

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

Morus nigra L. (KARADUT) MEYVE VE YAPRAK EKSTRAKTLARI
KULLANILARAK SENTEZLENEN METAL NANOPARTİKÜLLERİN
FİZİKOKİMYASAL VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA

Osman AKMEŞE

TEMU-2024

GÜMÜŞHANE



T.C.

GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Morus nigra L. (KARADUT) MEYVE VE YAPRAK EKSTRAKTLARI
KULLANILARAK SENTEZLENEN METAL NANOPARTİKÜLLERİN
FİZİKOKİMYASAL VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

DETERMINATION OF PHYSICOCHEMICAL AND BIOACTIVE
PROPERTIES OF METAL NANOPARTICLES SYNTHESIZED USING *Morus*
nigra L. (BLACK MULBERRY) FRUIT AND LEAF EXTRACTS

DOKTORA

Osman AKMEŞE

TEMMUZ-2024
GÜMÜŞHANE



T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

Morus nigra L. (KARADUT) MEYVE VE YAPRAK EKSTRAKTLARI
KULLANILARAK SENTEZLENEN METAL NANOPARTİKÜLLERİN
FİZİKOKİMYASAL VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

DETERMINATION OF PHYSICOCHEMICAL AND BIOACTIVE
PROPERTIES OF METAL NANOPARTICLES SYNTHESIZED USING *Morus*
nigra L. (BLACK MULBERRY) FRUIT AND LEAF EXTRACTS

DOKTORA

Osman AKMEŞE

Danışman: Prof. Dr. Cemalettin BALTACI

TEMMUZ-2024
GÜMÜŞHANE

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Doktora Tezi olarak hazırlamış olduğum “*Morus nigra* L. (Karadut) Meyve ve Yaprak Ekstraktları Kullanılarak Sentezlenen Metal Nanopartiküllerin Fizikokimyasal ve Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi” isimli bu tezimin, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, alıntı yaptığım tüm çalışmalarını kaynakçada belirttiğimi ve Gümüşhane Üniversitesi’nin lisanslı kullanıcısı olduğum intihal yazılım programı ile Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlediği kısıtlara uygun olarak raporladığımı taahhüt ederim. Tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivinde saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

11/07/2024

Osman AKMEŞE

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak hazırlanmıştır.

Tez çalışmam boyunca değerli katkıları, yol gösterici fikirleri ve beni sürekli ayakta tutmak adına sağladığı moral ve motivasyon için sevgili Tez Danışmanım Prof. Dr. Cemalettin BALTACI'ya teşekkür ederim.

Dualarıyla her zaman yanımda olan ve emeklerinin karşılığını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim annem Şuhret AKMEŞE ve babam Zülfükar AKMEŞE'ye minnet ve şükranlarımı sunuyorum.

Bu çalışma Gümüşhane Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 22.F5115.01.05 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Osman AKMEŞE
GÜMÜŞHANE-2024

ÖZET

Nanoteknoloji de yaşanan gelişmelerle birlikte nanobilimde devrim yaşanmıştır. Bununla eş zamanlı olarak nanopartikül (NP) sentezine yönelik ilgi de artmaktadır. Özellikle sürdürülebilir, çevre dostu sentez yaklaşımları önem kazanmıştır. Bitki polifenollerinin, NP sentezinde indirgeyici özellik göstermekte ve kapaklama ajanı olarak görev almaktadırlar. Sahip oldukları bu kabiliyetlerden dolayı bitkilerin tamamından veya kısımlarından elde edilen ekstraktlar çevre dostu ve iyi tanımlanmış nanopartikül sentezi için yoğun bir şekilde kullanılmaktadırlar.

Bu çalışmada, yüksek skonder metabolit içeriğine sahip olan ve nanoteknolojik çalışmalarda yeterince irdelenmeyen *Morus nigra* L. kullanıldı. Bitkinin meyvelerinden ve yapraklarından elde edilen ekstraktlar kullanılarak Ag, Cu, Fe ve Zn tuzlarından NP'ler sentezlendi. Yapılan fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), X-ışını kırınımı (XRD) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) analizleri ile iyi kapaklanmış ve kararlı NP sentezi doğrulandı ve NP'ler karakterize edildi. Sentezlenen NP'lerin, antioksidan ve metilen mavisi absorpsiyon kapasiteleri ile biyoaktif etkinlikleri belirlendi. Antimikrobiyal etkinliğin belirlenmesi kapsamında NP'ler ile seçili antibiyotik kombinasyonları test mikroorganizmalarına karşı sinerjistik etki gösterdiler. HeLa ve HCT116 hücre hatları kullanılarak yapılan antikanser çalışmalarının sonuçları, AgNP'lerin sisplatinden daha düşük IC₅₀ değerlerine sahip olduklarını ortaya koydu.

Anahtar Kelimeler: Antidiyabetik, Antikanser, Antimikrobiyal, Nanopartikül, Nanoteknoloji

SUMMARY

Along with the developments in nanotechnology, there has been a revolution in nanoscience. At the same time, interest in nanoparticle (NP) synthesis has also increased. Sustainable, environmentally friendly synthesis approaches have gained importance. Plant polyphenols exhibit reducing properties in NP synthesis and act as capping agents. Due to these capabilities, extracts obtained from whole or parts of plants are used intensively for environmentally friendly and well-defined nanoparticle synthesis.

In this study, *Morus nigra* L., which has a high scalar metabolite content and has not been sufficiently examined in nanotechnological studies, was used. NPs were synthesized from Ag, Cu, Fe and Zn salts using extracts obtained from the fruits and leaves of the plant. Well-capped and stable NP synthesis was confirmed and NPs were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction (XRD) and transmission electron microscopy (TEM) analyses. The antioxidant and methylene blue absorption capacities and bioactive activities of the synthesized NPs were determined. In the context of determining the antimicrobial activity, combinations of NPs with selected antibiotics showed synergistic effects against the test microorganisms. The results of anticancer studies using HeLa and HCT116 cell lines revealed that AgNPs have lower IC₅₀ values than cisplatin.

Keywords: Antidiabetic, Anticancer, Antimicrobial, Nanoparticle, Nanotechnology

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
ÖZET.....	VI
SUMMARY	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLolar DİZİNİ	XIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XIV
EKLER DİZİNİ.....	XVI
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XVII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Nanopartiküller	6
1.3. Nanopartiküllerin Sınıflandırılması.....	7
1.3.1. Organik Nanopartiküller.....	7
1.3.2. İnorganik Nanopartiküller	8
1.3.2.1. Metal Temelli Nanopartiküller	8
1.3.2.2. Metal Oksit Temelli Nanopartiküller	8
1.3.3. Karbon Temelli Nanopartiküller	9
1.3.4. Polimer Temelli Nanopartiküller.....	9
1.3.5. Seramik Temelli Nanopartiküller	10
1.4. Nanopartikül Sentezi	10
1.4.1. Yukarıdan Aşağıya Sentez Yaklaşımı	11
1.4.1.1. Mekanik Öğütme	12
1.4.1.2. Nanolitografi.....	12
1.4.1.3. Lazer ablasyon.....	13

1.4.1.4.	Püskürtme	14
1.4.1.5.	Termal Ayrışma	15
1.4.2.	Aşağıdan Yukarıya Sentez Yaklaşımı	15
1.4.2.1.	Sol-jel Yöntemi	15
1.4.2.2.	Döndürme	16
1.4.2.3.	Kimyasal Buhar Birikimi Yöntemi	16
1.4.2.4.	Piroliz	17
1.4.2.5.	Biyosentez	17
1.4.2.5.1.	Bakteri Aracılı Nanopartikül Sentezi	19
1.4.2.5.2.	Maya Aracılı Nanopartikül Sentezi	20
1.4.2.5.3.	Mantar Aracılı Nanopartikül Sentezi	21
1.4.2.5.4.	Aktinomiset Aracılı Nanopartikül Sentezi	22
1.4.2.5.5.	Alg Aracılı Nanopartikül Sentezi	22
1.4.2.5.6.	Bitki Aracılı Nanopartikül Sentezi	23
1.5.	Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	24
1.5.1.	UV-Vis Spektrofotometrisi	24
1.5.2.	Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)	25
1.5.3.	X-ışını Kırınımı (XRD)	25
1.5.4.	X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS)	26
1.5.5.	Enerji dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX)	26
1.5.6.	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	26
1.5.7.	Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)	27
1.5.8.	Taramalı Tünelleme Mikroskobu (STM)	27
1.5.9.	Halka Şeklinde Karanlık Alan Görüntüleme (HAADF)	27
1.5.10.	Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)	28
1.5.11.	Raman spektroskopisi	28
1.6.	Nanopartiküllerin Uygulamaları	29
1.6.1.	Nanopartiküllerin Antibakteriyel Uygulamaları	29

1.6.2.	Nanopartiküllerin Antikanser Uygulamaları	30
1.6.3.	Nanopartiküllerin İlaç Dağıtım Sistemlerindeki Uygulamaları.....	31
1.6.4.	Nanopartiküllerin Tarımdaki Uygulamaları	32
1.6.5.	Nanopartiküllerin Gıda Endüstrisindeki Uygulamaları.....	33
1.6.6.	Nanopartiküllerin Diğer Sektör ve Alanlardaki Uygulamaları	34
1.7.	Çalışmanın Amacı	35
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	37
2.1.	Materyal.....	37
2.1.1.	Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar	37
2.1.2.	Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Sarf Malzemeler.....	37
2.1.3.	Örneklerin Toplanması ve Tür Teşhisinin Yapılması	37
2.2.	Metot.....	38
2.2.1.	Çözeltilerin Hazırlanması	38
2.2.2.	<i>Morus nigra</i> Meyvelerinin ve Yapraklarının Ekstraksiyonu.....	40
2.2.3.	Nanopartiküllerin Sentezi.....	41
2.2.3.1.	Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP'ler) Sentezi	41
2.2.3.2.	Bakır Nanopartiküllerin (CuNP'ler) Sentezi	42
2.2.3.3.	Demir Nanopartiküllerin (FeNP'ler) Sentezi	42
2.2.3.4.	Çinko Nanopartiküllerin (ZnNP'ler) Sentezi	42
2.2.4.	Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	43
2.2.4.1.	Nanopartiküllerin FTIR Analizi	43
2.2.4.2.	Nanopartiküllerin XRD Analizi.....	43
2.2.4.3.	Nanopartiküllerin TEM, HAADF ve EDX Analizi.....	43
2.2.5.	Toplam Fenolik İçeriğin Belirlenmesi.....	43
2.2.6.	Toplam Flavonoid İçeriğin Belirlenmesi.....	44
2.2.7.	Antioksidan Aktivite Analizleri	45
2.2.7.1.	DPPH Radikali Yakalama Yöntemi	45
2.2.7.2.	ABTS Radikali Yakalama Yöntemi	47

2.2.7.3.	FRAP (Demir İyonu İndirgeme Gücü) Yöntemi	48
2.2.8.	Nanopartiküllerin Metilen Mavisi Absorbsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi.....	49
2.2.9.	α -Amilaz İnhibisyonu Analizi	50
2.2.10.	α -Glukozidaz İnhibisyonu Analizi	51
2.2.11.	Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Özelliklerinin ve Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi	51
2.2.11.1.	Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi	51
2.2.8.2.	Nanopartiküllerin Antimikrobiyal MIC ve MBC Değerlerinin Belirlenmesi.....	52
2.2.8.3.	Nanopartiküllerin Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi	53
2.2.8.4.	Nanopartiküllerin Antikanser Etkilerinin Belirlenmesi.....	54
2.2.9.	İstatistiksel Analizler	55
3.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	56
3.1.	Nanopartiküllerin karakterizasyonu	56
3.1.1.	Nanopartiküllerin FTIR Analiz Sonuçları	56
3.1.2.	Nanopartiküllerin XRD Analiz Sonuçları	59
3.1.3.	Nanopartiküllerin TEM, HAADF ve EDX Analiz Sonuçları.....	60
3.2.	Toplam Fenolik İçerik Analiz Sonuçları	62
3.3.	Toplam Flavonoid İçerik Analiz Sonuçları	64
3.4.	Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları	66
3.4.1.	DPPH (2,2-difenil-1 pikrilhidrazil) Radikali Yakalama Analiz Sonuçları.....	66
3.4.2.	ABTS Radikali Yakalama Yöntemi Analiz Sonuçları	69
3.4.3.	FRAP (Demir İyonu İndirgeme Gücü) Yöntemi Analiz Sonuçları.....	71
3.5.	Nanopartiküllerin Metilen Mavisi Absorbsiyonu Analiz Sonuçları.....	72
3.6.	α -Amilaz İnhibisyonu Analiz Sonuçları	76
3.7.	α -Glukozidaz İnhibisyonu Analiz Sonuçları	77
3.8.	Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Özelliklerinin ve Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi	78
3.8.1.	Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi Analiz Sonuçları	78

3.8.2.	Nanopartiküllerin Antimikrobiyal MIC ve MBC Analiz Sonuçları.....	79
3.8.3.	Nanopartiküllerin Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi Analiz Sonuçları	84
3.9.	Nanopartiküllerin Antikanser Analiz Sonuçları	85
4.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER	87
	KAYNAKÇA.....	90
	EKLER.....	125
	ÖZGEÇMİŞ	133



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar	37
Tablo 2. Örneklerin toplam polifenol içerik analiz sonuçları	63
Tablo 3. Örneklerin toplam flavonoid içerik analiz sonuçları	65
Tablo 4. Örneklerin standart grafik eğrilerine göre DPPH analiz sonuçları.....	67
Tablo 5. Örneklerin standart grafik eğrilerine göre ABTS analiz sonuçları.....	69
Tablo 6. Örneklerin FeSO ₄ grafik eğrisine göre FRAP analiz sonuçları.....	71
Tablo 7. Metilen mavisi absorpsiyon analiz sonuçları.....	74
Tablo 8. Metilen mavisi absorpsiyon analiz sonuçları inhibisyon değerleri	75
Tablo 9. Nanopartiküllerin α -amilaz inhibisyonu analiz sonuçları.....	76
Tablo 10. α -Glukozidaz inhibisyonu analizi sonuçları	78
Tablo 11. Ekstraktların ve NP'lerin patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkileri	80
Tablo 12. NP'ler ve antibiyotiklerin patojen mikroorganizmalara karşı MIC değerleri.....	82
Tablo 13. NP'lerin patojen mikroorganizmalara karşı MBC değerleri	83
Tablo 14. NP'ler ve antibiyotik kombinasyonlarının FICI değerleri.....	84
Tablo 15. NP'lerin antikanser çalışması IC ₅₀ değerleri	86

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Nanoyapılar (Saallah ve Lenggoro, 2018).....	1
Şekil 2.	Nanomalzemelerin boyutsallığa dayalı sınıflandırması (Joudeh ve Linke, 2022).	4
Şekil 3.	Organik NP türleri (Joudeh ve Linke, 2022).	8
Şekil 4.	Karbon temelli nanometaryeller örnekleri (Zhang vd., 2013).....	9
Şekil 5.	Sol-jel sentez yöntemi adımlar (Parashar vd., 2020).....	16
Şekil 6.	NP'lerin biyosentezi (Osman vd., 2024).	18
Şekil 7.	Çalışmada kullanılmak üzere örneklerin toplanması	38
Şekil 8.	Toplam polifenolik içerik analizi gallik asit standart eğri grafiği	44
Şekil 9.	Toplam flavonoid içerik analizi için kuersetin standart eğri grafiği	45
Şekil 10.	DPPH radikal yakalama analizi için askorbik asit standart eğri grafiği	46
Şekil 11.	DPPH radikal yakalama analizi için troloks standart eğri grafiği	47
Şekil 12.	ABTS radikali yakalama analizi için askorbik asit standart eğri grafiği	48
Şekil 13.	ABTS radikali yakalama analizi için troloks standart eğri grafiği	48
Şekil 14.	FRAP analizi için FeSO ₄ standart eğri grafiği	49
Şekil 15.	Metilen mavisi absorpsiyon analizi için metilen mavisi standart eğri grafiği	50
Şekil 16.	MN-M ve MAgNP FTIR analizi kromatogramı.....	56
Şekil 17.	MN-M ve MCuNP FTIR analizi kromatogramı.....	57
Şekil 18.	MN-M ve MFeNP FTIR analizi kromatogramı	57
Şekil 19.	MN-M ve MZnNP FTIR analizi kromatogramı	58
Şekil 20.	MN-Y ve YAgNP FTIR analizi kromatogramı	58
Şekil 21.	MN-Y ve YCuNP FTIR analizi kromatogramı	58
Şekil 22.	MN-Y ve YFeNP FTIR analizi kromatogramı.....	59
Şekil 23.	MN-Y ve YZnNP FTIR analizi kromatogramı	59
Şekil 24.	NP'lerin TEM görüntüleri	61
Şekil 25.	NP'lerin HAADF ile Ag, C, Cu, Fe, N, O, Zn haritaları.....	62
Şekil 26.	NP'lerin HAADF görüntüleri.....	62
Şekil 27.	Örneklerin toplam fenolik analiz sonuçlarının sütun grafiği ile gösterimi.....	64
Şekil 28.	Örneklerin toplam flavonoid analiz sonuçlarının sütun grafiği ile gösterimi	66
Şekil 29.	Askorbik asit standart eğri grafiğine göre DPPH analiz sonuçları.....	68

Şekil 30. Örneklerin troloks standart eğri grafiğine göre DPPH analiz sonuçları.....	68
Şekil 31. Askorbik asit standart eğri grafiğine göre ABTS analiz sonuçları.....	70
Şekil 32. Örneklerin troloks standart eğri grafiğine göre ABTS analiz sonuçları.....	70
Şekil 33. Örneklerin FeSO ₄ standart eğri grafiğine göre FRAP analiz sonuçları.....	72



EKLER DİZİNİ

Ek 1. NP'lerin XRD sonuçları	125
Ek 2. MAgNP ve MCuNP EDX görüntüleri.....	126
Ek 3. MFeNP ve MZnNP EDX görüntüleri.....	127
Ek 4. YAgNP ve YCuNP EDX görüntüleri	128
Ek 5. YFeNP ve YZnNP EDX görüntüleri	129
Ek 6. MAgNP, MCuNP ve MFeNP hücre canlılık testi sonuçları.....	130
Ek 7. MZnNP, YAgNP ve YCuNP hücre canlılık testi sonuçları.....	131
Ek 8. YFeNP ve YZnNP hücre canlılık testi sonuçları.....	132



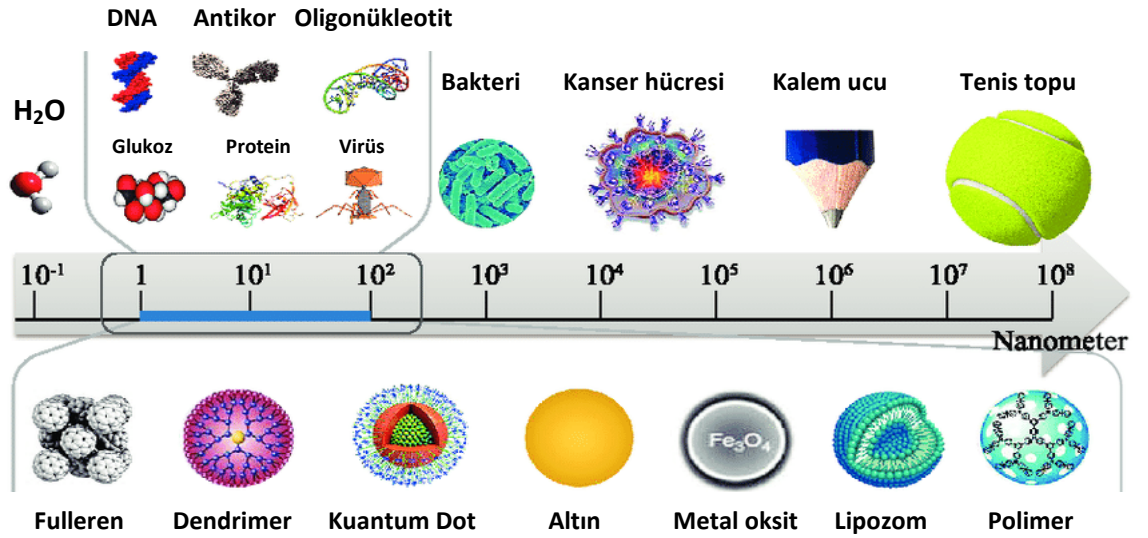
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µg	: Mikrogram
µm	: Mikrometre
ABTS	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
ATCC	: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
dk.	: Dakika
DPPH	: 2,2-difenil-1 pikrilhidrazil
FICI	: Fraksiyon inhibitör konsantrasyon indeksi
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
GPS	: Küresel konumlama sistemi
kg	: Kilogram
l	: Litre
MBC	: Minimal bakterisidal konsantrasyon
mg	: Miligram
MIC	: Minimum inhibitör konsantrasyonu
MICA	: Dut ekstraktlarının MIC değeri
MICA/B	: Dut ekstraktlarının kombinasyon içindeki MIC değerleri
MICB	: Antibiyotiklerin MIC değeri
MICB/A	: Antibiyotiklerin kombinasyon içindeki MIC değerleri
ml	: Mililitre
nm	: Nanometre
PBS	: Fosfatlı tampon çözeltisi
QE	: Kuersetin eşdeğeri
sn.	: Saniye
TE	: Troloks eşdeğeri

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Nano öneki, Yunanca nanos, yani “cüce” sözcüğünden türetilmiştir. 1947 yılında, Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği’nin (IUPAC) 14. konferansında, bir birimin milyarda bir kısmını tanımlamak için nano ön eki resmi olarak kabul edilmiştir (Joudeh ve Linke, 2022). Nanobilim genellikle 1-100 nm ölçeğindeki olayların incelenmesi olarak tanımlanır (Şekil 1). Nanobilim, malzemenin özelliklerinin daha büyük ölçekteki halinin özelliklerinden önemli ölçüde farklı olduğu atomik, moleküler ve makromoleküler ölçeklerde malzemenin fenomenin ve manipülasyonunun incelenmesidir. Nanobilimin araştırma alanı fizik, kimya, biyoloji, mühendislik, tıp ve malzeme bilimini kapsamakta olup diğer disiplinleri de etkilemektedir. Nanobilim, çok sayıda önemli konuyu ele almaktadır ve bunların çoğu yeni uygulamalar için potansiyele sahiptir (Godale ve Sharon, 2019). Odak noktası temel bilimden uygulamalara doğru yöneldiğinde ise nanoteknoloji terimi daha yaygın olarak kullanılmaktadır.



Şekil 1. Nanoyapılar (Saallah ve Lenggoro, 2018).

Nanoteknoloji, belirli özelliklere sahip yeni malzemeler üretmek amacıyla nano ölçekte nesneler üretme, kontrol etme ve değiştirme yeteneğidir. Nanoteknoloji, en küçük

ölçeklerde atomları ve molekülleri meydana getirme ve işleme yeteneğidir. Başka bir tanım yapmak gerekirse nanoteknoloji, yapıları ve bileşenleri, nano ölçekli boyutlarından dolayı yeni ve önemli ölçüde geliştirilmiş fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler, olaylar ve süreçler sergileyen malzeme ve sistemlerle ilgilenen bilim dalı olarak da tanımlanabilir (Godale ve Sharon, 2019).

Şüphesiz nanoteknoloji 20. yy.da gelişen yeni bir bilim alanıdır. Aslında yukarıda tanımlandığı gibi nanobilim yeni bir şey değildir. Bunun nedeni, Orta Çağ Avrupa kiliselerindeki vitraylardan 18. yy. Hintli savaşçıların bıçaklarına, antik çağlardan kalma eserlere kadar çok sayıda referansın bulunmasıdır. Antik Hindistan'da nanoteknolojik tekniklerin tedavide, silahlarda, çelik endüstrisinde, Hint el sanatlarında ve kültürel ritüellerde kullanıldığına dair belgeler vardır (Gargade, 2019). Dikkatlerini NP'lerin eski uygarlıklarda kullanılma olasılığı üzerine yoğunlaştıran nanoteknoloji uzmanlarının ilgi odaklarından biri; altın, gümüş ve bakır gibi geçiş metallerinin birçok ilgi çekici özelliğidir. Çözünebilir altın kavramı MÖ 4. yy.da Çin'de ve Mısır'da ortaya çıkmış olmasıyla birlikte cam, emaye ve porselen eşyaların kaplanmasında pigment olarak kullanılması ise 17. yy.ın ortalarında birçok ülke ve medeniyette ortaya çıkmıştır. Bugün bunların altın, gümüş ve bakırdan oluşan NP'ler olduğu doğrulanmıştır. Erimiş camların içinde asılı kalan nanometre boyutundaki metalik parçacıklar, yüzyıllardır renkli cam eşyalar üretmek için kullanılmaktadır (Bamford, 1977). Muhtemelen nanoteknolojinin eski kullanımına ilişkin en ünlü örnek Lycurgus Kupası'dır (MS 4. yy.). Bu antik Roma kupası olağandışı optik özelliklere sahiptir ve ışık kaynağının konumuna göre renk değişimleri gözlenir. Doğal ışıktaki kupa yeşildir ancak içeriden aydınlatıldığında kırmızı olur. Lycurgus Kupası'nda yapılan son analizler, elektronların plazmon uyarımının etkileri yoluyla kabın olağandışı renklenmesinden sorumlu olan 50-100 nm Au ve Ag NP'leri içerdiğini göstermiştir (Barber ve Freestone, 1990; Atwater, 2007). Faraday, kolloidal altın parçacıkları üzerinde çalışmıştır ve 1857'de araştırmaları hakkında ders vermiştir (Faraday, 1857). Çalışmasının motivasyonu altın parçacıklarının kırmızı rengi olmuştur. Bu, altının yığın halindeki tanınmış sarı görünümüyle çarpıcı bir tezat oluşturmaktadır. Benzer bir argümana göre, kilise pencereleri için vitraylarda veya çanak çömlek sırlarında dekoratif efektler üretmek için küçük metal parçacıkların (100 nm'den küçük) kullanılması, nanoteknolojinin orta çağa, hatta daha öncesine dayanmasına neden olabilir (Barber ve Freestone, 1990; Borgia vd., 2002).

Nanobilim ve nanoteknolojinin temelini oluşturan çerçeve, düşünceler ve kavramlar, ünlü bilim insanı Richard Feynman'ın 1959'un Aralık ayında Kaliforniya

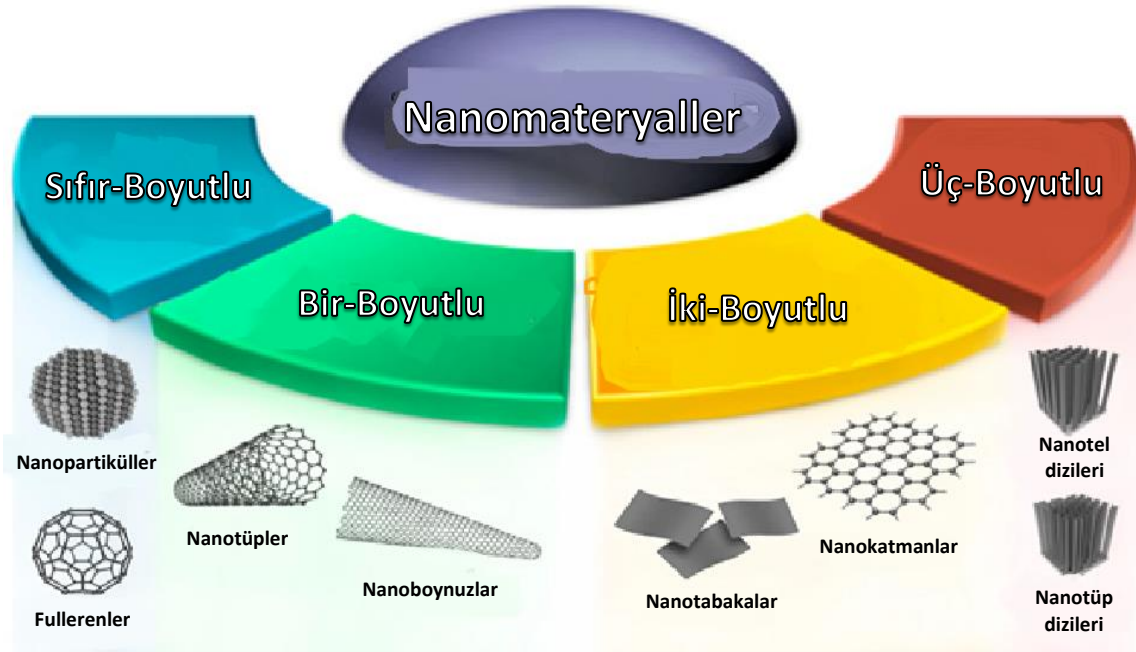
Teknoloji Enstitüsü'nde (Caltech) bir Amerikan Fizik Derneği toplantısında yaptığı "There's Plenty of Room at the Bottom" başlıklı konuşmasıyla başlamıştır. Bu, modern nanoteknolojinin başlangıcı olarak kabul edilmektedir. Nanoteknoloji terimi ise Taniguchi tarafından yayınlanan makalede ilk defa kullanılmıştır (Taniguchi, 1974).

Bununla birlikte nanobilimin yeni bir çalışma alanı olarak ortaya çıkmasına yol açan şey, NP'lerin üretilmesine yönelik tekniklerin geliştirilmesiyle birlikte atom düzeyindeki sistemleri incelemek için çeşitli araçların son icadıdır. Malzemelerin yüzeylerindeki tek tek atomları ve molekülleri "görmeyi" değil aynı zamanda onları nano ölçekte hareket ettirmeyi de mümkün kılan taramalı prob mikroskopları birincil öneme sahiptir. İlk taramalı prob mikroskobu olan taramalı tünelleme mikroskobu (STM), 1982'de ortaya çıkmıştır (Binnig vd., 1982) ve 1986'da Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer, tasarımı nedeniyle Nobel Fizik Ödülü'ne layık görülmüştür. Bunun önemi, izole edilmiş nanokümelerin özelliklerini inceleme yeteneğidir. Gaz fazında kümeler üretmek için yeni enstrümanlar 1960'larda ve 1970'lerde geliştirilmiştir (Robbins vd., 1962). Ancak Knight vd. (1984) ilk kez yaklaşık 100 atoma kadar alkali metal kümeleri üretmiş ve bunların özelliklerini sistematik olarak incelemiştir. Sör W. Kroto ve arkadaşları, daha sonra "buckyball" veya "fulleren" olarak bilinen altmış atomlu karbon molekülünü sentezlemiştir (Kroto vd., 1985). Sumio Iijima, Krätschmer-Huffman fulleren reaktöründe üretilen iç içe geçmiş grafen silindirlerin yapısını irdeledikleri çalışmalarını yayınlamışlardır (Iijima, 1991). Bu, karbon nanotüplerin keşfedilmesi anlamına gelmektedir. Grafen, karbonun tüm nano formlarının temel formu ve hatta bilinen en eski doğal karbon grafitlerden biri olmasına rağmen, 2 boyutlu bir nanomateryal olan grafen olarak varlığı, Geim ve Novoselov tarafından grafenin üretiminin, tanımlanmasının ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) karakterizasyonunun açıklandığı kilometre taşı niteliğindeki yayından sonra kabul edilmiştir (Geim ve Novoselov, 2007). Bu çalışma onlara 2010 yılında Nobel Ödülü'nü kazandırmıştır. Günümüzde bilim insanlarının günden güne artan ilgisi ile birlikte nanoteknolojik çalışmalar yükselen bir ivmeyle devam etmektedir ve bu alanla ilgili literatür hızlı bir şekilde artmaktadır.

"Nanomalzeme" terimi, (üç boyutundan en az birinde) 1 ila 100 nm sınırları içinde boyuta sahip partikülü tarif etmek için kullanılır (Kolahalam, 2019). Bu boyut aralığında nanomalzemelerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri hem tek başlarına atomların/moleküllerin hem de onların oluşturdukları toplu malzemenin özelliklerinden temelde değişiklikler gösterir. Nanomalzemeler boyutsal büyüklüklerine göre 4 farklı grupta sınıflandırılabilirler (Şekil 2).

Bunları aşağıdaki gibi sıralayabiliriz;

- Sıfır boyutlu nanomalzemeler (0-D): Bu sınıftaki nanomalzemelerin üç boyutu da nanoölçek aralığındadır. Bu grubun örnekleri; kuantum noktaları, fullerenler ve NP'lerdir.
- Tek boyutlu nanomalzemeler (1-D): Bu sınıftaki nanomalzemeler nano ölçeğin dışında bir boyuta sahiptir. Örnekleri; nanotüpler, nanofiberler, nanoçubuklar, nanoteller ve nanoboynuzlardır.
- İki boyutlu nanomalzemeler (2-D): Bu sınıftaki nanomalzemeler nano ölçeğin dışında iki boyuta sahiptir. Nano tabakalar, nanofilmler ve nano katmanlar örnek olarak verilebilir.
- Üç boyutlu nanomalzemeler (3-D) veya toplu nanomalzemeler: Bu sınıfta malzemeler herhangi bir boyutta nanoölçekle sınırlı değildir. Bu sınıf, toplu tozları, NP'lerin dispersiyonlarını, nanotel ve nanotüp dizilerini vb. içerir (Joudeh ve Linke, 2022).



Şekil 2. Nanomalzemelerin boyutsallığa dayalı sınıflandırması (Joudeh ve Linke, 2022).

Nanomalzemeler, mikro boyuttaki malzemelere ya da yığın halindeki malzemelere nazaran temelde üç sebepten ötürü farklı yüzey etkileri göstermektedir. Dağınık nanomalzemeler çok geniş bir yüzey alanına ve kütle birimi başına yüksek parçacık sayısına sahiptir. Maddeler nanomalzeme formuna dönüştüklerinde, yığınsal hallerine göre yüzey atomlarının sayısı artar. Son olarak nanomalzemelerde yüzeyde bulunan atomlar malzemedeki diğer atomlarla

karşılaştırıldıklarında etraflarındaki atom sayısı azdır. Bu nedenlerden dolayı nanomalzemeler yığın halindeki muadilleriyle karşılaştırıldıklarında, kimyasal ve fiziksel özelliklere sahiptirler (Buzea vd., 2007; Roduner, 2006).

Yukarıda bahsedildiği üzere bir nanomalzeme olan NP'ler çeşitli kimyasal yapıya sahip malzemelerden yapılabilir; en yaygın olanları metaller, metal oksitler, silikatlar, oksit olmayan seramikler, polimerler, organikler, karbon ve biyomoleküllerdir. Nanomalzemeler; küresel, silindirik, konik, boru şeklinde, içi boş çekirdek, spiral vb. veya düzensiz şekillere sahip olmak üzere birçok farklı morfolojide bulunabilirler. Nanomalzemeler genel olarak belirli kullanım ve uygulama alanları için ihtiyaçlar doğrultusunda gerekli olan tasarımlara sahip yüzey uyarlamaları ile tasarlanırlar. NP'lerin geniş kimyasal doğasından, şekillerinden ve morfolojilerinden kaynaklanan muazzam çeşitliliği, partiküllerin bulunduğu ortam, partiküllerin dağılım durumları ve en önemlisi NP'lerin yapılabileceği çok sayıda olası yüzey modifikasyon olasılıkları nedeniyle NP'ler yoğun bir ilgi görmektedir (Nagarajan, 2008).

NP'lerin moleküler biyoloji, fizik, organik ve inorganik kimya, tıp ve malzeme bilimi gibi farklı alanlardaki kullanımı günümüzde beklenmedik bir şekilde artmaktadır (De, 2008; Heiligttag ve Niederberger, 2013). Basit veya karmaşık yapıya sahip NP'ler, benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikler sergilerler ve çok sayıda fiziksel, biyolojik, biyomedikal ve farmasötik uygulamada kullanılabilen yeni nanocihazların geliştirilmesinde önemleri giderek artmaktadır (Loureiro vd., 2016; Martis vd., 2012; Nikalje, 2015). Antikanser ilaçlarının NP'lerde tutulması ve kanserli hücrelerin hedeflenmesi için partiküllerin moleküler ligandlarla süslenmesi daha az yan etkiyle daha etkili kanser tedavisi olanağı sunmaktadır (Brigger vd., 2012). Antimikrobiyal ajanlar; tekstil, ilaç, su dezenfeksiyonu ve gıda ambalajlanmasında son derece hayati öneme sahiptir. Bundan dolayıdır ki organik olmayan NP'lerin patojen mikroorganizmaları inhibe ve öldürme yetenekleri, canlılar için toksik etkileri daha yüksek olan organik antimikrobiyallerle kıyaslandığında bu önemli alana daha fazla katkı sunmaktadırlar (Hajipour vd., 2012).

Scopus veritabanında makale başlığı, özet ve anahtar kelimeler baz alınarak yapılan taramada 2023 yılında NP'lerle alakalı 321.000'den fazla yayın olduğu görülmektedir. NP'lerin yukarıda belirtilen tüm avantajları ve olağanüstü özellikleriyle, NP çalışmalarına büyük ilginin olması şaşırtıcı değildir. Araştırma çabalarının boyutunun devam etmesi beklenmektedir. Nano düzeyde elde edilen kimyasal ve fiziksel özelliklerin faydalı uygulamaları giderek daha belirgin hale geldikçe NP'lere olan ilgi artmaktadır.

1.2. Nanopartiküller

NP'lerin daha yığın halindeki aynı malzemelerden kayda değer bir şekilde farklı davranmasına neden olan iki ana faktör vardır. Bunlar yüzey etkileri ve kuantum etkileridir (Roduner, 2006). Boyutun küçülmesi nedeniyle boyutu 1 ila 100 nm aralığında olan NP'ler, atom ölçeğinde kuantum sınırları içerisine ulaşıldığından toplu muadillerinde gözlemlenmeyen farklı özellikler gösterirler. Bu, NP'lerin yüksek yüzey alanı, özel yüzey karakteristiği, elektriksel, optik, termal, manyetik ve bunların diğer sistemlerle etkileşimi gibi çeşitli özellikleri açısından çok önemlidir (Pavitra vd., 2021; Yanhong vd., 2004).

Nano ölçekli malzemeler sıklıkla makroskobik bir katı (yığın halindeki durumu) ile atomik veya moleküler bir sistemin özellikleri arasında orta düzeyde farklı bir davranış gösterirler. Birkaç atomdan oluşan inorganik bir kristalin durumunu ele alacak olursak bu kristalin özellikleri tek bir atomunkinden farklıdır. Ancak katı bir kütlenin gösterdiği özelliklerle de aynı değildir. Örneğin kristalin yüzeyindeki atomların sayısı, toplam atom sayısının önemli bir kısmını oluşturur ve bu nedenle kristalin genel özellikleri üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Bu kristalin, yığın halindeki maddeden daha yüksek bir kimyasal reaktiviteye sahip olabileceğini ve muhtemelen daha düşük sıcaklıklarda eriyeceğini dile getirebiliriz (Simmel ve Alivisatos, 2011). Bu durumu örneklendirme adına, altını ele alabiliriz. Altının özelliklerine bakıldığında kabaca; parlak sarı renkli, erime noktası 1.064 °C olan kimyasal olarak inert olan yumuşak ve esnek bir metal olarak niteledirilir. Bu, yalnızca yığın halindeki altının özellikleridir. Altın NP'ler aslında çözünürdür (Solventlerde kolayca kolloidal dispersiyonlar oluşturur.) ve şeffaf bir ortam (su veya cam gibi) içine dağıldığında yoğun renklere (NP boyutuna bağlı olarak kırmızı, mor, mavi, turuncu) neden olur. Üstelik altın NP'ler kimyasal olarak aktiftir, çok verimli katalizörlerdir (Haruta, 2014). Boyutları 50 nm'nin altına düştükçe giderek daha düşük sıcaklıklarda erir ve erime noktası, 3 nm çaplı NP'ler için 327 °C'ye kadar düşük değerlere ulaşır (Burda vd., 2005).

Aslında NP'ler sıklıkla benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir. Örneğin NP'lerin elektronik, optik ve kimyasal özellikleri, yığın halindeki durumlarının özelliklerinden çok farklı olabilmektedir. Bir parçacığın hacmine göre yüzey alanının artırılmasıyla parçacığın kendi özelliklerinde ve bunun yanı sıra çevredeki ortamla etkileşiminde bir değişiklik gözlemlenebilir. NP'ler, kuantum olgusunun dahil olduğu 1-100 nm aralığında boyuta bağlı olarak farklı özellikler sergilerler. Malzeme yarıçapı asimptotik eksiton Bohr yarıçapına (elektron ve boşlular arasındaki ayrılma mesafesi) yaklaştığında, kuantum sınırlamasının etkisi belirgin hale gelir (Ikhmayies, 2014). Yani

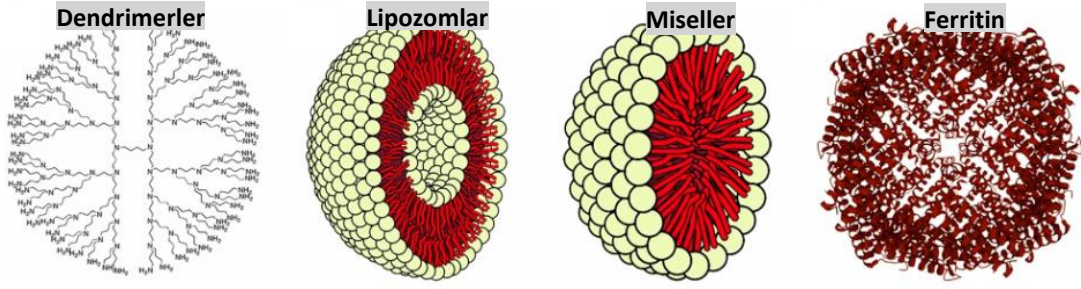
malzemenin boyutunun küçültülmesiyle kuantum etkileri daha belirgin hale gelmektedir ve nanomalzemeler kuantal hale gelir. Bu kuantum yapıları, tüm yük taşıyıcılarının (elektronlar ve boşluklar) fiziksel boyutlar içerisinde sınırlandırıldığı fiziksel yapılardır (Geoffrion ve Guisbiers, 2020). Örneğin kuantum sınırlama etkilerinin bir sonucu olarak paladyum, platin ve altın gibi toplu haldeki bazı manyetik olmayan malzemeler nano ölçekte manyetik hale gelirler (Roduner, 2006). Bir kristalin boyutu nanometre rejimine düştükçe parçacığın boyutu kristalin özelliklerini değiştirmeye başlar. Elektronik yapı, sürekli elektronik bantlar tarafından ayrık veya nicelenmiş elektronik seviyelere dönüştürülür. Sonuç olarak elektronik bantlar arasındaki sürekli optik geçişler ayrık hale gelir ve nanomalzemenin özellikleri boyuta bağlı hale gelir. Bu nedenle parçacıkların optik, termal ve elektriksel özellikleri boyutlarına ve şekillerine bağlı hale gelir (Altavilla ve Ciliberto, 2011).

1.3. Nanopartiküllerin Sınıflandırılması

NP'ler temel olarak morfolojilerine, boyutlarına, fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre çeşitli sınıflara ayrılabilirler. Ancak NP'ler temel olarak organik, inorganik ve karbon bazlı NP'ler olarak sınıflandırılırlar (Kumari ve Sarkar, 2021).

1.3.1. Organik Nanopartiküller

Bu NP sınıfı, boyutu 100 nm veya daha küçük olan organik moleküllerden sentezlenir (Qi ve Zhang, 2022). Bu sınıf; proteinlerden, karbohidratlardan, lipitlerden, polimerlerden veya diğer organik bileşiklerden yapılan NP'leri içerir (Pan ve Zhong, 2016). Bu sınıfın örnekleri; ferritin, miseller, dendrimerler ve lipozomlar dahil olmak üzere iyi bilinen organik NP'ler veya polimerlerdir (Şekil 3). Miseller ve lipozomlar, ısıya ve elektromanyetik radyasyona (ısı ve ışık) duyarlı olan nanokapsül olarak bilinen içi boş bir iç kısma sahip NP'lerdir (Esakkimuthu vd., 2014). Ayrıca biyolojik olarak parçalanabilirler ve toksik değildirler. Ayırt edici özelliklerinden dolayı ilaç dağıtımında tercih edilen alternatiflerdir. İlaç taşıma kapasitesi, stabilitesi ve dağıtım yöntemleri ister hapsolmuş ilaç ister adsorbe edilmiş ilaç sistemi olsun boyutun, bileşimin, yüzey şeklinin vb. önemine rağmen uygulama alanlarını ve verimliliklerini etkiler (Hamidi vd., 2008). Verimlilikleri ve vücudun belirli bölümlerine enjekte edilebilmeleri nedeniyle organik NP'ler biyomedikal alanda, örneğin kanser tedavisinde ve ilaç dağıtım sisteminde, yaygın uygulama alanı bulmaktadır (Gholamali vd., 2020; Gujrati vd., 2014).



Şekil 3. Organik NP türleri (Joudeh ve Linke, 2022).

1.3.2. İnorganik Nanopartiküller

İnorganik NP'ler karbondan oluşmayan veya inorganik olmayan partiküllerdir. Metal ve metal oksit bazlı NP'ler genellikle inorganik NP'ler olarak sınıflandırılırlar. Bu sınıfın tipik örnekleri metal, seramik ve yarı iletken NP'lerdir.

1.3.2.1. Metal Temelli Nanopartiküller

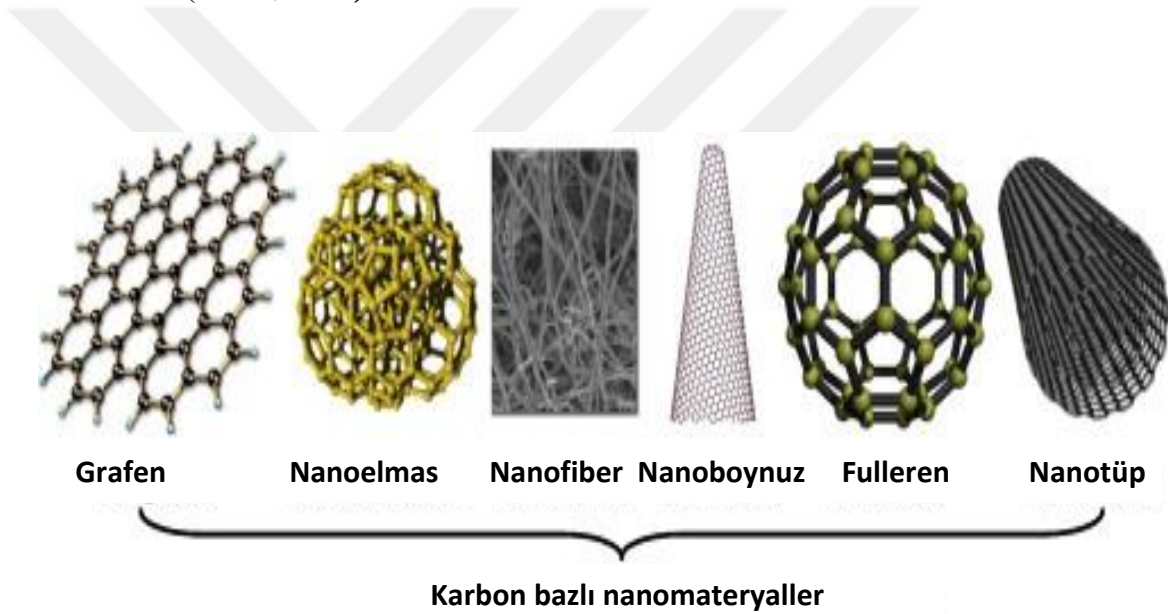
Metallerden nano ölçek boyutlarında farklı yöntemlerle sentezlenen NP'ler, metal temelli NP'lerdir. Hemen hemen tüm metallerden sentez yapılabilir (Salavati-Niasari, 2008). NP sentezi için akla ilk gelen metaller alüminyum (Al), kadmiyum (Cd), kobalt (Co), bakır (Cu), altın (Au), demir (Fe), kurşun (Pb), gümüş (Ag) ve çinkodur (Zn). Metalik NP'ler; 10 ila 100 nm'ye kadar küçük boyutlara, yüksek yüzey alanı/hacim oranı, gözenek boyutu, yüzey yükü ve yüzey yük yoğunluğu gibi yüzey özelliklerine, kristal ve amorf yapılara, küresel ve silindirik gibi şekillere ve renk, reaktivite ve hassasiyet gibi ayırt edici özelliklere sahiptir. Lokalize yüzey plazmon rezonans özellikleri nedeniyle bu NP'ler, benzersiz optik ve elektriksel özelliklere sahiptir (Khan vd., 2019). Dahası bazı metal NP'ler aynı zamanda benzersiz termal, manyetik ve biyoaktif özelliklere de sahiptir. Bu, onları çok sayıda fiziksel, kimyasal, biyolojik, biyomedikal ve farmasötik uygulamada kullanılabilecek nanocihazların geliştirilmesi için giderek daha önemli malzemeler haline getirmektedir (Fedlheim ve Foss, 2001; Mody vd., 2010).

1.3.2.2. Metal Oksit Temelli Nanopartiküller

Metal oksit temelli NP'ler, ilgili metal bazlı NP'lerin özelliklerini değiştirmek için sentezlenir. Örneğin demir (Fe) NP'leri, oda sıcaklığında oksijen varlığında anında demir okside (Fe_2O_3) oksitlenir ve demir NP'lerine kıyasla reaktivitesini artırır. Metal oksit NP'leri esas olarak artan reaktiviteleri ve verimlilikleri nedeniyle sentezlenir (Tai vd., 2007).

1.3.3. Karbon Temelli Nanopartiküller

Tamamen karbondan oluşan NP'ler karbon temelli olarak bilinmektedir. Bunlar fullerenler, grafen, karbon nano tüpler (CNT), karbon nanofiberler ve karbon siyahı ve bazen nano boyutta aktif karbon olarak sınıflandırılabilirler. Karbon temelli NP'ler (Şekil 4), ayırt edici fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip karbon atomlarının varlığıyla karakterize edilirler (Bhaviripudi vd., 2007). Fullerenler ve karbon nanotüpler, karbon temelli NP'lerin önemli olanlarıdır (Altammar, 2023). Fullerenler küresel olan karbon temelli NP'lerdir. İçi boş kafes yapısına sahiptirler ve elektriksel iletkenlikleri, yüksek mukavemetleri ve diğer özellikleriyle bilinirler (Yang vd., 2020). Sonuç olarak karbon nanotüpler aynı zamanda karbon bazlı NP'lerdir. Ancak şekil olarak uzarlar ve boru şeklinde yapılar oluştururlar (Kour vd., 2020). Bunlar aslında üst üste sarılmış grafit levhalarıdır (Ci vd., 2023).



Şekil 4. Karbon temelli nanometaryeller örnekleri (Zhang vd., 2013).

1.3.4. Polimer Temelli Nanopartiküller

Yüzeylerine adsorbe edilmiş veya yapılarına hapsolmuş aktif maddeler barındıran 1 ve 1000 nanometre ölçeğindeki boyutlara sahip polimerik nanomalzemeler veya basitçe NP'ler, polimer temelli NP'ler olarak adlandırılırlar (Khan vd., 2019; Saqib vd., 2020; Zielińska vd., 2020). Bu NP'ler genellikle organik malzemelerden yapılır. Aktif maddelerin her tarafa dağıldığı katı bir polimer çekirdeğe sahip olanlara nano küreler adı verilirken, içinde aktif maddelerin hapsediği içi boş bir polimer çekirdeğe sahip olanlara ise nano kapsüller denir. İlaç dağıtımında, kozmetiklerde ve gıda katkı maddelerinde kullanılırlar (Saqib vd., 2020; Zielińska vd., 2020).

1.3.5. Seramik Temelli Nanopartiküller

Seramik NP'ler, ısı ve ardışık soğutma yoluyla sentezlenen inorganik metalik olmayan katılardır. Amorf, polikristalin, yoğun, gözenekli veya içi boş formlarda bulunabilirler (Sigmund vd., 2006). Bu nedenle bu NP'ler kataliz, fotokataliz, boyaların fotodegradasyonu ve görüntüleme uygulamaları gibi uygulamalarda kullanılmaları nedeniyle araştırmacıların büyük ilgisini çekmektedir (Thomas vd., 2015).

1.4. Nanopartikül Sentezi

NP'ler sentez ve uygulamalar açısından geniş bir olasılık yelpazesine sahiptir. Çeşitli alt alanlar, başlangıç aşamasından itibaren nano ölçekli etkileri, özellikleri ve uygulamaları araştırmaktadır. Modern nanobilim ve nanoteknolojide farklı birçok alt disiplin yer almaktadır. Bu alanın hazırlanması, uygulanması ve etkisinin daha iyi anlaşılmasını sağlamak için fizikçilerden, biyologlardan, kimyagerlerden ve mühendislerden gelen girdiler hızlı bir ilerlemeye neden olmuştur (Grunes vd., 2003; Mirkin, 2005).

Hızla gelişen NP sentezi alanı için temel itici güçlerden biri, NP'lerin toplu muadilleriyle karşılaştırıldığında zıt fizikokimyasal özellikler sergilemesidir. NP'ler tipik olarak oldukça aktif merkezlere sahiptirler ancak bunlar çok küçüktür ve termodinamik olarak kararlı değildirler. Bu boyut rejimindeki yapılar, yüksek yüzey enerjileri ve geniş yüzeyleri nedeniyle genellikle kararsızdır. Kararlı NP'ler elde etmek için parçacık büyüme reaksiyonunun dikkatli bir şekilde kontrol edilmesi ve büyüklüğün en aza indirilmesi gerekir. Nanomateriyallerin tasarımı ve hazırlanmasındaki son gelişmeler, geleneksel sentetik metodolojilerin sınırlamalarının üstesinden gelerek çok çeşitli nanomateriyallerin farklı hazırlama yolları yoluyla sentezlenebileceğini ve istenen boyut ve dağılıma göre uyarlanabileceğini göstermiştir (Chen vd., 2006; Ozin vd., 2009).

Birçok NP'nin en gelişmiş hazırlama teknikleri, hazırlanan NP'lerin güvenliği ve toksisitesine özel önem vererek daha verimli ve sürdürülebilir yollar izlemeye çalışmaktadır. Bu yollar; ultrason, mikrodalga ısınlama ve bilyeli öğütme gibi alternatif enerji girdi metodolojilerinin kullanımını, NP hazırlanması için doğal ürünlerin ve biyokütlenin (örneğin vitaminler, meyveler, tarımsal kalıntılar vb.) kullanımını ve kontrol edilebilir üretim süreçlerini içerir (Luque ve Varma, 2012).

Bu gelişmelere rağmen modern uygulamalar için kontrollü boyutlara ve morfolojilere sahip ölçeklenebilir nanomateriyallerin sentezlenmesindeki zorluklar hala en büyük çıkmazdır. Çünkü her sentez yöntemi farklı boyutlarda ve morfolojik yapılara

sahip NP'ler üretir. Temel olarak yukarıdan aşağıya yaklaşım olarak fiziksel yöntemler ve aşağıdan yukarıya yaklaşım olarak kimyasal ve yeşil sentez yöntemleri olarak sınıflandırılan yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya olmak üzere iki NP sentezi yaklaşımı vardır. Yeşil sentez yöntemleri ümit verici görünse de ileri teknoloji kullanımını içerir ve son derece zahmetlidir. Bu nedenle uygun maliyetli ve daha az enerji tüketimine bir yöntemin seçiminin son derece önemli olduğu yadsınamaz (Murtala vd., 2023).

Tipik olarak NP'lerin üretilmesi için yukarıdan aşağıya yöntem ve aşağıdan yukarıya yöntem olmak üzere iyi bilinen iki yöntem vardır. Bunlar, nanomateriyal sentezinin iki ana yaklaşımıdır. Yukarıdan aşağıya yaklaşım genellikle ince katmanlı kristallerin elde edilmesi için istiflenmiş yığın bileşenler arasındaki vanderwaal kuvvetlerin kırılmasını içerir. İyonik veya kovalent bağlanma, NP sentezinin aşağıdan yukarıya yönteminde yer alır. Yukarıdan aşağıya yöntem genellikle büyük çevresel ayak izine sahip çok büyük enerji girdilerinin gerekliliğini içerir. Çevrenin iyileştirilmesinde kullanılacak NP'lerin üretimi büyük çevresel ayak izine neden olmamalıdır (Song vd., 2019). Bu iki yaklaşım ayrıca yöntemlere göre sınıflandırılır. Yukarıdan aşağıya yaklaşım fiziksel yöntem olarak anılırken, aşağıdan yukarıya yaklaşımlar kimyasalların ve yeşil/biyolojik maddelerin kullanıldığı yöntemlerdir. Bu sınıflandırmalar NP sentezinde kullanılan öncül malzemelerin türlerinden kaynaklanmaktadır. Yukarıdan aşağıya yaklaşımın temel amacı, istenen NP yapılarını üretmek için öncü materyalleri parçalamaktır; aşağıdan yukarıya sentez ise istenen NP yapılarını üretmek için daha küçük boyutlu nanomateriyallerin kombinasyonunu içerir. Her iki yöntem de belirli uygulamalar için istenen özellikleri elde etmek amacıyla dikkatli bir optimizasyon gerektirir (Jamkhande, 2019).

1.4.1. Yukarıdan Aşağıya Sentez Yaklaşımı

Yukarıdan aşağıya veya yıkıcı yöntem, dökme malzemenin nanometrik ölçekli parçacıklara indirgenmesidir (Krishnia vd., 2022). Dökme malzemeler, yukarıdan aşağıya yaklaşımda istenen parametrelere sahip nanomalzemeler üretmek için işlenir. Yukarıdan aşağıya yaklaşımı içeren en yaygın yöntemler fiziksel buhar birikimi, mekanik öğütme, elektrospinning, püskürtme, lazer ablasyonu, elektro-çıkış, nanolitografi, ark akıntısı ve termal ayrışmadır (Ijaz vd., 2020).

1.4.1.1. Mekanik Öğütme

Çeşitli yukarıdan aşağıya yöntemlerden biri olan bu yöntem, farklı NP'ler sentezlemek için sıkça başvurulardan biridir. Bu yöntem, NP'lerin çeşitli yığın halindeki materyallerin inert bir ortamda öğütülerek sentezlenebilmesi ve sonrasında tavlınması için kullanılır (Yadav vd., 2012). Katı bir hal sentezi olan mekanik öğütme, genellikle düşük enerji ve yüksek enerji kategorisine ayrılan bilyalı freze ekipmanları kullanılarak mekanik enerjinin toz karışımına bağlı değerine dayalı olarak gerçekleştirilir (Boldyrev ve Tkáčová, 2000). Frezelemenin amacı, parçacık boyutunu ve parçacıkların yeni aşamalarındaki harmanlanmasını azaltmaktır. Farklı bilyalı öğütme tipi, bilyaların toz yükünü etkilediği nanomalzemelerin sentezi için kullanılabilir (Yadav vd., 2012). Yüksek enerjili bilyeli öğütücü, nano boyutlu tozlar üretmenin uygun bir yoludur. Bu, metalik NP'lerin sentezi için literatürde bildirilen en yaygın yöntemdir. Mekanik bir öğütme başlatılmadan önce materyal bilyeli öğütücünün haznesine konur. Güçlü bir şekilde titretilme veya yüksek hızlı rotasyon ile ağır tozlarla çarpışma nedeniyle tozlara yüksek bir mekanik enerji uygulanır (Tavakoli, 2007). Mekanik bilyalı öğütme, kimyasal özelliklerini ve yanma davranışlarını değiştirmek için alüminyum, magnezyum ve karbon ile harmanlamak için kullanılmıştır (Pivkina vd., 2004; Shoshin vd., 2002). Magnezyum ile karışımlar yapmak için yapılan çalışmalarda boyut olarak onlarca mikrometre parçacıkları kullanılmıştır.

İlginç bir şekilde karbon ile frezelenmiş alüminyum NP'ler, standart alüminyum NP'lerden çok daha reaktif özellik göstermiştir ve kendiliğinden havada yanmalarını önlemek için hekzan altında dengelenmeleri gerekmiştir (Streletskii vd., 2004).

1.4.1.2. Nanolitografi

Nanolitografi, 1 ila 100 nm boyut aralığında, minimum bir boyutta nanometre ölçekli yapıların üretilmesinin incelenmesidir. Optik, elektron ışını, multifoton, nanobaskı ve tarama prob litografisi gibi çeşitli nanolitografik süreçler vardır (Pimpin ve Srituravanich, 2012). Litografi, arzu edilen şekil ve yapıya sahip NP'ler oluşturmak amacıyla malzemenin bir kısmını seçici olarak yüzeyden kaldırarak ışığa duyarlı bir malzemeye gerekli bir şekil veya yapı yazdırma işlemidir. Nanolitografinin ana avantajları, tek bir NP'den istenen şekle ve boyuta sahip bir kümeye kadar geniş bir skalada üretim imkanıdır. Dezavantajları ise karmaşık ekipmanın gereksinimi ve bununla ilişkili yüksek maliyettir (Hulteen vd., 1999). Litografi, baskı için kullanılan kaynağa bağlı olarak iyon ışını litografisi, e-ışın litografisi ve X-ışını litografisi gibi birçok tipte olabilir.

İyon ışını litografisinde materyalin yüzeyinde yüksek çözünürlüklü bir model üretmek için ağır yüklü ve yüksek momentum iyonlarının bir ışını kullanılır. Bu nedenle nanometre ölçeğinde entegre devrelerin geliştirilmesinde kullanımı verimlidir. İyon ışını penetrasyon gücü, iyon enerjisinin dalgalanmasıyla ayarlanabilir (Watt vd., 2005).

Elektron ışını litografisi, küçük dalga boyuna sahip odaklanmış elektron ışını kullanılarak bir malzeme üzerinde desenler oluşturmak için kullanılır. Bu litografik süreç üç adımdan oluşur; hassas malzemenin açığa çıkarılması, direncin geliştirilmesi ve desen aktarımı (Gonzalez-Martinez vd., 2016). Numunenin üzerine elektrona duyarlı bir film veya direnç yerleştirilir ve litografi sırasında biriken enerji, kimyasal gelişme sürecinde ortaya çıkan gizli bir görüntü yaratır. Elektron ışınına maruz bırakıldığında direncin çözünürlüğü, direncin türüne bağlı olarak açıkta kalan kısımda veya işlem görmeyen kısımlarda seçici olarak daha fazla çözünür hale geldiği noktaya kadar değişir. Direnç, genellikle farklı çözücülere batırılarak giderilebilir. Elektron ışınının yoğunluğu ve enerjisi, direncin kalınlığı ve ışınlama süresi dikkate alınması gereken önemli parametrelerden bazılarıdır. Aşındırma ve kaldırma uygulanabilecek ana desen transfer yöntemleridir. Polimetil metakrilat (PMMA), yüksek çözünürlük ve kolay işleme avantajları nedeniyle yaygın olarak kullanılan direnç malzemesidir (Chen, 2015).

X-ışını litografisi, desenleri bir maskeden alt tabakanın yüzeyindeki bir dirence X ışınlarıyla aktarmak için kullanılan maskelenmiş bir litografik işlemdir. Prosedür, bir maskenin uygulanması ve silikon devre levhası yüzeyine direnç uygulanmasıyla başlar ve ardından X-ışınına maruz kalma takip eder. Fotorezistin (ışık direncine sahip materyal) içine bir senkrotrondan yayılan X ışınları nüfuz eder ve desenli maske soğurucu tarafından seçici olarak geçirilir veya engellenir ve direnci açığa çıkarmak için enerji depolanır. Bu prosedürde altın genellikle emici olarak kullanılır. Substrat üzerinde nano desenler veya nano yapılar oluşturmak için fotolitografiyle aynı gravür ve geliştirme tekniği kullanılır (Betancourt vd., 2021; Sebastian vd., 2020).

1.4.1.3. Lazer ablasyon

Lazer ablasyon tekniği ile sentez, hedef malzemeye çarpan ve yüzeyi aşındıran güçlü bir lazer ışınının kullanılmasıyla NP'lerin sentezini içerir. Bu yöntem, farklı farklı çözeltilerden NP sentezi için yaygın bir şekilde kullanılan bir yöntemdir. Sıvı bir çözeltiliye batırılmış bir metalin bir lazer ışınıyla ışınlanması NP'ler üreten bir plazma bulutunu yoğunlaştırır. Öncü malzeme lazer ışınımının yüksek enerjisi nedeniyle buharlaşır ve bu da NP oluşumuyla sonuçlanır (Amendola ve Meneghetti, 2009). Metal

bazlı NP'lerin sentezi için metallerin alışılagelmiş olan kimyasal indirgenmesine alternatif bir çözüm sağlayan güvenilir bir yukarıdan aşağıya yöntemdir. Bu yöntem herhangi bir stabilizatör madde veya kimyasal gerektirmeyen organik çözücüler ve su içinde NP'lerin stabil bir sentezini sağlamaktadır. Dolayısıyla bu sentez yöntemi çevreci bir yöntemdir (Nyabadza, 2023).

1.4.1.4. Püskürtme

Püskürtme, NP'lerin iyonlarla çarpışarak parçacıkların yüzeyden dışarı atılmasıyla bir yüzey üzerinde birikmesidir (Shah ve Gavrin, 2006). Püskürtme genellikle ince bir NP tabakasının biriktirilmesi ve ardından tavlama işlemidir. Katmanın kalınlığı, tavlama sıcaklığı ve süresi, substrat türü vb. NP'lerin şeklini ve boyutunu belirler (Lugscheider, 1988).

Püskürtme, nanomalzemelerden ince filmler üretmek için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir (Ayyub vd., 2001; Kulkarni, 2015). Bu tekniği kullanmanın temel avantajı, tekniği daha uygun maliyetli hale getiren stokiometrik ince filmlerin geliştirilmesidir. İnce filmler/NP'ler, katı yüzeylerin gaz ve plazma gibi yüksek enerjili partiküllerle bombardıman edilmesiyle elde edilir. Yüksek enerjili gaz halindeki iyonların hedef yüzey üzerinde bombardıman edilmesi sonucu küçük atomik kümelerin fiziksel olarak fırlatılmasıyla sonuçlanan NP'lerin birikmesi olgusudur (Bharti vd., 2020; Shah ve Gavrin, 2006; Son vd., 2017; Wender vd., 2013). Bu işlem, genellikle püskürtme gazının verildiği vakum altındaki bir alanda gerçekleştirilir. Katot (hedef) yüksek voltajla beslenir ve serbest elektronlar gazla çarpışarak gaz iyonları üretir. Pozitif yüklü iyonlar elektrik alanında hedefe doğru güçlü bir şekilde hızlandırılır ve bu da atomların yüzeyden fırlatılmasına neden olur (Muñoz-García vd., 2009; Nam vd., 2020). NP'lerin boyutunu ve şeklini belirlemekten sorumlu olan bazı önemli faktörler; substrat sıcaklığı, parçacıkların enerjisi ve tavlama süresidir (Bharti vd., 2020). Yüksek enerjili parçacıkların altlık üzerine bombardıman edilmesinin birçok yolu olabilir ve kaynak malzemenin değişimine bağlı olarak magnetron, radyo frekanslı diyot ve doğru akım (DC) diyot püskürtme olarak sınıflandırılabilir (Wender vd., 2013). Spintronik uygulamalar için çok katmanlı ince filmlerin/manyetik filmlerin geliştirilmesi de bu teknik ile mümkündür (Kulkarni, 2015). Püskürtme kullanılarak farklı gümüş, altın, demir, ferrit, bakır, bakır oksit ve çinko oksit NP'leri sentezlenmiştir (Asanithi vd., 2012; Das vd., 2016; Gunnarsson vd., 2015; Hu vd., 2013; Jaiswal vd., 2015; Peng vd., 2003; Rashid vd., 2015; Xing vd., 2016).

1.4.1.5. Termal Ayırışma

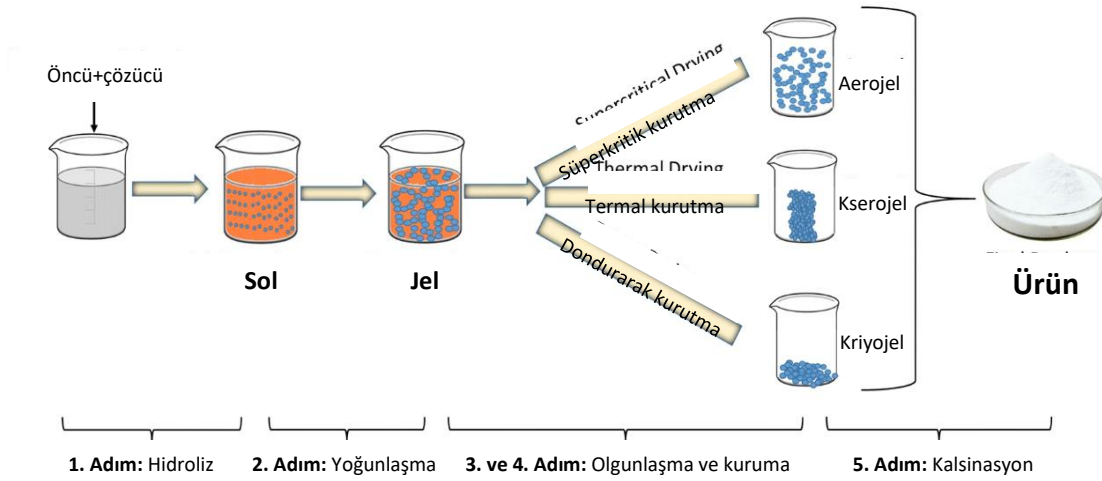
Termal bozunma, herhangi bir bileşikteki kimyasal bağları kıran, ısıyla üretilen endotermik bir kimyasal bozunmadır. Bileşikteki kimyasal bağ bu ısıyla kırılır (Salavati-Niasari vd., 2008). Ayırışma sıcaklığı, elementin kimyasal olarak ayrıştığı spesifik sıcaklık olarak tanımlanabilir. Bu yöntemde NP'ler, metalin belirli sıcaklıklarda ayrıştırılarak ikincil ürünler üreten bir kimyasal reaksiyona tabi tutulmasıyla üretilir (Ijaz vd., 2020).

1.4.2. Aşağıdan Yukarıya Sentez Yaklaşımı

Aşağıdan yukarıya veya yapıcı yaklaşım, malzemenin atomdan kümeler ve NP'lere kadar sentezidir. Sol-jel, döndürme, kimyasal buhar biriktirme, piroliz ve biyosentez NP sentezinde en yaygın kullanılan aşağıdan yukarıya yöntemlerdir. Yapıcı teknik aşağıdan yukarıya yaklaşımı tanımlamak için kullanılan bir terimdir (Sajid ve Plotka-Wasyłka, 2020). Aşağıdan yukarıya yöntem, yukarıdan aşağıya yöntemin tam tersidir. İyi tanımlanmış şekli, boyutu ve kimyasal bileşimi olan NP'ler, yapı taşları olarak atomların ve moleküllerin büyümesi ve kendiliğinden birleşmesi yoluyla oluşur (Abid vd., 2022).

1.4.2.1. Sol-jel Yöntemi

Sol, sıvı fazda asılı duran katıların kolloidal çözeltisi iken jel, bir çözücüye batırılmış katı makromoleküllerdir. Sol-jel, basitliği ve NP'lerin çoğunun bu yöntem kullanılarak üretilmesi sebebiyle sıklıkla kullanılan yapıcı metot çeşitidir. Ayrı parçacıklardan oluşan entegre bir sistem için öncü görevi gören kimyasal bir çözelti içeren ıslak kimyasal bir işlemdir. Metal oksitler ve klorürler sol-jel prosesinde tipik olarak kullanılan öncüllerdir (Bokov vd., 2021). Öncü daha sonra çalkalama, karıştırma veya sonikasyon yoluyla bir ana sıvı içinde dağıtılır ve elde edilen sistem bir sıvı ve bir katı faz içerir. NP'lerin geri kazanılması için sedimantasyon, filtrasyon ve santrifüjleme gibi çeşitli yöntemlerle faz ayrımı gerçekleştirilir ve kurutma yoluyla nem daha fazla oranda uzaklaştırılır (Mann vd., 1997). Sol-jel yöntemi, yüksek kaliteli NP'lerin yanı sıra karışık oksit kompozitlerin hazırlanmasında köklü sentetik yaklaşımlardan biridir. Bu yöntem, malzemelerin dokusu ve yüzey özellikleri üzerinde mükemmel kontrole sahiptir. Temel anlamda sol-jel yöntemi beş ana adımda tanımlanabilir. Bunlar, Şekil 5'de açıklandığı gibi hidroliz, polikondensasyon, olgunlaştırma, kurutma ve termal ayırışma basamaklarıdır (Gupta ve Tripathi, 2012).



Şekil 5. Sol-jel sentez yöntemi adımlar (Parashar vd., 2020).

1.4.2.2. Döndürme

NP'lerin döndürme yoluyla sentezi, bir döndürme diski reaktörü tarafından gerçekleştirilir. Bu, sıcaklık gibi fiziksel değişkenlerin kontrol altında tutulduğu ve değiştirilebildiği bir reaktör içerisinde bulunan dönen bir disk içerir. İstenmeyen reaksiyonların önüne geçebilmek adına genellikle reaktör içerisinde bulunan atmosfer inert gazlar ile oluşturulur (Tai, 2007). Disk, sıvının yani öncü maddenin ve suyun pompalandığı farklı hızlarda döndürülür. Döndürme, atomların veya moleküllerin birbirine kaynaşmasına neden olur ve çöker, toplanır ve kurutulur (Mohammadi, 2014). Sıvı akış hızı, disk dönüş hızı, sıvı/öncü oranı, besleme konumu, disk yüzeyi vb. gibi çeşitli çalışma parametreleri, sentezlenen NP'lerin özelliklerini belirler.

1.4.2.3. Kimyasal Buhar Birikimi Yöntemi

Kimyasal buhar biriktirme; yüksek kaliteli, yüksek performanslı katı malzemeler üretmek için vakum bazlı bir biriktirme işlemidir. Bu, bir organometalik veya halojenür bileşik ile diğer gazlar arasındaki kimyasal reaksiyonları içeren uçucu olmayan katı ince filmlerin alt tabakalar üzerine biriktirilmesine yönelik bir yöntemdir (Bryant, 1977). Kimyasal buhar biriktirme, malzemeyi altlık üzerine yerleştirmek için çok yönlü bir biriktirme yöntemi kullanması açısından fiziksel buhar biriktirmeden farklıdır. Oysa fiziksel buhar biriktirme saha hattı çarpma yöntemini kullanır. Kimyasal buhar biriktirme, mikrofabrikasyon tekniklerinde monokristalin, polikristalin, amorf ve epitaksiyel gibi çeşitli morfolojilerdeki malzemeleri biriktirmek için sıklıkla kullanılır. Fiziksel buhar biriktirmenin aksine kimyasal buhar biriktirmede gaz karışımı malzemenin toplu yüzeyi ile kimyasal olarak etkileşime girerek bazı spesifik gaz

elementlerinin kimyasal olarak parçalanmasına ve temel malzemenin yüzeyinde katı bir kaplama oluşmasına neden olur (Jones ve Hitchman, 2008; Shah ve Tali, 2016).

Kimyasal buhar biriktirme, değerli metallere ince filmler ve kaplamalar yapmak için kullanılan önemli bir malzeme hazırlama teknolojisidir. Atmosfer basıncında kimyasal buhar biriktirme, düşük basınçlı kimyasal buhar biriktirme, plazmayla geliştirilmiş kimyasal buhar biriktirme veya plazma destekli kimyasal buhar biriktirme ve lazerle güçlendirilmiş kimyasal buhar biriktirme dahil olmak üzere çeşitli kimyasal buhar biriktirme işlemleri mevcuttur. Fiziksel ve kimyasal buhar biriktirme özelliklerini birleştiren hibrit teknikler de ortaya çıkmıştır (Sun vd., 2021).

1.4.2.4. Piroliz

Piroliz, endüstrilerde NP'lerin büyük ölçekli üretimi için en yaygın kullanılan yöntemdir. Bir öncül maddenin alevle yakılmasını içerir (Kammler vd., 2017). Bazı fırınlar, kolay buharlaşma için yüksek sıcaklık üretmek amacıyla alev yerine lazer ve plazma kullanır. Pirolizin avantajları basit, verimli, uygun maliyetli ve yüksek verimle sürekli bir şekilde sentezin mümkün olmasıdır (D'Amato vd., 2013).

Lazer pirolizi önemli, kolay ve etkili buhar fazlı sentez yöntemlerinden biridir. Bu teknikte, NP öncüllerinden oluşan bir gaz akışını ısıtmak için seçici olarak bir lazer ışını kullanılır. Lazer ışını ile gaz halindeki öncüller arasındaki reaksiyon, sıcaklığı artırır ve dolayısıyla öncül ayrışır. Böylece NP'lerin çekirdeklenmesine neden olmaktadır (Reau vd., 2007). Bu tekniğin diğer bazı avantajları ise reaksiyon akışı, yüksek düzeyde saflık ve mükemmel kimyasal ve fiziksel özelliklerdir. Düşük güçlü bir CO₂ lazer kullanılarak ve çalışma parametreleri kontrol edilerek ortalama çapı 10 nm'nin altında olan çinko sülfür ve çinko oksit NP'lerinin lazer piroliz sentezi yapılmaktadır (Malekzadeh vd., 2020).

1.4.2.5. Biyosentez

Biyolojik varlıklar kullanılarak NP'lerin sentezi alışılmadık optik, kimyasal, fotoelektrokimyasal ve elektronik özelliklerinden dolayı büyük ilgi görmektedir (Chandrasekharan ve Kamat, 2000; Królikowska vd., 2003; Kumar vd., 2003; Pető vd., 2002). Canlı hücreler kullanılarak biyolojik yollardan NP'lerin yeşil sentezi, diğer ilgili yöntemlere göre daha verimli bir tekniktir ve yeşil sentezle daha yüksek miktarda NP sentezi gerçekleşir. NP'lerin yeşil biyosentezi, iyonların NP'lere indirgenmesini kolaylaştırmak için bitkiler, bakteriler, mantarlar veya diğer mikroorganizmalar (Şekil

6) gibi biyolojik sistemlerin kullanılmasını içerir (Armendariz vd., 2004; Hulkoti ve Taranath, 2014; Joerger vd., 2000; Sastry vd., 2003).



Şekil 6. NP'lerin biyosentezi (Osman vd., 2024).

NP'lerin yeşil sentezi; hücre dışı, hücre içi ve fitokimyasallar vasıtasıyla sentez olmak üzere üç gruba ayrılır. Bitkiler, yeşil NP'lerin sentezinde stabilize edici ve indirgeyici ajanlar olarak rol alabilen çeşitli bileşenlerin ve biyokimyasalların kaynağıdır. Yeşil sentez yöntemleri çevre dostudur, toksik değildir, uygun maliyetlidir ve ayrıca diğer biyolojik, fiziksel ve kimyasal yöntemlerle karşılaştırıldığında daha stabildir (Mustapha vd., 2022; Saravanan vd., 2021). Bitki ekstraktından NP sentezi ucuz bir prosestir ve bitki ekstraktındaki büyük miktarlardaki fitokimyasal bileşenler nedeniyle daha yüksek verimli sentez mümkündür ve bunlar aynı zamanda metal iyonlarını metal NP'lere dönüştüren indirgeyici ve stabilize edici ajanlar olarak da işlev görebilir (Jacinto vd., 2021; Keat vd., 2015).

Bu organizmalardaki enzimler, proteinler ve metabolitler gibi biyomoleküllerin doğal özellikleri bu sürece aracılık eder. Enzimler, katalitik reaksiyonlara ve karmaşık sentezlere katılabilirlerinden biyoteknoloji araştırmaları ve uygulamalarında muazzam bir potansiyele sahiptirler ve ek araştırmalar, enzimlerin veya bunların substratlarının

NP'lerin yüzeyine eklenmesinin katalizi artırabildiğini göstermiştir (Bilal vd., 2022; Bilal vd., 2023; Jin vd., 2023). Ayrıca enzimler metabolik reaksiyonları katalize ederek hücresel aktivitede önemli bir rol oynar (Chapman ve Stenzel, 2019). Dikkate değer katalitik verimlilik, esas olarak doğası gereği taranan ve düzenlenen aktif bölgedeki reaksiyon bileşenlerinin yakın etkileşimine atfedilebilir (Liu vd., 2017).

1.4.2.5.1. Bakteri Aracılı Nanopartikül Sentezi

Mikrobiyal hücreler tarafından nano boyutlu malzemelerin oluşturulması, metal NP sentezi için umut verici bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır. Mikrobiyal hücreler, altın, gümüş ve kadmiyum sülfid NP'lerin sentezi için potansiyel bir biyofabrika olarak kabul edilir (Bai vd., 2009; Correa-Llantén vd., 2013; Deplanche ve Macaskie, 2008; Ghorbani, 2013; Holmes vd., 1995; Hussein vd., 2007; Klaus vd., 1999; Shivaji vd., 2011; Sweeney vd., 2004). Bakterilerin hücre içi veya hücre dışı olarak inorganik maddeleri sentezlediği bilinmektedir. NP'ler, mikroorganizmalar çevrelerinden hedef iyonları aldıklarında ve daha sonra hücre aktiviteleri tarafından üretilen enzimler yoluyla metal iyonlarını dönüştürdüklerinde biyosentezlenir. NP'lerin olduğu yere göre hücre içi ve hücre dışı sentez olarak sınıflandırılabilir (Mann, 2001; Simkiss ve Wilbur, 2012). Hücre içi yöntem, enzimlerin varlığında NP'ler oluşturmak için iyonların mikrobiyal hücreye taşınmasını içerir. NP'lerin hücre dışı sentezi, metal iyonlarının hücre yüzeyinde tutulmasını ve enzimlerin varlığında iyonların indirgenmesini içerir (Zhang vd., 2011). Biyosentezlenen NP'ler, hedeflenebilen ilaç taşıyıcıları, kanser tedavisi, gen terapisi, DNA analizi, antibakteriyel maddeler, biyosensörler, manyetik rezonans görüntüleme dahil olmak üzere çeşitli uygulamalarda kullanılmıştır. Örneğin gümüş NP'leri mikroorganizma kullanılarak biyoindirgeme işlemiyle sentezlenir. Mikroorganizmaların ürettiği hücre dışı redüktaz enzimleri gümüş iyonlarını NP'lere çevirir. Mikroorganizmaların protein analizi, NADH'ye bağımlı redüktaz enziminin, gümüş iyonlarının gümüş NP'lere biyolojik olarak indirgenmesinde rol oynadığını ortaya koymaktadır. Redüktaz enzimi elektronlarını NADH'den alır ve bu daha sonra NAD^+ 'ya oksitlenir (Nies, 1999). Gümüş iyonlarının nanogümüş indirgenmesiyle aynı zamanda enzim de oksitlenir. Bazı durumlarda nitratla bağlı redüktazın biyolojik indirgemeye neden olabileceği gözlemlenmiştir. NP'lerin hızlı hücre dışı sentezinde indirgeme birkaç dakika içinde gerçekleşir (Benzerara vd., 2011; Sneha vd., 2010). Mikroorganizmalar tarafından NP'lerin sentezi için kullanılan çeşitli mekanizmalar arasında indirgeme veya oksidasyon yoluyla çözünürlük ve toksisitenin değiştirilmesi, spesifik metal taşıma sisteminin eksikliği, biyosorpsiyon, metallerin

hücre dışı kompleksleşmesi veya çökeltilmesi, biyobirikim ve akış sistemi yer alır (Husseiny vd., 2007). Kimyasal olarak sentezlenen nanomalzemelerle aynı özelliklere sahip nanomineral kristaller ve metalik NP'ler, mikroorganizmalar kullanılarak sentezlenebilmektedir. NP'lerin farklı boyutu, şekli ve bileşimi de mikroorganizmalar kullanılarak kontrol edilebilir. Örnek verilecek olursa manyetik NP'lerin sentezi manyetotaktik bakteriler kullanılarak rapor edilmiştir (Roh vd., 2001). Ayrıca gümüş madenlerinden izole edilen *Pseudomonas stutzeri* AG259'un gümüş NP'ler ürettiği gösterilmiştir (Joerger vd., 2000; Klaus vd., 1999).

1.4.2.5.2. Maya Aracılı Nanopartikül Sentezi

Mayaların laboratuvar koşullarında kontrol edilmesinin kolay olması, çok sayıda enzim sentezleme kabiliyetlerinin olması ve basit besinlerin kullanımıyla hızlı büyümelerinin doğal bir sonucu olarak NP'lerin seri üretiminin mümkün olması nedeniyle, maya suşları bakterilere göre daha kullanışlıdır (Kumar vd., 2011). Buna ek olarak çok sayıda yayın, maya türlerinin farklı ağır metalleri biriktirebildiğini ortaya koymuştur (Aibeche vd., 2022; García-Béjar vd., 2020; Nicula vd., 2023). Önemli miktarda yüksek derecede toksik metal biriktirme yeteneğine sahiptirler. Enzimatik oksidasyon veya redüksiyon, hücre duvarında emilim ve bazı durumlarda hücre dışı peptitler veya polisakkaritlerle şelatlanma, ağır metallerin hücreye doğru kontrollü hücre zarı taşınması veya hücre dışına aktif akışı, bu türler tarafından geliştirilen ve toksik etkilerin üstesinden gelen farklı mekanizmalardır (Breierová vd., 2002). Ağır metallerin negatif veya öldürücü etkilerinden kaçınmak için maya hücreleri tarafından hücre içi metal iyonlarının sıkı kontrolü gerekir. Hücrelerde toksisite, temel metal iyonlarının aşırı depolanmasından veya hücrenin cıva, kurşun veya kadmiyum gibi biyolojik önemi olmayan metallere maruz kalmasından kaynaklanır. Boyut, partikül konumu, monodispersite (tek dağılımlı, koloid) gibi özelliklerdeki önemli farklılıklar, NP sentezi için farklı cinslere ait maya suşları tarafından kullanılan farklı mekanizmalardan kaynaklanmaktadır. Maya hücrelerindeki detoksifikasyon mekanizmaları, glutatyon ve iki grup metal bağlayıcı ligand, metallothioneinler ve fitoşelatinler tarafından gerçekleştirilir. İncelenen maya türlerinin çoğunda bu moleküller, NP'lerin oluşum mekanizmasını belirler ve kompleksleri stabilize eder (Nies, 1999). Maya hücrelerinin emdiği metal iyonlarını hücre için toksik olmayan karmaşık polimer bileşiklerine dönüştürme kapasitesi direnç olarak tanımlanır. Basit ökaryotik organizmalar arasında yer alan mayalar, yarı iletken kristaller veya kuantum yarı iletken kristaller olarak da bilinen CdS ve PbS NP'lerin sentezi için başarıyla

araştırılmıştır (Dameron vd., 1989). Mayalar esas olarak yarı iletken NP'leri, özellikle kadmiyum sülfürü sentezleme yetenekleriyle bilinir. Son çalışmalar mayaların diğer NP'leri de oluşturma yeteneğini göstermiştir (Agnihotri vd., 2009; Gericke ve Pinches, 2006; Jha vd., 2009; Kowshikvd., 2002).

1.4.2.5.3. Mantar Aracılı Nanopartikül Sentezi

“Fungi” krallığına ait bilinen 80.000'den fazla mantar türü vardır (Britannica, 2008). Mantarlar tarafından NP sentezinin mekanizması iyi anlaşılmamasına rağmen metal iyonlarının organizmaların hücre duvarlarında veya sitoplazmasında bulunan enzimler ve proteinler tarafından indirgenerek metal iyonlarının birikmesine ve NP oluşumuna yol açtığı tahmin edilmektedir. Mantarlar tarafından NP'lerin biyolojik üretimi; bakteri, maya, alg, virüs ve bitki gibi diğer mikroorganizmalara göre bazı pratik avantajlara sahiptir. Bu bakımdan mantarlar, toleransları ve yüksek metal biyobirikim kabiliyetleri nedeniyle metalik NP'lerin biyosentezine yönelik araştırmalarda daha fazla ilgi çekmektedir (Sastry vd., 2003). Normalde büyük konsantrasyonlarda toksik metallere maruz kalmayan mantarlar, metal iyonlarının daha az toksik formlara indirgenmesine yardımcı olan daha yüksek konsantrasyonlarda protein üretme yetenekleri nedeniyle yüksek metal iyonu konsantrasyonlarını tolere edebilecek bir forma dönüşebilirler. Enzimlerin üretimi ne kadar yüksek olursa metal iyonlarının indirgenmesi de o kadar fazla olacaktır (Dhillon vd., 2012). Mantarların ölçek büyütme kolaylığı, onların NP sentezinde kullanmasının en önemli avantajlarından biridir. Mantarlar hücre dışı enzimleri çok etkili ve verimli bir şekilde salgılayabilir oldukları için mantarlardan geniş miktarda enzim üretimi elde etmek mümkündür (Castro-Longoria vd., 2011). Ekonomik ve kolay üretim prosesi ve biyokütle kullanım kolaylığı nedeniyle metalik NP'lerin sentezlenmesinde mantarların aracılık ettiği yeşil yaklaşımın kullanılması kayda değer diğer bir başka avantajdır. Üstelik bazı türler hızlı büyür ve bu nedenle bunların kültürü ve laboratuvarında tutulması çok basittir (Castro-Longoria vd., 2011). Ayrıca yüksek yüzey tutulumları ve hücre içi metal alımı çoğu mantarın becerisidir (Volesky ve Holan, 1995). Mantarlar, farklı kimyasal bileşimlerde ve boyutlarda NP'ler elde edilebilmek adına iyi tanımlanmış boyutlara sahip monodispers NP'lerin sentezinin mümkün olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Ahmad vd., 2002; Bansal vd., 2005; Bharde vd., 2006). Mantarlar, hücrelerinde çeşitli enzimlerin varlığı ve basit kullanımları nedeniyle metal ve metal sülfür NP'lerin sentezi için mükemmel bir aday olarak kabul edilir (Gericke ve Pinches, 2006; Kathiresan vd., 2009; Sanghi ve Verma, 2009).

1.4.2.5.4. Aktinomiset Aracılı Nanopartikül Sentezi

Aktinomisetler; çeşitli doğal aktivitelere sahip, gram pozitif, ipliksi bakterilerin önemli bir grubunu temsil eder ve aynı zamanda ışın mantarları olarak da adlandırılır. Hem prokaryotların (bakteriler) hem de ökaryotların (mantarlar) önemli özelliklerini gösterirler (Okami vd., 1988). Aktinomisetler, antitoksinler veya antibiyotikler gibi çeşitli ikincil metabolitleri üretme konusunda eşsiz bir kapasiteye sahiptir (de Amorim Silva vd., 2017; Menon vd., 2017; Salem ve Fouda, 2021). Aktinomisetlerin hücreden enerjiye bağlı iyon akışına dayalı kemiozmotik katyon, ATPaz veya proton anti-taşıyıcıları esas alarak kimyasal detoksifikasyon prensibi ile çalışan çeşitli metal direnç mekanizmalarına sahip olduğu bilinmektedir. Bu prensibi kullanarak aktinomisetler; hücre dışı çökeltme, biyomineralizasyon, indirgeme veya hücre içi biyobirikim yoluyla metal iyonlarını çözünmeyen, toksik olmayan metalik NP'lere kolayca detoksifiye edebilir (Kumari vd., 2020). Aktinomisetler, NP sentezini gerçekleştirmek için hücre içi proteinler, kofaktörler, çoğunlukla nitrat redüktaz ve hücre dışı enzimler gibi çeşitli indirgeyici ajanlara sahiptirler. Negatif yüklü hücre duvarı, pozitif yükü nedeniyle metal iyonlarını bağlar ve bahsedilen indirgeyici ajanlar tarafından metal NP'ler oluşturmak üzere metal iyonları indirgenir (Ahmad vd., 2003; Sowani vd., 2016; Waghmare vd., 2011).

1.4.2.5.5. Alg Aracılı Nanopartikül Sentezi

Algler; fotoototrofik, prokaryotik ve ökaryotik hücre yapılarına sahip, kumlu çöl bölgeleri dışında nemin olduğu her yerde yaşayan, bununla birlikte asıl yaşam alanları sucul ekosistemler olan 2 µm'den başlayarak 60 metre boya kadar uzayabilen türleri içeren organizma grubudurlar. Algler içerdikleri pigmentlere göre örneğin kahverengi algler (Phaeophyta), kırmızı algleri (Rhodophyta) ve yeşil algler (Chlorophyta) gibi bazı divizyoları içermektedirler (Prasad vd., 2013; Sahayaraj vd., 2012). Dünya üzerindeki çeşitli ekosistemlerde ve baskın fotosentetik organizmalarda yaşayan en ilkel organizmalardır (Fawcett vd., 2017). Algler, metalleri yüksek miktarda biriktirme ve onları NP'lere dönüştürme yeteneğine sahiptirler ki bu da onları yeşil sentez için en iyi seçeneklerden biri haline getirmektedir (Dhillon vd., 2012). NP sentezinde indirgeyici ve kapaklama malzemesi olarak görev yapan zengin bir ikincil metabolit, protein, peptid ve pigment kaynağı olarak alglere olan ilgi artmıştır ve son zamanlarda bilim çevrelerinin ilgi odakları alglere doğru kaymıştır (Patel vd., 2015). Üstelik hızlı üreme kapasitelerine, kolay hasat edilmelerine ve uygun maliyetli ölçek büyütme uygun olmaları onları, NP'lerin biyosentezi için uygun birer aday haline getirmektedir

(Chandran vd., 2011). Birçok metalik ve metal oksit NP, mavi-yeşil algler (Cyanophyceae), kahverengi algler (Phaeophyceae), yeşil algler (Chlorophyceae) ve kırmızı algler (Rhodophyceae) gibi çeşitli alg sınıfları kullanılarak sentezlenebilmektedir (Agnihotri vd., 2014; Husain vd., 2019; Liv vd., 2015; Namvar vd., 2015; Sahoo vd., 2014; Venkatpurwar ve Pokharkar, 2011).

1.4.2.5.6. Bitki Aracılı Nanopartikül Sentezi

Bitkiler, düşük maliyetli ve az bakım gerektiren doğanın kimya fabrikaları olarak bilinir. Ayrıca ağır metal detoksifikasyonunun yanı sıra çevresel kirlenmeler sorununun üstesinden gelebilecek kabiliyet konusunda olağanüstü bir potansiyele sahiptir (Shahid vd., 2017). Mikrobiyal kültürlerin korunmasının ve üretilmesinin bitkilere göre daha karmaşık olduğundan mikroorganizmalar gibi diğer bazı biyolojik sentezlerle karşılaştırıldığında bitki ekstraktı ile NP sentezinin avantajları vardır (Hulkoti ve Taranath, 2014). NP'lerin bitki aracılı sentezi; hızlı olması, düşük maliyetli sentez olanağı sağlaması, basit sentez adımlarıyla gerçekleştirilmesi, geniş çeşitlilik ve bol kaynak gibi birçok avantaja sahiptir. Bu nedenle bitki aracılı NP sentezi, dünya çapında bilim insanları arasında yaygın bir şekilde çalışma konusu haline gelmiştir (Bao vd., 2021). Bitki aracılı NP sentezinin diğer bir avantajı ise diğer biyosentetik sentez yaklaşımlarına göre daha yüksek miktarlarda sentez üretiminin mümkün olmasıdır. Bitkilerin; meyve, yaprak, gövde, kök gibi çeşitli kısımları ürettikleri mükemmel fitokimyasallar nedeniyle NP'lerin yeşil sentezinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Irvani, 2011). Bitkiler, NP'lerin sentezinde indirgeyici ve kapaklama ajanı olarak görev yapan alkaloidler, flavonoidler, terpenoidler, steroidler vb. içeren çok çeşitli biyoaktif bileşikler yapılarında bulundurmaktadırlar (Pandit vd., 2022). Bitki ekstraktı yoluyla sentez, toksik ara basamakların herhangi bir şekilde kullanılmasının önlenilebileceği çevre dostu ve ucuz bir süreçtir. Altın, gümüş, çinko oksit, demir gibi birçok NP, yeşil bir yaklaşım benimsenerek çok kolay bir şekilde sentezlenebilmektedir (Singh vd., 2018). Bitki ekstraktında bulunan polioller, terpenoitler, polifenoller gibi fitobileşikler metalik iyonların biyo-indirgenmesinde rol almaktadır (Ovais vd., 2018). Bitkisel aracılı NP sentezinde herhangi bir toksik kimyasal kullanılmadığından üretilen NP'ler; tarım, gıda, biyomühendislik, kozmetik, tıp ve hastalık teşhisi gibi çeşitli alanlarda kullanımları açısından yüksek biyolojik potansiyel sergilemektedir (Saravanan vd., 2021). Bitki aracılı NP'ler; iyi tanımlanmış şekil, boyut ve bileşimlere sahiptir (Hano ve Abbasi, 2021). Geleneksel NP sentez yöntemlerindeki toksik kimyasalların aksine bitki aracılı NP'lerin üretimi; bitki ekstraktında mevcut olan

polisakkaritler, amino asitler, enzimler, vitaminler, fenolikler, saponinler ve terpenoitler gibi tıbbi değerleri olan ve hem indirgeyici hem de stabilize edici ajanlar olarak görev yapan, çevresel olarak zararsız olan, çeşitli fitokimyasal metabolitler tarafından gerçekleştirilir (Akbar vd., 2020). Ek olarak NP sentezinde görev alan bu ajanlar sadece metal iyonlarını azaltmakla kalmaz aynı zamanda NP yüzeylerini işlevselleştirme eğilimindedir, bu da onların antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser uygulamaları için gerekli sinerjistik etkilere sahip olmalarına yol açabilmektedir (Gedikli vd., 2024; Muthu vd., 2021; Chavan vd., 2020). Normalde bir yeşil sentez olan bitki aracılı sentez; çubuk, küresel, kübik ve üçgen arasında değişen çeşitli şekil ve boyutları destekleyebilir (Bindhu vd., 2020; Medda vd., 2015). Farklı NP şekillerinin mikroorganizmalar üzerinde farklı etkileri vardır. Birçok çalışma biyosidal etki ile parçacık boyutu arasında; daha iyi temas veya hücreye alım nedeniyle ters orantılı bir ilişkinin olduğunu bildirmiştir (Fanoro vd., 2021).

1.5. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

NP'lerin morfolojik ve topografik özellikleri, bahsedildiği üzere NP'lerin biyoaktif özelliklerinin çoğunu etkilediğinden bu özelliklerin incelenmesi ve irdelenmesi önem arz etmektedir ve büyük ilgi görmektedir. Bu özellikler arasında NP'lerin boyutu, şekli, dağılımı, lokalizasyonu, topaklanması/toplanması, yüzey morfolojisi, yüzey alanı ve gözenekliliği yer alır (Joudeh ve Linke, 2022). NP'lerin morfolojik ve topografik özelliklerinin karakterizasyonu için aşağıdaki teknikler düzenli olarak kullanılmaktadır.

1.5.1. UV-Vis Spektrofotometrisi

UV-vis spektroskopisi, NP'lerin optik özelliklerinin karakterizasyonu için kullanılan basit ve yaygın bir tekniktir. UV-Vis gibi absorpsiyon spektroskopisinde, elektronların temel durumdan uyarılmış duruma geçişi ölçülür (Skoog vd., 2019). UV-Vis spektroskopisi, bir numunenin belli bir dalga boyunda ışığın emilimini veya yansımalarını ölçmek için görünür ışık ve UV ışığı kullanır (Patel vd., 2016). Genellikle UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi ile doğrulanan NP'ler, 300 ila 800 nm arasında değişen dalga boylarında analiz edilir. Belirli koşulları altında sentezlenen metalik NP'ler, fark edilebilir alanda nokta spektrumu verecek kadar güçlü absorpsiyona sahiptir (Khan vd., 2022). Önceki çalışma raporları, 200-800 dalga boyu emiliminin, 2-100 nm NP boyut aralığının sınıflandırılması için uygun olduğunu ortaya çıkarmıştır (Begum vd., 2022). Örneğin, *Trichoderma viride* Pers. tarafından üretilen gümüş

NP'lerin optik özelliklerinin karakterizasyonu için UV-vis spektrumu, gümüş NP'ler için karakteristik bir bant olan 405 nm'de bir gümüş yüzey plazmon bandının oluştuğunu göstermiştir. Çözeltideki gümüş NP konsantrasyonunun artması sonucunda bu bandın reaksiyon süresi boyunca yoğunluğu artmıştır (Fayaz vd., 2010).

1.5.2. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Bu teknik, absorbe edilen veya iletilen radyasyonun kaydedildiği bir malzemenin kızılötesi ışıkla ışınlanmasına dayanmaktadır. FTIR analizinde kızılötesi (IR) ışınlar numunenin gönderilir, IR ışınlarının bir kısmı numune tarafından tutulur ve geri kalan ışınlar numunenin içinden geçer. Spektrum, örnek maddeleri karakterize eden dalga boyunun bir fonksiyonu olarak absorpsiyon veya iletim sağlar (Rozali vd., 2023). Ortaya çıkan spektrum, numunenin benzersiz bir parmak izini temsil eder. Burada ilgili kimyasal bağlar, polarite ve numunenin oksidasyon durumu gibi numunenin doğası hakkında bilgiler elde edilebilir (Deepty vd., 2019; Manor vd., 2012). Bu teknik esas olarak yüzey kimyasal bileşimi veya NP'lerin işlevselleştirilmesi gibi organik malzemelerin karakterizasyonu için kullanılır. Aynı zamanda yüksek saflık arandığında kirletici maddelerin tanımlanması için de kullanılır (Chevali ve Kandare, 2016). Ayrıca biyosentetik NP'ler için FTIR genellikle NP'lerin yüzeyinde bulunan ve NP'lerin indirgenmesinden ve kapaklanmasından sorumlu olan olası fonksiyonel grupların tanımlanması için kullanılır. Bitki aracılı NP sentezinde kullanılan *Camellia sinensis* tarafından üretilen Ag NP'ler için FTIR sonuçları, Ag NP'lerin yüzeyinde indirgenmesinden ve kapaklanmasından sorumlu olabilecek ajanlar olarak kafein ve kateşin gibi *Camellia sinensis* (L.) Kuntze ikincil metabolitlerin varlığını göstermektedir (Naganthran vd., 2022; Rodrigues vd., 2020).

1.5.3. X-ışını Kırınımı (XRD)

XRD, bir materyalin X-ışınları ile ışınlanmasına ve daha sonra materyali terk eden X-ışınlarının yoğunluklarının ve saçılma açılarının ölçülmesine dayanmaktadır (Epp, 2016). Malzemelerin atomik yapısı XRD kullanılarak belirlenir. Hem niteliksel hem de niceliksel analiz için kullanılır. Kristal yapının belirlenmesi, kristal NP boyutlarının hesaplanması ve NP'lerin doğrulanması amacıyla kullanılır (Habeeb Rahuman vd., 2022). Bu teknik, NP fazını ve kristalliğin analizi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte numunelerin yüksek derecede amorf özelliklere sahip olduğu ve atomlar arası mesafelerin değiştiği veya NP'lerin birkaç yüz atomdan daha küçük olduğu durumlarda XRD'nin çözünürlüğü ve doğruluğu etkilenebilir (Khan vd. 2019).

1.5.4. X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS)

Bu teknik, NP'lerin kesin element oranlarının, kimyasal durumlarının ve tam bağlanma yapısının belirlenmesi için en hassas yaklaşım olarak kabul edilir (Khan vd., 2019). XPS, bir malzeme içindeki veya bir malzemeyi kaplayan elemanların yanı sıra kimyasal durumlarını yüksek hassasiyetle tanımlayabilen fotoelektrik etkiye dayanmaktadır (Fadley, 2010).

1.5.5. Enerji dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX)

Numunenin bir elektron ışınıyla ışınlanmasına dayanan bir tekniktir. Işındaki elektronlar numune yüzeyine çarptığında iç kabuk elektronlarını fırlatır ve dış kabuk elektronlarının iç kabuktaki boşluğu doldurmak için geçişi, X-ışınları üretir. Her element, benzersiz atom yapısından dolayı karakteristik bir X-ışını emisyon modeli üretir ve bu nedenle NP sentez doğrulamasında elementel içerik analizi gerçekleştirmek için kullanılmaktadır (Groarke vd., 2021). EDX'in dezavantajı, ortaya çıkan spektrumların yalnızca niteliksel bileşim bilgisi vermesidir. Bununla birlikte, zirve yoğunlukları bir dereceye kadar bir numunedeki bir elementin göreceli bolluğuna dair bir tahmin verir (Nasrollahzadeh vd., 2019). Bu teknik, karmaşık ek altyapılar gerektirmez; genellikle mevcut bir SEM'e veya TEM'e bağlanan küçük bir cihazdır. Bu, morfolojik karakterizasyon için SEM'in veya TEM'in kullanımına izin verir ve EDX, kimyasal bileşimin analizi için eş zamanlı olarak kullanılır (Goldstein vd., 2017).

1.5.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

SEM, numune yüzeyini düşük enerjili bir elektron ışınıyla tarar ve numuneden saçılan elektronları dedekte ederek numunenin bir görüntüsünü oluşturur. Bu teknik, numune yüzeyinin görüntülenmesi için kullanılır ve mikrografın tüm alanının odakta olduğu, büyük alan derinliğine sahip görüntüler sağlayabilir (Denk ve Horstmann, 2004). SEM'de, numunelere çarpma kadar mikroskopta dikey bir yol izleyen bir dizi mercekle kontrol edilen bir elektron ışını üretmek için bir elektron kaynağı kullanılır. Numune ışın tarafından vurulduğunda, numuneden elektronlar ve X-ışınları dışarı atılır (Egerton, 2005). Dedektörler daha sonra numunenin 3 boyutlu görüntüsünü oluşturmak amacıyla X-ışınlarını ve dağılmış elektronları toplamak için kullanılır. SEM, NP'ler hakkında boyut, şekil, toplanma ve dağılım gibi farklı bilgiler sağlar (Vladár ve Hodoroaba, 2020).

1.5.7. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)

TEM, iki boyutlu görüntülerle NP'lerin; boyutu, şekli, lokalizasyonu, dağılımı ve toplanması hakkında bilgi sağlar (Khan vd., 2009). TEM, çok ince bir elektron ışını numunenin çok ince bir bölümüne odaklayan bir elektromanyetik mercekle kullanılır. Bu ışın, elektronların numuneye saçıldığı veya nüfuz ettiği numunenin içinden geçer ve mikroskobun altındaki floresan ekrana çarpar. Elektron yoğunluklarındaki fark, numunenin görüntüsünü oluşturmak için kontrast olarak kullanılır. TEM'deki bu kontrast, numuneyle bu ışın etkileşimlerinin saptanmasına dayanır. TEM, yüksek çözünürlüklü bir görüntü sağlar ve çok sayıda spektrometrik teknikle karakterizasyona olanak tanır (Egerton, 2005). TEM görüntüleme, SEM yöntemleriyle karşılaştırıldığında nano boyutlu nesnelerin morfolojisi hakkında zengin veri sağlayabilir ancak ince numunelerin hazırlanmasının çok zor olabilmesi nedeniyle büyük bir dezavantaja sahiptir. TEM ayrıca elektron ışınının numunedeki seçilen bir alana odaklandığı ve saçılan elektronların bir kırınım modeli elde etmek için kullanıldığı seçilmiş alan elektron kırınımı (SAED) kullanılarak NP kristal yapısının karakterizasyonu için de kullanılabilir.

1.5.8. Taramalı Tünelleme Mikroskobu (STM)

STM, metalik bir ucun numune yüzeyine çok yakın bir yere getirildiği ve voltaj uygulamak için kullanıldığı kuantum tünelleme olgusuna dayanmaktadır (Egerton, 2005). Gerilim uygulandığında, numune yüzeyinden elektronlar çıkarılır ve bu, atomik çözünürlükte yüzeyin görüntüsünü yeniden oluşturmak için kullanılan bir elektrik akımı oluşturur (Kano vd., 2015). STM esas olarak NP'lerin topografyasını karakterize etmek için kullanılır. İnorganik NP'ler için bu teknikler NP'lerin morfolojik özelliklerinin belirlenmesinde mükemmel yaklaşımlar sunar. Organik NP'ler (veya biyolojik materyallerle kaplanmış NP'ler) için bu teknikler, kullanımlarına büyük kısıtlamalar getiren karmaşık numune hazırlamaları gerektirir. Bu teknikler için numune hazırlama, numunenin dehidrasyonuna neden olabilir ve bu da numunenin büzülmesine ve toplanmasına yol açabilir (Kumar ve Dixit, 2017).

1.5.9. Halka Şeklinde Karanlık Alan Görüntüleme (HAADF)

Bu yöntem, bir taramalı transmisyon elektron mikroskobu (STEM) kullanılarak bir numunenin element haritalaması için kullanılır. Görüntüler, halka şeklinde bir karanlık alan detektörü ile tutarsız bir şekilde saçılan elektronların toplanmasıyla oluşturulur (Otten, 1991). Karanlık alan TEM görüntüleme, numune tarafından kırılan

ışının fraksiyonunun tespit edilmesine dayanmaktadır. Bu yöntem, koyu arka plan üzerinde parlak bir nesneyi görselleştirir. TEM'in taranmasında kullanılan karanlık alan görüntüleme, NP'lerin ve biyolojik örneklerin boyanmadan ve nanometre altı uzaysal çözünürlükle görüntülenmesine olanak tanır (Liu, 2005). Hafif element matrisindeki (örneğin organik doku) ağır elementlerin (örneğin gümüş veya altın) dağılımını görüntülemek için STEM'deki esas olarak elektron etkileşimlerinden kaynaklanan yüksek açılı saçılmış elektronlardan yararlanılabilir. Tespit, elektron ışınının etrafındaki bir daireye yerleştirilen yüksek açılı halka şeklindeki karanlık alan (HAADF) dedektörü ile gerçekleştirilir (Vo-Dinh, 2007). Bu yöntem, numunedeki elementlerin atom numarasındaki değişikliklere karşı yüksek hassasiyet sunar ve genellikle ilgilenilen NP'ler nispeten ağır elementlerden oluştuğunda element bileşimi analizi için kullanılır. Görüntülerin kontrastı, atom numarası ve numune kalınlığı ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (Utsunomiya ve Ewing, 2003). HAADF, NP'lerin bakterilerle etkileşimini tanıırken, her bir bakteri türüyle etkileşime giren NP'lerin boyut dağılımı hakkında bilgi sağlar (Habeb Rahuman vd., 2022).

1.5.10. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)

AFM, NP'lerin dağılımını, toplanmasını, boyutunu, şeklini ve yapısını incelemek için kullanılmaktadır (Giessibl, 2003). AFM, NP'lerin desteklenen lipid çift katmanlarıyla etkileşimini gerçek zamanlı olarak karakterize etmek için kullanılabilir ve bu, mevcut elektron mikroskobu tekniklerinde mümkün değildir (Rao vd., 2007). AFM'nin değerlendirme için oksitsiz iletken bir yüzeye ihtiyacı yoktur. Ancak çapraz çubuğun boyutundan dolayı numunelerin yanal boyutlarında bir abartma vardır. Yanıt olarak yanlış ölçümlerin yapılmasını önlemek için çok dikkatli olunmalıdır (Grobelny vd., 2011).

1.5.11. Raman spektroskopisi

Bu teknik, bir numunenin bir lazer tarafından yayılan monokromatik ışıyla ışınlanmasına dayanmaktadır ve lazer ışığı ile moleküler titreşimler (fotonlar ve fononlar) arasındaki etkileşimlerin kaydedildiği bir tekniktir. Bu teknik, Raman saçılması olarak bilinen (Hintli doktor CV Raman'ın adını almıştır) elastik olmayan şekilde dağılmış fotonları kaydeder (Orlando vd., 2021). Bu tekniğin çıktısı, numunenin kimyasal ve molekül içi bağlanmasını karakterize etmek için kullanılır ve her numune için benzersiz bir parmak izi sağlar. Aynı zamanda numunenin kristalografik yönelimini karakterize etmek için de kullanılabilir (Huang vd., 2009). Yüzeyle güçlendirilmiş

Raman spektroskopisi (SERS), bir numunenin Raman saçılımını artırır ve moleküler yapıların tanımlanması için daha hassas, spesifik ve seçici bir teknik sağlar (Lin vd., 2020). Her iki teknik de numunenin optik özelliklerinin karakterizasyonu için kullanılır ve burada kaydedilen fotonlar ve fononlar, NP'lerin plazmonik rezonansını anlamak için kullanılır (Rostron vd., 2016).

1.6. Nanopartiküllerin Uygulamaları

Geçtiğimiz on yıllarda, nanoteknolojide ve nanomateriyal sentezinde kayda değer ilerlemeler olmuştur (Kreuter, 2007; Sajid ve Plotka-Wasyłka, 2020). Bahsedilen benzersiz veya fizikokimyasal özelliklerinden dolayı NP'ler, farklı alanlarda çok çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır. Ayrıca araştırma ve geliştirme aşamasında olan birçok potansiyel uygulama alanı bulunmaktadır. Bunların ışığında NP'lerin; biyomedikal, tarım, çevre, gıda, sensörler, elektronik ve daha fazla uygulama sahası dahil olmak üzere çeşitli alanlarda kullanımları artmaktadır. Tıbbi teşhis ve tedaviyi geliştirmek, tarımsal üretim verimliliğini artırmak, çevre kirliliğini azaltmak, gıda kalitesini iyileştirmek, verimli sensörler geliştirmek veya elektronik teknolojisinde yeniliği teşvik etmek için kullanılsa da NP'ler güçlü uygulama umutları göstermiştir. NP'lerin bu farklı sektörlerdeki olağanüstü yetenekleri; küçük boyutlarından, ayırt edici morfolojilerinden, geniş yüzey alanlarından ve farklı fiziksel ve kimyasal özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bu çok yönlülük ve yaygın uygulama potansiyeli, nanomateriyalleri bilim ve mühendislik alanlarında önemli bir araştırma konusu haline getirmiştir (Ali vd., 2021).

1.6.1. Nanopartiküllerin Antibakteriyel Uygulamaları

Kuşkusuz çevremizdeki zararlı bakteriler, insan vücuduna kolaylıkla sızabildikleri için önemli bir sağlık riski oluşturmaktadır. Ayrıca antibiyotiklerin aşırı kullanımı ilaç direncine yol açarak çeşitli enfeksiyonların tedavisini zorlaştırmaktadır. Nitekim antibiyotiklerin uzun süreli ve yanlış kullanımı antibiyotik direncinin oluşmasına yol açmış ve bu da hayvancılık, gıda, su gibi farklı yollarla halk sağlığını tehdit etmektedir (Cassandra, 2017; Ku vd., 2017). Bu nedenle devam eden araştırmalar, bu zorlu enfeksiyonlara karşı etkili antibakteriyel ajanları ortaya çıkarmayı amaçlamaktadır. Yeşil sentez NP'ler, çok çeşitli gram-negatif ve gram-pozitif bakterilere karşı umut verici antibakteriyel aktivite göstermiştir (Baysal vd., 2019; Davidović vd., 2019; Kredl vd., 2016; Medina-Ramirez vd., 2019). Ancak büyüme inhibisyonu ve bakterisidal etkilerin ardındaki mekanizmalar belirsizliğini korumaya devam etmektedir. Buna

karşın NP'lerin tam antibakteriyel mekanizmaları kapsamlı bir şekilde araştırılmakta ve farklı mikroorganizmaların farklı yapılarını etkileyen oksidatif stres indüksiyonu, metal iyonu salınımı ve oksidatif olmayan hasar dahil olmak üzere bazı süreçler açıklığa kavuşturulmaktadır (Correa vd., 2020). Özellikle NP'lerin morfolojileri, boyutları ve yüzey alanları gibi özellikleri bakteri hücrelerine nasıl zarar verdiklerinin belirlenmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Bu, NP'ler ile hücre duvarları/zarları arasındaki etkileşimleri veya NP'lerin bakteri hücrelerine nüfuz ederek bunların etkisiz hale gelmesine yol açmasını içerebilir.

1.6.2. Nanopartiküllerin Antikanser Uygulamaları

Dünya çapında her yıl kanserden dolayı şaşırtıcı sayıda ölüm meydana gelmektedir. Bu durum, bu kanser türleri için etkili tedaviler geliştirmeye yönelik devam eden araştırmaları teşvik etmiştir (Jahangirian vd., 2017). Kemoterapi, cerrahi ve radyoterapi gibi tedavi yaklaşımları hastalar için önemli riskler içermektedir. Bunlar arasında sağlıklı hücelere olası zarar, tümörlere yetersiz ilaç iletimi ve ilaç dengesizliği yer alır (Liu vd., 2021). Sonuç olarak, bu dezavantajları giderecek yenilikçi bir terapötik yaklaşım bulmak çok önemlidir. Yeşil sentez NP'ler, çeşitli kanser hücresi türlerine karşı olağanüstü antikanser etkiler göstermiştir (Abu-Huwaij vd., 2020; Bukhari vd., 2021; Patil ve Kim, 2017). Bitki aracılı sentezlenen metal veya metal oksit NP'leri; HeLa, Hep 2 ve HCT 116 hücre hatları gibi farklı kanser hücre hatları üzerinde antikanser etkilere sahiptir. Bugüne kadar çeşitli çalışmalar, bitki aracılı NP'lerin kanser hücresi büyümesini kontrol etme yeteneğine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Daha iyi sitotoksik etki, hazırlanan ortamdaki ikincil metabolitler ve bazı diğer metal olmayan bileşimlerden kaynaklanmaktadır (Akhtar vd., 2013; Raghunandan vd., 2011). Örnek olarak biyosentez gümüş NP'ler kan dolaşımındaki hücre döngüsünü ve enzimleri tetiklemiştir (Das vd., 2013). Ayrıca bitki aracılı NP'ler hücrede serbest radikal oluşumunu kontrol edebilme yeteneğine sahiptir. Serbest radikaller normalde hücre çoğalmasının nedenidir ve normal hücre fonksiyonuna zarar verir. Orta miktardaki altın NP'leri, tümör hücrelerinde apoptoz mekanizmasını tetiklemektedir (Alt vd., 2004). Metal ve metal oksit NP'lerin farklı türdeki kanser hücrelerini teşhisinde ve hastalığın tedavi edilmesinde kullanıldığı kanıtlanmıştır. Bitki aracılı NP'ler, normal hücre hattını bozmadan antikanser etki göstermeleri devrim yaratmıştır.

1.6.3. Nanopartiküllerin İlaç Dağıtım Sistemlerindeki Uygulamaları

Terapötik bileşiğin hedef bölgeye ulaştırılması birçok hastalığın tedavisinde büyük bir sorundur. İlaçların geleneksel uygulaması; sınırlı etkinlik, zayıf biyolojik dağılım ve seçicilik eksikliği ile karakterize edilir (Nevozhay vd., 2017). Kontrollü bir salım sağlamak ve maksimum terapötik etkiyi elde etmek için ilaçları hedef bölgelerine hassas ve güvenli bir şekilde doğru zamanda ulaştırmak, yeni ilaç dağıtım sistemlerinin tasarımında ve geliştirilmesinde önemli bir konudur. Nanoteknolojideki son gelişmeler, NP'lerin ilaç taşıyıcı olarak büyük bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Küçük boyutları nedeniyle nanoyapılar, onları biyomedikal uygulamalar için uygun bir malzeme haline getiren benzersiz fizikokimyasal ve biyolojik özellikler sergiler (Wilczewska vd., 2012). Hedeflenen nanotaşıyıcılar, hedef hücrelere ulaşmak için kan-doku bariyerlerinden geçmek zorundadır. Hücresel bariyerler boyunca spesifik endositotik ve transsitotik taşıma mekanizmaları yoluyla sitoplazmik hedeflerle temas kurmak için hedef hücrelere girmeleri gerekir (Fadeel ve Garcia-Bennett, 2010). Küçük boyutlarından dolayı, NP ilaç taşıyıcıları kan-beyin bariyerini ve normalde ilaçların istenen hedef bölgeye dağıtımını engelleyen derinin sıkı epitelyal bağlantılarını atlayabilir. İkinci olarak, yüksek yüzey alan/hacim oranının bir sonucu olarak, nanotaşıyıcılar iyileştirilmiş farmakokinetik ve terapötik ajanların biyolojik dağılımını sağlayabilirler ve böylece hedef bölgede tercihli birikimleri yoluyla toksisiteyi en aza indirebilirler (Vaidyanathan vd., 2009). Hidrofobik bileşiklerin çözünürlüğünü arttırırlar ve bunları parenteral uygulamaya uygun hale getirirler. Ayrıca peptitler ve oligonükleotitler gibi çeşitli terapötik ajanların stabilitesini arttırırlar (Emerich ve Thanos, 2006). Optimize edilmiş fizikokimyasal ve biyolojik özelliklere sahip nanotaşıyıcılar, hücreler tarafından daha büyük moleküllere göre daha kolay alınır, dolayısıyla mevcut biyoaktif bileşikler için dağıtım araçları olarak başarılı bir şekilde kullanılabilirler (Suri vd., 2007). İlacın nanotaşıyıcıya bağlanma şekli ve hedeflenme stratejisi, hedefe yönelik tedavi için oldukça önemlidir. Bir ilaç, nanotaşıyıcının yüzeyine adsorbe edilebilir veya kovalent olarak bağlanabilir veya bunun içine kapsüllenebilir. Lipozomlar, katı lipid NP'leri, dendrimerler, polimerler, silikon veya karbon malzemeler ve manyetik NP'ler, ilaç dağıtım sistemleri olarak test edilen nanotaşıyıcıların örnekleridir (Rejinold vd., 2011; Saraogi vd., 2010; Tripisciano vd., 2010; Tong vd., 2011; Wu vd., 2010; Yang vd., 2006).

1.6.4. Nanopartiküllerin Tarımdaki Uygulamaları

Nanoteknoloji, sürdürülebilir tarım uygulamaları için büyük bir umuttur ve geleneksel tarım uygulamalarını hassas tarım uygulamalarına dönüştürmesi beklenmektedir. Hassas tarım, çevresel değişkenlerin izlenmesi ve her duruma göre kontrollü hedefe özgü eylemlerin uygulanması yoluyla mahsul veriminin iyileştirilmesi için kullanılan dengeli bir tekniktir (Chen ve Yada, 2011). NP'ler mevcut tarım ve çevre sorunlarına yeni çözümler sunarak tarım alanına fayda sağlama potansiyeline sahiptir. NP'ler tarımda çoğunlukla nanogübre ve nanopestisit olmak üzere iki şekilde kullanılmaktadır.

Nanogübre, büyüyen bitkilere bir veya daha fazla türde besin sağlamaktan, büyümelerini desteklemekten ve üretimi geliştirmekten sorumlu olan nanomateriyallerdir (Liu ve Lal, 2015). Kimyasal gübrelerin sızıntı ve buharlaşma nedeniyle verimleri düşüktür. Bu durumlarda, çiftçiler genellikle aşırı miktarda gübre kullanarak bunun üstesinden gelirler ve bu, mahsulün verimliliğini artırır ancak bunun çevresel etkilerinin de bir maliyeti vardır (Usman vd., 2020). Buna karşılık nanogübreler, normal kimyasal gübrelere göre daha az miktarlarda uygulanan ancak yine de daha iyi verimliliğe sahip bileşiklerdir (Rameshaiah vd., 2015). Verimlilikteki fark, besin maddelerini bitkilerin ihtiyaç duyduğu zamanda ve yerde serbest bırakabilmelerinden kaynaklanmaktadır. Bu şekilde, fazla miktardaki gübrenin gaz formlarına dönüşmesini veya yer altı suyuna sızmasını sınırlandırır (Mastronardi vd., 2015). Gübrelerin geliştirilmesinde SiO₂, ZnO, CuO, Fe ve Mg NP'ler dahil olmak üzere çeşitli NP'ler kullanılmıştır (Changmei vd., 2002; Delfani vd., 2014; Dimkpa 2017). Nanogübreler üç kategoriye ayrılabilir; bitki büyümesini artıran titanyum dioksit, silika ve karbon nanotüpler gibi NP'ler; bakır, çinko, demir, molibden, nikel ve manganez dahil olmak üzere mikro besinler ve son olarak makro besinler olarak fosfor, kalsiyum, nitrojen ve potasyumdur. Özellikle araştırmalar, fosfatlı nanogübrelerin, geleneksel gübrelerle karşılaştırıldığında soya fasulyesi büyümesinde %32'lik kayda değer bir artışa ve tohum üretiminde %20'lik bir artışa sebep olduğu göstermiştir (Liu ve Lal, 2015). Ayrıca, potasyum ve azot ile birleştirilmiş kalsiyum fosfat nanomateriyaller, bitkinin azot ihtiyacını geleneksel gübrelere göre yaklaşık %40 daha fazla azaltma potansiyeline sahiptir. Bu nanogübreler bitkilere; artan azot fiksasyonu, gelişmiş tohum çimlenmesi, kuraklık stresine karşı iyileşme, artan tohum ağırlığı ve artan fotosentez yeteneği sağlar (Changmei vd., 2002; Dimkpa, 2017; Delfani vd., 2014). Bu NP'lerin geniş yüzey alanı ve küçük boyutu, nanogübrelerin geleneksel gübrelere göre daha verimli olmasının ana nedenleridir (Dikshit vd., 2021).

Bitki hastalıkları acil bir sorun teşkil etmekte ve küresel tarımda yıllık yaklaşık 220 milyar dolarlık zarara yol açmaktadır (Wang ve Nguyen, 2018). Tarımsal verimin düşmesinin neden olan protozoa, böcekler, mantarlar, solucanlar, parazitler, bakteriler ve virüsler de dahil olmak üzere çeşitli zararlıları küresel çapta tarımsal ürün kayıplarına neden olmaktadır. Buna karşılık biyolojik ve kimyasal pestisitler, modern tarımın bu problemini çözecek şekilde ilerleme kaydetmiştir (Kaur vd., 2022). Ancak son yıllarda tarım sektöründe yeni bir teknolojinin ortaya çıkışına tanık olmaktayız. Bu, nanopestisitlerdir. Nanopestisitler, salınımlarını düzenlemek, stabiliteyi arttırmak ve seçiciliği geliştirmek için pestisitlerin kapsüllenmesini içerir. Geleneksel pestisitlerin polimerler veya metal NP'ler ile nanoformülasyonu, pestisit endüstrisinin oldukça zorlu bir alanıdır. Pestisit nanokapsülasyonu, uzun bir süre boyunca düşük doz salınım sağlayan ve istenmeyen bir durum olan pestisit ortamına aşırı salınımını azaltan, nanokapsülün dış kabuğundaki manipülasyonla aktif bileşenin kontrollü ve yavaş salınımı açısından avantajlıdır (Agrawal ve Rathore, 2014; Pérez-de-Luque ve Rubiales, 2009). Aktif bileşenin saha hedefli dağıtımı ve stabilitesi, bitki korumada nanotaşıyıcıların bir başka avantajıdır (Nair vd., 2010). Benzer şekilde su veya yağ ile nanoemülsiyon, pestisit farklı zararlılara karşı çözünürlüğünü ve etkinliğini artırır (Liu vd., 2006; Wang vd., 2007). Nanopestisitler, normalde çözünmeyen aktif bileşenlerin çözünürlüğünün artırılması, küçük parçacık boyutları nedeniyle hareketliliğin artırılması, etkili işleyişin zaman içinde uzatılması ve zararlı bileşenlerin varlığının azaltılması dahil olmak üzere bir dizi dikkate değer avantaj sunmaktadır (Athanasios vd., 2018). Bu kapsamlı ve çok sayıdaki avantajlar, küresel ölçekte karşılaşılan acil tarımsal zorluklara uygulanabilir ve umut verici bir çözüm sunmaktadır.

1.6.5. Nanopartiküllerin Gıda Endüstrisindeki Uygulamaları

Gıda üretimi, ekosistemin korunmasının yanı sıra insani gelişme ve refahla da doğrudan ilişkilidir. Dünya nüfusunun sürekli artması, mevcut çevresel tehlikeler, küresel iklim değişikliği, enerji kaynaklarının kıtlığı ve ekilebilir alanların daralmasıyla birlikte, gıda üretimini ve gıda kalitesini artırmak ve iyileştirmek için modern teknolojilerin kullanılması zorunludur (Naseer vd., 2018). Gıda ürünlerinin güvenliğini ve tazeliğini sağlamak gıda sektörünün temel amacıdır. Meyve ve sebzelerin tazeliğini uzun süre korumak, potansiyel mikrobiyal kontaminasyon ve doğal bozulma nedeniyle hayati bir zorluk teşkil etmektedir. Ayrıca gıda ürünlerinin kalitesi depolama ve tedarik zinciri sırasında bozulabilir (Martínez-Molina vd., 2022). Nanoteknolojinin gıda ve yem işlemede kullanımı üretim, paketlenme, depolama, nakliye ve katma değer tüm

aşamalarında uygulanabilir. Nanoteknolojinin gıda sektöründe maliyetler, çevresel tehlikeler, kayıpları önlemek için birçok yararlı etkisi vardır. Bu güçlü teknolojinin çeşitli problemlerle mücadele etme konusundaki muazzam potansiyeli ve yeteneği vardır (Mousavi ve Rezaei, 2011). Sonuç olarak, bu ürünlerin raf ömrünü uzatmak için gıda paketlenme prosesinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Yeşil nanomalzemeler, topaklanma önleyici maddeler, nanokatki maddeleri ve antimikrobiyal maddeler de dahil olmak üzere gıda sektöründe yaygın olarak uygulanmaktadır. Gıda kalitesini izleme ve kaydetme yeteneğine sahip, kalite sensörleri olarak görev yapma potansiyelleri nedeniyle gıda ambalajlama proseslerinde değerlidirler (Ezhilarasi vd., 2013). Toksikolojik kaygılara rağmen NP'lerin gıda üretimi, muhafaza ve paketlenme gibi gıda endüstrisi ile ilgili birçok süreçte etkili uygulamaları vardır. TiO_2 NP'leri bu endüstride gelecek vaat eden önemli yere sahiptir. Fotokatalitik antimikrobiyal aktiviteleri onları gıda ambalajı için ilginç bir malzeme haline getirmektedir (Othman vd., 2014). Ayrıca uçucu organik bileşikler tespit etmek için sensörlerde de kullanılırlar (Cui vd., 2016). Ag NP'ler antimikrobiyal aktivitelerinden dolayı gıda ambalajlarında da umut vericidir. Patojen riskinin azaltılmasında ve gıdanın raf ömrünün uzatılmasında önemli bir rol oynarlar (Dikshit vd., 2021). Ag ve ZnO NP'lerin et, ekmek, meyve ve süt ürünlerine yönelik bozunabilen ve bozunamayan ambalaj malzemelerine katkılanmasının etkinliği çeşitli maya, küf, aerobik ve anaerobik bakterilere karşı test edilmiştir (Carbone vd., 2016). Örneğin, Ag NP'lerle katkılı polivinil klorür, buzdolabı sıcaklığında (4 °C) kıyılmış etin paketlenmesi için değerlendirildi; sonuçlar, Ag NP'lerin, kıyılmış etin raf ömrünü 2 günden 7 güne çıkararak bakteriyel büyümeyi yavaşlatmaya önemli ölçüde yardımcı olduğunu gösterdi (Mahdi vd., 2012). Bununla birlikte, gıda endüstrisindeki tam potansiyelini açığa çıkarmak için nanomateryal toksisitesinin kapsamlı bir değerlendirmesi zorunludur (Dikshit vd., 2021). Ayrıca nanomateryallerin gıda sektöründe üretimi ve uygulanmasına ilişkin düzenlemelerin yapılması da uygulama için gereklidir.

1.6.6. Nanopartiküllerin Diğer Sektör ve Alanlardaki Uygulamaları

NP'ler, benzersiz elektronik ve optik özelliklerinden dolayı görüntüleme teknikleri ve elektronik alanında geniş bir potansiyel uygulama potansiyeline sahiptir. Gadolinyum (Gd) bazlı NP'ler, manyetik rezonans görüntülemede görüntüleme kalitesini iyileştirebilir. Gd_2O_3 NP'lerin kontrast madde olarak kullanımının, aynı konsantrasyonda yaygın olarak kullanılan maddeden daha etkili olduğu bulunmuştur (Bouzigues vd., 2011). Ayrıca tahılların depolama sistemleri içindeki böcek veya

haşerelerin varlığını tespit etmek için nanosensörler Kanada’da geliştirilmiştir ve düşük güç gereksinimi, hafiflik ve kolay kurulum avantajına sahiptir (Neethirajan vd., 2009). Maya hücreleri tarafından biyosentez olarak elde edilen Au-Ag alaşım NP’lerin hassas bir elektrokimyasal vanilin sensörünün üretilmesi için uygulandığını çalışmada Au-Ag alaşım NP’leri ile değiştirilmiş camı karbon elektrota dayanan vanilin sensörünün, vanilinin elektrokimyasal tepkisini en az beş kat artırabildiğini ortaya çıkarmıştır (Zheng vd., 2010).

NP’ler güçlü antioksidan etkiler göstermektedir. Buna örnek olarak potansiyel biyolojik uygulamalar için *Atriplex halimus* L. aracılı platin NP’lerin sentezlendiği çalışmada platin NP’leri ile muamele edildiğinde 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikalinin (DPPH) süpürülme yüzdesinde önemli bir artış gözlemlenmiştir. Platin NP’lerin konsantrasyonu %12.5’ten 50 mg/ml’ye yükseldikçe DPPH süpürme yüzdesi %13.8’lik başlangıç değerinden çarpıcı bir şekilde %72’ye yükselmiştir. Ayrıca *Atriplex halimus*’un DPPH’ye karşı temizleme aktivitesi, bitki ekstraktının konsantrasyonu 50 mg/ml’ye yükseltildiğinde %48.35 olarak ölçülmüştür. Pozitif kontrol grubu olarak C vitamini, platin NP’leri ve *Atriplex halimus* ile karşılaştırıldığında DPPH’ye karşı daha düşük bir süpürme yüzdesi göstermiştir. C vitamininin temizleme oranı 50 mg/ml konsantrasyonda %47.8’e ulaşmıştır (Eltaweil vd., 2022).

Yeşil çay ekstraktı yoluyla biyosentezlenen demir NP’ler, metilen mavisi ve metil oranj boyaların sulu çözeltilerinin renklerinin giderilmesi için fenton benzeri bir katalizör olarak kullanılmıştır ve sodyum borohidrürün indirgenmesiyle üretilen demir NP’lerle karşılaştırıldığında, biyosentezlenen demir NP’ler daha hızlı ve daha yüksek miktarda boya giderimi sergilemektedir (Shahwan vd., 2011). İki farklı bakteri türü aracılığıyla sentezlenen PbS ve ZnS içi boş NP’ler kullanılarak fuksinin fotokatalitik bozunması gösterilmiştir (Zhou vd., 2009). Coomassie Brilliant Blue G-250 boyasının UV ışığı varlığında *Coccinia grandis* (L). Voight yapraklarının sulu ekstraktı aracılı sentezi gümüş NP’ler tarafından fotokatalitik bozunması sağlanmıştır (Arunachalam vd., 2012). Ayrıca yeşil NP’ler, topraktaki boyalar ve ağır metaller gibi kirletici maddelerin zararsız hale getirilmesinde dikkate değer bir etkinlik göstermiştir. Bu durum, onların olağanüstü reaktivitelerine, düşük toksisitelerine ve önemli yüzey alanına sahip olmalarıyla ilişkilendirilir (Wang vd., 2019).

1.7. Çalışmanın Amacı

Planlanmış olan bu çalışmayla *Morus nigra* L. meyvelerinden ve yapraklarından elde edilen ekstraktlar kullanılarak belirlenen metal tuzlarından kararlı NP’ler

sentezlemek için optimum kriterleri belirlemek ilk hedef olarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonraki safhalarında ise sentezlenecek olan NP'lerin antioksidan, antidiyabetik, boya şelatlama, antimikrobiyal, antikanser aktiviteleri; MIC (minimal inhibitör konsantrasyon), MBC (minimal bakteridial konsantrasyon) değerleri ve belirlenmiş olan klinikte kullanılan antibiyotiklerle sinerjileri belirlenecektir. Böylelikle sentezlenmiş olacak NP'lerin biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmektedir. Özellikle yeşil sentez NP'lerin antibiyotiklerle sinerjisi sınanarak modern tıbbın karşılaşacağı kaçınılmaz bir son olarak düşünülen antibiyotik direnci sorunu üzerine yeni bir perspektif sunulması amaçlanmaktadır.

Yapılan literatür çalışması sonucu; *Morus nigra* bitkisinin yapraklarının ve özellikle meyvelerinin yüksek miktarlarda sekonder metabolit içerdiği görülmüştür (Hojjatpanah vd., 2011). Ayrıca yine literatür taraması sonucu; seçilmiş olan bitki üzerine yeşil sentez nanopartikül sentezinin yeterince irdelenmediği ve yapılan çalışmalarda özellikle antibiyotik direnci üzerine antibiyotiklerle sinerji çalışması yapılmadığı görülmüştür. Bu çalışmayla birlikte literatürdeki bu açığın giderilmesi amaçlanmaktadır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar

Tez çalışmasında kullanılan cihazlar Tablo 1’de listelendi.

Tablo 1. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar

Cihazlar		
Adı	Markası	Modeli
Analitik H. Terazı	Kern	ABJ-NM/ABS-N
Etüv	Daihan Scientific	ThermoStable IG-105
GPS Cihazı	Magellan	Explorist 610 GPS Unit
McFarland Densimetresi	Grant Instruments	DEN-1B
Mikroplaka Okuyucu	Thermo Scientific	Multiskan Go
pH Metre	Metler Toledo	SevenCompact S210
Soğutmalı Santrifüj	Beckman Coulter	Allegra X-30R Centrifuge
Su Banyosu	Memmert	WNE 10
Ultrasonik Su Banyosu	Wisd Laboratory Instruments	WUC-D10H
Vorteks	Heidolph	Reax Top Vortex Mixer
Otoklav	HMC Hirayama	HV-50L
FTIR Cihazı	Perkin Elmer	UATR Two

2.1.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Sarf Malzemeler

Sodyum karbonat, alüminyum klorür, potasyum persülfat, potasyum asetat, ABTS, DPPH, kuersetin, troloks, kloramfenikol, nalidiksik asit, novobiosin, α -glukozidaz ve α -amilaz Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich Chemical Co., ABD) firmasından; etanol, dimetil sülfoksit, folin ciocalteu fenol reaktifi, askorbik asit, gallik asit, kuersetin, gümüş nitrat, bakır sülfat, demir sülfat, demir klorür ve çinko klorür Merck (Merck KGaA, Almanya) firmasından temin edildi.

2.1.3. Örneklerin Toplanması ve Tür Teşhisinin Yapılması

Karadut meyve ve yaprak örnekleri (Şekil 7) 13.05.2023 tarihinde, Elazığ’da hasat edildi. Küresel konumlama (GPS) cihazı ile örneklerin toplandığı lokasyon; 5 m

hassasiyetle 38°34'46'' kuzey-39.18'22'' güney, rakım 876 m olarak belirlendi. Karadut meyveleri, ezilme riskine karşın küçük ağırlıklara ayrıldı. Hava almayacak şekilde paketlenildi ve soğuk zincir kuralları içerisinde taşınarak -20 °C'de muhafaza edildi.

Ayrıca tür teşhisi, Artvin Çoruh Üniversitesi'nden Dr. Öğr. Üyesi Nurşen AKSU KALMUK tarafından yapıldı ve Aksu 439 kodu verilerek *Morus nigra* olarak herbaryuma kaydedildi.



Şekil 7. Çalışmada kullanılmak üzere örneklerin toplanması

2.2. Metot

2.2.1. Çözeltilerin Hazırlanması

1. Stok çözeltilerin hazırlanması;

- Gallik asit stok çözeltisi: Analitik hassas terazi kullanılarak 5 mg gallik asit tartıldı. Tartılan gallik asit balon jojeye aktarıldı ve çözücü olarak seçilen ASC dereceli etanol ile tamamen çözüldü. Daha sonra 10 ml'ye tamamlandı ve böylelikle 500 µg/ml'lik gallik asit stok çözeltisi hazırlanmış oldu. Stok çözeltinin muhafazası için +4 °C'de saklandı.

- Troloks stok çözeltisi: 5 mg troloks tartılıp 10 ml'lik balon jojeye konuldu. Troloks çözeltisi hazırlamak için çözücü olarak etanol kullanıldı. Hazırlanmış olan 500 µg/ml yoğunluğundaki stok çözelti +4 °C'de buzdolabında muhafaza edildi.

- Kuersetin stok çözeltisi: Analitik hassas terazi yardımıyla 5 mg ağırlıkta tartılan standart kimyasal 10 ml hacme sahip volumetrik flask içerisinde çözücü olarak seçilen etanol ile çözüldü. Daha sonra hacim tamamlandı. Hazırlanmış olan standart

stok çözeltinin ışıktan muhafazası için balon joje, alüminyum folyo ile sarılarak oda şartlarında saklandı.

- Askorbik asit stok çözeltisi: 10 mg olarak tartılan askorbik asit bir miktar ultra saf su ile tamamen çözündürülerek 10 ml hacimdeki volumetrik flaska aktarıldı ve çözücü ile hacim tamamlandı.

- Akarboz stok çözeltisi: Hassas terazide 10 mg olarak tartılan standart, bir miktar PBS (pH 7.2) ile iyice çözüldü ve daha sonra 1000 µg/ml konsantrasyonda olacak şekilde balon jojede PBS ile tamamlandı.

- FeSO_4 stok çözeltisi: 18.3 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ hassas terazi kullanılarak tartıldı ve bir miktar ultra safsu ile tamamen çözüldü. Daha sonra 100 ml'lik volumetrik flaska aktarılan çözelti ultra safsu ile hacim çizgisine kadar tamamlandı ve böylelikle 1000 µg/ml'lik FeSO_4 standart stok çözeltisi hazırlanmış oldu.

2. Toplam fenolik içerik analizinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması;

- 1/10 (v/v) Folin-Ciocalteu fenol reaktifi çözeltisi: 0.25 ml Folin-Ciocalteu fenol reaktifi 2.5 ml'lik volumetrik flaska otomatik pipet yardımıyla aktarıldı ve daha sonra göz kararı ile yarıya kadar ultra saf su ile dolduruldu ve kuvvetlice çalakalandı. Balon joje hacim çizgisine kadar tamamlandı. Son olarak alüminyum folyo ile sarılmış falkon tüpe aktarılıp saklandı.

- %7.5 (w/v) sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi: Analitik hassas terazide 1.875 g sodyum karbonat tartıldı ve bir miktar ultra saf su ile tamamen çözüldü. Sonrasında 25 ml'ye tamamlandı ve falkon tüpe aktarılıp oda şartlarında saklandı.

3. Toplam flavonoid analizi için çözeltilerin hazırlanışı;

- %10'luk alüminyum klorür (AlCl_3) çözeltisi: Terazide 10 g alüminyum klorür analitik hassasiyetle tartıldı ve 100 ml hacme sahip volumetrik flaska konuldu ve daha sonra zehirli buhardan etkilenmemek için çeker ocakta üzerine göz kararıyla yarıya kadar ultra saf su yavaş bir şekilde ilave edilip iyice çözüldü. Hacim çizgisine kadar saf su ile tamamlandı.

- 1 mol/l potasyum asetat (CH_3COOK) çözeltisi: Analitik hassas terazide 2.4538 g potasyum asetat tartıldı, bir miktar saf su ile tamamen çözüldü. Daha sonra 25 ml hacimdeki volumetrik flaska aktarıldı ve hacim çizgisine kadar tamamlandı.

4. DPPH radikali yakalama yöntemi için gerekli olan çözeltilerin yapılışı;

- 90 µmol/l DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal çözeltisi: 8.9 mg DPPH tartıldı. Çözücü olarak metanol kullanıldı. 25 ml'lik volumetrik flaska alınan DPPH bir miktar metanol ile tamamen çözüldü ve daha sonrasında yine metanol ile volumetrik flask hacim çizgisine kadar tamamlandı. Çözelti, karanlıkta muhafaza edildi.

5. ABTS radikali yakalama yöntemi için hazırlanan çözeltiler;

- 7 mmol/l ABTS (2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu) radikal çözeltisi: Analitik hassas terazide 38.4 mg ABTS radikali tartıldı ve bir miktar saf su ile iyice çözüldükten sonra 10 ml hacimdeki balon jojeye alınıp yine saf su ile hacim tamamlandı. 6.6 mg potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) analitik hassas terazi kullanılarak tartım yapıldı. Bir miktar ultra saf su ile tamamen çözüldü ve balon jojeye aktarılıp 10 ml'ye tamamlandı. Daha sonra ayrı ayrı hazırlanan çözeltiler bir falkon tüpte birbirine karıştırılıp kuvvetlice çalkalandı. Falkon tüp alüminyum folyo ile sarıldı, oda şartlarında ABTS radikalinin oluşumunun gerçekleşmesi için 12 saat bekletildi.

6. FRAP (demir iyonu indirgeme gücü) yöntemi için hazırlanan çözeltiler;

- 300 mM asetat tampon çözeltisi: Analitik hassas terazı yardımcıları 3.1 g sodyumasetat trihidrat ($C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$) tartıldı ve daha sonra bir miktar ultra safsu ile tamamen çözündürüldü. Çözelti 1 l'lik balon jojeye aktarıldı ve hacim çizgisine kadar tamamlandı.

- 40 mM HCl çözeltisi: yoğunluğu 1.19 olan %37'lik HCl'den 3.4 ml alınıp 1 l'lik volumetrik flaska aktarıldı ve daha sonra ultra safsu ile hacim çizgisine kadar tamamlandı.

- 10 mM TPTZ çözeltisi: Analitik hassasiyette tartılan 3.123 g TPTZ bir miktar 40 mM'lık HCl çözeltisiyle iyice çözüldü. Daha sonra 1 l'lik balon jojeye alındı ve üzeri yine HCl çözeltisiyle hacim çizgisine kadar tamamlandı.

- 20 mM demir üç klorür ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) çözeltisi: Yedi sulu demir klorür hassas terazide 5.406 g olacak şekilde tartıldı daha sonra 1 l'lik balon joje kullanılarak ultra safsu ile çözülüp hacim çizgisine kadar tamamlandı.

- FRAP reaktif çözeltisi: 10:1:1 oranında sırasıyla önceden hazırlanmış olan asetat tampon çözeltisi, TPTZ çözeltisi ve $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ çözeltisi karıştırılarak elde edildi.

2.2.2. *Morus nigra* Meyvelerinin ve Yapraklarının Ekstraksiyonu

Meyve örneklerinin ekstraksiyonun yapılması amacıyla 1 kg ağırlığındaki meyvelerin üzerine 1 l ultra saf su eklendi ve homojenizator yardımıyla tamamen parçalandı. Daha sonra 0.25 µm gözenek çapına sahip elek kullanılarak süzüldü. Elde edilen süzüntü bir kaba alındı. Meyvelerin posa kısmı metal bir tencereye alındı ve üzerine yine 1 l ultra saf su eklendi ve 2 saat boyunca kaynatıldı. Kaynatma işlemi sonrasında tekrar süzme işlemi gerçekleştirildi ve iki süzüntü birbirine eklendi.

Ekstrakt, 250 ml hacme sahip plastik kaplar kullanılarak porsiyonlara ayrıldı ve -20 °C’de muhafaza edildi.

Yaprak örneklerinin ekstraksiyonuna geçilmeden önce yapraklar, önce teker teker şebeke suyuyla hafifçe ovalanarak yıkandı. Daha sonra ultra saf ile ikinci bir yıkama yapıldı. Yıkama işlemi sonrası yaprak ince bir şekilde kıyılıp üzerine 1 l ultra saf su eklenerek homojenizator kullanılarak tamamen parçalandı. Homojenize edilen yapraklar yine 0.25 µm gözenek çapına sahip elekten geçirildi. Elde edilen süzöntü toplandı ve posa tencereye alınıp üzerin 0.5 litre ultra safsu eklenerek 2.5 saat boyunca kaynatıldı. Kaynatma sonrasında süzme işlemi yapıldı ve elde edilen süzöntü önceki süzöntüyle karıştırıldı. Karadut yaprak ekstraktı 250 ml’lik porsiyonlara ayrılarak -20 °C’de buzdolabında saklandı.

Morus nigra meyvelerinden ve yapraklarından elde edilen ekstraktlar, MN-M (meyvelerden elde edilen ekstrakt) ve MN-Y (yapraktan elde edilen ekstrakt) olarak kodlandı.

2.2.3. Nanopartiküllerin Sentezi

Morus nigra meyvelerinin ve yapraklarının ekstraktlarıyla indirgenen NP’lerin sentezi, aşağıdaki metotlar kullanılarak gerçekleştirildi. Ancak en uygun sentez şartlarının belirlenmesi için bu metotlarda bazı modifikasyonlar uygulandı.

2.2.3.1. Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP’ler) Sentezi

AgNP’lerin yeşil yöntem ile sentezi, bazı uyarlamalar ile birlikte Begum vd. (2009)’nin tarif ettiği yöntemle göre yapıldı. *Morus nigra* meyve ve yaprak ekstraktlarından 250 ml alınarak 500 ml’lik beherlere nakledildi. Daha sonra ekstraktların pH’sı 10’a ayarlandı. Sürekli karıştırma işlemi ve sıcaklığın 30 °C’de sabit tutulması için manyetik karıştırıcı kullanıldı. Reaksiyonun ışıktan etkilenmemesi için beher ve ayırma hunisi alüminyum folyo ile tamamen kaplandı. 0.2 M olarak hazırlanan gümüş nitrat (AgNO₃) çözeltisi ayırma hunisi vasıtasıyla 1-2 damla/sn. olacak şekilde ekstraktlara ilave edildi ve gece boyunca 30 °C’de sürekli karışım halinde bırakıldı. Daha sonra ise falkon tüplere alınan çözelti 10000 rpm’de soğutmalı santrifüjde 15 dk. boyunca santrifüjlendi. İlk santrifüj sonrası süpernatant kısım atıldı, her falkon tüpün üzerine 20 ml ultra saf su eklendi ve vorteks kullanılarak şiddetli bir şekilde çalkalanarak yıkama yapıldı. Tüplere aynı şartlar altında ikinci bir santrifüj uygulandı ve ikinci yıkama yapıldı. Son santrifüjden sonra tüplerdeki süpernatant kısımlar atıldı ve pelletler toplandı. AgNP’ler lokal akış kolu kullanılarak sürekli hava akışı sağlanarak

bir gece boyunca tamamen kurutuldu. Sentezlenen AgNP'ler; meyve ekstraktından sentezlenenler, MAgNP olarak yaprak ekstraktından sentezlenenler, YAgNP olarak kodlandı.

2.2.3.2. Bakır Nanopartiküllerin (CuNP'ler) Sentezi

CuNP sentezi bazı değişikliklerle birlikte Ingle vd. (2022)'ne göre yapıldı. Meyve ve yapraklardan elde edilen ekstraktların 250 ml'lerinin pH'sı 10'a ayarlandı, manyetik karıştırıcı üzerinde sürekli karıştırılmaya başlandı ve ekstraktın sıcaklığı 30 °C'ye ayarlandı. 250 ml'lik 0.1M bakır sülfat (CuSO_4) çözeltisi saniyede 1-2 damla akış hızıyla ekstraktın üzerine damlatıldı. İşleme başlamadan önce beher ve ayırma hunisi ışık geçirmeyecek biçimde sarıldı. İşem gece boyunca devam ettirildi ve reaksiyonun tam olarak gerçekleşmesi sağlandı. Reaksiyon sonrası falkon tüplere alınan karışım 10000 rpm'de santrifüj işlemine tabi tutuldu. AgNP sentezinde olduğu gibi iki defa yıkama işleminden sonra sentezlenen NP'ler, sürekli bir hava akımı altında bir gece boyunca kurutuldu. Sentezlenen CuNP'ler; meyve ekstraktından sentezlenenler, MCuNP olarak yaprak ekstraktından sentezlenenler, YCuNP olarak kodlandı.

2.2.3.3. Demir Nanopartiküllerin (FeNP'ler) Sentezi

FeNP'ler, gerekli değişiklikler yapılarak Yusefi vd. (2020)'nin yöntemine göre sentezlendi. Bunu için pH'sı 11'e ayarlanmış olan 250 ml ekstraktların üzerine 250 ml hacimde olacak şekilde 1:1 oranında karıştırılan 0.2 M $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi ve 0.1 M FeSO_4 çözeltisi 1-2 damla/sn. akış hızıyla aktarıldı. Reaksiyonun ışıktan korunması amacıyla gerekli işlemler gerçekleştirildi. Demir NP'lerinin yıkama ve kurutma işlemleri gümüş NP sentezinde belirtildiği gibi gerçekleştirildi. Analiz sonucunda indirgenen FeNP'ler; meyve ekstraktından sentezlenenler, MFeNP olarak yaprak ekstraktından sentezlenenler, YFeNP olarak kodlandı.

2.2.3.4. Çinko Nanopartiküllerin (ZnNP'ler) Sentezi

Sentez, değişiklikler yapılmak suretiyle Jiménez-Rosado vd. (2022)'ne göre koloidal çökeltme yoluyla gerçekleştirildi. Ekstraktlardan NP'lerin yeşil sentezi, öncü olarak çinko klorür (ZnCl_2) kullanılarak gerçekleştirildi. Ekstraktların pH'sı 10'a ayarlandı, 500 ml'lik behere aktarıldı ve üzerlerine ayırma hunisi içerisine konan 250 ml hacimdeki 0.2 M çinko klorür 1-2 damla/sn. akış hızıyla damlatıldı. Beher ve ayırma hunisi ışık almayacak şekilde alüminyum folyo ile sarıldı. Sentez süresi ve indirgenen NP'lerin yıkanıp kurutulma işlemi gümüş NP sentezi ile paralel şekilde gerçekleştirildi.

İndirgenen ZnNP'ler; meyve ekstraktından sentezlenenler, MZnNP olarak yaprak ekstraktından sentezlenenler, YZnNP olarak kodlandı.

2.2.4. Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

2.2.4.1. Nanopartiküllerin FTIR Analizi

Sentezlenen NP'lerin kimyasal yapılarını ve etkileşimlerini, kapaklama ve NP'lere absorbe olup indirgeme ajanları olarak işlev gören fonksiyonel grupları tanımlamak için FTIR analizleri yapıldı. Cihaz, 4000-450 cm^{-1} aralığında tarama yapacak şekilde ayarlandı.

2.2.4.2. Nanopartiküllerin XRD Analizi

XRD, her bir kristalin fazın kendine özgü atomik dizilimlerine bağlı olarak, X-ışınlarını karakteristik bir düzen içerisinde kırması esasına dayanır. Her bir kristalin faz için bu kırınım profilleri bir nevi parmak izi gibi o kristali tanımlar. XRD metodu, analiz sırasında numuneyi tahrip etmez ve çok az miktardaki numunelerin dahi analizlerinin yapılmasını sağlar. XRD cihazıyla kayaçların, kristalin malzemelerin, ince filmlerin ve polimerlerin nitel ve nicel incelemeleri yapılabilir.

Fizikokimyasal özelliklerin karakterizasyonu için XRD analizleri kullanıldı. Spektrumun dışında, NP'lerin bileşimi, kristallik indeksi ve kristal boyutu da tahmin edilmeye çalışıldı.

NP'lerin XRD analizleri Bayburt Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uyg. ve Arş. Merkezi'nde (BUMER) yapıldı.

2.2.4.3. Nanopartiküllerin TEM, HAADF ve EDX Analizi

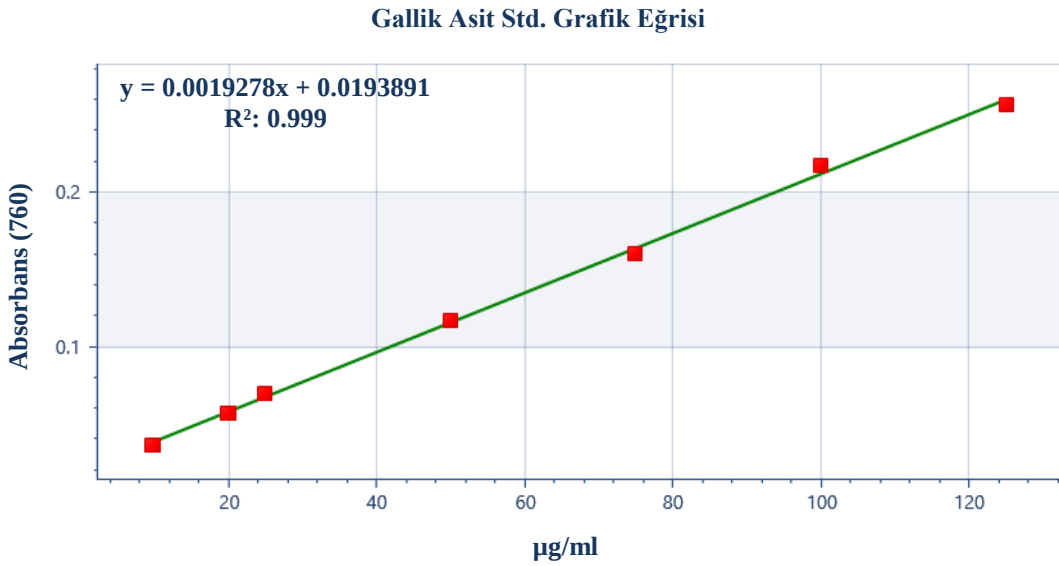
Elde edilen NP'lerin nanoyapısı ve boyut dağılımı, transmisyon elektron mikroskobu ile belirlendi. Ayrıca EDX profilleride elde edildi. Görüntüler, yazılım kullanılarak analiz edildi.

NP'lerin TEM, HAADF çekimleri ve EDX analizi BUMER'de yapıldı.

2.2.5. Toplam Fenolik İçeriğin Belirlenmesi

Toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesi amacıyla Singleton ve Rossi (1965)'nin geliştirmiş olduğu Folin-Ciocalteu yöntemi kullanıldı. Bu yöntemin 96 kuyucuklu plaka okuyucuya uyarlanmış hali, tez çalışması için gerekli görülen değişikliklerle birlikte Johnson vd. (2022)'nin yayınlamış oldukları metoda göre

gerçekleştirildi. Sentezlenen NP'ler ve ekstraktlar DMSO ile çözüldüler. 500 µg/ml olarak önceden hazırlanmış olan gallik asit stok çözeltisi etanol ile 10, 20, 25, 50, 75, 100, 125 µg/ml'lik 7 farklı derişimde, standart grafik eğrisi oluşturmak için hazırlandı. Standart gallik asit, ekstrakt ve NP çözeltilerinin her birinden 25 µl alınarak 96 kuyucuklu mikropalakaya pipetlendi. Daha sonra her birinin üzerine önceden hazırlanıp uygun koşullarda muhafaza edilen Folin-Ciocalteu fenol reaktifi çözeltisinden 125 µl pipetlendi. 10 dakikalık bekleme süresi sonunda yine daha önceden hazırlanmış olan %7.5'lik sodyum karbonat çözeltisinden 100 µl eklendi ve laboratuvar şartlarında karanlıkta 2 saat beklendi. Reaksiyonun tamamlanmasından sonra 760 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede köre karşı okundu. Kör, aynı işlemlerin uygulandığı DMSO'yu ifade etmektedir. Analiz sonucunda elde edilen absorbans değerleri kullanılarak standart eğri grafiğı (Şekil 8) çizildi. Sonuçlar hesaplandı ve gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak kaydedildi. Analizler üç tekrarlı çalışıldı.

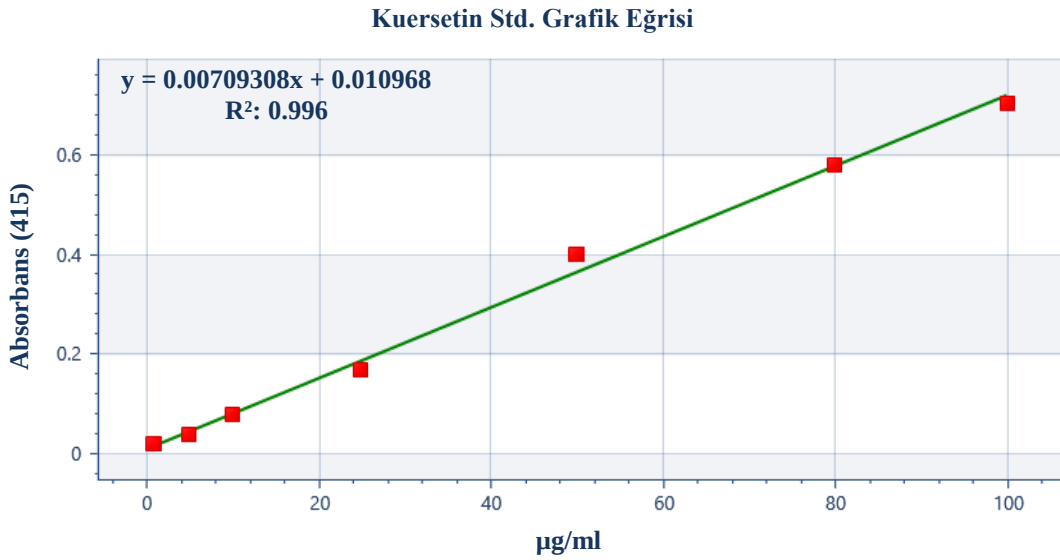


Şekil 8. Toplam polifenolik içerik analizi gallik asit standart eğri grafiğı

2.2.6. Toplam Flavonoid İçeriğın Belirlenmesi

NP'lerin ve ekstraktların toplam flavonoid içeriğı 96 kuyucuklu mikro plaka okuyucu spektrofotometreye uyarlanan alüminyum klorür kolorimetrik yöntem kullanılarak Beara vd. (2014)'ne göre belirlendi. Bu yöntemde çalışma esnasında gerekli olan bazı modifikasyonlar gerçekleştirildi. Önceden hazırlanmış olan 500 µg/ml konsantrasyona sahip kuersetin stok çözeltisi kullanılarak 1, 5, 10, 25, 50, 80, 100 µg/ml'lik kuersetin çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltiler standart grafik eğrisinin çizimi için kullanıldı. DMSO ile hazırlanan NP çözeltilerinden ve 7 farklı konsantrasyonda

hazırlanan kuersetin standart çözeltilerinden 30 µl otomatik pipet ile alınarak mikropiçin kuyucuklarına aktarıldı. Daha sonra sırasıyla 80 µl metanol, 6 µl %10'luk alüminyum klorür, 6 µl 1 mol/l potasyum asetat ve 125 µl ultra saf su her bir kuyucuğun üzerine eklendi. Oda şartlarında, 96 kuyucuklu mikropiç ışıktan muhafaza edilecek şekilde yarım saat boyunca bekletildi. Bu süre zarfı sonunda reaksiyonun gerçekleşmesiyle mikropiç okuyucuda, 415 nm dalga boyunda köre karşı tüm örnek ve standartlar okundu. Köre olarak metotta belirtilen tüm basamakların uygulandığı ultra saf su kullanıldı. Kuersetin çözeltilerinin vermiş olduğu absorbans değerleri kullanılarak standart eğri grafiği (Şekil 9) yedi noktada oluşturuldu. Tüm sonuçlar hesaplandı, ekstraktların ve NP'lerin toplam flavonoid içerikleri kuersetin eşdeğeri (QE) olarak kaydedildi. Analizler üç tekerrürlü olarak çalışıldı.



Şekil 9. Toplam flavonoid içerik analizi için kuersetin standart eğri grafiği

2.2.7. Antioksidan Aktivite Analizleri

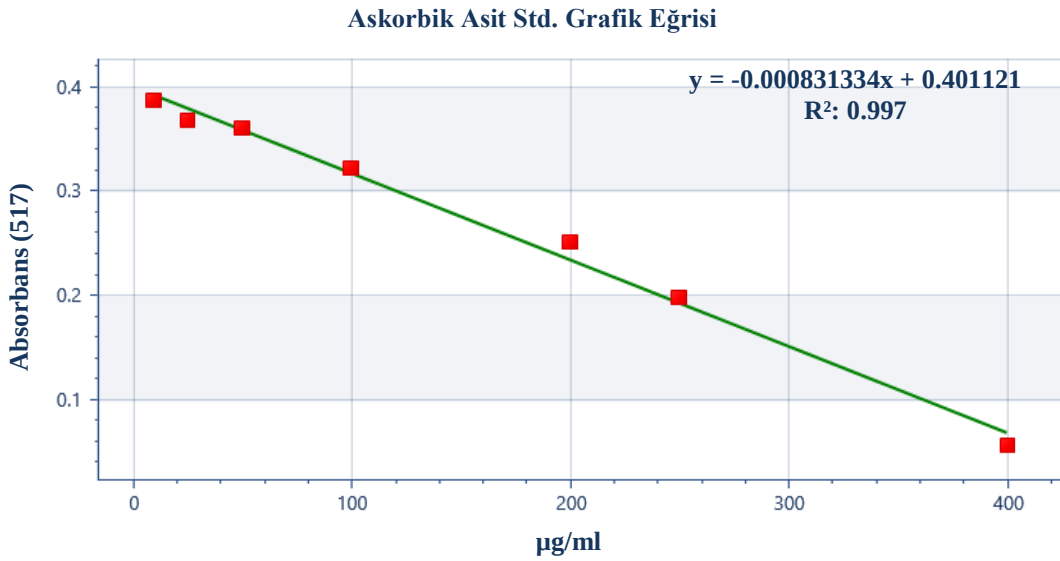
NP'lerin ve *Morus nigra* bitkisinin meyveleri ve yaprakları kullanılarak elde edilen ekstraktların antioksidan kapasitelerini belirlemek amacıyla literatürde sıkça kullanılan üç yöntem seçildi. Bunlar; DPPH radikali yakalama yöntemi, ABTS radikali yakalama yöntemi ve FRAP (demir iyonu indirgeme gücü) yöntemi olarak belirlendi.

2.2.7.1. DPPH Radikali Yakalama Yöntemi

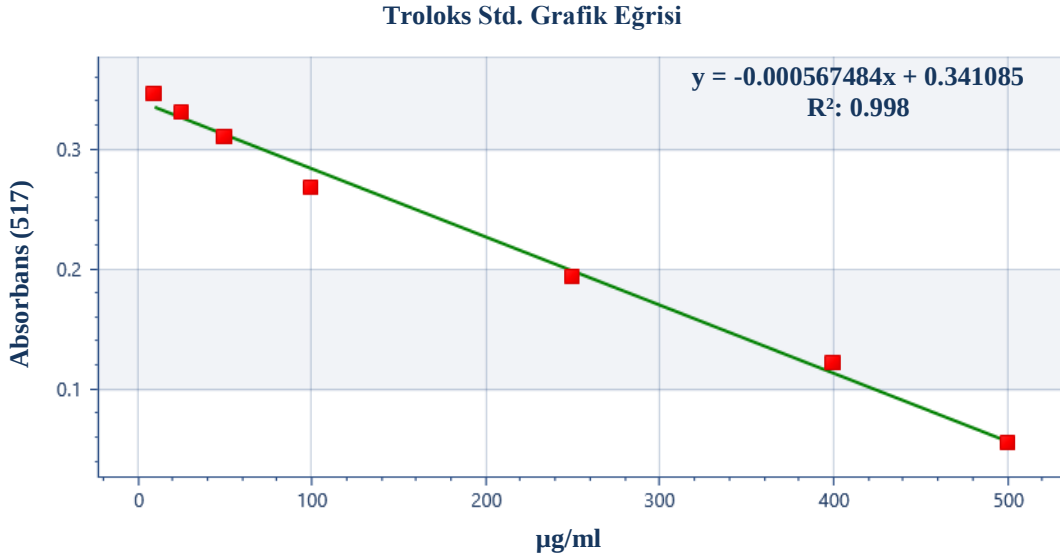
Ekstraktların ve NP'lerin DPPH radikali üzerindeki indirgeyici yani antioksidan etkisinin belirlenmesi için Soler-Rivas vd. (2000)'nin belirttiği yöntem kullanıldı. Tez

çalışmasında 96-kuyucuklu mikrolakalar için uyarlanan DPPH radikali yakalama metodunda gerekli değişiklikler yapıldı. Otomatik pipet kullanılarak ekstraktlar, NP çözeltileri ve gerekli seyreltmeler yapılan standart çözeltilerinden alınan 10 µl hacmindeki sıvılar mikrolaka kuyucuklarına enjekte edildi. Daha sonra yine her bir kuyucuğa 100 µl DPPH çözeltisi pipetlendi ve her bir kuyucuktaki toplam hacim 190 µl olacak şekilde kuyucuklara metanol ilave edildi. Oda sıcaklığında ışıktan muhafaza edilerek 60 dk. beklendi. Bu sürenin sonunda daha önceden 515 nm dalga boyuna ayarlanan mikrolaka okuyucuda okuma yapıldı. Kör olarak DMSO kullanıldı. Standart ve pozitif kontrol için antioksidan standartlar kullanıldı. Bunun için hem sentetik ve hem de doğal antioksidan kimyasallar kullanılmasına karar verildi ve doğal antioksidan olarak askorbik asit seçilirken sentetik antioksidan olarak da troloks tercih edildi.

Standart eğri grafiklerinin çizilmesi için önceden hazırlanmış olan askorbik asit ve troloks stok çözeltileri kullanıldı. Askorbik asit için stok çözeltiden 10, 25, 50, 100, 200, 250, 400 µg/ml'lik yoğunluktaki çözeltiler hazırlanırken troloks için 10, 25, 50, 100, 250, 400, 500 µg/ml'lik derişimdeki standart çözeltileri hazırlandı. Askorbik asit için Şekil 10'daki grafik çizilirken Şekil 11'deki gibi ise troloks standart eğri grafiği çizildi.



Şekil 10. DPPH radikal yakalama analizi için askorbik asit standart eğri grafiği

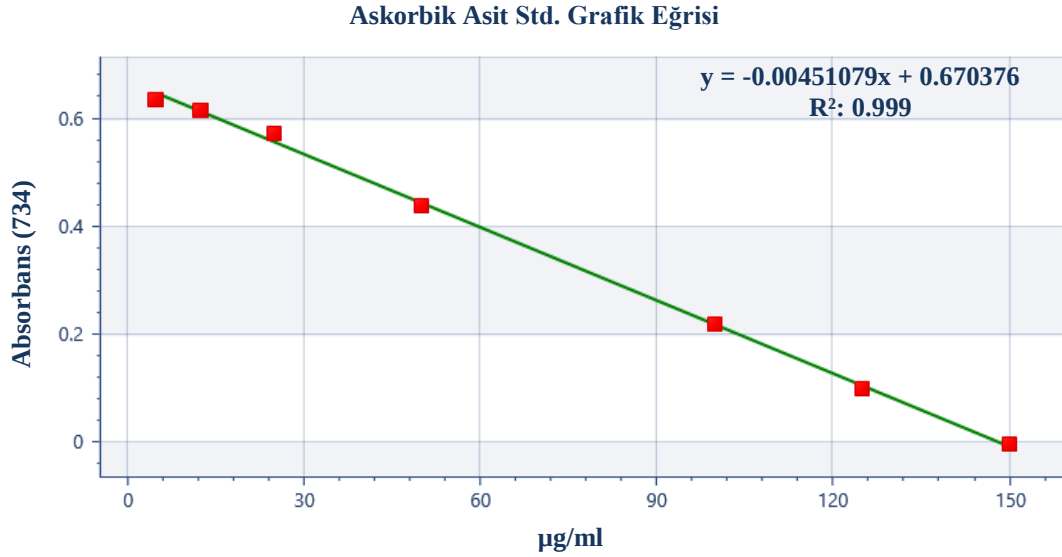


Şekil 11. DPPH radikal yakalama analizi için troloks standart eğri grafiği

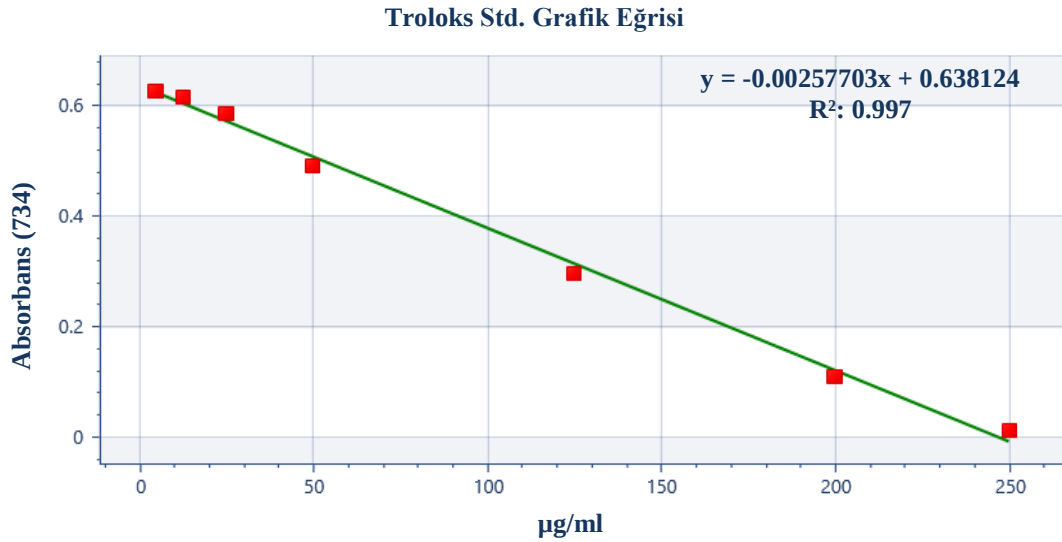
2.2.7.2. ABTS Radikali Yakalama Yöntemi

Bu çalışma kapsamında bitki ekstraktı aracılı sentelenen NP'lerin ve *Morus nigra* meyve ve yaprak ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla 96-kuyucuklu mikrotiplere göre revize edilen ABTS radikali yakalama deneyi yapıldı (Silva vd., 2007). NP'ler, ekstraktlar ve gerekli seyreltmeler yapılmış olan standart çözeltilerinin her birinden otomatik pipet kullanılarak 8 µl alındı ve mikrotiplere kuyucuklarına pipetlendi. Önceden hazırlanmış ve 12 saat boyunca radikal oluşumu içi bekletilen ABTS radikali çözeltisi ultra saf su ile seyreltilerek 734 nm dalga boyunda 0.7 ± 0.02 Abs olacak şekilde konsantrasyon ayarlaması yapıldı. Ayarlaması yapılan ABTS çözeltisinden her bir kuyucuğa 230 µl pipetlenerek reaksiyon başlatıldı. Mikrotiplerin ışık alması engellenerek 30 °C'de 6 dk. boyunca bekletildi. Bu süre zarfı sonunda reaksiyonun bitmesiyle birlikte zaman kaybedilmeden 734 nm dalga boyunda kör olarak kullanılan DMSO'ya karşı okuma yapıldı. Çalışmada standart ve pozitif kontrol kullanıldı. Standart olarak askorbik asit ve troloks kullanıldı. Bunlardan askorbik asit, doğal antioksidanları ve troloks ise sentetik antioksidanları temsilen tercih edildi.

Standart eğri grafiği ile sonuçların değerlendirilmesi için hem askorbik asit standart eğri grafiği hem de troloks standart eğri grafiği çizildi. Askorbik asit için 500 µg/ml'lik stok çözelti; 5, 12.5, 25, 50, 100, 125, 150 µg/ml olacak şekilde yedi farklı konsantrasyon için dilüe edildi. Troloks için ise stok çözelti kullanılarak 5, 12.5, 25, 50, 125, 200, 250 µg/ml'lik konsantrasyonlar hazırlandı. Şekil 12'de gösterildiği gibi askorbik asit, Şekil 13'de gösterildiği gibi troloks standart eğri grafiği çizildi.



Şekil 12. ABTS radikali yakalama analizi için askorbik asit standart eğri grafiği

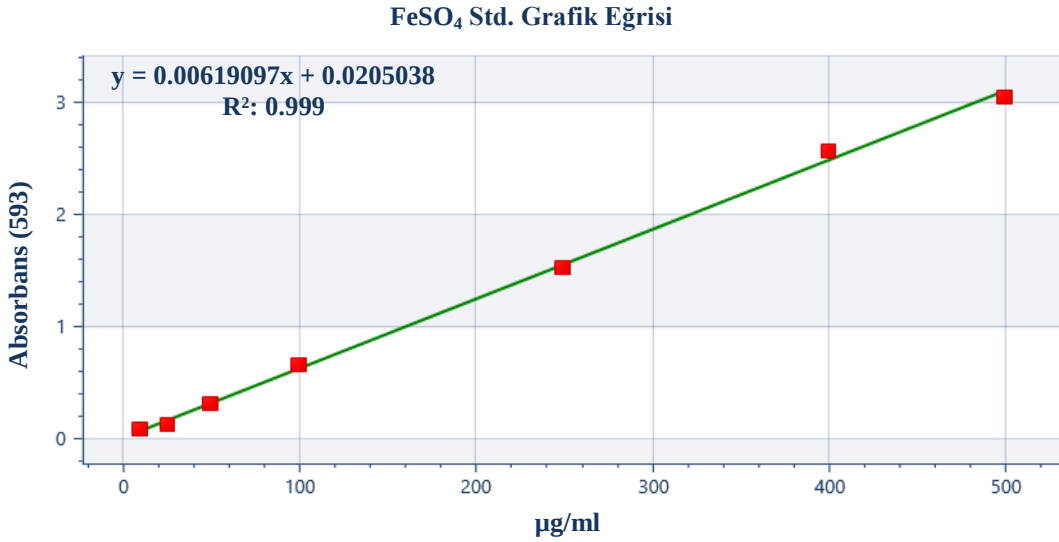


Şekil 13. ABTS radikali yakalama analizi için troloks standart eğri grafiği

2.2.7.3. FRAP (Demir İyonu İndirgeme Gücü) Yöntemi

Ekstrakt ve NP'lerin demir indirgeme gücü kapasiteleri gerekli uyarlamalarla birlikte Sethi vd. (2020)'ne göre yapıldı. Yeşil sentez NP'ler ve ekstraktların her birinden otomatik pipet ile 250 µl alınarak deney tüplerine pipetlendi. Daha sonrasında her birinin üzerine önceden hazırlanan ve kullanım öncesi etüvde 37 °C'de 15 dk. inkübe edilen FRAP reaktifinden 2750 µl pipetlendi. FRAP reaktifinin eklenmesinden sonra tüpler reaksiyonun gerçekleşmesi için karanlıkta 30 dk. bekletildi. Bu sürenin sonunda 593 nm dalga boyunda Köre karşı okuma yapıldı. Metodun uygulandığı DMSO kör olarak kullanıldı. Standart eğri grafiğini çizmek için standart olarak FeSO₄

çözeltileri kullanıldı. 1000 µg/ml’lik FeSO₄ standart stok çözeltisinden 10, 25, 50, 100, 250, 400, 500 µg/ml’lik standart çözeltiler hazırlandı. Standart çözeltilerden elde edilen absorbans değerleri kullanılarak FeSO₄ standart eğri grafiği çizildi (Şekil 14).

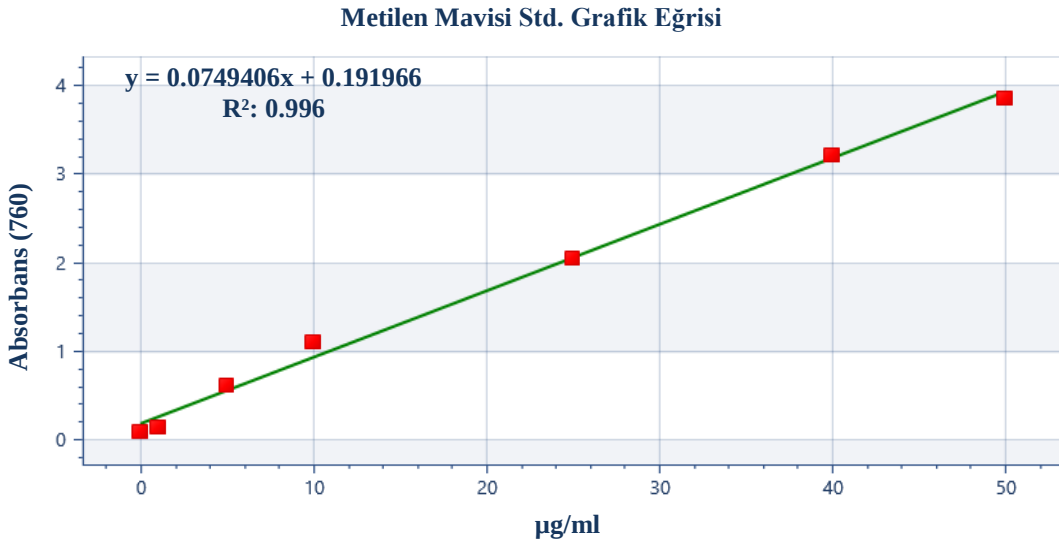


Şekil 14. FRAP analizi için FeSO₄ standart eğri grafiği

2.2.8. Nanopartiküllerin Metilen Mavisi Absorbsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi

Sentezlenen NP’lerin metilen mavisinin absorpsiyon kapasiteleri gerekli uyarlamalarla birlikte Chahardoli vd. (2017)’ne göre belirlendi. NP’lerin metilen mavisinin absorpsiyon kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla çözücü olarak ultra saf suyun kullanıldığı 25, 50, 250 µg/ml olmak üzere 3 farklı konsantrasyonda metilen mavisi çözeltileri hazırlandı. NP’lerden analitik hassas terazide 1, 2, 3, mg ağırlığında 3 farklı tartım yapıldı. Deney tüplerine hazırlanan metilen mavisi çözeltilerinden 10 ml aktarıldı ve her bir metilen mavisi konsantrasyonu için her bir NP’den 3 farklı miktardaki tartımlar eklendi. Metilen mavisi çözeltileri ve NP’lerin olduğu deney tüpleri ve standart çözeltiler çalkalayıcıda 12 saat boyunca bekletildi, oda şartlarında absorpsiyon reaksiyonunun gerçekleşmesi sağlandı. Bu sürenin sonunda çözeltilerin ve standartların absorbans değerleri köre karşı, önceden 760 nm dalgaboyuna ayarlanmış olan spektrofotometrede okundu. Kör olarak ultra saf su ve standart olarak ultra saf su kullanılarak çözülen 0, 1, 5, 10, 25, 40, 50 µg/ml olmak üzere yedi farklı konsantrasyonda hazırlanan metilen mavisi çözeltileri kullanıldı. Standartlardan elde edilen absorbanslar kullanılarak metilen mavisi standart eğri grafiği çizildi (Şekil 15).

Standart eğri grafiği kullanılarak NP'lerin ne kadar metilen mavisi absorbe ettikleri hesaplandı.



Şekil 15. Metilen mavisi absorpsiyon analizi için metilen mavisi standart eğri grafiği

2.2.9. α -Amilaz İnhibisyonu Analizi

NP'lerin, α -Amilaz inhibitör aktivitesi Caraway-Somogyi iyodür/potasyum iyodür (IKI) yöntemi kullanılarak bazı uyarlamalarla birlikte Yang vd. (2012)'ne göre yapıldı. Çalışma kapsamında sentezlenen yeşil sentez NP çözeltilerinin her birinden otomatik pipetle yardımıyla alınan 25 μ l örnekler mikrolaka kuyucuklarına pipetlendi. Bir sonraki adım olarak fosfat tamponu (pH 6.9, 6 mM sodyum klorür) kullanılarak hazırlanan α -amilaz çözeltisinden 50 μ l'lik hacim her kuyucuğa eklendi ve karışmaları sağlandı. Elde edilen karışımlar 10 dk. boyunca 37 °C'ye ayarlanmış etüvde inkübasyona bırakıldı. Bu ön inkübasyondan sonra %0.05'lik nişasta çözeltisinden her bir kuyucuğa 50 μ l pipetlendi, böylelikle reaksiyon başlatılmış oldu. Benzer şekilde eş zamanlı olarak enzim içermeyen kör çözeltiside hazırlandı. 96 kuyucuklu mikrolaka 10 dk. süreyle 37°C'de inkübasyona bırakıldı ve bu 10 dakikalık sürenin sonunda reaksiyon, her bir kuyucuğa otomatik pipet kullanılarak 1 M HCl'den 25 μ l eklenerek sonlandırıldı. Bunu takiben kuyucuklara 100'er μ l iyot-potasyum iyodür çözeltisi eklendi ve renk oluşumlarının meydana gelmesi beklendi. NP'lerin absorbansları köre karşı önceden 630 nm dalgaboyuna ayarlanmış olan mikrolaka okuyucu spektrofotometre cihazında okundu. Standart olarak akarboz kullanıldı. NP'lerin α -amilaz inhibitör aktivite sonuçları IC_{50} değerleri hesaplanarak verildi.

2.2.10. α -Glukozidaz İnhibisyonu Analizi

Numunelerin α -glukozidaz inhibitör aktivitesi, modifiye edilerek çalışıldı (Nair vd., 2013). Çalışmada, öncelikle mikropalakların ilgili kuyucuklarına 20 μ l numune ve fosfat tamponunda hazırlanan 20 μ l α -glukozidaz enzimi eklendi. Karışım 37 °C'de 10 dk. bekletildikten sonra 100 μ l 4-Nitrofenil-a-D-glukopiranosid ilave edildi. Karışım tekrar 37 °C'de 10 dk. bekletildikten sonra bütün kuyucuklara 80 μ l 1M'lık Na₂CO₃ eklenerek reaksiyon durduruldu. Absorbans değerleri 405 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. Standart inhibitör olarak farklı konsantrasyonlarda akarboz çalışıldı. Sonuçlar, akarbozun ve NP'lerin IC₅₀ değerleri hesaplanarak verildi.

2.2.11. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Özelliklerinin ve Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi

2.2.11.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi

Yeşil sentez NP'lerin ve *Morus nigra* meyveleri ve yaprakları kullanılarak elde edilen ekstraktların antimikrobiyal kapasiteleri bazı modifikasyonlar yapılarak CLSI (2017)'ye göre agar kuyucuk difüzyon yöntemiyle çalışıldı. Çalışma öncesinde kullanılacak olan tüm plastik ve cam malzemeler otoklavda steril hale getirildi. Gram pozitif bakteriler olarak *Enterococcus faecalis* ATCC (Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu) 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecium* DSMZ (Alman Mikroorganizmalar ve Hücre Kültürleri Koleksiyonu) 13590, *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644; gram negatif bakteriler olarak *Aeromonas hydrophila* ATCC 35654, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 35150, *Salmonella typhimurium* ATCC 23566, *Proteus vulgaris* ATCC 13315 ve maya- küf olarak *Candida albicans* ATCC 18804, *Aspergillus flavus* ATCC 46283, *Aspergillus niger* ATCC 16404 test organizmaları olarak kullanıldı.

Çalışmaya başlanırken pasajlanmış olan patojen mikroorganizmaların aktifleştirilmesi gerçekleştirildi. Test organizmalarının taze kültürleri hazırlandı ve daha önceden steril edilen ultra saf suda çözülerek McFarland densitometresi cihazında 0.5 McFarland bulanıklığına (1.5×10^8 mikroorganizma/ml) seyreltildi. Sonraki işlem olarak her bir tüpten eküvyon çubuğu kullanılarak Müller-Hinton agar besiyeri ile hazırlanan petrilere yayma yöntemiyle patojen organizmaların inokülasyonu gerçekleştirildi. Test mikroorganizmalarının ekildiği petrilere 80 mm çapında kuyucuklar açıldı. Açılan

kuyucuklara 50 mg/ml konsantrasyonda DMSO'da çözülerek hazırlanan NP'lerden ve ekstraktlardan otomatik pipet kullanılarak 75 µl aktarıldı. Petriler 2 saat 4°C'de bekletilerek ekstraktların ve NP'lerin agara difüzyonu sağlandı. Pozitif kontrol olarak kloramfenikol, novobiosin, nalidiksik asit; negatif kontrol olarak ise çözücü olarak seçilen DMSO kullanıldı. Test organizmaların üremesi amacıyla bakteriler için 37 °C'ye ayarlanmış etüvde 24 saat boyunca, mayalar için 28 °C'ye ayarlanmış etüvde 48 saat boyunca inkübasyon gerçekleştirildi. İnkübasyon süreleri sonrasında kuyucukların çevresinde oluşan üremenin olmadığı temiz zon çapları dijital kumpasla ölçüldü. Analizler üç defa tekrar edilip sonuçlar istatistiksel değerlendirme için kaydedildi.

2.2.8.2. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal MIC ve MBC Değerlerinin Belirlenmesi

Morus nigra meyve ve yaprak ekstraktlarının ve NP'lerin MIC (minimum inhibitör konsantrasyonu) ve MBC (minimal bakterisidal konsantrasyon) değerlerinin belirlenmesi CLSI (2017)'ye göre yapıldı. MIC, gerekli modifikasyonların yapıldığı broth dilüsyon metodu kullanılarak steril, 96-kuyucuklu mikro plakalar ile belirlendi. Besiyeri olarak Müller-Hinton broth kullanıldı. Analizde ilk kuyucuklara iki kat konsantrasyondaki sıvı besiyerleri pipetlenirken, diğer kuyucuklara ise standart olarak hazırlanan besiyerinden aktarıldı. Mikroplakanın her bir kuyucuğuna 100 µl hacimdeki besiyerlerinden aktarıldı. Sonraki adımda ise yeşil sentez NP'lerin konsantrasyonu 24 mg/ml olacak şekilde DMSO içerisinde çözündürüldü ve başlangıç konsantrasyonları hazırlanmış oldu. Örneklerden otomatik pipet yardımıyla 100 µl alınarak mikrolakaların ilk kuyucuklarına pipetlendi. Bu işlem her bir patojen organizmaya karşı MIC değerinin hesaplanabilmesi için planlandı. Bir sonraki adımda çoklu otomatik pipet kullanılarak iki kat seri seyreltme ile NP'ler için yaklaşık olarak 0.02 mg/ml ile 12 mg/ml arasında 10 farklı noktada konsantrasyon hazırlanmış oldu. Ayrıca çalışmada kullanılan antibiyotikler olan novobiosin, ultra saf su; nalidiksik asit, kloroform ve kloramfenikol, etanol içerisinde çözüldü. Bunların, mikrolakanın ilk kuyucuklarındaki konsantrasyonu 256 µg/ml olacak şekilde hesap yapıldı. Antibiyotiklerinde, iki kat seri seyreltmeyle 0.25-128 µg/ml aralığında, 10 farklı konsantrasyonu elde edilmiş oldu. Önceden 0.5 MacFarland bulanıklığında hazırlanan test mikroorganizmaların 10 µl'si mikrolakalara pipetlendi. Pozitif kontrol olarak kullanılan patojen organizmaların standart konsantrasyonları her bir mikrolakanın içerisinde sıvı besiyeri bulunan 11. kuyucuğuna 10 µl hacminde inoküle edildi. Negatif kontrol olarak ise ekstraktlar ve besiyeri kullanıldı. Negatif kontrol için 12. kuyucuk

kullanıldı. Etüvde bakteriler için 37 °C’de 24 saat boyunca, maya-küf için 28 °C’de 48 saat boyunca inkübe edilen patojenler bu sürenin sonunda etüvlerden alındı ve mikropilaka okuyucu kullanılarak üremenin olmadığı kuyucuklar belirlendi. NP’ler ve seçilen antibiyotiklerin, üremeyi engellediği en düşük konsantrasyonlar onların MIC değerleri olarak kaydedildi.

MBC değerlerinin belirlenmesi amacıyla MIC testi sonrası, kontaminasyona dikkat edilerek, mikropilakaların MIC, 2xMIC ve 4xMIC değerlerine karşılık gelen kuyucuklarından 100 µl broth alınarak Müller-Hinton agarı pipetlendi. Pipetlenme işlemi sonrası drigalski spatülü ile ekim yapıldı. Etüvde 37 ° C’de 24 saat boyunca bakteriler için, 28 °C’de 48 saat boyunca mayalar için petriler inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra alınan petrilerin her birinde mikroorganizmaların oluşturduğu koloniler sayıldı. Başlangıçta kullanılan organizmaların sayısı baz alınarak bakterilerin %99.9’unu öldürüldüğü NP’lerin en düşük konsantrasyonu belirlendi. NP’lerin belirlenen bu konsantrasyonları, onların ilgili patojenlere karşı MBC değerlerini temsil etmektedir.

2.2.8.3. Nanopartiküllerin Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi

Yeşil sentez aracılı NP’lerin antibiyotiklerle olan sinerjilerinin belirlenmesi, gerekli olan modifikasyonlarla birlikte checkboard yöntemi kullanılarak belirlendi (Akemeşe vd., 2020). *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecium* DSMZ 13590, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; NP’ler ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etkinin belirlenmesi amacıyla test mikroorganizmaları olarak belirlendi. MIC testinde olduğu gibi sıvı besiyeri kullanıldı. İki kat konsantrasyonda ve standart konsantrasyonda hazırlanan besiyerlerinden kuyucuklara 100 µl aktarıldı. MIC analizi sonrasında belirlenen değerler, sinerjistik etkinin belirlenmesi için kullanıldı. Çalışma için seçilen antibiyotiklerin ve sentezlenen NP’lerin her birinin çözeltilerinin konsantrasyonları, sinerjistik etkileri belirlenecek olan test mikroorganizmalarına karşı göstermiş oldukları MIC değerlerinin 16 katı olacak şekilde hazırlandı. Daha sonra NP’lerin ve antibiyotiklerin ilgili patojenlere karşı kombinasyonlarını oluşturmak için her seyreltik 1:1 oranında karıştırıldı. Elde edilen kombinasyon karışımlarının 100 µl’si otomatik pipet kullanılarak içerlerinde 100 µl sıvı besiyeri bulunan mikropilakaların ilk kuyucuklarına pipetlendi. Çoklu otomatik pipet kullanılarak yapılan seri iki kat seyreltme ile 4xMIC’den MIC/128’e kadar 10 farklı kombinasyon dilüsyonları elde edildi. Daha sonra ise MacFarland densitometresi ile bulanıklıkları 0.5 MacFarland’a

ayarlanan suşlardan 10 µl alınarak her bir kuyucuğa nakledildi. Pozitif kontrol olarak test mikroorganizmaları ve besiyeri kullanıldı ve tüm mikropolanın 11. kuyucuğu pozitif kontrol için kullanıldı. Negatif kontrol olarak sadece sentezlenen NP'ler ve besiyeri pipetlenen 12. kuyucuk belirlendi. Etüvdeki inkübasyon süresi sonunda incelenen mikropalakalardaki üremenin olmadığı kuyucuklardan en düşük kombinasyon derişimi, o kombinasyonların ilgili patojenlere karşı MIC değeri olarak kaydedildi.

Kombinasyon analiz sonuçları Didry vd. (1993)'nin belirtmiş olduğu, aşağıdaki denklem kullanılarak FICI (fraksiyon inhibitör konsantrasyon indeksi) değeri hesaplanarak değerlendirildi (Eşitlik 1).

$$FICI = (MICA/B / MICA) + (MICB/A / MICB) \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Bu eşitlikte:

MICA; sadece NP'lerin,

MICB; sadece antibiyotiklerin,

MICA/B; NP'lerin hazırlanan kombinasyon içindeki,

MICB/A; antibiyotiklerin hazırlanan kombinasyon içindeki MIC değerlerini ifade etmektedir.

NP'ler ve antibiyotikler arasındaki tam sinerjizm ($FICI \leq 0.5$), kısmi sinerjizm ($0.5 < FICI \leq 1$), sinerjistik etkileşimin olmaması ($1 < FICI \leq 4$) ve antagonizma ($FICI > 4$) yukarıdaki denklemin kullanılmasıyla elde edilen FICI değerleriyle belirlendi (Van Vuuren ve Viljoen, 2011).

2.2.8.4. Nanopartiküllerin Antikanser Etkilerinin Belirlenmesi

Yeşil sentez NP'lerin antikanser etksinin belirlenmesi amacıyla serviks adenokarsinomlu (rahim ağzı kanseri) bir hasta olan Henrietta Lacks'den alınan bir rahim ağzı doku örneğinden çoğaltılan HeLa hücre serisi ve HCT116 (kolon karsinoma) hücre hattı kullanıldı. Antikanser çalışması, bazı değışiklikler uygulanarak Lee vd. (2015)'ne göre gerçekleştirildi. Tez çalışması kapsamında kullanılan HeLa ve HCT116 hücre hatları %10 FBS (fetal sığır serumu) ve %1 penisilin/streptomisin bulunan yüksek glukozlu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) besiyeri ile 37 °C'ye ve %5 CO₂'e ayarlanmış inkübatörde inkübe edilerek çoğaltıldı. Flask içerisinde üremiş olan hücre hatları 96 kuyucuklu mikropalaka içerisine nakledildi ve her bir kuyucukta 10000 hücre olacak şekilde ekim gerçekleştirildi. Mikropalakalar, 24 saat boyunca hücrelerin penetrasyonu için 37 °C'ye ve %5 CO₂'e ayarlanan inkübatörde inkübasyona bırakıldı.

Santrifüj tüpünde hassas terazi kullanılarak 80 mg tartılan her bir NP'lerin üzerine 1000 µl DMSO eklenerek çözündürüldü ve böylelikle 80 mg/ml'lik NP ana stok çözeltileri hazırlandı. Daha sonra tüm NP ana stok çözeltilerinden DMEM ile 50-800 µg/ml arası seri iki kat seyreltme yapılarak seyreltik NP çözeltileri hazırlandı.

MTT reaktifi (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromür)), dört nitrojen atomu içeren pozitif yüklü bir dörtlü tetrazol halka çekirdeğinden oluşan bir mono-tetrazolyum tuzudur. MTT'nin indirgenmesi, çekirdek tetrazol halkasının bozulmasına ve formazan adı verilen mor-mavi suda çözünmeyen bir molekülün oluşmasına neden olur. MTT reaktifi, muhtemelen pozitif yükü ve lipofilik yapısı nedeniyle canlı hücrelerin mitokondriyal iç zarının yanı sıra hücre zarından da geçebilir ve metabolik olarak aktif hücreler tarafından formazana indirgenir. Sonuç olarak bu tahlil, bir hücre metabolik aktivite tahlili olarak geniş bir kullanıma sahiptir.

Kuyucuklu plakadaki besiyeri uzaklaştırıldıktan sonra farklı konsantrasyonlardaki NP çözeltileri 90 µl alınarak hücrelerin bulunduğu kuyucuklara pipetlendi. Daha sonra 96 kuyucuklu mikrolakalar 24 saat boyunca 37 °C'deki %5 CO₂ oranına ayarlanmış olan inkübatörde inkübe edildi. 24 saatlik sürenin sonunda 96 kuyucuklu plakalara her bir kuyucuğa otomatik pipetle 5 mg/ml konsantrasyonda hazırlanan 10 µl MTT çözeltisi pipetlendi. Yapılan bu son işlemde sonra mikrolakalar tekrar 37 °C ve %5 CO₂ oranına ayarlı olan inkübatöre yerleştirilirdi ve 3 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında yıkama işlemi yapılarak NP ve MTT 96 kuyucuklu plakalardan temizlendi. Yıkama işlemi sonrası her kuyucuğa 100 µl DMSO eklendikten sonra alüminyum folyo ile ışık almayacak şekilde kaplandı ve 15 dakika boyunca çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakıldı. Son olarak çalkalamalı inkübatörden alınan mikrolakalar 570 ve 670 nm dalga boyuna ayarlanan spektrofotometre ile okutuldu. Sonuçlar, sisplatinin ve NP'lerin IC₅₀ değerleri hesaplanarak verildi.

2.2.9. İstatistiksel Analizler

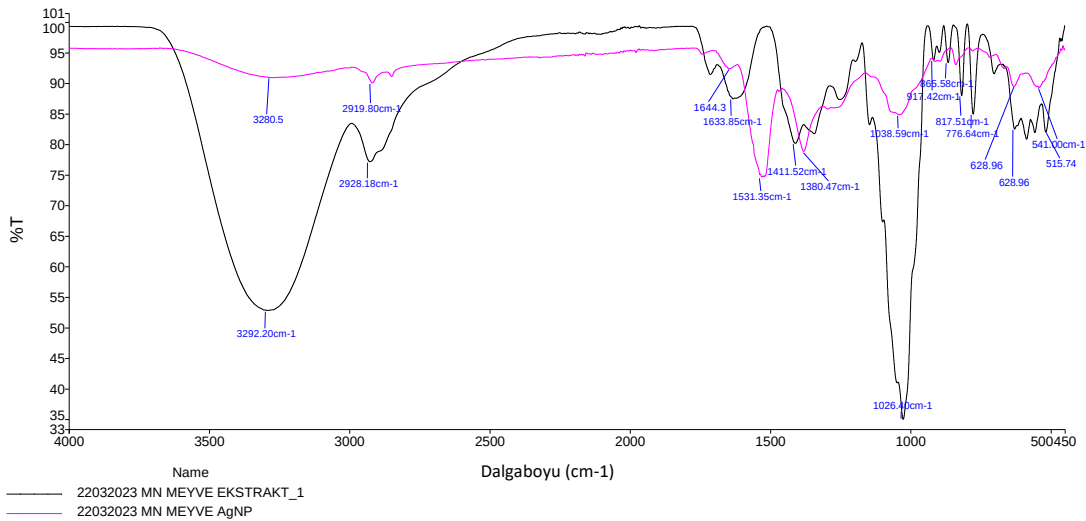
Üç defa tekrar edilerek çalışılan analizlerden elde edilen sonuçlar IBM SPSS Statistics 21 programında, One-way ANOVA ile hesaplandı ve önemli farklılıklar Duncan'ın çoklu sıra testleri ile belirlenip p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

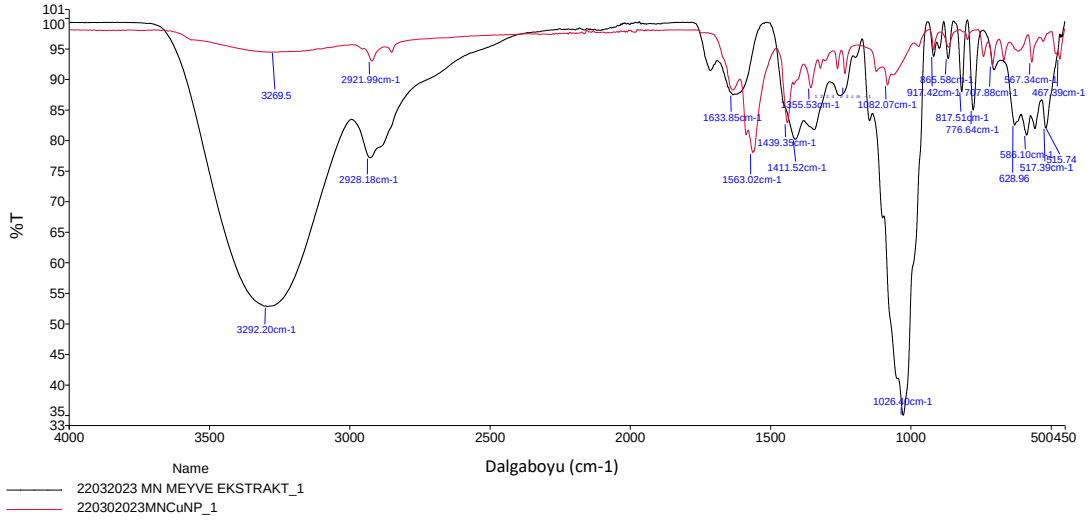
3.1. Nanopartiküllerin karakterizasyonu

3.1.1. Nanopartiküllerin FTIR Analiz Sonuçları

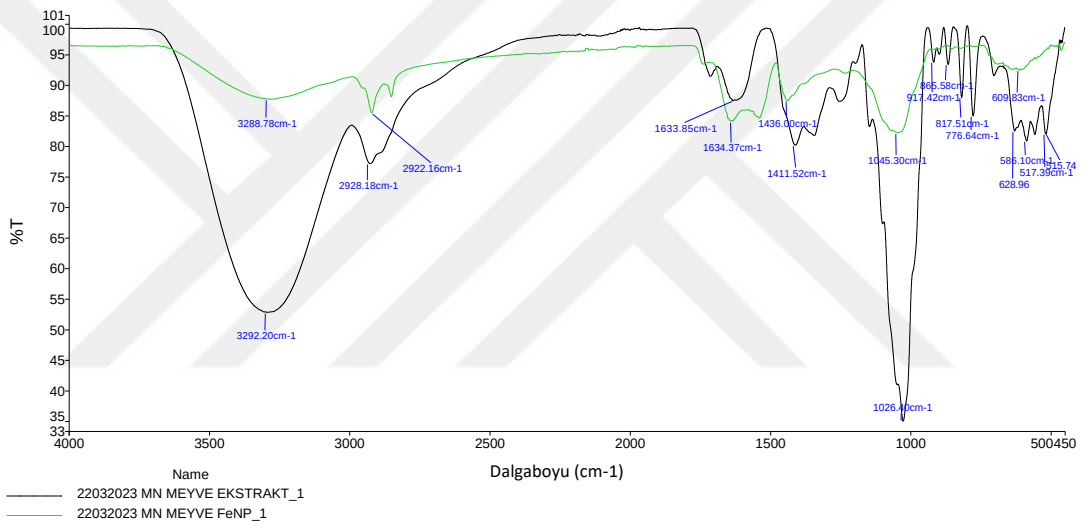
Morus nigra meyve ve yaprak ekstraktları, flavonoidler, antosiyaninler ve polifenoller dahil olmak üzere bir fitokimyasal spektrum içerir (Akmeşe vd., 2020; Zeni vd., 2017). Hem *Morus nigra* meyve ekstraktının hem de meyve ekstraktı kullanılarak sentezlenen NP'lerin FTIR spektrumları her bir NP'den ve ekstraktan elde edilen spekturumlar üst üste çakıştırılarak gösterildi (Şekil 16-19). Meyve ekstraktından elde edilen spekturumlardaki 3292.2 cm^{-1} 'deki geniş bant, alkollerdeki ve polifenollerdeki O-H ve N-H gruplarının gerilme titreşiminin sonucunda oluşmaktadır ve bu fonksiyonel grupların varlığını doğrulamaktadır. 2928.18 cm^{-1} aralığında elde edilen tepe noktaları C-H gerilme titreşimine karşılık gelmektedir ve bu alkanlara atfedilmektedir. 1633.85 cm^{-1} 'de gözlemlenen bant, alkenlerdeki C=C bağı olabilir ve 1026.4 cm^{-1} 'deki bant muhtemelen C-O gerilmesinden kaynaklanmaktadır ve bu aminoasitlerin varlığına atfedilebilir. Ek olarak $586,1 \text{ cm}^{-1}$ ve 541 cm^{-1} 'de gözlenen pikler, biyomoleküllerde tipik alkin C-H bükülmesini göstermektedir. *Morus nigra* üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında meyvelerin FTIR analiz sonuçları ile benzer bu çalışmanın sonuçları benzerlik göstermektedir (Maqsood vd., 2022; Trak ve Arslan, 2021) Sentezlenen NP'lerin FTIR spektrumları incelendiğinde de aynı bantlar gözlemlenebilmektedir.



Şekil 16. MN-M ve MAgNP FTIR analizi kromatogramı

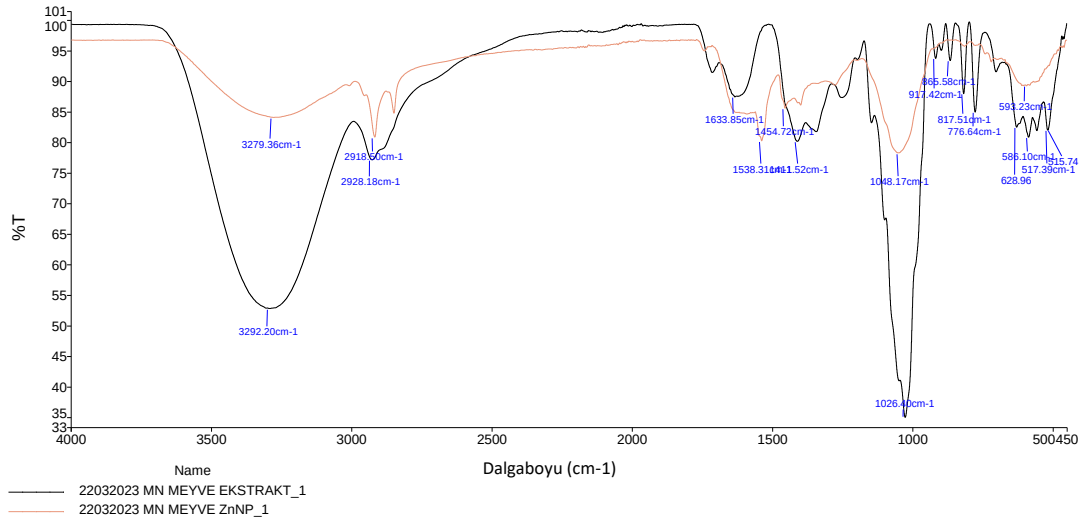


Şekil 17. MN-M ve MCuNP FTIR analizi kromatogramı

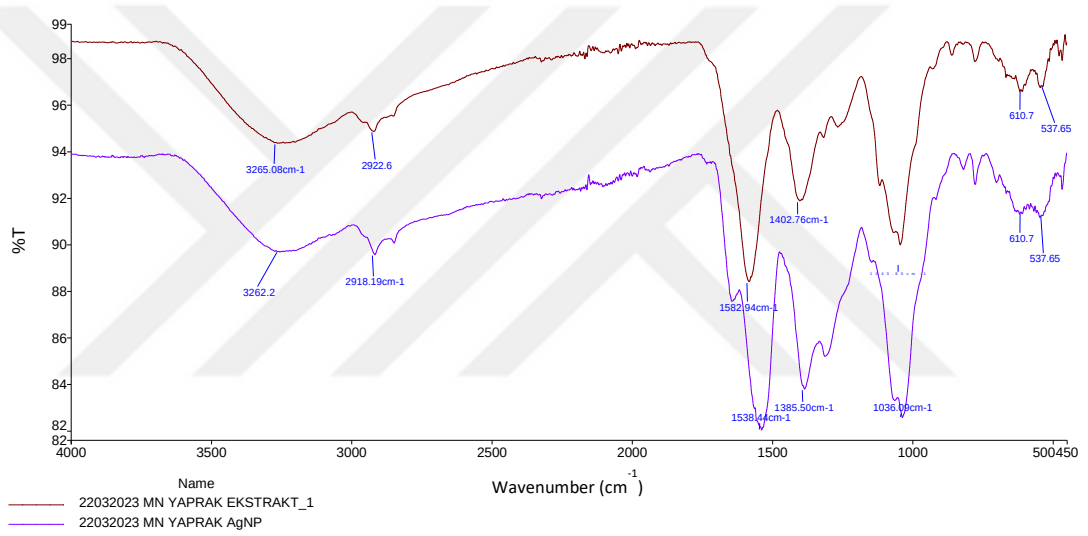


Şekil 18. MN-M ve MFeNP FTIR analizi kromatogramı

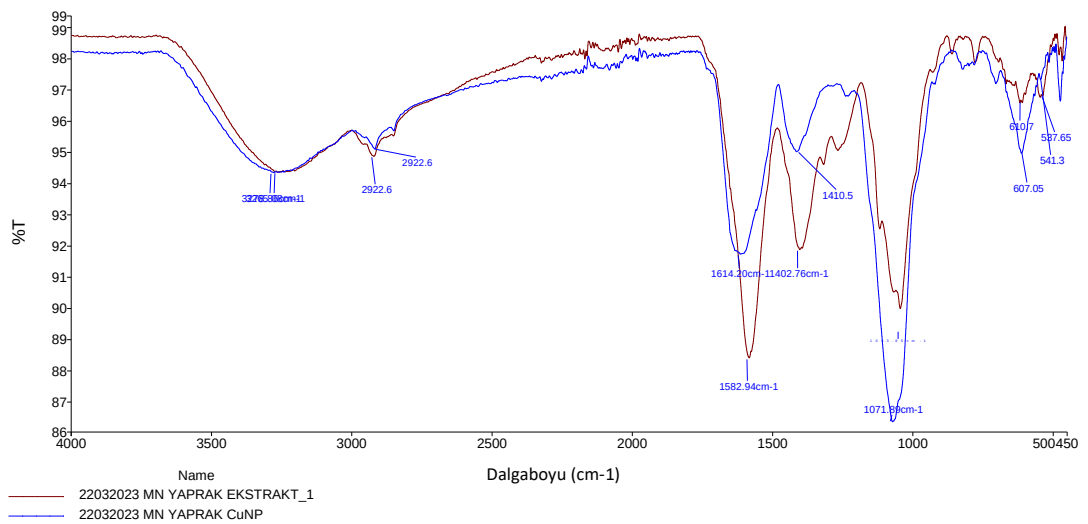
Bitkinin yapraklarından elde edilen ekstraktın ve bu ekstrakt kullanılarak indirgenen NP'lerin FTIR spektrumları da aynı biçimde görselleştirildi (Şekil 20-23). Elde edilen spektrumdaki bantların incelenmesi sonucunda meyve ekstraktında belirlenen fonksiyonel gruplar, yaprak ekstratı için sırasıyla; 3265.08 cm^{-1} , 2922.6 cm^{-1} , 1582.94 cm^{-1} , 1048.17 cm^{-1} , 610.7 cm^{-1} ve 537.65 cm^{-1} 'deki bantlarda belirlenmiştir. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında benzer sonuçların elde edildiği görülmektedir (Awwad ve Salem, 2012; Xu vd., 2019). *Morus nigra* yaprak ekstraktları kullanılarak yeşil yöntem benimsenerek sentezlenen NP'lerin FTIR spektrumlarında da yaprak ekstratına paralel bantlar görüldü. Dolayısıyla kapaklayıcı ajan olarak kullanılan sekonder metabolitlere ait fonksiyonel grupların varlığı hem meyve ekstraktından hem de yaprak ekstraktından sentezlenen tüm NP'lerde tespit edildi.



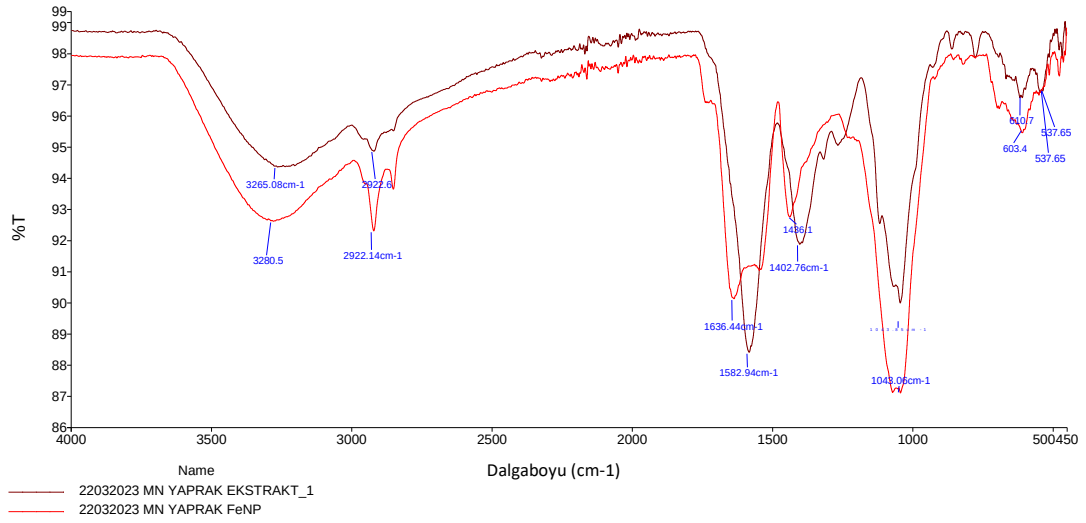
Şekil 19. MN-M ve MZnNP FTIR analizi kromatogramı



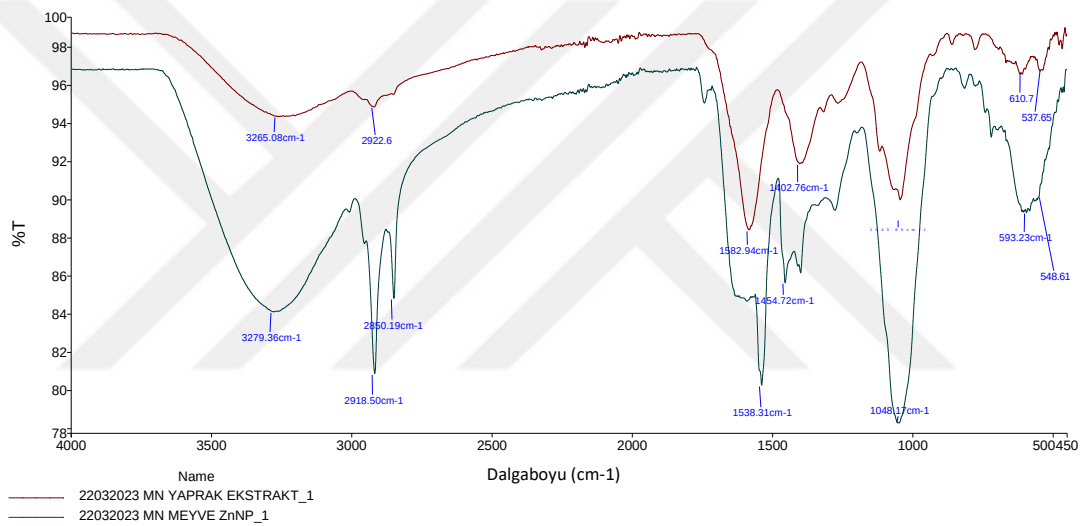
Şekil 20. MN-Y ve YAgNP FTIR analizi kromatogramı



Şekil 21. MN-Y ve YCuNP FTIR analizi kromatogramı



Şekil 22. MN-Y ve YFeNP FTIR analizi kromatogramı



Şekil 23. MN-Y ve YZnNP FTIR analizi kromatogramı

3.1.2. Nanopartiküllerin XRD Analiz Sonuçları

Fizikokimyasal özelliklerin karakterizasyonu için XRD analizleri kullanıldı. Spektrumun dışında, NP'lerin bileşimi, kristallik indeksi ve kristal boyutu da tahmin edilmeye çalışıldı (Ek 1).

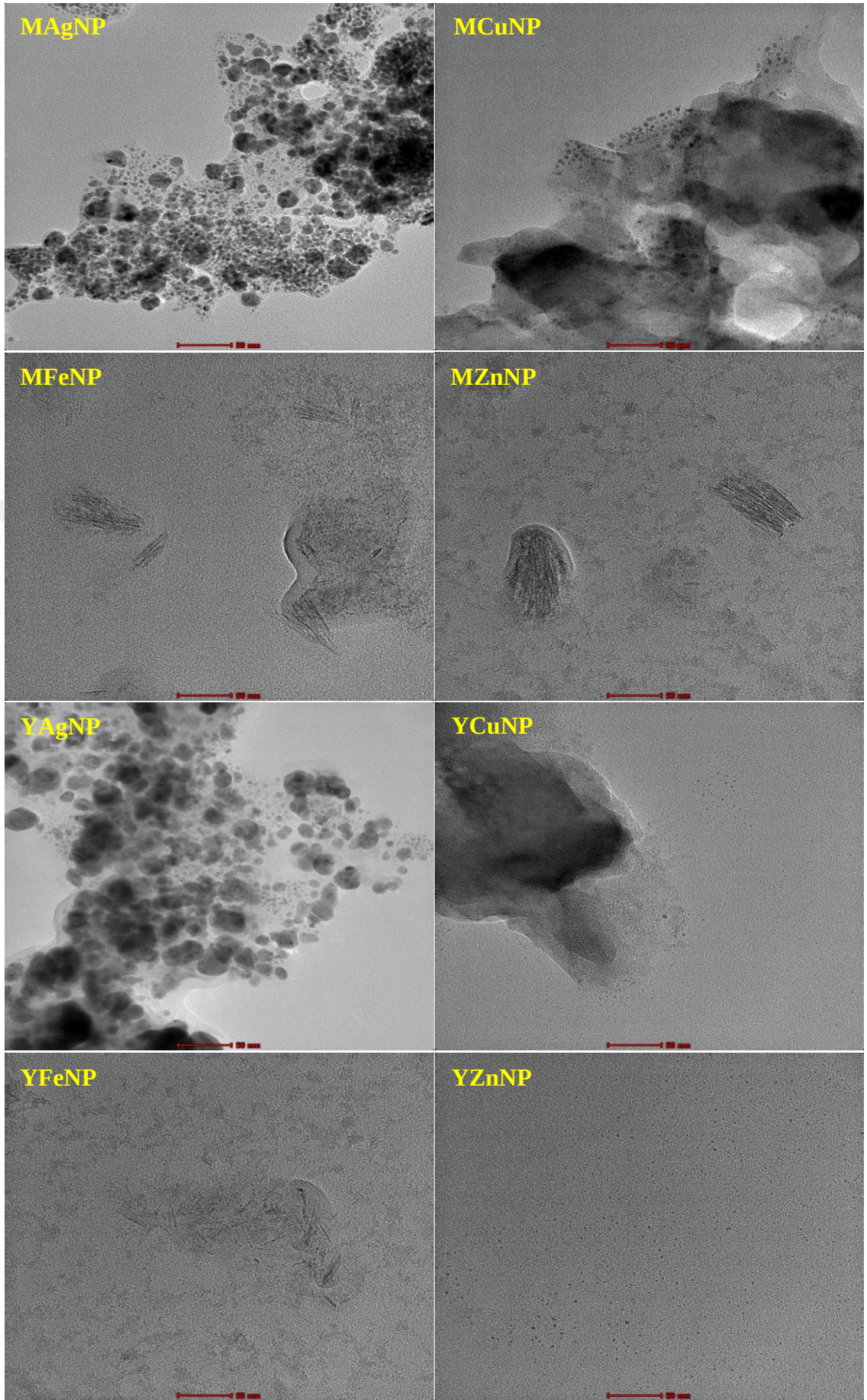
Yapılan XRD çekimleri sonucu MAgNP, MCuNP, MFeNP, MZnNP ve YAgNP'nin amorf yapıya sahip olduğu görüldü. Cortez-Valadez vd., (2014), bitki ekstraktları kullanarak ürettikleri yeşil sentez bakır NP'lerin amorf yapıya sahip olduklarını rapor etmişlerdir. Ayrıca, Lin vd., (2020) yapmış oldukları çalışmada elde ettikleri demir NP'lerin amorf yapıya sahip olduklarını belirtmişlerdir.

3.1.3. Nanopartiküllerin TEM, HAADF ve EDX Analiz Sonuçları

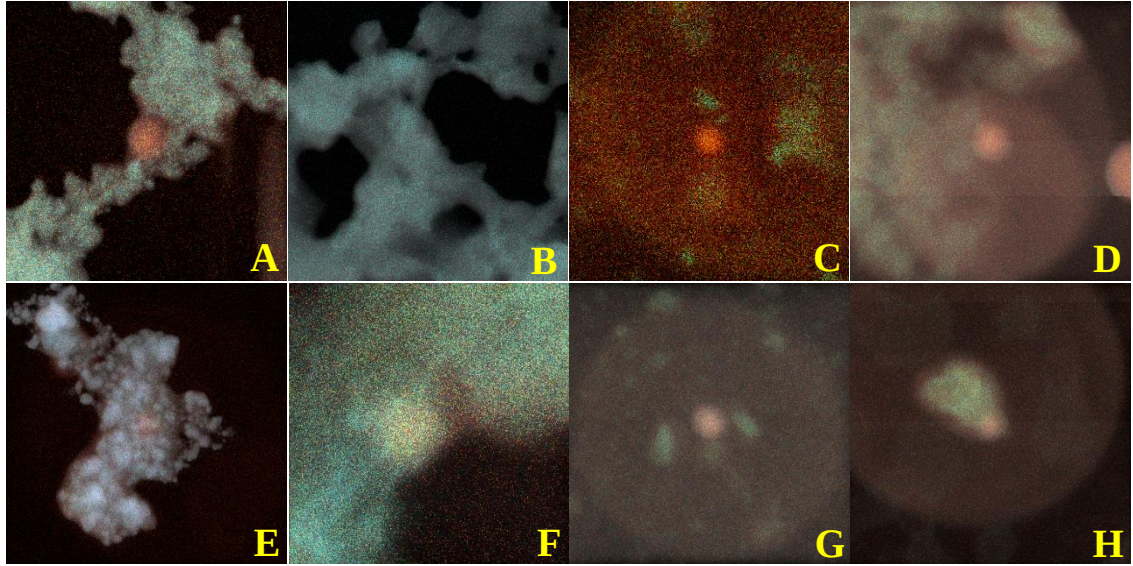
Çalışma kapsamında sentezlenen NP'lerin nanoyapısı ve boyut dağılımı, TEM ile belirlendi (Şekil 24). Sentezlenen NP'lerin 50 nm'den küçük farklı boyutlara sahip olduğu belirlendi. Ayrıca küresel veya amorf şekillere sahip oldukları da tespit edildi. Bitki ekstraktı kullanılarak NP sentezi yapılan çalışmalar incelendiğinde, çalışmamıza benzer boyutlara ve şekillere sahip NP'lerin sentezlendiği görülmektedir (Fahimmunisha vd., 2020; Krishnaraj vd., 2014; Kuang vd., 2013; Lotha vd., 2019; Maniraj vd., 2019; Pillai vd., 2020; Prakash vd., 2018; Shende vd., 2015).

NP'lerin EDX profilleri; MAgNP ve MCuNP için EK 2'de, MFeNP ve MZnNP için EK 3'de, YAgNP ve YCuNP için EK 4'te, YFeNP ve YZnNP için EK 5'te grafik çıktısı olara verildi. EDX profilelerinin belirlenmesi amacıyla; her NP'ün indirgendiği element ve ayrıca organik bileşiklerde yüksek miktarlarda bulunan karbon (C), azot (N) ve oksijen (O) elementlerinin taraması yapıldı. Elde edilen grafikler incelendiğinde, her bir NP türünde, indirgendiği metale ait pik görüldü. Ayrıca beklendiği gibi C, N ve O pikleri tüm NP'lerin EDX profillerinde belirlendi.

HAADF ile de NP'lerin, EDX ile profili belirlenen elementlerine ait görüntüleri alındı (Şekil 25 ve Şekil 26). HAADF ile görüntülenen elementler nispeten homojen bir dağılım gösterdi. Hem EDX hem de HAADF analiz sonuçları, bitki sekonder metabolitlerinin sentezde özellikle kapaklamada görev aldığına dair bir yoruma neden oldu.

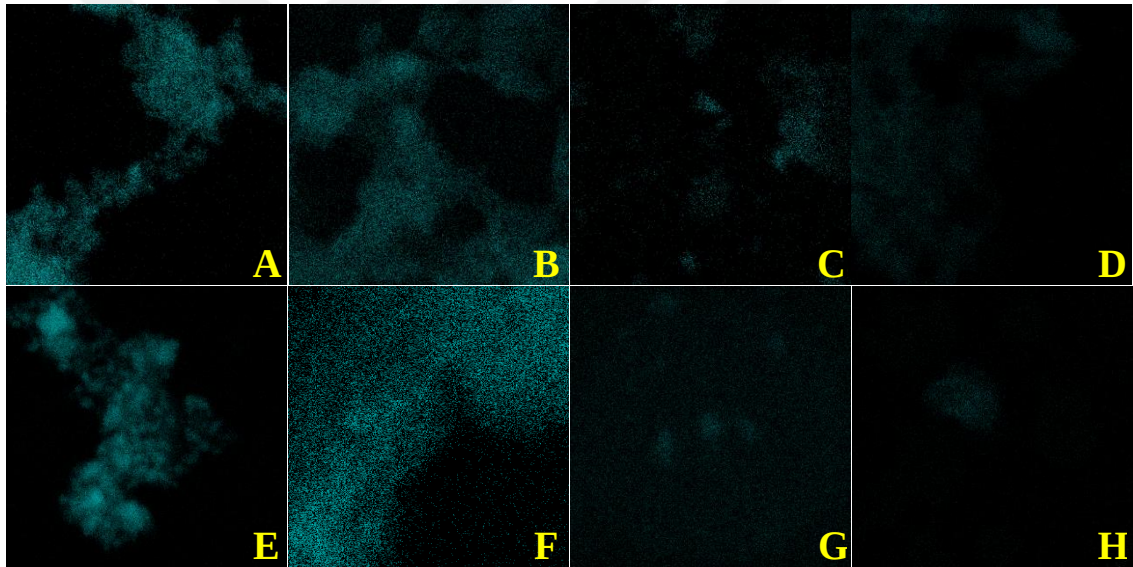


Şekil 24. NP'lerin TEM görüntüleri



A: MAgNP'lerin, B: MCuNP'lerin, C: MFeNP'lerin, D: MZnNP'lerin, E: YAgNP'lerin, F: YCuNP'lerin, G: YFeNP'lerin, H: YZnNP'lerin görüntüleri

Şekil 25. NP'lerin HAADF ile Ag, C, Cu, Fe, N, O, Zn haritaları



A: MAgNP'lerin Ag, B: MCuNP'lerin Cu, C: MFeNP'lerin Fe, D: MZnNP'lerin Zn, E: YAgNP'lerin Ag, F: YCuNP'lerin Cu, G: YFeNP'lerin Fe, H: YZnNP'lerin Zn görüntüleri.

Şekil 26. NP'lerin HAADF görüntüleri

3.2. Toplam Fenolik İçerik Analiz Sonuçları

Morus nigra meyve ve yapraklarından elde edilen ekstraktlar ve ekstraktlardan sentezlenen NP'lerin toplam fenolik içerik analizleri yapıldı ve sonuçlar, oluşturulan gallik asit standart eğri grafiği kullanılarak tablolandırıldı (Tablo 2). Ayrıca NP'lerin ve ekstraktların gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanan toplam fenolik sonuçları sütun grafiği (Şekil 27) ile de karşılaştırıldı. Bitkinin meyvelerinden ve yapraklarından elde edilen ekstraktların sonuçları, birbirileriyle kıyaslandığında kayda değer bir fark gözlenmezken yeşil sentez NP'lerle karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde NP'lerin çok

daha yüksek toplam polifenolik seviyelere sahip oldukları belirlendi. Sharifi-Rad vd. (2020) yapmış oldukları çalışmada, bitki ekstraktı aracılı sentezledikleri AgNP'lerin toplam fenolik içeriğinin bitki ekstraktında daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Tablo 2. Örneklerin toplam polifenol içerik analiz sonuçları

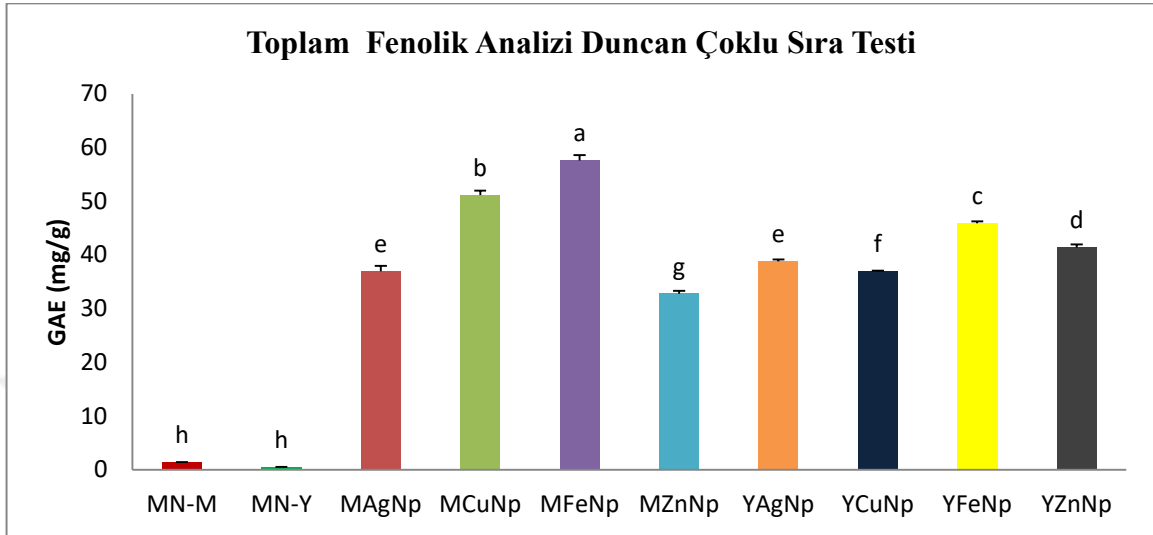
Örnekler	GAE (mg/g)
MN-M	1.40±0.02 ^h
MN-Y	0.53±0.01 ^h
MAGNP	36.94±0.99 ^f
MCuNP	51.14±0.83 ^b
MFeNP	57.60±0.97 ^a
MZnNP	32.77±0.54 ^g
YAgNP	38.77±0.35 ^e
YCuNP	36.90±0.16 ^f
YFeNP	45.86±0.41 ^c
YZnNP	41.35±0.59 ^d

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. GAE: Gallik asit eşdeğeri, MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAGNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

Örneklerin toplam fenolik analiz sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.

Ayrıca yapılan çalışmada gümüş NP'lerin toplam fenolik içerikleri 0.21 GAE (mg/g) olarak tespit edilmişken tez çalışmasında MAGNP'nin ve YAgNP'nin toplam fenolik içerikleri sırasıyla; 36.94 ve 38.77 GAE (mg/g) olarak tespit edildi. Yine bitki ekstraktı kullanılarak gümüş, bakır ve titanyum oksit NP'lerin sentezlendiği başka bir çalışmada ekstraktların sentezlenen NP'lerden daha yüksek toplam fenolik içeriğe sahip olduğu kayıt altına alınmıştır (Alavi ve Karimi, 2018). Alavi ve Karimi (2018)'nin elde ettiği sonuçlara bakıldığında gümüş, bakır ve TiO₂ NP'lerin toplam fenolik içerik analiz sonuçları sırasıyla; 4.03±1.45, 4.31±1.1 ve 3.6±1.6 GAE (mg/g) olarak belirlenmiştir. Tez çalışmasında ise MAGNP, MCuNP, MFeNP, MZnNP, YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP aynı parametre için sonuçlar, sırasıyla; 36.94±0.99, 51.14±0.83, 57.60±0.97, 32.77±0.54, 38.77±0.35, 36.90±0.16, 45.86±0.41 ve 41.35±0.59 olarak elde edildi. Tez

çalışması, bu çalışmalar ile karşılaştırıldığında NP'lerin kapaklanmasında kullanılan bitki fenolik bileşiklerinin daha yüksek miktarda olduğu söylenebilir. NP'ler kendi aralarında değerlendirildiğinde ise en iyi sonucu MFeNP gösterirken, MZnNP'nin en düşük polifenol içeriğe sahip olduğu görülmektedir.



Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. GAE: Gallik asit eşdeğeri, MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAgNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

Örneklerin toplam fenolik analiz sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.

Şekil 27. Örneklerin toplam fenolik analiz sonuçlarının sütun grafiği ile gösterimi

3.3. Toplam Flavonoid İçerik Analiz Sonuçları

Çalışmada kullanılan meyve ve yaprak ekstraktlarının ve bitki ekstraktı aracılı NP'lerin flavonoid içerik seviyelerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan alüminyum klorür kolorimetrik metodunun çalışılmasıyla elde edilen sonuçlar kuersetin eşdeğeri olarak Tablo 3'te verildi. Ayrıca sonuçlar Şekil 28'de gösterildiği biçimde sütun grafiği halinde de verildi ve sonuçlar sütun grafiğinden faydalanılarak karşılaştırıldı. Fenolik içerik analiz sonuçlarıyla paralel olarak *Morus nigra* meyve ve yaprak ekstraktlarının sergilemiş olduğu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde NP'lerden daha düşüktür ve yine ekstraktlar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. NP'lerde ise FeNP'lerin en iyi sonucu sergilediği kaydedildi.

Tablo 3. Örneklerin toplam flavonoid içerik analiz sonuçları

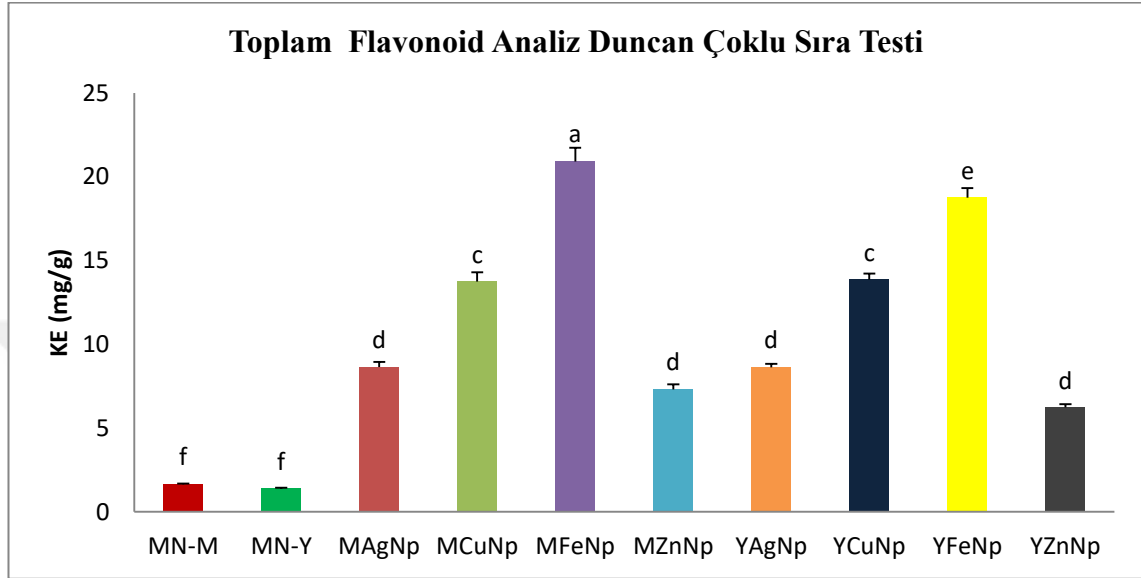
Örnekler	KE (mg/g)
MN-M	1.65±0.03 ^g
MN-Y	1.39±0.06 ^g
MAGNP	8.63±0.30 ^d
MCuNP	13.73±0.57 ^c
MFeNP	20.91±0.82 ^a
MZnNP	7.31±0.30 ^e
YAgNP	8.61±0.21 ^d
YCuNP	13.86±0.57 ^c
YFeNP	18.74±0.21 ^b
YZnNP	6.22±0.35 ^f

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. KE: Kuersetin eşdeğeri, MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAGNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

Örneklerin toplam flavonoid analiz sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.

Mevcut çalışması kapsamında yapılan toplam fenolik ve toplam flavonoid içerik analiz sonuçlarına bakıldığında NP'lerin sentezlenmesinde ve özellikle kapaklanmasında ekstraktlarda bulunan bileşiklerin görev aldığı sonucuna varılmaktadır. Literatürde de bitki sekonder metabolitlerinin indirgeme ve kapaklama ajanı olarak kullanıldığına dair paralel sonuçları kayıt altına alan çalışmalar görülmektedir ve ayrıca sentezlemiş olduğumuz NP'lerin toplam fenolik ve toplam flavonoid kapasitesinin ekstraktlara göre belirgin bir şekilde yüksek olduğu da görülmektedir (Jalilian vd., 2020; Nazir vd., 2023; Sivakumar, 2021). Sharifi-Rad vd. (2020)'nin yapmış oldukları çalışmanın sonuçlarına bakıldığında; sentezlenmiş olan gümüş NP'lerin toplam flavonoid içerik analiz sonucu 0.13 KE (mg/g) olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada ise MAGNP'nin ve YAgNP'nin toplam flavonoid içerik analizi sonuçları sırasıyla; 8.63 ve 8.61 KE (mg/g) olarak kayıt altına alındı. Alavi ve Karimi (2018) ise yapmış oldukları çalışmada sentezlemiş oldukları gümüş, bakır ve TiO₂ NP'lerin toplam flavonoid içerik analiz sonuçlarını sırasıyla 2.23±0.96, 2.06±1.17 ve 1.44±0.57 KE (mg/g) olarak kayıt altına almışlardır. Bu çalışmada ise toplam flavonoid analiz sonuçları, MAGNP,

MCuNP, MFeNP, MZnNP, YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP için sırasıyla; 8.63 ± 0.30 , 13.73 ± 0.57 , 20.91 ± 0.82 , 7.31 ± 0.30 , 8.61 ± 0.21 , 13.86 ± 0.57 , 18.74 ± 0.21 , 6.22 ± 0.35 KE (mg/g) olarak tespit edildi. Bu çalışmalarla karşılaştırıldığında tez kapsamında yeşil yöntemle sentezlenen NP'lerin daha iyi sonuçlar sergilediği görülmektedir.



Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. KE: Kuersetin eşdeğeri, MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAgNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

Örneklerin toplam flavonoid analiz sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.

Şekil 28. Örneklerin toplam flavonoid analiz sonuçlarının sütun grafiği ile gösterimi

3.4. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

3.4.1. DPPH (2,2-difenil-1 pikrilhidrazil) Radikali Yakalama Analiz Sonuçları

Karadut meyvelerinden ve yapraklarından elde edilen ekstraktların ve ekstraktlardan yeşil yöntemle sentezlenen biyosentez NP'lerin toplam antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla çalışmalarda sıkça kullanılan analiz yöntemlerinden biri olan DPPH radikali yakalama metoduna göre yapılan analizin sonuçları iki farklı antioksidan standart kullanılarak değerlendirildi (Tablo 4). Ayrıca, sonuçlar sütun grafiği kullanılarak da verildi. Askorbik asit için Şekil 29'da, troloks için Şekil 30'da sütun grafiği hazırlandı. İstatistiksel olarak değerlendirilmenin de ekstraktların, antioksidan kapasiteleri bitki ekstraktı aracılı biyosentez NP'lerden anlamlı bir şekilde çok daha düşük olduğu kaydedildi. Ancak karadut meyve ekstraktının yaprak ekstraktından daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu

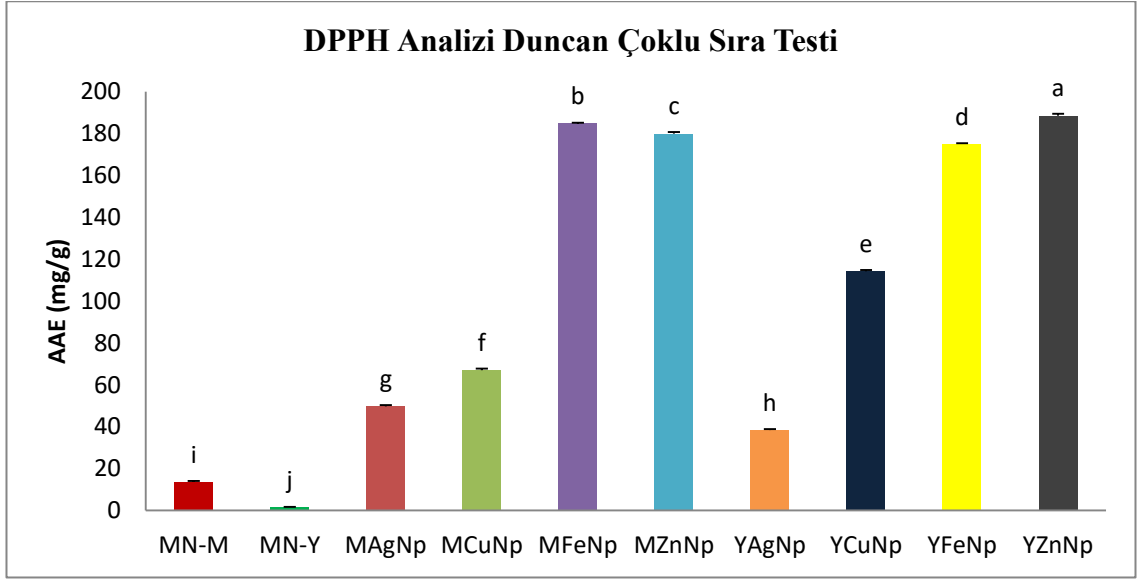
görülmüştür. NP'lerin DPPH radikali yakalama analizi sonuçları değerlendirildiğinde ise ZnNP'lerin en iyi antioksidan aktiviteyi sergilediği kayıt altına alınırken, AgNP'lerin diğer NP'lere göre daha düşük aktivite gösterdikleri gözlenmiştir.

Tablo 4. Örneklerin standart grafik eğrilerine göre DPPH analiz sonuçları

Örnekler	AAE (mg/g)	TE (mg/g)
MN-M	13.71±0.32 ⁱ	15.21±0.47 ⁱ
MN-Y	1.71±0.06 ^j	0.62±0.04 ^j
MAgNP	49.69±0.61 ^g	23.20±0.49 ^g
MCuNP	66.92±0.85 ^f	34.94±0.32 ^f
MFeNP	184.82±0.32 ^b	138.99±0.77 ^b
MZnNP	179.96±0.64 ^c	153.92±0.49 ^c
YAgNP	38.36±0.48 ^h	17.04±0.71 ^h
YCuNP	114.12±0.62 ^e	105.56±0.60 ^e
YFeNP	175.08±0.26 ^d	125.80±0.23 ^d
YZnNP	188.52±0.89 ^a	163.27±0.56 ^a

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. AAE: Askorbik asit eşdeğeri, TE: Troloks eşdeğeri, MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAgNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

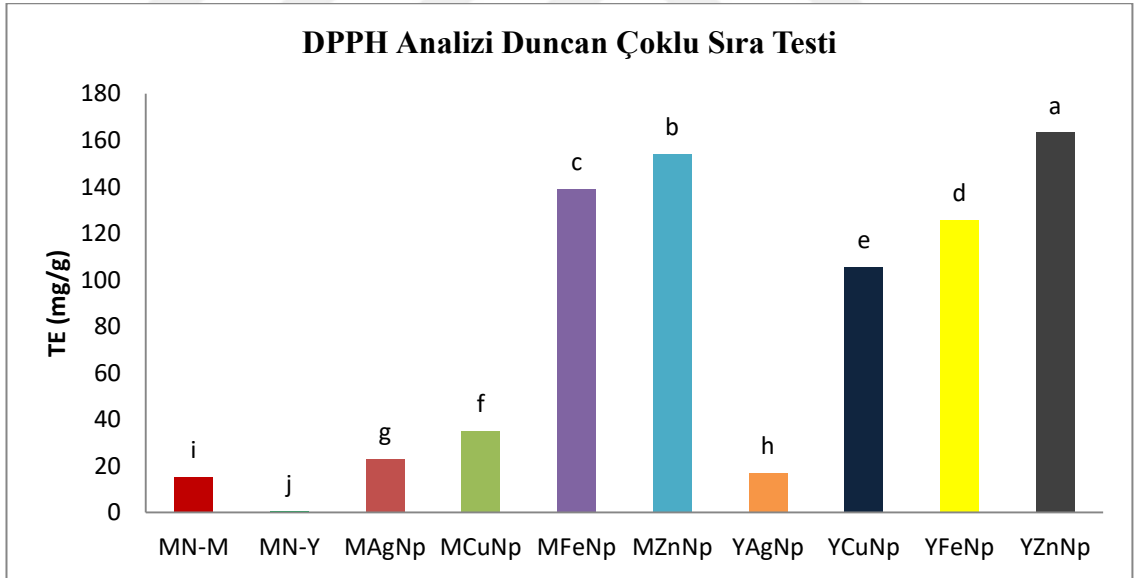
Örneklerin DPPH sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.



Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. AAE: Askorbik asit eşdeğeri, MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAgNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

Örneklerin DPPH sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.

Şekil 29. Askorbik asit standart eğri grafiğine göre DPPH analiz sonuçları



Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. TE: Troloks eşdeğeri, MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAgNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

Örneklerin DPPH sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.

Şekil 30. Örneklerin troloks standart eğri grafiğine göre DPPH analiz sonuçları

3.4.2. ABTS Radikali Yakalama Yöntemi Analiz Sonuçları

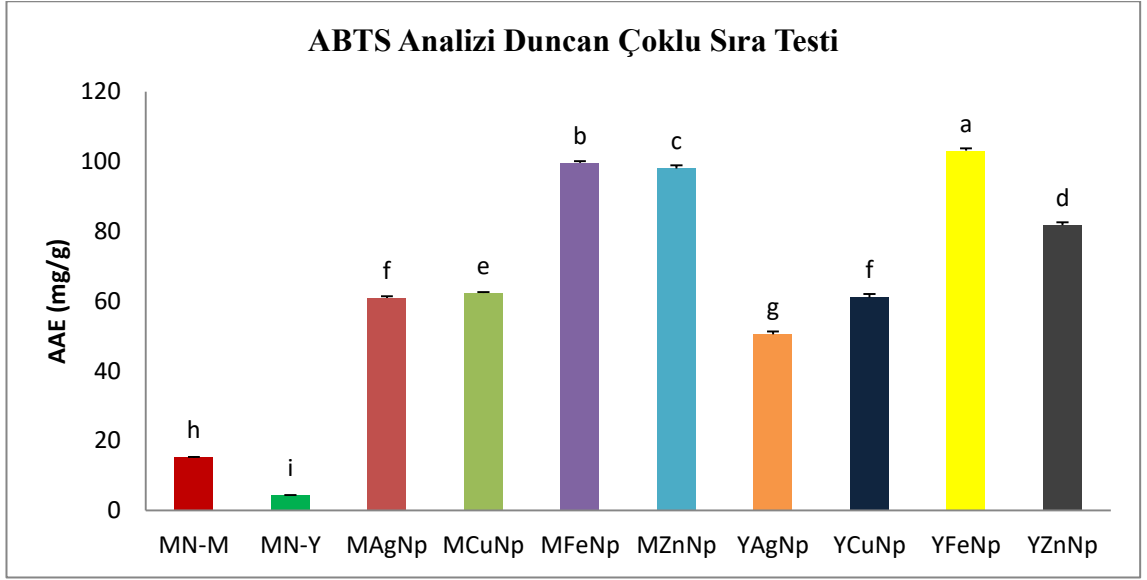
Tez çalışması kapsamında *Morus nigra* meyvelerinden, yapraklarından elde edilen ekstraktların ve ekstraktlar kullanılarak indirgenen NP'lerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla çalışılan bir diğer metod olan ABTS radikali yakalama analizi sonuçları, askorbik asit ve troloks standart eğri grafiği kullanılarak hesaplanıp antioksidan aktiviteleri Tablo 5'te şematize edildi. Ayrıca kullanılan her bir standart için sonuçların ayrı ayrı sütun garfiği çizildi. Askorbik asit standart grafik eğrisinden faydalanılarak hazırlanan sütun grafiği Şekil 31'de ve troloks standart grafik eğrisi kullanılarak hesaplanan sonuçlar için hazırlanan sütun grafiği Şekil 32'de verildi. Sonuçlara bakıldığında istatistiksel olarak biyosentez NP'lerle karşılaştırıldığında *Morus nigra*'dan elde edilen ekstraktların anlamlı bir şekilde daha düşük antioksidan aktivite gösterdikleri görüldü. Yine ekstraktların ABTS analiz sonuçlarına bakıldığında MN-M'nin sergilemiş olduğu antioksidan aktivite MN-Y'den daha yüksektir. Ekstrak aracılı sentezlenen NP'lerin sonuçlarına bakıldığında ise YFeNP'nin belirgin bir şekilde diğer NP'lerden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip NP olduğu görülmektedir.

Tablo 5. Örneklerin standart grafik eğrilerine göre ABTS analiz sonuçları

Örnekler	AAE (mg/g)	TE (mg/g)
MN-M	15.23±0.07 ^h	25.21±0.12 ^g
MN-Y	4.43±0.02 ⁱ	7.38±0.04 ^h
MAGNP	60.92±0.52 ^f	106.47±0.81 ^d
MCuNP	62.32±0.22 ^e	107.41±0.99 ^d
MFeNP	99.60±0.35 ^b	162.68±0.69 ^c
MZnNP	97.96±0.77 ^c	165.75±0.87 ^b
YAgNP	50.44±0.50 ^g	95.72±0.46 ^g
YCuNP	61.04±0.44 ^f	97.58±0.47 ^f
YFeNP	103.05±0.55 ^a	254.14±0.25 ^a
YZnNP	81.76±0.70 ^d	97.80±0.83 ^d

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. AAE: Askorbik asit eşdeğeri, TE: Troloks eşdeğeri, MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAGNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

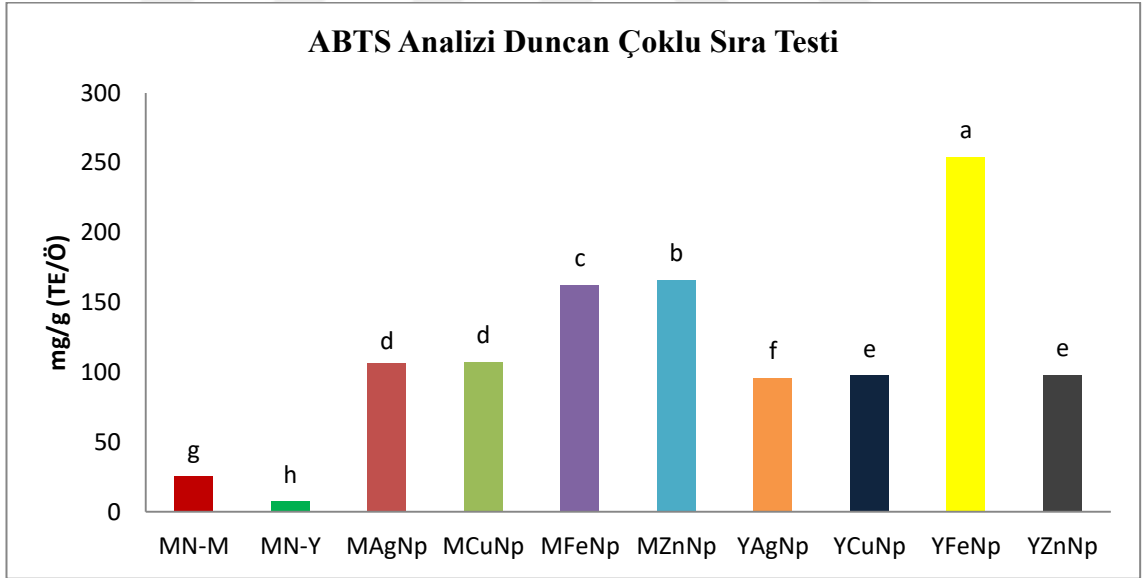
Örneklerin ABTS sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.



Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. AAE: Askorbik asit eşdeğeri, Ö: *Morus nigra* bitkisinin taze meyvelerini, yapraklarını ve NP'leri, MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAgNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

ABTS sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.

Şekil 31. Askorbik asit standart eğri grafiğine göre ABTS analiz sonuçları



Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. TE: Troloks eşdeğeri, Ö: *Morus nigra* bitkisinin taze meyvelerini, yapraklarını ve NP'leri, MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAgNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

ABTS sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.

Şekil 32. Örneklerin troloks standart eğri grafiğine göre ABTS analiz sonuçları

3.4.3. FRAP (Demir İyonu İndirgeme Gücü) Yöntemi Analiz Sonuçları

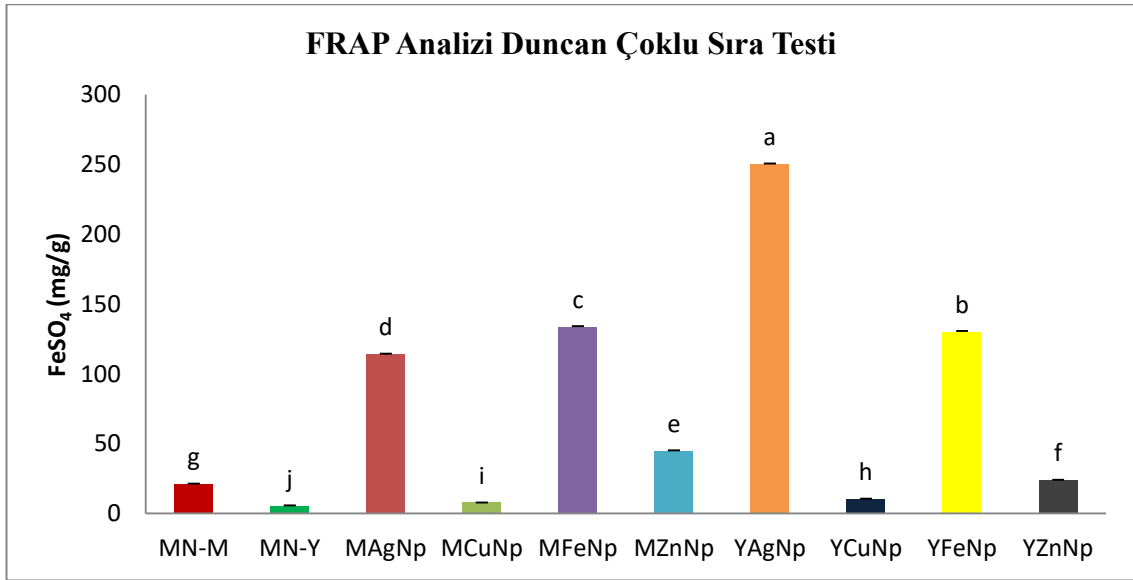
Çalışma kapsamında örneklerin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi amacıyla üçüncü bir yöntem olarak FRAP kullanıldı. Karadut meyvelerinin ve yapraklarının kullanılmasıyla elde edilen ekstraktların ve bu ekstraktlar kullanılarak sentezlenen NP'lerin, FeSO₄ eşdeğeri olarak hesaplanan antioksidan kapasiteleri Tablo 6'da ve Şekil 33'de düzenlendi. Diğer iki antioksidan kapasite analizi sonuçlarına paralel olarak MN-M ve MN-Y karşılaştırıldıklarında MN-M'nin daha yüksek antioksidan aktivite sergilediği görülmektedir. Ancak farklı bir veri olarak MN-M'nin, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde hem MCuNP'den hem de YCuNP'den daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. NP'ler incelendiğinde ise YAgNP, sentezlenen diğer NP'ler içerisinde en yüksek aktiviteyi sergiledi.

Tablo 6. Örneklerin FeSO₄ grafik eğrisine göre FRAP analiz sonuçları

Örnekler	FeSO ₄ E (mg/g)
MN-M	21.25±0.14 ^g
MN-Y	5.54±0.19 ^j
MAGNP	114.08±0.38 ^d
MCuNP	7.84±0.05 ⁱ
MFeNP	133.80±0.44 ^c
MZnNP	44.78±0.50 ^e
YAgNP	250.33±0.31 ^a
YCuNP	10.29±0.28 ^h
YFeNP	130.00±0.77 ^b
YZnNP	24.04±0.17 ^f

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. FeSO₄E: Demir (II) Sülfat eşdeğeri, MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAGNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

Örneklerin FRAP sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.



Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. FeSO₄E: Demir (II) Sülfat eşdeğeri, Ö: *Morus nigra* bitkisinin taze meyvelerini, yapraklarını ve NP'leri, MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAgNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

FRAP sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.

Şekil 33. Örneklerin FeSO₄ standart eğri grafiğine göre FRAP analiz sonuçları

Sonuçlar değerlendirildiğinde farklı her üç yöntemde de ekstraktların toplam antioksidant kapasitelerinin onlardan sentezlenen NP'lerden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük olduğu görülmektedir. Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında da bu duruma paralel sonuçlar görülmektedir (Chinnathambi ve Alahmadi, 2021; Perveen vd., 2022; Sharifi-Rad vd., 2020; Wu vd., 2020; Yousaf vd., 2020). Ekstraktlar ile karşılaştırıldığında ekstraktlar kullanılarak sentezlenen NP'lerin daha yüksek antioksidan aktivite göstermeleri muhtemelen bitki sekonder metabolitlerin ve biyoaktif bileşiklerin kapaklayıcı ajan olarak NP'ler üzerine adsorbe olmaları ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca bu durum, bunların ve NP'lerin eş zamanlı aktivitesine de atfedilebilir (Vijayan vd., 2018; Zhao vd., 2018).

3.5. Nanopartiküllerin Metilen Mavisi Absorbsiyonu Analiz Sonuçları

Çalışma kapsamında örneklerin, toksik etkileri olan boyar maddeleri absorbe edebilme kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla metilen mavisinin absorpsiyonu çalışıldı. Sonuçlara metilen mavisini standart grafik eğrisinden faydalanılarak hesaplandı ve sonuçlar Tablo 7'de verildi. Sonuçlar ayrıca % inhibisyon olarak da hesaplandı (Tablo 8).

Morus nigra bitkisinin meyveleri ve yaprakları kullanılarak elde edilen ekstraktlar kullanılarak biyosentez ile üretilen metal NP'lerin metilen mavisi absorpsiyon kapasiteleri belirlendi. Sonuçlar irdelendiğinde farklı konsantrasyonlardaki her 3 metilen mavisi çözeltilerine karşı düşük dozdaki NP'lerin diğer iki yüksek konsantrasyondakilere karşı daha yüksek boya absorbladıkları görülmektedir. Buna ilave olarak NP'lerin tüm derişimlerinin yüksek konsantrasyondaki metilen mavisiyle olan absorpsiyon reaksiyonlarının düşük metilen mavisi çözeltislerine göre daha verimli olduğu da kaydedildi. Ayrıca hem meyve hem de yaprak ekstraktından sentezlenen demir NP'ler diğer ekstrakt aracılı biyosentez NP'lerle kıyaslandığında daha düşük boya absorblama kapasitesine sahip oldukları görülmektedir.

Literetür incelendiğinde, biyosentez NP'lerin metilen mavisi absorpsiyonu etkinliğinin olduğu görülmektedir (Abdelfatah vd., 2021; Alwash, 2020; Chen vd., 2019; Din vd., 2020; Saha vd., 2017).

Tablo 7. Metilen mavisi absorbsiyon analiz sonuçları

NP'ler	MM absorbsiyon (mg/g)								
	1 mg NP ve 25 µg/ml MM	2 mg NP ve 25 µg/ml MM	3 mg NP ve 25 µg/ml MM	1 mg NP ve 50 µg/ml MM	2 mg NP ve 50 µg/ml MM	3 mg NP ve 50 µg/ml MM	1 mg NP ve 250 µg/ml MM	2 mg NP ve 250 µg/ml MM	3 mg NP ve 250 µg/ml MM
MAGNP	16.89±0.33	11.27±0.55	7.32±0.10	32.77±0.74	17.45±0.18	12.41±0.40	40.33±1.70	21.77±1.49	16.19±1.39
MCuNP	24.04±0.11	9.59±0.21	5.53±0.27	31.23±1.35	14.15±1.29	11.09±0.41	35.72±1.31	17.91±1.17	15.83±2.21
MFeNP	13.72±0.36	11.93±0.20	4.76±0.29	19.13±1.79	10.76±1.23	5.44±0.88	32.11±0.26	14.57±0.45	10.19±0.41
MZnNP	19.59±0.11	12.38±0.57	8.23±0.15	36.06±1.29	18.47±0.55	13.51±0.42	46.71±1.54	23.85±1.81	13.99±1.10
YAgNP	15.68±0.39	10.79±0.24	8.34±0.14	35.56±0.17	20.95±1.17	15.35±0.29	37.48±1.14	31.82±1.65	25.46±2.49
YCuNP	18.67±0.49	9.95±0.39	6.69±0.26	34.49±1.42	18.59±0.34	13.36±0.90	44.47±1.72	24.62±2.06	16.54±1.06
YFeNP	12.35±0.47	9.86±0.47	4.44±0.38	26.44±1.54	14.35±0.53	9.24±0.52	28.19±1.53	11.54±2.02	7.56±1.03
YZnNP	21.90±0.50	11.65±0.32	8.07±0.33	34.75±1.71	20.49±0.22	14.75±0.21	47.49±1.44	31.88±1.93	27.65±1.68

Örneklerin absorbe ettiği metilen mavisi miktarları ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. MM: metilen mavisi, MAGNP: *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş nanopartikülleri, MCuNP: *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen bakır nanopartikülleri, MFeNP: *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen demir nanopartikülleri, MZnNP: *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen çinko nanopartikülleri, YAgNP: *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş nanopartikülleri, YCuNP: *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen bakır nanopartikülleri, YFeNP: *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen demir nanopartikülleri, YZnNP: *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen çinko nanopartikülleri temsil etmektedir.

Tablo 8. Metilen mavisi absorbsiyon analiz sonuçları inhibisyon değerleri

NP'ler	MM % absorbsiyonu değerleri								
	1 mg NP ve 25 µg/ml MM	2 mg NP ve 25 µg/ml MM	3 mg NP ve 25 µg/ml MM	1 mg NP ve 50 µg/ml MM	2 mg NP ve 50 µg/ml MM	3 mg NP ve 50 µg/ml MM	1 mg NP ve 250 µg/ml MM	2 mg NP ve 250 µg/ml MM	3 mg NP ve 250 µg/ml MM
MAGNP	67.17±1.36	45.00±1.43	28.99±.39	65.52±1.49	34.76±0.43	24.57±0.23	16.15±0.14	8.63±0.07	6.48±0.07
MCuNP	96.19±2.34	37.88±1.49	21.95±0.62	62.04±1.38	28.32±0.25	21.90±0.27	14.23±0.05	7.11±0.08	6.38±0.05
MFeNP	54.95±1.32	47.39±1.34	18.73±0.33	38.79±0.50	21.32±0.22	10.86±0.35	12.80±0.04	5.78±0.07	4.31±0.21
MZnNP	77.96±1.36	48.96±1.48	32.61±0.29	72.79±1.63	36.92±0.37	26.68±0.32	18.69±0.16	9.44±0.09	5.65±0.05
YAgNP	62.24±1.45	42.68±1.52	32.90±0.29	71.06±1.56	41.69±0.22	30.46±0.33	14.90±0.09	12.64±0.08	10.24±0.05
YCuNP	74.63±1.35	39.38±1.51	26.26±0.29	68.93±1.58	36.79±0.37	26.47±0.31	17.69±0.09	9.80±0.06	6.55±0.06
YFeNP	49.20±1.41	39.75±1.28	17.42±0.29	52.45±1.38	28.54±0.37	18.31±0.18	11.20±0.07	4.55±0.06	3.08±0.06
YZnNP	87.35±2.28	46.82±1.23	32.69±0.29	69.32±1.47	41.09±0.37	29.14±0.38	18.90±0.09	12.69±0.06	11.08±0.9

Örneklerin absorbe ettiği metilen mavisi miktarları ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. MM: metilen mavisi, MAGNP: *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş nanopartikülleri, MCuNP: *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen bakır nanopartikülleri, MFeNP: *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen demir nanopartikülleri, MZnNP: *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen çinko nanopartikülleri, YAgNP: *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş nanopartikülleri, YCuNP: *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen bakır nanopartikülleri, YFeNP: *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen demir nanopartikülleri, YZnNP: *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen çinko nanopartikülleri temsil etmektedir.

3.6. α -Amilaz İnhibisyonu Analiz Sonuçları

Tez çalışması kapsamında meyve ve yaprak ekstraktlarının ve ekstrakt aracılı biyosentez NP'lerin α -amilazı inhibe etme yetenekleri sınıandı ve IC₅₀ değeri hesaplanıp sonuçlar tablolaştırıldı (Tablo 9). Sonuçlar istatistiksel olarak ele alındığında NP'lerin tamamının ekstraktlardan daha yüksek enzim inhibisyon etkinliği gösterdikleri tespit edildi ve sonuçlar, MAgNP'ün anlamlı bir biçimde diğer NP'lerden yüksek inhibisyon aktivitesine sahip olduğunu ortaya koymaktadır. ZnNP'ler diğer NP'lere göre daha yüksek IC₅₀ değerleri sergilemiştir. Ayrıca sonuçlar yorumlandığında, önceki analiz sonuçlarıyla tutarlı bir şekilde, MN-M'nin α -amilazı inhibe edebilmede MN-Y'den daha yüksek bir aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.

Tablo 9. Nanopartiküllerin α -amilaz inhibisyonu analiz sonuçları

Örnekler	IC ₅₀ (µg/ml)
Akarboz	43.74±2.10 ^a
MN-M	1591.24±15.28
MN-Y	2428.16±26.46
MAgNP	77.49±2.00 ^b
MCuNP	89.88±2.30 ^b
MFeNP	145.57±5.77 ^d
MZnNP	162.43±3.61 ^{d,e}
YAgNP	112.02±3.51 ^c
YCuNP	120.70±2.43 ^c
YFeNP	154.84±5.29 ^{d,e}
YZnNP	169.93±2.65 ^e

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAgNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

Örneklerin sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.

Yapılan bu çalışma ile sentezlenen NP'lerin α -amilazı inhibe edebilme yeteneğine sahip oldukları belirlendi, yapılan çalışmaların sonuçlarına bakıldığında farklı yeşil

sentez NP'lerin farklı seviyelerde antidiyabetik etkinlik gösterdikleri görülmektedir (Alangari vd., 2024; Debnath vd., 2020; Govindan vd., 2020; Lava vd., 2021; Velsankar vd., 2020). Debnath vd. (2020) çalışmaları kapsamında sentezlemiş oldukları gümüş NP'lerin 500 µg/ml'lik konsantrasyonunun α-amilaz'ın %44.24'ünü inhibe ettiğini kayıt altına almışlardır. Yapılan bir başka çalışmada ise sentezlenen gümüş NP'lerin α-amilaza karşı göstermiş olduğu IC₅₀ değeri 493.87 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Lava vd., 2020). Tez çalışmasında ise MAgNPN'nin ve YAgNPN'nin α-amilaza karşı göstermiş oldukları inhibisyon etkileri için IC₅₀ değerleri sırasıyla; 77.49±2.00 ve 112.02±3.51 olarak ölçüldü. Karşılaştırma yapıldığında bu çalışma kapsamında sentezlenen gümüş NP'lerin, α-amilaz enzimini inhibe edebilen daha iyi ajan olduğu görülmektedir.

3.7. α-Glukozidaz İnhibisyonu Analiz Sonuçları

Ekstraktlar ve NP'lerin α-glukozidaz enzim inhibisyon kapasiteleri belirlendi ve sonuçlar IC₅₀ değeri olarak hesaplanıp tablollaştırıldı (Tablo 10). Standart olarak kullanılan akarbozun da IC₅₀ değeri eş zamanlı olarak belirlendi. MN-M ve MN-Y, NP'lere göre daha yüksek IC₅₀ değerleri sergiledikleri görülmektedir. Ayrıca AgNP'lerin daha yüksek inhibisyona aktivitesi sergiledikleri, FeNP'lerin ise daha düşük aktiviteye sahip oldukları da belirlendi. Yapılan çalışmalara bakıldığında α-glukozidaz enzimine karşı farklı seviyelerde antidiyabetik etkinliğe sahip bitki ekstraktı aracılı sentezlenen NP'lerin kayıt altına alındığı görülmektedir (Ameena vd., 2022; Dilipan vd., 2023; Jayappa vd., 2020; Kong vd., 2021; Ramasubbu vd., 2023; Saratale vd., 2021).

Tablo 10. α -Glukozidaz inhibisyonu analizi sonuçları

Örnekler	IC ₅₀ (µg/ml)
Akarboz	30.45±0.59 ^a
MN-M	86.25±1.75 ^g
MN-Y	186.10±2.28 ^h
MAGNP	35.21±1.17 ^b
MCuNP	40.04±1.94 ^{c,d}
MFeNP	69.96±1.39 ^f
MZnNP	63.25±1.42 ^e
YAgNP	38.27±1.41 ^c
YCuNP	42.06±2.85 ^d
YFeNP	72.69±1.80 ^f
YZnNP	61.08±0.87 ^e

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAGNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

Örneklerin sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi, $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.

3.8. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Özelliklerinin ve Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi

3.8.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi Analiz Sonuçları

Morus nigra bitkisinin meyvelerinden ve yapraklarından elde edilen ekstraktların ve ekstrakt aracılı sentezlenen NP'lerin antimikrobiyal etkinlikleri agar kuyucuk difüzyon yöntemiyle belirlendi ve sonuçlar Tablo 11'deki gibi şematize edildi. Pozitif kontrol olarak novobiyosin, kloramfenikol ve nalidiksik asit kullanılırken negatif kontrol olarak ise NP'leri çözündürmek için kullanılan DMSO kullanıldı. DMSO konulan tüm kuyucuklarda, çalışma kapsamında kullanılan patojen mikroorganizmalara karşı hiçbir inhibisyon zonu gözlenmedi. Ekstraktlar, NP'lere göre daha düşük antimikrobiyal etkinlik gösterdiler. Katata-Seru vd. (2018) yapmış oldukları çalışmada *Moringa oleifera* Lam. bitkisinin yaprak ve tohumundan elde ettikleri iki farklı demir

NP'ün *Escherichia coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivitesini çalışmışlar ve 17, 15 mm zon çapları elde etmişlerdir. Tez çalışmasında elde edilen FeNP'lerin bu patojene karşı nispeten daha düşük antimikrobiyal aktivite sergiledikleri görülmektedir. Ayrıca literatüre bakıldığında yeşil sentez metal NP'lerin antimikrobiyal aktivitelerinin olduğuna dair çalışmalar vardır (Francis vd., 2018; Mishra ve Sharma, 2015; Radini vd., 2018; Ramesh vd., 2015; Shende vd., 2016).

3.8.2. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal MIC ve MBC Analiz Sonuçları

Çalışma kapsamında karadut meyvelerinden ve yapraklarından elde edilen biyosentez NP'lerin ve seçilen antibiyotiklerin patojen organizmalar kullanılarak belirlenen antimikrobiyal MIC değerleri Tablo 12'de ve NP'lerin MBC değerleri Tablo 13'de şematize edildi. Sonuçlara bakıldığında bitki ekstratı aracılı biyosentez gümüş NP'lerin çalışma kapsamında sentezlenen diğer NP'lere kıyasla daha düşük MIC değerlerine sahip olduğu görülmektedir. MIC'den elde edilen sonuçlara benzer veriler, MBC analizinde de görülmektedir. Yine MAgNP ve YAgNP en iyi aktiviteyi göstermektedir. Literatürdeki ilgili çalışmalara bakıldığında tez çalışmasındaki gibi kapsamlı bir çalışma olmamakla birlikte Rolim vd. (2019)'nin yeşil yöntemle sentezlemiş oldukları AgNP'lerin antimikrobiyal etkinliklerini *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Salmonella enterica* ATCC 14028 suşlarına karşı değerlendirdikleri çalışmada sırasıyla; 250, 250, 15, 30 ve 7 µg/ml MIC değerleri elde ederken 250, 250, 15, 30, 15 µg/ml MBC değerleri elde etmişlerdir. Tez çalışmasından elde edilen sonuçlarla mukayese edildiğinde *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşlarına karşı daha iyi sonuçların alındığı görülmektedir.

Tablo 11. Ekstraktların ve NP'lerin patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkileri

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zonu (mm)												
	Klor.	Nal.	Nov.	MN-M	MN-Y	MAgNP	MCuNP	MFeNP	MZnNP	YAgNP	YCuNP	YFeNP	YZnNP
Gram pozitif bakteriler													
<i>Bacillus cereus</i>	22.6 ±0.15	24.1 ±0.1	22.9 ±0.1	8.4 ±0.1	8.3 ±0.2	13.4 ±0.21	10 ±0.21	10 ±0.15	13.4 ±0.21	14.4 ±0.21	15.4 ±0.21	9.8 ±0.2	13.3 ±0.15
<i>Bacillus subtilis</i>	34 ±0.2	27.8 ±0.1	28.9 ±0.15	–	–	18.7 ±0.15	18.6 ±0.1	12.2 ±0.31	16.8 ±0.15	17.9 ±0.1	24.9 ±0.2	13.4 ±0.12	19.4 ±0.15
<i>Staphylococcus aureus</i>	27.8 ±0.15	19.8 ±0.1	38.3 ±0.13	8.5 ±0.14	8.9 ±0.16	15.5 ±0.17	13.3 ±0.26	12.7 ±0.12	16.5 ±0.1	15.5 ±0.19	18 ±0.18	12.6 ±0.15	16.9 ±0.15
<i>Enterococcus faecalis</i>	25 ±0.15	–	23.7 ±0.15	9.1 ±0.15	8.5 ±0.15	14.3 ±0.15	18.3 ±0.21	–	–	13 ±0.25	19.1 ±0.06	–	9.5 ±0.15
<i>Enterococcus faecium</i>	29 ±0.15	24.6 ±0.31	16.6 ±0.06	9 ±0.15	8.5 ±0.17	15.5 ±0.4	17.2 ±0.1	16.5 ±0.2	16.5 ±0.25	12.7 ±0.2	17.5 ±0.2	16.2 ±0.15	17.3 ±0.15
Gram negatif bakteriler													
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	31.3 ±0.1	27.6 ±0.06	18.4 ±0.1	9.6 ±0.15	8.7 ±0.2	14.8 ±0.12	18.6 ±0.1	12.3 ±0.2	16.7 ±0.15	14.6 ±0.15	19.5 ±0.15	11.9±0.1	19.4 ±0.12
<i>Proteus vulgaris</i>	32.3 ±0.1	28 ±0.15	17.6 ±0.15	8.6 ±0.3	8.4 ±0.25	11.2 ±0.12	13 ±0.15	–	14.1 ±0.06	10.5 ±0.15	14.5 ±0.15	–	14 ±0.15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32.7 ±0.15	28.3 ±0.1	19.1 ±0.1	–	–	16.1 ±0.2	14.6 ±0.21	–	15.5 ±0.21	14.5 ±0.15	16.3 ±0.15	–	14.9 ±0.15
<i>Salmonella typhimurium</i>	33.3 ±0.15	28.1 ±0.1	23.4 ±0.26	8.9 ±0.2	8.5 ±0.15	14.1 ±0.15	17 ±0.06	11.3 ±0.15	14.6 ±0.21	13.9 ±0.15	18.5 ±0.15	12.1 ±0.15	15.1 ±0.15
<i>Aeromonas hydrophila</i>	–	11.5 ±0.2	23.7 ±0.15	9 ±0.1	8.4 ±0.1	17.3 ±0.25	18.1 ±0.15	12.2 ±0.25	16 ±0.15	14.8 ±0.15	19.1 ±0.15	12.5 ±0.15	16.4 ±0.1
<i>Escherichia coli</i>	32.5 ±0.06	26.2 ±0.12	15.8 ±0.15	8.7 ±0.06	8.8 ±0.21	16.9 ±0.15	22.3 ±0.2	14.5 ±0.21	17.3 ±0.15	15.1 ±0.06	20.7 ±0.15	13.3 ±0.21	15.6 ±0.2
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	28.4 ±0.1	–	32.2 ±0.26	8.6 ±0.06	8.3 ±0.06	11.5 ±0.15	18.1 ±0.12	13.3 ±0.15	–	11.2 ±0.2	18.9 ±0.15	–	–

Tablo 10. (Devamı)

İnhibisyon zonu (mm)													
Mikroorganizmalar	Klor.	Nal.	Nov.	MN-M	MN-Y	MAgNP	MCuNP	MFeNP	MZnNP	YAgNP	YCuNP	YFeNP	YZnNP
Maya ve Küf													
						20.5			13.6	19.1			
<i>Aspergillus niger</i>	–	–	–	–	–	±0.15	–	–	±0.12	±0.15	–	–	–
	32	23.7	28.7	18.3	10.4	15.6	15.5	13.4	16.2	14.7	18.7	14.3	13.7
<i>Candida albicans</i>	±0.1	±0.15	±0.1	±0.2	±0.2	±0.15	±0.15	±0.15	±0.23	±0.1	±0.21	±0.15	±0.15

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. MN-M: *Morus nigra* meyve ekstraktını, MN-Y: *Morus nigra* yaprak ekstraktını, MAGNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri, Nov.: Novobiosini, Klor.: Kloramfenikolü, Nal.: Nalidiksik asiti temsil etmektedir. –: Antimikrobiyal etkinin olmaması.

Tablo 12. NP'ler ve antibiyotiklerin patojen mikroorganizmalara karşı MIC değerleri

Mikroorganizmalar	Klor. (µg/ml)	Nal. (µg/ml)	Nov. (µg/ml)	MAgNP (mg/ml)	MCuNP (mg/ml)	MFeNP (mg/ml)	MZnNP (mg/ml)	YAgNP (mg/ml)	YCuNP (mg/ml)	YFeNP (mg/ml)	YZnNP (mg/ml)
<i>Aspergillus flavus</i>	8	6	128	0.05	3	1.5	3	0.09	0.75	1.5	3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	8	32	32	0.01	0.37	0.38	0.75	0.02	0.38	0.38	0.75
<i>Pencillium corneum</i>	4	4	16	0.05	6	6	6	0.09	6	6	6
<i>Aspergillus niger</i>	16	32	128	0.05	3	3	3	0.09	3	3	3
<i>Bacillus cereus</i>	4	4	16	0.38	6	1.5	12	0.19	24	12	24
<i>Bacillus subtilis</i>	8	8	128	0.19	3	6	3	0.09	1.5	1.5	6
<i>Candida albicans</i>	4	64	128	0.09	1.5	0.75	1.5	0.09	0.75	0.75	3
<i>Enterococcus faecalis</i>	8	128	64	0.19	3	6	6	0.19	6	12	24
<i>Enterococcus faecium</i>	16	16	128	0.09	3	1.5	3	0.19	0.75	1.5	6
<i>Escherichia coli</i>	2	8	64	0.05	1.5	0.75	1.5	0.09	0.75	0.75	1.5
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	8	4	128	0.05	0.75	0.38	3	0.05	0.75	0.38	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	32	32	0.05	0.75	0.19	3	0.05	0.75	0.75	3
<i>Listeria monocytogenes</i>	4	32	32	0.05	0.19	3	3	0.09	0.38	3	3
<i>Proteus vulgaris</i>	2	4	32	0.09	1.5	1.5	3	0.05	0.75	0.75	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32	8	64	0.09	0.19	0.38	1.5	0.09	0.38	0.38	3
<i>Salmonella spp.</i>	4	2	32	0.05	1.5	0.75	1.5	0.09	0.75	0.75	1.5
<i>Salmonella typhimurium</i>	1	2	32	0.09	0.75	1.5	1.5	0.09	0.75	3	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	32	128	128	0.09	3	0.75	3	0.09	1.5	0.75	3
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	4	128	32	0.19	6	6	12	0.38	24	24	24

MAgNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri, Nov.: Novobiosini, Klor.: Kloramfenikolü, Nal.: Nalidiksik asiti temsil etmektedir.

Tablo 13. NP'lerin patojen mikroorganizmlara karşı MBC değerleri

Mikroorganizmalar	Konsantrasyon (mg/ml)							
	MAgNP	MCuNP	MFeNP	MZnNP	YAgNP	YCuNP	YFeNP	YZnNP
<i>Aspergillus flavus</i>	0.1	6	3	6	0.18	1.5	3	6
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0.02	0.75	0.75	1.5	0.04	0.75	0.75	1.5
<i>Pencillium corneum</i>	0.1	12	12	12	0.18	12	12	12
<i>Aspergillus niger</i>	0,4	6	6	6	0.18	6	6	6
<i>Bacillus cereus</i>	0.75	12	3	24	0.38	48	24	48
<i>Bacillus subtilis</i>	0.38	6	12	6	0.18	3	3	12
<i>Candida albicans</i>	0.18	3	1.5	3	0.18	1.5	1.5	6
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.38	6	12	12	0.38	12	24	48
<i>Enterococcus faecium</i>	0.18	6	3	6	0.38	1.5	1.5	12
<i>Escherichia coli</i>	0.1	3	1.5	3	0.18	1.5	1.5	3
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	0.1	1.5	0.75	6	0.1	1.5	0.75	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.1	1.5	0.38	6	0.1	1.5	1.5	6
<i>Listeria monocytogenes</i>	0.1	0.38	6	6	0.18	0.75	6	6
<i>Proteus vulgaris</i>	0.18	3	3	6	0.1	1.5	1.5	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.18	0.38	0.75	3	0.18	0.75	0.75	6
<i>Salmonella spp.</i>	0.1	3	1.5	3	0.18	1.5	1.5	3
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.18	1.5	3	3	0.18	1.5	6	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.09	3	0.75	3	0.09	1.5	0.75	3
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	0.38	12	12	24	0.75	48	48	48

MAgNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri, temsil etmektedir.

3.8.3. Nanopartiküllerin Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi

Analiz Sonuçları

Morus nigra meyvelerinden ve yapraklarından elde edilen ekstraktlar kullanılarak indirgenen biyosentez NP'lerin, çalışma kapsamında seçilen nalidiksik asit, novobiosin ve kloramfenikol antibiyotikleri ile aralarındaki sinerjiyi tespit etmek amacıyla *Enterococcus faecium* DSMZ 13590, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşları tercih edildi. Checkboard yöntemi ile gerçekleştirilen çalışmanın sonunda kaydedilen veriler kullanılarak her bir kombinasyonun seçili patojene karşı FICI değerleri ve sinerjizm durumları Tablo 14'te gösterildi.

Tablo 14. NP'ler ve antibiyotik kombinasyonlarının FICI değerleri

Kombinasyonlar	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
MAGNP/Nal.	1.250 (s.o.)	1.000 (k.s.)	1.000 (k.s.)	2.000 (s.o.)	0.500 (t.s.)
MCuNP/ Nal.	0.141 (t.s.)	0.066 (t.s.)	0.125 (t.s.)	0.125(t.s.)	0.500 (t.s.)
MFeNP/ Nal.	0.500 (t.s.)	0.125 (t.s.)	0.156 (t.s.)	0.500 (t.s.)	0.500 (t.s.)
MZnNP/ Nal.	0.275 (t.s.)	1.000 (k.s.)	0.500 (t.s.)	2.000 (s.o.)	1.000 (k.s.)
YAgNP/ Nal.	0.500 (t.s.)	1.000 (k.s.)	0.250 (t.s.)	2.000 (s.o.)	0.500 (t.s.)
YCuNP/ Nal.	0.500 (t.s.)	0.250 (t.s.)	0.250 (t.s.)	1.000 (k.s.)	0.500 (t.s.)
YFeNP/ Nal.	0.500 (t.s.)	1.000 (k.s.)	0.250 (t.s.)	1.000 (k.s.)	0.500 (t.s.)
YZnNP/ Nal.	0.500 (t.s.)	2.000 (s.o.)	1.000 (k.s.)	2.000 (s.o.)	2.000 (s.o.)
MAGNP/Klor.	1.000 (k.s.)	0.500 (t.s.)	1.000 (k.s.)	0.500 (t.s.)	2.000 (s.o.)
MCuNP/ Klor.	1.000 (k.s.)	0.133 (t.s.)	0.250 (t.s.)	0.250 (t.s.)	1.000 (k.s.)
MFeNP/ Klor.	1.000 (k.s.)	0.125 (t.s.)	0.500 (t.s.)	1.000 (k.s.)	1.000 (k.s.)
MZnNP/ Klor.	2.000 (s.o.)	0.500 (t.s.)	1.000 (k.s.)	2.000 (s.o.)	1.000 (k.s.)
YAgNP/ Klor.	1.000 (k.s.)	0.500 (t.s.)	0.500 (t.s.)	1.000 (k.s.)	1.000 (k.s.)
YCuNP/ Klor.	1.000 (k.s.)	0.250 (t.s.)	0.500 (t.s.)	0.500 (t.s.)	1.000 (k.s.)
YFeNP/ Klor.	1.000 (k.s.)	0.500 (t.s.)	1.000 (k.s.)	1.000 (k.s.)	1.000 (k.s.)
YZnNP/ Klor.	2.000 (s.o.)	2.000 (s.o.)	2.000 (s.o.)	2.000 (s.o.)	2.000 (s.o.)
MAGNP/ Nov.	1.000 (k.s.)	0.500 (t.s.)	1.000 (k.s.)	0.004 (t.s.)	1.000 (k.s.)
MCuNP/ Nov.	0.500 (t.s.)	0.133 (t.s.)	0.250 (t.s.)	0.016 (t.s.)	1.000 (k.s.)
MFeNP/ Nov.	0.500 (t.s.)	0.125 (t.s.)	1.500 (s.o.)	0.020 (t.s.)	0.500 (t.s.)
MZnNP/ Nov.	0.500 (t.s.)	2.000 (s.o.)	1.000 (k.s.)	0.016 (t.s.)	0.500 (t.s.)
YAgNP/ Nov.	1.000 (k.s.)	1.000 (k.s.)	0.500 (t.s.)	0.006 (t.s.)	0.500 (t.s.)
YCuNP/ Nov.	1.000 (k.s.)	0.250 (t.s.)	1.000 (k.s.)	0.031 (t.s.)	1.000 (k.s.)
YFeNP/ Nov.	1.000 (k.s.)	1.000 (k.s.)	1.000 (k.s.)	0.031 (t.s.)	0.500 (t.s.)
YZnNP/ Nov.	2.000 (s.o.)	2.000 (s.o.)	2.000 (s.o.)	0.031 (t.s.)	2.000 (s.o.)

MAGNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri, Nov.: Novobiosini, Klor.: Kloramfeniköl, Nal.: Nalidiksik asiti temsil etmektedir. t.s.: tam sinerjizm, k.s.: kısmi sinerjizm, s.o.: sinerjizmin olmaması

Sonuçlara bakıldığında MCuNP'nin diğer NP'lere göre daha iyi performans gösterdiği anlaşılmaktadır. MCuNP/Klor. kombinasyonunun *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına karşı ve MCuNP/Nov. kombinasyonunun *Pseudomonas aeruginosa* suşuna karşı göstermiş olduğu kısmi sinerjim hariç tüm kombinasyonlarının tüm patojenlere karşı tam sinerjim göstererek en iyi performansı sergilediği görülmektedir. MFeNP/ Nal. kombinasyonunun tüm patojenlere karşı tam sinerjim gösterdiği belirlendi. Ayrıca NP'lerin novobiyosinle olan kombinasyonlarının *Staphylococcus aureus*'e karşı tam sinerjim göstererek dikkat çektiği de görülmektedir. Hassan vd. (2021)'nin yapmış olduğu çalışmanın sonuçlarıyla karşılaştırıldığında tez çalışmasının sonuçları sinerjizm açısından daha iyi sonuçlar sergilemektedir. Yapılan başka bir çalışmada Reyes-Torres vd., (2019) sentezlemiş oldukları bakır ve çinko NP'lerin *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923 ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 suşlarına karşı ampisilin antibiyotiği ile olan sinerjilerini sınımlamışlardır. Yapılan bu çalışmaya bakıldığında genel olarak tez çalışmasında elde edilen NP'lerin sinerjizm performansının daha iyi olduğu söylenebilir.

3.9. Nanopartiküllerin Antikanser Analiz Sonuçları

Planlanan tez çalışması kapsamında bitki ekstraktları kullanılarak aşağıdan yukarı sentez yöntemiyle indirgenen NP'lerin antikanser özellikleri HeLa ve HCT 116 hücre hatları kullanılarak belirlendi ve sonuçlar tablo ve sütun grafiği olarak verildi. HeLa ve HCT 116 hücre hatlarının NP'lerle muamele edilmesi sonrasında yapılan hücre canlılık testleri sonuçları; MAgNP, MCuNP ve MFeNP için Ek 6'da, MZnNP, YAgNP ve YCuNP için Ek 7'de YFeNP ve YZnNP için Ek 8'de sütun grafiği halinde şematize edildi. NP'lerin hücre hatlarına karşı göstermiş oldukları antikanser kapasitelerinin IC₅₀ değeri olarak hesaplandığı sonuçlara bakıldığında hem meyve ekstraktı aracılığıyla hem de yaprak ekstraktı aracılığıyla sentezlenen biyosentez gümüş NP'lerin diğer NP'lerden anlamlı olarak daha etkili aktiviteye sahip oldukları görülmektedir (Tablo 15). Kemoterapötik bir ajan olan sisplatinin IC₅₀ değerleri ile karşılaştırıldıklarında da gümüş NP'lerin her iki kanser hücresi türüne karşı bu ajana göre daha iyi performans sergilemişleridir.

Çalışmamız kapsamında gerçekleştirilen antikanser çalışması sonucunda yapılan hücre canlılık testine göre MAgNP ve YAgNP sırasıyla; HeLa hücre hattı üzerinde 2.21±1.03 µg/ml, 9.84±1.08 µg/ml ve HCT 116 hücre hattı üzerinde 2.93±0.56 µg/ml, 6.83±0.5 µg/ml IC₅₀ değerleri sergiledi. Aynı anda kemoterapötik ajan olarak sisplatinin de IC₅₀ değerleri belirlendi ve sırasıyla; 90.34±3.72 µg/ml'lik ve 90.47±5.50 µg/ml'lik

sonuçlar görüldü. Ayrıca Baharara vd. (2018)'nin *Zataria multiflora* Boiss. yaprak ekstraktı kullanarak sentezlediği AgNP ile yapmış olduğu çalışmada HeLa hücreleri için sırasıyla 24 saat için 15 µg/ml ve 48 saat için 10 µg/ml olarak IC₅₀ değerleri bulunmuştur. Kuppusamy vd. (2016)'nin yaptığı çalışmada ise *Commelina nudiflora* L. bitkisi kullanılarak elde edilen AgNP'leri HTC 116 hücrelerine karşı 24 saat için 100 µg/ml IC₅₀ değeri elde edilmiştir. Sonuçlarımızla karşılaştırıldığında sisplatinin çok daha düşük anti kanser etkinliği gösterdiği görülmektedir ve ayrıca Baharara vd. (2018)'nin ve Kuppusamy vd. (2016)'nin sentezlemiş oldukları AgNP'lerden daha yüksek antikanser kapasiteye sahip AgNP'ler sentezlemiş olduğumuzu söyleyebiliriz. Bitki ekstraktı aracılı NP'lerin antikanser etkinliklerinin gösterildiği çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Ahn ve Park, 2020; Raja Nandhini vd., 2023; Saeed vd., 2023; Sukirtha vd., 2012; Yusefi vd., 2020).

Tablo 15. NP'lerin antikanser çalışması IC₅₀ değerleri

Örnekler	IC ₅₀ (µg/ml)	
	HeLa	HCT 116
Sisplatin	90.34±3.72 ^c	90.47±5.50 ^b
MAGNP	2.21±1.03 ^a	2.93±0.56 ^a
MCuNP	300.51±5.62 ^d	368.15±19.73 ^c
MFeNP	1082.20±81.99 ^h	791.96±17.14 ^f
MZnNP	684.62±15.55 ^g	448.00±5.07 ^d
YAgNP	9.84±1.08 ^b	6.83±0.5 ^a
YCuNP	356.19±23.87 ^e	476.65±2.66 ^e
YFeNP	3880.80±69.11 ⁱ	2205.33±404.77 ^g
YZnNP	373.16±5.35 ^f	365.96±6.25 ^c

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. MAGNP, MCuNP, MFeNP ve MZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* meyve ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri; YAgNP, YCuNP, YFeNP ve YZnNP: Sırasıyla; *Morus nigra* yaprak ekstraktından sentezlenen gümüş NP'leri, bakır NP'leri, demir NP'leri ve çinko NP'leri temsil etmektedir.

Örneklerin antikanser sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi ve farklı harflerle gösterildi.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Nanobilim ve nanoteknolojide son yıllardaki gelişmelerle birlikte NP'lerin sentezinde yeşil sentez yaklaşımları önem kazanmıştır. Bitki sekonder metabolitlerinin NP sentezinde indirgeyici ve kapaklayıcı ajan olarak görev aldığı da bilinmektedir. Biyosentez özellikle bitki ekstraktı aracılı NP sentezine olan ilgi üst düzeye çıkmıştır ve sentezlenen bu NP'lerin fizikokimyasal ve biyoaktif özellikleri yoğun bir şekilde araştırılmaktadır.

Tez çalışması kapsamında kullanılan *Morus nigra* sekonder metabolit açısından yüksek seviyede içeriğe sahip olduğu bilinmektedir. Bu bakımdan iyi kapaklanmış, kararlı NP sentezleme yeteneğine sahip olabileceği düşüncesiyle *Morus nigra* bitkisi seçildi.

- *Morus nigra* meyve ve yaprak ekstraktı kullanılarak sentezlenen NP'lerin FTIR, XRD, TEM, HAADF ve EDX analiz sonuçlarının incelenmesi sonucunda bitki sekonder metabolitlerinin indirgemedi ve kapaklamada görev aldığı görüldü. Böylelikle kullanılan bitkinin, NP sentezinde sürdürülebilir, çevre dostu, ucuz, kolay kontrol edilebilir ve üretimin ölçek büyütme kolaylığı özellikleri bakımından elverişli olduğu sonucuna varılabilir. *Morus nigra* bitkisinin bu potansiyelinin daha farklı metaller açısından da irdelenmesinin faydalı olduğu düşünülmektedir.

- Toplam fenolik ve toplam flavanoid içerik analizleri ile birlikte NP'lerin ekstraktan daha iyi sonuçlar sergilediği görülmektedir. Bu, bitkinin ihtiva ettiği metabolitlerin NP'lere absorbe olarak yoğunlaştığının kanıtıdır.

- Antioksidan kapasitenin belirlenmesi için seçilen DPPH, ABTS ve FRAP yöntemlerinin çalışılması ile birlikte NP'lerin ekstraktlardan daha yüksek aktivite göstermesi açısından toplam fenolik ve toplam flavanoid içerik analizlerinin sonuçlarıyla paralellik gösterdi. Bu sonuçlar, hem önceki çalışmaları doğrulaması açısından bitki sekonder metabolitlerinin kapaklayıcı ajan olarak görev aldığını hem de antioksidan kapasitenin yüksek çıkmasının bitkideki sekonder metabolitlerin oksitleyici kimyasal molekülleri indirgediğini göstermektedir.

- Endüstride kullanılan boyar ve toksik maddelerin çevre ve sağlık sorunlarına neden olduğu bilinmektedir ve bunları daha sürdürülebilir, çevreci ve ekonomik bertarafı önem arz etmektedir. Tez çalışması kapsamında sentezlenen NP'lerin bu tür maddeleri indirgeme kapasitelerinin sınlanması amacıyla tekstil endüstrisinde sıkça kullanılan bir boyar madde olan metilen mavisi tercih edilerek

absorbsiyon analizi yapıldı. Sonuçlar üretilen NP'lerin absorpsiyon özelliklerinin olduğunu gösterdi. Ancak NP'lerin metilen mavisi absorpsiyon kapasitelerinin tam anlamıyla belirlenmesi için absorpsiyon kinetiğinin tam olarak belirlenebileceği daha fazla değişkenin göz önüne alındığı bir çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca daha farklı boyar ve toksik maddeler için de çalışılması tez çalışması kapsamında üretilen NP'lerin absorpsiyon özelliklerinin tam anlamıyla aydınlatılmasında önemlidir.

- NP'lerin antidiyabetik özelliklerinin belirlenmesi için α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerini inhibe etme yetenekleri sınıandı. NP'ler farklı kendi aralarında farklı seviyelerde antidiyabetik özellik gösterdiler. Buna göre bitki ekstraktı aracılı sentezlemiş olduğumuz NP'lerin birer antidiyabetik ajan olma potansiyeline sahip olduklarını söyleyebiliriz. Yapılan bu in vitro çalışmanın sonuçlarının daha da değerli olduğunun gösterilmesi açısından bu sonuçların in vivo çalışmalar ile doğrulanmasında yarar olduğu söylenebilir. Böylelikle NP'lerin canlı sistemlerdeki antidiyabetik etkinlikleri ve diğer etkileşimleri test edilecektir.

Antibiyotiklerin keşfi ile birlikte bakteriyel kaynaklı hastalıkların ve yine cerrahi işlemler sonrası bakteri kaynaklı komplikasyonların önüne anlamlı bir şekilde geçilmiştir. Böylelikle sağlık maliyetleri azalıp ortalama insan ömrü artmıştır. Keşfiyle birlikte bilimsel ve toplumsal olarak tam anlamıyla büyük bir devrim yapan antibiyotiklerin kullanıma sunulmasıyla eş zamanlı olarak patojen mikroorganizmalar da bu bileşiklere karşı direnç geliştirmeye başlamışlardır. Antibiyotik keşfinin altın çağından sonra keşif hızı düşmüştür, buna karşılık olarak mevcut antibiyotiklere karşı direnç hızı artmıştır. Bu nedenle yeni antibiyotik keşfi için bilimsel çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu kapsamda tez çalışmasının odak noktalarından biri de *Morus nigra* bitkisinin meyve ve yaprak ekstraktları kullanılarak sentezlenen NP'lerin antimikrobiyal etkinliklerinin belirlenmesiydi.

- Çok sayıda patojen mikroorganizma kullanılarak agar kuyucuk difüzyon yöntemiyle NP'lerin antimikrobiyal etkinlikleri çalışıldı. NP'lerin antimikrobiyal etki gösterdikleri belirlendi. Ayrıca NP'lerin MIC ve MBC değerleri de belirlendi. Bu sonuçlardan yola çıkarak NP'lerin ticari olarak kullanılan ve çalışmada pozitif kontrol olarak tercih edilen antibiyotiklerden daha küçük antimikrobiyal zon ve daha yüksek MIC ve MBC değerleri gösterdiği belirlendi.

- Antimikrobiyal çalışmanın son kısmı olarak biyosentez NP'lerin antibiyotiklerle sinerjistik etkileşimleri belirlendi. Sonuçların değerlendirilmesi ile birlikte NP'ler ile antibiyotikler arasında büyük oranda sinerjizm olduğu görüldü. Özellikle antibiyotik keşfinin altın çağı sonrası yeni antibiyotiklerin keşfinin zorlaşması

ile birlikte bilim insanları antibiyotik kullanımının doğal bir sonucu olan antibiyotik direnci ile başa çıkmanın ya da daha rasyonel bir yaklaşım olarak bu sorunun yöneltilmesinin mevcut antibiyotiklerin daha verimli kullanılması olduğunu düşünmektedir. Bu düşünceden yola çıkarak antibiyotiklerin aşırı ve bilinçsiz kullanımının önüne geçilmesinin önemli olduğu söylenebilir. Bunu gerçekleştirmek için bilinçsiz antibiyotik kullanımının önüne geçilmeli ve hali hazırda kullanımda olan antibiyotiklerin daha düşük dozlarda kullanılmalıdır. Böylelikle antimikrobiyal direnç hızını yavaşlatabiliriz. Bilim çevreleri, düşük doz antibiyotik kullanılarak tedavilerin gerçekleştirilebilmesini sağlayabilmek için kullanılan antibiyotiklerle sinerjistik etki gösterecek moleküllerin keşfine önem atfetmektedir. Bu bağlamda sentezlemiş olduğumuz NP'lerin seçilen antibiyotiklerle, test patojen mikroorganizmalarına karşı göstermiş oldukları sinerjistik etkilerinin önemli olduğunu düşünmekteyiz. Ancak *Morus nigra* meyve ve yaprak ekstraktlarından elde edilen NP'lerin daha fazla patojene karşı daha çok sayıda antibiyotikle sinerjilerinin sınanması faydalı olacaktır. Ayrıca sinerjizm çalışması, NP ve antibiyotik kombinasyonlarının farklı başlangıç konsantrasyonlarıyla yapılarak daha etkili doz miktarları elde edilebilir. Bir sonraki adım olarak ise deney hayvanlarında çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

- Çalışmamız kapsamında sentezlenen NP'ler, HeLa ve HCT 116 hücre hatlarına karşı antikanser çalışması yapıldı. Hücre canlılık testi sonucunda NP'lerin antikanser aktivite gösterdikleri belirlendi. Özellikle gümüş NP'lerin göstermiş oldukları etkinlik dikkat çekicidir. NP'lerin antikanser etkinliklerinin daha fazla sayıda kanser hücre hattında denenmesi bu özelliklerinin daha detaylı olarak irdelenmesi açısından önem arz etmektedir. Ayrıca bu sonuçlar, sonraki adım olarak deney hayvanlarında çalışma yapmak için teşvik edicidir.

KAYNAKÇA

- Abdelfatah, A. M., Fawzy, M., Eltaweil, A. S. ve El-Khouly, M. E. (2021). Green synthesis of nano-zero-valent iron using *Ricinus communis* seeds extract: Characterization and application in the treatment of methylene blue-polluted water. *ACS omega*, 6(39), 25397-25411.
- Abid, N., Khan, A. M., Shujait, S., Chaudhary, K., Ikram, M., Imran, M., ... Maqbool, M. (2022). Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 300, 102597.
- Abu-Huwaij, R., Al-Assaf, S. F., Mousli, F., Kutkut, M. S. ve Al-Bashtawi, A. (2020). Perceptive review on properties of iron oxide nanoparticles and their antimicrobial and anticancer activity. *Sys. Rev. Pharm*, 11(8), 418-431.
- Agnihotri, M., Joshi, S., Kumar, A. R., Zinjarde, S. ve Kulkarni, S. (2009). Biosynthesis of gold nanoparticles by the tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. *Materials Letters*, 63(15), 1231-1234.
- Agnihotri, S., Mukherji, S. ve Mukherji, S. (2014). Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *Rsc Advances*, 4(8), 3974-3983.
- Agrawal, S. ve Rathore, P. (2014). Nanotechnology pros and cons to agriculture: a review. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 3(3), 43-55.
- Ahmad, A., Mukherjee, P., Mandal, D., Senapati, S., Khan, M. I., Kumar, R. ve Sastry, M. (2002). Enzyme mediated extracellular synthesis of CdS nanoparticles by the fungus, *Fusarium oxysporum*. *Journal of the American Chemical Society*, 124(41), 12108-12109.
- Ahmad, A., Senapati, S., Khan, M. I., Kumar, R., Ramani, R., Srinivas, V. ve Sastry, M. (2003). Intracellular synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant actinomycete, *Rhodococcus* species. *Nanotechnology*, 14(7), 824.
- Ahn, E. Y. ve Park, Y. (2020). Anticancer prospects of silver nanoparticles green-synthesized by plant extracts. *Materials Science and Engineering: C*, 116, 111253.
- Aibeche, C., Selami, N., Zitouni-Haouar, F. E. H., Oeunzar, K., Addou, A., Kaid-Harche, M. ve Djabeur, A. (2022). Bioremediation potential and lead removal

- capacity of heavy metal-tolerant yeasts isolated from Dayet Oum Ghellaz Lake water (northwest of Algeria). *International Microbiology*, 1-13.
- Akbar, S., Tauseef, I., Subhan, F., Sultana, N., Khan, I., Ahmed, U. ve Haleem, K. S. (2020). An overview of the plant-mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles and their antimicrobial potential. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 50(4), 257-271.
- Akhtar, M. S., Panwar, J. ve Yun, Y. S. (2013). Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1(6), 591-602.
- Akmeşe, O., Acet, T. ve Özcan, K. (2020). Elazığ ilinde yetişen *Morus nigra* L.'nin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin ve antibiyotiklerle sinerjistik etkisinin belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 10(4), 983-995.
- Alangari, A., Alqahtani, M. S., Shahid, M., Syed, R., Goel, M., Lakshmipathy, R. ve Kaur, K. (2024). Green synthesis of FeO nanoparticles from coffee and its application for antibacterial, antifungal, and anti-oxidation activity. *Green Processing and Synthesis*, 13(1), 20230268.
- Alavi, M. ve Karimi, N. (2018). Characterization, antibacterial, total antioxidant, scavenging, reducing power and ion chelating activities of green synthesized silver, copper and titanium dioxide nanoparticles using *Artemisia haussknechtii* leaf extract. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(8), 2066-2081.
- Ali, A., Shah, T., Ullah, R., Zhou, P., Guo, M., Ovais, M., ... Rui, Y. (2021). Review on recent progress in magnetic nanoparticles: Synthesis, characterization, and diverse applications. *Frontiers in chemistry*, 9, 629054.
- Alt, V., Bechert, T., Steinrücke, P., Wagener, M., Seidel, P., Dingeldein, E., ... Schnettler, R. (2004). An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. *Biomaterials*, 25(18), 4383-4391.
- Altammar, K. A. (2023). A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1155622.
- Altavilla, C. ve Ciliberto, E. (2011). *Inorganic nanoparticles: synthesis, applications and perspectives—an overview*. C., Altavilla ve E., Ciliberto (Der). *Inorganic Nanoparticles: Synthesis, Applications, and Perspectives* içinde (ss. 1-15), New York, CRC Press.

- Alwash, A. (2020). The green synthesise of zinc oxide catalyst using pomegranate peels extract for the photocatalytic degradation of methylene blue dye. *Baghdad Science Journal*, 17(3), 0787-0787.
- Ameena, S., Rajesh, N., Anjum, S. M., Khadri, H., Riazunnisa, K., Mohammed, A. ve Kari, Z. A. (2022). Antioxidant, antibacterial, and anti-diabetic activity of green synthesized copper nanoparticles of *Cocculus hirsutus* (Menispermaceae). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(10), 4424-4438.
- Amendola, V. ve Meneghetti, M. (2009). Laser ablation synthesis in solution and size manipulation of noble metal nanoparticles. *Physical chemistry chemical physics*, 11(20), 3805-3821.
- Armendariz, V., Herrera, I., Peralta-Videa, J. R., Jose-Yacaman, M., Troiani, H., Santiago, P. ve Gardea-Torresdey, J. L. (2004). Size controlled gold nanoparticle formation by *Avena sativa* biomass: use of plants in nanobiotechnology. *Journal of nanoparticle research*, 6, 377-382.
- Arunachalam, R., Dhanasingh, S., Kalimuthu, B., Uthirappan, M., Rose, C. ve Mandal, A. B. (2012). Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Coccinia grandis* leaf extract and its application in the photocatalytic degradation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 94, 226-230.
- Asanithi, P., Chaiyakun, S. ve Limsuwan, P. J. J. O. N. (2012). Growth of silver nanoparticles by DC magnetron sputtering. *Journal of Nanomaterials*, 2012, 79-79.
- Athanassiou, C. G., Kavallieratos, N. G., Benelli, G., Losic, D., Usha Rani, P. ve Desneux, N. (2018). Nanoparticles for pest control: current status and future perspectives. *Journal of Pest Science*, 91, 1-15.
- Atwater, H. A. (2007). The promise of plasmonics. *Scientific American*, 296(4), 56-63.
- Awwad, A. M., ve Salem, N. M. (2012). Green synthesis of silver nanoparticles by Mulberry Leaves Extract. *Nanoscience and Nanotechnology*, 2(4), 125-128.
- Ayyub, P., Chandra, R., Taneja, P., Sharma, A. K. ve Pinto, R. (2001). Synthesis of nanocrystalline material by sputtering and laser ablation at low temperatures. *Applied Physics A*, 73, 67-73.
- Baharara, J., Ramezani, T., Hosseini, N. ve Mousavi, M. (2018). Silver nanoparticles synthesized coating with *Zataria multiflora* leaves extract induced apoptosis in hela cells through p53 activation. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 17(2), 627.

- Bai, H., Zhang, Z., Guo, Y. ve Jia, W. (2009). Biological synthesis of size-controlled cadmium sulfide nanoparticles using immobilized *Rhodobacter sphaeroides*. *Nanoscale research letters*, 4, 717-723.
- Bamford C. R. 1977. *Colour Generation and Control in Glass*. Amsterdam, Netherlands: Elsevier.
- Bansal, V., Rautaray, D., Bharde, A., Ahire, K., Sanyal, A., Ahmad, A. ve Sastry, M. (2005). Fungus-mediated biosynthesis of silica and titania particles. *Journal of Materials Chemistry*, 15(26), 2583-2589.
- Bao, Y., He, J., Song, K., Guo, J., Zhou, X. ve Liu, S. (2021). Plant-extract-mediated synthesis of metal nanoparticles. *Journal of Chemistry*, 2021, 1-14.
- Barber, D. J. ve Freestone, I. C. (1990). An investigation of the origin of the colour of the Lycurgus Cup by analytical transmission electron microscopy. *Archaeometry*, 32(1), 33-45.
- Baysal, A., Saygin, H. ve Ustabasi, G. S. (2019). Physicochemical transformation of ZnO and TiO₂ nanoparticles in sea water and its impact on bacterial toxicity. *Environmental Health Engineering and Management Journal*, 6(1), 73-80.
- Beara, I. N., Lesjak, M. M., Četojević-Simin, D. D., Marjanović, Ž. S., Ristić, J. D., Mrkonjić, Z. O. ve Mimica-Dukić, N. M. (2014). Phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activities of black (*Tuber aestivum* Vittad.) and white (*Tuber magnatum* Pico) truffles. *Food Chemistry*, 165, 460-466.
- Begum, N. A., Mondal, S., Basu, S., Laskar, R. A. ve Mandal, D. (2009). Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of Black Tea leaf extracts. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 71(1), 113-118.
- Begum, S. J., Pratibha, S., Rawat, J. M., Venugopal, D., Sahu, P., Gowda, A., ... Jaremko, M. (2022). Recent advances in green synthesis, characterization, and applications of bioactive metallic nanoparticles. *Pharmaceuticals*, 15(4), 455.
- Benzerara, K., Miot, J., Morin, G., Ona-Nguema, G., Skouri-Panet, F. ve Férard, C. (2011). Significance, mechanisms and environmental implications of microbial biomineralization. *Comptes Rendus. Géoscience*, 343(2-3), 160-167.
- Betancourt, A. P., Goswami, D. Y., Bhethanabotla, V. R. ve Kuhn, J. N. (2021). Scalable and stable silica-coated silver nanoparticles, produced by electron beam evaporation and rapid thermal annealing, for plasmon-enhanced photocatalysis. *Catalysis Communications*, 149, 106213.

- Bharde, A., Rautaray, D., Bansal, V., Ahmad, A., Sarkar, I., Yusuf, S. M., ... Sastry, M. (2006). Extracellular biosynthesis of magnetite using fungi. *Small*, 2(1), 135-141.
- Bharti, M. K., Gupta, S., Chalia, S., Garg, I., Thakur, P. ve Thakur, A. (2020). Potential of magnetic nanoferrites in removal of heavy metals from contaminated water: mini review. *Journal of Superconductivity and Novel Magnetism*, 33, 3651-3665.
- Bhavaripudi, S., Mile, E., Steiner, S. A., Zare, A. T., Dresselhaus, M. S., Belcher, A. M. ve Kong, J. (2007). CVD synthesis of single-walled carbon nanotubes from gold nanoparticle catalysts. *Journal of the American Chemical Society*, 129(6), 1516-1517.
- Bilal, M., Iqbal, H. M., Adil, S. F., Shaik, M. R., Abdelgawad, A., Hatshan, M. R. ve Khan, M. (2022). Surface-coated magnetic nanostructured materials for robust bio-catalysis and biomedical applications-A review. *Journal of Advanced Research*, 38, 157-177.
- Bilal, M., Khaliq, N., Ashraf, M., Hussain, N., Baqar, Z., Zdart, J., ... Iqbal, H. M. (2023). Enzyme mimic nanomaterials as nanozymes with catalytic attributes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 221, 112950.
- Bindhu, M. R., Umadevi, M., Esmail, G. A., Al-Dhabi, N. A. ve Arasu, M. V. (2020). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles from *Moringa oleifera* flower and assessment of antimicrobial and sensing properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 205, 111836.
- Binnig, G., Rohrer, H., Gerber, C. ve Weibel, E. (1982). Surface studies by scanning tunneling microscopy. *Physical review letters*, 49(1), 57.
- Bokov, D., Turki Jalil, A., Chupradit, S., Suksatan, W., Javed Ansari, M., Shewael, I. H., ... Kianfar, E. (2021). Nanomaterial by sol-gel method: synthesis and application. *Advances in Materials Science and Engineering*, 1-21.
- Boldyrev, V. V. ve Tkáčová, K. (2000). Mechanochemistry of solids: past, present, and prospects. *Journal of materials synthesis and processing*, 8, 121-132.
- Borgia, I., Brunetti, B., Mariani, I., Sgamellotti, A., Cariati, F., Fermo, P., ... Padeletti, G. (2002). Heterogeneous distribution of metal nanocrystals in glazes of historical pottery. *Applied Surface Science*, 185(3-4), 206-216.
- Bouzigues, C., Gacoin, T. ve Alexandrou, A. (2011). Biological applications of rare-earth based nanoparticles. *ACS nano*, 5(11), 8488-8505.
- Breierová, E., Vajcziková, I., Sasinková, V., Stratilová, E., Fišera, M., Gregor, T. ve Šajbidor, J. (2002). Biosorption of cadmium ions by different yeast species. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(7-8), 634-639.

- Brigger, I., Dubernet, C. ve Couvreur, P. (2012). Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Advanced drug delivery reviews*, 64, 24-36.
- Britannica, E. (2008). Britannica concise encyclopedia. Encyclopaedia Britannica, Inc..
- Bryant, W. A. (1977). The fundamentals of chemical vapour deposition. *Journal of Materials science*, 12, 1285-1306.
- Bukhari, A., Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A., Zain, H., Saeed, R., ... Naseer, Y. (2021). Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles using different plants' parts for antimicrobial activity and anticancer activity: a review article. *Coatings*, 11(11), 1374.
- Burda, C., Chen, X., Narayanan, R. ve El-Sayed, M. A. (2005). Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes. *Chemical reviews*, 105(4), 1025-1102.
- Buzea, C., Pacheco, I. I. ve Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4), MR17-MR71.
- Carbone, M., Donia, D. T., Sabbatella, G. ve Antiochia, R. (2016). Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging. *Journal of King Saud University-Science*, 28(4), 273-279.
- Cassandra, W. (2017). The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats. *Nature*, 543(7643), 15.
- Castro-Longoria, E., Moreno-Velasquez, S. D., Vilchis-Nestor, A. R., Arenas-Berumen, E. ve Avalos-Borja, M. (2012). Production of platinum nanoparticles and nanoaggregates using *Neurospora crassa*. *Journal of microbiology and biotechnology*, 22(7), 1000-1004.
- Castro-Longoria, E., Vilchis-Nestor, A. R. ve Avalos-Borja, M. (2011). Biosynthesis of silver, gold and bimetallic nanoparticles using the filamentous fungus *Neurospora crassa*. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 83(1), 42-48.
- Chahardoli, A., Karimi, N., Sadeghi, F. ve Fattahi, A. (2018). Green approach for synthesis of gold nanoparticles from *Nigella arvensis* leaf extract and evaluation of their antibacterial, antioxidant, cytotoxicity and catalytic activities. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(3), 579-588.
- Chandran, P. R., Naseer, M., Udupa, N. ve Sandhyarani, N. (2011). Size controlled synthesis of biocompatible gold nanoparticles and their activity in the oxidation of NADH. *Nanotechnology*, 23(1), 015602.

- Chandrasekharan, N. ve Kamat, P. V. (2000). Improving the photoelectrochemical performance of nanostructured TiO₂ films by adsorption of gold nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 104(46), 10851-10857.
- Changmei, L., Chaoying, Z., Junqiang, W., Guorong, W. ve Mingxuan, T. (2002). Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of Glycine max and its mechanism. *Soybean Science*, 21(3), 168-171.
- Chapman, R. ve Stenzel, M. H. (2019). All wrapped up: stabilization of enzymes within single enzyme nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, 141(7), 2754-2769.
- Chavan, R. R., Bhinge, S. D., Bhutkar, M. A., Randive, D. S., Wadkar, G. H., Todkar, S. S. ve Urade, M. N. (2020). Characterization, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of green synthesized silver and iron nanoparticles using alcoholic *Blumea eriantha* DC plant extract. *Materials Today Communications*, 24, 101320.
- Chen, Cai, Y., Yan, Z. ve Goodman, D. W. (2006). On the origin of the unique properties of supported Au nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, 128(19), 6341-6346.
- Chen, H. ve Yada, R. (2011). Nanotechnologies in agriculture: new tools for sustainable development. *Trends in Food Science & Technology*, 22(11), 585-594.
- Chen, L., Batjikh, I., Hurh, J., Han, Y., Huo, Y., Ali, H., ... Yang, D. C. (2019). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles from root extract of *Scutellaria baicalensis* and its photocatalytic degradation activity using methylene blue. *Optik*, 184, 324-329.
- Chen, Y. (2015). Nanofabrication by electron beam lithography and its applications: A review. *Microelectronic Engineering*, 135, 57-72.
- Chevali, V. ve Kandare, E. (2016). *Rigid biofoam composites as eco-efficient construction materials*. F. Pacheco-Torgal, V. Ivanov, N. Karak ve H. Jonkers (Der.). Biopolymers and biotech admixtures for eco-efficient construction materials içinde (ss. 275-298). Woodhead Publishing.
- Chinnathambi, A. ve Alahmadi, T. A. (2021). Zinc nanoparticles green-synthesized by *Alhagi maurorum* leaf aqueous extract: Chemical characterization and cytotoxicity, antioxidant, and anti-osteosarcoma effects. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(4), 103083.

- Ci, Z., Yue, Y., Xiao, J., Huang, X. ve Sun, Y. (2023). Spectroscopic and modeling investigation of U (VI) removal mechanism on nanoscale zero-valent iron/clay composites. *Journal of Colloid and Interface Science*, 630, 395-403.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2017). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI supplement M100, 106-112.
- Correa, M. G., Martínez, F. B., Vidal, C. P., Streitt, C., Escrig, J. ve de Dicastillo, C. L. (2020). Antimicrobial metal-based nanoparticles: A review on their synthesis, types and antimicrobial action. *Beilstein journal of nanotechnology*, 11(1), 1450-1469.
- Correa-Llantén, D. N., Muñoz-Ibacache, S. A., Castro, M. E., Muñoz, P. A. ve Blamey, J. M. (2013). Gold nanoparticles synthesized by *Geobacillus sp.* strain ID17 a thermophilic bacterium isolated from Deception Island, Antarctica. *Microbial cell factories*, 12, 1-6.
- Cortez-Valadez, M., Bocarando-Chacon, J. G., Hernández-Martínez, A. R., Hurtado, R. B., Alvarez, R. A., Roman-Zamorano, J. F., ... Flores-Acosta, M. (2014). Optical properties and radial breathing modes present in Cu amorphous quantum dots obtained by green synthesis. *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, 6(7), 580-583.
- Cui, S., Yang, L., Wang, J. ve Wang, X. (2016). Fabrication of a sensitive gas sensor based on PPy/TiO₂ nanocomposites films by layer-by-layer self-assembly and its application in food storage. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 233, 337-346.
- D'Amato, R., Falconieri, M., Gagliardi, S., Popovici, E., Serra, E., Terranova, G. ve Borsella, E. (2013). Synthesis of ceramic nanoparticles by laser pyrolysis: From research to applications. *Journal of analytical and applied pyrolysis*, 104, 461-469.
- Dameron, C. T., Reese, R. N., Mehra, R. K., Kortan, A. R., Carroll, P. J., Steigerwald, M. L., ... Winge, D. R. (1989). Biosynthesis of cadmium sulphide quantum semiconductor crystallites. *Nature*, 338(6216), 596-597.
- Das, A., Kushwaha, A., Raj Bansal, N., Suresh, V., Dinda, S., Chattopadhyay, S. ve Kumar Dalapati, G. (2016). Copper oxide nano-particles film on glass by using sputter and chemical bath deposition technique. *Advanced Materials Letters*, 7(8), 600-603.
- Das, S., Das, J., Samadder, A., Bhattacharyya, S. S., Das, D. ve Khuda-Bukhsh, A. R. (2013). Biosynthesized silver nanoparticles by ethanolic extracts of *Phytolacca decandra*, *Gelsemium sempervirens*, *Hydrastis canadensis* and *Thuja occidentalis*

- induce differential cytotoxicity through G2/M arrest in A375 cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 101, 325-336.
- Davidović, S., Lazić, V., Miljković, M., Gordić, M., Sekulić, M., Marinović-Cincović, M., ... Nedeljković, J. M. (2019). Antibacterial ability of immobilized silver nanoparticles in agar-agar films co-doped with magnesium ions. *Carbohydrate polymers*, 224, 115187.
- de Amorim Silva, T., Quelemes, P. V., de Araújo, A. R., de Moraes, A. C. M., Azevedo, R. B., da Silva, D. A. ve Teixeira, M. F. S. (2017). Extracellular biogenic synthesis of silver nanoparticles by Actinomycetes from amazonic biome and its antimicrobial efficiency. *African Journal of Biotechnology*, 16(43), 2072-2082.
- De, M., Ghosh, P. S. ve Rotello, V. M. (2008). Applications of nanoparticles in biology. *Advanced Materials*, 20(22), 4225-4241.
- Debnath, G., Das, P. ve Saha, A. K. (2020). Characterization, antimicrobial and α -amylase inhibitory activity of silver nanoparticles synthesized by using mushroom extract of *Lentinus tuber-regium*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 90, 37-45.
- Deepty, M., Srinivas, C., Kumar, E. R., Mohan, N. K., Prajapat, C. L., Rao, T. C., ... Sastry, D. L. (2019). XRD, EDX, FTIR and ESR spectroscopic studies of co-precipitated Mn-substituted Zn-ferrite nanoparticles. *Ceramics International*, 45(6), 8037-8044.
- Delfani, M., Baradarn Firouzabadi, M., Farrokhi, N. ve Makarian, H. (2014). Some physiological responses of black-eyed pea to iron and magnesium nanofertilizers. *Communications in soil science and plant analysis*, 45(4), 530-540.
- Denk, W. ve Horstmann, H. (2004). Serial block-face scanning electron microscopy to reconstruct three-dimensional tissue nanostructure. *PLoS biology*, 2(11), e329.
- Deplanche, K. ve Macaskie, L. E. (2008). Biorecovery of gold by *Escherichia coli* and *Desulfovibrio desulfuricans*. *Biotechnology and bioengineering*, 99(5), 1055-1064.
- Dhillon, G. S., Brar, S. K., Kaur, S. ve Verma, M. (2012). Green approach for nanoparticle biosynthesis by fungi: current trends and applications. *Critical reviews in biotechnology*, 32(1), 49-73.

- Didry, N., Dubreuil, L. ve Pinkas, M. (1993). Microbiological properties of protoanemonin isolated from *Ranunculus bulbosus*. *Phytotherapy Research*, 7(1), 21-24.
- Dikshit, P. K., Kumar, J., Das, A. K., Sadhu, S., Sharma, S., Singh, S., ... Kim, B. S. (2021). Green synthesis of metallic nanoparticles: Applications and limitations. *Catalysts*, 11(8), 902.
- Dikshit, P. K., Kumar, J., Das, A. K., Sadhu, S., Sharma, S., Singh, S., ... Kim, B. S. (2021). Green synthesis of metallic nanoparticles: Applications and limitations. *Catalysts*, 11(8), 902.
- Dilipan, E., Sivaperumal, P., Kamala, K., Ramachandran, M. ve Vivekanandhan, P. (2023). Green synthesis of silver nanoparticles using seagrass *Cymodocea serrulata* (R. Br.) Asch. & Magnus, characterization, and evaluation of anticancer, antioxidant, and antiglycemic index. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 70(3), 1346-1356.
- Dimkpa, C. O., Bindraban, P. S., Fugice, J., Agyin-Birikorang, S., Singh, U. ve Hellums, D. (2017). Composite micronutrient nanoparticles and salts decrease drought stress in soybean. *Agronomy for sustainable development*, 37, 1-13.
- Din, M. I., Jabbar, S., Najeeb, J., Khalid, R., Ghaffar, T., Arshad, M., ... Ali, S. (2020). Green synthesis of zinc ferrite nanoparticles for photocatalysis of methylene blue. *International Journal of Phytoremediation*, 22(13), 1440-1447.
- Egerton, R. F. (2005). *Physical principles of electron microscopy* (Vol. 56). New York: Springer.
- Eltaweil, A. S., Fawzy, M., Hosny, M., Abd El-Monaem, E. M., Tamer, T. M. ve Omer, A. M. (2022). Green synthesis of platinum nanoparticles using *Atriplex halimus* leaves for potential antimicrobial, antioxidant, and catalytic applications. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(1), 103517.
- Emerich, D. F. ve Thanos, C. G. (2006). The pinpoint promise of nanoparticle-based drug delivery and molecular diagnosis. *Biomolecular engineering*, 23(4), 171-184.
- Epp, J. (2016). *X-ray diffraction (XRD) techniques for materials characterization*. G. Hübschen, I. Altpeter, R. Tschuncky ve H. G. Herrmann (Der.). Materials characterization using nondestructive evaluation (NDE) methods içinde (ss. 81-124). Woodhead publishing.
- Esakkimuthu, T., Sivakumar, D. ve Akila, S. (2014). Application of nanoparticles in wastewater treatment. *Pollut. Res*, 33(03), 567-571.

- Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N. ve Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and bioprocess technology*, 6, 628-647.
- Fadeel, B. ve Garcia-Bennett, A. E. (2010). Better safe than sorry: Understanding the toxicological properties of inorganic nanoparticles manufactured for biomedical applications. *Advanced drug delivery reviews*, 62(3), 362-374.
- Fadley, C. S. (2010). X-ray photoelectron spectroscopy: Progress and perspectives. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 178, 2-32.
- Fahimmunisha, B. A., Ishwarya, R., AlSalhi, M. S., Devanesan, S., Govindarajan, M. ve Vaseeharan, B. (2020). Green fabrication, characterization and antibacterial potential of zinc oxide nanoparticles using *Aloe socotrina* leaf extract: A novel drug delivery approach. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 55, 101465.
- Fanoro, O. T., Parani, S., Maluleke, R., Lebepe, T. C., Varghese, J. R., Mavumengwana, V. ve Oluwafemi, O. S. (2021). Facile green, room-temperature synthesis of gold nanoparticles using *Combretum erythrophyllum* leaf extract: antibacterial and cell viability studies against normal and cancerous cells. *Antibiotics*, 10(8), 893.
- Faraday, M. (1857). X. The Bakerian Lecture.—Experimental relations of gold (and other metals) to light. *Philosophical transactions of the Royal Society of London*, (147), 145-181.
- Fawcett, D., Verduin, J. J., Shah, M., Sharma, S. B. ve Poinern, G. E. J. (2017). A review of current research into the biogenic synthesis of metal and metal oxide nanoparticles via marine algae and seagrasses. *Journal of Nanoscience*, 2017.
- Fayaz, M., Tiwary, C. S., Kalaichelvan, P. T. ve Venkatesan, R. (2010). Blue orange light emission from biogenic synthesized silver nanoparticles using *Trichoderma viride*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75(1), 175-178.
- Fedlheim, D. L. ve Foss, C. A. (2001). *Metal nanoparticles: synthesis, characterization, and applications*. CRC press.
- Francis, S., Joseph, S., Koshy, E. P. ve Mathew, B. (2018). Microwave assisted green synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Elephantopus scaber* and its environmental and biological applications. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(4), 795-804.

- García-Béjar, B., Arévalo-Villena, M., Guisantes-Batan, E., Rodríguez-Flores, J. ve Briones, A. (2020). Study of the bioremediatory capacity of wild yeasts. *Scientific Reports*, 10(1), 11265.
- Gargade, V. A. (2019). *Nanotechnology in ancient India*. M. Sharon (Der.). History of nanotechnology: from prehistoric to modern times içinde (ss. 37-57). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons.
- Gedikli, H., Akdogan, A., Karpuz, O., Akmese, O., Kobya, H. N. ve Baltaci, C. (2024). Aflatoxin Detoxification by Biosynthesized Iron Oxide Nanoparticles Using Green and Black Tea Extracts. *BioResources*, 19(1).
- Geim, A. K. ve Novoselov, K. S. 2007. The rise of graphene. *Nat. Mater.*, 6(3): 183–191, 2007.
- Geoffrion, L. D. ve Guisbiers, G. (2020). Quantum confinement: size on the grill!. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 140, 109320.
- Gericke, M. ve Pinches, A. (2006). Microbial production of gold nanoparticles. *Gold bulletin*, 39(1), 22-28.
- Gholamali, I., Asnaashariisfahani, M. ve Alipour, E. (2020). Silver nanoparticles incorporated in pH-sensitive nanocomposite hydrogels based on carboxymethyl chitosan-poly (vinyl alcohol) for use in a drug delivery system. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*, 6, 138-153.
- Ghorbani, H. R. (2013). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Salmonella typhirium*. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 3(1), 29.
- Giessibl, F. J. (2003). Advances in atomic force microscopy. *Reviews of modern physics*, 75(3), 949.
- Godale, C. ve Sharon, M. (2019). *Contemporary history of nanotechnology*. M. Sharon (Der.). History of nanotechnology: from prehistoric to modern times içinde (ss. 213-270). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons.
- Goldstein, J. I., Newbury, D. E., Michael, J. R., Ritchie, N. W., Scott, J. H. J. ve Joy, D. C. (2017). *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis*. Spring Street, New York, USA: Springer.
- Gonzalez-Martinez, I. G., Bachmatiuk, A., Bezugly, V., Kunstmann, J., Gemming, T., Liu, Z., ... Rümmeli, M. H. (2016). Electron-beam induced synthesis of nanostructures: a review. *Nanoscale*, 8(22), 11340-11362.
- Govindan, N., Vairaprakasam, K., Chinnasamy, C., Sivalingam, T. ve Mohammed, M. K. (2020). Green synthesis of Zn-doped *Catharanthus roseus* nanoparticles for enhanced anti-diabetic activity. *Materials Advances*, 1(9), 3460-3465.

- Groarke, R., Vijayaraghavan, R. K., Powell, D., Rennie, A. ve Brabazon, D. (2021). Powder characterization—methods, standards, and state of the art. *Fundamentals of Laser Powder Bed Fusion of Metals*, 491-527.
- Grobelny, J., DelRio, F. W., Pradeep, N., Kim, D. I., Hackley, V. A. ve Cook, R. F. (2011). Size measurement of nanoparticles using atomic force microscopy. *Characterization of nanoparticles intended for drug delivery*, 71-82.
- Grunes, J., Zhu, J. ve Somorjai, G. A. (2003). Catalysis and nanoscience, *Chem. Commun.*, 2257–2258.
- Gujrati, M., Malamas, A., Shin, T., Jin, E., Sun, Y. ve Lu, Z. R. (2014). Multifunctional cationic lipid-based nanoparticles facilitate endosomal escape and reduction-triggered cytosolic siRNA release. *Molecular pharmaceutics*, 11(8), 2734-2744.
- Gunnarsson, R., Helmersson, U. ve Pilch, I. (2015). Synthesis of titanium-oxide nanoparticles with size and stoichiometry control. *Journal of nanoparticle research*, 17, 1-11.
- Gupta, S. ve Tripathi, M. (2012). A review on the synthesis of TiO₂ nanoparticles by solution route. *Open Chemistry*, 10(2), 279-294.
- Habeeb Rahuman, H. B., Dhandapani, R., Narayanan, S., Palanivel, V., Paramasivam, R., Subbarayalu, R., ... Muthupandian, S. (2022). Medicinal plants mediated the green synthesis of silver nanoparticles and their biomedical applications. *IET nanobiotechnology*, 16(4), 115-144.
- Hajipour, M. J. Fromm, K. M., Ashkarran, A. A., de Aberasturi, D. J., de Larramendi, I. R., Rojo, T., ... Mahmoudi, M. (2012). Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in biotechnology*, 30(10), 499-511.
- Hamidi, M., Azadi, A. ve Rafiei, P. (2008). Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 60(15), 1638-1649.
- Hano, C. ve Abbasi, B. H. (2021). Plant-based green synthesis of nanoparticles: Production, characterization and applications. *Biomolecules*, 12(1), 31.
- Haruta, M. (2014). Chance and necessity: my encounter with gold catalysts. *Angewandte Chemie International Edition*, 53(1), 52-56.
- Hassan, K. T., Ibraheem, I. J., Hassan, O. M., Obaid, A. S., Ali, H. H., Salih, T. A. ve Kadhim, M. S. (2021). Facile green synthesis of Ag/AgCl nanoparticles derived from *Chara* algae extract and evaluating their antibacterial activity and synergistic effect with antibiotics. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105359.

- Heiligt, F. J. ve Niederberger, M. (2013). The fascinating world of nanoparticle research. *Materials today*, 16(7-8), 262-271.
- Hojjatpanah, G., Fazaeli, M. ve Emam-Djomeh, Z. 2011. Effects of heating method and conditions on the quality attributes of black mulberry (*Morus nigra*) juice concentrate. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(5), 956-962.
- Holmes, J. D., Smith, P. R., Evans-Gowing, R., Richardson, D. J., Russell, D. A. ve Sodeau, J. R. (1995). Energy-dispersive X-ray analysis of the extracellular cadmium sulfide crystallites of *Klebsiella aerogenes*. *Archives of Microbiology*, 163, 143-147.
- Hu, X. L., Takai, O. ve Saito, N. (2013, March). Synthesis of gold nanoparticles by solution plasma sputtering in various solvents. In *Journal of physics: Conference series*, 417 (1), 012030.
- Huang, M., Yan, H., Chen, C., Song, D., Heinz, T. F. ve Hone, J. (2009). Phonon softening and crystallographic orientation of strained graphene studied by Raman spectroscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(18), 7304-7308.
- Hulkoti, N. I. ve Taranath, T. C. (2014). Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474-483.
- Hulteen, J. C., Treichel, D. A., Smith, M. T., Duval, M. L., Jensen, T. R. ve Van Duyne, R. P. (1999). Nanosphere lithography: size-tunable silver nanoparticle and surface cluster arrays. *The Journal of Physical Chemistry B*, 103(19), 3854-3863.
- Husain, S., Afreen, S., Yasin, D., Afzal, B. ve Fatma, T. (2019). Cyanobacteria as a bioreactor for synthesis of silver nanoparticles-an effect of different reaction conditions on the size of nanoparticles and their dye decolorization ability. *Journal of microbiological methods*, 162, 77-82.
- Husseiny, M. I., Abd El-Aziz, M., Badr, Y. ve Mahmoud, M. A. (2007). Biosynthesis of gold nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 67(3-4), 1003-1006.
- Iijima, S. (1991). Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 354(6348), 56-58.
- Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A. ve Bukhari, A. (2020). Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 13(3), 223-245.
- Ikhmayies, S. J. (2014). Characterization of nanomaterials. *Jom*, 66(1), 28-29.

- Ingle, P. U., Biswas, J. K., Mondal, M., Rai, M. K., Kumar, P. S. ve Gade, A. K. (2022). Assessment of in vitro antimicrobial efficacy of biologically synthesized metal nanoparticles against pathogenic bacteria. *Chemosphere*, 291, 132676.
- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green chemistry*, 13(10), 2638-2650.
- Jacinto, M. J., Silva, V. C., Valladão, D. M. S. ve Souto, R. S. (2021). Biosynthesis of magnetic iron oxide nanoparticles: a review. *Biotechnology Letters*, 43(1), 1-12.
- Jahangirian, H., Lemraski, E. G., Webster, T. J., Rafiee-Moghaddam, R. ve Abdollahi, Y. (2017). A review of drug delivery systems based on nanotechnology and green chemistry: green nanomedicine. *International journal of nanomedicine*, 2957-2978.
- Jaiswal, J., Chauhan, S. ve Chandra, R. J. I. J. S. T. M. (2015). Influence of sputtering parameters on structural, optical and thermal properties of copper nanoparticles synthesized by dc magnetron sputtering. *Int. J. Sci. Technol. Manage*, 4(01), 678-688.
- Jalilian, F., Chahardoli, A., Sadrjavadi, K., Fattahi, A. ve Shokoohinia, Y. (2020). Green synthesized silver nanoparticle from *Allium ampeloprasum* aqueous extract: Characterization, antioxidant activities, antibacterial and cytotoxicity effects. *Advanced Powder Technology*, 31(3), 1323-1332.
- Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H. ve Kalaskar, M. G. (2019). Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of drug delivery science and technology*, 53, 101174.
- Jayappa, M. D., Ramaiah, C. K., Kumar, M. A. P., Suresh, D., Prabhu, A., Devasya, R. P. ve Sheikh, S. (2020). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles from the leaf, stem and in vitro grown callus of *Mussaenda frondosa* L.: characterization and their applications. *Applied nanoscience*, 10, 3057-3074.
- Jha, A. K., Prasad, K. ve Kulkarni, A. R. (2009). Synthesis of TiO₂ nanoparticles using microorganisms. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 71(2), 226-229.
- Jiménez-Rosado, M., Gomez-Zavaglia, A., Guerrero, A. ve Romero, A. (2022). Green synthesis of ZnO nanoparticles using polyphenol extracts from pepper waste (*Capsicum annuum*). *Journal of Cleaner Production*, 350, 131541.
- Jin, Z., Dridi, N., Palui, G., Palomo, V., Jokerst, J. V., Dawson, P. E., ... Mattoussi, H. (2023). Evaluating the catalytic efficiency of the human membrane-type 1 matrix

- metalloproteinase (MMP-14) using AuNP–peptide conjugates. *Journal of the American Chemical Society*, 145(8), 4570-4582.
- Joerger, R., Klaus, T. ve Granqvist, C. G. (2000). Biologically produced silver–carbon composite materials for optically functional thin-film coatings. *Advanced Materials*, 12(6), 407-409.
- Johnson, J. B., Mani, J. S. ve Naiker, M. (2022). Development and validation of a 96-well microplate assay for the measurement of total phenolic content in ginger extracts. *Food Analytical Methods*, 15(2), 413-420.
- Jones, A. C. ve Hitchman, M. L. (2008). *Chemical vapour deposition*. A. C. Jones ve M. L. Hitchman (Der.). Chemical vapour deposition: precursors, processes and applications içinde (ss. 1-36). Cambridge, London, UK: Royal society of chemistry Publishing.
- Joudeh, N. ve Linke, D. (2022). Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), 262.
- Kammler, B. H. K., Mädler, L. ve Pratsinis, S. E. (2017). Flame Synthesis of Nanoparticles 24 583–96 13 1234567890 14th ICSET-2017 IOP Publishing IOP Conf. Series. *Materials Science and Engineering*, 263, 032019.
- Kano, S., Tada, T. ve Majima, Y. (2015). Nanoparticle characterization based on STM and STS. *Chemical Society Reviews*, 44(4), 970-987.
- Katata-Seru, L., Moremedi, T., Aremu, O. S. ve Bahadur, I. (2018). Green synthesis of iron nanoparticles using *Moringa oleifera* extracts and their applications: removal of nitrate from water and antibacterial activity against *Escherichia coli*. *Journal of Molecular Liquids*, 256, 296-304.
- Kathiresan, K., Manivannan, S., Nabeel, M. A. ve Dhivya, B. (2009). Studies on silver nanoparticles synthesized by a marine fungus, *Penicillium fellutanum* isolated from coastal mangrove sediment. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 71(1), 133-137.
- Kaur, A., Bhatt, D. P. ve Raja, L. (2022). Applications of Nanotechnology in Agriculture, with a Focus on Insect Pest Management. *NanoWorld J*, 8(S1), S76-S82.
- Keat, C. L., Aziz, A., Eid, A. M. ve Elmarzughi, N. A. (2015). Biosynthesis of nanoparticles and silver nanoparticles. *Bioresources and Bioprocessing*, 2, 1-11.
- Khan, I., Saeed, K. ve Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*, 12(7), 908-931.

- Khan, M. Q., Kumar, P., Khan, R. A., Ahmad, K. ve Kim, H. (2022). Fabrication of sulfur-doped reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode (S@rGO/GCE) based acetaminophen sensor. *Inorganics*, 10(12), 218.
- Klaus, T., Joerger, R., Olsson, E. ve Granqvist, C. G. (1999). Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(24), 13611-13614.
- Knight, W. D., Clemenger, K., De Heer, W. A., Saunders, W. A., Chou, M. Y. ve Cohen, M. L. (1984). Electronic shell structure and abundances of sodium clusters. *Physical review letters*, 52(24), 2141.
- Kolahalam, L. A., Viswanath, I. K., Diwakar, B. S., Govindh, B., Reddy, V. ve Murthy, Y. L. N. (2019). Review on nanomaterials: Synthesis and applications. *Materials Today: Proceedings*, 18, 2182-2190.
- Kong, Y., Paray, B. A., Al-Sadoon, M. K. ve Albeshr, M. F. (2021). Novel green synthesis, chemical characterization, toxicity, colorectal carcinoma, antioxidant, anti-diabetic, and anticholinergic properties of silver nanoparticles: A chemopharmacological study. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(6), 103193.
- Kour, R., Arya, S., Young, S. J., Gupta, V., Bandhoria, P. ve Khosla, A. (2020). Recent advances in carbon nanomaterials as electrochemical biosensors. *Journal of The Electrochemical Society*, 167(3), 037555.
- Kowshik, M., Ashtaputre, S., Kharrazi, S., Vogel, W., Urban, J., Kulkarni, S. K. ve Paknikar, K. M. (2002). Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. *Nanotechnology*, 14(1), 95.
- Kredl, J., Kolb, J. F., Schnabel, U., Polak, M., Weltmann, K. D. ve Fricke, K. (2016). Deposition of antimicrobial copper-rich coatings on polymers by atmospheric pressure jet plasmas. *Materials*, 9(4), 274.
- Kreuter, J. (2007). Nanoparticles—a historical perspective. *International journal of pharmaceutics*, 331(1), 1-10.
- Krishnaraj, C., Muthukumaran, P., Ramachandran, R., Balakumaran, M. D. ve Kalaichelvan, P. T. (2014). *Acalypha indica* Linn: biogenic synthesis of silver and gold nanoparticles and their cytotoxic effects against MDA-MB-231, human breast cancer cells. *Biotechnology Reports*, 4, 42-49.
- Krishnia, L., Thakur, P. ve Thakur, A. (2022). *Synthesis of nanoparticles by physical route*. A. Thakur, P. Thakur ve S. P. Khurana (Der.). Synthesis and applications of nanoparticles (Vol. 1) içinde (ss. 61-76). Singapore: Springer Nature Singapore.

- Królikowska, A., Kudelski, A., Michota, A. ve Bukowska, J. (2003). SERS studies on the structure of thioglycolic acid monolayers on silver and gold. *Surface science*, 532, 227-232.
- Kroto, H. W., Heath, J. R., O'Brien, S. C., Curl, R. F. ve Smalley, R. E. (1985). C60: Buckminsterfullerene. *Nature*, 318(6042), 162-163.
- Ku, Y. H., Chuang, Y. C., Chen, C. C., Lee, M. F., Yang, Y. C., Tang, H. J. ve Yu, W. L. (2017). *Klebsiella pneumoniae* isolates from meningitis: epidemiology, virulence and antibiotic resistance. *Scientific reports*, 7(1), 6634.
- Kuang, Y., Wang, Q., Chen, Z., Megharaj, M. ve Naidu, R. (2013). Heterogeneous Fenton-like oxidation of monochlorobenzene using green synthesis of iron nanoparticles. *Journal of colloid and interface science*, 410, 67-73.
- Kulkarni, S. K. (2015). *Synthesis of nanomaterials—II (Chemical methods)*. K. Cooley ve V. Lynn (Der.). Nanotechnology: Principles and Practices içinde (ss. 77-109). Springer International Publishing.
- Kumar, A. ve Dixit, C. K. (2017). *Methods for characterization of nanoparticles*. S. Nimesh, R. Chandra ve N. Gupta (Der.). Advances in nanomedicine for the delivery of therapeutic nucleic acids içinde (ss. 43-58). Duxford, UK: Woodhead Publishing.
- Kumar, A., Mandal, S., Selvakannan, P. R., Pasricha, R., Mandale, A. B. ve Sastry, M. (2003). Investigation into the interaction between surface-bound alkylamines and gold nanoparticles. *Langmuir*, 19(15), 6277-6282.
- Kumar, D., Karthik, L., Kumar, G. ve Roa, K. B. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles from marine yeast and their antimicrobial activity against multidrug resistant pathogens. *Pharmacologyonline*, 3, 1100-1111.
- Kumari, S. ve Sarkar, L. (2021). A review on nanoparticles: Structure, classification, synthesis & applications. *J Sci Res*, 65(8), 42-46.
- Kumari, S., Tehri, N., Gahlaut, A. ve Hooda, V. (2020). Actinomycetes mediated synthesis, characterization, and applications of metallic nanoparticles. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 51(10), 1386-1395.
- Kuppusamy, P., Ichwan, S. J., Al-Zikri, P. N. H., Suriyah, W. H., Soundharajan, I., Govindan, N., ... Yusoff, M. M. (2016). In vitro anticancer activity of Au, Ag nanoparticles synthesized using *Commelina nudiflora* L. aqueous extract against HCT-116 colon cancer cells. *Biological trace element research*, 173, 297-305.
- Lava, M. B., Muddapur, U. M., Basavegowda, N., More, S. S. ve More, V. S. (2021). Characterization, anticancer, antibacterial, anti-diabetic and anti-inflammatory

- activities of green synthesized silver nanoparticles using *Justica wynaadensis* leaves extract. *Materials Today: Proceedings*, 46, 5942-5947.
- Lee, J. W., Wang, J. H., Ng, K. M., Tan, C. H., Rabina, P. ve Teo, S. S. (2015). In-vitro anticancer activity of *Eucheuma cottonii* extracts against HeLa cell line, human lung carcinoma cell line (SK-LU-1), human colon carcinoma cell line (HCT-116), and fibroblast. *IJCMS*, 1(2), 69-73.
- Li, X., Schirmer, K., Bernard, L., Sigg, L., Pillai, S. ve Behra, R. (2015). Silver nanoparticle toxicity and association with the alga *Euglena gracilis*. *Environmental Science: Nano*, 2(6), 594-602.
- Lin, T., Song, Y. L., Liao, J., Liu, F. ve Zeng, T. T. (2020). Applications of surface-enhanced Raman spectroscopy in detection fields. *Nanomedicine*, 15(30), 2971-2989.
- Liu, J. (2005). Scanning transmission electron microscopy and its application to the study of nanoparticles and nanoparticle systems. *Microscopy*, 54(3), 251-278.
- Liu, Q., Wang, H., Shi, X., Wang, Z. G. ve Ding, B. (2017). Self-assembled DNA/peptide-based nanoparticle exhibiting synergistic enzymatic activity. *ACS nano*, 11(7), 7251-7258.
- Liu, R. ve Lal, R. (2015). Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Science of the total environment*, 514, 131-139.
- Liu, X. M., Feng, Z. B., Zhang, F. D., Zhang, S. Q. ve He, X. S. (2006). Preparation and testing of cementing and coating nano-subnanocomposites of slow/controlled-release fertilizer. *Agricultural Sciences in China*, 5(9), 700-706.
- Liu, Y. P., Zheng, C. C., Huang, Y. N., He, M. L., Xu, W. W. ve Li, B. (2021). Molecular mechanisms of chemo-and radiotherapy resistance and the potential implications for cancer treatment. *MedComm*, 2(3), 315-340.
- Lin, Z., Weng, X., Owens, G. ve Chen, Z. (2020). Simultaneous removal of Pb (II) and rifampicin from wastewater by iron nanoparticles synthesized by a tea extract. *Journal of Cleaner Production*, 242, 118476.
- Lotha, R., Shamprasad, B. R., Sundaramoorthy, N. S., Nagarajan, S. ve Sivasubramanian, A. (2019). Biogenic phytochemicals (cassinopin and isoquercetin) capped copper nanoparticles (ISQ/CAS@ CuNPs) inhibits MRSA biofilms. *Microbial pathogenesis*, 132, 178-187.
- Loureiro, A., G Azoia, N., C Gomes, A. ve Cavaco-Paulo, A. (2016). Albumin-based nanodevices as drug carriers. *Current pharmaceutical design*, 22(10), 1371-1390.

- Lugscheider, E., Bärwulf, S., Barimani, C., Riester, M. ve Hilgers, H. (1998). Magnetron-sputtered hard material coatings on thermoplastic polymers for clean room applications. *Surface and Coatings Technology*, 108, 398-402.
- Luque, R. ve Varma, R. S. (2012). *Introduction*. R. Luque ve R. S. Varma (Der.). Sustainable preparation of metal nanoparticles: methods and applications içinde (ss. 1-6). Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry.
- Mahdi, S. S., Vadood, R. ve Nourdahr, R. (2012). Study on the antimicrobial effect of nanosilver tray packaging of minced beef at refrigerator temperature. *Global Veterinaria*, 9 (3), 284-289.
- Malekzadeh, M., Rohani, P., Liu, Y., Raszewski, A., Ghanei, F. ve Swihart, M. T. (2020). Laser pyrolysis synthesis of zinc-containing nanomaterials using low-cost ultrasonic spray delivery of precursors. *Powder Technology*, 376, 104-112.
- Maniraj, A., Kannan, M., Rajarathinam, K., Vivekanandhan, S. ve Muthuramkumar, S. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles and their effective utilization in fabricating functional surface for antibacterial activity against multi-drug resistant *Proteus mirabilis*. *Journal of Cluster Science*, 30, 1403-1414.
- Mann, S. (2001). *Biomineralization: principles and concepts in bioinorganic materials chemistry*. New York, USA: Oxford University Press.
- Mann, S., Burkett, S. L., Davis, S. A., Fowler, C. E., Mendelson, N. H., Sims, S. D., ... Whilton, N. T. (1997). Sol-gel synthesis of organized matter. *Chemistry of materials*, 9(11), 2300-2310.
- Manor, J., Feldblum, E. S., Zanni, M. T. ve Arkin, I. T. (2012). Environment polarity in proteins mapped noninvasively by FTIR spectroscopy. *The journal of physical chemistry letters*, 3(7), 939-944.
- Maqsood, M., Khan, M. I., Sharif, M. K. ve Faisal, M. N. (2022). Phytochemical characterization of *Morus nigra* fruit ultrasound-assisted ethanolic extract for its cardioprotective potential. *Journal of Food Biochemistry*, 46(11), e14335.
- Martis, E., Badve, R. ve Degwekar, M. (2012). Nanotechnology based devices and applications in medicine: An overview. *Chronicles of young Scientists*, 3(1), 68-68.
- Mastronardi, E., Tsae, P., Zhang, X., Monreal, C. ve DeRosa, M. C. (2015). Strategic role of nanotechnology in fertilizers: potential and limitations. *Nanotechnologies in food and agriculture*, 25-67.

- Medda, S., Hajra, A., Dey, U., Bose, P. ve Mondal, N. K. (2015). Biosynthesis of silver nanoparticles from *Aloe vera* leaf extract and antifungal activity against *Rhizopus sp.* and *Aspergillus sp.*, *Applied Nanoscience*, 5, 875-880.
- Medina-Ramirez, I. E., Arzate-Cardenas, M. A., Mojarro-Olmos, A. ve Romo-Lopez, M. A. (2019). Synthesis, characterization, toxicological and antibacterial activity evaluation of Cu@ ZnO nanocomposites. *Ceramics International*, 45(14), 17476-17488.
- Menon, S., Rajeshkumar, S. ve Kumar, V. (2017). A review on biogenic synthesis of gold nanoparticles, characterization, and its applications. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 516-527.
- Mirkin, C. A. (2005). The beginning of a small revolution. *Small*, 1(1), 14-16.
- Mishra, V. ve Sharma, R. (2015). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using fresh peels extract of *Punica granatum* and its antimicrobial activities. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences*, 3(3), 694-699.
- Mody, V. V., Siwale, R., Singh, A. ve Mody, H. R. (2010). Introduction to metallic nanoparticles. *Journal of Pharmacy and bioallied sciences*, 2(4), 282-289.
- Mohammadi, S., Harvey, A. ve Boodhoo, K. V. (2014). Synthesis of TiO₂ nanoparticles in a spinning disc reactor. *Chemical Engineering Journal*, 258, 171-184.
- Mousavi, S. R. ve Rezaei, M. (2011). Nanotechnology in agriculture and food production. *J Appl Environ Biol Sci*, 1(10), 414-419.
- Muñoz-García, J., Vázquez, L., Cuerno, R., Sánchez-García, J. A., Castro, M. ve Gago, R. (2009). *Self-organized surface nanopatterning by ion beam sputtering*. Z. M. Wang (Der.). Toward functional nanomaterials içinde (ss. 323-398). New York, NY, USA: Springer US.
- Murtala, N., Rahman, R., Said, K. A. M. B., Mannan, M. A. ve Patwary, A. M. (2023). A review of nanoparticle synthesis methods, classifications, applications, and characterization. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 20, 100900.
- Mustapha, T., Misni, N., Ithnin, N. R., Daskum, A. M. ve Unyah, N. Z. (2022). A review on plants and microorganisms mediated synthesis of silver nanoparticles, role of plants metabolites and applications. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(2), 674.
- Muthu, K., Rini, S., Nagasundari, S. M. ve Akilandaeaswari, B. (2021). Photocatalytic reduction and antioxidant potential of green synthesized silver nanoparticles from

- Catharanthus roseus* flower extract. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 51(4), 579-589.
- Naganthran, A., Verasoundarapandian, G., Khalid, F. E., Masarudin, M. J., Zulkharnain, A., Nawawi, N. M., ... Ahmad, S. A. (2022). Synthesis, characterization and biomedical application of silver nanoparticles. *Materials*, 15(2), 427.
- Nagarajan, R. (2008). *Nanoparticles: building blocks for nanotechnology*. R. Nagarajan ve T. A. (Der.). Nanoparticles: synthesis, stabilization, passivation, and functionalization içinde (2-14). Washington, DC, USA: American Chemical Society.
- Nair, R., Varghese, S. H., Nair, B. G., Maekawa, T., Yoshida, Y. ve Kumar, D. S. (2010). Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant science*, 179(3), 154-163.
- Nair, S. S., Kavrekar, V. ve Mishra, A. (2013). In vitro studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. *European journal of experimental biology*, 3(1), 128-132.
- Nam, J. H., Jang, M. J., Jang, H. Y., Park, W., Wang, X., Choi, S. M. ve Cho, B. (2020). Room-temperature sputtered electrocatalyst WSe₂ nanomaterials for hydrogen evolution reaction. *Journal of Energy Chemistry*, 47, 107-111.
- Namvar, F., Azizi, S., Ahmad, M. B., Shameli, K., Mohamad, R., Mahdavi, M. ve Tahir, P. M. (2015). Green synthesis and characterization of gold nanoparticles using the marine macroalgae *Sargassum muticum*. *Research on Chemical Intermediates*, 41, 5723-5730.
- Naseer, B., Srivastava, G., Qadri, O. S., Faridi, S. A., Islam, R. U. ve Younis, K. (2018). Importance and health hazards of nanoparticles used in the food industry. *Nanotechnology Reviews*, 7(6), 623-641.
- Nasrollahzadeh, M., Atarod, M., Sajjadi, M., Sajadi, S. M. ve Issaabadi, Z. (2019). Plant-mediated green synthesis of nanostructures: mechanisms, characterization, and applications. *In Interface science and technology*, 28, 199-322.
- Nazir, A., Alam, S., Alwadai, N., Abbas, M., Bibi, I., Ali, A., ... Iqbal, M. (2023). Green synthesis of copper nanoparticles using *Citrullus colocynthis* leaves extract: photocatalytic, antimicrobial and antioxidant studies. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 237(11), 1733-1751.
- Neethirajan, S., Gordon, R. ve Wang, L. (2009). Potential of silica bodies (phytoliths) for nanotechnology. *Trends in Biotechnology*, 27(8), 461-467.

- Nevozhay, D., Kańska, U., Budzyńska, R. ve Boratyński, J. (2007). Current status of research on conjugates and related drug delivery systems in the treatment of cancer and other diseases. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*, 61.
- Nicula, N. O., Lungulescu, E. M., Rîmbu, G. A., Marinescu, V., Corbu, V. M. ve Csutak, O. (2023). Bioremediation of wastewater using yeast strains: an assessment of contaminant removal efficiency. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(6), 4795.
- Nies, D. H. (1999). Microbial heavy-metal resistance. *Applied microbiology and biotechnology*, 51, 730-750.
- Nikalje, A. P. (2015). Nanotechnology and its applications in medicine. *Med. Chem.*, 5(2), 081-089.
- Nyabadza, A., Vazquez, M. ve Brabazon, D. (2023). A review of bimetallic and monometallic nanoparticle synthesis via laser ablation in liquid. *Crystals*, 13(2), 253.
- Okami, Y., Beppu, T. ve Ogawara, H. (Der.). (1988). *Biology of Actinomycetes' 88*. Tokyo, Japan: Japan Scientific Societies Press.
- Orlando, A., Franceschini, F., Muscas, C., Pidkova, S., Bartoli, M., Rovere, M. ve Tagliaferro, A. (2021). A comprehensive review on Raman spectroscopy applications. *Chemosensors*, 9(9), 262.
- Osman, A. I., Zhang, Y., Farghali, M., Rashwan, A. K., Eltaweil, A. S., El-Monaem, A., ... Yap, P. S. (2024). Synthesis of green nanoparticles for energy, biomedical, environmental, agricultural, and food applications: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 1-47.
- Othman, S. H., Abd Salam, N. R., Zainal, N., Kadir Basha, R. ve Talib, R. A. (2014). Antimicrobial activity of TiO₂ nanoparticle-coated film for potential food packaging applications. *International Journal of Photoenergy*, 2014.
- Otten, M. T. (1991). High-Angle annular dark-field imaging on a tem/stem system. *Journal of electron microscopy technique*, 17(2), 221-230.
- Ovais, M., Khalil, A. T., Islam, N. U., Ahmad, I., Ayaz, M., Saravanan, M., ... Mukherjee, S. (2018). Role of plant phytochemicals and microbial enzymes in biosynthesis of metallic nanoparticles. *Applied microbiology and biotechnology*, 102, 6799-6814.
- Ozin, G. A., Arsenault, A. C. ve Cademartiri, L. (2009) *Nanochemistry, A chemical approach to nanomaterials*. London, UK: RSC.

- Pan, K. ve Zhong, Q. (2016). Organic nanoparticles in foods: fabrication, characterization, and utilization. *Annual Review of Food Science and Technology*, 7, 245-266.
- Pandit, C., Roy, A., Ghotekar, S., Khusro, A., Islam, M. N., Emran, T. B., ... Bradley, D. A. (2022). Biological agents for synthesis of nanoparticles and their applications. *Journal of King Saud University-Science*, 34(3), 101869.
- Parashar, M., Shukla, V. K. ve Singh, R. (2020). Metal oxides nanoparticles via sol–gel method: a review on synthesis, characterization and applications. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 31(5), 3729-3749.
- Patel, S., Patel, P., Undre, S. B., Pandya, S. R., Singh, M. ve Bakshi, S. (2016). DNA binding and dispersion activities of titanium dioxide nanoparticles with UV/vis spectrophotometry, fluorescence spectroscopy and physicochemical analysis at physiological temperature. *Journal of Molecular Liquids*, 213, 304-311.
- Patel, V., Berthold, D., Puranik, P. ve Gantar, M. (2015). Screening of cyanobacteria and microalgae for their ability to synthesize silver nanoparticles with antibacterial activity. *Biotechnology Reports*, 5, 112-119.
- Patil, M. P. ve Kim, G. D. (2017). Eco-friendly approach for nanoparticles synthesis and mechanism behind antibacterial activity of silver and anticancer activity of gold nanoparticles. *Applied microbiology and biotechnology*, 101, 79-92.
- Pavitra, E., Dariya, B., Srivani, G., Kang, S. M., Alam, A., Sudhir, P. R., ... Huh, Y. S. (2021). Engineered nanoparticles for imaging and drug delivery in colorectal cancer. *In Seminars in cancer Biology*, 69, 293-306.
- Peng, Y., Park, C. ve Laughlin, D. E. (2003). Fe₃O₄ thin films sputter deposited from iron oxide targets. *Journal of Applied Physics*, 93(10), 7957-7959.
- Pérez-de-Luque, A. ve Rubiales, D. (2009). Nanotechnology for parasitic plant control. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 65(5), 540-545.
- Perveen, S., Nadeem, R., ur Rehman, S., Afzal, N., Anjum, S., Noreen, S., ... Iqbal, M. (2022). Green synthesis of iron (Fe) nanoparticles using *Plumeria obtusa* extract as a reducing and stabilizing agent: Antimicrobial, antioxidant and biocompatibility studies. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(5), 103764.
- Pető, G., Molnar, G. L., Paszti, Z., Geszti, O., Beck, A. ve Guczi, L. (2002). Electronic structure of gold nanoparticles deposited on SiO_x/Si (100). *Materials Science and Engineering: C*, 19(1-2), 95-99.
- Pillai, A. M., Sivasankarapillai, V. S., Rahdar, A., Joseph, J., Sadeghfar, F., Rajesh, K. ve Kyzas, G. Z. (2020). Green synthesis and characterization of zinc oxide

- nanoparticles with antibacterial and antifungal activity. *Journal of Molecular Structure*, 1211, 128107.
- Pimpin, A. ve Srituravanich, W. (2012). Review on micro-and nanolithography techniques and their applications. *Engineering journal*, 16(1), 37-56.
- Pivkina, A., Streletskii, A., Kolbanev, I., Ul'Yanova, P., Frolov, Y., Butyagin, P. ve Schoonman, J. (2004). Mechanochemically activated nano-aluminium: Oxidation behaviour. *Journal of materials science*, 39, 5451-5453.
- Prakash, S., Elavarasan, N., Venkatesan, A., Subashini, K., Sowndharya, M. ve Sujatha, V. (2018). Green synthesis of copper oxide nanoparticles and its effective applications in Biginelli reaction, BTB photodegradation and antibacterial activity. *Advanced Powder Technology*, 29(12), 3315-3326.
- Prasad, T. N., Kambala, V. S. R. ve Naidu, R. (2013). Phyconanotechnology: synthesis of silver nanoparticles using brown marine algae *Cystophora moniliformis* and their characterisation. *Journal of applied phycology*, 25, 177-182.
- Qi, H. ve Zhang, C. (2022). Organic nanoparticles for electrogenerated chemiluminescence assay. *Current Opinion in Electrochemistry*, 34, 101023.
- Radini, I. A., Hasan, N., Malik, M. A. ve Khan, Z. (2018). Biosynthesis of iron nanoparticles using *Trigonella foenum-graecum* seed extract for photocatalytic methyl orange dye degradation and antibacterial applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 183, 154-163.
- Raghunandan, D., Ravishankar, B., Sharanbasava, G., Mahesh, D. B., Harsoor, V., Yalagatti, M. S., ... Venkataraman, A. (2011). Anti-cancer studies of noble metal nanoparticles synthesized using different plant extracts. *Cancer nanotechnology*, 2, 57-65.
- Raja Nandhini, R., Joy Prabu, H., Thaninayagam, E., Gopi, R. R., Johnson, I. ve Felix Sahayaraj, A. (2023). *Green synthesis of silver/iron (Ag/Fe) and copper/iron (Cu/Fe) nanoparticles for cytotoxic investigation on henrietta lacks (HeLa) cancer cell*. S. M. Rangappa ve S. Siengchin (Der.). International Symposium on Lightweight and Sustainable Polymeric Materials içinde (ss. 79-95). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Ramasubbu, K., Padmanabhan, S., Al-Ghanim, K. A., Nicoletti, M., Govindarajan, M., Sachivkina, N. ve Rajeswari, V. D. (2023). Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Sesbania grandiflora* leaf extract and their evaluation of anti-diabetic, cytotoxic, anti-microbial, and anti-inflammatory properties in an in-vitro approach. *Fermentation*, 9(4), 332.

- Ramesh, P. S., Kokila, T. ve Geetha, D. (2015). Plant mediated green synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using *Emblica officinalis* fruit extract. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 142, 339-343.
- Rameshaiah, G. N., Pallavi, J. ve Shabnam, S. (2015). Nano fertilizers and nano sensors—an attempt for developing smart agriculture. *Int J Eng Res Gen Sci*, 3(1), 314-320.
- Rao, A., Schoenenberger, M., Gnecco, E., Glatzel, T., Meyer, E., Brändlin, D. ve Scandella, L. (2007). Characterization of nanoparticles using atomic force microscopy. *In Journal of Physics: Conference Series*, 61 (1), 971.
- Rashid, J., Barakat, M. A., Salah, N. ve Habib, S. S. (2015). ZnO-nanoparticles thin films synthesized by RF sputtering for photocatalytic degradation of 2-chlorophenol in synthetic wastewater. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 23, 134-139.
- Reau, A., Guizard, B., Mengeot, C., Boulanger, L. ve Ténégal, F. (2007). Large scale production of nanoparticles by laser pyrolysis. *In Materials science forum*. 534, 85-88.
- Rejinold, N. S., Chennazhi, K. P., Nair, S. V., Tamura, H. ve Jayakumar, R. (2011). Biodegradable and thermo-sensitive chitosan-g-poly (N-vinylcaprolactam) nanoparticles as a 5-fluorouracil carrier. *Carbohydrate polymers*, 83(2), 776-786.
- Reyes-Torres, M. A., Mendoza-Mendoza, E., Miranda-Hernández, Á. M., Pérez-Díaz, M. A., López-Carrizales, M., Peralta-Rodríguez, R. D., ... Martinez-Gutierrez, F. (2019). Synthesis of CuO and ZnO nanoparticles by a novel green route: Antimicrobial activity, cytotoxic effects and their synergism with ampicillin. *Ceramics International*, 45(18), 24461-24468.
- Robbins, E. J., Leckenby, R. E. ve Willis, P. (1967). The ionization potentials of clustered sodium atoms. *Advances in Physics*, 16(64), 739-744.
- Rodrigues, M. C., Rolim, W. R., Viana, M. M., Souza, T. R., Gonçalves, F., Tanaka, C. J., ... Seabra, A. B. (2020). Biogenic synthesis and antimicrobial activity of silica-coated silver nanoparticles for esthetic dental applications. *Journal of Dentistry*, 96, 103327.
- Roduner, E. (2006). Size matters: why nanomaterials are different. *Chemical society reviews*, 35(7), 583-592.

- Roh, Y., Lauf, R. J., McMillan, A. D., Zhang, C., Rawn, C. J., Bai, J. ve Phelps, T. J. (2001). Microbial synthesis and the characterization of metal-substituted magnetites. *Solid State Communications*, 118(10), 529-534.
- Rolim, W. R., Pelegrino, M. T., de Araújo Lima, B., Ferraz, L. S., Costa, F. N., Bernardes, J. S., ... Seabra, A. B. (2019). Green tea extract mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles: Characterization, cytotoxicity evaluation and antibacterial activity. *Applied Surface Science*, 463, 66-74.
- Rostron, P., Gaber, S. ve Gaber, D. (2016). Raman spectroscopy, review. *laser*, 21, 24.
- Rozali, N. L., Azizan, K. A., Singh, R., Jaafar, S. N. S., Othman, A., Weckwerth, W. ve Ramli, U. S. (2023). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy approach combined with discriminant analysis and prediction model for crude palm oil authentication of different geographical and temporal origins. *Food Control*, 146, 109509.
- Saallah, S. ve Lenggoro, I. W. (2018). Nanoparticles carrying biological molecules: Recent advances and applications. *KONA Powder and Particle Journal*, 35, 89-111.
- Saeed, M., Al-Keridis, L. A., Khattak, S., Alshuraym, L., Alshammari, N., Al-Amrah, H., ... Kesari, K. K. (2023). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using egg white and coriander root waste: characterization and anti-cancer efficacy in Hela cells. *Waste and Biomass Valorization*, 1-17.
- Saha, J., Begum, A., Mukherjee, A. ve Kumar, S. (2017). A novel green synthesis of silver nanoparticles and their catalytic action in reduction of Methylene Blue dye. *Sustainable Environment Research*, 27(5), 245-250.
- Sahayaraj, K., Rajesh, S. ve Rathi, J. M. (2012). Silver nanoparticles biosynthesis using marine alga *Padina pavonica* (Linn.) and its microbicidal activity. *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures (DJNB)*, 7(4).
- Sahoo, P. C., Kausar, F., Lee, J. H. ve Han, J. I. (2014). Facile fabrication of silver nanoparticle embedded CaCO₃ microspheres via microalgae-templated CO₂ biomineralization: application in antimicrobial paint development. *RSC advances*, 4(61), 32562-32569.
- Sajid, M. ve Płotka-Wasyłka, J. (2020). Nanoparticles: Synthesis, characteristics, and applications in analytical and other sciences. *Microchemical Journal*, 154, 104623.

- Salavati-Niasari, M., Davar, F. ve Mir, N. (2008). Synthesis and characterization of metallic copper nanoparticles via thermal decomposition. *Polyhedron*, 27(17), 3514-3518.
- Salem, S. S. ve Fouda, A. (2021). Green synthesis of metallic nanoparticles and their prospective biotechnological applications: an overview. *Biological trace element research*, 199(1), 344-370.
- Sanghi, R. ve Verma, P. (2009). A facile green extracellular biosynthesis of CdS nanoparticles by immobilized fungus. *Chemical Engineering Journal*, 155(3), 886-891.
- Saqib, M., Ali Bhatti, A. S., Ahmad, N. M., Ahmed, N., Shahnaz, G., Lebaz, N. ve Elaissari, A. (2020). Amphotericin b loaded polymeric nanoparticles for treatment of leishmania infections. *Nanomaterials*, 10(6), 1152.
- Saraogi, G. K., Gupta, P., Gupta, U. D., Jain, N. K. ve Agrawal, G. P. (2010). Gelatin nanocarriers as potential vectors for effective management of tuberculosis. *International journal of pharmaceutics*, 385(1-2), 143-149.
- Saratale, R. G., Saratale, G. D., Ahn, S. ve Shin, H. S. (2021). Grape pomace extracted tannin for green synthesis of silver nanoparticles: Assessment of their antidiabetic, antioxidant potential and antimicrobial activity. *Polymers*, 13(24), 4355.
- Saravanan, A., Kumar, P. S., Karishma, S., Vo, D. V. N., Jeevanantham, S., Yaashikaa, P. R. ve George, C. S. (2021). A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications. *Chemosphere*, 264, 128580.
- Sastry, M., Ahmad, A., Khan, M. I. ve Kumar, R. (2003). Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete. *Current science*, 162-170.
- Sebastian, E. M., Jain, S. K., Purohit, R., Dhakad, S. K. ve Rana, R. S. (2020). Nanolithography and its current advancements. *Materials Today: Proceedings*, 26, 2351-2356.
- Sethi, S., Joshi, A., Arora, B., Bhowmik, A., Sharma, R. R. ve Kumar, P. (2020). Significance of FRAP, DPPH, and CUPRAC assays for antioxidant activity determination in apple fruit extracts. *European Food Research and Technology*, 246, 591-598.
- Shah, K. A. ve Tali, B. A. (2016). Synthesis of carbon nanotubes by catalytic chemical vapour deposition: A review on carbon sources, catalysts and substrates. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 41, 67-82.

- Shah, P. ve Gavrin, A. (2006). Synthesis of nanoparticles using high-pressure sputtering for magnetic domain imaging. *Journal of magnetism and magnetic materials*, 301(1), 118-123.
- Shahid, M., Dumat, C., Khalid, S., Schreck, E., Xiong, T. ve Niazi, N. K. (2017). Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. *Journal of hazardous materials*, 325, 36-58.
- Shahwan, T., Sirriah, S. A., Nairat, M., Boyacı, E., Eroğlu, A. E., Scott, T. B. ve Hallam, K. R. (2011). Green synthesis of iron nanoparticles and their application as a Fenton-like catalyst for the degradation of aqueous cationic and anionic dyes. *Chemical Engineering Journal*, 172(1), 258-266.
- Sharifi-Rad, M., Pohl, P., Epifano, F. ve Álvarez-Suarez, J. M. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using *Astragalus tribuloides delile*. root extract: Characterization, antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activities. *Nanomaterials*, 10(12), 2383.
- Shende, S., Gaikwad, N. ve Bansod, S. (2016). Synthesis and evaluation of antimicrobial potential of copper nanoparticle against agriculturally important phytopathogens. *Synthesis*, 1(4), 41-47.
- Shende, S., Ingle, A. P., Gade, A. ve Rai, M. (2015). Green synthesis of copper nanoparticles by *Citrus medica* Linn. (Idilimbu) juice and its antimicrobial activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31, 865-873.
- Shivaji, S., Madhu, S. ve Singh, S. (2011). Extracellular synthesis of antibacterial silver nanoparticles using psychrophilic bacteria. *Process Biochemistry*, 46(9), 1800-1807.
- Shoshin, Y. L., Mudryy, R. S. ve Dreizin, E. L. (2002). Preparation and characterization of energetic Al-Mg mechanical alloy powders. *Combustion and Flame*, 128(3), 259-269.
- Sigmund, W., Yuh, J., Park, H., Maneeratana, V., Pyrgiotakis, G., Daga, A., ... Nino, J. C. (2006). Processing and structure relationships in electrospinning of ceramic fiber systems. *Journal of the American Ceramic Society*, 89(2), 395-407.
- Silva, E. M., Souza, J. N. S., Rogez, H., Rees, J. F. ve Larondelle, Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food chemistry*, 101(3), 1012-1018.
- Simkiss, K. ve Wilbur, K. M. (2012). *Biomineralization*. New York, NY, USA: Academic.

- Simmel, D. G., ve Alivisatos, P. (2011). *Wolfgang Johann Parak, Liberato Manna, Friedrich Christian. G. Schmid (Der.)*. Nanoparticles: from theory to application içinde (ss. 4-49). Mörlenbach, Germany: John Wiley & Sons.
- Singh, J., Dutta, T., Kim, K. H., Rawat, M., Samddar, P. ve Kumar, P. (2018). ‘Green’ synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *Journal of nanobiotechnology*, 16, 1-24.
- Singleton, V. L. ve Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Sivakumar, T. (2021). In vitro antioxidant, total phenolic, total flavonoid content and biosynthesis of silver nanoparticles using *Cassia auriculata* leaves extracts. *International Journal of Botany Studies*, 6(3), 476-480.
- Skoog, D. A., Holler, F. J. ve Crouch, S. R. (2019). Textbook “principles of instrumental analysis”. *Cengage learning*.
- Sneha, K., Sathishkumar, M., Mao, J., Kwak, I. S. ve Yun, Y. S. (2010). *Corynebacterium glutamicum*-mediated crystallization of silver ions through sorption and reduction processes. *Chemical Engineering Journal*, 162(3), 989-996.
- Soler-Rivas, C., Espín, J. C. ve Wichers, H. J. (2000). An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 11(5), 330-338.
- Son, H. H., Seo, G. H., Jeong, U. ve Kim, S. J. (2017). Capillary wicking effect of a Cr-sputtered superhydrophilic surface on enhancement of pool boiling critical heat flux. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 113, 115-128.
- Song, Y., Kirkwood, N., Maksimović, Č., Zheng, X., O’Connor, D., Jin, Y. ve Hou, D. (2019). Nature based solutions for contaminated land remediation and brownfield redevelopment in cities: A review. *Science of the Total Environment*, 663, 568-579.
- Sowani, H., Mohite, P., Munot, H., Shouche, Y., Bapat, T., Kumar, A. R., ... Zinjarde, S. (2016). Green synthesis of gold and silver nanoparticles by an actinomycete *Gordonia amicalis* HS-11: mechanistic aspects and biological application. *Process Biochemistry*, 51(3), 374-383.

- Streletskii, A. N., Kolbanev, I. V., Borunova, A. B. ve Butyagin, P. Y. (2004). Mechanochemically activated aluminium: Preparation, structure, and chemical properties. *Journal of materials science*, 39, 5175-5179.
- Sukirtha, R., Priyanka, K. M., Antony, J. J., Kamalakkannan, S., Thangam, R., Gunasekaran, P., ... Achiraman, S. (2012). Cytotoxic effect of Green synthesized silver nanoparticles using *Melia azedarach* against in vitro HeLa cell lines and lymphoma mice model. *Process Biochemistry*, 47(2), 273-279.
- Sun, L., Yuan, G., Gao, L., Yang, J., Chhowalla, M., Gharahcheshmeh, M. H., ... Liu, Z. (2021). Chemical vapour deposition. *Nature Reviews Methods Primers*, 1(1), 5.
- Suri, S. S., Fenniri, H. ve Singh, B. (2007). Nanotechnology-based drug delivery systems. *Journal of occupational medicine and toxicology*, 2, 1-6.
- Sweeney, R. Y., Mao, C., Gao, X., Burt, J. L., Belcher, A. M., Georgiou, G. ve Iverson, B. L. (2004). Bacterial biosynthesis of cadmium sulfide nanocrystals. *Chemistry & biology*, 11(11), 1553-1559.
- Tai, C. Y., Tai, C. T., Chang, M. H. ve Liu, H. S. (2007). Synthesis of magnesium hydroxide and oxide nanoparticles using a spinning disk reactor. *Industrial & engineering chemistry research*, 46(17), 5536-5541.
- Taniguchi, N. (1974). On the basic concept of 'nano-technology'. In Proc. Intl. Conf. Prod. Eng. Tokyo, Part II, 1974. Japan Society of Precision Engineering.
- Tavakoli, A., Sohrabi, M. ve Kargari, A. (2007). A review of methods for synthesis of nanostructured metals with emphasis on iron compounds. *chemical papers*, 61(3), 151-170.
- Thomas, S. C., Kumar Mishra, P. ve Talegaonkar, S. (2015). Ceramic nanoparticles: fabrication methods and applications in drug delivery. *Current pharmaceutical design*, 21(42), 6165-6188.
- Tong, Q., Li, H., Li, W., Chen, H., Shu, X., Lu, X. ve Wang, G. (2011). In vitro and in vivo anti-tumor effects of gemcitabine loaded with a new drug delivery system. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(4), 3651-3658.
- Trak, D. ve Arslan, Y. (2021). Synthesis of silver nanoparticles using dried black mulberry (*Morus nigra* L.) fruit extract and their antibacterial and effective dye degradation activities. *Inorganic and nano-metal chemistry*, 1-13.
- Tripisciano, C., Costa, S., Kalenczuk, R. J. ve Borowiak-Palen, E. (2010). Cisplatin filled multiwalled carbon nanotubes—a novel molecular hybrid of anticancer drug container. *The European Physical Journal B*, 75, 141-146.

- Usman, M., Farooq, M., Wakeel, A., Nawaz, A., Cheema, S. A., ur Rehman, H., ... Sanaullah, M. (2020). Nanotechnology in agriculture: Current status, challenges and future opportunities. *Science of the total environment*, 721, 137778.
- Utsunomiya, S. ve Ewing, R. C. (2003). Application of high-angle annular dark field scanning transmission electron microscopy, scanning transmission electron microscopy-energy dispersive X-ray spectrometry, and energy-filtered transmission electron microscopy to the characterization of nanoparticles in the environment. *Environmental science & technology*, 37(4), 786-791.
- Vaidyanathan, R., Kalishwaralal, K., Gopalram, S. ve Gurunathan, S. (2009). RETRACTED: Nanosilver—The burgeoning therapeutic molecule and its green synthesis. *Biotechnology Advances*, 27(6), 924-937.
- van Vuuren, S. ve Viljoen, A. (2011). Plant-based antimicrobial studies—methods and approaches to study the interaction between natural products. *Planta medica*, 77(11), 1168-1182.
- Velsankar, K., Vinothini, V., Sudhahar, S., Kumar, M. K. ve Mohandoss, S. (2020). Green Synthesis of CuO nanoparticles via *Plectranthus amboinicus* leaves extract with its characterization on structural, morphological, and biological properties. *Applied Nanoscience*, 10, 3953-3971.
- Venkatpurwar, V. ve Pokharkar, V. (2011). Green synthesis of silver nanoparticles using marine polysaccharide: study of in-vitro antibacterial activity. *Materials Letters*, 65(6), 999-1002.
- Vijayan, R., Joseph, S. ve Mathew, B. (2018). *Indigofera tinctoria* leaf extract mediated green synthesis of silver and gold nanoparticles and assessment of their anticancer, antimicrobial, antioxidant and catalytic properties. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(4), 861-871.
- Vladár, A. E. ve Hodoroaba, V. D. (2019). *Characterization of nanoparticles by scanning electron microscopy*. V. D. Hodoroaba, W. Unger ve A. Shard (Der.). Characterization of nanoparticles: measurement processes for nanoparticles içinde (ss 7-28). Amsterdam, Netherlands: Elsevier.
- Vo-Dinh, T. (2007). *Nanotechnology in biology and medicine: methods, devices, and applications*. Florida, USA: CRC Press.
- Volesky, B. ve Holan, Z. R. (1995). Biosorption of heavy metals. *Biotechnology progress*, 11(3), 235-250.

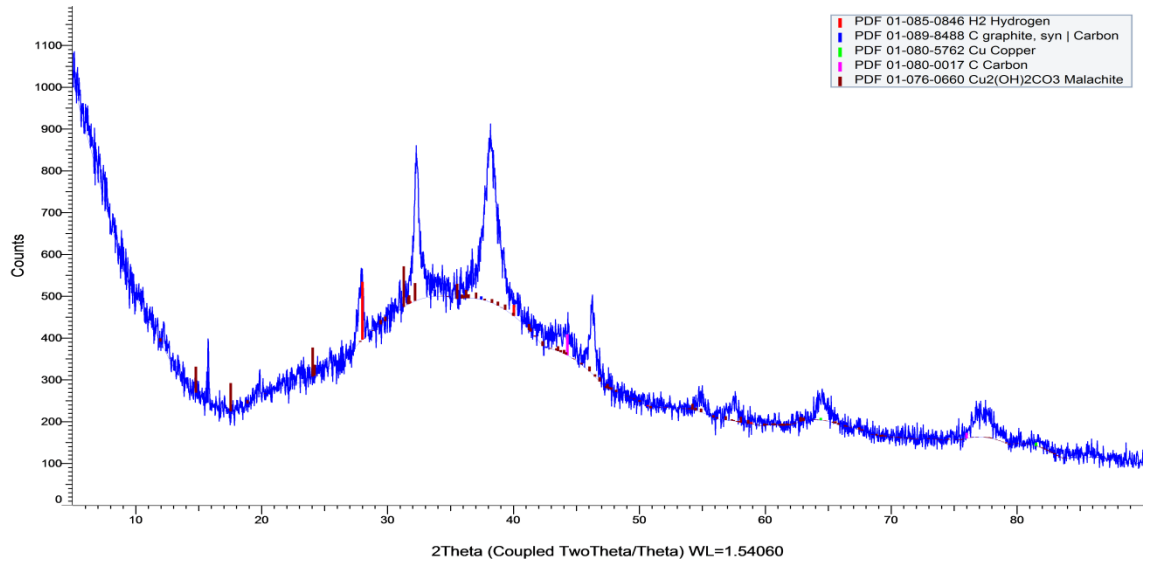
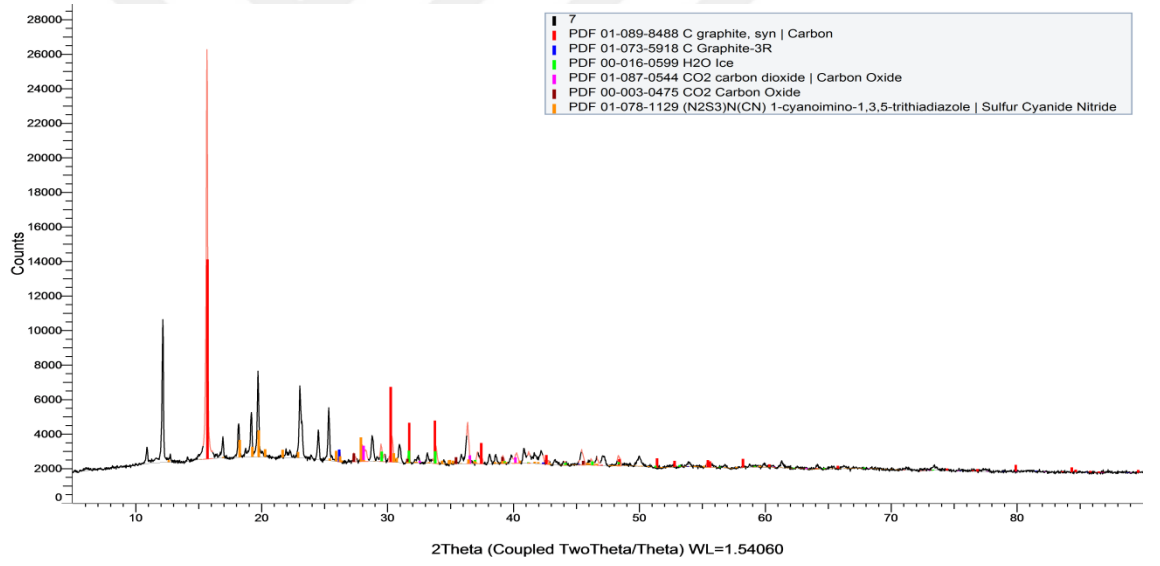
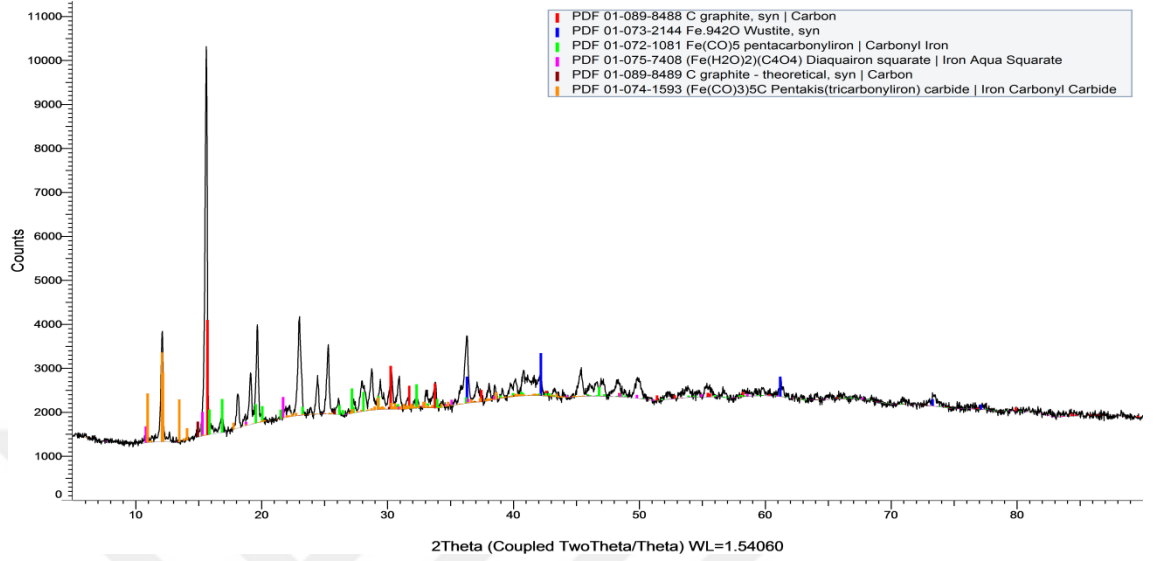
- Waghmare, S. S., Deshmukh, A. M., Kulkarni, S. W. ve Oswaldo, L. A. (2011). Biosynthesis and characterization of manganese and zinc nanoparticles. *Universal Journal of Environmental Research & Technology*, 1(1).
- Wang, L., Li, X., Zhang, G., Dong, J. ve Eastoe, J. (2007). Oil-in-water nanoemulsions for pesticide formulations. *Journal of colloid and interface science*, 314(1), 230-235.
- Wang, S. L. ve Nguyen, A. D. (2018). Effects of Zn/B nanofertilizer on biophysical characteristics and growth of coffee seedlings in a greenhouse. *Research on Chemical Intermediates*, 44, 4889-4901.
- Wang, Y., O'connor, D., Shen, Z., Lo, I. M., Tsang, D. C., Pehkonen, S., ... Hou, D. (2019). Green synthesis of nanoparticles for the remediation of contaminated waters and soils: Constituents, synthesizing methods, and influencing factors. *Journal of cleaner production*, 226, 540-549.
- Watt, F., Bettiol, A. A., Van Kan, J. A., Teo, E. J. ve Breese, M. B. H. (2005). Ion beam lithography and nanofabrication: a review. *International Journal of Nanoscience*, 4(03), 269-286.
- Wender, H., Migowski, P., Feil, A. F., Teixeira, S. R. ve Dupont, J. (2013). Sputtering deposition of nanoparticles onto liquid substrates: Recent advances and future trends. *Coordination Chemistry Reviews*, 257(17-18), 2468-2483.
- Wilczewska, A. Z., Niemirowicz, K., Markiewicz, K. H. ve Car, H. (2012). Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacological reports*, 64(5), 1020-1037.
- Wu, S., Rajeshkumar, S., Madasamy, M. ve Mahendran, V. (2020). Green synthesis of copper nanoparticles using *Cissus vitiginea* and its antioxidant and antibacterial activity against urinary tract infection pathogens. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 48(1), 1153-1158.
- Wu, W., Chen, B., Cheng, J., Wang, J., Xu, W., Liu, L., ... Li, J. (2010). Biocompatibility of Fe₃O₄/DNR magnetic nanoparticles in the treatment of hematologic malignancies. *International journal of nanomedicine*, 1079-1084.
- Xing, L., Ten Brink, G. H., Chen, B., Schmidt, F. P., Haberfehlner, G., Hofer, F., ... Palasantzas, G. (2016). Synthesis and morphology of iron-iron oxide core-shell nanoparticles produced by high pressure gas condensation. *Nanotechnology*, 27(21), 215703.
- Xu, L., Li, W., Shi, Q., Li, H., Yang, Z., Liao, D., ... Zhang, J. (2019). Synthesis of mulberry leaf extract mediated gold nanoparticles and their ameliorative effect on

- Aluminium intoxicated and diabetic retinopathy in rats during perinatal life. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 196, 111502.
- Yadav, T. P., Yadav, R. M. ve Singh, D. P. (2012). Mechanical milling: a top down approach for the synthesis of nanomaterials and nanocomposites. *Nanoscience and Nanotechnology*, 2(3), 22-48.
- Yang, C., Wang, H. F. ve Xu, Q. (2020). Recent advances in two-dimensional materials for electrochemical energy storage and conversion. *Chemical Research in Chinese Universities*, 36(1), 10-23.
- Yang, J., Park, S. B., Yoon, H. G., Huh, Y. M. ve Haam, S. (2006). Preparation of poly ϵ -caprolactone nanoparticles containing magnetite for magnetic drug carrier. *International journal of pharmaceutics*, 324(2), 185-190.
- Yang, X. W., Huang, M. Z., Jin, Y. S., Sun, L. N., Song, Y. ve Chen, H. S. (2012). Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties. *Fitoterapia*, 83(7), 1169-1175.
- Yanhong, L., Dejun, W., Qidong, Z., Min, Y. ve Qinglin, Z. (2004). A study of quantum confinement properties of photogenerated charges in ZnO nanoparticles by surface photovoltage spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108(10), 3202-3206.
- Yousaf, H., Mehmood, A., Ahmad, K. S. ve Raffi, M. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles and their applications as an alternative antibacterial and antioxidant agents. *Materials Science and Engineering: C*, 112, 110901.
- Yusefi, M., Shameli, K., Ali, R. R., Pang, S. W. ve Teow, S. Y. (2020). Evaluating anticancer activity of plant-mediated synthesized iron oxide nanoparticles using *Punica granatum* fruit peel extract. *Journal of Molecular Structure*, 1204, 127539.
- Yusefi, M., Shameli, K., Ali, R. R., Pang, S. W. ve Teow, S. Y. (2020). Evaluating anticancer activity of plant-mediated synthesized iron oxide nanoparticles using *Punica granatum* fruit peel extract. *Journal of Molecular Structure*, 1204, 127539.
- Zeni, A. L. B., Moreira, T. D., Dalmagro, A. P., Camargo, A., Bini, L. A., Simionatto, E. L. ve Scharf, D. R. (2017). Evaluation of phenolic compounds and lipid-lowering effect of *Morus nigra* leaves extract. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89, 2805-2815.
- Zhang, B. T., Zheng, X., Li, H. F. ve Lin, J. M. (2013). Application of carbon-based nanomaterials in sample preparation: A review. *Analytica chimica acta*, 784, 1-17.

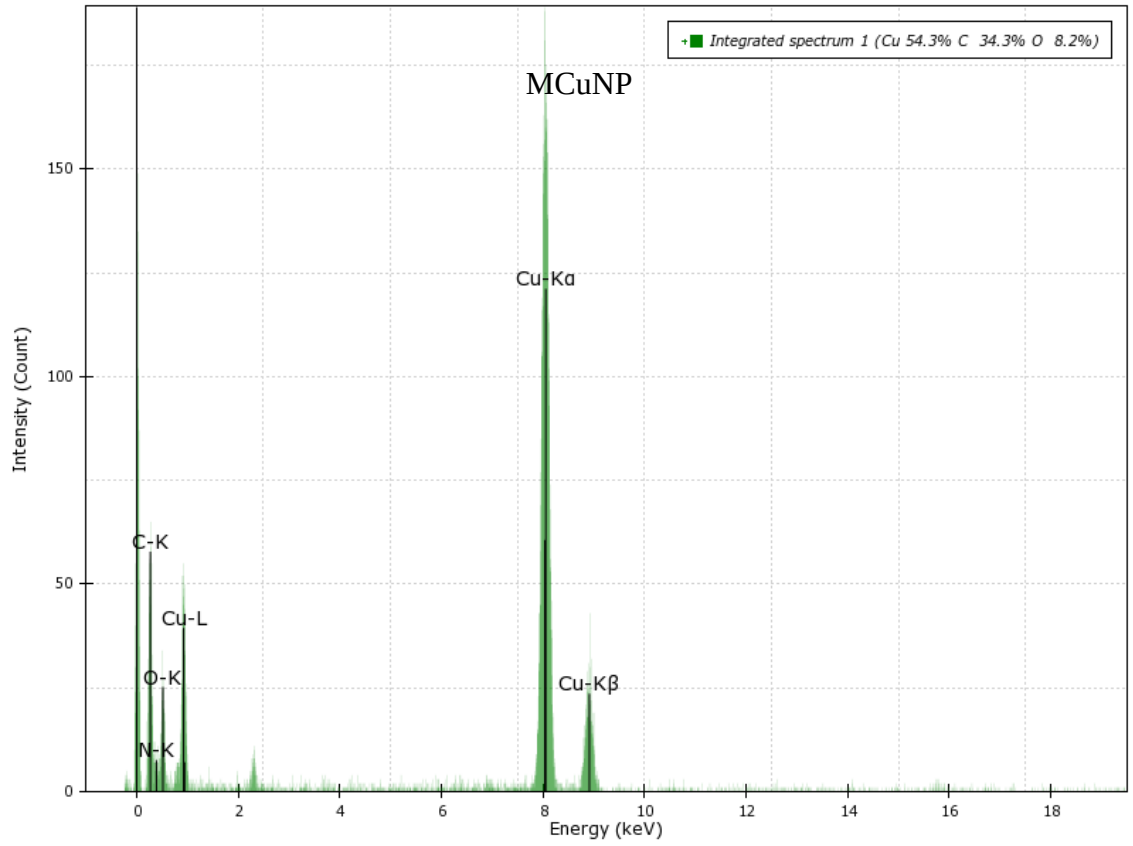
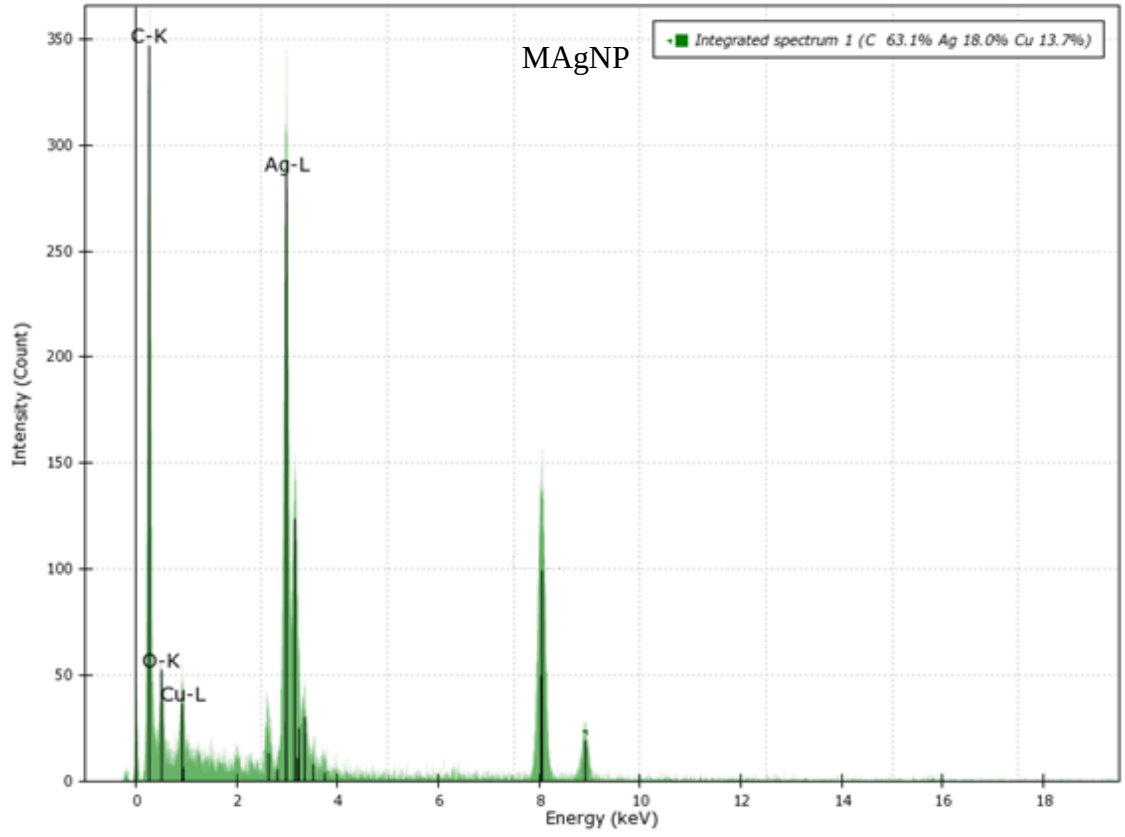
- Zhang, X., Yan, S., Tyagi, R. D. ve Surampalli, R. Y. (2011). Synthesis of nanoparticles by microorganisms and their application in enhancing microbiological reaction rates. *Chemosphere*, 82(4), 489-494.
- Zhao, X., Zhou, L., Riaz Rajoka, M. S., Yan, L., Jiang, C., Shao, D., ... Jin, M. (2018). Fungal silver nanoparticles: synthesis, application and challenges. *Critical reviews in biotechnology*, 38(6), 817-835.
- Zheng, D., Hu, C., Gan, T., Dang, X. ve Hu, S. (2010). Preparation and application of a novel vanillin sensor based on biosynthesis of Au–Ag alloy nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 148(1), 247-252.
- Zhou, H., Fan, T., Han, T., Li, X., Ding, J., Zhang, D., ... Ogawa, H. (2009). Bacteria-based controlled assembly of metal chalcogenide hollow nanostructures with enhanced light-harvesting and photocatalytic properties. *Nanotechnology*, 20(8), 085603.
- Zielińska, A., Carreiró, F., Oliveira, A. M., Neves, A., Pires, B., Venkatesh, D. N., ... Souto, E. B. (2020). Polymeric nanoparticles: production, characterization, toxicology and ecotoxicology. *Molecules*, 25(16), 3731.

EKLER

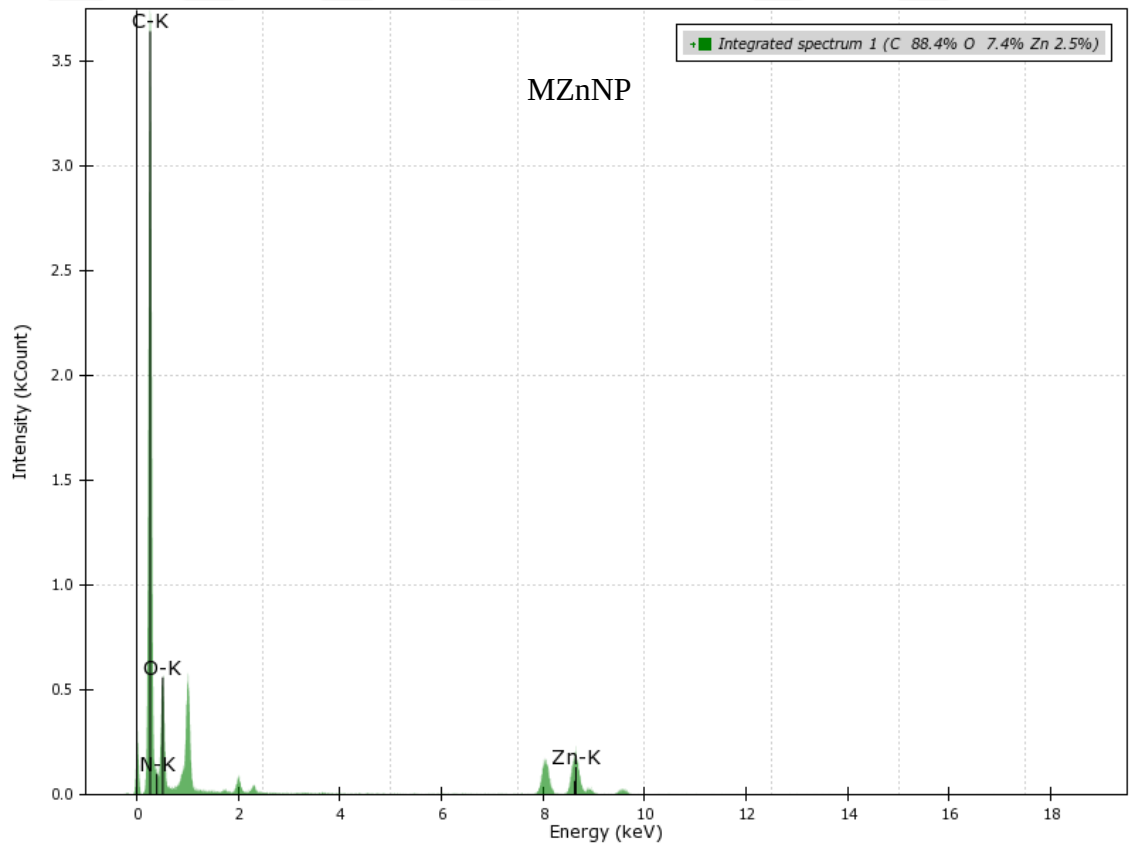
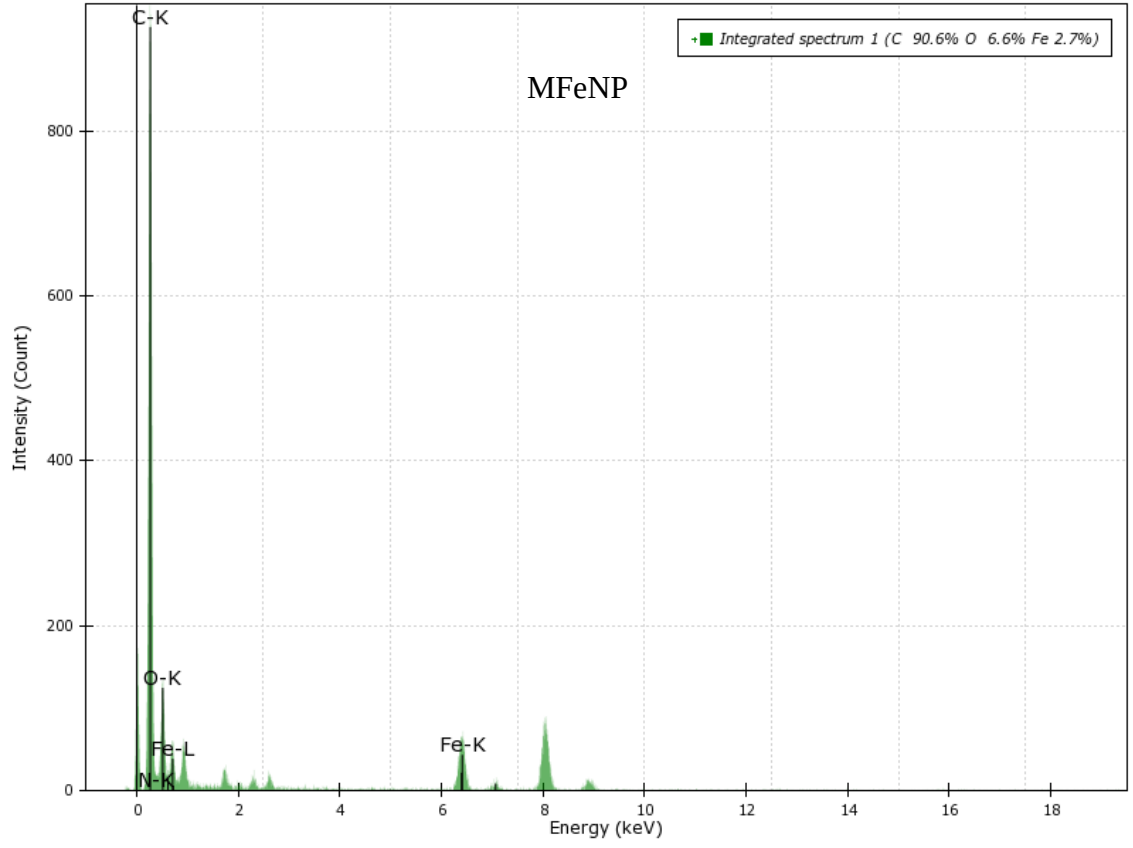
Ek 1. NP'lerin XRD sonuçları



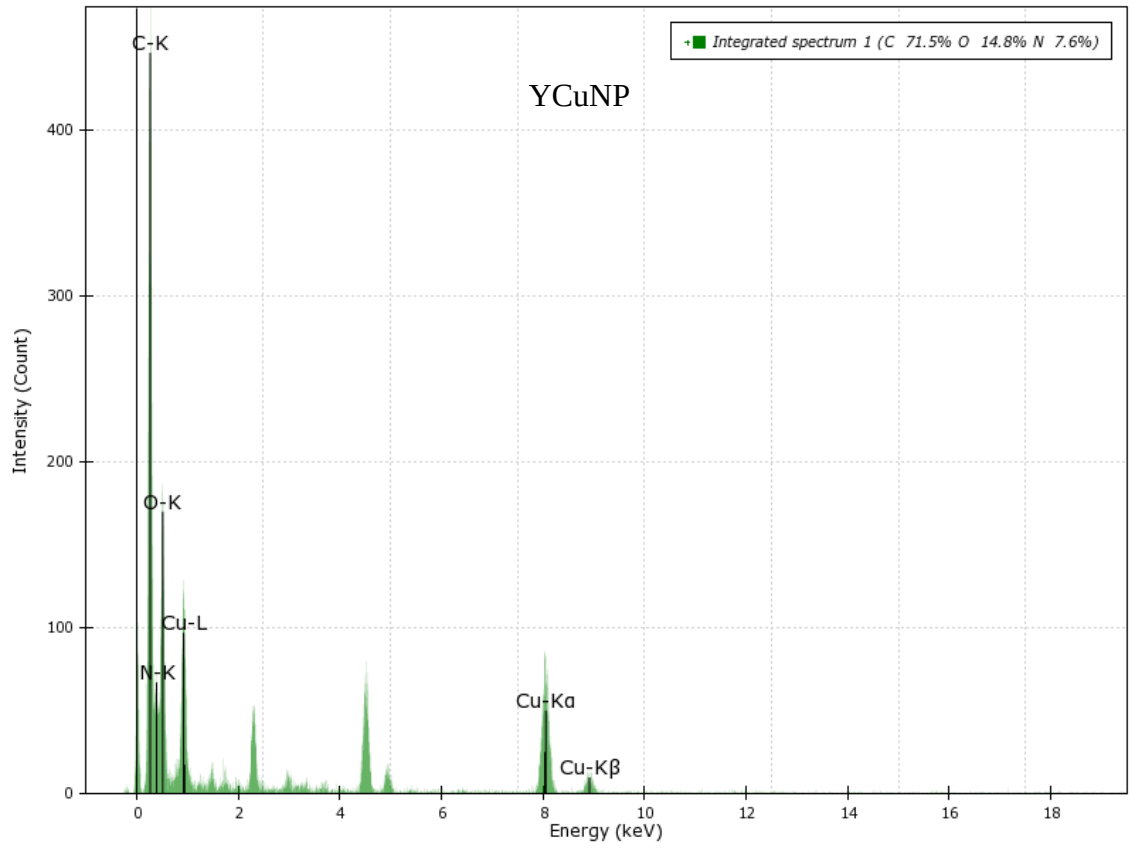
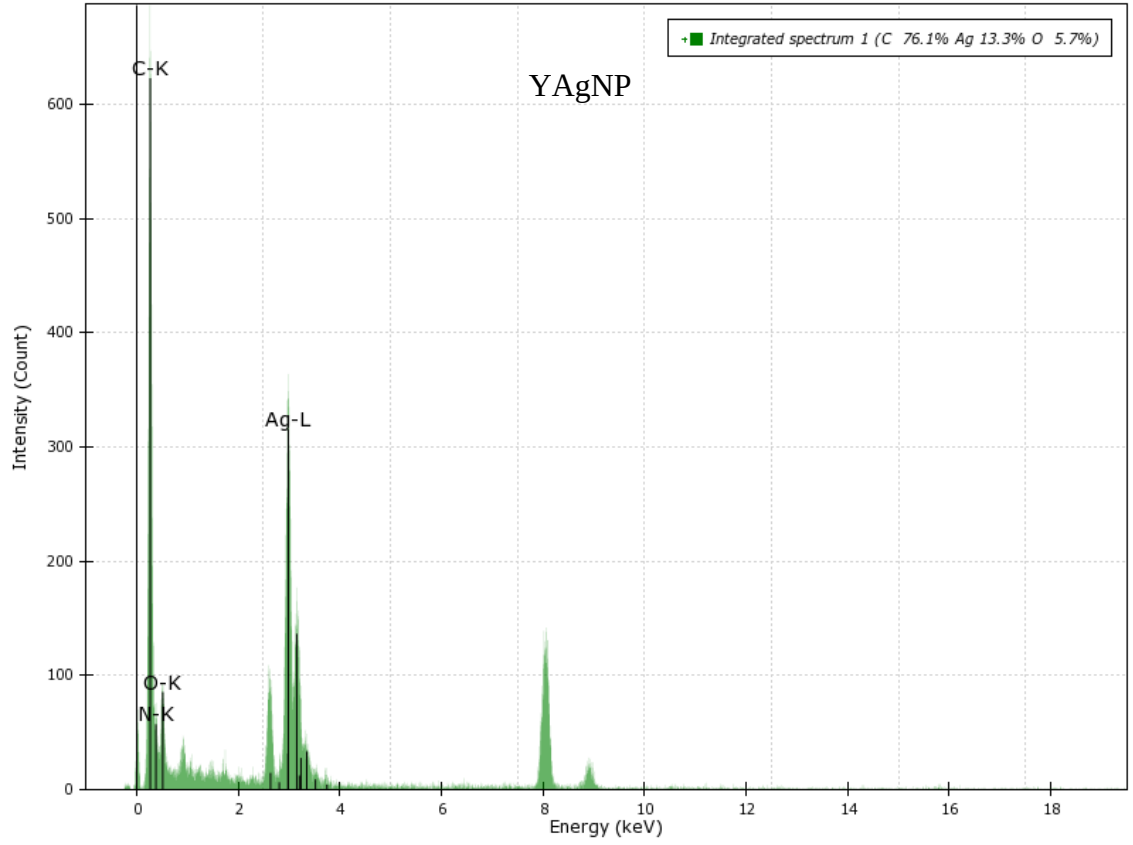
Ek 2. MAgNP ve MAgNP EDX görüntüleri



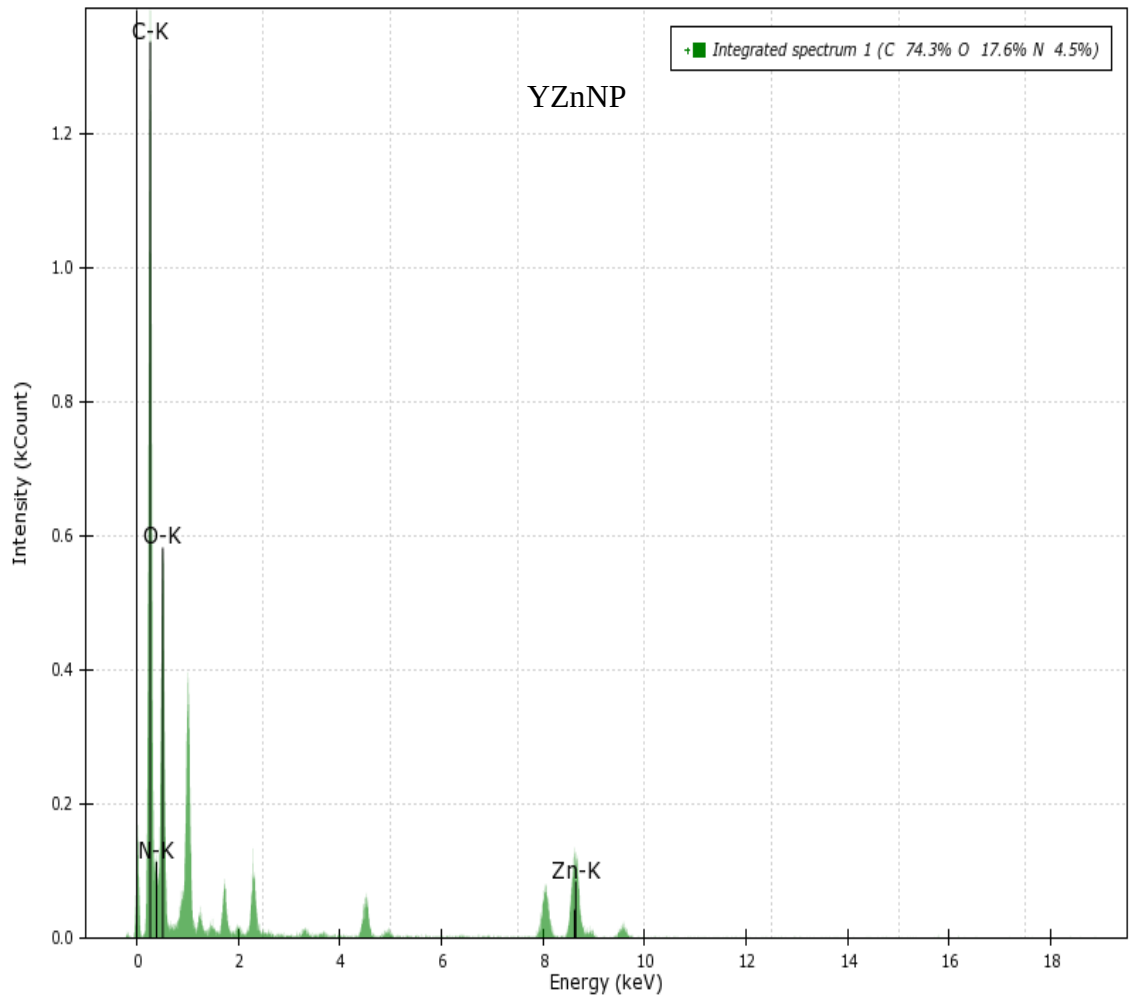
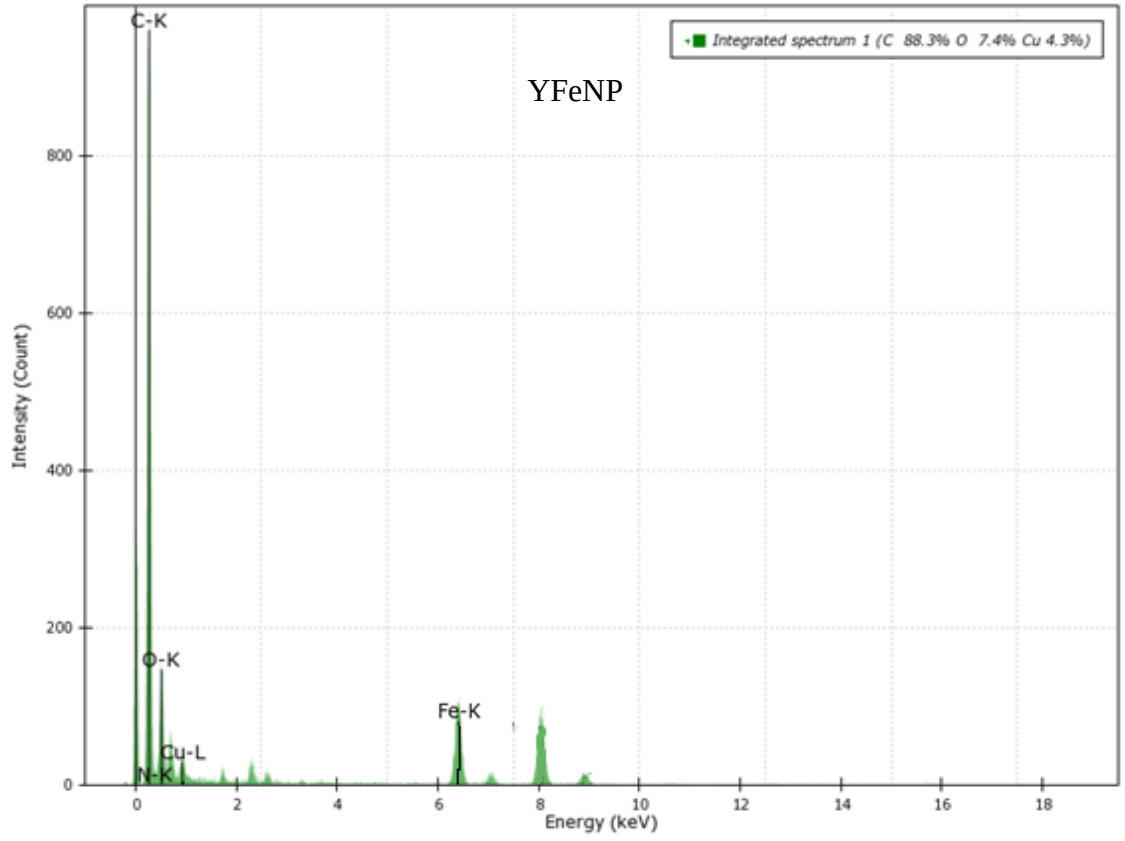
Ek 3. MFeNP ve MZnNP EDX görüntüleri



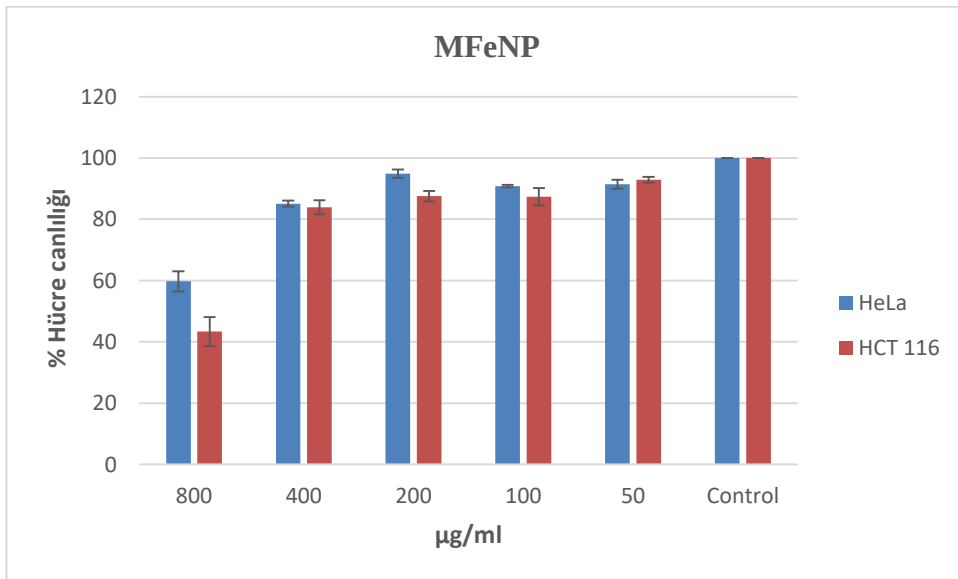
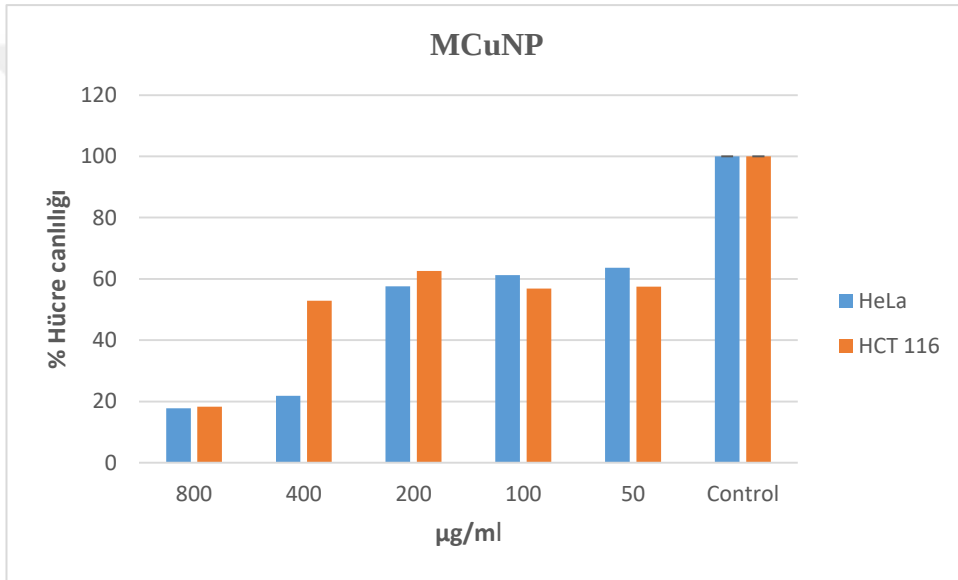
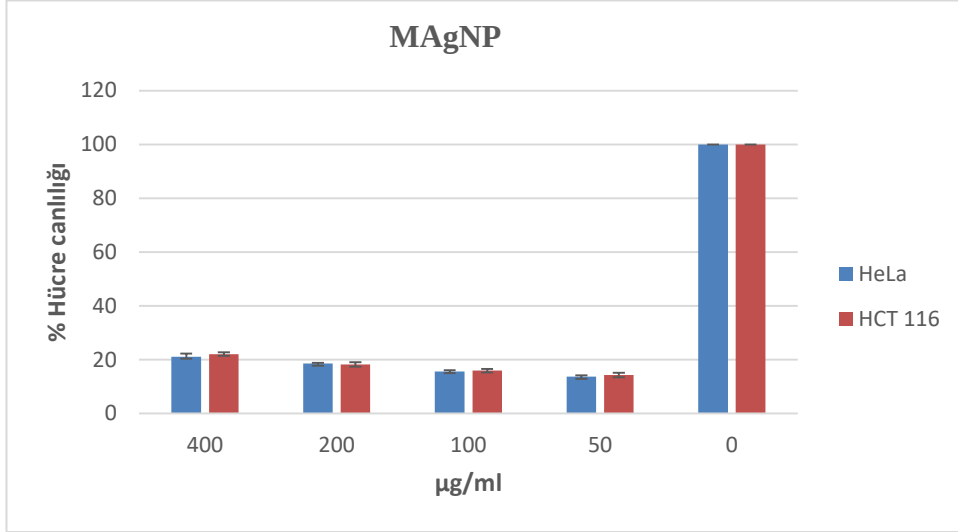
Ek 4. YAgNP ve YCuNP EDX görüntüleri



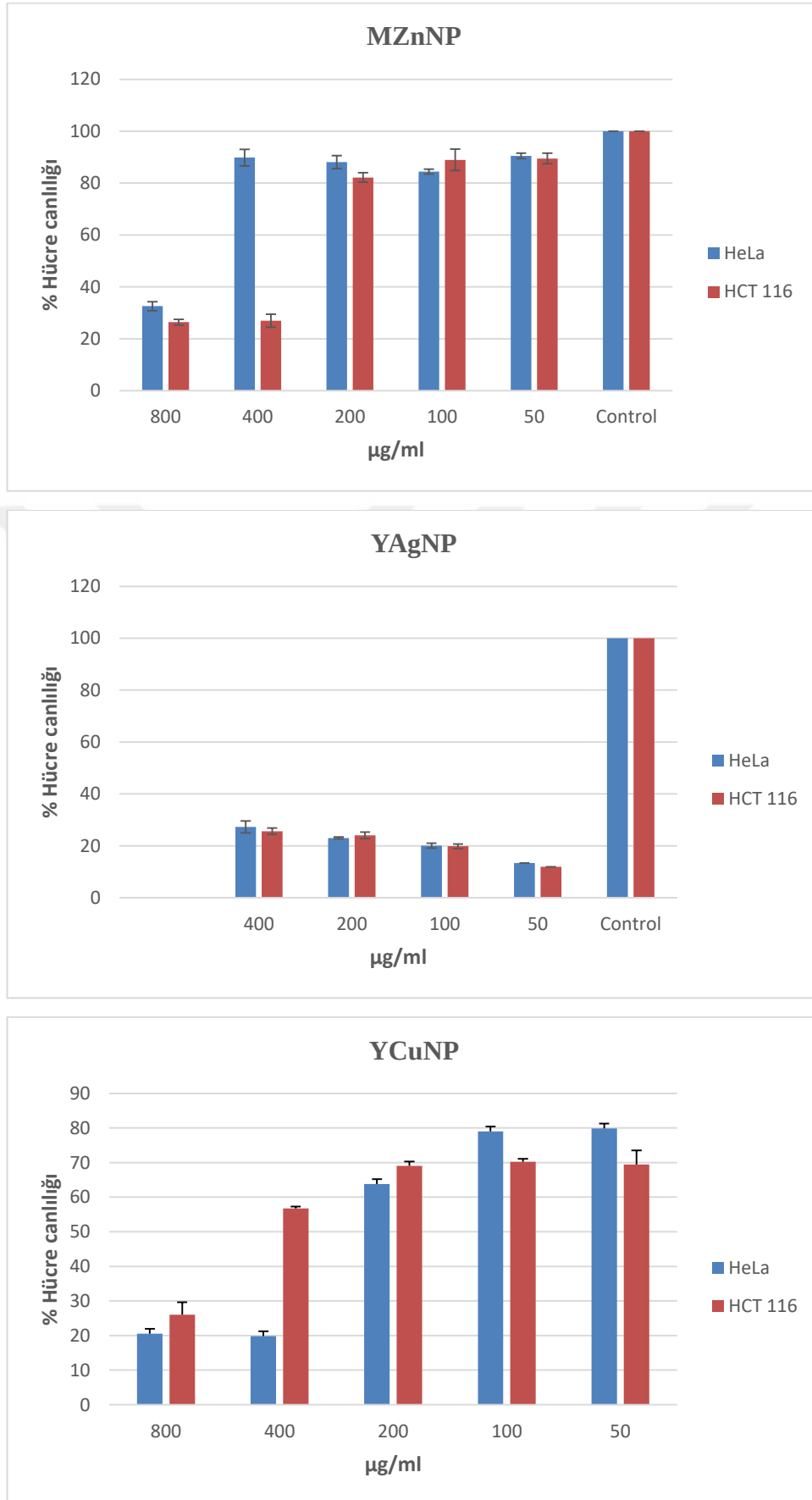
Ek 5. YFeNP ve YZnNP EDX görüntüleri



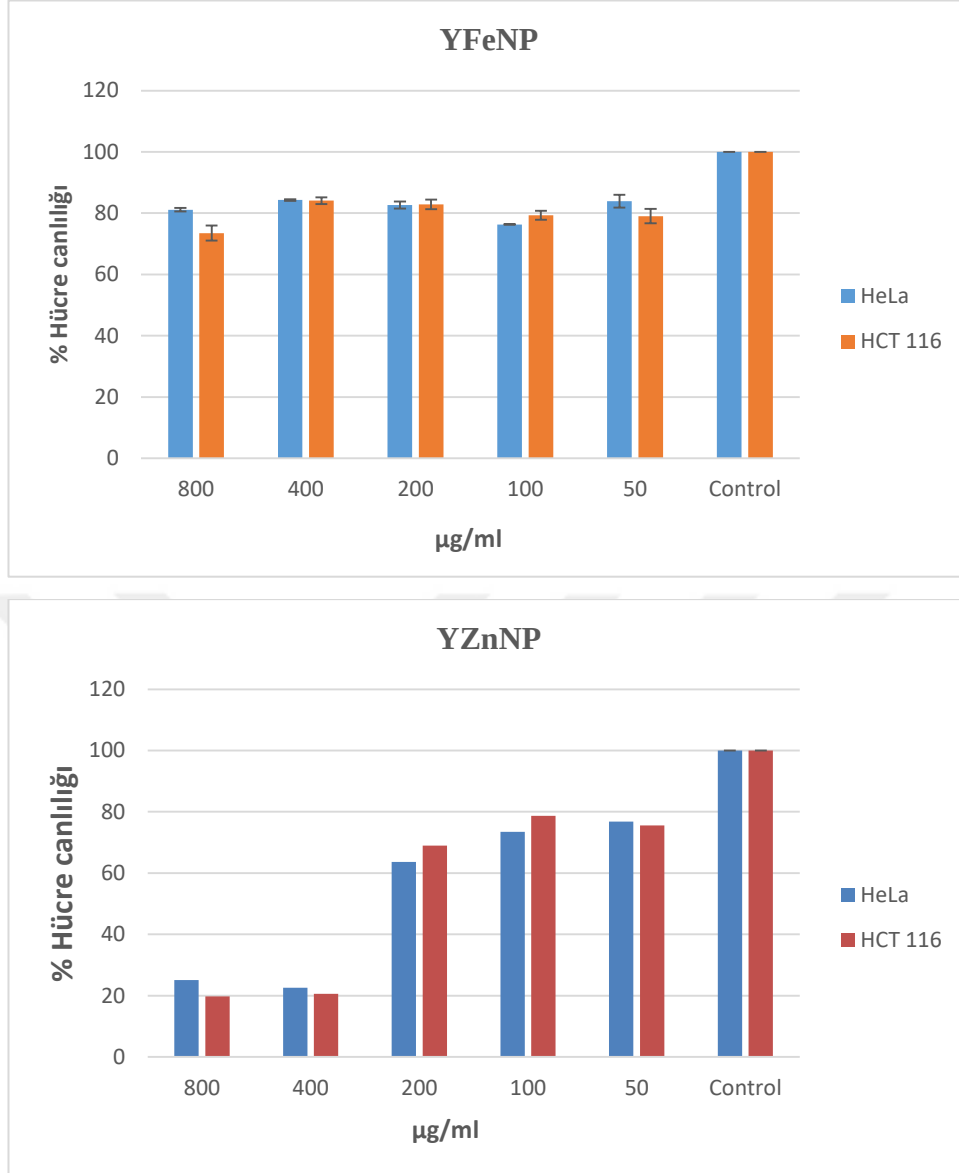
Ek 6. MAgNP, MCuNP ve MFeNP hücre canlılık testi sonuçları



Ek 7. MZnNP, YAgNP ve YCuNP hücre canlılık testi sonuçları



Ek 8. YFeNP ve YZnNP hücre canlılık testi sonuçları



ÖZGEÇMİŞ

Osman AKMEŞE, Elazığ Balakgazi Lisesi'nden 2003 yılında mezun oldu. Fırat Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden 2008 yılında mezun oldu. 2019 yılında Gümüşhane Üniversitesi Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı'ndan mezun oldu. 2014 yılında Gümüşhane Üniversitesinde Biyolog olarak göreve başladı ve halen göreve devam etmektedir.

Bu çalışma Gümüşhane Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 22.F5115.01.05 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Yayınlar:

- Akmeşe, O., Acet, T. ve Özcan, K. (2020). Elazığ İlinde Yetişen *Morus nigra* L.'nin Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin ve Antibiyotiklerle Sinerjistik Etkisinin Belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 10(4), 983-995.
- Gedikli, H., Akdoğan, A., Karpuz, O., Akmeşe, O., Kobya, H. N. ve Baltacı, C. (2024). Aflatoxin Detoxification by Biosynthesized Iron Oxide Nanoparticles Using Green and Black Tea Extracts. *BioResources*, 19(1).