



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***Primula vulgaris* ' DEN SENTEZLENEN GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yunus Emre ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR / 2019



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***Primula vulgaris*' DEN SENTEZLENEN GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİ OKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yunus Emre ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

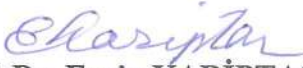
DANIŞMAN
Doç. Dr. Belgin ERDEM

II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Harun ÇİFTÇİ

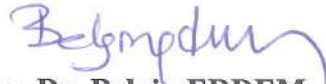
KIRŞEHİR / 2019

Bu çalışma 20/12/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi


Prof. Dr. Ergin KARIPTAŞ
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıp Fakültesi
(Başkan)


Prof. Dr. Harun ÇİFTÇİ
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıp Fakültesi
(2.Danışman)


Doç. Dr. Belgin ERDEM
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu
(Danışman)


Dr. Öğr. Üyesi Önder İDİL
Amasya Üniversitesi
Eğitim Fakültesi


Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem ER ÇALIŞKAN
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Ziraat Fakültesi

TEZ BİLDİRİMİ

Hazırlamış olduğum tez içerisindeki bilgilerin etik kural ve davranışlar çerçevesinde ve tez yazım kurallarına uygun bir şekilde kendime ait olmayan her türlü ifadeye eksiksiz atıf yapıldığını önemle bildiririm.

Yunus Emre ŞAHİN



ÖNSÖZ

Yapmış olduğumuz çalışma, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Çalışmada amacımız *Primula vulgaris* yaprak, çiçek ve kök ekstraktlarından gümüş nanopartikül sentezleyerek antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri belirlemektir.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, desteğini esirgemeyen çok değerli hocam Doç. Dr. Belgin ERDEM' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmalarımı yürütmem de yardımcı olan sayın hocam Prof. Dr. Harun ÇİFTÇİ'ye, Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem ER ÇALIŞKAN'a, Burcu YAZICI'ya ve manevi desteklerini esirgemeyen Murat MANAV, Demet ŞAHİN ile aileme de teşekkürlerimi sunarım.

Aralık 2019

Yunus Emre ŞAHİN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ	ix
SİMGE VE KISALTMALAR.....	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. <i>Primula vulgaris</i>	3
2.2. <i>Primula vulgaris</i> ' in kullanım alanları.....	4
2.3. Nanoteknoloji ve gümüş nanopartiküller.....	4
2.4. Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal etkileri.....	5
2.5. Antioksidan aktivite	5
2.6. Fitokimyasallar	6
2.6.1. Flavonoidler.....	6
2.6.2. Terpenoidler.....	6
2.6.3. Saponinler.....	7
2.6.4. Alkaloidler	7
2.6.5. Tanenler	7
2.6.6. Karbonhidratlar.....	8
2.6.7. Proteinler	8
2.7. Antimikrobiyal test yöntemleri	9
2.7.1. Agar disk difüzyon yöntemi	9
2.7.2. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	10
3.1. MATERYALLER.....	10
3.1.1. Bitkisel materyaller.....	10
3.1.2. Mikroorganizmalar	10
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Madeler ve Çözücüler	11
3.2. YÖNTEM	11
3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması.....	11
3.2.2. AgNO ₃ hazırlanışı	11
3.2.3. Besiyerlerin hazırlanması	11

3.2.4. Fitokimyasal tarama	12
3.2.5. Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkisi	17
3.2.6. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi	18
3.2.7. Antimikrobiyal Test.....	18
3.2.8. UV-Vis Spektrum Analizi	19
3.2.9. Antioksidan Aktivite	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	20
4.1. Antimikrobiyal aktivite sonuçları	20
4.2. UV spektrofotometre sonuçları.....	33
4.3. Antioksidan Aktivite.....	34
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	36
5.1. UV-Vis Spektrokopisi.....	36
5.2. Gümüş Nanopartikülün Antimikrobiyal Aktivitesi	36
5.3. Antioksidan Aktivite.....	42
5.4. Fitokimyasal Tayin	43
6. KAYNAKLAR.....	46
7. ÖZGEÇMİŞ.....	57

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1.1: <i>Primula vulgaris</i> 'in ilkbahar döneminde çiçeklenmesi	3
Şekil 3. 1: <i>P. vulgaris</i> ' in çiçek ekstraktında flavonoidlerin taranması.....	12
Şekil 3. 2: <i>P. vulgaris</i> ' in yaprak ekstraktında flavonodidlerin taranması.	13
Şekil 3. 3: <i>P. vulgaris</i> ' in yaprak ekstraktında karbonhidrat taranması	13
Şekil 3. 4: <i>P. vulgaris</i> ' in çiçek ekstraktında karbonhidrat taranması	14
Şekil 3. 5: <i>P. vulgaris</i> ' in kök ekstraktında karbonhidrat taranması	14
Şekil 3. 6: <i>P. vulgaris</i> ' in çiçek eksratında protein taraması	15
Şekil 3. 7: <i>P. vulgaris</i> ' in çiçek ekstraktında terpenoid taraması	15
Şekil 3. 8: <i>P. vulgaris</i> ' in yaprak ekstraktında tanin taraması.....	16
Şekil 3. 9: <i>P. vulgaris</i> ' in yaprak ekstraktında saponinler.....	16
Şekil 3. 10: <i>P. vulgaris</i> ' in çiçek ekstraktında saponinler	17
Şekil 3. 11: <i>P. vulgaris</i> ' in kök ekstraktında görülen saponinler	17
Şekil 3. 12: <i>P. vulgaris</i> ' in ekstraktlarında AgNP sentezlenmesi.....	18
Şekil 4.1: <i>P. vulgaris</i> ' in yaprak ekstraktından sentezlenen AgNP' lerin <i>C. tropicalis</i> üzerine antimikrobiyal etkisi	22
Şekil 4.2: <i>P. vulgaris</i> ' in yaprak ekstratının <i>S. dysenteria</i> üzerine antimikrobiyal etkisi ...	22
Şekil 4.3: <i>P. vulgaris</i> ' in yaprak ekstratının <i>S. epidermidis</i> deki antimikrobiyal etkisi	23
Şekil 4.4: <i>P. vulgaris</i> ' in yaprak ekstraktlarının <i>L. monocytogenes</i> ' e antimikrobiyal etkisi	23
Şekil 4.5: <i>P. vulgaris</i> ' in çiçeklerinden sentezlenen AgNP' lerin en büyük zonü oluşturduğu <i>C. glabrata</i>	25
Şekil 4.6: <i>P. vulgaris</i> ' in çiçeklerinden sentezlenen AgNP' li ekstraktların <i>A. hydrophila</i> ' ya antimikrobiyal etkisi	25
Şekil 4.7: <i>P. vulgaris</i> ' in çiçeklerinden sentezlenen AgNP' lerin <i>S. boulardii</i> ' de gösterdiği antimikrobiyal etki.....	26
Şekil 4.8: <i>P. vulgaris</i> ' in çiçeklerinden sentezlenen <i>C. albicans</i> ' a antimikrobiyal etkisi ..	26

Şekil 4.9: <i>P. vulgaris</i> ' in AgNP' li çiçek ekstraktlarının <i>S. dysenteria</i> ' ya antimikrobiyal etkisi	27
Şekil 4.10: <i>P. vulgaris</i> ' in AgNP' li çiçek ekstraktlarının <i>E. coli</i> ' ye antimikrobiyal etkisi	27
Şekil 4.11: <i>P. vulgaris</i> ' in AgNP' li çiçek ekstraktlarının <i>C. trypicilis</i> ' e antimikrobiyal etkisi	28
Şekil 4.12: <i>P. vulgaris</i> ' in AgNP' li kök ekstraktlarının <i>A. hydrophila</i> üzerindeki antimikrobiyal etkisi	30
Şekil 4.13: <i>P. vulgaris</i> ' in AgNP' li kök ekstraktının <i>C. jejuni</i> üzerine antimikrobiyal etkisi	30
Şekil 4.14: <i>P. vulgaris</i> ' in AgNP' li kök ekstraktlarının <i>S. epidermidis</i> üzerine antimikrobiyal etkisi	31
Şekil 4.15: <i>P. vulgaris</i> AgNP' li kök ekstraktlarının <i>Klebsiella</i> spp. üzerine negatif antimikrobiyal etkisi	31
Şekil 4.16: <i>P. vulgaris</i> ' in AgNP' li kök ekstraktlarının antimikrobiyal etki göstermediği <i>P. vulgaris</i> (<i>Proteus vulgaris</i>)	32
Şekil 4.17: <i>P. vulgaris</i> ' in AgNP' li kök ekstraktlarının antimikrobiyal etki göstermediği <i>C. parapsilosis</i>	32
Şekil 4.18: <i>P. vulgaris</i> ' in kökünden sentezlenen AgNP' lerin UV-Vis spektrumları	33
Şekil 4.19: <i>P. vulgaris</i> ' in yapraklarından sentezlenen AgNP' lerin UV-Vis spektrumları	33
Şekil 4.20: <i>P. vulgaris</i> ' in çiçeklerinden sentezlenen AgNP' lerin UV-Vis spektrumları ..	34
Şekil 5.1: <i>S. aureus</i> ' un <i>P. vulgaris</i> ' in yaprak ekstraktların da göstermiş olduğu zon çapları	39
Şekil 5.2: <i>E. coli</i> ' nin <i>P. vulgaris</i> ' in yaprak ekstratlarına göstermiş olduğu zon alanları ..	40

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 3. 1: Çalışmada kullanılan mikroorganizmlar	10
Tablo 4. 1: <i>P. vulgaris</i> ' in yaprağından sentezlenen AgNP' lerin antimikrobiyal akivitesi	21
Tablo 4.2: <i>P. vulgaris</i> ' in çiçek ekstraktından sentezlenen AgNP' li çözeltilerin antimikrobiyal etkisi	24
Tablo 4.3: <i>P. vulgaris</i> ' in kök ekstraktından sentezlenen AgNP' li ekstraktların antimikrobiyal etkisi	29
Tablo 4.4: Yaprak+AgNO ₃ DPPH' lı çözeltilisinin 517 nm' de okunan absorbands değerleri	34
Tablo 4.5: Çiçek+AgNO ₃ DPPH' lı çözeltilisinin 517 nm' de okunan absorbands değerleri.	35
Tablo 4.6: Kök+AgNO ₃ DPPH' lı çözeltilisinin 517 nm' de okunan absorbands değerleri ...	35
Tablo 5. 1: <i>P. vulgaris</i> 'in ekstraktlarında fitokimyal tarama sonuçları.....	43

SİMGE VE KISALTMALAR

Ag	: Gümüş
AgNO ₃	: Gümüş nitrat
AgNP	: Gümüş nanopartikül
TSA	: Tyryptic Soy Agar
TSB	: Tyryptic Soy Broth
H	: Hidrojen
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
gr	: Gram
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
°C	: Santigrat derece
H ₂ SO ₄	: Sülfirik Asit
NaOH	: Sodyum hidroksit
<i>P. vulgaris</i>	: <i>Primula vulgaris</i>
CuSO ₄	: Bakır sülfat

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Primula vulgaris*' DEN SENTEZLENEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yunus Emre ŞAHİN

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Belgin ERDEM

II. Danışman: Prof. Dr. Harun ÇİFTÇİ

Yapılan bu çalışmada, *Primula*, Primulaceae ailesine ait çiçekli bir tıbbi bitki olan *Primula vulgaris*' den sentezlenen gümüş nanoparçacıkların antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri değerlendirilmiştir. Bitki ile yapılan çeşitli ekstrakt denemelerinin ardından nanoparçacıkların ayrıştırılması için gümüş nitrat (AgNO_3) çözeltisi eklenmiştir ve gümüş nanopartikül (AgNP) en iyi oluşumunun gözlendiği ekstrakt yöntemi olan etanol, metanol, aseton, saf su ve kaynatma ile ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır. *Primula vulgaris* yaprak, çiçek ve kök ekstraktlarından sentezlenen gümüş nanoparçacık ekstraktları çeşitli mikrobiyal suşlarda agar kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılarak, antimikrobiyal etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Nanopartiküllerin karakterizasyonu UV-Vis spektroskopisinde ölçülmüştür. Nanopartiküllerin Gram (+) ve Gram (-) bakteriler ile maya türlerine karşı

etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmada *P. vulgaris* yaprak, çiçek ve kök ekstraktları kullanılarak sentezlenen AgNP' nin antimikrobiyal özellikte olduğu görülmüştür.

P. vulgaris yaprak, çiçek ve kök ekstraktlarının DMSO, kaynatma, metanol, etanol, aseton ve saf su ile hazırlanan ekstraktları, AgNO₃ varlığında AgNP sentezlemiştir. Oluşan ekstraktların agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile yapılan antimikrobiyal aktivitesine göre yaprak ekstraktında *B. subtilis*, *C. jejuni*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *A. hydrophila*, *S. dysenteriae*, *S. epidermidis*, *S. typhimurium* 10-18 mm çapında en geniş zon göstermiştir. Diğer bakteriler 8 mm ve altında inhibisyon zon göstermiştir. Çiçek ekstraktın da bu bakteriler; *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. cereus*, *S. typhimurium* 10-20 mm arası inhibisyon zon gösterirken diğer bakteriler 6 mm ve altında zon göstermiştir. Kök ekstraktlarında ise bu bakteriler; *C. jejuni*, *A. hydrophila*, *S. epidermidis*, 5-15 arası inhibisyon zon gösterirken diğer bakteriler 5 mm ve altında inhibisyon zon da antimikrobiyal etki göstermiştir.

S. boulardii, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* ise 10-25 mm lik zon çap oluşturmıştır. Mayalar arasında en fazla antimikrobiyal aktivite sırasıyla *C. tropicalis*>*C. glabrata*>*C. parapsilosis*>*C. albicans*>*S. boulardii* de görülmüştür. *P. vulgaris* ekstraktlarından elde edilen AgNP bakterilere göre mayalara daha çok antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Bitkisel fitokimyasallar önemli bileşikler olarak göze çarpmaktadır. Bunlardan saponinler antibakteriyel özellik göstermektedir. Fitokimyasallar aynı zamanda antioksidan etki mekanizmasının çalışmasına yardımcı olmaktadır. *P. vulgaris* antioksidan özelliğini göstermek için DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemi kullanılmıştır. *P. vulgaris*' ten elde edilen yaprak, kök ve çiçek ekstraktlarının DPPH metanollü çözeltisi ile karıştırılmıştır. Oluşan ekstraktlı DPPH çözeltilerinin 517 nm absorbansına göre DPPH radikalini ortamdaki uzaklaştırarak antioksidan özellikte olduğu görülmüştür.

Aralık 2019, 68 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, antioksidan, gümüş nanopartikül, *Primula vulgaris*, nanoteknoloji, ekstraksiyon, fitokimyasal tarama.

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SILVER NANOPARTICLES SYNTHESIZED FROM PRIMULA VULGARIS

Yunus Emre ŞAHİN

Kırsehir Ahi Evran University

Graduate School of Sciences and Engineering

Biology Department

Supervisor: Doç. Dr. Belgin ERDEM

II. Supervisor: Prof. Dr. Harun ÇİFTÇİ

In this study, antimicrobial and antioxidant properties of Primula, Primulaceae silver nanoparticles were evaluated. Since ethanol, methanol, acetone, pure water and boiling are the extraction method, the appropriate nitrate (AgNO_3) solution is added and contains silver nanoparticle (AgNP). Silver nanoparticle extracts from primula vulgaris leaf, flower and root extracts contain agar well diffusion method in various microbial strains, made from antimicrobial requirement. Characterization of nanoparticles measured on UV-Vis spectroscopy. Nanoparticles have been studied that have been met with yeast species with Gram (+) and Gram (-) bacteria. AgNP appears to have antimicrobial properties.

P. vulgaris extracts of leaf, flower and root extracts prepared with DMSO, boiling, methanol, ethanol, acetone and purified water synthesized AgNP in the presence of AgNO_3 , *B. subtilis*, *C. jejuni*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *A. hydrophila*, *S. dysenteriae*,

S. epidermidis, *S. typhimurium*. Other bacteria contain zones of inhibition of 8 mm and below. The flower extract also contains these bacteria; *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. cereus*, *S. typhimurium* show an inhibition zone between 10-20 mm, while other bacteria contain zones 6 mm and below. In root extracts, these bacteria; *C. jejuni*, *A. hydrophila*, *S. epidermidis* show an inhibition zone of 5-15, while other bacteria show an antimicrobial effect of 5 mm and below.

S. boulardii, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* and *C. tropicalis* form a zone diameter of 10-25 mm. *C. tropicalis* > *C. glabrata* > *C. parapsilosis* > *C. albicans* > *S. boulardii* are also seen. AgNP obtained from *P. vulgaris* extracts contains more antimicrobial activity to yeasts than bacteria.

Herbal phytochemicals stand out as important compounds. Saponins show antibacterial properties. Phytochemicals also help the mechanism of antioxidant action. The DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method is required to demonstrate the selectivity of *P. vulgaris* antioxidants. *P. vulgaris*' leaf, root and flower extracts were mixed with DPPH methanol solution. DPPH solutions should be antioxidant by removing DPPH radical from 517 nm absorbance.

December 2019, 68 Pages

Keywords: Antimicrobial, antioxidant, silver nanoparticles, *Primula vulgaris*, nanotechnology, extraction, phytochemical screening

1.GİRİŞ

Bitkilerin, tarihin ilk zamanlarından beridir ilaç olarak kullanıldığı bilinmektedir. Günümüzde hayvansal ve kimyasal katkıların insan üzerindeki toksik etkilerinden dolayı bitkilerin önemi daha da artmaktadır. *P. vulgaris* bu nedenle araştırmalara konu olmuş tıbbi bir bitkidir.

Primula vulgaris Türkiye'nin daha çok kuzey kıyılarında bulunan Primulaceae ailesine ait çok yıllık otsu bir bitkidir. Daha çok ilkbahar aylarında çiçeklenme görülür. Süs amaçlı ekilen ancak ilaç ve kozmetik sanayinde kullanım alanları bulunan çiçekli bir bitkidir (Fico ve diğ., 2007). Bu tıbbi bitki türü ılıman Avrupa ve Asya toprakların da yetişir (Paulsen ve diğ., 2006). Nisan ve Mayıs ayları arasında çiçeklenme görülür ve her biri 10-15 mm boyutunda, 5 ile 20 cm uzunluğundaki bir sap üzerinde, 10 ila 30 demet halinde bulunurlar. Üremeleri karıncalar tarafında taşınan tohumlar vasıtası ile gerçekleşir. Ömürleri yaklaşık 15-25 yıl arası değişmektedir (Prince ve diğ., 1987).

Çok fazla kullanılmamasına karşın çok önemli bir bitkidir. Çeşitli tıbbi özellikleri bulunmaktadır. Kramplar, spazmlar, romatizmal ağrılar için kullanılan bitki aynı zamanda aspirin ana bileşeni olan salisilatlarla sahiptir ve balgam söktürücü etki yapmaktadır. Ateşi düşürme etkisinde bulunan saponinleri içerir. Çiçekler bu özelliklerin yanında yatıştırıcı ve idrar söktürücü etki de göstermektedir (Jager ve diğ., 2006). Antimikrobiyal ve sitotoksik etkileri bulunmaktadır. Bu konu hakkında çeşitli çalışmalar yapılmıştır, ancak yeterli değildir (Demir ve diğ., 2018). *P. vulgaris* özünde saponin bulundurur ve antibakteriyel etki gösterir. Test edildiğinde Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı etkileri görülmektedir.

Oksidasyon sonucu oluşan ürünler osidatif strese yol açar. Oksidatif stres, DNA, RNA, lipitler, proteinler gibi biyomoleküllerin aşırı hasar görmesine neden olur (Dasmalchi ve diğ., 2007); bu da yaşlanma, ateroskleroz, oksijen toksisitesi, karaciğer hasarı ve kansere birçok hastalığa neden olabilir (Smerq ve Sharma, 2011; Iyer ve Devi, 2009). Antioksidanlar, oksidasyonu önleyen ve oksidatif strese neden olan serbest radikalleri ortadan kaldıran bileşiklerdir. Son araştırmalar, bitkilerde bulunan fitokimyasalların serbest

radikallerin neden olduğu hastalıklara karşı potansiyel antioksidanlar olabileceğini ortaya koymuştur (Hou ve diğ., 2003).

Fitokimyasallar bitkilerden elde edilen kimyasallar olarak adlandırılırlar. İnsanı çeşitli hastalıklardan koruyabilen fitokimyasalların besleyici özellikleri yoktur. Bitki metabolizmasında ki etkilerine göre birincil ve ikincil metabolitler olmak üzere iki çeşittir. Birincil metabolitler şekerler, protein ve bileşikleri; ikincil metabolitler alkaloidler, flavonoidler, tanenler ve diğerleri olarak gösterilir (Kumar ve diğ., 2009).

Pek çok bitkinin sekonder metabolit olarak sentezlenen fitokimyasalların (tanenler, alkaloidler, fenolik bileşikler ve flavonoidler) antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Duraipandiyan ve diğ., 2006; Medina ve diğ., 2005).

Günümüzde, antibiyotik direncinin ortaya çıkması ve yayılması küresel sağlık sorunu olarak görölmektedir. Bu nedenle hastalığın etkili tedavisi, yeni ilaçların veya bazı potansiyel yeni ilaç kaynaklarının geliştirilmesini gereklidir. Toplumda yaygın olarak kullanılan şifalı bitkileri, bu sorunla mücadele için mükemmel bir ilaç kaynağı olabilir (Manandhar ve diğ., 2019).

Son yıllardaki gelişmelerden nanoteknoloji alanındaki çalışmalar insanların karşılaştığı sorunlara çözüm niteliği taşıma yönünden önem taşımaktadır. Nanopartiküller (NP'ler) çok yönlü özelliklerinden dolayı çeşitli uygulama alanları bulunmaktadır. Bunlardan gümüş nanopartiküller tıp ve mikrobiyoloji alanında hızla büyüyen ve benzersiz birçok yönü olan uygulamalar olarak göze çarpmaktadır.

Bizde, bu çalışmayı yaparken bitki ekstraktlarından sentezlenen nanopartiküllerin mikroorganizmalar üzerindeki etkilerini görmeyi amaçladık. Özellikle *P. vulgaris*' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal etkilerini ve antioksidan özelliklerini belirlemeye çalıştık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Primula vulgaris*

Primula, Primulaceae ailesine ait çiçekli, çok yıllık otsu bir bitki cinsidir. *Primula* cinsi 400 ile 500 arası tür barındırır. Boyları uzamayan otlar olarak da tanımlanabilirler (Paulsen ve diğ., 2006). Araştırma konusu olan *Primula vulgaris* türü ülkemizde iki alt tür seviyesinde incelenmektedir. Daha çok ilkbahar aylarında çiçeklenme görülür (Şekil 1.1). Süs amaçlı ekilen, ancak ilaç ve kozmetik sanayinde de kullanım alanları bulunan çiçekli bir bitkidir (Fico ve diğ., 2007). *Primula vulgaris* Avrupa kökenli bir bitkidir. Ülkemizin kuzey kıyılarında 850 m rakıma kadar yayılış gösterirler. Uzun bir sap üzerinde 10 ile 30 çiçekten oluşur ve birkaç sap görünebilir. Daha çok öbekler halinde bulunurlar. Ömürleri 15-25 yıl arası değişmektedir (Prince ve diğ., 1987). Çok fazla ışık, asidik ortamlar ve su sevmezler. Çoğunlukla da sahile yakın kuzey çayırarda ve ormanın açık alanlarında bulunurlar (Richards, 2003). Işıklı veya gölge ortamlarda yaşayabilmelerinden dolayı fotosentez mekanizmasının geniş bir çalışma prensibinde sahip olduğu düşünülebilir (Jacquemyn ve diğ., 2009).



Şekil 1.1: *Primula vulgaris*'in ilkbahar döneminde çiçeklenmesi

2.2. *Primula vulgaris*' in kullanım alanları

Primula vulgaris' in ilaç, kozmetik ve gıda alanlarında kullanımı bulunmaktadır. Bu nedenle ekonomik değeri yüksektir. Aynı zamanda dünyanın çeşitli yerlerinde bulunması ve soğuğa dayanıklı olmasından, çeşitli iklim koşullarında yetişmesinden dolayı kullanımı geniş bir alana yayılmaktadır. Bu nedenle çevre bilim uzmanları, mikrobiyologlar, genetikçiler tarafından araştırılmıştır ve hala da araştırılmaktadır. Genetikçiler tarafından tür içerisinde çaprazlamalar yapıldığında saf melezler elde edilmiş olması süs bitkisi olarak kullanımını artırmıştır. Kramplar, spazmlar, romatizmal ağrılar için kullanılan bitki aynı zamanda aspirin ana bileşeni olan salisilatlara sahiptir ve balgam söktürücü etki yapmaktadır. Ateşi düşürme etkiside bulunan saponinleri içerir. Çiçekleri bu özelliklerin yanında yatıştırıcı ve idrar söktürücü etki de göstermektedir (Jager ve diğ., 2006).

Genç yaprakları çiğ veya pişirilmiş şekilde yenilebilir. Kurutulmuş halleri de çay olarak kullanılabilir (Budzianowski ve diğ., 2005). Yaşam alanlarının, tarım uygulamaları ve zirai ilaçlar ile yok edilmesinin yanında aşırı toplama yüzünden sayıları gittikçe azalmaktadır.

Antimikrobiyal ve sitotoksik etkileri bulunmaktadır. Bu konu hakkında çeşitli çalışmalar yapılmıştır ancak yeterli değildir (Demir ve diğ., 2018). *Primula vulgaris* özünde saponin bulundurur ve antibakteriyal etki gösterir. Test edildiğinde Gram (-) ve Gram (+) bakterilere karşı etkileri görülmektedir.

2.3. Nanoteknoloji ve gümüş nanopartiküller

Nanoteknoloji, maddelerin 1-100 nanometre arası ölçümler yapılarak, düzenlemeye ve şekillendirmeye yardımcı olan çalışmaların toplandığı bilim dalıdır. Çok yeni ve hızlı bir şekilde ilerleyen teknolojik bir alandır. Endüstriyel alanda çarpıcı kar marjı nedeniyle kullanılmaya başlanmıştır. Son zamanlar da ilaç yapımında da kullanılan nanoteknoloji, ucuz maliyetli çalışmalar ile sektörün gelişmesine yardımcı olmaktadır. Biyolojik anlamda da maddelerin yapılarını düzenleme, işleme ve hücreler üzerine etkileriyle ilgilenir (Rai, 2009; Roco, 2007; Çıracı, 2005). Biyolojik anlamda nanoteknoloji, maddelerin nanopartiküllerinin canlı hücreler üzerine etkisini araştırmaktadır. Nanopartikül elde edilmesi ve hücre ortamından sentezlenmesi için birçok yöntem bulunmasına rağmen maliyeti yüksek çalışmalardır. Bu nedenle daha az maliyet ve çevreye zararı olmayan yöntemlerin bulunduğu yeşil nanoteknoloji kullanılmaya başlanmıştır (Bar ve diğ., 2009).

Bu anlamda, yeşil bitki özlerinden sentezlenen partiküller ile mikroorganizmalar kullanılmaktadır (Kumar ve diğ., 2013).

Mikroorganizma kullanılarak nanopartiküllerin elde edilmesi de çalışmalar arasında bulunmaktadır. Ancak uzun zaman alan ve maliyetli işlemlerdir. Saifuddin 2008' de yaptığı çalışmada *B. subtilis* kültür süpernatantı ve mikrodalga kullanarak gümüş nanopartikül sentezlemiştir (Saifuddin., 2008).

2.4. Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal etkileri

Eski tarihlerde gümüş kullanılarak yiyeceklerin ömürlerinin uzatıldığı bilinmektedir. Gümüşün antibakteriyal etkisinin o zamandan bilinmesi nedeniyle su ve sütler, içerisine gümüş para atılarak saklanmaktaydı. Antimikrobiyal etkisinin önemli ölçüde kullanılmasının temel nedenleri gümüşe karşı bakteri direnci nerdeyse yoktur, ayriyeten toksitesi düşük konsantrasyonlarda azdır (Rai ve diğ., 2009; Silver, 2003). Ancak gümüşün mikroorganizmalar üzerine nasıl etki yaptığı ve hücrelerini nasıl değişikliğe uğrattığı hakkında net bir görüş henüz bulunmamaktadır. Gümüşün membran proteinlerine bağlanmasının ardından hücre içine geçerek ribozom yapısını bozduğu, DNA replikasyonu ve hücre yaşam döngüsünü etkilediği savunulmaktadır (Dibrov ve diğ., 2002).

Gümüş hücre içine girdiği an, DNA zincirinin buna tepki olarak yoğunlaşmasının, hücre çoğalmasını engellediği görüşü bulunmaktadır. Ayrıca gümüşün zar proteinlerine ve fosfolipid tabakalarına bağlanması ile hücre içine girerken açığa çıkan hidrojenler, hücre zarına zarar vermektedir. Bunun sonucunda hücre zarının tamamen ortadan kaybolmasıyla hücre, yaşamını yitirmektedir. Bütün bu olayların hücre ölümüne sebebiyet vermesi, düşük konsantrasyonlardaki gümüş varlığında bile bakteri üzerine toksik etki yaptığı öne sürülmüştür (Yamanaka, 2005). Gümüş nanopartiküllerin temin edilmesi, diğer ürünlerin temininden kolay olması ve çevreye zararının olmaması nedeniyle, ayrıca hastalık üzerine üretilen uygulamaların uyumluluğunun fazla olması gümüşün en çok kullanılan nanoteknolojik uygulama olmasını sağlamıştır (Verma ve diğ., 2014).

2.5. Antioksidan aktivite

Hücrede meydana gelen oksidasyon ürünleri olarak ortaya çıkan reaktif oksijen ve nitrojen türevleri serbest radikaller olarak adlandırılırlar. Hücre için fayda sağlamaları dışında aşırı birikmesi gibi durumlarda zarara yol açabilirler (Valko ve ark., 2007). Reaktif oksijen ve

nitrojenin hücre de yaptığı etkiye oksidatif stres adı verilir. Hücre için toksik etki yapan radikalleri yakalayıp indirgeyerek toksik etkisini ortadan kaldırma özelliğine sahip maddelere, antioksidan maddeler adı verilir (Lee ve diğ., 2004; Elliot, 1999). İnsan vücudu içinde oldukça önemli olan antioksidanlar bitki ve hayvansal besinler ile alınır. Ancak en önemlileri bitkisel gıda maddeleridir. Gıdalarla alınan antioksidanlar, fitokimyasallar yardımı ile etkisini göstermektedir (Güleşçi ve Aygöl, 2016). Antioksidanlar, hücre içerisine zar proteinleri ve lipidler vasıtasıyla alınır ve burada radikallere bağlanarak yapısına katar veya onları ortadan kaldırır. Yapısına kattıktan sonra toksik etki göstermez ve oksidatif zararı ortadan kaldırmış olur. Daha önce hücrede oluşan oksidatif zararı onarma görevini yerine getiren türleri de vardır (Akkuş, 1995).

DPPH radikal süpürücü aktivite yöntemi; antioksidan aktiviteyi en basit şekliyle gösterme prensibine sahip olan yöntemdir. DPPH ın metanolde hazırlanan çözeltisi farklı konsantrasyonlardaki numuneler içerisine eklenerek 30 dk karanlıkta bekletilir. İnkübasyon süresi sonunda 517 nm deki absorpsanları okunur. DPPH yönteminde 517 nm'deki absorpsan okuma değerleri düşük olan çözeltilerin, ortamdaki radikalleri temizleme yeteneği daha fazladır denilebilir (Brand-Williams ve diğ., 1995).

2.6. Fitokimyasallar

2.6.1. Flavonoidler

Flavonoidler sarı yapıları nedeniyle bu ismi almıştır ve fenolik maddelerin en önemlisidir. Hormonların asıl işlevleri dışındaki etkilerini baskıladığı düşünülmektedir (Michanovicz ve diğ., 1997; Ren ve Lien, 1997; Mobh, 1938; Benthath ve diğ., 1937). Düşük derişimli flavonoidlerin lenfosit artırımını etkilediği ve aşırı uygulamada yok ettiği görülmektedir. Bu nedenle savunma mekanizmasında önemli görev üstlenmektedir. İyi bir antioksidan olan flavonoidler bu aktivitelerini lipid ve proteinlerin radikal gruplarına tutunarak göstermektedirler. Aynı zamanda da diğer antioksidanlarla etkileşime girerek gerçekleştirebilmektedirler (Disilvestro 2001; Formica ve Regelson 1995).

2.6.2. Terpenoidler

İzopren li 5 karbonlu birimlerden türetilmiş doğada en çok bulunan organik kimyasalların bir sınıfı olarak tanımlanan terpenoidler bütün canlılarda bulunabilir. Lipid türevlidirler. Bitkilerde renk tat ve kokuların oluşumunda katkı sağlar. Bitkilerde üretilenleri

farmakolojik, mikrobiyolojik açıdan önem arz etmektedir. Aynı şekilde çeşitli mantar türleri ve birçok mikroorganizmalar da dahi bulunabilirler (Yamada ve diğ., 2015; Connolly ve Hill, 1991). İlaç, tarım ve parfümeri sektöründe kullanımları yanında, antioksidan etki ve çeşitli hücrel etkileşimlere aracılık ettikleri için akademik çalışmalar da çok fazla kullanılmaktadır (Gnankine ve Bassole, 2017; Breitmaier, 2006).

2.6.3. Saponinler

Saponinler geniş bir yayılım gösteren, birçok bitkide bulunan, steroid yapıda lipofilik bir çekirdek ve çok fazla sayıda karbonhidrat zincirinden oluşmuş glikozid şeklinde tanımlanmıştır. Birçok araştırmada kullanılmış hücrel yapılardır. (Küçükkurt ve Fidan, 2008, Sparg ve diğ., 2004). Kelime anlamı latince de kökü sapodan türetilmiş sabundan gelmektedir. Su ile çalkalandığı vakit köpürme meydana gelir. Bu köpürme özellikleri birçok gıda sektöründe kullanılmaktadır (Sparg ve diğ., 2004). Birçok bitki türü saponin sentezini gerçekleştirir ve bunu büyüme ve gelişme döneminde yapar. Saponin sentezini böceklerden korunma ve mikroorganizmaların etkisinden korumak için yaptığı düşünülmektedir. Hayatta kalmak ve sağlıklı gelişebilmek için birçok bitki saponin üretmektedir (Sparg ve diğ., 2004; Osbourn, 2003).

2.6.4. Alkaloidler

Alkaloidler, arginin, lizin, tirozin, triptofan ve fenilalanin gibi halkasında azot bulunduran ve karbon dışında atomlar da bulunduran aromatik moleküllerdir (Gökgöz ve Akbulut, 2015). Bunlar çeşitli farmakolojik yapıda ve doğada insanlar tarafından uzun süredir kullanılan yararlı bileşiklerdir (Bhadra ve Kumar, 2011). Alkaloidler, yapılarında bulunan azot ile mükemmel bir şekilde protein ve enzimlerdeki hidrojen bağlarının kurulmasına yardımcı olurlar (Kittakoop ve diğ., 2013). Farklı yapıdaki halkalarından dolayı değişik isimler almaktadır. Bunlardan en önemlisi izokolinalkaloidlerdir. Bunlar toksisiteyi azaltması ve antioksidan, antimikrobiyal, antikanser etkisi en fazla bulunanıdır. Bu yüzden bir çok çalışmada kullanılmaktadır (Wink, 2015; Chen ve diğ., 2013; Bhadra ve Kumar, 2011; Lafrance ve diğ., 2007).

2.6.5. Tanenler

Tanenler, deri tabaklanması işlemleri ve deri üretiminde kullanılan bitki menşeli, metabolit kökenli, fenolik maddelerdir. Çeşitli biyolojik ve klinik denemeler sonucunda tanenlerin ilaç ve gıda sektöründe önemli bir yeri bulunmaktadır(Sieniawska ve Baj, 2017).

Bitkiler de yaygın olarak bulunan tanenler genel savunma mekanizmasında görevlidirler (Swanson, 2003). Tanenlerin kanamayı durdurucu özelliği bulunmaktadır (Elaine ve diğ., 2003). Antioksidan olmaları nedeniyle tanenler kansere karşı etkili bir silah olarak kullanılmaktadır (Chung ve diğ., 1989). Çeşitli çalışmalarda tanenlerin aşırı miktarda vücuda girmesi sonucunda tahrip edici etki yaptığı söylenmektedir. Aşırı şekilde maruz kalınması durumunda damar ve mukoza tabakasını oluşturan zarların büzülmesine neden olmaktadır. Protein, karbonhidrat ve enzimlere bağlanma özelliği bulunmaktadır. Bu nedenlerden dolayı kalp rahatsızlığı ve kabızlık, ülser şikâyeti olanların tanen içeriği fazla olan gıdaları tüketmemesi önerilir (Bone ve diğ., 2013).

2.6.6. Karbonhidratlar

Bitkiler de karbonhidratlar fotosentezin ilk ürünüdür ve çiçek oluşumundan kışın hücre yaşamına, kök oluşumu ve büyümesinden, vejetatif büyümeye birçok önemli rol oynamaktadır. Karbonhidratları meydana getiren şekerlerin ve depo maddesi olarak kullanılmasından dolayı bitkiler üzerinde önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Don olaylarında, bitki korunmasında görevleri vardır. Her bitkide karbonhidrat depolanması farklılık gösterir ve bu farklılıklar çevre koşulları ve büyüme üzerine etkilerinin farklılık göstermesine neden olmaktadır. Bitkiler fotosentez ile ürettikleri karbonhidrat türevlerini o anki ihtiyaçlarından fazlasını üretirler ve büyüme gelişim için kullanırlar. Birincil metabolit bileşiklerden olan karbonhidratların bitki korunmasındaki önemi azımsanmayacak derecededir. Özellikler enerji gereksinimi olan aktivitelerde enerji sağlama açısından önem teşkil etmektedir (Köksal ve diğ., 2001; Yastıoka ve diğ., 1988; Eriş, 1985; Ceheffins ve Howard, 1982; Dokuzoğuz, 1974; Çağatay, 1970; Kaşka, 1968).

2.6.7. Proteinler

Bitkisel proteinler depo olarak bitkide bulunan proteinlerdir. Bu bitki depo proteinleri, bitkinin fiziksel ve morfolojik gelişimini etkilemektedir. Protein kaynakları bitkinin besleyici özelliklerini belirlemektedir (Saldamlı ve Temiz, 2017). Protein kaynaklarının önemli bir kısmı besleyicidir. Ulaşılabilirliği yüksektir ve maliyeti daha düşüktür. Bu nedenle gıdalarda kullanımı hayvansal ürünlere göre tercih edilmeye başlanmaktadır. Özellikle bakliyat ve tahıllar ve yeşil sebzelerden oluşan zengin çeşitlilik insanların ihtiyacı olan proteini daha kolay almasını sağlamaktadır (Çetiner ve Bilek, 2018). Protein kaynaklarının bir kısmı besleyici olmadığı için bitkilerin gıda olarak kullanımı kısıtlıdır. İçerisinde bulunan tanen, tripsin inhibitörleri, oligosakkaritler vb. bileşikler aminoasit

yönünden zayıf içerikte olmaları besleyiciliğini azaltmaktadır ve sindirimi zor olan bileşiklerdir (Day, 2013; Moure ve diğ., 2006).

2.7. Antimikrobiyal test yöntemleri

2.7.1. Agar disk difüzyon yöntemi

1940 yılında geliştirilen agar disk difüzyon yöntemi yıllar boyunca antimikrobiyal duyarlılık testi olarak kullanılmıştır. Tüm bakteriler doğru şekilde test edilemese bile çoğu bakteri türü ve mayalarda kullanımı uygundur. Agar plakalar üzerine bakteri kültürlerinin ekimi yapılır. Denenecek olan çözeltiye küçük 6 mm çapındaki diskler batırılarak agar üzerine yerleştirilir. Agar içine difüze olan çözelti bakteri üremesini o bölgede durduruyor ise antimikrobiyal etkiye sahip olduğu söylenebilir (Balouiri ve diğ., 2016, Heatley, 1944).

2.7.2. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi antimikrobiyal aktive belirlemede sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. İlk olarak 1979 yılında Bukwold tarafından kullanılan yöntem 1997 yılında Magaldi tarafından geliştirilmiştir (Magaldi ve Camero, 1997; Buckwold ve diğ., 1979). Disk difüzyon yöntemine benzer şekilde agar üzerinde bakteri kültürü yayılır. Agar üzerinde 6mm çapında kuyucuklar açılır. Antimikrobiyal etkilerinin ölçüleceği çözeltiler 100 µl açılan kuyucuklar içerisine ilave edilir. Kuyucuklar da bulunan çözelti agar içine difüzyon olarak mikroorganizma üremesine engel olur ve bir çeper oluşturur. İnhibisyon zon denilen çeperin çapı bize antimikrobiyal aktivite hakkında bilgi verir (Balouiri ve diğ., 2016). Agar disk difüzyon yöntemine göre maliyeti az olan agar kuyucuk difüzyon yöntemi çalışmalarda tercih edilmektedir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYALLER

3.1.1. Bitkisel materyaller

Çalışmada kullanılan *Primula vulgaris* bitki örnekleri 2018 yılı ilkbahar mevsiminde Samsun'un Salıpazarı ilçesinde toplanmıştır. Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarına sevk edilmiştir. Tür tayini Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Öğretim üyesi Ekrem AKTOKLU tarafından yapılmıştır. Toplanan *Primula vulgaris*' in çiçek, yaprak ve kökleri birbirinden ayrılarak kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Kurutma işlemi gölge serin ve rutubetsiz bir odada gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Mikroorganizmalar

Kullanılacak olan mikroorganizmalar Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi mikrobiyoloji laboratuvarından temin edilmiştir. Tablo 3.1 de belirtilen 18 adet bakteri suşu ve 4 adet maya kullanılmıştır.

Tablo 3. 1: Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar

<i>Bacillus cereus</i> 709 ROMA	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 35152
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	<i>Pseudomonas aerogenosa</i> ATCC27853
<i>Candida albicans</i> ATCC90028	<i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC7966
<i>Candida glabrata</i> ATCC90030	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 29905
<i>Candida parapsilosis</i> M006	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC29213
<i>Candida tropicalis</i> M007	<i>Saccharomyces boulardii</i> ATCC MYA-796
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC5402	<i>Shigella dysenteria</i> ATCC 11835
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC13883	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC14028
<i>Klebsiella spp.</i>	<i>Vibrio anguillarum</i> ATCC 43312

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Madeler ve Çözücüler

Tryptic soy broth (TSB) ve tryptic soy agar (TSA), etanol, metanol, aseton, AgNO_3 , H_2SO_4 , NaOH , CuSO_4 , kloroform, demir (III) klorür, 2,2-Diphenil-2-pikrilhidrazil (DPPH).

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması

Toplanıp laboratuvara getirilen *P. vulgaris*'e ait bitki parçaları serin ve rutubetsiz bir ortamda muhafaza edilerek kurutulmuştur, küçük parçalara ayrılaran bitki ezilip toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen bu bitkinin yaprak, kök ve çiçeklerinin her biri 0.25 gr ölçüler ile 50 ml saf su eklenip 30 dakika kaynatılmıştır. Kaynatılan bitki ekstraktları süzülerek 4400 rpm de 7 dakika santrifüj edilmiştir (Trusheva ve diğ., 2007).

Diğer bir yöntem ise yine 0.25 gr yaprak, kök ve çiçek tartılarak ayrı ayrı 25 ml etanol, metanol, aseton ve saf suda 250 rpm de 24 saat karıştırılır. Çözeltiler süzme kağıdı ile süzülüp 4400 rpm de 7 dakika santrifüj edilir (Trusheva ve diğ., 2007).

Üçüncü yöntemde ise 0.25 gr tartılan toz halindeki çiçek, yaprak ve kök 10 ml Dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözünerek vortekslenmiştir. Sonrasında 45 °C de 250 rpm'de 24 saat karıştırılmıştır. Süzülerek tüp içerisine alınan çözelti 2000 devirde 10 dk santrifüj edilmiştir (Trusheva ve diğ., 2007).

3.2.2. AgNO_3 hazırlanışı

1mM AgNO_3 çözeltisi 0.017 gr gümüş nitrat, 100 ml saf suda çözülerek hazırlanır.

3.2.3. Besiyerlerin hazırlanması

Tryptic soy broth hazırlanması 1 L saf su için 30 gr toz halindeki besiyeri tartılıp erlen içerisinde karıştırılmıştır. Otoklav içerisine koyularak kontaminasyonu önlemek amacıyla steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan TSB ve cam tüpler, temiz bir yerde her bir tüpe aynı ölçüde TSB konularak ağızları kapatılmıştır, etüvde 37 °C' de 24 saat süre ile bekletilmiştir. Kontamine olan tüpler ayrılmıştır. Bakteri izolatlarının aktifleştirilmesinde kullanılmak için dolaba konulmuştur.

Tryptic soy agar hazırlanışı 1 L saf su erlen içerisinde 40 gr TSA çözülerek hazırlanan besiyeri otoklava konulmuştur. Kontaminasyon oluşumu engellenen TSA petri kaplarına dökülmek için oda ısısında bir süre bekletilmiştir. Pastör fırınında sterilizasyonu yapılan cam petriler içerisine eşit miktarda dökülerek soğumaya bırakılmıştır. Bir süre soğuduktan sonra TSA petrileri etüvde 37 °C 'de 24 saat bekletilerek kontaminasyon kontrolü yapılmıştır.

3.2.4. Fitokimyasal tarama

Stok çözeltileri, karbonhidratlar (Molisch testi), Protein (Biuret testi), flavonoidleri, tanenler, saponinler ve terpenoidler (Salkowski testi) gibi fitokimyasal testlerde kullanılmıştır.

3.2.4.1. Tarama prosedürü

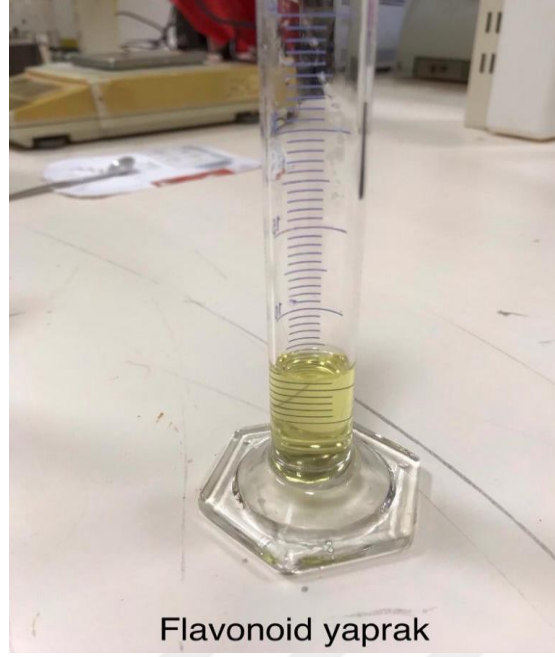
P.vulgaris'in etanol, metanol ve aseton çiçek, yaprak ve kök ekstraktları, aşağıdaki yöntemlerle fitokimyasal bileşiklerin mevcudiyeti açısından tarandı.

3.2.4.2. Flavonoid taraması (Shinoda testi)

Her bir bitki ekstraktının sulu filtratının bir kısmına 5 ml seyreltik amonyak çözeltisi ilave edildi, ardından $\text{con.H}_2\text{SO}_4$ ilave edildi. Flavonoidlerin varlığını doğrulayan sarı bir renklenme gözlemlendi (Şekil 3.1, Şekil 3.2) (Ayoola ve diğ., 2008).



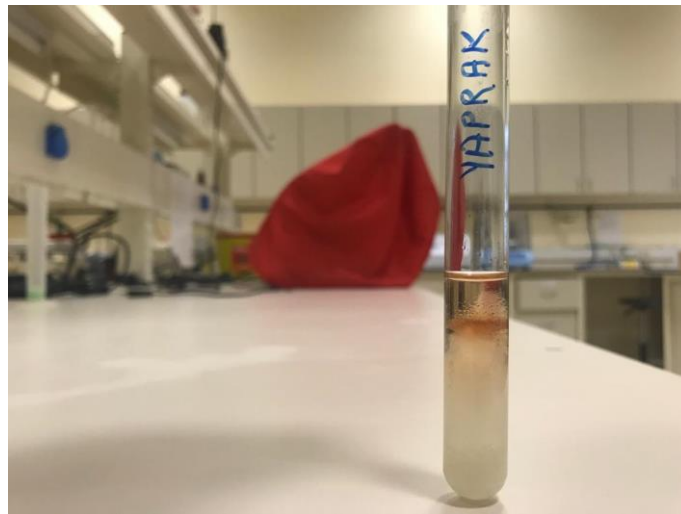
Şekil 3. 1: *P. vulgaris*' in çiçek ekstraktında flavonoidlerin taranması.



Şekil 3. 2: *P. vulgaris*' in yaprak ekstraktında flavonodidlerin taranması.

3.2.4.3. Karbonhidrat taraması (Molish testi)

3,75 gr α - naphthol, 25 ml etanolde çözülerek hazırlanan Molisch reaktifinin 2ml, her bir ekstrenin 2 ml' sine eklenmiş ve 4 ml konsantrasyon oluşturulup iyice çalkalanmıştır. Test tüpüne yandan H_2SO_4 eklenmiştir. İki katmanın birleştiği yerde kırmızımsı bir mor halka ortaya çıkmış ve karbonhidratların varlığını göstermiştir (Şekil 3.3, Şekil 3.4, Şekil 3.5)



Şekil 3. 3: *P. vulgaris*' in yaprak ekstraktında karbonhidrat taranması



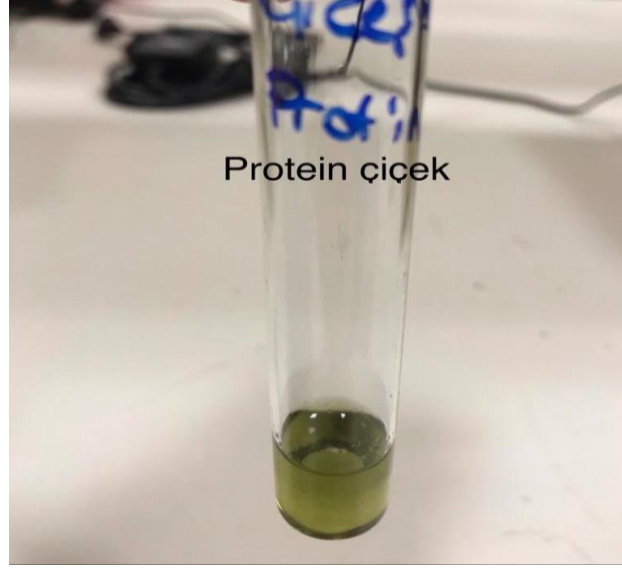
Şekil 3. 4: *P. vulgaris*' in çiçek ekstraktında karbonhidrat taranması



Şekil 3. 5: *P. vulgaris*' in kök ekstraktında karbonhidrat taranması

3.2.4.4. Protein taraması (Biüre testi)

1 ml % 40' lık NaOH çözeltisi ve 1-2 damla % 1' lik CuSO_4 çözeltisi, her bir bitki ekstraktına 2 ml ilave edilmiştir. Mor bir renk elde edilmiş, bu da molekülün peptit bağlarının varlığını göstermiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3. 6: *P. vulgaris*' in çiçek eksratında protein taraması

3.2.4.5. Terpenoid taraması (Salkowski testi)

Her bir ekstraktın 3 ml' sine 1 ml kloroform ve 1 ml H_2SO_4 ' e eklenmiş ve ara yüzeyinin kırmızımsı kahverengine dönmesi terpenoidler için pozitif sonuç oluşturduğunu göstermiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3. 7: *P. vulgaris*' in çiçek ekstraktında terpenoid taraması

3.2.4.6. Tanen taraması (Ferric chloride)

5 ml özüte birkaç damla % 0.1 demir (III) klorür eklenmiştir. Sarı bir çökelti tanenlerin varlığını göstermiştir (Şekil 3.8) (Edeoga ve diğ., 2005).



Şekil 3. 8: *P. vulgaris*' in yaprak ekstraktında tanin taraması

3.2.4.6. Saponin taraması (Frothing testi)

20 ml damıtılmış su ile karıştırılan ekstrakt, 15 dakika süreyle dereceli bir silindirde çalkalanmıştır. 1 cm' lik köpük tabakasının oluşumu saponinlerin varlığını göstermiştir (Şekil 3.9, Şekil 3.10, Şekil 3.11) (Kumar ve diğ., 2009).



Şekil 3. 9: *P. vulgaris*' in yaprak ekstraktında saponinler



Şekil 3. 10: *P. vulgaris*' in çiçek ekstraktında saponinler



Şekil 3. 11: *P. vulgaris*' in kök ekstraktında görülen saponinler

3.2.5. Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkisi

3.2.5.1. Mikrobiyal Suşların Toplanması

Primula bitkisinin mikrobiyal aktivitesinde 22 mikrobiyal suş kullanılmıştır (Tablo 3.1). Ekstraktların in-vitro aktivitesi, seçilen bakteri ve maya suşlarına karşı denenmiştir. Tüm mikrobiyal suşları, 4 °C' de Nutrient Broth tüplerinde tutulup. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliği, verilen suşlara karşı değerlendirilmiştir. Tyryptic Soy Broth (TSB) ve Tyryptic Soy Agar (TSA) mikroorganizmaların büyümesi için besi yeri olarak kullanılmıştır.

3.2.6. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

1 mM AgNO₃ çözeltisi hazırlanmış ve koyu renkli şişede saklanmıştır. Hazırlanan bitki ekstraktlarından 5 ml ayrı ayrı alınmış ve bu 100 ml 1 mM AgNO₃ solüsyonu damla damla sürekli karıştırılarak eklenmiş ve renk değişimi gözlenmiştir. Çözeltinin renk değişimi periyodik olarak kontrol edilip, daha sonra konik şişede oda sıcaklığında 48 saat süreyle inkübe edilmiştir.

Yaprak, çiçek ve kök ekstraktlarının sarıdan koyu kahverengiye dönüşümü, *P. vulgaris* bitkisinin gümüş nanopartiküller (AgNP) sentezini göstermiştir (Şekil 3.12).



Şekil 3. 12: *P. vulgaris*' in ekstraktlarında AgNP sentezlenmesi

3.2.7. Antimikrobiyal Test

Primula çiçek, yaprak ve köklerin ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi, Magaldi ve arkadaşları tarafından 1997' de tarif edildiği gibi Agar kuyucuk difüzyon tekniği kullanılarak test edilmiştir. Daha sonra 0.1 ml seyreltilmiş mikrobiyal kültürler besin agar plakasına yayılmıştır. 6 mm çaplı kuyu, steril delici ile TSA plakaları aseptik olarak delinmiştir. Steril mikropipet yardımı ile *P. vulgaris* çiçek, yaprak ve kök ekstraktları (metanol, etanol, aseton, soğuk su, kaynatılmış ve DMSO ile AgNP li) 100 µl kuyucuklara ilave edilmiştir. Plakalar 24 saat süre ile 37 °C' de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra,

ortaya çıkan inhibisyon zonunun çapı ölçülmüş ve ortalama değerler kaydedilmiştir (Magaldi ve Camero, 1997).

3.2.8. UV-Vis Spektrum Analizi

Metalik nanoparçacıkların karakterizasyonu UV-Visible spektroskopisi (Shimazu 2401PC) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Spektrumlar 200 ila 600 nm arasında UV-Vis çift ışınli spektrofotometre üzerinde kaydedilmiştir. 430 – 450 nm arasında pik noktaya ulaşmıştır.

3.2.9. Antioksidan Aktivite

DPPH Testi *P. vulgaris* çiçek, yaprak ve kök ekstraktı 1 ml çözelti alındı ve 3 ml (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) DPPH' a eklenmiştir. Ardından oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir ve 517 nm' de UV-Vis spektroskopisinde okuma yapılmış. Askorbik asit kontrol olarak kullanılmıştır.

Ayrıca, biyosentezlenmiş AgNP' lerin antioksidan aktivitesini belirlemek için, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) kullanılmış; Metanol içindeki DPPH çözeltisi 3 ml, her bir AgNO₃ lü ekstrakt konsantrasyonunun 1 ml' si ile ayrı ayrı karıştırılmıştır (Chen ve diğ., 2007). Reaksiyon karışımı 15 dakika karanlıkta inkübe edildi; daha sonra optik yoğunluk, 517 nm'de ölçülmüştür.

4. ARAşTIRMA BULGULARI

4.1. Antimikrobiyal aktivite sonuçları

Primula vulgaris' ten elde edilen metanol, etanol, aseton, safsu, DMSO, kaynatılmış ekstraktlar AgNO₃ eklenerek mikrobiyal suşlara agar kuyucuk difüzyon yöntemiyle uygulanmıştır. Her mikroorganizma için üç defa olacak şekilde ekstraktların antimikrobiyal etkileri belirlenmeye çalışılmıştır.

P. vulgaris yaprak, çiçek ve kök ekstraktlarından elde edilen AgNP' nin agar kuyucuk difüzyon yöntemine göre oluşan zon çapları (mm) Tablo 4.1, 4.2, 4.3 te belirtilmiştir.



Tablo 4. 1: *P. vulgaris*' in yaprağından sentezlenen AgNP' lerin antimikrobiyal aktivitesi

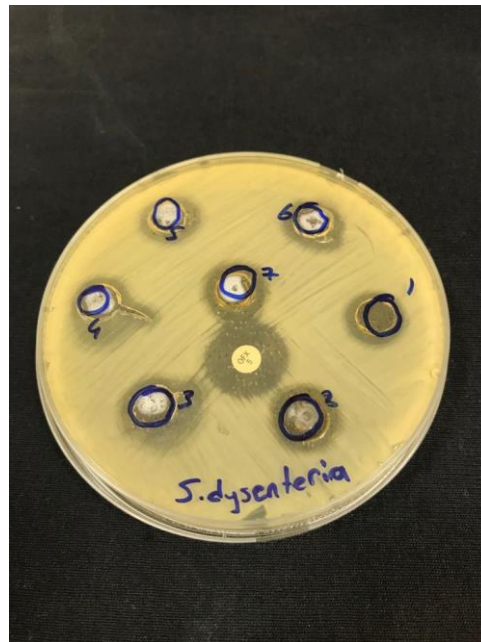
1 mM AgNO ₃ + <i>P. vulgaris</i> yaprak ekstraktı								
Zon Çapı (mm)								
Mikroorganizma	DMSO	Kaynatma	Metanol	Etanol	Aseton	Distile Su	AgNO ₃	Oflaxacin 5 µg
<i>B. cereus</i>	0	10±2	0	0	0	0	10±1	30±1
<i>B.subtilis</i>	10±2	10±1	8±1	8±1	0	10±1	10±2	15±2
<i>C. jejuni</i>	20±1	0	17±1	18±1	15±1	15±2	20±1	20±1
<i>E. aerogenes</i>	10±2	10±2	10±1	10±1	8±1	10±1	10±1	20±1
<i>E.coli</i>	5±0.5	6±0.5	0	0	0	0	7±0.5	15±1
<i>K. pneumoniae</i>	10±1	10±2	10±1	10±1	8±1	15±1	15±1	15±1
<i>Klebsiella spp.</i>	0	5±0.5	5±0.5	5±0.5	0	0	8±1	15±1
<i>L.monocytogenes</i>	5±0.5	10±1	10±1	15±2	15±1	10±1	10±1	20±1
<i>P. aeruginosa</i>	0	15±1	15±1	15±1	15±1	0	18±1.5	22±1
<i>A. hydrophila</i>	10±1	15±1	15±1	10±1	10±1	10±1	15±1	10±1
<i>P. mirabilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	10±
<i>P. vulgaris</i>	10±1	15±2	15±1	10±1	16±1	16±1	16±1	25±1
<i>S.aureus</i>	8±1	15±1	8±1	15±1	8±1	0	15±2	15±1
<i>S. bouardii</i>	10±1	10±1	8±0.5	5±0	6±0	10±0	15±1	20±1
<i>S. dysenteriae</i>	15±1	15±1	20±2	15±0	15±0.5	15±1	15±1	20±1
<i>S. epidermidis</i>	10±1	10±1	15±0.5	15±1	15±1	15±1	15±1	16±2
<i>S. typhimurium</i>	15±1	15±2	15±1	15±1	15±1	15±1	15±1	20±2
<i>V. anguillarum</i>	0	10±0	10±0	0	0	0	15±1	15±1
<i>C. albicans</i>	10±1	10±1	10±2	10±1	10±1	10±1	15±2	0
<i>C. glabrata</i>	15±1	15±1	18±2	20±1	22±1	10±0	20±0	0
<i>C. parapsilosis</i>	10±1	10±1	10±1	10±0	15±1	15±1	20±1	0
<i>C. tropicalis</i>	20±1	20±2	22±1	22±0	25±1	20±0	20±1	0

P. vulgaris yaprak ekstraktlarının oluşturduğu zon çaplarına göre en fazla etkiyi *C. tropicalis* zerinde gösterdiğini ve asetonlu AgNP ekstraktının zon çapının diğerlerinden daha fazla olduğu gözlenmiştir (şekil 4.1).



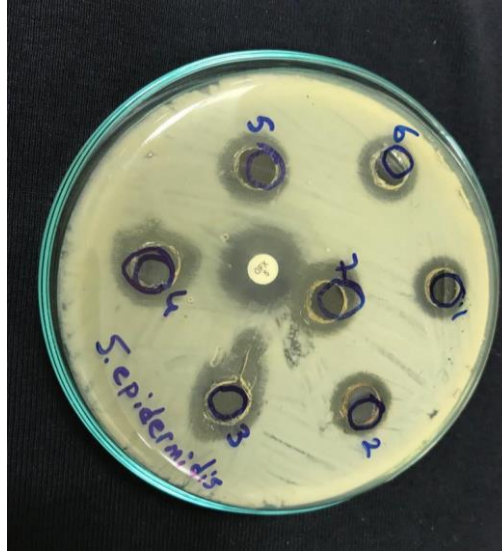
şekil 4.1: *P. vulgaris*' in yaprak ekstraktından sentezlenen AgNP' lerin *C. tropicalis* zerine antimikrobiyal etkisi

1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃.



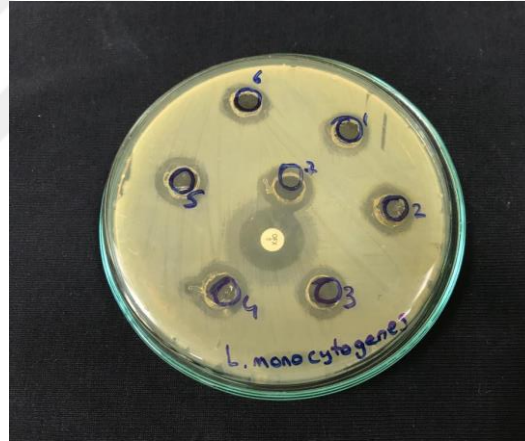
şekil 4.2: *P. vulgaris*' in yaprak ekstraktının *S. dysenteriae* zerine antimikrobiyal etkisi

1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃.



Şekil 4.3: *P. vulgaris*' in yaprak ekstratının *S. epidermidis* deki antimikrobiyal etkisi

1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃.



Şekil 4.4: *P. vulgaris*' in yaprak ekstratlarının *L. monocytogenes*' e antimikrobiyal etkisi

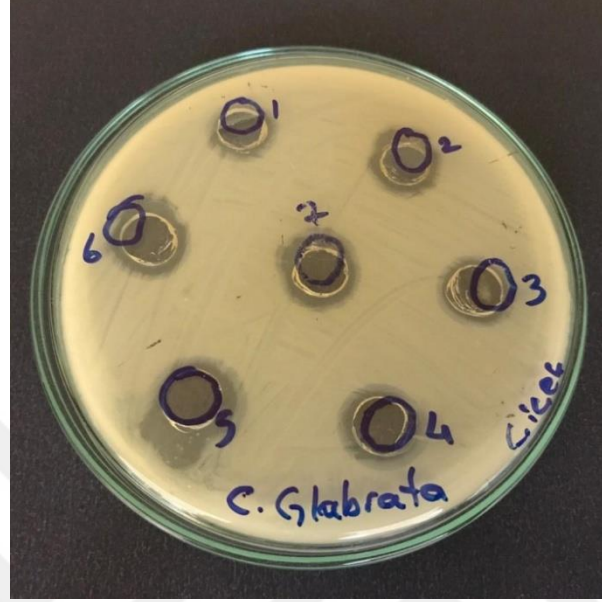
1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃.

Diğer mikrobiyal suşlara bakıldığı zaman sayı olarak en fazla mikroorganizmaya etki eden ekstraktın kaynatılmış su ve gümüş nitrattan oluşan ekstrakt olduğu görülmektedir (Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4).

Tablo 4.2: *P. vulgaris*' in çiçek ekstraktından sentezlenen AgNP' li çözeltilerin antimikrobiyal etkisi

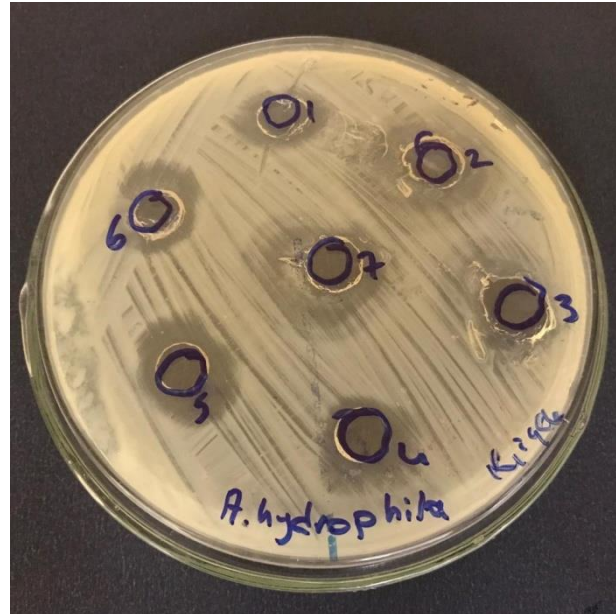
AgNO ₃ + <i>P. vulgaris</i> çiçek ekstraktı							
zon çapı (mm)							
Mikroorganizma	DMSO	Kaynatma	Metanol	Etanol	Aseton	Distile Su	AgNO ₃
<i>B. cereus</i>	6±0	10±1	0	0	8±1	10±0	10±1
<i>B.subtilis</i>	0	0	0	0	0	6±0	0
<i>C. jejuni</i>	8±1	8±1	0	6±1	8±0	8±0	8±0
<i>E. aerogenes</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	6±0	0	0
<i>K. pneumoniae</i>	0	0	0	0	8±0	8±1	0
<i>Klebsiella spp.</i>	0	6±0	0	0	8±1	0	0
<i>L.monocytogenes</i>	0	6±0	0	0	8±0.5	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. hydrophila</i>	10±1	15±1	0	10±0	15±0.5	10±1	20±1
<i>P. mirabilis</i>	0	5±0	5±0	0	0	0	0
<i>P. vulgaris</i>	0	5±0	0	0	5±0.5	0	6±0
<i>S. aureus</i>	5±0	15±1	5±0	6±0.5	10±1	10±1	15±0.5
<i>S. boulardii</i>	5±1	15±0	5±0.5	6±0	10±1	10±0.5	15±1
<i>S. dysenteriae</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. epidermidis</i>	0	0	0	0	8±1	8±0	10±0
<i>S. typhimurium</i>	0	0	0	0	8±0.5	0	0
<i>V. anguillarum</i>	0	0	0	0	5±0	5±0	0
<i>C. albicans</i>	0	10±1	10±0	10±0	8±1	20±0	20±0
<i>C. glabrata</i>	6±0	8±0	6±1	6±0.5	10±0	10±1	10±0
<i>C. parapsilosis</i>	0	5±0.5	0	0	0	6±0	5±0
<i>C. tropicalis</i>	0	0	0	0	0	0	0

Çiçek ekstraktlarının oluşturduğu zon çapları incelendiğinde en fazla mikroorganizmada etki yapanın saf sudan sentezlenen AgNP' li ekstrakt olduğu ve en az etkiyi yapan ekstraktın metanollü çiçekten sentezlenen AgNP' li ekstrakt olduğu görülmüştür (Tablo 4.3).



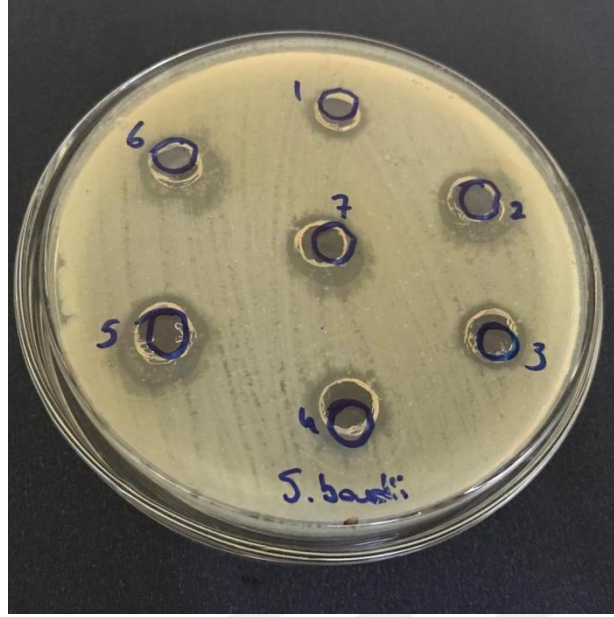
Şekil 4.5: *P. vulgaris*' in çiçeklerinden sentezlenen AgNP' lerin en büyük zonu oluşturduğu *C. glabrata*

1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃.



Şekil 4.6: *P. vulgaris*' in çiçeklerinden sentezlenen AgNP' li ekstraktların *A. hydrophila*' ya antimikrobiyal etkisi

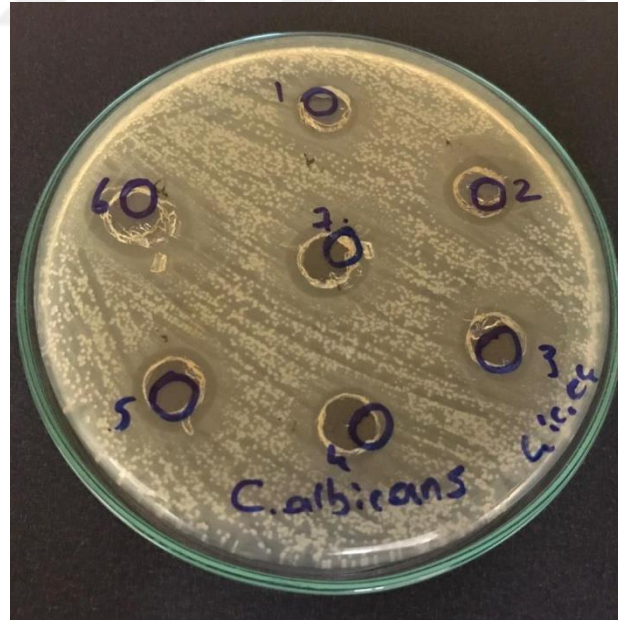
1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃.



Şekil 4.7: *P. vulgaris*' in çiçeklerinden sentezlenen AgNP' lerin *S. bouardii*' de gösterdiği antimikrobiyal etki

1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃.

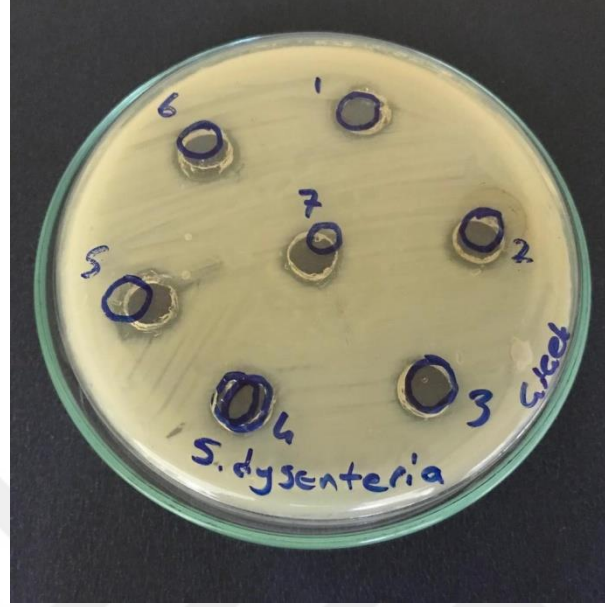
Çiçek ekstraktlarının oluşturduğu zon çapları incelendiğinde en büyük zon çapının oluştuğu mikrobiyal suş *C. albicans* olduğu görülmüştür (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: *P. vulgaris*' in çiçeklerinden sentezlenen *C. albicans*' a antimikrobiyal etkisi

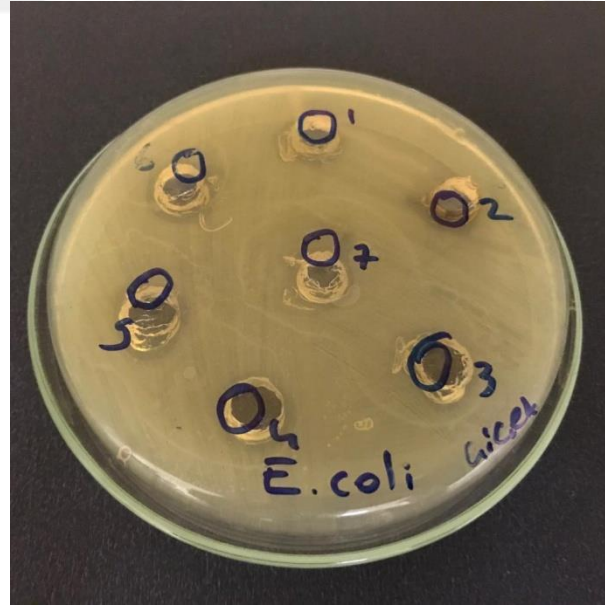
1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃

Çiçek ekstraktlarının oluşturduğu zon çapları incelendiğinde hiçbir etki göstermeyen mikroorganizmalar ise; *C. tropicalis*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aerogenosa*, *S. dysenteriae*'nin olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11).



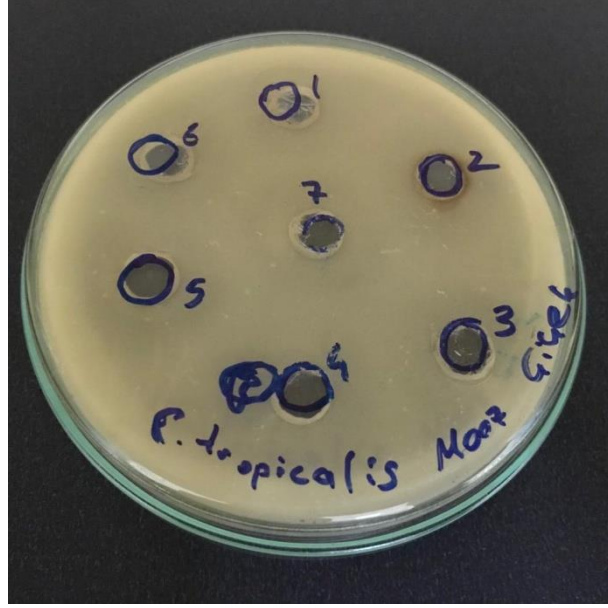
Şekil 4.9: *P. vulgaris*' in AgNP' li çiçek ekstraktlarının *S. dysenteriae*'ye antimikrobiyal etkisi

1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃



Şekil 4.10: *P. vulgaris*' in AgNP' li çiçek ekstraktlarının *E. coli*'ye antimikrobiyal etkisi

1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃



Şekil 4.11: *P. vulgaris*' in AgNP' li çiçek ekstraktlarının *C. tropicalis*' e antimikrobiyal etkisi

1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃

Tablo 4.3: *P. vulgaris*' in kök ekstraktından sentezlenen AgNP' li ekstraktların antimikrobiyal etkisi

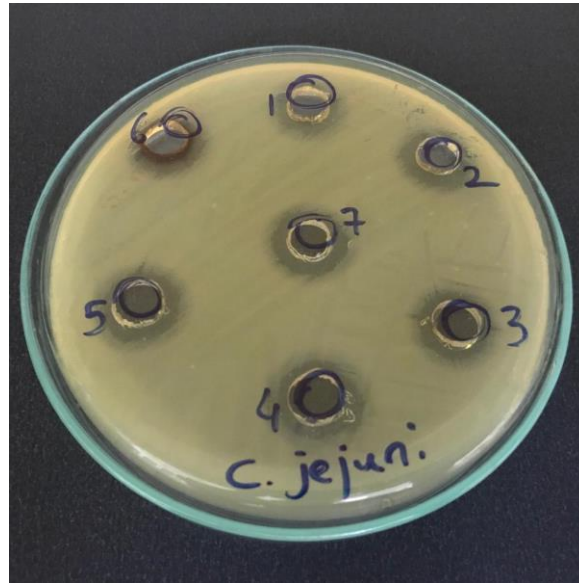
AgNO ₃ + <i>P. vulgaris</i> kök ekstraktı							
zon çapı (mm)							
Mikroorganizma	DMSO	Kaynatma	Metanol	Etanol	Aseton	Distile Su	AgNO ₃
<i>B. cereus</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i>	6±0	8±1	0	8±0	8±0.5	8±1	10±1
<i>E. aerogenes</i>	0	5±0	0	0	5±0	5±0	5±0
<i>E. coli</i>	6±0	6±1	0	0	6±0	8±0.5	0
<i>K. pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella</i> spp.	0	0	0	0	0	0	0
<i>L. monocytogenes</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	6±0	6±0
<i>A. hydrophila</i>	10±1	10±1	8±0	10±1	15±1	10±1	15±0.5
<i>P. mirabilis</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. vulgaris</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. aureus</i>	5±0.5	5±0	6±0	5±0.5	8±0	5±0	5±0
<i>S. boydii</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. dysenteriae</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. epidermidis</i>	6±0	10±1	5±0	5±0	6±0.5	6±0	10±1
<i>S. typhimurium</i>	0	0	0	0	5±0	5±1	5±0
<i>V. anguillarum</i>	0	0	0	0	0	6	0
<i>C. albicans</i>	0	0	0	0	5±1	5±1	5±0
<i>C. glabrata</i>	0	0	0	0	0	6±0	6±1
<i>C. jejuni</i>	6±0	10±0.5	6±0	6±0	6±0	6±1	10±1
<i>C. parapsilosis</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. tropicalis</i>	0	8±1	6±0	8±1	8±1	0	6±0

AgNP' li kök ekstraktlarının agar kuyucuk difüzyon yönteminde oluşturduğu inhibisyon zon çaplarına göre, en fazla etkiyi *A. hydrophila* üzerinde göstermiştir. Mikroorganizmalardan *B. subtilis*, *A. hydrophila*, *S. epidermidis*, *C. jejuni*, *C. tropicalis*, *E. coli*, *E. aerogenes*, *S. aureus* üzerine 5-10 mm inhibisyon zon gösteren kaynatılmış kökte sentezlenen AgNP' li ekstraktlar olmuştur (Tablo 4.3)(Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14).



Şekil 4.12: *P. vulgaris*' in AgNP' li kök ekstraktlarının *A. hydrophila* üzerindeki antimikrobiyal etkisi

1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃



Şekil 4.13: *P. vulgaris*' in AgNP' li kök ekstraktının *C. jejuni* üzerine antimikrobiyal etkisi

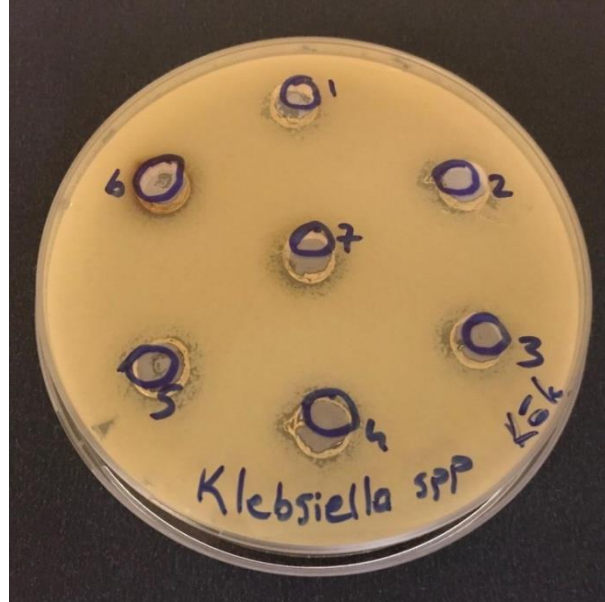
1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃



Şekil 4.14: *P. vulgaris*' in AgNP' li kök ekstraktlarının *S. epidermidis* üzerine antimikrobiyal etkisi

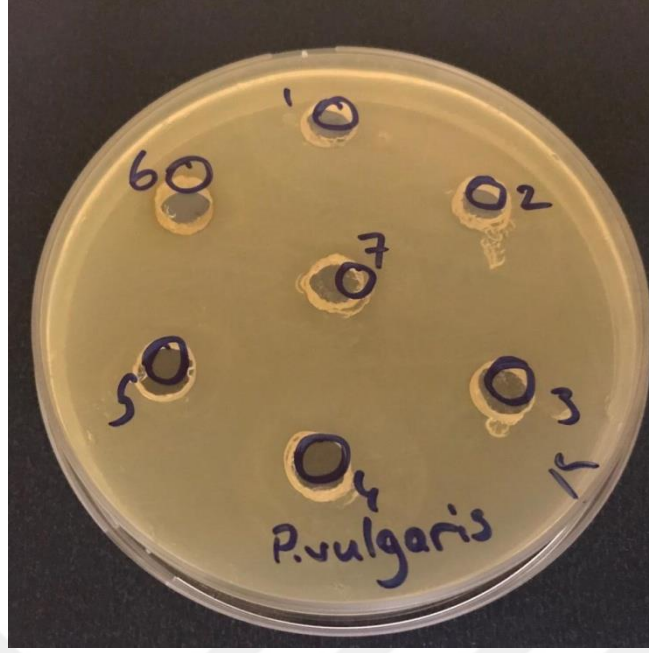
1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile hazırlanan kök ekstraktları incelendiğinde hiçbir antimikrobiyal aktivite göstermeyen mikroorganizmalar; *B. cereus*, *C. parapsilosis*, *K. pneumoniae*, *Klebsiella* spp, *L. monocytogenes*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *S. boudii*, *S. dysenteriae*' nin olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17)



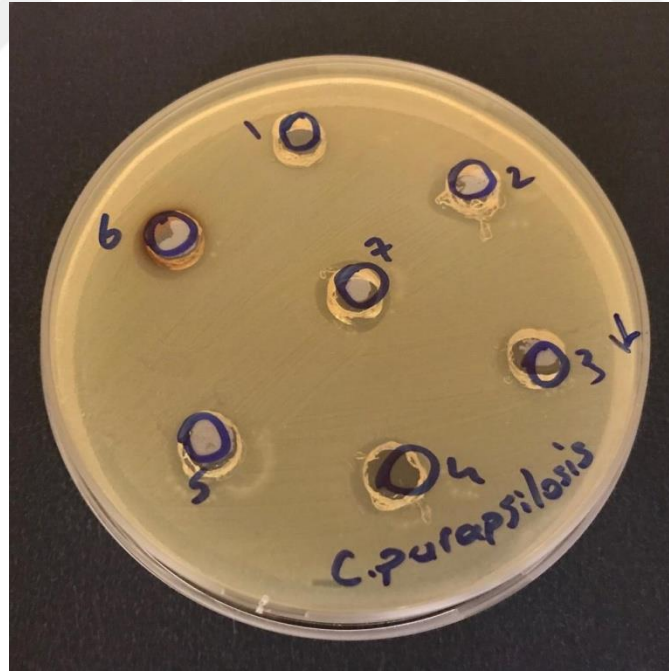
Şekil 4.15: *P. vulgaris* AgNP' li kök ekstraktlarının *Klebsiella* spp. üzerine negatif antimikrobiyal etkisi

1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃



Şekil 4.16: *P. vulgaris*' in AgNP' li kök ekstraktlarının antimikrobiyal etki göstermediği *P. vulgaris* (*Proteus vulgaris*)

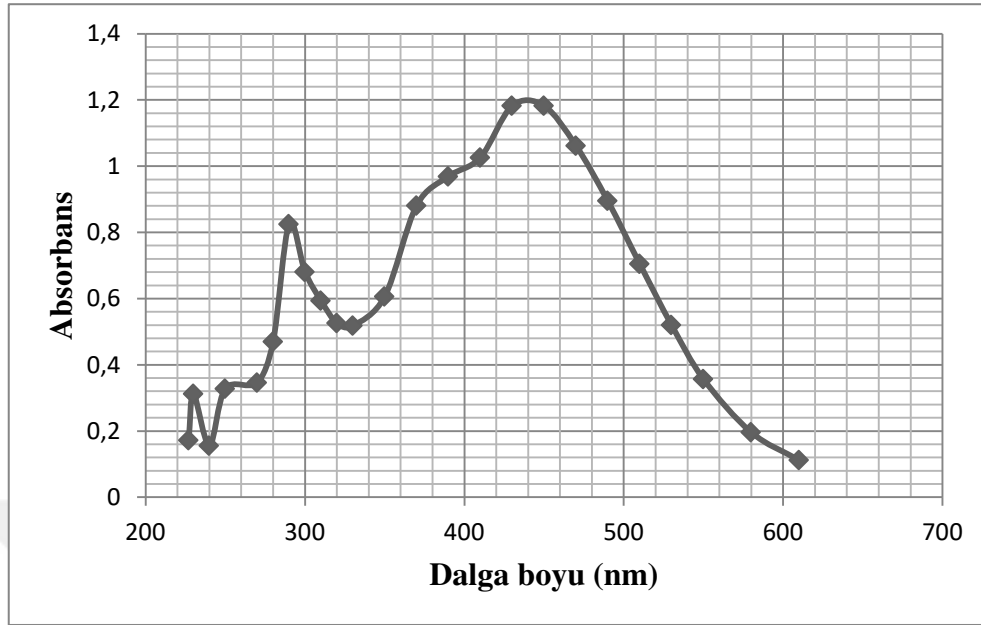
1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃



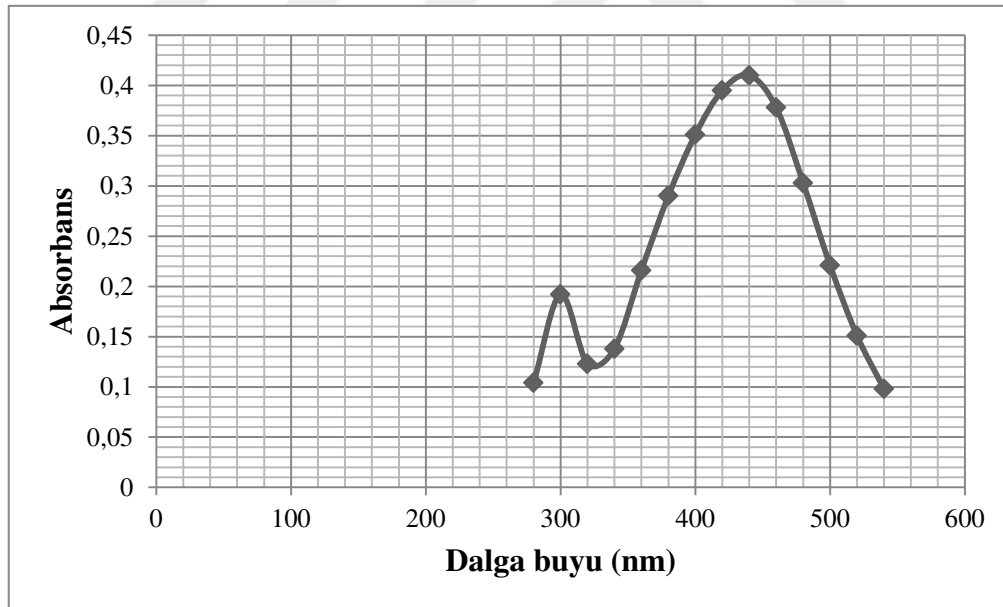
Şekil 4.17: *P. vulgaris*' in AgNP' li kök ekstraktlarının antimikrobiyal etki göstermediği *C. parapsilosis*

1-DMSO, 2- Kaynatma, 3- Metanol, 4- Etanol, 5- Aseton, 6- Saf su, 7-AgNO₃

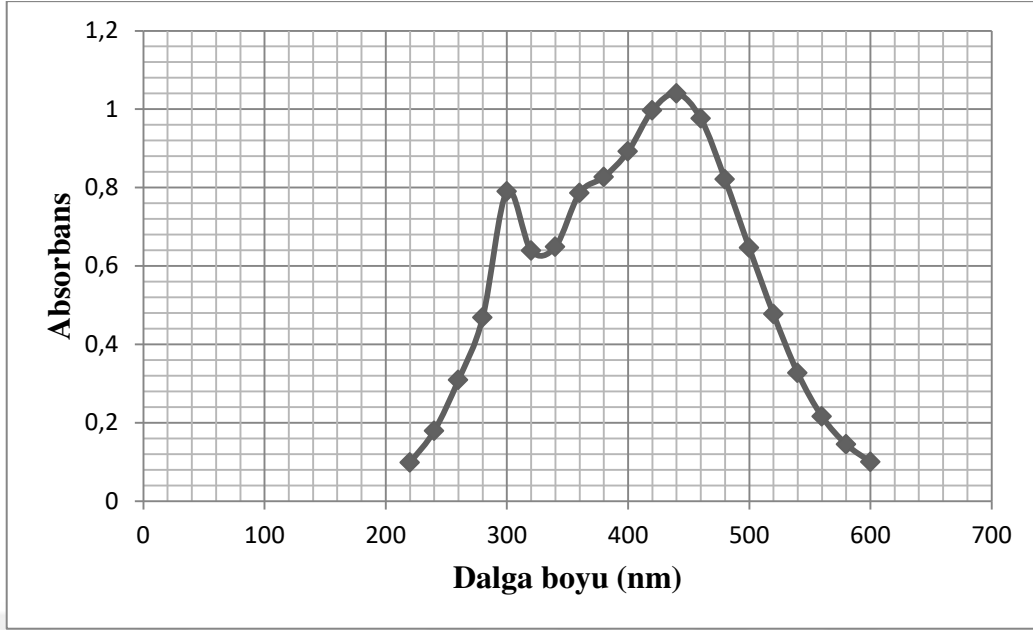
4.2. UV spektrofotometre sonuçları



Şekil 4.18: *P. vulgaris*' in kökünden sentezlenen AgNP' lerin UV-Vis spektrumları



Şekil 4.19: *P. vulgaris*' in yapraklarından sentezlenen AgNP' lerin UV-Vis spektrumları



Şekil 4.20: *P. vulgaris*' in çiçeklerinden sentezlenen AgNP' lerin UV-Vis spektrumları

Şekillerden de anlaşıldığı üzere *P. vulgaris* yaprak, çiçek ve kök ekstraktlarının UV-Vis spektrofotometresin de 430 ile 450 arasında pik noktaya ulaştığı görülmektedir. Gümüş nanopartikül iyonların 430-450 arası nm de etkin gözlemlendiği söylenebilir.

4.3. Antioksidan Aktivite

DPPH metanolde 1 mM konsantrasyonda hazırlanarak karanlık bir ortamda bekletilmiştir. *P. vulgaris* yaprak çiçek ve kök ekstraktları ile onlardan sentezlenen AgNP li çözeltileri 50, 25, 12.5 derişimlerde metanolde hazırlanmıştır. 1 ml örnekten alınarak üzerine 3 ml DPPH eklenerek vortekslenmiştir. Karanlıkta 30 dk bekletilip ve 517 nm de absorbansları okunmuştur (Tablo 4.4, Tablo 4.5, Tablo 4.6).

Tablo 4.4: Yaprak+AgNO₃ DPPH' lı çözeltilisinin 517 nm' de okunan absorbans değerleri

	Konsantrasyon	Absorbans
Yaprak AgNP	%100	1,002
Yaprak AgNP	% 50	1,074
Yaprak AgNP	% 25	1,086
Yaprak AgNP	% 12.5	1,067

Tablo 4.5: Çiçek+AgNO₃ DPPH' lı çözeltisinin 517 nm' de okunan absorbans değerleri

	Konsantrasyon	Absorbans
Çiçek AgNP	%100	0,752
Çiçek AgNP	%50	0,939
Çiçek AgNP	%25	0,983
Çiçek AgNP	%12.5	1,071

Tablo 4.6: Kök+AgNO₃ DPPH' lı çözeltisinin 517 nm' de okunan absorbans değerleri

	Konsantrasyon	Absorbans
Kök AgNP	%100	1,055
Kök AgNP	%50	1,050
Kök AgNP	%25	1,071
Kök AgNP	%12.5	1,116

Kararlı bir bileşik olan DPPH organik azotlu koyu mor renkte bir radikaldir. DPPH ortama giren antioksidan ile birlikte reaksiyona girerek bir H atomu vererek elektron yer değişikliği olur ve mor rengi açılır. 517 nm de renk değişiminin okunması esasına dayanır. 517 nm de okunan absorbans değeri ne kadar düşük olursa örneğin radikal temizleme özelliği o kadar yüksek olur.

P. vulgaris yaprak, çiçek ve kök ekstraktlarının ve sentezlenen AgNP' lerin absorbans değerleri incelendiğinde en düşük absorbansa sahip çiçekten sentezlenen AgNP' li çözeltilerin antioksidan özelliği diğerlerine göre daha fazla olduğu söylenebilir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. UV-Vis Spektrokopisi

Kolay, güvenilir ve çevre dostu yöntemlerin geliştirilmesi, insanlık için faydalı olan nanopartiküllerin sentezi ve uygulanmasına olan ilgiyi arttırmaya yardımcı olmaktadır (Bhattacharya ve Gupta, 2005). Bitki ekstraktının gümüş iyonlarının gümüş partiküllere indirgenmesi renk değişimini takip edebilir. Gümüş nanopartiküller, sulu plazmada, koyu sarımsı-kahverengi bir renk sergilerler (Ankanna ve diğ., 2010). 300-600 nm dalga boyunda; ekstrakt ve AgNO₃ karışımı için silver nanopartikül oluşumunu (AgNP' ler) 440 nm'de doğruladı (Kong ve Jang, 2006).

Yaprak ekstraktındaki renk değişikliği, görsel olarak AgNO₃ çözeltisi ile inkübe edildiğinde fark edildi. İnkübe edilmiş çözeltinin absorpsiyon spektrumu, farklı dalga boylarında 350 - 650 nm arasında değişmektedir. AgNO₃ içermeyen yaprak özleri, renkte herhangi bir değişiklik göstermedi. Renk yoğunluğu, inkübasyon süresiyle de artmıştır. Ekstraktların rengi 7 günlük inkübasyondan sonra sarıdan yoğun kahverengimsi griye dönüştü ve sonrasında önemli bir değişiklik olmadı.

Bizim bulgularımız da en fazla kaynamış su ile ekstrakte edilen bitkinin AgNO₃ bileşimi 440 nm de absorbans göstermiştir.

5.2. Gümüş Nanopartikülün Antimikrobiyal Aktivitesi

Gümüş nanopartikülün antimikrobiyal etkilerinin araştırılması, agar kuyucuk difüzyon yöntemiyle çalışılmış ve nanopartiküllerin mikroorganizmalar üzerinde farklı düzeylerde antimikrobiyal etkilerinin olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.1, 4.2, 4.3).

Araştırmada bitkiler çiçek, yaprak ve kök bölümü olmak üzere üç kısma ayrılmıştır. Ekstraksiyon işlemlerinde DMSO, saf su, metanol, etanol, aseton ve kaynatılmış su kullanılmıştır.

Bilgilerimize göre, *P. vulgaris*' nin ekstraktının, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi hakkında bilimsel bir çalışmada kullanılmamıştır. Bu nedenle, ilk çalışma olarak değerlendirilebilir. Dahası, sonuçlarımız farklı bitki parçalarının antimikrobiyal aktivitesinin büyük ölçüde ekstraksiyon prosedürüne, ekstraksiyon için kullanılan solvent

tipine ve duyarlılık analizi için test edilen bakteri suşlarına bağlı olduğunu göstermiştir (Doughari ve Manzara, 2008; Akgul ve Gulshen, 2005).

Bu çalışmada *P. vulgaris*' ten gümüş nanopartikül sentezlenerek antimikrobiyal ve antioksidan etkileri araştırılmıştır. Bu araştırma sonucunda:

P. vulgaris yaprak, çiçek ve kök ekstraktı kullanılarak AgNP sentezlenmiştir ve sentezlenen nanopartiküllerden antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Nanopartiküllerin karakterizasyonu için UV-Vis spektroskopisi kullanılmıştır. Nanopartiküllerin Gram(+) ve Gram(-) bakteriler ve maya türlerine karşı etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmada *P. vulgaris* yaprak ekstraktı kullanılarak sentezlenen AgNP' nin en iyi antimikrobiyal etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Bakterilerin DMSO, kaynatma, metanol, etanol, aseton ve saf su ile AgNO₃ varlığında *P. vulgaris* yaprak ekstraktının agar kuyucuk difüzyon yöntemine göre yapılan antimikrobiyal aktiviteleri; *B. subtilis*, *C. jejuni*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *A. hydrophila*, *S. dysenteriae*, *S. epidermidis* ve *S. typhimurium* 10-18 mm inhibisyon zon göstermiştir. Diğer bakteriler 8 mm ve altında inhibisyon zonu oluşturmuştur.

S. boulardii, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* ise 10-25 mm lik zon çapı oluşturmuştur. Mayalar arasında en fazla antimikrobiyal aktivite sırası ile *C. tropicalis*>*C. glabrata*>*C. parapsilosis*>*C. albicans*>*S. boulardii*' de görülmüştür. *P. vulgaris* ekstraktından elde edilen AgNP bakterilere göre mayalarda daha çok antimikrobiyal etki göstermiştir.

P. vulgaris' in çiçek ekstraktının DMSO, kaynatma, metanol, etanol, aseton ve saf su ile sentezlenen AgNP' nin agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile yapılan antimikrobiyal etkilerine göre *C. jejuni*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* ve *S. aureus*, *S. dysenteriae*, *S. typhimurium*, 10-15 mm en geniş inhibisyon zon göstermiştir. Bunlar arasında *A. hydrophila* 15 mm en büyük zon çapını oluşturmuştur.

P. vulgaris' in çiçek ekstraktlarının Mayalardan; *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* ise 6-20 mm lik zon çapı oluşturmuştur. *C. albicans* en fazla antimikrobiyal aktivite gösterirken, *C. tropicalis* negatif olarak değerlendirilmiştir.

AgNP kök ekstraktının DMSO, kaynatma, metanol, etanol, aseton ve saf suyun antimikrobiyal etkisine göre *A. hydrophila*' da 0-15 mm zon çapı belirlenmiştir.

C. albicans, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* ise 5-8 mm lik zon çapı oluşturmuştur. Elde edilen sonuçlara göre 1 mM AgNO₃ konsantrasyonunda ki su ile kaynatılan bitki ekstraktının yaprak bölümü hem antibakteriyel hem de antifungal testlerinde en iyi sonuçları vermiştir.

Antibakteriyel testlerinde *P. vulgaris*' in yaprak bölümleri yüksek sonuçlar göstermiş ve genel olarak antibakteriyel aktivite etkinliği bitki bölümleri arasındaki sıralaması yaprak > çiçek > kök şeklinde olmuştur.

Yaylı ve diğ., 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada *Primula vulgaris* Huds. subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* Huds. subsp. *sibthorpii* bitkilerine karşı test edildi ve *Mycobacterium smegmatis*' e karşı en fazla antibakteriyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Orhan ve diğ. yaptıkları diğer bir çalışmanın sonucuna göre, *P. vulgaris*' inde bulunduğu bütün bitki ekstraktlarının *C. parapsilosis*' e karşı daha iyi antifungal aktivite gösterdiğini, oysa *C. albicans* ve *C. tropicalis*' e karşı daha az aktif bulmuşlar. Biz yaptığımız çalışma da yaprak ekstraktlarından sentezlenen AgNP' lerin *C. parapsilosis*' in yanında *C. tropicalis*' e karşı pozitif etki ettiği görülmüştür (Orhan ve diğ., 2012).

Abdul Majid ve diğ., 2014 yılında yaptıkları çalışmada *S. aureus*' un *P. vulgaris* yaprak ile kökün metanol ve soğuk su ekstraktlarında inhibisyon zon oluşmadığını belirtmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada yaprak ve kök ekstraktlarından sentezlenen AgNP' lerin *S. aureus* üzerinde uyguladığımız da *S. aureus*' a etki ettiği ve inhibisyon zon göstermiştir. Şekil 5.1 de yaprak ekstraktlarından sentezlenen AgNP' lerin *S. aureus*' daki pozitif etkisi görülmektedir. Oluşan farklılığın sentezlenen AgNP' lerden kaynaklandığını söyleyebiliriz.



Şekil 5.1: *S. aureus*' un *P. vulgaris*' in yaprak ekstraktların da göstermiş olduğu zon çapları

1-DMSO (8 mm) 2-kaynatma (15 mm) 3-metanol (8 mm) 4-etanol (15 mm) 5-aseton (8 mm) 6-saf su (0 mm) 7-AgNO₃ (15 mm) 8-oflaxacin (15 mm)

Majid ve diğ., 2014'de yaptığı çalışmada *P. vulgaris* yaprak ekstratları metanol ekstratında *E.coli* 18 mm inhibisyon zon gösterdiği yine *E. coli* üzerinde uygulanan saf su yaprak ekstratı 14 mm inhibisyon zon gösterdiği belirtilmiştir. Bu çalışmada ise *P. vulgaris* yaprağının DMSO' lu ekstraktlarından sentezlenen AgNP 5 mm, kaynatılmış su ile sentezlenen AgNP 6 mm'de zon göstermiştir. Şekil 5.2 de ekstratların *E. coli*' deki inhibisyon etkisi görülmektedir.



Şekil 5.2: *E. coli*' nin *P. vulgaris*' in yaprak ekstratlarına göstermiş olduğu zon alanları

1-DMSO 2-kaynatma 3-metanol 4-etanol 5-aseton 6-saf su 7-AgNO₃ 8-ofloxacin

Ortaya çıkan bu farklılıkların sentezlenen gümüş nanopartikül vasıtasıyla olduğu düşünülebilir ve daha kapsamlı bir çalışmanın yapılması gerekmektedir.

Erci ve Torlak 2019 yılında yaptığı çalışmada gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde yaptığı gümüş nanopartiküllü çalışmada gram pozitif ve gram negatif bakterilerden gram pozitifin daha büyük etki aldığı ve inhibe oldukları belirtilmiştir. Yaptığımız çalışmada *P. vulgaris* ekstratlarından sentezlenen gümüş nano partikülleri gram pozitif ve gram negaif bakterilerin yanında mayalar üzerinde de denenmiştir. *P. vulgaris* ekstraktlarının mayalar üzerine daha fazla etki ettiği görülmüştür.

Primula'nın farklı türlerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ancak, *P. vulgaris* türünün ekstratlarından gümüş nanopartikül sentezi, antimikrobiyal etkileri ve antioksidan aktivitesinin literatür taramasında çok fazla çalışma yer almadığı görülmüştür. Daha ayrıntılı çalışma yapılması *P. vulgaris*'in antimikrobiyal ve antioksidan etkilerinin araştırılması tıp dünyası açısından önem teşkil etmektedir.

Koçak B. 2019 da yaptığı çalışmada sentezlediği AgNP'lerin mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkilerini test etmiştir. Bulduğu sonuçlara göre *B. subtilis*, *P.*

aeruginosa, *B. cereus* üzerinde negatif etki ettiğini belirtmiştir. *P. vulgaris*' den sentezlediğimiz AgNP' ler *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *B. cereus* üzerinde 8-10 mm arasında inhibisyon zon göstermiştir. Özellikle *B. cereus* üzerinde *P. vulgaris* yaprak ve çiçeklerinin sadece kaynatma yöntemiyle hazırlanan ekstraktlarından sentezlenen AgNP' lerin 10 mm inhibisyon zon gösterdiği göze çarpmaktadır. Bitkinin kimyasal kullanılmadan kaynatılarak daha etkili antimikrobiyal özelliğe bürünmesi çalışmanın sağlık açısından zararının olmadığını göstergesi olabilir. *P. vulgaris*' den sentezlenen AgNP' lerin daha fazla mikroorganizma üzerine antimikrobiyal etki ettiğini söylemek mümkündür (Koçak, 2019).

Ramesh ve diğ., 2017 yılında ki çalışmasında üzüm çekirdeğinden sentezlediği AgNP lerin *E. coli*, *B. subtilis*, *K. pneumoniae*, *Streptococcus* spp, *P. aeruginosa* üzerindeki antimikrobiyal etkilerini araştırmıştır. Bulduğu sonuçlarda en fazla inhibisyon zonun *P. aeruginosa*, *Streptococcus* sp ve *B. subtilis*' te olduğunu belirtmiştir. *E. coli* ile *K. pneumoniae*' ye karşı ise daha az etkili olduğunu belirtmiştir. *P. vulgaris*' den sentezlediğimiz AgNP' lerin *E. coli* üzerine çok az etki ettiği görülmüştür. Buna karşı *P. vulgaris* yaprak ekstraktlarından sentezlediğimiz AgNP' lerin *K. pneumoniae*' de 10-15 mm inhibisyon zon göstermiştir. Daha etkili bir AgNP sentezlenmesi ve antimikrobiyal aktiviteye *P. vulgaris*' in sahip olduğu görülmektedir (Ramesh ve diğ.,2017).

Aslam ve diğ., 2015 yılında *Primula denticulata*' nın etanol ekstraktı ile yaptıkları çalışmada *E. coli* ve *K. pneumoniae*' nin antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Kotakadi ve diğ., 2015 yılındaki çalışmasında gümüş nanopartikül içeren ekstraktlarının UV-vis spekturumunda 423 nm de pik gösterdiği ve bizim çalışmalarımız da 440 civarı bir pik nokta aldığımız görülmektedir. *P. vulgaris*' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin pik noktasının daha yüksek olduğu görülmektedir.

Subbaiya ve diğ. 2014 çalışmasında gümüş nanopartikül içeren ekstraktlarının UV spektrofotometresinde 404 de pik gösterdiği ve bizim çalışmalarımız da 440 civarı bir pik nokta aldığımız görülmektedir. *P. vulgaris*' den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin pik noktasının daha yüksek olduğu görülmektedir. Literatüre göre gümüş nanopartiküllerin 440 civarı bir absorbanasda pik yaptığı söylenmektedir. Yaptığımız çalışma doğrular niteliktedir.

5.3. Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar, biyolojik moleküllere zarar vererek hastalık gelişiminde rol oynayan oksidatif stresin azaltılmasında büyük öneme sahiptir (Bektaş, ve diğ., 2005).

Oksidatif stres, hücrel yaşlanma ve akut ve kronik böbrek hastalığı, Kardiyovasküler, kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve safra yolları hastalıkları gibi çeşitli akut ve kronik patolojik süreçlerde rol oynamaktadır (Liguori ve diğ., 2018). İnsan vücudundaki homeostaz dengesini korumak, hastalıkların önlenmesi ve hastalıkların tedavisi için antioksidanların tüketimi gereklidir. Bununla birlikte, sentetik antioksidanların bazı boyutlarda toksik etkileri vardır. Bu nedenle, doğal antioksidanların gıdalardan alınması ilk tercihtir, çünkü doğal antioksidanlar hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde önemli bir rol oynarlar (Li ve diğ., 2014).

Günümüzde, antioksidan aktivite öncelikle meyve ve sebzeler gibi genel gıda bitkilerinde incelenmektedir. Bununla birlikte, son çalışmalar, şifalı bitkiler gibi diğer bitki kategorilerinin de önemli antioksidan etkinliğe sahip olduğunu göstermektedir (Jaberian ve diğ., 2013).

Bu nedenle, gıdalardaki antioksidan maddelerin ve tıbbi doğal kaynakların araştırılmasına ilgi artması nedeniyle, diyetteki antioksidan alımını arttırmak ve gıda katkı maddesi olarak kullanılan bitkiler arasında doğal antioksidan kaynakları araştırmak önem kazanmıştır.

Bu çalışmada antimikrobiyal ve antioksidan aktivite ve fitokimyasallar için *P. vulgaris* şifalı bitkisi değerlendirildi. DPPH, oda sıcaklığında 517 nm'de karakteristik emiciliği olan mor renkli bir serbest radikaldir. *P. vulgaris*' in çiçek ekstraktları, DPPH serbest radikali üzerinde konsantrasyona bağlı olarak anlamlı bir etki göstermiştir. Deneyde kullanılan standart antioksidanlar ile karşılaştırıldığında, ekstrakt nispeten düşük DPPH serbest radikalleri arıtma potansiyeli göstermiştir.

P. vulgaris' in yaprak ekstraktlarının bu DPPH radikal temizleme aktivitesi, reaktif radikal türlerinin, duyarlı biyolojik ve gıda sistemlerinde DNA, protein, çoklu doymamış yağ 2 radikali (HO) biyolojik sistemlerde oluşan ve DNA'daki nükleotidlere saldıran ve kanserogenez ve mutajenez için katkıda bulunan iplik kopmasına neden olan son derece reaktif bir türdür (Manian ve diğ., 2008).

Demir ve diğ., 2019' da *P. vulgaris* çiçeklerinden dimetil sülfoksit ile hazırlanan ekstraktın kuvvetli antioksidan özellik gösterdiği belirtilmiştir.

5.4. Fitokimyasal Tayin

Fitokimyasal taramalarına göre flavonoidlerin varlığını *P. vulgaris*' in çiçek kısmında sarı bir renklenme gözlenirken yaprak ve kök kısmında daha zayıf olarak belirlenmiştir. *P. vulgaris* karbonhidrat taranmasında kırmızımsı bir mor halka çiçekte yüksek oranda görülürken yaprak ve kökte daha zayıf olduğu görülmüştür.

P. vulgaris ekstraktlarında protein taraması sonucunda mor bir renk elde edilmesi yaprak ve çiçek eksaklarında pozitif olarak görülmüştür.

P. vulgaris' in çiçek ekstraktlarında terpenoidlerin kuvvetli pozitif olarak bulunurken yaprak ve kök de negatif olarak değerlendirilmiştir. *P. vulgaris* yaprak ekstraktında sarı bir çökelti tanenlerin varlığını göstermiştir.

Tablo 5.1: *P. vulgaris*' in ekstraktlarında fitokimyal tarama sonuçları

FİTOKİMYASALLAR	TEST	SONUÇ		
		YAPRAK	ÇİÇEK	KÖK
FLAVONOİDLER	Shinoda	++	+++	+
TERPENOİDLER	Salkwaski	-	+	-
SAPONİN	Frothing	++	++	+++
TANİN	Ferric chloride	++	+	+
KARBONHİDRAT	Molish	++	+++	++
PROTEİN	Biüret	+-	+	-

Bununla birlikte, daha yeni çalışmalar diyet fenoliklerinin (örneğin flavonoidler) anti-proliferatif etki gösterebileceğini göstermektedir (Anter ve diğ., 2011). Tıbbi bitkilerin anti-neoplastik ajanların ana kaynakları olarak kabul edilmesine rağmen, artık yenilebilir bitkilerin anti-proliferatif etkilerinin araştırılmasına olan ilgi artmaktadır (De la Rosa ve diğ., 2014).

Oksidatif stres ile ilgili hastalıkların tedavisi için bölgedeki bitkilerin geleneksel olarak kullanımına rağmen, kanser, diyabet, kardiyovasküler, enflamatuar ve nörodejeneratif hastalıklar (Duke ve diğ., 2009), Perulu Amazon'lardan elde edilen yenilebilir ve tıbbi bitkilerin sadece çok küçük bir kısmı, antioksidan / anti-proliferatif özellikler için değerlendirilmiştir (Neri-Numa ve diğ., 2013). Özellikle son yıllarda doğal ürünlerde bulunan fitokimyasalların oksidatif strese bağlı hastalıklardan korunmada önemli rol

oynadığı gösterilmiştir (Kaur ve diğ., 2001). Doğal ürünlerdeki fenoliklerin antioksidan etkileri ile oksidatif strese bağlı kronik hastalıkları önleyebileceğine inanılmaktadır.

Tıbbi bitkilerin sağlığa yararlı ve koruyucu etkisi özellikle polifenolik bileşiklerin ve vitaminlerin antioksidan etkilerini artırma kabiliyetine sahip olabileceğine inanılmaktadır (Soong ve Barlow, 2004). Bazı çalışmalar fenolik bileşiklerden zengin şifalı bitkilerin antioksidan özelliklerini tanımlamıştır (Rong ve Zeyuan, 2004; Nijveldt ve diğ., 2001). Antioksidan aktiviteye ek olarak birçok fenolik bileşik antikanser veya antikarsinojenik/antimutagenik aktivitelerini daha fazla veya daha az ölçüde olduğu gösterilmiştir. Reaktif oksijen türleri (ROS) insanda çok çeşitli hastalıklara neden olmaktadır.

Flavonoidlerin antioksidan aktivite göstermektedir ve insan beslenmesi ile insan sağlığı üzerindeki etkileri oldukça fazladır (Pourmorad ve diğ., 2006).

Bitkilerin sekonder metabolitleri olan fenolikler, dikkate değer biyoaktiviteler gösterirler. Fenolik bileşiklerin, bu özelliklerden dolayı antikanser, antienflamatuar ve antibakteriyel aktivitelerin yanı sıra diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklarda azaltma göstermektedirler. Ayrıca, fenolikler anti-analjezik, anti-alerjik ve anti-Alzheimer özelliklerde gösterir (Shahidi ve Yeo, 2018).

Hidroksil fonksiyonel gruplar içeren flavonoid bitkilerde antioksidan etkisinden sorumlu olduğu iyi bilinmektedir.

Fitokimyasal taramanın sonuçlarına göre, alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin ve tanen, bitkide aktif bileşenlerin varlığını göstermiştir (Tablo 5.1). *P. vulgaris*' de bu fitokimyasalların bulunması antibakteriyel ve antioksidan aktivitenin de olabileceğinin bir göstergesidir. Fenolik bileşiklerin, renk, tat, aroma ve sağlığa yararlı etkiler sağladığı düşünülmektedir. Ayrıca kalite ve besin değerine katkıda bulunduğuna da inanılmaktadır.

Uçucu yağların ve birçok bitkiden elde edilen ekstraktların antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri, doğal katkı maddeleri olarak ortaya çıktıklarından beri, temel bilim ve gıda endüstrisinin ilgisini çekmektedir.

Bu sonuçlar, antibakteriyel ve antioksidan aktivite ile kimyasal kompozisyon arasında bir bağlantı oluşturabilir. Antimikrobiyal ve antioksidan ajan olarak önemli bir yer bulabilir. Gıda ürünlerindeki potansiyel koruyucu olarak da kullanılabilir.

Spesifik tıbbi bitkilerin bileşiklerinin tanımlanması, antibakteriyel ve antioksidan aktivite gözlemlenmesi bu bitkilerin gelecek de halk sağlığı üzerinde rollerinin etkili olacağının bir göstergesidir.

AgNP' lerin yeşil sentezi, *P. vulgaris* yaprak, çiçek ve kök ekstraktı kullanılarak gerçekleştirildi. Bu şekilde bitki ekstraktı ile nanopartikül sentezi, maliyet açısından etkili, çevre dostu ve kullanımı kolay olduğu için bilinen dirençli antibiyotiklerden daha avantajlıdır. Bu nanopartiküller, Gram negatif bakterilere karşı güçlü inhibisyon etki göstermiştir.

AgNP' lerin biyomedikal özelliklerini geliştirmek için sentez mekanizması ve antimikrobiyal aktivite mekanizmaları hakkında daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Yapmış olduğumuz çalışmada *P. vulgaris*' in yaprak, kök ve çiçek ekstraktlarını kullanarak gümüş nanopartiküllerin biyolojik olarak sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma da ayrıca *P. vulgaris* ekstraktları fitokimyasalları farmasötik ürünler için ana kaynak olarak hizmet edebilir, bu nedenle *P. vulgaris* bitkisi çeşitli hastalıklarda tedavi için kullanılabilir. *P. vulgaris*' in ekstraktlarının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi umut verici olup, yeni antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gösteren gümüş nanopartiküllerin tıpta geniş bir kullanım alanı bulabileceğini düşünmekteyiz. Özellikle tedavi amaçlı ilaçların elde edilmesi için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Bu konu ile ilgili yapılacak olan detaylı çalışmalar ile nanopartiküllerin kullanım alanları daha da genişletilebilir.

6. KAYNAKLAR

- A. L. Medina, M. E. Lucero, F. O. Holguin et al., “Composition and antimicrobial activity of *Anemopsis californica* leaf oil,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, no. 22, pp. 8694–8698, 2005.
- Akgul, C., Gulshen, S. 2005, Antibacterial activity of crude methanolic extract and its fractions of aerial parts of *Anthemis tinctoria*. *Indian Journal of Biotechnology and Biophysics*, 42, 395–397.
- Ankanna S., 2010, T.N.V.K.V. Prasada, E.K.B. Elumalai, N. Savithramma, Dig. J. Nanomater. Biostruct. 5 369–372.
- Anter, J., Romero-Jiménez, M., Fernández-Bedmar, Z., Villatoro-Pulido, M., Analla, M., Alonso-Moraga, Á., Muñoz-Serrano, A., 2011. Antigenotoxicity, cytotoxicity, and apoptosis induction by apigenin, bisabolol, and protocatechuic acid. *J. Med. Food* 14, 276–283.
- Aslam K, Nawchoo IA, Ganai BA, 2015. In vitro antioxidant, antibacterial activity and phytochemical studies of *Primula Denticulata*-an important medicinal plant of Kashmir Himalaya. *IJPR*, 5(3): 49-56.
- Ayoola GA, Coker HAB, Adesegun SA, Adepoju-Bello AA, Obawey K, Ezinnia EC, Atangbayila TO., 2008, Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*; 7 suppl 3:1019-1024.
- Balouiri M. Sadiki M, Ibensouda S.K., 2016, Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6 71–7977.
- Bar, H., Bhui, D.K., Sahoo, G.P., Sarkar, P., De, S.P., Misra, A., 2009, Green synthesis of Silver Nanoparticles Using Latex Of *Jatropha curcas*. *Colloids Surfaces A. Physicochem. Eng. Aspects*, b339,134-139.
- Baser Khc, 2002, Fonksiyonel Gıdalar Ve Nutrasötikler. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs, Eskişehir.

- Bektas, T., Sokmen, M., Akpulat, H. A., & Sokmen, A., 2005, In-vitro antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey. *Food Chemistry* (1), 89–92.
- Benthath A, Rusznyak ST, Szent-Györgyi A. Vitamin, 1937, P. *Nature* 139 (3512): 326–327.
- Bhadra, K., Kumar, G.S., 2011, Therapeutic Potential of Nucleic Acid-Binding Isoquinoline Alkaloids: Binding Aspects and Implications for Drug Design. *Medicinal Research Reviews*, 31, 821–862.
- Bhattacharya D., R.K. Gupta, *Crit.*, 2005, *Rev. Biotechnol.* 25 199.
- Bone K, Mills S. 2013, In *Principles and Practice of Phytotherapy* (Second Edition), 17-82
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C.L.W.T., 1995, Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- Breitmaier, E. 2006, *Terpenes: Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones*, 1st Ed.; Wiley-Vch: Wallingford, Uk, P. 214. Isbn 3-527-31786-4.
- Bucwold F.J., Ronald A.R., Lank B., Thompson L., Fox L., Harding G.K.M, 1979, Clinical efficacy and toxicity of netilmicin in the treatment of gram-negative infections *CMA Journal*, January 20, vol., 120 161-167.
- Budzianowski, J., Morozowska, M., & Wesołowska, M., 2005, Lipophilic flavones of *Primula veris* L. from field cultivation and in vitro cultures. *Phytochemistry*, 66 9, 1033-9 .
- Cheffins, N. I. And B. H. Howard, 1982, Carbonhydrate Changes In Leafless Winter Apple Cuttings. I. The Influence Of Level And Duration Of Bottom Heat. *Journal Of Hort. Sci.* 57 (1): 1-8
- Chen, J., Gao, K., Liu, T., Zhao, H., Wang, J., Wu, H., Liu, B., Wang, W., 2013, Aporphine alkaloids: A kind of alkaloids' extract source, chemical constitution and pharmacological actions in different botany. *Asian Journal of Chemistry*, 25, 10015–10027.

- Chung, K.H., Hamed, G.R., 1989, " Adhesives Containing Pine Bark Tannin for Bonding Nylon Cord to Rubber", (R W. Hemingway and J.J. Karchesy, Eds.), Chemistry and Significance of Condensed Tannins, pp. 479-492. Plenum Press, New York.
- Connolly, J.D.; Hill, R.A., 1991, Dictionary Of Terpenoids, 1st Ed.; Chapman & Hall: London, UK; ISBN 0-412-25770-X
- Cornelli U. 2009, Antioxidant Use In Nutraceuticals. Clin Dermatol 27: 175–94.
- Çağatay M. 1970, Kültür Bitkilerinin Beslenme Fizyolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 414, Ders Kitabı: 141, A. Ü. Basımevi, Ankara.
- Çetiner M, Bilek S.E, 2018, Bitkisel Protein Kaynakları Çukurova J. Agric. Food Sci. 33(2): 111-126,
- Çıracı, S., 2005. Metrenin Bir Milyarda Birinde Bilim ve Teknoloji, Bilim ve Teknik, Ağustos, Ek sayı: 6-10.
- Çolak Z., 2012, *Primula Vulgaris* Huds.'Un Moleküler, Yağ Asidi Ve Toprak Özelliklerinin Alttür Düzeyinde Değerlendirilmesi Haziran Yüksek Lisans Tezi Karadeniz Teknik Üniversitesi
- Dastmalchi K, Dorman HJD, Kosar M, Hiltunen R. 2007, Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. Leben Wiss Technol; 40: 239–248.
- Day, L. 2013, Proteins From Land Plants– Potential Resources For Human Nutrition And Food Security. Trends In Food Science & Technology, 32: 25-42.
- De la Rosa, L.A., Vazquez-Flores, A.A., Alvarez-Parrilla, E., Rodrigo-García, J., Medina-Campos, O.N., Ávila-Nava, A., González-Reyes, S., Pedraza-Chaverri, J., 2014, Content of major classes of polyphenolic compounds, antioxidant, antiproliferative, and cell protective activity of pecan crude extracts and their fractions. J. Funct. Foods 7, 219–228.
- Demir S., Turan İ., Aliyazicioglu R., Özeryaman S., Aliyazicioglu Y., 2018, *Primula Vulgaris* Extract induces cell cycle arrest and apoptosis in Human Cervix cancer cells Journal Of Pharmaceutical Analysis, 8; 307–311

- Demir, S., Turan, İ., Aliyazıcıoğlu, Y. 2019, Antioxidant Properties of *Primula vulgaris* Flower Extract and Its Cytotoxic Effect on Human Cancer Cell Lines. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg.*, 22, 19-25.
- Dibrov, P., Dzioba, J., Gosink, K. K., Häse, C. C., 2002, Chemiosmotic mechanism of antimicrobial activity of Ag(+) in *Vibrio cholerae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(8), 2668–2670. doi:10.1128/aac.46.8.2668-2670.
- Dimitrios B., 2006, Sources Of Natural Phenolic Antioxidants. *Trends In Food Science & Technology*; 17: 505-512.
- Disilvestro RA., 2001, Flavonoids as Antioxidants.p:127- 138. In: *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*, Edit.: R.E.C. Wildman, CRC Press, ISBN: 0 8493 8734 5, USA.
- Dokuzoğuz, M., 1974, *Meyve Ağaçları ve Çevre İlişkileri*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 221, E. Ü. Matbaası. Bornova-İzmir.
- Doughari, J., & Manzara, S., 2008, In vitro antibacterial activity of crude leaf extracts of *Mangifera indica* Linn. *African Journal of Microbiology Research*, 2, 67–72.
- Duke, J.A., Bogenschutz-Godwin, M.J., Ottesen, A.R., 2009, *Duke's Handbook of Medicinal Plants of Latin America*, 1st ed. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Duncan, T.V., 2011, Applications Of Nanotechnology In Food Packaging And Food Safety: Barrier Materials, Antimicrobials And Sensors. *J Colloid Interface Sci* 363(1): 1-24.
- Elaine M, Aldred BSc (Hons), DC, Lic Ac, Dip Herb Med, Dip CHM, Kenneth Vall, 2009, in *Pharmacology*,
- Elliot JG. 1999, Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technology*, 53(2), 46-48.
- Erci F., Torlak E. 2019, Antimicrobial and antibiofilm activity of green synthesized silver nanoparticles by using aqueous leaf extract of *Thymus serpyllum*. *Sakarya University Journal of Science*, 23(3), 333-339

- Eriş A. 1985. Bahçe Bitkileri Fizyolojisi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları: 11. Bursa
- Fico G., G. Rodondi, G. Flamini, D. Passarella And F. Tomé, 2007, Comparative Phytochemical And Morphological Analyses Of Three Italian Primula Species. *Phytochemistry*, 68: 1683-1691.
- Fidan Af, Dündar Y., 2007, Yucca Schidigera Ve İçerdiği Saponinler İle Fenolik Bileşiklerinin, Hipokolesterolemik Ve Antioksidan Etkileri. *Lalahan Hay Arast Ens Derg*, 47 (2):31-39
- Formica J.V, Regelson W. 1995, Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids *Food and Chemical Toxicology* 33, 12, , 1061-1080
- Gnankiné, O.; Bassolé, I. 2017, Essential Oils As An Alternative To Pyrethroids' Resistance Against Anopheles Species Complex Giles (Diptera: Culicidae). *Molecules* 22, 1321.
- Gokgoz, N.B., Akbulut, B.S., 2015, Proteomics Evidence for the Activity of the Putative Antibacterial Plant Alkaloid (-)-Roemerine: Mainstreaming Omics-Guided Drug Discovery. *OMICS:Journal of Integrative Biology*, 19, 478–89.
- González—Pérez, S., Vereijken, J. M., 2007, Sunflower Proteins: Overview Of Their Physicochemical, Structural And Functional Properties. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 87: 2173-2191
- Gök V., Serteser A., 2003, Dogal Antioksidanların Biyoyararlılığı. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, 2-4 Ekim, , Ankara.
- Güleşci N., Aygöl İ., 2016, Beslenmede Yer Alan Antioksidan Ve Fenolik Madde İçerikli Çerezlergümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi / Gümüşhane University *Journal Of Health Sciences*: 5(1)
- Güneş G., 2016, Primula Vulgaris Subs. Sibthorpii Bitkisinin Toprak Üstü Kısımlarının Uçucu Yağve Çözücü Ekstraktının Gc/Ms Analizi Ağustos Giresun Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
- Heatley N.G., 1944, A method for the assay of penicillin, *Biochem. J.* 38 61-65.

- Hou WC, Lin RD, Cheng KT, Hung, YT, Cho CH, Chen CI, Hwang SY, Lee MH. 2003, Free radical scavenging activity of Taiwanese native plants. *Phytomedicine*, 10: 170-175.
- Iyer D, Devi PU. 2009, Radioprotective activity of *Murraya koenigii* L. On cellular antioxidants in swiss albino mice. *J Pharmaceut Res*; 2: 495-501.
- Jaberian, H., Piri, K., Nazari, J., 2013, Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. *Food Chem.* 136,237–244.
- Jacquemyn, H., Endels, P., Brys, R. Ve Woodell, S., R., J., 2009, Biological Flora Of The British Isles: *Primula Vulgaris* Huds. (*P. Acaulis* (L.) Hill), *Journal Of Ecology*, 97, 812-833.
- Jager, A.K., Gauguin, B., Adersen, A., Gudiksen, L. 2006, Screening of plants used in Danish folk medicine to treat epilepsy and convulsions. *Journal of Ethnopharmacology*, 105, 294–300.
- Kaşka, N. 1968, Çok Yıllık Bitkiler ve Özellikle Meyve Ağaçlarında Karbonhidratların Kullanılması ve Depolanması. A. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 310. Yardımcı Ders Kitabı: 110. A. Ü. Basımevi. Ankara
- Kaur C, Kapoor HC, Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *Int J Food Sci Technol*, 2001. 36(7): 703- 725.
- Kerry Bone, Simon Mills, 2013, In *Principles And Practice Of Phytotherapy* (Second Edition), 17-82
- Kim Do, Lee Cy., 2004, Comprehensive Study On Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity Of Various Polyphenolics İn Scavenging A Free Radical And Its Structural Relationship. *Critical Reviews İn Food Science And Nutrition*; 44: 253-273.
- Kittakoop, P., Mahidol, C., Ruchirawat, S., 2013, Alkaloids as Important Scaffolds in Therapeutic Drugs for the Treatments of Cancer, Tuberculosis, and Smoking Cessation. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 14, 239–252.

- Koçak B., 2019, *Gümüş nanopartiküllerinin üzüm çekirdeği (Vitis vinifera) ekstraktı ile biyosentezi karakterizasyonu biyolojik aktiveleri ve endotoksik karaciğer üzerine etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- Kong H., Jang J, 2006, One-step fabrication of silver nanoparticle embedded polymer nanofibers by radical-mediated dispersion polymerization Chem. Commun. 28 3010-3012.
- Kotakadi, V.S., Gaddam, S. A., Venkata, S. K. 2015, New generation of bactericidal silver nanoparticles against different antibiotic resistant Escherichia coli strains. Applied Nanoscience, 5, 847–855.
- Köksal A. İ, Yeşim Okay, Nevzat Artık, Burak Kunter, 2001, Batı Karadeniz Bölgesinde Yetiştirilen Bazı Fındık Çeşitlerinde Karbonhidrat Düzeylerindeki Değişimin Enzimatik Yöntemle Belirlenmesi tarım Bilimleri Dergisi, 7 (1), 111-118
- Kumar A, Ilavarasan R., Jayachandran T, Deearaman M, Aravindhan P, Padmanaban N, and Krishnan MRV.,2009, Phytochemical investigation on a tropical plant. Pakistan Journal of Nutrition, 8 suppl 1: 83-85.
- Kumar V, Yadav S. K. 2009, Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. J Chem Technol Biotechnol;84:151–7.
- Kumar, A., Chisti, Y., Banerjee, U. 2013, Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts: Biotechnology Advances (31) 346–356.
- Küçükkurt İ, Fidan. A.F., 2008, Saponinler ve Bazı Biyolojik Etkileri Kocatepe Vet J 1: 89-96
- Lafrance, M., Blaquiere, N., Fagnou, K. 2007, Aporphine alkaloid synthesis and diversification via direct arylation. European Journal of Organic Chemistry, 2007, 811–825.
- Lee J. Koo N, Min Db. 2004, Reactive Oxygen Species, Aging, And Antioxidative Nutraceuticals. Comprehensive Reviews İn Food Science And Food Safety; 3: 21-33.

- Li, S., Chen, G.,Zhang, C., Wu, M.,Wu, S., Liu, Q. 2014, Research progress of natural antioxidants in foods for the treatment of diseases. Food Science and Human Wellness, 3, 110-116.
- Liguori, I.,Russo, G.,Curcio, F.,Bulli, G.,Aran, L.,Della-Morte, D.,Gargiulo, G.,Testa, G.,Cacciatore, F., Bonaduce, D., Abete, P. 2018, Oxidative stress, aging, and diseases. Clin Interv Aging; 13, 757–772.
- M. Yamanaka, K. Hara, J. Kudo, 2005, Appl. Environ. Microbiol. 71 7589.
- Magaldi S, Camero T. 1997, Susceptibilidad de *Candida albicans* ‘in vitro’ mediante los pozos de difusión. Boletín Venezolano de Infectología;7:5—8.
- Manandhar, S., Luitel, S., Dahal, R. K. 2019, In Vitro Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants against Human Pathogenic Bacteria. Journal of Tropical Medicine, 2919,1-5.
- Michanovicz LL, Adlercreutz H, Bradlow HL., 1997, Changes in levels of urinary estrogen metabolites after oral indole-3-carbinol treatment in humans. J Ant Cancer Inst 89(10):718-23.
- Mizuhiro, M., Ito, K. Ve Mii, M., 2001, Production And Characterization Of Interspecific Somatic Hybrids Between *Primula Malacoides* And *P. Obconica*, Plant Science, 161, 489-496.
- Mobh, Shiro 1938, "Research for Vitamin P". The Journal of Biochemistry 29 (3): 487–501
- Moure A, Cruz Jm, Franco Jd, Et Al., 2000, Natural Antioxidants From Residual Sources. Food Chem 172: 145–71.
- Moure, A., Sineiro, J., Domínguez, H., Parajó, J. C., 2006, Functionality Of Oilseed Protein Products: A Review. Food Research International, 39: 945-963.
- Neri-Numa, I.A., Carvalho-Silva, L.B., Morales, J.P., Malta, L.G., Muramoto, M.T., Ferreira, J.E.M., de Carvalho, J.E., Ruiz, A.L.T.G., Maróstica Junior, M.R., Pastore, G.M., 2013, Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of arac, á-boi fruit (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh – Myrtaceae) of the BrazilianAmazon Forest. Food Res. Int. 50, 70–76.

- Nichenametla Sn, Taruscio Tg, Barney Dl, Exon Jh. 2006, A Review Of The Effects And Mechanisms Of Polyphenolics In Cancer. Critical Reviews In Food Science And Nutrition 46: 161-183.
- Nijveldt, R. J., van Nood, E., van Hoorn, D. E., Boolens, P. G., van Norren, K., & van Leeuwen, P. A., 2001, Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential implications Euro. Journal of Cancer Prevention, 32, 401.
- Osborn A., 2003, Saponin In Cereals *Phytochemistry*, 62:1-4.
- P. Dibrov, J. Dzioba, K.K. Gosink, C.C. Hase, 2002, Antimicrob. Agents Chemother. 46:2668.
- Paulsen, E., L.P. Christensen and K.E. Andersen, 2006, Miconidin and miconidin methyl ether from *Primula obconica* Hance: new allergens in an old sensitizer. Contact Dermatitis, 55: 203-209.
- Pellegrini N, Miglio C, Del Rio D, Et Al. 2009, Effect Of Domestic Cooking Methods On The Total Antioxidant Capacity Of Vegetables. Int J Food Sci Nutr 60 (Suppl 2): 12– 22.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., Shahabimajd, N. 2006, Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 5(11), 1142–1145.
- Price, K.R., I.T. Johnson and G.R. Fenwick, 1987, The chemistry and biological significance of saponins in foods and feeding stuffs. Crit Rev Food Sci Nutr., 26(1): 27-135.
- Rai, M. K., Yadav, A. P., Gade, A. K. 2009, Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials .Biotech Adv 27 (1): 76-82.
- Ramesh, G., Joshi, P.S., Packiyam, J.E., Jayanna, S.K., 2017, Biosynthesis and characterization of Silver Nanoparticles from Grape (*Vitis vinifera*) seeds and study on antibacterial activity, Int. J. Curr. Res. Chem. Pharm. Sci. 4(10): 5-11.
- Ren S, Lien EJ., 1997, Natural products and their derivatives as cancer chemopreventive agents. Prog Drug Res 48: 147-71.
- Richards, J., 2003, *Primula*, Second Edition, Timber Press, Portland, Oregon.

- Roco, M. C. 2007, National Nanotechnology Initiative- Past, Present, Future. In: Handbook Of Nanoscience, Engineering And Technology, Goddard Iıı Wa, Brenner Dw, Lyshevski Se, Iafrate Gj. Taylor & Francis, Usa, Pp. 3.1-3.21.
- Rong, T., Zeyuan D., 2004, Separation procedures for naturally occurring antioxidant Phytochemicals. *Journal of Chromatography B* (1–2), 85–99.
- Saifuddin, N., Wong, C. W., Yasumira, A. A. 2008, Rapid Biosynthesis Of Silver Nanoparticles Using Culture Supernatant Of Bacteria With Microwave Irradiation. *E-Journal of Chemistry* Vol. 6(1): 61-70
- Sakal, A. 1966, Seasonal Variations In The Amounts Of Polyhydric Alcohol And Sugar In Fruit Trees. *Journal Hort. Sci.* 41: 207- 213
- Saldamlı, İ., Temiz, A., 2017, Amino Asitler, Peptitler, Proteinler. *Gıda Kimyası*, Saldamlı, İ. (Baş Ed.), 227-317 Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Türkiye.
- Shahidi, F., Naczki, M., 1995, Food Phenolics, Chemistry, Effects, Applications. Technomic, Usa.
- Shahidi, F., Yeo, J. 2018, Bioactivities of Phenolics by Focusing on Suppression of Chronic Diseases: A Review. *Int J Mol Sci.*, 19, 1573-1679.
- Shivshankar S, A. Rai, A. Ahmad, M. Sastry, J. 2017, *Colloid Interface Sci.* 275 496–502.
- Sieniawska E, T. Baj, 2017 in *Pharmacognosy*,
- Silver, S. 2003, Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. *FEMS, Microbiol. Rev.* 27(2-3): 341-353.
- Smerq J, Sharma M. 2011, Possible mechanism of *Murraya Koenigi* and *Cinnamomum tamala* in Swiss albino mice with reference to antioxidant activity. *Int J Pharmaceut Sci Drug Res.*; 3: 260- 264.
- Soong, Y. Y., & Barlow, P. J., 2004, Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry*, 88, 411–417.
- Sparg Sg, Light Me, Staden J. Van, 2004, Biological Activities And Distribution Of Plant Saponins. *Journal Of Ethnopharmacology*, 94:219-243.

- Stahl W, Berg H, Arthur J., 2002, Bioavailability And Metabolism. *Mol Aspects Med* 23: 39–100.
- Swanson B.G., 2003, in *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (Second Edition)
- Thombre, R., Parekh, F., Patil, N. 2014, Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Seed Extract of *Argyrea nervosa*. *Int J(eds.)*, *Handbook of Nanoscience, Engineering and Technology*.
- Trusheva B, Trunkova D, Bankova V, 2007, Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. *Chem Cent J*, 1, 1-4.
- Tungmunnithum D, Thongboonyou A, Pholboon A, Yangsabai A. 2018, Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview, *Medicines* (Basel), 5, 93-109.
- V. Duraipandiyar, M. Ayyanar, and S. Ignacimuthu 2006, “Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamil Nadu, India,” *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 6, no. 35.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- Verma A, Lohani A, Himanshi Joshi, Niti Yadav, and Neha Karki, 2014, “Nanotechnology-Based Cosmeceuticals,” *ISRN Dermatology*, vol. Article ID 843687, 14 pages.
- Wilson, E.O.; Regnier, F.E. 1971, The Evolution Of The Alarm-Defense System In The Formicine Ants. *Am. Nat.* 105, 279–289.
- Wink, M. 2015, Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary 69 Metabolites. *Medicines*, 2, 251–286.
- Yamada, Y.; Kuzuyama, T.; Komatsu, M.; Shinya, K.; Omura, S.; Cane, D.E.; Ikeda, H. 2015, Terpene Synthases Are Widely Distributed In Bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa* 112, 857–862.
- Yastioka, H., K. Nagai, K. Aota, And M. Fukumoto, 1988, Seasonal Changes Of Carbonhydrates Metabolism In Apple Trees. *Scientia Horticulturae* (36): 219-227.

7. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Yunus Emre Şahin
Doğum Yeri	Ankara
Doğum Tarihi	06.05.1988
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
Telefon	0505 039 54 36
E-Posta Adresi	yns_bio@hotmail.com

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Konya Selçuk Üniversitesi
Fakülte	Eğitim Fakültesi
Bölümü	Biyoloji Öğretmenliği
Mezuniyet Yılı	2010

Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Programı	Biyoloji
Mezuniyet Tarihi	