T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AMASYA ELMASI EKSTRATI KULLANILARAK GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZİ: OPTİMİZASYONU, KARAKTERİZASYONU VE ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ

Gökçe UÇAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Kimya Mühendisliği Programı

Danışman
Doç. Dr. Elçin YILMAZ

Mart, 2023

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AMASYA ELMASI EKSTRATI KULLANILARAK GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZİ: OPTİMİZASYONU, KARAKTERİZASYONU VE ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ

Gökçe UÇAK tarafından hazırlanan tez çalışması 01.03.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı Kimya Mühendisliği Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Elçin YILMAZ
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Elçin YILMAZ, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Belma ÖZBEK, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üye. Elif ÖZTÜRK ER, Üye
İstanbul Teknik Üniversitesi _____

Danışmanım Doç. Dr. Elçin YILMAZ sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Amasya Elması Ekstratı Kullanılarak Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi: Optimizasyonu, Karakterizasyonu ve Antibakteriyel Aktivitesinin 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.

Gökçe UÇAK

İmza

Anneme ve babama

TEŞEKKÜR

Yönlendirmeleriyle ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, her zaman çözüm bulma amacıyla benden yardımlarını esirgemeyen, tez çalışmamın başından sonuna kadar desteğini ve ilgisini her daim benimle paylaşan, tezimin gelişmesine katkıda bulunan çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Elçin YILMAZ'a,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında deneylerin ilerlemesi için değerli bilgileriyle katkıda bulunan Arş. Gör. Pelin YILMAZ'a,

Bugünlere gelmemi sağlayan ve desteğiyle her daim arkamda olan, tüm kararlarımda bana güvenen, emeklerini asla ödeyemeyeceğim canım anneme,

Aramızda olmasa da beni gördüğünü ve benimle gurur duyduğunu bildiğim, yüksek lisansı kazandığımda ne kadar sevindiği hala aklımda olan her zaman kalbimde hissettiğim, bana hep güvenen canım babama,

Yanımda oldukları ve destekleri için çok şanslı ve mutlu olduğum, her zaman bana inandıkları için şükrettiğim çok sevgili canım aileme,

Tez aşaması boyunca her zaman manevi olarak yanımda hissettiğim tüm dostlarıma,

sonsuz teşekkür ederim.

Gökçe UÇAK

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ viii

KISALTMA LİSTESİ x

ŞEKİL LİSTESİ xi

TABLO LİSTESİ xiii

ÖZET xiv

ABSTRACT xvi

1 GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti 1

1.2 Tezin Amacı 2

1.3 Hipotez 2

2 GENEL BİLGİLER 3

2.1 Amasya Elması 3

2.1.1 Yapıda Bulunan Bileşikler 5

2.2 Nanoteknoloji 6

2.3 Nanopartiküller 8

2.3.1 Karbon Bazlı Nanopartiküller 8

2.3.2 Polimerik Nanopartiküller 9

2.3.3 Seramik Nanopartiküller 10

2.3.4 Metalik Nanopartiküller 10

2.4 Gümüş Elementi ve Gümüş Nanopartikül 11

2.5 Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri 12

2.5.1 Yukarıdan Aşağıya Sentez Yöntemi 12

2.5.2 Aşağıdan Yukarıya Sentez Yöntemi 14

2.6 Yeşil Sentez Yöntemi 15

2.7 Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu 18

2.8 Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Aktivitesi 20

3 DENEYSEL TASARIM **23**
3.1 Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) 23
3.2 Box-Behnken Tasarımı 25

4 LİTERATÜR ARAŞTIRMASI **26**

5 MATERYAL VE YÖNTEM **32**
5.1 Materyal 32
5.2 Bitki Ekstratlarının Hazırlanması 33
5.3 Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi 33
5.4 Yeşil Sentezle AgNP Üretim Koşullarının Optimizasyonu 34
5.4.1 Deney Planı ve Optimizasyon Parametrelerinin Belirlenmesi . . 34
5.4.2 Üretim Koşullarının Optimizasyonu 34
5.4.3 Optimize Edilen Üretim Koşullarında AgNP Üretimi 35
5.5 Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu 36
5.5.1 UV-vis Spektrofotometre Analizi 36
5.5.2 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve EDAX Analizi 36
5.5.3 Fourier Dönüştürücü Infrared Spektroskopisi (FT-IR) Analizi . . 36
5.5.4 Zeta Potansiyeli Analizi 36
5.5.5 X Işınları Kırınımı (XRD) Analizi 37
5.6 AgNP'lerin Antibakteriyel Aktivitesi 37
5.6.1 Disk Difüzyon Yöntemi 37

6 ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA **39**
6.1 Amasya Elması Kullanılarak Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi . . 39
6.1.1 Renk Değişiminin İncelenmesi 39
6.1.2 AgNP Sentezine Etki Eden Parametrelerin İncelenmesi 42
6.2 Yanıt Yüzey Yöntemi ile Optimum Şartların Belirlenmesi 44
6.2.1 ANOVA Analizi 44
6.2.2 Modelin Doğrulanması 50
6.2.3 Optimum Noktanın Belirlenmesi 50
6.3 Karakterizasyon Analizleri 51
6.3.1 UV-vis Spektrofotometre Analizi 51
6.3.2 SEM ve EDAX Analizi 57
6.3.3 FT-IR Analizi 60
6.3.4 Zeta Potansiyeli Analizi 63
6.3.5 XRD Analizi 63
6.4 Antibakteriyel Aktivite Analizi 65
6.4.1 Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçları 65

7 SONUÇ VE ÖNERİLER **67**

KAYNAKÇA **70**

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR **81**

SİMGE LİSTESİ

α	Alpha
Å	Angstrom
N	Azot
β	Beta
dk	Dakika
C_2H_5OH	Etanol
g	Gram
Ag	Gümüş
$AgNO_3$	Gümüş Nitrat
H	Hidrojen
C	Karbon
keV	Kilo-elektronvolt
λ	Lambda
max	Maximum
λ_{max}	Maximum Lambda
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
mV	Milivolt

nm	Nanometre
No	Numara
O	Oksijen
rpm	Revolutions per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)
°C	Santigrat Derece
cm^{-1}	Santimetre üzeri -1
NaCl	Sodyum Klorür
θ	Theta
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

AgNP	Gümüş Nanopartikül
ANOVA	Analysis of Variance (Varyans Analizi)
BBD	Box-Behnken Deney Tasarımı
CFU	Colony Forming Units
EDAX	Energy-Dispersive X-ray (Enerji Dağıtıcı X-Işını)
FCC	Face Centered Cubic (Yüzey Merkezli Kübik)
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Fourier Dönüştürücü Infrared Spektroskopisi)
PDI	Polydispersity Index (Polidisperdiste İndeksi)
RSM	Response Surface Methodology (Yanıt Yüzey Yöntemi)
SEM	Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu)
SPR	Surface Plasmon Resonance (Yüzey Plazmon Rezonans)
UV-vis	Ultra Viyole- visible
XRD	X-ray Diffraction (X Işınımı Kırınımı)

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Amasya Elmasının genel görünümü 4
Şekil 2.2 Amasya Elmasının yıldızlı iç kısmı 4
Şekil 2.3 Elmada bulunan bazı fitokimyasallar [11] 5
Şekil 2.4 Nanoteknoloji uygulama alanları 7
Şekil 2.5 Nanopartiküllerin diğer yapılarla ölçekli karşılaştırılması[26] 8
Şekil 2.6 C_{60} yapısının Karbon nanotüp tipleri ve Fullerene gösterimi; (a) Armchair tipi, (b) Zikzak tipi, (c) Kiral tipi, (d) Fullerene yapısı [27, 28] 9
Şekil 2.7 Polimerik nanopartikülün nanokapsül ve nanoküre yapısı [29] 9
Şekil 2.8 Seramik nanopartikülün yapısı [32] 10
Şekil 2.9 Nanopartiküllerin farklı sentez yöntemleri [40] 13
Şekil 2.10 Top-Down ve Bottom Up yaklaşımları [44] 14
Şekil 2.11 Nanopartiküllerin yeşil sentezinde kullanılan farklı kaynaklar [49] . 16
Şekil 2.12 Bitkiden yeşil sentezle AgNP sentezinin şematik gösterimi [53] . . . 17
Şekil 2.13 Gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel etki mekanizması [68] . . . 22
Şekil 3.1 (a) Box-Behnken için merkez noktaları ve kenar orta noktalarını gösteren küp tasarımı, (b) birbirine bağlı üçlü 2^2 faktöriyel tasarım . 25
Şekil 5.1 Yeşil sentezle üretilen AgNP'lerin sentez aşamaları 34
Şekil 5.2 Sheep Blood Agar (SBA) besiyerindeki *Streptococcus pyogenes* kolonileri 38
Şekil 5.3 Sheep Blood Agar (SBA) besiyerindeki *Escherichia coli* kolonileri . . 38
Şekil 6.1 $AgNO_3$ çözeltisi, Amasya Elması ekstratı ve sentezlenen AgNP 40
Şekil 6.2 $AgNO_3$ çözeltisi, Amasya Elması taze kabuk ekstratı ve sentezlenen AgNP 40
Şekil 6.3 $AgNO_3$ çözeltisi, Amasya Elması kuru kabuk ekstratı ve sentezlenen AgNP 41
Şekil 6.4 $AgNO_3$ çözeltisi, Amasya Elması suyu ekstratı ve sentezlenen AgNP . 41
Şekil 6.5 $AgNO_3$ çözeltisi, Amasya Elması posası ekstratı ve sentezlenen AgNP 41
Şekil 6.6 Farklı ekstrat değerleri ile AgNP sentezi 42
Şekil 6.7 Farklı $AgNO_3$ konsantrasyon değerleri ile AgNP sentezi 43
Şekil 6.8 Farklı sıcaklık değerleri ile AgNP sentezi 43

Şekil 6.9 $AgNO_3$ konsantrasyon değeri ve ekstrat miktarının max. absorbans üzerine etkisinin 3D yanıt yüzey grafiği 48
Şekil 6.10 Sıcaklık ve ekstrat miktarının max. absorbans üzerine etkisinin 3D yanıt yüzey grafiği 48
Şekil 6.11 Sıcaklık ve $AgNO_3$ konsantrasyon değerinin max. absorbans üzerine etkisinin 3D yanıt yüzey grafiği 49
Şekil 6.12 Tahmini ve gerçek değer arasındaki model denklemi 50
Şekil 6.13 Amasya Elmasının farklı bölümlerinden sentezlenen AgNP UV-vis analizleri 52
Şekil 6.14 Farklı ekstrat değerleriyle sentezlenen AgNP UV-vis analizleri 54
Şekil 6.15 Farklı $AgNO_3$ değerleriyle sentezlenen AgNP UV-vis analizleri 54
Şekil 6.16 Farklı sıcaklık değerleriyle sentezlenen AgNP UV-vis analizleri 55
Şekil 6.17 Optimizasyon çalışmaları amacıyla Box-Behnken deney tasarımı kullanılarak sentezlenen AgNP UV-vis analizleri 56
Şekil 6.18 Box-Behnken deney tasarımı sonucu belirlenen optimum nokta AgNP değerinin UV-vis analizi 57
Şekil 6.19 Optimum nokta AgNP'e ait SEM görüntüleri; (a) ve (b) 50.00 büyütme 1μm ölçek 58
Şekil 6.20 Optimum nokta AgNP'e ait SEM görüntüleri; (a) ve (b) 100.00 büyütme 100 nm ölçek 59
Şekil 6.21 Optimum nokta AgNP EDAX analizi 60
Şekil 6.22 Elma ekstratı FT-IR analizi 61
Şekil 6.23 Optimum nokta AgNP FT-IR analizi 62
Şekil 6.24 Optimum nokta AgNP Zeta Potansiyeli analizi 63
Şekil 6.25 Optimum nokta AgNP XRD analizi 64
Şekil 6.26 Amasya Elmasından sentezlenen optimum AgNP'nin *S.pyogenes*'e karşı antibakteriyel aktivitesi 66
Şekil 6.27 Amasya Elmasından sentezlenen optimum AgNP'nin *E.Coli*'ye karşı antibakteriyel aktivitesi 66

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Elementel Gümüşün özellikleri 11
Tablo 2.2 Çeşitli bitki ekstratları kullanılarak Gümüş nanopartiküllerin sentezi [52] 17
Tablo 4.1 Farklı kaynaklar kullanılarak sentezlenen Gümüş nanopartiküller ile ilgili literatürde bulunan yeşil sentez çalışmaları 30
Tablo 4.2 Farklı kaynaklar kullanılarak sentezlenen Gümüş nanopartiküller ile ilgili literatürde bulunan yeşil sentez çalışmaları (devamı) 31
Tablo 5.1 Kullanılan cihaz ve ekipmanlar 32
Tablo 5.2 Sarf malzeme ve kimyasallar 32
Tablo 5.3 Bağımsız değişkenler ve faktör seviyeleri 35
Tablo 5.4 Box- Behnken deney tasarım dizaynı 35
Tablo 6.1 Box- Behnken deney tasarımı ile bağımsız değişkenler ve yanıt sonuçları 44
Tablo 6.2 Max. absorbans yanıtının indirgenmiş Quadratic modeli için ANOVA analizi 45
Tablo 6.3 Max. absorbans yanıtının Quadratic modeli için ANOVA analizi uyum istatistikleri 46
Tablo 6.4 Deneysel sonuçlar için uyum özeti 47
Tablo 6.5 Optimizasyon çalışmasında BBD modeline göre elde edilen optimum çözüm noktaları 51
Tablo 6.6 Optimum nokta belirlemede deney doğrulama sonuçları 51
Tablo 6.7 Yeşil sentezlenen Optimum AgNP'nin mikroorganizmalara karşı inhibisyon zonlarının ölçümleri 65

ÖZET

Amasya Elması Ekstratı Kullanılarak Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi: Optimizasyonu, Karakterizasyonu ve Antibakteriyel Aktivitesinin İncelenmesi

Gökçe UÇAK

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Elçin YILMAZ

Günümüzde yeşil sentez teknolojisi daha da önem kazanmakta olan nanopartikül sentez yöntemlerinden biridir. Bu yöntemin doğa dostu, ekonomik ve toksik atıklar içermemesi kullanım alanını gün geçtikçe arttırmaktadır. Bu tez çalışmasında, Türkiye'ye özgü bir tür olan Amasya Elmasından yeşil sentez ile gümüş nanopartikül (AgNP) sentezinin gerçekleştirilmesi amaçlanmış ve bu bitkisel kaynağın indirgeyici ajan olarak iyi bir kaynak olup olmadığı incelenmiştir. Sentez şartlarını iyileştirmek amacıyla yanıt yüzey yöntemiyle optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca optimum parametrelerde sentezlenen AgNP'lerin UV-vis, SEM, EDAX, FTIR, XRD ve Zeta Potansiyel analizleri ile antibakteriyel aktivite tayinleri de gerçekleştirilmiştir.

Optimizasyon çalışmaları ekstrat miktarı (ml), $AgNO_3$ konsantrasyonu (mM) ve sıcaklık (°C) parametreleri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve yanıt olarak UV-vis spektrumundaki maximum absorbans değeri seçilmiştir. Yapılan 17 farklı deney sonucunda optimum AgNP sentez şartları 15 ml ekstrat miktarı, 3 mM $AgNO_3$ konsantrasyonu ve 80°C sıcaklık olarak belirlenmiştir. Parametrelerden sıcaklığın AgNP sentezinde önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür.

UV-vis analizinde AgNP'nin 436 nm'de maximum absorbans verdiği ve polidispers yapıda olduğu belirlenmiştir. SEM ve XRD analizlerinde AgNP'lerin küresel ve kristalit bir yapıda oldukları anlaşılmıştır. EDAX analizinde gümüş elementine ait karakteristik bir özellik olan 3 keV piki görülmüş ve yapıda Ag elementinin olduğu

ve AgNP sentezinin gerçekleştiği kanıtlanmıştır. Partikül boyutlarının ise yaklaşık 50-105 nm arasında değiştiği görülmüştür. FTIR analizi sonucunda Ag^{+} iyonlarının ekstratın Amid I fonksiyonel grubundan bağlanarak AgNP sentezinin gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Zeta Potansiyeli -43.2 mV olarak bulunmuş ve yüksek kararlı bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir.

Antibakteriyel aktivite tayini için ise Disk Difüzyon Yöntemi ile çalışmalar yapılmış ve sentezlenen AgNP'lerin en yüksek aktiviteyi *S.pyogenes*'e karşı 16 mm lik bir inhibisyon zonuyla gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Nanopartikül, yeşil sentez, gümüş nanopartikül, nanoteknoloji, optimizasyon

ABSTRACT

Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Amasya Apple Extract: Optimization, Characterization and Investigation of Antibacterial Activity

Gökçe UÇAK

Department of Chemical Engineering
Master of Science Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Elçin YILMAZ

Nowadays, green synthesis technology is one of the nanoparticle synthesis methods that is gaining more importance. The use of this method is increasing day by day because it is environmentally friendly, economical and does not contain toxic wastes. In this thesis, it was aimed to carry out the synthesis of silver nanoparticle (AgNP) by green synthesis from Amasya Apple which is a unique species to Turkey, and it was investigated whether this herbal source is a good source as a reducing agent. Optimization studies were carried out with the response surface method in order to improve the synthesis conditions. In addition, UV-vis, SEM, EDAX, FTIR, XRD and Zeta Potential analyzes and antibacterial activity determinations of AgNPs synthesized at optimum parameters were also performed.

Optimization studies were carried out using the parameters of the amount of extract (ml), $AgNO_3$ concentration (mM) and temperature (°C) and in response the maximum absorbance value in the UV-vis spectrum was chosen. As a result of 17 different experiments, optimum AgNP synthesis conditions were determined as 15 ml extract amount, 3 mM $AgNO_3$ concentration and 80°C temperature. It has been seen that temperature has a significant effect on AgNP synthesis.

In UV-vis analysis, it was determined that AgNP gave maximum absorbance at 436 nm and was in polydisperse structure. SEM and XRD analyzes revealed that AgNPs have a spherical and crystalline structure. In the EDAX analysis, a 3 keV peak, which is a characteristic feature of the silver element, was observed and it was proven that

the Ag element was present in the structure and AgNP synthesis took place. It was observed that the particle sizes ranged from about 50-105 nm. As a result of FTIR analysis, it was observed that AgNP synthesis occurred by binding Ag^{+} ions from the Amide I functional group of the extract. The Zeta Potential was found to be -43.2 mV and it was determined to have a highly stable structure.

For the determination of antibacterial activity, studies were carried out by Disk Diffusion Method and it was determined that the synthesized AgNPs showed the highest activity against *S.pyogenes* with a 16 mm inhibition zone.

Keywords: Nanoparticle, green synthesis, silver nanoparticle, nanotechnology, optimization

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Nanoteknoloji, son yıllarda etkinliği giderek artan bir teknoloji çeşididir. Kullanım alanlarının artmasıyla birlikte günlük hayatta da artık karşımıza sıkça çıkmaktadır. Bu teknoloji, nanometre aralığında (1-100 nm) boyutlara sahip parçacıkların ve moleküler yapıların geliştirilmesini içermektedir. Biyoteknoloji ile birleştirildiğinde nanoteknoloji, tarım, teşhis cihazları, yeni ilaçlar, tıbbi görüntüleme, biyolojik sensörler ve diğerleri dahil olmak üzere çok çeşitli pratik uygulamalarda çok sayıda potansiyel uygulamaya sahip güçlü ve yeni bir araştırma alanı haline gelmektedir [1].

Gümüş nanopartiküller, nanoteknoloji dünyasında önemli bir konumda bulunmaktadır. Özellikle antibakteriyel özellikleri sayesinde bir çok alanda kullanılmakla birlikte sentezlenme çeşitleri açısından çok sayıda araştırmanın konusu olmaktadır. Gümüş elementinin tuzlarından elde edilen bu nanopartiküller elementel haline göre birçok farklılık göstermektedir. Gümüş, AgNP'lere dönüşürken yüzey alanı büyük ölçüde artmakta, dolayısıyla mikrobiyal maruz kalma süresi de arttığından nanopartikül formu daha iyi bir etki sağlamaktadır [2].

AgNP'leri sentezlemek için kimyasal yöntem hızlı olmasına rağmen, maliyetlidir ve toksik etkiler üreten yakalama ajanlarını kullanır. Bu, AgNP'lerin sentezi için güvenli, çevre dostu, etkili bir yöntemin geliştirilmesini ve toksik olmayan, bitki kökenli malzemeler kullanılarak önceki yaklaşımların dezavantajlarını ortadan kaldıran yeşil sentez gibi biyolojik yöntemlere odaklanılmasını gerektirmektedir. Ayrıca, bitki ekstraktlarının kullanımı, mikroorganizmalar tarafından nanoparçacık sentezine göre mikroorganizma izolasyonunun maliyetini de azaltmaktadır [3].

Günümüzde yeşil sentez teknolojisi, toksik olmayan ve çevre dostu özelliklerinden dolayı birincil önem kazanan AgNP'leri sentezlemek için kolayca bulunabilen, kullanımı kolay ve geniş metabolit kaynağı olan mikroorganizmaları, mantarları ve bitkileri kullanmaktadır [4].

Yapılan bu tez çalışmasında Amasya Elması ekstratı ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin çeşitli karakterizasyon ve antibakteriyel aktiviteler ile etkinliği incelenmiştir. Amasya Elmasının yeşil sentezde etkili bir bitkisel kaynak olup olmadığına bakılmıştır. Ayrıca sentezlenen gümüş nanopartiküllerin en uygun deney şartlarını bulabilmek amacıyla optimizasyon çalışmaları da yapılarak ve sonuçlar incelenmiştir.

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasının amacı;

1. İndirgeyici ajan ve bitkisel kaynak olarak Amasya Elması kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle gümüş nanopartiküllerin sentezlenmesi
2. Amasya Elmasının bölümlerinin ekstrat olarak hazırlanması
3. Gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi
4. En iyi AgNP sentezleyen Amasya Elması ekstratının seçilmesi
5. Sentez koşullarının yanıt yüzey yöntemi kullanılarak Box-Behnken deney tasarımı ile optimizasyonu
6. Optimum sentez koşullarında AgNP sentezi
7. Sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyon analizlerinin yapılması
8. Sentezlenen AgNP'lerin antibakteriyel aktivite tayinlerinin yapılmasıdır.

1.3 Hipotez

Yapılan bu araştırma ile Amasya Elmasından yeşil sentez yöntemiyle AgNp üretimine ait standart bir protokol oluşturulabilir. Türkiye'ye özgü bir tür olan Amasya Elmasının farklı bölümlerinin fitokimyasal özelliklerinden faydalanılarak indirgeyici ajan olarak kullanılması mümkündür. Her bir bölüm farklı kalitede AgNP sentezlenme özelliği gösterebilir. Yapılacak olan optimizasyon çalışmalarıyla en verimli sentez koşulları belirlenmesi beklenmektedir. Karakterizasyon analizleri optimum AgNP'nin oluşumu ve yapı özelliklerinin incelenmesinde yardımcı olabilir. Ayrıca sentezlenen AgNP'ler bazı mikroorganizmalara karşı antibakteriyel özellik göstermesi mümkün olabilir.

2
GENEL BİLGİLER

2.1 Amasya Elması

Amasya Elması, Türkiye'ye özgü Amasya ilimizde yetişen bir yüzü kırmızı bir yüzü sarı veya yeşilimsi renkte, ince kabuklu, hoş kokulu endemik bir elma türüdür. Şekil 2.1'de Amasya Elmasının genel görünümü verilmiştir. Sert ve dayanıklı bir yapısı bulunmaktadır. Ağaç, genç yaşlarda dik olgun yaşlarında yayvan şekilde gelişir. Damarlı yaprak yapısına sahiptir. Malus cinsi içerisinde *M. sylvestris subsp. orientalis var. microphylla Browicz* türü olarak taksonomide yer almaktadır. Halk arasında bir diğer ismi olan misket elması olarak da bilinmektedir [5]. Diğer elmalardan ayırt edici özelliği iç kısmında yıldız işareti bulunabilmektedir (Şekil 2.2). Hasat zamanı iklim şartlarına göre 25 Eylül-15 Ekim arasındadır. Amasya ilimize özgü olmakla birlikte Orta Karadeniz Bölgesi'nde yetişiriciliği bulunmaktadır.

Amasya Elmasının taksonomik sistemdeki yeri aşağıdaki gibidir [6];

- **Alem:** Plantae
- **Bölüm:** Tracheophyta
- **Sınıf:** Magnoliopsida
- **Takım:** Rosales
- **Familya:** Rosaceae
- **Alt Familya:** Pomoidea
- **Cins:** Malus
- **Tür:** *M. sylvestris subsp. orientalis var. microphylla Browicz* (misket elması)



Şekil 2.1 Amasya Elmasının genel görünümü

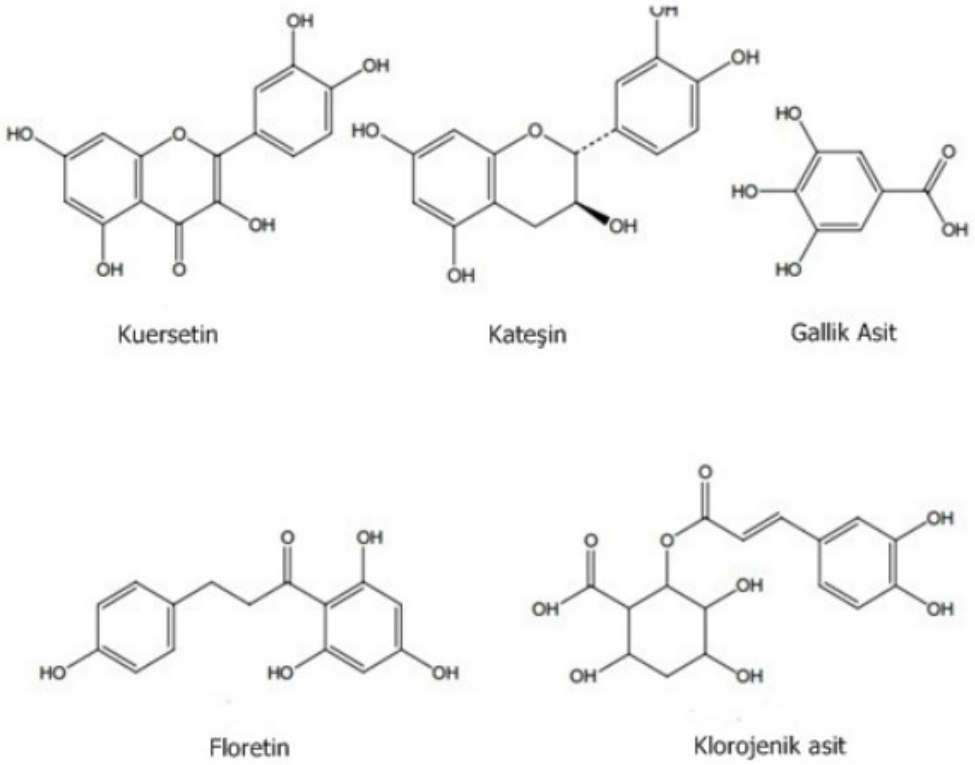


Şekil 2.2 Amasya Elmasının yıldızlı iç kısmı

2.1.1 Yapıda Bulunan Bileşikler

Fitokimyasallar, birincil veya ikincil metabolizma yoluyla bitkiler tarafından üretilen kimyasal bileşiklerdir [7]. Araştırılan fitokimyasallar, karotenoidler ve fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler veya lignanları içeren polifenoller olmak üzere 2 ana kategorilerde sınıflandırılır. Flavonoidler, benzer kimyasal yapılarına göre antosiyaninler, flavonlar, flavanonlar, izoflavonlar ve flavanoller olarak gruplara bölünür. Flavanoller ayrıca kateşinler, epikateşinler ve proantosiyanidinler olarak sınıflandırılır [8]. Fenolik bileşikler olarak da anılan polifenoller değerli gıda bileşikleri olarak bilinen fitokimyasallardan olan sekonder metabolitlerdir.

Elmanın yapısında araştırmalar sonucunda 60'tan fazla fenolik bileşen bulunduğu kaydedilmiştir. Bunlar fenolik asitler (en fazla görülen klorojenik asit), dihidrokalkon türevleri (özellikle floridzin glikozitler), flavanoller (monomerler olarak kateşinler, oligomerler olarak prosiyanidinler), flavonoller (kuersetin ve kuersetin glikozitleri) ve antosiyaninler (siyanidin) olarak beş ayrı grup olarak bulunmaktadır (Şekil 2.3). Bunların dışında elma yapısında protokateşik asit, kafeik asit gibi polifenolleri de yüksek miktarlarda bulundurmaktadır [9, 10].



Şekil 2.3 Elmada bulunan bazı fitokimyasallar [11]

Yapılan araştırmalar sonucunda elma kabuğunda iç kısmına göre 2-6 kat oranında (türlere göre değişen oranda) daha fazla fitokimyasal bulunduğu belirlenmiştir [9].

Kateşin, prosiyanidin, floridzin ve epikateşin elma kabuğunda iç kısmına göre daha fazla bulunur. Ayrıca klorojenik asit ve özellikle kuersetin kabukta daha fazla görülmüştür [11]. Richad Volz ve Tony McGhie (2011)'nin yaptığı çalışmada elma kabuğundaki fenolik bileşiklerin (floridzin, klorojenik asit ve kuersetin) elmanın iç kısımlarına oranla kat kat (100 ila 250 kat) daha fazla olduğu kaydedilmiştir [12]. Bu sayede elma kabuğu iç kısmından daha fazla biyoaktiviteye ve antioksidasyon bileşiğe sahiptir. Bu yüzden elmanın kabuğuyla birlike tüketilmesi sağlık açısından da birçok fayda sağlamaktadır.

Elma yüksek miktarda bulundurduğu bu fenolik bileşikler sayesinde güçlü bir antioksidan kaynağıdır. Bu sayede vücutta oluşan oksidadif stresi önleyerek kronik hastalıklara, bağışıklık sistemi hasarına, astıma ve diyabete ve kansere karşı koruyucu etki göstermektedir [11, 13].

2.2 Nanoteknoloji

Nano kelimesi Yunanca'da "cüce veya çok kısa adam" anlamına gelen "nannos" kelimesinden gelmektedir. Kelimenin bu kökeninden dolayı nanoteknoloji küçük şeylerle ilgilenen teknoloji anlamını taşımaktadır [14, 15]. Nanoteknolojinin birçok farklı tanımı yapılmaktadır. Amerika Bİrleşik Devletleri'ndeki Ulusal Nanoteknoloji Girişimi'ne (NNI) göre tanımı aşağıdaki gibidir [16];

"Nanoteknoloji, benzersiz fenomenlerin kimya, fizik ve biyolojiden tıp, mühendislik ve elektroniğe kadar çok çeşitli alanlarda yeni uygulamalara olanak sağlanan nano ölçekte (1 ila 100 nm) yürütülen bir bilim, mühendislik ve teknolojidir."

Nanoteknolojinin tarihsel gelişimine bakıldığında eski antik çağlardan bu yana nanoyapıların kullanımı önemli olmuştur. Modern nanoteknolojinin temelleri ilk defa nobel ödüllü bilim insanı Richard Feynman tarafından 1959 yılında Amerikan Fizik Topluluğu'nda yaptığı "There is a planty of room at the bottom" (Aşağıda daha çok boş yer var) adlı konuşmasıyla atılmıştır. Feynman, "Neden Britannica Ansiklopedisi'nin 24 cildinin tamamını bir toplu iğnenin başına yazamıyoruz?" hipotezini ortaya atarak atomik düzeyde maddelerin manipüle edilebileceğini açıklamıştır. Feynman'ın bu konuşmasından sonra hipotezi kanıtlanmış ve modern nanoteknolojinin babası olarak anılmıştır [17, 18].

Nanoteknolojinin terim olarak ilk defa literatüre girmesi 1974'te Japon bilim insanı Norio Taniguchi tarafından gerçekleşmiştir. Taniguchi nanoteknolojiyi, "nanoteknoloji temel olarak malzemelerin bir atom veya bir molekül tarafından ayrılması, sağlamlaştırılması ve deformasyonunun işlenmesinden oluşur" şeklinde

tanımlamıştır [19]. Bu önemli olaylar ve bilim insanları nanoteknolojinin tarihinde büyük rol oynamış ve bu teknolojinin günümüze kadar gelişerek gelmesine katkı sağlamıştır.

Nanoteknoloji birçok özelliğinden dolayı farklı alanlarda çeşitli kullanım alanları bulunmaktadır (Şekil 2.4). Özellikle tıp alanında hedef hücre çalışmaları, tanı koyma, ilaç taşıyıcı sistemler, gen transferi gibi klinik araştırmalarda gün be gün kullanımı gelişmekte ve bu teknolojinin hastalıkların tedavisinde önemi artmaktadır [20]. Biyolojik sensörlerin de kullanımı nanoteknolojiyle ilgilidir. Tansiyon ve diyabet gibi hastalıklarda kan basıncı, kandaki glukoz miktarı, kandaki oksijen miktarı, kalp atışı gibi fizyolojik parametrelerin sürekli ölçülmesi gerekmektedir. Bu ölçümlerin çeşitli nanosensörlerle yapılabileceği bir gelecek bizi beklemektedir [21].

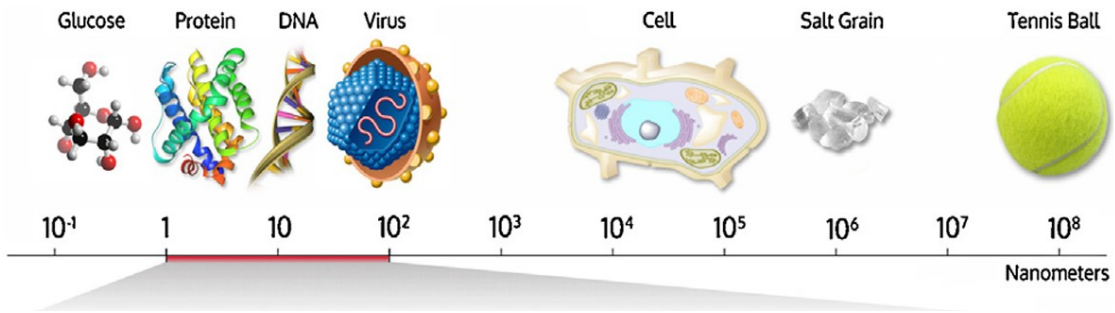
Tekstil alanında giyilebilir teknoloji (akıllı saatler, vücudun spor yaparken verilerini kaydeden kıyafetler, su geçirmez kumaşlar gibi) nanoteknoloji ile ilerleme halindedir [22]. Enerji alanında nanoteknoloji çeşitli yakıt hücreleri ve pillerin üretilmesinde, karbon nanotüplerin bataryalarda kullanılmasında önemli bir yere sahiptir. Gıda sektöründe bozulmayan yiyeceklerde, uzun süre taze tutan antibakteriyel ve antimikrobiyal, dış etkenlere karşı dayanıklı ambalajlamalarda sıklıkla nanoteknoloji kullanılmaktadır. Otomotivde yine yeni nesil araçların tasarımında nanomateryal parçalar (araba lastiklerinde dolgu, ekran ve aynalar için yansıtıcı özellikler gibi) kullanılarak bu teknolojiden faydalanılmaktadır. [23].



Şekil 2.4 Nanoteknoloji uygulama alanları

2.3 Nanopartiküller

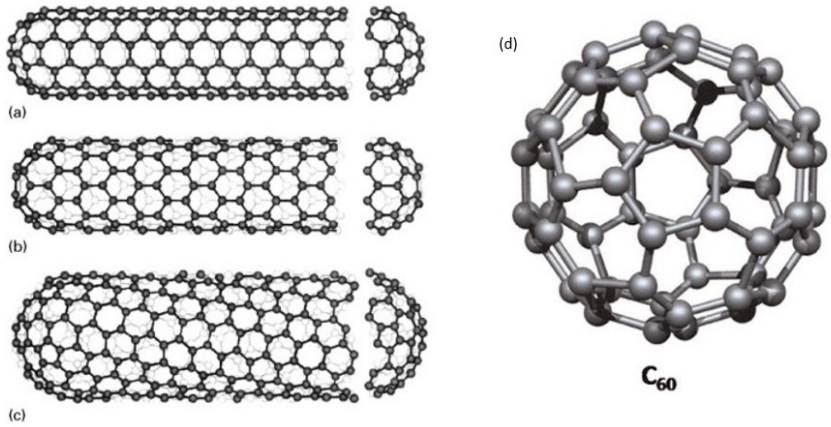
Nanopartiküller, üç boyuttan en az birinde 1-100 nm aralığında boyuta sahip partiküller olarak tanımlanır [24]. American Society for Testing and Materials (ASTM)'ın genel tanımına göre ise nanopartiküller; "partikül boyutları iki ya da üç boyutlu olarak 1-100 nm uzunluktaki parçacıklar" olarak tanımlanmaktadır [25]. Nanopartiküller, boyutları çok küçük olduğundan dolayı yeni nesil nanoteknoloji ürünü malzemeler olarak da anılırlar (Şekil 2.5). Kullanıldıkları malzemelerin hacimsel yapılarına kıyasla dikkate değer üstün özellikler göstermektedirler. Boyutlarının küçük olmasından kaynaklı oldukça geniş yüzey alanı/hacim oranına sahip olmaları, elektrik, optik, manyetik ve mekanik özelliklerinin olması ve kimyasal olarak oldukça aktif malzemeler olmaları nanopartiküllerin üstün özelliklerinden birkaçıdır. Optik özellikleri sayesinde görünür bölgede boyutuna göre farklı renkler vermektedir. Nanopartiküller genel olarak farklı fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre karbon bazlı, polimerik, seramik ve metalik v.b. olmak üzere sınıflara ayrılmaktadır.



Şekil 2.5 Nanopartiküllerin diğer yapılarla ölçekli karşılaştırılması[26]

2.3.1 Karbon Bazlı Nanopartiküller

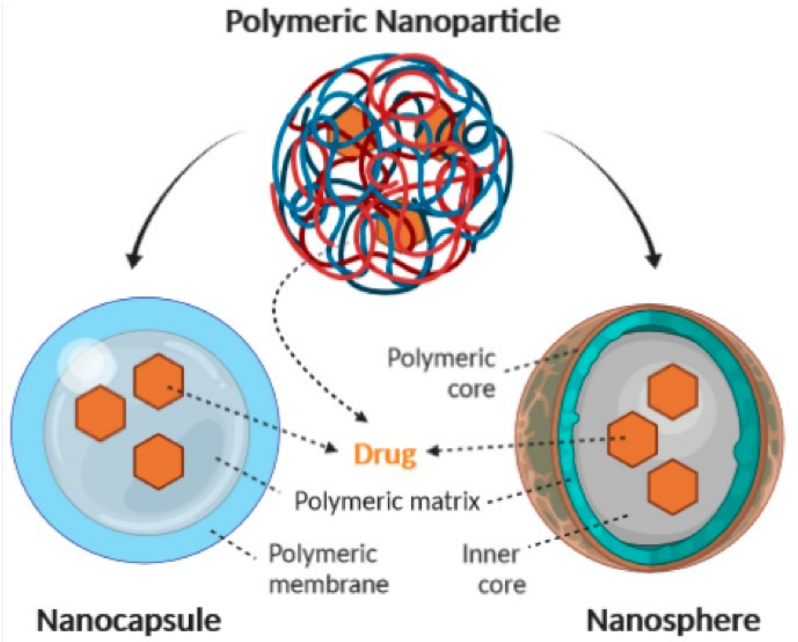
Karbon nanoteknoloji çağı, 1960'larda mimar Buckminster Fuller'ın adını taşıyan C_{60} Buckminsterfullerene'nin keşfiyle doğmuştur. Fullerene ve karbon nanotüpler (CNTs) başlıca karbon bazlı nanopartiküllerdir. Fullerene, yapısında karbon atomlarının bulunduğu içi boş kafes şeklinde kürelerdir. Optik , elektronik, kozmetik ve biyomedikal alanlarında sıklıkla kullanılmaktadır [27]. Karbon nanotüpler ise grafen levhalara sahip silindirik yapıda bulunan karbon alltroplarıdır. Bu nanotüpler bir C_{60} molekülünün yarıya kesilmesi ve iki yarının arasına bir grafen silindir yerleştirilmesiyle oluşturulan karbon nanotüp yapısı olarak düşünülebilir (Şekil 2.6). Dayanklı, hafif ve elastik özelliği sayesinde elektronik, optik gibi alanlarda ve polimer ve seramik kompozit yapılarda kullanılmaktadır [28].



Şekil 2.6 C_{60} yapısının Karbon nanotüp tipleri ve Fullerene gösterimi; (a) Armchair tipi, (b) Zikzak tipi, (c) Kiral tipi, (d) Fullerene yapısı [27, 28]

2.3.2 Polimerik Nanopartiküller

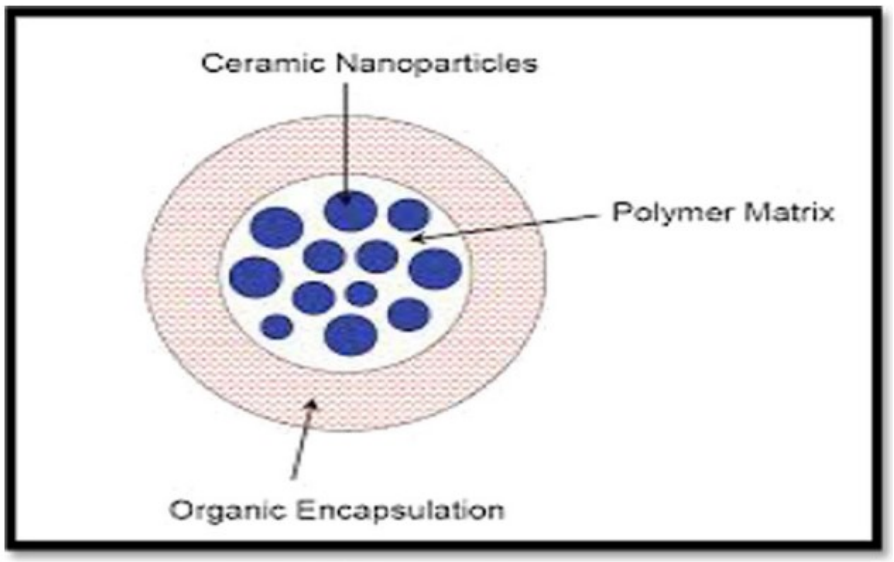
Nanokapsül veya nanoküre formunda bulunan polimerik nanopartiküller organik bazlı nanopartiküller olarak bilinmektedir (Şekil 2.7). Bu nanopartiküller biyoçözünebilir ve biyouyumlu olduklarından özellikle ilaç salınımı kontrolünde, ilacı koruma yetenekleri ve biyoaktiviteleri sayesinde tıp alanında oldukça kullanılmaktadır [29]. Ayrıca polimerik kapsüller çok katmanlı olmaları sebebiyle genetik bilgi taşınması teknolojisinde de (CRISPR) kullanılmaktadır [30].



Şekil 2.7 Polimerik nanopartikülün nanokapsül ve nanoküre yapısı [29]

2.3.3 Seramik Nanopartiküller

Seramik nanopartiküller, genellikle boyutları 50 nm'den küçük iç içe geçmiş nanoyapılardır (Şekil 2.8). Seramikten yapılmış inorganik bazlı, ısıya dayanıklı, bir nanoparçacıktır. Bu nanopartiküller genel olarak metallerin oksitleri, karbürleri, fosfatları ve karbonatlarından ve kalsiyum, titanyum, silikon vb. gibi metaloidlerden oluşmaktadır [31]. Enerji temini ve taşınımı, kataliz, fotokataliz, enfeksiyonlar, Glokom tedavisi, kemoterapi ve çoğu zaman tıp biliminde kemiği baskılamak için kullanılmaktadır [32].



Şekil 2.8 Seramik nanopartikülün yapısı [32]

2.3.4 Metalik Nanopartiküller

Metalik nanopartiküller çeşitli saf metallerden oluşan (altın, gümüş, platin, çinko, selenyum, demir, bakır, çinko v.b.) inorganik bazlı nanopartiküllerdir. Nano boyutta kuantum kuralları geçerli olduğundan maddenin normal boyutta gösterdiği özellikler nano boyutta değişiklik göstermektedir. Bu yüzden gümüş nanopartikülün erime noktası kendisini oluşturan gümüşe göre düşüktür ya da normalde sarı renkte görülen altın nano boyutta kırmızı renk vermektedir [33]. Yüksek yüzey/hacim oranı sayesinde düşük erime noktaları, manyetik ve optik özellikleri kullanım alanlarını arttırmaktadır. Metalik nanopartiküllerin lokalize yüzey plazmon rezonans (LSPR) karakteristik özelliği sayesinde ise bu nanopartiküller eşşiz optoelelektriksel özellikler göstermektedir. Özellikle metalik nanopartikül baz alınan sensörlerin tasarımında bu benzersiz LSPR özelliği çok önemli bir yere sahiptir. Bu nanopartiküllerin SPR dalga boyu, çevresel özellikler (sıcaklık, basınç ve kırılma indisi gibi), şekil, ortalama bağlı mesafe ve soy metal nanoparçacıkların bağlanması gibi çeşitli faktörlere bağlıdır [34].

Metalik nanopartiküllerin biyoteknolojideki uygulama alanları şu şekildedir [35];

- **Altın** DNA etiketleme, biyosensör, kanser tedavisi, antimikrobiyal
- **Gümüş:** Antikanserojen, antimikrobiyal, antibakteriyel, antiviral, biyosensör
- **Demir:** Antikanserojen, kanser tedavisi, moleküler görüntüleme
- **Platin:** Antikanserojen, Kozmetik
- **Selenyum:** Antimikrobiyal, Antikanserojen
- **Çinko:** Kozmetik, Kaplama
- **Paladyum:** Biyokataliz
- **Bakır:** Antimikrobiyal

2.4 Gümüş Elementi ve Gümüş Nanopartikül

Elementel gümüş katı formda beyaz, parlak görünümde olan bir soy metaldir. Tablo 2.1'de gümüş elementinin temel özellikleri verilmiştir. Birinci derecede elektrik ve ısı iletkenidir ve ayrıca optik özelliğinden dolayı ışığı çok iyi yansıtmaktadır. Dövülebilen esnek bir yapısı bulunmaktadır. Oksitlenmeye karşı direnç gösterir. Ayrıca gümüş antibakteriyel özelliğinden dolayı bakterilerin bağışıklı kazanmasına izin vermez. Gümüş, amonyağı ve doğallığı bozulmuş (denatüre) proteinleri nötralize ederek antibakteriyel etki gösterir. Böylece bakterilerin kolonileşmesini önler [36].

Tablo 2.1 Elementel Gümüşün özellikleri

Özellik	**Değer**
Simgesi	Ag
Atom Numarası	47
Atom Kütlesi	107.87 g
Yoğunluğu	10.5 g/cm^3
Erime Noktası	961.9°C
Kaynama Noktası	1950°C
Kristal Yapısı	Yüzey Merkezli Kübik
Yükseltgenme Seviyesi	+1

Gümüşün koloidal formunda kullanılması da gündemde yerini korumuaktadır. Koloidal gümüş vücuttaki faydalı enzimlere bir zarar vermeden sadece tek hücreli mikroorganizmaların enzimlerini yok etmektedir. İnsan vücudunda koloidal yapı daha kolay emildiği ve sadece mikroorganizmanın enzimlerini yok ettiği için vücutta

minumun toksisiteye yol açmaktadır. Amerikan Besin ve İlaç İdaresi (FDA) ise koloidal gümüşü 1938 öncesi bir ilaç olarak tanımlamıştır [37].

Nanoboyutta maddenin özellikleri değişkenlik gösterdiğinden gümüş nanopartiküllerde gümüş elementinden farklı manyetiksel, mekanik, elektiriksel ve optiksel özellikler göstermektedir. AgNP'lerin bu özelliklerinden dolayı ve ek olarak antibakteriyel ve antiviral özellikleri sayesinde tıp alanı başta olmak üzere çok çeşitli alanlarda kullanımı günden güne artmaktadır. Giderek çeşitli bakterilerin antibiyotiklere karşı bağışıklık kazanması ve mutasyona uğrayarak daha dirençli hale gelmeleri AgNP'ler üzerinde yapılan çalışmaları arttırmaktadır.

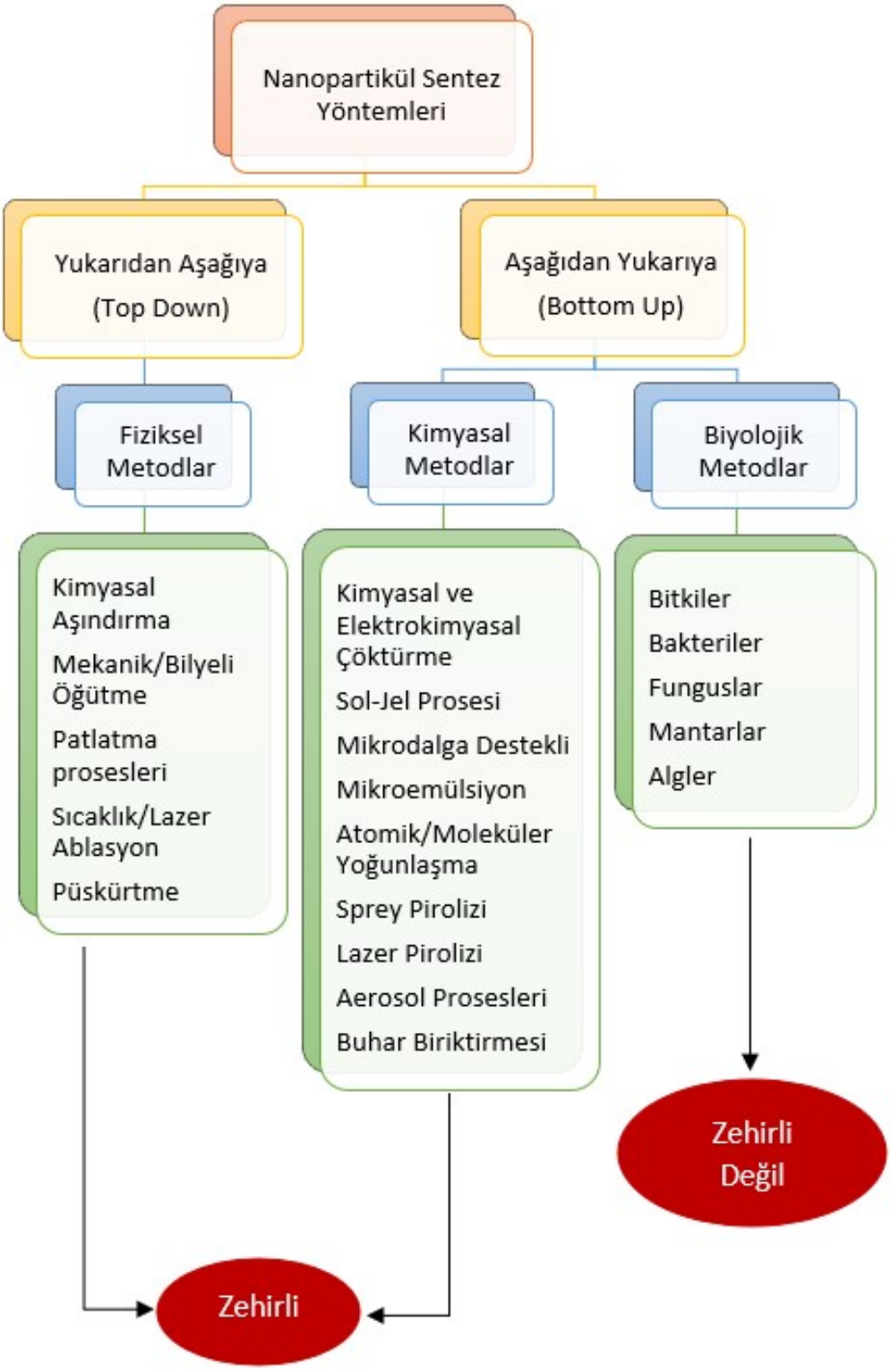
AgNP'ler gümüşün suda çözünebilir tuzlarından sentezlenmektedir. Bu np'ler, dağılım kapasitesi, gelişmiş yüzey alanı, kimyasal ve fonksiyonel kararlılık, yüksek elektriksel çift katmanlı kapasitans ile mükemmel elektriksel iletkenlik, katalitik aktivite, SPR ile ilişkili optik davranış vb. gibi benzersiz özelliklere sahiptir [38].

2.5 Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri

Nanopartiküllerin sentez yöntemleri Yukarıdan Aşağı (Top Down) ve Aşağıdan Yukarıya (Bottom Up) olmak üzere iki ana başlığa ayrılmaktadır. Yukarıdan Aşağı sentez çeşidinde ilgili madde mekanik ve/veya kimyasal işlemler sonucunda enerji verilmesi ile nanoboyutuna indirgenir. Aşağıdan yukarı sentezinde ise atomik veya moleküler büyüklükteki yapılar kimyasal reaksiyonlar yardımıyla büyütülerek partikül sentezinin gerçekleştirilmesiyle nanoboyuta çıkarılır [39]. Bu yöntemlerin alt başlıkları olan fiziksel ve kimyasal yöntemlerdeki sentez metodları toksik iken biyolojik sentez yöntemleri toksik değildir (Şekil 2.9).

2.5.1 Yukarıdan Aşağıya Sentez Yöntemi

Bu sentezde maddenin yığın halinden nanoboyuta indirgenmesi fiziksel yöntemlerle yapılmaktadır. Şekil 2.10'da sentezin aşamaları belirtilmektedir. Sentezin gerçekleşmesi için mekanik/bilyeli öğütme, kırma ve öğütmede mekanik enerji, elektrik ark deşarj yöntemi ve lazer ablasyonda elektrik enerjisi ve buhar yoğuşma yönteminde termal enerji gibi fiziksel kuvvetler kullanılmaktadır. Böylece herhangi bir kimyasal katkı maddesi olmadan saf nanoparçacıklar elde edilmektedir. Fiziksel yaklaşımla sentezlenen NP'ler, düzgün parçacık boyutu dağılımı ve yüksek saflık sergileyebilmektedir. Ancak dezavantajı, insana ve çevreye zararlı kimyasal reaktifler içermemesine rağmen, stabilizatör veya kapatma ajanlarının yokluğundan dolayı aglomerasyonun önlenmesinin çok zor olmasıdır. Ayrıca bu yaklaşım, maliyet, karmaşık ekipman ve harici enerji gerektirmektedir ve toksiktir [41].



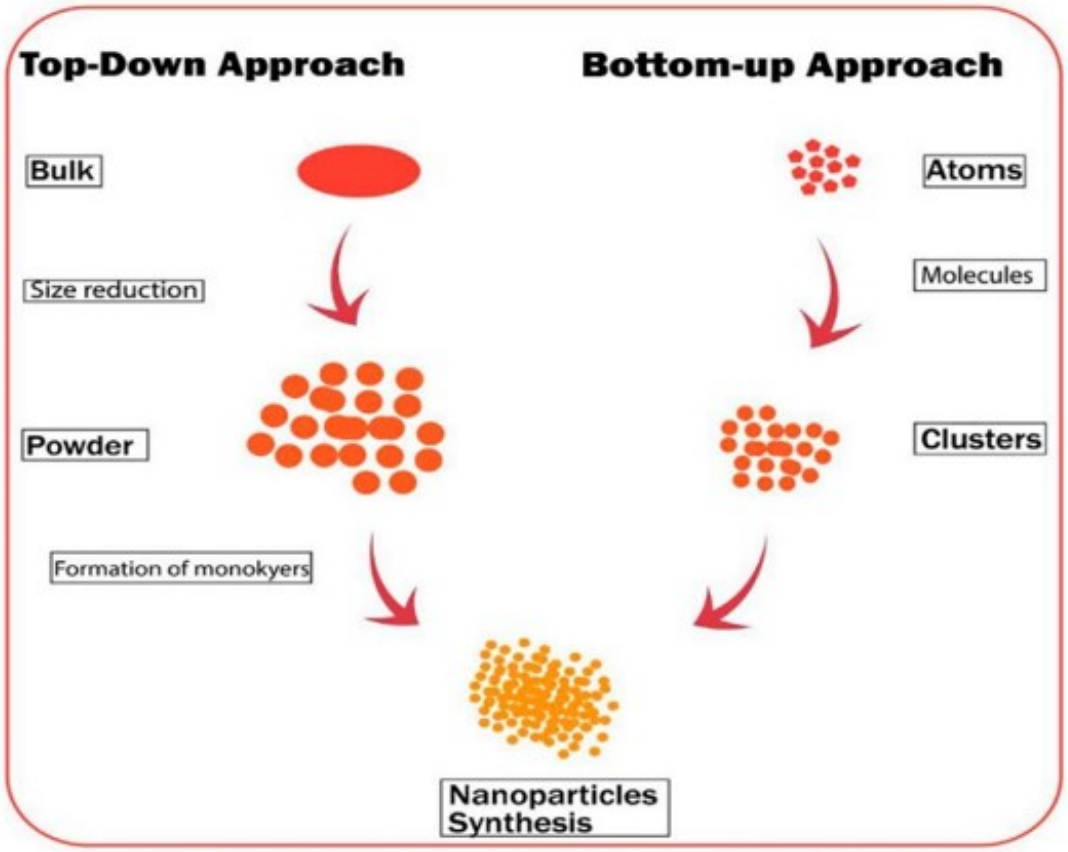
Şekil 2.9 Nanopartiküllerin farklı sentez yöntemleri [40]

2.5.2 Aşağıdan Yukarıya Sentez Yöntemi

Aşağıdan yukarıya yöntemlerde, maddenin atomik veya moleküler halden kimyasal reaksiyonlarla büyütülüp nanoboyuta çıkarılması kimyasal ve biyolojik yaklaşımlarla olmaktadır. Her ikisi de öncü tuzu indirgeyerek nanopartikül elde edebilmektedir [42].

Kimyasal sentezin, fotokimyasal, elektrokimyasal, piroliz, mikrodalga destekli yöntemler gibi çeşitleri bulunmaktadır [43]. Np'leri hızlı bir şekilde elde etmek için kimyasal yöntem uygulansa da, zararlı kimyasal katkı maddelerinin kullanımı ve bu maddelerin insan ve çevreye toksik etki göstermesi elde edilen bu partiküllerin tıp alanındaki uygulamalarını sınırlayabilmektedir. Kimyasal yöntemin eksikliklerini ve zararlarını gidermek için biyolojik yöntem alternatif bir seçenek olarak görülmektedir.

Biyolojik yöntem genellikle bakteri, mantar ve alglerdeki makromoleküler maddelere ve enzimler, alkol, flavonoidler, alkaloidler, kininler, terpenoidler, fenolik bileşikler gibi bitki ekstraktlarındaki organik bileşenlere dayanmaktadır. Biyolojik sentez ekonomik, çevre dostu, basit, toksik olmayan ve güvenilir bir yaklaşımdır [41].



Şekil 2.10 Top-Down ve Bottom Up yaklaşımları [44]

2.6 Yeşil Sentez Yöntemi

Son birkaç yılda nanopartiküller, tıp ve farmasötik alanında, özellikle kanser teşhisi ve tedavisinde, pillerde nanoyapılı elektrotlarda, iletişim teknolojisi cihazlarında tek duvarlı karbon nanotüplerde ve kozmetik, gıda ve giyim endüstrilerinde antimikrobiyal malzeme olarak akıllı ve çok işlevli nanoparçacıklar olarak çalışmak üzere geliştirilmektedir. Nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal sentezi bu gibi alanlarda kullanılmakta ve birçok faydası olmasına rağmen aşırı pahalı ve zahmetli bir yöntem olmaları ayrıca çevreye karşı zararlı etkileri yüzünden bilim insanları son dönemlerde yeşil senteze yönelmektedir.

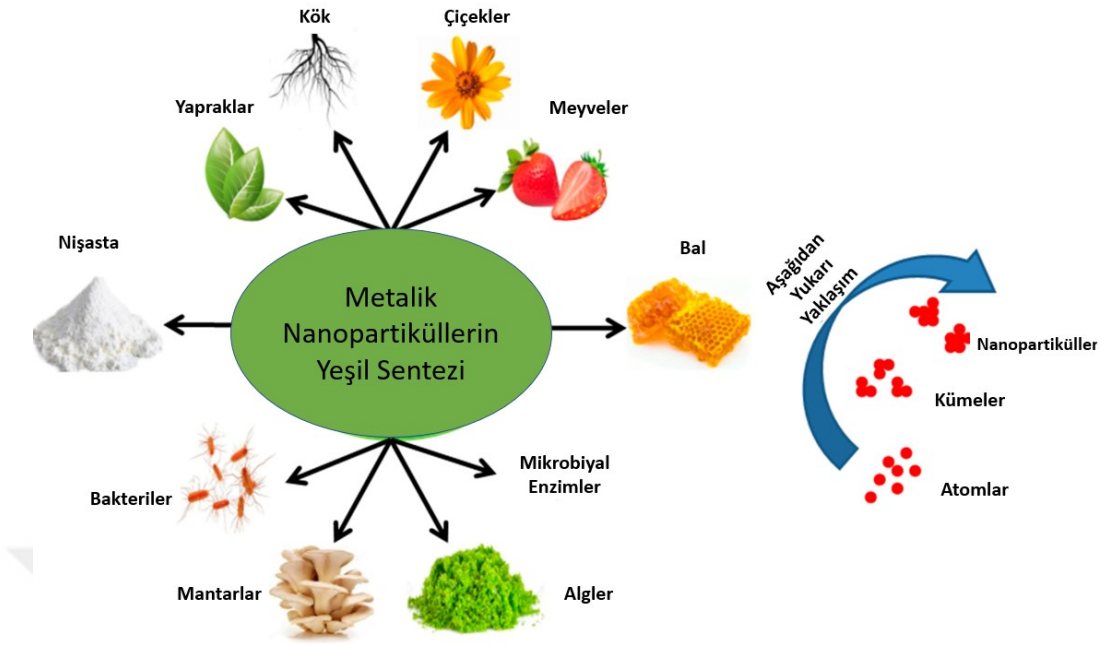
Yeşil nanoteknoloji, insan sağlığı ve potansiyel çevresel riskleri en aza indirmek ve çevresel sürdürülebilirliği arttırmak için temiz teknolojiler geliştirmeyi amaçlayan teknoloji olarak tanımlanmaktadır [45]. Yeni nesil yeşil nanoteknoloji, bilim insanlarının, nanomalzemelerin kullanılmasından kaynaklanan çevre ve insan sağlığı risklerini ortadan kaldırma veya azaltma ve mevcut ürünlerin yaşamları boyunca daha çevre dostu olan yeni nano ürünlerle değiştirmeyi teşvik etme konusunda doğanın faydalarının kullanılmasını temsil etmektedir [46].

Nanopartiküllerin yeşil sentez yöntemiyle sentezlenmesinin artmasıyla birlikte yeşil bilim, çevreye salınan tehlikeli atık miktarını azaltmaya yardımcı olmuştur [47]. Doğa dostu ve ekonomik olması, toksik madde içermemesi, enerji tasarrufu sağlaması, yüksek basınç ve sıcaklık kullanılmasına gerek duyulmaması, maliyetinin diğer sentez yöntemlerine göre düşük ve sentezin uygulanmasının hızlı ve pratik olması yeşil sentezin en önemli yararları arasındadır.

Yeşil yöntemler ayrıca alternatif enerji biliminde ve güneş pilleri, yakıt pilleri ve enerji depolamak için kullanılan pillerin yapımında yeni yollarının üretilmesinde önemli bir rol oynamaktadır [48]. Ayrıca sürdürülebilir ve yenilenebilir olması sebebiyle gelecek nesiller için önemli bir kaynak olarak görülmektedir. Kullanılan kaynakların da kolaylıkla ve daha uyguna temin edilmesi sentez için avantaj sağlamaktadır. Gümüş nanopartiküllerin de bu yöntemle sentezlenmesi kullanım alanlarını arttırmakta ve özellikle sağlık alanlarında daha çok tercih edilmesini sağlamaktadır.

Nanopartiküllerin yeşil sentezi; enzimler, vitaminler, mantarlar , mikroorganizmalar, algler ve özellikle bitkiler gibi çeşitli çevre dostu kaynaklar kullanılarak aşağıdaki reaksiyon ile sentezlenerek gerçekleşmektedir. Ayrıca Şekil 2.11'de kullanılan biyolojik kaynaklardan bazıları verilmiştir.

Metal tuzu + biyolojik kaynak $\longrightarrow$biyouyumlu metal NP'ler + biyouyumlu yan ürünler



Şekil 2.11 Nanopartiküllerin yeşil sentezinde kullanılan farklı kaynaklar [49]

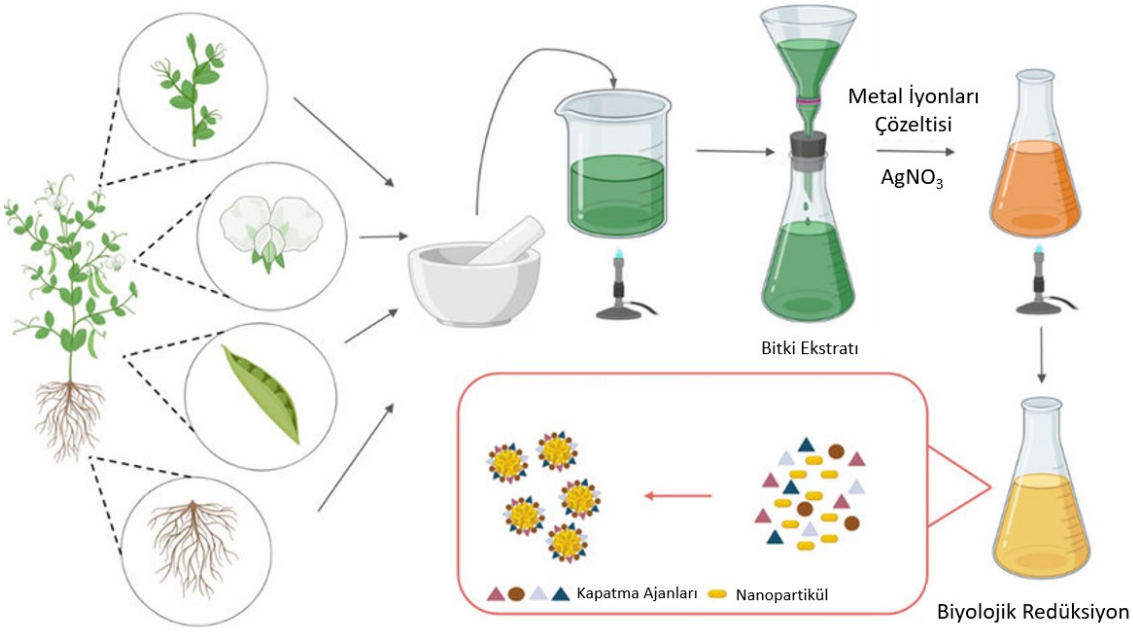
Bu kaynaklar arasında en çok tercih edilenlerin başında bitkisel kaynaklar gelmektedir. Metal tuzlarını nanoparçacıklara indirgemek için canlı bitkiler veya bitki ekstratı ve bitki dokusunun kullanımı son 30 yılda büyük ilgi görmüştür. Nanopartikül sentezlemek için bitki ekstratlarının kullanımı bitki dokusunun kullanımına göre daha basittir. Nanopartikül sentezlemek için bitki ekstratları kullanıldığı prosesler kolaylıkla ölçeklenebilir ve mikrobiyal proseslere dayalı metotlara kıyasla daha ucuzdur. Bitki ekstratlarının nanopartiküllerin karakteristik özelliklerinde de etkili olduğu bilinmektedir [50]. Ayrıca bu ekstratların nanoparçacıkların sentezinde bu kadar iyi çalışmasının nedeni, kapatıcı ajanlar kadar iyi indirgeyici ajan olarak hareket etmeleridir [51]. AgNP sentezi için kullanılan ve literatürde bulunan bazı bitkisel kaynaklar Tablo 2.2'de verilmiştir.

Yapraklar, meyveler, kökler, tohumlar ve gövdeler dahil olmak üzere antioksidanlar veya şekerler içeren bir bitkinin tüm parçaları sentez sürecinde kullanılabilir.

Genel olarak, bir bitki ekstratı kullanılarak yapılan biyo-indirgeme, sulu özütün ilgili metal tuzunun sulu bir çözeltisi ile karıştırılmasını içerir. Reaksiyon, oda sıcaklığında meydana gelir ve genellikle birkaç dakika/saat içinde tamamlanır. Bununla ilgili olarak herhangi bir bitki ekstratından yeşil sentezle AgNP sentezi Şekil 2.12'de şematik olarak gösterilmektedir.

Tablo 2.2 Çeşitli bitki ekstratları kullanılarak Gümüş nanopartiküllerin sentezi [52]

Bitkiler	Kullanılan Kısım	Boyut	Şekil
Aloe vera	yaprak	15.2 nm	küresel
Ocimum tenuiflorum	yaprak	25-40 nm	küresel
Pelargonium graveolens	yaprak	16-40 nm	kristal
Jatropha curcas	tohum	15-50 nm	küresel
Carica papaya	meyve	15 nm	kübik
Cinnamon zeylanicum	kabuk, toz	31-40 nm	küresel
Memecylon edule	yaprak	50-90 nm	kare
Diopyros kaki	yaprak	15-500 nm	kübik
Ginko biloba	yaprak	15-500 nm	kübik
Magnolia kobus	yaprak	15-500 nm	kübik
Murraya keenigii	yaprak	10 nm	kristal, küresel
Ocimum sanctum	kök sapı	5-10 nm	küresel
Tanacetum vulgare	meyve	16 nm	küresel
Euphorbia hirta	yaprak	40-50 nm	küresel
Argemone maxicana	yaprak	30 nm	kübik, hekzagonal
Syzygium cumini	yaprak	29-30 nm	küresel
Syzygium cumini	tohum	73-92 nm	küresel
Nicotiana tobaccum	yaprak	8 nm	kristal
Allium cepa	yaprak	33.6 nm	küresel
Mentha piperita	yaprak	90 nm	küresel



Şekil 2.12 Bitkiden yeşil sentezle AgNP sentezinin şematik gösterimi [53]

2.7 Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Sentezlenen nanopartiküllerin bilimsel olarak yapısal ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi gerekmektedir. Karakterizasyon yöntemleri bu işlemlerin yapılması kullanılmaktadır. NP'lerin kimyasal, biyokimyasal ve fiziksel içerikleri; performansları, uygulamaları ve canlı sistemlerle etkileşimleri için son derece önemlidir. Özellikle sağlık alanında kullanılacak olan nanopartiküllerin önceden yapısal özelliklerine, şekline, boyutuna, yüzey özelliklerine, çözünürlüklerine bakmak ve yapıdaki varsa sorunları belirlemek önem teşkil etmektedir.

UV-vis Spektrofotometresi, SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu), TEM (Geçirimli Elektron Mikroskobu), FTIR (Fourier Dönüştürücü Infrared Spektroskopisi), Dinamik ışık saçılımı yöntemi (DLS), XRD (X Işınları Kırınımı), EDAX, Zeta Potansiyel ve Boyut Dağlılımı gibi birçok karakterizasyon yöntemi nanopartiküllerin özelliklerinin bilinmesinde kullanılmaktadır.

a) UV-vis Spektrofotometresi

UV-vis spektrofotometresi, 190-380 nm arasındaki UV aralığını ve 380-800 nm arasındaki görünür bölge aralığını ölçmektedir [54]. UV-vis spektrumu genel olarak nanopartikül araştırmalarında yüzey plazmon rezonansının (SPR) ve Np'lerin optik özelliklerinin belirlenmesi için kullanılmaktadır. Nanopartikül sentezi çalışmalarında en çok kullanılan ve en önemli ana karakterizasyon yöntemlerinden biridir. Yüzey plazmon rezonansı (SPR), gelen elektromanyetik ışınların dalgaboyundan çok daha küçük boyuttaki nanopartiküllerle etkileşime girip iletim bandındaki elektronlarının uyarılması ile oluşur. SPR, nanopartiküllerin sentezi ve boyutu hakkında bilgi vermektedir [55]. Metalik nanopartiküller genellikle karakteristik spektrumlarda spesifik absorbans bantlarına sahiptir. Bu sayede metalik nanopartiküllerin oluşumunun kanıtlanması da UV-vis spektrometresiyle gerçekleştirilebilir [56]. AgNP'lerin literatüre göre UV-vis spektroskopisinde 400-450 nm arasında yüzey plazmon rezonans bandına ait karakteristik pik verdiği bilinmektedir. Ag-NP'ler, belirli dalga boylarıyla güçlü ve etkili bir etkileşime girmelerini sağlayan eşsiz optik özelliklere sahiptir. Böylece bu yöntemle AgNP'lerin optik özellikleri ve boyutları hakkında detaylı bilgi edinilebilir. AgNP'lerin partikül boyutları ölçülen max. absorbans değerini etkilemektedir.

b) SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu)

SEM, nanopartiküllerin morfoloji, şekil, partikül boyutu, agregasyon, dağılım ve yapı gibi özelliklerini tanımlamak amacıyla kullanılan bir görüntüleme analizidir [57]. Kullanımı kolay, pratik ve sonuçların yorumlanmasının rahat olması nedeniyle tercih

edilen bir karakterizasyon yöntemidir. SEM'de numune yüzeyi yüksek enerjili elektron ışınlarıyla taranarak görüntüleme yapılır. Ayrıca SEM'de partikül görüntüleme çözünürlüğü birkaç nanometreye kadar yaklaşabilmekte beraber büyütme 10 ila 300.000 kata kadar ayarlanabilmektedir.

Bu yöntemde yüksek enerjili elektron kaynağı, örneğin yüzeyi üzerinde kafeslenmiş halde bulunan ince ucun iç tarafına doğru odaklanır. Elektronlar yüzeye doğru nüfus ettiği zaman yüzeyden fotonların veya elektronların saçılmasıyla birlikte etkileşimler oluşur. Saçılan elektronların kırınımları uygun dedektörler yardımıyla toplanır ve bu sayede monitörde bir görüntü elde edilir. Elektron demetlerinin örneğe çarptığı her bir nokta doğruca ekrandaki ilgili noktalarla işaretlenmektedir [58].

Ayrıca bu analiz yöntemi için nanopartiküllerin çözeltisinin toz halinde kurutulması gerekmektedir. Kurutulmuş ve toz haline getirilmiş numune kaplanmalı ve bir filtre membranı veya iletken ızgara tutucu üzerine monte edilmeli veya yapıştırılmalıdır. Numunenin kaplanması için çeşitli iletken malzemelerden yapılmış ince bir tabaka kullanılır. Bu ultra ince katman, moleküler seviyelerde partiküllerin net görüntülerini elde etmeye yardımcı olmaktadır. Bu kaplama için grafit, iridyum, paladyum alaşımı, osmiyum, altın alaşımı, altın, platin, krom ve hatta tungsten gibi malzemeler en iyi iletken kaynakları olarak kullanılmaktadır [59].

c) FTIR (Fourier Dönüştürücü Infrared Spektroskopisi)

FTIR analizi nanopartiküllerin yapısında bulunan fonksiyonel grupların varlığını ve bağ yapısını inceleyen bir karakterizasyon yöntemidir. Nanopartikül çalışmalarında AgNP'lerin yapısındaki bağları ve indirgenmesinden sorumlu bileşikleri tanımlamada kullanılır. FTIR spektrumu, numunenin yapısında bulunan atomların arasındaki bağların titreşimi sonucunda meydana gelen frekanslara karşılık oluşan absorpsiyon pikleri ile numunenin birnevi parmak izini göstermektedir. Çünkü her bir maddenin kendine özel bir spektrum görüntüsü bulunmaktadır. Bu sayede görülen piklerle maddede bulunan gruplar belirlenebilmektedir [60]. Spektrumun infrared (IR) bölgesi, genelikle dalga sayısı 4000- 670 $cm^{-}1$ aralığını kapsamaktadır. Partikül boyutuna bağlı olarak absorbans piklerne ait frekanslarda kaymalar olması partikül boyutuyla ilişkili olduğunu göstermektedir [61].

d) Zeta Potansiyeli Analizi

Zeta potansiyeli, bir partikülün belirli bir ortamda elde ettiği toplam yükün bir ölçümüdür. Nanopartiküllerin elektriksel yüklerini ve kararlılıklarını belirlemek amacıyla kullanılan bir karakterizasyon yöntemidir. Tüm partiküller yüksek bir negatif veya pozitif zeta potansiyele sahip olursa birbirlerini iter böylece partikül

yükü neredeyse nötr olduğunda daha yüksek kararlılığa neden olur [57]. Bu sayede yapıda topaklanma veya agregasyon görülmez. Ayrıca bu yüksek kararlılık durumu partiküllerin düzgün dağılıma ve stabiliteye sahip olduğunun bir göstergesi olmaktadır. Bu yüzden Zeta Potansiyel analizi partiküllere yapılarak yapıda topaklanma olup ollmadığına ve kararlılık seviyelerine bakılması önem taşımaktadır.

e) XRD (X Işınları Kırınımı)

XRD analizi ile nanopartiküllerin kimyasal ve kristal yapısı incelenmektedir. Nanomaddelerin boyutlarının çok küçük olması diğer tekniklerle kristal yapısının görüntülenmesi zorlaştırmaktadır. Bu yüzden nanoboyuta yakın ölçekte (Angstrom boyutunda) ölçüm yapan XRD analizi nanopartiküllerin karakterizasyonu için uygun bir analiz yöntemi olmaktadır. Tahribatsız bir yöntem olması da avantajlarındandır. X-ışınının numune içinden geçerken maddenin elektronları ile etkileşimi sonucunda saçılmalar meydana gelmektedir ve bu saçılmalar sonucunda kırınım meydana gelerek XRD görüntüsü oluşmaktadır. Daha sonra XRD incelemesi, kristal yapıyı belirlemek için oluşan görüntüyü standart bir kristalografik veri tabanında yer alan verilerle karşılaştırarak bir kırınım modeli oluşturmaktadır [62]. Bu analiz her kristal maddenin kendine özgü bir X-ışını difraksiyon şekli vermesine dayanmaktadır. Bilinmeyen madde için elde edilen şekille aynı şekli veren referans belirlenerek maddenin ne olduğu ve yapısı saptanır. Oluşan pik pozisyonlarına bakılarak maddenin kristal yapısı ve kimyasal bileşimi hakkında yorum yapılabilmektedir. Piklerin şiddeti, hücredeki atomları ve bu atomların pozisyonu ile öncelikli yönelimlerini belirlemeyi sağlarken piklerin şekli ve asimetrisi, kristal alanların ortalama boyutu hakkında bilgi içermektedir [55].

2.8 Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Aktivitesi

İnsan ve çevre sağlığı söz konusu olduğunda özellikle Gümüş içeren antimikrobiyal malzemelere ilgi gitgide artmaktadır. Birçok metalin antimikrobiyal ve antibakteriyel aktivite gösterdiği bilindiği halde Gümüş diğer metallere istinaden daha çok tercih edilen bir elementtir. Bunun en önemli sebepleri arasında mikroorganizmalara karşı yüksek dirençli bir metal olması, kontrollü kullanımda vücuda karşı herhangi bir zararlı etkisinin bulunmadığının eski çağlardan beri biliniyor olması, birçok malzemeye kıyasla son ürün haline getirilme maliyetinin daha ekonomik olması ve kolay üretim prosesine sahip olması gelmektedir [63].

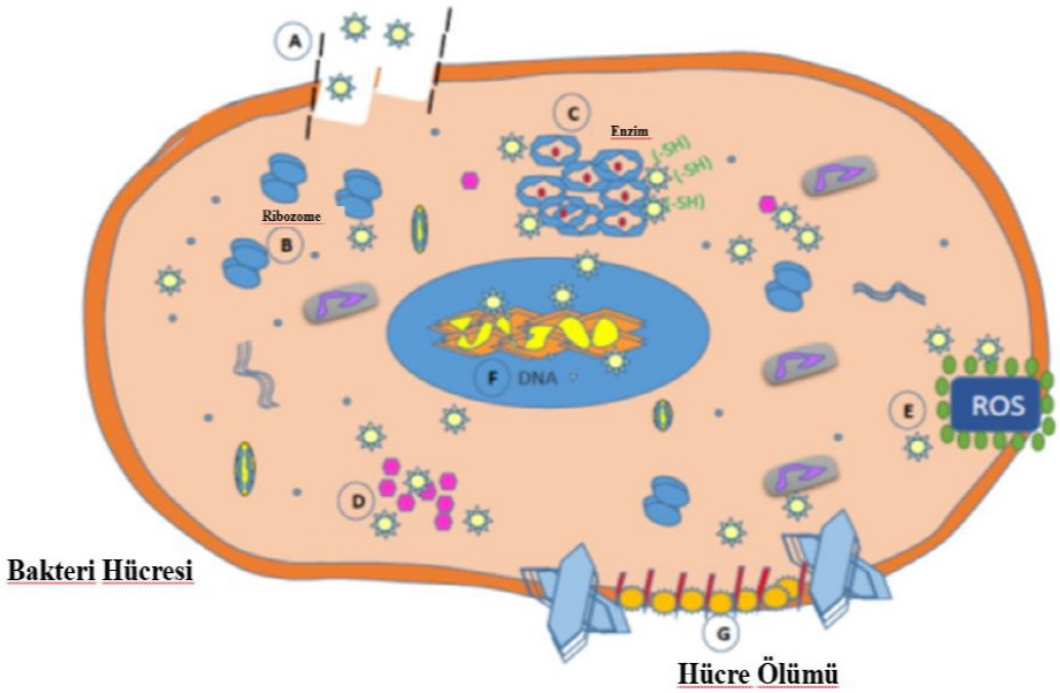
Ayrıca gümüş nanopartiküller yüksek yüzey alanları nedeniyle muazzam gelişmiş bir antimikrobiyal etki göstermektedir ve bu da mikroorganizmaların daha fazla bu partiküllere maruz kalmasını sağlamaktadır [64]. AgNP'ler 'oligodinamik' olarak

gösterilmektedir çünkü bu AgNP'lerin iyonları sadece bakterisidal (bakterilere zarar veren maddeler) etkiye değil, aynı zamanda bakteriyostatik (çoğalma ve büyüme inhibisyonu sağlayan maddeler) etkiye de neden olmaktadır [65].

Bitkisel kaynaklardan sentezlenen AgNP'lerin indirgeme ve kaplama ajanları genellikle fenolik türevler olduğu için, sentezlenen Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal, antioksidan ve antikanser özellikleri büyük ölçüde artmaktadır. Gerçekleştirilen birçok çalışma, bitkilerden sentezlenen Ag-NP'lerin, mantar ve maya patojenlerini, çoklu-ilaç dirençli insan patojenlerini de içermek üzere Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı geniş çaplı antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirtmiştir [66–68].

Nanopartiküllerin bakterilere karşı etki mekanizması genel olarak gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerin hücre duvarlarındaki tolerans ve hassasiyet sonucunda, NP'lerle etkileşime girilmesi ve Np'lerin bakterilerin çoğalmasını engelleyici özellik göstermesi şeklinde olmaktadır. NP'ler bakterilerin hücre duvarından içeri nüfuz ederek hücre metabolizmasının işleyişini bozarak antibakteriyel etki gösterirler.

Şekil 2.13'te bu etki mekanizmasının gösterilen aşamaları sırasıyla şöyledir;
(A) Bakteri hücresinin içerisine AgNP'nin difüze olması ve alınması: Plazma zarında AgNP birikmesi ve çözünmesi hücre sızıntısına neden olur.
(B) Ribozomların destabilizasyonu: İçeri giren AgNP, protein sentezini ve plazma zarı degradasyonunu inhibe ederek ribozomların doğasını değiştirir.
(C) Enzim etkileşimi: AgNP'ler solunum enzimlerindeki tiyol grubu ile (-SH) bağlanarak onları etkisizleştirir.
(D) Elektron transfer zincirinin kesilmesi: AgNP'ler sinyal yolunu etkileyerek elektron taşınmasını engeller.
(E) Reaktif Oksijen Türleri (ROS): Mitokondriyal hasar oluşması, proteinleri okside eden ROS'u indükler.
(F) DNA Hasarı: AgNP'ler, apoptoza neden olan replikasyon ve multiplikasyonunu engelleyerek DNA ile bağlanır.
(G) Hücre Ölümü: Hücre zarında çukur ve delik oluşması, hücre organellerinin sızmasına ve hücre ölümüne neden olur [68].



Şekil 2.13 Gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel etki mekanizması [68]

3
DENEYSEL TASARIM

3.1 Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM)

Yanıt Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology), “Denemelerin Optimum Koşullara Ulaşması” başlığı ile ilk kez 1951 yılında Box and Wilson tarafından kullanılmıştır ve tanımlanmıştır. İlk uygulaması kimya endüstrisinde olmuştur [69]. Myers ve Montgomery ise çalışmalarında Yanıt Yüzey Yöntemi’ni, "proseslerin geliştirilmesi ve optimizasyonu için gerekli istatistiksel ve matematiksel tekniklerin birlikte kullanıldığı bir yöntem" olarak tanımlamıştır [70]. Bu yöntem, optimum bir yanıt elde etmek için bir dizi tasarlanmış deney kullanarak çeşitli değişkenler ve bir veya daha fazla yanıt değişkeni arasındaki etkileşimi incelemektedir [71]. Yöntemin en önemli avantajları, istatistiksel olarak kabul edilebilir sonuçlar için deneysel çalışmaların sayısının azaltmasıyla birlikte zaman kaybının önüne geçilmesi ve pahalı ve karmaşık olan analiz yöntemlerinin maliyetini düşürmesidir.

Yanıt yüzey yönteminde sonuçların belirlenmesi için kullanılan quadratic model matematiksel denklemi Denklem 3.1’deki gibidir [71].

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^{k} \beta_j x_j + \sum_{j=1}^{k} \beta_{jj} x_j^2 + \sum_{i}^{k-1} \sum_{j}^{k} \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon \tag{3.1}$$

Buradaki eşitlikte;

y, herhangi bir yanıt olarak bağımlı değişkenini

$\beta_0, \beta_j x_j, \beta_{jj}, \beta_{ij}$ regresyon katsayılarını

x_i, x_j, bağımsız değişkenleri

k, deney planındaki faktör sayısını (i= 1,2,3...k) (j=1,2,3...k)

ϵ ise rastgele hata terimini temsil etmektedir.

Bu yöntemde kullanılan deney tasarımı çeşitleri, avantaj ve dezavantajları aşağıdaki şekilde özetlenmiştir [72].

Tam Faktoriyel Tasarım: Kaynaklar mevcutsa az sayıda faktör için uygundur.

Avantajlar: 3 veya daha fazla düzeyli kategorik değişkenlerin tarama için kullanılmasına izin veren tek tasarımdır.

Dezavantajlar: RSM tarafından optimizasyon için kullanılamaz.

Fraksiyonel Faktoriyel Tasarım: Faktörlerin ve etkileşimlerinin bağımlı değişken üzerindeki etkilerini araştırır. Yalnızca az sayıda ana etkiyi ve alt düzey etkileşimleri hesaba katar. Üst düzey etkileşimler, yanıt değişkeni üzerindeki ihmal edilebilir etkileri nedeniyle ihmal edilir. İncelenecek faktör sayısı 3 ile 13 arasında değişmektedir.

Avantajlar: Çok ekonomiktir ve tarama amaçlı kullanılabilir.

Dezavantajlar: Araştırmacı hangi değişkenlerin göz ardı edilebileceğini belirlemelidir. Tüm etkileşimler değerlendirilemez.

Plackett-Burman Tasarımı: Fraksiyonel Faktöriyel Tasarıma ekonomik bir alternatiftir ancak yalnızca faktörlerin ana etkilerini inceler. İncelenecek faktör sayısı 8 ile 35 arasında değişmektedir.

Avantajlar: Tarama için kullanıır.

Dezavantajlar: Optimizasyon için kullanılamaz.

Merkezi Bileşik Dönme Tasarım (CCRD): Tam Faktöriyel Tasarıma birkaç deney daha ekleyerek tasarım değişkenlerinin optimal seviyelerini belirler. İncelenecek faktör sayısı 2 ile 6 arasında değişmektedir.

Avantajlar: Optimizasyon için kullanır.

Dezavantajlar: Çalışılan faktörler için beş seviye gerektirir.

Box-Behnken Tasarımı: Bir faktöriyel tasarımdan önceki sonuçlar mevcut olmadığında ve optimum yanıt deneysel bölgenin uç noktalarında bulunmadığında, Merkezi Bileşik Tasarımlara bir alternatiftir. İncelenecek faktör sayısı 3 ile 6 arasında değişmektedir.

Avantajlar: Optimizasyon için kullanır.

Dezavantajlar: Daha merkezi noktalar gerektirir.

3.2 Box-Behnken Tasarımı

Box-Behnken Tasarımı (BBD), üç seviyeli tamamlanmamış faktöriyel tasarımlara dayanan döndürülebilir veya neredeyse döndürülebilir ikinci dereceden bir deney tasarımıdır. BBD ve diğer yanıt yüzeyi tasarımları (merkezi bileşik (CCD), Doehlert matrisi ve üç seviyeli tam faktöriyel tasarım gibi) arasında bir karşılaştırma yapıldığında, BBD ve Doehlert matrisinin merkezi bileşik tasarımına göre biraz daha verimli olduğunu ayrıca üç seviyeli tasarımdan da çok daha verimli olduğunu görülmüştür. BBD'nin bir diğer avantajı ise, tüm faktörlerin aynı anda en yüksek veya en düşük seviyelerinde olduğu kombinasyonları içermemesidir. Bu sayede oluşan bu tasarımlar, tatmin edici olmayan sonuçların meydana gelebileceği aşırı koşullar altında gerçekleştirilen deneylerden kaçınmada faydalı olmaktadır. Şekil 3.1'de Box-Behnken tasarımında üçlü faktör için küp ve faktöriyel tasarımı gösterilmiştir [73].

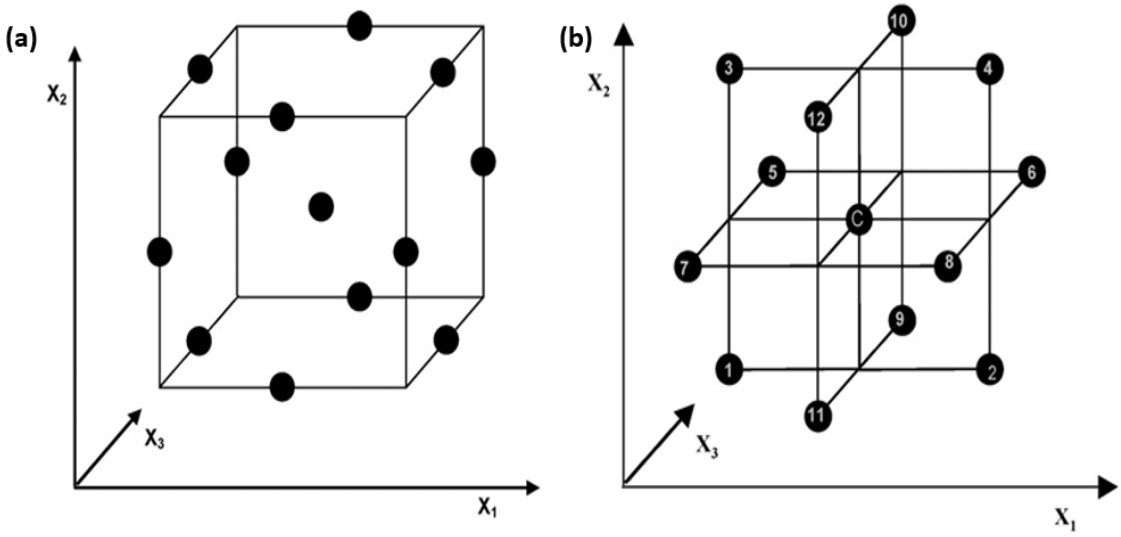
Box-Behnken tasarımındaki deney sayısı Denklem 3.2'deki gibi hesaplanır [74].

$$N = 2k(k-1) + C_0 \tag{3.2}$$

N, deney sayısını

k, deney planındaki faktör sayısını

C_0, üç faktörlü tasarımın merkez nokta sayısını temsil etmektedir.



Şekil 3.1 (a) Box-Behnken için merkez noktaları ve kenar orta noktalarını gösteren küp tasarımı, (b) birbirine bağlı üçlü 2^2 faktöriyel tasarım

4
LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Yeşil sentez yöntemiyle çeşitli kaynaklardan üretilen gümüş nanopartikül ile ilgili literatürde yer alan çalışmalar aşağıda özetlenmiştir. Ayrıca Tablo 4.1-4.2'de literatürde bulunan bu çalışmaların detayları verilmiştir.

A. Mohammed ve ark. tarafından yapılan çalışmada (2022) moringa bitkisi yaprağı kullanarak bir AgNP sentezi gerçekleştirilmiş ve bu sentez için yanıt yüzey metodu ile optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Parametre olarak pH, sıcaklık, inkübasyon süresi ve ekstrat miktarı; yanıt olarak olarak ise AgNP konsantrasyonu seçilmiştir. Buna göre AgNP konsantrasyonun 0.227-3.068 μg/mL arasında çeşitlilik gösterdiği görülmüştür. UV-vis spektroskopisi, TEM, FTIR ve XRD analizleri karakterizasyon için yapılmıştır. TEM analizi sonucunda partiküllerin küresel yapıda olduğu ve ortalama partikül boyutu 15.22-29.45 nm arasında bulunmuştur. FTIR analizi sonucunda AgNP'lerin amid fonksiyonel gruplarından bağlandığı belirtilmiştir. Antimikrobiyal aktivite tayini ile AgNP'lerin bakterilere karşı kuvvetli bir direnç gösterdiğine ulaşılmıştır [75].

Md. Mashud ve ark. tarafından yapılan çalışmada (2022) hint defne yaprağı kullanılarak AgNP sentezi çalışması yapılmıştır. Yapılan UV-vis, FTIR, TEM, XRD, ve DLS karakterizasyon analizleri sonucunda AgNP'lerin küresel yapıda oldukları ve ortalama boyutlarının 25-30 nm civarında olduğu belirlenmiştir. AgNP'lerin antibakteriyel potansiyelini incelemek amacıyla agar difüzyon metodu kullanılmıştır. Ekstrat için inhibisyon zonu 5.67 ± 0.5777 mm olurken, AgNP için en geniş inhibisyon zonu yaklaşık 17.67 ± 0.577 mm olarak kaydedilmiştir. Buna göre, AgNP'lerin bakterileri inhibe edici özelliğinin efektif olduğu görülmüştür [76].

S. İbrahim ve ark. tarafından yapılan çalışmada (2021) *Bacillus cereus* mikroorganizmasından sentezlenen AgNP'lerin optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. $AgNO_3$ miktarı, inoculum boyutu, sıcaklık, zaman ve pH parametleri kullanılarak optiimizasyon yapılmıştır. Yapılan deney tasarımı sonucunda optimum koşullar; $AgNO_3$ miktarı (1 mM) 10 ml, inoculum boyutu (*Bacillus cereus*) 8.7 ml, sıcaklık 48.5°C, zaman 69 saat ve pH 9 olarak kaydedilmiştir. UV-vis, SEM, FTIR ve

XRD analizleri sonucunda ortalama partikül boyutu küresel ve 5-7.06 nm olarak belirlenmiştir. Disk difüzyon metodu ile yapılan antimikrobiyal testler sonucunda bakterilere karşı iyi bir direnç gösterdiği görülmüştür [77].

P. Kanniah ve ark. tarafından yapılan çalışmada (2021) karabiber tohumu kullanılarak AgNP sentezi incelenmiştir. UV-vis, SEM, TEM, FTIR ve XRD karakterizasyon analizleri gerçekleştirilmiştir. UV analizindeki SPR bandı piki 430 nm civarında görülmüştür. TEM sonuçlarına göre nanopartiküller küresel yapıda ve ortalama boyutları 15-38 nm aralığındadır. AgNP'lerin agar difüzyon metoduyla antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. *B. subtilis* ve *E. coli* bakterilerinin sırasıyla 17.3 ± 1.19 mm ve 21.8 ± 1.30 mm inhibisyon bölgeleri, 50 μg/ml konsantrasyonunda elde edilmiştir. Bununla birlikte, 100 μg/ml konsantrasyonu, 50 μg/ml'ye kıyasla artan aktivite göstermiştir (*B. subtilis* - 20.3 ± 1.13 mm ve *E. coli* - 22.1 ± 1.73 mm). Buna göre, sonuçlar konsantrasyona bağlı olarak her iki bakteri kültürüne karşı aktivitenin arttığını ortaya koymaktadır [78].

L. V. Hublikar ve ark. tarafından yapılan çalışmada (2021) su sümbülü bitkisi yaprağından AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. UV-vis, TEM, FTIR ve XRD karakterizasyon analizleri incelenmiştir. 5 dk'da bir alınan örneklerle yapılan UV-vis analizinde SPR bantları 450 nm civarında görülmüşütür. Ayrıca SPR bantının zamanla arttığı belirlenmiştir. FTIR sonucnda AgNP'lerin amid, alkolik ya da karbonil fonksiyel gruplarından bağlandığı yorumu yapılmıştır. TEM sonucunda ortalama partikül boyutunun 15-25 nm arasında olduğu kaydedilmiştir. Antibakteriyel testler ile *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği vurgulanmıştır [79].

X. Sun ve ark. tarafından yapılan çalışmada (2021) kivi kabuğundan AgNP sentezi incelenmiştir. UV-vis, TEM, XRD, FTIR ve Zeta Potansiyel karakterizasyon analizleri yapılmıştır. TEM analizi sonucunda AgNP'lerin dendirik bir yapıda olduğu görülmüştür. UV-vis analizinde absorbans piki 459 nm'de tespit edilmiştir. Antibakteriyel testler sonunda ise *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakteri türlerine karşı oluşan AgNP'lerin düşük dozlarda bile yüksek bir etki gösterdiği belirlenmiştir [80].

S. Ringwal ve ark. tarafından yapılan çalışmada (2021) mandalina kabuğundan AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. UV-vis, XRD, SEM, TEM ve TGA analizleriyle biyosentez karakterize edilmiştir. UV-vis analizinde en iyi SPR bandı 465 nm'de gözlenmiştir. XRD analizi sonucu partiküllerin kübik kristal yapıda olduklarını doğrulamıştır. EDAX ile Ag elementinin sentezde var olduğu ortaya konmuştur. TEM analizi ile ortalama partikül boyutunun 40-120 nm arasında değişkenlik gösterdiği kaydedilmiştir [81].

N. Swilam ve K. A. Nematallah tarafından yapılan çalışmada (2021) nar yapraklarından AgNP sentezi ve optimizasyonu incelenmiştir. Ekstrat konsantrasyonu (0.5, 2.75, 5 mg/ml), $AgNO_3$ konsantrasyonu (1, 3, 5 mMol) ve sıcaklık (60, 70, 80°C) parametreleri seçilerek partikül boyutu ve PDI yanıtlarına karşılık optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Yapılan Box-Behnken deney tasarımı sonucunda optimum koşullar; partikül boyutu (24.1 nm) ve PDI (0.202) yanıtlarına karşılık, ekstrat konsantrasyonu 0.83 mg/mL, $AgNO_3$ konsantrasyonu 1.15 mMol ve sıcaklık 67.5°C olarak bulunmuştur. UV-vis, FTIR, XRD ve SEM analizleriyle karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. UV-vis analizinde max. dalgaboyu 425 nm'de ölçülmüştür. SEM analizi sonucunda ortalama partikül boyutunun 35-70 nm aralığında olduğu kaydedilmiştir. FTIR analizi, nar fitokimyasallarının AgNP'ler için indirgeyici ve stabilize edici ajanlar olduğunu doğrulamıştır. XRD analizi ise AgNP'lerin kübik kristalit yapıda olduğunu ortaya koymuştur. Antibakteriyel testler sonucunda kullanılan çeşitli gram pozitif ve negatif bakterilere ve mantarlara karşılık sentezlenen AgNP'lerin iyi bir antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir [82].

M. Hekmatia ve ark. tarafından yapılan çalışmada (2020) deli pırasa ve orak otu kullanarak AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. UV-vis, TEM ve XRD karakterizasyon analizleri yapılmıştır. XRD analizi sonucunda nanopartiküllerin yüzey merkezli kübik yapısında olduğu, TEM analizi sonucunda ise ortalama partikül boyutunun 20.5 nm olduğu ortaya konmuştur. Antibakteriyel testler sonucunda inhibisyon zonları ekstrat ve AgNP için 21 nm ve 25 nm olarak ölçülmüştür. Çalışma sonunda sentezlenen AgNP'lerin antibakteriyel özellik bakımından efektif olduğu sonucuna ulaşılmıştır [83].

Z. A. Ali ve ark. tarafından yapılan çalışmada (2016) kırmızı elma (Malus pumila) ekstratı AgNP sentezi için kullanılmıştır. Karakterizasyon çalışmaları UV-vis spektroskopisi, FESEM, FTIR, XRD, DLS ve zeta potansiyel analizleriyle yapılmıştır. UV-vis analizi farklı zaman dilimlerinde ölçüm alınarak yapılmış ve bunun sonucunda zaman arttıkça absorbans yoğunluğunun da arttığı gözlenmiştir. Ortalama partikül boyutunun DLS analizi sonucunda 30.25 ± 5.26 nm olduğunu belirtilmiştir. XRD sonuçları ile AgNP'lerin yüzey merkezli kübik yapısında olduğunu vurgulanmıştır. FTIR analizi ise AgNP sentezinde etilen gruplarının indirgeyici ajan olabileceğini göstermiştir. Antimikrobiyal testler sonucunda AgNP'ler, 125 μg/mL ila 1000 μg/mL aralığında minimum bakterisidal konsantrasyonlara sahip Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı aktivite göstermiştir [84].

S. Majeed ve M. Khanday tarafından yapılan çalışmada (2016) söğüt kabuğu ekstratından AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. UV-vis spektrumunda absorbans piki gümüş nanopartiküllerin 400-450 nm aralığındaki karakteristik özelliğini

destekleyerek 440 nm'de görülmüştür. TEM analizinde ortalama partikül boyutu 29-35 nm olarak kaydedilmiştir. AFM analizi sonucunda ise partikül boyutları 30-50 nm olarak belirlenmiştir. Zeta potansiyeline bakıldığında kararlı olduğu görülmektedir. Antibakteriyel testler disk difüzyon metodu ile yapılmış ve bakterilere karşı iyi bir antibakteriyel özellik gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır [85].

K. Roy ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada (2014) farklı bir kırmızı elma türünden (Malus domestica) AgNP sentezi gerçekleşmiştir. UV-vis, XRD, TEM ve FTIR karakterizasyon analizleri yapılmıştır. TEM analizi sonucunda nanopartikül yapısının küresel olduğu ve ortalama boyutunun 20 nm olduğu kaydedilmiştir. XRD ile partiküllerin yüzey merkezli kübik yapısında olduğu görülmüştür. Antibakteriyel testler ile üç farklı mikroorganizmanın elma ekstratına karşı inhibisyon zonlarının 13.10 mm, 12.92 mm, 12.75 mm olarak belirlenmiştir. En yüksek antibakteriyel aktivite (13.10 mm) *E.coli* bakterisine karşı oluşmuştur [86].

I. R. Bunghez ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada (2014) lavanta bitkisinden AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. UV-vis, SEM ve XRF karakterizasyon analizleri yapılımıştır. UV analizinde en güçlü absorbans piki 435 nm'de ölçülmüştür. SEM analizinde ise partikül boyutu dağılımının yaklaşık 10-30 nm arasında olduğu görülmüştür. Antioksidan testleri sonucunda ise oluşan AgNP'lerin yüksek antioksidan özellik gösterdiği belirlenmiştir [87].

V. Thamılselvı ve K. V. Radha'nın tarafından yapılan bir çalışmada (2013) Pseudomonas Putida NCIM 2650 bakteri türünden AgNP sentezi ve optimizasyon işlemleri incelenmiştir. Sentez süresi (24, 36, 48 saat), sıcaklık (25, 37.5, 50°C) ve pH (2, 6, 10) parametreleri kullanılarak optiimizasyon yapılmıştır. Yanıt yüzey yöntemi ile yapılan deney tasarımı sonucunda optimum koşullar; sentez süresi 48 saat, sıcaklık 37.5°C ve pH 6 olarak kaydedilmiştir. UV-vis, SEM, FTIR ve XRD analizleri yapılmıştır. Np'lerin kristal yapıda ve yaklaşık boyutlarının 70 nm olduğu belirlenmiştir [88].

K. Paulkumar ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada (2013) karabiber bitkisi yaprak ve kökünden AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. UV-vis, SEM, FTIR, EDAX, XRD ve TEM karakterizasyon analizleri incelenmiştir. UV-vis analizinde en iyi absorbans piki 465 nm'de gözlenmiştir. XRD analizi sonucunda gümüş nanopartiküllerin kristalit yapıda oldukları doğrulanmıştır. TEM analizi ile ortalama nanopartikül boyutlarının 7–50 nm ve 9–30 nm arasında değişkenlik gösterdiği kaydedilmiştir. FTIR analizine göre ekstratın yapısında bulunan amid ve amin fonksiyonel gruplarından AgNP'lerin bağlandığı sonucuna ulaşılmıştır. Antibakteriyel testler *Citrobacter freundii* ve *Erwinia cacticida* bakteri türlerine karşı yapılmış sonucunda ise AgNP'lerin inhibisyon zonları sırasıyla 12.833 ± 0.441 ve 14.533 ± 0.291 mm olarak ölçülmüştür [89].

Tablo 4.1 Farklı kaynaklar kullanılarak sentezlenen Gümüş nanopartiküller ile ilgili literatürde bulunan yeşil sentez çalışmaları

Yapılan Çalışma	**Sentez Kaynağı**	**Kullanılan Kısım**	**Boyut (nm)**	**Şekil**	**Kullanılan Bakteriler**	**En Geniş İnhibisyon Zonu (mm)**
A. Mohammed ve ark. [75]	Moringa Bitkisi	Yaprak	15.22-29.45	Küresel	Staphylococcus aureus	19 ± 0.6
Md. Mashud ve ark. [76]	Hint Defne Ağacı	Yaprak	25-30	Küresel	Pseudomonas aeruginosa	17.67 ± 0.577
S. İbrahim ve ark. [77]	Bacillus cereus mikroorganizması	-	5-7.06	Küresel	Staphylococcus aureus	38.25 ± 0.05
P. Kanniah ve ark. [78]	Karabiber Bitkisi	Tohum	15-38	Küresel	Escherichia coli	22.1 ± 1.73
L. V. Hublikar ve ark.[79]	Su Sümbülü Bitkisi	Yaprak	15-25	Küremsi Yapı	Escherichia coli	-
X. Sun ve ark.[80]	Kivi	Kabuk	-	Dendrik Yapı	Escherichia coli	-
S. Ringwal ve ark.[81]	Mandalina	Kabuk	40-120	Küresel	-	-
N. Swilam ve ark.[82]	Nar	Yaprak	20-40	Poligonal	Bacillus subtilis	23
M. Hekmatia ve ark.[83]	Deli Pırasa ve Orak Otu	Yaprak	20.5	Kübik	Staphylococcus aureus	25
Z. A. Ali ve ark.[84]	Kırmızı Elma (Malus pumila)	İç Kısım	30.25 ± 5.26	Kübik	Escherichia coli	-

Tablo 4.2 Farklı kaynaklar kullanılarak sentezlenen Gümüş nanopartiküller ile ilgili literatürde bulunan yeşil sentez çalışmaları (devamı)

Yapılan Çalışma	**Sentez Kaynağı**	**Kullanılan Kısım**	**Boyut (nm)**	**Şekil**	**Kullanılan Bakteriler**	**En Geniş İnhibisyon Zonu (mm)**
S. Majeed ve ark.[85]	Söğüt Ağacı	Kabuk	29-35	Küresel	Lactobacillus sp.	19±0.45
K. Roy ve ark.[86]	Kırmızı Elma (Malus domestica)	İç Kısım	20	Küresel	Escherichia coli	13.10
I. R. Bunghez ve ark.[87]	Lavanta Bitkisi	Çiçek	10-30	Küresel	-	-
V. Thamılselvı ve ark.[88]	Pseudomonas Putida NCIM 2650 bakterisi	-	70	Kristal	-	-
K. Paulkumar ve ark.[89]	Karabiber Bitkisi	Yaprak ve Kök	7–50 ve 9–30	Küresel	Erwinia cacticida	16.295±0.203 ve 14.533±0.291

5
MATERYAL VE YÖNTEM

5.1 Materyal

Deney çalışmalarında kullanılan cihazlar ve materyaller Tablo 5.1-5.2'de belirtilmiştir.

Tablo 5.1 Kullanılan cihaz ve ekipmanlar

Cihaz ve Ekipman Adı	**Marka**
Su Banyosu	Elma
Etüv	Memmert
Santrifüj Cihazı	Micromax RF Thermo
Santrifüj Cihazı	Nuve NF 400
Saf Su Cihazı	Termal
Öğütücü	Sinbo
Meyve Sıkacağı	Arzum
Tartım Cihazı	Scaltech Ins.
Hassas Tartım Cihazı	Radwag
Manyetik Karıştırıcı	Daıhan Scientific Co.
UV-vis Spektrofotometre	Shımadzu UV-1800
FT-IR	Perkin Elmer Spectrum 100
SEM	Zeiss EVO® LS 10
Zeta Analiz Cihazı	Malvern Nano ZS
XRD Cihazı	PANalytical X'Pert PRO

Tablo 5.2 Sarf malzeme ve kimyasallar

Sarf Malzeme ve Kimyasal Adı	**Marka**
Gümüş Nitrat ($AgNO_3$)	Gündüz Kimya
Etanol (C_2H_5OH)	Arı Kim. Lab.
Filtre Kağıdı	Whatmann No.1
15 ml ve 50 ml Falkon Tüpler	Isolab, Nest
1000-5000 μl mikropipetler	Isolab
250-1000 ml Cam Beher	Isolab
250-1000 ml Erlen	Isolab

5.2 Bitki Ekstratlarının Hazırlanması

Amasya Elması hasat döneminde yerel marketlerden temin edilmiş ve taze olarak kullanılmıştır. Amasya Elmasının farklı bölümleri (elma, taze kabuk, kuru kabuk, elma suyu, elma posası) ayrı ayrı hazırlanmış ve hepsi için ayrı denemeler yapılmıştır. Toplanan elmalar öncelikle tozdan ve kirden arındırmak amacıyla akan su altında yıkanmış ardından da distile sudan geçirilmiştir. Kullanılacak her bir bölüm 5 g olacak şekilde tartılmış ve 100 ml destile su eklenerek 80°C'de su banyosunda 1 saat kaynatılmıştır.

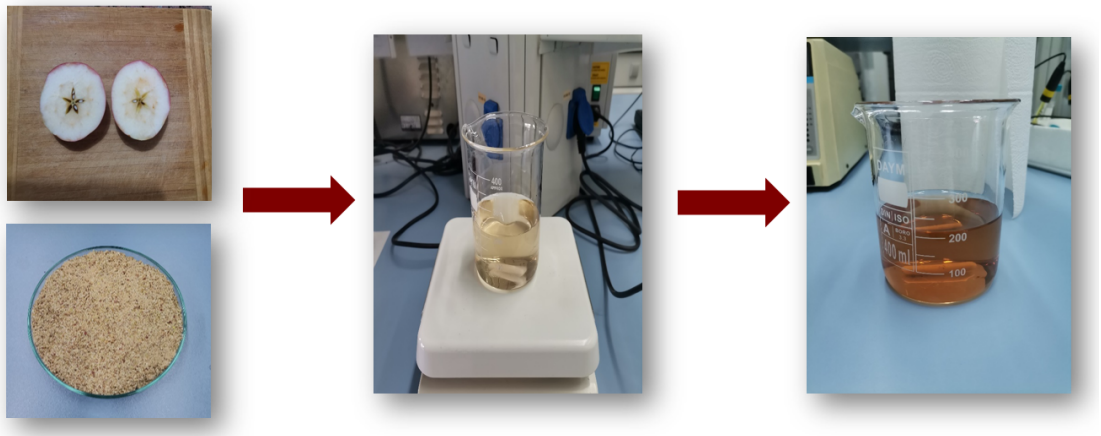
- **Elma:** Kabukları soyulan elmalar yıkandıktan sonra durulanmış küçük parçalara bölünmüş ve tartılmıştır.
- **Taze Kabuk:** Soyulan kabuklar yıkanıp durulandıktan sonra tartılmıştır.
- **Kuru Kabuk:** Kabuklar yıkanıp durulandıktan sonra 2 gün süreyle oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra öğütücü ile toz haline getirilip tartılmıştır.
- **Elma Suyu:** Elmalar yıkandıktan sonra meyve sıkacağı ile sıkılmış ve suyu tortulardan arındırılmak amacıyla 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen elma suyu Whatmann No.1 filtre kağıdı ile süzülmüş ve direkt ekstrat olarak kullanılmıştır.
- **Elma Posası:** Posalar fazla suyun alınması için öncelikle havanda ezilerek hamur haline getirilmiş ve Whatmann No.1 filtre kağıdı ile süzülmüştür. Daha sonra etüvde 50°C'de gece boyu kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan posa öğütücüyle toz haline getirilip tartılmıştır.

Oluşan ekstratlar soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra Whatmann No.1 filtre kağıdıyla süzme işlemine tabi tutulmuştur. Sonraki aşamalarda kullanılmak amacıyla 4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

5.3 Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

Sentez için 100 ml (3mM) $AgNO_3$ stok çözeltisi hazırlanmıştır. Değişik $AgNO_3$ değerleri bu stok çözeltiden seyreltilerek kullanılmıştır. Her bir elma bölümü için ayrı ayrı sentezleme işlemi yapılmıştır. 5 ml ekstrat ve 60 ml (0.5mM) $AgNO_3$ homojenizasyon için manyetik karıştırıcıda 150 rpm'de 30 dk karıştırılmıştır. Daha sonra 2 saat boyunca 80°C'de su banyosunda kaynatılmıştır. Uygulanan sentez aşamaları Şekil 5.1'de gösterilmiştir.

Oluşan AgNP çözeltileri 10000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpertanant atılmış ve kalan kısım 2 defa safsızlıkları gidermek için destile suyla yıkanmıştır. Daha sonra AgNP'ler 60-65°C'de etüvde kurutulmuş ve 4°C'de buzdolabında saklanmıştır.



Şekil 5.1 Yeşil sentezle üretilen AgNP'lerin sentez aşamaları

5.4 Yeşil Sentezle AgNP Üretim Koşullarının Optimizasyonu

5.4.1 Deney Planı ve Optimizasyon Parametrelerinin Belirlenmesi

Nanopartikül üretiminde parametlerin etkisini belirlemek adına optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Optimizasyon için bağımsız değişkenlerin seçimi ve seçilen değişken parametrelerin sınır koşullarının belirlenmesi amacıyla bazı ön denemeler yapılmıştır. Ön denemeler 0.5-3 mM $AgNO_3$ konsantrasyonu, 2-15 ml ekstrat miktarı ve 60-80°C sıcaklık aralıklarında yapılarak yeşil sentezle nanopartikül üretimi incelenmiştir.

Yapılan ön denemeler sonunda 0.5 mM $AgNO_3$ konsantrasyonunun nanopartikül üretiminde çok düşük bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. Aynı şekilde 2 ml ekstrat miktarı da düşük gelmiş ve yeterli nanopartikül üretimi yapılamamıştır. Buna karşılık sıcaklığın nanopartikül üretiminde önemli bir etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bu ön denemelerin sonuçlarına göre bağımsız değişkenlerin alt ve üst sınırları belirlenerek bu değerler ile optimizasyon çalışmalarına devam edilmiştir.

5.4.2 Üretim Koşullarının Optimizasyonu

Yeşil sentezle gümüş nanopartikül sentezinin optimizasyonunun deney tasarımı ve istatistiksel analizleri için Design Expert 13 (Trial Version) programı kullanılmıştır. Bu çalışmayla parametrelerin etkilerinin belirlenmesi ve optimum deney şartlarının belirlenmesi ve deney sayısının azaltılması amaçlanmıştır.

Çalışmadaki deney tasarımı Yanıt Yüzey Yöntemi kullanılarak Box – Behnken deney tasarım dizaynı ile yapılmıştır. Box – Behnken deney tasarım dizaynında en az 3 farklı parametre düzeyi olmalıdır. Buna göre gümüş nanopartikül sentezi için $AgNO_3$ konsantrasyonu (mM), ekstrat miktarı (ml) ve sıcaklık (°C) olmak üzere 3 farklı parametre belirlenmiştir (Tablo 5.3). Bunlara karşılık yanıt olarak yaklaşık 400-450 nm aralığındaki max. absorbans değerleri Box- Behnken deney tasarımıyla 17 farklı deney yapılarak analiz edilmiştir (Tablo 5.4).

Tablo 5.3 Bağımsız değişkenler ve faktör seviyeleri

Bağımsız Değişkenler	**Birim**	**Sembol**	**Faktör Seviyeleri**		
			Low (-1)	**Centre (0)**	**High (1)**
Ekstrat miktarı	ml	A	5	10	15
$AgNO_3$ konsantrasyonu	mM	B	1	2	3
Sıcaklık	°C	C	60	70	80

Tablo 5.4 Box- Behnken deney tasarım dizaynı

Deney No	**Faktör A**	**Faktör B**	**Faktör C**
	Ekstrat Miktarı (ml)	**$AgNO_3$ (mM)**	**Sıcaklık (°C)**
1	5	3	70
2	15	2	60
3	5	2	60
4	5	1	70
5	10	2	70
6	10	2	70
7	10	3	60
8	15	3	70
9	10	1	60
10	15	1	70
11	10	2	70
12	10	2	70
13	5	2	80
14	10	3	80
15	10	1	80
16	10	2	70
17	15	2	80

5.4.3 Optimize Edilen Üretim Koşullarında AgNP Üretimi

5 g kuru kabuk üzerine 100 ml destile su ilave edilerek 80°C'de su banyosunda 1 saat kaynatılmıştır. Oluşan ekstrat Whatmann No.1 filtre kağıdıyla süzülmüştür.

60 ml (3mM) $AgNO_3$ çözeltisi ile 15 ml ekstrat ilk önce 30 dk 150 rpm'de manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra 2 saat 80°C'de su banyosunda kaynatılmıştır.

Oluşan AgNP çözeltisi 10000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpertanant atılıp bu işlem 2 kez destile suyla tekrar edilmiştir. Elde edilen AgNP'ler 60-65°C'de etüvde kurutulmuştur. Ardından karakterizasyon ve antibakteriyel testleri için 4°C'de saklanmıştır.

5.5 Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

5.5.1 UV-vis Spektrofotometre Analizi

Sentezlenen AgNP'lerin içinde bulunan metal iyonlarının biyoredüksiyonunu gözlemlemek ve optik özelliklerini saptamak amacıyla analizler UV-vis spektrofotometre (Shımadzu UV-1800) cihazıyla yapılmıştır. 200-800 nm dalga boyu aralığında 0.5 nm aralıklarla absorbans değerleri taranmıştır. UV-vis analizi için kuvartz küvetler kullanılmış ve gerekli durumlarda absorbans değerlerini normalleştirmek için AgNP çözeltileri 4 kat destile su ile seyreltilmiştir. Kör (blank) çözelti olarak destile su kullanılmıştır.

5.5.2 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve EDAX Analizi

AgNP'lerin morfoloji, boyut ve şekillerini analiz etmek amacıyla Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) cihazı (Zeiss EVO® LS 10) kullanılmıştır. Aynı cihazla ayrıca nanopartiküldeki elementel dağılımın belirlenmesi için EDAX analizi de gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen saf AgNP'lerin SEM görüntüleri YTÜ Merkez Laboratuvarından hizmet alımı şeklinde elde edilmiştir.

5.5.3 Fourier Dönüştürücü Infrared Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

Amasya elmasından sentezlenen AgNP'lerin bağ yapısı ve fonksiyonel gruplarını incelemek, Amasya elması ekstratında bulunan hangi fonksiyonel gruplar tarafından indirgenmenin gerçekleştiğini belirlemek ve oluşan moleküler yapının alifatik mi aromatik mi olduğunu analiz etmek amacıyla FT-IR cihazı (Perkin Elmer Spectrum 100) ile analizler yapılmıştır. Cihazda 650 cm^{-1} ile 4000 cm^{-1} dalga boyu arasında ölçüm yapılmıştır.

5.5.4 Zeta Potansiyeli Analizi

Elde edilen AgNP'lerin yüzey yüklerini incelemek amacıyla Zeta cihazı (Malvern Nano ZS) ile zeta potansiyeli analizi yapılmıştır.

5.5.5 X Işınları Kırınımı (XRD) Analizi

AgNP'lerin kimyasal bileşimi ve kristal yapısını incelemek amacıyla XRD cihazı (PANalytical X'Pert PRO) ile analizler yapılmıştır. 20° ile 90° aralığında 2θ değerlerinin ölçümü yapılmıştır. Daha sonra yaklaşık partikül boyutu Debye-Scherrer denklemiyle hesaplanmıştır.

5.6 AgNP'lerin Antibakteriyel Aktivitesi

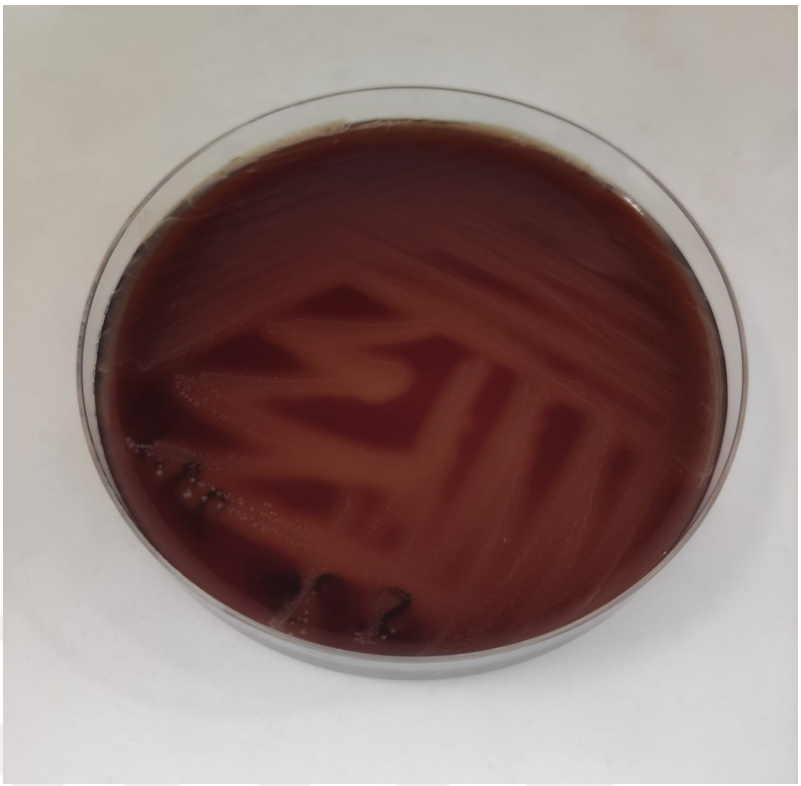
Sentezlenen optimum AgNP'lerin antibakteriyel etkilerinin incelenmesi amacıyla Disk Difüzyon Yöntemi ile antibakteriyel aktivite tayini Standard Media Medical Products Inc. Laboratuvarlarında hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada AgNP'lere karşı kullanılacak olan mikroorganizmalar; *Escherichia coli* (Gram negatif) ve *Streptococcus pyogenes* (Gram pozitif) olarak belirlenmiştir.

5.6.1 Disk Difüzyon Yöntemi

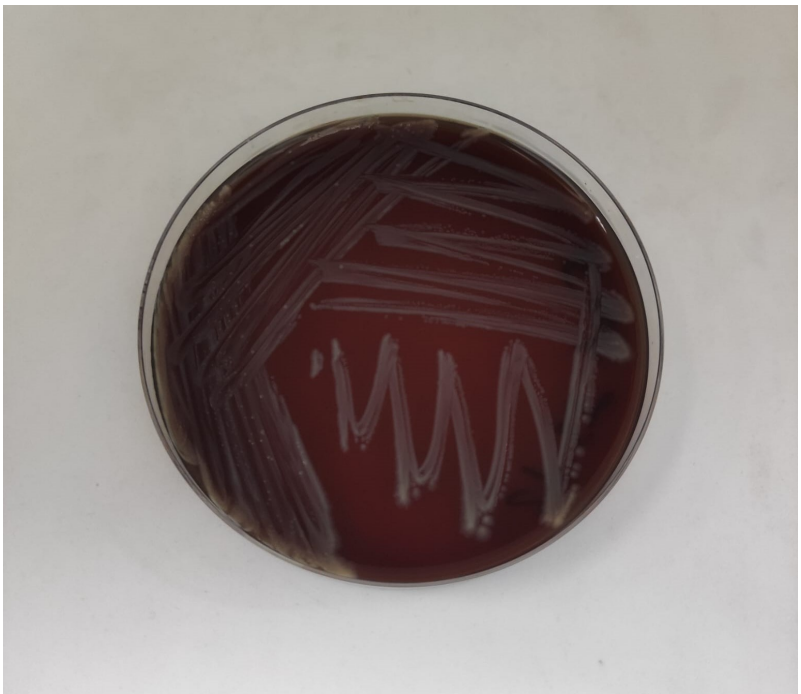
Disk difüzyon metodu, nanopartiküllerdeki antibakteriyel bileşikler tarafından bakteriyel büyümeye karşı inhibe edici bir tepkinin göstergesi olan inhibisyon bölgesinin çapı ölçülerek yapılmaktadır [90].

Kullanılacak bakterilerin suşları öncelikle Sheep Blood Agar (SBA) besiyerine ekilmiş ve bakterilerin üremesi için 37°C'de 24 saat etüvde inkübasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Oluşan bakterilerin kolonileri Şekil 5.2 ve Şekil 5.3'te verilmiştir. Üreme aktivasyonu gözlemlendikten sonra mikroorganizma kültürünün yoğunluğu, bulanıklık standardı olan 0.5 McFarland'a ayarlanmıştır ($1.5x10^8$ CFU/ml).

Disk difuzyon methodu için oluşan her bir stok bakteriyel süspansiyonundan steril koşullarda 100 μl alınarak Muller Hinton Agar (MHA) besiyeri bulunan petri kaplarına spatula yayma yöntemiyle ekilmiştir. Antibakteriyel aktivite tayini için, bu petri kaplarının üzerine yerleştirilen steril disklere 15 μl %0.85'lik Sodyum Klorür (NaCl) çözeltisi (negatif kontrol olarak), Amasya Elması ekstratı (negatif kontrol olarak) ve sentezlenen optimum AgNP çözeltisi damlatılmıştır. Numunelerin damlatıldığı yerler süreci daha iyi gözlemleyebilmek adına kalemle işaretlenmiştir. Bu işlem her bir bakteri için ayrı ayrı tekrarlanmıştır. 37°C'de 24 saatlik inkübasyon süresinden sonra disklerde oluşan inhibisyon bölgelerinin çapları mm olarak ölçülmüştür.



Şekil 5.2 Sheep Blood Agar (SBA) besiyerindeki *Streptococcus pyogenes* kolonileri



Şekil 5.3 Sheep Blood Agar (SBA) besiyerindeki *Escherichia coli* kolonileri

6
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

6.1 Amasya Elması Kullanılarak Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi

6.1.1 Renk Değişiminin İncelenmesi

Gümüş Nanopartikül sentezinde indirgeyici ajan olarak Amasya Elması kullanılmıştır. Elmanın yapısında bulunan çeşitli bileşiklerin bu nanopartikül sentezine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Amasya Elmasının farklı bölümleriyle ayrı ayrı sentezlemeler gerçekleştirilmiş ve bu bölümlerin gümüş nanopartikül oluşumuna etkisi önce renk değişiminin gözle görülmesiyle ardından da çeşitli karakterizasyon analizleriyle incelenmiştir.

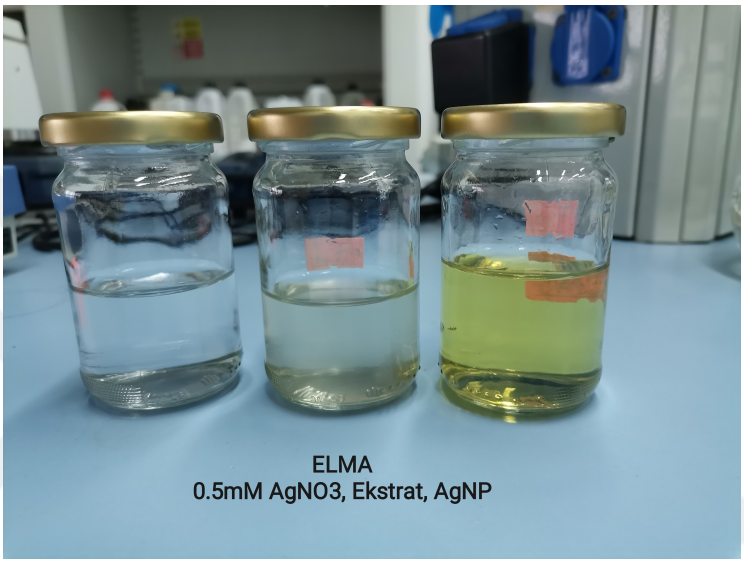
Amasya Elmasının elma iç kısmı, taze kabuk, kuru kabuk, elma suyu ve elma posası olmak üzere 5 farklı bölümü sentez işlemlerinde indirgeyici ajan olarak kullanılmıştır.

Oluşturulan her bir AgNP'nin renk değişimleri Şekil 6.1-6.5'de gösterilmiştir. Buna göre;

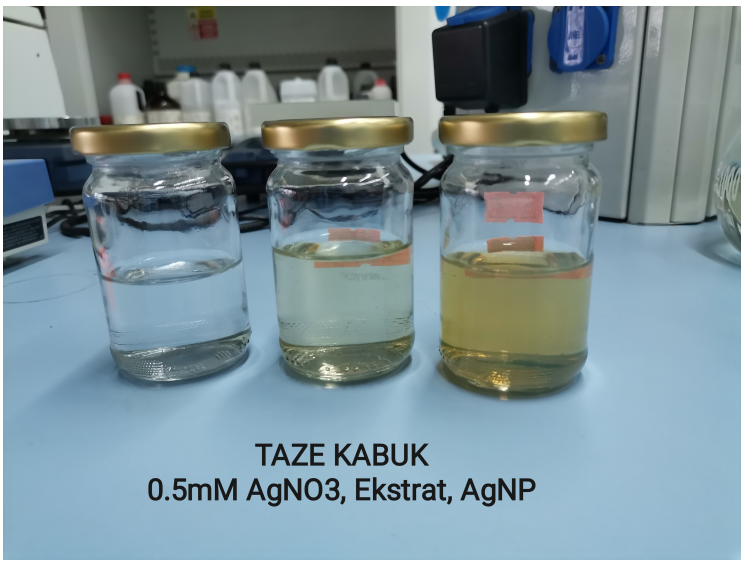
- **Elma:** Ekstrat rengi çok açık sarıdan $AgNO_3$ tuzu ile sentez sonrası açık sarıya dönmüştür.
- **Taze Kabuk:** Ekstrat rengi çok açık sarı iken $AgNO_3$ tuzu ile sentez sonrası açık kahverengiye dönmüştür.
- **Kuru Kabuk:** Ekstrat rengi kahverengi iken $AgNO_3$ tuzu ile sentez sonrası koyu kızılımsı kahverengiye dönmüştür.
- **Elma Suyu:** Ekstrat rengi kahverengi iken $AgNO_3$ tuzu ile sentez sonrası açık kızılımsı kahverengiye dönmüştür.
- **Elma Posası:** Ekstrat rengi açık turuncumsu sarı iken $AgNO_3$ tuzu ile sentez sonrası açık sarıya dönmüştür.

Literatüre göre AgNP oluşumunun göstergesi çözelti renginin reaksiyon sonrasında koyu kahverengiye dönüşmesidir [91]. Bu da iyonik Ag^{+} elementinin indirgendiğini ve metalik gümüş Ag^{0} iyonuna dönüştüğünü göstermektedir [92]. Yapılan deneylerde en iyi renk dönüşümü ve en yüksek AgNP üretiminin Amasya Elmasının kuru kabuk bölümünden oluştuğu görülmüştür.

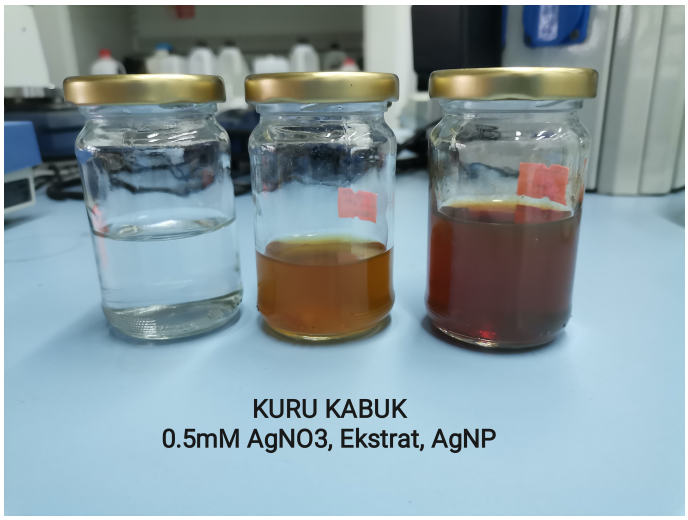
Bu değişimin en iyisi olduğu sonucu UV spektrum analizinde de ortaya çıkmıştır. Bu nedenle bundan sonra yapılan optimizasyon çalışmalarında ve karakterizasyon analizlerinde ekstrat olarak kuru kabukla devam edilmiştir.



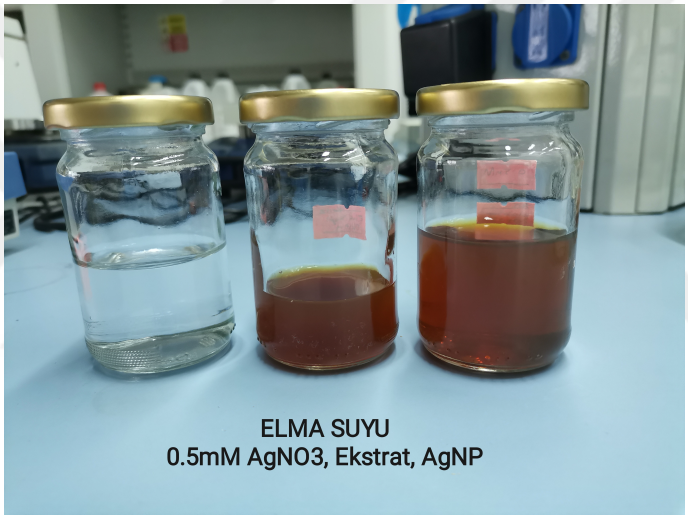
Şekil 6.1 $AgNO_3$ çözeltisi, Amasya Elması ekstratı ve sentezlenen AgNP



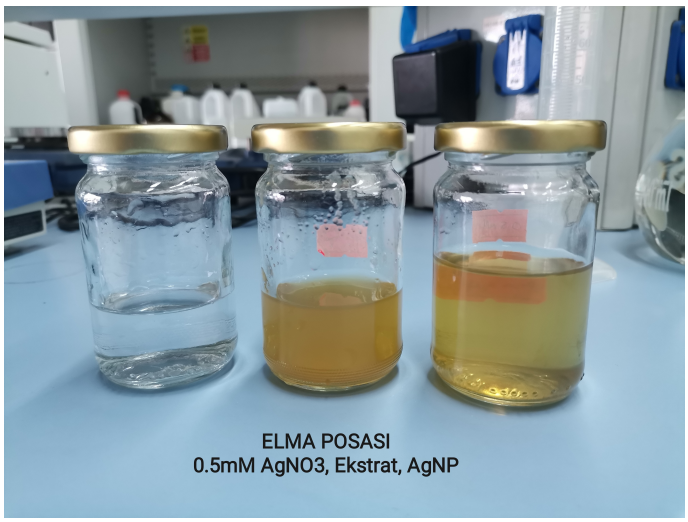
Şekil 6.2 $AgNO_3$ çözeltisi, Amasya Elması taze kabuk ekstratı ve sentezlenen AgNP



Şekil 6.3 $AgNO_3$ çözeltisi, Amasya Elması kuru kabuk ekstratı ve sentezlenen AgNP



Şekil 6.4 $AgNO_3$ çözeltisi, Amasya Elması suyu ekstratı ve sentezlenen AgNP



Şekil 6.5 $AgNO_3$ çözeltisi, Amasya Elması posası ekstratı ve sentezlenen AgNP

6.1.2 AgNP Sentezine Etki Eden Parametrelerin İncelenmesi

6.1.2.1 Ekstrat Miktarı

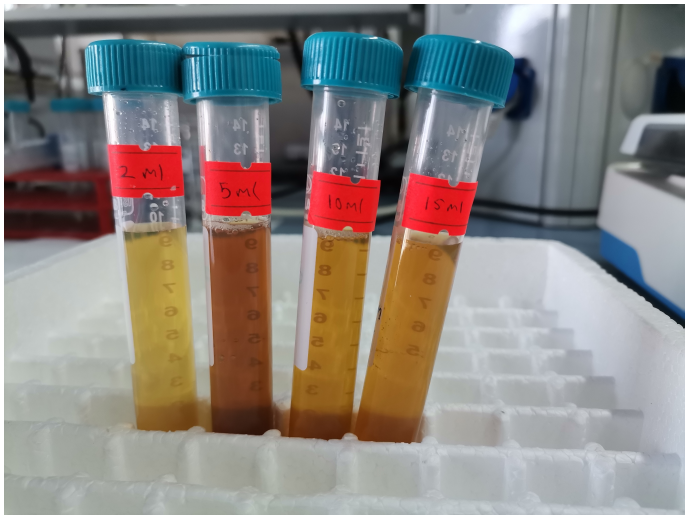
Gümüş Nitrat ($AgNO_3$) ve sıcaklık değerleri sabit tutularak ekstrat miktarı değerleri değiştirilerek gümüş nanopartikül sentezi incelenmiştir. Ekstrat miktarları 2, 5, 10 ve 15 ml olarak çalışılmıştır. En iyi renk değişimi ve en yüksek sonuç 5 ml ekstrat miktarı değerindeki AgNP sentezinde görülmüştür (Şekil 6.6).

6.1.2.2 $AgNO_3$ Miktarı

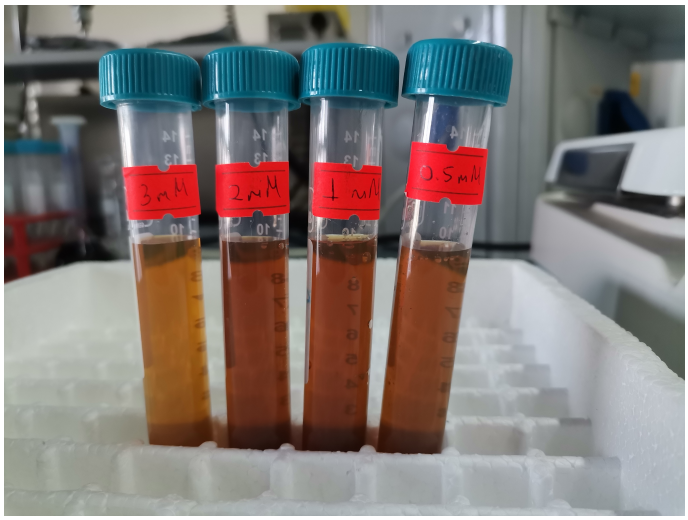
Ekstrat değeri 5 ml olarak sabit tutulup Gümüş Nitrat ($AgNO_3$) konsantrasyon değerleri değiştirilerek gümüş nanopartikül sentezi incelenmiştir. Gümüş Nitrat ($AgNO_3$) konsantrasyon değerleri 0.5, 1, 2 ve 3 mM olarak deneyler yapılmıştır. En iyi renk değişimi ve sonuç 2 mM $AgNO_3$ konstrasyon değerindeki AgNP sentezinde bulunmuştur (Şekil 6.7).

6.1.2.3 Sıcaklık

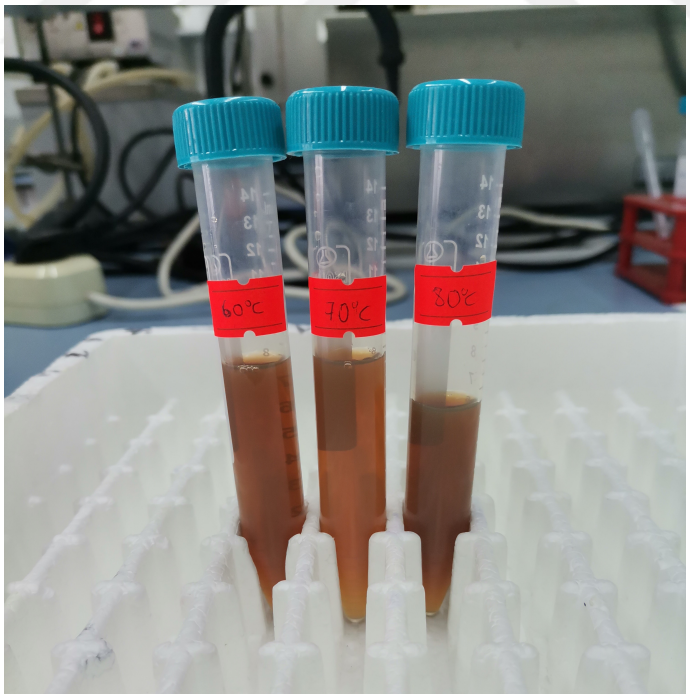
En yüksek bulunan 5 ml ekstrat değeri ve 2 mM $AgNO_3$ konsantrasyon değeri sabit tutulup sıcaklık değerleri değiştirilerek gümüş nanopartikül sentezi incelenmiştir. Sıcaklık değerleri 60, 70 ve 80 °C olarak deneyler yapılmıştır. En iyi renk değişimi ve sonuç 80°C değerindeki AgNP sentezinde bulunmuştur (Şekil 6.8).



Şekil 6.6 Farklı ekstrat değerleri ile AgNP sentezi



Şekil 6.7 Farklı $AgNO_3$ konsantrasyon değerleri ile AgNP sentezi



Şekil 6.8 Farklı sıcaklık değerleri ile AgNP sentezi

6.2 Yanıt Yüzey Yöntemi ile Optimum Şartların Belirlenmesi

6.2.1 ANOVA Analizi

Yapılan ön denemeler sonucunda optimizasyon için parametrelerin sınırları belirlenmiştir. Buna göre 0.5 mM $AgNO_3$ konsantrasyon değerinin AgNP sentezinde çok düşük bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. Aynı şekilde 2 ml ekstrat miktarının da AgNP sentezi için yetersiz kaldığı saptanmıştır. Sıcaklık için ise etkili bir parametre olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Box-Behken Deney Tasarımına göre faktörlerin Low (-1), Medium(0) ve High (+1) şeklinde üç farklı seviyede olması gerekir [93]. Bunun sonucunda ekstrat miktarı (5-10-15 ml), $AgNO_3$ konsantrasyon değeri (1-2-3 mM) ve sıcaklık (60-70-80 °C) aralığında seçilmiştir.

Seçilen parametreler ile Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) kullanılarak Box-Benhken deney tasarımı (BBD) gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu optimizasyon çalışmasında maximum absorbans değerinin elde edilmesi amaçlanmıştır. Bağımsız değişkenlerin (ekstrat miktarı, $AgNO_3$ miktarı, sıcaklık) bağımlı değişken (max. absorbans) üzerine etkilerinin sonuçları Tablo 6.1'de gösterilmiştir.

Her bir deney yapıldıktan sonra $AgNO_3$ çözeltilerinin absorbans değerlerine bakılmış ve maximum absorbans değerleri yanıt olarak kaydedilmiştir. Tablo 6.1'de de görüldüğü üzere bazı deneyler programın önerdiği şekilde tekrarlı olarak yapılmıştır.

Tablo 6.1 Box- Behnken deney tasarımı ile bağımsız değişkenler ve yanıt sonuçları

Deney	**Faktör A**	**Faktör B**	**Faktör C**	**Response**
No	**Ekstrat Miktarı (ml)**	**$AgNO_3$ (mM)**	**Sıcaklık (°C)**	**Max. Absorbans**
1	5	3	70	0.913
2	15	2	60	1.128
3	5	2	60	0.578
4	5	1	70	0.693
5	10	2	70	1.565
6	10	2	70	1.497
7	10	3	60	1.382
8	15	3	70	2.089
9	10	1	60	0.954
10	15	1	70	0.904
11	10	2	70	1.335
12	10	2	70	1.552
13	5	2	80	1.317
14	10	3	80	1.775
15	10	1	80	1.158
16	10	2	70	1.605
17	15	2	80	2.096

Bu değerlere bakılarak programın önerdiği modele göre oluşturulan quadratic polinomal regresyon denklemi aşağıdaki gibidir;

Maksimum Absorbans = -1.78700 +0.128033 Ekstrat miktarı -0.201250 $AgNO_3$ miktarı +0.030050 Sıcaklık +0.053250 Ekstrat miktarı * $AgNO_3$ miktarı -0.008457 Ekstrat miktarı^2

Regresyon denklemindeki negatif çarpanlı değişkenler max. absorbans değerini arttırdığını, pozitif çarpanlı değişkenler ise max. absorbans değerini azalttığını göstermektedir [94].

Deney planı ile belirlenen değerler arasından bulunan max. absorbans değeri için program tarafından yapılan ANOVA analizi Tablo 6.2'de verilmiştir. p-değeri max. kabul edilebilir hata düzeyini göstermektedir[94]. Bu düzey istatistikçi Fisher tarafından 0.05 olarak önerilmiş ve kabul edilmiştir [94, 95]. p-değerinin <0.05 olması önemlidir. Bu değer, yanıt üzerinde hangi değişkenin daha etkin olduğunu söylemektedir [96].

Tablo 6.2 Max. absorbans yanıtının indirgenmiş Quadratic modeli için ANOVA analizi

Kaynak	**SS**	**df**	**MS**	**F-Değeri**	**p-Değeri**	
Model	2.93	5	0.5857	18.01	<0.0001	önemli
A-Ekstrat Miktarı	0.8554	1	0.8554	26.30	0.0003	
B-$AgNO_3$ Miktarı	0.8778	1	0.8778	26.99	0.0003	
C-Sıcaklık	0.7224	1	0.7224	22.21	0.0006	
AB	0.2836	1	0.2836	8.72	0.0132	
A^2	0.1893	1	0.1893	5.82	0.0345	
Artık	0.3578	11	0.0325			
Uyum Eksikliği	0.3132	7	0.0447	4.01	0.0987	önemsiz
Saf Hata	0.0446	4	0.0112			
Cor Total	3.29	16				

(SS: Sum of Squares (Kareler Toplamı), df: Degree of freedom (Serbestlik Derecesi), MS: Mean Square (Kareler Ortalaması))

Yine Tablo 6.2'de görülen A, B, C, AB ve A^2 değişkenlerinin p-değerleri <0.05 olduğu için bu değişkenler önemlidir ve bu değişkenler yanıt üzerinde daha etkili olmuştur. Diğer değişkenlerin p-değerleri >0.05 çıktığı için tabloya koyulmamıştır. Çünkü bu değişkenler ihmal edilebilir ve önemsiz sayılmaktadır. Ayrıca modelin p-değeri <0.0001 çıkması modelin uyumunu ve önemli olduğunu göstermiştir.

Modele ait olan F-değeri (Fisher statictic değeri) 18.01 bulunmuştur. Bu değerin yüksek olması ve p-değerinin 0.0001'den düşük olması ile birlikte modelin tahmin etme yeteneğinin güçlü olduğunu göstermiştir [97]. F-değerinin yüksek olması modelin istatiksel olarak anlamlı olduğunu belirtmiştir [95].

Uyum Eksikliği (Lack of Fit), regresyon analizinde bulunmayan değişkenlerin modelin başarısındaki etkisini göstermektedir [98]. Bu değerinin p>0.05, yani önemsiz çıkması gerekmektedir. Bu modelin anlamlı olduğunu ve tahminlemesinin iyi olduğunu desteklemektedir [97].

Max. absorbans değeri için ANOVA analizi uyum istatistikleri sonuçları ise Tablo 6.3'te verilmiştir. R^2 değeri, deneysel faktörlerin yanıtın değişkenliği üzerinde ne ölçüde katkıda bulunabileceğini göstermektedir [99].

R^2 değeri, 0 ile 1 arasındadır ve 1'e yaklaştıkça model yanıtı tahmin etmede daha sağlam ve doğru bir yaklaşım izlemektedir. Tablo 6.3'te bulunan R^2 değerine göre, bağımsız değişkenlerin biyosentezdeki toplam varyasyonun % 89.11'inde rol oynadığı ve deneysel sonuçların % 89.11'ini açıkladığı görülmüştür [95, 100].

Adj. R^2 ve Pred. R^2 değerlerinin birbirine yakın olması deneysel ve tahmini sonuçların tutarlı olduğunu göstermiştir. Sonuçlara göre aradaki fark 0.2'den bile az olmuştur. Bu da modelin başarısını ortaya koymuştur.

Adeq. Precision değeri, sinyal gürültü oranı ölçerdir. Oranın 4'ten büyük olması istenir. 14.4845 bulunan Adeq. Pre. değeri iyi bir sonuç olmuştur.

Tablo 6.3 Max. absorbans yanıtının Quadratic modeli için ANOVA analizi uyum istatistikleri

Std. Dev.	0.1804
Mean	1.31
C.V. %	13.72
R^2	0.8911
Adjusted R^2	0.8416
Preticted R^2	0.7172
Adeq. Precision	14.4845

Tablo 6.4'teki uyum özetinde sentezdeki deneysel veriler için optimal polinomal modeli belirlemek için elde edilen özetler verilmiştir. Sonuçlara göre, program quadratic modeli önermiştir. Bu modelin düşük standart sapma ve ayrıca yüksek Adj. R^2 ve Pred. R^2 değerleri uyumlu bulunmuştur. Uygun görülen quadratic modele göre ANOVA analizi yapılmıştır.

Tablo 6.4 Deneysel sonuçlar için uyum özeti

Model Özeti İstatistikleri						
Kaynak	**Std. Dev.**	**R^2**	**Adj. R^2**	**Pred. R^2**	**PRESS**	
Linear	0.2528	0.7472	0.6889	0.5407	1.51	
2FI	0.2307	0.8381	0.7410	0.4584	1.78	
Quadratic	0.1641	0.9426	0.8689	0.2780	2.37	Önerilen
Cubic	0.1056	0.9864	0.9457			Aliased
Sıralı Model Kareler Toplamı						
Kaynak	**SS**	**df**	**MS**	**F-Değeri**	**p-Değeri**	
Ort. vs Total	29.36	1	29.36			
Linear vs Ort.	2.46	3	0.8185	12.81	0.0004	
2FI vs Linear	0.2986	3	0.0995	1.87	0.1984	
Quadratic vs 2FI	0.3435	3	0.1145	4.25	0.0524	Önerilen
Cubic vs Quadric	0.1439	3	0.0480	4.30	0.0963	Aliased
Residual	0.0446	4	0.0112			
Total	32.65	17	1.92			

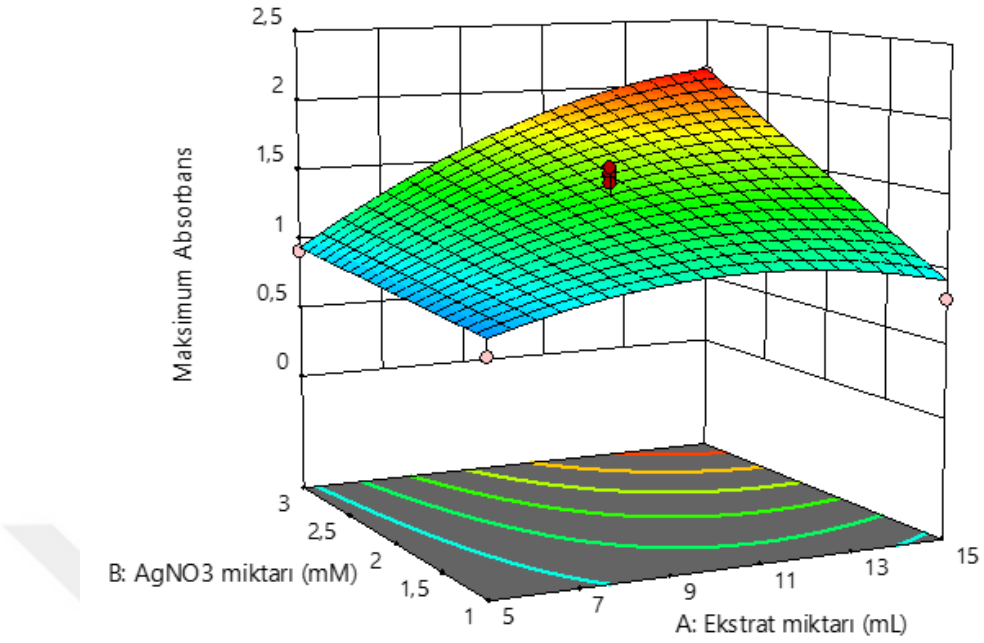
(Std. Dev.: Standard Deviation (Standart Sapma), 2FI: Two Factor İnteraction; PRESS: Sum of Squares of Prediction Error)

Bu deney tasarımında bağımsız değişkenlerin yanıt olarak seçilen max. absorbans üzerine etkilerini inceleyen 3 boyutlu yanıt yüzey grafikleri Şekil 6.9-11'de verilmiştir. Her bir yanıt yüzeyi grafiğinin köşelerinde ve merkezlerinde bulunan noktalar deneysel tasarım noktalarını temsil etmektedir [95].

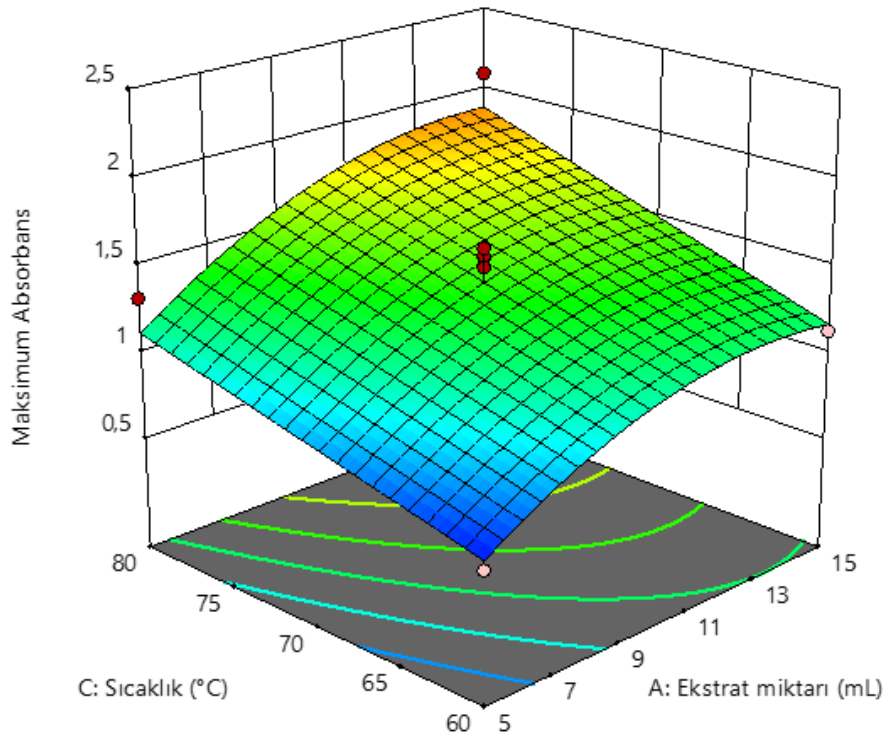
Buna göre Şekil 6.9'da $AgNO_3$ konsantrasyon değeri ve ekstrat miktarı değişkenlerinin yanıt üzerindeki etkileri gösterilmiştir. Sıcaklığın 70°C olarak sabit kabul edildiği grafikte $AgNO_3$ miktarı ve ekstrat miktarı azaldıkça max. absorbans değerinde de bir azalma görülmüştür. Ayrıca en yüksek yanıt değerine doğru orantılı olarak yüksek $AgNO_3$ miktarı ve ekstrat miktarında ulaşılmıştır.

Şekil 6.10'da sıcaklık ve ekstrat miktarının yanıt üzerindeki etkileri gösterilmiştir. $AgNO_3$ miktarının 2 mM olarak sabit kabul edildiği grafikte ekstrat miktarının azalmasıyla sıcaklığında az olduğu noktalarda düşük yanıt değerleri görülmüştür. Yine yüksek max. absorbans değerine yüksek ekstrat ve sıcaklık değerlerinde ulaşıldığı söylenebilir.

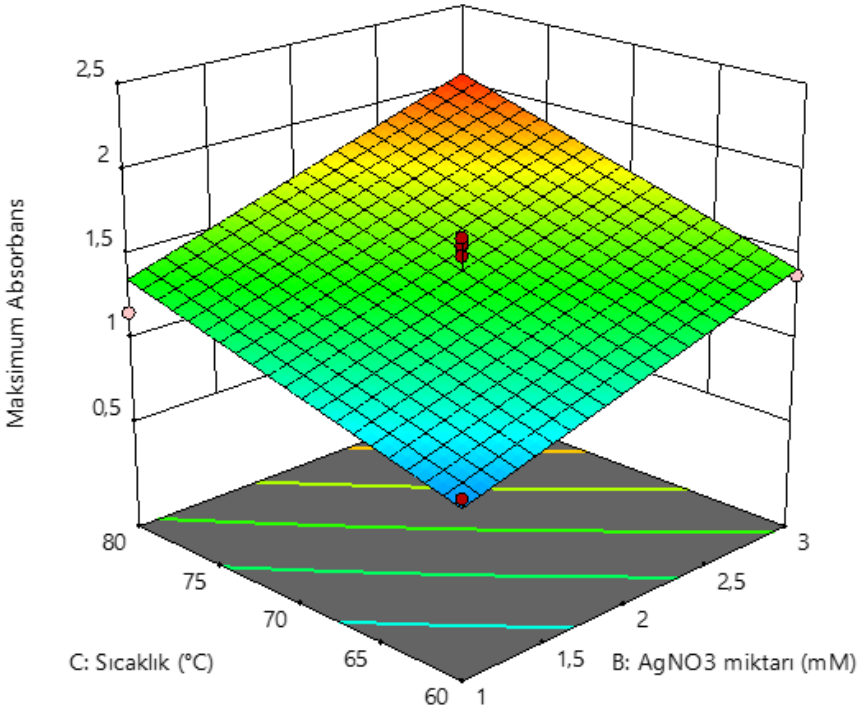
Şekil 6.11'de sıcaklık ve $AgNO_3$ konsantrasyon değeri değişkenlerinin yanıt üzerindeki etkileri gösterilmiştir. Ekstrat miktarının 10 ml olarak sabit kabul edildiği grafikte diğer grafiklere benzer olarak sıcaklık ve $AgNO_3$ miktarının azalması yanıt değerininde de azaltıcı bir etki yapmıştır. Yüksek yanıt değerine ise yine yüksek sıcaklık ve $AgNO_3$ miktarların ulaşılmıştır.



Şekil 6.9 $AgNO_3$ konsantrasyon değeri ve ekstrat miktarının max. absorbans üzerine etkisinin 3D yanıt yüzey grafiği



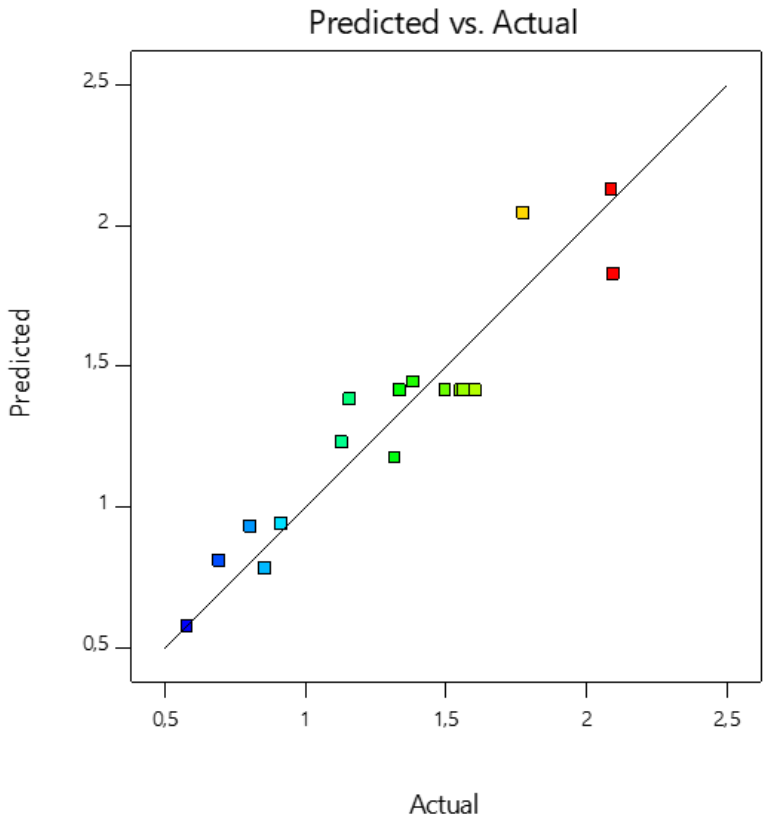
Şekil 6.10 Sıcaklık ve ekstrat miktarının max. absorbans üzerine etkisinin 3D yanıt yüzey grafiği



Şekil 6.11 Sıcaklık ve $AgNO_3$ konsantrasyon değerinin max. absorbans üzerine etkisinin 3D yanıt yüzey grafiği

6.2.2 Modelin Doğrulanması

Şekil 6.12'de tahmini ve gerçek değerler arasındaki uyumu gösteren grafik verilmiştir. Grafikte bulunan veri noktalarının düz çizgiye yakın olması modelin o kadar başarılı ve uyumlu olduğunu göstermiştir. Burada ki grafikte bulunan veri noktalarının genel olarak çizgiye yakınlığının bulunması modelin tahmini ve deneysel değerler arasında uyum olduğunu söylemektedir (R^2= 0.8911).



Şekil 6.12 Tahmini ve gerçek değer arasındaki model denklemi

6.2.3 Optimum Noktanın Belirlenmesi

Optimum noktanın belirlenmesi için programdaki istenirlik fonksiyonu kullanılmıştır. İstenilirlik fonksiyonu, tahmini bir yanıtı istenirlik adı verilen tahmini bir değere dönüştürür [101]. Bu değer, 0 ile 1 arasındadır ve yanıt değeri daha arzu edilir hale geldikçe artarak 1'e yaklaşır.

Yapılan analizde arzulanan nokta maximum olarak seçilmiş ve max. absorbans yanıtının verilebileceği istenirlik derecesi 1 olan 100 çözüm bulunmuştur. Bunların içinden en yüksek tahmini yanıt değerini veren iki farklı koşul Tablo 6.5'te belirtilmiştir.

Bu sonuçlara bakılarak optimum nokta 15 ml ekstrat miktarı, 3 mM $AgNO_3$ konsantrasyon değeri ve 80°C sıcaklık olarak seçilmiştir.

Bu optimum koşullarda yapılan biyosentez sonucunda bulunan yanıt değeri ve tahmini yanıt değeri ile birlikte mutlak hata sonuçları Tablo 6.6'da verilmiştir. Buradaki sonuca göre mutlak hata değerinin %10'dan az çıkması kabul edilebilir düzeydedir [98]. Ayrıca modelin optimum nokta seçmedeki başarısını ve deneysel ve tahmini değerler arasındaki uyumunu göstermiştir.

Tablo 6.5 Optimizasyon çalışmasında BBD modeline göre elde edilen optimum çözüm noktaları

No.	Ekstrat	$AgNO_3$	Sıcaklık	Max. Absorbans	Desirability
1	14.704	2.993	78.042	2.353	1.000
2	14.940	2.930	77.619	2.312	1.000

Tablo 6.6 Optimum nokta belirlemede deney doğrulama sonuçları

Bağımsız Değişkenler ve Yanıt Değişkeni	Optimum Nokta Değerleri	Doğrulama Deneyi Değerleri	Mutlak Hata (%)
Ekstrat Miktarı (ml)	14.940	15	0.401
$AgNO_3$ Miktarı (mM)	2.993	3	0.233
Sıcaklık (°C)	78.042	80	2.508
Max. Absorbans	2.353	2.188	7.012

6.3 Karakterizasyon Analizleri

6.3.1 UV-vis Spektrofotometre Analizi

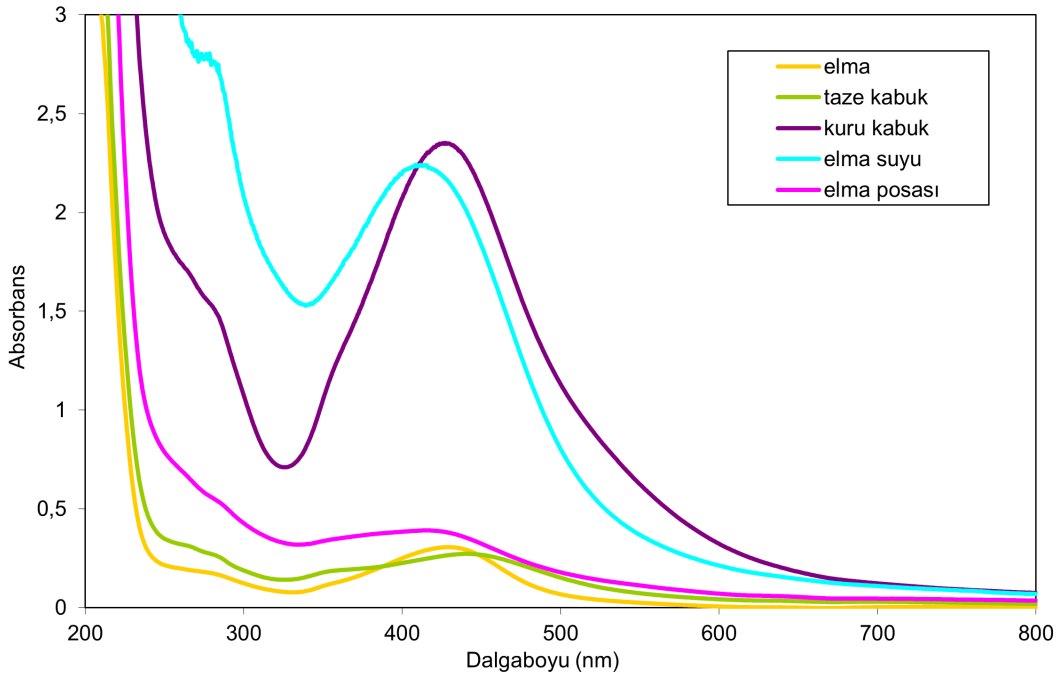
Yapılan sentezler sonrasında Amasya Elmasından üretilen gümüş nanopartiküllerin UV-vis spektrofotometre analizleri yapılmıştır. UV-vis spektrum analizi AgNP'lerin biyoredüksiyonunu ve optik özelliklerini gözlemlemek için önemli bir analiz çeşididir. Metallerin iletim bandındaki serbest bulunan elektronların, görünür bölgedeki ışınların rezonans etkisiyle elektromanyetik alanda uyarılmasına SPR (Yüzey Plazmon Rezonans) denir [102, 103]. Bu uyarım sayesinde metaldeki serbest bulunan elektronlar salınım yaparlar. UV analizi bu SPR bandını uyararak bir ışık saçılımı gerçekleştirir ve SPR bandı gözlemlenir.

Dalgaboyunun büyüklüğü ve genişliği sentezlenen nanopartikülün boyutuna, yoğunluğuna ve şekline bağlıdır [104, 105]. Nanopartiküllerin yapısındaki değişiklik SPR bandının dar veya geniş olmasına yol açar. Dalgaboyunun dar ve yüksek olması nanoyapıdaki monodispersiteyi gösterirken dalgaboyunun geniş ve alçak olması polidispersiteyi gösterir [106].

Parçacık boyutunun değişimi λ_{max} absorbansın SPR bandının kaymasına ve değişmesine yol açar. Artan parçacık boyutuyla λ_{max} plazmon bantı uzun dalga boyu kırmızıya (red-shift) kayar ve plazmon bant genişliği artar [102]. Azalan parçacık boyutuyla ise λ_{max} plazmon bantı kısa dalga boyu maviye (blue-shift) kayar ve plazmon bant genişliği daralır [107, 108]. Bu bulgular SEM görüntüleriyle de desteklenmiştir.

Literatüre göre AgNP'lerin absorbans aralıkları genellikle 400-450 nm arasında değişmektedir [109, 110]. Analizi yapılan UV değerleri literatür ile uyumluluk göstermiştir.

Öncelikle farklı elma bölümlerinden sentezlenen AgNP'lerin UV-vis spektrumuna bakılmıştır. Şekil 6.13'de görüldüğü gibi en yüksek absorbans değerine yaklaşık 413 nm'de ulaşılmış ve bu sonuca kuru kabuk ile sentezlenen AgNP ile varılmıştır. Burada oluşan SPR bandının daha düzgün ve bant genişliğinin yüksek olması ve bandın kırmızıya kayması Amasya Elmasının kuru kabuk bölgesinden nanopartikül üretiminin daha uygun bir seçim olacağını göstermiştir. Bu sonuçtan yola çıkılarak bundan sonraki sentez işlemlerine kuru kabuk kullanılarak devam edilmiştir.



Şekil 6.13 Amasya Elmasının farklı bölümlerinden sentezlenen AgNP UV-vis analizleri

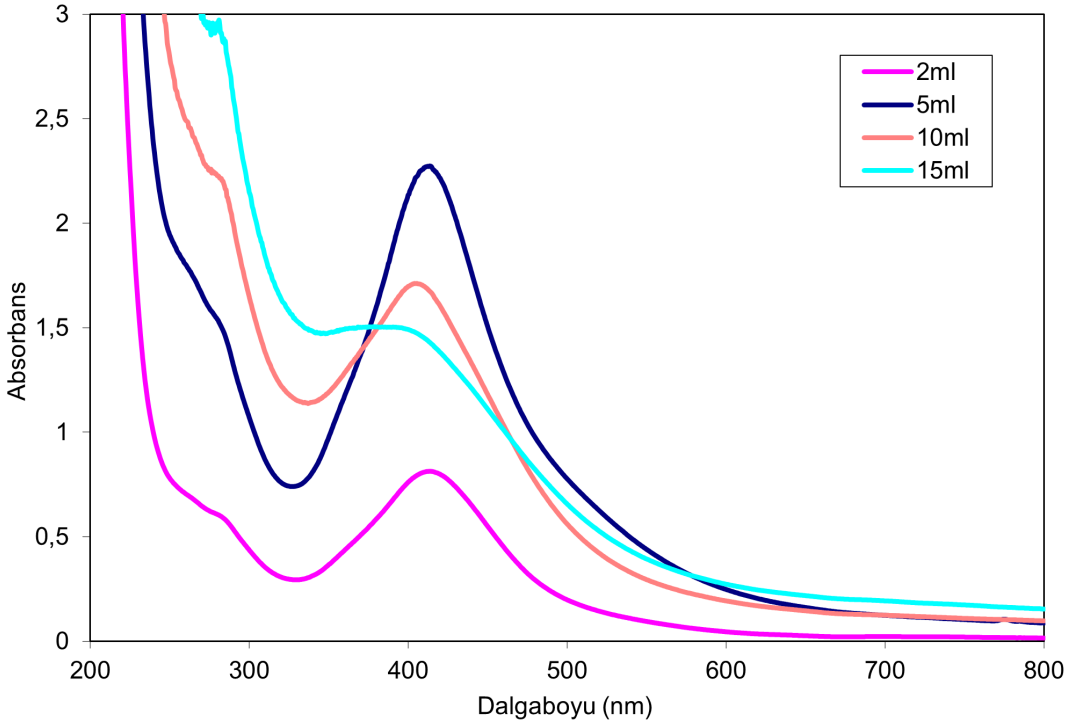
Amasya Elmasından sentezlenen nanopartikülleri etkileyen parametreleri gözlemlemek amacıyla yapılan ön denemelerde elde edilen sonuçların da UV-vis analizlerine bakılmıştır. Şekil 6.14'te değişik ekstrat değerleriyle sentezlenen

AgNP'lerde λ_{max} absorbansına 414 nm'de 5 ml değeriyle ulaşılmıştır. Burada oluşan SPR bantlarının literatürle uyumlu aralıkta olduğu görülmüştür. Ekstrat değerleri değiştirilerek sentezlenen AgNP'lerin SPR bantlarının diğer incelenen parametrelere göre dar ve yüksek olması burada oluşan nanopartiküllerin daha monodispers yapıda olduğunu ve λ_{max} plazmon bantının maviye kaydığını göstermiştir. Buna göre ekstrat değerlerinin değişmesinin nanopartikül çapında küçülme etkisi yaptığı, nanoyapıda ise homojen dağılım gösterdiği söylenebilir.

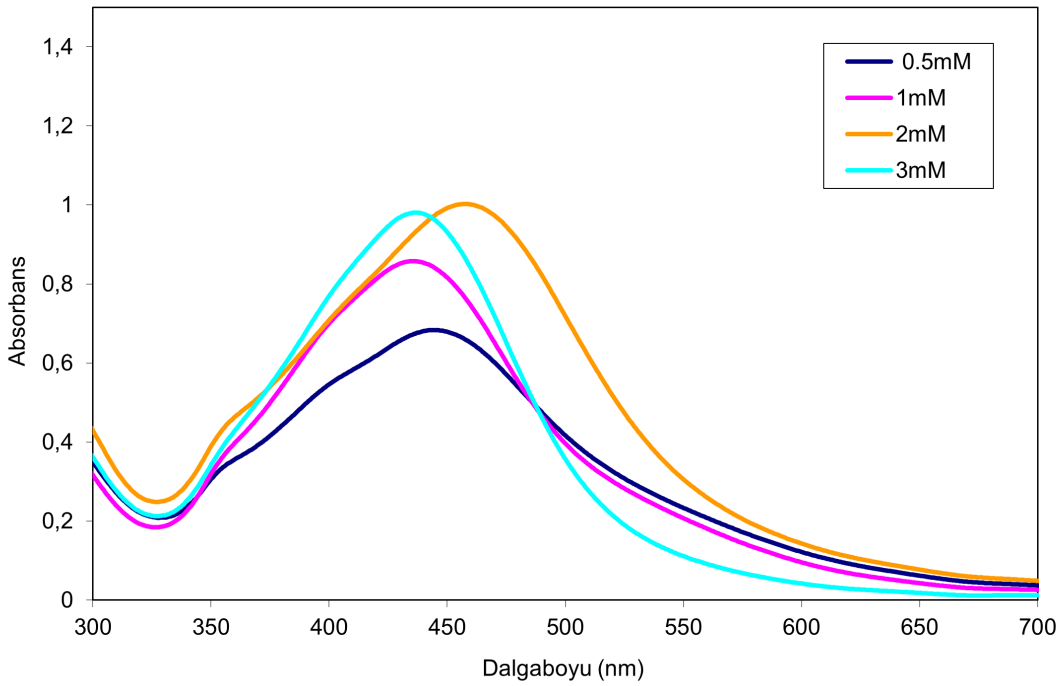
Farklı $AgNO_3$ değerleriyle sentezlenen AgNP değerleri Şekil 6.15'te verilmiştir. Burada en yüksek λ_{max} noktası 2 mM değerinde 456 nm olarak ölçülmüştür. Bu grafikte SPR bantlarının daha geniş ve alçak olduğu sonucuna varılmıştır. Burada oluşan nanopartiküllerin polidispers yapıda olduğu ve plazmon bantının kırmızıya kaydığı görülmüştür. $AgNO_3$ değerlerinin değişmesinin partikül boyutunu ve polisdispersiteyi arttırdığı söylenebilir.

Şekil 6.16'deki farklı sıcaklık değerleriyle sentezlenen AgNP değerlerinde 80 °C'de λ_{max} noktası 458 nm, 70 °C'de 463 nm ve 60 °C'de 466 nm olarak ölçülmüştür. Bu sentezde sıcaklığın artmasıyla max. absorbans artış gösterirken SPR bandı partikül boyutunun azalmasıyla giderek maviye kaymıştır. Sıcaklığın artmasının partikül boyutunda azalmaya neden olduğu ve daha monodispers bir nanoyapı oluşturduğu söylenebilir.

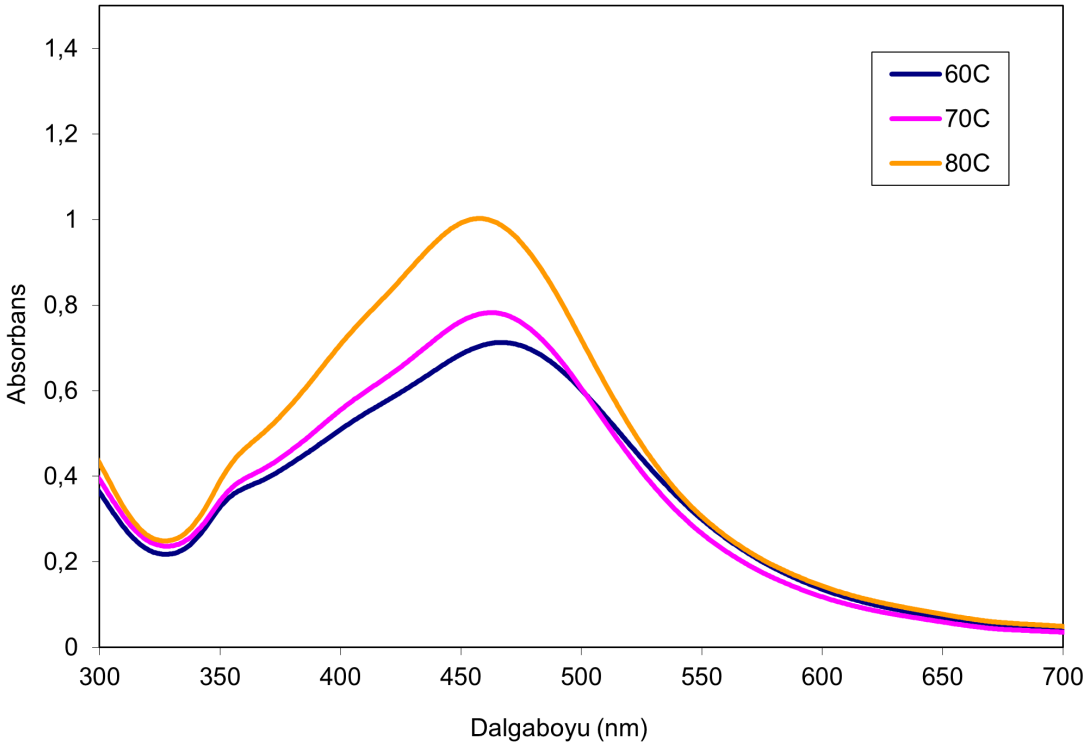
Optimizasyon çalışmalarından elde edilen deney planlanın UV analizleri ise Şekil 6.17'de verilmiştir.



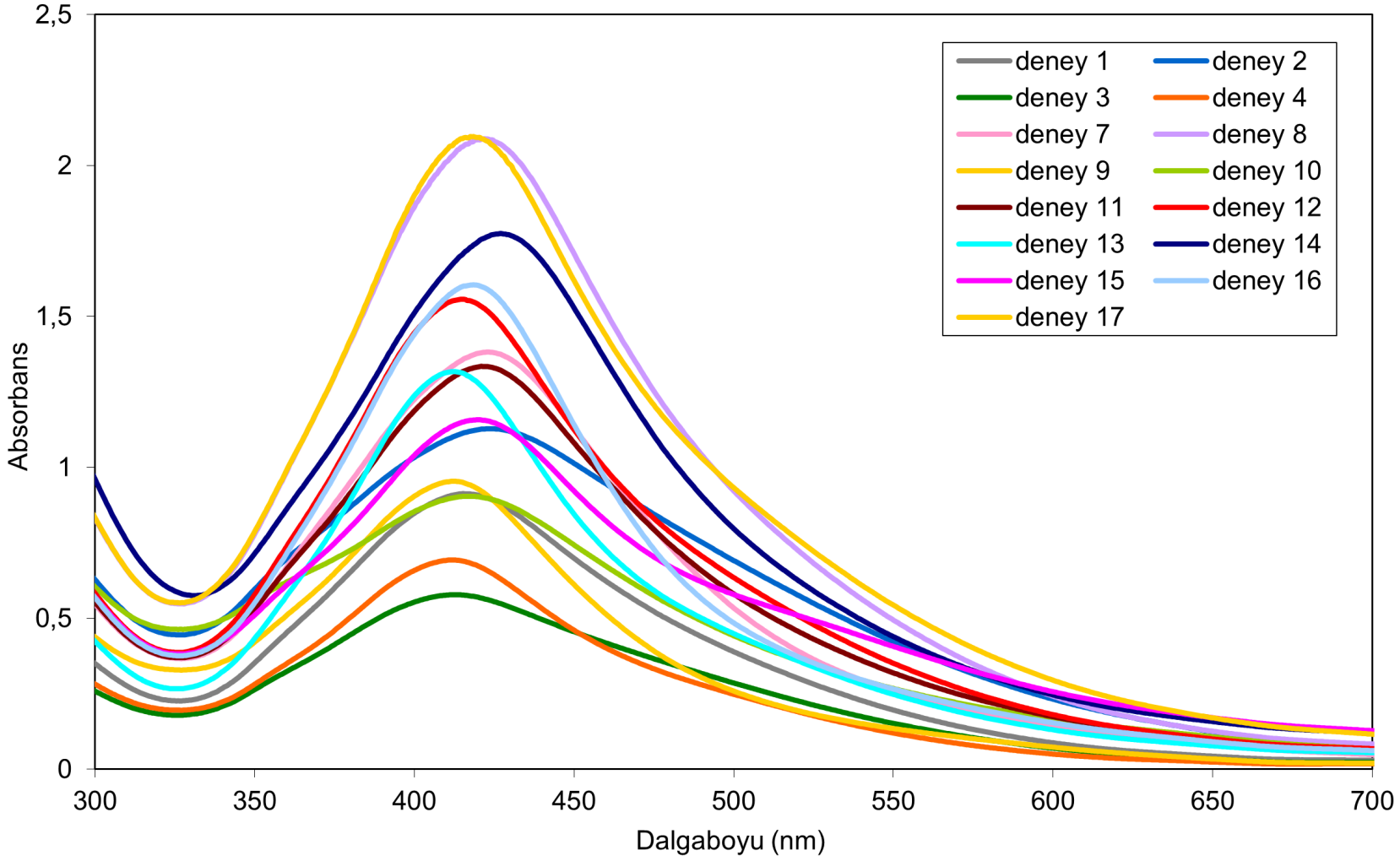
Şekil 6.14 Farklı ekstrat değerleriyle sentezlenen AgNP UV-vis analizleri



Şekil 6.15 Farklı $AgNO_3$ değerleriyle sentezlenen AgNP UV-vis analizleri

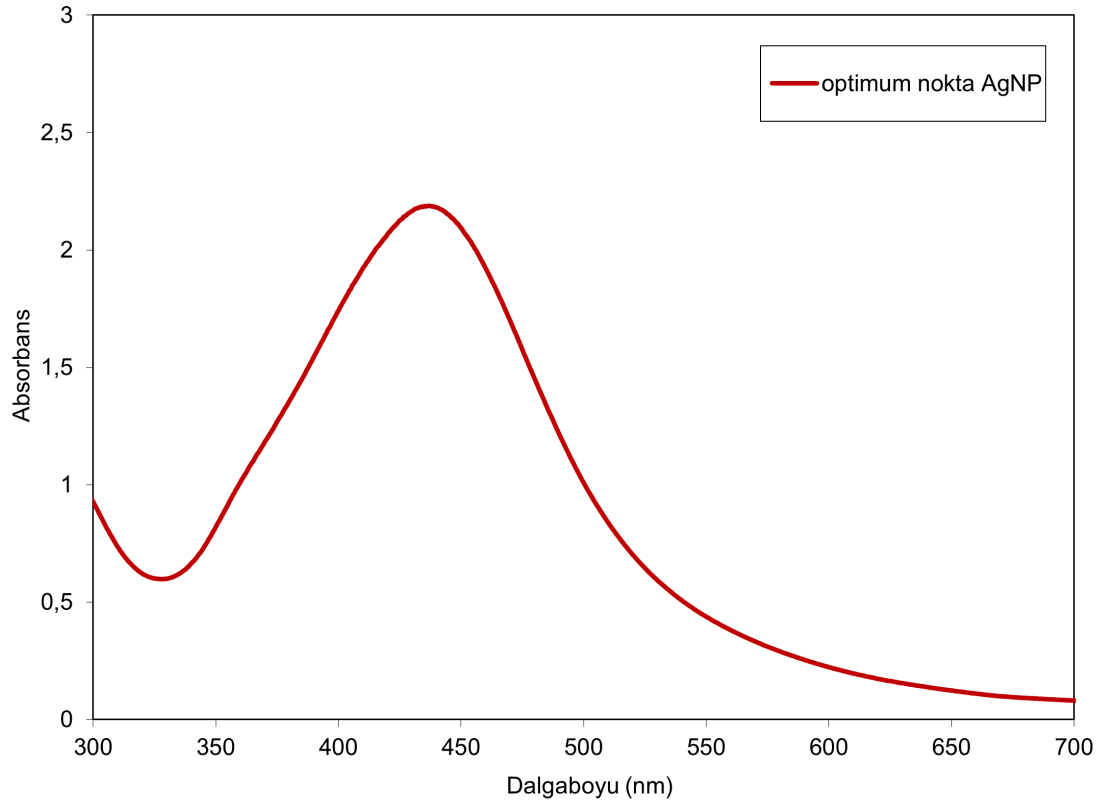


Şekil 6.16 Farklı sıcaklık değerleriyle sentezlenen AgNP UV-vis analizleri



Şekil 6.17 Optimizasyon çalışmaları amacıyla Box-Behnken deney tasarımı kullanılarak sentezlenen AgNP UV-vis analizleri

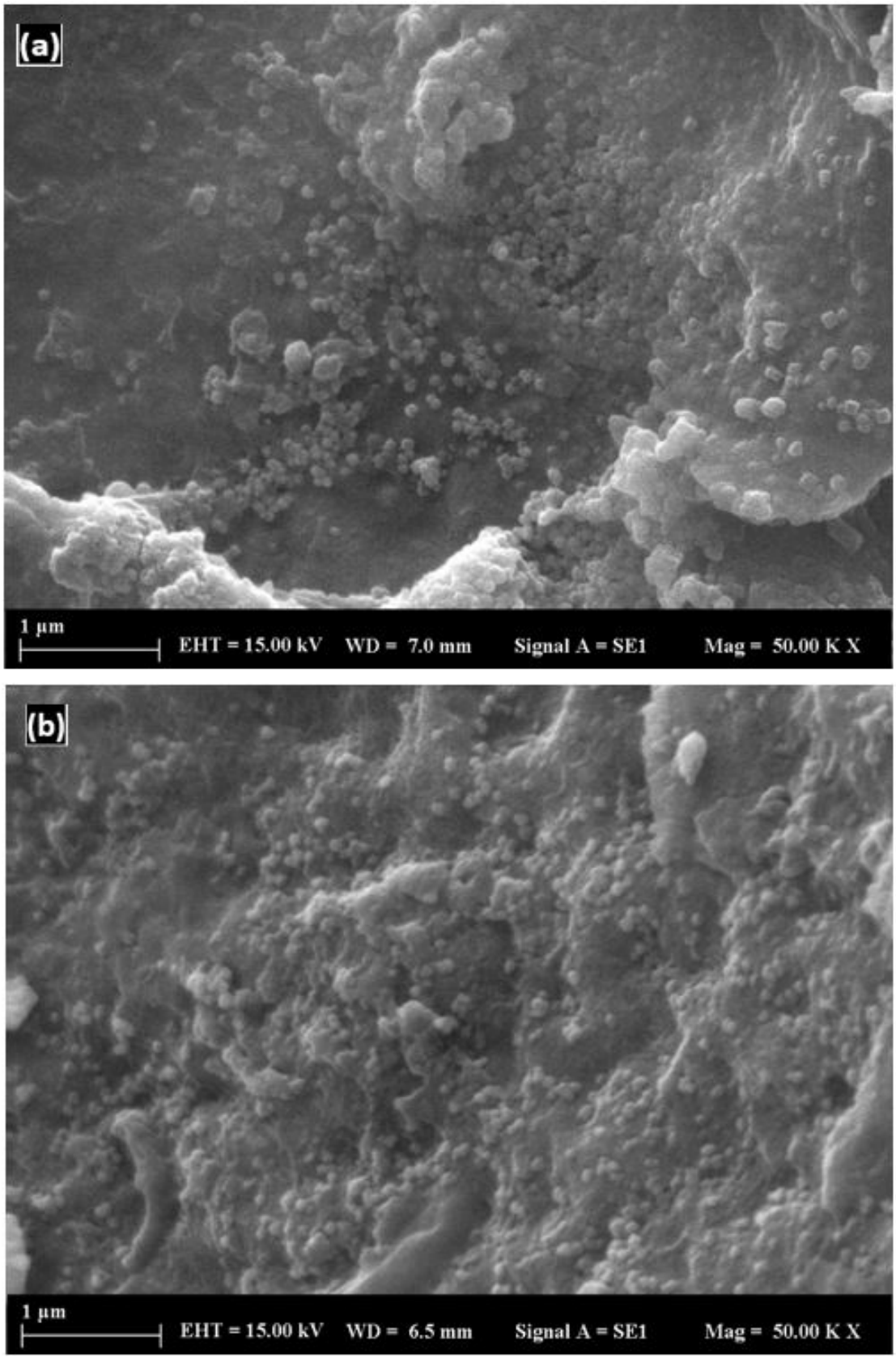
Box-Behnken deney tasarımından elde edilen sonuçlara göre belirlenen optimum noktanın UV-vis analizi Şekil 6.18'de gösterilmiştir. Optimum noktanın spektrumundaki SPR bandı literatüre uyumlu olup (400-450 nm aralığında) 436 nm olarak bulunmuştur. Plazmon bantındaki genişleme polidispers dağılımlı yapıyı ve bantın uzun dalga boyu olan kırmızıya kaydığını göstermiştir. Buna göre nanopartiküllerin çap boyutunun arttığı da söylenebilir.



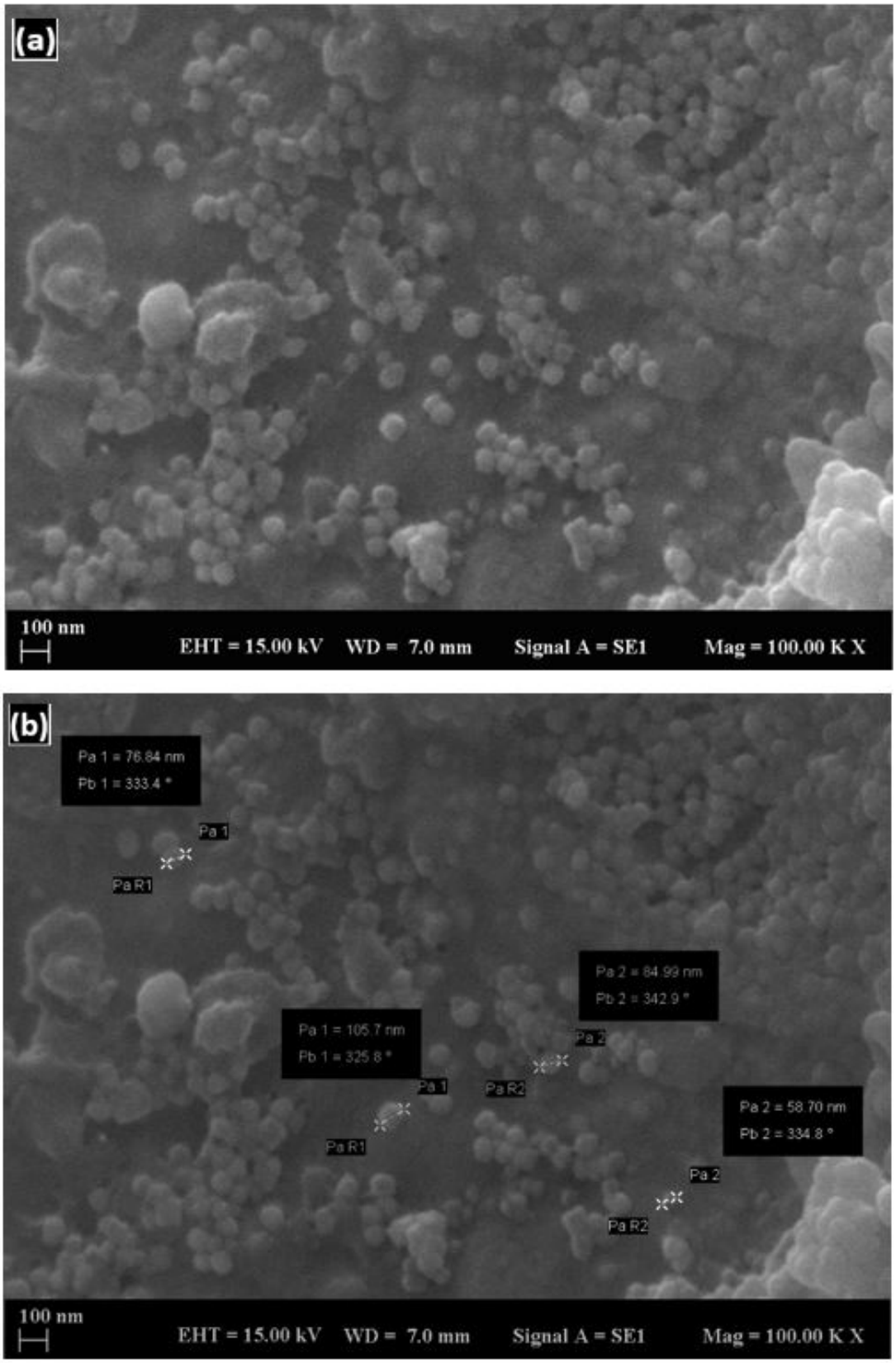
Şekil 6.18 Box-Behnken deney tasarımı sonucu belirlenen optimum nokta AgNP değerinin UV-vis analizi

6.3.2 SEM ve EDAX Analizi

Sentezlenen optimum AgNP'nin boyut ve şekillerini analiz etmek amacıyla gerçekleştirilen SEM analizi görüntüleri Şekil 6.19-6.20'de verilmiştir. Bu görüntüler, oluşan AgNP'lerin küresel boyutta olduğunu ortaya koymuştur. Ortalama AgNP boyutunun yaklaşık 58-105 nm aralığında olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar literatürde sentezlenen AgNP'lerle benzerlik göstermiştir [111–113]. Boyut aralığının geniş olması ve farklı boyutlarda AgNp'lerin oluşması UV analizinde belirlenen polidispersiteyi desteklemektedir. Optimum AgNP'nin SPR bandında dalgaboyunun genişliği (400-450 nm aralığı) ve dalgaboyunun kırmızıya (red shift) kayması SEM görüntülerinde partikül boyutunun büyük olması ile uyuşmuştur.



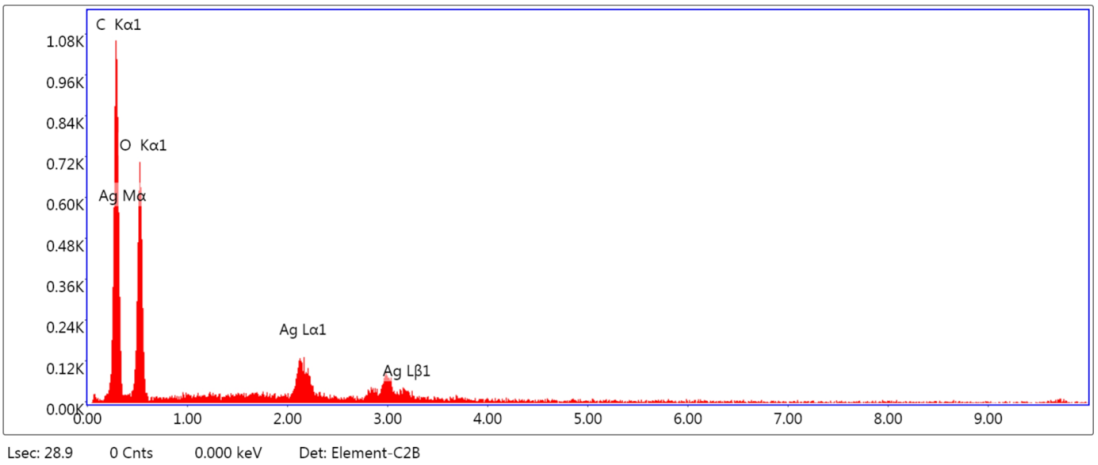
Şekil 6.19 Optimum nokta AgNP'e ait SEM görüntüleri; (a) ve (b) 50.00 büyütme 1μm ölçek



Şekil 6.20 Optimum nokta AgNP'e ait SEM görüntüleri; (a) ve (b) 100.00 büyütme 100 nm ölçek

EDAX Analizi

AgNP'lerin elementel dağılımını analiz etmek amacıyla yapılan EDAX analizi Şekil 6.21'de verilmiştir. Literatür incelendiğinde gümüş nanopartiküllerin yüzey plazmon rezonanslarından dolayı AgNP'lerin genellikle 3 keV civarında pik verdiği görülmüştür [114, 115]. Bu grafikte de 3 keV dolaylarında oluşan optik absorsiyon piki Ag elementinin varlığını kanıtlamıştır. AgNP'lerin başarılı bir şekilde sentezlendiği ortaya çıkmıştır. Ayrıca C ve O elementine ait pikler de görülmüştür. Bu elementlerin yüksek miktarda çıkmasının Amasya Elması'nın yapısında bulunan organik bileşiklerden kaynaklı olduğu düşünülmüştür [116, 117]. C ve O elementlerinin varlığı, metalik gümüşün elementel gümüşe biyoindirgenmesi esnasında alkil zincirinin dahil olduğunu göstermiştir [118]. Ayrıca C elementine analiz sırasında örneklerin karbon bant ile kaplanması nedeniyle ve O elementine de ekstrenin yapısında bulunan serbest aminoasitler ve enzimler nedeniyle rastlanılmış olabileceği düşünülmüştür [114].



Şekil 6.21 Optimum nokta AgNP EDAX analizi

6.3.3 FT-IR Analizi

Sentezlenen optimum AgNP'nin içerdiği fonksiyonel grupları gözlemlemek ve indirgenmenin hangi gruplara bağlanarak yapıldığını analiz etmek amacıyla yapılan FTIR analizi Şekil 6.22 ve Şekil 6.23'te verilmiştir. Amasya Elması ekstratıyla optimum AgNP'nin karşılaştırmalı analizleri yapılmıştır. Buna göre Amasya Elması ekstratında 3321.266 cm^{-1} noktasında görülen titreşim N-H bağını ve alkol ve fenolik bileşiklerdeki H bağının bir özelliği olan O-H bağını temsil etmektedir.

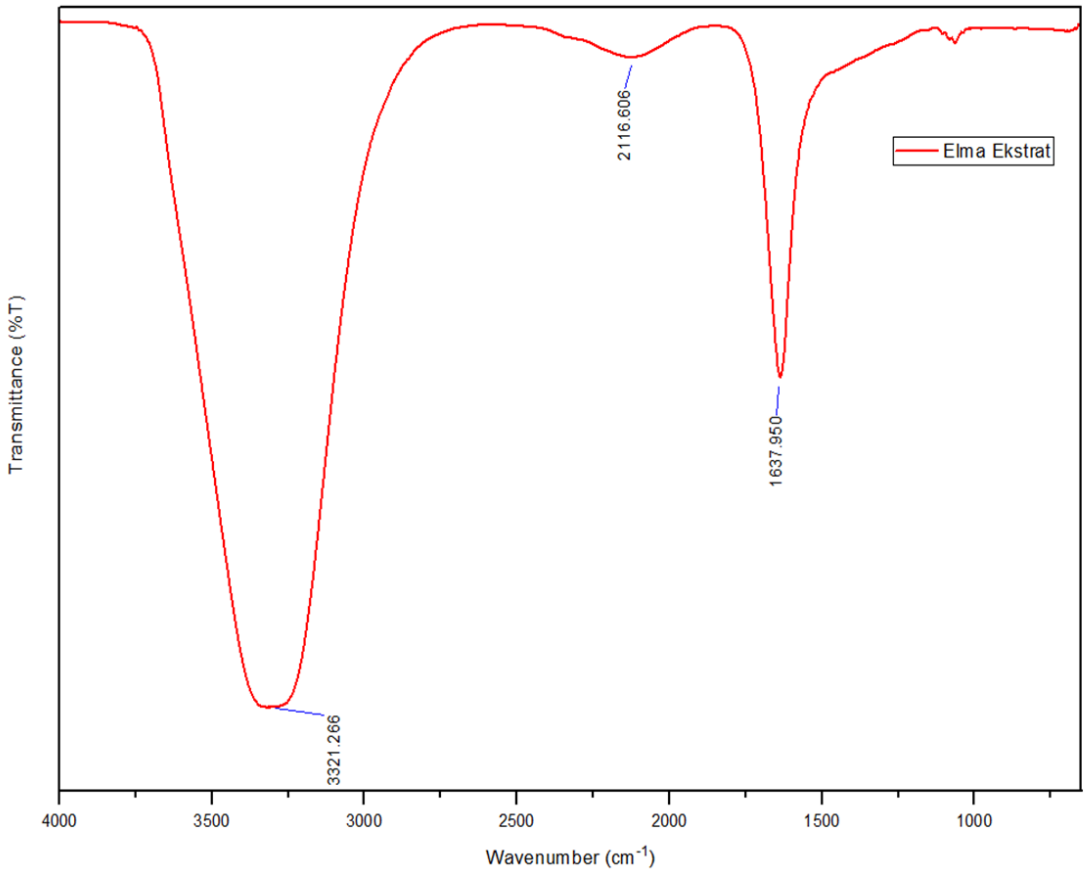
2116.606 cm^{-1} noktasında görülen zayıf titreşim, alkanların gerilmesi olan alifatik C-H grubundan kaynaklanmıştır. 1637.950 cm^{-1} noktasında görülen güçlü titreşim ise amid I grubunun (C-C ve C-N bağları) varlığını belirtmekte olup AgNP'nin yapıda bulunan proteinlerle bağlanma ihtimalini göstermiştir. Bu durum proteinlerdeki amid

gruplarının, yüksek miktarda metalleri bağlama yetenekleri olduğunu desteklemiştir [119, 120].

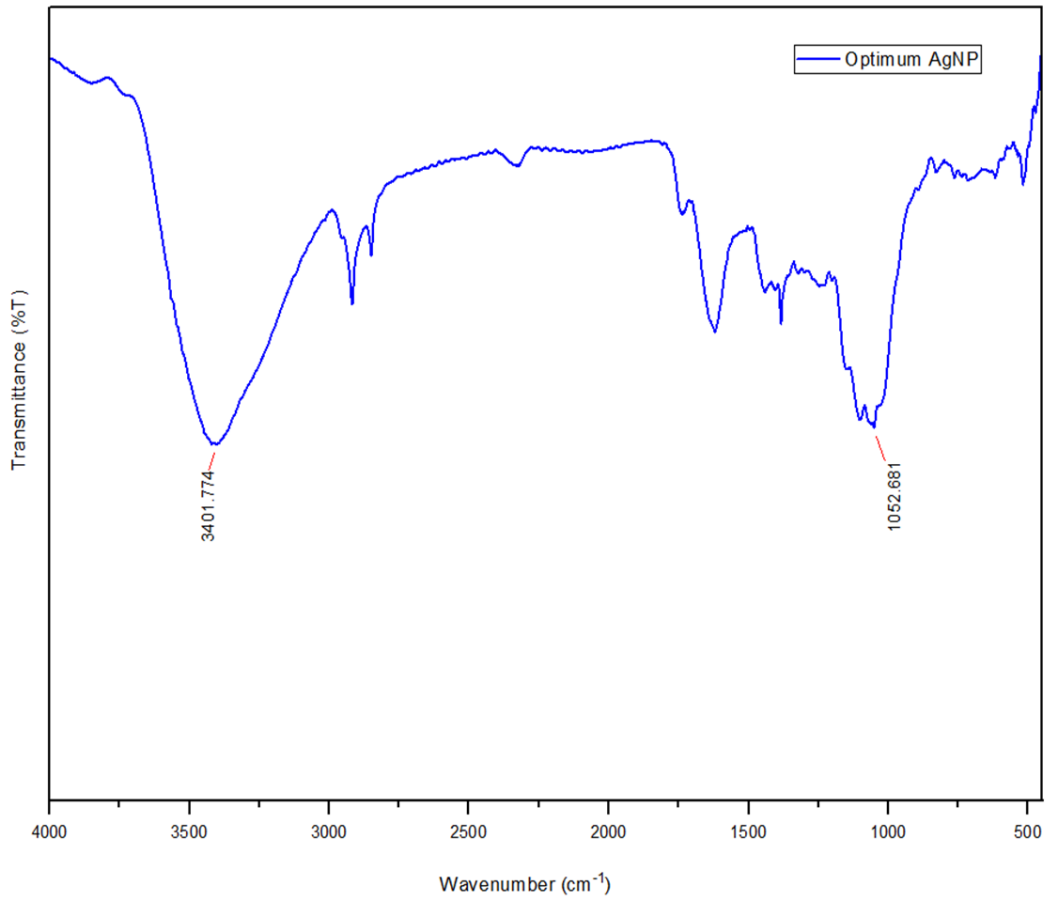
Optimum AgNP FTIR analizinde, 3401.774 cm^{-1} noktasındaki O-H bağının (alkol ve fenolik gruplar) yaptığı titreşimin ekstrattakine göre kayma yaptığı görülmüştür. Ekstratta bulunan C-H grubu titreşiminin burada kaybolduğu belirlenmiştir.

Amid I grubuna ait bantta fazla bir kayma olmamıştır. Proteinlerin serbest amin gruplarının Ag^{+} iyonlarıyla reaksiyona girmesiyle AgNP'lerin buradan bağlandığı söylenebilir. 1051.682 cm^{-1} noktasındaki titreşimin alifatik amin grubundan C-N bağına ve ester ve alkol grubundan C-O bağına ait olduğu görülmüştür [121–123].

Her iki spektrumunda benzer sonuçlar çıkması Amasya Elmasında bulunan çeşitli fonksiyonel grupların varlığını ve oluşan AgNP'lerin içeriğinin bitkisel kaynaklı olduğunu ortaya koymuştur.



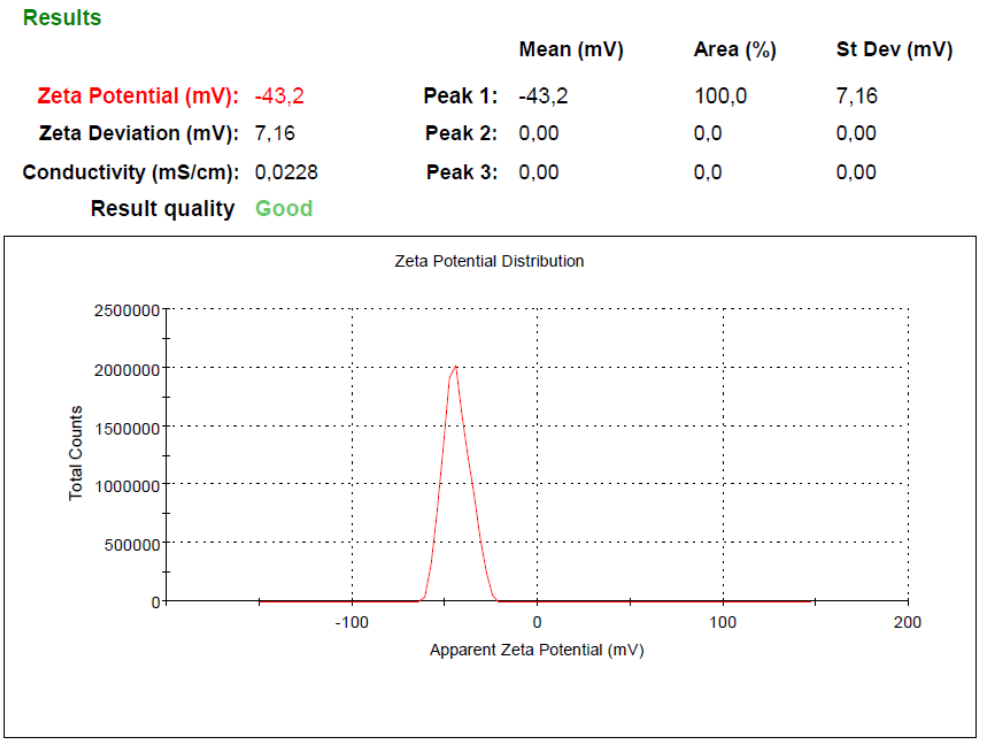
Şekil 6.22 Elma ekstratı FT-IR analizi



Şekil 6.23 Optimum nokta AgNP FT-IR analizi

6.3.4 Zeta Potansiyeli Analizi

Optimum AgNP'nin elektriksel yük dağılımını ve kararlılığını tespit etmek amacıyla yapılan zeta analizi sonuçları Şekil 6.24'te verilmiştir. Nanopartiküllerin zeta potansiyel değerlerinin +30 mV'den büyük ve -30 mV'den az olması bu nanopartiküllerin yüksek kararlılığa sahip olduklarını göstermiştir [124, 125]. Zeta potansiyeli küçük olan partiküllerin elektriksel çekme kuvveti itmeyi aşacağından topaklanma görülür. Zeta potansiyeli büyük olan partiküllerde ise elektriksel itme kuvveti çekmeyi aşacağından topaklanma görülmez [126]. Dolayısıyla itme kuvvetleri yüksek olan nanopartiküller, bir araya gelerek agregasyon oluşturmazlar. Buna göre, optimum AgNP'nin zeta potansiyeli -43.2 mV olarak ölçülmüştür. Bu sonuç sentezlenen AgNP'nin negatif yüklü yüksek kararlılık kapasitesi olduğunu ve partiküller arasında agregasyon oluşmadığını göstermiştir. SEM sonuçları da bu bulguları desteklemiştir.

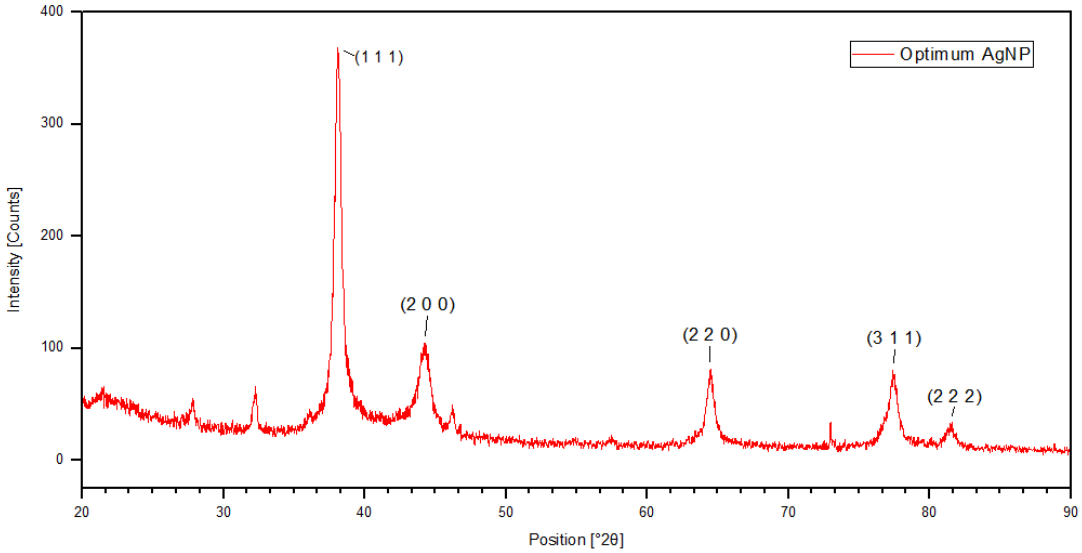


Şekil 6.24 Optimum nokta AgNP Zeta Potansiyeli analizi

6.3.5 XRD Analizi

Optimum AgNP'nin kristal yapısını incelemek amacıyla yapılan XRD analizi Şekil 6.25'te verilmiştir. 2θ açısı değerleri Cu Kα (λ= 1.54056 Å) radyasyonu ile 20° ve 90° aralığında ölçülmüştür. Elde edilen grafikte 38.14°, 44.27°, 64.50°, 77.44° ve 81.55°'de kırınım pikleri görülmüştür. Bu pikler gümüş nanopartiküllerin Bragg

saçılmasındaki (111), (200), (220), (311) ve (222) piklerine karşılık gelmektedir. Bu eşleşmeyle sentezlenen optimum AgNP'nin yüzey merkezli kübik (FCC) kristal yapısına sahip olduğu ortaya konmuştur [127, 128]. Bu veriler, Joint Committee on Powder Diffraction Standards veri tabanı ile uyumlu çıkmıştır (JCPDS dosya no:04–0783) [129]. Amorf yapılı maddeler XRD analizinde geniş pikler gösterirken kristal yapılı maddeler genelde keskin pikler gösterir [130]. Buradan da AgNP'nin kristal yapılı olduğu söylenebilir.



Şekil 6.25 Optimum nokta AgNP XRD analizi

Gümüş nanopartiküllerin ortalama partikül boyutu Debye-Scherrer denklemiyle (4.1) hesaplanmıştır [131].

$$D = \frac{K\lambda}{\beta cos\theta} \tag{6.1}$$

Denklemde,

D; Partikül boyutu (nm),

K; Scherrer sabiti (Küresel kristalitler için K=0.94),

λ; X-Ray dalgaboyu (1.54056 Å),

β; Yarı maximumda tam genişlik (FWHM),

θ; Bragg saçılma açısı ile ifade edilmektedir.

Buna göre yapılan hesaplamalar sonucunda 38.14°, 44.27°, 64.50°, 77.44° ve 81.55°

açılarına karşılık gelen partikül boyutları sırasıyla 29.5 nm, 30.15 nm, 77.05 nm, 55.47 nm, 26.16 nm olarak bulunmuştur. XRD analizinden hesaplanan partikül boyutu değerlerinin SEM görüntülerinden elde edilenlerle uyumlu olduğu görülmüştür.

6.4 Antibakteriyel Aktivite Analizi

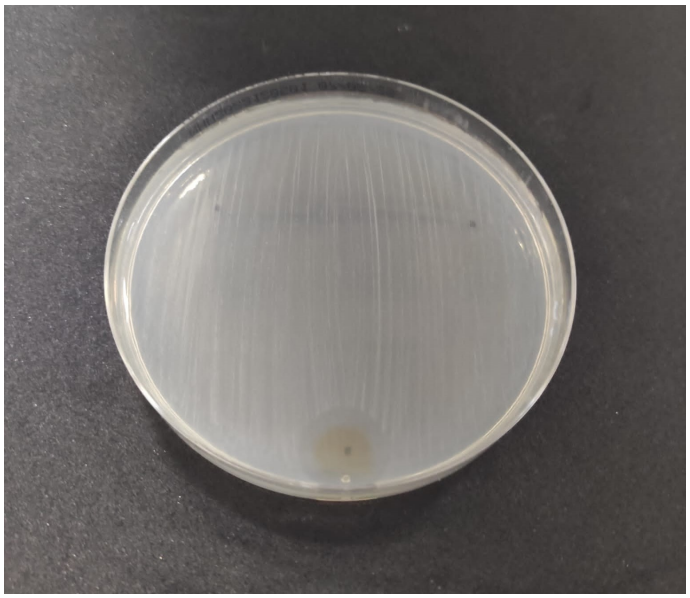
6.4.1 Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçları

Antibakteriyel aktiviteyi belirlemek amacıyla yapılan Disk Difüzyon Yöntemi sonucunda Amasya Elması ekstratı kullanılarak yeşil sentezlenen optimum AgNP'nin Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı antibakteriyel etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre Tablo 6.7'de bakterilere karşı oluşan inhibisyon zonları verilmiştir.

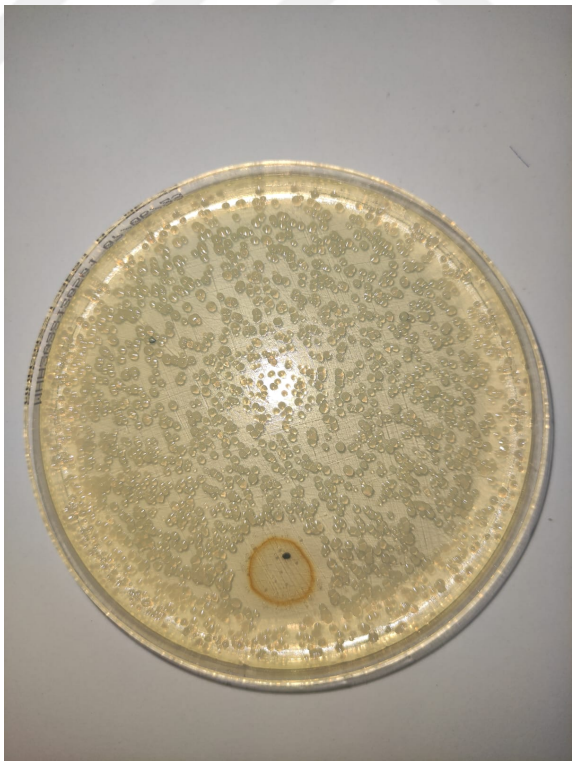
Buna göre optimum AgNP'nin *Streptococcus pyogenes*'e karşı *Escherichia coli*'ye göre daha iyi bir aktivite gösterdiği görülmüştür. Şekil 6.26'da görüldüğü üzere *Streptococcus pyogenes* bakterisinin 16 mmlik bir inhibisyon çapı oluşturduğu ve *Escherichia coli* bakterisinin ise Şekil 6.27'deki gibi 7 mmlik bir inhibisyon çapına sahip olduğu belirlenmiştir. Negatif kontrol olarak kullanılan %0.85'lik Sodyum Klorür ve elma ekstratı test bakterilerine karşı herhangi bir aktivite tespit edilmemiştir. Bu sonuçta AgNP'nin hem varlığını hem de antibakteriyel özelliğini kanıtlamaktadır.

Tablo 6.7 Yeşil sentezlenen Optimum AgNP'nin mikroorganizmalara karşı inhibisyon zonlarının ölçümleri

Örnekler	**Mikroorganizmalara karşı inhibisyon çapı (mm)**	
	Streptococcus pyogenes	*Escherichia coli*
Optimum AgNP	16	7
Elma Ekstratı	-	-
%0.85'lik NaCl	-	-



Şekil 6.26 Amasya Elmasından sentezlenen optimum AgNP'nin *S.pyogenes*'e karşı antibakteriyel aktivitesi



Şekil 6.27 Amasya Elmasından sentezlenen optimum AgNP'nin *E.Coli*'ye karşı antibakteriyel aktivitesi

7
SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında Amasya Elması ekstratı bitkisel kaynak ve indirgeyici ajan olarak kullanılmış ve doğa dostu yeşil sentez yöntemiyle gümüş nanopartiküllerin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Amasya Elmasının iç kısım, taze ve kuru kabuk, posa ve suyu olmak üzere 5 farklı bölümü ekstrat olarak kullanılmış ve nanopartikül sentezine etkisi incelenmiştir. Daha sonra AgNP sentezine etki eden parametreler ekstrat miktarı, $AgNO_3$ konsantrasyonu ve sıcaklık olarak seçilmiş ve bu parametrelerin etkilerini belirlemek amacıyla yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Optimizasyon sonrası belirlenen optimum AgNP değerleri ile sentez gerçekleştirilmiş ve sentezlenen optimum AgNP'nin UV-vis, SEM ve EDAX, Zeta Potansiyel ve XRD analizleri yapılarak karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Ayrıca Disk Difüzyon Yöntemi kullanılarak antibakteriyel özellikleri de incelenmiştir. Tüm bu çalışmalar sonunda ulaşılan sonuçlar aşağıdaki gibidir.

Amasya Elmasının iç kısım, taze ve kuru kabuk, posa ve suyu bölümlerinden her biri 80°C'de su banyosunda 1 saat kaynatılarak ekstrat elde edilmiştir. 15 ml ekstrat ve 0.5 mM $AgNO_3$ tuzu karıştırılmış ardından önce manyetik karıştırıcıda 30 dk daha sonra su banyosunda 80°C'de 2 saat kaynatılmış ve gümüş nanopartikül sentezleri gerçekleştirilmiştir. Burada renk değişimleri ve yapılan UV-vis analizleri sonucunda en yüksek AgNP sentezine kuru kabukta ulaşılmış bu yüzden bundan sonraki çalışmalara kuru kabuk ekstratıyla devam edilmiştir.

Optimizasyon çalışmaları için bazı ön denemeler yapılmış ve parametrelerin sınırları belirlenmiştir. Buna göre 5-15 ml ekstrat miktarı, 1-3 mM $AgNO_3$ konsantrasyonu ve 60-80°C sıcaklık olarak parametre aralığı seçilmiş ve yanıt yüzey yöntemi (RSM) kullanılarak Box-Behnken deney tasarımı yapılmıştır. Yanıt olarak ise Max. absorbans değeri seçilmiştir. 17 farklı deneme ile yapılan çalışma sonucunda modelin uyumlu ve anlamlı olduğu görülmüştür. Bağımsız değişkenlerin, sonuçların % 89.11'inde rol oynadığı belirlenmiştir. Tahmini ve deneysel değerler arasında % 10'dan daha az bir hata değeri çıkmış bu da modelin başarısını göstermiştir. Optimum koşullar ise 15 ml ekstrat miktarı, 3 mM $AgNO_3$ konsantrasyonu ve 80°C sıcaklık olarak belirlenmiştir.

UV-vis spekturum incelemesi her bir aşamada kullanılmıştır. Seçilen kuru kabuk ekstratı en yüksek absorbans değerine 413 nm'de ulaşmıştır. Ön denemelerde yapılan UV-vis analizlerinde değişik ekstrat değerleriyle sentezde max. absorbansa 414 nm'de, değişik $AgNO_3$ konsantrasyonu değerleriyle sentezde 456 nm'de ve değişik sıcaklık değerleriyle sentezde ise 458 nm'de ulaşılmıştır. Burada oluşan SPR bantlarına bakıldığında ekstrat miktarı ve sıcaklık monodispers etki yaparken $AgNO_3$ konsantrasyonu polidispers bir etki göstermiştir. Optimizasyon sonucu sentezlenen optimum AgNP'nin UV analizinde ise max. absorbans değerine 436 nm'de ulaşılmış ayrıca polidispersite ve artan çap boyutu olduğu görülmüştür.

Optimum AgNP'nin SEM analizi sonucunda partiküllerin küresel boyutta ve polidispers yapıda oldukları görülmüştür. Ortalama AgNP parçacık boyutunun 58-105 nm arasında olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu bulguların UV analiziyle uyuştuğu ortaya konmuştur. EDAX analizinde ise gümüş nanopartiküllerin karakteristik özelliği olan 3 keV'de oluşan pikin burada da oluştuğu görülmüş ve sentez sonucunda başarılı bir şekilde AgNP oluştuğu kanıtlanmıştır.

FTIR analizinde Amasya Elması ekstratı ile optimum AgNP karşılaştırılmıştır. Buna göre optimum AgNP'nin yapısında O-H, C-O ve Amid I grubu (C-C ve C-N) fonksiyonel gruplarının olduğu görülmüştür. Ayrıca amin grubunun varlığını belli eden güçlü titreşim piki Ag^+ iyonlarının proteinlerin serbest amin gruplarından bağlanarak reaksiyona girdiği anlaşılmıştır.

Zeta potansiyeli analizinde optimum AgNP'nin elektriksel yükü -43.2 mV olarak bulunmuştur. Bu değerin yüksek olması sentezlenen AgNP'lerin yüksek kararlılığa sahip olduklarını ve agregasyon oluşmadığını göstermektedir. SEM görüntüleriyle de bu bulgular uyuşmaktadır.

Yapılan XRD analizinde ise görülen piklerin Bragg saçılmasındaki (111), (200), (220), (311) ve (222) piklerine karşılık geldiği literatüre bakılarak anlaşılmıştır. Buna göre AgNP'lerin yüzey merkezli kübik (FCC) kristal yapısında olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Debye-Scherrer denklemi kullanılarak hesaplanan her bir pike karşılık gelen gümüş nanopartikül boyutları sırasıyla 29.5 nm, 30.15 nm, 77.05 nm, 55.47 nm, 26.16 nm olarak bulunmuştur. Bu bulgular SEM görüntülerinden ulaşılan sonuçlarla uyumludur.

Disk Difüzyon Metodu ile gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite tayini ile optimum AgNP'nin kullanılan test mikroorganizmalardan her ikisine karşı antibakteriyel özellik gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. En yüksek antibakteriyel aktiviteyi *S.pyogenes*'e karşı 16 mmlik bir inhibisyon zonuyla göstermiştir. Diğer bir test bakterisi olan *E.coli*'ye karşı ise 7 mmlik bir inhibisyon zonu gösterdiği belirlenmiştir.

Tüm sonuçlar sonucunda ilk defa bitkisel kaynak olarak seçilen Türkiye'ye özgü bir tür olan Amasya Elmasından yeşil sentez yöntemiyle gümüş nanopartikül üretilebildiği görülmüş ve incelenen bitkisel kaynağın başarılı ve verimli bir seçim olduğu ortaya konmuştur. Sentez aşamaları optimizasyon gerçekleştirilerek yüksek verimde yapılmış ve en iyi sentez şartları belirlenmiştir.

Amasya Elmasından sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyon analizleri sonucunda ise nanopartiküllerin küresel, polidispers ve kristalit yapıda olduğu UV, SEM ve XRD analizleriyle doğrulanmıştır. Boyutlarının ise SEM ve XRD analizleriyle uyumlu olduğu ortaya konmuştur. Zeta potansiyel analizinde yüksek kararlılığa sahip oldukları görülmüş ayrıca FTIR analizi sonucunda da Amasya Elmasının içinde bulunan fonksiyonel grupların AgNP sentezlemede başarılı olduğu gözlemlenmiştir. Antibakteriyel aktiviye tayininin ise diğer analizlerle birlikte uyumlu olduğu ve sentezlenen optimum AgNP'nin başarılı ve iyi bir antibakteriyel nanoparçacık olduğu anlaşılmıştır. Sentezlenen AgNP'lerin çok çeşitli kullanım alanlarındaki (yara iyileştirme, kanser tedavisinde ilaç taşıyıcı sistemler, tekstil ve gıda sektörü gibi) çalışmalarda kullanılabileceği düşünülmektedir.

İlerleyen çalışmalarda sentez şartları (sıcaklık ve kaynatma süresi gibi) daha fazla incelenip değiştirilerek sentezlenecek nanopartikülün etkinliği arttırılabilir. Ayrıca, antibakteriyel aktiviteyi iyileştirmek amacıyla daha farklı mikroorganizmalar kullanılarak değişik konsantrasyonlarda çalışmalar yapılması düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

[1] D. Hobson, "3.58 - nanotechnology," in *Comprehensive Biotechnology (Second Edition)*, M. Moo-Young, Ed., Second Edition, Burlington: Academic Press, 2011, pp. 683–697.

[2] N. Durán, P. D. Marcato, O. L. Alves, G. I. De Souza, E. Esposito, "Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several fusarium oxysporum strains," *Journal of nanobiotechnology*, vol. 3, no. 1, pp. 1–7, 2005.

[3] S. T. Galatage, A. S. Hebalkar, S. V. Dhobale, O. R. Mali, P. S. Kumbhar, S. V. Nikade, S. G. Killedar, "Silver nanoparticles: Properties, synthesis, characterization, applications and future trends," in *Silver Micro-Nanoparticles*, S. Kumar, P. Kumar, C. S. Pathak, Eds., Rijeka: IntechOpen, 2021, ch. 4.

[4] F. Okafor, A. Janen, T. Kukhtareva, V. Edwards, M. Curley, "Green synthesis of silver nanoparticles, their characterization, application and antibacterial activity," *International journal of environmental research and public health*, vol. 10, no. 10, pp. 5221–5238, 2013.

[5] C. Güzel, O. Kuşkonmaz, "Bir kent imgesi olarak amasya elması," *Dede Korkut Uluslararası Türk Dili veEdebiyatı Araştırmaları Dergisi*, vol. 7, no. 17, pp. 206–221, 2018.

[6] E. Atay, A. N. Atay, "Elmanın kültür tarihi ve taksonomisi," *Platin Elma Derneği Dergisi*, pp. 29–31, 2011.

[7] A. Breslin, "The chemical composition of green plants," *Sciencing, Leaf Group Ltd*, vol. 76, 2017.

[8] K. Heneman, S. Zidenberg-Cherr, "Publication 8313: Phytochemicals," *PDF). University of California Cooperative Extension*, 2008.

[9] E. Demircan, "Elma kabuklarından elde edilen fenolik bileşiklerin lipozom ile enkapsülasyonu," Ph.D. dissertation, İstanbul Teknik üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2016.

[10] R. Palamutoğlu, C. Kasnak, "Elma ekstraktının toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi üzerine değişkenlerin etkilerinin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi," *Journal of the Institute of Science and Technology*, vol. 10, no. 2, pp. 1014–1022, 2020.

[11] Ö. BULANTEKİN, A. KUŞÇU, "Elmada bulunan fitokimyasallar ve diğer zengin bileşenlerin insan sağlığına yararları," *Meyve Bilimi*, vol. 2, 2017.

[12] R. K. Volz, T. K. McGhie, "Genetic variability in apple fruit polyphenol composition in malus× domestica and malus sieversii germplasm grown in new zealand," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 59, no. 21, pp. 11 509–11 521, 2011.

[13] Ş. Karaman, E. Tütem, K. S. Başkan, R. Apak, "Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined hplc–cuprac assay," *Food Chemistry*, vol. 120, no. 4, pp. 1201–1209, 2010.

[14] P. Lin, D. Moore, F. Allhoff, *What is nanotechnology and why does it matter?: from science to ethics*. John Wiley & Sons, 2009.

[15] S. K. Prasad, *Modern concepts in nanotechnology*. Discovery Publishing House, 2008, vol. 5.

[16] S. Bayda, M. Adeel, T. Tuccinardi, M. Cordani, F. Rizzolio, "The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical–physical applications to nanomedicine," *Molecules*, vol. 25, no. 1, p. 112, 2019.

[17] R. Feynman, "An invitation to enter a new field of physics," *Am Phys Soc*, vol. 23, no. 5, 1960.

[18] J. Hulla, S. Sahu, A. Hayes, "Nanotechnology: History and future," *Human & experimental toxicology*, vol. 34, no. 12, pp. 1318–1321, 2015.

[19] N. Taniguchi, "On the basic concept of nanotechnology," *Proceeding of the ICPE*, 1974.

[20] S. E. McNeil, "Nanotechnology for the biologist," *Journal of leukocyte biology*, vol. 78, no. 3, pp. 585–594, 2005.

[21] J. J. Ramsden, "What is nanotechnology?" *Nature (Lond.)*, vol. 344, pp. 524–526, 1990.

[22] M. Lines, "Nanomaterials for practical functional uses," *Journal of Alloys and Compounds*, vol. 449, no. 1-2, pp. 242–245, 2008.

[23] E. Yazici, "Ultrasonik sprey piroliz tekniğiyle küresel gümüş nano-partiküllerinin üretimi," M.S. thesis, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2009.

[24] R. Nagarajan, "Nanoparticles: Building blocks for nanotechnology," in, ACS Publications, 2008.

[25] E. ASTM, "2456-06 "terminology for nanotechnology."," *ASTM international*, vol. 2, 2006.

[26] N. I. Hulkoti, T. Taranath, "Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review," *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, vol. 121, pp. 474–483, 2014.

[27] A. Astefanei, O. Núñez, M. T. Galceran, "Characterisation and determination of fullerenes: A critical review," *Analytica chimica acta*, vol. 882, pp. 1–21, 2015.

[28] P. J. Harris, "Carbon nanotube composites," *International materials reviews*, vol. 49, no. 1, pp. 31–43, 2004.

[29] A. Zielińska, F. Carreiró, A. M. Oliveira, A. Neves, B. Pires, D. N. Venkatesh, A. Durazzo, M. Lucarini, P. Eder, A. M. Silva, *et al.*, "Polymeric nanoparticles: Production, characterization, toxicology and ecotoxicology," *Molecules*, vol. 25, no. 16, p. 3731, 2020.

[30] B. Ashok, N. A. Peppas, M. E. Wechsler, "Lipid-and polymer-based nanoparticle systems for the delivery of crıspr/cas9," *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, vol. 65, p. 102 728, 2021.

[31] S. C Thomas, P. Kumar Mishra, S. Talegaonkar, *et al.*, "Ceramic nanoparticles: Fabrication methods and applications in drug delivery," *Current pharmaceutical design*, vol. 21, no. 42, pp. 6165–6188, 2015.

[32] G. D. Pilli, K. Elumalai, V. A. Muthukumar, P. S. Sundaram, "A revised analysis of current and emerging nano suspension technological approaches for cardiovascular medicine," *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, vol. 11, no. 1, pp. 1–12, 2022.

[33] S. D. Çalhan, M. GÜndoĞan, "Biosynthesis of silver nanoparticles using onosma sericeum willd. and evaluation oftheir catalytic properties and antibacterial and cytotoxic activity," *Turkish journal of chemistry*, vol. 44, no. 6, pp. 1587–1600, 2020.

[34] M. Sovizi, M. Aliannezhadi, "Localized surface plasmon resonance (lspr) of coupled metal nanospheres in longitudinal, transverse and three-dimensional coupling configurations," *Optik*, vol. 252, p. 168 518, 2022.

[35] M. BEYKAYA, A. ÇAĞLAR, "Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (agnp) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma," *Afyon Kocatepe üniversitesi fen ve mühendislik bilimleri dergisi*, vol. 16, no. 3, pp. 631–641, 2016.

[36] E. E. Altuner, "Nano kremlerin üretimi," *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, vol. 4, no. 1, pp. 52–57, 2014.

[37] M. A. Özcan, "Gümüş nanopartiküller ve kanatlı hayvan beslemede kullanımına yönelik çalışmalar," *Tavukçuluk Araştırma Dergisi*, vol. 11, no. 2, pp. 16–20, 2014.

[38] A. Henglein, "Small-particle research: Physicochemical properties of extremely small colloidal metal and semiconductor particles," *Chemical reviews*, vol. 89, no. 8, pp. 1861–1873, 1989.

[39] S. Gürmen, B. Ebin, M. İtü, "Nanopartiküller ve üretim yöntemleri-1," *Metalurji Dergisi*, vol. 150, pp. 31–38, 2008.

[40] S. Raj, R. Trivedi, V. Soni, "Biogenic synthesis of silver nanoparticles, characterization and their applications—a review," *Surfaces*, vol. 5, no. 1, pp. 67–90, 2021.

[41] L. Xu, Y.-Y. Wang, J. Huang, C.-Y. Chen, Z.-X. Wang, H. Xie, "Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety," *Theranostics*, vol. 10, no. 20, p. 8996, 2020.

[42] T. P. Yadav, R. M. Yadav, D. P. Singh, "Mechanical milling: A top down approach for the synthesis of nanomaterials and nanocomposites," *Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 2, no. 3, pp. 22–48, 2012.

[43] X. Zheng, Y. Peng, J. R. Lombardi, X. Cui, W. Zheng, "Photochemical growth of silver nanoparticles with mixed-light irradiation," *Colloid and Polymer Science*, vol. 294, no. 5, pp. 911–916, 2016.

[44] M. Abbas, K. Yan, J. Li, S. Zafar, Z. Hasnain, N. Aslam, N. Iqbal, S. S. Hussain, M. Usman, M. Abbas, *et al.*, "Agri-nanotechnology and tree nanobionics: Augmentation in crop yield, biosafety, and biomass accumulation," *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 10, 2022.

[45] P. Ciambelli, G. La Guardia, L. Vitale, "Nanotechnology for green materials and processes," in *Studies in Surface Science and Catalysis*, vol. 179, Elsevier, 2020, pp. 97–116.

[46] M. Nasrollahzadeh, M. Sajjadi, S. M. Sajadi, Z. Issaabadi, "Green nanotechnology," in *Interface science and technology*, vol. 28, Elsevier, 2019, pp. 145–198.

[47] S. K. Ritter, "Epa data suggest green success," *Chemical & Engineering News*, vol. 93, no. 5, pp. 32–33, 2015.

[48] M. Nasrollahzadeh, Z. Issaabadi, S. M. Sajadi, "Green synthesis of a cu/mgo nanocomposite by cassytha filiformis l. extract and investigation of its catalytic activity in the reduction of methylene blue, congo red and nitro compounds in aqueous media," *RSC advances*, vol. 8, no. 7, pp. 3723–3735, 2018.

[49] H. Kumar, K. Bhardwaj, K. Kuča, A. Kalia, E. Nepovimova, R. Verma, D. Kumar, "Flower-based green synthesis of metallic nanoparticles: Applications beyond fragrance," *Nanomaterials*, vol. 10, no. 4, p. 766, 2020.

[50] A. K. Mittal, Y. Chisti, U. C. Banerjee, "Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts," *Biotechnology advances*, vol. 31, no. 2, pp. 346–356, 2013.

[51] D. Hebbalalu, J. Lalley, M. N. Nadagouda, R. S. Varma, "Greener techniques for the synthesis of silver nanoparticles using plant extracts, enzymes, bacteria, biodegradable polymers, and microwaves," *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, vol. 1, no. 7, pp. 703–712, 2013.

[52] M. S. Akhtar, J. Panwar, Y.-S. Yun, "Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts," *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, vol. 1, no. 6, pp. 591–602, 2013.

[53] A. Rónavári, N. Igaz, D. I. Adamecz, B. Szerencsés, C. Molnar, Z. Kónya, I. Pfeiffer, M. Kiricsi, "Green silver and gold nanoparticles: Biological synthesis approaches and potentials for biomedical applications," *Molecules*, vol. 26, no. 4, p. 844, 2021.

[54] M. Karagöz, "Kiraz sapı özütü kullanarak yeşil sentez yöntemiyle elde edilen gümüş (ag) nanopartiküllerinin antibakteriyel özelliklerinin araştırılması," M.S. thesis, Burdur Mehmet Akif Ersoy üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2020.

[55] E. Bilgiç, "Yeşil sentez yöntemi ile üretilen gümüş nanoparçacıkların kanser etkinliğinin araştırılması," Ph.D. dissertation, Akdeniz üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2020.

[56] B. Akbari, M. P. Tavandashti, M. Zandrahimi, "Particle size characterization of nanoparticles–a practicalapproach," *Iranian Journal of Materials Science and Engineering*, vol. 8, no. 2, pp. 48–56, 2011.

[57] Y. DAĞLIOGLU, "Nanopartikül karakterizasyon yöntemleri ve ekotoksisite deneylerindeki önemi," *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, vol. 30, no. 1, pp. 1–17, 2018.

[58] E. Bulut, "Gümüş nanopartiküllerin polifenollerle sentezi ve karakterizasyonu," M.S. thesis, Sakarya üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.

[59] D. Bonnell, *Scanning probe microscopy and spectroscopy: theory, techniques, and applications*. John Wiley & Sons, 2000.

[60] T. BÜYÜKSIRIT, H. Kuleaşan, "Fourier dönüşümlü kizilötesi (ftır) spektroskopisi ve gıda analizlerinde kullanımı," *Gıda*, vol. 39, no. 4, pp. 235–241, 2014.

[61] X. Dai, R. G. Compton, "Gold nanoparticle modified electrodes show a reduced interference by cu (ıı) in the detection of as (ııı) using anodic stripping voltammetry," *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, vol. 17, no. 14, pp. 1325–1330, 2005.

[62] M. Biçer, "Bakır nanopartiküllerinin sentezi ve karakterizasyonu," M.S. thesis, Sakarya Üniversitesi, 2008.

[63] M. Üreyen, "Nanoteknoloji ve tekstil uygulamaları," *Gemsan Teknik Bülten, Mayıs-Ağustos*, pp. 2–7, 2006.

[64] B. Zewde, A. Ambaye, J. Stubbs Iii, D. Raghavan, "A review of stabilized silver nanoparticles–synthesis, biological properties, characterization, and potential areas of applications," *Nanomed*, vol. 4, no. 1043, pp. 1–14, 2016.

[65] K.-H. Cho, J.-E. Park, T. Osaka, S.-G. Park, "The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient," *Electrochimica Acta*, vol. 51, no. 5, pp. 956–960, 2005.

[66] P. Prakash, P. Gnanaprakasam, R. Emmanuel, S. Arokiyaraj, M. Saravanan, "Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extract of mimusops elengi, linn. for enhanced antibacterial activity against multi drug resistant clinical isolates," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 108, pp. 255–259, 2013.

[67] V. Gopinath, D. MubarakAli, S. Priyadarshini, N. M. Priyadharsshini, N. Thajuddin, P. Velusamy, "Biosynthesis of silver nanoparticles from tribulus terrestris and its antimicrobial activity: A novel biological approach," *Colloids and surfaces B: biointerfaces*, vol. 96, pp. 69–74, 2012.

[68] H. Hammamchi, "Biyolojik yollar ile sentezlenen organik/inorganik nanopartiküllerin biyoaktivitelerinin belirlenmesi ve tedavi amaçlı kullanımları," Ph.D. dissertation, Hacettepe üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2019.

[69] B. Koç, F. Kaymak-Ertekin, "Yanıt yüzey yöntemi ve gıda işleme uygulamaları," *Gıda*, vol. 35, no. 1, pp. 1–8, 2010.

[70] R. H. Myers, D. C. Montgomery, C. M. Anderson-Cook, *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments, 2nd edition*. John Wiley and Sons, 1995.

[71] E. U. Ergül, C. Gezegin, A. YILDIZ, "Yanıt yüzey yöntemi ve genetik algoritma kullanılarak transformatör sargı en sıcak nokta sıcaklığının modellenmesi ve optimizasyonu," *Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi*, vol. 10, no. 2, pp. 467–480, 2019.

[72] L. M. S. Pereira, T. M. Milan, D. R. Tapia-Blácido, "Using response surface methodology (rsm) to optimize 2g bioethanol production: A review," *Biomass and Bioenergy*, vol. 151, p. 106 166, 2021.

[73] S. C. Ferreira, R. Bruns, H. S. Ferreira, G. D. Matos, J. David, G. Brandão, E. P. da Silva, L. Portugal, P. Dos Reis, A. Souza, *et al.*, "Box-behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods," *Analytica chimica acta*, vol. 597, no. 2, pp. 179–186, 2007.

[74] E. Velayi, R. Norouzbeigi, "Fabrication of epoxy/sio2/zno superhydrophobic nanocomposite mesh membranes for oil-water separation: Correlating oil flux to fabrication parameters via box-behnken design," *Applied Surface Science*, vol. 611, p. 155 594, 2023.

[75] A. Mohammed, A. Mohamed, N. E.-A. El-Naggar, H. Mahrous, G. M. Nasr, A. Abdella, R. H. Ahmed, S. Irmak, M. S. Elsayed, S. Selim, *et al.*, "Antioxidant and antibacterial activities of silver nanoparticles biosynthesized by moringa oleifera through response surface methodology," *Journal of Nanomaterials*, vol. 2022, 2022.

[76] M. A. Al Mashud, M. Moinuzzaman, M. S. Hossain, S. Ahmed, G. Ahsan, A. Reza, R. B. A. Ratul, M. H. Uddin, M. A. Momin, M. A. H. M. Jamal, "Green synthesis of silver nanoparticles using cinnamomum tamala (tejpata) leaf and their potential application to control multidrug resistant pseudomonas aeruginosa isolated from hospital drainage water," *Heliyon*, e09920, 2022.

[77] S. Ibrahim, Z. Ahmad, M. Z. Manzoor, M. Mujahid, Z. Faheem, A. Adnan, "Optimization for biogenic microbial synthesis of silver nanoparticles through response surface methodology, characterization, their antimicrobial, antioxidant, and catalytic potential," *Scientific Reports*, vol. 11, no. 1, pp. 1–18, 2021.

[78] P. Kanniah, P. Chelliah, J. R. Thangapandi, G. Gnanadhas, V. Mahendran, M. Robert, "Green synthesis of antibacterial and cytotoxic silver nanoparticles by piper nigrum seed extract and development of antibacterial silver based chitosan nanocomposite," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 189, pp. 18–33, 2021.

[79] L. V. Hublikar, S. V. Ganachari, N. Raghavendra, V. B. Patil, N. R. Banapurmath, "Green synthesis silver nanoparticles via eichhornia crassipes leaves extract and their applications," *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, vol. 4, p. 100 212, 2021.

[80] X. Sun, H. Zhang, J. Wang, M. Dong, P. Jia, T. Bu, Q. Wang, L. Wang, "Sodium alginate-based nanocomposite films with strong antioxidant and antibacterial properties enhanced by polyphenol-rich kiwi peel extracts bio-reduced silver nanoparticles," *Food Packaging and Shelf Life*, vol. 29, p. 100 741, 2021.

[81] S. Ringwal, A. S. Bartwal, S. C. Sati, "Photo-catalytic degradation of different toxic dyes using silver nanoparticles as photo-catalyst, mediated via citrus aurantium peels extract," *Journal of the Indian Chemical Society*, vol. 98, no. 12, p. 100 221, 2021.

[82] N. Swilam, K. A. Nematallah, "Polyphenols profile of pomegranate leaves and their role in green synthesis of silver nanoparticles," *Scientific Reports*, vol. 10, no. 1, pp. 1–11, 2020.

[83] M. Hekmati, S. Hasanirad, A. Khaledi, D. Esmaeili, "Green synthesis of silver nanoparticles using extracts of allium rotundum l, falcaria vulgaris bernh, and ferulago angulate boiss, and their antimicrobial effects in vitro," *Gene Reports*, vol. 19, p. 100 589, 2020.

[84] Z. A. Ali, R. Yahya, S. D. Sekaran, R. Puteh, "Green synthesis of silver nanoparticles using apple extract and its antibacterial properties," *Advances in Materials Science and Engineering*, vol. 2016, 2016.

[85] S. Majeed, M. Khanday, "Green synthesis of silver nanoparticles using bark extract of salix alba and its antimicrobial effect against bacteria isolated from dental plaque," *Oriental Journal of Chemistry*, vol. 32, no. 3, pp. 1611–1618, 2016.

[86] K. Roy, C. Sarkar, C. Ghosh, "Green synthesis of silver nanoparticles using fruit extract of malus domestica and study of its antimicrobial activity," *Dig. J. Nanomater. Biostruct*, vol. 9, no. 3, pp. 1137–1147, 2014.

[87] I. R. Bunghez, R. C. Fierascu, O. Dumitrescu, I. Fierascu, R. M. Ion, "Characterization of silver nanoparticles obtained by lavandula angustifolia extract," *Rev. Roum. Chim*, vol. 60, no. 5-6, pp. 515–519, 2015.

[88] V. Thamilselvi, K. Radha, "Synthesis of silver nanoparticles from pseudomonas putida ncım 2650 in silver nitrate supplemented growth medium and optimization using response surface methodology.," *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures (DJNB)*, vol. 8, no. 3, 2013.

[89] K. Paulkumar, G. Gnanajobitha, M. Vanaja, S. Rajeshkumar, C. Malarkodi, K. Pandian, G. Annadurai, "Piper nigrum leaf and stem assisted green synthesis of silver nanoparticles and evaluation of its antibacterial activity against agricultural plant pathogens," *The Scientific World Journal*, vol. 2014, 2014.

[90] A. Khumaeni, T. Istanti, E. Hidayanto, I. Nurhasanah, "Characteristics of tin oxide nanoparticles produced by pulsed laser ablation technique in various concentrations of chitosan liquid and their potential application as an antibacterial agent," *Results in Engineering*, vol. 16, p. 100 742, 2022.

[91] P. Manivasagan, J. Venkatesan, K. Senthilkumar, K. Sivakumar, S.-K. Kim, "Biosynthesis, antimicrobial and cytotoxic effect of silver nanoparticles using a novel nocardiopsis sp. mbrc-1," *BioMed research international*, vol. 2013, 2013.

[92] G. Bayğu, "Cimin üzümü yaprağı kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle elde edilen gümüş nanopartikülünün genotoksik etkisinin kanat benek testi ile belirlenmesi," M.S. thesis, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2020.

[93] M. S. Hasnain, M. N. Javed, M. S. Alam, P. Rishishwar, S. Rishishwar, S. Ali, A. K. Nayak, S. Beg, "Purple heart plant leaves extract-mediated silver nanoparticle synthesis: Optimization by box-behnken design," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 99, pp. 1105–1114, 2019.

[94] G. Tunca, "Gümüş nanopartiküllerin mikobiyosentezi: Optimizasyon ve karakterizasyon," M.S. thesis, Eskişehir Osman Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2021.

[95] H. Barabadi, S. Honary, P. Ebrahimi, A. Alizadeh, F. Naghibi, M. Saravanan, "Optimization of myco-synthesized silver nanoparticles by response surface methodology employing box-behnken design," *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, vol. 49, no. 2, pp. 33–43, 2019.

[96] M. D. TURAN, H. S. ALTUNDOĞAN, "Hidrometalurjik araştirmalarda yanit yüzey yöntemlerinin (yyy) kullanimi," *Bilimsel Madencilik Dergisi*, vol. 50, no. 3, pp. 11–23, 2011.

[97] F. K. Altuncu, "Tarhun ekstraktı ile gümüş nanopartikül sentezi," M.S. thesis, Bayburt Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, 2021.

[98] H. Yoğurtçu, "Optimization of microwave apple drying using response surface method," *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University, Accepted Manuscript*, vol. 34, no. 3, pp. 1365–1376, 2019.

[99] B. D. Yirsaw, M. Megharaj, Z. Chen, R. Naidu, "Reduction of hexavalent chromium by green synthesized nano zero valent iron and process optimization using response surface methodology," *Environmental Technology & Innovation*, vol. 5, pp. 136–147, 2016.

[100] J. Lin, B. Su, M. Sun, B. Chen, Z. Chen, "Biosynthesized iron oxide nanoparticles used for optimized removal of cadmium with response surface methodology," *Science of the Total Environment*, vol. 627, pp. 314–321, 2018.

[101] B. Şimşek, Y. Tansel İç, E. H Şimşek, "A full factorial design based desirability function approach for optimization of properties of c 40/50 concrete class," *Mathematical and Computational Applications*, vol. 18, no. 3, pp. 330–339, 2013.

[102] S. Link, M. A. El-Sayed, "Shape and size dependence of radiative, non-radiative and photothermal properties of gold nanocrystals," *International reviews in physical chemistry*, vol. 19, no. 3, pp. 409–453, 2000.

[103] E. Sekmen, "Bazı metal nanopartiküllerin çeşitli biyoekstreler ile yeşil sentezi, karakterizasyonu ve grafit elektrot modifikasyonunda kullanımı," M.S. thesis, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2019.

[104] R. Das, S. S. Nath, D. Chakdar, G. Gope, R. Bhattacharjee, "Synthesis of silver nanoparticles and their optical properties," *Journal of Experimental Nanoscience*, vol. 5, no. 4, pp. 357–362, 2010.

[105] İ. Ünal, "Rheum ribers (ışgın) ve paeonia kesraunensis (ayıgülü) bitkilerinin ekstraktından gümüş nanopartikül sentezi, karakterizasyonu ve sitotoksisitesinin belirlenmesi," Ph.D. dissertation, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2019.

[106] J. P. Oliveira, A. R. Prado, W. J. Keijok, M. R. Ribeiro, M. J. Pontes, B. V. Nogueira, M. C. Guimaraes, "A helpful method for controlled synthesis of monodisperse gold nanoparticles through response surface modeling," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 13, no. 1, pp. 216–226, 2020.

[107] A. Verma, M. S. Mehata, "Controllable synthesis of silver nanoparticles using neem leaves and their antimicrobial activity," *Journal of radiation Research and applied sciences*, vol. 9, no. 1, pp. 109–115, 2016.

[108] M. M. Alvarez, J. T. Khoury, T. G. Schaaff, M. N. Shafigullin, I. Vezmar, R. L. Whetten, "Optical absorption spectra of nanocrystal gold molecules," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 101, no. 19, pp. 3706–3712, 1997.

[109] M. Akhondi, A. H. Jafari, E. Jamalizadeh, *Selective colorimetric detection of hgıı using silver nanoparticles modified with apple and nigella sativa seed extracts and β-cyclodextrin*, 2020.

[110] R. Muzaffar, M. Azam, M. M. Samra, M. A. R. Basra, "Green synthesis of citrus reticulata mediated silver nanoparticles," 2018.

[111] J. O. Adeyemi, E. E. Elemike, D. C. Onwudiwe, M. Singh, "Bio-inspired synthesis and cytotoxic evaluation of silver-gold bimetallic nanoparticles using kei-apple (dovyalis caffra) fruits," *Inorganic Chemistry Communications*, vol. 109, p. 107 569, 2019.

[112] S. Jain, M. S. Mehata, "Medicinal plant leaf extract and pure flavonoid mediated green synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial property," *Scientific reports*, vol. 7, no. 1, pp. 1–13, 2017.

[113] R. Nishanthi, S. Malathi, P. Palani, *et al.*, "Green synthesis and characterization of bioinspired silver, gold and platinum nanoparticles and evaluation of their synergistic antibacterial activity after combining with different classes of antibiotics," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 96, pp. 693–707, 2019.

[114] S. A. Dhar, R. A. Chowdhury, S. Das, M. K. Nahian, D. Islam, M. A. Gafur, "Plant-mediated green synthesis and characterization of silver nanoparticles using phyllanthus emblica fruit extract," *Materials Today: Proceedings*, vol. 42, pp. 1867–1871, 2021.

[115] L. Tătaru, C. Ducu, D. Negrea, S. Moga, *et al.*, "Studıes on the antıoxıdant potentıal of aronıa melanocarpa extracts," *Current Trends in Natural Sciences*, vol. 8, no. 16, pp. 103–108, 2019.

[116] B. Bilgili, "Gümüş nanopartiküllerin (agnp) sentezi ve karakterizasyonu," M.S. thesis, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2014.

[117] G. Vasyliev, V. Vorobyova, M. Skiba, L. Khrokalo, "Green synthesis of silver nanoparticles using waste products (apricot and black currant pomace) aqueous extracts and their characterization," *Advances in Materials Science and Engineering*, vol. 2020, 2020.

[118] S. Banerjee, S. Islam, A. Chattopadhyay, A. Sen, P. Kar, "Synthesis of silver nanoparticles using underutilized fruit baccaurea ramiflora (latka) juice and its biological and cytotoxic efficacy against mcf-7 and mda-mb 231 cancer cell lines," *South African Journal of Botany*, vol. 145, pp. 228–235, 2022.

[119] F. Ö. Küp, S. Çoşkunçay, F. Duman, "Biosynthesis of silver nanoparticles using leaf extract of aesculus hippocastanum (horse chestnut): Evaluation of their antibacterial, antioxidant and drug release system activities," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 107, p. 110 207, 2020.

[120] M. F. Zayed, W. H. Eisa, A. Shabaka, "Malva parviflora extract assisted green synthesis of silver nanoparticles," *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 98, pp. 423–428, 2012.

[121] E. Abdullah, M. F. Baran, "Fıstık (pistacia vera l.) yaprağından gümüş nanopartikül (agnp)'lerin sentezi, karakterizasyonu ve antimikrobiyal aktivitesinin incelenmesi," *Türkiye tarımsal araştırmalar dergisi*, vol. 6, no. 2, pp. 165–173, 2019.

[122] S. Gurunathan, "Biologically synthesized silver nanoparticles enhances antibiotic activity against gram-negative bacteria," *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 29, pp. 217–226, 2015.

[123] J. Cheng, X. Lin, X. Wu, Q. Liu, S. Wan, Y. Zhang, "Preparation of a multifunctional silver nanoparticles polylactic acid food packaging film using mango peel extract," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 188, pp. 678–688, 2021.

[124] S. Rajput, D. Kumar, V. Agrawal, "Green synthesis of silver nanoparticles using ındian belladonna extract and their potential antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and larvicidal activities," *Plant cell reports*, vol. 39, no. 7, pp. 921–939, 2020.

[125] A. A. Khan, A. M. Alanazi, N. Alsaif, T. A. Wani, M. A. Bhat, "Pomegranate peel induced biogenic synthesis of silver nanoparticles and their multifaceted potential against intracellular pathogen and cancer," *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol. 28, no. 8, pp. 4191–4200, 2021.

[126] D. Hanaor, M. Michelazzi, C. Leonelli, C. C. Sorrell, "The effects of carboxylic acids on the aqueous dispersion and electrophoretic deposition of zro2," *Journal of the European Ceramic Society*, vol. 32, no. 1, pp. 235–244, 2012.

[127] K. Kalaiarasi, G. Prasannaraj, S. V. Sahi, P. Venkatachalam, "Phytofabrication of biomolecule-coated metallic silver nanoparticles using leaf extracts of in vitro-raised bamboo species and its anticancer activity against human pc3 cell lines," *Turkish Journal of Biology*, vol. 39, no. 2, pp. 223–232, 2015.

[128] K. Ali, B. Ahmed, S. Dwivedi, Q. Saquib, A. A. Al-Khedhairy, J. Musarrat, "Microwave accelerated green synthesis of stable silver nanoparticles with eucalyptus globulus leaf extract and their antibacterial and antibiofilm activity on clinical isolates," *PloS one*, vol. 10, no. 7, e0131178, 2015.

[129] S. Hamedi, S. A. Shojaosadati, A. Mohammadi, "Evaluation of the catalytic, antibacterial and anti-biofilm activities of the convolvulus arvensis extract functionalized silver nanoparticles," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 167, pp. 36–44, 2017.

[130] S. Bhakya, S. Muthukrishnan, M. Sukumaran, M. Muthukumar, "Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their antioxidant and antibacterial activity," *Applied Nanoscience*, vol. 6, no. 5, pp. 755–766, 2016.

[131] T. Theivasanthi, M. Alagar, “Electrolytic synthesis and characterizations of silver nanopowder,” *arXiv preprint arXiv:1111.0260*, 2011.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirisi

1. Uçak G., Demirhan Yılmaz E., "Amasya Elma Özünden Yeşil Sentezle Gümüş Nanopartikül Üretiminin İncelenmesi", 13th International Scientific Research Congress, Ankara, Türkiye, pp.67, 11-12 Mart 2022.