**T.C.**

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# COTINUS COGGYGRIA SCOP. VE PISTACIA VERA L. BİTKİLERİ KULLANARAK GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

**Fatma ÇİFTÇİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Anorganik Kimya Programı

Danışman

Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR

Nisan, 2019

**T.C.**

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# COTINUS COGGYGRIA SCOP. VE PISTACIA VERA L. BİTKİLERİ KULLANARAK GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Fatma ÇİFTÇİ tarafından hazırlanan tez çalışması çalışması 27.05.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Anorganik Kimya **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR

Yıldız Teknik Üniversitesi

Danışman

**Jüri Üyeleri**

Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR , Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Metin ÖZER, Üye
Marmara Üniversitesi _____

Doç. Dr. Fikriye TUNCEL ELMALI, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR sorumluluğunda tarafımdan hazırlanan Yeşil Sentez- Cotinus Coggygria Scop. ve Pistacia Vera L. Bitkileri Kullanarak Gümüş Nanopartikül Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Fatma ÇİFTÇİ

İmza

*Sevgili eşime*

*ve*

*aileme*

# TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmalarım süresince ilgisi, tecrübesi, yardım ve desteğiyle laboratuar çalışmalarımda ve her durumda yanımda olan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR'e yardımlarından dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmalarım esnasında, aldığım tüm derslerde fedakarlıklarını, desteklerini ve güler yüzlerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Nebahat DEMİRHAN ve Sayın Doç. Dr. Fikriye TUNCEL ELMALI'ya, antimikrobiyal çalışmalarımıza yardımlarından dolayı Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Dr. Mine AYDIN KURÇ'a, bilgi ve deneyimiyle beni yönlendiren benden önce doktora programından mezun olan kıymetli arkadaşım, Özge GÖKTUĞ'a ve yıllar sonra beni bu çalışmaları yapabilmem adına sonsuz yüreklendiren ve desteğini esirgemeyen eşim Ecz. Ertan ÇİFTÇİ'ye çok teşekkür ederim.

Ayrıca görev yaptığım okulda, üniversiteye gidiş gelişlerim sırasında hoş görüsüyle her zaman moral veren değerli Okul Müdürüm Sibel GÜZEL ve öğretmen arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Fatma ÇİFTÇİ

# İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ ..... IX
KISALTMA LİSTESİ ..... XI
TABLO LİSTESİ ..... XIII
ŞEKİL LİSTESİ ..... XV
ÖZET ..... XVIII
ABSTRACT ..... XX
1 Giriş ..... 1
1.1 Literatür Özeti ..... 1
1.2 Tezin Amacı ..... 2
1.3 Hipotez ..... 3
2 Antioksidanlar -Kuramsal Temeller ve Kaynak Araştırması ..... 4
2.2 Antioksidanlar - Antioksidanların Sınıflandırılması ..... 6
2.2.1 Doğal Antioksidanlar ..... 9
2.2.2 Sentetik Antioksidanlar ..... 14
2.2.3 Antioksidanların Sağlık İçin Önemi ..... 17
2.2.4 Antimikrobiyal Maddeler ..... 18
2.3 Çalışmamızda Kullanılan Bitkiler ve Genel Özellikleri ..... 19
2.3.1 Cotinus Coggygria Scop. Bitkisinin Genel Özellikleri ..... 19
2.3.2 Cotinus coggygria Scop. Bitkisi ile Yapılan Çalışmalar ve Kaynak Araştırması ..... 21
2.3.3 Pistacia Vera L. (Antep Fıstığı) Bitkisinin Genel Özellikleri ..... 22
2.3.4 Antep Fıstığı Bitkisi ile Yapılan Çalışmalar ve Kaynak Araştırması ..... 25
3 Nano Partiküller- Kuramsal Temeller ve Tanımlar ..... 27
3.1 Nanoteknolojinin Tanımı ve Amaçları ..... 27

3.2 Nanoteknolojinin Tarihçesi ..... 27
3.3 Nanoteknolojinin Kullanım Alanları ..... 29
3.4 Nanopartiküller ..... 30
3.5 Metal Nanotanecikler ve Kullanım Alanları ..... 31
3.6 Nanopartikül Sentezi ..... 32
3.6.1 Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Yöntemler ..... 32
3.6.2 Metal Nanopartikül Sentez Yöntemleri ..... 34
3.6.3 Biyosentez (Yeşil Sentez) ..... 36
3.6.4 Biyosentez Yöntemiyle Çeşitli Bitkilerden Nanopartikül Sentezine Ait Uygulamalar ..... 37
3.7 Gümüş Nanopartiküller ..... 41
3.7.1 Gümüşün Antimikrobiyal Özelliği ..... 42
3.7.2 Gümüş Nanopartiküllerin Kullanım Alanları ..... 43
3.8 Gümüş Nanopartiküller Kullanılarak Sulu Çözeltide Metal İyonlarının Kolorimetrik Saptanması ..... 44
4 Materyal ve Metodlar ..... 45
4.1 Kullanılan Cihazlar ..... 45
4.2 Kullanılan Bitkisel Materyaller ..... 45
4.3 Kullanılan Kimyasal Çözeltiler ..... 47
4.3.1 Antioksidan Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması ..... 47
4.3.2 Biyosentez Çalışmasında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması ..... 47
4.3.3 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi Çalışmasında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması (Kullanılan Besiyerleri) ..... 48
4.4 Metodlar ..... 48
4.4.1 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri ..... 48
4.4.2 FCR ile Toplam Fenolik Madde Tayini ..... 51
4.4.3 Antimikrobiyal Aktivite Tayin Metotları ..... 51

4.4.4 Bitki Özütü Kullanılarak Nanopartikül Sentez Yöntemleri ..... 53
5 Deneysel Çalışmalar ..... 56
5.1 Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması ..... 56
5.1.1 Cotinus Coggygria Scop. (Tetra) Bitkisi Yapraklarından (CCY) Ekstrelerin Hazırlanması ..... 56
5.1.2 Pistascia Vera L. (Antep fıstığı) Dış Kabuğu (PVLDK) Ekstrelerin Hazırlanması ..... 57
5.2 Ekstraktların Antioksidan Aktivitesi Tayini ..... 57
5.2.1 CCY ve PVLDK Ekstrelerinin Toplam İndirgeme Kuvveti Aktivitesi Tayini ..... 57
5.2.2 CCY ve PVLDK Ekstrelerinin DPPH Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi Tayini ..... 58
5.2.3 CCY ve PVLDK Ekstrelerinin Toplam Fenolik Madde Tayini ..... 59
5.3 CCY ve PVLDK Ekstreleri Kullanarak AgNP Sentezi (Biyosentez) ..... 60
5.3.1 Biyosentezde $AgNO_3$ Konsantrasyonunun Etkisi ..... 60
5.3.2 Bitki Ekstresi Konsantrasyonunun AgNP Sentezine Etkisi ..... 60
5.3.3 AgNP Sentezine Ortamın pH Değeri ve Reaksiyon Süresinin Etkisi ..... 61
5.3.4 AgNP Sentezine Reaksiyon Sıcaklığı, Süre ve pH değerinin Etkisinin İncelenmesi ..... 62
5.4 Sentezlenen AgNP'lere Metal İyonlarının Etkisinin İncelenmesi ..... 62
5.5 CCY ve PVLDK Ekstreleriyle Sentezlenen AgNP'lerin Antimikrobiyal Etkisinin İncelenmesi ..... 63
5.6 Karakterizasyon ..... 63
6 Bulgular ..... 64
6.1 CCY ve PVLDK Ekstrelerinin Toplam İndirgeme Kuvveti Aktivitesi Tayini ..... 64
6.2 CCY ve PVLDK Ekstrelerinin DPPH Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi Tayini ..... 69
6.3 CCY ve PVLDK Ekstrelerinde Toplam Fenolik Madde Tayini ..... 74

6.4 CCY ve PVLDK Sulu Ekstresi Kullanarak AgNP Sentezi (Biyosentez) ..... 75
6.4.1 AgNP'lerin Biyosentezine $AgNO_3$ Konsantrasyonu ve Sürenin Etkisi .. 75
6.4.2 AgNP'lerin Sentezine Bitki Ekstraktı Konsantrasyonun Etkisi ..... 78
6.4.3 AgNP Sentezine Ortamın pH Değeri ve Reaksiyon Süresinin Etkisi ..... 80
6.4.4 AgNP Sentezine Reaksiyon Sıcaklığı, Süre ve pH Değerinin Etkisinin İncelenmesi ..... 83
6.4.5 Sentezlenen AgNP'lere Metal İyonlarının Etkisinin İncelenmesi ..... 86
6.5 CCY ve PVLDK Ekstreleriyle Sentezlenen AgNP'lerin Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi ..... 89
6.6 Karakterizasyon ..... 90
6.6.1 UV-Vis Analizi ..... 90
6.6.2 FTIR Analizi ..... 91
6.6.3 TEM Analizi ..... 93
7 Sonuç ve Tartışma ..... 96
Kaynakça ..... 103
Tezden Üretilmiş Yayınlar ..... 116

# SİMGE LİSTESİ

| | |
|---|---|
| Au | Altın |
| Ag | Gümüş |
| $\alpha T^{\bullet}$ | Alfa takoferol radikali |
| Ca | Kalsiyum |
| Cd | Kadminyum |
| Co | Kobalt |
| Cu | Bakır |
| β | Beta |
| eV | Elektronvolt |
| Fe | Demir |
| g | Gram |
| GAE | Gallik Asit Eşdeğeri |
| $H_2O_2$ | Hidrojen peroksit |
| Hg | Civa |
| HCl | Hidroklorik asit |
| $HO^{\bullet}$ | Hidroksil radikali |
| HOCl | Hipokloröz asit |
| K | Potasyum |
| mL | Mililitre |
| mM | Milimolar |
| Na | Sodyum |
| NaOH | Sodyum hidroksit |
| Ni | Nikel |
| nm | Nanometre |

| | |
|---|---|
| $NO^{\bullet}$ | Nitrik oksit |
| $ROO^{\bullet}$ | Peroksil radikali |
| ROT | Reaktif oksijen türleri |
| $^{1}O_2$ | Singlet oksijen |
| $O_2^{\bullet -}$ | Süperoksit anyonu |
| Pb | Kurşun |
| Pt | Pilatin |
| Zn | Çinko |
| µg | Mikrogram |
| mcg | Mikrogram |
| µL | Mikro litre |
| UV | Mor ötesi |

# KISALTMA LİSTESİ

| | |
|---|---|
| $AgNO_3$ | Gümüş nitrat |
| AgNP | Gümüş nanopartikül |
| AgSD | Gümüş sülfadiazidin |
| BHA | Bütillenmiş hidroksi anisol |
| BHT | Bütillenmiş hidroksi toluen |
| CAT | Katalaz |
| CCY | Cotinus coggygria Scop. yaprağı |
| CFU | (Coloni-Forming Units) Koloni Oluşturan Birimler |
| CIP | Siprofloksasin |
| dk | dakika |
| DK | Pistacia Vera L. dış kabuğu |
| DK-su | Pistacia Vera L. dış kabuğu su ekstresi |
| DK-et | Pistacia Vera L. dış kabuğu etanol ekstresi |
| DNA | Deoksiribo nükleik asit |
| DVD | Digital Versatile Disc (Çok Amaçlı Sayısal Disk) |
| DPPH | 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil |
| $EC_{50}$ | Başlangıçtaki DPPH konsantrasyonunu %50 azaltmak için gerekli miktarı (etkin konsantrasyon) |
| ET | Elektron transferi metodu |
| FCR | Folin ciocalteu reaktifi |
| FTIR | Fouirer Transform Infrared |
| GSH | Glutatyon |
| GSSG-R | Glutatyon reduktaz |
| GSH-Px | Glutatyon peroksidaz |

| | |
|---|---|
| GST | Glutatyon- S- tranferaz |
| HAT | Hidrojen atomu transferi metodu |
| HIV | Human Immunodeficiency Virus (İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü) |
| LDL | Düşük yoğunluklu lipoprotein |
| M.Ö | Milattan önce |
| NP | Nanopartikül |
| NDGA | Nordihidroguareyetik asit |
| PVLDK | Pistacia Vera L. dış kabuğu |
| RER | Granüllü endoplazmik reticulum |
| PG | Propil gallat |
| RNA | Ribo nükleik asit |
| rpm | Revolutions per Minute(sabit bir eksende, 1 dakika içerisinde gerçekleştirilen dönüş/devir sayısı) |
| SE | Scattering Electrons (Saçılan Elektronlar) |
| SEM | Scanning Tunelling Microscop (Tarama Elektron Mikroskobu) |
| STM | Scanning Tunelling Microscop (Taramalı Tünelleme Mikroskobu) |
| SER | Granülsüz endoplazmik retikulum |
| SOD | Süperoksit dismutaz |
| SPR | Yüzey plazmon rezonans |
| TBHQ | Tersiyer bütilhidrokinon |
| TEA | Cotinus Coggygria Scop. yaprakları etanol ekstresi |
| TEM | Tunelling Electron Mikroskop (Tünelleme Elektron Mikroskobu) |
| TPU | Termoplastik Poliüretan |
| TSU | Cotinus Coggygria Scop. yaprakları sulu ekstresi |

# TABLO LİSTESİ


**Tablo 2.1** Enzimatik antioksidanlar ..... 10

**Tablo 2.2** Sentetik antioksidanlar (Türk Gıda Kodeksi'nden yararlanılarak hazırlanmıştır.)..... 17

**Tablo 2.3** Antep fıstığının ağırlıkça vitamin ve minarel içerikleri (Yavuz, 2011) .... 25

**Tablo 3.1** Nanoteknolojinin kullanım alanları (Yıldız, 2011) ..... 31

**Tablo 3.2** Bitkilerle nanopartikül sentezi çalışmaları (Kumar vd., 2013) ..... 40

**Tablo 4.1** Çalışmada kullanılan bitkilerin adı, familyası ve temin edildikleri bölgeler ..... 46

**Tablo 4.2** Antioksidan aktivite tayin metodları (İşbilir, 2008) ..... 49

**Tablo 5.1** CCY'den elde edilen ekstrelerin çalışmada kullanılan isimleri ve ekstraksiyon verimleri ..... 56

**Tablo 5.2** PVLDK'den elde edilen ekstrelerin çalışmada kullanılan isimleri ve verimleri ..... 57

**Tablo 6.1** Standart maddeler, CCY ve PVLDK etanol ekstraktlarının toplam indirgeme kuvveti aktivitesi tayininde konsantrasyon-absorbans değerleri ..... 65

**Tablo 6.2** CCY, PVLDK ekstresi ve standart maddelerin DPPH serbest radikalleri giderme kapasitesi tayininde bileşiklerin $EC_{50}$ değerleri ..... 69

**Tablo 6.3** CCY ve PVLDK ekstresi ve standart maddelerin DPPH serbest radikalleri giderme kapasitesi tayininde % inhibisyon değerleri..... 70

**Tablo 6.4** CCY ve PVLDK etil alkol ekstraktlarının gallik asit eşdeğeri olan fenolik madde miktarlarına ait değerler..... 74

**Tablo 6.5** CCY ekstresi ile hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorbans değerleri (0.2- 1.0 mL) ..... 78

**Tablo 6.6** CCY ekstresi ile hazırlanan AgNP çözeltilerine ait absorbans değerleri (0.1- 0.4 mL) ..... 78

**Tablo 6.7** Farklı konsantrasyonlarda (0.1- 5.0 mL) PVLDK ekstresi ile hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorpsiyon değerleri ..... 80

**Tablo 6.8** CCY ekstresi ile farklı pH değerlerinde hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerinin ölçülen absorbans değerleri (süre: 60 dk)..... 81

**Tablo 6.9** PVLDK esktresi ile farklı pH değerlerinde hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorbans değerleri ($\lambda_{max}$=424 nm, okunan değerler 1:5 oranında seyreltilmiştir. ) ..... 83

**Tablo 6.10** CCY ekstresi ile $pH_4$, $pH_5$ ve $pH_6$ aralığında hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerinin süre-sıcaklığa bağlı absorbans değerleri değişimi ..... 85

**Tablo 6.11** PVLDK ekstresi ile $pH_9$ ve $pH_{10}$ aralığında hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerinin süre-sıcaklığa bağlı absorbans değerleri değişimi ..... 86

**Tablo 6.12** 10 mM $AgNO_3$, CCY sulu ekstresi, PVLDK sulu ekstresi ve bu ekstrelerle sentezlenen AgNP'leri içeren kolloidal çözeltilerin mikroorganizmalara karşı oluşturduğu inhibisyon zonları (mm)..... 90

# ŞEKİL LİSTESİ


**Şekil 2.1** Antioksidanların hücredeki etkileri (Engin, 2007) ..... 8

**Şekil 2.2** Antioksidan çeşitleri (Akyüz, 2007) ..... 9

**Şekil 2.3** Askorbik asit ..... 11

**Şekil 2.4** β-karotenin yapısı ..... 11

**Şekil 2.5** Likopenin yapısı ..... 12

**Şekil 2.6** α-tokoferolün yapısı ..... 12

**Şekil 2.7** Flavonoidlerin genel yapısı (Shahidi ve Naczk, 1995) ..... 13

**Şekil 2.8** Sentetik antioksidanlar (İşbilir, 2008) ..... 15

**Şekil 2.9** Cotinus coggygria Scop. ağacı ve gelişimi ..... 20

**Şekil 2.10** Cotinus coggygria'nın yeryüzündeki dağılımı (URL-8) ..... 21

**Şekil 2.11** Pistacia Vera L. bitkisi ve gelişimi ..... 24

**Şekil 3.1** Nanoteknolojinin içerdiği bilim dalları (Yıldız, 2011) ..... 27

**Şekil 3.2** Nanomateryallerin logaritmik uzunlukları (Beykaya, 2015) ..... 28

**Şekil 3.3** Nanopartiküllerin yapısı (Yıldız, 2011) ..... 31

**Şekil 3.4** Nanopartiküllerin geçirimli elektron mikroskobu görüntüleri (a) nanoçubuk şeklindeki (b) çekirdek- silika kabuk şeklindeki (c) içi boşluk olan nanopartiküller (Gürmen, vd., 2018; URL-17) ..... 32

**Şekil 3.5** Nanopartikül sentez yöntemleri ..... 33

**Şekil 3.6** Gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi (Raveendran, Fu ve Wallen, 2003) ..... 36

**Şekil 3.7** Metal nanotanecik türleri ve biyoteknolojideki uygulamaları ..... 37

**Şekil 3.8** Çeşitli ağır metallere AgNP seçicilik testinin fotoğrafı (Firdaus vd., 2017). ..... 44

**Şekil 4.1** Çalışmada kullanılan CCY görseli ..... 46

**Şekil 4.2** Çalışmada kullanılan PVLDK görseli ..... 46

**Şekil 4.3** DPPH radikalinin yapısı ve antioksidan ile verdiği reaksiyon ..... 51

**Şekil 4.4** Nanopartikül sentez mekanizmaları ($M^+$, metal iyon) (Kumar vd., 2016) ..... 54

**Şekil 4.5** Metal iyonlarının biyolojik olarak indirgenmesinden sorumlu olan ve bitki özünde bulunan kimyasal bileşenler (Dubey, vd., 2009; Huang, vd., 2007). ..... 54

**Şekil 4.6** Tablo 3.2 ve bölüm 3.6.4' de belirtilen, biyosentezde kullanılan bazı bitki çeşitleri ..... 55

**Şekil 6.1** Standart maddeler, CCY ve PVLDK etanol ekstraktlarının toplam indirgeme kuvveti aktivitesi tayininde konsantrasyon-absorbans veri grafiği ..... 65

**Şekil 6.2** BHA'nın indirgeme gücü tayinine ait absorpsiyon eğrileri..... 66

**Şekil 6.3** BHT'nin indirgeme gücü tayinine ait absorpsiyon eğrileri..... 66

**Şekil 6.4** E vitaminin indirgeme gücü tayinine ait absorpsiyon eğrileri..... 67

**Şekil 6.5** Askorbik asitin indirgeme gücü tayinine ait absorpsiyon eğrileri..... 67

**Şekil 6.6** CCY etanol ekstraktının indirgeme gücü tayinine ait absorpsiyon eğrileri..... 68

**Şekil 6.7** PVLDK etanol ekstraktının indirgeme gücü tayinine ait absorpsiyon eğrileri..... 68

**Şekil 6.8** Standart maddeler, CCY ve PVLDK etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikalleri giderme kapasitesi tayininde konsantrasyon-inhibisyon veri grafiği ..... 70

**Şekil 6.9** BHA'nın DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayinine ait absorpsiyon eğrileri ..... 71

**Şekil 6.10** BHT'nin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayinine ait absorpsiyon eğrileri ..... 71

**Şekil 6.11** Askorbik asit'in DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayinine ait absorpsiyon eğrileri ..... 72

**Şekil 6.12** E vitamininin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayinine ait absorpsiyon eğrileri ..... 72

**Şekil 6.13** CCY etanollü ekstresinin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayinine ait absorpsiyon eğrileri ..... 73

**Şekil 6.14** PVLDK etanollü ekstresinin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayinine ait absorpsiyon eğrileri..... 73

**Şekil 6.15** Bitki ekstraktlarının gallik asit eşdeğeri olan fenolik madde içeriklerinin hesaplandığı toplam polifenol tayini kalibrasyon eğrisi ..... 74

**Şekil 6.16** CCY sulu ekstresi (a) ve PVLDK sulu ekstresi (b) kullanarak sentezlenen AgNP'lerin sentezine ait şematik diyagram ..... 75

**Şekil 6.17** CCY ekstresi ile AgNP'lerin biyosentezinde reaksiyon süresinin etkisinin incelenmesine ait süre-absorpsiyon grafiği (5mM $AgNO_3$ kullanılmıştır) ..... 76

**Şekil 6.18** CCY ekstresi ile AgNP'lerin biyosentezinde reaksiyon süresinin etkisinin incelenmesine ait süre-absorpsiyon grafiği (10mM $AgNO_3$ kullanılmıştır) ..... 76

**Şekil 6.19** PVLDK ekstresi ile AgNP'lerin biyosentezinde reaksiyon süresinin etkisinin incelenmesine ait süre-absorpsiyon grafiği (5mM $AgNO_3$ kullanılmıştır) ..... 77

**Şekil 6.20** PVLDK ekstresi ile AgNP'lerin biyosentezinde reaksiyon süresinin etkisinin incelenmesine ait süre-absorpsiyon grafiği (10mM $AgNO_3$ kullanılmıştır) ..... 77

**Şekil 6.21** CCY Ekstresi ile hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorpsiyon spektrumları (0.2-1.0 mL) ..... 79

**Şekil 6.22** CCY ekstresi ile hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorpsiyon spektrumları (0.1-0.4 mL) ..... 79

**Şekil 6.23** Farklı hacimlerde (0.1- 5.0 mL) PVLDK ekstresi ile hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerine ait görseller ve bu çözeltilere ait absorpsiyon spektrumları ..... 80

**Şekil 6.24** CCY ekstresi ile farklı pH değerlerinde hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerin absorpsiyon spektrumları ve çözeltilerin görselleri ..... 81

**Şekil 6.25** PVLDK ekstresi ile farkı pH değerlerinde ve farklı bitki ekstresi miktarları ile (0.4-0.5 mL) sentezlenen AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorpsiyon spektrumları ..... 82

**Şekil 6.26** PVLDK ekstresi ile farklı pH değerlerinde sentezlenen AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorpsiyon spektrumları ve elde edilen çözeltilerin görselleri ..... 83

**Şekil 6.27** CCY ekstresi ile $pH_{4,}$ $pH_5$ ve $pH_6$ ortamında hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerinin süre-sıcaklık- pH değerine bağlı olarak alınan absorpsiyon eğrileri ve ilgili görseller ..... 84

**Şekil 6.28** PVLDK ekstresi ile $pH_9$ ve $PH_{10}$ değerlerinde hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerinin-sıcaklık ve pH değerlerine bağlı olarak alınan absorpsiyon spektrumları ve çözeltilere ait görseller (süre: 3 saat)..... 86

**Şekil 6.29** (a) Çalışmamızda kullandığımız CCY ekstrelerinin redoks reaksiyonu ile metal tuzları kullanılarak AgNP oluşumunun şematik gösterimi. (b) Çalışmamızda kullanılan CCY ekstresi ile elde edilen AgNP kolloidal çözeltilerinde metal iyonlarının kolorimetrik tespiti fotoğrafı ..... 88

**Şekil 6.30** (a) Çalışmamızda kullandığımız PVLDK ekstrelerinin redoks reaksiyonu ile metal tuzları kullanılarak AgNP oluşumunun şematik gösterimi. (b) Çalışmamızda kullanılan PVLDK ekstresi ile elde edilen AgNP kolloidal çözeltilerinde metal iyonlarının kolorimetrik tespiti fotoğrafı ..... 88

**Şekil 6.31** (1) TSU (CCY sulu ekstresi), (2) TSU+$AgNO_3$ (AgNP), (3) PVLDK sulu ekstresi + $AgNO_3$ (AgNP), (4) 10mM $AgNO_3$'ün mikroorganizmalar üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları içeren disklerin fotoğrafları ..... 89

**Şekil 6.32** CCY sulu ekstresine (a) ve optimum koşullarda sentezlenen AgNP'lere (b) ait FTIR spektrumları ..... 92

**Şekil 6.33** PVLDK sulu ekstresine (a) ve optimum koşullarda sentezlenen AgNP'lere (b) ait FTIR spektrumları ..... 93

**Şekil 6.34** CCY ekstresi ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü ..... 94

**Şekil 6.35** PVLDK ekstresi ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü ..... 95

# ÖZET

## Cotınus Coggygrıa Scop. ve Pistacia Vera L. Bitkileri Kullanarak Gümüş Nanopartikülerin Yeşil Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi

Fatma ÇİFTÇİ

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR

Yeşil kimya olarak adlandırılan biyosentez yöntemi, metalik nanopartikül sentezi için kullanılan bir yöntemdir. Metal nanopartiküllerin biyo-sentezinde bitki özütleri; maya, bakteri, mantar, gibi maddeler indirgen olarak kullanılmaktadır. Yeşil sentez yöntemiyle metal nano partikül sentezi, basit ve daha az toksik olması nedeniyle çevre dostu bir yöntemdir.

Çalışmamızda, Anacardiaceae familyasına ait Cotinus coggygria Scop. bitkisi yaprakları (CCY) ve Pistacia Vera L. dış kabuklarının (PVLDK) sulu ekstresi kullanılarak gümüş nanopartiküllerin (AgNP'ler) yeşil sentezi gerçekleştirilmiştir. Yeşil sentez için belirlenen optimum koşullarda(CCY için; $AgNO_3$ konsantrasyonu: 10mM, ekstrakt hacmi: 0.15 mL, reaksiyon süresi: 60 dk ve ortam pH'ı $pH_6$, PVLDK için; 10mM $AgNO_3$, ekstrakt hacmi: 0.5 mL, reaksiyon süresi: 180 dk ve $pH_{10}$ ) bitki ekstrelerinin, Ag iyonlarını AgNP'lere indirgedikleri reaksiyon sonucu gözlenen renk değişimiyle (sarıdan kahverengiye) izlendi. Sentezlenen AgNP'ler CCY ve PVLDK için

sırasıyla 433 ve 416 nm dalga boyunda verdikleri absorpsiyon pikleri ile karakterize edildi ve uzun süre stabil kaldıkları saptandı.

AgNP'leri karakterize etmek için ayrıca TEM ve FTIR analizleri yapıldı. FTIR ölçümleri, fenolik grupların AgNP'lerin sarılması ve stabilizasyonunda rol aldığını doğruladı ve TEM mikrografı AgNP'lerin farklı morfolojik yapılarda olduğunu gösterdi. Bu çalışmada ayrıca AgNP'lere metal iyonlarının etkisi incelendi. Çeşitli hacimlerde metal tuzu ilavesi yapılan CCY ve PVLDK AgNP kolloidal çözeltilerinin absorpsiyon spektrumları ve reaksiyon çözeltilerinin renkleri incelendiğinde; CCY ekstresi ile elde edilen AgNP'lerin kullanılan metal tuzlarından (Ca, Cd, Co, Fe(II), Fe(III), Hg, K, Na, Ni, Pb, Zn,) sadece $Cu^{2+}$ ve $Hg^{2+}$ iyonlarını indirgediği, PVLDK ekstresiyle sentezlenen AgNP'lerin kolloidal çözeltisinin ise kullanılan tüm metal tuzları (Cd, Fe(II), Fe(III), Hg, Ni, Pb, Zn, Cu) ile renginin açıldığı gözlenmiştir. Bu sonuç bize PVLDK AgNP'lerinin çalışılan bu metal tuzların kolorimetrik tayinlerinde kullanılabileceğini, CCY ekstresinden elde edilen AgNP'lerin ise $Cu^{2+}$ ve $Hg^{2+}$ iyonlarının kantitatif analizlerinde kullanılabileceğini göstermektedir. Antibakteriyel çalışmalar sonucunda PVLDK sulu ekstresinde, antimikrobiyal etki gözlenmemiş ve PVLDK sulu ekstraktı ile sentezlenen AgNP'lerin ise bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. CCY yapraklarının sulu ekstraktı ve sentezlenen AgNP'lerin ise tüm bakterilerilere karşı çok iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır ve antibakteriyel uygulamalar için önemli bir biyo-kaynak/biyomateryal olabileceğini göstermiştir. Ayrıca çalışmamızda, CCY ve PVLDK etanol ekstrelerinin antioksidan aktivite tayinleri 1,1-difenil-2- picrilhidrazil (DPPH) ve Toplam İndirgeme Gücü yöntemlerine göre çalışılmış, BHT, BHA, Askorbik asit ve E vitamini gibi standartların antioksidan aktiviteleri ile karşılaştırılmıştır.

Sonuçlar kullanılan bitki ekstrelerinin doğal sağlık ürünleri için kaynak olarak büyük bir potansiyele sahip olduklarını ve önemli bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceklerini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Cotinus coggygria Scop., Pistacia Vera L., gümüş nano partikül, biyosentez, antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivite.

# ABSTRACT

## Green Synthesis of Silver Nano Particles Synthesis Using Cotinus Coggygria Scop. and Pistacia Vera L. Plants, Their Characterization And Investigation of Antimicrobial Properties

Fatma ÇIFTÇI

Department of Chemistry

Msc. Thesis

Advisor: Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR

Biosynthesis method, called green chemistry, is a method used for the synthesis of metallic nanoparticles. In this method substances such as plant extracts, yeast, bacteria, and mushrooms are used as reducing agents. The synthesis of metal nano particle by green synthesis is an environmentally friendly method because it is simple and less toxic. In our study, green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) was carried out aqueous extract of Cotinus coggygria Scop plant leaves (CCY) and aqueous extract of Pistacia Vera L. outer shells (PVLDK). It was observed that the plant extracts reduced the Ag ions to AgNPs under the optimum conditions for green synthesis (for CCY; $AgNO_3$ concentration: 10 mM, extract volume: 0.15 ml, reaction time: 60 min., and medium pH : $pH_6$, for PVLDK; 10mM $AgNO_3$, the extract volume: 0.5 ml, reaction time: 180 min. and $pH_{10}$) with color change (yellow to brown). The synthesized AgNPs were characterized by their absorption peaks at a wavelength of 433 and 416 nm for CCY and PVLDK, respectively, and were stable for a long time. TEM and FTIR analyzes were also performed to characterize AgNPs. FTIR measurements confirmed

that phenolic groups were involved in wrapping and stabilizing AgNPs, and TEM micrographs showed that AgNPs were of different morphological structures. In this study, the effect of metal ions on AgNPs was also investigated. So various volumes of metal salt solution were added to the CCY and PVLDK AgNP-colloidal solutions and then the absorption spectra and the color of the reaction solutions were examined. It was observed that the AgNPs obtained with CCY extract were reduced only $Cu^{2+}$ and $Hg^{2+}$ ions from the used metal salts (Ca, Cd, Co, Fe, Fe, Hg, K, Na, Ni, Pb, Zn), and the colodial solutions of AgNPs synthesized with PVLDK extract were discolored with all used metal salts(Cd, Fe(II), Fe(III), Hg, Ni, Pb, Zn, Cu). This result shows us that PVLDK AgNPs can be used for colorimetric determination of these metal salts and AgNPs obtained from CCY extract can be used in quantitative analysis of only $Cu^{2+}$ and $Hg^{2+}$ ions. As a result of antibacterial studies, no antimicrobial effect was observed in PVLDK aqueous extract and AgNPs synthesized with PVLDK aqueous extract showed antimicrobial activity against bacteria. The aqueous extract of CCY leaves and the synthesized AgNPs have been shown to exhibit very good antimicrobial activity against all bacteria and have shown to be an important bio-source / biomaterial for antibacterial applications. In our study, the antioxidant activity of CCY and PVLDK ethanol extracts were studied according to 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH) and total reduction power methods and compared with antioxidant activities of standards such as BHT, BHA, ascorbic acid and vitamin E . The results show that plant extracts have great potential as a source for natural health products and can be used as an important source of antioxidants.

**Keywords:** Cotinus coggygria Scop., Pistacia Vera L., silver nanoparticle, biosynthesis, antimicrobial activity, antioxidant activity.

# 1
# Giriş

## 1.1 Literatür Özeti

Oksijen kaynağı olan bitkiler, canlıların yaşamını sürdürebilmesi için gerekli besinleri sağlayan ve insan sağlığını koruyan en temel canlı varlıklardır. İnsanlık tarihine bakıldığında binlerce yıl önce yaşamış olan insanlar bitkilerle hastalıklarını tedavi etmişler ve sağlıklarını korumada bitkilerden yararlanmışlar. Aynı zamanda bitkiler, antik çağlardan beri gıdalara tat, koku ve renk vermede de kullanılmışlar. Bitkilerin gıdalarda kullanımı ile ilgili bilinen ilk yazılı kayıt, Eski Mısır'da yapılan kazılarda ortaya çıkarılmıştır. İlaç endüstrisi hastalıklara karşı çeşitli ilaçları geliştirmeden önce, birçok bitki ilaç olarak kullanılmıştır (Abay, 2006). Yaşadığımız yüzyılda ise hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların birçoğunun kimyasal olarak üretilmesine karşın, son yıllarda bitkilerden elde edilen ilaç yapımı ve kullanımına doğru büyük bir yönelim görülmektedir (Ünal, 2006). Tıbbi amaçla kullanılan bitkilerin sayısı sürekli artış halinde olup bitkilere olan talebin artmasıyla birlikte tedavi edici bitkilerin tarımına ve geliştirilmesine yönelik çalışmalar hızla artmıştır. Özellikle 1940 yılından bugüne kadar, birçok bitkinin antimikrobiyal özellikleri araştırmalara konu olmuş. İnsanlar ilk çağlardan bu yana içinde bulunduğu atmosferde varoluşlarını tanımaya çalışmışlar, yaşamlarını sürdürebilmeleri adına içinde bulundukları koşullara göre doğayı araştırmışlardır. Yaşamlarını sürdürebilmek için insan beyni üstün öğrenme becerisi ile önce kesici aletleri bulmuş, ateşi keşfetmiş ve sonrasında ortaya çıkan büyük bilişsel devrim ile büyük bir sıçrama sergileyerek, kollektif çalışmayı ve nihayetinde tarımsal devrim ile yaşam mücadelesi verirken bir taraftan da günümüze kadar ulaşan birçok bilgi birikimine ulaşılmıştır. Geçtiğimiz beş yüz yıl insan hakimiyetinin daha önce görülmemiş olağanüstü yükselişine tanık olmuştur. Bu yükseliş, bilimi ortaya çıkarmıştır. Bilimdeki çeşitlilik ve gelişmeler sonucu; yaşamımızı kolaylaştıran birçok ürün ortaya çıkarılmış ve tüketimin artışına paralel olarak ta teknoloji denilen büyük bir alanın gelişimi de kaçınılmaz hale gelmiştir.

Nanoteknoloji de gelişmekte olan yeni bir teknoloji türüdür. Maddeye kimyasal, fiziksel ve biyolojik özellikler kazandırma amacıyla bulunmuş en yeni teknolojik alanlarından

biridir (Beykaya ve Çağlar, 2015). Nanoteknoloji ile birçok üstün niteliklere sahip malzemeler elde etmek içinde bulunduğumuz yüzyılda mümkündür. Nanobilim ilk kez Nobel Fizik Ödülü sahibi Richard Feynman tarafından 1959 yılında gündeme getirilmiştir. 1986 yılında ise Drexler nanoteknolojinin imkanlarını tartışmaya başlamıştır. Nanoteknolojinin geşimi ile birlikte nanotüp ve nanopartikül gibi birçok nano boyutta ürünler üretilmeye başlanmıştır (Hanks, caruso ve Zang, 2015). Nano boyutta üretilen malzemeler; katalizörler, optik malzemeler, ilaç sektörü de dahil olmak üzere pek çok alanda uygulama sahası bulmuştur. Bu malzemelerin kullanım alanları, sentezlenen nanopartiküllerin boyutuna ve sentezde kullanılan malzemelere göre değişkenlik gösterebilir (Haverkamp ve Marshall, 2009). Metal kullanılarak sentezlenen nanopartiküllerden biri olan gümüş nanopartiküller, antimikrobiyal özelliği ile biyomedikal cihazlarda ve kozmetik sanayinde, paketleme, gıdaların raf ömrünü uzatma gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Son yıllarda nanopartikül üretiminde özellikle gümüş, titanyum, altın, demir ve çinko gibi metallerle sentezlen nanopartiküllerin antmikrobiyal özellikleri konusunda kapsamlı çalışmalar yapılmaktadır.

Çalışmamızda kullandığımız Cotinus coggygria Scop. ve Pistacia Vera L. bitkileri Anacardiaceae familyasının birer türleridir. Cotinus coggygria Scop. Güney Avrupa, Akdeniz, Moldova ve Kafkasya'dan Orta Çin ve Himalayalara dek geniş bir yayılıma sahipken (Novaković vd., 2007), Pistacia Vera L. (Türkiye'de bilinen adı Antep fıstığı) bitkisinin kökeni Orta ve Batı Asya'nın kurak bölgeleri olmakla beraber çoğunlukla Akdeniz havzasında yetişmektedir. Literatür incelendiğinde fenolik bileşikler içermelerinden ötürü, Cotinus coggygria Scop. ve Pistacia Vera L. bitkilerinde birçok antioksidan aktivite ve antimikrobiyal etkinlik tayini çalışmaları yapıldığı görülmüştür. Ancak Cotinus coggygria Scop. yaprakları ve Pistacia Vera L. bitkisinin dış kabuklarıyla yapılan yeşil sentez, bu çalışmada bir ilktir.

## 1.2 Tezin Amacı

Bu çalışmada nanoteknolojinin gelişimiyle birlikte, bitki özütleri kullanılarak gümüş nanopartiküllerin(AgNP) sentezi ve sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal etkinliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca bu çalışma hazırlanırken uluslararası literatürlerler de incelenerek yeşil sentez yoluyla nanopartikül sentezinin avantaj ve dezavantajları gibi çok konu araştırılmıştır. Çalışmamız; Cotinus

Coggygria Scop. yaprakları ve Pistacia Vera L. bitkisinin atık olarak çıkarılan dış kabuğunun antioksidan ve antimikrobiyal etkilerini araştırmak ve fenolik bileşiklerini değerlendirmek, daha da önemlisi sulu gümüş nitrat ($AgNO_3$) ile Cotinus Coggygria Scop. yaprakları ve Pistacia Vera L. dış kabuğu kullanılarak basit ve çevre dostu gümüş nanopartiküller (yeşil sentez) sentezlemek amacıyla yapılmıştır. Sentez yoluyla biyo-indirgenmiş gümüş nanoparçacıklar, UV-Vis, FTIR ve TEM teknikleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Sonuçlar; her bitki numunesi için gümüş nanoparçacıkların boyutlarının 100 nm'den küçük olduğunu, farklı morfolojik yapılarda ve stabilitesinin yüksek olduğunu göstermiştir. Teknolojik açıdan elde edilen gümüş nanoparçacıklar biyomedikal alanda potansiyel birçok uygulamaya sahiptir. Bu basit yöntem; maliyeti düşük, tıbbi-farmasötik uygulamalar için uygun ve büyük ölçekli ticari üretimler gibi birçok avantaja sahiptir.

## 1.3 Hipotez

Nanoteknolojinin pek çok endüstriyel alanda kullanılmaya başlanmasıyla nanopartikül sentezi de önem kazanmıştır. Doğada bulunan birçok bitki türüyle metallerin oluşturduğu nanopartiküllerle ilgili yapılmış pek çok çalışmalar mevcuttur. Nanoteknolojiyle bitkilerin topraktan aldığı elemenlerin emilim yeteneğinin artırılması ve tarımsal hastalıkların tedavisinde kolaylıklar sağlayacağı belirtilmektedir (Anonim, 2008). Nanoteknoloji alanındaki gelişmelerle önümüzdeki yıllarda bir milyon filmi alabilen DVD'lerin yapılabileceği, canlı vücudu içerisindeki hasta dokuyu bulabilen ve iyileştirebilen hatta cerrahi işlemler yapabilebilen nano robotlar yapılabileceği, insan beyninin nano hafızalarla kapasitesinin artırılabileceği, kirliliği önleyen nanoparçacıklar sayesinde sanayi atıklarının çevreye çok daha az zarar vereceği düşünülmektedir (Beykaya ve Çağlar, 2015). Bu çalışma ile bitki özütleri kullanarak gümüş nanopartikül üretmek için çevre dostu, hızlı ve düşük maliyetli yöntem sunuyoruz.

# 2
# Antioksidanlar -Kuramsal Temeller ve Kaynak Araştırması

Canlıların vücudunda dış çevreden gelen fiziksel etkenler nedeniyle fizyolojik ya da patolojik reaksiyonlar sonucu sürekli bir radikal yapımı söz konusudur (Delibaş ve Özcankaya, 1995). Hücresel boyutta da serbest radikaller yüksek miktarda ve çeşitlilikte üretilmekte olup, eşleşmemiş elektronunun kazandırdığı bu reaktiflik lipid, protein, DNA ve nükleotid gibi biyolojik materyale de zarar verebilmektedir (Diplock, 1998).

Organizmada fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar oluşurken moleküller ile elektron alışverişi yaparak onların yapısını bozan moleküllere "serbest radikaller", "reaktif oksijen partikülleri" bir başka deyişle de "oksidan moleküller" denilir. En önemli oksidanlar hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit ve süperoksitlerdir (Kehrer, 1993; Akkuş, 1995). Serbest radikaller 3 temel mekanizma ile oluşmaktadır (Cheeseman ve Slater, 1993):

1. $O_2 + e^- \rightarrow O_2\bullet^-$
2. $Pr + OH\bullet \rightarrow Pr\bullet^+ + OH^-$
3. $CCl_4 + e^- \rightarrow CCl_4^- \rightarrow CCl_3\bullet + Cl^-$

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijen kaynaklı olanlarıdır. Oksijen (O); karbon (C), hidrojen (H), nitrojen (N) ve kükürt (S) ile birlikte, organik moleküllerin temel yapısal atomlarını oluşturduğu ve aerobik canlılarda da enerji metabolizmasına katıldığı için bütün canlılar tarafından vazgeçilmez bir elementtir (Diplock,1998). Canlılarda bulunan en önemli serbest radilkaller oksijen tarafından oluşmaktadır. Oksijen, eşleşmemiş iki elektron barındırdığı için diradikal olarak adlandırılır ve böylece başka serbest radikallerle kolayca reaksiyona girebilir. Oksijen, farklı etkenlerin etkisiyle ya da yüksek konsantrasyonda bulunduğu yerlerde toksik olan reaktif oksijen türleri (ROS) adı verilen serbest radikal kaynaklarını yani süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) radikali, hidrojen peroksit ($H_2O_2$), hidroksil radikali ($OH^\bullet$), hipokloröz asit (HOCl), singlet oksijeni ($^1O_2$) oluşturabilmektedir. Bu durum organizma için oldukça tehlikelidir (Mandal, Yadav ve Nema, 2009).

Bir serbest radikal 3 yolla ortaya çıkabilir:

1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşurlar (Bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır).
2. Normal bir molekülden tek bir elektronu kaybederek veya bir molekülün bölünmesi yoluyla oluşurlar. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır.
3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.

Serbest radikallerin bağışıklık sistemi hücrelerinden olan makrofaj, nötrofil gibi hücrelerin savunma mekanizmasında rolü olsa da, vücutta fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır. Serbest radikaller; hücrelerde DNA, lipit, protein ve karbonhidratlar gibi yapıların bozulmalarına neden olurlar (Altan vd., 2006). Reaktif oksijen türleri (ROT), çeşitli serbest radikallerin oluştuğu zincir reaksiyonları başlatabilirler ve hücrede peroksil (peroksi) radikalleri ($ROO^{\bullet}$), tiyil radikalleri ($RS^{\bullet}$), alkoksil (alkoksi) radikalleri ($RO^{\bullet}$) ve karbon merkezli organik radikaller ($R^{\bullet}$) gibi önemli serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar. Tiyil radikalleri oksijenle tekrar reaksiyona girip sülfenil ($RSO^{\bullet}$) veya tiyil peroksil ($RSO_2^{\bullet}$) gibi radikalleri de meydana getirebilirler (Akkuş, 1995, URL-1). Sigara ve alkol, kirli su ve hava, oksidatif stres, çeşitli virüsler, aşırı güneş ışınlarına maruz kalma, X ışınları ve kozmik ışınlar, egzoz dumanı içerisindeki zehirli gazlar ve ağır metallerin organizmada serbest radikalleri oluşturabileceği bilinmektedir (Sies, 1991'den aktaran Saral, Ö., 2013). Canlı organizması, metabolitik reaksiyonlar esnasında ve patolojik durumlarda serbest radikalleri üretir. Serbest radikaller hücrelerdeki savunma mekanizmaları ile dengelenmektedir. Ancak bazı durumlarda aşırı oksijen konsantrasyonuna maruz kalma, serbest radikallere dönüşen toksinler, fagositik aktivitelerdeki düzensizlikler, diyet yapıldığı durumlarda ve antioksidan bileşiklerin vücuda yetersiz alınması gibi nedenlerden ötürü hücre içinde çok fazla reaktif oksijen türleri oluşabilir. Hücrede hücresel savunma mekanizmaları tarafından yok edilenden daha fazla reaktif oksijen türleri oluştuğunda "oksidatif stres" adı verilen durum oluşur. "Oksidatif stress, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar yönüne kayması ve hücre hasarı oluşması" şeklinde tanımlanmıştır (Halliwell, 1994). Oksidatif stresin ROT'ların neden olduğu hücre hasarları sonucu birçok hastalığa sebep olduğu düşünülmektedir.

Radikaller, serbest oksijen radikalleri (SOR) ve oksijen içermeyen radikaller olmak üzere iki türlüdür.

Oksidatif stresin en önemli nedenlerinden olan reaktif oksijen türleri (ROT), nitrik oksit ($NO^{\bullet}$), hidroksil radikali ($HO^{\bullet}$), süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet -}$), peroksil radikali ($ROO^{\bullet}$) ve radikal olmayan hidrojen peroksit ($H_2O_2$) gibi serbest radikaller ;

- DNA bozulması, protein yapısında hasar
- Enzim aktiviteleri ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler
- Hücre ortamının tiyol/disülfit oranının değişmesi
- Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü bileşiklerde oksidasyon-redüksiyon olaylarının bozulması gibi hasarlar, hücre ve dokulara verdiği hasarların bazılarıdır (Onat, Emerk ve Sözmen, 2002).

Canlı fizyolojisinde oksidatif stresin meydana getirdiği hasar sebebiyle son yıllarda antioksidanlara olan ilgi oldukça artmıştır. Antioksidan maddelerin veya tüketmek suretiyle vücuda alınan besin maddelerinin antioksidan özelliğinin ne kadar etkili olduğunu belirlemek ve karşılaştırmak için çeşitli tayin yöntemleri mevcuttur (Prior, Wu ve Schaich, 2005). Bu amaçla kullanılan yöntemlerden biri 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) antioksidan kapasite tayin yöntemidir.

## 2.2 Antioksidanlar - Antioksidanların Sınıflandırılması

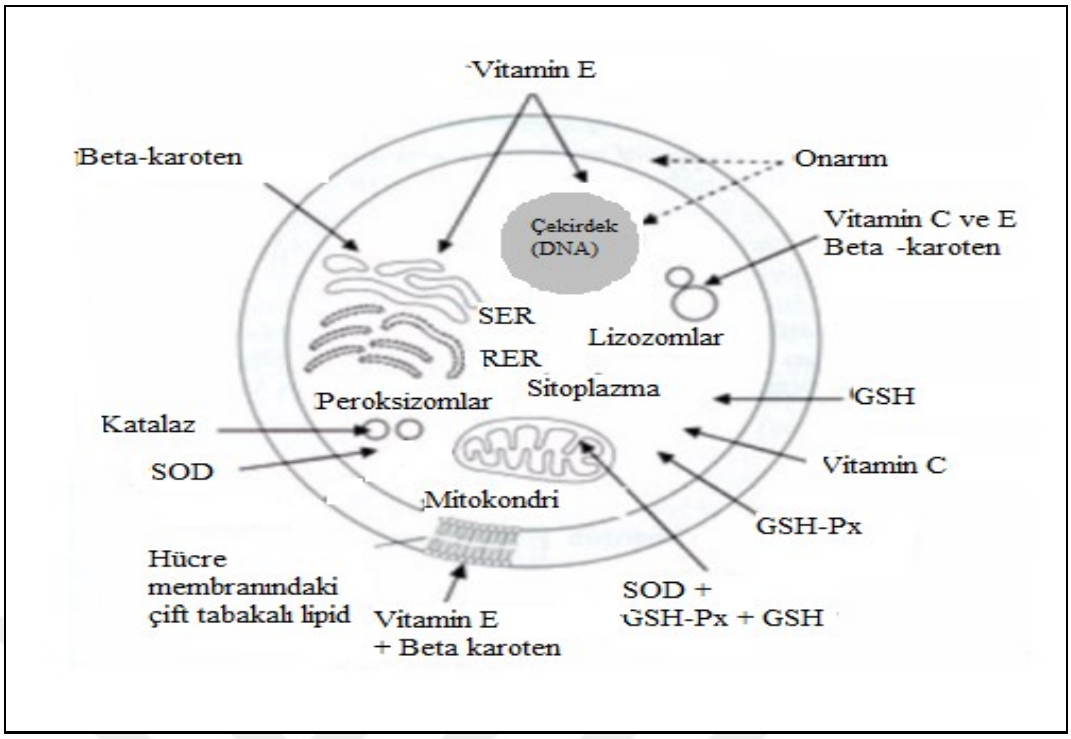
Gıdalardaki antioksidanlar, "yağlar gibi kolay okside olabilen materyallerin oksidasyonunu geciktirebilen ya da önleyebilen maddeler" olarak tanımlanmıştır. Diğer bir tanım ise "okside olabilen enzimlerin tepkimelerinde işlenen maddelere (substrat) nazaran düşük konsantrasyonlarda bulunan ve substratların oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddeler" olarak bilinmektedir (Becker, 2004). Radikal oksijen türleri oluşumu ve bunlardan meydana gelen hasarın önlenmesine "antioksidan savunma sistemleri" veya "antioksidanlar" adı verilir. Yapılan çalışmalarda vücudumuzu serbest oksijen radikallerine karşı korumada fenolik bileşiklerce zengin doğal meyve ve sebzelerin reaktif oksijen türlerine karşı koruyucu etkilerinin, içerdikleri fenolik asitler, glutatyon, askorbik asit, α-tokoferol, flavonoidler ve karotenoidler gibi doğal bileşiklerden kaynaklandığı bilinmektedir (Halvorsen vd., 2002' den aktaran Bektaş, 2011). Savunma sisteminin düzenli ve dengeli bir beslenmeyle ve alınacak antioksidan bileşikler ile desteklenmesi gerekmektedir.

Antioksidanlar vücutta doğrudan etkin olabileceği gibi beslenme yoluyla da alınırlar. Başlıca antioksidan kaynağını bitkiler oluşturmaktadır. Baharatlar, bitkisel çaylar, yağlı tohumlar, meyveler ve sebzelerin antioksidan özelliklerinin içeriklerindeki fenolik bileşikler ve özellikle de flavonoidlerin yapısından kaynaklandığı gösterilmiştir (Diri, 2006'den aktaran Bektaş, 2011).

Antioksidanların oksidatif reaksiyonlara karşı gösterdikleri etki farklı şekillerde olabilir. Antioksidanlar 4 farklı şekilde etki etmektedirler (Akkuş, 1995):

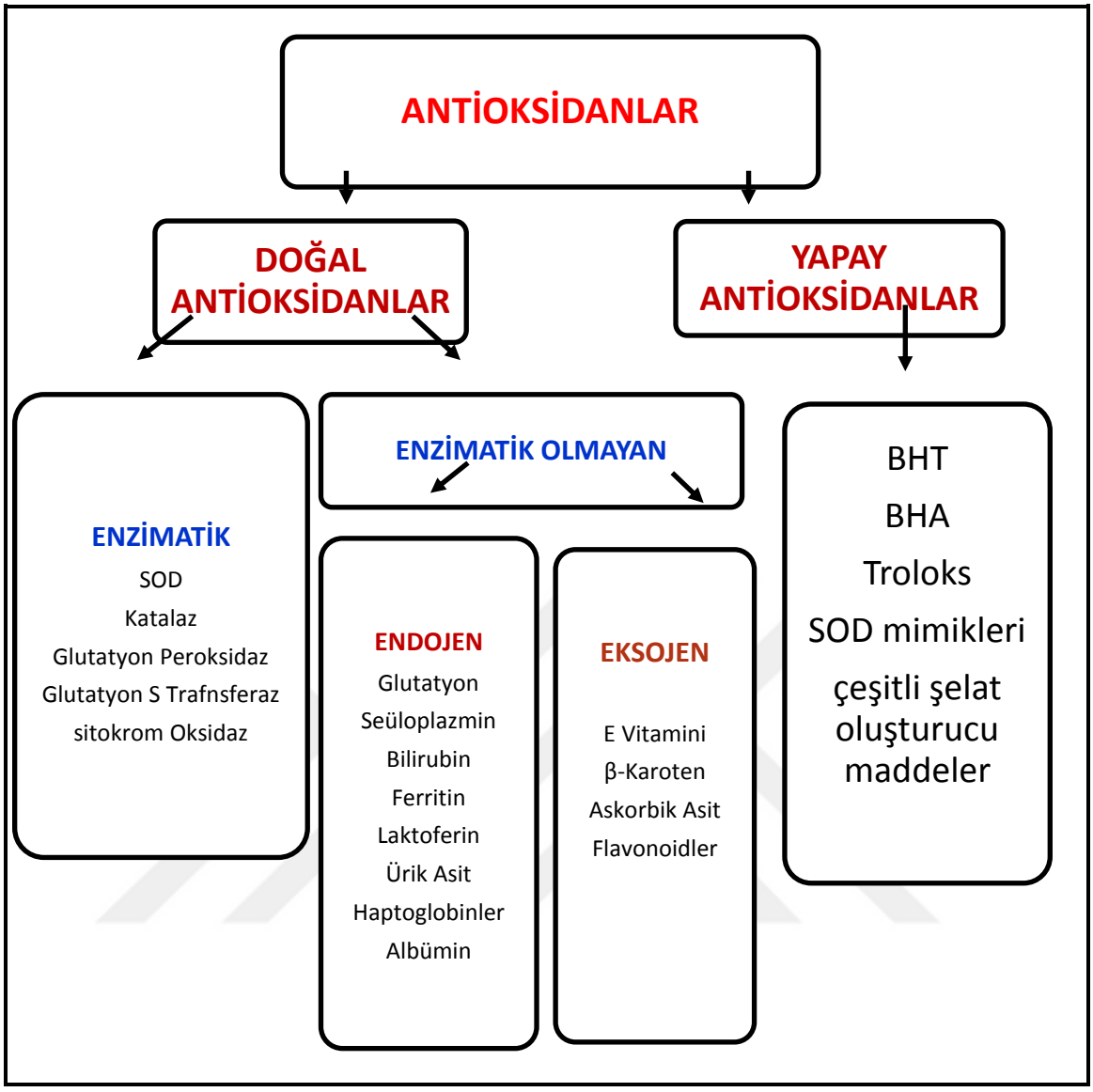
1. Baskılayıcı etki: Baskılayıcı etki antioksidanların reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girmesi ve hidrojen aktararak bunların etkilerini azaltması veya etkisiz hale getirilmesidir. Vitaminler, flavanoidler, trimetazin ve antosiyanoidler bu etkiye sahip olan gruplardır.
2. Onarıcı etki: Antioksidanlar tarafından serbest oksijen radikallerinin meydana getirdiği hasarın onarılması durumu, onarıcı etki olarak adlandırılmaktadır.
3. Zincir kırıcı etki: Antioksidanların serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlaması ve ardından zincirlerini kırarak radikallerin fonksiyonlarının engellenmesidir.
4. Toplayıcı etki: Antioksidanların serbest radikalleri tutarak yeni ve daha zayıf moleküle dönüştürmesi toplayıcı etki olarak adlandırılmaktadır. Küçük moleküller, trakeobronşial mukus ve antioksidan enzimler buna örnektir (Bardakçı, 2017).

Antioksidanlar Şekil 2.1'de görüldüğü gibi hücrenin birçok organelinde meydana gelen oksidatif hasarı en aza indirmek için etki etmektedir.




**Şekil 2.1** Antioksidanların hücredeki etkileri (Engin, 2007)

Antioksidanlar; endojen kaynaklı doğal antioksidanlar ve eksojen kaynaklı antioksidanlar (Akkuş, 1995) enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere çeşitli şekillerde sınıflandırılırlar (Şekil 2.2) (Seven ve Candan, 1996).




**Şekil 2.2** Antioksidan çeşitleri (Akyüz, 2007)

### 2.2.1 Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar organizmada doğal olarak bulunan savunma sistemidir. Enzimatik ve nonenzimatik olmak üzere ikiye ayrılır (Akagün, 2009):

**Enzimatik Antioksidanlar**

Enzimatik antioksidanlar GSSG-R, glutatyon-S-transferaz (GST), hidroperoksidaz SOD, CAT, GSH-Px ve mitokondrial sitokrom oksidazdır. Organizmada en etkili olanları SOD, CAT ve GSH-Px'tir (Cheeseman ve Slater, 1993). Enzimatik antioksidanlar Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

**Nonenzimatik Antioksidanlar**

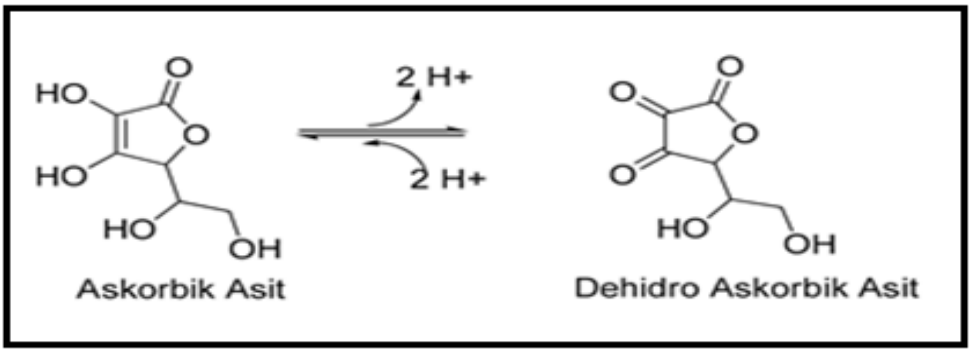
Nonenzimatik antioksidanlar da kendi arasında endojen ve ekzojen kaynaklı antioksidanlar olarak ayrılırlar. Endojen kaynaklı olanlar; melatonin, sistein, seruloplazmin, ürat, transferrin, laktoferrin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, metiyonin, albümin, bilirubin ve glutatyondur. Ekzojen antioksidanlar ise α-tokoferol (E vitamini), askorbik asit (C vitamini) ve β karotendir (Lobo, Patil, Phatak ve Chandra, 2010). Nonenzimatik ekzojen kaynaklı olanların çoğu fenolik bileşikler olarak bilinen karotenoidler, flavonoidler, askorbik asit ve tokoferollerdir (Yavaşer, 2011).

**Tablo 2.1** Enzimatik antioksidanlar

| Enzimatik Antioksidanlar | Doğal | Sentetik |
|---|---|---|
| Süperoksit dismutaz (SOD) | Vitamin C | Bütillenmiş hidroksianisol (BHA) |
| Selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (GPx) | α-tokoferol | Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) |
| Glutatyon-S-transferaz (GST) | Polifenolik bileşikler | Gallik asit türevleri |
| Katalaz | Karotenoidler | Tersiyer bütilhidrokinon (TBHQ) |
| Glutatyon redüktaz (GR) | | Nordihidroguareyetik asit |

### 2.2.1.1 Askorbik Asit (Vitamin C)

Askorbik asit, organizmada bileşikler için indirgeyici ajan olarak görev yapar. Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Tek başına pro-oksidan olan vitamin C, Cu ile Fe tuzları için indirgeyici olarak da görev yapmaktadır. Askorbik asit suda çözünen vitaminlerden biridir ve meyve, yeşil sebze, turunçgillerde bol miktarda bulunur. C vitamini, serbest radikaller ile reaksiyona girerek onları yok eder (Gardner, Whıte, Mcphaıl ve Duthıe, 2000). Suda çözünmesinin bir başka sonucu da idrarla atıldığı için vücutta depolanamamasıdır (Carr, Zhu ve Frei, 2000).

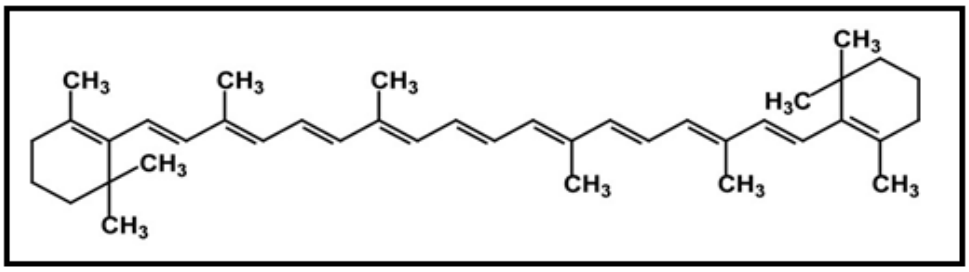



**Şekil 2.3** Askorbik asit

C vitamininin koroner kalp hastalıklarına karşı koruyucu olduğu düşünülür. Çünkü LDL oksidasyonunu önler, bağışıklık sistemini güçlendirir, doku yapımında ve onarımında rol alır. Çeşitli besin maddelerinde acılaşma, ekşime ve renk değişimini önler. Demirin vücutta kullanılmasına katkısı vardır ve sigaranın vücumuzda oluşturduğu zararlı etkileri de azaltır (Tütem ve Apak, 1991).

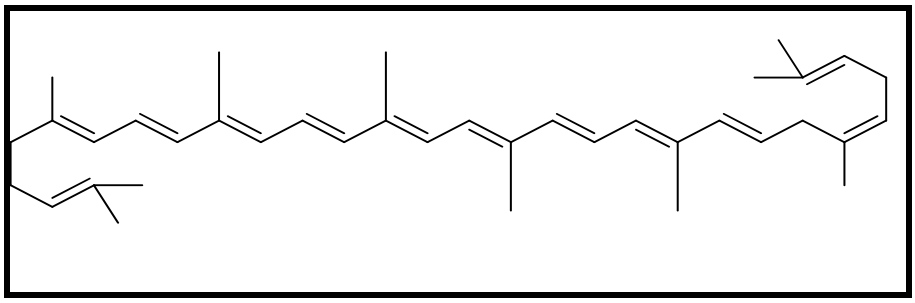
### 2.2.1.2 Karotenoidler

Karatenoidler, bazı bitkilerin yapısında yaygın şekilde bulunan doğal renk pigmentleridir. β-karoten; sebzeler, meyveler, ve yeşil yapraklı bitkilerde bulunan kırmızı-portakal renkli bir pigmenttir. β-karoten bozulmadan $^1O_2$ baskılar ve $ROO^{\bullet}$, $OH^{\bullet}$ ve $O_2^{\bullet-}$ radikalleri gibi serbest radikallerle reaksiyona girer. Karotenoidlerin lipid, DNA ve proteinlere karşı oksidatif hasarı önlediği veya azalttığı bildirilmiştir (Agarwal, Parameswari, Vasanthi ve Das, 2012; Chapman, 2012).




**Şekil 2.4** β-karotenin yapısı

Karatenoidler, peroksil radikallerini ve singlet oksijeni yok eden etkili antioksidanlardır. Karotenoidler arasında en etkin olan singlet oksijen ($^1O_2$) tutucu olan likopenlerdir (Stahl ve Sies, 1999).

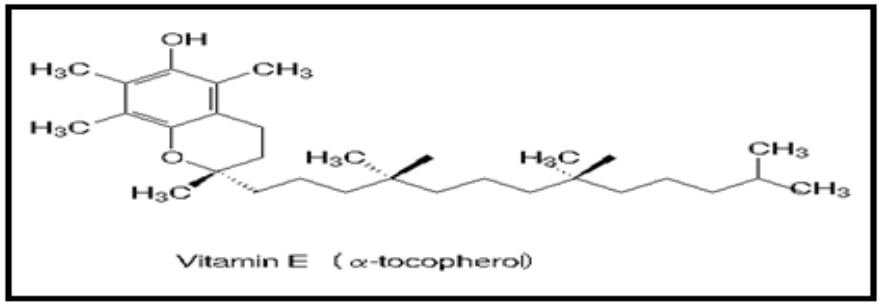


**Şekil 2.5** Likopenin yapısı

Güneş yanıklarında görülen fotooksidatif hasarı önleyici pigment β-karotendir. Oksidatif hasara karşı hücresel membranları ve lipoproteinleri korur. Reaktif azot türlerini gidermede β-karotenin, E ve C vitaminleri ile birlikte sinerjik etkisi vardır (Stahl ve Sies, 2003).

### 2.2.1.3 α-Tokoferol (Vitamin E)

Vitamin E etkinliği gösteren sekiz doğal tokoferol izomeri bulunmaktadır. En yaygın ve en aktif olarak bulunan ise α-tokoferol yani E vitaminidir. E vitamini oksijen bulunmayan ortamlarda asit ve sıcaklığa dayanıklı olduğu gibi yağda da çözünmektedir. Serbest radikallerin eşleşmemiş elektronları ile reaksiyona giren ve indirgeyebilen hidroksil grubu içermektedirler ve zincir kırıcı özelliğe sahiptirler (Antmen, 2005). Peroksil radikallerini gidererek lipid peroksidasyonunu inhibe eder (Gey, Puska, Jordan, ve Moser, 1991). Bir vitaminden çok antioksidan olarak anılmaktadır.



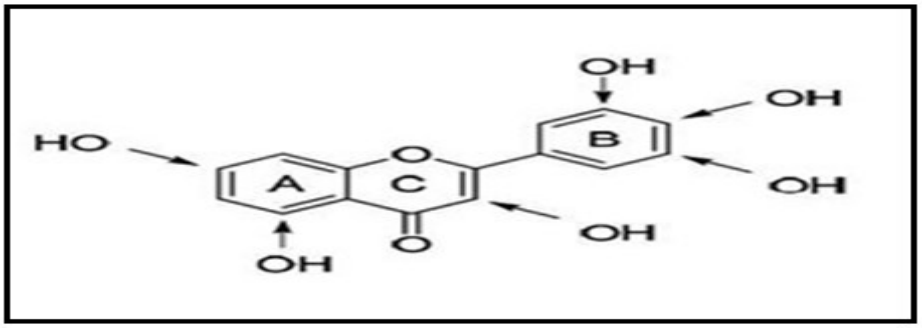

**Şekil 2.6** α-tokoferolün yapısı

α-tokoferol radikali ($\alpha T^{\bullet}$), stabil ve reaktivitesi az olan bir radikaldir. Glukuronikasit ile konjugasyona uğrayıp safra ile atılabilir. α-tokoferol alımıyla koroner kalp hastalıkları riskinin azaldığı deneysel olarak gösterilmiştir (Anderson, 2007). α-tokoferol nitritlerin nitrozaminlere dönüşümünü engelleyerek antikarsinojen etki gösterir ve immün sistemini geliştirir.

Yeşil yapraklı sebzelerde, bitki yağlarında, buğday tohumlarında, süt ve yumurtada bol bulunan bir antioksidandır. Üreme hücreleri için gerekli olan E vitaminin eksikliği hâlinde; kümes hayvanlarında, sıçanlarda ve insanlarda kısırlığa sebep olduğu, antioksidan özelliğinin yanı sıra cildi nemlendirmeye yardımcı olduğu ve dokuların tamirinde rol oynadığı da bilinmektedir.

#### 2.2.1.4 Flavonoidler (Polifenolik Bileşikler)

Fenolik bileşikler, hidroksil grubu içeren aromatik yapıya sahip bileşiklerdir. Fenolik bileşikler fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki grupta incelenirler (Cemeroğlu, 2004). Bunlardan flavanoidler en büyük grubu oluşturur. Flavonoidler ve diğer bitki fenoliklerinin; alkoksil, süperoksit, nitrik oksit ve peroksil gibi radikalleri temizleme, hücre çoğalmasının inhibisyonu, enzim aktivitelerini düzenleme, demir ve bakır şelasyonu, α-tokoferol rejenerasyonu fonksiyonları, vazodilatatör, antibiyotik, immünstimülan, antiallerjik, antidiyaretik, antiülser, östrojenik, antiviral ve daha birçok etkilerinin olduğu söylenebilir (Ekinci, 2008). Bitkilerden elde edilen birçok gıdanın antioksidan olan fenolik fitokimyasallar içermesinden dolayı vücut savunma sisteminde oksidatif hasarlardan koruyucu etkileri vardır. Bu bileşikler, vücudumuza antioksidan madde sağlarken gıdaları da bozulmalara karşı koruduğu bilinmektedir (Güleşci ve Aygül, 2016).




**Şekil 2.7** Flavonoidlerin genel yapısı (Shahidi ve Naczk, 1995)

Flavan türevleri olan flavonoidlerin en yaygın olanı polifenollerdir (Şekil 2.7).

Hidrojen veya elektron verici ajan oluşundan dolayı indirgen özelliği olan polifenollerin kimyasal davranışları, antioksidan özelliğinin bir ölçüsüdür. Bir antioksidanın aktivitesi aşağıdaki özellikleri ile tayin edilir:

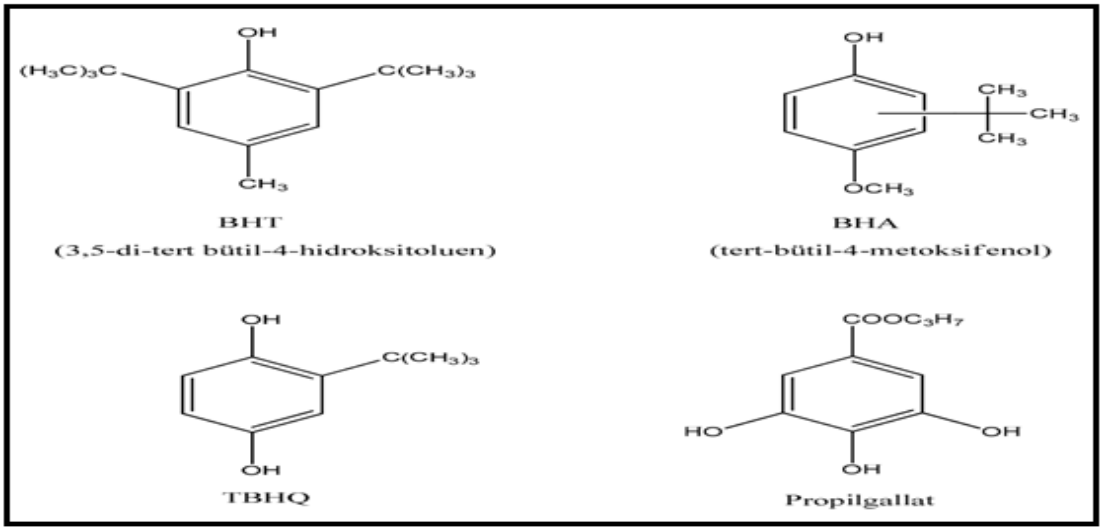
- Hidrojen veya elektron verici ajan olarak reaktivitesi

- Diğer antioksidanlarla birlikte reaktivitesi
- Geçiş metal şelatlama potansiyeli
- Ortaklanmamış elektronu stabilize ve delokalize etme kabiliyetine bağlı olarak oluşan antioksidandan türemiş radikalin etkinliği.

### 2.2.2 Sentetik Antioksidanlar

Dünya nüfusunun artması sonucu tüketimdeki artıştan kaynaklanan fabrikasyon üretim ve ürün çeşitliliği gıdaların depolanmasını zorunlu kılmaktadır. Gıdaların depolanmasında uygulanan ısıl işlemlerde, mikroorganizmaların yapılarında bulunan proteinler ve yaşamsal önemi bulunan enzimler ısı etkisi ile bozulmaktadır. Gıdanın ısıl işlem görmesi ve sindirimi sonucunda lipid serbest radikallerin miktarı artmaktadır. Antioksidan maddeler ise lipid peroksidasyonunu geciktiren ya da önleyen ana faktörlerdir. Gıda sanayinde renk, tat, koku ve kaliteyi korumak ve en önemlisi raf ömrünü uzatmak için çeşitli gıda katkı maddeleri kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan antioksidanlar sentetik antioksidanlar olarak adlandırılmaktadırlar (URL-2). Antioksidan kullanımı; lipid oksidasyonunu engellemek ya da azaltmak, ürünlerin toksik ürünlere dönüşümünü inhibe etmek, besinin bozulmasını önlemek amacıyla gıda endüstrisinde gereklidir (Finley ve Given, 1986).

Gıdalarda en çok kullanılan sentetik antioksidanlar; diğer gıdalarda BHT(bütillenmiş hidroksitoluen), BHA(bütillenmiş hidroksianisol), TBHQ(tersiyer bütilhidrokinon), NDGA (nordihidroguareyetik asit) eritorbik asit, sodyum eritorbat ve gallatlardır (İşbilir, 2008; Bardakçı, 2017). Bu sentetik antioksidanlar yağlarda ve yağca zengin gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Şekil 2.8’ de bu antioksidan maddelerin molekül formülleri verilmiştir.




**Şekil 2.8** Sentetik antioksidanlar (İşbilir, 2008)

Son yıllarda yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular doğrultusunda, sentetik antioksidanların toksik etkili ve yüksek maliyetli olduğunu bilinmektedir. Ayrıca besinlerlerle alınan doğal antioksidanlardan daha az etkili oldukları da görülmektedir. Sentetik antioksidanların karsinojenik özellikleri vardır. Bu dezavantajları sebebiyle günümüzde besin ve ilaçlardaki kullanımı yasal olarak sınırlandırılmaktadır (Yavaşer, 2011).

### 2.2.2.1 Bütillenmiş Hidroksianisol (BHA) ve Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT)

BHA, doğal olarak biberiye (*Rosmarinus officinalis)* bitkisinde bulunmuş sentetiği de oluşturulan bir antioksidandır. Hayvansal ve bitkisel yağlarda çözünebilen çok etkili bir sentetik antioksidan olan BHA iki izomerin karışımıdır (3-tersiyer butil-4-hidroksianisol ve 2- tersiyer butil-4-hidroksianisol). Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) hayvansal yağlarda, bitkisel yağlardan daha etkilidir. BHT, BHA ile aynı özellikte olmasına ragmen, BHA'nın yüksek sıcaklığa dayanma kapasitesi BHT kadar iyi değildir. Her iki bileşik de yağda çözünür fakat suda çözünmezler. Bu antioksidanların fazla tüketimi vücutta alerjiye yol açabilmektedir. Günümüzde bu antioksidanların kanserojenik etkileri üzerinde de araştırmalar yapılmaktadır. Her ikisinin de National Research Council, Food Additive Committee'nin verilerine göre gıdalarda kullanımında 1970'den bu yana azalma olmasına rağmen, gıda kategorisinde kullanılan antioksidanlar olduğu bilinmektedir (Çakmakçı ve Çelik, 2000).

#### 2.2.2.2 Tersiyer Bütilhidrokinon (TBHQ)

Bitkisel yağlar için en etkili antioksidanlardandır. TBHQ, katı ve sıvı yağlarda çözünür. Yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır (Keskin ve Erkmen, 1987). BHA ve BHT'den daha az uçucudur. Sitrik asit ile karıştırıldığında, stabilize edici özellik kazanmaktadır. Gıda korumada kullanım oranı % 0,02'dir (Çakmakçı ve Çelik, 2000).

#### 2.2.2.3 Gallatlar

Propil gallat (PG), dodesil gallat, oktil gallat, ve lauril gallat, gallik asitin en fazla kullanılan esterleridir. Suda çözünmezler, yağda ise sadece dodesil ve oktil gallatlar iyi çözünür. FDA'nın izniyle gıdalarda 1947'den beri kullanımı giderek yaygınlaşmış sentetik bir antioksidandır.

#### 2.2.2.4 Nordihidroguareyetik Asit (NDGA)

NDGA, yağdaki çözünürlüğü az olan ve toksik etkisi yüksek bir antioksidandır. Gıdalara katılım oranı % 0,01 dir. Besinler pişirilse bile etkisini korur (Keskin ve Erkmen, 1987). Sentetik antioksidanların insan sağlığı açısından toksik etkilerinin olduğu konusundaki tartışmalar, tüketicileri doğal tarımla elde edilen ürünlere yönlendirmiştir. Gıda alanında çalışmalar yapan araştırmacılar, sentetik antioksidanların yerini alabilecek doğal antioksidanlar üzerindeki araştırmalarına hız vermişlerdir. Bitkisel kaynaklara yönelim ve bitkilerden elde edilecek doğal antioksidanların; gıda işlenmesi/korunması sırasında sentetik antioksidanlar yerine geçmesi beklenen birer hedeftir (Kelen ve Tepe, 2008).

**Tablo 2.2** Sentetik antioksidanlar
(Türk Gıda Kodeksi'nden yararlanılarak hazırlanmıştır.)

| Kodu | Antioksidan | Kullanıldığı Gıdalar |
|---|---|---|
| E300-302 | Askorbik asit tuzları | • Bebek maması<br>• Emülsifiye hayvansal-bitkisel yağlar<br>• Reçel, jöle, marmelat<br>• Şarap<br>• Süt ve süt tozu<br>• İşlenmiş, dondurulmuş veya konserve ürünler<br>• Makarna, ekmek,kıyma ile hazırlanan et ürünleri<br>• Meyve-sebze suları. |
| E307-309 | Sentetik tokoferoller (alfa-, beta-, gama) | • Bebek maması<br>• Emülsifiye hayvansal-bitkisel yağlar<br>• Reçel, jöle, marmelat<br>• Şarap<br>• Süt-süt tozu<br>• Konserve ve dondurulmuş ürünler<br>• Ekmek, makarna; kıymadan hazırlanan et karışımları<br>• Rafine zeytinyağı; yağ içeren tahıl, bisküvi, gevrek. |

### 2.2.3 Antioksidanların Sağlık İçin Önemi

Dünyada her yıl 8,2 milyon kişinin ölümüne sebep olan kanser, tüm insanları etkilemektedir. Kanserin görülme seyrine bakılarak, 10 yıl sonra 22 milyon yeni kanser vakasının olabileceği beklenmektedir. Türkiye'de günde yaklaşık 450 kişiye kanser teşhisi konulduğu bilinmektedir. Yapılan istatistiklere göre, beslenme bozukluğu ve çevresel faktörlere bağlı hastalıkların önlenmesinde sağlıklı beslenmeye dikkat edilmesi, antioksidan içerikli gıda alımı, sigarayı bırakma, aşı olma ve düzenli egzersizin yaşam kalitesini yükselttiği ve birçok hastalıkla mücadelede olumlu etkileri olduğunu göstermiştir (URL-3).

Son yıllarda alternatif tıbbın kanser tedavisinde kullanılması ve bazı kanser türlerinde olumlu etkilerinin tespit edilmesi araştırmacıları bu alanda yeni çalışmaların yapılmasına teşvik etmiştir. Sağlık hizmetlerinin yerine kullanılmaktan çok, tedaviye destek olma amacını taşırlar. Kadınlarda görülen meme kanseri günümüzde önemli ölüm nedenlerinden biridir. Geçtiğimiz yıllarda yapılan çalışmalar ısırgan otunun tüketiminin meme kanseri ve erkeklerde görülen prostat kanserinin gelişimini engellediği tespit edilmiştir (Tello, Halifeoğlu, Bozkurt ve Bulmuş, 2008).

Yapılan in vitro çalışmalar meyve ve sebze tüketimiyle antioksidan fitokimyasalların alımının kanser çeşitleri, diyabet, Alzheimer hastalığı ve kardiovasküler hastalıklar gibi önemli birçok hastalığa karşı savunma sistemini güçlendirdiği ve koruma sağladığını göstermiştir (Singh, Jain, Upadhyay, Khandelwal ve Verma, 2010). Meyve ve sebzelerin koruyucu etkilerini antioksidan özellik gösteren askorbik asit, α-tokoferol ve β-karoten gibi vitaminler oluşturmaktadır. Bunun yanında, farklı fitokimyasal bileşikler yüksek antioksidan etki gösterebilir ve asıl koruyucu etkiyi sağlayabilirler (Abdille, Singh, Jayaprakasha ve Jena, 2005). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, bitkilerdeki antioksidan etki vitaminlerin dışında flavonoidler vb. fenolik bileşiklerinden de kaynaklanmakdır.

Antioksidan içeren gıdaların Alzheimer, çeşitli kanser türleri, iltihaplı hastalıklar, kalp hastalıkları, Parkinson ve hücre yaşlanmasını önlemedeki rolü büyüktür. Antosiyaninlerin kalp krizi riskini ve koroner damar tıkanıklığını azalttığı belirlenmiştir. C vitamini içeren meyve ve sebzelerin mide, ağız, akciğer ve pankreas kanser risklerini azalttığı bilinmektedir. E vitamini, turpgiller, sarı renkli sebzeler ile domates tüketiminin prostat ve kolerektal kanseri üzerine olumlu etkileri olduğu bulunmuştur (İmamoğlu, 2010).

### 2.2.4 Antimikrobiyal Maddeler

Günümüzde hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların büyük bir bölümünün hammaddesi bitkilerden temin edilmektedir (Dağcı ve Dığnak, 2005). Çok eski dönemlerde bile bitki kökleri, şarap ve küf gibi maddeler enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılırdı (Akyüz, 2007). Bitkisel kökenli antimikrobiyal bileşikler; bitkilerin kök, gövde, çiçek, yaprak ve tohum gibi bileşenlerinden elde edilebilir (Borchardt, vd., 2008). Yapısında fenoller, tanenler, alkoloidler, uçucu yağlar, flavanoidler, glikozidler ve reçineler bulunduran bitkiler tıbbi ve aromatik bitkiler olarak sınıflandırılırlar. Aromatik bitkilerden çeşitli çözücülerle elde edilen bitki özütleri ve uçucu yağların antimikrobiyal etkisi olduğu bilinmektedir (Koyuncu, Yıldırım ve Duranoğlu, 2008).

#### 2.2.4.1 Antimikrobiyal Maddelerin Genel Özellikleri

Bazı bakteri ve mantar türleri tarafından oluşturulan, mikroorganizmaları öldürücü mikrobisid veya mikroorganizmaların üremesini durdurucu yani mikrobiyostatik etki gösteren maddelere "antibiyotik" denir (Öztürk, 2009). Antimikrobiyal maddeler etki

gösterdikleri mikroorganizma cins ve sayısının azlık ve çokluğuna göre; geniş spektrumlu ya da dar spektrumlu olarak adlandırılırlar. Dar spektrumlu antimikrobiyal maddeler, enfeksiyon oluşumuna sebep olan mikroorganizmanın üzerinde etkili oluşuna göre tedavide ideal antimikrobiyal maddeler olarak bilinirler. Geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler ise, mikroorganizmanın doğal bağışıklığında dengeyi sağlayan normal mikroorganizma florasını bozacak şekilde etki eder. Birden fazla patojenin birlikte etken olduğu enfeksiyon durumlarında geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler kullanılır. Kinolonlar, karbapenemler vb. buna örnek maddelerdir (Bektaş, 2011). Seçici toksisite, antimikrobiyal maddede olması gereken en önemli özelliktir. Prokaryot (bakteriler) hücrede olup da, ökaryot hücrede (memeli hücreler) bulunmayan bir molekülü hedef alan sefalosporinler, sülfonamidler gibi antimikrobiyal maddelerin seçici toksisitesi çok yüksektir.

## 2.3 Çalışmamızda Kullanılan Bitkiler ve Genel Özellikleri

### 2.3.1 Cotinus Coggygria Scop. Bitkisinin Genel Özellikleri

Cotinus, Anacardiaceae familyasına ait küçük bir cins olup çalı veya ağaç şeklinde iki türü vardır. Bunlar; Cotinus coggygria Scop. (Duman ağacı),*Cotinus obovatus* Raf. (Amerikan duman ağacı) olarak adlandırılmaktadır. Latince ismi Cotinus coggygria olan diğer bir adlandırmayla "*Duman Ağacı"* ve halk arasında "Tetra otu" da denilen bu bitki, binlerce yıl önceden günümüze gelmiş ve birçok rahatsızlığın tedavisinde halen kullanılan bir ot çeşididir.

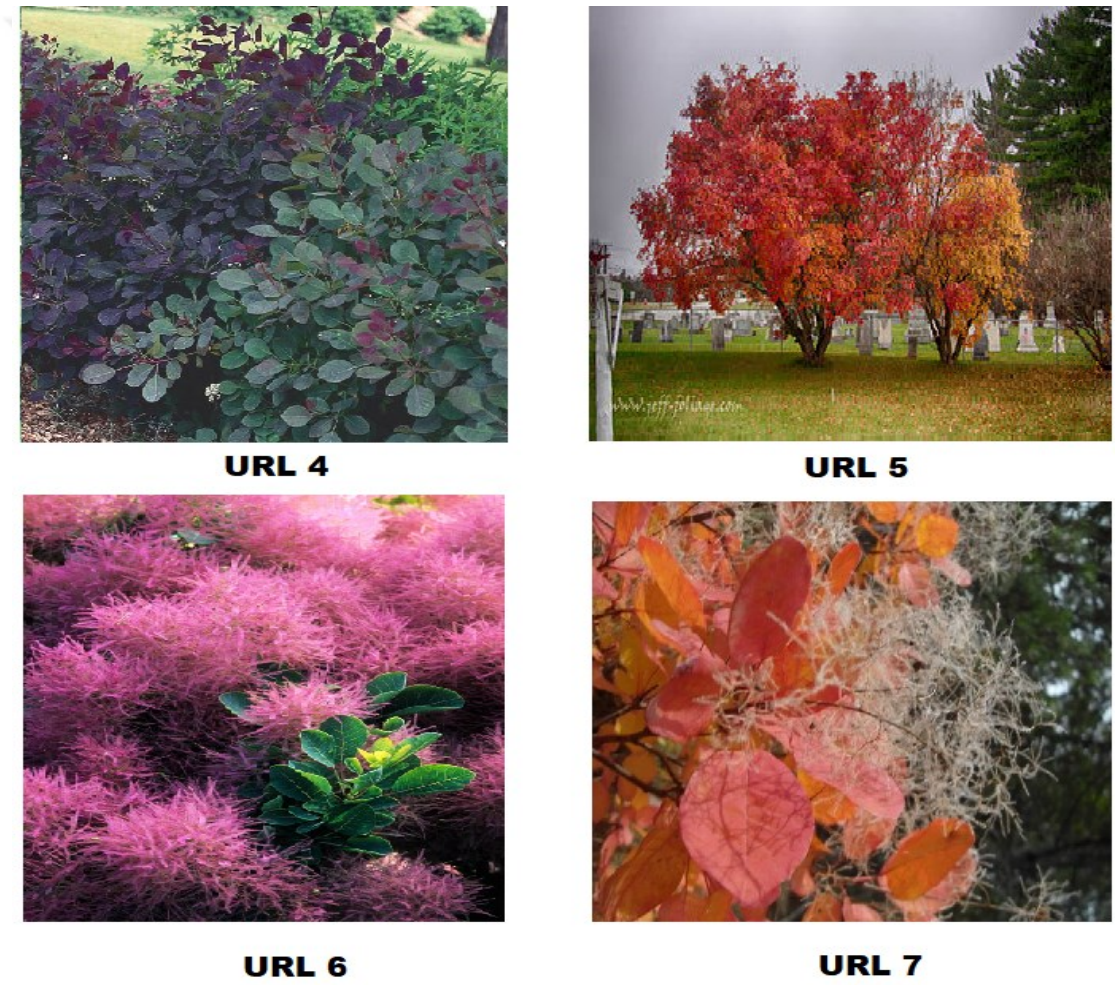
**Cotinus coggygria Scop. cinsi:** 5 m boylarına kadar çıkabilen, çok eşli bir çalıdır. Yaprakları İlkbaharda yeşil renkli olup yaz sonunda ise kırmızıya döner. Çiçekleri küçük ve gösterişsizdir.

Cotinus coggygria, dünyada Avrupa - Çin uzantısında geniş bir dağılım göstermektedir. Yunan anakarasının ve kuzey yarımkürenin bazı yerlerinde sık ve lokal olarak yaygındır. Ancak, Ege Adaları'nın geri kalanında çok nadir ve dağınık görülür. Cotinus coggygria'nin yeryüzündeki dağılımı Şekil 2.10'da gösterilmiştir. Yunanistan'da *"krissoylo", "ventza", "synnefo", "spathistra"* olarak birçok isimle adlandırılır. Bitkinin özütü altın benzeri parlayan, deri ve kumaş için kullanılan sarı bir boya içerir (Arabatzis, 2001).

**Cotinus obovatus Raf. cinsi:** Bu tür; gri renkli, gövdesi kahverengiye benzer renkte olup, ufak yapılıdır (Pijut, 2008).

Cotinus coggygria cinsi Himalayalar'da, Güneybatı Çin, Güneybatı Amerika'da ve Avrupa'nın güneyinde genişçe bir yer kaplamaktadır (Novaković vd., 2007). Amerika'da önceleri bahçelerde süs amaçlı kullanılan Duman Ağacı'nın gövdesi, sonradan dayanıklı çitlerin yapımı ve sarı boya elde etmek için de kullanılmaktadır.

Türkiye'de Cotinus coggygria bitkisi "*duman ağacı", "boyacı sumağı", "peluke çalısı"* olarak bilinirken, Balkanlar'da halk dilinde *"rujevina"* veya *"ruj"* diye de adlandırılmaktadır. Cotinus coggyria Scop. bitkisinin gelişiminde Sonbahar aylarında gösterdiği renk değişimi Şekil 2.9' da gösterilmektedir.




**Şekil 2.9** Cotinus coggygria Scop. ağacı ve gelişimi



**Şekil 2.10** Cotinus coggygria'nın yeryüzündeki dağılımı (URL 8)

Çeşitli ülkelerin halk hekimliğinde Cotinus coggygria antienflamatuar, antimikrobik ve yara iyileştirici özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Demirci, Demirci ve Baser, 2003). ABD'de yapılan çalışmalarda Cotinus coggygria ekstraktlarının antioksidan aktivite gösterdiği bilinmektedir (Westenburg, Lee, Lee vd., 2000). Bulgaristan'da karakteristik terpen benzeri Cotinus coggygria'nın aroması, endüstriyel olarak parfümeride kullanılmak üzere yetiştirilmektedir. Halk hekimliğinde bu bitki antiseptik, anti-inflamatuar, antimikrobiyal, antihemorajik, yara iyileştirici etkileri ve diyareye karşı kullanılır (Demirci vd., 2003). Cotinus coggygria'nın kurutulmuş yaprak ve dalları, geleneksel Çin tıbbında rutubet ve ısıyı ortadan kaldırmada ve antipiretik olarak kullanılmaktadır (Huang, 1999).

### 2.3.2 Cotinus coggygria Scop. Bitkisi ile Yapılan Çalışmalar ve Kaynak Araştırması

Bazı bitkilerin genotoksik etkilere sahip olabilmesi, ekstraktlarında bulunan çeşitli bileşiklere bağlıdır. Cotinus coggygria Scop.'ın metanol içindeki ekstraktının kimyasal analizi ana bileşiklerinin flavonoidler, taninler ve fenolik bileşikler olduğunu göstermiştir (Stanic vd., 2009a). Bir diğer çalışmada, Cotinus coggygria saplarının metanol özütündeki toplam çözünür fenolik bileşikler, standart olarak pirokatekol kullanılarak Folin-Ciocalteu reaktifi ile belirlenmiştir (Stanic, Matic, Solujic ve Milosevic, 2009b).

- Balkan ve Anadolu halk hekimliğinde bu türün yaprakları antiseptik, antihemorjik, antipiretik, diyare ve yara tedavisinde kullanılmıştır (Sayar, Guvensen, Özdemir ve Öztürk, 1995).
- Yunanistan'da yabani olarak büyüyen Cotinus coggygria ile ilgili yapılan araştırmada Cotinus coggygria'nın kurutulmuş yapraklarından elde edilen uçucu yağların verimleri % 1.24 ila 3.49 arasında değiştiğini, incelenen yağlarda toplam 52 bileşen olduğunu bildirmişlerdir (Tzakou, Bazos ve Yannitsaros, 2005).
- Yapılan bir çalışmada, Cotinus coggygria'nın metanol ekstraktında fenol miktarı pirokaterol eşdeğeri olarak 62,50 mg olarak tespit edilirken, 46,76 mg/g flavonoid ve 15.75 mg/g nonflavonoid saptanmıştır (Stanic vd., 2009b).
- Cotinus coggygria yapraklarından hazırlanan etanol özütünün, sıçanlarda yara iyileşmesi sürecinde önemli etkileri olduğu bildirilmiştir (Aksoy vd., 2016).
- Batı Himalaya'da yetişen Cotinus coggygria'nın kimyasal bileşenlerinin profillemesi, antioksidan ve antibakteriyel özellikleri üzerinde yaptıkları araştırmada; Cotinus coggygria'nın, antelmintik, anti-inflamatuar, anti-stres vb. daha fazla farmakolojik aktivitenin ortaya çıkmasına yönelik daha ileri çalışmalara katkıda bulunacağını açıklamışlardır (Shagun ve Bhattacharya, 2016).
- Rendeková ve arkadaşları, Cotinus coogygria ile yaptıkları çalışmalarının sonucunda; tanen ve flavonoidler açısından zengin Cotinus coggygria'nın, ileriye dönük bir topikal antibakteriyel ajan olduğunu bildirmişlerdir (Rendeková, Fialová, Jánošová, Mučaji ve Slobodníková, 2016).

### 2.3.3 Pistacia Vera L. (Antep Fıstığı) Bitkisinin Genel Özellikleri

Anacardiaceae ailesinin bir üyesi olan Pistacia vera L. (Antep fıstığı), köken olarak Orta - Batı Asya ve Akdeniz genelinde dağılım gösterir (Tomaino, 2010). Antep fıstığı şam fıstığı olarak da bilinir. Mango meyvesi, sumak, zehirli sarmaşık, biber ağacı, sakız ağacı gibi bitkilerle aynı familyadandır (URL-9). Antep fıstığı en eski sert kabuklu meyvelerden biri olup, antik çağlarda hükümdarların ve kralların sofrasını süsleyen, zenginliğin göstergesi olan bir yiyecek olarak bilinirdi. Doğal yetişme alanlarından biri olan Suriye'den I. yüzyılın başlarında önce İtalya'ya, sonrasında çevre ülkelere yayılmıştır (Yavuz, 2011). Antep fıstığı üreticisi ülkeler şunlardır: Türkiye, Yunanistan, İran, Suriye, Tunus, İtalya ve ABD (Bellomo ve Fallico, 2007).

Antepfıstığının (Pistacia vera L.) sistematikteki yeri şöyledir:

Bölüm: Phanerogamae,

Sınıf: Magnoliopsida (Manolyagiller),

Familya: Anacardiaceae (Sakızağacıgiller),

Cins: Pistacia Tür: Pistacia Vera L. (Bilgen, 1973).

Pistacia cinsine ait yenilebilen tek tür, Pistacia vera L.'dir (Altuntaş ve Mutlu, 2007). Ülkemizin değişik bölgelerinde Pistacia türlerinin asırlık ağaçlarına rastlamak mümkündür. Mardin ilinde 10.7 milyon hektarlık bir alanı olan Ceylanpınar Devlet Çiftliği Antep fıstığı araştırmalarında kullanmaktadır. Türkiye'nin toplam 56 ilinde üretimi yapılmakta, en yüksek üretim payını ise adını aldığı Gaziantep ve çevresindeki iller almaktadır (URL-9). Antep fıstığı diğer kuruyemişler ile karşılaştırıldığında (sert kabuklu) diğerlerine oranla yağ oranının düşük olduğu, yüksek lif içerdiği belirtilmiştir (Tayar, Haşıl, Korkmaz ve Özkeleş, 2011). Sert kabuklu kuruyemişlerin sahip oldukları vitaminler, yağ asitleri, fenolik bileşikler, steroller, mineraller, antioksidan ve antiproliferatif özellikleri onları ön plana çıkarmaktadır (Tsantili vd., 2010). Antep fıstığının ağırlıkça vitamin ve minarel içerikleri Tablo 2.3'de gösterilmiştir. Pistacia Vera L. (Antep fıstığı) bitkisinin gelişimi ve çalışmamızda kullanılan Pistacia Vera L. görsellleri ise Şekil 2.11'deki gibidir.



URL 10



URL 11



URL 12



URL 13





URL 14

**Şekil 2.11** Pistacia Vera L. bitkisi ve gelişimi

**Tablo 2.3** Antep fıstığının ağırlıkça vitamin ve minarel içerikleri (Yavuz, 2011)

| Antep fıstığı (100 gr) | Miktar (mg) |
|---|---|
| Potasyum | 1020 |
| Fosfor | 500 |
| Kalsiyum | 136 |
| Magnezyum | 158 |
| C vitamini | 7 |
| E vitamini | 5 |

### 2.3.4 Antep Fıstığı Bitkisi ile Yapılan Çalışmalar ve Kaynak Araştırması

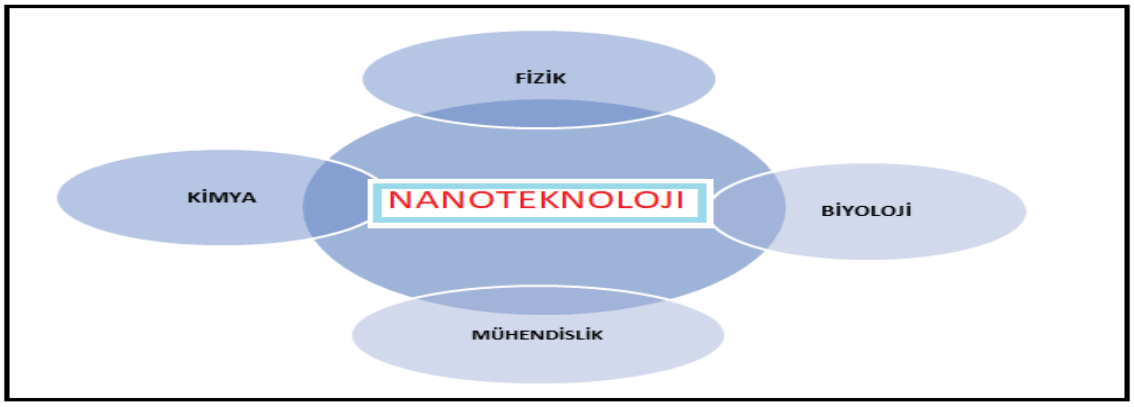
- Seferoğlu ve arkadaşları, Antep fıstığını vitamin- mineral içeriğinden dolayı besleyici değeri yüksek ve sert kabuklu meyvelerden biri olarak adlandırmışlardır (Seferoğlu, Seferoğlu, Tekintaş ve Balta, 2006).
- Martorana ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; güneş ışığının sebep olduğu deri irritasyonuna sahip insan denekleri derilerinde *Pistacia vera* L. bitkisinin tohum kabuğu ve tohum özütlerinin irrite olan bölgeye uygulanmasıyla aldıkları sonuçlar doğrultusunda, Antep fıstığı tohum yağının kullanıldığı gibi tohum kabuğu özütünün de kozmetik sanayinde etken madde olarak kullanılabilir olabileceğini bildirmişlerdir (Martorana, vd., 2013'den aktaran Çağlar, Tomar, Vatansever ve Ekmekçi, 2017).
- Orhan ve arkadaşları, Pistacia vera L. bitkisinin birkaç farklı bölümlerinden hazırladıkları sulu ve etanollü özütleri kullanarak yaptıkları araştırmalar sonucu, Pistacia vera L. bitkisinin reçinesinde antienflamatuar etki ve ağrı kesici özellikler olduğunu tespit etmişlerdir. Diğer kısımlarında bu etkilerin anlamlı olmadığı gözlenmiştir (Orhan, Kupeli, Aslan, Kartal, ve Yesilada, 2006).
- Wu ve arkadaşları tarafından Pistacia Vera L. ile yapılan bir araştırma sonucunda, toplam fenolik madde içeriğini 16,6 mg gallik asit eşdeğeri/g olarak tespit edilmiştir (Wu vd., 2004).
- Alma ve çalışma grubunun Sicilya'da yetişen Pistacia vera L. tohum yağı ve sulu özütleri arasında karşılaştırma yapmışlar, sulu özütlerinde antioksidan aktivite yüksek bulunmuş ve karaciğer lipid oksidasyonunu inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Türkiye'de yetiştirilen Pistacia Vera L.'nin esansiyel yağlarıyla 3 patojenik maya ve 13 bakteri ile yapılan antimikrobiyal çalışmada, 9 bakteri ve tüm patojenik mayaları inhibe ettiğini belirlemişlerdir (Alma, vd., 2012'den aktaran Çağlar, vd., 2017).

- Zoral ve Turgay, çeşitli bitkilerle yaptıkları çalışmalarda Antep fıstığı kabuğunun antimikrobiyal aktivitesinin fazla olması, etanol ekstraktının DPPH ve süperoksit anyon radikallerini giderme aktivitesinin yüksek olması nedeniyle antioksidan ve antimikrobiyal kaynak olarak kullanılabilir olduğunu bildirmişlerdir (Zoral ve Turgay, 2014).
- Mandalari ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Antep fıstığında bulunan polifenollerin, ksantofillerin ve tokoferollerin ince bağırsaktaki emiliminin iyi olması sebebiyle Antep fıstığı tüketiminin sağlıklı olacağını bildirmişlerdir (Mandalari vd., 2013'den aktaran Çağlar vd., 2017).
- Goli ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları çalışmalarda; Pistacia Vera tohumunun, sentetik antioksidanlarla karşılaştırılabilir, gözle görülür antioksidan etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir (Goli, Barzegar ve Sahari, 2005).
- Pistacia Vera L. hidrofilik özütünün, lipofilik ekstraktından daha yüksek antioksidan potansiyele sahip olduğunu Gentile ve arkadaşları 2007 yılında yaptıkları çalışmada belirtmişlerdir (Gentile vd., 2007).
- Tomaino ve arkadaşları, Antep fıstığının dış kabuğunda fenolik bileşiklerin daha yüksek olması nedeniyle, Pistacia Vera L. dış kabuğu özütlerinin tohumlara göre daha fazla antioksidan kapasiteye sahip olduğunu bildirmişlerdir (Tomanio vd.,2010).
- Son zamanlarda yapılan bir araştırmada, 50 ürün arasında antioksidan seviyesi en yüksek ürünün, Antep fıstığı olduğu tespit edilmiştir (Halvorsen vd., 2006).
- Kılıç ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları çalışmada; olgunlaşmamış Pistacia Vera L. dış kabuklarının metanol ekstresinin hem fenolik hem de flavonoid bileşikler bakımından zengin olduğunu, metanol ekstresinde 1g başına gallik asit eşdeğeri cinsinden 52.29 mg fenolik madde bulunduğunu, bunun yanı sıra toplam flavonoid içeriğinin olgunlaşmamış kabukta tohuma nazaran yaklaşık beş kat daha yüksek olduğu belirtmişlerdir (Kılıç vd., 2016).
- En önemli fıstık üreticileri İran, ABD ve Türkiye'dir. Lezzetli bir yiyecek olmasının yanı sıra Antep fıstığı, sağlıklı beslenme özellikleri nedeniyle fonksiyonel bir gıda olarak kabul edilebilir. Çeşitli çalışmaların sonuçlarına göre; Antep fıstığının antosiyaninler, flavan-3-ols, proantosiyanidinler, flavonoller, izoflavonlar, flavanonlar, stilbenler ve fenolik asitler gibi çeşitli biyolojik fitokimyasal gruplara sahip oldukları kanıtlanmıştır (Katia, vd., 2019).

# 3
# Nano Partiküller- Kuramsal Temeller ve Tanımlar

## 3.1 Nanoteknolojinin Tanımı ve Amaçları

Nano terimi, nanometrik bir sistem içinde bir ölçü birimi olarak kullanılır. **"Nano"** kelimesinin kökeni Yunanca'dır ve cüce anlamına gelmektedir. "Nano" sözcük olarak, fiziksel bir büyüklüğün milyarda biri anlamındadır. Nanoteknolojide nanometre (nm) adı verilen bir ölçme birimi kullanılır. 100 nm'den daha küçük biyolojik ve biyolojik olmayan yapıların karakterizasyonu, yapımı ve işlenmesi üzerinde yoğunlaşılmış bir teknolojidir. Nano ölçekli bir nesneyi 1000'e yakın atom bir araya gelerek oluşturabilir (Çıracı, 2005). Nanoteknoloji, maddeye atom ve moleküler seviyede gelişmiş ya da bütünüyle yeni özellikler kazandırmak amacıyla, hızla gelişmeye devam eden bir teknoloji alanıdır (Beykaya, 2015).

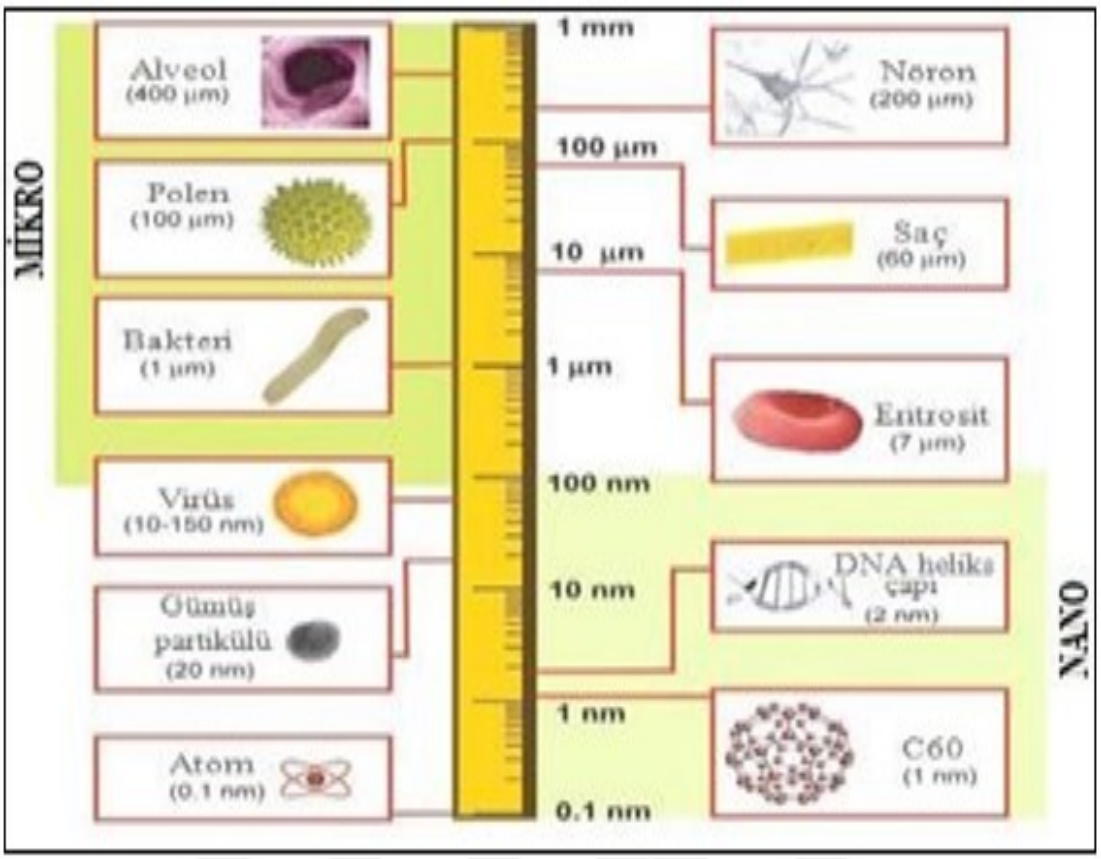



**Şekil 3.1** Nanoteknolojinin içerdiği bilim dalları (Yıldız, 2011)

## 3.2 Nanoteknolojinin Tarihçesi

Nanoteknolojinin alanı bir hayli geniştir. Hızla gelişmekte olan bir 21. yüzyıl teknolojisidir, şimdilik sınırlı uygulamalar olsa bile gelecek yıllarda çok daha geniş alanlara yayılacağı şimdiden bellidir. Günümüzde nanoteknolojiyle, tıp alanında çok büyük gelişmeler sağlanmaya başlanmıştır.

Nanoteknoloji terimi Norio Taniguchi tarafından ilk kez 1974 yılında, "ileri düzey duyarlılıkla mevcut teknolojilerin küçültülmesine dayalı bir teknoloji" olarak adlandırılmıştır (Ramsden, 2005).




**Şekil 3.2** Nanomateryallerin logaritmik uzunlukları
(Beykaya, 2015)

Nanoteknolojide ilk konseptin kullanılması, "**There is Plenty of Room At The Bottom (Aşağıda daha çok yer var)**", Richard Feynman tarafından gerçekleşmiştir. Nanoteknoloji terimi ise ilk kez, Tokyo Science Üniversitesi'nden Prof. Norio Taniguchi tarafından 1974 yılında yayınlanan yazısında şu şekilde tanımlanmaktadır:

"**Nanoteknoloji temelde, maddelerin bir atom ya da bir molekül tarafından ayrılması, birleştirilmesi ve bozulması yöntemi anlamına gelmektedir**." 1981 yılında, nano boyuttaki atomların görüntülenmesinde kullanılan "Taramalı Tünelleme Mikroskobu (TTM)" ve altı yıl sonra Atomik Kuvvet Mikroskobunun yapılmasıyla nanoteknolojinin gelişmesi hız kazanmıştır (Drexler, 1986). 1990'ların başında Amerika Birleşik Devleri'nde Rice Üniversitesi'nde, nano üretiminin babası olarak bilinen Richard Smalley ve diğer araştırmacılar, 60 karbon atomunu simetrik biçimde sıralayarak elde ettikleri futbol topu şeklindeki "fullerene" moleküllerini geliştirmişlerdir. Bu molekül, bir nm boyutta, plastikten hafif, çelikten güçlü ve elektrik - ısı geçirgenliği olan yapısıyla gündeme gelmiştir. Bu çalışma, araştırmacılara 1996 yılında Nobel Kimya Ödülü'nü kazandırmıştır (Anonim, 2005). 1991 yılında Japon bir firma tarafından yapılan araştırmada Sumio Iijima adlı araştırmacı, karbon nanotüpleri

bularak, nanoteknolojiye yeni bir boyut katmıştır. Karbon nanotüpler "fullerene" molekülünün yapısından esinlenerek yapılmış, benzer özelliklere sahip bir yapıdır (Anonim, 2008). 1991 yılında Amerika birleşik Devletleri ve 2001 yılında Avrupa Birliği, nanoteknoloji çalışmalarına öncelik vermişler, daha sonra ise İsviçre, Tayvan, Japonya, Singapur, Çin ve İsrail benzer çalışmalarla teknoloji yarışında önlerde yer almak için çalışmalarını hızlandırmışlardır. 2001 yılı nano lazerin yapılması (ZnO nanolazeri), 2002 yılında süperörgü nanotel ve 2005 yılında yapılan ilk dört tekerlekli nano araba modeli önemli gelişmelerdendir (URL-15).

2008 yılı ve sonrasında, Tel Aviv Üniversitesi'nde nanobiyoteknolojinin gelişmesi hakkında hazırlanan raporda:

- Hücre içi analizlerin yapımı (2008)
- Yapay sistemlerin kendi kendini onarabilmesi (2015)
- İnsan organlarının iç yapılanmasının tanımlanması (2018)
- Vücut içi nanomakineler (2021) yıllarında yapılması beklenen gelişmeler olduğu bildirilmiştir.

Ekonomistler ise nanoteknolojinin yeni bir sanayi ve bilgi devrimi olacağını, buna dayanarak, yakın bir gelecekte ülkenin nanoteknolojideki seviyesinin, o ülkenin gelişmişliğiyle orantılı olacağı görüşünü savunmaktadırlar (URL-16).

## 3.3 Nanoteknolojinin Kullanım Alanları

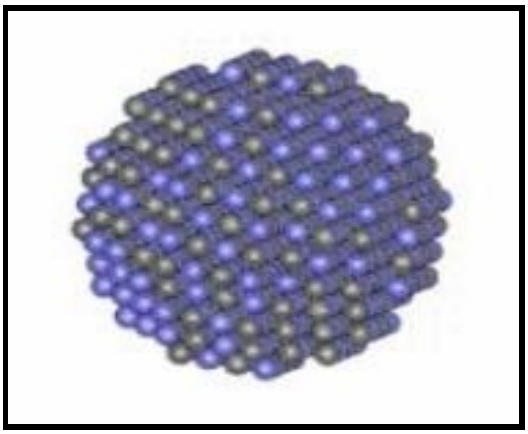
Nanoteknolojinin alanı oldukça geniştir ve sürekli de genişlemektedir. Fizik, kimya, biyoloji, bilgisayar, elektronik, ve tıp alanında da oldukça büyük gelişmelere odak olmuş bir teknolojidir. Gelecek yıllarda çok daha geniş alanlara yayılacağı da şimdiden düşünülmektedir. Nanoteknolojiyi diğer bilim dallarından ayıran en önemli özelliği nano boyutlarda malzemelerin yüzey/hacim oranlarının yüksek olmasıdır. Bu, malzeme yüzeyindeki atomların artması anlamındadır. Bu teknolojiyle malzemelerin yapılarında değişiklikler yapılabilir. Buna örnek olarak altını gösterebiliriz: normalde sarı renkli olmasına rağmen, nano boyuta indirildiğinde mavi ve kırmızı renkli olduğu görülmektedir. Normalde erime noktası 1064°C iken, 2.5 nm boyutta erime noktası, 600°C 'dir. Nanoteknoloji çalışmaları sayesinde önümüzdeki birkaç yıl içerisinde bir milyon filmi alabilen DVD'lerin yapılabileceği, insan vücudunun içinde hastalıklı dokuyu bulup iyileştiren, ameliyat yapan nano robotlar bulunabileceği, insan beyninin kapasitesinin ek nano hafızalarla güçlendirilebileceği, kirliliği önleyen nanoparçacıklar

sayesinde fabrikaların çevreyi çok daha az kirleteceği düşünülmektedir (Prasanna, 2007). Şu anda pazarda yerini almış nanoteknolojik ürünlere örnek verilecek olursa; antibakteriyel ve koku barındırmayan tekstil ürünleri, çizilmeyen araba boyaları, kir tutmayan kaplamalar, şeffaf koruyucu güneş kremleri, kendi kendisini temizleyen camlar bu ürünlerden sadece birkaç tanesidir (Miller, 2008 ; Beykaya ve Çağlar, 2015). Bu teknolojiyle üretilebilecek birçok mikroskobik aygıtlar belki de damarlarımızda dolaşacak ve birer uzman gibi tedavi sağlayacaklardır. Nano boyuta sahip yapıların fiziksel özelliklerinin anlaşılması ile yeni bir nanoskopik dünya ile bir köprü kurulabilir.

Nanomateryallerin üretimi ile birlikte çok daha dayanıklı ulaşım araçları ve kirlenmeyen, paslanmayan eşyalar, hatta kendi kendini temizleyen giysiler üretilebilecektir. Gelecekte en büyük sorunlardan biri olacak olan kullanılabilir su kaynakları da, bu teknoloji ile kendisini yenileyebilecektir. Belki de yakın bir tarihte insan vücudunda çalışabilecek biyolojik ve farmokolojik bilgisayarlar bu şekilde üretilebilir. Nanoteknoloji için, çağımızın anahtar teknolojisi olduğu söylenebilir (Nanoteknolojik lens kameraları, nanoteknolojik pil, Geçirmeli Elektron mikroskobu, 500,000 GB'lik MP3 Player vb.). Nanoteknolojinin kullanım alanları Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Bu gelişmeler bundan sonra nanoteknolojik ürünlerin yaşamımızda daha fazla yer alacağının göstergesidir.

## 3.4 Nanopartiküller

Nanopartikül terimi, bir düzlemde 0.1 ile 1000 nm arasında uzunluğa sahip partikül yapıları anlamına gelmektedir. Yukarıdan aşağıya ya da aşağıdan yukarıya doğru birbirinden farklı iki yaklaşımla sentezi yapılır. Yukarıdan aşağıya yapılan sentez yönteminde, malzeme aşamalı olarak nano boyuta indirilir. Moleküllerin ve atomların nanometre seviyesinde yapılar oluşturması da aşağıdan yukarıya olarak adlandırılan yaklaşımdır (Narayanan ve Sakthivel, 2010). Nanopartiküller, yığılmalarını engelleyen koruyucu kabuk tarafından çevrelenmiştir. Koruyucu kabuğun yapıya sterik ve elektrostatik stabilizasyon sağladığı bilinmektedir.



**Şekil 3.3** Nanopartiküllerin yapısı (Yıldız, 2011)

## 3.5 Metal Nanotanecikler ve Kullanım Alanları

Metal nanotaneciklerin özelikleri, yığın yapının özeliklerine benzememektedir. Malzemelerde boyut nano ölçeğe indikçe yapının mükemmelliği artar. Tanecik boyutunun azalması ve yüzey atom oranının artması küçük metal taneciklerin katalitik açıdan daha aktif hale gelmesini sağlar. Bu da kimyasal kararlığını artırır ve katalizör olarak kullanımını sağlar. Metal nanotanecikler, sahip oldukları bu yeni özelik sayesinde günümüzde bir çok kullanım alanına sahiptirler. Metal nanotaneciklerden olan gümüş nanotanecikler bunlardan biridir ve nanotıp, elektrik-elektronik malzeme üretimi gibi birçok farklı teknolojik alanda kullanıma sahiptir. (Bar vd., 2009a). Metal nanotaneciklerin kullanım alanları Tablo 3.1'deki gibi sayılabilir (Yıldız, 2011).

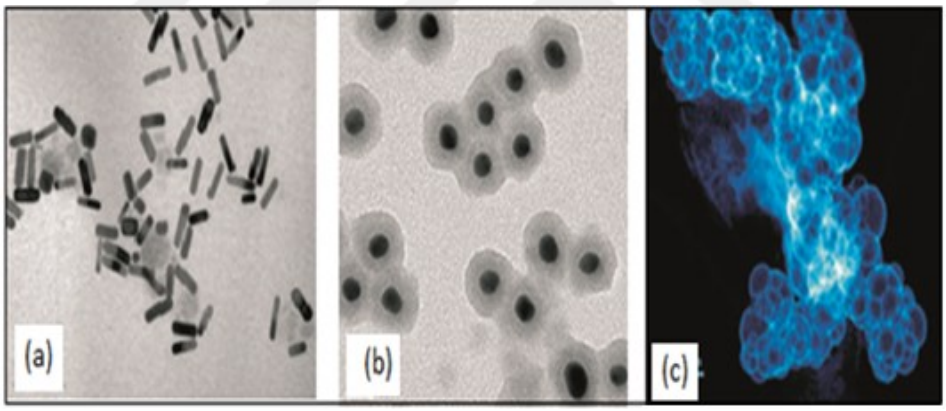
**Tablo 3.1** Nanoteknolojinin kullanım alanları (Yıldız, 2011)

| |
|---|
| Akıllı ürünler, kimyasal kaplama malzemeleri, alaşımlar |
| Bilgisayar teknolojisi |
| Yüksek yoğunluklu veri depolama hücreleri |
| Televizyon teknolojisi, elektronik cihazlar, mobil iletişim sistemleri |
| Biyoanaliz sistemleri, ayrıştırma teknolojileri |
| Hidrojen üretimi ve bataryalar |
| Sensörler, dedektörler, lazerler |
| Filtre sistemleri, yapıştırıclar, parlatıcı maddeler, boyalar |
| Yüzey aktif maddeler |
| Yüksek aktiviteli katalizörler |
| Tekstil, otomobil endüstrisi, inşaat malzemeleri |
| Tıpta görüntüleme teknolojileri |
| Optik sistemler |

## 3.6 Nanopartikül Sentezi

Nano boyuttaki nanopartiküller; nanokristal, nanoçubuk, nanotüp, nanotel ve nano ince filmler gibi birden fazla sınıflandırılmaktadır.

Nanopartikül sentezi; aktivitesi yüksek katalizörler, optik uygulamalara yarayan ürünler ile süperiletkenler, aşınma önleyici katkı maddeleri, yüzey aktif maddeler, ilaç taşıyıcı nanotüpler ve hastalıkların teşhisinde kullanılan cihazlar gibi birçok teknolojik ürünlerin yapılmasına yol açmıştır. Bunun yanında ürünlerin nano boyutta kontrolü kolay nano taşıyıcılara, sensörlere, nano makinalara ve yüksek veri depolama hücreleri gibi kendine has işlevselliği olan birçok minyatür aygıtların yapılmasına da öncüllük etmiştir (Goldstain, 1997; Liveri, 2006). Nanoteknolojinin başlangıç noktası kabul edilen nanopartiküller ile geniş ürün özelliği yelpazesinde üretim yapılabilebilmektedir. İstenilen boyut ve türde (boşluk içeren, sandviç şeklinde, küresel ya da çubuk şeklinde vb. farklı morfolojilere sahip metal alaşımı, metal, seramik ve polimer yapılı) nanopartiküller sentezlenebilir (Liveri, 2006).




**Şekil 3.4** Nanopartiküllerin geçirimli elektron mikroskobu görüntüleri (a) nanoçubuk şeklindeki (b) çekirdek- silika kabuk şeklindeki (c) içi boşluk olan nanopartiküller (Gürmen, vd., 2018; URL-17)

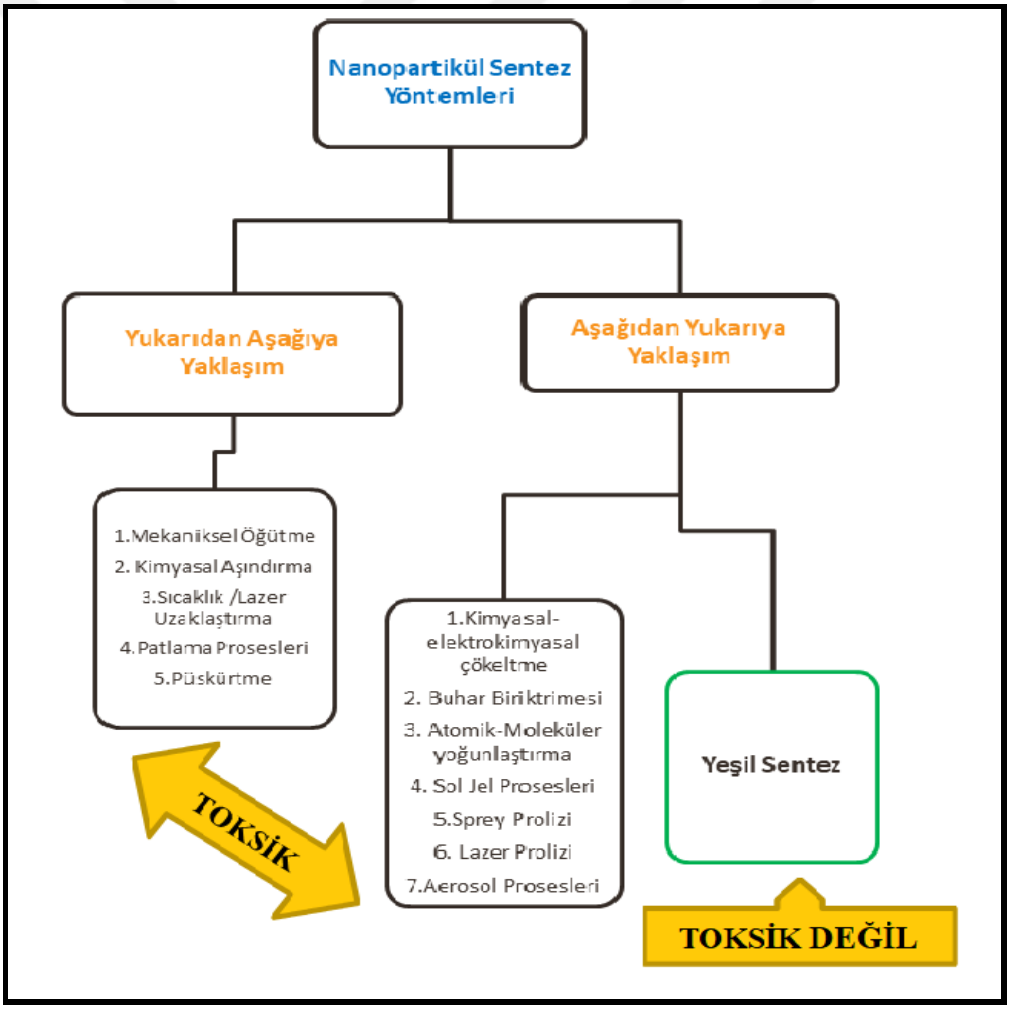
### 3.6.1 Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Yöntemler

Nanopartikül sentezinde, "Bottom Up" Aşağıdan Yukarıya, "Top Down" Yukarıdan Aşağıya adıyla bilinen iki ayrı sentez yöntemi görülmektedir.

• **Yukarından Aşağıya Sentez Yöntemi:** Bu yöntemde, malzemeye dışarıdan mekaniksel ya da kimyasal işlemler yoluyla enerji verilmesiyle malzemelerin nano boyuta inerek küçük parçalara ayrılma söz konusudur. Bu yöntem ile çalışılan sentezlere örnek olarak, aşındırma ve mekanik öğütme verilebilir. Bu yöntemde, bilinen öğütme işlemlerinde çok fazla enerji tüketimi mevcut olduğundan **yüksek**

**enerjili öğütme** adı altında da adlandırılır. Mikro düzeye erişmek için büyük malzemelerden üretime başlanır. Kuru öğütme yöntemi kullanılarak buğdayın un haline getirilmesi ve böylece su tutma yeteneğinin artması bu yöntemle senteze iyi bir örnek olarak gösterilebilir (Shibata, 2009; Beykaya ve Çağlar, 2015).

• **Aşağıdan Yukarıya Sentez Yöntemi;** Atom ya da molekül boyutundaki yapıların kimyasal reaksiyona tabi tutularak büyütülmesi şeklinde partikül oluşumunu sağlayan bir yöntemdir. Metal ve alaşımlarının nanokristal üretiminde kullanılan bir teknik olan gaz yoğunlaştırma, kimyasal buhar yoğunlaştırma, kimyasal yollarla buhar kaplama, sprey piroliz ve sol jel teknikleri aşağıdan yukarıya yaklaşımla yürütülen teknikler arasındadır (Wolfgang, 2017; Zaki, 2007). Şekil 3.5 nanopartikül sentez yöntemlerinin şematik gösterimini ifade etmektedir.




**Şekil 3.5** Nanopartikül sentez yöntemleri

Bu yöntemde; atom ve molekül ile organik-inorganik yapı oluşumu söz konusudur. Karbon nanotüplerin kontrolü, nano boyuttaki parçaları birleştirmek için biyolojik

(DNA gibi) sistemlerin sahip olduğu kendi kendine birleşebilme özelliği kullanılarak sağlanmaktadır (Beykaya ve Çağlar, 2015).

Çözelti ortamında nanopartikül sentezi için kimyasal ve fiziksel olarak eskiden bu yana uygulanan bir çok klasik yöntem mevcuttur ancak son zamanlarda çevreye zarar vermeyen, düşük maliyetli ve toksikolojik etkisi olmayan bir yöntem olan **"yeşil nanoteknoloji**" kullanılmaktadır (Bar vd., 2009). Nanopartikül üretiminde yukarıda belirtilen yöntemlerin dışında kimyasal veya fiziksel temelli adı altında iki ayrı yöntem de mevcuttur. Mekanik enerji kullanılarak uygulanan teknikler fiziksel temelli, kimyasal reaksiyonlar sonucu uygulanan teknikler ise kimyasal temelli yöntemlerdir (Wolfgang, 2017). Klasik yöntemler içerisinde kabul edilen çeşitli metotlar geliştirilmiştir.

### 3.6.2 Metal Nanopartikül Sentez Yöntemleri

Metalik nanoparçacıkların sulu ya da başka bir çözücü ortamındaki çözelti sentezinde farklı yöntemler vardır. Bunlar;

a) Elektrokimyasal Sentez Metodu
b) Hidrotermal Sentez Metodu
c) Ters misel/ Mikroemülsiyon Metodu
d) Kimyasal İndirgenme Metodu
e) Sonokimyasal Çöktürme Metodu

**a) Elektrokimyasal Sentez**

Elektrokimyasal sentezin esası; katı yüzeyler üzerinde inorganik depozitler oluşturmaya dayanır. Bu metotla, uzun yıllardan bu yana periyodik cetvelin 3-5 ve 6. gruplarındaki elementler kendi aralarında yarı iletkenler oluşturulmaktadırlar (Yıldız, 2011). Element halindeki metalin, katotta indirgenmesi sonucu okside olması ve okside olan bu metalik iyonların da çözeltiye geçmesi söz konusudur. Başka bir ifadeyle bu yöntem, kaplamaya örnektir. Aşınmaya karşı dayanıklılık, çeşitli uygulamalar ve üründe fiziksel özelliklerin yüzeyde değiştirilmesi amacıyla uygulanan yöntemlerdendir (Reetz ve Helbıg, 1994).

**b) Hidrotermal Sentez**

Hidrotermal sentezde tepkimeye sokulan karışım, otoklav benzeri kapalı bir sistemin içinde suyun kaynama noktasının üzerinde bir sıcaklığa kadar ısıtılır. Böylece buharla

yüksek basınca maruz kalarak dar bir boyut dağılımına sahip, kontrol edilebilecek düzeyde bileşimi olan toz nanopartiküller üretilebilir (Tok, Boey, Dong ve Sun, 2007).

**c) Ters misel/ Mikroemülsiyon Metodu**

Bu yöntemde; yüksek basınç-sıcaklık altında özel ekipmanlar kullanmadan tepkime ya da birden çok tepkime gerçekleşmesi sağlanabilir. Bu yöntemde taneciğin kristal yapısı, şekli ve büyüklüğü deneysel ölçüm teknikleriyle kontrol edilebilir (Yıldız, 2011).

Mikroemülsüyon sistemlerinde; organik faz-su ara yüzeyinin yüzey aktif maddeler tarafından kararlı hale gelmesiyle nano boyutta su küreleri oluşur. Nano tanecik sentezlenmesinde su küreleri, oldukça gerekli mikro ajanlardır. Madde ve su oranına göre ters misel ve mikroemülsiyon sistemler meydana gelir. Sentezlenen nanotaneciklerin boyutu, oluşan bu su kürelerinin büyüklüğüyle değişkenlik gösterebilir (Petit, Jain, Bılloudet ve Pileni, 1994; Sangeeta, Katyal ve Singh, 2009).

**d) Kimyasal İndirgenme**

Yöntemin esası, ortamda indirgeyici bir reaktif ile metal iyonlarının metalik nanopartiküllere indirgenmesidir. Bu yöntemde indirgeme işlemi sulu veya organik çözücülü ortamlarda yapılabilir (Devaux, Laurent ve Rousset, 1993).

Gümüş nanopartikül sentezinde en yaygın kullanılan yöntem olan kimyasal indirgeme yönteminde, çeşitli indirgen ajanlar vardır. Sulu veya sulu olmayan çözeltilerde bu ajanlar, $Ag^{+}$'yı indirgeyerek metalik $Ag^{0}$ oluşumunu sağlamakta ve onu oligamerik kümeler halinde aglomerasyon izlemektedir. Bu kümeler sonunda metalik kolloidal gümüş parçacıklarının oluşumuna neden olur. Düşük maliyetli oluşu, yüksek kuantum verimi ve agregasyona uğramaması gibi avantajlarıyla yöntem; gümüş nitrat tuzunun, sulu ortamda indirgeyici bir maddenin varlığında indirgenmesini kapsar. Gümüş nitrat ($AgNO_3$) derişimi, indirgeyici madde ve $AgNO_3$ hacim oranı, stabilizasyonu; nanotaneciğin şekline, taneciğin boyutuna ve agregasyonuna etki eden faktörlerdir (Sevim, 2010).

**e) Sonokimyasal Çöktürme**

Sonokimyasal tepkimeler yüksek enerjili olup, moleküler düzeyde birleşimi içermeyen, sıvı içerisindeki kimyasalların ultrasonik etki nedeniyle parçacıklar halinde

çökme, büyüme ve şekillenmesi şeklinde gelişerek nano yapıları oluşturan bir tekniktir (Suslick, 1990).

### 3.6.3 Biyosentez (Yeşil Sentez)

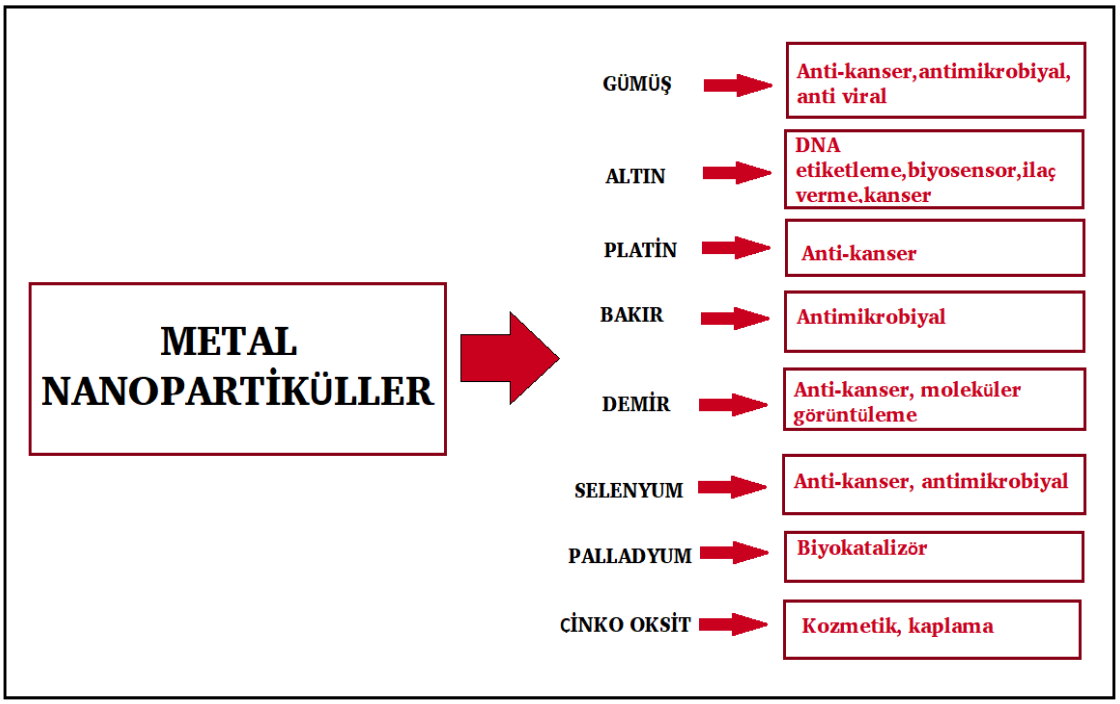
Nanoteknolojide biyosentez diğer adıyla yeşil sentez; bitkilerden elde edilen ekstraktlar, mantarlar, mayalar ve algler gibi canlı organizmalar veya çeşitli kimyasallar kullanılarak nanopartikül sentezidir (Yıldız, 2010). Raveendran ve arkadaşları yeşil sentezi Şekil 3.6'daki gibi şemalandırmışlardır.




**Şekil 3.6** Gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi (Raveendran, Fu ve Wallen, 2003)

Klasik sentez yöntemleriyle metal nanotanecik sentezi toksik madde kullanımı gerektirmesi ve çok pahalı olması nedeniyle çeşitli alanlardaki uygulamalar için birçok dezavantaj içermektedir. Yeşil sentez ise toksik madde kullanımı gerektirmemesi, basit ve ekonomik oluşu, biyomedikal ve farmakolojik uygulamalarda üretime uygun olmasından ötürü son zamanlarda kullanılan bir yöntemdir (Yıldız, 2011). Nanopartikül üretimi için mikroorganizmalar, meyveler, bitki özleri ve deniz yosunları kullanılabilir (Luangpipat, Beattie, Chisti ve Haverkamp, 2011; Rajesh, Raja, Rathi ve Sahayaraj, 2012; Singaravelu, Arockiamary, Kumar ve Govindaraju, 2007).

Biyosentez yöntemi, fizikokimyasal üretim yöntemlerinden bazılarıyla karşılaştırıldığında sadece çevresel etkisinin az olması nedeniyle değil, aynı zamanda kontaminasyondan arındırılmış ve iyi tanımlanmış boyut ve morfolojiye sahip büyük miktarlarda nanopartiküller üretilebildiğinden bir hayli avantajlıdır (Anastas ve Zimmerman, 2007; Dahl, Maddux ve Hutchison, 2007; Shankar, Rai, Ahmad ve Sastry, 2004). Bitki özlerinden sentezlenen metal nanopartiküllerin uygulama alanları Şekil 3.7' de özetlenmiştir.




**Şekil 3.7** Metal nanotanecik türleri ve biyoteknolojideki uygulamaları

### 3.6.4 Biyosentez Yöntemiyle Çeşitli Bitkilerden Nanopartikül Sentezine Ait Uygulamalar

Biyosentez yoluyla metal nanotanecik sentezine ilişkin çalışmalar araştırmacıların ilgi odağıdır. Son yıllarda yeşil sentezle ilgili yapılan bazı araştırma çalışmaları ve konu ile ilgili bilgiler aşağıda özetlenmiştir (Kumar, Chisti ve Banerjee 2013).

- Çeşitli nanopartikül tiplerinin arıtılmış atık su atığındaki mikrobik yükleri azalttığı gösterilmiştir (Duran, Marcato, De Souza, Alves ve Esposito, 2007).
- Nanopartikül uygulamaları tarımda ve bitki korumada kullanılmaktadır (Khot, Sankaran, Maja, Ehsani ve Schuster, 2012).
- Nanoparçacıkların biyoloji ve tıp alanındaki mevcut ve potansiyel uygulamaları literatürde tartışılmaktadır (Seil ve Webster, 2012).
- Hem altın hem de gümüş nanoparçacıkların, insan ve hayvan patojenlerine karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu yaygın olarak kanıtlanmıştır. Gümüş nanoparçacıklar, ticari medikal ve tüketici ürünlerinde antimikrobiyal ajanlar olarak olarak kullanılmaktadır (Duran vd., 2007).

- Gümüş nanoparçacıklar, filariasis ve sıtma vektörlerine karşı larvisidal olup ve plasmodiyal patojenlere ve kanser hücrelerine karşı aktif olduğu bulunmuştur (Rajakumar ve Rahuman, 2011).
- Gümüş iyonu, çoğu mikroorganizma için oldukça toksiktir ve nanoparçacıkların antimikrobiyal eyleminin bir bölümü hücrenin içinde veya dışında oksidasyon yoluyla gümüş iyonlarının yavaş salınması yoluyla gerçekleşir. Gümüş nanoparçacıkların mikrobiyal ve diğer hücrelerin zarlarının geçirgenliğini etkilediği bilinmektedir (Jung, Koo, Kim, Shin, Kim ve Park, 2008; Li vd., 2010).
- Biyomedikal uygulamalar için nanoparçacıkların işlevselleştirilmesi Thanh tarafından tartışılmıştır (Thanh, 2010).
- Metal nanopartikül sentezlenmesi ve karakterizasyonunun belirlenmesi amacıyla Dubey ve arkadaşları, Tansy fruit bitkisi özütü kullanarak gümüş ve altın nanotanecikler sentezleyebilmişlerdir (Dubey, Lahtinen ve Sillanpaa, 2010).
- Philip 2010 yılında yaptığı çalışmada, Hibiscus rosa sinensis bitki yaprakları özütü kullanarak metal nanotanecikleri sentezlemiş ve karakterizasyonu üzerinde çalışmalar yapmıştır (Philip, 2010).
- Marimuthu ve arkadaşları; Anopheles Subpictus Grassi, filariasis vektör Culexatus seki larvalarına karşı, Mimosa pudica Gaertn (Mimosaceae)'nin sulu yaprak ekstraktı kullanılarak sentezlenmiş gümüş nanoparçacıkların etkinliğini belirlemek için antiparaziter faaliyetlerin değerlendirilmesinde; maksimum etkinliğin A.subpictus, C. quinquefasciatus ve R. microplus ve larvalarına karşı sentezlenen AgNP'lerde gözlendiğini belirtmişlerdir (Marimuthu vd., 2011).
- Venkatpurwar ve arkadaşları, yeşil sentez yöntemi ile kırmızı deniz algi (Porphyra vietnamensis) ile sülfatlanmış polisakkarit kullanılarak yaptıkları araştırmalarda; elde ettikleri gümüş nanotaneciklerle Escherichia coli (E. coli) ve Staphylococcus aureus (S.aureus) üzerinde antibakteriyal çalışmalar yapmışlar ve sonuç olarak sentezlenen gümüş nanotaneciklerin E. Coli bakterilerine karşı yüksek etki gösterdiğini ancak S. aureus bakterisi üzerinde çok fazla etkinliği olmadığını tespit etmişlerdir (Venkatpurwar, vd. 2011'den aktaran Yıldız, 2011).
- Yaptığı biyonsentez çalışmasında Yıldız, liken özütü ile gümüş nanotanecik biyosentezini gerçekleştirmiştir. Ayrıca çalışmasında liken özütü ile farklı metal nanotaneciklerin sentezlenebilir olduğunu da belirtmiştir (Yıldız, 2011).

- 2011 yılında Veerasamy ve arkadaşları, indirgeyici ajan olarak Garcinia mangostana yaprağı ekstraktı kullanarak gümüş nanopartiküllerin sentezi için basit ve çevre dostu bir yöntem geliştirmiştir. Sentezlediği gümüş nanopartiküllerin ortalama boyutunu 35 nm olduğunu bildirmişlerdir (Veerasamy vd., 2011).
- Gümüş nanoparçacıklarının antifungal etkileri Vivek ve arkadaşları tarafından yaptıkları çalışmada gösterilmiştir(Vivek, Kumar, Steffi ve Sudha, 2011).
- Shameli ve arkadaşları, Curcuma longa yumru tozu kullanılarak gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezini gerçekleştirmişlerdir (Shameli vd., 2012).
- Kumar ve arkadaşları, 2013 yılında *"Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts"* adlı araştırmalarında aşağıdaki tabloda çeşitli bitkilerle yapılan nanopartikül sentezinde kullanılan metalleri ve kaynaklarını belirtmişlerdir. Kumar ve arkadaşları, metalik nanoparçacıklar yapmak için bitki özütlerinin kullanımının ucuz, kolay ölçeklenebilir ve çevreye zararsız olduğunu, özellikle terapötik uygulamalarda toksik kirleticilerin bulunmaması gereken nanoparçacıkların yapılması için bitki özütü esaslı sentezin uygun olduğunu belirtmişlerdir (Kumar, Chisti ve Banerjee, 2013).
- 2016 yılında yapılan bir çalışmada, gümüş nanopartiküllerin derin antibakteriyel aktivitelere sahip olduğu ve memelilerde akut toksisite göstermediği sonucuna varılmıştır (Orlovi vd., 2016).
- Panáče ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda; gümüş nanoparçacıkların çok yönlü antibakteriyel etki gösteren, iyi bilinen antibakteriyel maddelerden biri olduğunu, bu nedenle AgNP'lerin antibakteriyel etkilerini arttırmak için geleneksel antibiyotiklerle kombinasyon halinde kullanım için uygun adaylar olduklarını belirtmişlerdir (Panáček vd., 2016).
- *"Mısırdan Elde Edilen, Bir Biyo Yüzey Aktif Madde Kullanarak Metal Nanoparçacıkların Biyojenik Sentezi ve Antimikrobiyal Özellikleri"* adlı çalışmalarında yeşil sentezin; nanopartikül sentezi uygulanmasının arttırılmasına, temiz, toksik olmayan ve çevre açısından güvenli üretim işlemlerinin kullanılmasıyla çevresel etkilerin azaltılmasına, atıkların en aza indirilmesine ve nanomalzemeler alanındaki enerji verimliliğinin arttırılmasına yardımcı olabileceğini belirtmişlerdir (Sergio, Ameneiro, Moldes vd., 2017)
- Gökçe ve arkadaşları; *"Antibakteriyel Nanolif Yapılarının Çözeltiden Üfleme Sistemi ile Üretimi ve Karakterizasyonu"* adlı çalışmalarında; Cotinus Coggygria

Scop. bitkisi etanol özütünün antimikrobiyal etkinliğe sahip bileşenler içerdiğini, dolayısıyla çeşitli alanlarda uygulanabilecek yeni bir yaklaşımla antibakteriyel TPU nanolifler üretmişlerdir. Üretilen bu nanolif yapıların, Cotinus Coggygria Scop. etanol özütü gibi antibakteriyel ajan ile birlikte yara örtüsü gibi biyomedikal uygulamalarda ve biyosidal hava filtrelerinde kullanılabileceğini öngörmektedirler (Gökçe, Akgül, Kılıç ve Açma, 2018). Tablo 3.2'de bunların dışında yapılan birçok çalışma verilmiştir.

**Tablo 3.2** Bitkilerle nanopartikül sentezi çalışmaları
(Kumar vd., 2013)

| Kullanılan Bitki | Nanopartikül | Kaynaklar |
|---|---|---|
| Acalypha indica | Ag | Krishnaraj et al. (2010) |
| Allium sativum (garlic clove) | Ag | Ahamed et al. (2011) |
| Azadirachta indica (neem) | Ag/Au bimetallic | Shankar et al. (2004) |
| Citrus sinensis peel | Ag | Kaviya et al. (2011b) |
| Coleus amboinicus Lour | Ag | Subramanian (2012) |
| Coleus aromaticus | Ag | Vanaja and Annadurai (2012) |
| Curcuma longa | Ag | Sathishkumar et al. (2010) |
| Cymbopogon sp. (lemongrass) | Au | Shankar et al. (2005) |
| Datura metel | Ag | Kesharwani et al. (2009) |
| Desmodium triflorum | Ag | Ahmad et al. (2010) |
| Diopyros kaki | Pt | Song et al. (2010) |
| Dioscorea bulbifera | Au | Ghosh et al. (2011) |
| Eclipta prostrate | Ag | Rajakumar and Abdul Rahuman (2011) |
| Emblica officinalis | Ag, Au | Ankamwar et al. (2005) |
| Eucalyptus hybrid | Ag | Dubey et al. (2009) |
| Euphorbiaceae latex | Cu/Ag | Patil et al. (2012b); Valodkar et al. (2011) |
| Garcinia mangostana (mangosteen leaf) | Ag | Veerasamy et al. (2010) |
| Gelidiella acerosa | Ag | Vivek et al. (2011) |
| Geranium leaf | Au | Shankar et al. (2003) |
| Jatropha curcas L. latex | Pb | Joglekar et al. (2011) |
| Memecylon edule | Ag, Au | Elavazhagan and Arunachalam (2011) |

Tablo 3.2'nin devamı

| Kullanılan Bitki | Nanopartikül | Kaynaklar |
|---|---|---|
| Melia azedarach | Ag | Sukirtha et al. (2011) |
| Mentha piperita (peppermint) | Ag, Au | Ali et al. (2011); Parashar et al. (2009a) |
| Moringa oleifera | Ag | Prasad and Elumalai (2011) |
| Mucuna pruriens | Au | Arulkumar and Sabesan (2010) |
| Musa paradisiacal | Ag | Bankar et al. (2010) |
| Nelumbo nucifera (lotus) | Ag | Santhoshkumar et al. (2011) |
| Parthenium leaf | Au | Parashar et al. (2009b) |
| Psidium guajava | Au | Raghunandan et al. (2009) |
| Pyrus sp. (pear fruit extract) | Au | Ghodake et al. (2010) |
| Rhododedendron dauricam | Ag | Mittal et al. (2012) |
| Rosa rugosa | Ag, Au | Dubey et al. (2010a) |
| Sesuvium portulacastrum | Ag | Nabikhan et al. (2010) |
| Swietenia mahogani (mahogany) | Ag/Au bimetallic | Mondal et al. (2011) |
| Syzygium cumini | Ag | Banerjee (2011); Kumar et al. (2010) |
| Tanacetum vulgare (tansy fruit) | Ag, Au | Dubey et al. (2010b) |
| Terminalia catappa | Au | Ankamwar (2010) |
| Trachyspermum copticum | Ag | Vijayaraghavan et al. (2012) |
| Vitex negundo L | Au | Zargar et al. (2011) |

## 3.7 Gümüş Nanopartiküller

Gümüşün çok eski zamanlardan bu yana yanık ve yara tedavisinde ve çeşitli bakteriyel enfeksiyonları iyileştirmede kullanıldığı bilinmektedir. Gümüşün bu özelliği 19. yy'da klinik olarak tespit edilmiştir. Gümüş bileşiklerinin kullanımı antibiyotiklerin ortaya çıkmasıyla birlikte önemli ölçüde azalmıştır (Samanta vd., 2010). Gümüş nanopartiküllerin, antibiyotiklere direnç gösteren bazı patojenik bakterilere karşı kullanımının da olduğu bilinmektedir. Bu nedenle gümüş nanopartiküllerin nanolosyon, nanojel, gümüş kaplamalı medikal cihazlar ve gümüş içerikli giysilere kadar değişik medikal uygulamaları bulunmaktadır. Bakteri kaynaklı bulaşıcı hastalıkların ve antibiyotiklere dirençli bazı bakteri türlerinin ortaya çıkması, ilaç şirketleri ve araştırmacıları yeni antibakteriyel madde araştırma çalışmalarına yöneltmiştir. Nano ölçekli maddeler, eşsiz kimyasal ve fiziksel özellikleri ve geniş yüzey alanına sahip olmaları nedeniyle yeni nesil antimikrobiyal maddeler olarak ortaya çıkmışlardır.

**Gümüş sülfadiazin:** Gümüş sülfadiazin (AgSD), gümüş ve sülfadiazinden oluşmuş kombinasyondur. Geniş spektrumlu bir antibiyotiktir, %1 suda çözünür ve krem halinde kullanılır. Yanık yaralarının tedavisinde kullanılır. Yara ile etkileşime girerek, yarada gümüş rezervi olarak gümüş iyonları yayma işlevi görür. Bütün sülfa grubu ilaçlar gümüş ile kombine edilerek test edilmiş ve gümüş sülfadiazinin en etkili olduğu görülmüştür.

**Gümüş zeolit:** Gümüş zeolit, kristal aluminosilikat ile toprak alkali metallerin kompleks yapması sonucu iyon değiştirme yöntemiyle gümüş iyonları ile yer değiştirmesi ile oluşur. Japonya'da seramik ürünler antimikrobiyal özellik kazandırılmak amacıyla gümüş zeolit ile kaplanır. Yiyeceklerin bakterilerden korunmasında, medikal ürünlerin dezenfeksiyonunda ve malzemelerin dekontaminasyonunda (Nesnelerden ve canlı dokulardan patojen mikroorganizmaların dezenfeksiyon, sterilizasyon, temizlik ve/veya antisepsi ile uzaklaştırılması) bu tür seramiklerin kullanıldığı bilinmektedir (Rai, Yadav ve Gade, 2009).

**Metalik gümüş:** Gümüşün antibakteriyel özelliği gümüş miktarına ve ortama salınan gümüş iyonlarının hızına bağlıdır. Metalik formda gümüş inerttir. Ancak, derideki nemle ve yaradaki sıvı ile reaksiyona girerek iyonize hale geçer. İyonlaşan gümüş oldukça reaktiftir ve dokudaki proteinlere bağlanarak bakteri hücre duvarında yapısal değişiklikler meydana getirir. Gümüş, ayrıca bakteri DNA ve RNA'sına bağlanarak bakteri replikasyonunu denatürasyon ile inhibe eder (Keskin, 2011).

### 3.7.1 Gümüşün Antimikrobiyal Özelliği

Antibakteriyel bir madde olarak gümüşün çok geniş spektrumu olan bir antibiyotik olması ve gümüşe karşı bakteri direncinin neredeyse hiç bulunmaması büyük bir avantajdır. Antibakteriyel etkiyi, gümüşün tiyol gruplarıyla reaksiyona girip onları etkisiz hale getirerek veya bakteri DNA'sıyla etkileşip bakteri çoğalmasını engelleyerek sağladığı düşünülmektedir. E. coli bakterilerinin faaliyetlerine gümüşün etkisi üzerine yapılan çalışmada, gümüş iyonlarının bakterinin içerisine nüfuz ettiği, bakteri ribozomuyla etkileşime girerek böylece ATP üretimi için gerekli olan protein sentezini engellemesiyle bakterinin yaşam faaliyetlerini durdurduğu görülmüştür. Gümüş, gümüş nitrat formunda antibakteriyel özelliğinden dolayı dezenfektan olarak kullanılmaktadır (Dadosh, 2009; Keskin, 2011). Antik çağlarda süt ve içme suyu içine gümüş paralar atılarak suyun dezenfeksiyonu sağlanmış, gümüş kap ve aletlerin kullanımıyla gıdaların

dayanaklılığı sağlandığı da bilinmektedir. NASA uzay araçlarında ve Rus MIR uzay istasyonunda kullanılan sularda gümüşün antimikrobiyal ajan olarak kullanıldığı da bildirilmektedir (Beykaya ve Çağlar, 2015).

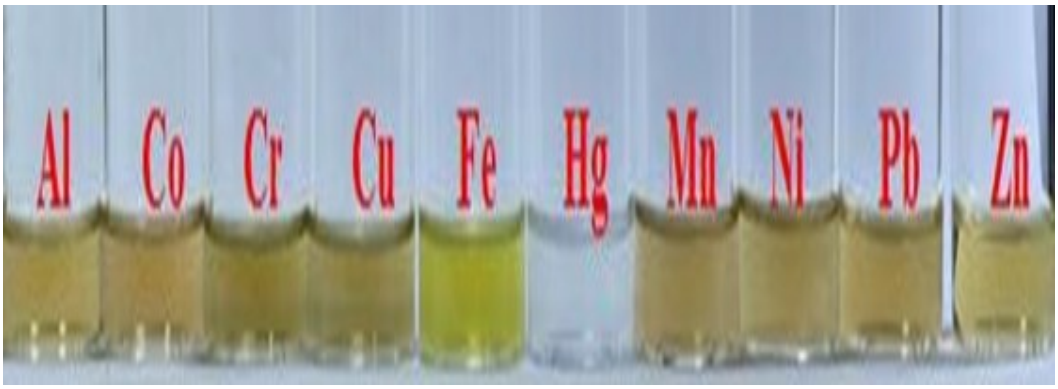
### 3.7.2 Gümüş Nanopartiküllerin Kullanım Alanları

Gümüş, altın ve bakır gibi nano boyutta metal partiküllerin mikroorganizmalar için oldukça toksik olduğu yaygın olarak bilinmektedir. E.coli bakterileri başta olmak üzere 16 bakteri çeşidi üzerinde etkisi vardır. Nanopartiküllerin yüzey alanlarının genişliğinden dolayı bakteri ve mantarlar üzerindeki öldürücü etkisi önemli ölçüde artar. Gümüş nanopartiküller, mikrobiyal DNA'lara bağlanarak bakteri DNA'sının eşlemesini önler ve bakterinin metabolik enzimlerindeki tiyol gruplarıyla reaksiyona girip onları etkisiz hale getirerek inaktif hale getirirler. AgNP'ler; yanık kapatma gibi sağlık bakım ürünlerinde, su arıtma sistemlerinde ve medikal cihazlarda uygulama alanlarına sahiptir. Son zamanlarda ise HIV-I virüsü ile boyuta bağlı etkileşime girdiği açıklanmıştır (Thomas, 2007). Antibakteriyel olarak kullanılan bazı maddeler (kuaterner amonyum tuzları, metal tuzu çözeltileri ve antibiyotikler) toksik özellik gösterebilmektedir. Ancak gümüş toksik özelliğe sahip değildir ve bakteriyel enfeksiyonların etkisini önemli ölçüde yok eder. Kimya, tıp, biyoteknoloji, gıda ve tekstil bilimi gibi alanların gümüşe olan ilgisi hızla artmaktadır (Jeong, 2005; Keskin, 2011).

Yapılan bir çalışmada (Feng vd., 2000), gümüş iyonlarının gram-pozitif *S. aureus* ve gram-negatif *E. coli* bakterileri üzerindeki morfolojik değişimleri incelenmiştir. İyon kaynağı olarak $AgNO_3$ kullanılmıştır. Gram-pozitif *S. aureus*'un tipik bir pozitif bakteri olarak kalın hücre duvarı nedeniyle gümüş iyonlarına daha iyi direnç gösterdiği görülmüştür (Kim vd., 2007). Gümüş nanopartiküllerinin farklı derişimleri ile maya, E. coli ve S. aureusa karşı gerçekleştirilen antimikrobiyal testlerde plakalar üzerinde işlem yapmışlar ve mayaları sığır mastitisinden izole etmişlerdir. Pozitif kontrol, itrakonazol ile kıyaslandığında; her iki fungal ajanının fungal hücre duvarına zarar vermesi sonucu, hücre duvarının zayıflaması ve geçirgenliğinin artmasına sebep olduğunu bildirmişlerdir. Böylece AgNP'lerin sülfür içeren proteinlere bağlanarak hücre membranına zarar verirken aynı zamanda hücre üretimini sağlayan DNA gibi fosfor içerikli maddelerle interaksiyona girerek solunum zincirini bozabileceği ve hücre ölümünün gerçekleşeceğini rapor etmişlerdir (Beykaya ve Çağlar, 2015).

## 3.8 Gümüş Nanopartiküller Kullanılarak Sulu Çözeltide Metal İyonlarının Kolorimetrik Saptanması

Nanoteknoloji yaşam bilimleri, sağlık hizmetleri ve endüstriyel teknolojilerden faydalanmak için önemli gelişmeler içermektedir (Nouailhat, 2008). Metalik nanopartiküllerin sentezi için çevre dostu geliştirilen bu süreç, nanoteknolojide önemli bir adımdır. Son zamanlarda, biyolojik bilimlerde seçici ve hassas tespit yöntemlerinin geliştirilmesi için nanoteknolojinin kullanımı giderek daha fazla önem kazanmıştır (Vahabi ve Dorcheh, 2014). Özellikle kolorimetrik sensörler sadeliği, çabukluğu, yüksek seçiciliği nedeniyle belirgin bir avantaja sahiptir ve gerçek zamanlı kalitatif ve kantitatif analize izin vermek de dahil olmak üzere kullanım kolaylığı sağlamaktadır (Li vd., 2010). Heteroaromatik halkalara ve hidroksil, karbonil ve karboksil gruplarına sahip bitki özütleri, AgNP sentezinde dengeleyici maddelerin yanı sıra indirgeyici görevi de yapar. (Chowdhury, 2015). Son yıllarda altın ve gümüş nanopartiküller çeşitli kimyasal maddelerin (virüsler, kanserli hücreler, suda inorganik ve organik kirleticiler), toksinlerin, ağır metalleri ve pestisitlerin algılanması için biyosensör olarak yaygın şekilde kullanılmıştır. Belirleme yöntemleri benzersiz boyutlarına ve çözeltinin renk değişimlerine dayanır (Swarnali, Gadadhar ve Jayasree, 2015).




**Şekil 3.8** Çeşitli ağır metallere AgNP seçicilik testinin fotoğrafı (Firdaus vd., 2017).

# 4
# Materyal ve Metodlar

## 4.1 Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, Sigma, Aldrich, Merck, ve Riedel-de Haen'den satın alındı. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Anorganik Kimya Araştırma Laboratuvarında yer alan alet ve cihazlar kullanıldı. Çalışmamızda; Kern ABJ marka hassas terazi, termometre, manyetik karıştırıcı, vortex (Fisons), spektrofotometre (Shimadzu UV-1600), Elektromag santrifüj cihazı, pH-metre(inoLab), FT-IR Spektrometre (Thermo Nicolet İs 10), balon jojeler, pensler, cam petriler, eküvyon çubukları, cam tüpler, erlenler, Whatmann No:1 kâğıdı, kullanılan başlıca ekipmanlardır.

## 4.2 Kullanılan Bitkisel Materyaller

Araştırma materyali olarak kullanılan Cotinus coggygria Scop.bitkisi (CCY), Bulgaristan'ın Shumen bölgesinden Nisan 2017 yılında ve Pistascia Vera L. (PVLDK) bitkisi, Gaziantep-Birecik yöresinden Ağustos 2017 yılında temin edilerek, saf su ile temizlenip güneş ışınlarına maruz kalmayacak şekilde oda sıcaklığında kurutuldu. Kurutulmuş olan materyal oda sıcaklığında, nemden uzak ve karanlık ortamda muhafaza edildi.

Araştırmamızda kullanılan bitkiler, ait oldukları familyalar ve çalışmada kullanılan kısımları ve hangi bölgeden temin edildiği Tablo 4.1'de, fotoğrafları ise Şekil 4.1ve Şekil 4.2' de verilmiştir.

**Tablo 4.1** Çalışmada kullanılan bitkilerin adı, familyası ve temin edildikleri bölgeler

| Türkçe Adı | Latince Adı | Familyası | Temin Edilen Bölge | Kullanılan Kısım |
|---|---|---|---|---|
| Tetra -Duman Ağacı | Cotinus coggygria Scop. | Anacardiaceae (Sakız ağacıgiller) | Bulgaristan-Shumen Bölgesi | Yaprak |
| Antep Fıstığı | Pistascia Vera L. | Anacardiaceae (Sakız ağacıgiller) | Gaziantep-Birecik İlçesi | Dış kabuk |



**Şekil 4.1** Çalışmada kullanılan CCY görseli




**Şekil 4.2** Çalışmada kullanılan PVLDK görseli

## 4.3 Kullanılan Kimyasal Çözeltiler

### 4.3.1 Antioksidan Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- %2'lik sodyum karbonat ($Na_2CO_3$) çözeltisi: 2 g $Na_2CO_3$ tartılarak distile suda çözüldü ve balon jojede 100 mL'ye tamamlandı.
- Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR): Ticari olarak satın alındığı şekilde kullanıldı.
- 1mM difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) çözeltisi: 0.0985 g DPPH tartılarak etanolde çözüldü ve balon jojede 250 mL'ye tamamlandı.
- 0.1mM difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) çözeltisi: 1mM DPPH çözeltisinden 10 mL alınarak etanolle balon jojede 100 mL'ye tamamlandı.
- %1'lik potasyum hekza siyano ferrat (III) [$K_3Fe(CN)_6$] çözeltisi: 1 g $K_3Fe(CN)_6$ tartılarak distile suda çözüldü ve balon jojede 100 mL'ye tamamlandı.
- %10'luk trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi: 10 g TCA tartılarak distile suda çözüldü ve balon jojede 100 mL'ye tamamlandı.
- %0.1'lik demir III klorür ($FeCl_3$) çözeltisi: 0.1 g $FeCl_3$ tartılarak distile suda çözüldü ve balon jojede 100 mL'ye tamamlandı.
- 0.2M fosfat tamponu ($pH_{6.6}$): $KH_2PO_4$ (15.602 g/L) ve $Na_2HPO_4.2H_2O$ (14.196 g/L) çözeltilerinin pH'ı pH6.6 olacak şekilde karıştırılması ile hazırlandı.
- Gallik asit çözeltisi (GA): 0.029 g gallik asit tartılarak distile suda çözüldü ve mezürde 29 mL'ye tamamlandı.
- Etil alkol

### 4.3.2 Biyosentez Çalışmasında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- Gümüş nitrat ($AgNO_3$) çözeltisi: 1.7 g $AgNO_3$ 1 litre distile suda çözülerek 10mM $AgNO_3$ çözeltisi, bu çözeltinin distile su ile seyreltilmesi yoluyla da 1mM ve 5mM $AgNO_3$ çözeltileri hazırlandı.
- 0.1N Hidroklorik asit (HCl) çözeltisi: 8,28 mL derişik (%37 lik, d=1,19) HCl alınıp, 1000 mL distile suda çözülerek hazırlandı.
- 0.1N Sodyum hidroksit (NaOH)çözeltisi: 4 g katı NaOH 1000 mL distile suda çözülerek hazırlandı.
- Distile su

### 4.3.3 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi Çalışmasında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması (Kullanılan Besiyerleri)

- Nurient Agar (NA) Hazırlanışı: 20 g toz besiyer distile su ile çözüldükten sonra 1000 mL tamamlanıp, otoklavda 121°C'de 15 dakika 1 atmosfer basınçta steril edilmiştir.
- Mueller Hinton Broth (MHB) Hazırlanışı: 21 g toz besiyer distile su ile 1000 mL'ye tamamlanıp, pamuklu tüplere dağıtılarak, otoklavda 121°C'de 15 dakika 1 atmosfer basınçta steril edilmiştir.
- Mueller Hinton Agar (MHA) Hazırlanışı: 34 g toz besiyeri distile su ile 1000 mL'ye tamamlanıp, otoklavda 121°C'de 15 dakika 1 atmosfer basınçta steril edilmiştir.
- Antimikrobiyal aktivitelerin belirlenmesi için; gram pozitif bakterilerden Enterococcus faecalis (ATCC 29212), Staphylococcus aureus (ATCC 43300), Bacillus subtilis (NRRL NRS-744) ve gram negatif bakterilerden ise Escherichia coli (ATCC 25922), Proteus mirabilis (ATCC 12453), Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853), Salmonella typhimurium (ATCC 14028) standart suşları kullanılmıştır.

## 4.4 Metodlar

### 4.4.1 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Son zamanlarda toplam antioksidan kapasite veya toplam antioksidan aktiviteyi ölçmek için birkaç metod geliştirilmiştir. Antioksidan aktivite tayin metotları, kimyasal reaksiyonlarına göre başlıca iki gruba ayrılırlar:

- Hidrojen atomu transferine (HAT) dayanan metotlar
- Bir tek elektron transferine (ET) dayanan metotlar

HAT- ve ET-temelli metotlar, koruyucu antioksidan kapasitesi yerine radikal veya oksidan giderici kapasiteyi ölçmeyi hedefler (Bardakçı, 2017). Hidrojen atomu transferine dayanan bu metotlara ilk olarak bir radikal başlatıcı kullanılarak peroksil radikali üretilir. Reaksiyon ortamındaki antioksidan ve substrat radikaller için yarışır. Sonuç olarak, peroksil radikali ve hedef molekülün arasındaki reaksiyon geciktirilir veya inhibe edilir. ET-temelli metodlarda, antioksidanın, $Fe^{3+}$, $ABTS^{\bullet+}$ gibi bir oksidan tarafından yükseltgenmesi sonucunda bir elektron antioksidandan oksidana transfer edilir, bu da oksidanın renk değişimine neden olur. Spektrofotometre ile absorbans

değerleri ölçülür. Bu absorbans değişiminin derecesi antioksidan konsantrasyonuyla orantılı olduğundan, antioksidanın indirgeyici kapasitesi tayininde kullanılır. FCR ile toplam fenolik bileşik tayini, $Cu^{2+}$ indirgeme kapasitesi, DPPH (difenil-1-pikrilhidrazil) metodu, TEAC (Troloks eşiti antioksidan kapasite) ve FRAP (Fe (III) İyonu İndirgeme Gücü) metodları bu sınıfa giren yöntemlerdendir (Frankel ve Meyer, 2000).

Çalışmamızda ET-temelli metodlardan *FRAP* (Fe(III) İyonu İndirgeme Gücü) metodu, difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali giderme metodu ve Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) ile toplam fenolik bileşik tayini metodlarıyla antioksidan aktivite tayini yapılmıştır. Antioksidan kapasiteyi ölçmeyi amaçlayan metodlar Tablo 4.2'de belirtilmiştir.

**Tablo 4.2** Antioksidan aktivite tayin metodları (İşbilir, 2008)

| | |
|---|---|
| **HAT-Temelli Metodlar**<br>ROO• + AH ⟶ ROOH + A•<br>ROO• + LH ⟶ ROOH + L• | Oksijen radikalini absorblama kapasitesi (ORAC)<br>Linoleik asit oksidasyonunun inhibisyonu (TRAP)<br>LDL oksidasyonunun inhibisyonu (TRAP)<br>Crocin ağartma metodu |
| **ET- Temelli Metodlar**<br>$M^n + e^-$ (AH'den) ⟶ AH• + $M^{(n-}$ | Trolox ekivalenti antioksidan kapasite (TEAC)<br>Fe(III) iyonu indirgeme gücü (FRAP)<br>DPPH radikali giderme aktivitesi<br>FCR ile toplam fenolik bileşik tayini |
| **Diğer Metodlar** | Tiyobarbitürikasit ile oksidasyon ürünlerinin tayini (TBARS)<br>Peroksit değeri (POV)<br>Ransimat metodu<br>Çeşitli serbest radikalleri yakalama metodları |

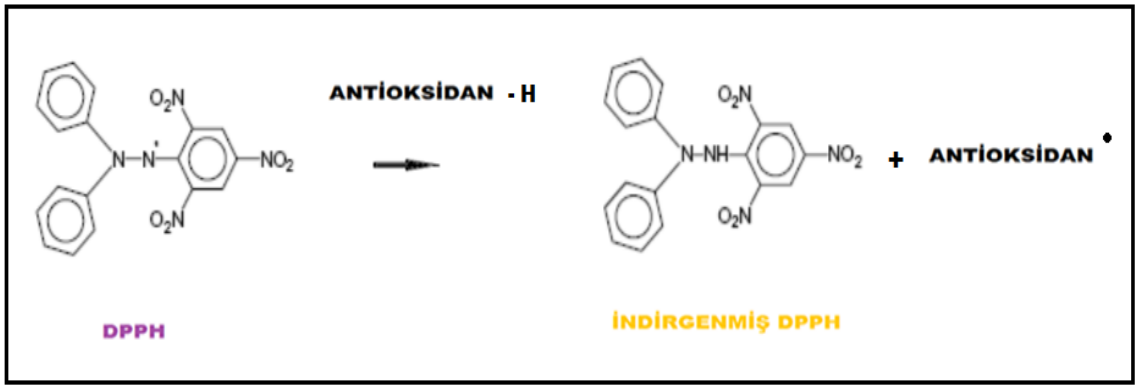
### 4.4.1.1 İndirgeme Gücü Tayini

Bitki ekstraktlarının indirgeme kapasitesine dayanan bu yöntem, Oyaizu tarafından 1986 yılında açıklandı (Oyaizu, 1986). Ortamdaki indirgen madde $Fe^{+3}$ iyonlarını $Fe^{+2}$ iyonlarına indirger ve demir III klorür ($FeCl_3$) ilavesiyle oluşan Prusya mavisi rengindeki kompleksin absorbansı ölçülür. Absorbans değerinin yüksek olması, indirgeme kapasitesinin de yüksek olduğunun bir göstergesidir (İşbilir, 2008). Bu yaklaşımın ana dezavantajı; metotta okside olabilen bir substrat içermemesinden ötürü

antioksidanların koruyucu özellikleri hakkında bilgi sağlanamamaktadır (Huang, Ou ve Prıor, 2005).

#### 4.4.1.2 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Süpürme Kapasitesi Medotu

Kısa adı DPPH olan 2,2 difenil-1-pirilhidrazil bileşiği kararlı organik azot radikallerinden biridir. Ticari olarak bulunur ve fenolik antioksidanların aktiviteleri üzerinde yapı etkisini çalışmak için kullanılan ilk sentetik antioksidanlardan biridir. Yöntem ilk kez Blois (1958) tarafından DPPH radikallerinin antioksidan moleküllerin belirlenmesi için kullanılmıştır (Blois, 1958). Brand-Williams ve arkadaşları 1995 yılında yöntemi geliştirerek birçok araştırmacıya referans olmuştur. Yöntem DPPH solüsyonunun hidrojen atomu verebilen madde (antioksidan) ile elektronunun yer değiştirmesi sonucunda başlangıçtaki mor menekşe renginin kaybı ile oluşan sarı renkli indirgenmiş formun spektrofotometrede 517 nm'de absorbans değerinin ölçümüne dayanmaktadır. Antioksidan tarafından indirgenince rengi solduğu için reaksiyonun ilerleyişi UV-Vıs Spektroskopisi ile izlenir. DPPH'in renginin solması antioksidan konsantrasyonu ile orantılıdır. Bu metotla, bitki ekstratlarının farklı konsantrasyonları ile reaksiyona sokulan DPPH'in absorbansındaki değişim ölçülerek, konsantrasyona karşılık gelen absorbans grafiği çizilir. Grafikten elde edilen y=ax+b denkleminde DPPH derişimini yarıya düşüren örnek miktarı µg/mL cinsinden belirlenmektedir ve DPPH konsantrasyonunun başlangıçtakine göre %50 azalması için kullanılan antioksidan miktarı $EC_{50}$ (etkin konsantrasyon 50) değeri olarak ifade edilir (Brand-Williams, Cuvelier ve Berset, 1995). DPPH yöntemi, basit ve hızlı sonuç veren bir yöntemdir ve doğru sonuçlar vermektedir (Perez-Jimenez vd., 2000). Sadece UV-Vis Spektroskopisi kullanılarak tayin yapılması mümkündür. DPPH yalnızca alkol ortamında çözünebilir, sulu ortamda çözünmemesi ise yöntemin dezavantajıdır. Bu durum, hidrofilik antioksidanların antioksidan kapasitelerinin tayininde sınırlamaya sebep olmaktadır (Arnao, 2000). DPPH radikalinin yapısı ve antioksidan ile vermiş olduğu reaksiyon sonunda oluşan indirgenmiş formu Şekil 4.3'deki gibi gösterilmiştir (Yavaşer, 2011).




**Şekil 4.3** DPPH radikalinin yapısı ve antioksidan ile verdiği reaksiyon

### 4.4.2 FCR ile Toplam Fenolik Madde Tayini

Metod, başlangıçta proteinlerde fenol grubu içeren tirozin kalıntısı ile Folin-Ciocalteu ayıracının (FCR) etkileşiminden dolayı protein analizi için düşünülmüştür. Sonraları daha genişletilerek toplam fenol tayini metodu olarak kullanımı artmıştır. Toplam fenolik bileşik belirleme tayini spektrofotometre cihazıyla kolorimetrik olarak yapılmaktadır (Singleton ve Rossi, 1965). FCR, $Cu^{+}$ ve C vitamini gibi fenolik olmayan bileşikler tarafından da indirgenebildiği için fenolik bileşiklere spesifik değildir. Ancak fenolik bileşikler sadece bazik şartlar altında (metotta pH~10 için karbonat çözeltisi kullanılır) FCR ile reaksiyon verir. FCR reaktifi fosfotungustik ($H_3PW_{12}O_{40}$) ve fosfomolibdik ($H_3PMo_{12}O_{40}$) asitlerin karışımı olup fenol oksidasyonu sırasında bu oksitler mavi renkli bileşiklere indirgenir. Bu renk değişimi polifenolik bileşik miktarı ile orantılı olup 760 nm'de spektrofotometrede takip edilir. FCR örneğin indirgeyici kapasitesini ölçen bir metod olduğu için "antioksidan kapasite" ve FCR ile toplam fenol metodu arasında korelasyon bulunur. Basit ve tekrarlanabilir bir metod olduğundan dolayı fenolik antioksidan çalışmalarında kullanılmaktadır (Huang vd., 2005). Değişik konsantrasyonlarda (50-500 µg/mL) hazırlanan standart gallik asit çözeltilerine FCR ile toplam fenolik madde tayini uygulanır ve okunan absorbanslar ile konsantrasyonlar arasında çizilen gallik asit standart eğri denkleminden, örneklerin toplam fenolik madde miktarları µg gallik asit (µgGAE/g ekstrakt) şeklinde hesaplanır (İşbilir, 2008).

### 4.4.3 Antimikrobiyal Aktivite Tayin Metotları

Mikroorganizmalar antibiyotiklere karşı çok değişik şekilde duyarlılık gösterirler. Bu durum hem antibiyotiklerin yapısına ve hem de mikroorganizmaların türüne göre değişebilir. Mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılığın saptanmasında başlıca 2 temel yöntem vardır:

1. Dilüsyon Yöntemi
2. Difüzyon Yöntemi (Günay, 2002)

#### 4.4.3.1 Dilüsyon Yöntemi

Dilüsyon teknikleri bir organizmanın antibiyotiklere duyarlılığını tayin etmek için geliştirilen bir yöntemdir. Antibiyotiklerin sıvı veya katı (agarda dilüsyon) besiyerlerinde bir seri halinde seyreltilmesi ve her bir seyreltme ortamına, duyarlılığı belirlenecek bakterinin belirli sayıda hücre içeren süspansiyonundan eşit miktarda ilave edilmesine dayanmaktadır. Deneyde seriler, uygun sıcaklıkta (35-37 °C'de) ve bakterinin üremesi için uygun süre (16-20 saat) bekletildikten sonra sonuçlar değerlendirilerek, bakterinin üremesini durduran en az antibiyotik miktarı (minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIK)) belirlenir. Antimikrobiyal maddenin kullanılan organizmaya karşı hangi konsantrasyonda etkili olduğu üremenin varlığına göre belirlenmektedir. Antimikrobiyal madde konsantrasyonunun, inhibitör konsantrasyonunun altında olduğu tüplerde süspansiyonda bulanıklık görülür. Antimikrobiyal madde konsantrasyonu inhibitör konsantrasyonuna eşit ya da yüksek olduğu tüpler de ise süspansiyon berraktır (Öztürk, 2009).

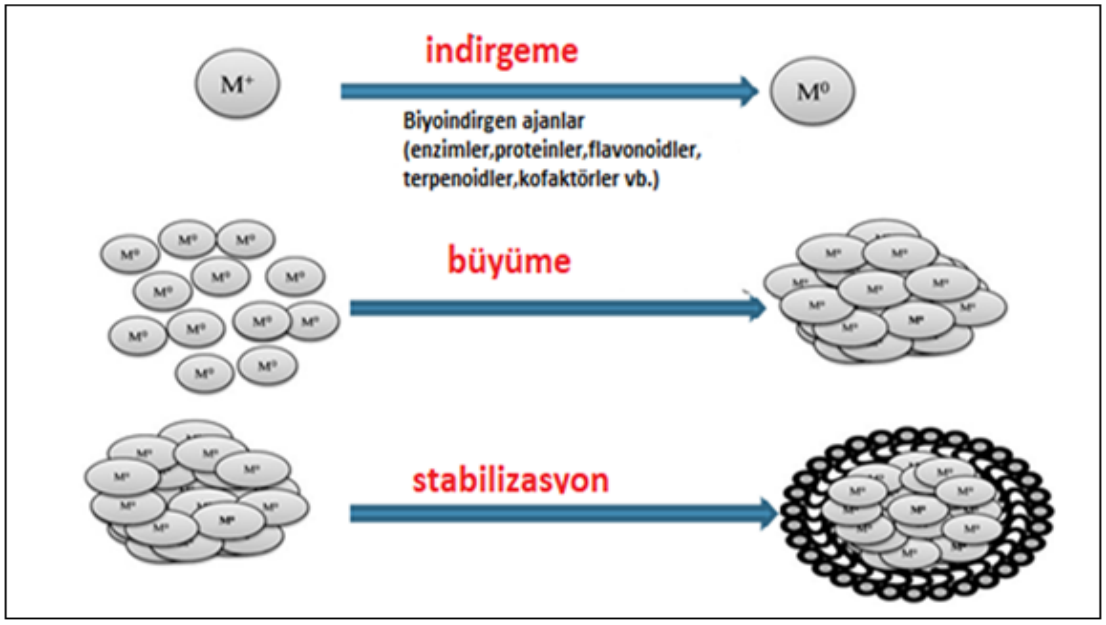
#### 4.4.3.2 Difüzyon Yöntemi

Bu yöntem, test materyalinin agarda difüze olmasına ve difüze olduğu mesafe kadar test mikroorganizmalarını inhibe etme esasına dayanır. Bu yöntemin birbirinin yerine geçebilir tarzda kullanılan disk difüzyon ve çukur agar difüzyon yöntemleri olarak adlandırılan iki alt grubu vardır. Çalışma prensibi olarak fazla fark olmayan bu iki yöntemde, sadece test edilecek olan materyallerin agar üzerine yerleştirilmeleri farklıdır. Çukur agar testinde değerlendirilecek olan madde agar üzerinde açılan standart çukurlara yerleştirilirken, disk difüzyon testinde emdirildikleri kağıt diskle birlikte agar yüzeyine yerleştirilir (Çakır ve Yıldırım, 2008). Disk difüzyon yönteminde, belirli bir miktar antimikrobiyal ajan içeren kağıt diskler test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakların yüzeyine yerleştirilir. Böylece, diskteki antimikrobiyal madde besiyeri içerisine yayılır ve bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi engeller. Bunun sonucunda, disk çevresinde bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı (zonu) oluşur. İnhibisyon zonunun çapı, bakterinin duyarlılığı ile değişir. Bu alanın çapı ölçülerek her antimikrobiyal madde için farklı olabilen duyarlılık

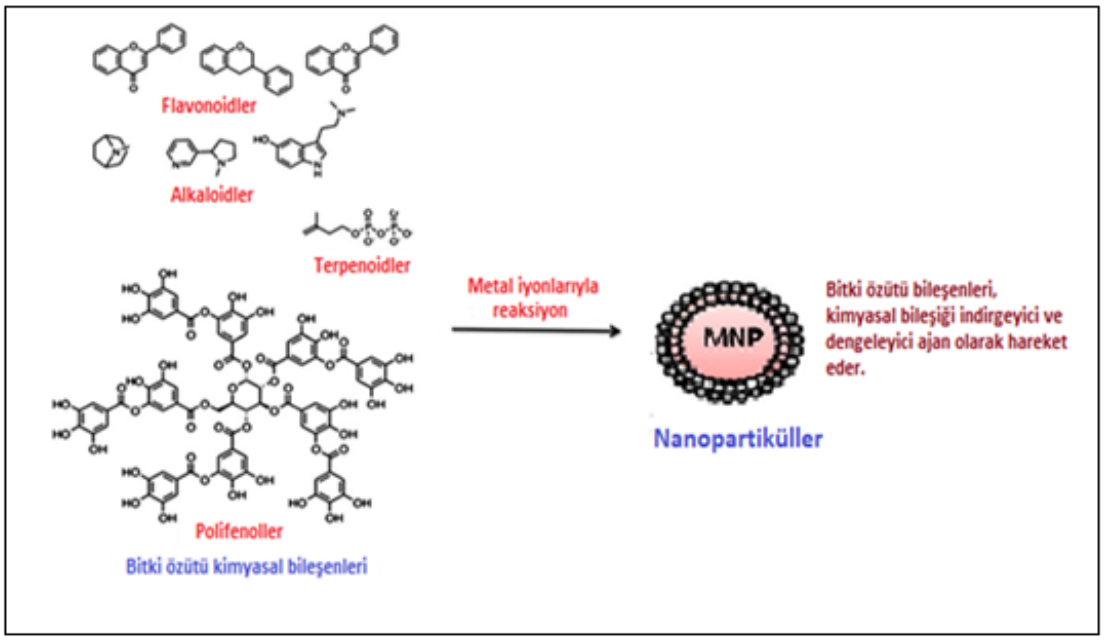
sınırı değerleriyle karşılaştırma yapılır. İnhibisyon alanının büyüklüğüne göre duyarlı, orta veya dirençli şeklinde duyarlılık kategorisi belirlenir (Öztürk, 2009).

### 4.4.4 Bitki Özütü Kullanılarak Nanopartikül Sentez Yöntemleri

Bitki özleri kullanarak nanopartikül sentezinde bitki özütü oda sıcaklığında metal tuzu çözeltisi ile karıştırılır. Reaksiyon birkaç dakika ile birkaç saat içinde tamamlanır. Gümüş, altın ve diğer birçok metal kullanılarak bu yolla nanopartiküller üretilmiştir (Li vd., 2011). Bitki özütünün konsantrasyonu, yapısı, ortam sıcaklığı ve pH'ı ve ayrıca metal tuzunun konsantrasyonu ile tepkime süresi nanoparçacıkların miktar, şekil-boyut vb. özelliklerini etkilediği bilinmektedir (Dwivedi ve Gopal, 2010). Bitki özütlerini kullanarak nanoparçacıkların sentezine yönelik prosesler kolaylıkla ölçeklendirilebilir ve mikrobik proseslere dayanan ve pahalı metodlarla karşılaştırıldığında daha ucuz bir seçenek sunar (Iravani, 2011; Dhillon vd., 2012; Li vd., 2011). Bitki özleri hem nanoparçacıkların sentezinde indirgeyici ajanlar olarak, hem de stabilize edici maddeler olarak etki gösterebilir. Ayrıca bitki özütünün kaynağının da (yani toplandığı bölgeye göre değişiklik gösterir) nanoparçacıkların özelliklerini etkilediği bilinmektedir (Kumar ve Yadav, 2009). Bunun nedeni, farklı ekstraktların farklı konsantrasyonlar ve organik indirgeyici ajan kombinasyonları içermesidir (Mukunthan ve Balaji, 2012). Şekil 4.6'da nanoparçacıkların biyosentezi için kullanılan çeşitli bitkilerin fotoğrafları gösterilmektedir (Kumar vd., 2016). Kumar, Amit ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları "*Synthesis of Metallic Nanoparticles Using Plant Extracts"* adlı çalışmalarında nanopartikül sentez mekanizmasını şekillerdeki gibi belirtmişlerdir (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5).




**Şekil 4.4** Nanopartikül sentez mekanizmaları ($M^+$, metal iyon) (Kumar vd., 2016)




**Şekil 4.5** Metal iyonlarının biyolojik olarak indirgenmesinden sorumlu olan ve bitki özünde bulunan kimyasal bileşenler (Dubey, vd., 2009; Huang, vd., 2007).




**Şekil 4.6** Tablo 3.2 ve bölüm 3.6.4' de belirtilen, biyosentezde kullanılan bazı bitki çeşitleri

# 5
# Deneysel Çalışmalar

## 5.1 Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

### 5.1.1 Cotinus Coggygria Scop. (Tetra) Bitkisi Yapraklarından (CCY) Ekstrelerin Hazırlanması

Kurutulan bitki (CCY), el ile iyice küçük parçalara ayırıldıktan sonra su ve etanol, çözücüleri kullanılarak ekstraktları hazırlandı. CCY'den elde edilen ekstrelerin çalışmada kullanılan isimleri ve ekstraksiyon verimleri Tablo 5.1'de verilmiştir.

- **Etanol ekstraksiyonu için;** 20 gram bitki örneği 400 mL etanol ile oda koşullarında 3 saat boyunca manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Süzgeç kâğıdından süzüldü ve süzüntülerin çözücüleri evaporatörde 40 ºC'de uçuruldu (Tawaha, 2007). Analiz edilinceye kadar renkli şişelerde +4 ºC'de muhafaza edildi. Antioksidan aktivite denemelerinde çalışılacak konsantrasyonlar için örnekler etanol ile çözüldü. Diğer konsantrasyonlar, bu stok çözeltinin 1:10 oranında seyreltilmesiyle hazırlandı.
- **Su ekstraksiyonu için;** 20 gram bitki örneği 400 mL distile suda oda koşullarında 3 saat boyunca manyetik karıştırıcıda bekletildi. Süzgeç kağından süzüldü ve süzüntüler evaporatörde 40 ºC'de uçuruldu. Analiz edilinceye kadar renkli şişelerde +4 ºC'de muhafaza edildi. Biyosentez denemelerinde kullanılmak üzere örnekler distile suda çözüldü. Diğer konsantrasyonlar bu stok çözeltinin 1:5 oranında seyreltilmesiyle hazırlandı.

**Tablo 5.1** CCY'den elde edilen ekstrelerin çalışmada kullanılan isimleri ve ekstraksiyon verimleri

| Kullanılançözeltiler | Ekstrelerin Adları | Verimleri (%) |
|---|---|---|
| ETANOL | CCY-Etanol Ekstresi (TEA) | 10 |
| SU | CCY-Su Ekstresi (TSU) | 15 |

### 5.1.2 Pistascia Vera L. (Antep fıstığı) Dış Kabuğu (PVLDK) Ekstrelerin Hazırlanması

Kurutulan bitki (PVLDK), el ile iyice küçük parçalara ayırıldıktan sonra su ve etanol, çözücüleri kullanılarak ekstraktları hazırlandı. PVLD'dan elde edilen ekstrelerin çalışmada kullanılan isimleri ve ekstraksiyon verimleri Tablo 5.2'de verilmiştir.

- **Etanol ekstraksiyonu için;** 5'şer gram bitki örnekleri 150 mL etanol ile oda koşullarında 4 saat boyunca manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Süzgeç kâğıdından süzüldü, elde edilen süzüntünün çözücüsü evaporatörde 40 ºC'de uçuruldu (Tawaha, 2007) ve çalışma zamanına kadar renkli şişelerde +4 ºC'de muhafaza edildi. Antioksidan aktivite denemelerinde çalışılacak konsantrasyonlar için örnekler etanol ile çözüldü. Diğer konsantrasyonlar bu stok çözeltilerden 1:10 oranında seyreltilmesiyle hazırlandı.
- **Su ekstraksiyonu için;** 5'şer gram bitki örnekleri 150 mL distile su ile oda koşullarında 4 saat boyunca manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Süzgeç kâğıdından süzüldü, süzüntülerin çözücüleri evaporatörde 40 ºC'de uçuruldu (Mata, vd., 2007). Analiz edilinceye kadar renkli şişelerde +4 ºC'de muhafaza edildi. Biyosentez denemelerinde çalışılacak konsantrasyonlar için örnekler distile suda çözüldü. Diğer konsantrasyonlar bu stok çözeltilerin 1:10 oranında seyreltilmesiyle hazırlandı.

**Tablo 5.2** PVLDK'den elde edilen ekstrelerin çalışmada kullanılan isimleri ve verimleri

| Kullanılan Çözeltiler | Ekstrelerin Adları | Verimleri (%) |
|---|---|---|
| ETANOL | PVLDK-etanol ekstresi (Dk-et) | 30 |
| SU | PVLDK-su ekstresi (DK-su) | 27 |

## 5.2 Ekstraktların Antioksidan Aktivitesi Tayini

### 5.2.1 CCY ve PVLDK Ekstrelerinin Toplam İndirgeme Kuvveti Aktivitesi Tayini

Toplam indirgeme kuvveti tayini, Oyaizu yöntemine göre bitkilerimizin etanol ekstreleriyle yapılmıştır (Oyaızu, 1986). Stok çözeltiden 100, 200, 300, 400, 500 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan CCY ekstreleri ve 60, 120, 180, 240 ve 300 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan PVLDK ekstreleri ve standart madde çözeltilerinin ayrı ayrı 1 mL'sine 2.5 mL fosfat tamponu (0.2M, pH $_{6.6}$) ve 2.5 mL % 1'lik $K_3Fe(CN)_6$ ilave edildi. Karışımlar 50 ºC'de 20 dakika çalkalamalı su banyosunda

karıştırıldıktan sonra 2.5 mL %10'luk TCA çözeltisi ilave edilerek 5 dakika vortekslendi. Vorteks sonrası süpernatantlardan 2.5 mL alınarak eşit hacimde distile su ve 0.5 mL %0.1'lik $FeCl_3$ çözeltisi ile karıştırıldı. Spektrofotometre cihazında CCY ile hazırlanan çözeltilerin 695 nm'de, PVLDK ile hazırlanan çözeltilerin ise 700 nm'de absorbans değerleri okundu. Kör deneme, bitki örneği yerine tampon çözeltiyle hazırlandı. BHA, BHT, E vitamini ve C vitamini standartlarıyla karşılaştırılarak her bir bitki ekstraktı için konsantrasyon- absorbans grafikleri çizildi. BHA, BHT, E vitamini, Askorbik Asit, CCY ekstresi ve PVLDK ekstrelerine ait indirgeme gücü absorbans eğrileri sırasıyla Şekil 6.2, Şekil 6.3, Şekil 6.4, Şekil 6.5, Şekil 6.6 ve Şekil 6.7' de gösterilmiş olup, indirgeme gücüne ait absorbans değerlerini içeren veri grafiği ise Şekil 6.1'de, gösterilmiştir. Standart maddeler, CCY ekstresinin ve PVLDK ekstresinin toplam indirgeme kuvveti aktivitesi tayininde konsantrasyon-absorbans değerleri Tablo 6.1'te gösterildiği gibidir.

### 5.2.2 CCY ve PVLDK Ekstrelerinin DPPH Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi Tayini

DPPH metodu, doğal antioksidanların serbest radikal yakalama aktivitesini değerlendirmek için kullanılan serbest radikali giderme aktivitesi yöntemidir. DPPH, koyu mor renkte bir radikaldir. Antioksidandan bir proton alarak renksiz α,α-difenil-β-pikrihidrazil molekülüne dönüşür. DPPH maddesinin, antioksidan madde tarafından indirgenmesi sonucu rengi açılır yani mordan sarıya dönüşür. Çalışmada kullanılan her bir bitki ekstraktının serbest radikal giderici etkileri, DPPH radikali kullanılarak tayin edildi. CCY ekstresi için DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, 6 farklı konsantrasyonda hazırlanan çözeltiler için (100, 200, 300, 400, 500 ve 1000 µg/mL) tayin edildi. PVLDK ekstresi için ise; 60, 120, 180, 240 ve 300 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan çözeltilerle yapılan deneylerde, cam tüplere hazırlanan ekstraktlardan ve standart çözeltilerden 1'er mL alınarak üzerine 4 mL 0.1mM DPPH çözeltisi ilave edildi. Çözeltiler 5 dakika vortekslendikten sonra oda koşullarında karanlık ortamda 30 dakika bekletildi. Spektrofotometre ölçümlerinde (450-800 nm aralığında) CCY ekstresi ile hazırlanan çözeltilerin 517 nm'de, PVLDK ekstresi ile hazırlanan çözeltilerin ise 512 nm'de absorbans değerleri okundu. Kontrol çözeltisi örnek ve standart madde yerine 1 mL etanol kullanılarak aynı şartlarda hazırlandı. Yukarıdaki çözeltilere uygulanan yöntem standart maddelere (BHA, BHT, Askorbik Asit ve E Vitamini) uygulandı ve elde edilen sonuçlar, numunelerin serbest radikal

yakalama aktiviteleri ile kıyaslandı. Başlangıçtaki DPPH konsantrasyonunu %50 azaltmak için gerekli miktarı **"antiradikal etkinlik"** olarak ifade edilir ve $EC_{50}$ (µg/mL) olarak isimlendirilir (Frankel ve Meyer, 2000). $EC_{50}$ değeri antioksidan aktiviteyi ölçmek için yaygın olarak kullanılan ölçüdür.

Standart maddeler, CCY ve PVLDK etanol ekstrelerinin DPPH Serbest Radikalleri Giderme Kapasitesi tayininde konsantrasyon-absorbans veri grafiği Şekil 6.8'de verilmiştir. BHA, BHT, Askorbik Asit, E vitamini, CCY ekstresi ve PVLDK ekstresi DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayinine ait absorbans eğrileri ise sırasıyla Şekil 6.9, Şekil 6.10, Şekil 6.11, Şekil 6.12, Şekil 6.13 ve Şekil 6.14'te verilmiştir. $EC_{50}$ değeri hesaplanmadan önce % DPPH radikali giderme aktivitesi aşağıda verilen formül ile hesaplandı:

$$\% \text{ DPPH Radikali Giderme Aktivitesi} = \frac{(\text{Kontrolün Absorbansı} - \text{Örnek Absorbansı})}{\text{Kontrol Absorbansı}} \times 100 \qquad (5.1)$$

$EC_{50}$ değeri, çalışılan konsantrasyonlara karşı % serbest radikal giderme aktivite değerlerinin yerleştirilmesi ile elde edilen grafik kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar $EC_{50}$ = µg/mL olarak verildi. Tablo 6.2, CCY ve PVLDK ekstresi ve standart maddelerin DPPH serbest radikalleri giderme kapasitesi tayininde $EC_{50}$ değerlerini, Tablo 6.3 ise absorbans değerlerine karşı % inhibisyon değerlerini içermektedir.

### 5.2.3 CCY ve PVLDK Ekstrelerinin Toplam Fenolik Madde Tayini

CCY ve PVLDK ekstrelerinde Bölüm 4.4.2'de anlatıldığı üzere toplam fenolik bileşik miktarı tayini edildi. Her iki bitkinin de 50, 100, 150, 200, 250 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan etanol ekstraktlarından 1 mL alındı. Distile su ile hacimler 46 mL'ye tamamlandıktan sonra üzerlerine 1 mL FCR ilave edildi. 3 dakika sonra %2' lik $Na_2CO_3$ çözeltisi eklenerek hacim 50 mL'ye tamamlandı. Oda koşullarında 2 saat çalkantılı su banyosunda 250 rpm'de tutuldu. Örnek yerine distile su içeren kör çözelti hazırlandı ve spektrometrede kör denemeye karşı absorbanslar 760 nm'de ölçüldü. Artan konsantrasyonlarda (50-250 µg/mL) hazırlanan gallik asit çözeltilerinde de FCR ile toplam fenolik madde miktarları tayin edildi. Spektrofotometrede okunan absorbanslar ile konsantrasyonlar arasında çizilen gallik

asite ait standart eğri denkleminden, örneklerin toplam fenolik madde miktarları gallik asit (mg GAE/g ekstrakt) cinsinden hesaplandı (Şekil 6.15, Tablo 6.4).

## 5.3 CCY ve PVLDK Ekstreleri Kullanarak AgNP Sentezi (Biyosentez)

Şekil 4.1 ve Şekil 4.2' de gösterilen CCY ve PVLDK, birkaç kez deiyonize suyla yıkandı. Bitki özütleri elde etmek için; 20 g CCY el ile küçük parçalara ayırılarak 400 mL deiyonize su ile 80ºC'de 3 saat, 5 gram PVLDK el ile küçük parçalara ayırılarak 150 mL deiyonize su ile 25 derecede 4 saat manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Süzgeç kâğıdından süzüldü. Yapılan deneylerde Ag nanotaneciklerinin oluşumu üzerine $AgNO_3$ konsantrasyonu, bitki özütü konsantrasyonu, tepkime sıcaklığı- süresi ve pH değişimi etkileri incelenmiştir.

### 5.3.1 Biyosentezde $AgNO_3$ Konsantrasyonunun Etkisi

Çalışmamızda CCY ve PVLDK ekstrelerinden 1'er mL alınıp 10 mL'lik balon jojelere ayrı ayrı aktarıldı ve 10 mM $AgNO_3$ çözeltisi ile hacimlerine tamamlanan çözeltilere manyetik karıştırıcıda 250 rpm hızda CCY ekstresi için 2 saat, PVLDK ekstresi için ise 3 saat karıştırma işlemi uygulandı ve her yarım saatte bir spektrofotometre cihazında absorpsiyon spektrumları alındı. Aynı çalışma 1mM ve 5mM $AgNO_3$ çözeltileri ile tekrarlandı. Biyosentezde CCY ekstresi ve PVLDK ekstresi ile yapılan $AgNO_3$ konsantrasyonunu belirleme çalışmalarına ait absorbsiyon grafikleri ve şematik görüntüsü Şekil 6.16, Şekil 6.17, Şekil 6.18 ve Şekil 6.19 ve Şekil 6.20'de gösterilmiştir.

### 5.3.2 Bitki Ekstresi Konsantrasyonunun AgNP Sentezine Etkisi

**CCY ile AgNP sentezi;** Bitki ekstraktından 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1.0 mL alınıp 10 mL'lik balon jojelere aktarıldı. 10 mM $AgNO_3$ ile hacimlerine tamamlanan çözeltilere manyetik karıştırıcıda 250 rpm hızda 2 saat karıştırma işlemi uygulandı ve her yarım saatte bir absorpsiyon spektrumları alındı. Tüm çözeltilerin spektrum piklerine ait maksimum dalga boyu 433 nm'de gözlendi. CCY ekstre miktarının AgNP sentezine etkisini inceleyen tüm çalışmalardan elde edilen AgNP' lere ait fotoğraflar ve absorbsiyon spektrumları Şekil 6.21, Şekil 6.22'de, absorbans değerleri ise Tablo 6.5 ve Tablo 6.6'da verilmiştir.

**PVLDK ile AgNP sentezi;** Bitki ekstraktından 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 1.0, 1.5, 2.0 ve 5.0 mL alınıp 10 mL'lik balon jojelere aktarıldı. 10 mM $AgNO_3$ ile hacimlerine tamamlanan çözeltilere manyetik karıştırıcıda 250 rpm hızda 5 saat karıştırma işlemi uygulandı ve her yarım saatte bir spektrofotometrede absorpsiyon spektrumları alındı. Tüm çözeltilerin çözeltilerin spektrum piklerine ait maksimum dalga boyu 436 nm'de gözlendi. PVLDK ekstre miktarının AgNP sentezine etkisini inceleyen çalışmadan elde edilen absorbsiyon spektrumları Şekil 6.23' de, absorbans değerleri ise Tablo 6.7' de gösterilmiştir.

### 5.3.3 AgNP Sentezine Ortamın pH Değeri ve Reaksiyon Süresinin Etkisi

**CCY ekstresi ile AgNP sentezi;** Biyosentez reaksiyonu ile AgNP sentezinde ortamın pH değeri önemlidir. Bu nedenle hem asidik hem bazik ortamda reaksiyonun incelenmesi için pH: 2-12 aralığında 2 saat reaksiyon süresi uygulanarak deneyler gerçekleştirildi. 8 tane 10 mL'lik balon jojenin her birine bitki ekstraktından (0.15 mL CCY ekstresinin üzeri 10 mL'ye deiyonize su ile tamamlanan çözeltisinden) ayrı ayrı 1'er mL aktarıldı ve üzerlerine 8 mL 10 mM $AgNO_3$ çözeltisi ilave edilip 0.1N HCl ve 0.1N NaOH ile ortamın pH değeri, istenilen pH (pH: 3-12) değerlerine ayarlandıktan sonra 10 mM $AgNO_3$ çözeltisi ile hacimlerine tamamlanan çözeltilere manyetik karıştırıcıda 250 rpm hızda 2 saat karıştırma işlemi uygulandı ve her 15 dakikada spektrofotometre cihazında (350-720 nm aralığında) absorpsiyon spektrumları alındı (Şekil 6.24, Tablo 6.8).

**PVLDK ekstresi ile AgNP sentezi;** CCY ekstresine uygulandığı gibi, PVLDK ekstresine de ilk olarak $pH_3$ -$pH_8$ aralığında 5 saat reaksiyon süresi uygulanarak deneyler gerçekleştirildi. Çalışmaya 0.4 mL ve 0.5 mL bitki ekstresi kullanarak devam etmeye karar verildi. 4 ayrı 10 mL'lik balon jojeye 0.4 mL ve 0.5 mL PVLDK ekstresi aktarılarak, 10 mM $AgNO_3$ çözeltisinden 8 mL ilave edildi. 0.1N HCl ve 0.1N NaOH ile çözeltilerin PH değeri ayrı ayrı, $pH_3$, $pH_4$, $pH_5$ ve $pH_6$ değerlerine ayarlandıktan sonra 10 mL hacmine $AgNO_3$ ile tamamlandı. Manyetik karıştırıcıda 250 rpm hızla 5 saat karıştırma işlemi uygulandı ve her yarım saatte spektrofotometre cihazında (350 - 720 nm aralığında) absorpsiyon spektrumları alındı. Bu çalışmayla hem uygun pH değeri (oda sıcaklığında), hem konsantrasyon, hem de reaksiyon süresi saptanmaya çalışıldı (Şekil 6.25 ve Şekil 6.26, Tablo 6.9).

### 5.3.4 AgNP Sentezine Reaksiyon Sıcaklığı, Süre ve pH değerinin Etkisinin İncelenmesi

AgNP sentezi ve kararlılığına reaksiyon sıcaklığı ve süresinin etkisinin incelenmesi için çalışmalar her iki bitki ekstresine de uygulandı.

**CCY ekstresi ile AgNP sentezi;** 0.15 mL CCY özütü alınarak 10 mL'lik iki ayrı balon jojeye aktarıldı. Üzerlerine 8 mL 10mM $AgNO_3$ çözeltisi ilave edildi. 0.1N HCl ve 0.1N NaOH ile çözeltilerin pH değeri istenilen pH değerlerine ($pH_4$, $pH_5$ ve $pH_6$) ayarlandı ve 10 mM $AgNO_3$ ile hacimlerine tamamlandı. Ayrı ayrı $pH_4$, $pH_5$ ve $pH_6$ değerleri için 30, 50, 80°C sıcaklık değerlerinde manyetik karıştıcıda 2 saat süre ile reaksiyonlar izlendi ve belirli süre aralıklarında çözeltiden numuneler alınarak spektrofotometrede 400-800 nm dalga boyu aralığında absorbsiyon spektrumları alındı. 60. dakikaya ait alınan spektrumları ve absorbans değerleri Şekil 6.27 ve Tablo 6.10' da verilmiştir.

**PVLDK ekstresi ile AgNP sentezi;** 0.5 ml PVLDK özütü alınarak 10 mL'lik iki ayrı balon jojeye aktarıldı. Üzerlerine 10mM $AgNO_3$ çözeltisi ilave edilerek gümüş nanopartiküller oluşturuldu. 0.1N HCl ve 0.1N NaOH ile çözeltilerin pH'ı istenilen ($pH_9$ ve $pH_{10}$) pH değerlerine ayarlandı ve çözeltiler 10 mM $AgNO_3$ ile hacimlerine tamamlandı. Ayrı ayrı $pH_9$ ve $pH_{10}$ değerleri için ve 40, 60, 80°C sıcaklık ortamında manyetik karıştıcıda 3 saat süre ile reaksiyon izlendi. Belirli aralıklarla alınan numuneler, spektrofotometrede 400-800 nm dalga boyu aralığında maksimum dalga boyunda absorbans değerleri kaydedildi. 180. dakikada alınan absorbsiyon spektrumları ve ölçülen absorbans değerleri Şekil 6.28 ve Tablo 6.11' de verilmiştir.

## 5.4 Sentezlenen AgNP'lere Metal İyonlarının Etkisinin İncelenmesi

Metal iyonlarının kolorimetrik tespit ve tayininde gümüş nanopoartiküllerin kullanılabilirliğini araştırmak için optimum koşullarda taze hazırlanmış CCY ve PVLDK AgNP çözeltilerinden 0.5 mL alınıp, üç ayrı 5 mL'lik cam jojeye ilave edildi. Önceden hazırlanmış olan metal tuzu çözeltisinden(her biri 1000 ppm'lik) AgNP'ler bulunan jojelere sırasıyla 0.1 mL, 0.25 mL ve 0.5 mL ilave edildi ve üzerleri distile su ile hacimlerine tamamlandı. Çözeltiler oda sıcaklığında 250 rpm hızda 1 saat inkübe edildikten sonra, U-Vis spektrofotometre'sinde absorpsiyon spektrumları kaydedildi ve çözeltilerin fotoğrafları fotoğraf makinesi ile alındı. Bu işlem her bir metal tuzu (Ca,

Cu, Cd, Co, Fe(II), Fe(III), Hg, K, Na, Ni, Pb, Zn) için tekrarlandı. Çalışmaya ait şematik görüntü ve çözeltilerin fotoğrafları Şekil 6.29 ve Şekil 6.30' da verilmiştir.

## 5.5 CCY ve PVLDK Ekstreleriyle Sentezlenen AgNP'lerin Antimikrobiyal Etkisinin İncelenmesi

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları için hem CCY ve PVLDK ekstraktları hem de bu ekstraktlardan elde edilen AgNP içeren kolloidal çözeltiler kullanılmıştır. Ekstraktlar ve AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi modifiye edilerek çalışılmıştır (Bauer, Kirby, Sherris ve Turck, 1966). Bakterilerin stok kültürleri canlandırılmak üzere Nutrient Agar'a ekilmiş, 37°C de 16-18 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra besiyeri üzerinde gelişen kolonilerden alınarak Mueller Hinton Broth bulunan tüplere aktarılmış 0.5 Mc Farlanda göre, yani yaklaşık olarak bakteri için 108 CFU/mL olan süspansiyonların bulanıklığı densitometre kullanılarak ayarlanmıştır.

Hazırlanan bakteri süspansiyonları eküvyon yardımıyla Mueller Hinton Agar besiyerine ekilmiştir. Katı besiyerlerinde açılan kuyucuklara 100 µL konsantrasyonlardaki bitki ekstraktlarından ve AgNP'lerden konulmuştur. Ekimi yapılan petriler 37°C de 16-18 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Pozitif kontrol olarak siprofloksasin (CIP, 5 mcg/disk) ve negatif kontrol olarak 10 mM $AgNO_3$ çözeltisi kullanılmıştır. Mikroorganizmalara karşı oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek üremeleri değerlendirilmiştir (Şekil 6.31 ve Tablo 6.12).

## 5.6 Karakterizasyon

AgNP'lerin absorpsiyon spektrumları bir "SHIMADZU" UV 1600 spektrofotometre kullanılarak analiz edildi ve AgNP'lerin TEM görüntüleri JEOL-JEM 2100 yüksek çözünürlüklü transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak alındı. Bitki ektrelerinin sulu çözeltilerinin ve AgNP'lerinin FTIR ölçümleri Thermo Nicolet İs 10 Spektrometresi tarafından incelenmiştir (Şekil 6.28, Şekil 6.32, Şekil 6.33, Şekil 6.34 ve Şekil 6.35).

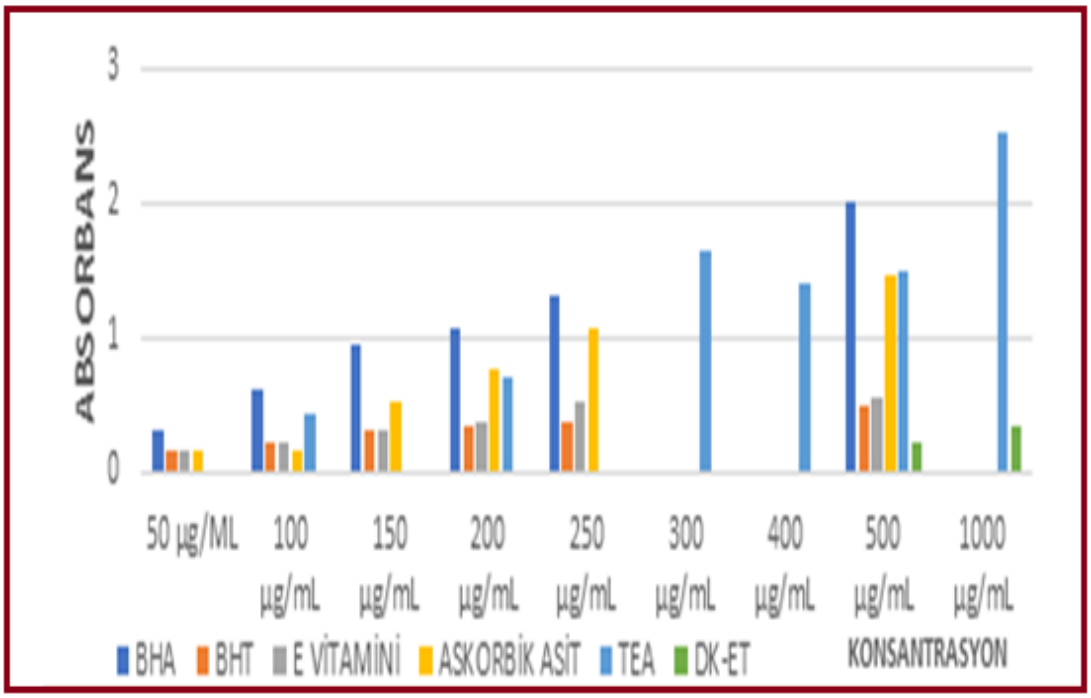
# 6
# Bulgular

## 6.1 CCY ve PVLDK Ekstrelerinin Toplam İndirgeme Kuvveti Aktivitesi Tayini

Bir maddenin başka bir maddeyi yükseltgeyerek indirgenmesi reaksiyonu olarak adlandırılan redoks reaksiyonlarında, bir bileşiğin ya da ham ekstraktın indirgeme kapasitesi $Fe[(CN)_6]^{+3}$'nin $Fe[(CN)_6]^{+2}$'ye indirgenmesiyle ölçülebilmektedir. Spektrum absorbansındaki artış, kompleks oluşumunu ve dolayısıyla yüksek indirgeme kapasitesini göstermektedir.

Çalışmamızda yapılan ön denemelerde 50-500 µg/mL konsantrasyon aralığında PVLDK ekstresinin indirgeme gücünün az olduğu gözlendiğinden, daha derişik konstrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin spektrofotometrede 700 nm'de absorbans değerleri okundu. 500 µg/mL konsantrasyon değeri için standartlar ve numunelerin ölçülen absorbans değerleri kıyaslandığında; standartlardan BHA'nın en yüksek absorbans değeri verdiği ve PVLDK'nın absorbans değerinin yaklaşık 10 katı olduğu, CCY'nin indirgeme gücünün ise Askorbik asidin indirgeme gücüne yaklaşık olarak eşit olduğu görüldü. Tablo 6.1'deki verilerden yola çıkarak bitkilerin indirgeme gücü standart maddelerle kıyaslandığında;

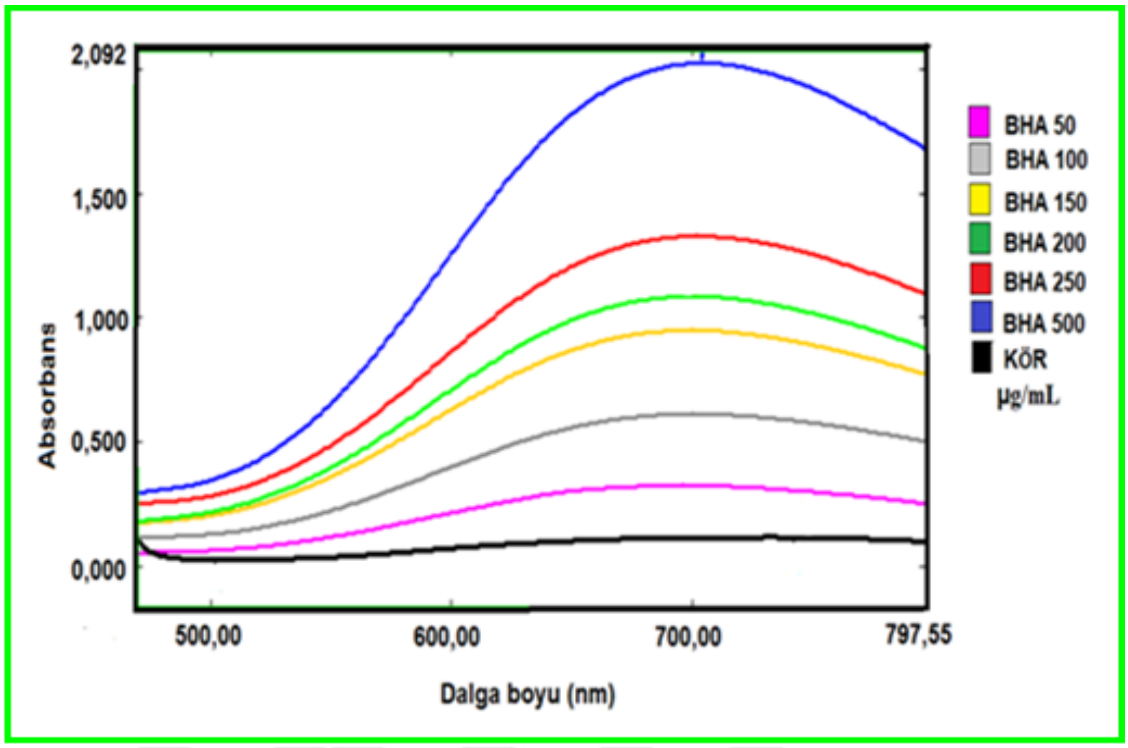
BHA > TEA(CCY) >ASKORBİK ASİT >E VİTAMİNİ > BHT > Dk-et (PVLDK) sıralaması gözlenmiştir. İndirgeme kapasitesi tayininde yüksek absorbans değerinin, yüksek indirgeme kapasitesi olduğunun göstergesi olduğu kabul edilmektedir (Köksal, 2007). Bitkilerin ve standart maddelerin absorbans değerleri Tablo 6.1'de ve bu değerlere ait veri grafiği Şekil 6.1'de gösterilmektedir.



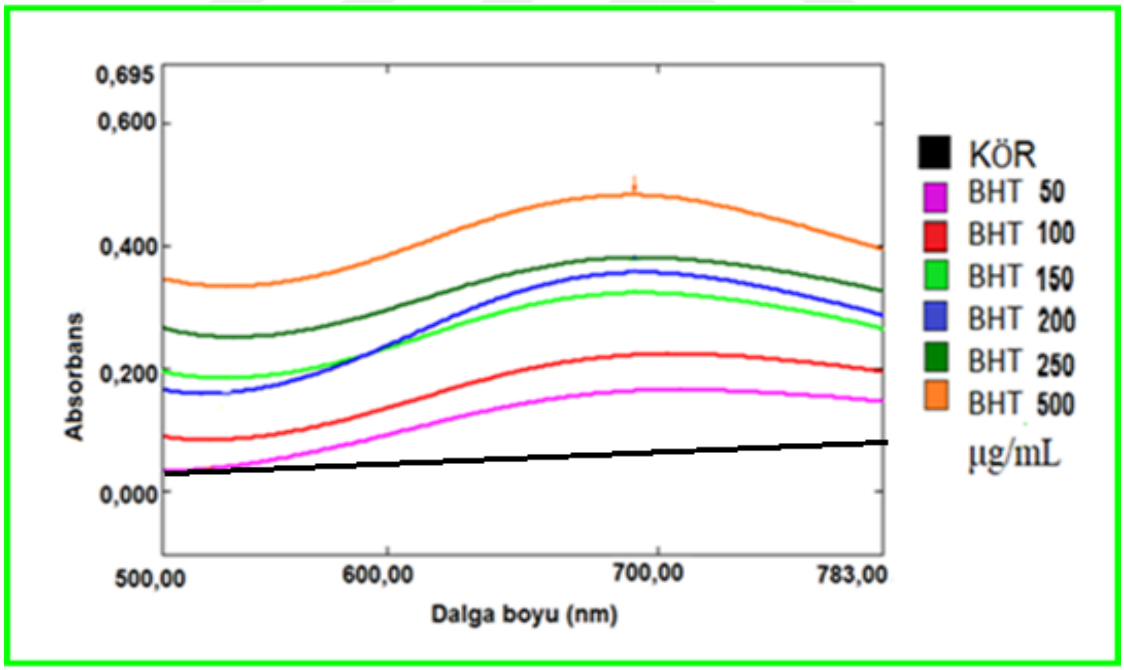

**Şekil 6.1** Standart maddeler, CCY ve PVLDK etanol ekstraktlarının toplam indirgeme kuvveti aktivitesi tayininde konsantrasyon-absorbans veri grafiği

**Tablo 6.1** Standart maddeler, CCY ve PVLDK etanol ekstraktlarının toplam indirgeme kuvveti aktivitesi tayininde konsantrasyon-absorbans değerleri

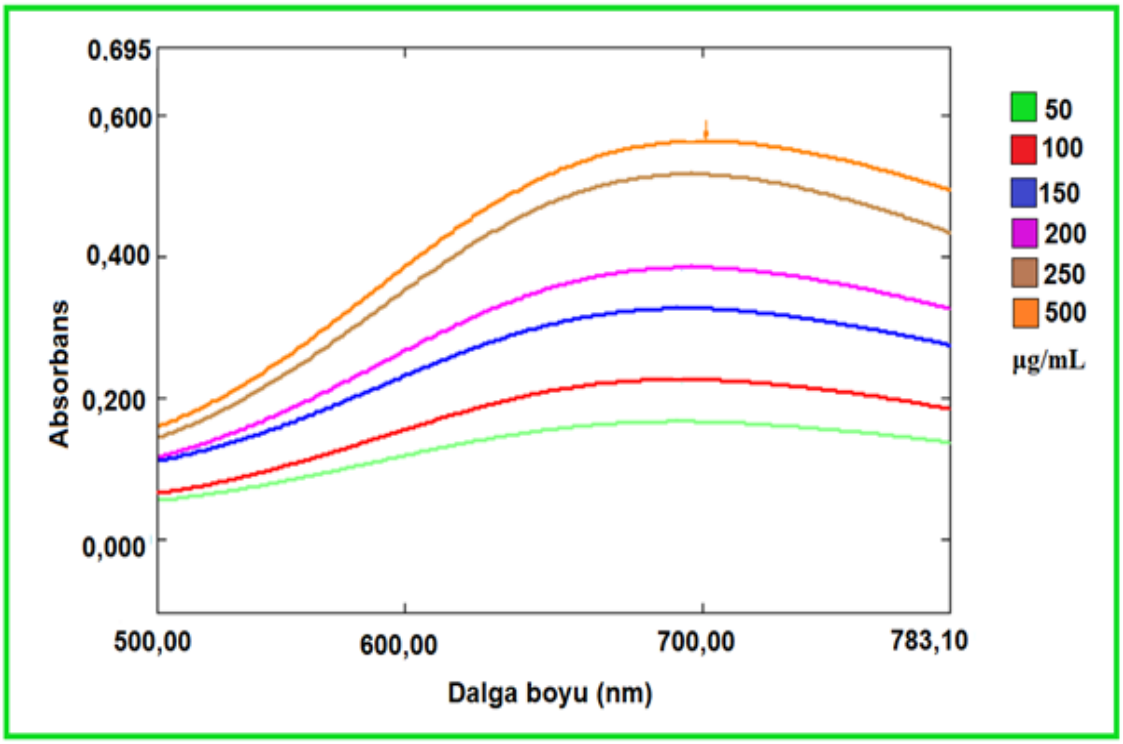
| Konsantrasyon (µg/mL) | BHA | BHT | E Vitamini | Askorbik Asit | CCY | PVLDK |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 50 | 0,321 | 0,163 | 0,165 | 0,146 | — | — |
| 100 | 0,609 | 0,221 | 0,224 | 0,173 | 0,423 | — |
| 150 | 0,945 | 0,322 | 0,325 | 0,511 | — | — |
| 200 | 1,082 | 0,355 | 0,383 | 0,776 | 0,714 | — |
| 250 | 1,324 | 0,380 | 0,515 | 1,086 | — | — |
| 300 | — | — | — | — | 1,648 | — |
| 400 | — | — | — | — | 1,393 | — |
| 500 | 2,019 | 0,482 | 0,562 | 1,470 | 1,498 | 0,223 |
| 1000 | — | — | — | — | 2,526 | 0,345 |



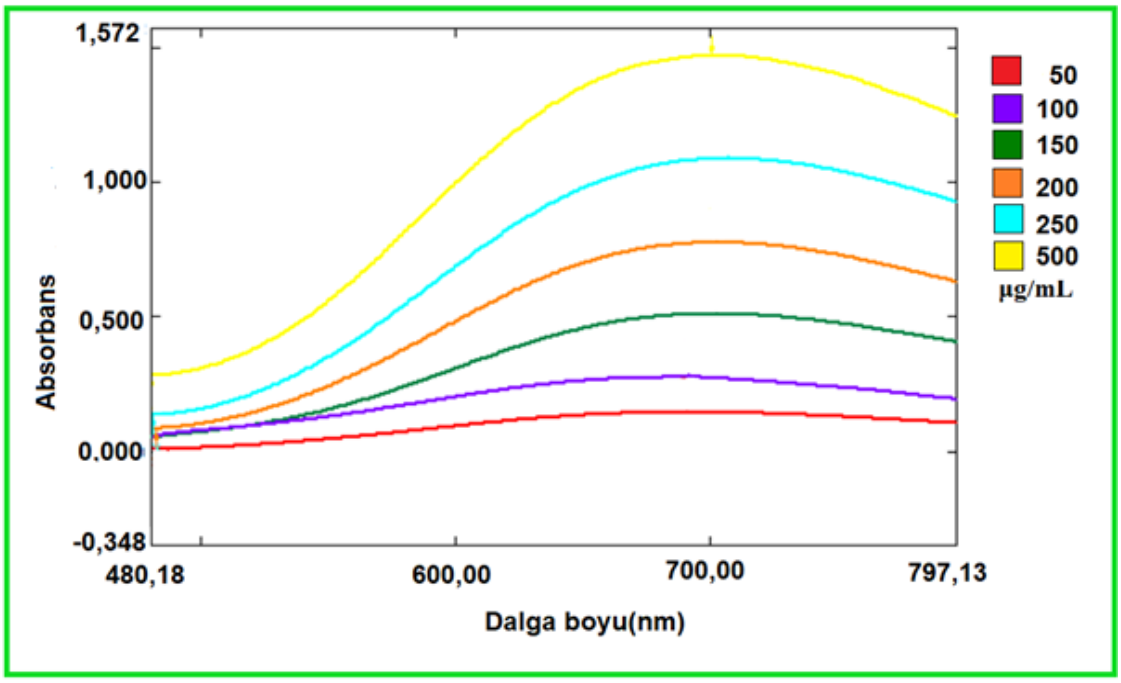

**Şekil 6.2** BHA'nın indirgeme gücü tayinine ait absorpsiyon eğrileri



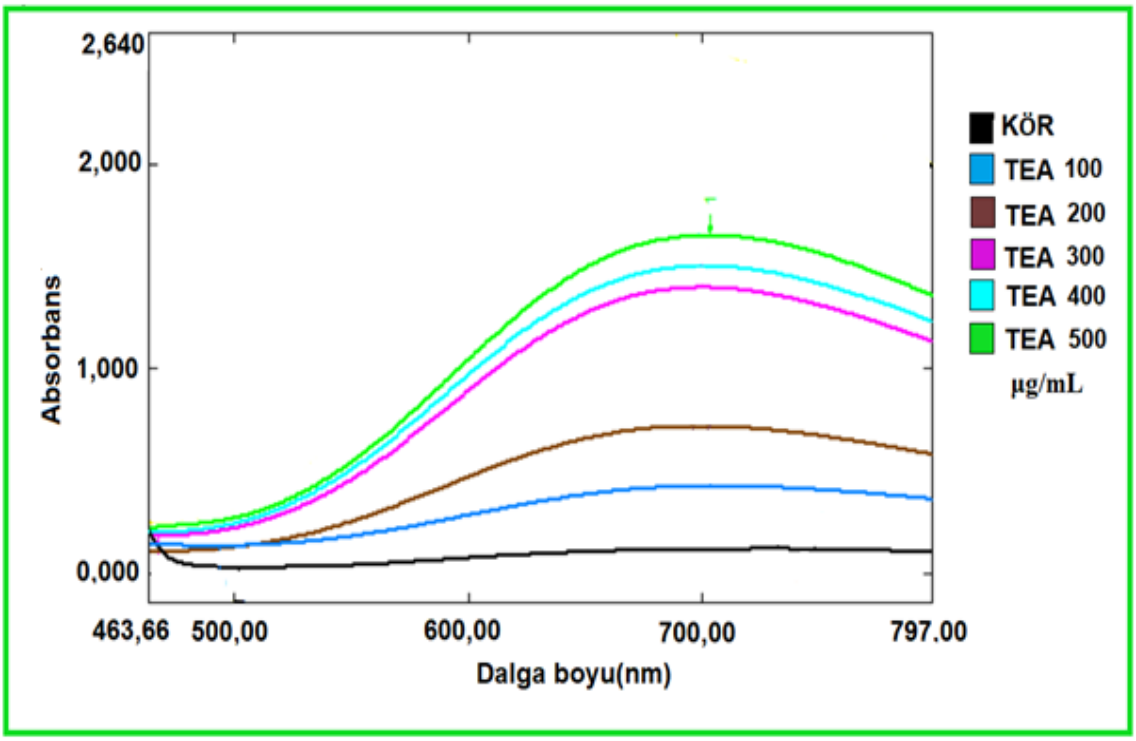

**Şekil 6.3** BHT'nin indirgeme gücü tayinine ait absorpsiyon eğrileri



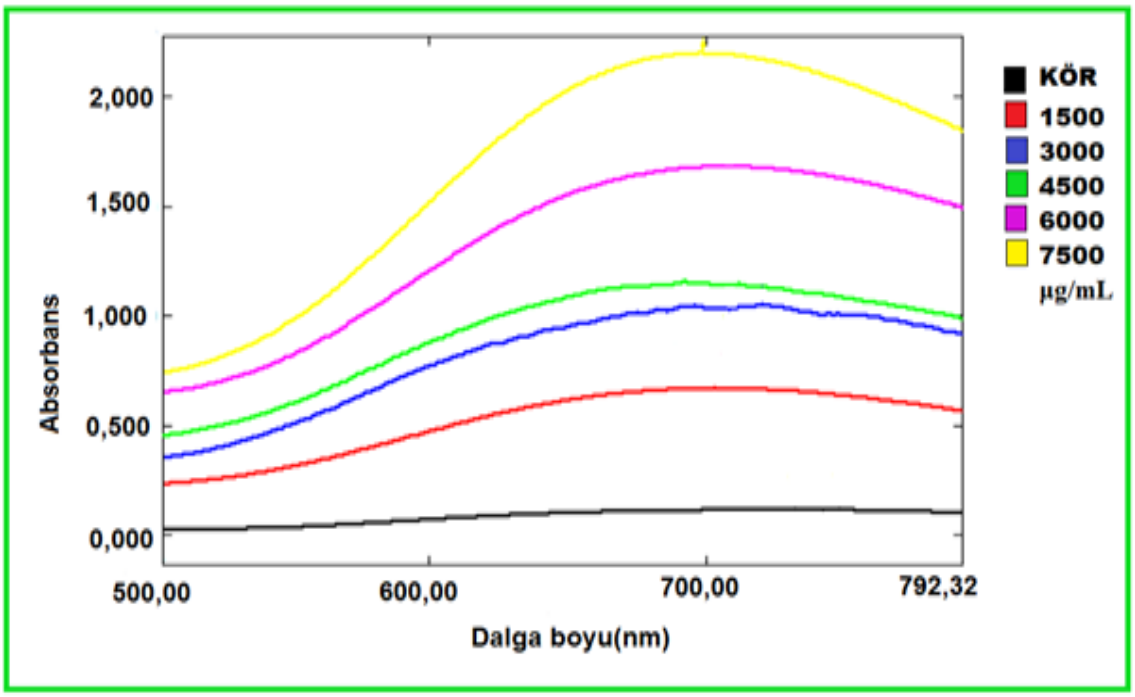

**Şekil 6.4** E vitaminin indirgeme gücü tayinine ait absorpsiyon eğrileri




**Şekil 6.5** Askorbik asitin indirgeme gücü tayinine ait absorpsiyon eğrileri




**Şekil 6.6** CCY etanol ekstraktının indirgeme gücü tayinine ait absorpsiyon eğrileri




**Şekil 6.7** PVLDK etanol ekstraktının indirgeme gücü tayinine ait absorpsiyon eğrileri

## 6.2 CCY ve PVLDK Ekstrelerinin DPPH Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi Tayini

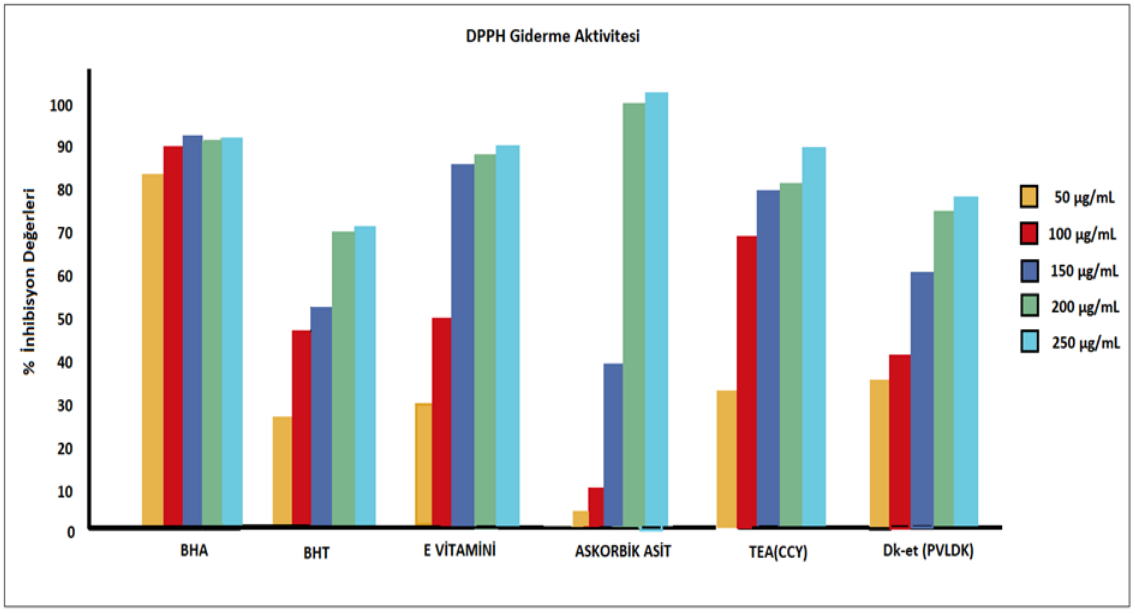
Tüm ekstraktlarda, konsantrasyon artışı ile birlikte % inhibisyon oranlarında artış gözlendi. Reaksiyonda DPPH konsantrasyonun %50 azalması için gereken etkili antioksidan konsantrasyonu $EC_{50}$ değeridir. $EC_{50}$ (etkin konsantrasyon) değerinin düşük olması, radikal giderme aktivitesinin yüksek olduğunun bir göstergesidir. Çalışmada kullanılan bitki ekstraktlarının ve standart maddelerin her biri için ayrı ayrı çizilen konsantrasyon- % inhibisyon grafiklerinden $EC_{50}$ değerleri hesaplanarak, her iki bitki ekstresinin antiradikalik aktivitesinin yüksek olduğu belirlendi. Standart maddeler, CCY ve PVLDK ekstrelerinin DPPH serbest radikal giderme aktivitesi deneylerine ait $EC_{50}$ değerleri Tablo 6.2' de, DPPH serbest radikalleri giderme kapasitesi tayininde % inhibisyon değerleri Tablo 6.3'te ve konsantrasyon - inhibisyon grafiği ise Şekil 6.8'de verilmiştir. Tablo 6.3'te görüldüğü üzere 100 µg/mL konsantrasyon değerleri için % inhibisyon değerlerini (DPPH Serbest radikalleri giderme kapasitesi) karşılaştıracak olursak; BHA'nın en yüksek olduğu görülmüştür. Konsatrasyon artıkça inhibisyon değerlerinin arttığı ve belli bir konsatrasyon değerlerinden sonra değerlerin sabit kaldığı görülmüştür. Hesaplanan $EC_{50}$ değerlerine bakıldığında en yüksek DDPH radikal giderme kapasitesi BHA'ye ait olup, bulunan diğer değerler Tablo 6.2' de verilmiştir.

**Tablo 6.2** CCY, PVLDK ekstresi ve standart maddelerin DPPH serbest radikalleri giderme kapasitesi tayininde bileşiklerin $EC_{50}$ değerleri

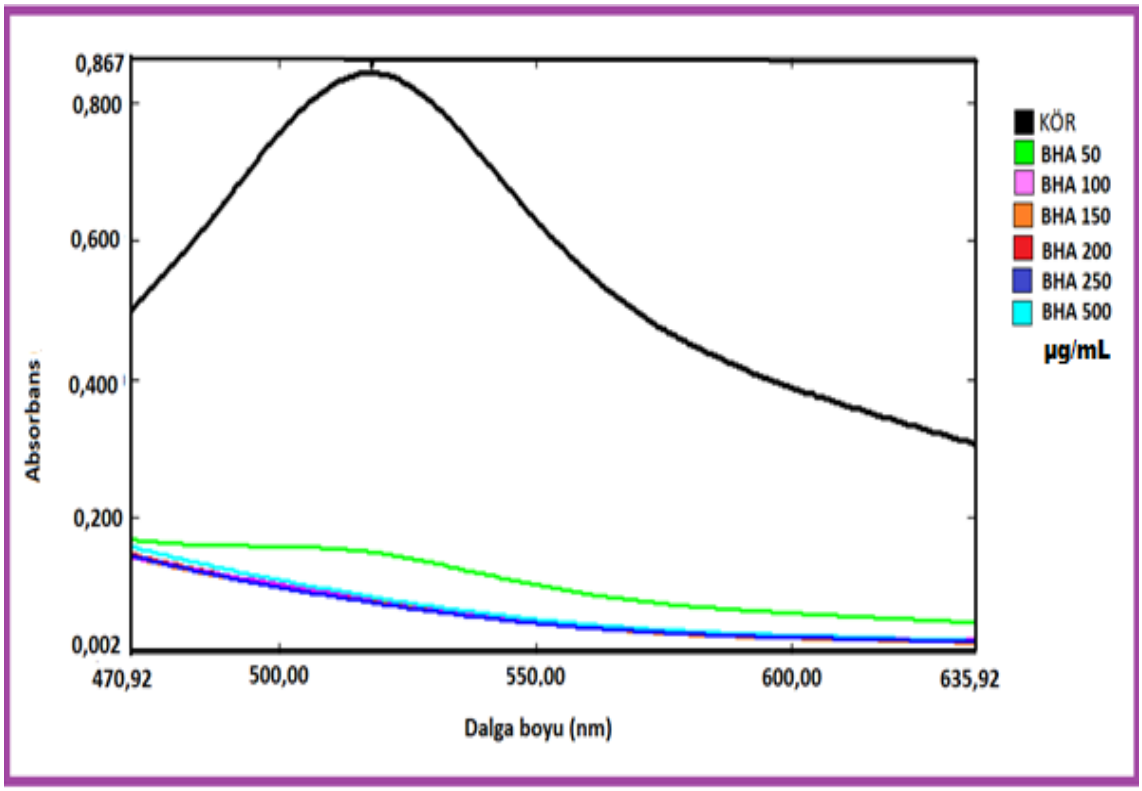
| **Antioksidanlar** | **$EC_{50}$ (µg/mL)** |
|---|---|
| BHA | 55.38 |
| BHT | 142.86 |
| E Vitamini | 89.90 |
| Askorbik asit (C vitamini) | 107.64 |
| TEA | 96.03 |
| DK-et | 163.76 |

**Tablo 6.3** CCY ve PVLDK ekstresi ve standart maddelerin DPPH serbest radikalleri giderme kapasitesi tayininde % inhibisyon değerleri

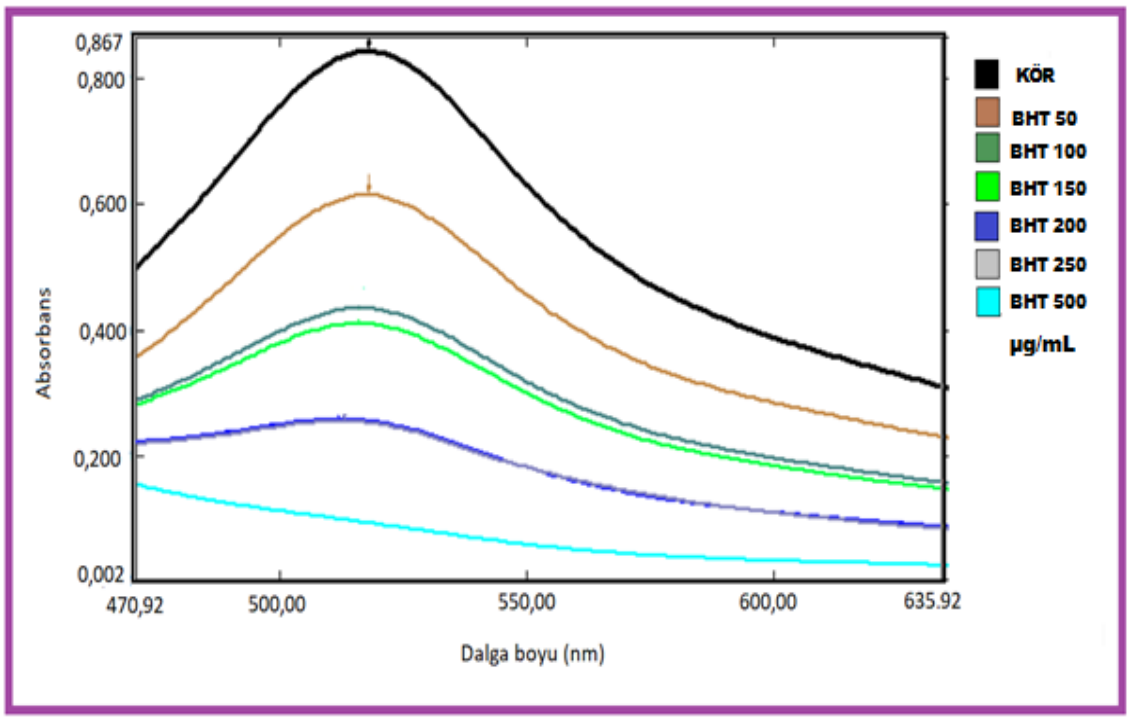
| Konsantrasyon (µg/mL) | BHA | BHT | E Vitamini | Askorbik Asit | TEA | DK-et |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 50 | 82.36 | 27.21 | 28.64 | 4.26 | 35.20 | 37.16 |
| 60 | — | — | — | — | 45.20 | 47.57 |
| 100 | 90.29 | 48.76 | 52.78 | 10.77 | 67.10 | 40.94 |
| 120 | — | — | — | — | 72.54 | 50.77 |
| 150 | 91.00 | 51.48 | 83.43 | 38.11 | 78.10 | 60.59 |
| 180 | — | — | — | — | 77.75 | 61.42 |
| 200 | 90.65 | 70.06 | 84.73 | 92.90 | 79.41 | 70.41 |
| 240 | — | — | — | — | 86.27 | 74.56 |
| 250 | 90.76 | 70.41 | 86.39 | 93.49 | 86.86 | 76.33 |
| 300 | — | — | — | — | 93.73 | 79.41 |
| 400 | — | — | — | — | — | — |
| 500 | 89.94 | 88.86 | 85.80 | 93.73 | 96.09 | 87.69 |



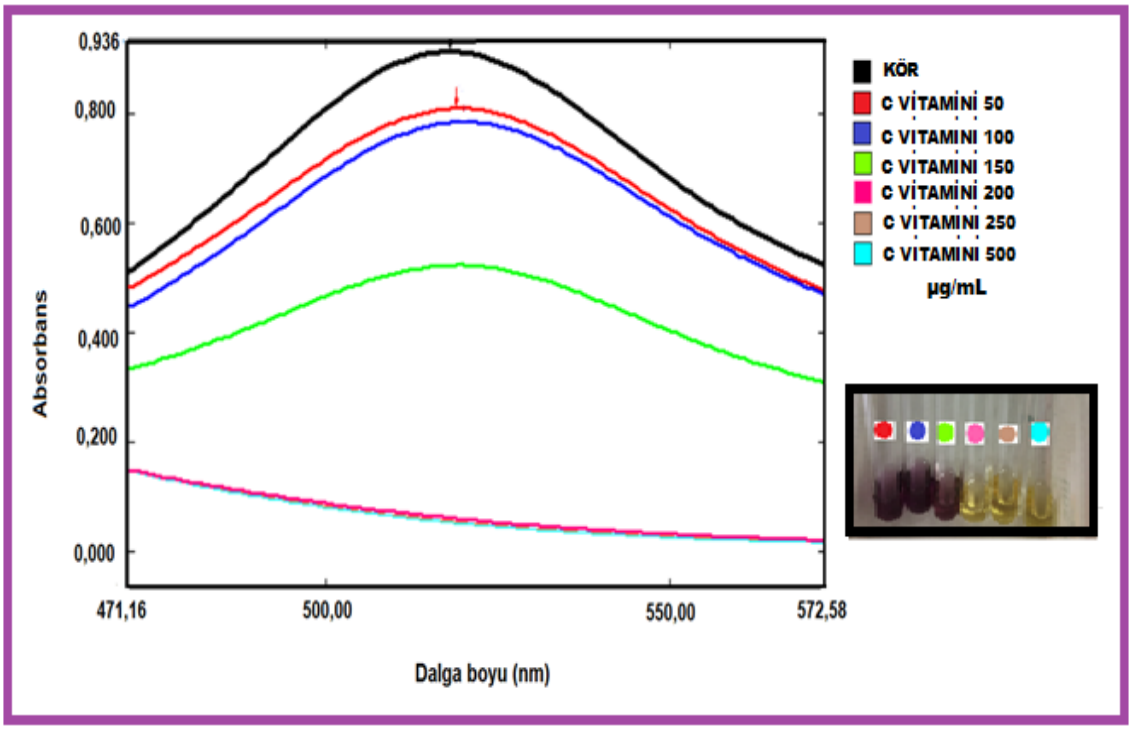

**Şekil 6.8** Standart maddeler, CCY ve PVLDK etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikalleri giderme kapasitesi tayininde konsantrasyon-inhibisyon veri grafiği



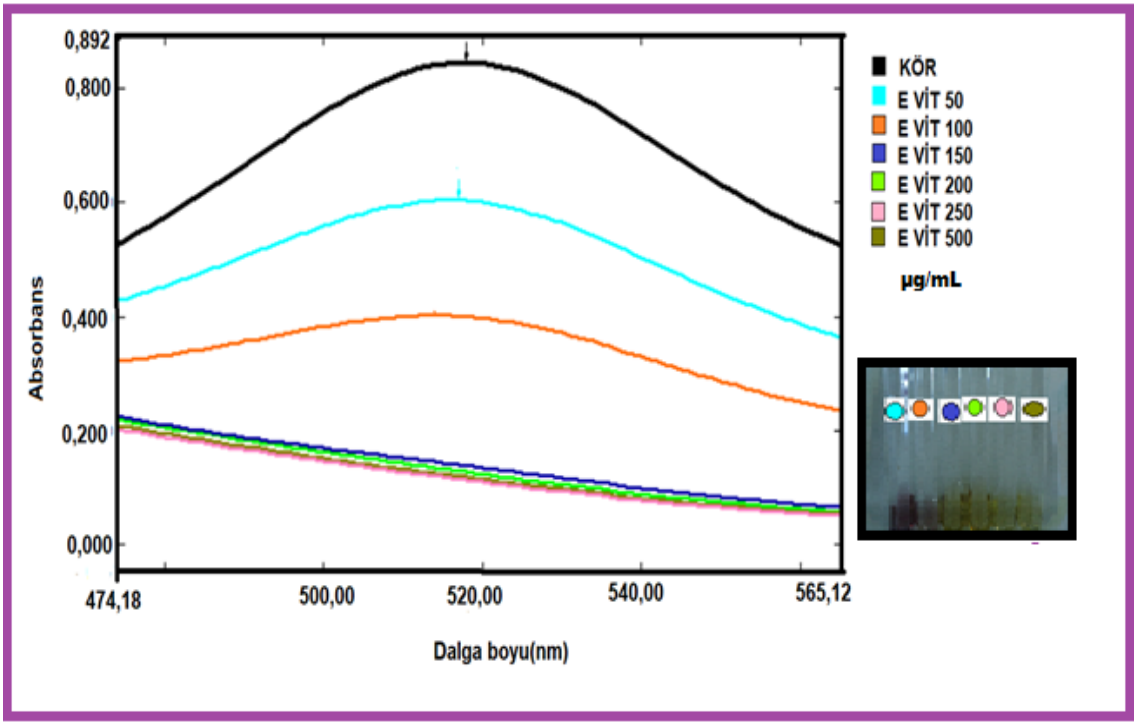

**Şekil 6.9** BHA'nın DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayinine ait absorpsiyon eğrileri



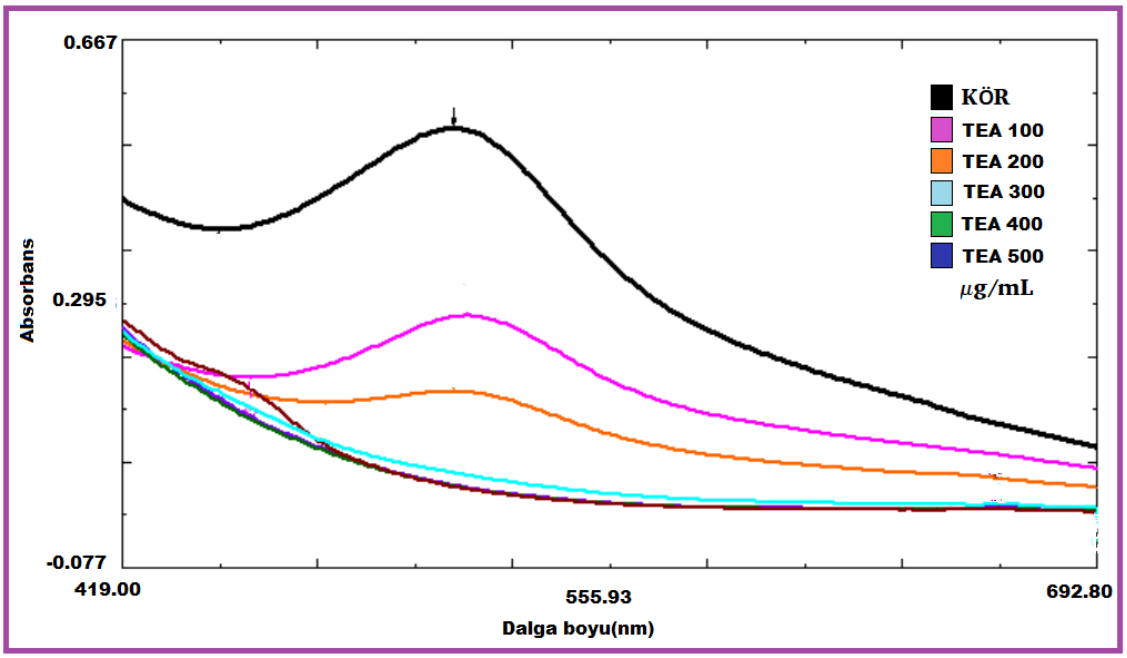

**Şekil 6.10** BHT'nin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayinine ait absorpsiyon eğrileri



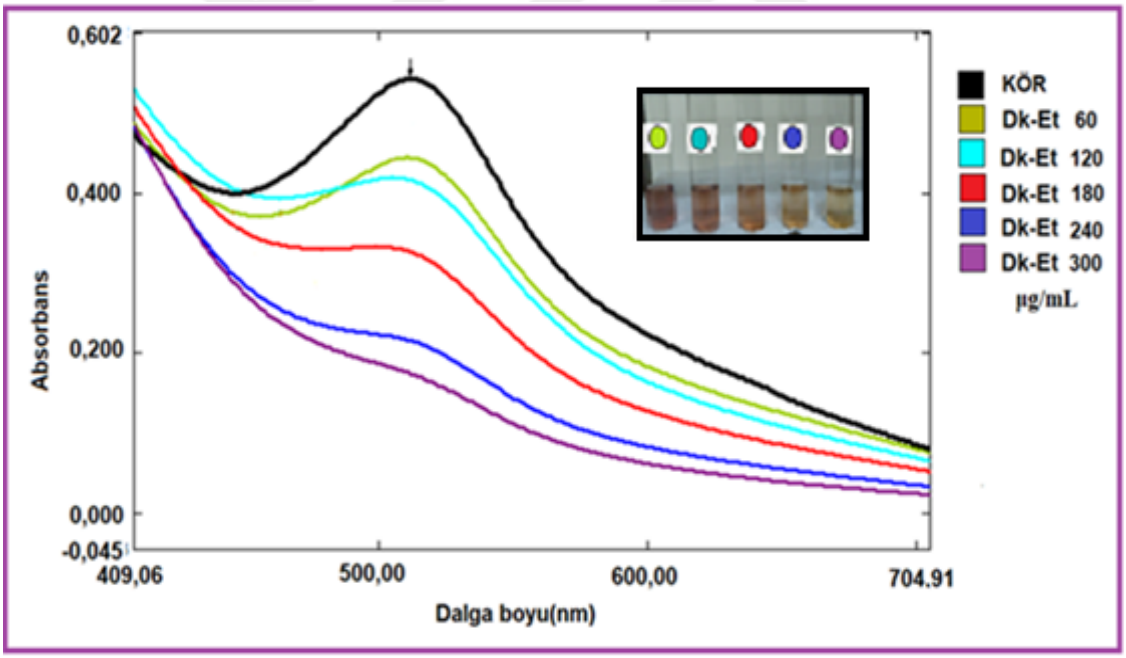

**Şekil 6.11** Askorbik asit'in DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayinine ait absorpsiyon eğrileri




**Şekil 6.12** E vitamininin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayinine ait absorpsiyon eğrileri



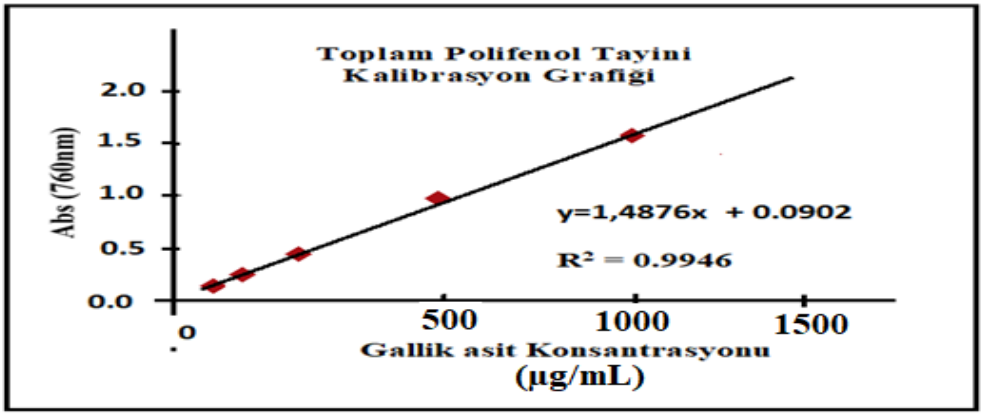

**Şekil 6.13** CCY etanollü ekstresinin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayinine ait absorpsiyon eğrileri




**Şekil 6.14** PVLDK etanollü ekstresinin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayinine ait absorpsiyon eğrileri

## 6.3 CCY ve PVLDK Ekstrelerinde Toplam Fenolik Madde Tayini

Bu çalışma, Singleton ve Rossi (1965) tarafından tanımlanmış bulunan Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntem, fenolik bileşiklerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu ayıracını indirgeyerek, fenolik bileşiğin oksitlenmiş forma dönüştüğü bir redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. Folin ayıracı eklendikten sonra oluşan mavi renk, spektrofotometrede 672 nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur. Örnekte ölçülen absorbans değerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarı, gallik asit ile hazırlanmış olan standart eğri denkleminden yararlanılarak hesaplanmıştır (Şekil 6.15). CCY ve PVLDK etil alkol ekstraktlarının 1g kuru örnekteki gallik asit eşdeğeri olan fenolik madde miktarı, mg cinsinden belirlenmiştir. Fenolik madde miktarlarına ait değerler Tablo 6.4' de gösterildiği gibidir.



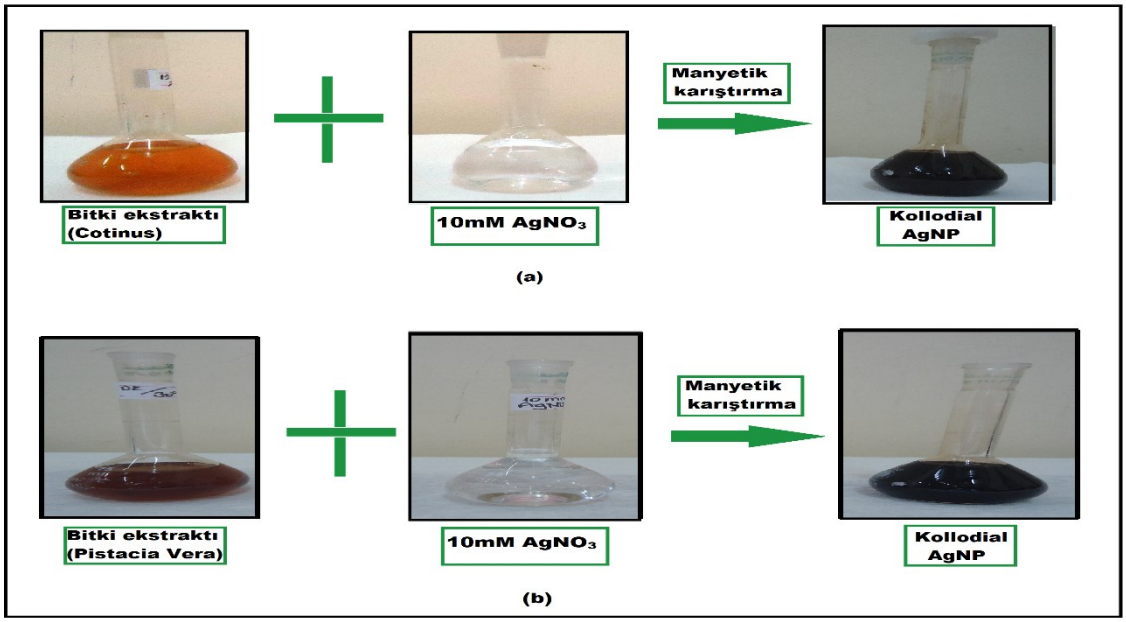

**Şekil 6.15** Bitki ekstraktlarının gallik asit eşdeğeri olan fenolik madde içeriklerinin hesaplandığı toplam polifenol tayini kalibrasyon eğrisi

**Tablo 6.4** CCY ve PVLDK etil alkol ekstraktlarının gallik asit eşdeğeri olan fenolik madde miktarlarına ait değerler

| Ekstraktlar | Gallik Asit Ekivalenti Değeri (mg/g) |
|---|---|
| CCY etil alkol | 53.77 |
| PVLDK etil alkol | 75.83 |

## 6.4 CCY ve PVLDK Sulu Ekstresi Kullanarak AgNP Sentezi (Biyosentez)

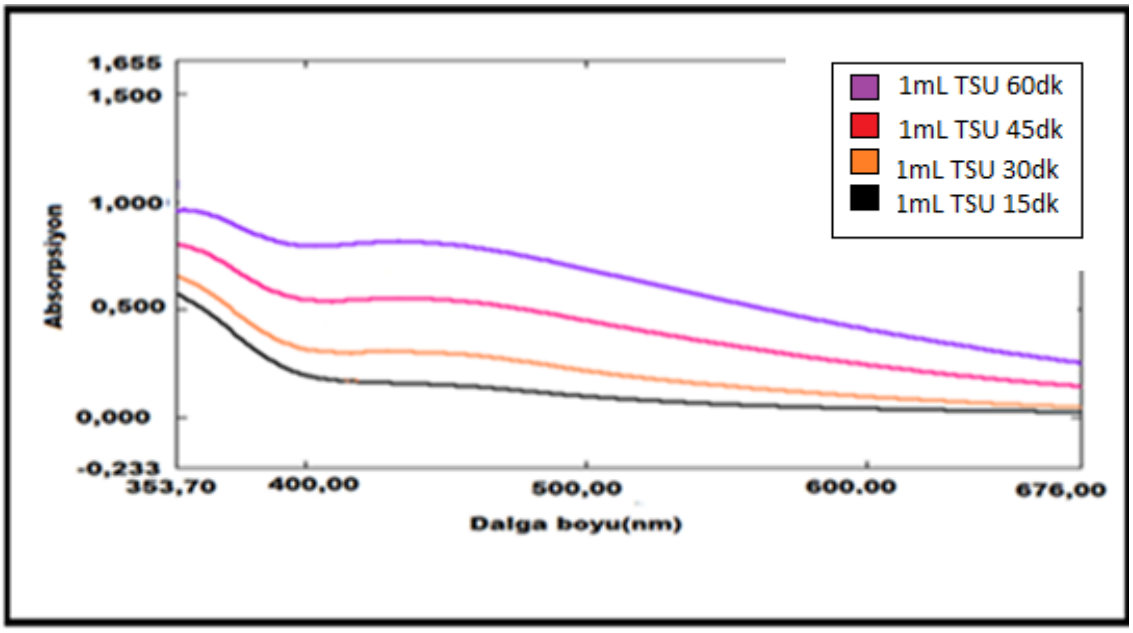
Çalışmamızda kullanılan CCY sulu ekstresi ve PVLDK sulu ekstresi ile AgNP sentezine ait şematik görüntü Şekil 6.16'da verilmiştir.



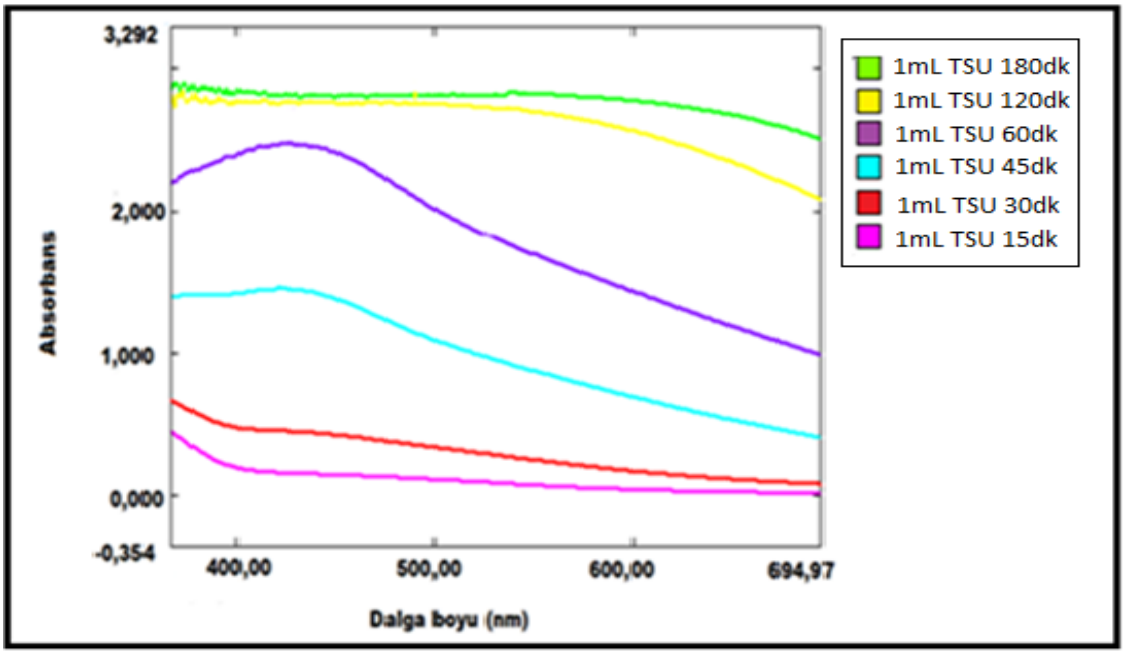

**Şekil 6.16** CCY sulu ekstresi (a) ve PVLDK sulu ekstresi (b) kullanarak sentezlenen AgNP'lerin sentezine ait şematik diyagram

### 6.4.1 AgNP'lerin Biyosentezine $AgNO_3$ Konsantrasyonu ve Sürenin Etkisi

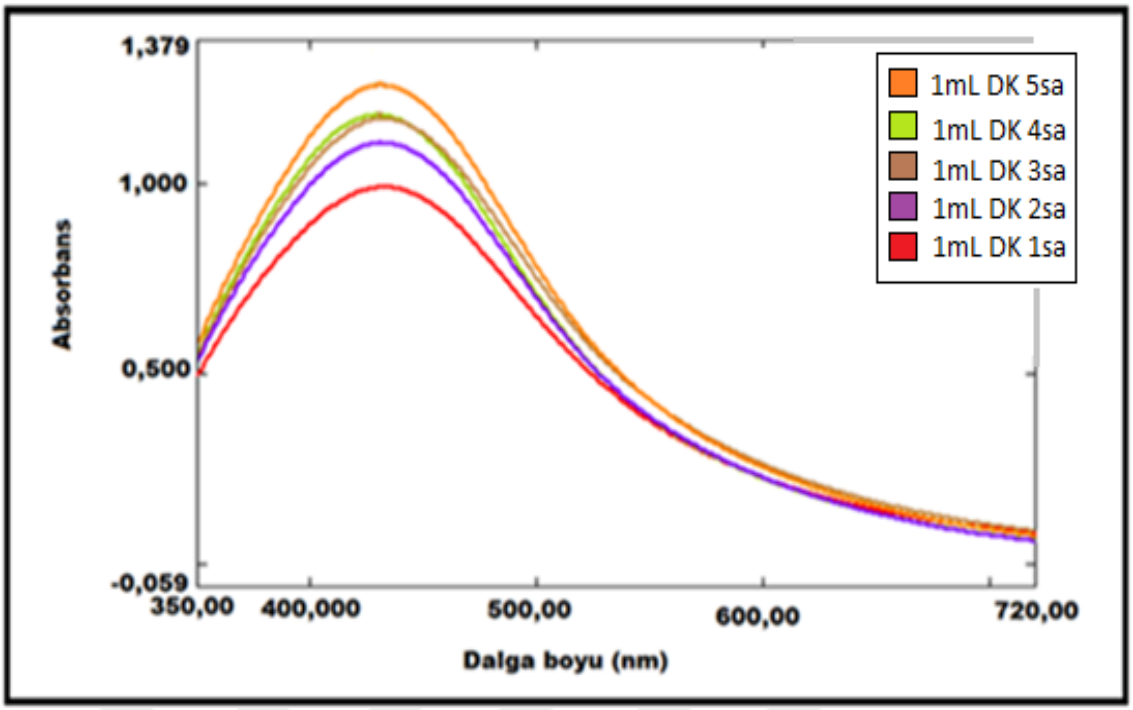
Çalışmalardan elde edilen absorpsiyon spektrumlarına bakıldığında 1mM $AgNO_3$ çözeltisiyle küçük partiküller sentezlenmekte ancak reaksiyon uzun sürede gerçekleşmektedir. 5mM $AgNO_3$ kullanıldığında ise daha geniş pikler oluşmaktadır. Bu da 1mM $AgNO_3$ ile yapılan çalışmalara nazaran daha büyük AgNP elde edildiğini göstermektedir. 10mM $AgNO_3$ ile elde edilen AgNP' lerin 5mM $AgNO_3$ ile elde edilenlerle kıyaslandığında daha küçük partiküller olduğu ve okunan absorbans değerleri 1mM $AgNO_3$ ile elde edilenlerden daha yüksek ve reaksiyon süresinin de daha az olması nedeniyle 5mM ve 10mM $AgNO_3$ ile tekrarlanan çalışmaların sonucu hem CCY ekstresi, hem de PVLDK ekstresi ile biyosentez çalışmalarında 10mM $AgNO_3$ kullanılmasına karar verildi. Çalışmalara ait absorpsiyon spektrumları Şekil 6.17, Şekil 6.18, Şekil 6.19 ve Şekil 6.20'de gösterilmiştir.



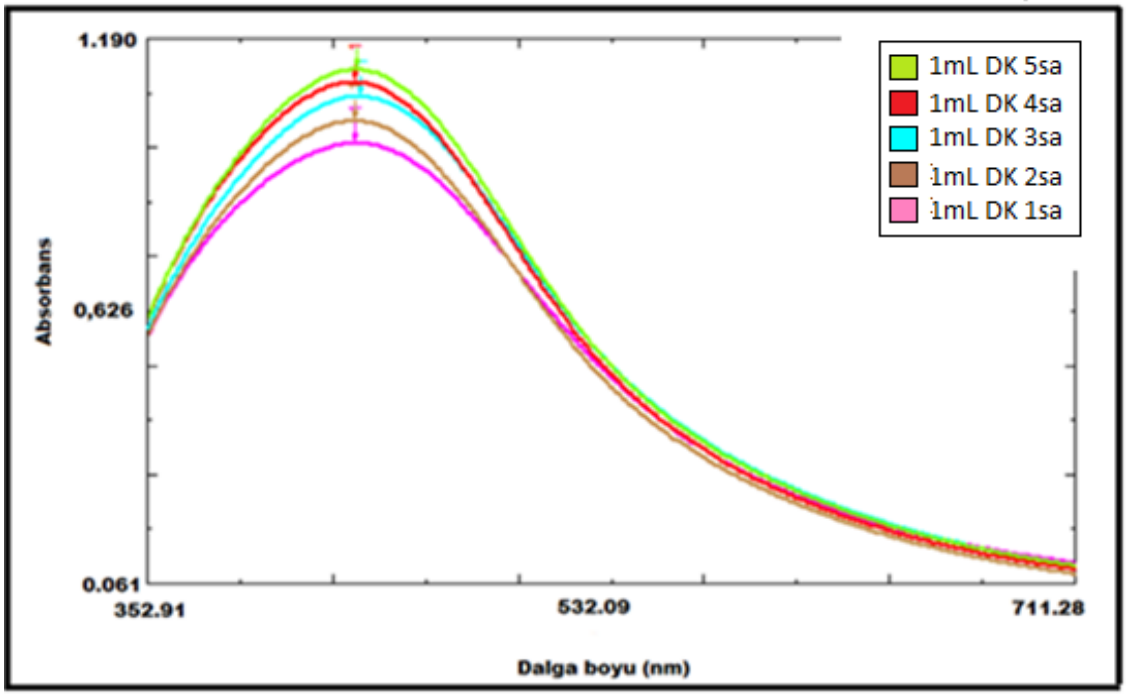

**Şekil 6.17** CCY ekstresi ile AgNP'lerin biyosentezinde reaksiyon süresinin etkisinin incelenmesine ait süre-absorpsiyon grafiği
(5mM $AgNO_3$ kullanılmıştır)




**Şekil 6.18** CCY ekstresi ile AgNP'lerin biyosentezinde reaksiyon süresinin etkisinin incelenmesine ait süre-absorpsiyon grafiği
(10mM $AgNO_3$ kullanılmıştır)




**Şekil 6.19** PVLDK ekstresi ile AgNP'lerin biyosentezinde reaksiyon süresinin etkisinin incelenmesine ait süre-absorpsiyon grafiği
(5mM $AgNO_3$ kullanılmıştır)




**Şekil 6.20** PVLDK ekstresi ile AgNP'lerin biyosentezinde reaksiyon süresinin etkisinin incelenmesine ait süre-absorpsiyon grafiği
(10mM $AgNO_3$ kullanılmıştır)

### 6.4.2 AgNP'lerin Sentezine Bitki Ekstraktı Konsantrasyonun Etkisi

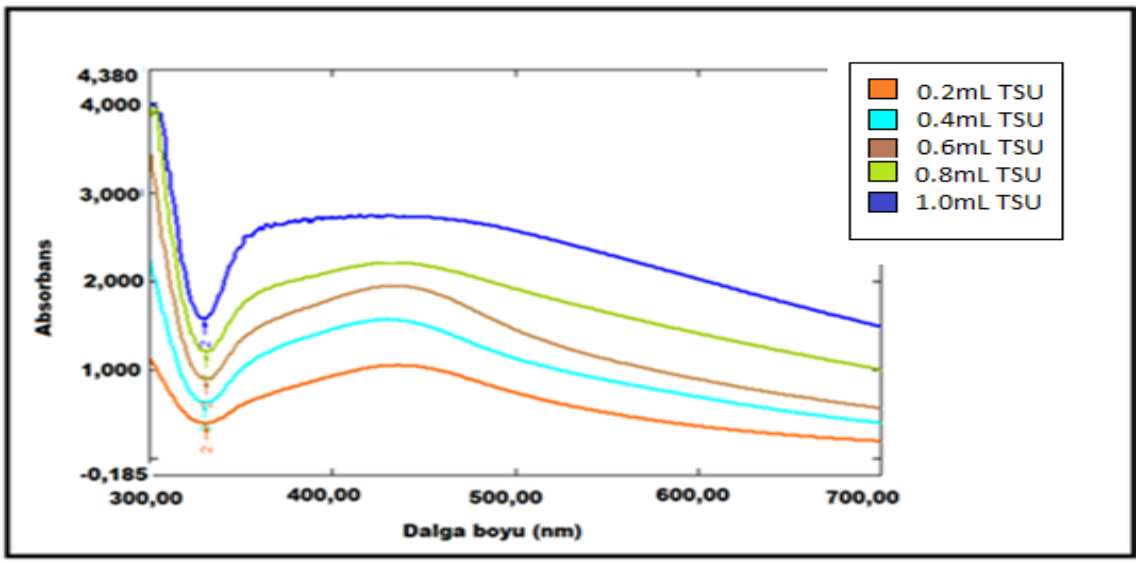
AgNP'lerin sentezine CCY eksrakt (TSU) miktarının etkisini incelemek için yapılan çalışmalardan elde edilen absorpsiyon spektrumları Şekil 6.21 ve Şekil 6.22'de, absorbans değerleri ise Tablo 6.5 ve Tablo 6.6'da verildi. 0.2 mL, 0.4 mL, 0.6 mL, 0.8 mL ve 1.0 mL CCY ekstresi ile hazırlanan AgNP kolloidal çözeltileri ile elde edilen piklerin absorbans değerlerinin yüksek olması nedeniyle CCY ekstrakt hacmi, 0.1-0.4 mL aralığında olacak şekilde deneyler tekrarlandı. Yapılan deneylerde 0.1 mL ile 0.2 mL ekstrakt hacimleri ile elde edilen spektrumlarda absorbans değerleri ve pik genişliği dikkate alınarak, AgNP sentezinde 0.15 mL CCY ekstresi optimum değer olarak seçildi.

**Tablo 6.5** CCY ekstresi ile hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorbans değerleri (0.2- 1.0 mL)

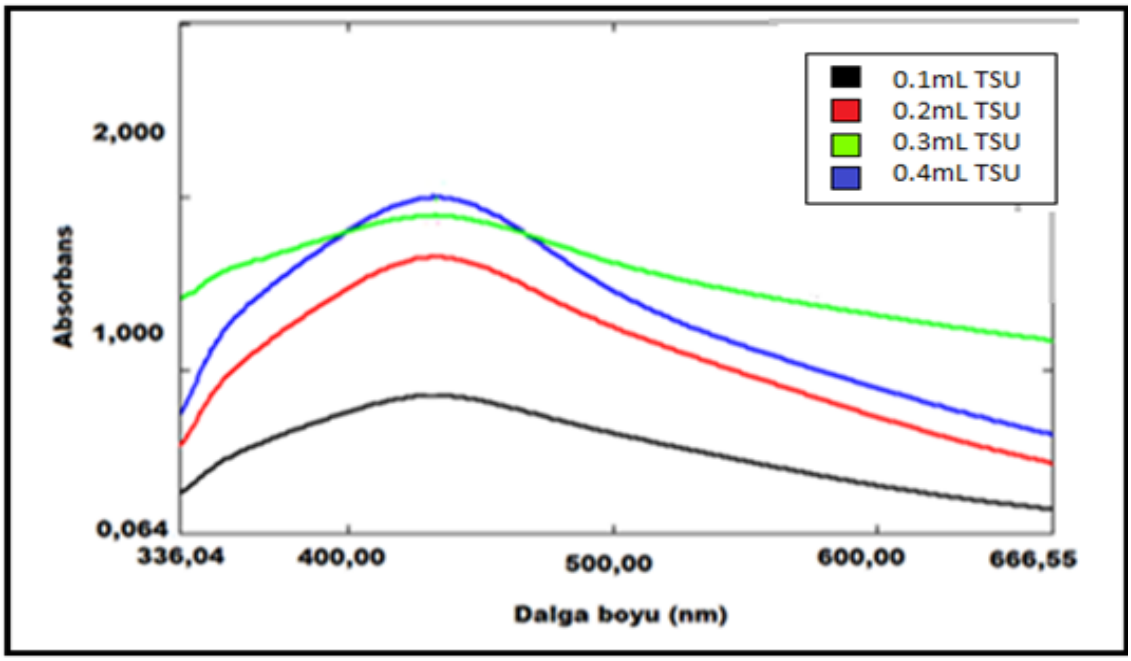
| **CCY Konsantrasyonu (mL)** | **Absorbans Değerleri $\lambda_{max}$= 433 nm)** |
|---|---|
| 0.2 | 1.050 |
| 0.4 | 1.564 |
| 0.6 | 1.944 |
| 0.8 | 2.204 |
| 1.0 | 2.742 |

**Tablo 6.6** CCY ekstresi ile hazırlanan AgNP çözeltilerine ait absorbans değerleri (0.1-0.4 mL)

| **CCY Konsantrasyonu (mL)** | **Absorbans Değerleri $\lambda_{max}$=432 nm)** |
|---|---|
| 0.1 | 0.856 |
| 0.2 | 1.053 |
| 0.3 | 1.492 |
| 0.4 | 1.565 |




**Şekil 6.21** CCY Ekstresi ile hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorpsiyon spektrumları (0.2-1.0 mL)



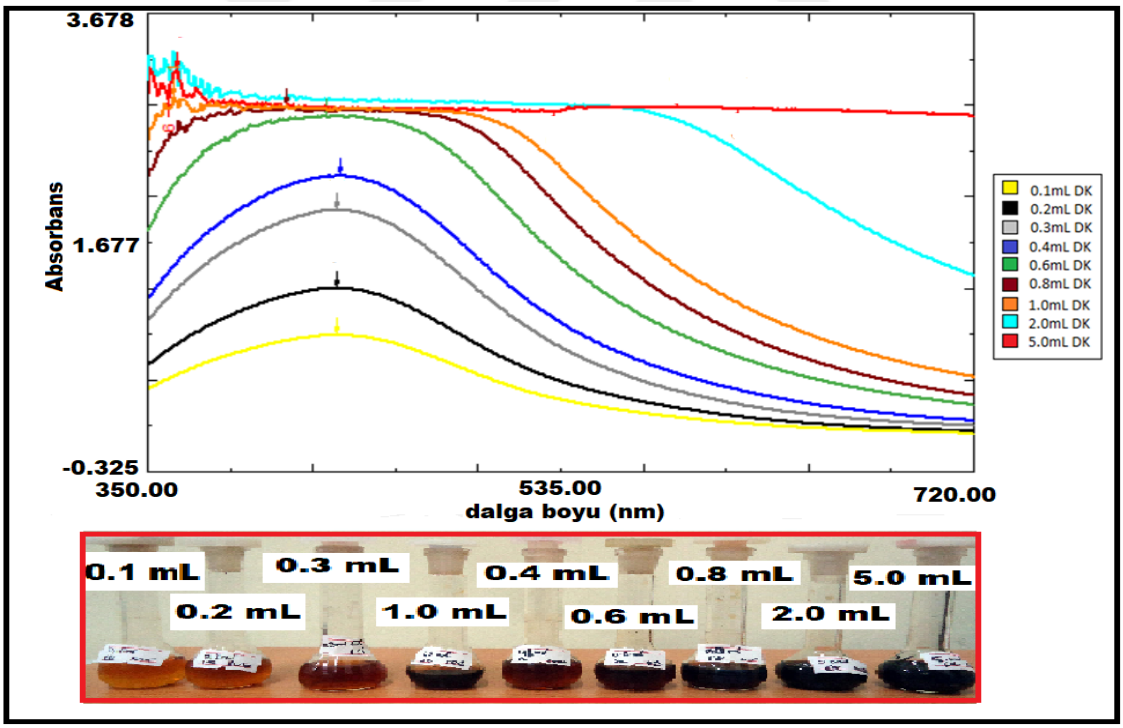

**Şekil 6.22** CCY ekstresi ile hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorpsiyon spektrumları (0.1-0.4 mL)

AgNP'lerin sentezine PVLDK eksrakt miktarının etkisini incelemek için yaptığımız çalışmalardan elde edilen AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorpsiyon spektrumları Şekil 6.23'de, absorbans değerleri ise Tablo 6.7' de verildi. Şekil 6.23 incelendiğinde, 0.6 mL'den sonraki konsantrasyonlarda elde edilen piklerin absorbans değerlerinin çok yüksek olması nedeniyle 0.4 mL ve 0.5 mL ekstrakt hacmi optimum koşul olarak seçildi ve bu hacimler ile ortamın pH değerinin AgNP sentezine etkileri araştırıldı. Çalışma sonunda verilere bakarak, spektrum piklerinde 0.4 - 0.6 mL aralığında ekstrakt

hacminin verdiği piklerin düzenliliği gözlendi ve çalışmaya 0.5 mL ekstrakt hacmi ile devam edildi.

**Tablo 6.7** Farklı konsantrasyonlarda (0.1- 5.0 mL) PVLDK ekstresi ile hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorpsiyon değerleri

| **PVLDK Konsantrasyonu (mL)** | **Absorbans Değerleri ($\lambda_{max}$=436 nm)** |
|---|---|
| 0.1 | 0.866 |
| 0.2 | 1.275 |
| 0.3 | 1.958 |
| 0.4 | 2.258 |
| 0.6 | 2.777 |
| 0.8 | 2.832 |
| 1.0 | 2.835 |
| 2.0 | 2.929 |
| 5.0 | 2.836 |




**Şekil 6.23** Farklı hacimlerde (0.1- 5.0 mL) PVLDK ekstresi ile hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerine ait görseller ve bu çözeltilere ait absorpsiyon spektrumları

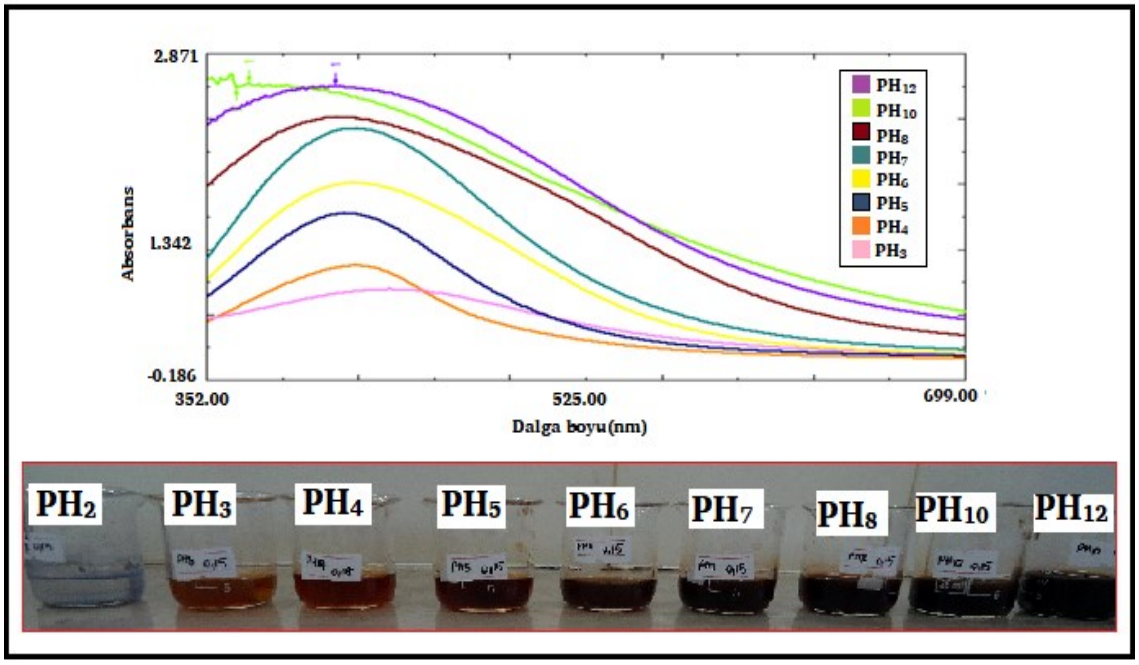
### 6.4.3 AgNP Sentezine Ortamın pH Değeri ve Reaksiyon Süresinin Etkisi

**CCY ekstresi ile AgNP sentezi;** UV- Vis Spektrofotometre'de alınan spektrumlarda, çözeltilerin maksimum dalga boyu 416 nm olarak belirlendi. CCY ekstresi ile

oluşturulan AgNP'lerin eldesinde çözeltilerde uygun pH değerini belirleme çalışmalarında, en uygun reaksiyon süresi 60 dakika olarak gözlendi. AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorpsiyon spektrumlarında (Şekil 6.24) en iyi piklerin $pH_4$, $pH_5$ $pH_6$ ve $pH_7$ çözeltileriyle elde edildiği saptandı. Seçilen bu pH değerlerinde sıcaklık etkisi de göz önüne alınarak en iyi pik ve absorbans veren çözelti sıcaklık etkisi deneyleriyle tekrar çalışıldı. CCY ekstresi ile hazırlanan farklı pH değerlerinde AgNP'lere ait absorpsiyon spektrumları Şekil 6.24'de, absorbans değerleri ise Tablo 6.8'da verilmiştir.

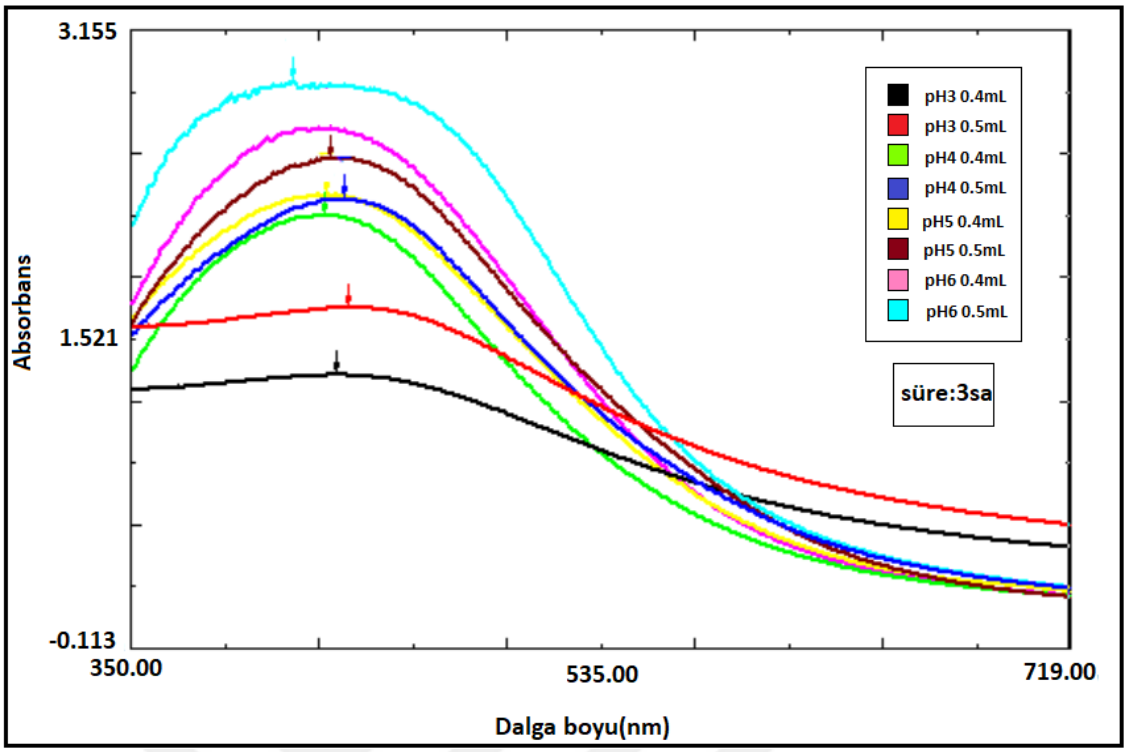
**Tablo 6.8** CCY ekstresi ile farklı pH değerlerinde hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerinin ölçülen absorbans değerleri (süre: 60 dk)

| pH | $PH_3$ | $PH_4$ | $PH_5$ | $PH_6$ | $PH_7$ | $PH_8$ | $PH_{10}$ | $PH_{12}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Absorbans** | 0.636 | 0.881 | 1.374 | 1.6581 | 2.166 | 2.272 | 2.557 | 2.485 |



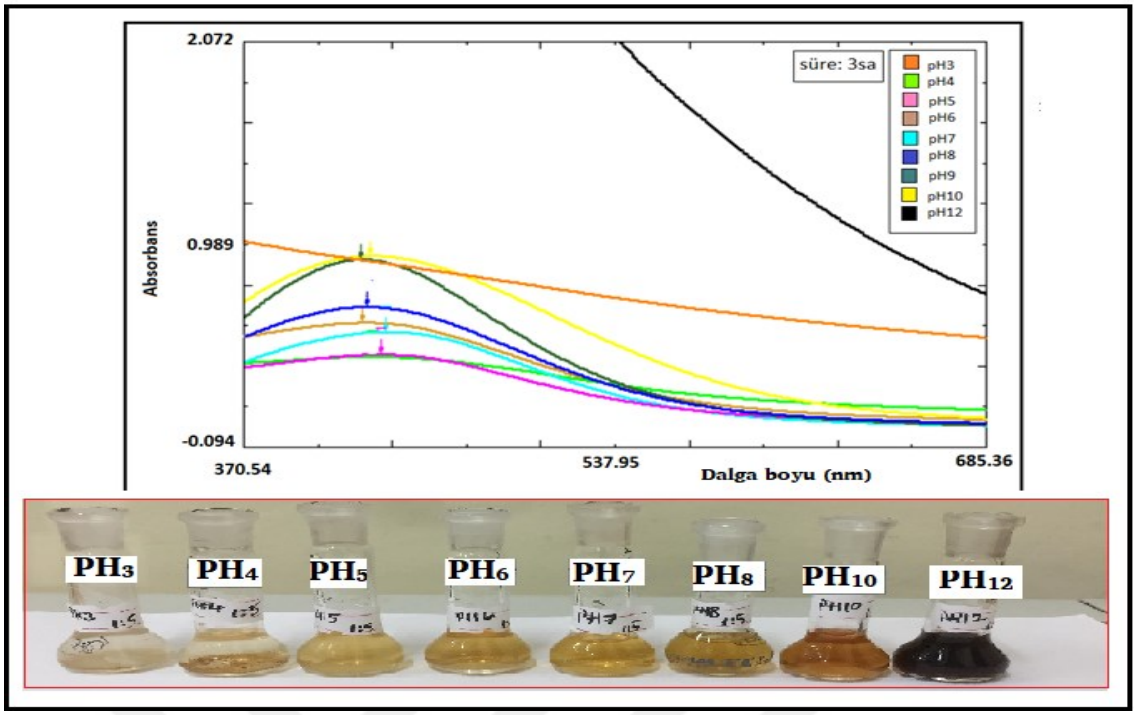

**Şekil 6.24** CCY ekstresi ile farklı pH değerlerinde hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerin absorpsiyon spektrumları ve çözeltilerin görselleri

**PVLDK ekstresi ile AgNP sentezi;** PVLDK ekstresi ile AgNP sentezinde ortamın pH değerinin etkisinin incelenmesinde ve optimum koşulların saptanmasında hazırlanan çözeltilerin (0.4 mL ve 0.5 mL kullanılarak) UV -Vis Spektrofotometre'de alınan absorbsiyon spektrumlarında, çözeltilerin maksimum dalga boyu 423 nm olarak belirlendi. PVLDK ekstresi ile AgNP oluşturulmasında ortamın uygun pH değerinin belirlenmesi çalışmalarında reaksiyonun tamamlanma süresi 3 saat olarak gözlendi ve Şekil 6.25-Şekil 6.26'da görüldüğü gibi grafiklendirildi.




**Şekil 6.25** PVLDK ekstresi ile farkı pH değerlerinde ve farklı bitki ekstresi miktarları ile (0.4-0.5 mL) sentezlenen AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorpsiyon spektrumları

Şekil 6.25' de görüldüğü gibi farklı pH ve farklı konsantrasyonlar kullanılarak yapılan çalışmalarda, en iyi pik veren ve en uygun absorbans değerine sahip spektrumun 0.5 mL PVLDK ekstresi kullanıldığında elde edildiği gözlenmiştir. Bunlardan yola çıkarak 0.5 mL PVLDK ekstresi ile $pH_7$, $pH_8$, $pH_9$, $pH_{10}$ ve $pH_{12}$ değerleri için de deneyler tekrarlanmıştır. Alınan spektrumlarda en iyi pik ve absorbans değerlerinin $pH_9$ ve $pH_{10}$ olduğu saptanmış (Şekil 6.26, Tablo 6.9) ve tüm pH değerlerinde değil, uygun sıcaklık etkisinin incelenmesi amacıyla 0.5 mL bitki ekstresi kullanarak $pH_9$ ve $pH_{10}$ çözeltileriyle çalışmaya devam edilmiştir.




**Şekil 6.26** PVLDK ekstresi ile farklı pH değerlerinde sentezlenen AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorpsiyon spektrumları ve elde edilen çözeltilerin görselleri

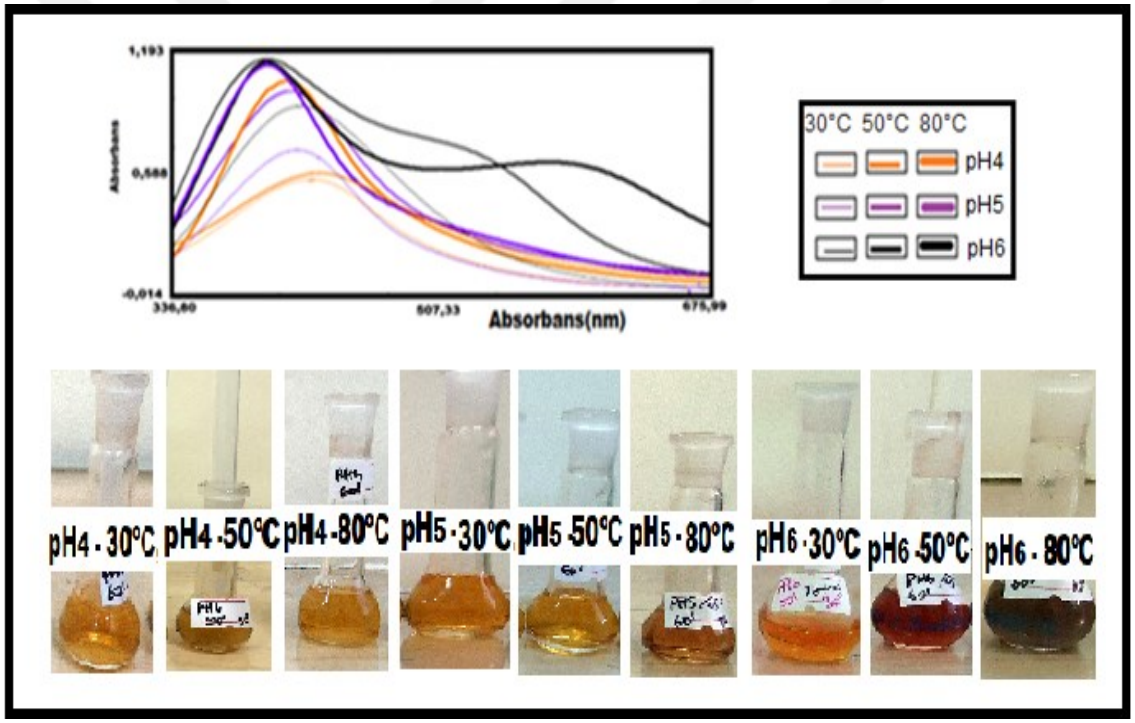
**Tablo 6.9** PVLDK esktresi ile farklı pH değerlerinde hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerine ait absorbans değerleri ($\lambda_{max}$=424 nm, okunan değerler 1:5 oranında seyreltilmiştir. )

| pH | Absorbans |
|---|---|
| $pH_3$ | 0,897 |
| $pH_4$ | 0,385 |
| $pH_5$ | 0,397 |
| $pH_6$ | 0,568 |
| $pH_7$ | 0,516 |
| $pH_8$ | 0,652 |
| $pH_9$ | 0,921 |
| $pH_{10}$ | 0,925 |
| $pH_{12}$ | 2,905 |

### 6.4.4 AgNP Sentezine Reaksiyon Sıcaklığı, Süre ve pH Değerinin Etkisinin İncelenmesi

CCY ve PVLDK ekstreleriyle AgNP sentezinde reaksiyon sıcaklığı ve sürenin etkisiyle optimum koşulların saptanması için her iki bitki için farklı sıcaklıklarda çalışmalar yapıldı.

**CCY ekstresi ile AgNP sentezi;** CCY ekstresiyle (0.15 mL) $pH_4$, $pH_5$ ve $pH_6$ ortamında ayrı ayrı 30ºC, 50ºC ve 80ºC sıcaklık değerlerinde inkübe edildi. AgNP çözeltilerinin, spektrofotometrede 2 saat süre ile değişik zaman dilimlerinde alınan spektrumları değerlendirildiğinde $pH_6$'da 30°C'den sonra 50°C ve 80°C'lerde ikinci pikler gözlenmiştir. Bu piklerin 500 nm'den sonra oluşması daha büyük ve farklı tanecik yapısına sahip AgNP'lerin oluştuğunu göstermektedir. Dalga boyunun da kırmızıya kaydığı görülmektedir (Şekil 6.27). 30°C'de gözlenen piklerin şekillerinin simetrik ve sivri oluşu daha küçük boyutta nanotanecik oluşturduğu belirtir. Bu nedenle pikler ve absorpsiyon değerleri (Tablo 6.10) incelenerek CCY ekstresi ile AgNP sentezinde optimum koşullar; oda sıcaklığında (30°C) $pH_6$ ortamında ve uygun reaksiyon süresi 60 dakika olarak belirlenmiştir.



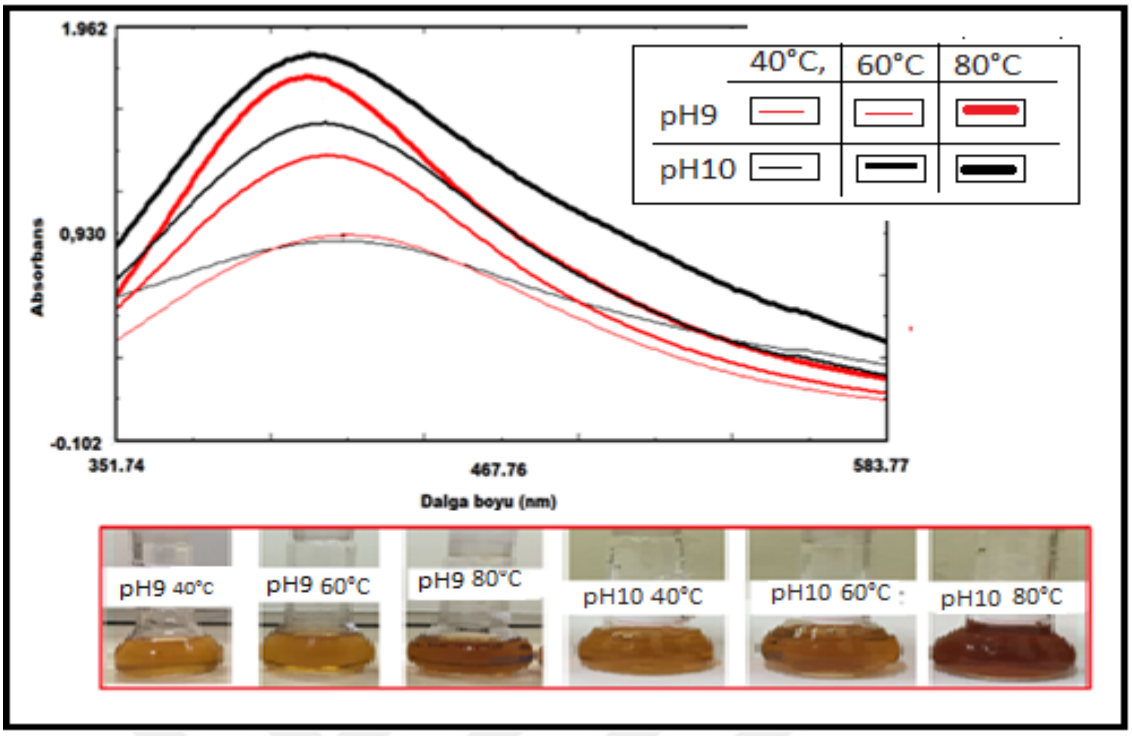

**Şekil 6.27** CCY ekstresi ile $pH_4$, $pH_5$ ve $pH_6$ ortamında hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerinin süre-sıcaklık- pH değerine bağlı olarak alınan absorpsiyon eğrileri ve ilgili görseller

**Tablo 6.10** CCY ekstresi ile $pH_4$, $pH_5$ ve $pH_6$ aralığında hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerinin süre-sıcaklığa bağlı absorbans değerleri değişimi

| | 30 DERECE | | | 50 DERECE | | | 80 DERECE | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SÜRE(dk) | pH4 | pH5 | pH6 | pH4 | pH5 | pH6 | pH4 | pH5 | pH6 |
| 5 | 0,475 | 0,599 | 0,731 | 0,510 | 1,115 | 1,064 | 0,784 | 0,991 | 1,412 |
| 10 | 0,478 | 0,614 | 0,829 | 0,553 | 1,115 | 1,061 | 0,878 | 0,977 | 1,507 |
| 15 | 0,520 | 0,660 | 0,880 | 0,581 | 1,212 | 1,081 | 0,715 | 0,989 | 1,621 |
| 20 | 0,518 | 0,706 | 0,945 | 0,604 | 1,242 | 1,109 | 0,931 | 1,060 | 1,655 |
| 30 | 0,537 | 0,688 | 0,901 | 0,611 | 1,319 | 1,079 | 0,967 | 0,956 | 1,584 |
| 45 | 0,576 | 0,760 | 0,905 | 0,602 | 1,312 | 1,118 | 1,205 | 0,780 | 1,402 |
| 60 | 0,555 | 0,698 | 0,913 | 0,585 | 1,339 | 1,137 | 1,035 | 0,362 | 1,131 |
| 90 | 0,572 | 0,705 | 0,948 | 0,597 | 1,292 | 1,064 | 0,960 | 0,141 | 0,631 |
| 120 | 0,552 | 0,778 | 0,944 | 0,584 | 1,352 | 0,941 | 0,745 | 0,126 | 0,330 |
| dalga boyu | 424nm | 414nm | 418nm | 428nm | 414nm | 403nm | 413nm | 403nm | 397nm |

**PVLDK ekstresi ile AgNP sentezi;**

PVLDK ekstresiyle (0.5 mL) $pH_9$ ve $pH_{10}$ ortamında ayrı ayrı 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerlerinde inkübe edilen AgNP çözeltilerinin spektrofotometrede 3 saat süre ile değişik zaman dilimlerinde alınan spektrumlar değerlendirildiğinde $pH_{10}$ ve 80°C' ye ait piklerin simetrisi, sivriliği ve elde edilen kolloidal çözeltinin rengi küçük boyutta nanotanecik oluşumunu göstermektedir (Şekil 6.28). Her üç sıcaklıkta da durum aynıdır. pH asidik ortamdan nötr ortama doğru artarken dalga boyunun maviye kaydığı görülmüştür. 180 dk'dan sonra indirgenecek gümüş partikülü kalmadığından dolayı ve aglomerasyon nedeniyle absorbans değerinde düşme görülür. Bu nedenle pikler ve absorpsiyon değerleri (Tablo 6.11) incelendiğinde PVLDK ekstresi ile AgNP sentezinde optimum koşullar; 80°C, $pH_{10}$ ortamı ve reaksiyon süresi 3 saat olarak belirlenmiştir.




**Şekil 6.28** PVLDK ekstresi ile $pH_9$ ve $PH_{10}$ değerlerinde hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerinin-sıcaklık ve pH değerlerine bağlı olarak alınan absorpsiyon spektrumları ve çözeltilere ait görseller (süre: 3 saat)

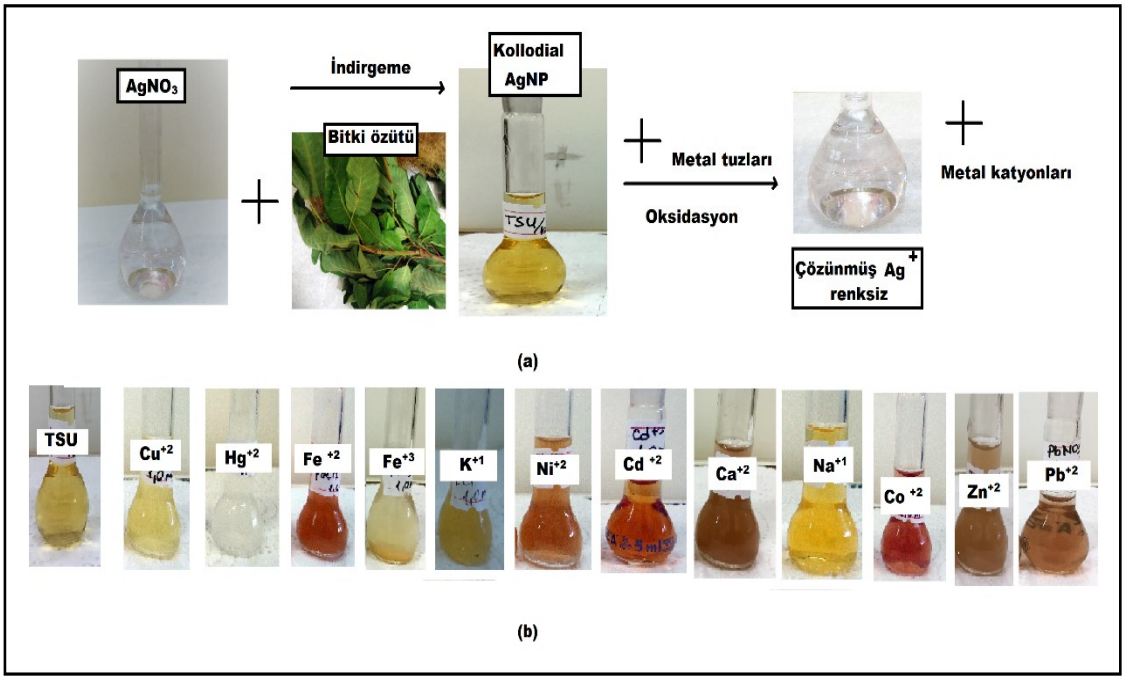
**Tablo 6.11** PVLDK ekstresi ile $pH_9$ ve $pH_{10}$ aralığında hazırlanan AgNP kolloidal çözeltilerinin süre-sıcaklığa bağlı absorbans değerleri değişimi

| | **$pH_9$** | | | **$pH_{10}$** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Süre (dk)** | **40 Derece** | **60 Derece** | **80 Derece** | **40 Derece** | **60 Derece** | **80 Derece** |
| 30 | 0.380 | 0.576 | 0.670 | 0.752 | 1.190 | 1.420 |
| 60 | 0.784 | 1.214 | 1.512 | 0.799 | 1.288 | 1.615 |
| 90 | 0.785 | 1.284 | 1.616 | 0.852 | 1.413 | 1.689 |
| 120 | 0.851 | 1.291 | 1.639 | 0.903 | 1.473 | 1.792 |
| 150 | 0.908 | 1.312 | 1.789 | 0.952 | 1.490 | 1.816 |
| 180 | 0.921 | 1.317 | 1.708 | 0.892 | 1.476 | 1.821 |
| 210 | 0.954 | 1,402 | 1.682 | 0.857 | 1.536 | 1.632 |
| 240 | 0.868 | 1.363 | 1.643 | 0.927 | 1.216 | 1.384 |
| Dalga Boyu | 421 nm | 415 nm | 410 nm | 418 nm | 414 nm | 410 nm |

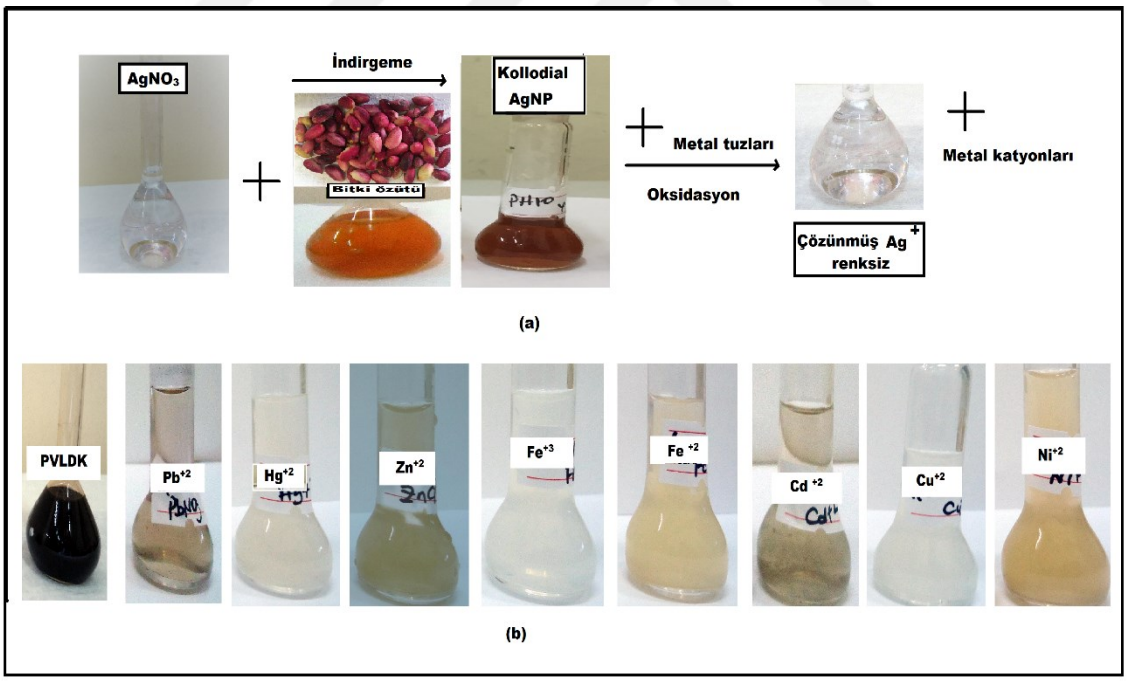
### 6.4.5 Sentezlenen AgNP'lere Metal İyonlarının Etkisinin İncelenmesi

Bölüm 5.4' de anlatıldığı gibi sentezlenen AgNP'lere metal iyonlarının etkisini inceleyen çalışmamıza ait sonuçlar Şekil 6.29 ve Şekil 6.30' da verilmiştir. CCY ve

PVLDK ekstraktlarıyla elde edilen AgNP kolloidal çözeltilerine değişen konsantrasyonlarda metal tuzu çözeltisi ilavesi yapıldığında; CCY ekstresiyle sentezlenen AgNP kolloidal çözeltilerinin metal tuzlarından ($Ca^{+2}$, $Cd^{+2}$, $Co^{+2}$, $Fe^{+2}$, $Fe^{+3}$, $Hg^{+2}$, $K^{+1}$, $Na^{+1}$, $Ni^{+2}$, $Pb^{+2}$, $Zn^{+2}$) sadece $Cu^{2+}$ ve $Hg^{2+}$iyonları ile renk değiştirdiği gözlenirken, PVLDK ekstresiyle sentezlenen AgNP kolloidal çözeltilerine metal iyonlarının ilavesiyle kolorimetrik tespiti tayini çalışmasında tüm metal tuzlarıyla renk değiştirdiği gözlenmiştir. AgNP'leri oluşturmak için Ag (I)'in biyolojik olarak indirgenmesinde görev yapan CCY ve PVLDK ekstrelerinden elde edilen biyoaktif bileşikler, büyük olasılıkla fenolik bileşiklerdir. Sentezlenen AgNP'ler, 410 nm'de yüzey plazmon rezonans zirvesiyle sarımsı kahverengi bir renge sahiptir. AgNP kolloidal çözletilerine ilave edilen metal iyonlarının varlığı AgNP'lerin sarımsı-kahverengi rengini (AgNP'lerdeki metalik gümüşü Ag (0) iyonlarını, Ag (I) oksidasyonuna bağlı olarak tekrar yükseltgediğinden) gidermiştir. Bu yöntem, kalitatif ve kantitatif metal analizleri için düşük maliyetli ve taşınabilir bir yöntem olarak ümit vaadeden yöntem olabilir. CCY ekstresi AgNP'lerinin $Cu^{2+}$ ve $Hg^{2+}$ iyonlarının kantitatif analizlerde kullanılabileceğini, PVLDK ekstresi AgNP'lerinin kullanılan iyonların hepsinin ($Cu^{+2}$, $Cd^{+2}$, $Fe^{+2}$, $Fe^{+3}$, $Hg^{+2}$, $Ni^{+2}$, $Pb^{+2}$, $Zn^{+2}$) kolorimetrik tayinlerinde kullanılabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada üretilen AgNP'ler, kolorimetrik sensör olarak kullanımlar için test edilmiştir (Şekil 6.29, Şekil 6.30). Sentezlenen AgNP'lerin seçiciliğinin en çok Hg (II) iyonlarına olduğu ve böylece nitel tespit için pozitif bir gösterge olduğunu ortaya koymuştur.



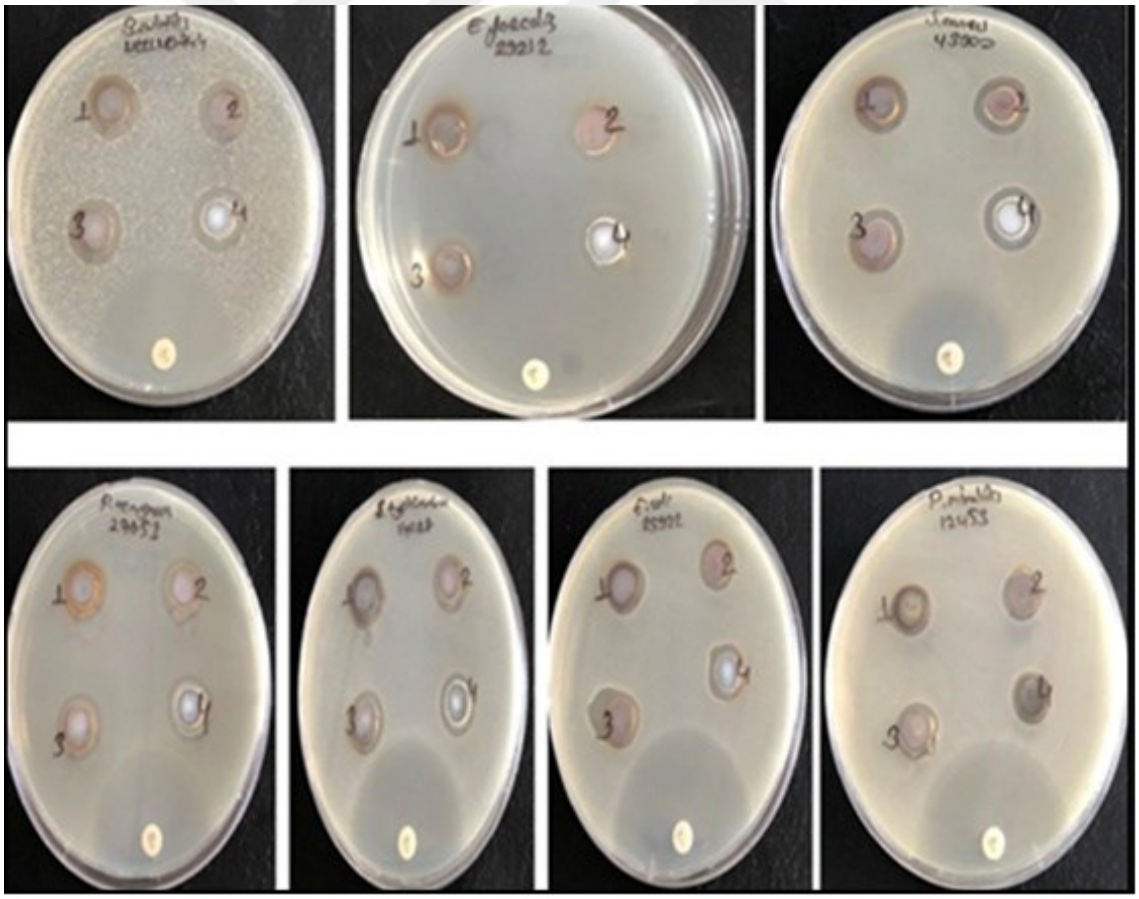

**Şekil 6.29** (a) Çalışmamızda kullandığımız CCY ekstrelerinin redoks reaksiyonu ile metal tuzları kullanılarak AgNP oluşumunun şematik gösterimi. (b) Çalışmamızda kullanılan CCY ekstresi ile elde edilen AgNP kolloidal çözeltilerinde metal iyonlarının kolorimetrik tespiti fotoğrafı




**Şekil 6.30** (a) Çalışmamızda kullandığımız PVLDK ekstrelerinin redoks reaksiyonu ile metal tuzları kullanılarak AgNP oluşumunun şematik gösterimi. (b) Çalışmamızda kullanılan PVLDK ekstresi ile elde edilen AgNP kolloidal çözeltilerinde metal iyonlarının kolorimetrik tespiti fotoğrafı

## 6.5 CCY ve PVLDK Ekstreleriyle Sentezlenen AgNP'lerin Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi

Cotinus coggygria Scop. yaprakları ve Pistascia Vera L. dış kabuğundan elde edilen ekstraktların ve AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitelerini gösteren inhibisyon zonu çaplarının antimikrobiyal aktivitelerine bakıldığında Pistascia Vera L. dış kabuğu sulu ekstraktında antimikrobiyal aktivite gözlenmemiş ancak sulu ekstresinden elde edilen AgNP'lerin ise tüm bakterilere karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Cotinus coggygria Scop. yaprakları sulu ekstresi ve elde edilen AgNP'li bileşiğinin ise tüm bakterilerilere karşı en iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Seçilen bakterilerin zon inhibisyonu resimleri ve örneklerin inhibisyon etkinliği sonuçları sırasıyla Şekil 6.31 ve Tablo 6.12'de özetlenmiştir (Bitkilerimizin antimikrobiyal özelliklerini tayin çalışmaları Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuarlarında yapılmıştır).



**Şekil 6.31** (1) TSU (CCY sulu ekstresi), (2) TSU+$AgNO_3$ (AgNP), (3) PVLDK sulu ekstresi + $AgNO_3$ (AgNP), (4) 10mM $AgNO_3$'ün mikroorganizmalar üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları içeren disklerin fotoğrafları

**Tablo 6.12** 10 mM $AgNO_3$, CCY sulu ekstresi, PVLDK sulu ekstresi ve bu ekstrelerle sentezlenen AgNP'leri içeren kolloidal çözeltilerin mikroorganizmalara karşı oluşturduğu inhibisyon zonları (mm)

| Mikroorganizma | 1 | 2 | 3 | 4 | CIP |
|---|---|---|---|---|---|
| *B. subtilis* | 15 | 15 | 15 | 15 | 35 |
| *E. faecalis* | 15 | 14 | 13 | 12 | 17 |
| *S. aureus* | 14 | 15 | 14 | 14 | 20 |
| *P. aeruginosa* | 15 | 16 | 15 | 15 | 27 |
| *E. coli* | 14 | 13 | 13 | 13 | 25 |
| *S. typhimurium* | 15 | 14 | 14 | 13 | 25 |
| *P. mirabilis* | 12 | 12 | 12 | 11 | 27 |

örnekler:

1. TSU/ SAF bitki özütü
2. TSU+AgNO3 (Oda sıcaklığı)
3. DK-SU+ AgNO3 (80 $C^0$)
4. 10 mM AgNO3
5. CIP: siprofloksasin (5 mcg/disk)

## 6.6 Karakterizasyon

Bu çalışmada, literatürde metal nanotaneciklerin sentezinde daha önce indirgen ajan olarak kullanılmayan Cotinus coggygria Scop. yaprakları ve Pistascia Vera L. dış kabuğu kullanılmış ve optimum sentez koşulları belirlenerek, sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonu UV-Vis spektrofotometre, FTIR ve TEM analiz yöntemleriyle belirlenmiştir.

### 6.6.1 UV-Vis Analizi

Farklı tepkime koşullarında oluşan nanotaneciklerin UV-Vis spektral analizleri UV 1600 Shimadzu marka cihaz ile yapılmış ve görünür bölgede belirgin pikler elde edilmiştir. Metal nanoparçacıklar, metal nanopartiküllerin elektronlarının ışık dalgasıyla rezonansa giren kombinasyonundan dolayı yüzey plasmon rezonans (SPR) absorpsiyon bandı veren serbest elektronlara sahiptirler. UV-Vis analiz sonuçları Ag nanotaneciklerin başarı ile sentezlendiğini göstermektedir. CCY sulu ekstresiyle optimum koşullarda (60 dk, oda sıcaklığı($30^0$C), 0.15 mL CCY -10mM $AgNO_3$) yapılmış olan deneyler sonucu senztezlenen AgNP'ler 400-450 nm dalga boyu aralığında yüzey plazmon rezonansı (SPR) bandı vermişlerdir. Reaksiyon karışımının renginin (sarıdan kahverengiye), şeklinin ve SPR bandının yoğunluğunun çözeltinin pH'ına bağlı olduğu gözlemlenmiştir. UV-Vis spektrumları oda sıcaklığında $pH_5$, $pH_6$ ve $pH_7$ ortamında elde edilen AgNP'lerin oldukça kararlı olduğunu göstermektedir (Şekil 6.24). PVLDK sulu ekstresiyle optimum koşullarda (180 dk, 80 $^0$C, 0.5 mL PVLDK -10mM $AgNO_3$) sentezlenen AgNP'ler yine 400-450 nm dalga boyu aralığında

yüzey plazmon rezonansı (SSR) bandı göstermiş olup, PVLDK AgNP'lerinin $pH_9$ ve $pH_{10}$ ortamında daha kararlı pikler verdiği görülmüştür (Şekil 6.28). Ayrıca çözeltinin renginin açık kahverengiden koyu kahverengine dönüşmesi, bünyesinde bulunan fenolik grupların $Ag^{+1}$ iyonlarını $Ag^0$ iyonlarına indirgediğinin bir göstergesidir.

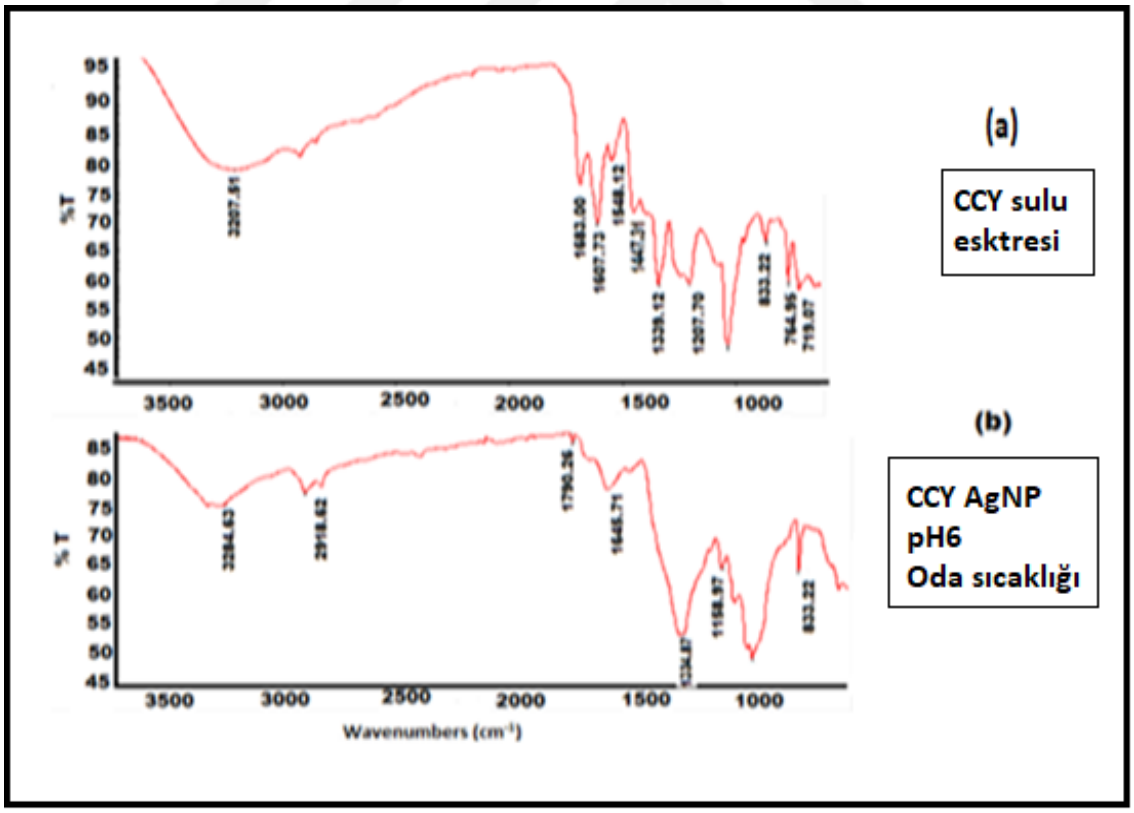
### 6.6.2 FTIR Analizi

Gümüş nanotaneciklerin sentezinde fenolik grupların yer alıp almadığının belirlenmesi ve AgNP'lerin kararlılığında bu grupların varlığının araştırılması için ve ayrıca reaksiyonun hangi bağlar üzerinden yürüdüğünü belirleyebilmek için CCY ve PVLDK sulu ekstrelerinin $AgNO_3$ ile etkileştirilmeden önce ve sonra Thermo Nicolet İs 10 Spektrometresi ile FTIR analizleri yapılmıştır (Şekil 6.32 ve Şekil 6.33).

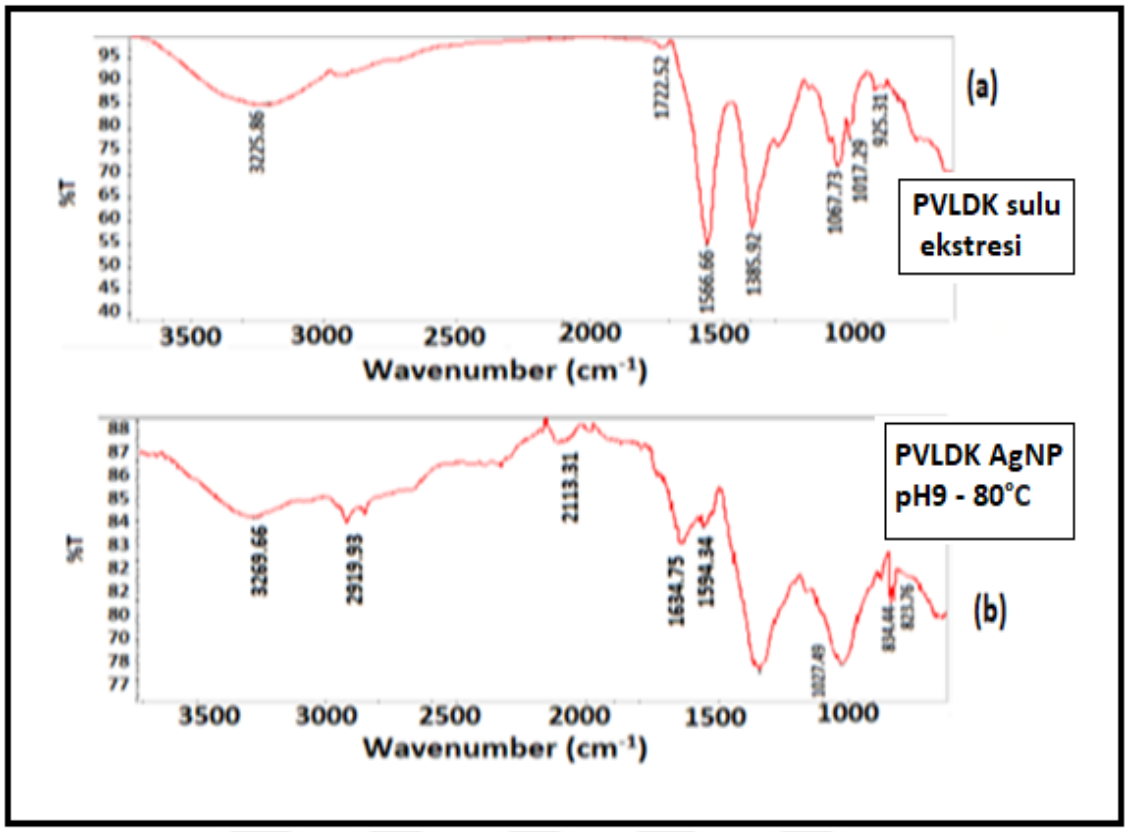
**CCY ekstresi analizi;** CCY sulu ekstresine ve AgNP'lere ait FTIR spektrumları Şekil 6.32' de gösterilmiştir. CCY sulu ekstresine ait spektrumda; 3207$cm^{-1}$, 1683 $cm^{-1}$, 1607 $cm^{-1}$, 1548 $cm^{-1}$, 1447 $cm^{-1}$, 1339 $cm^{-1}$, 1202$cm^{-1}$, 866 $cm^{-1}$, 764$cm^{-1}$ ve 719 $cm^{-1}$ de görülen bantlar (Şekil 6.32 (a)), AgNP'lere ait FTIR spektrumunda ise 3284 $cm^{-1}$, 1790 $cm^{-1}$, 1645 $cm^{-1}$, 1334 $cm^{-1}$, 1158 $cm^{-1}$ ve 833 $cm^{-1}$'de görülmektedir. CCY sulu ekstresinde 3266 $cm^{-1}$ ve 1683 $cm^{-1}$'de gözlenen IR bantları, muhtemelen biyo molekülde bulunan -OH ve -C=O gruplarına ait -OH ve -C=O gerilme bantlarıdır. 3266 $cm^{-1}$'deki yoğun geniş -OH gerilme bandı, $Ag^{1+}$ in $Ag^{0'}$a indirgenmesinden sorumlu olabilecek fenolik bileşiklerdeki hidroksil fonksiyonel grubunun (-OH,−COOH) bulunduğunu doğrular. AgNP durumunda, azalmış bant yoğunluğu (-OH gerilme bandı) ve küçük bir kayma indirgeme işlemi sırasında -OH gruplarının tüketimini göstermektedir. CCY sulu ekstresinde 1683 $cm^{-1}$'de görülen bant, AgNP'lerin spektrumunda 1790 $cm^{-1}$ ve 1645 $cm^{-1}$'de iki banda ayrılmıştır. Bu, gerilme modunda -C=O fonksiyonel grubunun parmak izidir. Biyosentez öncesi ve sonrası spektrumdaki bu iki değişiklik AgNP'nin oluşumunda önemlidir (Dubey vd., 2010). FTIR spektrumlarından, CCY sulu ekstresindeki fenolik bileşiklerin AgNP'lerin sentezinde ve stabilizasyonunda rol aldığı kabul edilebilir.

**PVLDK ekstresi analizi;** PVLDK sulu ekstresindeki ve AgNP'lerdeki ana fonksiyonel grupları tespit etmek için alınan FTIR spektrumları Şekil 6.33'te gösterilmiştir. PVLDK sulu ekstresinde 3225 $cm^{-1}$, 1722 $cm^{-1}$, 1555 $cm^{-1}$, 1386 $cm^{-1}$, 1067 $cm^{-1}$, 1017 $cm^{-1}$ ve 925 $cm^{-1}$'de görülen bantlar, AgNP'lere ait FTIR spektrumunda 3269 $cm^{-1}$, 2919 $cm^{-1}$, 2113 $cm^{-1}$, 1634 $cm^{-1}$, 1549 $cm^{-1}$, 1027 $cm^{-1}$ ve 834 $cm^{-1}$'de görülmektedir. PVLDK sulu

ekstresinin ve AgNP'lerin FTIR spektrumunda sırasıyla 3225 $cm^{-1}$ ve 3269 $cm^{-1}$'de görülen geniş bandlar polifenoliklerin ve alkollerin hidroksil fonksiyonel grubuna karşılık gelir. 3266 $cm^{-1}$'deki yoğun geniş -OH gerilme bandı, $Ag^{+1}$ 'in $Ag^{0}$ 'a indirgenmesinden sorumlu olabilecek fenolik bileşiklerde fonksiyonel hidroksil grubunun (-OH, −COOH) bulunduğunu doğrular (Dubey vd., 2010). AgNP durumunda azalmış bant yoğunluğu (-OH gerilme bandı) ve küçük bir kayma indirgeme işlemi sırasında -OH gruplarının tüketimini göstermektedir. AgNP'lere ait spektrumda nanopartikülleri saran ve kararlı olmasını sağlayan maddelerin varlığını gösteren 3269 $cm^{-1}$, 1634 $cm^{-1}$ ve 1027 $cm^{-1}$'de absorpsiyon pikleri gözlendi. 3269 $cm^{-1}$ de görülen pik fenolik veya amid N-H gruplarına, 1634 $cm^{-1}$'de görülen pik -OH gerilme bandı olup, bitki ekstraktında bulunan glikozit veya diğer (C-O-C) gruplarına ait 1032 $cm^{-1}$'de gözlenen son önemli piktir. Flavonoidler, triterpenoidler gibi farklı kimyasal sınıflarda bulunan C-O, N-H ve C-N gibi ana fonksiyonel gruplar, (bitki ekstraktında bulunan polifenoller, proteinler ve pigmentler) $Ag^{+1}$'in AgNP'lere biyolojik olarak indirgenmesinden sorumludur (Mukherjee vd., 2008; Marimuthu vd., 2011).




**Şekil 6.32** CCY sulu ekstresine (a) ve optimum koşullarda sentezlenen AgNP'lere (b) ait FTIR spektrumları

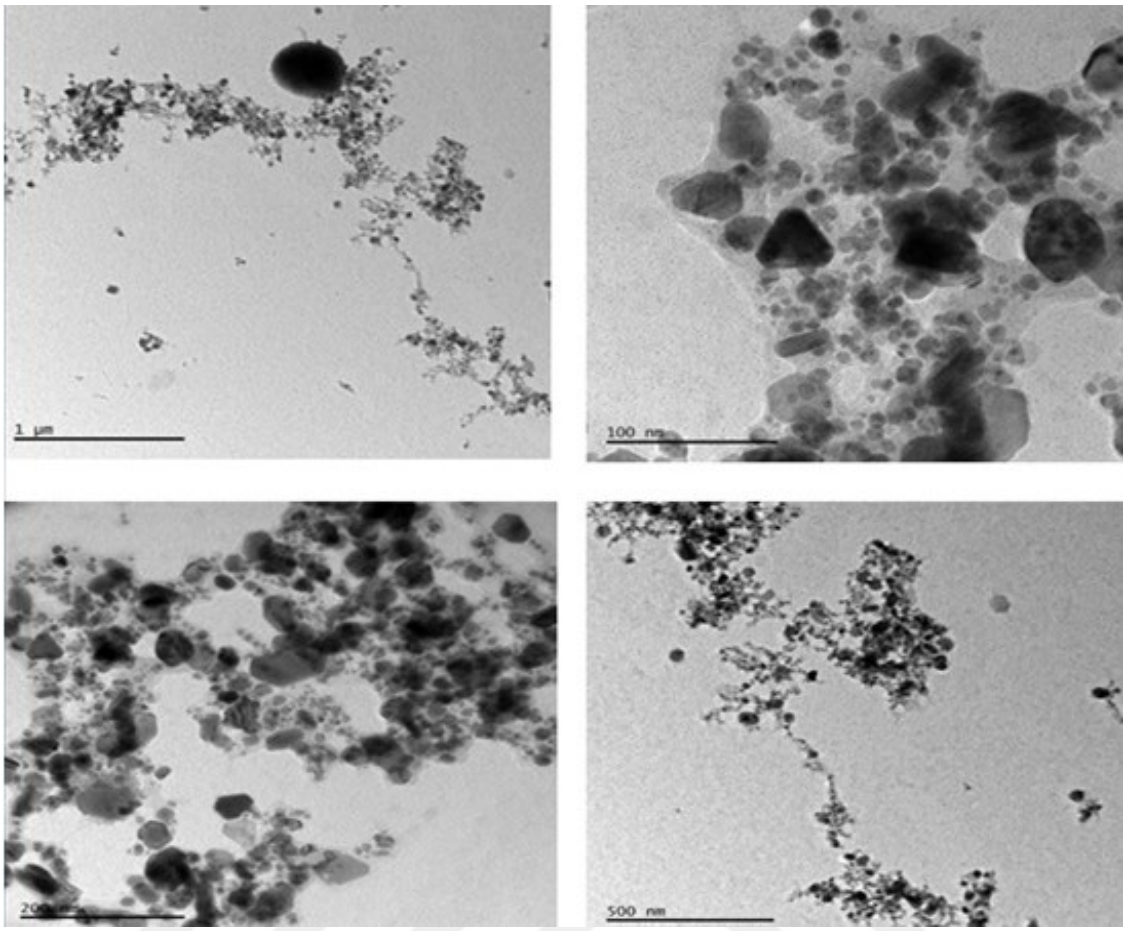



**Şekil 6.33** PVLDK sulu ekstresine (a) ve optimum koşullarda sentezlenen AgNP'lere (b) ait FTIR spektrumları

### 6.6.3 TEM Analizi

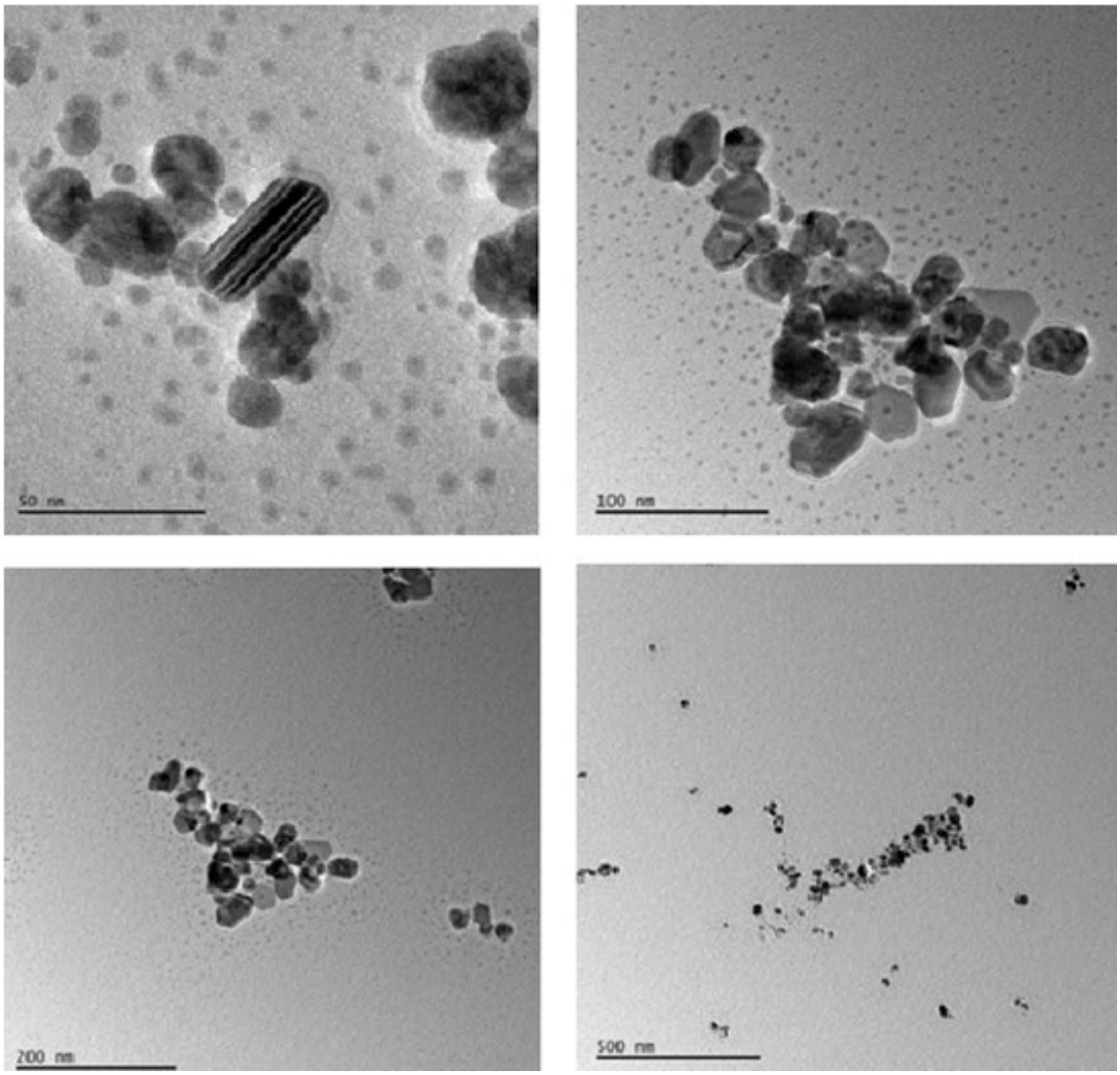
Çalışmamızda gümüş nanotaneciklerin sentezlendiğini UV-Vis analiz sonuçları başarılı bir şekilde göstermektedir. Sentezlenen nano partiküllerin boyut ve morfolojik özelliklerini incelemek için Transmisyon elektron Mikroskobu (TEM) analizleri yapılmıştır.

**CCY ekstresi analizi;** AgNP'lerin TEM görüntüsü, nanopartiküllerin küre şeklinde olduğunu göstermektedir (Şekil 6.34). AgNP'lerin boyutu ve şekli, farklı antioksidan kapasiteye (indirgeme potansiyeli) ve ekstraktta bulunan biyomoleküllerin oluşan nanopartikülü sarabilecek doğasına, dolayısıyla kullanılan bitki ekstraktına bağlıdır. Şekil 6.34 ayrıca AgNP'lerin iyi dağıldığını ve toplanmadığını da göstermektedir. Parçacıkların morfolojisinin değişik boyutlarda, küresel ve boyutlarının 100nm'den küçük olduğu görülmüştür. Bu sonuç UV- Vis spektrumlarında elde edilen SPR bandları ile iyi bir uyum içindedir.




**Şekil 6.34** CCY ekstresi ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü

**PVLDK ekstresi analizi;** Nanopartiküllerin boyut ve morfolojik özelliklerini incelemek için Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) analizi yapılmıştır. Şekil 6.35, gümüş nanopartiküllerin TEM görüntüsünü göstermektedir. Sentezlenen nanopartiküllerin belirli bir morfolojik şekilleri(rod, tel, yuvarlak, köşeli gibi) olmadığı, partiküllerin değişik boyutlarda ve agrega halde olduğu görülmüştür. Boyutlarının da 100 nm'den daha küçük olduğu saptanmıştır.




**Şekil 6.35** PVLDK ekstresi ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü

# 7
# Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmanın başlangıç aşamasında yapılan literatür taramalarında birçok araştırmacı tarafından çeşitli türden bitkilerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelendiği görülmüştür. Cotinus coggygria Scop.'un yapraklarıyla ilgili sınırlı sayıda antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çalışmasına rastlanmış olmasına rağmen Pistacia Vera L. bitkisinin tohum ve dış kabuğu ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. Kurutulmuş Cotinus coggygria Scop. yapraklarından ve Pistacia Vera L. dış kabuğu ile elde edilen su ve etanol ekstraktlarının, DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri ve indirgeme kapasitesi metotlarıyla antioksidan kapasiteleri, toplam fenolik madde miktarları, disk difüzyon yöntemi ile de antimikrobiyal özellikleri araştırılmıştır. Çalışmalarımızın sonuçları kendi aralarında ve literatürlerdeki benzer verilerle kıyaslanarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

Bitkilerin birçoğu farklı miktar ve nitelikte çeşitli fenolik bileşikler içerirler (Belitz ve Grosch, 1995). Antep fıstığındaki (Pistacia Vera L.) fenolik bileşiklerin miktarının dış kabuğunda tohumlarına göre anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir. Antep fıstığının beslenmeye dahil edilmesi insan sağlığını ve enflamatuar hastalıklara, kansere, yani serbest radikallerin aşırı üretiminden kaynaklı patolojik koşullara karşı korumak için yararlı olabilir. Antep fıstığı kabuğunun antioksidan aktivitesi antioksidan fenolik bileşikleri yüksek miktarda içermesinden kaynaklıdır. Antep fıstığı kabukları gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisinde başarıyla kullanılabilir (Tomaino vd., 2010). Zoral ve Turgay yaptıkları çalışmada Antep fıstığı kabuklarının 15-30 ve 45 µg/mL konsantrasyonlarında, etanol ve su ile hazırlanan ekstraktlarının indirgeme kapasitesi metodu için kullanılan standartlardan biri olan BHT' den daha düşük indirgeme kapasitesi sergilediğini bildirmişlerdir (Zoral ve Turgay, 2014).

Çalışmamızda Cotinus coggygria (Scop.) yapraklarının ve Pistacia Vera L. dış kabuklarının etanollü ekstrelerinin toplam fenolik miktarları FCR ile tayin edilerek, sonuçlar genel standart olarak kabul edilen gallik asit cinsinden hesaplandı. Örneklerin ölçülen absorbans değerlerinden yararlanılarak gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarları, gallik asit standart çözeltileri ile hazırlanan standart eğri denkleminden hesaplanmıştır (Şekil 6.15). Bitkilerimizin toplam fenolik madde miktarı

birim olarak “mg gallik asit/g” cinsinden belirlenmiştir. **Çalışmamızda toplam fenolik bileşik miktarı Cotinus coggygria Scop. sulu ekstraktı için 53.77 mg GAE/g, Pistacia Vera L. etanollü ekstraktı için 75.83 mg GAE/g** olarak belirlenmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında; Stanic ve arkadaşları 2009 yılında yaptıkları çalışmada Cotinus coggygria Scop. bitkisinin toplam fenolik madde içeriğini metanol özütünde gallik asit eşdeğeri cinsinden 46.76 mg/g olarak(Stanic vd., 2009b), Aksoy ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Cotinus coggygria (Scop.) bitkisinin toplam fenolik madde içeriğini gallik asit eşdeğeri cinsinden 380.2± 6.38 mg/g olarak belirlemişlerdir (Aksoy vd., 2010). Savikin ve arkadaşları ise, Cotinus coggygria çiçeklerinden ve yapraklarından elde edilen ekstraktlardaki toplam fenol içeriğini sırasıyla 76.5 ± 4.2 ve 515.5 ± 8.3 mg GAE/g olarak belirlemişlerdir (Savikin vd., 2009). Wu ve arkadaşları 2004 yılında yaptıkları çalışmada Pistacia Vera L.’nin toplam fenolik madde miktarını gallik asit eşdeğeri cinsinden 16.6 mg GAE/g olarak (Wu vd., 2004), Gentile ve arkadaşları Pistacia Vera L**.** tohumlarının toplam fenolik madde miktarını 100 g yenilebilir tohum başına 3.68 mg olarak değerlendirmişlerdir (Gentile vd., 2007). Zoral ve Turgay, 2014 yılında yaptıkları çalışmada ise; Pistacia Vera L. dış kabuğunun toplam fenolik madde miktarını gallik asit eşdeğeri cinsinden 1140.8 mg GAE/100g olarak hesaplamışlardır Yine aynı çalışmalarıyla Zoral ve Turgay, farklı çözücülerde (aseton, etanol, etilasetat, kloroform, metanol ve saf su) yaptıkları çalışmalarda toplam fenolik bileşik miktarını 511,3 - 2478,5 mg GAE/100g değerleri arasında bulmuşlardır (Zoral ve Turgay, 2014). Kılıç ve arkadaşları 2016 yılında Pistacia Vera L dış kabuklarının metanol özütüyle yaptıkları çalışmada, toplam fenolik madde miktarını 52.29 mg GAE/g olarak bildirmişlerdir (Kılıç vd., 2016). Kısacası sonuçlar; Pistacia Vera L. dış kabuğunda bulunan yüksek miktarda polifenolün, güçlü antioksidan kapasitesinden kaynaklı olabileceği anlamına gelir.

DPPH radikali biyolojik bir radikal olmamasına rağmen, antioksidanların serbest radikal giderme aktivitelerinin tayininde kullanılan bir reaktiftir. Çalışmamızda kullandığımız bitkilerin etanol ekstraktlarının, serbest radikal giderici etkileri DPPH radikali ile belirlenmiştir. Mor renge sahip DPPH çözeltisi antioksidan maddeler içeren bir bileşikle bir araya geldiğinde yapısında meydan gelen değişiklikler sebebiyle mor renkten sarı renge dönüşür (Şekil 4.3).

Bu tez çalışmasında Cotinus coggygria Scop. yaprakları ve Pistacia Vera L. dış kabuklarından elde edilen etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderme

aktivitelerine bakıldığında; bitki konsantrasyonu arttıkça giderilen DPPH serbest radikali miktarında da orantılı olarak bir artış gözlenmiştir, **DPPH serbest radikali giderme çalışmasının bulgularına göre $EC_{50}$ değerleri; Cotinus coggygria Scop. için 96.03 µg/mL, Pistacia Vera L. için 163.76 µg/mL** olarak tespit edilmiştir. Standart olarak kullanılan BHT, BHA, E vitamini ve askorbik asitin de yüzde inhibisyon değerleri ve $EC_{50}$ değerleri belirlendi (Tablo 6.2 ve Tablo 6.3). Çalışmamızda kullanılan bitkilerin etanol ekstraktlarının ve standart maddelerin DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri $EC_{50}$ değerlerine göre sıralandığında;

**BHA (55.38 µg/mL)> E VİTAMİNİ(89.90 µg/mL)> TEA(CCY)(96.03 µg/mL) > ASKORBİK ASİT(107.64 µg/mL)> BHT (142.86 µg/mL)>Dk-et(PVLDK) (163.76 µg/mL)** şeklindedir.

Zoral ve Turgay'ın çalışmalarında, Pistacia Vera L. dış kabuğunun etanollü ekstresinde DPPH serbest radikal giderme aktivitesini %17.6 olarak ifade edilmiş, Kılıç ve arkadaşları da dış kabuktaki DPPH radikal giderme aktivetesini 171.35 mgTes/g olarak belirlemişlerdir (Zoral ve Turgay, 2014; Kılıç vd., 2016).

Bir bileşiğin indirgeme kapasitesi, antioksidan aktivitesinin önemli derecede yüksek olduğunun göstergesidir (Köksal, 2007'den aktaran Zoral ve Turgay, 2014). Bir ekstraktın indirgeme kapasitesi $Fe[(CN)_6]^{+3}$'nin $Fe[(CN)_6]^{+2}$'ye indirgenmesiyle belirlenmektedir. Çalışmamızda standart madde olarak BHA, E vitamini, askorbik asit ve BHT kullanıldı. Tablo 3.1'e bakıldığında standart maddeler, CCY ve PVLDK ekstraktlarının toplam indirgeme kuvveti değerleri 500 µg/mL konsantrasyon değeri karşılaştırıldığında; **BHA >TEA(CCY) >ASKORBİK ASİT >E VİTAMİNİ > BHT > Dk-et (PVLDK)** şeklinde sıralanabilir.

Bitkilerimizin su ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı çalışmalarda; Cotinus coggygria Scop. yaprakları ve Pistacia Vera L. dış kabuğundan elde edilen ekstrelerde antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacı ile Cotinus coggygria Scop. yaprakları ve Pistacia Vera L. dış kabuğundan elde edilen ekstraktlar ve ekstraktlara $AgNO_3$ eklenerek sentezlenen gümüş nanopartikülleri içeren kolloidal çözeltiler kullanılmıştır. Ekstraktlar ve AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yönteminin modifiye edilerek uygulanmasıyla belirlenmiştir (Bauer vd., 1966). Antimikrobiyal aktivitelerin belirlenmesi için; gram pozitif bakterilerden *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300), *Bacillus subtilis*

(NRRL NRS-744) ve gram negatif bakterilerden ise *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Proteus mirabilis* (ATCC 12453), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) standart suşları kullanılmıştır. Çalışmamızda, *C. coggygria* S. yapraklarının ve Pistacia Vera L. dış kabuğundan elde edilen sulu ekstraktların ve elde edilen AgNP'lerinin zon çapları değerlendirilerek antimikrobiyal aktivite değerleri saptanmıştır. Cotinus coggygria Scop. yapraklarının sulu ekstraktı ve Cotinus coggygria Scop. yapraklarının sulu ekstresinden elde edilen AgNP'lerin tüm bakterilerilere karşı en iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. **Cotinus coggygria Scop.'ın** AgNP'li bileşiğinde en yüksek etkinliği ***B. Subtilis (15mm zon çapı)*** ve ***P. aeruginosa*** **(16 mm zon çapı)** bakterilerinde gösterirken, Pistacia Vera L. dış kabuğu sulu ekstraktında antimikrobiyal aktivite gözlenmemiş ancak elde edilen AgNP'lerinin, tüm bakterilere karşı etkin aktivite gösterdiği belirlenmiştir **(En yüksek; *P. aeruginosa, B. subtilis 15mm zone çapı)*.** Gökçe ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada Cotinus coggygria bitkisinin etanol ile sokslet ekstraksiyonu sonucu elde ettikleri özütünde, antibakteriyel etkinliğe sahip bileşenleri (% 39,09 oranında pirogallol, % 9,9 kinik asit, % 9,27 linoleik asit, %9,25 3-pentadesil fenol ve % 2,53 öjenol olduğunu bildirmişlerdir. Staphylococcus aureus'a karşı 13 mm ve Pseudomonas aeruginosa'ya karşı 10 mm'lik inhibisyon bölgeleri olduğunu ve Escherichia coli'ye karşı herhangi bir antibakteriyel etkisi olmadığını belirtmişlerdir (Gökçe vd., 2018). Şermet, 2015 yılında yaptığı çalışmada Pistacia Vera L. kabuğu sulu özütünün en etkili antimikrobiyal aktivitesini 17.1 ± 0.7 mm inhibisyon çapıyla S. aureus'a karşı gözlendiğini bildirmiştir (Şermet, 2015). Aksoy ve arkadaşları Wistar albino sıçanlarının yaraları üzerinde yaptıkları çalışmada, 0,5 - 1 g' lık bölümler halinde basit merhem ve %5'lik Cotinus coggygria Scop. etanol ekstraktı ile birlikte merhem uygulamışlar ve tedavi edilen sıçanların granülasyon dokusundaki hidroksiprolin konsantrasyonu 3. gün ve 7. gün sonrası kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir (Aksoy vd., 2010). Trakya Üniversitesi'nde 2011 yılında yapılan çalışmada, Cotinus coggygria Scop. sulu ektresinin Escherichia coli' ye ve Staphylococcus aureus'a karşı 10 mm 'lik inhibisyon bölgeleri oluşturduğunu bildirmiştir (Bektaş, 2011).

Bitkilerin antimikrobiyal özelliklerinde farklılık göstermesine; bitkilerin yetiştikleri bölge, bitkinin kullanılan kısımları (çiçek, tohum, kabuk, yaprak gibi) , kimyasal bileşimleri ve ekstraksiyon da kullanılan çözücü maddelerin özelliklerinin sebep olduğu

düşünülmektedir (Abay, 2006). Çalışmamızda kullanılan ekstraktların da bütün bakterilere karşı etkili olmayışı bu nedenlerden kaynaklanabilir. Gümüş nanoparçacıklarının antifungal etkileri birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Gümüş iyonu çoğu mikroorganizma için oldukça toksiktir ve nanoparçacıkların antimikrobiyal etkisi hücre içinde veya dışında oksidasyon yoluyla gümüş iyonlarının yavaş salınması ile gerçekleşir (Jung vd., 2008). Gümüş nanoparçacıkların mikrobiyal hücrelerin zarlarının geçirgenliğini önemli ölçüde etkilediği bilinmektedir (Li vd., 2010). Nanopartiküllerin proteinleri inaktive hale getirdiği ve DNA'nın kendini eşlemesi olayına müdahale ettiği de bilinmektedir (Chaloupka vd., 2010'dan aktaran Kumar, 2013).

Genel bir değerlendirme ile Cotinus coggygria Scop. yaprakları ve Pistacia Vera L. dış kabuğu etanol ekstratlarının DPPH radikal giderici özelliği, indirgeme gücü aktivitesi ve toplam fenolik madde içeriklerine bakarak kıyaslamak amacıyla kullandığımız standart maddelere yakın birer antioksidan kaynağı olduklarını söyleyebiliriz.

Tezimizin asıl amacı, antioksidan özelliği yüksek olan bitki özütleri kullanarak (yeşil sentez yöntemi) gümüş nanopartiküllerin sentezidir. Çalışmamızda kullandığımız Pistacia Vera L. dış kabuğu ve Cotinus coggygria Scop. yaprakları sulu özütü kullanarak yaptığımız yeşil sentez yönteminde $AgNO_3$ kullanarak, gümüş nanopartiküllerin sentezi ilk kez bu çalışma ile yapılmıştır. Çalışmamızda bu iki bitki, yüksek fenolik içeriklerinden dolayı seçilmiştir. CCY sulu ekstresi ile yapılan AgNP sentezinde optimum koşullar çeşitli deneyler sonucunda; ekstrakt hacmi: 0.15 mL; $AgNO_3$ konsantrasyonu: 10 mM; sıcaklık: $30^0$ ; süre: 60 dk ve pH: $pH_6$ olarak, Pistacia Vera L. dış kabuğu sulu ekstresiyle yapılan sentezde ise ekstrakt hacmi: 0.5 mL; $AgNO_3$ konsantrasyonu: 10mM; sıcaklık: 80ºC, süre: 180 dk; pH: $pH_{10}$ olarak belirlenmiştir. Yapılan karakterizasyon çalışmalarının hepsi (UV-Vis., FTIR ve TEM) bitkilerimizin sulu özütleriyle gümüş naopartiküllerin sentezlendiğini, sentezlenen nanoparçacıkların değişik boyutlarda olduğunu ve rod, tel, yuvarlak, köşeli vb. belirli bir morfolojik şekilleri olmadığını göstermiştir.

Bir bitki özütü aracılığı ile biyolojik indirgeme, sulu özütün ilgili metal tuzunun sulu bir çözeltisi ile karıştırılmasını içerir. Nanopartikül üretmek için, ekstrakt belirlenen sıcaklıklarda metal tuzu çözeltisi ile karıştırılır. Reaksiyon farklı sıcaklık, pH ve süreler içinde tamamlanır. Gümüş, altın ve diğer birçok metalin nanopartikülleri bu şekilde

üretilmiştir (Li, Xu, Chen ve Chen, 2011). Nanopartikül sentezinde bitki özütleri, indirgeyici ajanlar ve stabilize edici maddeler olarak etki gösterirler (Kumar ve Yadav, 2009). Bitki özütünün yetiştirildiği bölge ve bitkinin farklı kısımlarının, nanoparçacıkların özelliklerini etkilediği de bilinmektedir (Kumar ve Yadav, 2009). Biyosentez (yeşil sentez), sadece fizikokimyasal üretim yöntemlerinden bir kaçı ile karşılaştırıldığında çevresel zararlı etkisinin az olması nedeniyle değil, aynı zamanda iyi tanımlanmış bir boyut ve morfolojide, daha stabil ve daha kuvvetli antimikrobiyal özelliğe sahip nanopartiküller üretmesi nedeniyle de tercih edilen bir yöntem olmuştur (Dahl, Maddux ve Hutchison, 2007; Shankar vd., 2004' den aktaran Kumar, 2013).

Biyosentez yöntemiyle elde edilen gümüş nanopartiküller kullanılarak civa, bakır, demir gibi ağır metallerin kolorimetrik tespiti de mümkündür. Firdaus ve arkadaşları AgNP'leri oluşturmak üzere Ag (I)'in biyo indirgeni olarak görev yapan biyoaktif bileşiklerin, Syzygium aqueum meyvesi ekstraktında büyük bir olasılıkla askorbik asit ve flavonoid bileşikler olduğunu belirtmişlerdir. Karışımdaki Hg (II) iyonlarının varlığı ile AgNP' lerde bulunan Ag(0)' ın yeniden Ag(I) iyonlarına yükseltgenmesiyle AgNP'lerin sarımsı-kahverengi renginin renksiz hale dönüştüğünü ve geliştirilen yöntemin sulu çözeltilerde nitel ve nicel civa analizi için umut verici bir araç olabileceğini, aynı zamanda da AgNP'ler kullanılarak yapılacak olan civa kolorimetrik tayini çalışmalarının düşük maliyetli olacağını bildirmişlerdir (Firdaus vd., 2017a).

Bu bilgiler ışığında; AgNP'ler metal iyonlarının kolorimetrik etkisini inceleyen çalışmamızda, çeşitli hacimlerde metal tuzu çözeltisi ilavesi yapılan CCY ve PVLDK ekstraktlarından elde edilen gümüş nanopartiküllerin absorpsiyon spektrumları ve reaksiyon sırasında kolloidal çözeltilerin renkleri incelendiğinde; CCY sulu ekstresiyle sentezlenen AgNP'lerin kullanılan metal tuzlarından ($Ca^{+2}$, $Cu^{+2}$, $Cd,^{+2}$ $Co,^{+2}$ $Fe,^{+2}$ $Fe,^{+3}$ $Hg^{+1}$, $K,^{+1}$ $Na^{+1}$, $Ni^{+2}$, $Pb^{+2}$, $Zn^{+2}$) sadece $Cu^{2+}$ ve $Hg^{2+}$ iyonlarını indirgediği gözlenmiştir. Bu da bize CCY ekstresiyle sentezlenen AgNP'lerinin $Cu^{2+}$ ve $Hg^{2+}$ iyonlarının kantitatif analizlerde kullanılabileceğini göstermektedir. PVLDK sulu ekstresiyle sentezlenen AgNP'lerin metal iyonlarının kolorimetrik tayini çalışmasında ise; kullanılan tüm metal tuzlarının ($Cu^{+2}$,$Cd^{+2}$, $Fe^{+2}$, $Fe^{+3}$, $Hg^{+2}$, $Ni^{+2}$, $Pb^{+2}$, $Zn^{+2}$ ) AgNP'lerin rengini açtığı gözlenmiş olup, PVLDK ekstresiyle elde edilen AgNP'lerin de birçok kolorimetrik tayinlerde kullanılabileceğini göstermektedir (Şekil 6.29 ve Şekil 6.30). Bu konuda çalışmalara daha ileri düzeyde devam edilecektir.

Gümüş nanopartiküllerin sentezi için fiziksel, kimyasal veya biyolojik yöntemler kullanılabilir. Biyolojik yöntemlerin az gelişmiş olması nedeniyle kimyasal ya da fiziksel yöntemlerin kullanılması kaçınılmazdır. Kimyasal ve fiziksel yöntemlerin, nanopartiküllerin kontrollü ya da kontrolsüz sentezini şekillendirme yeteneğinin yüksek olmasına rağmen, sentez sürecinde toksik kimyasallar kullanılması gibi dezavantajları vardır. Ayrıca nanopartiküllerin hazırlaması sürecinde ekipmanın yüksek maliyeti ve çok fazla enerji tüketiminden de söz edilebilir. Biyolojik yöntemler daha ucuz, çevre dostu ve kullanımı kolay olduğu için gümüş nanopartiküllerin biyolojik yöntemlerle sentezlenmesi üzerinde çalışmalara ilgi son zamanlarda giderek artmaktadır.

Gümüş nanopartiküller tıpta bandajlarda antimikrobiyal maddeler olarak, kimyasal, manyetik, elektriksel ve optik özelliklerinden dolayı da tanı, ilaç, elektronik endüstrisi ve tıbbi alanlar gibi birçok yüksek teknoloji alanında halen kullanılmaktadır. Aynı zamanda kataliz, çevre koruması ve enerji dönüşümü için de kullanıldığı bilinmektedir. Teknolojik açıdan bu yöntemle elde edilen gümüş nanoparçacıklar, biyomedikal alanda potansiyel uygulamalara sahiptir. Bu basit ve maliyeti düşük yöntem(yeşil sentez), tıbbi ve farmasötik uygulamalar için büyük ölçekli ticari üretimler gibi birçok avantaja sahiptir. Sentezlenen nanopartiküllerin biyoloji ve tıp alanında; tümörlü hücrelerin belirlenmesi ve kanser tedavilerindeki uygulama alanlarında kullanılabilmesi için önerilebileceği görülmüştür.

# Kaynakça


Abay, E. (2006). Bazı bitki ekstraktlarının antibakteriyal etkilerinin disk difüzyon yöntemiyle araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kars.

Abdille, M.H., Singh, P.R., Jayaprakasha, G.K. & Jena, B.S. (2005). Antioxidant activity of extracts from Dillenia indica fruits. *Food Chemistry, 90,* 891-896.

Agarwal, M., Parameswari, R.P., Vasanthi, H.R. & Das, D.K. (2012). Dynamic action of carotenoids in cardioprotection and maintenance of cardiac health. *Molecules, 17,* 4755-4769.

Akagün, G. (2009). *Alabaş (Brassica oleracea var. gongylodes) bitkisinin antioksidan aktivitesinin incelenmesi.* Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, Edirne.

Akkuş, İ. (1995). *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri.* 1. Ed, Konya: Mimoza Basım Yayım ve Dağıtım.

Aksoy, H., Sancar, M., Sen, A., Okuyan, B., Bitis, L., Uras, F., Akakin, D., Cevik, O., Kultur, S. & İzzettin F.V. (2016). Sıçanlarda Cotinus coggygria Scop .'un topikal etanol ekstraktının kutanöz yara iyileşmesi üzerine etkisi. *Nat Prod Res 30,* 452-455

Altuntaş, E. & Mutlu, A. (2007). Antepfistığı (Pistacia vera L.) Kabuklu ve iç meyvesinin bazı fiziksel özelliklerinin belirlenmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi 24* (1), 19-25.

Anastas, P.T. & Zimmerman J.B. (2007). *Green nanotechnology. Why we need a green nano award and how to make it happen.* Washington DC: Woodrow Wilson International Center for Scholars.

Anonim (2008). *Food safety authority of ıreland, relevance for food safety of applications of nanotechnology.* In The Food and Feed Industry.

Arabatzis, ThI. (2001). Dendra ke thamnoi stin Ellada [Shrubs and Trees in Greece], vol 2. Oikologiki Kinisi Dramas-TEI Kavalas: Drama; 109 (in Greek).

Ardağ, A. (2008). *Antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması.* Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Aydın

Arı, E. & Yılmaz V. (2016). Tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanımına yönelik tutum ve davranışların önerilen bir yapısal model ile araştırılması. *Uluslararası Alanya İşletme Fakültesi Dergisi, 8* (1), 13-24.

Arnao, M.B. (2000). Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Scıence & Technology, 11,* 419-421.

Bar, H., Bhui D.Kr., G.P. Sahoo., Sarkar P., De, S.P. & Misra, A. (2009a). Green synthesis of silver nanoparticles usıng lateks of Jatropha curcas, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng.* Aspects 339, 134-139

Bardakçı, Ö. (2017). *Bazı sentetik antioksidanlarin 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (dpph) radikal süpürme kapasitesi yöntemi ile antioksidan aktivitelerinin araştırılması.* Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji

Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris J.C. & Turck, M. (1996). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J Clin Pathol. 45* (4):493-6.

Bayram, M. (2011). Comparison of unsplit inshell and shelled kernel of the pistachio nuts. *Journal of Food Engineering, 107,* 374-378.

Baytop, T. (1963). *Türkiye'nin tıbbi ve zehirli bitkileri.* İstanbul.

Baytop, T. (1998). *Anadolu dağlarında 50 yıl (1944-1998).* İstanbul.

Baytop, T. (1999). *Türkiye'de bitkiler ile tedavi geçmişte ve bugün.* İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.

Becker, E.M., Nissen L.S. & Skıbsted L.H. (2004). Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Techonology,* 10.107/s00217-004-1012-4.

Belitz, H.D. & Grosch, W. (1995). *Food chemistry.* Springer Verlag. Heidelberg, 992s.

Bellomo, M. G. & Fallico, B. (2007). Anthocyanins, chlorophylls and xanthophylls in pistachio nuts (Pistacia vera) of different geographic origin, *Journal of Food Composition and Analysis,* 20, 352-359.

Bercu, V., Negut, C.D. & Duliu, O.G. (2011). EPR studies of the free radical kinetics in γrays, irradiated Pleurotus ostreatus oyster mushrooms, *Food Res Int.,* 44, 139-145,

Beykaya, M. & Çağlar, A. (2016). Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma, *AKÜ FEMÜBİD* 116 035403 (631-641) DOI: 10.5578/fmbd.34220

Bilgen, A.M. (1973). *Antepfıstığı.* Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Yayını, Ankara, 123.

Bozdemir, Y. (2007). *Keten tohumu (Linum Usitatissimum)ekstraktında katalaz ve süperoksit düsmutaz enzim aktiviteleri,* Y. Lisans Tez, Kimya Anabilim Dalı, Adana.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of a free-radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology-Lebensmıttel-Wıssenschaft & Technologie, 28,* 25-30.

Carr, A.C., Zhu, B.Z. & Frei, B. (2000). Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). *Circulation Research 87,* 349-354.

Cemeroğlu, B. (2004). *Meyve ve sebze işleme teknolojisi.* 1. Cilt. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 35, Ankara, 77-88.

Chapman, M.S. (2012). Vitamin A: History, current uses, and controversies. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery, 31,* 11-16.

Cheeseman, K.H. & Slater, T.F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin, 49* (3), 481-93.

Chowdhury, I.H., Ghosh, S., Roy M. & Naskar, M.K. (2015). J. Sol-Gel Sci. *Technol., 73,* 199.

Coşkun, F. (2006). Gıdalarda bulunan doğal koruyucular. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi,* (2) 27-33.

Çağlar, A., Tomar, O., Vatansever, H. & Ekmekçi, E. (2017). Antepfıstığı (Pistacia vera L.) ve insan sağlığı üzerine etkileri. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Afyonkarahisar. *Akademik Gıda, 15* (4) 436-447, DOI: 10.24323/akademik-gida.370408.

Çakır, A. & Yıldırım, S. (2008). Dentin bağlayıcı sistemlerin antibakteriyel özelliklerinin değerlendirilmesi için kullanılan in vitro yöntemler. *SÜ Dişhek Fak Der, 17,* 141-145.

Çakmakçı, S. ve Çelik, I. (2000). Gıda katkı maddeleri. *Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Ders Notu,* s.249, Erzurum.

Çıracı, S., Özbay, E., Gülseren, O., Demir, H.V., Bayındır, M., Oral, A., Senger, T., Aydınlı, A. ve Dana, A. (2005). Türkiye'de nanoteknoloji. *TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi,* Ağustos sayısı.

Dadosh, T. (2009). Synthesis of uniform silver nanoparticles with a controllable size, *Materials Letters, 63***,** 2236-2238.

Dağcı, E.K. ve Dığrak, M. (2005). Bazı meyve ekstraktlarının antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri, *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 8*(2).

Dahl, J.A., Maddux, BLS. & Hutchison, J.E. (2007). Toward greener nanosynthesis. *Chem Rev, 107,* 2228-69.

Demirci, B., Demirci, F. & Baser, KHC. (2003). Composition of the essential oil of Cotinus coggygria Scop. from Turkey. *Flavour Fragr. J. 18,* 42-44.

Devaux X., Laurent Ch. & Rousset A. (1993). Chemical synthesis of metal nanoparticles dispersed in alumina, *Nanostruct. Mater. 2,* 339-346.

Dhillon, G.S., Brar, S.K., Kaur, S., & Verma, M. (2012). Green approach for nanoparticle biosynthesis by fungi: current trends and applications. *Crit Rev Biotechnol, 32,* 49-73.

Diplock, A. (1998). Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe Concise Monograph Series,* 59.

Diri, M. (2006). *Coridothymus capitatus (L). Reichb. uçucu yağının analizi, su ve etanol ekstraktlarının antioksidant aktivitelerinin belirlenmesi,* Yüksek Lisans Tezi, Muğla.

Drexler, K.E. (1986). *Engines of creation: the coming era of nanotechnology, doubleday,* New York.

Dubey, M., Bhadauria, S. & Kushwah, B. (2009). Green synthesis of nanosilver particles from extract of Eucalyptus hybrida (safeda) leaf. *Dig J Nanomater Biostruct; 4,* 537-43.

Dubey, S.P., Lahtinen, M. & Sillanpaa, M. (2010). Tansy fruit mediated greener synthesis of silver and gold nanoparticles, *Process Biochemistry, 45,* 1065-1071

Duran, N., Marcato, P.D., De Souza, GIH., Alves, O.L. & Esposito, E. (2007). Antibacterial effect of silver nanoparticles produced by fungal process on textile fabrics and their effluent treatment. *J Biomed Nanotechnol, 3,* 203-8.

Durmuş, A.S. & Ünsaldı E. (2005). *Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve kırık iyileşmesi Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları;* Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Elazığ.

Dwivedi, A.D. & Gopal, K. (2010). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using Chenopodium album leaf extract. *Colloids Surf A; 369*, 27-33.

Ekinci, A.P. (2008). *Erzincan Üzümünün (Vitis vinifera ssp. Cimin) farklı dokularına ait ekstraktların antioksidan özelliklerinin in vitro incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.

Engin, M.S. (2007). *Taflan (Laurocerasus officinalis Roem.) bitkisinin meyve çekirdek ve Yapraklarının mevsim değişikliğine göre göre antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve fenolik bileşik tayini,* Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpasa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.

Fang, Y.Z, Yang, S. & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition,18,* 872-879.

Feng, Q.L., Wu, J., Chen, G.Q., Cui, F.Z., Kim, T.N. & Kim, J.O. (2000). A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. *J Biomed Mater Res, 52,* 662-668.

Ferrari, R., Ceconi, C., Curello, S., Cargnoni, A., Condorelli, E. & Raddino, R. (1985). Role of oxygen inmyocardial ischemic and reperfusion damage: Effect of alpha-tocopherol. *Acta Vitaminol. Enzymol, 7,* 61-70.

Fınley, Jw., Gıven, Pjr. (1986). Techonological necessity of antioxidants in the food endustry. *Food and Chemical Toxicology, 24* (10/11), 999-1006.

Fırdaus, M.L., Fıtrıanı, I., Wyantuti, S., Hartatı Y., Khaydarov, R., Calıster, J.A.M., Obata, H. & Gamo T. (2017a). Colorimetric detection of mercury (II) ıon in aqueous solution using silver nanoparticles. *Analytical Sciences, 33.*

Firdaus, M., Andriana, S., Elvinawati, Alwi, W., Swistoro, E., Ruyani A. & Sundaryono A., (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using Carica Papaya fruit extract under sunlight irradiation and their colorimetric detection of mercury ions *J. Phys.: Conf. Ser.* 817 012029.

Frankel, E.N. & Meyer, A.S. (2000). The problems of using one dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 80,* 1925-1941.

Gardner, P.T., White, T.A.C., Mcphail, D.B. & Duthie, G.G. (2000). 'The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to antioxidant potential of fruit juices', *Food Chemistry, 68,* 471-474.

Garewal, H.S. (1997). Antioxidants and disease prevention. *CRC Press LLC,* 3-19.

Garrido, G., Gonzalez, D., Romay, C., Nunez-Selles, AJ. & Delgado, R. (2008). Scavenger effect of a mango (Mangifera indica L.) food supplement's active ingredient on free radicals produced by human polymorphonuclear cells and hypoxanthine-xanthine oxidase chemiluminescence systems, *Food Chem., 107,* 1008-1014.

Gentile, C., Tesoriere, L., Butera, D., Fazzari, M., Monastero, M., Allegra, M. & Livrea M.A. (2007). Antioxidant activity of sicilian pistachio (pistacia vera l. var. bronte) nut extract and ıts bioactive components. *J. Agric. Food Chem.,* 55 (3), pp 643-648 DOI: 10.1021/jf062533i

Gey, K.F., Puska, P., Jordan, P. & Moser U.K.(1991)Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *The American Journal Clinical Nutrition, 53,* 326-334.

Ghorbani, H.R., Safekordi, A.A., Attar, H. & Rezayat Sorkhabadi, S.M., 2011. Biological and non-biological methods for silver nanoparticles synthesis. *Chem. Biochem. Eng. Q. 25* (3), 317-326.

Goldstain, A. (1997). *Handbook of nanophase materials,* Marcel Dekker Inc, New York.

Goli, H., Barzegar M. & Sahari, M.A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (Pistachia vera) hull extracts, *Food Chemistry, 92* (3), 521-525.

Gökçe C.E., Akgül, Y., Kılıç, A. & Açma E. (2018). Antibakteriyel nanolif yapılarının çözeltiden üfleme sistemi ile üretimi ve karakterizasyonu. tmmob tekstil mühendisleri odası, *UCTEA Chamber of Textile Engineers, Journal of Textiles and Engineer, 25*, 110.

Gülen, S. (2013). *Asma ve yonca yapraklarının ın vıtro antioksidan özellikleri,* Yüksek Lisans Tezi, Edirne

Güleşci, N. ve Aygül İ. (2016). Beslenmede yer alan antioksidan ve fenolik madde içerikli çerezler, *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 5* (1).

Günay, Z. (2002). Antibiyotik duyarlılık testi yorumları, *Türk Toraks Dergisi, 3* (1), 75-88.

Gürmen, S. ve Burçak E. (2018). Nanopartiküller ve üretim yöntemleri - 1 makale i.t.ü., metalurji ve malzeme mühendisliği bölümü, *TMMOB Metalurji Mühendisleri Odası Dergisi,* https://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi150/d150 3138.pdf (26.01.2018)

Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutrition Reviews 52*(8), 253-265.

Halvorsen B.L., M.H. Carlsen, K.M. Phillips, S.K. Bøhn, K. Holte, D.R. Jacobs Jr. & Blomhoff R. (2006). Content of redox-active compounds (i.e., antioxidants) in food consumed in the United States. *Am. J. Clin. Nutr. 84,* 2006, 95e135.

Halvorsen, B.L., Holte K., Myhrstad Mcw., Barigmo I., Hvattum E., Remberg Sf. & vd., (2002). "A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *The Journal of Nutrition, 132* (3), 461-471

Hanks N.A., J.A. Caruso P.Z. (2015). *Journal of Environmental Management, 164*, 41-45. http://www.fsai.ie/publications/reports/ Nanotechnology_report.pdf.

Huang, D**.**, OU, B. & Prior, R. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53,* 1841-1856.

Huang, J.L., Li, Q.B., Sun, D.H., Lu, Y.H., Su, Y.B., Yang, X, et al. (2007). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried Cinnamomum camphora leaf. *Nanotechnology, 18.* http://dx.doi.org/10.1088/0957-4484/18/10/105104. [article105104].

Huang, K.C. (1999). *The pharmacology of chinese herbs*, 193194. CRC Press.

Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chem, 13,* 2638-50.

İmamoğlu, S. (2010). *Asphodelus aestivus Brot. (çiriş otu) bitkisinin çeşitli ekstraktlarının in vitro antioksidan aktivitelerinin araştırılması.* Yıldız Teknik Üniversitesi.

İşbilir, Ş.S. (2008). *Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi.* Doktora Tezi. 117s. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Jeong, S.H., Hwang, Y.H. & Yi, S.C. (2005). Antibacterial properties of padded pp/pe nonwovens incorporating nano-sized silver colloids, *Journal of Material Science, 40,* 5413-5418.

Jung, W.K., Koo, H.C., Kim, K.W., Shin, S., Kim, S.H. & Park Y.H. (2008). Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *Appl Environ Microbiol; 74,* 2171-8.

Katia A., Francesco C., Domenica M., Mariosimone Z., Francesca R., Nino M., Paola D., Luigi M. (2019). *Determination of the polyphenolic fraction of Pistacia vera L. kernel extracts by comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled to mass spectrometry detection.* https://doi.org/10.1007/s00216-019-01649-w

Kehrer, J.P. (1993). Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical Reviews in Toxicology, 23* (1), 21-48.

Kelen, M. & Tepe, B. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three Salvia species from Turkish flora. *Bioreource Techology, 99,* 4096-4104.

Keskin, A.S. (2011). *Nano boyutta gümüş sentezi ve tetra pirollerle etkileşimlerinin incelenmesi.* Yüksek Lisans Tezi**,** İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Keskin, H. & Erkmen G. (1987). *Besin kimyası,* Güryay Matbaacılık İstanbul, Beşinci basım:25-35.

Khot, L.R., Sankaran, S., Maja, J.M., Ehsani, R. & Schuster, E.W. (2012). Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: a review. *Crop Prot, 35,* 64-70.

Kılıc, İ.H., Sarıkürkcü, C., Karagöz, I.D., Üren, M.C., Kocak, M.S., Cilkiz M. ve Tepe, B. (2016). A significant by-product of the industrial processing of pistachios: shell skin-RP-HPLC analysis, and antioxidant and enzyme inhibitory activities of the methanol extracts of Pistacia vera L. shell skins cultivated in Gaziantep, Turkey. *RSC Adv. 6,*1203-9.

Kılınç, M. & Kutbay, H.G. (2004). *Bitki Ekolojisi.* Palme Yayıncılık Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Kim, J.S., Kuk, E., Nam Yu, N.K., Kim, J., Park, J.S., Lee, H.J., Kim, S.H., Park, Y. K., Park, Y.H., Hwang, C., Kim, Y.K., Lee, Y.S., Jeong, D.H., Cho, M.H. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* (3) 95-101.

Koca, N., Karadeniz, F**.** (2003) Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Müh. Dergisi,* s.37 http://www.gidamo.org.tr/yayinlar/ dergi_goster. php?kodu=16&dergi=1 (09.02.2018)

Koyuncu, İ., Yıldırım, İ. ve Duranoğlu, S. (2008). Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal özellikleri. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya Türkiye 10. Gıda Kongresi;* 21-23 Mayıs, Erzurum

Kumar M.A., Chisti Y. & Banerjee U.C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances 31,* 34. journal homepage: www.elsevier.com/locate/biotechadv

Kumar, S., (2011). Free *Radicals and antioxidants: Human and food system, Pelagia Research Library Advances in Applied Science Research,* 2 (1), 129-135

Kumar, V., Yadav, S.K. (2009). Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *J Chem Technol Biotechnol, 84,* 151-7.

Li, H., Li, F., Han, C., Cui, Z., Xie, G. & Zhang, A. (2010). *Sens. Actuators,* B145, 194.

Li, X., Xu, H., Chen, Z.S. & Chen, G. (2011). Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. *J Nanomater* [article 270974].

Liveri, V.T**. (**2006). *Controlled synthesis of nanoparticles in microheterogeneous systems, springer science+business media,* Inc., New York.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. & Chandra, N**.** (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews, 4*(8), 118-126.

Luangpipat, T., Beattie, I.R., Chisti, Y. & Haverkamp, R.G. (2011). Gold nanoparticles produced in a microalga. *J Nanopart Res; 13,* 6439-45.

Lykkesfeldt, J. & Svendsen, O. (2007). Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *The Veterinary Journal, 173,* 502-511.

Mandal, S., Yadav, S. & Nema, R.K. (2009). Antioxidants: A review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 1*(1), 102-104.

Marimuthu, S., Rahuman, A.A., Rajakumar, G., Santhoshkumar, T., Kirthi, A.V., Jayaseelan, C., Bagavan, A., Zahir, A.A., Elango, G. & Kamaraj, C. (2011). *Evaluation of Green Synthesized Silver Nanoparticles Against Parasites. Parasitology Research, 108* (6), 1541-1549.

Martorana, M., Arcoraci, T., Rizza, L., Cristani, M., Bonina, F.P., Saija, A., Trombetta, D. & Tomaino, A. (2013). In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effect of pistachio (Pistacia vera L., variety Bronte) seed and skin extracts, *Fitoterapia, 85,* 41-48.

Mata, A.T., Proença, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F. & Araujo M.E.M., (2007). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices., *Food Chemistry, 103,* 778-786.

Miller, G. & Senjen, R. (2008). *Out of the laboratory and on to our plates-nanotechnology ın food and agriculture.* Friends Of The Earth Australia, Europe & USA.p.68.

Mukherjee P, Roy M, Mandal BP, Dey GK, Mukherjee PK, Ghatak J, Tyagi AK, Kale SP (2008) Green synthesis of highly stabilized nanocrystalline silver particles by a non-pathogenic and agriculturally important fungus T. asperellum. *Nanotech, 19,* 075103

Mukunthan, K., Balaji, S. (2012). Cashew apple juice (Anacardium occidentale L.) speeds up the synthesis of silver nanoparticles. *Int J Green Nanotechnol, 4,* 71-9.

Narayanan, K.B., Sakthivel, N. (2010). Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes, *Advances in Colloid and Interface Science 156,* 1-13

Nouailhat, A. (2008). *Introduction to nanotechnology.* Wiley, New York.

Novaković M., Vučković, I., Janaćković, P., Soković, M., Filipović, A., Tešević, V. & Milosavljević, S. (2007). Chemical composition, antibacterial and antifungal activity of the essential oils of Cotinus coggygria from Serbia, Journal of the Serbian Chemical Society,72 (11) 1045-1051.

Oğuz, A. (2008). *Bazı Çerez Gıdaların Antioksidan Kapasiteleri.* Yüksek Lisans Tezi Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Tokat

Onat, T., Emerk, K. ve Sözmen, E.Y. (2002). *İnsan biyokimyası.* Palme Yayıncılık, İstanbul, 674

Orhan, I., Kupeli, E., Aslan, M., Kartal, M. & Yesilada, E. (2006). Bioassay-guided evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of pistachio, (Pistacia vera L.). Journal of Ethnopharmacology 105 (1-2): 235-240.

Oyaızu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japan Journal of Nutrition,* 44, 307-315.

Öztürk, H. (2009). Jurinea consanguinea'nın antioksidan ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Edirne.

Panáček, A., Smékalová, M., Kilianová, M., Prucek, R., Bogdanová, K., Večeřová, R., Kolář, M., Havrdová, M., Płaza G.A., Chojniak, J., Zbořil, R. & Kvítek, L. (2016). Strong and Nonspecific Synergistic Antibacterial Efficiency of Antibiotics Combined with Silver Nanoparticles at Very Low Concentrations Showing No Cytotoxic Effect. *Molecules, 21*(1), 26; https://doi.org/10.3390/molecules21010026.

Perez Espitia, P.J., Ferreira Soares, N.F., dos Reis Coimbra, J.S., de Andrade, N.J., Cruz, R.S. & Alves Medeiros, E.A. (2012). Zinc oxide nanoparticles: synthesis, antimicrobial activity and food packaging applications. *Food Bioprocess Technol, 5,* 1447-64.

Perez-Jimenez, J., Arranz, S., Tabernero, M., Diaz-Rubio, M.E., Serrano, J., Goni, I., Saura- Prior, R.L. & Cao, G.H. (2000). Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: A review. *Journal of AOAC International,* 83(4), 950-956.

Petit, C., Jain, T.K., Bılloudet, F. & Pileni, M.P. (1994). Oil-in Water Micellar Solution Used to Synthesize CdS Particles Langmuir, 10, p. 4446-4450.

Philip, D. (2010). Gren synthesis of gold and silver nanoparticles using Hibiscus rosa sinensis, *Physica E 42* 1417-1424

Prasanna, B.M. (2007). Nanotechnology In Agriculture. ICAR National Fellow, Division Of Genetics, I.A.R.I., New Delhi-110012. Publishing Associates. 893898.

Prior, R.L., Wu, X. & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53,* 4290-4302.

Rai, M., Yadav, A. & Gade, A. (2009). Silver Nanoparticles as a New Generation of Antimicrobials, *Biotechnology Advances, 27:* 76-83.

Rajakumar, G. & Abdul Rahuman, A. (2011). Larvicidal activity of synthesized silver nanoparticles using Eclipta prostrata leaf extract against filariasis and malaria vectors. *Acta Trop, 118:* 196-203.

Rajesh, S., Raja, D.P., Rathi, J.M. & Sahayaraj, K. (2012). Biosynthesis of silver nanoparticles using Ulva fasciata (Delile) ethyl acetate extract and its activity against Xanthomonas campestris pv. Malvacearum. *J Biopest, 5,* 119-28.

Ramsden, J.J. (2005). What Is Nanotechnology? Department Of Advanced Materials, Cranfield University, Bedfordshire, UK. *Nanotechnology Perceptions 1.* 3-17.

Raveendran, P., Fu, J. & Wallen, S.L. (2003). Completely "Green" Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles, *J. Am. Chem. Soc., 125* (46), pp 13940-13941

Reetz, M.T. & Helbıg, W. (1994). Size-selective synthesis of nanostructured transition-metal clusters, *J. Am. Chem. Soc.,* (116), 7401-7402.

Rendeková, K., Fialová, S., Jánošová L., Mučaji, P. & Slobodníková, L. (2016). The activity of cotinus coggygria scop. leaves on staphylococcus aureus strains in planktonic and biofilm growth forms. *Molecules, 21* (1), 50; https://doi.org/10.3390/molecules21010050.

Sahoo, S., Parveen, S. & Panda, J. (2007). The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomed Nanotechnol Biol Med; 3,* 20-31.

Samanta, S., Pyne, S., Sarkar, P., Sahoo, G.P., Bar, H., Bhui, D.K. & Misra, A. (2010). Synthesis of silver nanostructures of varying morphologies through seed mediated growth approach, *Journal of Molecular Liquids, 153,* 170-173.

Sangeeta, T., Katyal, S.C. & Singh, M. (2009). Structural and magnetic properties of nano nickel zinc ferrite synthesized by reverse micelle technique, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 321,* 1-7.

Sathishkumar, M., Sneha, K., Won, S., Cho, C.W., Kim, S. & Yun, Y.S. (2009b). Cinnamon zeylanicum bark extract and powder mediated green synthesis of nano-crystalline silver particles and its bactericidal activity. *Colloids Surf B Biointerfaces, 73,* 332-8.

Savıkın K., Zdunıc G., Jankovıc T., Stanojkovıc T., Juranic Z., Menkovıc N., (2009). In vitro cytotoxic and antioxidative activity of Cornus mas and Cotinus coggygria. *Nat. Prod. Res. 23,* (18), 1731.

Sayar, A., Guvensen, A., Özdemir, F., Öztürk, M. (1995). Muğla ilindeki bazı türlerin etnobotanik özellikleri. *Ot Sistematik Botanik Dergisi, 2,* 151-160.

Seferoğlu, S., Seferoğlu, H.G., Tekintaş, F.E. ve Balta, F. (2006). Biochemical composition influenced by different locations in Uzun pistachio cv. (Pistacia vera L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis, 19,* 461-465.

Seil, J.T. & Webster, T.J. (2012). Antimicrobial applications of nanotechnology: methods and literature. *Int J Nanomed; 7,* 2767-81.

Sergio G.G., Ameneiro M.P., Moldes A.B. & et.al (2017). Biogenic Synthesis of Metal Nanoparticles Using a Biosurfactant Extracted from Corn and Their Antimicrobial Properties. *Published in Nanomaterials,* DOI:10.3390/nano 7060139

Seven, A. & Candan G. (1996). Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi, 27*(1), 41-50.

Sevim, A.M. (2010). *Tetrapirol Türevlerinin Kil Minerallerine Adsorpsiyonu,* İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Shagun, S. & Bhattacharya, S. (2016). Sharma Manjul Shoolini University, Post Box No.9, Head Post Office, Solan (HP) 173212, India.,

Shahidi, F. & Naczk, M. (1995). *Food Phenolics.* Technomic Publishing Company Book, 199-225. Lanchester, USA.

Shameli, K., Ahmad, M.B., Zamanian, A., Sangpour, P., Shabanzadeh, P. Abdollahi, Y. & Zarga, M. (2012). Int J Nanomedicine, 7, 5603-5610.

Shankar, S.S, Rai, A., Ahmad, A. & Sastry, M. (2004). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (Azadirachta indica) leaf broth. *J Colloid Interface Sci;* 275:496-502.

Shibata, N. (2009). The Cell Wall Galactomannan Antigen From Malassezia Furfur And Malassezia Detection Has Diagnostic Potential. *Microbiology (Reading). 155,* 3420-3429.

Sıngleton, V.l. & Rossı Ja., (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture, 16,* 144-158

Singaravelu, G., Arockiamary, J., Kumar, V.G. & Govindaraju, K.A. (2007). Novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, Sargassum wightii Greville. *Colloids Surf B Biointerfaces; 57,* 97-101.

Singh, A., Jain, D., Upadhyay, M., Khandelwal, N. & Verma, H. (2010). Green synthesis of silver nanoparticles using Argemone mexicana leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Dig J Nanomater Biostruct; 5,* 483-9.

Singh, J., Upadhyay, A.K., Bahadur, A., Singh, B., Singh, K.P., ve Rai, M., (2006). Antioxidant phytochemicals in cabbage. *Scientia Horticulturae, 108,* 233-237.

Sohi, K.K., Mittal, N., Hundal, M.K. & Khanduja. K.L. (2003). Gallic acid, an antioxidant, exhibits anti apoptotic potential in normal human lymphocytes: A Bcl-2 independent mechanism. *J Nutr Sci Vitaminol, 49,* 221-227

Stahl, W. & Sıes H. (1999). Carotenoids: Occurance, biochemical activities, and bioavability. Chapter 13, p.183-202 In: *Antioxidant Food Supplements in Human Health,* Ed: Packer L., Hiramatsu M., Yoshikawa T., Elsevier Inc.

Stahl, W. & Sies H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine, 24,* 345-351

Stanic, S., Matic, S., Desanka, B., Slavica, S., Nevena, G., Melita, V. & Mirjana, M. (2009 a). *Genotoxic potential of Cotinus coggygria Scop.* (Anacardiaceae) stem extract in vivo.

Stanic, S., Matic, S., Solujic, S. & Milosevic, T. (2009b). Genotoxicity testing of the methanol extract of the plant Cotinus coggygria and gallic acid on Drosophila melanogaster. *Arch Biol Sci, 61,* 261-266.

Subbiah, R., Veerapandian, M., Yun, K.S. (1990). Nanoparticles: functionalization and multifunctional applications in biomedical sciences. Curr Med Chem 2010; 17:4559-77.

Suslıck, K.S. (1990). *Sonochemistry Science,* (247), 1439-1445

Swarnali, M., Gadadhar, B. & Jayasree, K.L. (2015). Detection of heavy metals ($Cu^{+2}$, $Hg^{+2}$) by biosynthesized silver nanoparticles Published online: 23 May 2015 Department of Chemistry, Midnapore College, Midnapore 721101, West Bengal, India.

Şermet, M.Ö. (2015). Antioxidant, Antimicrobial Activity and Phytochemıcal Analysıs of Pistacia Vera L. Skin. *The Degree of Master of Science in Biochemistry.* Middle East Technical University.

Tawaha, K., Alalı Q., Gharaıbeh M., Mohammad M. & El-elımat T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic of selected Jordanian plant species, *Food Chemistry, 104,* 1372-1378

Tayar, M., Haşıl Korkmaz, N., Özkeleş, H.E. (2011). *Beslenme İlkeleri.* Dora Yayınları, 1. Baskı, Bursa.

Tello, S., Halifeoğlu, İ., Bozkurt, M., & Bulmuş, Ö. (2008). Meme Kanseri Oluşturulmuş Ratlarda Isırgan Otunun Total Antioksidan Durumu Üzerine Etkisi. *Fırat Ünv, Sağlık Bil. Dergisi, 22* (4): 179-183

Thanh, N.T.K. (2010). Green LAW. Functionalisation of nanoparticles for biomedical applications. *Nano Today, 5,* 213-30.

Thomas, V., Yallapu, M.M. & Sreedhar, B. (2007). A versatile strategy to fabricate hydrogel-silver nanocomposites and ınvestigation of their antimicrobial activity, *Journal of Colloid and Interface Science, 315,* 389-395.

Tok A.I.Y., Boey F.Y.C., Dong Z., Sun X.L., (2007), Hydrothermal Synthesis of $CeO_2$ Nanoparticles, *Journal of Materials Processing Technology, 190,* 217-222.

Tomaino, A., Martorana, M., Arcoraci, T., Monteleone, D., Giovinazzo, C. ve Saija, A. (2010). Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (Pistacia vera L., variety Bronte) *seeds and skins, Biochimie, 92,* 1115-1122.

Tsantili, E., Takidelli, C., Christopoulosa, M.V., Lambrineab, E., Rouskasc, D. & Roussosa, P.A. (2010). Physical, compositional and sensory differences in nuts among pistachio (Pistachia vera L.) varieties, *Scientia Horticulturae, 125,* 562-568.

Turturro A.& Vettorazı G., (1986). Risk assessment associated with the use of phenolic antioxidants in foods. *Food and Chemical Toxicology, 24* (10/11), 1243-1253.

Tütem, E. & Apak, R. (1991). Simultaneous spectrophotometric determination of cystine and cysteine in amino acid mixtures using cupper(ii)-neocuproine reagent. *Analytica Chimica Acta, 255,* 121-125.

Tzakou, O., Bazos, I. & Yannitsaros, A. (2005). Essential oils of leaves, inflorescences and infructescences of spontaneous Cotinus coggygria Scop. from Greece. *Flavour And Fragrance Journal Flavour Fragr, 20,* 531-533.

Ünal, E. (2006). *Türkiye florasında doğal olarak yetişen bazı bitki türlerinin antimikrobial ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi,* Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.

Vahabi, K. & Dorcheh, S.K. (2014). Biosynthesis of Silver NanoParticles by Trichoderma and Its Medical Applications, Elsevier, Amsterdam

Veerasamya, R.; Xin, T.Z.; Gunasagaran, S.; Xiang, T.F.W.; Yang, E.F.C.; Jeyakumar, N.; Dhanaraj, S.A. J. *Saudi Chem. Soc. 15* (2), 113-120.

Venkatpurwar V., Pokharkar V. (2011). Green synthesis of silver nanoparticles using marine polysaccharide: Study of in-vitro antibacterial activity, *Material Letters, 65,* 999-1002

Vivek, M., Kumar, P.S., Steffi, S. & Sudha, S. (2011). Biogenic silver nanoparticles by Gelidiella acerosa extract and their antifungal effects. *Avicenna J Med Biotechnol, 3,* 143-8.

Westenburg HE, Lee K-J, Lee SK et al. (2000). Activity-guided isolation of antioxidative constituents of Cotinus coggygria. *J. Nat. Prod.; 63,* 1696-1698.

Wolfgang, L. Bottom-up Methods for Making Nanotechnology Products. <http://www.azonano.com/ details.asp?ArticleID=1079>. Erişim 22 Ekim 2007.

Wu, X., Beecher G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E. & Prior, R.L. (2004). Lipophilic And Hydrophilic Antioxidant Capacities Of Common FoodsIİn The United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52:* 4026-4037.

Y.C. Liu, L.H. Lin, (2004). New pathway for the synthesis of ultrafine silver nanoparticles from bulk silver substrates in aqueous solutions by sonoelectrochemical methods, *Electrochem. Commun. 6,* 1163-1168.

Yavaşer, R. (2011). *Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması,* Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, Aydın.

Yavuz, G. (2011). *Sert Kabuklu Meyveler/ Antep Fıstığı, Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü TEPGE Bakış,* Nüsha, 5, Issn, 13038346, Aralık.

Yıldız, N. (2011). *Gümüş Nanopartiküllerinin Liken Özü İle Biyosentezi.* Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi - Proje Numarası:10ö4343004 http://acikarsiv.ankara.edu.tr/browse/6375/

Youns, M. & Hoheisel, J.D. (2011). Efferth T. Therapeutic and diagnostic applications of nanoparticles. *Curr Drug Targets, 12,* 357-65.

Zaki, A. (2007). *Processing and synthesis techniques for the preparation of nanomaterials*. <http://www. azonano.com/details.asp?ArticleID= 1710>. Erişim 22 Ekim 2007.

Zoral, F.B. ve Turgay, Ö. (2014). Çeşitli Gıda Atıklarının Toplam Fenolik Madde İçeriğinin, Antioksidan ve Antimikrobiyel Aktivitelerinin Araştırılması. KSÜ, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, *Kahramanmaraş-KSÜ Doğa Bil. Derg., 17* (2),

URL-1 https://mustafaaltinisik.org.uk/kaynaklarim.asp (20.01.2018)

URL-2 http://dudspace.adu.edu.tr:8080/jspui/bitstream/11607/957/2/kim_rukiye_ yavaser _tez.pdf (14.10.2017)

URL-3 https://www.medikalakademi.com.tr/kategori/guncel/ (30.10.2017

URL-4 https://www.mygardenlife.com/plant-library/1666/cotinus/coggygria (12.11.2017)

URL-5 https://www.revolvy.com/page/Smoke-tree (12.11.2017)

URL-6 http://www.genesis-plantmarketing.co.uk/portfolio/cotinus-coggygria-scop-1/ (12.11.2017)

URL-7 http://www.agaclar.net/forum/calilar/711.htm (20.05.2019)

URL-8 https://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Cotinus+coggygria (18.11.2017

URL-9 https://www.1organik.com/antep-fistigi-hakkinda-bilgi.html (28.08.2018)

URL10 https://www.tarimvizyon.com/?s=ANTEP+FISTI%C4%9EI+A%C4%9EACI (25.08.2018)

URL-11 https://www.fidanistanbul.com/?shop=arama&q=ANTEP+FISTI%D0I (25.08.2018)

URL-12 https://www.bilgiustam.com/antep-fistigi/ (25.08.2018)

URL-13 https://www.fistik.gen.tr/yas-antep-fistigi.html (25.08.2018)

URL-14 https://www.fistik.gen.tr/taze-antep-fistigi.html (25.08.2018)

URL-15 https://www.kuark.org/2011/05/nanoteknolojinin-tarihi/ -(25.01.2018)

URL-16 http://www.kuark.org/2011/05/nanoteknolojinin-tarihi (25.01.2018)

URL-17 https://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi150/d150_3138.pdf (26.01.2018)

# Tezden Üretilmiş Yayınlar

**İletişim Bilgisi:** ftm.ciftci@outlook.com

**Konferans Bildirileri**

**1.** Çiftçi F., Üstün Özgür M. & Aydın M. (2019). Cotinus Coggygria Scop. Bitki Yaprakları Kullanılarak Gümüş Nano Partiküllerin Yeşil Sentezi ve Antibakteriyel Aktivitelerinin Tayini. 4. Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Kongresi 14-17 Şubat Yalova /Türkiye (UBAK 2019)

**2.** Çiftçi F., Üstün Özgür M. & Aydın M. (2019). Pistacia Vera L. Bitkisi Dış Kabuğu Su Ekstraktı Kullanılarak Gümüş Nano Partiküllerin Yeşil Sentezi ve Antibakteriyel Aktivitelerinin Tayini. 4. Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Kongresi 14-17 Şubat Yalova /Türkiye (UBAK 2019)