

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**ÇİRİŞ (*ASPHODELUS AESTIVUS*) VE KENGER (*GUNDELIA TOURNEFORTII*)
BİTKİ EKSTRAKTINDAN ALTIN VE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN
BİYOSENTEZİ, *İN-VİTRO* SİTOTOKSİSİTESİ VE HUVEC HÜCRESİ
ÜZERİNDE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Muhammed ERBAY

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

I. DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet ATEŞ

II. DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Ersen YILMAZ

TUNCELİ – 2020

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**ÇİRİŞ (*ASPHODELUS AESTIVUS*) VE KENGİR (*GUNDELIA TOURNEFORTII*)
BİTKİ EKSTRAKTINDAN ALTIN VE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN
BİYOSENTEZİ, *İN-VİTRO* SİTOTOKSİSİTESİ VE HUVEC HÜCRESİ
ÜZERİNDE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Muhammed ERBAY
18110801106

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

I. DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet ATEŞ
II. DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Ersen YILMAZ

TUNCELİ – 2020

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**ÇİRİŞ (*ASPHODELUS AESTIVUS*) VE KENGER (*GUNDELIA TOURNEFORTII*)
BİTKİ EKSTRAKTINDAN ALTIN VE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN
BİYOSENTEZİ, *İN-VİTRO* SİTOTOKSİSİTESİ VE HUVEC HÜCRESİ
ÜZERİNDE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Muhammed ERBAY
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 24 / 07 / 2020 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

Prof. Dr. Mehmet ATEŞ
(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

İmza:.....

Dr. Öğr. Üyesi Tuba
PARLAK AK
(Munzur Üniversitesi)

ÜYE

İmza:.....

Prof. Dr. Muzaffer
Mustafa HARLIOĞLU
(Fırat Üniversitesi)

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Prof. Dr. Olcay KAPLAN İNCE
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: YLMUB019-03

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı “Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu”ndaki hükümlere tabidir.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Muhammed ERBAY

Danışman
Prof. Dr. Mehmet ATEŞ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin her aşamasında en yoğun iş temposunun olduğu günlerde dahi benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, iyi niyetini ve hoşgörüsünü her zaman üzerimde hissettiğim, fikirleriyle ve katkılarıyla bana her zaman destek olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet ATEŞ'e, teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışması boyunca, laboratuvar çalışmalarında teknik konularda ve özellikle deneysel problemlerin çözümünde bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen ikinci danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ersen YILMAZ'a teşekkür ederim.

Araştırmada kullanılan sarf ve kimyasal malzemeler ile deney süresince yapılan tüm analiz giderleri Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (MUNİBAP) tarafından desteklenen YLMUB019-03 nolu projeden sağlanan maddi destek ile karşılanmıştır. Bu kapsamda çalışmamıza maddi destek sağlayan MUNİBAP birimine teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmamın her aşamasında, bana her zaman destek olan ve göstermiş olduğu fedakârlıklar dolayısıyla eşim Esra ERBAY'a teşekkür ederim.

Muhammed ERBAY
TUNCELİ-2020

İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IV
RESİMLER LİSTESİ.....	V
SEMBOLLER LİSTESİ.....	VI
KISALTMALAR LİSTESİ.....	VII
ÖZET.....	VII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Altın Nanopartikülleri.....	3
1.2. Gümüş Nanopartikülleri.....	4
1.3. Biyosentez.....	5
1.4. Sitotoksosite.....	6
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	7
2.1. Kimyasal Malzemeler.....	7
2.2. Bitki Materyali.....	7
2.3. Bitki Ekstraktların Hazırlanması.....	8
2.4. Gümüş Nitrat Çözeltilisinin Hazırlanması.....	8
2.5. Gümüş Nanaopartiküllerinin Sentezlenmesi.....	8
2.5. Altın Nanaopartiküllerinin Sentezlenmesi.....	9
2.6. Nanopartikülerin Karakterizasyonu.....	10
2.6.1. UV-GB spektroskopisi.....	11
2.6.2. Dinamik ışık saçılımı analizi.....	12
2.6.3. Zeta potansiyel analizi	13
2.6.4. Geçirimli elektron mikroskobu.....	13
2.6.5. Taramalı elektron mikroskobu.....	14
2.6.6. X-ışını kırınım spektroskopisi analizi.....	14
2.6.7. Fouier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi analizi.....	15
2.7. MTT Hücre Canlılığı Testi.....	16
2.8. İstatistiksel Analiz.....	16
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	17
3.1. Karakterizasyon Analiz Sonuçları.....	17
3.1.1. UV-GB spektrofotometre analiz sonuçları.....	17
3.1.2. Dinamik ışık saçılımı analiz sonuçları.....	19
3.1.3. Zeta potansiyeli analiz sonuçları.....	21
3.1.4. Geçirimli elektron mikroskobu analiz sonuçları.....	23
3.1.5. Taramalı elektron mikroskobu analiz sonuçları.....	24
3.1.6. X-ışını kırınımı analiz sonuçları.....	26
3.1.7. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi analizi sonuçları.....	28
3.2. Hücre Kültürü Analiz Sonuçları.....	29
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	33
5. KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. a) Çiriş bitkisi ekstraktından ve b) kenger bitki ekstraktından Ag-NP'lerin UV-GB spektrumu.....	17
Şekil 3.2. a) Çiriş bitkisi ekstraktından ve b) kenger bitki ekstraktından Au-NP'lerin UV-GB spektrumu.....	18
Şekil 3.3. a) Çiriş bitkisi ekstraktından ve b) kenger bitki ekstraktından Ag-NP'lerin DLS grafiği.....	20
Şekil 3.4. a) Çiriş bitkisi ekstraktından ve b) kenger bitki ekstraktından Au-NP'lerin DLS grafiği.....	20
Şekil 3.5. a) Çiriş bitkisi ekstraktından ve b) kenger bitki ekstraktından Ag-NP'lerin zeta potansiyel değerleri.....	22
Şekil 3.6. a) Çiriş bitkisi ekstraktından ve b) kenger bitki ekstraktından Au-NP'lerin zeta potansiyel değerleri.....	22
Şekil 3.7. a) Çiriş bitkisi ekstraktından elde edilen ve b) kenger bitki ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin TEM görüntüleri.....	23
Şekil 3.8. a) Çiriş bitkisi ekstraktından elde edilen ve b) kenger bitki ekstraktından elde edilen Au-NP'lerin TEM görüntüleri.....	24
Şekil 3.9. Kurutulmuş çiriş bitki ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin SEM görüntüsü..	25
Şekil 3.10. Kurutulmuş Kenger bitki ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin SEM görüntüsü.....	25
Şekil 3.11. Kurutulmuş çiriş bitki ekstraktından elde edilen Au-NP'lerin SEM görüntüsü..	26
Şekil 3.12. Kurutulmuş Kenger bitki ekstraktından elde edilen Au-NP'lerin SEM görüntüsü.....	26
Şekil 3.13. a) Çiriş bitkisi ekstraktından elde edilen ve b) kenger bitki ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin XRD grafikleri.....	27
Şekil 3.14. a) Çiriş bitkisi ekstraktından elde edilen ve b) kenger bitki ekstraktından elde edilen Au-NP'lerin XRD grafikleri.....	27
Şekil 3.15. a) Çiriş bitkisi ekstraktından elde edilen ve b) kenger bitki ekstraktından elde edilen Ag ve Au-NP'lerin FT-IR spektrumları.....	29
Şekil 3.16. Çiriş bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin HUVEC hücreleri üzerine yüzde canlılık değerleri [(% canlılık $\pm$ güven aralığı (%95, mutlak)).....	30
Şekil 3.17. Çiriş bitki ekstraktından elde edilen AuNP'lerin HUVEC hücreleri üzerine yüzde canlılık değerleri [(% canlılık $\pm$ güven aralığı (%95, mutlak)).....	31
Şekil 3.18. Kenger bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin HUVEC hücreleri üzerine yüzde canlılık değerleri [(% canlılık $\pm$ güven aralığı (%95, mutlak)).....	32
Şekil 3.19. Kenger bitki ekstraktından elde edilen AuNP'lerin HUVEC hücreleri üzerine yüzde canlılık değerleri [(% canlılık $\pm$ güven aralığı (%95, mutlak)).....	32

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1. Yaş ve kurutulmuş çiriş (<i>Asphodelus aestivus</i>) bitkisi.....	8
Resim 2.2. Yaş ve kurutulmuş kenger (<i>Gundelia tournefortii</i>) bitkisi.....	8
Resim 2.3. Biyosentez yöntemi ile elde edilen (a) AuNP'leri ve (b) AgNP'lerin sıvı ve toz formları.....	11



SEMBOLLER LİSTESİ

%	: Yüzde
µg	: Mikrogram
Å	: Ångström
Ag	: Gümüş
AgNO ₃	: Gümüş nitrat
Au	: Altın
C	: Karbon
Cl	: Klor
g	: Gram
L	: Litre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mV	: Milivolt
nm	: Nanometre
ppm	: Milyonda bir
rpm	: Dakikadaki devir sayısı

KISALTMALAR LİSTESİ

DLS	: Dinamik ışık saçılımı
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
FT-IR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
HAuCl₄	: Tetrakloroaurik asit
HUVEC	: İnsan umlikal ven endotel hücre
MTT	: Tetrazolium tuzu
NP	: Nanopartikül
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SPR	: Yüzey plazmon rezonansı
TEM	: Geçirimli elektron mikroskobu
UV-GB	: Ultraviyole görünür bölge spektrofotometresi
XRD	: X-ışını kırınımı



ÖZET

Nano yapılı malzemeler (<100 nm) üzerine yapılan araştırmalar teknolojik gelişmeler doğrultusunda hızla artmaktadır. Nanopartiküllerin (NP'lerin) sentezinde biyosentez yönteminin gelişimi nanoteknolojinin önemli bir dalı haline gelmiştir. Bunun nedeni, NP'lerin biyomedikal ve farmakoloji dahil olmak üzere birçok alanda potansiyel uygulamalara sahip olmasıdır. Örnek olarak, NP'lerin benzersiz özellikleri ve biyolojik etkileri, potansiyel olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde alternatif olarak kullanılabileceklerini göstermektedir. Metal bazlı NP'lerden özellikle Altın (Au) ve Gümüş (Ag), nanoteknoloji sektöründe en hızlı büyüyen ürün kategorilerinden biri haline gelerek ticarileştirilmede ilk sıralarda yer alan malzemeler olmuştur. Dolayısıyla, son yıllarda NP'lerin biyosentezi üzerine yapılan çalışmalarda artış görülmüştür. Bu çalışmada, çiriş (*Asphodelus aestivus*) ve kenger (*Gundelia tournefortii*) bitki ekstraktları kullanılarak biyosentez yöntemiyle AuNP'leri ve AgNP'lerin elde edilmesi ve bu NP'lerin toksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen NP'lerin karakterizasyonu için, ultraviyole görünür spektroskopisi (UV-GB) ile nano boyuttaki partikül oluşumu doğrulandı. Sentezlenen AuNP'leri ve AgNP'lerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analizleriyle morfolojileri, boyut ve boyut dağılımları belirlendi. Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ile partikülün indirgenmesinde sorumlu olan fotokimyasalların fonksiyonel grupları ve X-ışını difraktometrisi (XRD) ile de kristal yapısı belirlendi. Sıvı ortamdaki NP'lerin hidrodinamik çapları dinamik ışık saçılımı (DLS) analiziyle ve zeta potansiyeli ile de yüzey yükleri belirlendi. Her iki NP'lerin sitotoksik etkisini belirlemek için insan umbilikal ven endotel hücreleri (HUVEC) üzerinde 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazoluim bromide (MTT) analizleri yapılarak değerlendirildi. Sonuç olarak, her iki bitki ekstraktından AuNP'lerin ve AgNP'lerin biyosentez yöntem için uygun olduğu görülmüştür. Ancak elde edilen hem AuNP'leri ve hem de AgNP'lerin konsantrasyon ve süre artışına paralel olarak HUVEC hücresi üzerinde sitotoksik etki göstermektedirler.

Anahtar Kelimeler: Altın, gümüş, nanopartikül, biyosentez, *Asphodelus aestivus* *Gundelia tournefortii*, sitotoksikite, HUVEC

ABSTARCT

Gold and Silver Nanoparticles from Plant Extracts of *Asphodelus* (*Asphodelus aestivus*) and *Gundelia* (*Gundelia tournefortii*): Biosynthesis, *In-vitro* Cytotoxicity and Evaluation of the Effects on HUVEC Cell

Researches on nano-structured materials (<100 nm) are increasing rapidly in the direction of technological developments. The development of biosynthesis method in the synthesis of nanoparticles (NPs) has become an important branch of nanotechnology. This is due to the potential application of NPs in many areas, including biomedical and pharmacology. For example, the unique characteristics of NPs and their biological effects indicate that they are potentially to be used as an alternative for treatment of various diseases. Among the metal-based NPs, especially Gold (Au) and Silver (Ag) became one of the fastest growing product categories in the nanotechnology industry and became the top materials in commercialization. Therefore, there has been an increase in the studies on the biosynthesis of NPs in recent years. In this study, it was aimed to obtain AuNPs and AgNPs by determining the toxic effects of these NPs by using biosynthesis method by using extracts (*Asphodelus aestivus*) and kenger (*Gundelia tournefortii*) plant extracts. For the characterization of the NPs obtained, the formation of nanoscale particles was confirmed by ultraviolet visible spectroscopy (UV-GB). Morphology, size and size distributions of the synthesized AuNPs and AgNPs were determined by scanning electron microscopy (SEM) and permeable electron microscopy (TEM) analysis. The functional structure of the photochemicals responsible for the reduction of the particle by the Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and the crystal structure were determined by X-ray diffractometry (XRD). The hydrodynamic diameters of NPs in the liquid medium were determined by dynamic light scattering (DLS) analysis and surface loads were determined by the zeta potential. To determine the cytotoxic effect of both NPs, they were evaluated by performing 3- [4,5-Dimethylthiazol-2-yl] -2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) analyzes on human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). As a result, AuNPs and AgNPs from both plant extracts were found to be suitable for the biosynthesis method. However, they have cytotoxic effects on HUVEC cell in parallel with the concentration and duration increase of both AuNPs and AgNPs obtained.

Keywords: Gold, silver, nanoparticles biosynthesis, *Asphodelus aestivus* *Gundelia tournefortii*, cytotoxicity, HUVEC

1. GİRİŞ

Nanobilim ve nanoteknolojinin, birçok araştırma ve uygulama alanına fayda sağlama konusunda büyük bir potansiyele sahip olduğu bilinmektedir. Bu özelliğinden dolayı dünyanın birçok yerindeki işletmelerden hızla artan yatırımlar dikkat çekmektedir. Aynı zamanda, uygulamalarının sosyal tartışma gerektirecek güvenlik, düzenleyici veya etik alanlarda yeni zorluklar yaratabileceği de kabul edilmektedir. Nanoteknoloji, modern materyalin bilim ve teknolojiye en aktif araştırma alanı olup materyalleri nanometre seviyesinde ölçülebilecek düzeyde işleyen, pek çok araştırma alanını ya da disiplini birleştiren multidisipliner bir teknolojidir (Shankar ve ark., 2016). Malzemelerin özellikleri nano ölçekte iki ana nedenden dolayı farklı olabilir. İlk olarak, nanomalzemeler daha büyük bir formda üretilen aynı malzeme kütlesine kıyasla nispeten daha büyük bir yüzey alanına sahiptir. Bu, malzemeleri kimyasal olarak daha reaktif hale getirebilir ve güçlerini veya elektriksel özelliklerini etkiler. İkincisi, malzemelerin kuantum etkileri, optik, elektriksel ve manyetik davranışlarını etkileyen nano ölçekte - özellikle çok küçük boyutlardaki partiküller veya noktacıklar - maddenin davranışına hakim olmaya başlayabilir. Bir boyutta (örn: çok ince yüzey kaplamaları), iki boyutta (örn: nanoteller ve nanotüpler) veya her üç boyutta da (örn: nanopartiküller) nano ölçekli olan malzemeler üretilir.

Boyutları 1-100 nm arası değişen nanomateryallerin insan sağlığı ve çevre üzerinde toksik ya da tehlikeli etkilere sahip olup olmadıkları hakkında çok az şey bilinmektedir. Çünkü bu materyallerin fonksiyonları ve kullanım alanları nanopartiküllerin (NP'lerin) boyutuna ve bileşimine göre farklılık göstermektedir (Haverkamp ve ark., 2007). Ancak yapılan araştırmalar nano boyuttaki malzemelere maruz kalmanın ve bu küçük partiküllerin deri, solunum, beslenme ve damar yolu ile vücuda kolayca alınmasıyla birlikte insanlarda ve hayvanlarda bazı olumsuz etkilere yol açabileceğini göstermiştir (Verma ve ark., 2010; Nowack ve ark., 2011; Ates ve ark., 2013). NP'lerin sahip oldukları üstün fiziko-kimyasal özellikleri onların sağlıktan alanından ziraata kadar birçok alanda uygulama imkanı bulmasına olanak verirken, uzun dönem etkileri hakkında çok fazla bilgi bulunmamakla birlikte, biyoyumnluluk, toksisite ve nano-genotoksisite çalışmaları da hız kazanmıştır.

Nanomalzemeler grubundan olan NP'ler boyutları 1-100 nm ($1\text{nm} = 10^{-9}\text{metre}$) arasında değişen yapılardır. NP'ler, yüksek yüzey alanlarından ve nano ölçekli boyutlarından dolayı benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptirler (Miller ve ark., 2004). Hacimsel yapıları malzemelerden çok daha farklı ve üstün olarak kabul edilen özellikler

sergilemelerinden dolayı, özellikle tıp, biyoteknoloji, biyomedikal, farmakoloji, kozmetoloji ve kimya sektörleri başta olmak üzere birçok alanda etkili olarak kullanılmaktadırlar (Singh ve ark., 2008). Diğer taraftan, yapısal özelliklerinin yanı sıra az atık oluşturma ve ekonomik olma özelliklerine de sahip olan NP'ler günlük kişisel ihtiyaçlarımızdan, uzun ömürlü tüketim malzemelerine kadar pek çok ürünle de rutin yaşamımızda yerini almıştır. NP'lerin avantaj olarak kabul edilen özelliklerinden bazıları; yüksek yüzey/hacim oranı, kuantum boyut etkileri, yüzey atomlarının eşsiz karakterleri ve elektronik yapısının boyut bağımlılığı olarak ön plana çıkmaktadır (Gürmen ve Ebin, 2008). Ayrıca, son yıllarda birçok metal ve metal oksitin nano ölçek versiyonu üretilmekte ve birçok üründe de kullanılmaktadır. Gümüş (Ag), Altın (Au) ve Bakır (Cu) gibi metal bazlı NP'ler bilinen lokalize yüzey plazmon rezonans özellikleri nedeniyle eşsiz optoelektrik özelliklere sahiptirler. Bilinen bu özellikleri nedeniyle, NP'ler günümüzde cam veya boya sanayinde, cilalamada, elektronik eşya üretiminde, ilaç ve gıda katkı maddelerinde, kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde, biyoteknoloji ve sağlık alanında görüntüleme yaygın olarak kullanılmaktadır (Ema ve ark., 2010). Bunlarla birlikte, metal bazlı NP'ler, fiziksel, kimyasal veya biyosentez yöntemleri kullanılarak mühendislik ürünü olarak sentezlenebilmektedir (Iravani ve ark., 2014).

Metal bazlı NP'lerin biyoteknoloji başta olmak üzere, birçok tüketici ürünlerinde, tekstil, su arıtımı, manyetik ve optoelektronik alanlarındaki önemli uygulamaları nedeniyle bu nano boyuttaki partiküllerin sentezi ve karakterizasyonu bir araştırma alanı olarak ortaya çıkmıştır. Metalik nanoyapıların çözelti ortamında sentezi için çeşitli metodlar geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları kimyasal, fotokimyasal, elektrokimyasal, UV radyasyon vb. tekniklerdir (Kummara ve ark., 2016). Kimyasal sentezleme yöntemi en çok kullanılan yöntem olup, bu tekniklerin pahalı olması ve kullanılan kimyasalların insan sağlığı ve çevre üzerindeki riskleri olması nedeniyle, son zamanlarda yeşil sentez ve çevre dostu olarak bilinen, ayrıca ucuz, biyomedikal ve farmakolojik uygulamalara uygun biyosentez yöntemiyle üretilmiş metal bazlı NP üretimi üzerinde ilgi artmaktadır (Mukherjee ve ark., 2014; Salem ve Fouda, 2020).

Metal bazlı Au ve Ag nano boyutlu partiküller, benzersiz optik, elektriksel ve fototermal özelliklerinden dolayı kimya, fizik ve biyolojide önem kazanmışlardır. Bu her iki metal NP'leri kimya başta olmak üzere birçok alanda potansiyel uygulamalara sahiptirler. Ayrıca, AuNP'leri, lokal ısıtma için kullanılabilen ve ilaç salımı ile olumlu sonuçlanabilen, böylece terapötik uygulamalar için potansiyellerini arttıran fototermal özelliklere sahiptirler.

Au ve AgNP'lerinin sentezleme kolaylığı ve birçok biyolojik molekölü bağlama afiniteleri onları çalışmalar için çekici adaylar haline getirmektedir.

1.1. Altın Nanopartikülleri

Metal bazlı NP'ler arasında AuNP'leri en kararlı olandır. AuNP'ler farklı renk, boyut ve şekillerde bulunabilir, toksik reaktifler içerir ve oldukça pahalıdır. AuNP'ler benzersiz optik özellikleri nedeniyle biyomedikal ve ilaç üretimi alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle; ilaç dağıtım sisteminde ve kontrast ajanlar, DNA nakli ve radyoterapi için ağır hastalıkların tedavisinde, biyoanaliz ve biyosensör gibi uygulama alanları bulunmaktadır. AuNP'ler altının sudaki çözeltisinde mikrometreden daha küçük boyutlu partiküllerin askıda kalmasıyla meydana gelmektedir (Storhoff ve ark., 1998; Prakash ve ark., 2010).

Küresel AuNP'ler, boyut ve şekle bağlı optoelektronik özellikler, büyük yüzey/hacim oranı, mükemmel biyouyumluluk ve düşük toksisite gibi faydalı özelliklere sahiptir (Sau ve ark., 2011; Khlebtsov ve ark., 2011) . Bu özellikler AuNP'leri biyonanoteknolojide önemli bir araç yapar. AuNP'lerin önemli fiziksel özellikleri, yüzey plazmon rezonansını (SPR) ve floresansı söndürme yeteneğini içerir. Boyutlarına bağlı olarak, Au partikülleri kırmızı, mavi veya altın renkli görünebilir. Küresel AuNP'ler, çekirdek boyutu 1 ila 100 nm arttıkça sulu çözelti içinde bir dizi renk (ör., kahverengi, turuncu, kırmızı ve mor) sergiler ve genellikle 500 ila 550 nm arasında bir boyuta göre emilim pikini gösterir (Jain ve ark., 2006). AuNP'ler benzersiz özelliklerine ve çoklu yüzey fonksiyonelliklerine dayanarak biyonanoteknolojide yaygın olarak kullanılmaktadır. AuNP işlevselleştirme kolaylığının yanı sıra oligonükleotidler, antikorlar ve proteinlerle nanobiyolojik montajlar için çok yönlü bir platform sağlar. AuNP'lerin biyokonjugatları ayrıca biyolojik sistemlerin araştırılması için yeni biyomalzeme tasarımında umut verici adaylar haline gelmiştir (Mukherjee ve ark., 2007; Zhang ve ark., 2011). AuNP'ler çok yönlülük özelliğinden dolayı birçok biyomedikal uygulama için yararlı malzemeler sağlamakla birlikte aynı zamanda terapötik ajanlar için pratik platformlar olarak hizmet ederler.

1.2. Gümüş Nanopartikülleri

Metaller arasında Ag; en yüksek elektriksel iletkenliğe, termal iletkenliğe, en düşük temas direncine, yüksek optik yansıma özelliklerine ve çeşitli izotoplara sahiptir. Ag suda çözünmez, ancak metalik tuzları, örneğin, AgNO_3 ve AgCl suda çözünür (Singh ve ark., 2016). Metal NP'ler arasında yer alan AgNP'ler yüksek termal stabilitesi, yüksek spesifik yüzey alanı, yüksek mekanik dayanıklılığı ve antimikrobiyal özelliklerinden dolayı ticari ürünlerdeki kullanımı en yaygın olan NP'lerdir (Cho ve ark., 2005; Shahverdi ve ark., 2007; Wei ve ark., 2015). AgNP'lerin bu özelliklerinden dolayı çok geniş uygulama alanları vardır. Ag'nin mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki gösterdiği eski zamanlardan beri bilinmekte yara-yanık tedavisinde, kontaminasyonu engellemek için su depolamada kullanılmaktadır. AgNP'ler sergiledikleri antimikrobiyal, antibakteriyel özelliklerinden ötürü yara bantları, plastik, sabun, macun, mutfak aletleri, oyuncak, gıda ve tekstil gibi çeşitli tüketici ürünlerinde kullanım değerlerini arttırmıştır (Marambio-Jones ve Hoek, 2010; Kim ve ark., 2011; Qian ve ark., 2013). Bu nedenle, üretilen AgNP'lerin insan sağlığı ve çevre üzerinde toksik etkilere sahip olup olmadıkları hakkındaki çalışmalar önem arz etmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda farklı nano boyuttaki partiküllere maruz kalmanın ve bu partiküllerin deri, solunum, beslenme ve damar yolu ile vücuda kolayca alınmasının insanlarda ve hayvanlarda bazı olumsuz etkilere neden olabileceği belirtilmiştir. (Verma ve ark., 2010; Nowack ve ark., 2011). Bu sebeple, bir çok işlevi bulunan AgNP üretimi için basit, güvenilir, düşük maliyetli, toksik olmayan, çevre dostu ve yeşil kimya olarak bilinen teknoloji ve yöntemlerin tasarımı ve geliştirilmesi, biyomedikal ve biyoteknoloji uygulamalarını genişletmek için büyük önem arz etmektedir (Mukherjee, ve ark., 2014).

Fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanarak bu NP'leri sentezlemeye yönelik çok fazla sayıda çalışma yapılmaktadır. Fiziksel proseslerde, yüksek sıcaklık, basınç ve enerjiyi korumaya sürekli ihtiyaç duyulurken, kimyasal yöntemlerde NP'lerin indirgenmesinde (etilen glikol vb.) ve kümeleşmesini önlemede kullanılan stabilize edici/kaplayıcı ajanlar (PVP vb.) gibi kimyasalların yalnız çevre için değil aynı zamanda biyolojik sistemlerde toksik potansiyele sahip olduğu tespit edilmiştir (Rajan ve ark., 2015). Bahsedilen toksik özelliklerden dolayı, tıbbi bitki ekstraktlarının kullanılmasıyla mevcut problemin önüne geçilmeye çalışılmaktadır. Bu şekilde çeşitli yollarla vücuda alınan ve kullanım sonucu doğaya salınan NP'lerin oluşturabileceği tahribat en aza indirilmeye çalışılmıştır. Literatürde, birçok bitkinin yaprak, kök, göve arke ve meyveleri kullanılarak

biyosentez yöntemiyle NP'lerin sentezlenme çalışmaları yapılmıştır (Gopinath ve ark., 2012).

1.3. Biyosentez

Metal bazlı NP'ler ve yarı-iletken kuantum noktacıklarının sentezi yeni teknolojilerin ilerlemesi için potansiyel uygulamalar nedeniyle büyüyen bir araştırma alanıdır. Nanomalzemelerin biyosentez ile elde edilmesi çevre dostu, hızlı ve uygun maliyetli bir yöntemdir. Biyosentez yöntemiyle NP'ler, mikroorganizmalar hedef iyonları ortamlarından aldıklarında ve daha sonra hücre aktiviteleri tarafından üretilen enzimler yoluyla metal iyonlarını element metale dönüştürdüklerinde biyosentezlenirler. Son yıllarda geleneksel metotlara alternatif olarak verimli, ucuz ve çevresel olarak güvenli “yeşil” üretim olarak adlandırılan biyolojik sentez ön plana çıkmıştır (Iravani ve ark., 2014).

Biyosentez, biyolojide canlı organizmalardaki kimyasal süreçleri belirten terimdir ve enerji kullanılarak gerçekleştirilen bu süreçler basit yapıdaki maddelerden daha karmaşık ürünler elde edilmesini sağlar. Metal yapı NP'lerin kimyasal sentezleme yöntemlerindeki karmaşıklık ve çok pahalı olması, toksik madde kullanımını gerektirmesi, farmakolojik ve biyomedikal uygulamalara uygun olmaması gibi birçok dezavantajı bulunmaktadır (Zinjarde, 2012). Biyosentez ise basit, uygulanabilir olması ve ekonomik oluşu, toksik madde kullanımı gerektirmemesi, sağlık alanındaki uygulamalara uygun olması, geniş yelpazede ticari üretime elverişli olması gibi avantajlarından dolayı günümüzde sıkça kullanılan bir yöntem haline gelmiştir (Saifuddin, 2008). Organizmalar dışında bitkilerinde kullanıldığı biyosentez yönteminde, bitki ekstraktının içerdiği fenolik asitler, flavonoidler, alkaloidler ve terpenoidler gibi ikincil metabolitlerin, metalin iyonik halinin indirgenmesi yoluyla NP oluşumundan sorumlu maddeler olduğu belirtilmiştir (Aromal ve ark., 2012; Kuppusamy ve ark., 2014). Biyosentezle inorganik metal iyonları, canlı organizma içindeki indirgeyici özellikteki protein ve de metabolizmaya ait maddelerce metal NP'lerine dönüştürülmektedir. Biyosentez yönteminde kullanılan bitki ekstraktı canlı organizmalarda doğal indirgeyicilerin bulunması nanotanecek sentezlenmesinde istenilen üstün bir özellik oluşturmaktadır. Bu yöntemlerde, bitkilerin yaprak, kök, sürgün, taç yaprak, meyve ve kabuk gibi farklı kısımları özüt hazırlamak için taze veya kurutulmuş malzeme olarak kullanılır. Ekstraksiyon yöntemi, genellikle, bitki çözücü içine daldırmayı içermektedir. Elde edilen özüt, metalik iyonları indirgemek için gerekli olan indirgeyici ve kapak oluşturu maddeleri

içerir. Aynı zamanda bitkilerin sentezlenmesiyle elde edilen NP'lerin hem çok hızlı ve stabil hem de daha ekonomik olduğu bildirilmiştir (Thombre ve ark., 2014).

1.4. Sitotoksiste

Sitotoksiste, in vitro çalışmalarda biyolojik değerlendirme için en önemli göstergelerden biridir. İn vitro olarak, nano boyuttaki malzemeler, ilaçlar ve pestisitler gibi kimyasallar; hücre zarlarının tahrip edilmesi, protein sentezinin önlenmesi, reseptörlere geri dönüşümsüz bağlanma vb. farklı sitotoksiste mekanizmalarına sahiptir. Hücre bazlı sitotoksiste çalışmaları ile test edilen maddenin sitostatik ve sitotoksik etkileri hakkında temel bilgi edinilir (Riss ve ark., 2006). İn-vitro sitotoksiste testi için bir endotel hücresi modeli olarak insan umbilikal ven endotel hücreleri (HUVEC) seçildi. Endotel hücreleri, NP'lerin kana girdikten sonra temas ettiği ilk hücrelerden biridir. Bu hücreler kalp ve kan damarlarının iç yüzeyinde bulunarak, besin maddelerinin, biyolojik olarak farklı birçok aktif molekülün ve kan hücrelerinin akışını düzenler. Trombosit yapışmasını ve pıhtılaşmayı önleyen yüzeyi sayesinde kan akışını kolaylaştırır. HUVEC, in-vitro endotel tabakasına oldukça uygun bir modeldir (Yazır ve Dalçık, 2012; Sun ve ark., 2016).

Sitotoksiste çalışmaları, bitki özleri veya bitkilerden izole edilen biyolojik olarak aktif bileşikler dahil olmak üzere bir test maddesinin potansiyel toksisitesinin belirlenmesinde yararlı bir başlangıç aşamasıdır. Tüm insan hücreleri için ortak olan yapılar ve işlevler üzerinde zararlı etkilerin kaydedildiği bazal sitotoksiste kavramı, akut toksiste ile arasındaki ilişki göz önüne alındığında sitotoksiste çalışmaları önem arz etmektedir. Au ve AgNP'ler farklı tekniklerle sentezlenmelerine rağmen kullanılan kimyasalların insan sağlığı ve çevre üzerindeki riskleri nedeniyle, son zamanlarda biyosentez yöntemiyle üretimi üzerine ilgi artmaktadır.

İnterdisiplinler özelliğe sahip olan bu araştırma çalışmamızda, çiriş (*Asphodelus aestivus*) ve kenger (*Gundelia tournefortii*) bitki özütleri (ekstraktları) kullanılarak Au ve AgNP'lerin biyosentez yöntemiyle sağlanması için gerektiğinde deney parametrelerinde (pH, sıcaklık, ekstrak veya H_{Au}Cl₄ ve AgNO₃ konsantrasyonu) değişiklik yapılarak nano boyutta (<100 nm) partikül elde edilmesi başarılı bir şekilde sonuçlanmıştır. Ayrıca çalışmanın amaç ve hedefleri kapsamında, her iki NP'lerin sitotoksiste etkisini belirlemek için HUVEC hücreleri üzerinde MTT analizleri yapılarak değerlendirildi.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kimyasal Malzemeler

Araştırmada kullandığımız Gümüş Nitrat (AgNO_3 , %99.8), Etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$), Aseton, Sodyum Hidroksit (NaOH), Hidroklorik Asit (HCl), F-12 Besin karışımı (Ham), Tripsin-EDTA solüsyonu, Fetal Bovine Serumu, Fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS), 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazoluim bromide (MTT) tuzu, Tripan Mavis ve Nitrik Asit (HNO_3) gibi kimyasallar; Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

2.2. Bitki Materyali

Çalışmamızın deneysel kısmında AuNP ve AgNP'lerin sentezlenmesi için doğada ilgi çekici bitki gruplarından olan çiriş (*Asphodelus aestivus*) ve kenger (*Gundelia tournefortii*) olmak üzere iki farklı bitki seçilmiş ve Tunceli ili halk pazarından satın alınarak temin edilmiştir (Resim 2.1-2.2). Genellikle soğuk iklimlerde, yüksek dağlarda ve ormanlık alanlarda yetişen bu bitkiler sadece ilkbahar dönemlerinde bulunurlar. Ekolojik açıdan son derece önemli olan bu iki bitki içerdikleri kimyasal maddeler nedeniyle tıbbi bitkiler olarak da kullanılabilirler. Çünkü yapılarında ikincil metabolitlerden olan alkaloidler, flavonoidler ve polifenoller gibi indirgeyiciler doğal olarak bulunurlar. Her iki bitki türü bölge insanı tarafından yıllardır tedavi edici ve gıda olarak kullanılmaktadır. Özellikle halk arasında çiriş otu ya da yabani pırasa olarak adlandırılan bitkinin; hemoroid, romatizma, adet söktürücü, idrar söktürücü, saçkıran, süt arttırıcı, egzama, sivilce ve çıbanların tedavisinde ilaç olarak kullanıldığı belirtilmektedir. Çiriş otunun beyaz kan hücrelerini artırdığı ve bu yüzden savunma sistemi için önemli bir özelliğe sahip olduğu rapor edilmiştir (Baytop, T., 1999; Ugulu ve ark., 2009).

Çalışmada kullandığımız diğer bitki türü olan kengerin ise; kramp çözücü, hazımsızlığı giderici, sinirleri güçlendirici, kanı temizleyici ve migrene karşı oldukça yararlı olduğu belirtilmektedir. Ayrıca kengerin karaciğer iltihabı dâhil, aşırı alkol ve bazı ilaçların neden olduğu safra yolu iltihabı, siroz ve kronik karaciğer hastalıklarında iyileşme yönünde olumlu katkılar sağladığı da rapor edilmiştir (Çoruh ve ark., 2007; Tabibian ve ark., 2013).



Resim 2.1. Yaş ve kurutulmuş çiriş (*Asphodelus aestivus*) bitkisi (orijinal)



Resim 2.2. Yaş ve kurutulmuş kenger (*Gundelia tournefortii*) bitkisi (orijinal)

2.3. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Ticari olarak temin edilen bitkiler temizlendikten sonra laboratuvar ortamında gölgede kurutulduktan sonra karıştırıcıda öğütüldü. Öğütülen her bir örnekten 0,2 g tartılıp 100 ml beherde 100 ml saf su ile 100 °C de 10 dk karıştırıldı. Örnekler 15000 rpm de 30 dk santrifüj edildi. Soğuyan karışım Whatman filtre (süzgeç) No. 1 kağıdı ile süzüldü. Filtrat toplandı ve analiz için 4 °C'de saklandı

2.4. Gümüş Nitrat Çözeltisinin Hazırlanması

Çözelti hazırlanması için 0.0169 g AgNO₃ 100 ml saf su içinde çözülerek 1 mM çözelti hazırlandı ve AgNP 'nin biyosentezi için bu çözelti kullanıldı.

2.5. Gümüş Nanaopartiküllerinin Sentezlenmesi

Au ve AgNP'lerin biyosentezlenmesi için, her iki NP ve bitki türüne ait çözeltiler dört farklı konsantrasyonda hazırlanmıştır. Çiriş ve kenger sulu ekstratının farklı

konsantrasyonları ve HAuCl_4 ve AgNO_3 çözeltileri, saf su eklenerek hazırlanmıştır. Biyosentez için takip edilen protokol aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır;

- ✓ Ticari olarak elde edilen yaş çiriş ve kenger bitkileri laboratuvar ortamında güneş görmeyecek bir şekilde kurutuldu.
- ✓ Kurutulmuş bitki örnekleri ayrı ayrı öğütülerek toz haline getirildi.
- ✓ Çiriş bitkisinin distile su ile sentezi için; 100 ml kaynar distile su içine 0,2 g öğütülmüş çiriş bitkisi bırakıldıktan sonra 15 dk bekletildi. Kenger bitkisinin distile su ile sentezi için; 100 ml kaynar distile su içine 0,4 g öğütülmüş kenger bitkisi bırakıldıktan sonra 15 dk bekletildi (her bitkinin kullanım miktarlarının farklı olması ve kullanılan bitkilerden elde edilen özütlerinin konsantrasyonlarının farklı olmasından dolayıdır).
- ✓ Çiriş bitki ekstraktının pH'sı 7.05, kenger bitki ekstraktının pH'ı ise 6.75 olarak belirlendi.
- ✓ Bitki ekstraktları Whatman kağıdıyla süzildükten sonra oda sıcaklığında örnekler muhafaza edildi.
- ✓ Biyosentez için 5mM AgNO_3 çözeltisi hazırlandı.
- ✓ 4 mL bitki ekstraktları ve 6 ml 5mM'lık AgNO_3 çözeltisinden alınarak 2:3 oranında reaksiyon hazırlandı.
- ✓ Reaksiyondan sonra renk koyuluğu gözlenen numunenin pH'ı çirişte 6,67 ve kengerde ise 6.50 olarak belirlendi.
- ✓ Hazırlanan örneklerden 2 saat sonra TEM, DLS ve Zeta analizleri yapılması için numune alınarak analiz merkezine gönderildi.
- ✓ Yukarıda belirtilen değerlerde hazırlanan her iki örnekten 24 saat sonra, AgNP'lerin UV değerleri alınarak kaydedildi.

2.5. Altın Nanaopartiküllerinin Sentezlenmesi

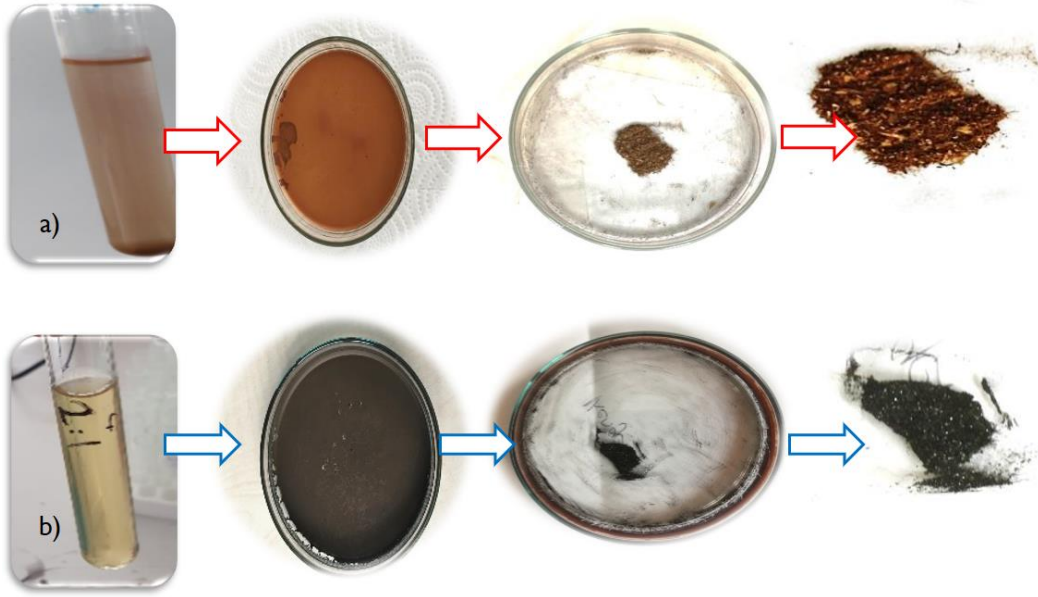
- ✓ Ticari olarak elde edilen yaş çiriş ve kenger bitkileri laboratuvar ortamında güneş görmeyecek bir şekilde kurutuldu.
- ✓ Kurutulmuş bitki örnekleri ayrı ayrı öğütülerek toz haline getirildi.
- ✓ Çiriş bitkisinin distile su ile sentezi için; 100 ml kaynar distile su içine 0,2 g öğütülmüş çiriş bitkisi bırakıldıktan sonra 15 dk bekletildi. Kenger bitkisinin distile su ile sentezi için; 100 ml kaynar distile su içine 0,4 g öğütülmüş kenger bitkisi bırakıldıktan sonra 15 dk bekletildi.

- ✓ Çiriş bitki ekstraktının pH'sı 7.05, kenger bitki ekstraktının pH'ı ise 6.75 olarak belirlendi.
- ✓ Bitki ekstraktları Whatman kağıdıyla süzildükten sonra oda sıcaklığında örnekler muhafaza edildi.
- ✓ Biyosentez için 5 mM HAuCl₄ çözeltisi hazırlandı.
- ✓ 6 mL bitki ekstraktları ve 3 ml 5 mM'lık HAuCl₄ çözeltisinden alınarak 2:1 oranında reaksiyon hazırlandı.
- ✓ Reaksiyondan sonra renk koyuluğu gözlenen numunenin pH'ı çirişte 6,45 ve kengerde ise 6.25 olarak belirlendi.
- ✓ Hazırlanan örneklerden 2 saat sonra TEM, DLS ve Zeta analizleri yapılması için numune alınarak analiz merkezine gönderildi.
- ✓ Yukarıda belirtilen değerlerde hazırlanan her iki örnekten 24 saat sonra, AuNP'lerin UV değerleri alınarak kaydedildi.

2.6. Nanopartikülerin Karakterizasyonu

Yapılan sentezden sonra, en önemli adımlardan biri elde edilen NP'lerin karakterizasyonudur. Çünkü partiküllerin fizikokimyasal özellikleri biyolojik özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Herhangi bir nanomalzemenin nanomedikal veya sağlık sektörü vb. alanlarda kullanılmadan önce olası sorunları belirleyebilmek için hazırlanan NP'leri karakterize etmek gerekir (Lin ve ark., 2014). Boyut, şekil, boyut dağılımı, yüzey alanı, çözünürlük, toplanma vb. gibi nanomalzemelerin karakteristik özelliklerinin toksisite veya biyoyumluluk çalışmalarından önce karakterize edilmelidir (Murdock ve ark., 2008). Sentezlenen nano boyuttaki malzemeerin değerlendirmek için, ultraviyole görünür spektroskopisi (UV-GB spektroskopisi), X-ışını difraktometrisi (XRD), Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), dinamik ışık saçılımı (DLS), taramalı elektron mikroskobu (SEM), geçirimli elektron mikroskobu (TEM) gibi teknikler kullanılmaktadır (Gurunathan ve ark., 2015; Sapsford ve ark., 2011).

Deneyisel çalışmamızda biyosentez yöntem ile elde edilen Au ve AgNP'lerin karakteristik özelliklerini tanımlak ve sitotoksitesini belirlemek için sıvı formdan katı (toz) halini elde ettik (Resim 2.3).



Resim 2.3. Biyosentez yöntemi ile elde edilen (a) AuNP'leri ve (b) AgNP'lerin sıvı ve toz formları (orijinal)

2.6.1. UV-GB spektroskopisi

UV-GB spektroskopisi, sentezlenmiş NPlerin, sentezini ve stabilitesini izlemek için kullanılan güvenilir ana tekniklerden biridir (Sastry ve ark., 1998). Numune çözeltisinden bir ışık gönderilir ve emilen ışık miktarı ölçülür. Belirli dalgaboyu aralığı belirlenir ve absorbans her dalga boyunda ölçülür. AgNP'ler, belirli ışık dalga boylarıyla güçlü etkileşime girmelerini sağlayan benzersiz optik özelliklere sahiptir. Ayrıca, UV-GB spektroskopisi hızlı, kolay, basit, hassas ve farklı NP tipleri için seçicidir, ölçüm için sadece kısa bir süre gerekir ve koloidal süspansiyonların partikül karakterizasyonu için kalibrasyon gerektirmez (Tomaszewska ve ark., 2013). Tipik olarak, bir UV-GB spektrumundaki maksimum absorpsiyon dalga boyu ortalama partikül büyüklüğü ile ilişkilidir, yarı maksimumdaki tam genişliği (FWHM) partiküllerin homojenliği hakkında bilgi verebilir. AgNP'lerin oluşumu, UV-GB absorpsiyon spektroskopisinden optik yoğunluk belirlenerek doğrulanır. Koloidal gümüş NPlerin karakteristik yüzey plazmon absorpsiyon bandı görünür aralıkta gözlenir. Yüzey plazmonu, metalik bir partikültaki serbest elektronların salınımdan kaynaklanmaktadır.

Her iki bitkiden elde edilen AgNP'lerin dalga boyu, 300 nm ila 600 nm aralığında 1 nm çözünürlükte ışık emiciliğine dayanarak UV-GB spektroskopisinde (Optima, SP-3000 Nano) kuvars küvet için 2 ml numune doldurularak ölçüldü. AgNP çözeltisi, UV-GB ölçümüne girmeden önce damıtılmış su içerisinde seyreltildi ve kontrol çözeltisi olarak saf

su kullanıldı (Sharma ve ark., 2013). Elde edilen tüm verilerden Origin Pro 9.1 SRO yazılımı (OriginLab Corp, Northampton, MA, ABD) kullanılarak grafikler haline dönüştürüldü.

2.6.2. Dinamik ışık saçılımı analizi

Dinamik Işık Saçılımı (DLS), boyutları submikrondan bir nanometreye kadar değişen küçük partiküllerin çözelti veya süspansiyondaki boyut ve boyut dağılımını ölçen bir tekniktir (Lin ve ark., 2014). Enstrüman, dinamik ışık saçılımı ilkesi üzerinde çalışır. Yöntem, çözeltilerde Brownian hareketi sırasında küçük moleküllerin ışık saçılımının ölçülmesine ve bunun partiküllerin boyutuna korelasyonuna dayanır (Fissan ve ark., 2014). Bu prensipte, bir ışık demeti (lazer) bir partikül grubu tarafından saçıldığı zaman ışık saçılma açısı partikül büyüklüğü ile ters orantılıdır, yani partikül büyüklüğü küçük olduğunda ışık saçılma açısı büyük, şiddeti ise az olacaktır. DLS (hidrodinamik çap) ile ölçülen NP'lerin boyutu, elektron mikroskobu (çekirdek çap) ile ölçülenden biraz daha büyük olabilir, çünkü hidrodinamik çapa bir solvent molekülü tabakası dahil edilebilir (Fedotov ve ark., 2011). Bununla birlikte, DLS tekniğinin bazı doğal dezavantajları vardır. Daha büyük partiküller daha fazla ışık saçtığından, nadir fakat çok daha büyük agregaların varlığı, AgNP'lerin etkili çaplarını çarpıtarak büyük bir boyut dağılımı verir. Bu nedenle, polidispers örneklerden elde edilen DLS verilerinin yorumlanması zordur

Her bir NP'ün sulu ortamdaki (solüsyon/medium) gerçek boyut dağılımı DLS ölçümleri (Malvern Zetasizer Nano ZS Instrument) ile belirlendi. NP'lerin gerçek boyut dağılımları, deiyonize su içinde stok süspansiyonlarında incelendi Konsantrasyonun çok yüksek olması durumunda, seyreltilip cihazın saniyede sayım elde edebileceği düşük konsantrasyonlara (<10 µg/mL) ayarlandı. Her bir süspansiyonun bir kısmı, görünür kümelerin parçalanması (eğer varsa) için 10 dakika sonike edildi ve daha sonra DLS ölçümleri için 1,5 mL'lik temiz kare küvete konuldu (Brar ve Verma, 2011). Her bir NP çözeltisi için ortamdaki beş DLS ölçümü arka arkaya alındı ve ortalama boyut; ölçülen yoğunluk, hacim ve sayı dağılımlarından enstrüman yazılımı ile elde edildi. Ölçümler 0,1 ile 10,000 nm arasında alınmıştır.

2.6.3. Zeta potansiyel analizi

Zeta Potansiyel analizi, kolloid NP'lerin yüzey yükünü belirleme tekniğidir. İyonik bir çözeltide, yüklü bir partikülün yüzeyine, zıt yüklü iyonlar sıkıca bağlanır ve Stern katmanı adı verilen bir katman oluşur. Bu katmanın etrafında iyonların daha gevşek bağlı olduğu ince bir sıvı dış diffüz katmanı oluşur. Bu iki katman, elektriksel çift katman olarak adlandırılır (Clogston ve Patri, 2011). Yüklü partikül ve dış düfuz katmanı tek bir parça olarak hareket eder. Zeta potansiyel ölçümü Doppler prensibi kullanılarak elektrik alanı uygulanan partiküllerin hızının ölçümü esasına dayanır (Henry Formülü). Zeta potansiyelinin değeri, partikül stabilitesi hakkında bilgi verir. Zeta potansiyelinin artmasıyla partiküller arasında daha büyük bir elektrostatik itme nedeniyle partiküllerin bir araya gelerek agregat oluşturması engellenir ve kolloidal süspansiyonda kararlılık artar. Tanelerin polar sıvılar içerisindeki davranışlarını yüzeylerindeki elektrik yükü değil, zeta potansiyel değerleri belirler. Zeta potansiyel parçacığın içinde bulunduğu sıvının pH değeri ile değişir. Zeta potansiyel ölçümleri için kolloidal çözeltiden 1 mL örnek alınıp, temiz elektrotlu Zeta potansiyel küvetine konularak zetasizer (Malvern Nano ZS) cihazında analiz edildi.

2.6.4. Geçirimli elektron mikroskobu analizi

TEM, partiküllerin ve/ veya tane büyüklüğünün, boyut dağılımının ve morfolojinin niceliksel ölçümlerini elde etmek için kullanılan nanomalzemelerin karakterizasyonu için değerli, sık kullanılan ve önemli bir tekniktir (Williams ve Carter, 1996). Nanometre mertebesinde çok küçük ve ince alanlardan, milyon katı büyütmelede malzemenin kristalagrofik ve morfolojik bilgilerine aynı anda ulaşılmasını olanaklı kılmaktadır (Ates, 2018). TEM'de, yüksek enerjili bir elektron ışını numunenin çok ince bir katmanından iletilir ve adsorbe edilmeyen elektronlar, hedef NP'lerin doğrudan bir görüntüsünü sağlayan bir görüntüleme detektörüne odaklanır (Tiede ve ark., 2008). Sadece partikül büyüklüğü ve morfolojisi hakkında bilgi vermekle kalmaz, aynı zamanda agregasyon, dağılma özellikleri hakkında da bilgi sağlar. Yüksek çözünürlüklü TEM ayrıca, kristalin numunelerin atomik katmanlarının görselleştirilmesine izin verir. TEM için, teknolojideki çözünürlük yaklaşık 0.07 nm'dir ve esas olarak elektron ışını için hızlanma voltajına ve numunenin kalınlığına bağlıdır (Dudkiewicz ve ark., 2011). Daha yüksek voltaj ve daha ince örnekler daha iyi bir teorik çözünürlük elde eder.

Çalışmada NP'lerin boyut ve şekilleri TEM ile 40-100 kV hızlanan gerilim altında 50-106 büyütme ile 0,2 nm çözünürlük sağlayan JOEL-1011 TEM enstrümanı kullanılarak karakterize edildi. TEM ölçümleri için, NP'lerin koloidal çözeltisi ilk olarak 15.000 rpm de santrifüj edildi elde edilen pellet saf su ile yıkandı ve tekrar saf su içinde dilüe edildi. Bir damlası (8-10 μ L) 50 A° kalınlığında karbon-kaplanmış bakır ızgaralar (grid) üzerine damlatıldı ve TEM görüntüsünü kaydetmek için 24 saat kurumaya bırakıldı. Net mikroskopik görünüm, farklı büyütme aralığında gözlemlendi ve belgelendi (Gopinath ve ark., 2012).

2.6.5. Taramalı elektron mikroskobu analizi

SEM, sentezlenen partiküllerin mikro ve nanoboyuttaki yüzey morfolojilerini farklı partikül boyutlarını, boyut dağılımlarını ve NP'lerin şekillerini tanımlamada kullanılan yüzey görüntüleme yöntemidir (Hall ve ark., 2007). SEM tekniği NP yüzeyleriyle etkileşime geçmek için bir elektron ışını kullanır ve ikincil elektronlar, geri saçılmış elektronlar veya X ışını fotonları ölçülür (Simonet ve Valcárcel, 2009). SEM numuneleri toplu halde analiz edilebilir, bu nedenle numune hazırlama çok daha kolaydır. Numuneler, ince kesitler halinde kesilmeden doğrudan alüminyum veya karbon çubuklar üzerine monte edilebilir (Dudkiewicz ve ark., 2011). Bununla birlikte, görüntüleme sırasında elektron ışıması nedeniyle numunede statik elektrik alanlarının oluşma riski vardır, bu nedenle numunenin, en azından yüzeyinin iletken olması gerekir. Bazı yüzey bilgilerinin kaybolabilme ihtimali olsa da iletken olmayan numunenin ince bir altın tabakası ile kaplanması gereklidir. AgNP'lerin yüzey morfolojisi ve büyüklüğü bir taramalı elektron mikroskobu (UANTA 400F Field Emission SEM) kullanılarak incelendi. SEM, uzamsal çözünürlüğü 50 ila 100 nm olan 20X ila yaklaşık 30.000X arasında değişen bir büyütmeye sahiptir. Görüntüleme için, çift taraflı yapışkan karbon iletken bandın bir tarafına 0.5 mg AgNP numunesi koyuldu. Bant daha sonra 8 mm çapındaki alüminyum plakaya monte edildi. Örnek farklı büyütmede gözlemlendi ve görüntüler resimlendi.

2.6.6. X-ışını kırınım spektroskopisi analizi

X-ışını kırınımı (XRD), hem moleküler hem de kristal yapıların analizi için kullanılan yaygın bir analitik tekniktir (Waseda ve ark., 2011). X-ışınları ölçümleri kristale

zarar vermeksizin yapısı hakkında bilgi veren güçlü bir yöntemdir. X-ışınlarının dalgaboyu, 1 Å civarındadır ve bu da bir kristal içindeki atomlar arası mesafe mertebesinde. Kristallerin atom dizilişlerinin incelenmesinde bu yüzden X-ışınlarına ihtiyaç duyulur. X-ışınları kırınım desenlerinden, bir katıdaki düzlemler arasındaki mesafe (atomların oluşturduğu sıralar), tek kristalin veya taneciğin yönelimi, bilinmeyen bir malzemenin kristal yapısı, tanecik boyutu ve şekli hakkında bilgi elde edilebilir.

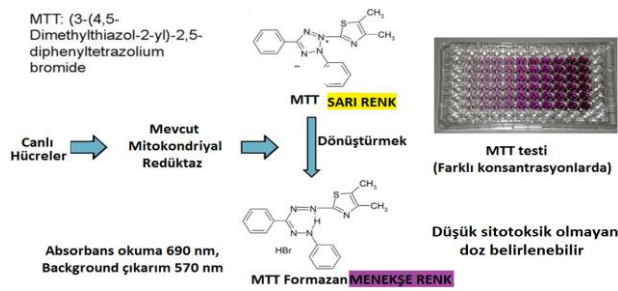
AgNP'lerin kristalografik yapısını incelemek için X ışını kırınım analizi yapıldı. XRD analizi için dondurularak kurutulmuş NPlar XRD ızgarası üzerine kaplandı ve spektrum, 40 kV'da çalışan XRD cihazı ve Cu-Kα1 radyasyonu ile 15 mA'lık bir akım kullanılarak kaydedildi. Cihaz 2θ 20-80 ° aralığında çalıştırıldı (Jyoti ve ark., 2016). XRD modelinden elde edilen sonuç, AgNP'lerin karakterizasyonu için Standart Toz Kırınım Standartları Komitesinin (JCPDS kart no 04-0783) standart referansı ile yorumlandı (Theivasanthi ve Alagar, 2012).

2.6.7. Fouier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi analizi

Kızılötesi (IR) spektroskopisi, organik veya inorganik bileşiklerin karakterize edilmesinde kullanılan bir araçtır. IR spektrumu, maddeyi oluşturan atomlar arasındaki bağların titreşimiyle oluşan frekanslarına karşılık gelen absorpsiyon pikleri ile örneğin parmak izini göstermektedir. Her maddenin kendine has bir spektrumu vardır (Büyüksırt ve Kuleaşan, 2015). FTIR, verilen numunedeki AgNP'lerin indirgenmesinde, kaplanmasında ve stabilizesinden sorumlu muhtemel biyomoleküllerin tanımlanmasında kullanılan uygun maliyetli ve basit bir tekniktir (Khan ve ark., 2017). Kızılötesi ışın AgNP örnekleriyle etkileşime girdiğinde, kimyasal bağlar gerilme, büzülme ve bükülme gibi farklı titreşim hareketleri nedeniyle adsorbe edilir ve kızılötesi bölgesinde kimyasal bağların titreşimlerindeki değişim ve absorpsiyon özellikleri spektral piklerin oluşmasını sağlar (Kılıç ve Karahan, 2010). Bu çalışmada yaklaşık 0.5 g sentezlenmiş AgNP katı (toz) formlardaki örnekleri Jasco ATR-FT-IR 6700 kullanılarak 4000–400 cm⁻¹ aralığında taranmıştır. Sonuçlar spektral kütüphane veri tabanları, kızılötesi tablosuyla karşılaştırıldı.

2.7. MTT Hücre Canlılığı Testi

Hücre canlılık testi için kullanılan MTT testi kullanımının kolay olmasıyla birlikte özellikle güvenilirliğinin yüksek olması, tekrarlanabilirliğinin olması ve hem hücre canlılığını hem de sitotoksite testlerini belirlemek için yaygın olarak kullanılması önemli özellikleridir. Çalışmamızda MTT hücre canlılığı testinde, Mossman (1983) metodu bazı modifikasyonlarla izlenmiştir. Geliştirilen HUVEC hücreleri, 96 oyuklu bir plaka içerisinde 5×10^3 hücre / oyuk yoğunluğunda ekilmiştir (Şekil 2.1). 4 saatlik inkübasyondan sonra, ortam çıkarıldı ve 6.25 ug / mL ila 10 ug / mL arasında değişen konsantrasyonlarda AuNP ve AgNP'ler içeren % 5 FBS veya % 10 FBS DMEM ile değiştirildi ve hücreler 24 ve 48 saat 37°C'de inkübe edildi. % 5 CO₂ ile nemlendirilmiş inkübatör. Maruz kalma süresinin sonunda, Au ve AgNP'lerin toksisitesi, MTT boyasının kullanıldığı standart bir kolorimetrik hücresel canlılık analizi ile değerlendirildi. Sitotoksiste analizleri Hacettepe Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi biriminden hizmet alımı olarak yapılmıştır. Bu deneysel araştırma kapsamında, biyolojik değerlendirmeyi için ISO 10993 testleri ve standart L929 hücre hattı ile Au ve AgNP'lerin sitotoksite deneyleri yapılmıştır. Analizlerde, SpectraMax mikropilaka okuyucu (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) kullanılarak 570 nm'de absorbans ölçümleri değerlendirildi.



Şekil 2.1. Hücre canlılığı testi deneyinin MTT ile belirlenmesini gösteren şema (Mossman, 1983).

2.8. İstatistiksel Analiz

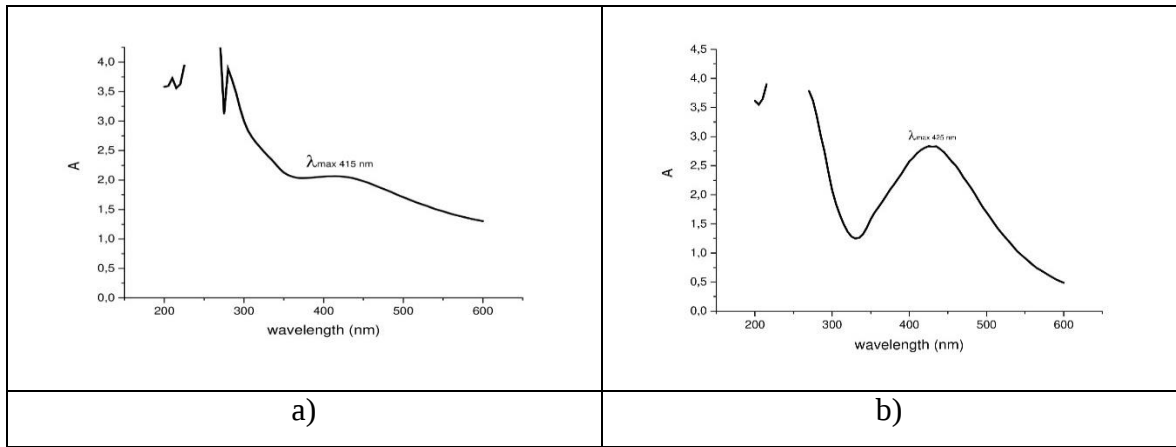
İstatistiksel değerlendirmede, SPSS 15.0 bilgisayar programında One-Way ANOVA-Dunnet testi uygulanmış ve $P < 0.05$ 'in altındaki değerler anlamlı kabul edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada doz-etki ilişkisini ortaya koymak amacıyla SPSS 15.0 programı aracılığıyla regresyon analizi yapılmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Karakterizasyon Analiz Sonuçları

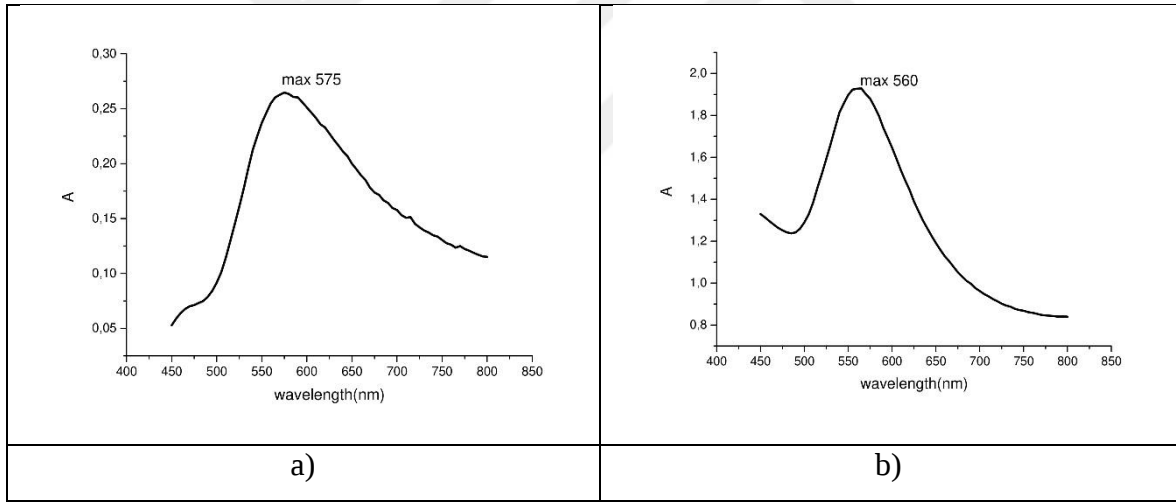
3.1.1. UV-GB spektrofotometre analiz sonuçları

AgNP'ler boyutuna, şekline, yoğunluğa ve kümeleşme durumuna karşı hassas optik özelliklere sahiptirler. Bu sebepten dolayı UV-GB spektroskopisi ile NP'lerin teşhis edilmesi, karakterize edilmesi ve incelenmesi oldukça önemlidir (Cheng ve ark., 2015). AgNP'ler ışığı olağanüstü bir verimlilikle absorblar ve dağıtırlar. Işıyla güçlü etkileşimleri, metal yüzeydeki iletim elektronlarının, belirli dalga boylarında ışıkla uyarıldıklarında kolektif bir salınım yapmaları nedeniyle oluşur. Bu salınım yüzey plazmon rezonansı (SPR) olarak bilinir ve AgNP'lerin absorpsiyon ve saçılma yoğunluklarının aynı boyutta plazmonik olmayan NP'lerden çok daha yüksek olmasına neden olur. Bu güçlü etki UV-GB spektrumunda kolayca görülür. AgNP'lerin absorpsiyon ve saçılma özellikleri, partikül boyutu, şekli ve partikül yüzeyi ile ilişkilidir. AgNP'lerin UV-GB spektrum pikleri, boyut ve şekil dağılımlarına bağlı olarak 390 ve 470 nm arasında spektrumda görülür. Küresel AgNP'lerin optik özellikleri büyük ölçüde NP çapına bağlıdır. Daha küçük NP'ler 400 nm $\lambda_{\max}$ değerine sahipken, daha büyük NP'ler; daha fazla saçılma sergiler ve daha uzun dalga boylarına (kırmızı kayma) kayma yapan $\lambda_{\max}$ değerlerine ve genişleyen spektrumlara sahip olurlar (Paramelle ve ark. 2014).



Şekil 3.1. a) Çiriş bitkisi ekstraktından ve b) kenger bitki ekstraktından AgNP'lerin UV-GB spektrumu

Bu çalışmada, AgNO_3 eklenip reaksiyon tamamlandıktan sonra örnekler alınarak 200-600 nm dalga boyu, 5 nm dalga aralığında UV spektrumlar oluşturuldu. Kör çözelti (background) olarak, AgNO_3 eklenmemiş bitki ekstraktları kullanıldı. Sinyalin gürültüsüz ve tek λ_{max} 'a sahip olması oluşan partiküllerin çok fazla agregre (kümeleşme) olmadıklarını göstermektedir. Ancak piklerin geniş olmaları bir miktar agregasyon olduğunu göstermektedir. Oluşan UV pikleri kararlı ve güçlü sinyaller olmasından, bitki komponentleri ile oluşan AgNP'lerin kararlı oldukları söylenebilir. 415 nm'de λ_{max} değerine sahip çiriş AgNP'in ortalama 5-25 nm boyuta sahip oldukları, 425 nm'de λ_{max} değerine sahip kenger AgNP'in ise ortalama 10-30 nm boyutlara sahip oldukları literatüre bakılarak söylenebilir. Ancak UV-GB spektrumlarına bakılarak yapılan boyut analizinin, biyosentez ile elde edilmiş NP'lerin ortalama boyutları kullanılan bitkiye bağlı olarak değişkenlik gösterdiğinden; TEM analizleri ile de tamamlanmalıdır (Anuradha ve ark., 2011; Gaikwad ve ark., 2012).



Şekil 3.2. a) Çiriş bitkisi ekstraktından ve b) kenger bitki ekstraktından AuNP'lerin UV-GB Spektrumu

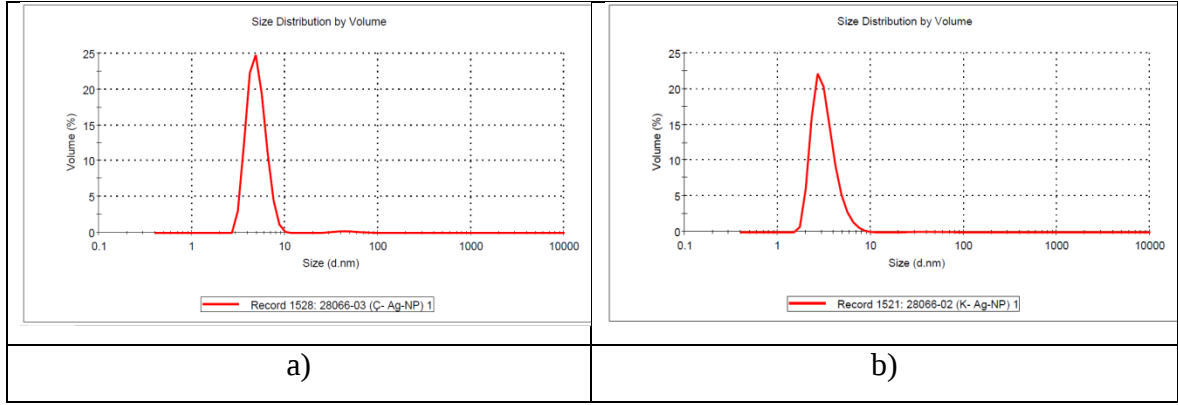
Literatürde 20 ile 100 nm arası boyutlara sahip AuNP'lerin 500-600 nm aralığı dalga boylarında Lokalize Yüzey Plazmon Rezonansı (LSPR) optik özelliğine sahiptirler. AuNP'lerine ait LSPR görünür ışık bölgesinin 500-600 nm aralığında kuvvetli bir absorpsiyona neden olur. Bu bölge UV-GB spektrumunda açıkça görülür. Literatürde benzer spektrumlara bakıldığında, 560 nm λ_{max} değerine sahip AuNP'lerin ortalama 60 nm boyutlarında, 575 nm λ_{max} değerine sahip partiküllerin ise ortalama 80 nm boyutlarında oldukları görülmektedir. AgNO_3 eklenip reaksiyon tamamlandıktan sonra örnekler alınarak

400-800 nm dalga boyu, 5 nm dalga aralığında UV spektrumlar oluşturuldu. Kör çözelti (background) olarak, AgNO₃ eklenmemiş bitki ekstraktları kullanıldı. Sinyalin gürültüsüz ve tek λ_{max} 'a sahip olması oluşan partiküllerin agrege olmadıklarını göstermektedir. Oluşan UV pikleri kararlı ve güçlü sinyaller olmasından, bitki komponentleri ile oluşan AgNP'lerin kararlı oldukları söylenebilir. Sentezlediğimiz çiriş AuNP'leri ve kenger AuNP'lerin UV-GB spektrumları sırasıyla 575 ve 560 nm dalgaboylarında λ_{max} değerlerine sahiptirler. Buradan hareketle, sentezlenen AuNP'lerin ortalama 60-80 nm boyutlara sahip olduğu söylenebilir.

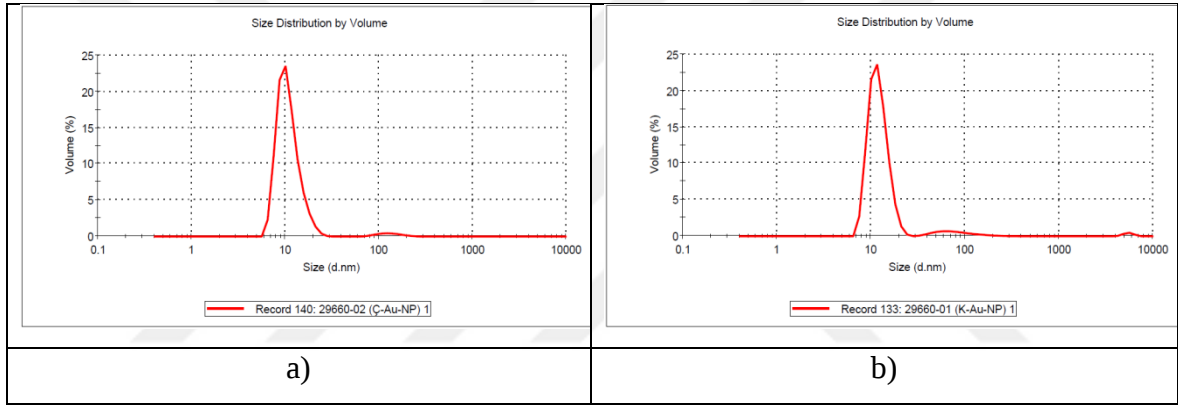
3.1.2. Dinamik ışık saçılımı analiz sonuçları

Sıvı ortamında bulunan nano boyuttaki malzemelerin fiziksel olarak stabil olduklarını anlayabilmek için partiküllerin dağılımına bakılır. Dinamik ışık saçılması (DLS) analizi ise partikül boyutu ve patikül dağılımları elde edilebilir. Bu yöntemdede en önemli parametre PdI (Poly dispersity index) değeridir. PdI değeri 0.1- 0.25 arasında olursa istenilen dar dağılım elde edilebilir. Eğer elde edilen PdI değeri 0.5'in üzerinde olursa geniş dağılım elde edilir. Çalışmamızda çiriş bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin PdI değeri 0,336 ve kenger bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin PdI değeri ise 0,437 elde edilmiştir. Ayrıca çiriş bitki ekstraktından elde edilen AuNP'lerin PdI deperleri ise 0,386 ve kenger bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin PdI değeri de 0,365 olarak elde edilmiştir. Bu kapsamda elde edilen veriler değerlendirildiğinde; biyosentez yöntemi ile elde ettiğimiz her iki NP'leri PdI değerleri 0,25 ve 0,5 arasında olduğundan dolayı dar ve geniş dağılım aralığındadır.

Her iki bitki ekstraktından elde edilen NP'lerin kolloidal çözelti ortamında (sıvı ortamında) DLS analiz sonuçlarına göre incelendiğinde; çiriş bitkisinden elde edilen AgNP'lerin %2 oranında 50 nm aralığında ve %98 oranında ise 6-10 nm arasında elde edilmiştir. Kenger bitki ekstraktından elde edilen AgNP'leri ise %1 oranında 45 nm ve %99 oranında ise 3-10 nm aralığında elde edilmiştir. Çiriş bitkisinden elde edilen AuNP'leri ise %3 oranında 132 nm aralığında ve %97 oranında 6-15 nm arasında elde edilmiştir. Kenger bitki ekstraktından elde edilen AuNP'leri ise %6 oranında 87 nm ve %94 oranında ise 8-20 nm aralığında elde edilmiştir. Her iki bitkiden elde edilen NP'ler verileri arasında çok farklılık göstermediği görülmektedir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. a) Çiriş bitkisi ekstraktından ve b) kenger bitki ekstraktından AgNP'lerin DLS grafiği



Şekil 3.4. a) Çiriş bitkisi ekstraktından ve b) kenger bitki ekstraktından AuNP'lerin DLS grafiği

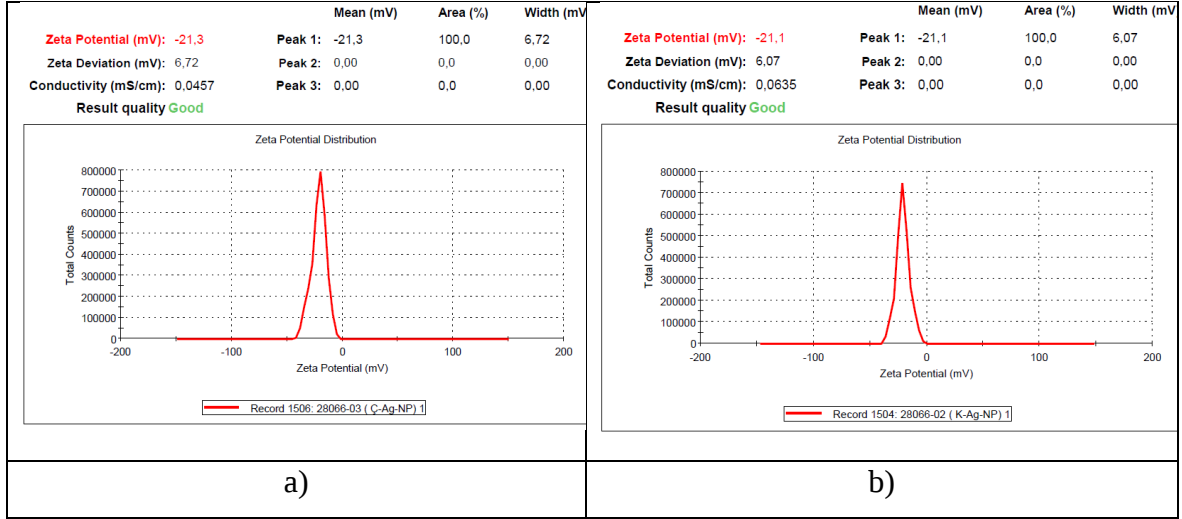
Partikül boyutlarının yüksek aralıkta dağılım göstermesi, fitokimyasalların gümüş ve altın ile eksik ya da zayıf reaksiyona girmesinden dolayı daha büyük partiküllerin oluşmasından kaynaklı olabilir. Bununla birlikte TEM ile elde edilen sonuçların, DLS ile elde edilen sonuçları sıklıkla desteklemediği görülür. Aslında bu iki yöntem arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır. TEM'de örnek vakum altında kurutulurken, DLS'de örnekler sıvı ortamda dağıtılır, TEM sayı-bazlı bir teknik iken, DLS yoğunluk bazlı bir tekniktir. DLS, dağılmış partiküllerin hidrodinamik çapını ölçer, oysa ki TEM, elektronlarının ne kadarının numune üzerinden iletildiğine bağlı olarak öngörülen yüzey alanını belirler. Bu nedenle DLS ile elde edilen boyut aralığı TEM'den büyük olabilmektedir (Ahmed ve ark., 2016). *Eriobotrya japonica* ekstraktından sentezlediği AgNP'lerin TEM analizi ile belirlenen ortalama partikül boyutunun (yaklaşık 19.75 nm), DLS metodu ile ölçülen değerden (yaklaşık 54.47 nm) önemli ölçüde daha küçük olduğu rapor etmişlerdir.

Bu farklılığın ise bitkiden gelen organik stabilizatörlerin AgNP yüzeyine absorbe olmasından, bazı küçük boyutlu NPlerin agregasyonundan veya stabil AgNP'lerin yüzeyine suyun absorbe olmasından kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir (Rao ve Tang, 2017). Huang ve ark. (2007) ve Erjaee ve ark. (2017) yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçlar bulmuştur.

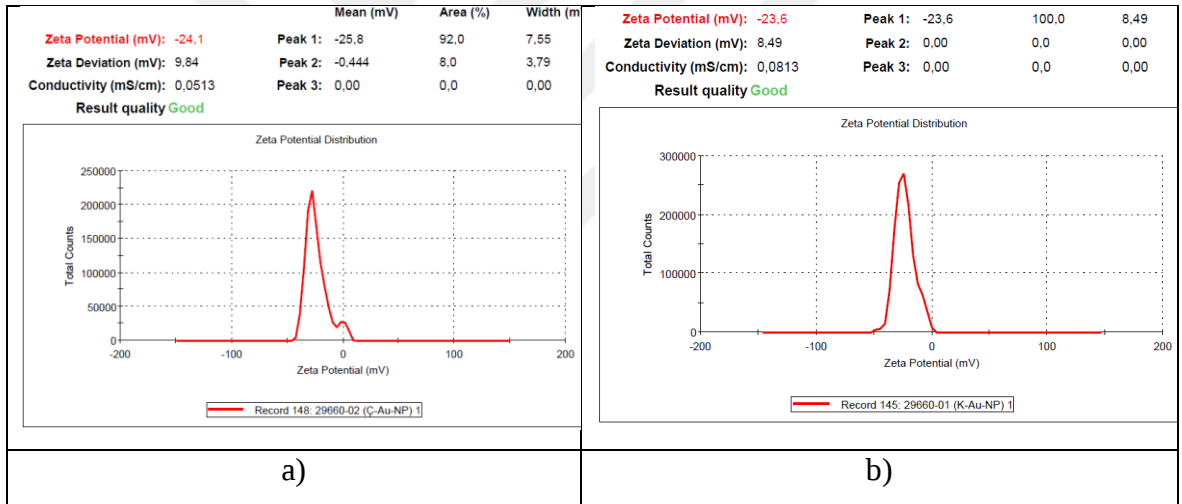
3.1.3. Zeta potansiyeli analiz sonuçları

Nano boyuttaki malzemelerin en çok karşılaşılan zorlukları kararlılıklarıdır. Zeta potansiyelinin ölçülmesi, kolloidal dispersiyonun saklama stabilitesi hakkında bilgi vermektedir. Genel olarak, yüklü partiküllerde (yüksek zeta potansiyeli), elektriksel itme nedeniyle, partikül agregasyonunun meydana gelme ihtimali daha azdır. NPlerin zeta potansiyellerine bakılarak kararlılıkları ve topaklaşma eğilimleri hakkında bilgi elde edilebilir. Süspansiyondaki tüm partiküllerin büyük bir negatif veya pozitif zeta potansiyeli varsa, birbirlerini itme eğiliminde olacaklardır ve kümeleşme eğilimi olmayacaktır. Bununla birlikte, eğer partiküllerin düşük zeta potansiyel değerleri varsa, partiküllerin bir araya gelmesini ve kümeleşmesini önleyen bir kuvvet söz konusu olamayacaktır (Ateş ve ark., 2013; Singh ve ark., 2014). Yani daha yüksek büyüklükteki potansiyeller artan elektrostatik itme ve dolayısıyla artan kararlılığı göstermektedir. Örneğin 0-5 mV partiküller kümeleşme veya bir araya gelme eğilimi sergilerler, 5-20 mV partiküller minimal düzeyde, 20-40 mV partiküller orta düzeyde, 40+ mV'dan büyük zeta potansiyeline sahip partiküller son derece kararlıdır (Ateş, 2018).

Araştırmamızda elde ettiğimiz nano boyuttaki partiküllerin zeta potansiyel sonuçları Şekil 3.5. ve 3.6.'da verilmiştir. Çiriş bitkisinden elde edilen AgNP'leri -21,3 mV ve kenger bitkisinden elde edilen AgNP'lerin ise -21,1 mV olarak elde edilmiştir. Çiriş bitkisinden elde edilen AuNP'leri -24,1 mV ve kenger bitkisinden elde edilen AuNP'lerin ise -23,6 mV olarak elde edilmiştir. Biyosentez yöntemi ile elde edilen AgNP'leri ve AuNP'leri negatif yüklere sahip olup ve orta düzeyde kararlıdır.



Şekil 3.5. a) Çiriş bitkisi ekstraktından ve b) kenger bitki ekstraktından AgNP'lerin zeta potansiyeli değerleri

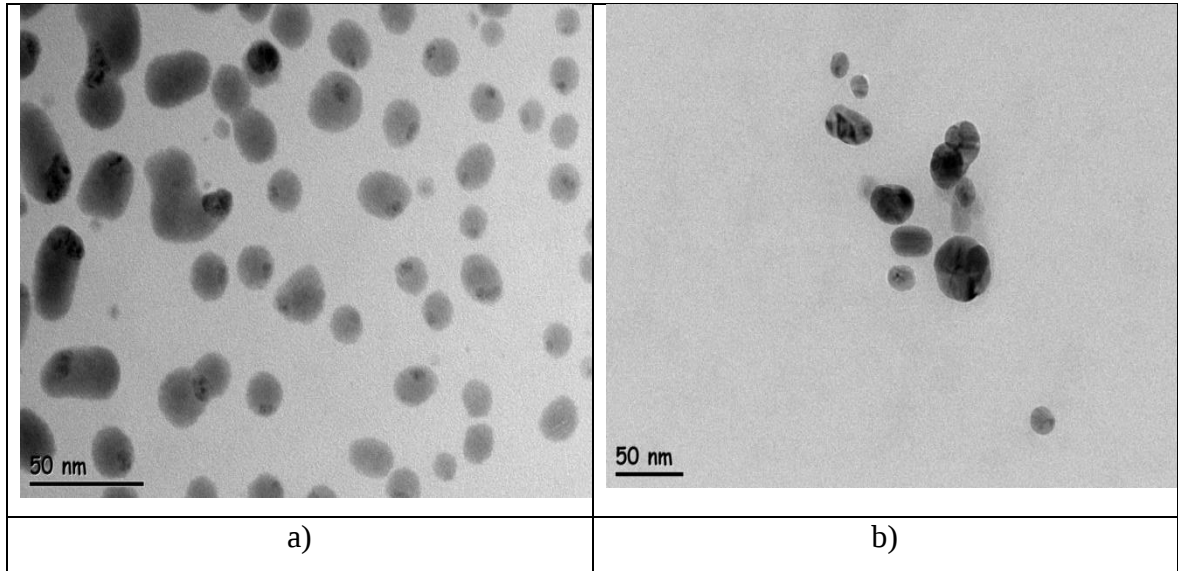


Şekil 3.6. a) Çiriş bitkisi ekstraktından ve b) kenger bitki ekstraktından AuNP'lerin zeta potansiyeli değerleri

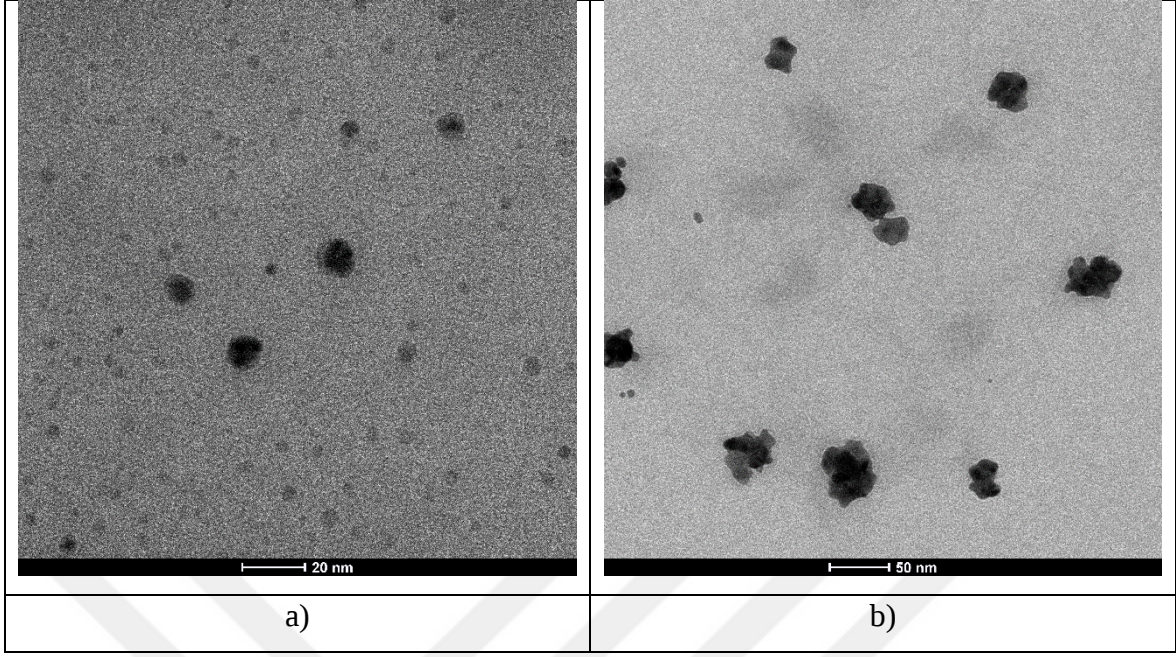
Biyosentez yöntemiyle elde edilen AgNP'ler genellikle negatif yük taşır. Sentezlenen tüm AgNP'ler negatif yük göstermiştir (Raja ve ark., 2017) *Calliandra haematocephala* bitkisinden sentezledikleri AgNP'lerin zeta potansiyel değerini -17.2 mV, (Singh ve ark., 2018) *Cannabis sativa* bitkisinden sentezledikleri AgNP'lerin zeta potansiyeli değeri ise -29.2 mV olarak bulmuştur. Zeta potansiyelindeki farklılık kullanılan bitki türüne, aynı bitkinin farklı kısımlarına ve yüzeye bağlanan biyorganik yapılardan kaynaklanmaktadır. Elde ettiğimiz zeta potansiyeli sonuçları biyosentez yöntemi ile elde edilen yukarıdaki çalışmaların verileriyle paralellik göstermektedir.

3.1.4. Geçirimli elektron mikroskobu analiz sonuçları

Laboratuvar ortamında biyosentez yöntemi ile elde edilen Ag ve AuNP'lerin boyutunun belirlenmesi için Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) analizi ile partikül ortalama boyutları ve kümeleşme yapıp yapmadıkları tespit edilmiştir. Elde edilen her iki NP'lerin TEM görüntülerine göre nano boyutta (<100 nm) partiküller her iki bitki türünden elde edilmiştir. TEM analiz sonuçlarına göre hem AgNP'lerin ve hem de AuNP'lerin morfolojisinin temel olarak küresel olduğunu doğrulamıştır. Boyut olarak incelendiğinde ise genellikle tüm partiküllerin 100 nm'den küçük olduğu ve ancak çiriş bitkisinden elde edilen AgNP'lerin kenger bitkisinden elde edilen AgNP'lerine göre daha homojen bir dağılım göstererek kümeleşme yapmadıkları görülmüştür. Kurutulmuş çiriş bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin Boyut dağılımları bakımından incelendiğinde AgNP'leri küresel şekilde ve boyutları sırasıyla 20-40 nm aralığında homojen bir dağılım göstermiştir (Şekil 3.7). Kenger bitkisi ekstraktından elde edilen AgNP'lerin boyutu 20-50 nm aralığında bulunmuştur. Kurutulmuş çiriş bitki ekstraktından elde edilen AuNP'lerin Boyut dağılımları bakımından incelendiğinde ise bu NP'leri küresel şekilde ve boyut aralıkları sırasıyla 5-15 nm aralığında homojen bir dağılım göstermiştir (Şekil 3.8). Kenger bitkisi ekstraktından elde edilen AgNP'lerin boyutu 10-30 nm aralığında bulunmuştur.



Şekil 3.7. a) Çiriş bitkisi ekstraktından elde edilen ve b) kenger bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin TEM görüntüleri



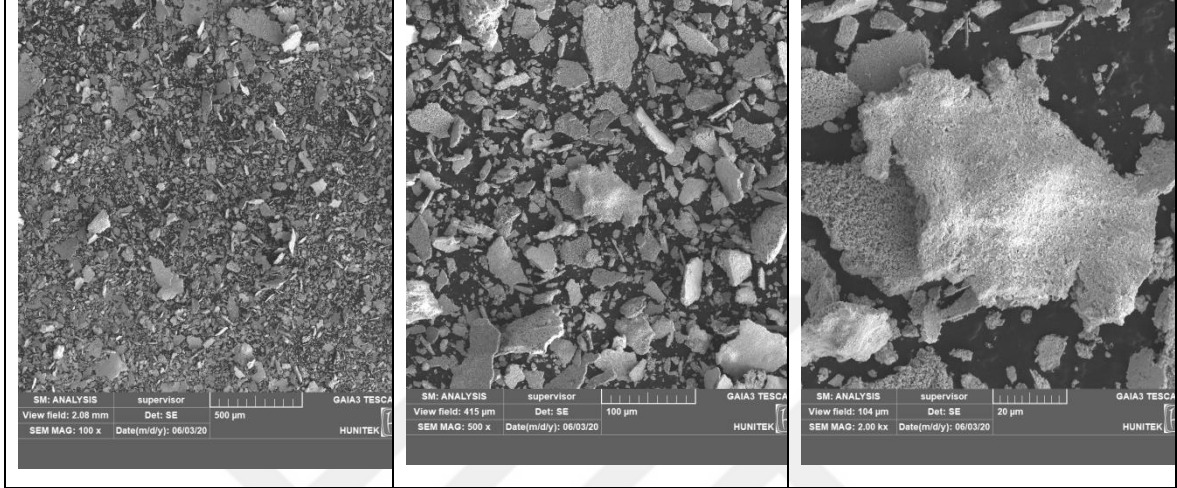
Şekil 3.8. a) Çiriş bitkisi ekstraktından elde edilen ve b) kenger bitki ekstraktından elde edilen AuNP'lerin TEM görüntüleri

Boyut dağılımındaki bu varyasyonlar biyosentez yöntemleriyle sentezlenmiş NP'lerde yaygındır. Özellikle kenarların merkezden daha açık olması, metal bazlı NP'leri kaplayan biyomolekül proteinlerinden kaynaklanmaktadır (Zargar ve ark., 2014). Bindhani ve Panigrahi (2015) *Ocimum Sanctum* L (Tulsi) ekstraktında sentezlediği AgNP'lerin küresel, 15-45 nm aralığında ve yaklaşık %75'inin 5 nm ila 30 nm arasında olduğunu bildirmiştir. Christensen ve ark. (2011) köri yaprağı ekstraktıyla yaptığı çalışmada TEM görüntülerine göre, sentezlenmiş AgNP'lerin polidispers ve yaklaşık olarak 10-25 nm aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Rasheed ve ark., (2017) elde ettikleri NP'lerin yuvarlak ve ortalama 25 nm aralığında olduğunu ve agregasyon olmasına rağmen bazı partiküllerin şeklinin düzensiz olduğunu bildirmişlerdir.

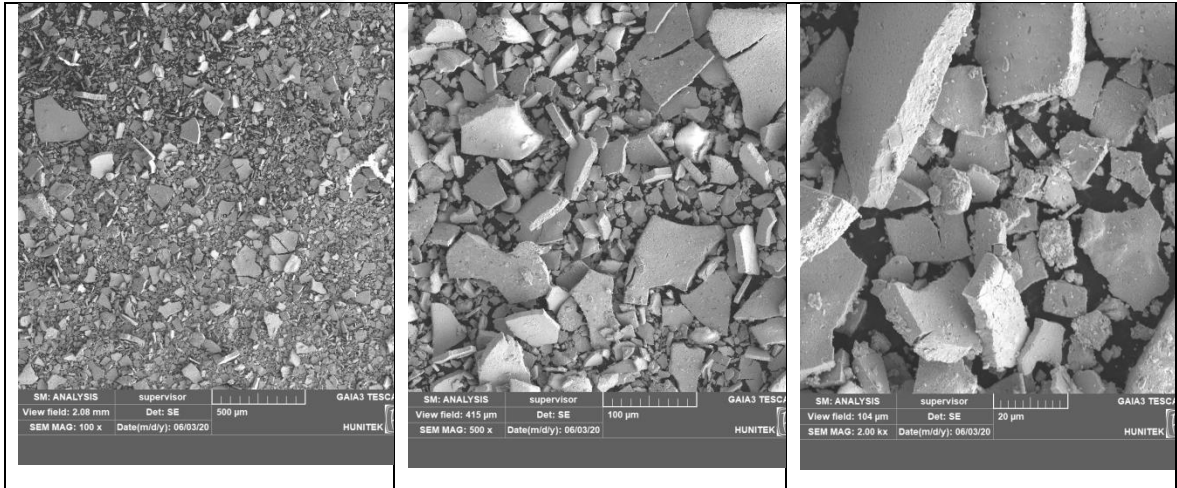
3.1.5. Taramalı elektron mikroskobu analiz sonuçları

Kurutulmuş çiriş ve kenger bitki ekstraktından elde edilen hem AgNP'lerin ve hem de AuNP'lerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 3.9-3.12'de verilmiştir. Her bir NP'e ait 3 farklı aralıklarda SEM görüntüleri alınmıştır. Elde edilmiş NP'ler TEM, DLS, Zeta Potansiyel analizleri yapıldıktan sonra SEM, XRD ve FT-IR analizlerin yapılması için sıvı formadaki partiküller kurutularak toz formuna getirilmiştir.

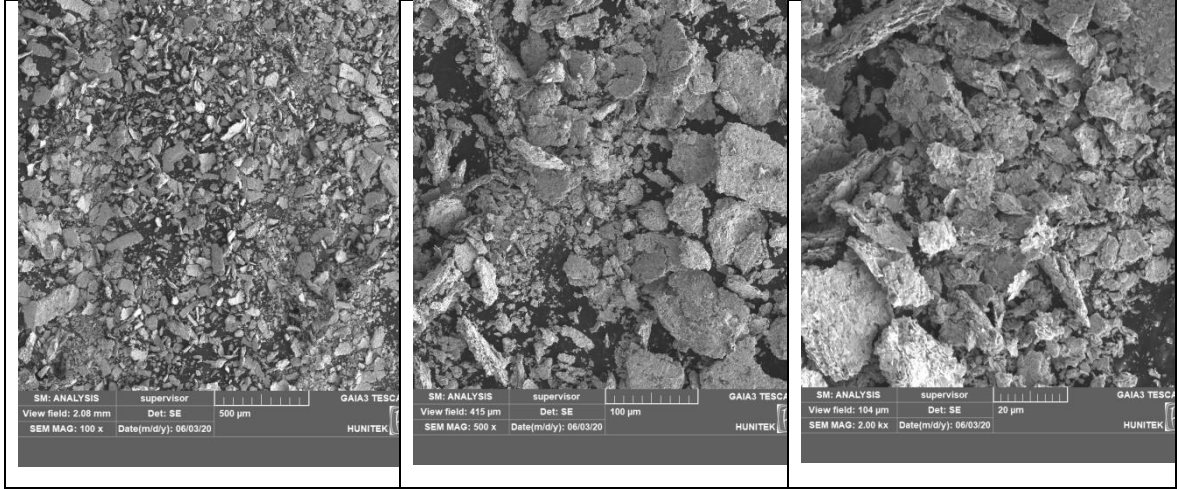
Genellikle toz haline getirilen metal bazlı nano boyuttaki partiküller kümeleşme (agrega) göstermeye meyillidirler (Ateş ve ark., 2013). Biyosentez yöntemi ile elde edilen hem AgNP'leri ve hem de AuNP'lerine ait farklı aralıklarda elde edilen SEM görüntülerinde açıkça kümeleşme görülmektedir.



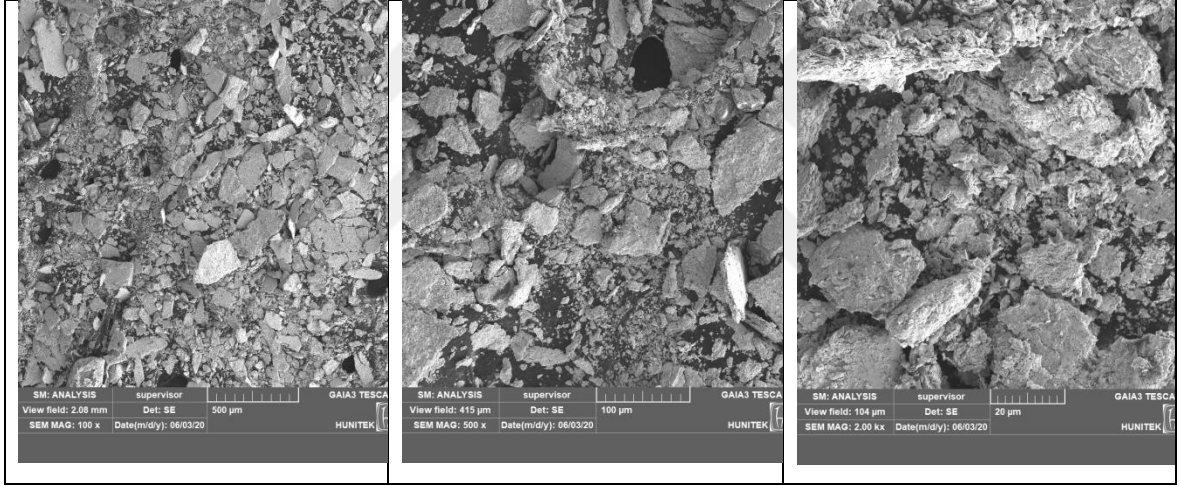
Şekil 3.9. Kurutulmuş çiriş bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin SEM görüntüsü



Şekil 3.10. Kurutulmuş Kenger bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin SEM görüntüsü



Şekil 3.11. Kurutulmuş çiriş bitki ekstraktından elde edilen AuNP'lerin SEM görüntüsü

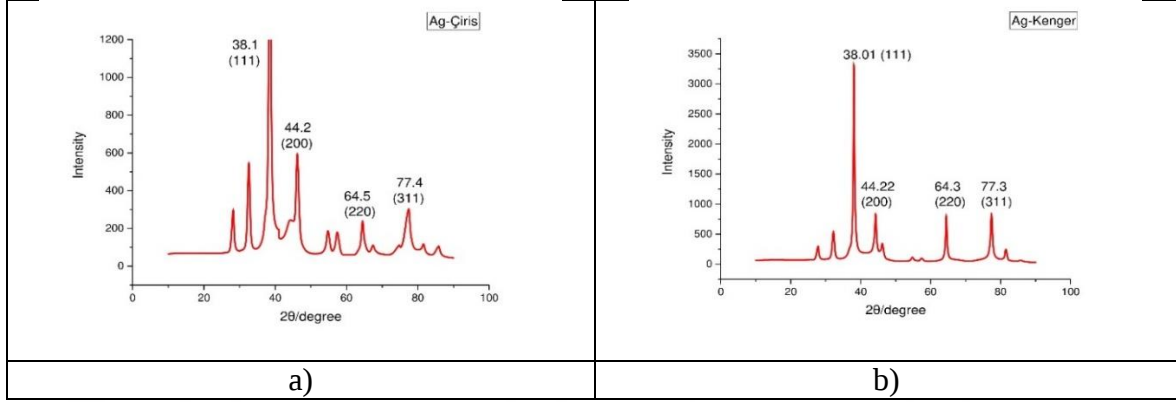


Şekil 3.12. Kurutulmuş Kenger bitki ekstraktından elde edilen AuNP'lerin SEM görüntüsü

3.1.6. X-ışını spektroskopisi analiz sonuçları

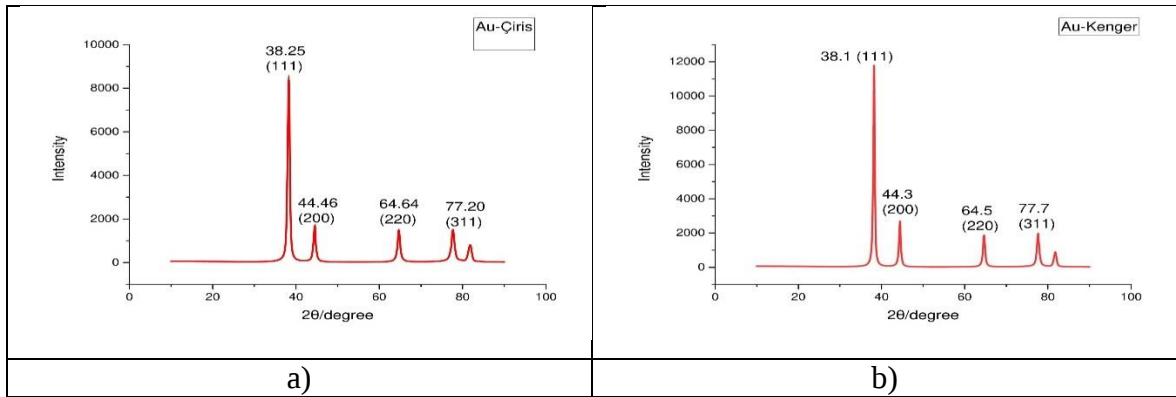
AgNP'in toz örneğinin X-ışını Kırınımı (XRD) deseni 38° , 44° , 64° ve 77° civarlarında pikler sergilemiştir. Gümüşün yüzey merkezli kübik (fcc) kristal yapılarının (111), (200), (220) ve (311) düzlemlerine karşılık gelen dört Bragg yansıması XRD'de görülmüştür (Şekil 3.13). (111) Oryantasyonu daha yoğun olduğu için daha baskındır (Baker ve ark., 2005). XRD desenleri, bu çalışmada oluşturulan AgNP'lerin kristalin yapıda olduğunu açıkça göstermiştir. Ana kristal faz gümüştür ve bazı organik safsızlıklar bulunduğu XRD desenlerinde başka piklerin varlığı da görülmüştür. Bu piklerin bitki

ekstraktındaki biyo-organik fazın kristalleşmesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Bharathi ve ark., 2018).



Şekil 3.13. a) Çiriş bitkisi ekstraktından elde edilen ve b) kenger bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin XRD grafikleri

Sentezlenmiş AuNP'lerin kristallliği X-ışını kırınımı (XRD) tekniği ile araştırıldı ve XRD desenleri Şekil 3.14. de gösterildi. Belirgin 4 pikin hepsi, yüzey merkezi kübik (fcc) kafesin standart Bragg yansımalarına (111), (200), (220) ve (311) karşılık gelmektedir. 38.1 ve 38.25 zirvesindeki yoğun kırınım, altının tercih edilen büyüme yönünün (111) yönünde olduğunu gösterir. Oluşan bu XRD desenleri Au nanokristallerinin tipik desenleridir (Krishnamurthy ve ark., 2014). Şekillerdeki piklerde görülen ufak kaymaların kristal yapıdaki bazı gerinimlere ait olduğu düşünülmektedir. Bu durum biyosentez ile sentezlenmiş nanokristalitler için karakteristiktir (Jannu ve ark., 2013; Namvar ve ark., 2014). Altın varlığında XRD sonuçları, UV-GB spektrumlarının ve TEM görüntülerinin doğrulanması için güçlü kanıtlardır (Soltani Nejad ve ark., 2015).

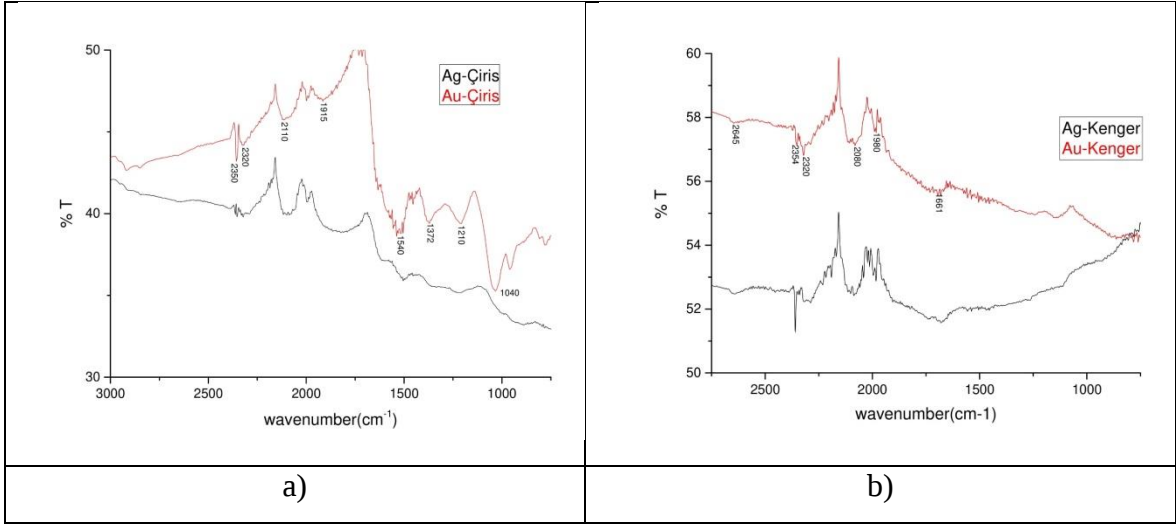


Şekil 3.14. a) Çiriş bitkisi ekstraktından elde edilen ve b) kenger bitki ekstraktından elde edilen AuNP'lerin XRD grafikleri

3.1.7. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi analizi sonuçları

Bitkilerle elde edilen AgNP'lerin fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) spektrumları bir dizi fonksiyonel grubun absorpsiyon piklerini içermekte ve bitkinin kompleks yapılarını yansıtmaktadır. Her iki IR grafiğinde aynı bitkiden (çiriş) kaynaklanan çok benzer pikler farklı şiddetlerde görülmektedir. 1040 ve 1210 cm^{-1} deki pikler alifatik aminlerin C-N gerilme titreşimlerine, 1540 cm^{-1} civarı pikler ise bitki özütlerindeki amidlere ait C-O gerilme titreşimlerine ait piklerdir. 1372 cm^{-1} deki pik aromatik aminlerin gerilme titreşimlerine, 2110 cm^{-1} deki pik C-C üçlü bağa ait gerilme titreşimlerine aittir. 1915 cm^{-1} deki pikin ise AgNP veya AuNP ile Çiriş'in içerdiği organik moleküllerin hidroksil grupları arasında oluşan bağlara ait olduğu düşünülmektedir (Shameli ve ark., 2012). Spektrumlarda gözlemlenen pikler, Çiriş özütlerinin flavonoid ve terpenoid içeriklerine ait piklerdir. Buradan hareketle bu biyomoleküllerin AgNP ve AuNP'in indirgenmesi ve stabilizasyonunda etkin oldukları çıkarımı yapılabilir. Vanaja ve ark., (2014), Bindhani ve Panigrahi (2015) ve Raut Rajesh ve ark., (2009) yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçları rapor etmişlerdir.

Bitkilerle elde edilen AgNP'lerin FT-IR spektrumları bir dizi fonksiyonel grubun absorpsiyon piklerini içermekte ve bitkinin kompleks yapısını yansıtmaktadır. Her iki IR grafiğinde aynı bitkiden (kenger) kaynaklanan çok benzer pikler farklı şiddetlerde görülmektedir. Spektrumlar incelendiğinde; 1661 ve 2080 cm^{-1} deki pikler proteinlerin amid bantlarına aittir ve sırasıyla, proteinlerin amid fonksiyonlu gruplarındaki karbonil gerilme ve N-H gerilme titreşimlerine ait piklerdir. 2320 ve 2354 cm^{-1} deki pikler N-H ve C-O fonksiyonel gruplarının gerilme titreşimlerine aittir. 2645 cm^{-1} deki pikler ekstrakttaki O-H gruplarının gerilme titreşimlerine aittir. 1980 cm^{-1} deki pikin ise AgNP veya AuNP ile kengerin içerdiği organik moleküllerin hidroksil grupları arasında oluşan bağlara ait olduğu düşünülmektedir (Abdel-Raouf ve ark., 2017).



Şekil 3.15. a) Çiriş bitkisi ekstraktından elde edilen ve b) kenger bitki ekstraktından elde edilen Ag ve AuNP'lerin FT-IR spektrumları

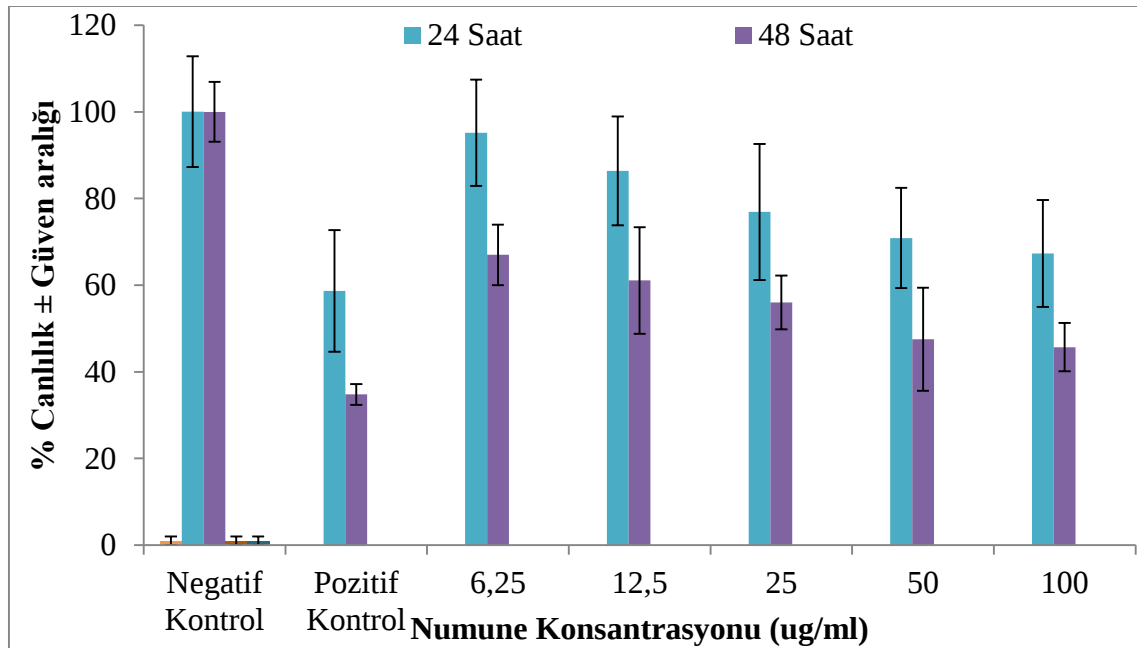
3.2. Hücre Kültürü Analiz Sonuçları

Sitotoksosite çalışmalarında güvenilir veriler elde etmek için özellikle MTT gibi yöntemler kullanılmaktadır. Çünkü bu testler özellikle ökaryotik hücre aktivitesinin çalışmasında kolorimetrik hücre canlılığı deneyleri için önemli yöntemler olup hücre çoğalması ve sitotoksosite analizlerinde yaygın olarak kullanılırlar. Bu tekniklerin temel dayanağı tetrazolyum tuzlarının kullanımını ile renk değişiminin ölçülmesini içeren deneylerdir. Bu kapsamda çalışmamızda; çiriş ve kenger bitkilerinden elde edilen Au ve AgNP'lerin *in-vitro* sitotoksiste çalışması, MTT testi kullanılarak HUVEC hücreleri üzerinde 24 ve 48 saat süre ile değerlendirildi. İlk olarak, HUVEC hücreleri, hem AuNP'leri ve hem de AgNP'ler doza bağımlı olarak (ug/ml) inkübe edildi. Her bir NP için sonuçlar % canlılık $\pm$ güven aralığı şeklinde değerlendirildi. Alınan sonuçlar yüzde (%) canlı hücre oranının konsantrasyona karşı verilen bilgiler tablo şeklinde verilmiştir (Şekil 3.16-3.19). Her iki bitki ekstraktından elde edilen Au ve AgNP'lerin HUVEC hücresi üzerine yüzde canlılık değerleri açısından hem süre ve hem de konsantrasyon artışına bağlı olarak canlılık değerleri azalmıştır.

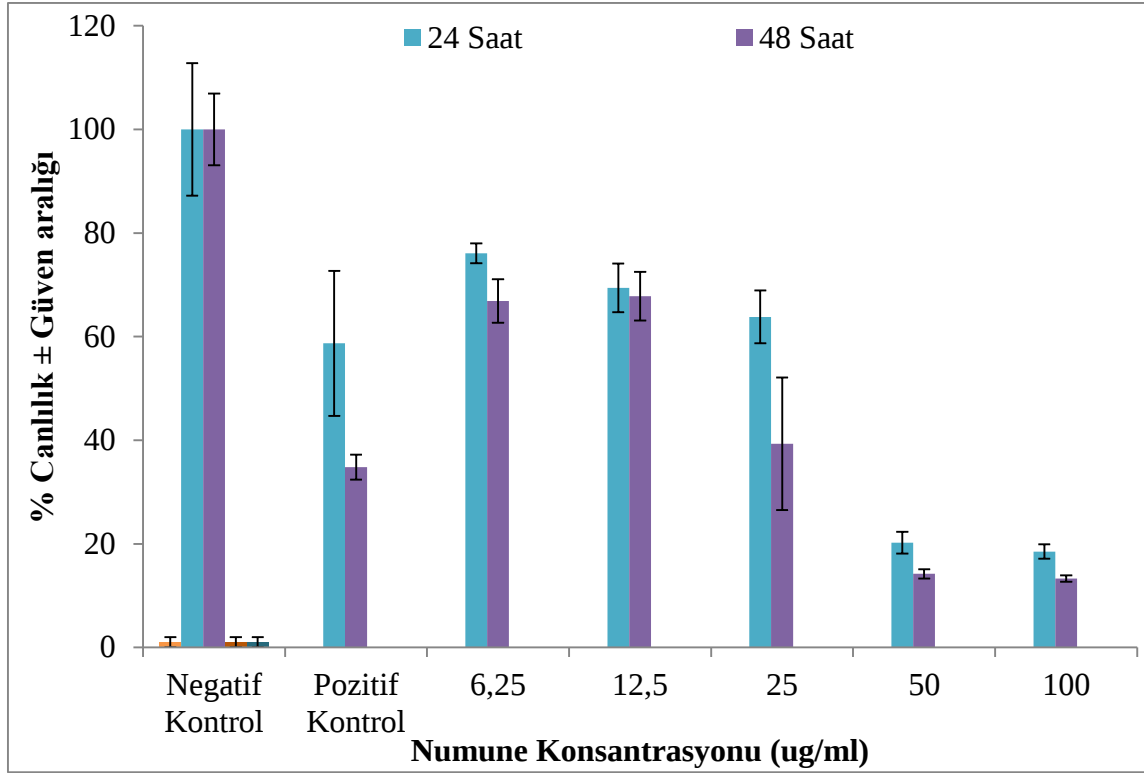
Uygulamanın yapıldığı tüm gruplarda canlı hücre yaşama oranları incelendiğinde, negatif kontrol grubunun değerleri, pozitif kontrol uygulama ve farklı doz uygulanan tüm araştırma grubunun yaşama oranlarına oranla daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Pozitif kontrol grubu hücre hattına tamamen toksik olan grup olma özelliğindedir. Ancak her iki

NP'e ait uygulama grupların en yüksek doz uygulanan grupları (100 ug/ml) pozitif kontrol grubuna göre daha az toksik etki göstermiştir. Tüm grafiklerde görüldüğü gibi konsantrasyon ve süre artışına paralel olarak HUVEC hücresi üzerine yüzde canlılık değerleri açısından az bir dalgalanma olmakla birlikte genellikle oransal bir azalma eğilimi göstermiştir. NP'lere bağlı sitotoksiste deneysel araştırma periyodunca, konsantrasyon artışı ve farklı uygulama süreleri arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Çiriş bitki ekstraktından elde edilen hem AuNP'lerin ve hemde AgNP'lerin HUVEC hücreleri üzerine yüzde canlılık değerleri açısından incelendiğinde; 6,25; 12,5; 25; 50 ve 100 ug/ml'lik konsantrasyon uygulanan gruplar ile pozitif ve negatif kontrole göre hücre canlılığını anlamlı oranda ve doza bağlı olarak azaltarak sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. AgNP'lerin HUVEC hücreleri üzerinde uygulanan 6,25; 12,5; 25; 50 ve 100 ug/ml'lik konsantrasyonların 24 saatlik uygulamasında; %95,19; %86,37; %76,89; %70,89 ve %67,33 canlılık değerleri bulunurken, 48 saatlik uygulamasında ise %67,0; %61,1; %56,0; %47,5 ve %45,7 oranında canlılık değerleri olarak bulunmuştur. AuNP'lerin HUVEC hücreleri üzerinde uygulanan 6,25; 12,5; 25; 50 ve 100 ug/ml'lik konsantrasyonların 24 saatlik uygulamasında ise; %76,1; %69,4; %63,8; %20,2 ve %18,5 canlılık değerleri bulunurken, 48 saatlik uygulamasında %66,9; %67,8; %39,3; %14,2 ve %13,3 oranında canlılık değerleri olarak bulunmuştur (Şekil 3.16-3.17).

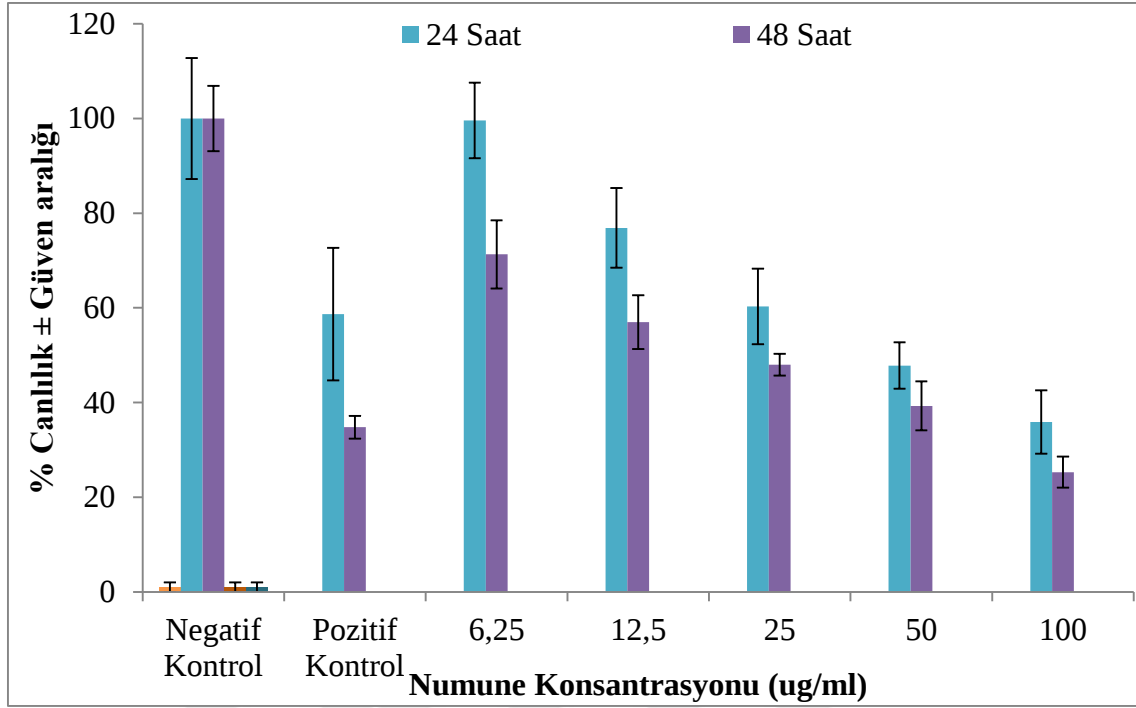


Şekil 3.16. Çiriş bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin HUVEC hücreleri üzerine yüzde canlılık değerleri [(% canlılık ± güven aralığı (%95, mutlak))].

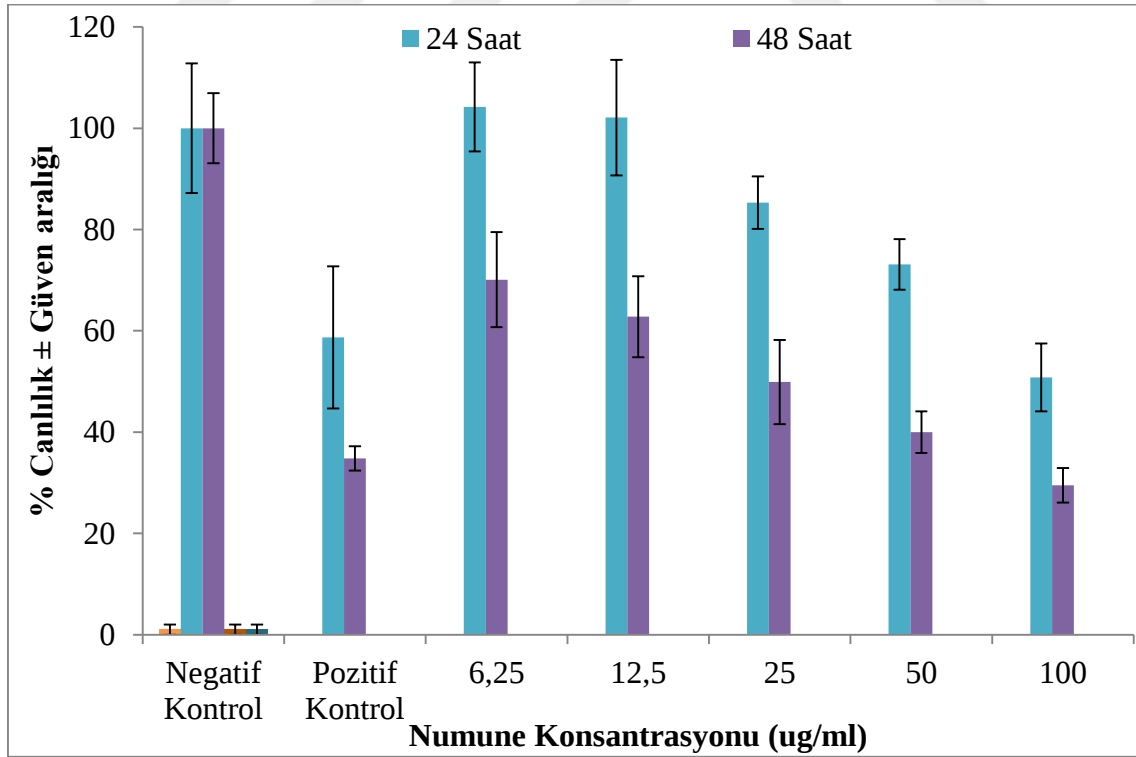


Şekil 3.17. Çiriş bitki ekstraktından elde edilen AuNP'lerin HUVEC hücreleri üzerine yüzde canlılık değerleri [(% canlılık ± güven aralığı (%95, mutlak))].

Kenger bitki ekstraktından elde edilen hem AuNP'lerin ve hemde AgNP'lerin HUVEC hücreleri üzerine yüzde canlılık değerleri açısından incelendiğinde; 6,25; 12,5; 25; 50 ve 100 ug/ml'lik konsantrasyon uygulanan gruplar ile pozitif ve negatif kontrole göre hücre canlılığını anlamlı oranda ve doza bağlı olarak azaltarak sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. AgNP'lerin HUVEC hücreleri üzerinde uygulanan 6,25; 12,5; 25; 50 ve 100 ug/ml'lik konsantrasyonların 24 saatlik uygulamasında; %99,6; %76,9; %60,3; %47,8 ve %35,9 canlılık değerleri bulunurken, 48 saatlik uygulamasında ise %71,3; %57,0; %48,0; %39,3 ve %25,3 oranında canlılık değerleri olarak bulunmuştur. AuNP'lerin HUVEC hücreleri üzerinde uygulanan 6,25; 12,5; 25; 50 ve 100 ug/ml'lik konsantrasyonların 24 saatlik uygulamasında ise; %104,2; %102,1; %85,3; %73,1 ve %50,8 canlılık değerleri bulunurken, 48 saatlik uygulamasında %70,1; %62,8; %49,9; %40,0 ve %29,5 oranında canlılık değerleri olarak bulunmuştur (Şekil 3.18-3.19).



Şekil 3.18. Kenger bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin HUVEC hücreleri üzerine yüzde canlılık değerleri [(% canlılık ± güven aralığı (%95, mutlak))].



Şekil 3.19. Kenger bitki ekstraktından elde edilen AuNP'lerin HUVEC hücreleri üzerine yüzde canlılık değerleri [(% canlılık ± güven aralığı (%95, mutlak))].

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Biyosentez yöntemiyle nano boyuttaki metal partiküllerin elde edilmesi günümüzde ayrı bir önem arz etmekle birlikte, toksik oranlarının düşük ve çevre dostu olarak bilinen partiküllerin araştırılması son yıllarda en popüler araştırma konuların başında gelmektedir. Bu kapsamda tez çalışmamızda biyosentez için özellikle hem indirgeyici hem de stabilize edici ajan olarak davranan çiriş ve kenger bitkilerinin kuru haldeki tüm bölümlerinden oluşturulan bitki ekstraktları kullanılarak biyosentez yöntemi ile AgNP'leri ve AuNP'leri başarılı bir şekilde sentezlenmiştir. Elde edilen her iki NP'lerin toksik etkilerinin belirlenmesi için HUVEC kullanılarak sitotoksiste testleri yapılmıştır. Au ve AgNP'lerin nanotoksiste araştırılması yapılan tez çalışması birkaç bölümden oluşmaktadır. Tez deneysel araştırma basamakları biyosentez, karakterizasyon ve nanotoksiste analizleri şeklindedir. Au ve AgNP biyosentezi için UV-GB sonuçları değerlendirilerek istenilen boyutta partikülleri elde etmek için optimum koşullar ayarlanmıştır. Ayrıca pH değeri NP'lerin oluşumu üzerindeki en önemli faktörlerden biridir. Bu kapsamda deneyde kullanılan bitkilerin kendi pH değerlerinde NP oluşumunu değerlendirmek için pH'da herhangi bir değişiklik yapılmamıştır. Biyosentez işlemi başarılı bir şekilde tamamlandıktan sonra, elde edilen sıvı formdaki NP'lerin karakterizasyon analizlerinden boyut, şekil, stabiliteleri ve yüzey yükü sonuçları için TEM, DLS, UV-GB ve Zeta potansiyel analizleri yürütülmüştür. Aynı NP'lerin kristal yapıların belirlenmesi için ise XRD ve FT-IR yöntemleriyle karakterize edilmiştir.

AgNP'lerin UV pikleri kararlı ve güçlü sinyaller olmasından, bitki komponentleri ile oluşan AgNP'lerin kararlı oldukları söylenebilir. 415 nm'de λ_{max} değerine sahip çiriş AgNP'in ortalama 5-25 nm boyuta sahip oldukları, 425 nm'de λ_{max} değerine sahip kenger AgNP'in ise ortalama 10-30 nm boyutlara sahip oldukları literatüre bakılarak söylenebilir. Sentezlediğimiz çiriş AuNP'leri ve kenger AuNP'lerin UV-GB spektrumları ise sırasıyla 575 ve 560 nm dalgaboylarında λ_{max} değerlerine sahiptirler.

Çiriş bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin PDI değeri 0,336 ve kenger bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin PDI değeri ise 0,437 elde edilmiştir. Ayrıca çiriş bitki ekstraktından elde edilen AuNP'lerin PDI değerleri ise 0,386 ve kenger bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin PDI değeri de 0,365 olarak elde edilmiştir. Bu kapsamda elde edilen veriler değerlendirildiğinde biyosentez yöntemi ile elde ettiğimiz her iki NP'leri PDI değerleri 0,25 ve 0,5 arasında olduğundan dolayı dar ve geniş dağılım aralığındadır.

DLS açısından, çiriş bitkisinden elde edilen AgNP'lerin % 2 oranında 50 nm aralığında ve %98 oranında ise 6-10 nm arasındadır. Kenger bitki ekstraktından elde edilen AgNP'leri ise %1 oranında 45 nm ve %99 oranında ise 3-10 nm aralığında elde edilmiştir. Çiriş bitkisinden elde edilen AuNP'leri ise % 3 oranında 132 nm aralığında ve %97 oranında 6-15 nm arasında elde edilmiştir. Kenger bitki ekstraktından elde edilen AuNP'leri ise %6 oranında 87 nm ve %94 oranında ise 8-20 nm aralığındadır.

Zeta potansiyel verileri açısından çiriş bitkisinden elde edilen AgNP'leri -21,3 mV ve kenger bitkisinden elde edilen AgNP'lerin ise -21,1 mV olarak elde edilmiştir. Çiriş bitkisinden elde edilen AuNP'leri -24,1 mV ve kenger bitkisinden elde edilen AuNP'lerin ise -23,6 mV olarak elde edilmiştir. Biyosentez yöntemi ile elde edilen AgNP'leri ve AuNP'leri negatif yüklere sahip olup ve orta düzeyde kararlıdır.

Çiriş bitki ekstraktından elde edilen AgNP'lerin boyut dağılımları bakımından incelendiğinde ise AgNP'leri küresel şekilde ve boyutları sırasıyla 20-40 nm aralığında homojen bir dağılım göstermiştir. Kenger bitkisi ekstraktından elde edilen AgNP'lerin boyutu 20-50 nm aralığında bulunmuştur. Kurutulmuş çiriş bitki ekstraktından elde edilen AuNP'lerin boyut dağılımları bakımından incelendiğinde ise bu NP'leri küresel şekilde ve boyut aralıkları sırasıyla 5-15 nm aralığında homojen bir dağılım göstermiştir. Kenger bitkisi ekstraktından elde edilen AgNP'lerin boyutu 10-30 nm aralığında bulunmuştur.

Biyosentez yöntemi ile elde edilen hem AgNP'leri ve hem de AuNP'lerine ait farklı aralıklarda elde edilen SEM görüntülerinde açıkça kümeleşme görülmektedir. AgNP'lerin toz örneğinin XRD deseni 38 °, 44 °, 64 ° ve 77 ° civarlarında pikler sergilemiştir. Gümüşün yüzey merkezli kübik (fcc) kristal yapılarının (111), (200), (220) ve (311) düzlemlerine karşılık gelen dört Bragg yansıması XRD'de görülmüştür. AuNP'lerin ise kristallliği XRD sonuçları ise belirgin 4 pikin hepsi, yüzey merkezi kübik (fcc) kafesin standart Bragg yansımalarına (111), (200), (220) ve (311) karşılık gelmektedir. 38.1 ve 38.25 zirvesindeki yoğun kırınım, altının tercih edilen büyüme yönünün (111) yönünde olduğunu gösterir. XRD desenleri, bu çalışmada oluşturulan AgNP'lerin kristalin yapıda olduğunu açıkça göstermiştir. Ana kristal faz gümüştür ve bazı organik safsızlıklar bulunduğu XRD desenlerinde başka piklerin varlığı da görülmüştür. AuNP'lerine ait şekillerdeki pikler ise görülen ufak kaymaların kristal yapıdaki bazı gerinimlere ait olduğu düşünülmektedir.

Her iki IR grafiğinde aynı bitkiden (çiriş) kaynaklanan çok benzer pikler farklı şiddetlerde görülmektedir. 1040 ve 1210 cm⁻¹ deki pikler alifatik aminlerin C-N gerilme titreşimlerine, 1540 cm⁻¹ civarı pikler ise bitki özütlerindeki amidlere ait C-O gerilme

titreşimlerine ait piklerdir. 1372 cm^{-1} deki pik aromatik aminlerin gerilme titreşimlerine, 2110 cm^{-1} deki pik C-C üçlü bağa ait gerilme titreşimlerine aittir. 1915 cm^{-1} deki pikin ise AgNP veya AuNP ile Çiriş'in içerdiği organik moleküllerin hidroksil grupları arasında oluşan bağlara ait olduğu düşünülmektedir (Shameli ve ark., 2012). Spektrumlarda gözlemlenen pikler, çiriş özütlerinin flavonoid ve terpenoid içeriklerine ait piklerdir. Buradan hareketle bu biyomoleküllerin AgNP ve AuNP'in indirgenmesi ve stabilizasyonunda etkin oldukları çıkarımı yapılabilir.

Her iki IR grafiğinde aynı bitkiden (kenger) kaynaklanan çok benzer pikler farklı şiddetlerde görülmektedir. Spektrumlar incelendiğinde; 1661 ve 2080 cm^{-1} deki pikler proteinlerin amid bantlarına aittir ve sırasıyla, proteinlerin amid fonksiyonlu gruplarındaki karbonil gerilme ve N-H gerilme titreşimlerine ait piklerdir. 2320 ve 2354 cm^{-1} deki pikler N-H ve C-O fonksiyonel gruplarının gerilme titreşimlerine aittir. 2645 cm^{-1} deki pikler ekstrakttaki O-H gruplarının gerilme titreşimlerine aittir. 1980 cm^{-1} deki pikin ise AgNP veya AuNP ile kengerin içerdiği organik moleküllerin hidroksil grupları arasında oluşan bağlara ait olduğu düşünülmektedir.

Sitotoksiste analizi için her iki bitki ekstraktından elde edilen Au ve AgNP'lerin HUVEC hücresi üzerine yüzde canlılık değerleri açısından hem süre ve hem de konsantrasyon artışına bağlı olarak canlılık değerleri azalmıştır. Ayrıca hem AuNP'lerin ve hemde AgNP'lerin HUVEC hücreleri üzerine yüzde canlılık değerleri açısından incelendiğinde; tüm uygulama dozları olan 6,25; 12,5; 25; 50 ve 100 $\mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyon uygulanan gruplar ile pozitif ve negatif kontrole göre hücre canlılığını anlamlı oranda ve doza bağlı olarak azaltarak sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir.

Sonuç olarak, bu araştırma ile çiriş ve kenger bitki ekstraktından elde edilen Au ve AgNP'lerin sahip oldukları dar boyut dağılımı, yüksek stabilite ve kristal yapılarındaki kirliliğin az olması gibi nedenlerden ötürü diğer bitkilere kıyasla metal bazlı Au ve AgNP'lerinin yeşil sentezi için daha uygun olduğu görülmüştür. Bulgular çerçevesinde tüm metal bazlı nano boyuttaki malzemelerde oldukları gibi biyosentez yöntemi ile elde edilen nano boyuttaki Au ve Ag partiküllere bağlı hücre kültürü üzerinde az oranda olsa bile toksik etki oluşturdıkları görülmektedir. Bu bağlamda sağlık alanı başta olmak üzere, kullanılması düşünülen metal bazlı nano boyuttaki partiküllerin (örneğin Au ve Ag) toksik etkilerini azaltmak için, doğal kaplayıcıların kullanılabilinileceğini göstermektedir.

5. KAYNAKLAR

- Abdel-Raouf, N., Al-Enazi N.M., Ibraheem I.B.M.,** 2017. Green biosynthesis of gold nanoparticles using *Galaxaura elongata* and characterization of their antibacterial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 10:3029-3039.
- Ahmed, K.B.R., Nagy, A.M., Brown, R.P., Zhang, Q., Malghan, S.G., Goering, P.L.,** 2016. Silver nanoparticles: Significance of physicochemical properties and assay interference on the interpretation of in vitro cytotoxicity studies. *Toxicology in Vitro*, 38:179–192.
- Aromal, S.A., Philip, D.,** 2012. Green synthesis of gold nanoparticles using *Trigonella foenum-graecum* and its size-dependent catalytic activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 97:1-5.
- Ates, M., Daniels, J., Arslan, Z., Farah, I.O.,** 2013. Effects of aqueous suspensions of titanium dioxide nanoparticles on *Artemia salina*: assessment of nanoparticle aggregation, accumulation, and toxicity. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(4):3339-48.
- Ateş, M.,** 2018. Nanopartiküllerin ölçme ve inceleme teknikleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 11(1):63-69.
- Baytop, T.,** 1999. Türkiye'de bitkiler ile tedavi, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 72s.
- Bharathi, D., Josebin, M.D., Vasantharaj, S., Bhuvaneshwari, V.,** 2018. Biosynthesis of silver nanoparticles using stem bark extracts of *Diospyros montana* and their antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 8(1):83-92.
- Bindhani, B.K., Panigrahi, A.K.,** 2015. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles (SNPs) by using leaf extracts of *Ocimum sanctum* L (Tulsi) and study of its antibacterial activities. *Journal of Nanomedicine Nanotechnology*, (S6):1-10.
- Brar, S.K., Verma, M.,** 2011. Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(1):4-17.
- Büyüksırt, T., Kuleaşan, H.,** 2015. Fourier dönüşümlü kızılötesi (ftır) spektroskopisi ve gıda analizlerinde kullanımı. *Gıda*, 39(4):235-241.
- Cheng, F., Betts, J.W., Kelly, S.M., Hector, A.L.,** 2015. Green synthesis of highly concentrated aqueous colloidal solutions of large starch-stabilised silver nanoplatelets. *Materials Science and Engineering: C*, 46:530-537.
- Christensen, L., Vivekanandhan, S., Misra, M., Mohanty, A.K.,** 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Murraya koenigii* (curry leaf): an investigation on the effect of broth concentration in reduction mechanism and particle size. *Advanced Materials Letters*, 2(6):429-434.

- Clogston, J.D., Patri, A.K., 2011.** Zeta potential measurement. In *Characterization of nanoparticles intended for drug delivery*, Humana Press. (pp. 63-70).
- Çoruh, N., Sağdıçoğlu Celep, A.G., Özgökçe, F., İşcan, M., 2007.** Antioxidant capacities of *Gundelia tournefortii* L, extracts and inhibition on glutathione-S-transferase activity. *Food Chemistry*, 100:1249-1253.
- Dudkiewicz, A., Tiede, K., Loeschner, K., Jensen, L.H.S., Jensen, E., Wierzbicki, R. Molhave, K., 2011.** Characterization of nanomaterials in food by electron microscopy. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(1):28-43.
- Erjaee, H., Rajaian, H., Nazifi, S., 2017.** Synthesis and characterization of novel silver nanoparticles using *Chamaemelum nobile* extract for antibacterial application. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 8(2):025004.
- Fedotov, P.S., Vanifatova, N.G., Shkinev, V.M. Spivakov, B.Y., 2011.** Fractionation and characterization of nano- and microparticles in liquid media. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400(6):1787-1804.
- Fissan, H., Ristig, S., Kaminski, H., Asbach, C. Epple, M., 2014.** Comparison of different characterization methods for nanoparticle dispersions before and after aerosolization. *Analytical Methods*, 6(18):7324-7334.
- Gopinath, V., Mubarak Ali, D., Priyadarshini, S., Priyadharsshini, N.M., Thajuddin, N., Velusamy, P., 2012.** Biosynthesis of silver nanoparticles from *Tribulus terrestris* and its antimicrobial activity: A novel biological approach, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 96:69-74.
- Gurunathan, S., Han, J.W., Kim, E.S., Park, J.H. Kim, J.H., 2015.** Reduction of graphene oxide by resveratrol: A novel and simple biological method for the synthesis of an effective anticancer nanotherapeutic molecule. *International Journal of Nanomedicine*, 10:2951.
- Hall, J.B., Dobrovolskaia, M.A., Patri, A.K. McNeil, S.E., 2007.** Characterization of nanoparticles for therapeutics. *Nanomedicine*, 2(6):789-803.
- Haverkamp, R.G., Marshall, A.T. Van, Agterveld. D., 2007.** Pick your carats: nanoparticles of gold-silver-copper alloy produced in-vivo, *Journal of Nanoparticle Research*, 9(4):697-700.
- Huang, J., Li, Q., Sun, D., Lu, Y., Su, Y., Yang, X., Hong, J., 2007.** Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf. *Nanotechnology*, 18(10):105104.
- Iravani, S., Korbekandi H., Mirmohammadi S.V., Zolfaghari B., 2014.** Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 9(6):385–406.

- Jain, P.K., Lee, K.S., El-Sayed, I.H., El-Sayed, MA.,** 2006. Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: applications in biological imaging and biomedicine. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110:238–7248.
- Jannu, V.G., Thenmozhi, M., Kannabiran, K., Rajakumar, G., Velayutham, K., Rahuman, A.A.,** 2016. Actinobacteria mediated synthesis of gold nanoparticles using *Streptomyces* sp. VITDDK3 and its antifungal activity. *Materials Letters*; 93:360–362.
- Jyoti, K., Baunthiyal, M. Singh, A.,** 2016. Characterization of silver nanoparticles synthesized using *Urtica dioica* Linn. leaves and their synergistic effects with antibiotics. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(3):217-227.
- Khlebtsov, N., Dykman, L.,** 2011. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of in vitro and in vivo studies. *Chemical Society Reviews*, 40:1647-1671.
- Kılıç, G.B. Karahan, A.G.,** 2010. Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ve laktik asit bakterilerinin tanısında kullanılması. *Gıda/The Journal of Food*, 35(6):445-452.
- Kim, H.R., Kim, M.J., Lee, S.Y., Oh, S.M. Chung, K.H.,** 2011. Genotoxic effects of silver nanoparticles stimulated by oxidative stress in human normal bronchial epithelial (BEAS-2B) cells. *Mutation Research*, 726:129–135.
- Krishnamurthy, S., Esterle, A., Sharma, N.C.,** 2013. Yucca-derived synthesis of gold nanomaterial and their catalytic potential. *Nanoscale Research Letters*, 9, 627. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-9-627>.
- Kummara, S., Patil, M.B., Uriah, T.,** 2016. Synthesis, characterization, biocompatible and anticancer activity of green and chemically synthesized silver nanoparticles - A comparative study. *Biomedicine, Pharmacotherapy*, 84:10-21.
- Kuppusamy, U.R., Arumugam, B., Azaman, N., Wai, C.J.,** 2014. *Leucaena leucocephala* fruit aqueous extract stimulates adipogenesis, lipolysis, and glucose uptake in primary rat adipocytes. *Scientific World Journal*, 8:10-14
- Lin, P.C., Lin, S., Wang, P.C. Sridhar, R.,** 2014. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnology advances*, 32(4):711-726.
- Marambio-Jones, C.M. Hoek, E.M.V.,** 2010. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *The Journal of Nanoparticle Research*, 12:1531-1551.
- Mossman, T.,** 1983. Rapid colometric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65:55-63.

- Mukherjee, P., Bhattacharya, R., Bone, N., Lee, Y.K., Patra, C.R., Wang, S., Lu, L., Secreto, C., Banerjee, P.C., Yaszemski, M.J., Kay, N.E., Mukhopadhyay D. J.,** 2007. Potential therapeutic application of gold nanoparticles in b-chronic lymphocytic leukemia (bcll): Enhancing apoptosis. *Journal of Nanobiotechnology*, 5:4-10.
- Mukherjee, S., Chowdhury, D., Kotcherlakota, R., Sujata, P.B.V., Bhadra, M.P., Bojja S., Patra C.R.,** 2014. Potential theranostics application of bio-synthesized silver nanoparticles (4-in-1 system). *Theranostics*, Vol. 4, Issue 3.
- Murdock, R.C., Braydich-Stolle, L., Schrand, A. M., Schlager, J.J. Hussain, S. M.,** 2008. Characterization of nanomaterial dispersion in solution prior to in vitro exposure using dynamic light scattering technique. *Toxicological sciences*, 101(2):239-253.
- Namvar, F., Azizi, S., Mansour, B.A., Shameli, K., Rosfarizan Mahdavi, M., Paridah M.T.,** 2014. Green synthesis and characterization of gold nanoparticles using the marine macroalgae *Sargassum muticum*. *Research on Chemical Intermediates*, 41:5723–5730.
- Nowack, B., Krug, H.F. Height, M.,** 2011. 120 years of nanosilver history: implications for policy makers. *Environmental Science & Technology*, 45:1177-1183.
- Paramelle, D., Sadovoy, A, Gorelik, S., Free, P., Hobley, J., Fernig, D.G.,** 2014. A rapid method to estimate the concentration of citrate capped silver nanoparticles from UV-Visible light spectra. *Analyst*, 139:4855-4861.
- Qian, H., Peng, X., Han, X., Ren, J., Sun, L. Fu, Z.,** 2013. Comparison of the toxicity of silver nanoparticles and silver ions on the growth of terrestrial plant model *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Environmental Sciences*, 25(9):1947–1955.
- Raja, S., Ramesh, V., Thivaharan, V.,** 2017. Green biosynthesis of silver nanoparticles using *Calliandra haematocephala* leaf extract, their antibacterial activity and hydrogen peroxide sensing capability. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(2):253-261.
- Rajan, R., Chandran, K., Harper, S. L., Yun, S. I. Kalaichelvan, P. T.,** 2015. Plant extract synthesized silver nanoparticles: an ongoing source of novel biocompatible materials. *Industrial Crops and Products*, 70:356-373.
- Rao, B., Tang, R. C.,** 2017. Green synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activities using aqueous *Eriobotrya japonica* leaf extract. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 8(1):015014.
- Rasheed, T., Bilal, M., Iqbal, H. M., Li, C.,** 2017. Green biosynthesis of silver nanoparticles using leaves extract of *Artemisia vulgaris* and their potential biomedical applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 158:408-415.

- Raut Rajesh, W., Lakkakula Jaya, R., Kolekar Niranjana, S., Mendhulkar Vijay, D., Kashid Sahebrao, B.,** 2009. Phytosynthesis of silver nanoparticle using *Gliricidia sepium* (Jacq.). *Current Nanoscience*, 5(1):117-122.
- Riss, T.L., Moravec, R.A., O'brien, M.A., Hawkins, E.M., Niles, A.,** 2006. Homogeneous multiwell assays for measuring cell viability, cytotoxicity, and apoptosis. In *Handbook of Assay Development in Drug Discovery*, Ed: Minor LK, CRC Press, Florida, USA.
- Salem, S.S., Fouda A.,** 2020. Green synthesis of metallic nanoparticles and their prospective biotechnological applications: an overview. *Biological Trace Element Research*. doi.org/10.1007/s12011-020-02138-3.
- Sapsford, K. E., Tyner, K. M., Dair, B. J., Deschamps, J. R. Medintz, I.L.,** 2011. Analyzing nanomaterial bioconjugates: a review of current and emerging purification and characterization techniques. *Analytical Chemistry*, 83(12):4453-4488.
- Sastry, M., Patil, V. Sainkar, S. R.,** 1998., Electrostatically controlled diffusion of carboxylic acid derivatized silver colloidal particles in thermally evaporated fatty amine films. *The Journal of Physical Chemistry B*, 102(8):1404-1410.
- Sau, T.K., Rogach, A.L., Jaekel, F., Klar, T.A., Feldmann, J.,** 2011. Properties and applications of colloidal nonspherical noble metal nanoparticles. *Advanced Materials*, 22:1805–1825.
- Shahverdi, A.R., Fakhimi, A., Shahverdi, H.R., Minaian, S.,** 2007. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine Journal*, 3:168-171.
- Shameli, K., Ahmad, M., Zamanian, A., Sangpour, P., Parvaneh Shabanzadeh, P., Abdollahi, Y., Mohsen, Z.,** 2012. Green biosynthesis of silver nanoparticles using *Curcuma longa* tuber powder. *The International Journal of Nanomedicine*, 7:5603-5610.
- Shankar, D., Shobana, S., Karuppusamy, I., Pugazhendhi, A., Vijayan, R., Sundaram, A., Gopalakrishnan, K.,** 2016. A review on the biosynthesis of metallic nanoparticles (gold and silver) using bio-components of microalgae: Formation mechanism and applications. *Enzyme and Microbial Technology*, 95:28-44.
- Sharma, R. K., Tahiliani, S., Jain, N., Priyadarshi, R., Chhangani, S., Purohit, S. D., Joshi, P.,** 2013. Cynodon dactylon leaf extract assisted green synthesis of silver nanoparticles and their anti-microbial activity. *Advanced Science, Engineering and Medicine*, 5(8):858-863.
- Simonet, B. M. Valcárcel, M.,** 2009. Monitoring nanoparticles in the environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393(1):17-18.

- Singh, J., Kaur, G., Kaur, P., Bajaj, R. Rawat, M.,** 2016. A review on green synthesis and characterization of silver nanoparticles and their applications: a green nanoworld. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7:730-762.
- Singh, P., Pandit, S., Garnæs, J., Tunjic, S., Mokkapati, V. R., Sultan, A., Baun, A.,** 2018. Green synthesis of gold and silver nanoparticles from *Cannabis sativa* (industrial hemp) and their capacity for biofilm inhibition. *International Journal of Nanomedicine*, 13:3571.
- Singh, S., Bharti, A. Meena, V.K.,** 2014. Structural, thermal, zeta potential and electrical properties of disaccharide reduced silver nanoparticles. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 25(9):3747-3752.
- Soltani, Nejad., M., Shahidi, Bonjar, G., Khaleghi, N.,** 2015. Biosynthesis of gold nanoparticles using streptomyces fulvissimus isolate U. *Nanomedicine Journal*, 2(2):153-159.
- Sun, X., Shi, J., Zou, X., Wang, C., Yang, Y., Zhang, H.,** 2016. Silver nanoparticles interact with the cell membrane and increase endothelial permeability by promoting VE-cadherin internalization. *Journal of Hazardous Materials*, 317:570-578.
- Tabibian, M., Nasri, S., Kerishchi, P., Amin, G.,** 2013. the effect of *Gundelia tournefortii* hydro-alcoholic extract on sperm motility and testosterone serum concentration in mice. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 15(8):18-21.
- Theivasanthi, T. Alagar, M.,** 2012. Electrolytic synthesis and characterizations of silver nanopowder. *Nano Biomedicine and Engineering*, 4:58-65.
- Thombre, R., Chitnis, A., Kadam, V., Bogawat, Y., Colaco, R., Kale, A.,** 2014. A facile method for synthesis of biostabilized silver nanoparticles using *Eichhornia crassipes* water hyacinth (Mart.) Solms (water hyacinth). *Indian Journal of Biotechnology*, 13:337-341.
- Tiede, K., Boxall, A. B., Tear, S. P., Lewis, J., David, H. Hassellöv, M.,** 2008. Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment. *Food Additives and Contaminants*, 25(7):795-821.
- Tomaszewska, E., Soliwoda, K., Kadziola, K., Tkacz-Szczesna, B., Celichowski, G., Cichomski, M. Grobelny, J.,** 2013. Detection limits of DLS and UV-Vis spectroscopy in characterization of polydisperse nanoparticles colloids. *Journal of Nanomaterials*, 1:60.
- Ugulu, I., Baslar. S., Yorek, N., Dogan, Y.,** 2009. The investigation and quantitative ethnobotanical evaluation of medicinal plants used around Izmir province, Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(5):345-367.
- Vanaja, M., Paulkumar, K., Baburaja, M., Rajeshkumar, S., Gnanajobitha, G., Malarkodi, C., Annadurai, G.,** 2014. Degradation of methylene blue using biologically synthesized silver nanoparticles. *Bioinorganic chemistry and applications*. Article ID 742346, doi:/10.1155/2014/742346.

- Verma, S.K., Prabhat, K.C., Goyal, L., Rani Manita., Jain, A.,** 2010. A critical review of the implication of nanotechnology in modern dental practice. *National Journal of Maxillofacial Surgery*, 1:1-13.
- Waseda, Y., Matsubara, E. Shinoda, K.,** 2011. X-ray diffraction crystallography: introduction, examples and solved problems. Springer Science Business Media.
- Williams, D. B. Carter, C. B.,** 1996. The transmission electron microscope. in transmission electron microscopy (pp. 3-17). Springer, Boston, MA.
- Yazır, Y., Dalçık, H.,** 2012. An important method in the investigation of vascular pathologies: endothelial cell culture. *Koşuyolu Kalp Dergisi*, 15:137-142.
- Zargar, M., Shameli, K., Najafi, G. R., Farahani, F.,** 2014. Plant mediated green biosynthesis of silver nanoparticles using *Vitex negundo* L. extract. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(6):4169-4175.
- Zhang, T., Chen, P., Sun, Y., Xing, Y., Yang, Y., Dong, Y., Xu, L., Yang, Z., Liu, D.,** 2011. A new strategy improves assembly efficiency of DNA mono-modified gold nanoparticles. *Chemical Communications*, 47:5774–5776.
- Zinjarde, S.S.,** 2012. Bio-inspired nanomaterials and their applications as antimicrobial agents. *Chronicles of Young Scientists*, 3(1):74--81.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Muhammed ERBAY

Yabancı Dil: İngilizce

Doğum Yeri ve Yılı: Elazığ/1992

E-Posta: muhammed.erbay23@gmail.com

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- 2012, Anadolu Üniversitesi, Açıköğretim Fakültesi, Laborant ve Veteriner Sağlık
- 2016, Anadolu Üniversitesi, İşletme Fakültesi/İşletme
- 2017, Atatürk Üniversitesi, Açıköğretim Fakültesi, Sağlık Yönetimi (lisans tamamlama)
- 2018, Munzur Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilimdalı, Yüksek Lisans
- 2009-2017, Laborant, Dicle Üniversitesi Hastaneleri, Merkez Laboratuvarı
- 2017-Devam, Laborant, Tunceli Devlet Hastanesi, Merkez Laboratuvarı