçekleştirildi. 25°C'de boya solüsyonlarının pH 4'te metilen mavisinin farklı konsantrasyonlarına (10 ppm, 20 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm) karşı Cu@NP'lerin miktarındaki (5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg) absorpsiyon kapasiteleri belirlendi. Yapılan çalışmalar hem literatürle hem de beklenen sonuçlardan daha iyi olduğu gözlemlendi.

Metilen mavisi için 40°C'de pH taraması yapıldıktan sonra pH 8'te metilen mavisinin farklı konsantrasyonlarına (10 ppm, 20 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm) karşı Cu@NP'lerin miktarındaki (5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg) absorpsiyon kapasiteleri belirlendi. Şekil 4.9'da görüldüğü gibi giderim MB konsantrasyonuyla ters orantılı olarak azalmaktadır. Ancak CuNPs miktarı ile doğru orantılı olarak da artmaktadır. Şekil 4.9 (d)'de 20 mg CuNPs kullanılarak yapılan işlemde en iyi giderim %97,49 ile 50 ppm MB konsantrasyonunda gerçekleştiği görüldü.

Kongo kırmızısı giderim çalışmalarında da 25°C ve 40°C'de yapılan pH taramalarında her iki sıcaklığın da pH 6'da %85 civarında en iyi giderimi yaptığı saptandı. Buna göre yapılan miktar ve konsantrasyon çalışmalarında 25°C'de 50 ppm boya konsantrasyonunda 20 mg madde kullanılarak 150' da %84,24 olarak saptandı. Yine aynı şekilde 40°C'de yapılan çalışmalarda ise en iyi giderim sonucu 50 ppm, 20 mg, 150' da %83,56 olarak elde edildi. Elde edilen verilere göre pH sabit tutularak yapılan çalışmalarda genel olarak sabit bir artış np miktarının artmasıyla, boya konsantrasyonunun ortalama 50 ppm tutulması ile ve süre ile paralel artış sağladı. Elde edilen sonuçlar literatürdeki sonuçlardan daha iyi olduğu gözlemlendi.

Antikanser etkisinin belirlenmesi için A549 kanser hücresi ve SH-SY5Y hücreleri ile çalışıldı. Deneyde sentezlenen CuNPs'lerin ve *Plantago lanceolata* ekstraktı için ayrı ayrı çalışıldı. Sırasıyla A549 kanser hücre hattı için CuNPs ve *Plantago lanceolata* ekstraktı için yapılan deneyde madde konsantrasyonu arttıkça hücre ölümünün arttığı görüldü. 1000 μL 'deki ölümün 62,5 μL 'ye göre çok daha fazla olduğu ve bitki ekstraktının nanopartiküllere göre daha etkili olduğu gözlemlendi. Yani 1000 μL 'de np için yaklaşık %70-80 civarı, bitki için ise %75-85 olduğu tespit edildi.

Aynı şekilde CuNPs'lerin SH-SY5Y' karşı 1000 $\mu\text{g/mL}$ ve 500 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda %80–85 oranında nörotoksisite aktivitesi gösterirken konsantrasyonu azaldıkça nörotoksisite etkisinin düştüğü görüldü. *Plantago lanceolata* L.'nin SH-SY5Y hücre hattına karşı 1000 $\mu\text{g/mL}$ ve 500 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda %65-70 nörotoksisite aktivitesi gösterdiği görülmüştür. Buradan da anlaşılabacağı gibi CuNPs'lerin *Plantago lanceolata* L. ekstraktına göre daha fazla nörotoksisite etkisi olduğu görüldü. Antioksidan çalışmaları için *Plantago lanceolata* L. ekstraktı ve CuNPs'ler 1 mg/mL konsantrasyonda çalışıldı. İlk olarak bakıldığında *Plantago lanceolata* L. bitki ekstraktında CuNPs'lere göre daha fazla fenolik madde içerdiği belirlendi. Bu değerler yaklaşık olarak *Plantago lanceolata* L. için $294,2691 \pm 79,13$ olarak hesaplandı. CuNPs için bulunan toplam fenolik madde içeriği $23,015 \pm 61,12$ olarak hesaplandı. Buna göre *Plantago lanceolata* L. bitki ekstraktının toplam fenolik madde içeriğinin CuNPs'ye göre 10 kat daha fazla olduğu görüldü. Toplam flavonoid içeriminin belirlenmesinde *Plantago lanceolata* L. için toplam flavonoid madde içeriği $1772,00 \pm 200,14$ olarak hesaplandı. CuNPs için bulunan toplam flavonoid madde içeriği $1015,333 \pm 200,12$ olarak hesaplandı. Sonuçlarda belirtildiği üzere *Plantago lanceolata* L. bitki ekstraktının toplam flavonoid madde içeriği CuNPs'ye göre daha fazladır. *Plantago lanceolata* L. ve CuNPs için bulunan toplam antioksidan aktivitesi sırasıyla $29794,67 \pm 190,07$ ve $8304,6 \pm 150,04$ olarak hesaplandı. *Plantago lanceolata* L. bitki ekstraktının toplam antioksidan aktivitesi Cu@NP'ye göre 9 katından daha fazla olduğu tespit edilmiştir. 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyondaki DPPH radikali giderme aktivitesi, sentetik antioksidan olan BHA'nın, *Plantago lanceolata* L. bitki ekstraktının ve Cu@NP'nin DPPH giderim aktivitesi sırasıyla $\%69,8956 \pm 0,5836$, $\%78,8612 \pm 0,6511$, $\%89,7905 \pm 0,2137$ olarak hesaplandı. DPPH giderim aktivitesi sırasıyla *Plantago lanceolata* L. > CuNPs > BHA şeklindedir. 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyondaki metal şelatlama

aktivitesi görüldü. Kontrol grubu olarak kullanılan EDTA'nın metal şelatlama aktivitesi $98,7600 \pm 0,9601$ olarak hesaplandı. *Plantago lanceolata* L. bitki ekstraktının metal şelatlama aktivitesi $13,5265 \pm 0,9755$ olarak hesaplandı. CuNPs'nin metal şelatlama aktivitesi $74,3961 \pm 0,7889$ olarak hesaplandı. Metal şelatlama aktivitesi sırasıyla EDTA > CuNPs > *Plantago lanceolata* L. şeklindedir.

Bu çalışma aslında ekolojik olarak boya giderimi ve/veya boya degradasyonu için dizayn edilmiştir. Bu açıdan elde edilen CuNPs sistemi ciddi şekilde boya giderme etkinliği göstermiştir. Farklı pH ve farklı boya konsantrasyonlarında boyayı farklı rejenerasyon çözeltileri ile tabi tutmamıza rağmen geri kazanamadık bu durumun derinlemesine analizi gerekmektedir.

Sonuç olarak yeşil sentezi yapılmış olan CuNPs'lerin içinde barındırdıkları nanopartiküllerin 70-80 nm olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu CuNP lerin boyutlarına bakıldığında NPs (nanopartikül Sisteminden) hücre içine girebileceği gösterilmiştir. Bu Antikanser ve sitotoksik testler ile neticelenmiştir. Konsantrasyon özelliklerine bakıldığında 1000 µg/mL'lik konsantrasyonda bitkinin etkinliğinden çok fazla bir fark görünmemiştir. Bu açıdan bakıldığında bitki ile aynı akytiviteyi göstermektedir. Üzerinde taşıdığı aktif bileşen oranları ile kıyaslandığında antioksidan çalışmalarda ise daha düşük aktif maddeler olmasında rağmen antioksidan özellik açısından etkinliği kabul edilebilir. Antimikrobiyal açıdan değerlendirmeye tabi tuttuğumuzda bitki üzerinde aktif bileşikler ve Cu'nun kombinasyonu ile daha yüksek antimikrobiyal özelliği sinerjetik olarak ortaya çıkmıştır konusunda ifade edilebileceğini düşünmekteyiz.

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde yeşil sentezli nanopartiküllerin farklı bitkisel kökenli aktif bileşikler ile sentezlenmesinin antagonist ve sinerjetik etkileri açısından değerlendirilmesinin önermekteyiz. bu çalışmaların daha ileri boyutta invivo çalışmalar ile enzim ve protein üzerinde çalışmalarının yaşlanma geciktirici ürünlerin ve antikanser çalışmalarında daha net bilgileri ortaya koyacağı konusunda eminiz.

KAYNAKLAR

Ahmad, S., Munir, S., Zeb, N., Ullah, A., Khan, B., Ali, J., Ali, S. (2019). Green nanotechnology: A review on green synthesis of silver nanoparticles—An ecofriendly approach. *International journal of nanomedicine*, 14, 5087.

Ahmed, A., Usman, M., Liu, Q. Y., Shen, Y. Q., Yu, B., Cong, H. L. (2019). Plant mediated synthesis of copper nanoparticles by using *Camelia sinensis* leaves extract and their applications in dye degradation. *Ferroelectrics*, 549(1), 61-69.

Agarwal, H., Kumar, S. V., Rajeshkumar, S. (2017). A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles—An eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 406-413.

Akhtar, M. S., Panwar, J., Yun, Y. S. (2013). Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1(6), 591-602.

Akintelu, S. A., Folorunso, A. S., Folorunso, F. A., Oyebamiji, A. K. (2020). Green synthesis of copper oxide nanoparticles for biomedical application and environmental remediation. *Heliyon*, 6(7), e04508.

Akintelu, S. A., Oyebamiji, A. K., Olugbeko, S. C., Latona, D. F. (2021). Green chemistry approach towards the synthesis of copper nanoparticles and its potential applications as therapeutic agents and environmental control. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 4, 100176.

Beara, I. N., Lesjak, M. M., Orčić, D. Z., Simin, N. Đ., Četojević-Simin, D. D., Božin, B. N., Mimica-Dukić, N. M. (2012). Comparative analysis of phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of two closely-related *Plantain* species: *Plantago altissima* L. and *Plantago lanceolata* L. *LWT-Food Science and Technology*, 47(1), 64-70.

Benassai, E., Del Bubba, M., Ancillotti, C., Colzi, I., Gonnelli, C., Calisi, N., Ristori, S. (2021). Green and cost-effective synthesis of copper nanoparticles by extracts of non-edible and waste plant materials from *Vaccinium* species: Characterization and antimicrobial activity. *Materials Science and Engineering: C*, 119, 111453.

Bera, A., Belhaj, H. (2016). Application of nanotechnology by means of nanoparticles and nanodispersions in oil recovery-A comprehensive review. *Journal of Natural Gas Science and Engineering*, 34, 1284-1309.

Biresaw, S. S., Taneja, P. (2022). Copper nanoparticles green synthesis and characterization as anticancer potential in breast cancer cells (MCF7) derived from *Prunus nepalensis* phytochemicals. *Materials Today: Proceedings*, 49, 3501-3509.

Chompunut, L., Wanaporn, T., Anupong, W., Narayanan, M., Alshiekheid, M., Sabour, A., Shanmuganathan, R. (2022). Synthesis of copper nanoparticles from the aqueous extract of *Cynodon dactylon* and evaluation of its antimicrobial and photocatalytic properties. *Food and Chemical Toxicology*, 166, 113245.

Chandraker, S. K., Lal, M., Ghosh, M. K., Tiwari, V., Ghorai, T. K., Shukla, R. (2020). Green synthesis of copper nanoparticles using leaf extract of *Ageratum houstonianum* Mill. and study of their photocatalytic and antibacterial activities. *Nano Express*, 1(1), 010033.

Chandraker, S. K., Lal, M., Shukla, R. (2019). DNA-binding, antioxidant, H₂O₂ sensing and photocatalytic properties of biogenic silver nanoparticles using *Ageratum conyzoides* L. leaf extract. *RSC advances*, 9(40), 23408-23417.

Dadhwal, P., Dhingra, H. K., Dwivedi, V., Alarifi, S., Kalasariya, H., Yadav, V. K., Patel, A. (2023). Hippophae rhamnoides L.(sea buckthorn) mediated green synthesis of copper nanoparticles and their application in anticancer activity. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 10, 1246728.

Das, P. E., Abu-Yousef, I. A., Majdalawieh, A. F., Narasimhan, S., Poltronieri, P. (2020). Green synthesis of encapsulated copper nanoparticles using a hydroalcoholic extract of *Moringa oleifera* leaves and assessment of their antioxidant and antimicrobial activities. *Molecules*, 25(3), 555.

Dauthal, P., Mukhopadhyay, M. (2016). Noble metal nanoparticles: plant-mediated synthesis, mechanistic aspects of synthesis, and applications. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 55(36), 9557-9577.

de Boer, S., González-Rodríguez, J., Conde, J. J., Moreira, M. T. (2022). Benchmarking tertiary water treatments for the removal of micropollutants and pathogens based on operational and sustainability criteria. *Journal of Water Process Engineering*, 46, 102587.

Dinis, T.C. Madeira, V.M., Almeida, L.M. (1994). Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315, 1, 161-169

El Shafey, A. M. (2020). Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles from plant leaf extracts and their applications: A review. *Green Processing and Synthesis*, 9(1), 304-339.

Elumalai, K., Velmurugan, S. (2015). Green synthesis, characterization and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles from the leaf extract of *Azadirachta indica* (L.). *Applied Surface Science*, 345, 329-336.

Estevinho, L., Pereira, A. P., Moreira, L., Dias, L. G., Pereira, E., (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 12, 3774-3779

- Fathima, J. B., Pugazhendhi, A., Oves, M., Venis, R. (2018). Synthesis of eco-friendly copper nanoparticles for augmentation of catalytic degradation of organic dyes. *Journal of Molecular Liquids*, 260, 1-8.
- Fawcett, D., Verduin, J. J., Shah, M., Sharma, S. B., Poinern, G. E. J. (2017). A review of current research into the biogenic synthesis of metal and metal oxide nanoparticles via marine algae and seagrasses. *Journal of Nanoscience*, 2017.
- Gu, J., Chen, F., Zheng, Z., Bi, L., Morovvati, H., Goorani, S. (2023). Novel green formulation of copper nanoparticles by *Foeniculum vulgare*: Chemical characterization and determination of cytotoxicity, anti-human lung cancer and antioxidant effects. *Inorganic Chemistry Communications*, 150, 110442.
- Haider, S., Kamal, T., Khan, S. B., Omer, M., Haider, A., Khan, F. U., Asiri, A. M. (2016). Natural polymers supported copper nanoparticles for pollutants degradation. *Applied Surface Science*, 387, 1154-1161.
- Hasanin, M., Al Abboud, M. A., Alawlaqi, M. M., Abdelghany, T. M., Hashem, A. H. (2021). Ecofriendly synthesis of biosynthesized copper nanoparticles with starch-based nanocomposite: antimicrobial, antioxidant, and anticancer activities. *Biological Trace Element Research*, 1-14.
- Hassanien, R., Husein, D. Z., Al-Hakkani, M. F. (2018). Biosynthesis of copper nanoparticles using aqueous *Tilia* extract: antimicrobial and anticancer activities. *Heliyon*, 4(12), e01077.
- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T., (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36, 6, 2090-2097.
- Ingale, A. G., Chaudhari, A. N. (2013). Biogenic synthesis of nanoparticles and potential applications: an eco-friendly approach. *Journal of Nanomed Nanotechol*, 4(165), 1-7.
- Issaabadi, Z., Nasrollahzadeh, M., Sajadi, S. M. (2017). Green synthesis of the copper nanoparticles supported on bentonite and investigation of its catalytic activity. *Journal of cleaner production*, 142, 3584-3591.
- Jadoun, S., Arif, R., Jangid, N. K., Meena, R. K. (2021). Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(1), 355-374.
- Jahan, I., Erci, F., Isildak, I. (2021). Facile microwave-mediated green synthesis of non-toxic copper nanoparticles using *Citrus sinensis* aqueous fruit extract and their antibacterial potentials. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 61, 102172.
- Junejo, Y., Baykal, A., Safdar, M., Balouch, A. (2014). A novel green synthesis and characterization of AgNPs with its ultra-rapid catalytic reduction of methyl green dye. *Applied Surface Science*, 290, 499-503.

- Kashyap, P., Shirkot, P., Das, R., Pandey, H., Singh, D. (2023). Biosynthesis and characterization of copper nanoparticles from *Stenotrophomonas maltophilia* and its effect on plant pathogens and pesticide degradation. *Journal of Agriculture and Food Research*, 100654.
- Kaya, B. (2020). Determination of Anticytotoxic, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Alchemilla persica* Extracts in Different Polarities. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 9(2), 157-169.
- Khan, I., Saeed, K., Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal Of Chemistry*, 12(7), 908-931.
- Khani, R., Roostaei, B., Bagherzade, G., Moudi, M. (2018). Green synthesis of copper nanoparticles by fruit extract of *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd.: application for adsorption of triphenylmethane dye and antibacterial assay. *Journal of Molecular Liquids*, 255, 541-549.
- Karakaş, İ. (2023). Biological activities of green synthesis silver nanoparticles by *Plantago lanceolata* L. leaves. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 22(2), 290-296.
- Maheo, A. R., Vithiya, B. S. M., Prasad, T. A. A., Tamizhdurai, P., Mangesh, V. L. (2022). Biosynthesis, characterization, biological and photo catalytic investigations of *Elsholtzia blanda* and chitosan mediated copper oxide nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(3), 103661.
- Mandal, S., Arts, K., Morgan, D. J., Chen, Z., Williams, O. A. (2023). Zeta potential and nanodiamond self assembly assisted diamond growth on lithium niobate and lithium tantalate single crystal. *Carbon*, 212, 118160.
- Mali, S. C., Dhaka, A., Githala, C. K., Trivedi, R. (2020). Green synthesis of copper nanoparticles using *Celastrus paniculatus* Willd. leaf extract and their photocatalytic and antifungal properties. *Biotechnology Reports*, 27, e00518.
- Mohmood, I., Lopes, C. B., Lopes, I., Ahmad, I., Duarte, A. C., Pereira, E. (2013). Nanoscale materials and their use in water contaminants removal—a review. *Environmental Science And Pollution Research*, 20(3), 1239-1260.
- Mura, S., Seddaiu, G., Bacchini, F., Roggero, P. P., Greppi, G. F. (2013). Advances of nanotechnology in agro-environmental studies. *Italian Journal Of Agronomy*, 8(3), e18-e18.
- Nagar, N., Devra, V. (2018). Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using *Azadirachta indica* leaves. *Materials Chemistry and Physics*, 213, 44-51.
- Nasrollahzadeh, M., Issaabadi, Z., Sajadi, S. M. (2019). Green synthesis of Cu/Al₂O₃ nanoparticles as efficient and recyclable catalyst for reduction of 2, 4-dinitrophenylhydrazine, Methylene blue and Congo red. *Composites Part B: Engineering*, 166, 112-119.

Nasrollahzadeh, M., Sajadi, S. M., Sajjadi, M., Issaabadi, Z. (2019). Applications of nanotechnology in daily life. *Interface Science And Technology*, 28, 113-143.

Nethravathi, P. C., Kumar, M. P., Suresh, D., Lingaraju, K., Rajanaika, H., Nagabhushana, H., Sharma, S. C. (2015). *Tinospora cordifolia* mediated facile green synthesis of cupric oxide nanoparticles and their photocatalytic, antioxidant and antibacterial properties. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 33, 81-88.

Noman, M., Shahid, M., Ahmed, T., Niazi, M. B. K., Hussain, S., Song, F., Manzoor, I. (2020). Use of biogenic copper nanoparticles synthesized from a native *Escherichia* sp. as photocatalysts for azo dye degradation and treatment of textile effluents. *Environmental Pollution*, 257, 113514.

Noah, N. (2019). Green synthesis: Characterization and application of silver and gold nanoparticles. In Green synthesis, characterization and applications of nanoparticles (pp. 111-135). Nairobi, Kenya: Elsevier.

Olga, M., Jana, M., Anna, M., Irena, K., Jan, M., Alena, Č. (2022). Antimicrobial properties and applications of metal nanoparticles biosynthesized by green methods. *Biotechnology Advances*, 107905.

Pal, G., Rai, P., Pandey, A. (2019). Green synthesis of nanoparticles: A greener approach for a cleaner future. In Green synthesis, characterization and applications of nanoparticles (pp. 1-26). Uttar Pradesh, Hindistan: Elsevier.

Rad, M., Taran, M., Alavi, M. (2018). Effect of incubation time, CuSO₄ and glucose concentrations on biosynthesis of copper oxide (CuO) nanoparticles with rectangular shape and antibacterial activity: Taguchi method approach. *Nano Biomedicine and Engineering*, 10(1), 25-33.

Rafique, M., Sadaf, I., Rafique, M. S., Tahir, M. B. (2017). A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, And Biotechnology*, 45(7), 1272-1291.

Rafique, M., Shaikh, A. J., Rasheed, R., Tahir, M. B., Bakhat, H. F., Rafique, M. S., Rabbani, F. (2017). A review on synthesis, characterization and applications of copper nanoparticles using green method. *Nano*, 12(04), 1750043.

Raj, S., Trivedi, R., Soni, V. (2021). Biogenic synthesis of silver nanoparticles, characterization and their applications—a review. *Surfaces*, 5(1), 67-90.

Rajesh, K. M., Ajitha, B., Reddy, Y. A. K., Suneetha, Y., Reddy, P. S. (2018). Assisted green synthesis of copper nanoparticles using *Syzygium aromaticum* bud extract: Physical, optical and antimicrobial properties. *Optik*, 154, 593-600.

Rana, A., Yadav, K., Jagadevan, S. (2020). A comprehensive review on green synthesis of nature-inspired metal nanoparticles: Mechanism, application and toxicity. *Journal of Cleaner Production*, 272, 122880.

- Santhoshkumar, J., Agarwal, H., Menon, S., Rajeshkumar, S., Kumar, S. V. (2019). A biological synthesis of copper nanoparticles and its potential applications. *In Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles* (pp. 199-221). Elsevier.
- Sathiyavimal, S., Vasantharaj, S., Kaliannan, T., Pugazhendhi, A. (2020). Eco-biocompatibility of chitosan coated biosynthesized copper oxide nanocomposite for enhanced industrial (Azo) dye removal from aqueous solution and antibacterial properties. *Carbohydrate Polymers*, 241, 116243.
- Sebeia, N., Jabli, M., Ghith, A., Saleh, T. A. (2020). Eco-friendly synthesis of *Cynomorium coccineum* extract for controlled production of copper nanoparticles for sorption of methylene blue dye. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(2), 4263-4274.
- Shah, M. Z., Guan, Z. H., Din, A. U., Ali, A., Rehman, A. U., Jan, K., Fahad, S. (2021). Synthesis of silver nanoparticles using *Plantago lanceolata* extract and assessing their antibacterial and antioxidant activities. *Scientific Reports*, 11(1), 1-14.
- Shantkriti, S., Rani, P. (2014). Biological synthesis of copper nanoparticles using *Pseudomonas fluorescens*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(9), 374-383.
- Sharma, J. K., Akhtar, M. S., Ameen, S., Srivastava, P., Singh, G. (2015). Green synthesis of CuO nanoparticles with leaf extract of *Calotropis gigantea* and its dye-sensitized solar cells applications. *Journal of Alloys and Compounds*, 632, 321-325.
- Sharma, P., Guleria, P., Kumar, V. (2022). Nanomaterial recycling: an overview. *Nanomaterials Recycling*, 3-19.
- Sharma, P., Pant, S., Poonia, P., Kumari, S., Dave, V., Sharma, S. (2018). Green synthesis of colloidal copper nanoparticles capped with *Tinospora cordifolia* and its application in catalytic degradation in textile dye: an ecologically sound approach. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 28(6), 2463-2472.
- Sharma, S., Kumar, K., Thakur, N., Chauhan, S., Chauhan, M. S. (2021). Eco-friendly *Ocimum tenuiflorum* green route synthesis of CuO nanoparticles: Characterizations on photocatalytic and antibacterial activities. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105395.
- Shubhashree, K. R., Reddy, R., Gangula, A. K., Nagananda, G. S., Badiya, P. K., Ramamurthy, S. S., Reddy, N. (2022). Green synthesis of copper nanoparticles using aqueous extracts from *Hyptis suaveolens* (L.). *Materials Chemistry and Physics*, 280, 125795.
- Siddiquee, M. A., ud din Parray, M., Kamli, M. R., Malik, M. A., Mehdi, S. H., Imtiyaz, K., Patel, R. (2021). Biogenic synthesis, in-vitro cytotoxicity, esterase activity and interaction studies of copper oxide nanoparticles with lysozyme. *Journal of Materials Research and Technology*, 13, 2066-2077.

Silva, L. P., Reis, I. G., Bonatto, C. C. (2015). Green synthesis of metal nanoparticles by plants: current trends and challenges. In *Green Processes For Nanotechnology* (pp. 259-275). Springer, Cham.

Sinha, T., Ahmaruzzaman, M. (2015). Biogenic synthesis of Cu nanoparticles and its degradation behavior for methyl red. *Materials Letters*, 159, 168-171.

Sinha, T., Ahmaruzzaman, M. (2015). Green synthesis of copper nanoparticles for the efficient removal (degradation) of dye from aqueous phase. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(24), 20092-20100.

Singh, A., Gautam, P. K., Verma, A., Singh, V., Shivapriya, P. M., Shivalkar, S., Samanta, S. K. (2020). Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review. *Biotechnology Reports*, 25, e00427.

Singh, R. P., Handa, R., Manchanda, G. (2021). Nanoparticles in sustainable agriculture: An emerging opportunity. *Journal of Controlled Release*, 329, 1234-1248.

Sivaraj, R., Rahman, P. K., Rajiv, P., Narendhran, S., Venckatesh, R. (2014). Biosynthesis and characterization of *Acalypha indica* mediated copper oxide nanoparticles and evaluation of its antimicrobial and anticancer activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 129, 255-258.

Subha, V., Thulasimuthu, E., Ilangoan, R. (2022). Bactericidal action of copper nanoparticles synthesized from methanolic root extract of *Asparagus racemosus*. *Materials Today: Proceedings*, 64, 1761-1767.

Sukweenadhi, J., Setiawan, K. I., Avanti, C., Kartini, K., Rupa, E. J., Yang, D. C. (2021). Scale-Up of Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using Ethanol Extract of *Plantago major* L. Leaf and Its Antibacterial Potential. *South African Journal of Chemical Engineering*, 38, 1-8.

Tamil Elakkiya, V., Meenakshi, R. V., Senthil Kumar, P., Karthik, V., Ravi Shankar, K., Sureshkumar, P., Hanan, A. (2022). Green synthesis of copper nanoparticles using *Sesbania aculeata* to enhance the plant growth and antimicrobial activities. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(3), 1313-1322.

Tu, S., Shen, C., Bai, X., Zhang, H., Amraii, S. A., Dai, D. (2023). Copper nanoparticles green-formulated by a medicinal plant: Preparation, characterization and investigation of its cardioprotective effects. *Inorganic Chemistry Communications*, 155, 111104.

Usman, M., Ahmed, A., Yu, B., Peng, Q., Shen, Y., Cong, H. (2019). Photocatalytic potential of bio-engineered copper nanoparticles synthesized from *Ficus carica* extract for the degradation of toxic organic dye from waste water: Growth mechanism and study of parameter affecting the degradation performance. *Materials Research Bulletin*, 120, 11058

Usman, M. S., El Zowalaty, M. E., Shameli, K., Zainuddin, N., Salama, M., Ibrahim, N. A. (2013). Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles. *International Journal Of Nanomedicine*, 8, 4467.

Vijayaraghavan, K., Ashokkumar, T. (2017). Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: a review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications. *Journal Of Environmental Chemical Engineering*, 5(5), 4866-4883.

Zawadzka, K., Felczak, A., Nowak, M., Kowalczyk, A., Piwoński, I., Lisowska, K. (2021). Antimicrobial activity and toxicological risk assessment of silver nanoparticles synthesized using an eco-friendly method with *Gloeophyllum striatum*. *Journal Of Hazardous Materials*, 418, 126316.

Zeebaree, S. Y. S., Zeebaree, A. Y. S., Zebari, O. I. H., Zebari, A. Y. S. (2021). Sustainable fabrication, optical properties and rapid performance of bio-engineered copper nanoparticles in removal of toxic methylene blue dye in an aqueous medium. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 4, 100103.

Wang, G., Zhao, K., Gao, C., Wang, J., Mei, Y., Zheng, X., Zhu, P. (2021). Green synthesis of copper nanoparticles using green coffee bean and their applications for efficient reduction of organic dyes. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105331.

Wu, S., Rajeshkumar, S., Madasamy, M., Mahendran, V. (2020). Green synthesis of copper nanoparticles using *Cissus vitiginea* and its antioxidant and antibacterial activity against urinary tract infection pathogens. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 48(1), 1153-1158.

Wu, Y. (2023). Green formulation and characterization of *Camellia azalea* synthesized copper nanoparticles and its application in the treatment of ovalbumin-induced allergic conjunctivitis. *Journal of Engineering Research*, 100093.



