

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARÇIN VE KARANFİL ÖZÜTLERİ KULLANILARAK
GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN BİYOSENTEZİ VE
ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

GÜLDEN DOĞAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

GEBZE
2022

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARÇIN VE KARANFİL ÖZÜTLERİ
KULLANILARAK GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİN BİYOSENTEZİ
VE ANTİBAKTERİYEL
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

GÜLDEN DOĞAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
DR. ÖĞRETİM ÜYESİ ZEHRA ÖLÇER

GEBZE

2022

T.R.
GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

**BIOSYNTHESIS OF SILVER
NANOPARTICLES USING CINNAMON AND
CLOVE EXTRACTS AND INVESTIGATION
OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY**

GÜLDEN DOĞAN
**A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE**
DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

THESIS SUPERVISOR
ASSIST. PROF. DR. ZEHRA ÖLÇER

GEBZE
2022



YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 23/12/2021 tarih ve 2021/60 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 10/01/2022 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Gülden DOĞAN 'ın tez çalışması Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI)

: Dr. Öğr. Üyesi ZEHRA ÖLÇER

ÜYE

: Prof. Dr. MELTEM YEŞİLÇİMEN AKBAŞ

ÜYE

: Doç.Dr. SİNEM TUNCEL KOSTAKOĞLU

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

ÖZET

Nanomalzemeler kataliz, biyoteknoloji, biyosensör, görüntülme, ilaç salınımı ve tıp gibi pek çok disiplinlerarası araştırmalarda uygulama alanına sahiptir.

Nanopartiküller (NP), nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır ve pek çok özellikleri bakımından ana materyallerinden farklı özellikler gösterirler. Nanopartiküller fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle sentezlenebilmektedir. Fakat fiziksel ve kimyasal yöntemlerin pahalı olması, toksik kimyasalların kullanılması, istenmeyen yan ürünlerin oluşması, yüksek enerji ve yakıt kullanımı gibi bazı dezavantajları vardır. Bu sorunları ortadan kaldırmak için yeşil sentez ile sentezlenen nanopartiküller, fiziksel ve kimyasal yöntemler ile sentezlenmiş nanopartiküllere karşı basit, uygulanabilir bir alternatif olmuştur. Günümüzde yeşil sentez ekonomik, kolay temin edilebilir malzeme temini, çevre dostu, enerji ve yakıt kullanımını azaltma, zararlı reaktifler içermeme gibi özellikleri ile tercih edilmektedir.

Metal nanopartiküller arasında gümüş nanopartiküllerin pek çok kullanım amacı vardır; antibakteriyel, antimikrobiyal, antioksidan, anti-anjiyogenik, anti-inflamatuvar, antikanser aktivite göstermesi ve biyolojik sistemlerde toksik olmaması geniş çalışma alanı sunmaktadır.

Bu çalışmada, tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) ve karanfil (*Syzygium aromaticum*) özütlerinden farklı koşullarda sentezlenen ve optimum koşulları belirlenen gümüş nanopartiküllerin biyosentezi gerçekleştirildi ve elde edilen nanopartikülün kalitesi, morfolojisi ve boyutu Ultraviyole ve Görünür Bölge Spektroskopisi (UV-Vis), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Enerji Dağılımı Spektrometresi (EDS) , Termogravimetrik (TGA), X-Işını Kırınımı (XRD) ile analiz edildi. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin Gram (-) ve Gram (+) bakterilere karşı olan antibakteriyel özellikleri incelendi.

Anahtar Kelimeler: *Cinnamomum zeylanicum*, *Syzygium aromaticum*, gümüş nanopartikül, yeşil sentez, antibakteriyel aktivite.

SUMMARY

Nanomaterials have application areas in many interdisciplinary researches such as catalysis, biotechnology, biosensors, imaging, drug release and medicine.

Nanoparticles (NP) form the basis of nanotechnology and show different properties from their main materials in terms of many properties. Nanoparticles can be synthesized by physical, chemical and biological methods but physical and chemical methods have some disadvantages (such as expensive, use of toxic chemicals, formation of unwanted by-products, high energy and fuel use). To eliminate these problems, nanoparticles, synthesized by green synthesis, became a simple, viable alternative to nanoparticles, synthesized by physical and chemical methods. Nowadays, green synthesis is preferred with its features such as economical, easily available material supply, environmentally friendly, reducing energy and fuel usage and not containing harmful reagents.

Among the metal nanoparticles, silver nanoparticles have many usages: Antibacterial, antimicrobial, antioxidant, anti-angiogenic, anti-inflammatory, anticancer activity and non-toxic biological systems, providing a wide range of work.

In this study, biosynthesis of silver nanoparticles from cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) and clove (*Syzygium aromaticum*) extracts were performed and then, the quality, morphology and size of the nanoparticle obtainments will be analyzed by Ultraviolet and Visible Region Spectroscopy (UV-Vis), Scanning Electron Microscopy (SEM), Energy Dispersive Spectrometry (EDS), Thermogravimetric Analysis (TGA), X-ray Crystallography (XRD). Antibacterial properties of synthesized silver nanoparticles against Gram (-) and Gram (+) bacteria have examined.

Keywords: *Cinnamomum zeylanicum*, *Syzygium aromaticum*, silver nanoparticles, green synthesis, antibacterial activity.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca anlayışını esirgemeyen, destekleyen ve bana yol gösteren değerli danışmanım Öğretim Üyesi Dr. Zehra Ölçer'e, tez çalışmam boyunca bilgisi ve ilgisi ile yol gösteren, çalışmamın her aşamasında katkı sağlayan, sayesinde çok şey öğrendiğim Dr. Aişe Ünlü'ye çok teşekkür ederim.

Süreç boyunca destekleriyle yanımda olan aileme ve değerli arkadaşım Cihan Sabaz'a, Biyokimya laboratuvarında yardımları için Fatma Ertan'a ve Mütesir Temel'e, Gebze STFA Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi Bilişim Bölümü Öğretmenlerine çok teşekkür ederim.

Bu çalışma Gebze Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2020-A-101-03 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLolar DİZİNİ	xvi
1.GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı, Bilime Katkısı ve İçeriği	1
2. NANOTEKNOLOJİ	3
2.1. Nanoteknolojinin Tarihçesi ve Kullanım Alanları	3
2.2. Nanopartiküller ve Sentez Yöntemleri	4
2.3. Yeşil Sentez	5
2.4. Yeşil Sentez ile Nanopartiküllerin Uygulama Alanları	5
2.5. Yeşil Sentez ile Nanopartiküllerin Bitki Aracılı Sentezi	6
2.6. Gümüş Nanopartiküller	7
2.6.1. Gümüş Nanopartiküllerin Etkileri	7
2.7. Gümüş Nanopartikül Sentezini Etkileyen Faktörler	8
2.8. Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi	8
2.9. Gümüş Nanopartiküllerin Kullanım Alanları	9
2.10. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	9
2.10.1. Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi (UV-Vis)	9
2.10.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	10
2.10.3. Enerji Dağılımı Spektrometresi (EDS)	10

2.10.4. Termogravimetrik Analizler (TGA)	10
2.10.5. X-Işınları Kırınımı (XRD)	11
2.11. Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Özellikleri	11
2.11.1. AgNP'lerin Antibakteriyel Etkisini Etkileyen Faktörler	14
3. ÇALIŞMA BİTKİLERİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ	16
3.1. Karanfil Bitkisinin Genel Özellikleri	16
3.1.1. Karanfil Bitkisinin Kimyasal Bileşeni	16
3.2. Tarçın Bitkisinin Genel Özellikleri	18
3.2.1. Tarçın Bitkisinin Kimyasal Bileşeni	18
4. DENEYSEL YÖNTEMLER	20
4.1. Kullanılan Cihazlar	20
4.2. Kullanılan Kimyasallar	20
4.3. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>), Tarçın (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) ve Sarf Kimyasallarının Temini	20
4.4. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) ve Tarçın (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)'dan Farklı Ekstraksiyon Yöntemleri ile Ekstraktların Hazırlanması	21
4.4.1. Kaynatma Yöntemi	22
4.4.2. Maserasyon Yöntemi	22
4.4.3. Ultrasonikasyon Yöntemi	23
4.5. Tarçın ve Karanfil Ekstraktlarının Fenolik Bileşen Tayini (Folin–Ciocalteu Metodu)	23
4.6. Tarçın ve Karanfil Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi	24
4.6.1. ABTS ^{•+} Metodu	24
4.6.1.1. Troloks Standart Çözeltilisinin Hazırlanması	24
4.6.2. DPPH Metodu	25
4.7. Gümüş Nanopartikül Sentezine Etki Eden Faktörlerin Optimizasyonu	25
4.7.1. Ekstrakt Oranı Optimizasyonu	25

4.7.2. Metal Tuzu Konsantrasyonu Optimizasyonu	26
4.7.3. Tepkime Sıcaklığı Optimizasyonu	26
4.7.4. Tepkime Süresi Optimizasyonu	26
4.7.5. Tepkime pH'sı Optimizasyonu	27
4.8. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi	28
4.8.1. Karanfil Ekstraktı ile Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi	28
4.8.2. Tarçın Ekstraktı ile Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi	29
4.9. Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Özelliklerinin İncelenmesi	30
5. BÖLÜM SONUÇLAR ve TARTIŞMA	31
5.1. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>)'den ve Tarçın (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)'dan Farklı Yöntemlerle Elde Edilen Ekstrakt Verimleri	31
5.2. Ekstraktların Fenolik Bileşen Tayini (Folin-Ciocalteu metodu)	32
5.3. Antioksidan Aktivitelerin Belirlenmesi	33
5.3.1. ABTS/TE Metodu ile Ekstraktların Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi	33
5.3.2. DPPH Metodu ile Ekstraktların Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi	35
5.4. Karanfil ve Tarçın Ekstraktları ile Hazırlanan Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	36
5.4.1. Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi (UV-Vis) Analizleri	36
5.4.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri	48
5.4.3. Enerji Dağılımı Spektrometresi (EDS) Analizleri	50
5.4.4. Termogravimetrik (TGA) Analizleri	53
5.4.5. XRD Analizleri	55
5.5. Karanfil ve Tarçın Ekstraktları ile Hazırlanmış Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Özelliklerinin İncelenmesi	57
6. DEĞERLENDİRME ve ÖNERİLER	62

KAYNAKLAR

65

ÖZGEÇMİŞ

72



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve</u>	<u>Acıklamalar</u>
<u>Kisaltmalar</u>	
Ag	: Gümüş
AgNO ₃	: Gümüş Nitrat
Cl	: Klor
Dk	: Dakika
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
gr	: Gram
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
Na ₂ CO ₃	: Sodyum karbonat
nm	: Nanometre
µL	: Mikrolitre
µmol	: Mikromol
ABTS	: 2,2'-azinobis-(3- etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)
AgNP	: Gümüş Nanopartikül
BHT	: Butil Hidroksi Toluen
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: 2,2- Difenil- 1- pikrilhidrazil
EDS	: Energy Dispersive Spectrometry (Enerji Dağılımı Spektrometresi)
NP	: Nanopartikül
PBS	: Phosphate-Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Salin)
ROS	: Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
rpm	: revolutions per minute (dakikadaki devir sayısı)
SEM	: Scanning Electron Microscopy (Taramalı Elektron Mikroskopisi)
SPR	: Yüzey Plazmon Rezonansı
TGA	: Thermogravimetric Analysis (Termogravimetrik Analiz)
UDW	: Ultra Deionized Water (Ultra Deiyonize Su)
UV-Vis	: Ultraviolet–visible spectroscopy (görünür bölge spektroskopisi)
XRD	: X-ray Crystallography (X-ışınımı Kırınımı)

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Çeşitli nanomateriyallerin boyutlarının karşılaştırılması.	3
2.2: Nanopartikül sentez aşamaları.	4
2.3: Yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen nanopartiküllerin uygulama alanları.	6
2.4: Metalik NP'lerin antimikrobiyal aktivitesi için olası mekanizmalar.	12
2.5: Bakteri hücre duvarlarının karşılaştırılması.	13
2.6: ROS üretiminde nanopartiküllerin rolü.	14
3.1: Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) bitkisinin genel görünümü ve kısımları.	16
3.2: Öjenol'ün yapısı.	17
3.3: Tarçın (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) bitkisinin genel görünümü ve kısımları.	18
3.4: Sinnemaldehit'in yapısı.	19
4.1: a) Çalışmada kullanılan karanfil b) öğütülerek toz haline getirilmiş hali.	21
4.2: a) Çalışmada kullanılan tarçın kabuğu b) öğütülerek toz haline getirilmiş hali.	21
4.3: a) Karanfil ekstraktı ile nanopartikül sentezi öncesi b) nanopartikül sentezi sonrası renk değişimi .	29
4.4: a) Tarçın kabuğu ekstraktı ile nanopartikül sentezi öncesi b) nanopartikül sentezi sonrası renk değişimi.	30
5.1: Gallik asit standart grafiği.	32
5.2: Troloks standart grafiği.	34
5.3: % ABTS ^{•+} radikal giderim değerleri.	35
5.4: % DPPH radikal giderim değerleri.	36
5.5: Farklı konsantrasyonlardaki karanfil ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.	37
5.6: Farklı AgNO ₃ konsantrasyonlardaki karanfil ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.	38
5.7: Farklı pH'larda karanfil ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.	39
5.8: Farklı sıcaklıklarda karanfil ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.	40
5.9: Farklı tepkime sürelerinde karanfil ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin	41

UV-Vis spektrumu.	
5.10: Optimize edilmiş koşullarda karanfil ekstraktından sentezlenmiş AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.	42
5.11: Farklı konsantrasyonlardaki tarçın ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.	43
5.12: Farklı AgNO ₃ konsantrasyonlardaki tarçın ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.	44
5.13: Farklı pH'larda tarçın ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.	45
5.14: Farklı sıcaklıklarda tarçın ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.	46
5.15: Farklı tepkime sürelerinde tarçın ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.	47
5.16: Optimize edilmiş koşullarda tarçın ekstraktından sentezlenmiş AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.	48
5.17: Karanfil ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin a) 500 nm b) 1 µm c) 2 µm d) 5 µm Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü.	49
5.18: Tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin a) 500 nm b) 1 µm c) 2 µm d) 5 µm Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü.	50
5.19: Karanfil ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin Enerji Dağılımı Spektrometresi (EDS) görüntüsü.	51
5.20: Karanfil ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin kantitatif analizleri	51
5.21: Tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin Enerji Dağılımı Spektrometresi (EDS) görüntüsü.	52
5.22: Tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin kantitatif analizleri.	52
5.23: Karanfil ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin Termogravimetrik (TGA) görüntüsü.	53
5.24: Tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin Termogravimetrik (TGA) görüntüsü.	54
5.25: Karanfil ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin X-ışını Kırınımı (XRD) görüntüsü.	55
5.26: Tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin X-ışını Kırınımı (XRD) görüntüsü.	56
5.27: Karanfil ve tarçın ekstraktları kullanılarak hazırlanan AgNP	59

konsantrasyonlarının ve Ampisilin'in bazı bakteri izolatlarına karşı antibakteriyel aktivitesi disk diffüzyon fotoğrafları

5.28: Karanfil ve Tarçın ekstraktlarından sentezlenen AgNP'lerin ve Ampisilin'in maksimum inhibisyon çapları.

60



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa</u>
3.1: Karanfil bitkisinin kimyasal bileşenleri.	17
3.2: Tarçın bitkisinin kısımlarında bulunan kimyasal bileşenler.	19
5.1: Farklı yöntemlere göre ekstrakt verimleri.	31
5.2: Ekstratlarının toplam fenolik bileşen tayini.	33
5.3: Karanfil ve tarçın ekstratlarının troloks eşdeğeri olarak antioksidan tayini.	34
5.4: Karanfil için farklı ekstrakt miktarları değişkenlerine ait absorbans değerleri.	37
5.5: Karanfil için farklı AgNO ₃ konsantrasyonlarına ait absorbans değerleri.	38
5.6: Karanfil için farklı pH değişkenlerine ait absorbans değerleri.	39
5.7: Karanfil için farklı sıcaklık değişkenlerine ait absorbans değerleri.	40
5.8: Karanfil için farklı tepkime süreleri değişkenlerine ait absorbans değerleri.	41
5.9: Optimize edilmiş koşullarda sentezlenen karanfil AgNP absorbansı	42
5.10: Tarçın için farklı ekstrakt miktarları değişkenlerine ait absorbans değerleri.	43
5.11: Tarçın kabuğu için farklı AgNO ₃ konsantrasyonlarına ait absorbans değerleri.	44
5.12: Tarçın için farklı pH değişkenlerine ait absorbans değerleri.	45
5.13: Tarçın için farklı sıcaklık değişkenlerine ait absorbans değerleri.	46
5.14: Tarçın için farklı tepkime süreleri değişkenlerine ait absorbans değerleri.	47
5.15: Optimize edilmiş koşullarda sentezlenen tarçın AgNP absorbansı.	48
5.16: Karanfil ve tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesi (mm cinsinden ölçülen inhibisyon zonu).	61

1.GİRİŞ

Nanobilim, boyutları 1 ile 100 nm arasında değişen malzemelerin nanometre ölçeklerinde atomik ve moleküler yapılarını inceleyen; fizik, malzeme bilimi, kimya, mühendislik, bilgisayar bilimi ve biyolojinin birleşimidir [1].

Nanoteknoloji, maddeye atom ve molekül seviyesinde fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak yeni özellikler kazandırmayı hedefleyen, yeni ve hızla gelişen bir teknoloji alanıdır. Nano boyutlarda malzemelerin yüzey/hacim oranlarının artması nanoteknolojiyi diğer bilim dallarından ayıran bir özelliktir. Bu da malzemenin özelliklerinde büyük değişiklikler olmasına olanak sağlar [2].

Gümüş nanoparçacıklar eşsiz fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri nedeniyle özel ilgi çekmiştir [3]. Gümüş nanoparçacıklar (AgNP'ler), elverişli elektriksel iletkenlik, kimyasal stabilite, katalitik ve antibakteriyel aktivite gibi farklı özellikleri nedeniyle daha fazla dikkat çekmektedir [4].

AgNP'lerin yeşil sentezi, uygun maliyetli, çevre dostu, büyük ölçekli sentez için elverişli ve toksik kimyasalların kullanılmasına gerek olmadığı için kimyasal ve fiziksel yöntemlere göre avantajlıdır [5], [6]. Bitki bazlı nanopartiküller, çevreye duyarlı ürünlere artan ilgi nedeniyle daha fazla önem kazanmıştır. Bitkiler kullanılarak nanopartiküllerin sentezi, güvenli çözücülerin kullanımı, tehlikeli reaktiflerin kullanımının azalması, büyük ölçekli sentezi, daha hafif tepkime koşulları ve bunların çok çeşitli uygulamalar için kullanımda uyarlanabilirliği gibi başka avantajlar da sunar [4]. Bu nedenle nanopartikül sentezi için bitki ve bitkisel ürünlerin kullanımı fiziksel ve kimyasal metotlara karşı iyi bir alternatif oluşturmaktadır.

1.1. Tezin Amacı, Bilime Katkısı ve İçeriği

Bu tez çalışmasında tarçın ve karanfil özütleri kullanarak yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartikül sentezi amaçlanmıştır. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel aktiviteleri gösterilmiştir.

Fiziksel ve kimyasal yöntemlerin yerine biyolojik bir yöntem olan yeşil sentez tercih edilmiştir. Yeşil sentezin daha az maliyetli, çevre dostu, kolay sentezlenen

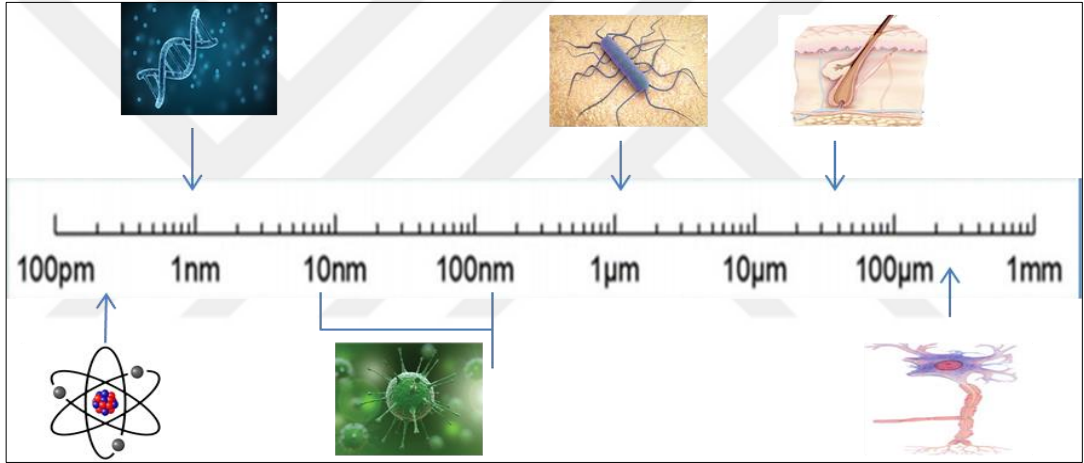
süreçlere sahip olması ve tek tip boyut dağılımına sahip nanopartikül üretimi olduğu için çalışmada tercih edilmiştir.

Bu tez kapsamında 2. bölümde nanoteknoloji hakkında bilgi verilmiştir, nanopartiküllerin sentez yöntemleri ve yeşil sentezin avantajları açıklanmıştır. 3. bölümde çalışmada kullanılan tarçın ve karanfil bitkilerinin genel özellikleri hakkında bilgi verilmiştir. 4. bölümde deneysel yöntemler anlatılmıştır, ekstraksiyon yöntemlerine göre en verimli olan seçilip toplam fenolik içerik tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite deneyleri yapılmıştır ve örneklerden sentezlenen nanopartiküllerin antioksidan kapasitelerinin olduğu gösterilmiştir. 5. bölümde sonuçlar verilmiştir, karakterizasyon sonuçları ile nanopartikül sentezi ispatlanmıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin antibakteriyel özellikleri gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde gösterilmiştir.

2. NANOTEKNOLOJİ

2.1. Nanoteknolojinin Tarihçesi ve Kullanım Alanları

Nanoteknoloji; bilimin gelişimi için nano boyutlu malzemelerin sentezi, karakterizasyonu, araştırılması ve uygulanması ile ilgilenen bilimdir [2]. Nanoteknoloji, atomların 1-100 nm ölçeğinde düzenlenmesi nedeniyle yeni özelliklere ve işlevlere sahip yapıları inceler, Şekil 2.1’de çeşitli nanomateriyallerin boyutları karşılaştırılmıştır.



Şekil 2.1: Çeşitli nanomateriyallerin boyutlarının karşılaştırılması.

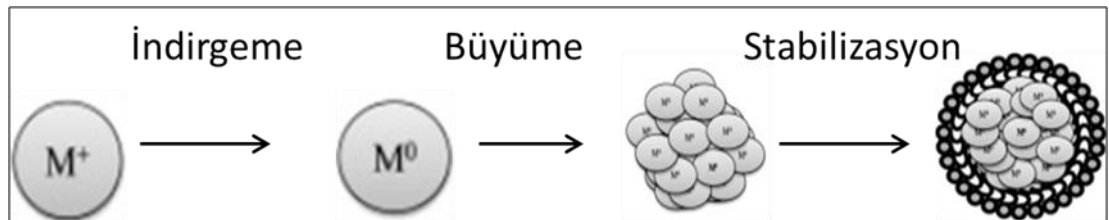
Nanoteknolojinin ortaya çıkışı, son yıllarda diğer bilim dallarıyla kesişerek ve tüm yaşam biçimleri üzerinde etki yaratarak kapsamlı bir araştırma sağlamıştır [2]. Nanoteknoloji 21. yüzyılın en umut verici teknolojilerinden biridir ve iki koşulun olması gerekmektedir. Birinci koşul malzemeleri nanometre ölçeğinde şekil ve boyutlarını kontrol ederek kullanmaktır. İkinci koşul yenilikle ilgilidir, nano ölçek nedeniyle bazı özelliklerden yararlanacak şekilde küçük malzemelerle ilgilenmelidir. [1].

2.2. Nanopartiküller ve Sentez Yöntemleri

Nanopartiküller, nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır. Bu partiküller diğer ticari malzemelerden genelde farklı ve üstün olan özelliklere sahiptir. Nanopartiküllerin yaygın kullanılmasının sebebi, kuantum boyutunun etkilerinin yüksek olması, elektronik yapısının boyut bağımlı olması, yüzey atomlarının farklı karakteristik özelliklere ve yüksek yüzey/hacim oranına sahip olmasıdır [7]. Nanopartiküllerin farklı bilim ve teknoloji alanlarında sunduğu geniş uygulama yelpazesi sayesinde, sentezleri için farklı protokoller tasarlanmıştır.

Nanopartiküllerin sentez yöntemleri "yukarıdan aşağıya" ya da "aşağıdan yukarıya" bir yaklaşım ile açıklanır. Yukarıdan aşağıya sentezde nanopartiküller, uygun bir başlangıç malzemesinden boyut küçültme ile üretilir ve bu işlem çeşitli fiziksel ve kimyasal işlemlerle gerçekleştirilir. Yukarıdan aşağıya üretim yöntemleri, ürünün yüzey yapısında kusurlara neden olur ve bu büyük bir sınırlamadır çünkü nanoparçacıkların yüzey kimyası ve diğer fiziksel özellikleri yüzey yapısına oldukça bağlıdır [8].

Aşağıdan yukarıya sentez çoğunlukla kimyasal ve biyolojik üretim yöntemlerine dayanır. Aşağıdan yukarıya sentezde nanoparçacıklar, örneğin atomları, molekülleri ve daha küçük parçacıkları birleştirerek daha küçük varlıklardan oluşturulur. Aşağıdan yukarıya sentezde, önce nanoparçacıkların nanoyapılı yapı taşları oluşturulur ve daha sonra nihai parçacığı üretmek için birleştirilir. Aşağıdan yukarıya senteze göre nanopartiküllerin 3 aşamalı sentez basamakları Şekil 2.2'de gösterilmiştir [8].



Şekil 2.2: Nanopartikül sentez aşamaları.

Nanopartiküllerin sentezi için kimyasal yöntemler, fiziksel yöntemler ve biyolojik yöntemler kullanılabilir. Kimyasal yöntemlerin toksik çözücü / yüzey aktif madde kullanımı, daha pahalı olması, tehlikeli yan ürün üretimi, yüksek enerji

tüketimi gibi dezavantajları vardır ve bunların tümü insan sağlığı ve çevre için potansiyel riskler taşır ve çevre dostu değildir [5], bu nedenle biyolojik sentez önem kazanmaktadır.

2.3. Yeşil Sentez

Yeşil sentez, çevre ve insan sağlığına zararlı maddelerin kullanımının azaltılmasını sağlayan işlemlerin geliştirilmesi, uygulanması, tasarlanmasıdır [5]. Nanopartikülleri veya nanomalzemeleri bitkiler, mikroorganizmalar, biyomoleküller kullanarak çeşitli biyoteknolojik araçlar yardımıyla sentezler.

Bakteriler, mantarlar, aktinomisetler, mayalar ve virüsler gibi mikroorganizmaların, hücre içi veya hücre dışı olarak metal nanopartiküller üretme konusunda doğal potansiyele sahip oldukları ve nanoparçacık sentezi için potansiyel biyofabrikalar olarak kabul edildiği bildirilmektedir. Mikroorganizmalara kıyasla, bitki aracılı sentez yöntemi, mikrobiyal izolasyon, kültürlenme, bakım gibi karmaşık ve çok aşamalı süreçlerden arındırılmıştır ve aynı zamanda nanopartiküllerin toplu üretimi için kolayca ölçeklendirilebilen çok hızlı ve uygun maliyetli bir yaklaşımdır [9]. Yapılan çalışmalar, bitki ekstraktının, kontrollü malzemelerin (yani, kontrol edilen şekiller, boyutlar, yapılar ve diğer spesifik özellikler) sentezi için stabilize edici ve indirgeyici ajanlar olarak yüksek verime sahip olduğunu kanıtlamıştır [10].

2.4. Yeşil Sentez ile Nanopartiküllerin Uygulama Alanları

Yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen nanopartiküllerin bir çok uygulama alanı vardır, Şekil 2.3'te bu uygulama alanları gösterilmiştir [11].

Sağlık
• Görüntüleme teknikleri, erken tanı imkanı, ilaç dağıtımı
Kozmetik
• Antimikrobiyal ürünler
Günlük Materyaller
• Yansıma önleyici, buğu önleyici bardak, çizilmez kaplamalar
Gıda Endüstrisi
• Antibakteriyel paketlenme, uzun süre depolama, taze gıda
Elektronik
• Depolama kapasitesi, düşük güç tüketimi, kullanışlı cihazlar
Çevre
• Arındırma, verimli sensörler, daha kaliteli egzoz
Enerji
• Güneş pilleri, şarj edilebilir bataryalar, çevre dostu otomobiller

Şekil 2.3: Yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen nanopartiküllerin uygulama alanları.

2.5. Yeşil Sentez ile Nanopartiküllerin Bitki Aracılı Sentezi

Yeşil nanoteknoloji, bitki formülasyonlarında insan sağlığına ve çevreye zarar vermeyen nanopartiküllerin sentezi ile çevresel sürdürülebilirliğe önemli katkılar sağlar. Aynı zamanda süreç boyunca tehlikeli kimyasallara ihtiyaç duyulmadığından kimyasal yöntemlere göre daha büyük fayda sağlar [12].

Fitokimyasal ajanlar içeren bitki özleri kullanılarak AgNP'lerin yeşil sentezi büyük ilgi görmektedir [4]. Terpenoidler, polifenoller, şekerler, alkaloidler, fenolik asitler ve proteinler gibi çeşitli bitki metabolitleri, metal tuzlarını pozitif oksidasyon durumundan sıfır oksidasyon durumuna düşürür [13]. Metalik nanoparçacıkların boyut ve boyut dağılımı büyük ölçüde ekstraktta bulunan biyo bileşiklere bağlıdır. Ekstraktta güçlü bir indirgeyici bulunması reaksiyon hızını artırır ve daha küçük nanoparçacıkların oluşumunu destekler. Biyomoleküller, yeni çekirdeklerin veya ikincil çekirdeklerin sürekli oluşumuna yol açan tuzu hızla azaltırsa, dar bir boyut dağılımı gözlemlenebilir [14]. Nanoparçacık sentezinde, biyolojik moleküller sadece metal tuzlarını azaltmakla kalmaz, aynı zamanda oluşan nanoparçacıkları da kaplar, indirgeyici ve kaplama ajanı olarak hareket eder. Bu kaplama ajanlarının

nanopartikül topaklaşmasını önleme, antibakteriyel etkiyi artırma ve toksisiteyi azaltma gibi işlevleri vardır.

Bitki özleri kullanılarak gümüş nanopartiküllerin sentezi ekonomik, enerji tasarruflu, düşük maliyetli olduğundan ve daha az atık ve daha güvenli ürünlere yol açarak insan sağlığını ve çevreyi koruduğundan faydalıdır. Yeşil sentezlenmiş gümüş nanoparçacıkları, eşsiz uygulamalar yoluyla nanoteknolojinin önemli yönlerine sahiptir ve nanopartiküllerin bitkiler kullanılarak sentezi, nanopartiküllerin biyosentezi sırasında zaman alan işlemlerin üstesinden gelebilecek olması faydalı olabilir [3].

2.6. Gümüş Nanopartiküller

Gümüş, iyi bilinen bir metaldir ve bazı özellikleri nedeniyle çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Gümüş, hem yüksek termal özelliğe hem de elektriksel iletkenliğe sahip yumuşak, beyaz, parlak bir metaldir.

Gümüş, biyolojik sistemler, canlı organizmalar ve tıp alanında tercih edilen bir metaldir, özellikle antibakteriyel, antifungal, antioksidan olarak kullanılmıştır [15] ve antimikrobiyal madde olarak birçok önemli avantaja sahiptir.

Bu avantajlar arasında :

- gümüşün çok geniş spektrumlu bir antibiyotik olması,
- gümüşte bakteri direncinin neredeyse hiç bulunmaması,
- düşük derişimde toksik olmaması

sayılabilir[2].

Gümüş etkisi bulunan materyaller kimyasal olarak daha dayanıklıdır ve bu materyaller gümüş iyonlarını uzun süre yüzeylerinde tutarak antibakteriyel özelliklerini korurlar [7].

2.6.1. Gümüş Nanopartiküllerin Etkileri

Gümüş geniş spektrumlu, antimikrobiyal, antifungal ve antiviral bir elementtir. Diğer elementler ile kıyaslandığında en antimikrobiyal etkiyi gümüş göstermektedir.

Gümüş nanopartiküller, gümüş elementine göre daha az toksiktir ve geniş bir kullanım alanı vardır [16].

Nano gümüş, çeşitli etki mekanizmaları ile bakterileri elimine edebilirler [7]. Nano boyutlu gümüşün benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikler sergilediği ve topikal uygulamalarda makro ölçekli formundan daha etkili olduğu iyi bir şekilde belgelenmiştir. Bunun nedeni, mikroorganizmaların daha geniş yüzey alanlarına maruz kalmasından kaynaklanmaktadır [17]. Nano gümüşün etki mekanizması, tedavi edilmesi zor dirençli bakterilerde dahi reaktif oksidatif türlerinin (ROS) oluşumuna neden olması, membran hasarı oluşturmaları, solunum enzimleri gibi proteinleri inaktive etmesi ve deoksiribo nükleik asit (DNA) hasarı şeklinde açıklanabilir. Hasar gören bu mikroorganizmalar da immün sistem hücreleri tarafından kolaylıkla ortadan kaldırılırlar [7].

2.7. Gümüş Nanopartikül Sentezini Etkileyen Faktörler

AgNP sentezini etkileyen başlıca fiziksel ve kimyasal parametreler reaksiyon sıcaklığı, metal iyon konsantrasyonu, ekstrakt içeriği, reaksiyon karışımının pH'ı, reaksiyon süresidir. Bu parametreler AgNP'lerin büyüklüğünü, şeklini ve morfolojisini büyük ölçüde etkiler. Farklı pH aralıklarında sentez gerçekleşmiş fakat yüksek alkali ortamlarda (pH 11 ve üstü) aglomerasyon gerçekleşmesi ve kararsız nanopartikül oluşumu gözlenmiştir. Bitkisel ekstrakt içeriğinde organik kimyasalların varlığı nedeniyle Ag iyonlarının indirgenmesinden sorumlu aktif bileşen, kullanılan özütler göre değişir ve bu da sentezi etkileyen bir değişkendir [18].

2.8. Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi

AgNP'lerin yeşil sentezi, uygun maliyetli, çevre dostu, büyük ölçekli sentez için kolayca ölçeklendirildiği ve ayrıca yüksek enerji, sıcaklık ve toksik kimyasalların kullanılmasına gerek olmadığı için kimyasal ve fiziksel yöntemlere göre avantaj sağlar [5], [6]. Yeşil sentez perspektifinden değerlendirilmesi gereken nanopartiküllerin hazırlanmasında yer alan üç ana adım şu şekildedir, birincisi sentez

için kullanılan solvent ortamının seçimi, ikincisi çevresel olarak iyi huylu bir indirgeyici ajanın seçimi ve uncs nanopartiküllerin stabilizasyonu için toksik olmayan bir materyalin seçimidir [19], [20].

2.9. Gümüş Nanopartiküllerin Kullanım Alanları

Gümüş yüzyıllardır kullanılan güvenilir bir ajandır, özellikle AgNP biçiminde yüksek bir performans göstermektedir ve asil metal nanopartiküller arasında önemli bir yer tutar [21].

AgNP'ler tıp, eczacılık, kozmetik, tekstil, optik, elektrik ve elektronik, gıda, evre gibi alanlarda kullanılmaktadır [22], [23].

Antibakteriyel özelliklerinden dolayı yaygın olarak sağlık alanlarında kullanılmaktadır. Damar greftleri, diş malzemeleri, protezler gibi malzemelerin üzerindeki bakteri kolonizasyonunu azaltmaktadır [24]. Yanık kremlerinde ve sargılarında, koku önleyici tekstil kumaşlarında, su filtrelerinde, boya gideriminde, gıda paketleme ve ambalajlamada, deterjanlarda, biyomedikal ürünlerde kullanım alanları vardır [24], [25], [26], [27].

Ayrıca AgNP'lerin yüksek iletkenliğe sahip olması sebebiyle biyosensörlerde elektron transferini hızlandırarak biyosensörlerin hassasiyetini artırdıkları gözlenmiştir [28].

2.10. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

2.10.1. Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi (UV-Vis)

UV-görünür spektroskopisi, ışığın absorbansını ve geçirgenliğini ölçen hızlı bir analitik tekniktir [29]. Nanopartikül karakterizasyon teknikleri arasında yaygın olarak kullanılmaktadır. UV-Vis tekniklerinin birkaç avantajı vardır, bu avantajlar basitlik, NP'lere duyarlılık ve seçicilik, kısa ölçüm süresi ve kalibrasyonun gerekli olmaması sayılabilir [30].

2.10.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Nanomalzemelerin boyutu, boyut dağılımı ve şekli hakkında bilgi elde etmek için kullanılan bir tekniktir [31]. Taramalı elektron mikroskobu, odaklanmış bir elektron demeti ile numune yüzeyini tarayarak numunedeki kompozisyon hakkında bilgiler içeren farklı sinyaller üretir ve görüntü elde eder.

2.10.3. Enerji Dağılımı Spektrometresi (EDS)

Nanopartiküllerin kompozisyon analizi için yaygın olarak uygulanan temel bir mikroanaliz yöntemidir [32].

EDS analizi sırasında, bir numune, bir elektron mikroskobunun hedefi doğrultusunda yönlendirilen bir elektron ışınıyla bombardımana tutulur. Gelen ışın elektronları, numunenin elektronları ile çarpışır ve onları enerji kabuklarından uzaklaştırır ve fazla enerji, yayılan bir x-ışını şeklinde salınır. Her element, söz konusu numuneyi tanımlayabilen benzersiz enerjilere sahip X-ışınları yayar böylece numune EDS spektroskopisi ile gözlemlenebilir [31].

2.10.4. Termogravimetrik Analizler (TGA)

TGA, kütle değişimini izleyerek malzemelerin fiziksel ve kimyasal değişikliklerini sıcaklıkla karakterize eder [33]. Genellikle 200°C ve 800°C sıcaklıkları aralığında uçucu bozunma ürünleri, ısı işlemlere bağlı sertleşme ve termal stabilite TGA ile karakterize edilebilir [34].

TG analizine göre :

-150°C'nin altında, fiziksel olarak abzorbe edilmiş su, düşük moleküler ağırlıklı uçucu bileşikler, çözücüler ve sıkışmış gazlar görülür.

-150°C - 250°C arasında kütle kaybı, kimyasal olarak abzorbe edilmiş su, katkı maddeleri ve uçucu bozunma (dekompozisyon) ürünleri gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerden kaynaklanmaktadır.

- 250°C'nin üzerinde, bileşikler başlangıç ve bitiş sıcaklığı arasında ayrışmaya başlar. Çok bileşenli sistemler ve ara aşamalı reaksiyonlar için çoklu başlangıç ve bitiş sıcaklıkları mümkündür.
- Son set sıcaklığının üzerinde kalan malzeme uçucu olmayan inorganik külleri ve metalleri içerir.
- Oksitleyici bir ortamda, metalik bileşikler oksidasyon durumunu artırır ve kütle artar [34].

2.10.5. X-Işınlari Kırınımı (XRD)

X-ışınları kırınımı (XRD), X-ışınları tarafından oluşturulan kırınım deseninden atomik düzeyde bilgi edinmek için kullanılmaktadır. X-ışınları ölçümleri kristale zarar vermeksizin malzemenin yapısı hakkında bilgi veren güçlü bir yöntemdir [35].

XRD teknikleri, bilinmeyen malzemelerin fiziko-kimyasal yapısını incelemek için kullanılan en önemli karakterizasyon araçlarından biridir [36].

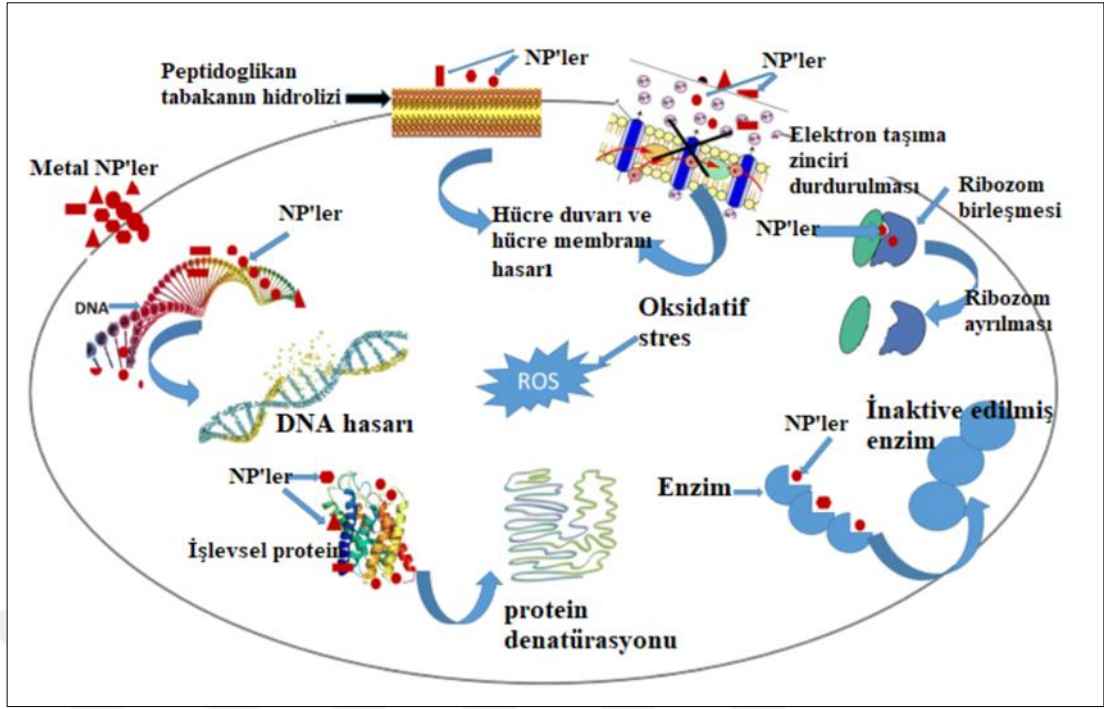
Debye-Scherrer formülü ile nanopartiküllerin boyutu hesaplanabilir.

$$D = K\lambda / (\beta \cos\theta) \quad (2.1)$$

D, parçacığın kristal çapı (nm); K, sabit sayıyı (0.90); λ , dalga boyu X-ışını'nı (1.5406 Å); β , maksimum pikin yarı yükseklikteki genişliği (rad.); θ , Bragg açısı (derece)'ni ifade etmektedir [36].

2.11. Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Özellikleri

Çeşitli nanopartiküller arasında metal nanopartiküller önemli bir yere sahiptir ve bu önemi yüksek yüzey/hacim oranı nedeniyle oluşan antibakteriyel özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Metalik nanopartiküllerin çeşitli antimikrobiyal aktiviteleri Şekil 2.4'te verilmiştir [37].



Şekil 2.4: Metalik NP'lerin antimikrobiyal aktivitesi için olası mekanizmalar.

Gümüş iyonları ve gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) yüzyıllardır antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılmıştır. Ag^+ öncelikle çoklu temel enzimleri inhibe ederek glikolizi hedefler ve geç aşamada redoks homeostaz sisteminin işlevsel bozulması yoluyla Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS-Reactive Oxygen Species) yükselmesine neden olur [38].

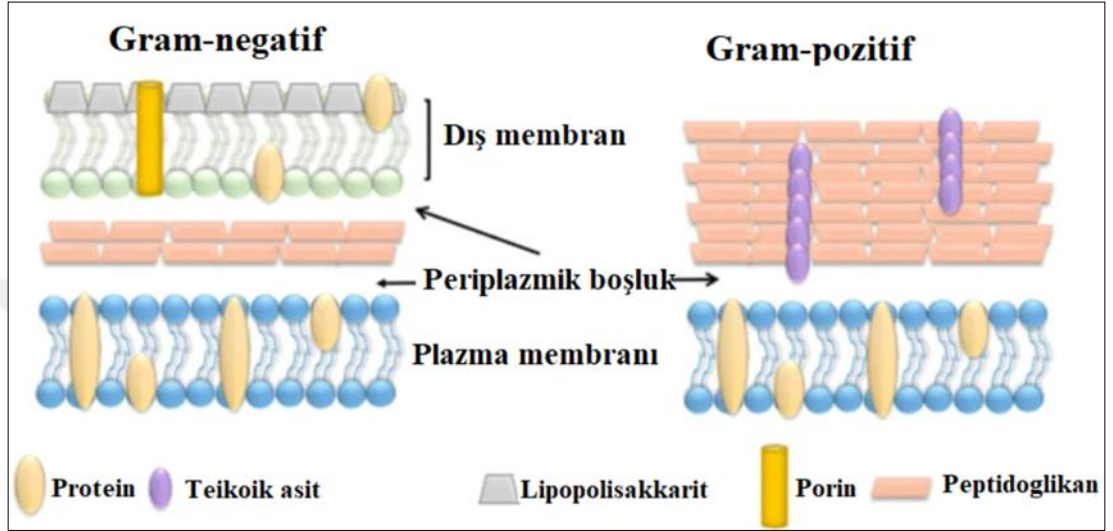
Genel olarak gümüş iyonları, RNA, DNA ve proteinler gibi çeşitli negatif yüklü moleküllere bağlanabilir.

Gümüş nanopartiküller için önerilen antibakteriyel etki mekanizması:

- Elektrostatik çekim,
- Serbest radikallerin üretimi, geçirgenlikteki değişiklikler, solunumun bozulması, hücre içi içeriğin sızması,
- Hücre döngüsü ilerlemesinde yer alan proteinlerin fosfotirozin profillerinin modülasyonu ve kapsüler polisakkaritlerin sentezi,
- SH gruplarıyla etkileşim; protein sentezi ve fonksiyonunun inhibisyonu,
- Fosfor içeren moleküller (DNA) ile etkileşimi

olarak açıklanabilir. [39].

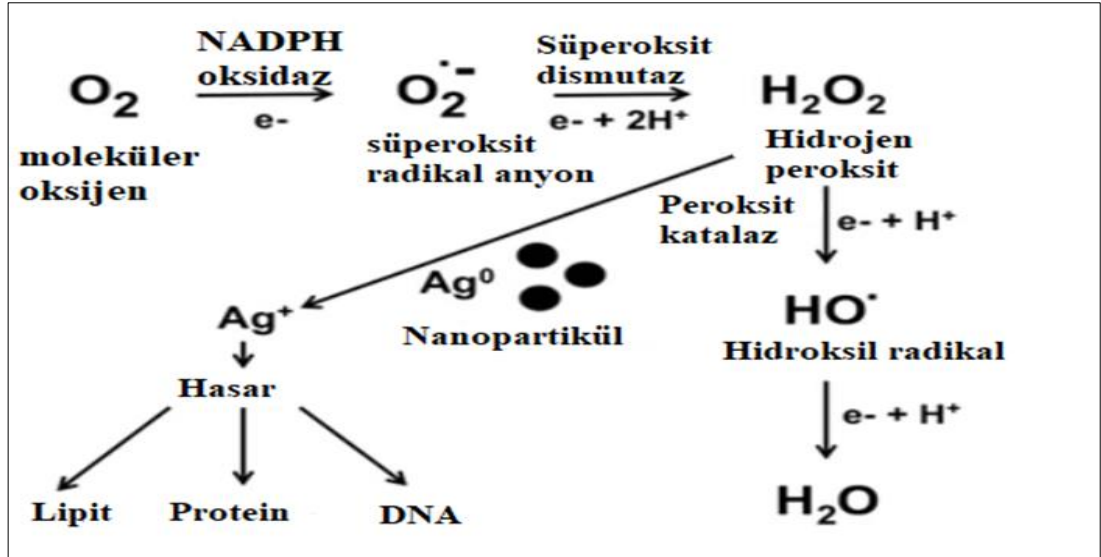
Elektrostatik çekim: Gram pozitif ve gram negatif hücre duvarları karşılaştırıldığında gram pozitif bakteriler duvarlarında kalın bir peptidoglikan tabaka bulundururken, gram negatif bakteriler ince bir peptidoglikan tabaka ve lipopolisakkarit bulundurur. Gram negatif ve gram pozitif bakteri karşılaştırılması Şekil 2.5’te verilmiştir [40].



Şekil 2.5: Bakteri hücre duvarlarının karşılaştırılması.

Gram negatif bakterilerde, negatif yük taşıyan lipopolisakkarit moleküllerin bulunması bakterilerin nanopartiküllere duyarlılığının nedenidir. Bu negatif yüklü moleküller nanopartiküllerin saldıdığı pozitif iyonlar için daha yüksek afiniteye sahiptir. NP'lerdeki pozitif yükün toksisiteyi artırdığı gösterilmiştir çünkü bakteri hücre duvarının negatif yükü pozitif yüklü NP'leri elektrostatik olarak çeker ve daha etkili olmalarına neden olur. Bu durum iyonların alımının artmasına ve hasara neden olur [40].

Serbest radikallerin üretimi : ROS reaktif olan ve temel metabolizma sırasında üretilen oksijen türleridir. Oksijen istenmeyen indirgeme durumlarına girdiğinde ve su yerine serbest radikallere, süperoksitlere ve peroksitlere dönüştüğünde ROS üretilir. UV ışığı, DNA hasarı ve NP'ler gibi hücre üzerindeki bir stres, ROS üretiminin hücre için toksik olan bir düzeye yükselmesine neden olabilir ve hücre hasarına veya hücre ölümüne neden olabilir. ROS üretiminde nanopartiküllerin rolü Şekil 2.6’da verilmiştir [40].



Şekil 2.6: ROS üretiminde nanopartiküllerin rolü.

SH gruplarıyla etkileşim : Gümüş, mikroorganizmaların yüzeyinde bulunan sülfidril gruplarıyla etkileşime girer ve S-Ag bağı oluşur. Kükürt içeren proteinler ve enzimlerle etkileşime girebilirler [39]. Bu durum solunumu ve elektron transferini bloke eder ve hücre ölümüne yol açar [41].

Fosfor içeren moleküller (DNA) ile etkileşim : Hücre zarının bozulmasıyla Ag^+ sitoplazmaya girebilir. Ag^+ iyonları nükleik asitlerle kompleks oluşturabilir ve etkileşime girebilir. Guanin bazına bağlanma, pirimidin dimerizasyonunu artırır ve DNA replikasyonuna müdahale edebilir [41].

Genel olarak AgNP'ler bakterilerde membran geçirgenliğini ve solunumu değiştirebilir, bakteri hücrelerinde geri dönüşü olmayan hasar oluşturabilir, bakteri DNA replikasyonunun inhibisyonuna ve hücre içi ATP inhibisyonuna neden olabilir [42], [43].

2.11.1. AgNP'lerin Antibakteriyel Etkisini Etkileyen Faktörler

Nanopartiküllerin konsantrasyonu, şekli, boyutu, bakterinin tipi bakterinin inaktivasyonunda etkilidir.

AgNP'lerin şekilleri incelendiğinde en fazla toksisiteye sahip olanların üçgen, küresel ve çubuk şekillerine sahip olduğu literatürde [41] belirtilmiştir. Yüzey yükünün de toksisitede önemi vardır. Negatif yüklü membran ve negatif yüklü AgNP arasındaki itme nedeniyle negatif yüklü AgNP'ler daha az duyarlılık oluşturur.

Pozitif yüklü AgNP'ler negatif olan hücre membranı tarafından çekilir ve etkileşime izin verir ve bu durum toksisite ile sonuçlanır.

Daha küçük AgNP'ler büyük AgNP'lere göre daha fazla gümüş iyonu salar. Azaltılmış partikül boyutu hücre duvarındaki nanopartikül penetrasyonunu artırabilir ve sonuç olarak daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterirler [44].



3. ÇALIŞMA BİTKİLERİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ

3.1. Karanfil Bitkisinin Genel Özellikleri



Şekil 3.1: Karanfil (*Syzygium aromaticum*) bitkisinin genel görünümü ve kısımları.

Karanfil, doğu Endonezya'daki Maluku adalarından yerli Mirtaceae familyasından bir ortalıca boy ağacıdır (8-12 m). Karanfil (*Syzygium aromaticum*) yüzyıllardır gıda koruyucu ve birçok tıbbi amaç için kullanılan en değerli baharatlardan biridir. Güçlü antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri nedeniyle çok dikkat çekmektedir [45]. Karanfilin temel fenolik bileşenleri ilaç, gıda ve tarımsal uygulamalar için büyük potansiyele sahip öjenol, terpenoidler, tanenler ve gallik asittir [46].

3.1.1. Karanfil Bitkisinin Kimyasal Bileşeni

Farmakolojik olarak, karanfil hidroksibenzoik asitler, flavonoidler, hidroksifenil propenler, hidroksinamik asitler ve öjenol gibi fenolik moleküllerin ana kaynağı olarak belgelenmiştir ve hidrolizlenebilir tanenler gibi gallik asit türevleri taze bitkide yüksek miktarlarda bulunur. Ayrıca karanfil; kuersetin ve kamferol gibi flavonoidler ve ferulik, kafeik, elajik ve salisilik asitler gibi fenolik asitler içerir. Karanfil çiçek tomurcukları, öjenol, öjenol asetat ve β -karyofilen'den oluşan %18'e

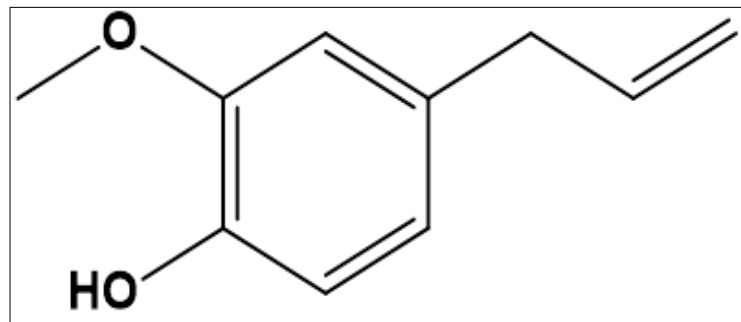
kadar uçucu yağ içerir. Karanfil bitkisinin kimyasal bileşenleri Tablo 3.1’de gösterilmiştir [45].

Tablo 3.1: Karanfil bitkisinin kimyasal bileşenleri.

Bileşen	Formülü	Bileşen	Formülü
Öjenol	$C_{10}H_{12}O_2$	Gallik asit	$C_7H_6O_5$
β -Karyofilen	$C_{15}H_{24}$	Biflorin	$C_{16}H_{18}O_9$
Vanilin	$C_8H_8O_3$	Mirisetin	$C_{15}H_{10}O_8$
Maslinik asit	$C_{30}H_{48}O_4$	Kampesterol	$C_{28}H_{48}O$
Kamferol	$C_{15}H_{10}O_6$	Stigmasterol	$C_{29}H_{48}O$
Ramnetin	$C_{16}H_{12}O_7$	Oleanolik asit	$C_{30}H_{48}O_3$
Öjenitin	$C_{12}H_{12}O_4$	Bikornin	$C_{48}H_{32}O_{30}$
Öjenin	$C_{11}H_{10}O_4$	KuerSetin	$C_{15}H_{10}O_7$
Elajik asit	$C_{14}H_6O_8$	Karvakrol	$C_{10}H_{14}O$

Karanfil yağının ana bileşeni olan öjenol, anestezi, analjezik etkilere sahiptir. Aynı zamanda antimikrobiyal, antioksidan, antifungal, antiviral, antiinflamatuvar, sitotoksik ve kardiyovasküler özelliklere sahiptir [47].

Öjenol, aromatik bir kısmın bir hidrokarbon zincirine, bir hidroksil grubuna ve bir metoksi grubuna bağlandığı bir yapıya sahiptir (Şekil 3.2). Hem metoksi hem de hidroksil gruplarının öjenolün antioksidan özelliği için hayati olduğu bilinmektedir [32].



Şekil 3.2: Öjenol’ün yapısı.

Syzygium aromaticum’un biyolojik aktiviteleri; antioksidan, antikanser, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antidiabetik, antimikrobiyal, antifungal, analjezik olarak söylenebilir.

3.2. Tarçın Bitkisinin Genel Özellikleri



Şekil 3.3: Tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) bitkisinin genel görünümü ve kısımları.

Tarçın, Sri Lanka ve tropik Asya'nın bir türüdür. Tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*), kabuğu ile bilinen küçük, tropikal, yaprak dökmeyen bir ağaçtır [48], [13]. *C. zeylanicum*'un antioksidan, antimikrobiyal ve antidiyabetik aktiviteleri vardır [48]. *C. zeylanicum* kabuğunun tip II diyabet ve insülin direncinin tedavisinde dikkate değer farmakolojik etkileri olduğu bildirilmiştir [49]. Şu anda tarçın, farmasötik preparatlarda, baharatlarda, kozmetiklerde, gıdalarda, içeceklerde ve kimya endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır ve en önemli doğal bitki kaynaklarından biri haline gelmiştir.

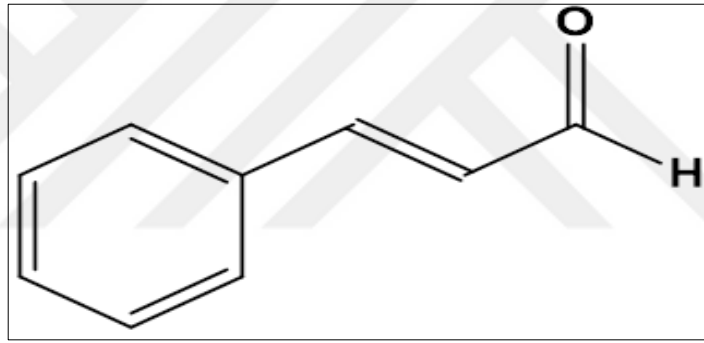
3.2.1. Tarçın Bitkisinin Kimyasal Bileşeni

Tarçın bitkisinin yapraklarında sinnemaldehit (%5) ve öjenol (%95); kabuk kısmında sinnemaldehit (%80) ve öjenol (%10); kök kısmında kafur (%60); meyvelerinde trans-sinnamil asetat (%54) ve karyofilen (%14); tomurcuklarında terpen hidrokarbonlar (%78), alfa-bergamoten (%27.38), alfa-kopaen (%23), oksijenat terpenoidler (%9); çiçeklerinde trans-alfa bergamoten (%7.97) ve karyofilen oksit (%7.20) bulunur. Tarçında bulunan kimyasal bileşenler Tablo 3.2'de gösterilmiştir [50].

Tablo 3.2: Tarçın bitkisinin kısımlarında bulunan kimyasal bileşenler.

Bitkinin Kısımları	Kimyasal Bileşenler
Yaprak	Sinnemaldehit (% 1-5) Öjenol (% 70-95)
Kabuk	Sinnemaldehit (% 65-80) Öjenol (% 5-10)
Kök Kabuğu	Kafur (%60)
Meyve	Trans-sinnamil asetat (% 42-54) Karyofilen (% 9-14)

Sinnemaldehit tarçın kabuğunun ana bileşenidir ve aromatik bir aldehittir (Şekil 3.4). Sinnamaldehit, amino asitlerin veya proteinin amino grubu ile yeni bileşikler oluşturarak reaksiyona girebilir çünkü serbest karbonil grubuna sahiptir ve amino asitlerin serbest amino grupları ile reaksiyona girebilirler [51].



Şekil 3.4: Sinnemaldehit'in yapısı.

4. DENEYSEL YÖNTEMLER

4.1. Kullanılan Cihazlar

4°C Buzdolabı (Regal), -20°C derin dondurucu (Regal), Isıtıcı (Heidolph), Tartı (Precisa), Hassas Terazı (Mettler Toledo), Öğütücü (Delonghi), Santrifüj (Eppendorf Centrifüğe 5415 R), Santrifüj (Eppendorf Centrifüğe 5810 R), Santrifüj (Nüve NF 1200 R), İnkübatör (Excella E25), Etüv (Binder), Otoklav (WiseClave), pH Metre (Mettler Toledo), Mikrodalga Fırın (Altus), Liyofilizatör (Scanvac CoolSafe), Ultrasonikasyon Cihazı (United Ultrasonic Clenear), UV-Vis Görüntüleme Cihazı (Shimadzu UV-3600), SEM Cihazı (Philips XL 30 SFEG), TGA Cihazı (Mettler Toledo).

4.2. Kullanılan Kimyasallar

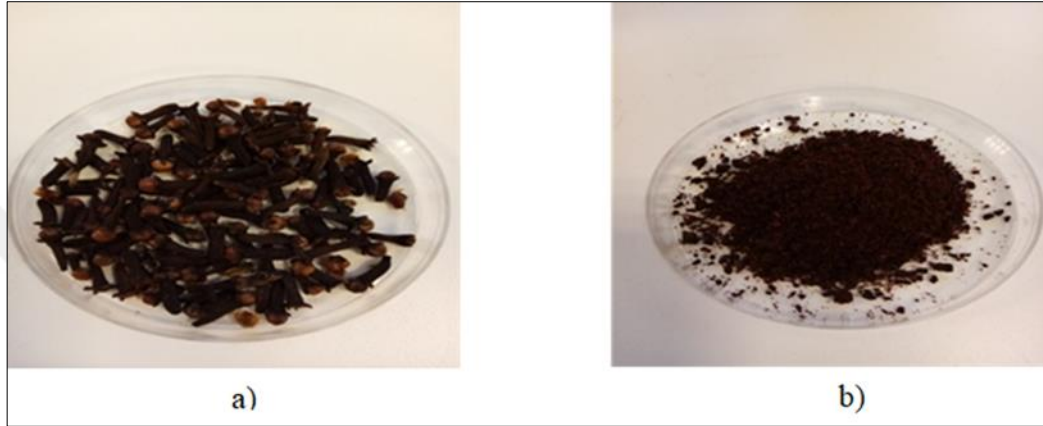
Folin-Ciocalteu çözeltisi, Na₂CO₃, gallik asit, ABTS radikali, potasyum persülfat (K₂S₂O₈), troloks çözeltisi (6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), BHT (butil hidroksi toluen), AgNO₃, Mueller-Hinton agar, ampisilin.

4.3. Karanfil (*Syzygium aromaticum*), Tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) ve Sarf Kimyasallarının Temini

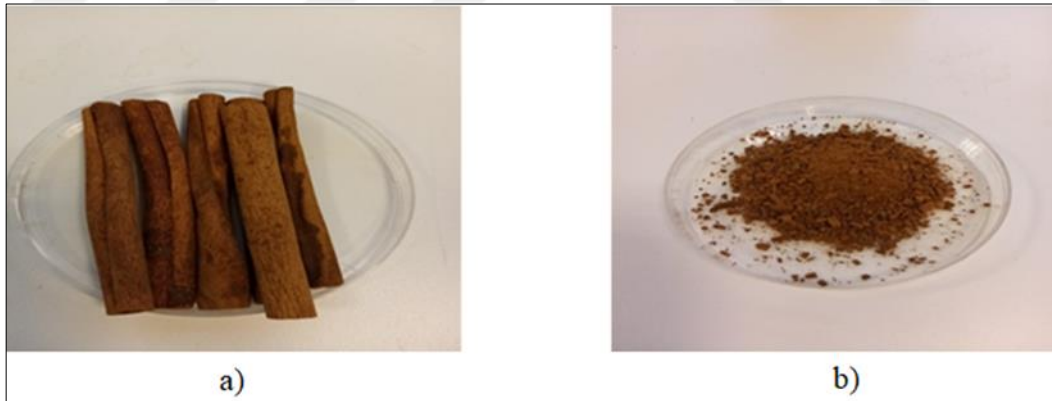
Kullanılan karanfil tomurcukları ve tarçın kabukları yerel aktardan alınmıştır. Kullanılacak kimyasallar ilgili firmalardan temin edilmiştir.

4.4. Karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve Tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*)’dan Farklı Ekstraksiyon Yöntemleri ile Ekstraktların Hazırlanması

Tarçın ve karanfil örnekleri yıkanarak oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutulmuş örnekler öğütücü ile toz haline getirilmiştir (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).



Şekil 4.1: a) Çalışmada kullanılan karanfil, b) öğütülerek toz haline getirilmiş hali.



Şekil 4.2: a) Çalışmada kullanılan tarçın kabuğu, b) öğütülerek toz haline getirilmiş hali.

Örneklerin hazırlanmasında kaynatma, maserasyon ve ultrasonikasyon olmak üzere üç farklı ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Kullanılan farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktlar ile ekstraktlardaki toplam fenolik madde miktarı tayin edilmiştir ve farklı ekstraksiyon yöntemlerinin verime etkisi incelenmiştir.

4.4.1. Kaynatma Yöntemi

Yerel marketten temin edilen karanfil (*Syzygium aromaticum*) distile su ile yıkanmış ve oda sıcaklığında kendiliğinden kurutulmuştur. Kurutulan karanfil mutfak robotundan geçirilerek toz haline getirilmiştir. Ekstraksiyonda çözücü olarak ultra deiyonize su kullanılmıştır. Karanfil (*Syzygium aromaticum*) hassas terazide 5 gr tartılıp 50 mL çözücü ile 30 dakika boyunca 80°C sıcaklıkta ve 500 rpm'de ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonrası katı kısım süzgeç kağıdı ile süzülerek çözeltiden ayrıştırılmıştır.

Yerel marketten temin edilen tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) distile su ile yıkanmış ve oda sıcaklığında kendiliğinden kurutulmuştur. Kurutulan tarçın kabukları mutfak robotundan geçirilerek toz haline getirilmiştir. Ekstraksiyonda çözücü olarak ultra deiyonize su kullanılmıştır. Tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) hassas terazide 1.25 gr tartılıp 50 mL çözücü ile 30 dakika boyunca 80°C sıcaklıkta ve 500 rpm'de ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonrası katı kısım süzgeç kağıdı ile süzülerek çözeltiden ayrıştırılmıştır.

4.4.2. Maserasyon Yöntemi

Öğütülerek toz haline getirilen tarçın kabukları ve karanfil, maserasyon yöntemi ile ekstrakte edilmiştir.

Karanfil (*Syzygium aromaticum*) hassas terazide 5 gr tartılıp 50 mL çözücü ile 40°C'de 24 saat boyunca bir ısıtıcı yardımıyla ekstrakte edilmiştir. Yöntem uygulanırken kullanılan karanfil örneğinin ışık almaması için alüminyum folyo ile sarılmıştır. Çözücü olarak ultra deiyonize su kullanılmıştır.

Tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) kabuğu hassas terazide 1.25 gr tartılıp 50 mL çözücü ile 40°C'de 24 saat boyunca bir ısıtıcı yardımıyla ekstrakte edilmiştir. Yöntem uygulanırken tarçın kabuğu örneğinin ışık almaması için alüminyum folyo ile sarılmıştır. Çözücü olarak ultra deiyonize su kullanılmıştır.

Elde edilen ekstratlardan çözücünün tamamen uzaklaştırılması için liyofilizatörde iki gün kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Tamamen kurutulan ekstraktlar kullanılabilecek kadar karanlıkta 4°C’de muhafaza edilmiştir. Yöntemlere göre ekstrakt verimleri hesaplanmış ve Tablo 5.1’de verilmiştir.

4.4.3. Ultrasonikasyon Yöntemi

Öğütülerek toz haline getirilen tarçın kabukları ve karanfil, ultrasonikasyon yöntemi ile ekstrakte edilmiştir.

Karanfil (*Syzygium aromaticum*) hassas terazide 5 gr tartılıp 50 mL çözücü ile 30 dakika boyunca ultrasonikasyon cihazında ekstrakte edilmiştir. Çözücü olarak ultra deiyonize su kullanılmıştır.

Tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) kabuğu hassas terazide 1.25 gr tartılıp 50 mL çözücü ile 30 dakika boyunca ultrasonikasyon cihazında ekstrakte edilmiştir. Çözücü olarak ultra deiyonize su kullanılmıştır.

4.5. Tarçın ve Karanfil Ekstraktlarının Fenolik Bileşen Tayini (Folin–Ciocalteu Metodu)

Toplam fenolik bileşen miktarları, literatürde belirtilen prosedüre uygun olarak Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak belirlenmiştir. Liyofilize edilmiş her bir örnekten 10 mg olacak şekilde tartılmış ve 1000 µL ultra deiyonize suda çözülmüştür. 10 mg/mL olarak hazırlanan ana stoktan 0.1 mg/mL olacak şekilde örnekler hazırlanmıştır. Elde edilen bu ekstraktlar (20 µL) ile taze Folin–Ciocalteu çözeltisi (100 µL), Na₂CO₃ (300 µL, %10) ve 1200 µL distile su ile iki saat oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edilerek 765 nm’deki absorbans değeri ölçülmüştür. Testler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Standart olarak gallik asidin farklı konsantrasyonları (0, 20, 40, 60, 80, 100, 200, 300, 400, 500 µL) kullanılmıştır. Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart eğrisi Şekil 5.1’de verilmiştir. Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart grafikten de yararlanılarak sonuçlar, mg gallik asit ekuvalenti (GAE) /g kuru ekstrakt olarak hesaplanmıştır ve tablo 5.2’de verilmiştir.

4.6. Tarçın ve Karanfil Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Elde edilen tarçın ve karanfil ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde iki farklı yöntem kullanılmıştır.

4.6.1. ABTS^{•+} Metodu

ABTS (7 mM, 10 mL) ve potasyum persülfat (2.4 mM, 10 mL) çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiler 1:1 oranında karıştırılarak karanlıkta 16 saat ABTS^{•+} radikal çözeltisi oluşturmak için inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında çözeltinin 734 nm'deki absorbans değeri PBS tampon çözeltisi ile 0.7 ±0.01 olacak şekilde ayarlanmıştır.

4.6.1.1. Troloks Standart Çözeltisinin Hazırlanması

Standart olarak kullanılmak üzere troloks stok çözeltisi (2.5 mM, 1 mL) hazırlanmış ve 50-500 µmol/L konsantrasyon aralığında hazırlanan standart grafiği oluşturulmuştur (Şekil 5.2). Tarçın ve karanfil ekstraktları (5 µL) veya standart olarak kullanılan troloks (5 µL) ve ABTS^{•+} radikal çözeltisi (245 µL) ile karıştırılmış ve 90 saniye reaksiyon sonundaki 734 nm'deki absorbans değerleri ölçülmüştür. Testler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Troloks kullanılarak hazırlanan standart grafiğinden faydalanılarak tarçın ve karanfil ekstraktlarının antioksidan kapasitesi troloks eşdeğeri olarak belirlenmiştir ve tablo 5.3'de verilmiştir. Ayrıca farklı ekstrakt konsantrasyonları için yüzde ABTS^{•+} radikal giderimi aşağıdaki formüle göre hesaplanarak Şekil 5.3'de gösterilmiştir. (A_0 =Kontrol Absorbans Değeri, A_1 =Örnek Absorbans Değeri).

$$\% \text{ Aktivite: } [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (4.1)$$

4.6.2. DPPH Metodu

Farklı konsantrasyonlardaki tarçın ve karanfil ekstraktları (50 µL) ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrillhidrazil) çözeltisi (100 µL, 0.1 mM) ile karıştırılmış ve 30 dk karanlıkta bekletilmiştir, reaksiyon sonunda 515 nm'deki absorbans değerleri ölçülmüştür. Standart çözeltisi olarak Butil Hidroksi Toluen (BHT) kullanılmıştır. BHT ticari olarak kullanılan bir antioksidandır. Hem ekstraktların hem BHT'nin farklı konsantrasyonlarında (0.3175, 0.625, 0.125, 0.25, 0.5 mg/mL) deney tekrarlanmıştır. Ekstratların ve BHT'nin DPPH radikali giderme aktivitesi aşağıda verilen formül ile hesaplanarak Şekil 5.4'te verilmiştir. (A_0 =Kontrol absorbans değeri, A_1 = Örnek absorbans değeri).

$$\% \text{ Aktivite: } [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (4.2)$$

4.7. Gümüş Nanopartikül Sentezine Etki Eden Faktörlerin Optimizasyonu

4.7.1. Ekstrakt Oranı Optimizasyonu

5 gr karanfil ve 1.25 gr tarçın kabuğu tartılarak üzerlerine 50 mL ultra deiyonize su eklenmiştir. Kaynatma yöntemi ile 80°C'de 30 dakika boyunca karanfil ve tarçın kabukları ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt süzgeç kağıdı ile süzölmüştür. Süzülen ekstraktlar santrifüjlenerek (45 dakika, 4°C, 8500 rpm) homojen ekstrakt elde edilmiştir. Farklı miktarlarda (25, 50, 125, 250, 500 µL) karanfil ve tarçın kabuğu ekstraktları AgNO₃ (10 mM, 1 mL) ile karıştırılmıştır. Karışım 40°C sıcaklıkta 30 dakika boyunca ısıtıcıda bekletilmiştir. Yaklaşık 5 dakika sonra örneklerin renkleri koyulaşmaya başlamıştır. Reaksiyon bittikten sonra santrifüj işlemi (30 dakika, 4°C, 13000 rpm) yapılmıştır. 1. Santrifüj işleminden sonra yıkama işlemi yapılmış ve 2 tekrarlı olacak şekilde santrifüj (15 dakika, 4 °C, 13000 rpm) yapılmıştır. Son olarak Uv-vis ile dalga boyu ölçülmüştür. Deney üç tekrarlı yapılmıştır.

4.7.2. Metal Tuzu Konsantrasyonu Optimizasyonu

5 gr karanfil ve 1.25 gr tarçın kabuğu tartılarak üzerlerine 50 mL ultra deiyonize su eklenmiştir. Kaynatma yöntemi ile 80°C’de 30 dakika boyunca karanfil ve tarçın kabukları ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt süzgeç kağıdı ile süzölmüştür. Süzölen ekstraktlar santriföjlenerek (45 dakika, 4°C, 8500 rpm) homojen ekstrakt elde edilmiştir. 25 µL karanfil ve 250 µL tarçın kabuğu ekstratları farklı konsantrasyonlarda (1 mM, 10 mM, 100 mM) AgNO₃ ile karıştırılmış ve karışım 40°C sıcaklıkta 30 dakika boyunca ısıtıcıda bekletilmiştir. Reaksiyon bittikten sonra santriföj işlemi (30 dakika, 4°C, 13000 rpm) yapılmıştır. 1. santriföj işleminden sonra yıkama işlemi yapılmış ve 2 tekrarlı olacak şekilde santriföj (15 dakika, 4°C, 13000 rpm) yapılmıştır. Son olarak Uv-vis ile dalga boyu ölçölmüştür. Deney üç tekrarlı yapılmıştır.

4.7.3. Tepkime Sıcaklığı Optimizasyonu

5 gr karanfil ve 1.25 gr tarçın kabuğu tartılarak üzerlerine 50 mL ultra deiyonize su eklenmiştir. Kaynatma yöntemi ile 80°C’de 30 dakika boyunca karanfil ve tarçın kabukları ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt süzgeç kağıdı ile süzölmüş, süzölen ekstraktlar santriföjlenerek (45 dakika, 4°C, 8500 rpm) homojen ekstrakt elde edilmiştir. 25 µL karanfil ve 250 µL tarçın kabuğu ekstratları, AgNO₃ (1 mL, 10 mM ile karıştırılarak farklı sıcaklıklarda (30 ,40, 50, 60, 70°C) 30 dakika süresince reaksiyona bırakılmıştır. Reaksiyon bittikten sonra santriföj işlemi (30 dakika, 4°C, 13000 rpm) yapılmıştır. 1. santriföj işleminden sonra yıkama işlemi yapılmış ve 2 tekrarlı olacak şekilde santriföj (15 dakika, 4°C, 13000 rpm) yapılmıştır. Son olarak Uv-vis ile dalga boyu ölçölmüştür. Deney üç tekrarlı yapılmıştır.

4.7.4. Tepkime Süresi Optimizasyonu

5 gr karanfil ve 1.25 gr tarçın kabuğu tartılarak üzerlerine 50 mL ultra deiyonize su eklenmiştir. Kaynatma yöntemi ile 80°C’de 30 dakika boyunca karanfil

ve tarçın kabukları ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt süzgeç kağıdı ile süzölmüş, süzölen ekstraktlar santriföjlenerek (45 dakika, 4°C, 8500 rpm) homojen ekstrakt elde edilmiştir. 25 µL karanfil ve 250 µL tarçın kabuğu ekstraktları, AgNO₃ (1 mL, 10 mM) ile karıştırılarak 40°C 'de farklı tepkime sürelerinde (5 dk, 15 dk, 30 dk, 1 saat, 2 saat, 3 saat, 18 saat, 24 saat) reaksiyona bırakılmıştır. Reaksiyon bittikten sonra santriföj işlemi (30 dakika, 4°C, 13000 rpm) yapılmıştır. 1. santriföj işleminden sonra yıkama işlemi yapılmış ve 2 tekrarlı olacak şekilde santriföj (15 dakika, 4°C, 13000 rpm) yapılmıştır. Son olarak Uv-vis ile dalga boyu ölçölmüştür. Deney üç tekrarlı yapılmıştır.

4.7.5. Tepkime pH'sı Optimizasyonu

5 gr karanfil ve 1.25 gr tarçın kabuğu tartılarak özerlerine 50 mL ultra deiyonize su eklenmiştir. Kaynatma yöntemi ile 80°C'de 30 dakika boyunca karanfil ve tarçın kabukları ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt süzgeç kağıdı ile süzölmüş, süzölen ekstraktlar santriföjlenerek (45 dakika, 4°C, 8500 rpm) homojen ekstrakt elde edilmiştir. 25 µL karanfil ve 250 µL tarçın kabuğu ekstraktları farklı pH değeerlerinde, AgNO₃ (1 mL, 10 mM) ile karıştırılarak 40°C 'de 30 dakika süresince reaksiyona bırakılmıştır. Karanfilin pH'sı yaklaşık 4, tarçının pH'sı yaklaşık 5.3 olarak ölçölmüştür. Karanfil için pH 5, 6, 7, 8, 9, 10 değeerlerinde, tarçın kabuğu için pH 6, 7, 8, 9, 10 değeerlerinde deney tekrarlanmıştır. pH ayarlaması NaOH (0.1 M) kullanılarak yapılmıştır. Reaksiyon bittikten sonra santriföj işlemi (30 dakika, 4°C, 13000 rpm) yapılmıştır. 1. santriföj işleminden sonra yıkama işlemi yapılmış ve 2 tekrarlı olacak şekilde santriföj (15 dakika, 4°C, 13000 rpm) yapılmıştır. Son olarak Uv-vis ile dalga boyu ölçölmüştür. Deney üç tekrarlı yapılmıştır.

4.8. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

Tarçın kabuğu ve karanfil ekstraktları ile gümüş nanopartiküllerin biyosentezinde, AgNO_3 sulu çözeltisi bitki özütü ile etkileştirilerek gümüş iyonları indirgenmiş ve gümüş nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Tarçın kabuğu ve karanfil ekstraktında bulunan fenolik bileşenler hem indirgeyici hem de kaplama ajanı olarak gümüş nanopartiküllerin sentezini gerçekleştirdiği gözlemlenmiştir.

4.8.1. Karanfil Ekstraktı ile Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

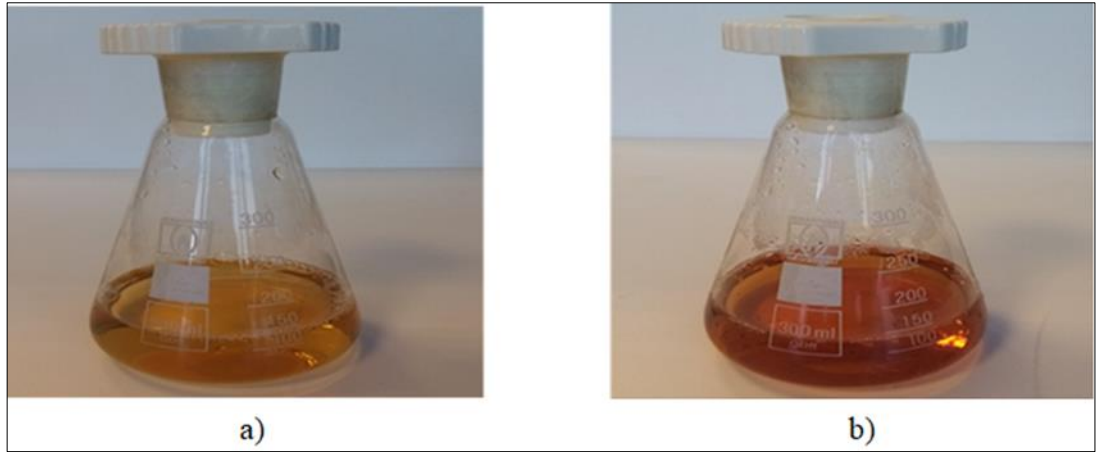
5 gr karanfil tartılarak üzerlerine 50 mL ultra deiyonize su eklenmiştir. Kaynatma yöntemi ile 80°C 'de 30 dakika boyunca karanfil ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt süzgeç kağıdı ile süzülüş ve süzülen ekstraktlar santrifüjlenerek (45 dakika, 4°C , 8500 rpm) homojen ekstrakt elde edilmiştir. 0.1 M Na_2CO_3 çözeltisi kullanılarak ekstraktın pH'sı 7 olacak şekilde ayarlanmıştır. Karanfil için büyük ölçekte gümüş nanopartikül sentezi yapılmıştır. Sentez 150 kat artırılmış olarak yapılmıştır. pH'sı 7 olan 3750 μL karanfil ekstraktı ile AgNO_3 (10 mM, 150 mL) karıştırılmış ve 30 dakika, 40°C 'de reaksiyona bırakılmıştır. Reaksiyon bittikten sonra santrifüj işlemi (60 dakika, 4°C , 11800 rpm) yapılmıştır. 1. santrifüj işleminden sonra yıkama işlemi yapılmış ve iki tekrarlı olacak şekilde santrifüj (30 dakika, 4°C , 13000 rpm) yapılmıştır. Son olarak Uv-vis ile dalga boyu ölçülmüş ve etüvde 40°C 'de 48 saat kurumaya bırakılmıştır.



Şekil 4.3: a) Karanfil ekstraktı ile nanopartikül sentezi öncesi b) nanopartikül sentezi sonrası renk değişimi.

4.8.2. Tarçın Ekstraktı ile Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

1.25 gr tarçın kabuğu tartılarak üzerlerine 50 mL ultra deiyonize su eklenmiştir. Kaynatma yöntemi ile 80°C’de 30 dakika boyunca tarçın kabuğu ekstrakte edilmiş ve elde edilen ekstrakt süzgeç kağıdı ile süzölmüştür. Süzülen ekstraktlar santrifüjlenerek (45 dakika, 4°C, 8500 rpm) homojen ekstrakt elde edilmiştir. 0,1 M Na_2CO_3 çözeltisi kullanılarak ekstraktın pH’sı 6 olacak şekilde ayarlanmıştır. Tarçın kabuğu için büyük ölçekte gümüş nanopartikül sentezi yapılmıştır. Sentez 100 kat artırılarak yapılmıştır. pH’sı 6 olan 25 mL tarçın kabuğu ekstraktı ile AgNO_3 (10 mM, 100 mL) karıştırılmış ve 30 dakika, 40°C’de reaksiyona bırakılmıştır. Reaksiyon bittikten sonra santrifüj işlemi (60 dakika, 4°C, 11800 rpm) yapılmıştır. 1. santrifüj işleminden sonra yıkama işlemi yapılmış ve iki tekrarlı olacak şekilde santrifüj (30 dakika, 4°C, 13000 rpm) yapılmıştır. Son olarak Uv-vis ile dalga boyu ölçölmüş ve etüvde 40°C’de 48 saat kurumaya bırakılmıştır.



Şekil 4.4: a) Tarçın kabuğu ekstraktı ile nanopartikül sentezi öncesi b) nanopartikül sentezi sonrası renk değişimi.

4.9. Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Özelliklerinin İncelenmesi

Karanfil ve tarçında yeşil yöntem ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel aktivitesi, gram pozitif ve gram negatif bakteriler kullanılarak disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

Mueller-Hinton agar plakalar üzerine bakteri suşlarından 50 µl ekim yapılmıştır. Ekim yapılmış agar üzerinde steril olarak açılan 6 mm kuyucuklara 50 µl karanfil ve tarçın kabuğu ekstraktı ile hazırlanmış gümüş nanopartiküllerden (40 mg/ml) ilave edilmiştir. Hazırlanan petriler 16 saat, 37°C’de etüvde inkübe edilmiştir. Ertesi gün oluşan inhibisyon zonları ölçülerek AgNP’lerin antibakteriyel ajan olarak etkinliği belirlenmiştir.

5. BÖLÜM SONUÇLAR ve TARTIŞMA

5.1. Karanfil (*Syzygium aromaticum*)’den ve Tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*)’dan Farklı Yöntemlerle Elde Edilen Ekstrakt Verimleri

Karanfil ve tarçın kabuğu ekstraktlarının kaynatma, ultrasonikasyon ve maserasyon yöntemlerine göre verimleri yüzde olarak hesaplanıp Tablo 5.1’de verilmiştir. KK1 (40°C,30 dk karanfil kaynatma); KK2 (80°C, 30 dk karanfil kaynatma); KU (30 dk karanfil ultrasonikasyon); KM (40°C, 24 saat karanfil maserasyon); TK1 (40°C,30 dk tarçın kaynatma); TK2 (80°C, 30 dk tarçın kaynatma); TU (30 dk tarçın ultrasonikasyon); TM (40°C, 24 saat tarçın maserasyon).

Tablo 5.1: Farklı yöntemlere göre ekstrakt verimleri.

Yöntem	Başlangıç miktarı (g)	Ekstrakt miktarı (g)	Verim (%)
KK1	5	0.678	13.56
KK2	5	0.559	11.18
KU	5	0.722	14.44
KM	5	0.74	14.8
TK1	1.25	0.092	7.36
TK2	1.25	0.164	13.12
TU	1.25	0.165	13.2
TM	1.25	0.102	8.16

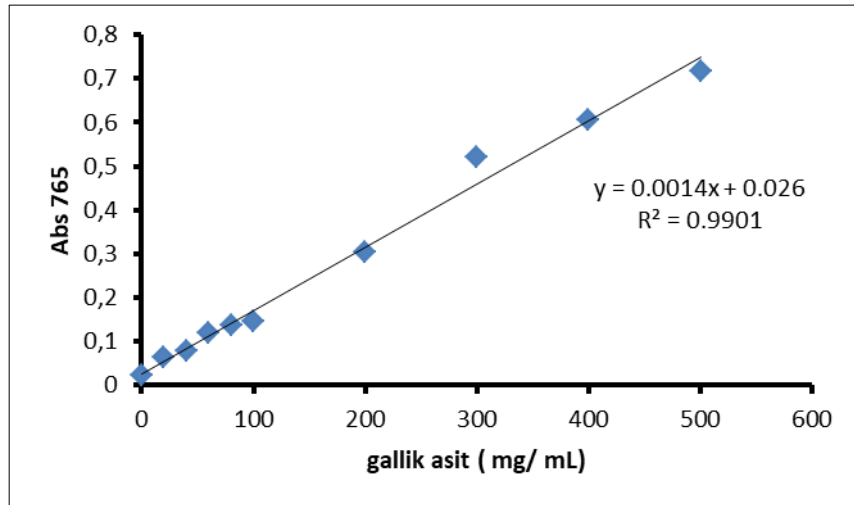
Yapılan çalışmada karanfil için en yüksek verim maserasyon yönteminde bulunmuş fakat yöntemin uygulamasının uzun olması sebebiyle tercih edilmemiştir. Ultrasonikasyon yönteminde ise fenolik bileşik miktarı daha az olduğundan 80°C kaynatma yöntemi nanopartikül sentezi için tercih edilmiştir. Tarçın için en yüksek verim 80°C kaynatma yöntemi bulunmuş ve bu yöntem nanopartikül sentezi için tercih edilmiştir.

5.2. Ekstraktların Fenolik Bileşen Tayini (Folin-Ciocalteu metodu)

Folin – Ciocalteu testi, alkali ortamda, Folin – Ciocalteu reaktifi ile fenolik bileşenler arasındaki elektron transfer reaksiyonlarına dayanan kolorimetrik bir yöntemdir [52], [53]. Sarı molibdo tungsto fosforik heteropolyanyon reaktifi ile fenollerin alkali çözeltisinde oksidasyonu ve elde edilen molibdo tungstofosfat mavisinin kolorimetrik ölçümünü içerir [54] ve yaklaşık 760- 765 nm'de spektroskopik olarak belirlenir [53]. Kolorimetrik reaksiyonlar UV / Vis spektrofotometrik yöntemde kolay, hızlı ve rutin laboratuvar kullanımında uygulanmakta ve düşük maliyetli olduğundan yaygın olarak kullanılmaktadır. Kolorimetrik yöntemde bir referans madde kullanılır, bu durumda bu yöntem, bitki ekstraktındaki fenolik hidroksil gruplarının toplam konsantrasyonunu ölçer. Referans maddeler gallik asit, kateşin, pirogalol, tannik asit olabilir.

Bitki özlerindeki polifenoller, görünür ışık spektrofotometrisi ile ölçülebilen mavi bir kompleks oluşturmak için spesifik redoks reaktifleri (Folin-Ciocalteu reaktifi) ile reaksiyona girer [55].

Karanfil ve tarçın kabuğu ekstratlarındaki toplam fenolik bileşen miktarları, literatürde belirtilen prosedüre uygun olarak Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak belirlenmiştir. Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart eğrisi Şekil 5.1'de görülmektedir.



Şekil 5.1: Gallik asit standart grafiği.

Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart grafikten de yararlanılarak sonuçlar, mg gallik asit ekuvalenti (GAE) /g kuru ekstrakt olarak hesaplanmış ve Tablo 5.2’de gösterilmiştir.

Tablo 5.2: Ekstratlarının toplam fenolik bileşen tayini.

Ekstraktlar	Konsantrasyon (mg/ml)	mg GAE/g kuru ekstrakt ağırlığı
KK1	0.288	288
KK2	0.321	321
KU	0.301	301
KM	0.327	327
TK1	0.188	188
TK2	0.238	238
TU	0.211	211
TM	0.180	180

Örneklerin toplam fenolik madde miktarı karafil için 288-327, tarçın için 180-238 mg GAE/g kuru ekstrakt aralığında bulunmuştur. Sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek toplam fenolik bileşen miktarının karanfil için maserasyon, tarçın için 80°C kaynatma ekstraksiyonundan elde edildiği görülmüştür.

Çalışmada karanfil için, mg gallik asit ekuvalenti (GAE) /g kuru ekstraktı ağırlığı en fazla maserasyon yönteminden elde edilse de süre avantajından dolayı nanopartikül sentezinde 80°C kaynatma yöntemi tercih edilmiştir. Tarçın için ise mg gallik asit ekuvalenti (GAE) /g kuru ekstraktı ağırlığı en fazla 80°C kaynatma yönteminden elde edilmiş ve nanopartikül sentezinde bu yöntem tercih edilmiştir.

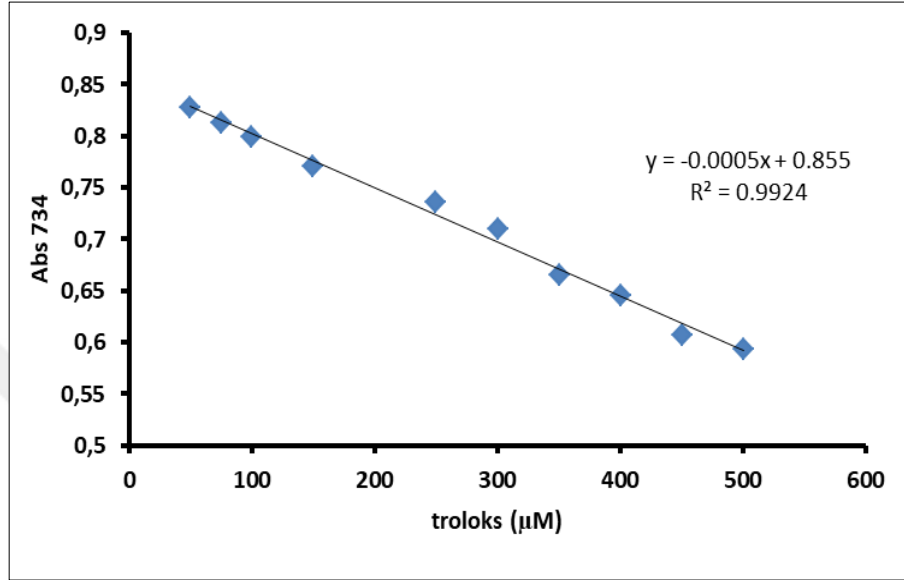
5.3. Antioksidan Aktivitelerin Belirlenmesi

5.3.1. ABTS/TE Metodu ile Ekstraktların Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Bu yöntem, ABTS’nin (2,2’-azinobis-(3- etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) oksidasyonu ile oluşturulan ABTS^{•+} radikal çözeltisi üzerine, antioksidan içeren örneğin eklenmesi sonucu radikalın indirgenmesi ve oluşan mavi/yeşil renkli ABTS^{•+} radikalının renginin 734 nm dalga boyunda belirlenmesi ilkesine dayanmaktadır [56].

Reaksiyon sonucu harcanan ABTS^{•+} miktarı, troloks eşdeğeri olarak hesaplanır ve sonuçlar troloks eşdeğeri ve yüzde ABTS^{•+} radikal giderimi olarak ifade edilir .

Standart olarak kullanılmak üzere troloks stok çözeltisi (2.5 mM, 1 mL) hazırlanmış ve 50-500 µmol/L konsantrasyon aralığında hazırlanan standart grafiği oluşturulmuş ve Şekil 5.2’de verilmiştir.



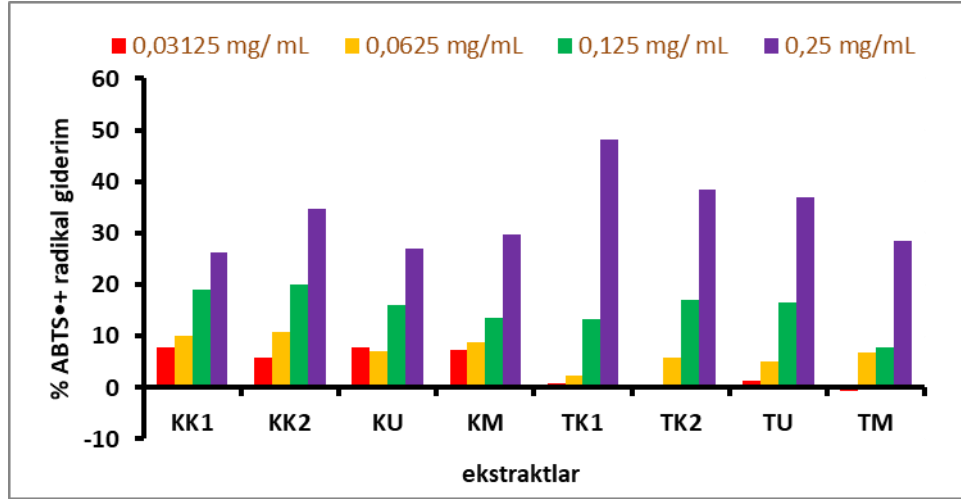
Şekil 5.2: Troloks standart grafiği.

Farklı metodlar ile elde edilen ekstraktların 0.03125-0.25 mg/mL konsantrasyon aralığında ABTS yöntemine göre antioksidan kapasiteleri mikromolar troloks/ g kuru ekstrakt olarak tespit edilmiştir (Tablo 5.3).

Genel olarak verilen konsantrasyonlarda karanfil için 80°C kaynatma yöntemi tarçın için 40°C kaynatma yöntemi ile elde edilen ekstaktların en yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu görülmektedir.

Tablo 5.3: Karanfil ve tarçın ekstratlarının troloks eşdeğeri olarak antioksidan tayini.

Konsantrasyon (mg/mL)	Troloks eşdeğeri (µM)							
	KK1	KK2	KU	KM	TK1	TK2	TU	TM
0,03125	164.2	131.8	165.2	155.8	220.8	209.4	226.8	197
0,0625	201.2	213.8	150	179.8	242	295.2	283.4	309.6
0,125	351.8	366.6	303	260.2	407.4	461	456.6	324.8
0,25	472.4	613.2	486.2	532.8	930.2	785	763.8	633.6

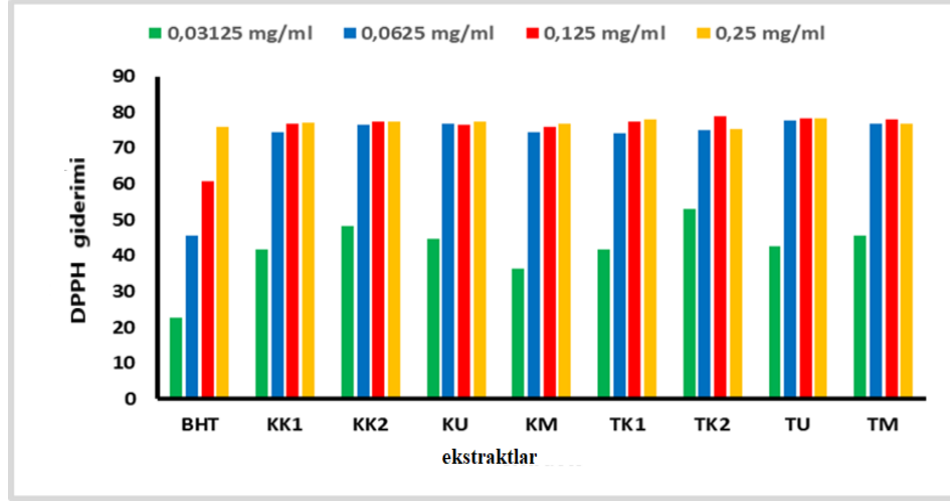


Şekil 5.3: % ABTS^{•+} radikal giderim değerleri.

Elde edilen ekstraktların yüzde ABTS^{•+} radikal süpürme etkileri hesaplanarak Şekil 5.3'te gösterilmiştir. Artan konsantrasyonlarla beraber ABTS^{•+} radikal giderim değerinin arttığı ve 0.25 mg/mL konsantrasyonda ise en yüksek giderim olduğu gözlenmiştir.

5.3.2. DPPH Metodu ile Ekstraktların Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Yöntem, DPPH radikalinin antioksidanlar tarafından bir redoks reaksiyonuna bağlı olarak süpürülmesi temeline dayanır. Metanolik DPPH çözeltisinin koyu menekşe rengi açılır ve 515 nm'deki absorbanstaki azalma UV-Vis spektrofotometresiyle ölçülür. Ekstratların DPPH radikali giderme aktivitesi hesaplanmıştır.



Şekil 5.4: % DPPH radikal giderim değerleri.

Artan konsantrasyonlarla beraber DPPH radikal giderim değerinin arttığı ve 0.25 mg/mL konsantrasyonda ise yaklaşık %75-80 aralığında radikal giderim olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5.4). Ayrıca, ticari olarak bilinen BHT ile karşılaştırıldığında karanfil ve tarçın kabuğu ekstraktlarının düşük konsantrasyonlarda dahi daha etkili olduğu ve daha yüksek giderim kapasitesine sahip olduğu Şekil 5.4'te görülmektedir.

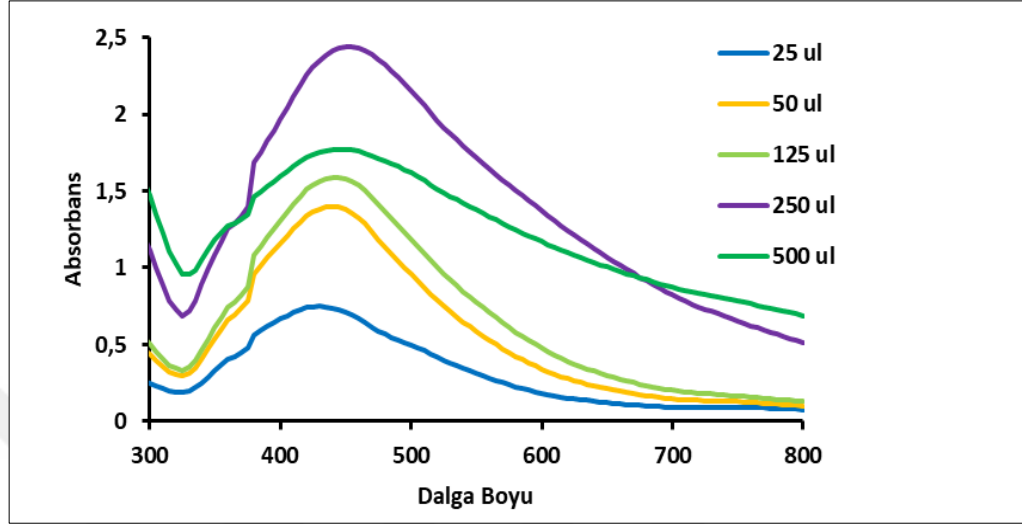
5.4. Karanfil ve Tarçın Ekstraktları ile Hazırlanan Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

5.4.1. Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi (UV-Vis) Analizleri

UV-Vis spektroskopisi, AgNP'lerin oluşumunu izlemek için basit ve yaygın olarak kullanılan bir analitik tekniktir. Bir elektromanyetik alanla etkileşim üzerine, metal NP'lerin en dış yörüngesinde bulunan iletken elektronlar toplu olarak belirli dalga boylarında rezonans içinde salınarak yüzey plazmon rezonansı (SPR) sergiler. SPR'nin uyarılması, AgNP'lerin koloidal bir çözeltisinde renk ve absorbans oluşumundan sorumludur. Yaklaşık 435 nm'deki SPR zirveleri, genellikle gümüş nitratin AgNP'lere indirgendiğini doğrulamak için kabul edilir [57], [58]. Genel olarak, küresel NP'ler absorbans spektrumlarında yalnızca tek bir SPR bandı, prizmalar ve çubuklar için iki veya daha fazla SPR bandı gözlemlenir [59].

Farklı tepkime koşullarında oluşan karanfilden elde edilen gümüş nanopartiküllerin dalga boyu 200-800 nm aralığında UV-Vis-NIR Spektrofotometre

(Shimadzu 3600) marka cihaz ile kuvars küvet içerisinde 100 μL karanfil ekstraktı üzerine 900 μL ultra deiyonize su eklenerek ölçülmüştür ve görünür bölgede keskin pikler olarak elde edilmiştir.

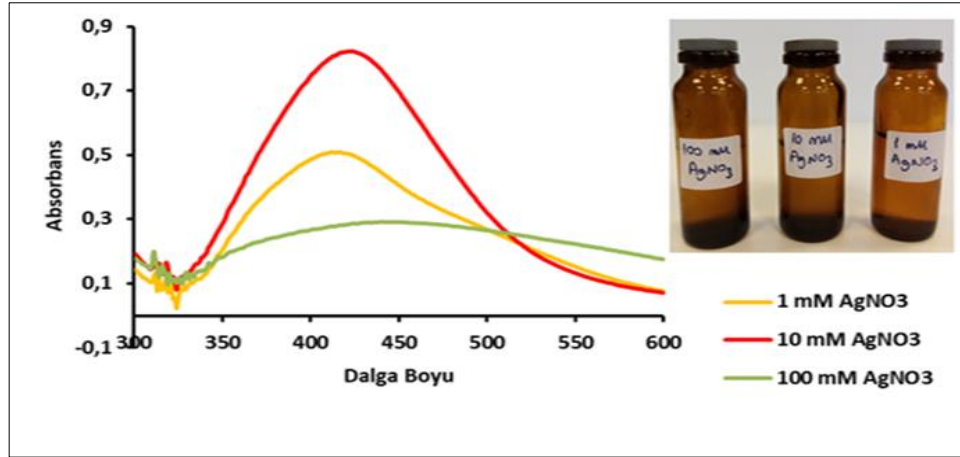


Şekil 5.5: Farklı konsantrasyonlardaki karanfil ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.

Tablo 5.4: Karanfil için farklı ekstrakt miktarları değişkenlerine ait absorbans değerleri.

Dalga Boyu (nm)	$A_{\max}$	Karanfil ekstresi(μL)
430	0.7484	25
440	1.3996	50
445	1.5905	125
455	2.4418	250
450	1.7717	500

Karanfil ekstresi miktarı arttıkça dalga boyunda artış meydana gelmiştir. Ekstakt konsantrasyonunun artırılması üzerine absorpsiyon spektrumu kaymıştır (430'den 455 nm'ye), bu da AgNP'lerin boyutunda bir artışa işaret etmektedir. Bu sonuç literatürle uyumludur [60]. Sonuç olarak karanfil ekstresi miktarı için 430 nm'de keskin pik veren 25 μL miktarına karar verilmiştir.



Şekil 5.6: Farklı AgNO_3 konsantrasyonlardaki karanfil ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.

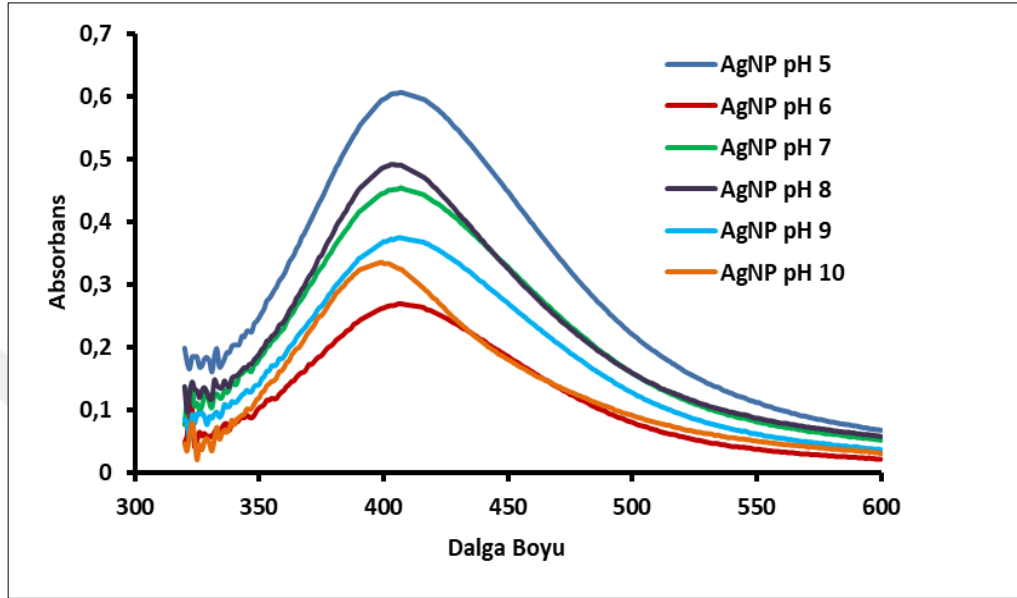
Tablo 5.5: Karanfil için farklı AgNO_3 konsantrasyonlarına ait absorbanans değerleri.

Dalga Boyu (nm)	Amax	AgNO_3 konsantrasyonu
412	0.509	1 mM
423	0.823	10 mM
440	0.292	100 mM

Literatüre göre UV-Vis spektrumlarında gümüş nitrat konsantrasyonunun artmasıyla nanopartikül oluşumunun da arttığı görülmüştür. Daha yüksek gümüş iyonu konsantrasyonunda keskin pikler gözlenmiştir. Bu sonuçlar, metal iyon konsantrasyonu arttıkça partikül boyutunun da arttığını göstermektedir [61]. Karanfil ile nanopartikül sentezi için 423 nm'de keskin pik veren 10 mM AgNO_3 konsantrasyonu miktarına karar verilmiştir.

Nanopartiküllerin oluşumunu etkileyen bir diğer faktör çözeltinin pH değeridir. pH, biyomoleküllerin yükünü değiştirme yeteneğine sahip olduğundan, pH'daki değişiklik, partiküllerin şeklini ve boyutunu etkiler, bu da onların kapatma ve stabilize etme yeteneklerini etkileyebilir. Literatüre göre çözeltinin pH'sının artmasıyla parçacıkların boyutunun arttığı gösterilmiştir. Yüksek pH'da, ekstraktaki fonksiyonel grupların nanopartiküllerin sentezini desteklediği görülmüştür. Bununla birlikte, çok yüksek pH'da partiküllerin kararsız hale geldiği belirtilmiştir [60], [62]. Sonuç olarak, alkali pH'nın AgNP'lerin sentezi için daha uygun olduğu söylenebilir [62].

Tez çalışmamızda, karanfil ekstrakt miktarı ve uygun konsantrasyonda metal tuzu belirlendikten sonra farklı pH değerlerinde AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. Karanfil pH'sı 4,1 olarak ölçülmüştür ve pH 5, 6, 7, 8, 9, 10 olacak şekilde ayarlanarak sentez gerçekleştirilmiştir.



Şekil 5.7: Farklı pH'larda karanfil ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.

Tablo 5.6: Karanfil için farklı pH değişkenlerine ait absorpsiyon değerleri.

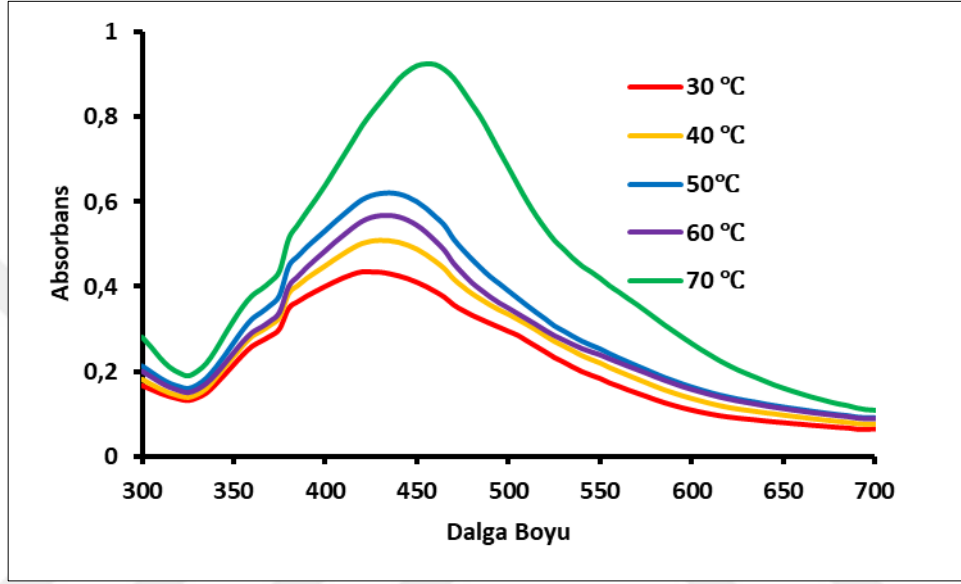
Dalga Boyu (nm)	$A_{\max}$	pH
407	0.607	5
407	0.27	6
407	0.455	7
404	0.492	8
407	0.375	9
399	0.336	10

Çözeltinin pH'ının nanopartiküllerin oluşumu üzerindeki etkileri değerlendirilmiş; pH 5, 6, 7 ve 9 'da UV spektrumunda dalga boyunun sabit kaldığı pH 8 ve 10'da absorpsiyonun azaldığı gözlenmiştir. Çalışmamızda pH 7 keskin bir pik verdiği için optimum pH olarak belirlenmiştir.

Sıcaklık, nanoparçacıkların sentezini önemli ölçüde etkileyen bir diğer önemli faktördür. Sıcaklıktaki artışla gümüş tuzunun indirgenmesi artar. Bu, sentezlenen nanoparçacıkların boyutunun artan sıcaklıkla azaldığını ve bunun daha yüksek

sıcaklıkta daha hızlı reaksiyon hızından kaynaklanabileceğini gösterir. Böylece, daha yüksek sıcaklıkta düzgün boyut dağılımına sahip daha küçük parçacıklar oluşur [60], [63].

Karanfil ekstrakt miktarı, uygun konsantrasyonda metal tuzu ve uygun pH belirlendikten sonra farklı sıcaklıklarda (30, 40, 50, 60, 70°C) AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir.



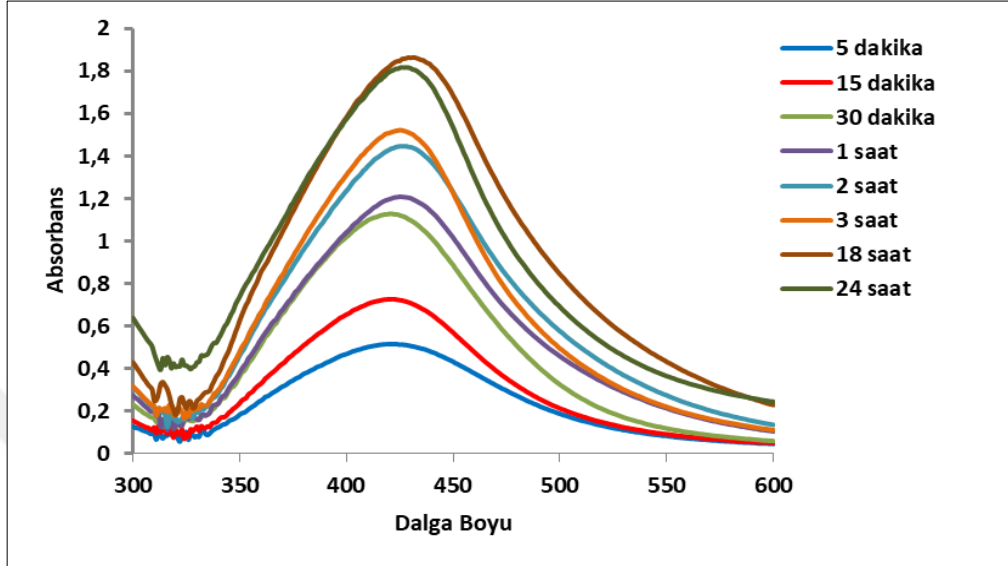
Şekil 5.8: Farklı sıcaklıklarda karanfil ekstraktlarından elde edilen AgNP’lerin UV-Vis spektrumu.

Tablo 5.7: Karanfil için farklı sıcaklık değişkenlerine ait absorbans değerleri.

Dalga Boyu (nm)	A_{max}	Sıcaklık
420	0.4349	30
430	0.509	40
435	0.6209	50
435	0.5678	60
455	0.9253	70

Literatür [60], [63] sıcaklıktaki artışla partikül büyüklüğünün azaldığını göstermiştir fakat çalışmamızda sıcaklık ile dalga boyu yani partikül boyutu arasında böyle bir ilişki görülmemiştir, literatürün aksine sıcaklık attıkça partikül boyutunun büyüdüğü görülmüştür. Çalışmamızda 40°C optimum sıcaklık olarak belirlenmiştir.

Karanfil ekstrakt miktarı, uygun konsantrasyonda metal tuzu, uygun pH ve sıcaklık belirlendikten sonra farklı tepkime sürelerinde (5 dakika, 15 dakika, 30 dakika, 1 saat, 2 saat, 3 saat, 18 saat, 24 saat) AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir.

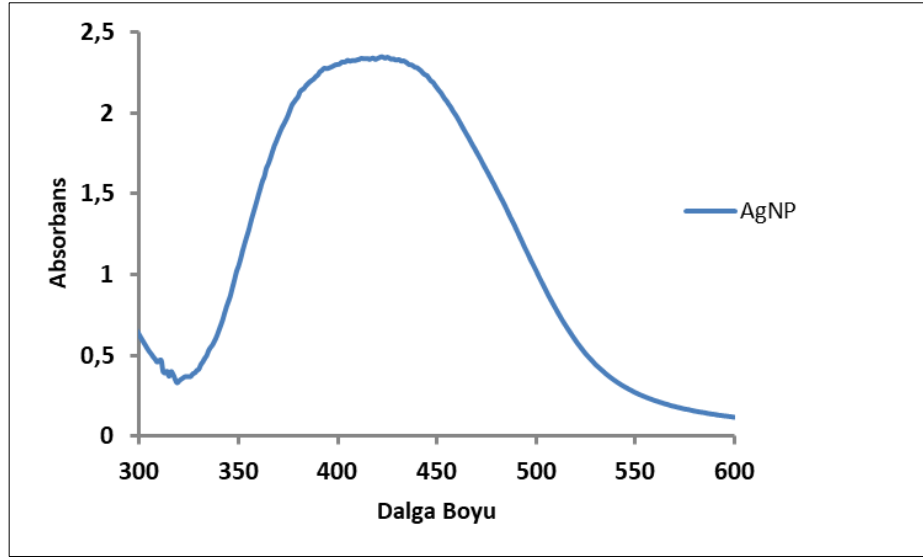


Şekil 5.9: Farklı tepkime sürelerinde karanfil ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.

Tablo 5.8: Karanfil için farklı tepkime süreleri değişkenlerine ait absorbans değerleri.

Dalga Boyu (nm)	A_{max}	Süre
420	0.516	5 dakika
421	0.727	15 dakika
421	1.129	30 dakika
425	1.209	1 saat
425	1.446	2 saat
425	1.522	3 saat
429	1.863	18 saat
426	1.817	24 saat

Şekil 5.9'da gösterildiği gibi SPR piklerinin yoğunluğu, reaksiyon süresi arttıkça artmış, bu da gümüş iyonlarının azalmaya devam ettiğini göstermiştir. Reaksiyon süresi ile absorbansın artması, AgNP'lerin konsantrasyonunun arttığını göstermiştir. Literatür ile kıyaslanınca sonuçların benzer olduğu gözlenmiştir [64], [65]. Çalışmamızda 30 dakika optimum süre olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.10: Optimize edilmiş koşullarda karanfil ekstraktından sentezlenmiş AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.

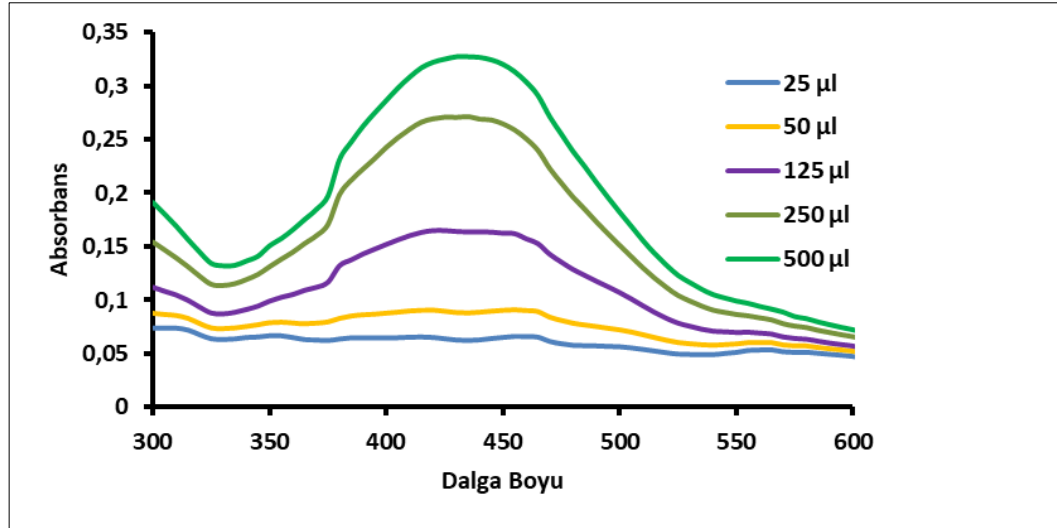
Tablo 5.9: Optimize edilmiş koşullarda sentezlenen karanfil AgNP absorbansı

Dalga Boyu (nm)	$A_{\max}$
422	2.35

Karanfil özütleri kullanılarak Ag iyonlarının indirgenmesi, 422 nm'de güçlü bir absorpsiyon göstermiştir. Gözlenen bu değer literatür ile benzerlik göstermektedir [57].

AgNP'lerin oluşumunun birincil tespiti, basit görsel gözlem ile yapılmıştır. Reaksiyon çözeltisinin renginin zamanla açık kahverengiden koyu kahverengiye değişmesi AgNP'lerin oluşumunu göstermektedir. Gözlenen renk değişiklikleri, AgNP'ler ile yüzey plazmon rezonansının (SPR) uyarılmasından kaynaklanmaktadır. Sentezlenen nanopartiküllerin SPR'si, gümüş nitratin AgNP'lere indirgendiğini gösteren 422 nm'de absorpsiyon üretmiş ve bu UV-Vis spektrumu ile doğrulanmıştır.

Farklı tepkime koşullarında oluşan tarçından elde edilen gümüş nanopartiküllerin dalga boyu 200-800 nm aralığında UV-Vis-NIR Spektrofotometre (Shimadzu 3600) marka cihaz ile kuvars küvet içerisinde 100 μ L tarçın ekstraktı üzerine 900 μ L ultra deiyonize su eklenerek ölçülmüştür ve görünür bölgede keskin pikler olarak elde edilmiştir.



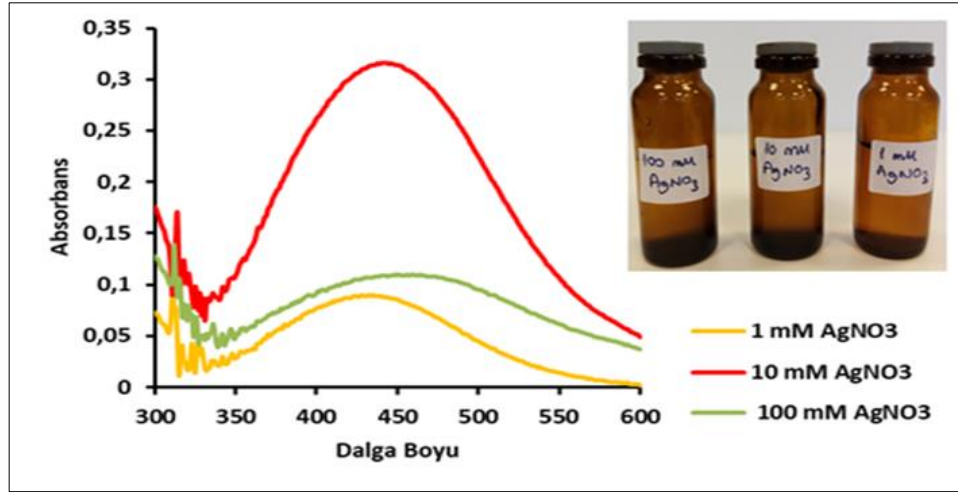
Şekil 5.11: Farklı konsantrasyonlardaki tarçın ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.

Tablo 5.10: Tarçın için farklı ekstrakt miktarları değişkenlerine ait absorbans değerleri.

Dalga Boyu (nm)	A _{max}	Tarçın ekstresi(uL)
460	0.066	25
455	0.0909	50
420	0.1649	125
425	0.2708	250
430	0.3272	500

Tarçın ekstresi miktarı arttıkça dalga boyunda değişiklikler meydana gelmiştir. Ekstakt konsantrasyonunun artırılması üzerine absorpsiyon spektrumu kaymıştır (460'den 430 nm'ye), bu da AgNP'lerin boyutunda bir azalmaya işaret etmektedir. Bu sebeple tarçın ekstresi miktarı için 425 nm'de keskin pik veren 250 µL miktarına karar verilmiştir.

Tarçın kabuğu için uygun ekstrakt miktarı belirlendikten sonra ultra deiyonize su ile hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki AgNO₃ miktarları (1 mM, 10 mM, 100 mM) ile AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir.



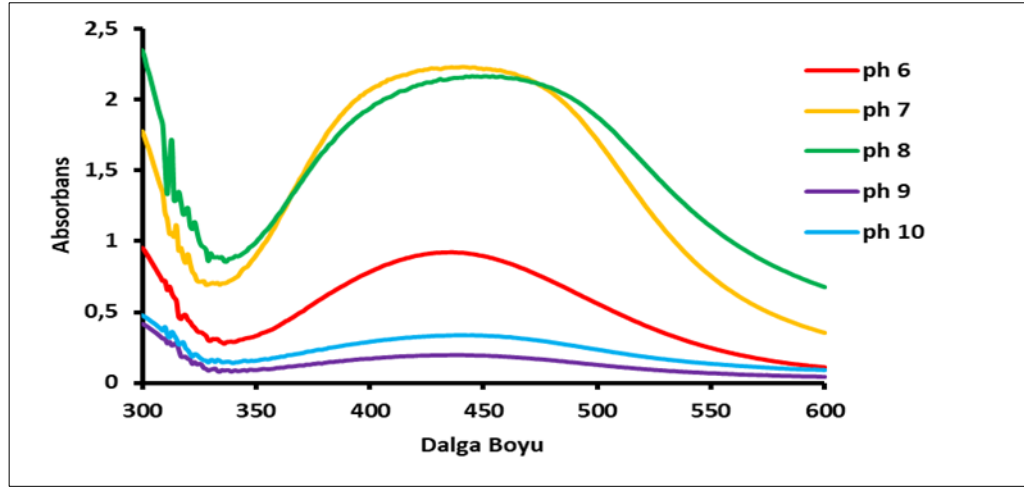
Şekil 5.12: Farklı AgNO_3 konsantrasyonlardaki tarçın ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.

Tablo 5.11: Tarçın kabuğu için farklı AgNO_3 konsantrasyonlarına ait absorbans değerleri.

Dalga Boyu (nm)	A_{max}	AgNO_3 konsantrasyonu
428	0.09	1 mM
438	0.316	10 mM
440	0.109	100 mM

Tarçın kabuğu ile nanopartikül sentezi için 438 nm'de keskin pik veren 10 mM AgNO_3 konsantrasyonu miktarına karar verilmiştir.

UV-Vis spektrumlarında gümüş nitrat konsantrasyonunun artmasıyla nanopartikül oluşumunun da arttığı görülmüştür. Bu sonuçlar, literatür ile uyum göstermektedir [61]. Tarçın kabuğu ekstrakt miktarı ve uygun konsantrasyonda metal tuzu belirlendikten sonra farklı pH değerlerinde AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. Tarçın pH 'sı 5,3 olarak ölçülmüştür ve pH 6, 7, 8, 9, 10 olarak sentez gerçekleştirilmiştir.



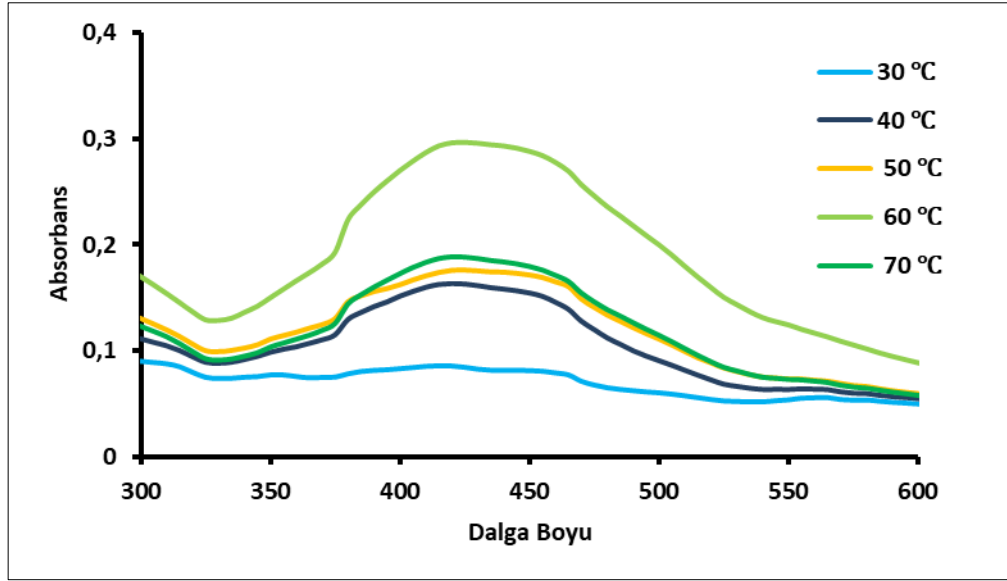
Şekil 5.13: Farklı pH’larda tarçın ekstraktlarından elde edilen AgNP’lerin UV-Vis spektrumu.

Tablo 5.12: Tarçın için farklı pH değişkenlerine ait absorbans değerleri.

Dalga Boyu (nm)	A_{max}	pH
437	0.922	6
440	2.231	7
445	2.167	8
441	0.197	9
441	0.337	10

Çözeltilerin pH’ının nanopartiküllerin oluşumu üzerindeki etkileri değerlendirilmiş; pH 6’dan 8’e yükseldikçe UV-Vis spektrumunda absorpsiyonun arttığı pH 9 ve 10’da absorpsiyonun azaldığı ve sabit kaldığı gözlenmiştir. Çalışmamızda pH 6 keskin pik verdiği için optimum pH olarak belirlenmiştir.

Tarçın kabuğu ekstrakt miktarı, uygun konsantrasyonda metal tuzu ve uygun pH belirlendikten sonra farklı sıcaklıklarda (30, 40, 50, 60, 70°C) AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir.



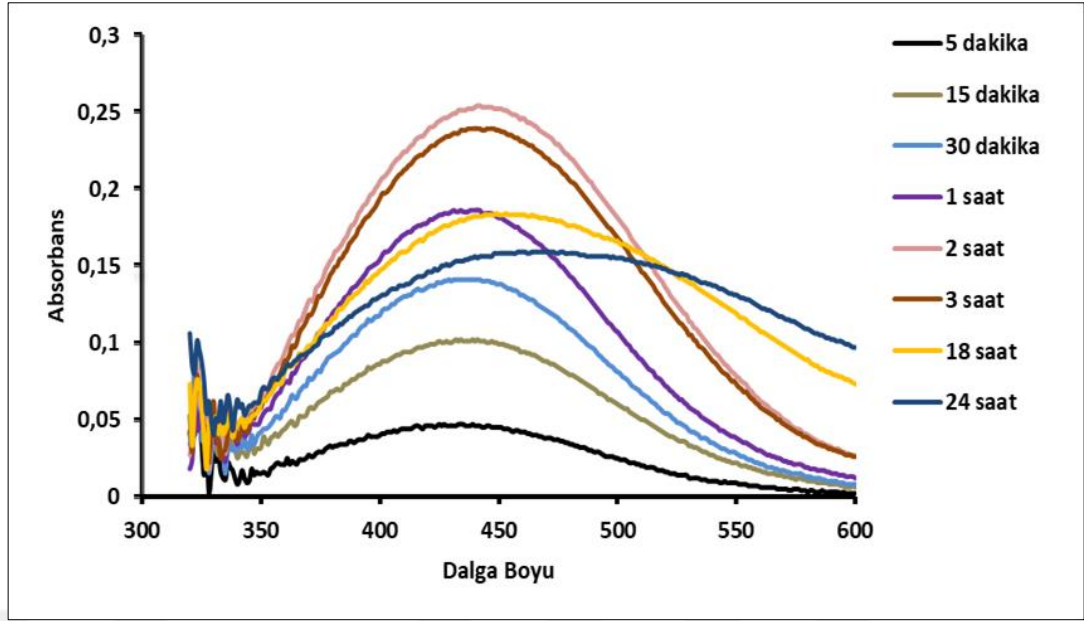
Şekil 5.14: Farklı sıcaklıklarda tarçın ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.

Tablo 5.13: Tarçın için farklı sıcaklık değişkenlerine ait absorbans değerleri.

Dalga Boyu (nm)	A _{max}	Sıcaklık
415	0.08575	30
420	0.16335	40
425	0.176067	50
425	0.296625	60
420	0.188633	70

Literatür [60], [63] sıcaklıktaki artışla partikül büyüklüğünün azaldığını göstermektedir fakat çalışmamızda sıcaklık ile partikül boyutu arasında böyle bir ilişki görülmemiştir, literatürün aksine sıcaklık attıkça dalga boyundaki artışa bağlı olarak partikül boyutunun büyüdüğü gözlenmiştir. Çalışmamızda 40°C optimum sıcaklık olarak belirlenmiştir. Karanfil ve tarçın ile yaptığımız çalışmalar literatürün aksine kendi arasında tutarlılık göstermektedir.

Tarçın kabuğu ekstrakt miktarı, uygun konsantrasyonda metal tuzu, uygun pH ve sıcaklık belirlendikten sonra farklı tepkime sürelerinde (5 dakika, 15 dakika, 30 dakika, 1 saat, 2 saat, 3 saat, 18 saat, 24 saat) AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir.

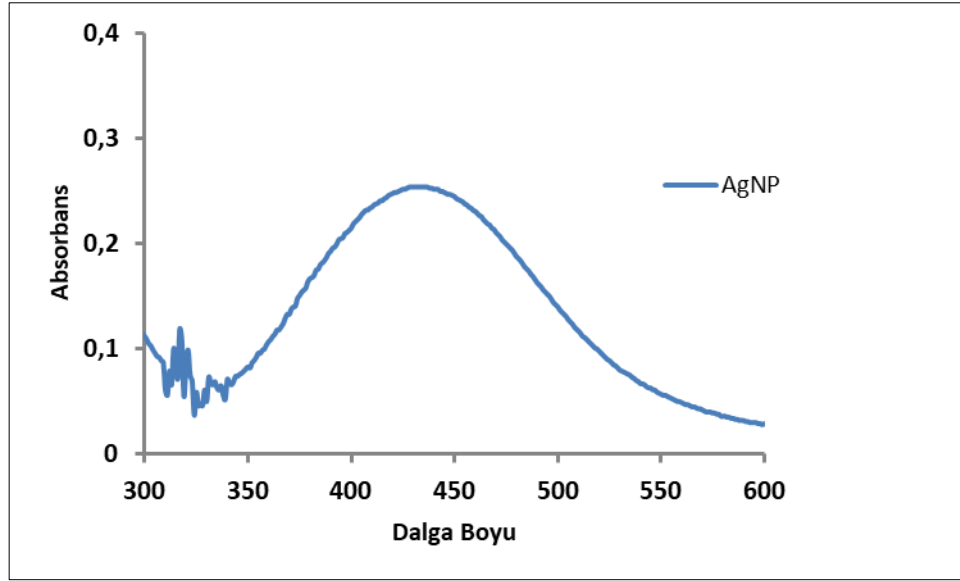


Şekil 5.15: Farklı tepkime sürelerinde tarçın ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.

Tablo 5.14: Tarçın için farklı tepkime süreleri değişkenlerine ait absorbans değerleri.

Dalga Boyu (nm)	A _{max}	Süre
425	0.047	5 dakika
432	0.102	15 dakika
429	0.141	30 dakika
431	0.186	1 saat
441	0.254	2 saat
437	0.239	3 saat
449	0.184	18 saat
440	0.156	24 saat

Şekil 5.15'de gösterildiği gibi SPR piklerinin yoğunluğu, reaksiyon süresi arttıkça değişkenlik göstermiştir. Parçacık boyutunun daha küçük olduğu 429 nm ile 30 dakika uygun süre olarak karar verilmiştir.



Şekil 5.16: Optimize edilmiş koşullarda tarçın ekstraktından sentezlenmiş AgNP'lerin UV-Vis spektrumu.

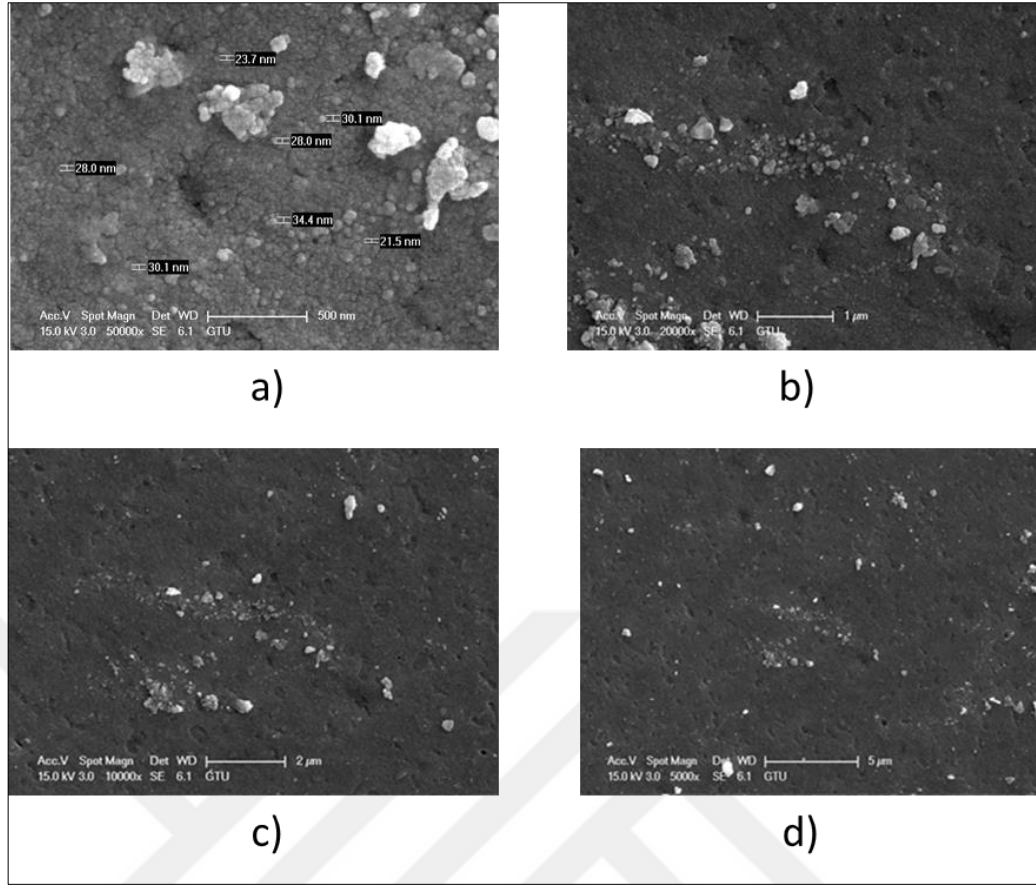
Tablo 5.15: Optimize edilmiş koşullarda sentezlenen tarçın AgNP absorbansı.

Dalga Boyu	A_{max}
428	0.254

Tarçın özütleri kullanılarak Ag iyonlarının indirgenmesi, 428 nm'de güçlü bir absorpsiyon gözlenmiştir. Gözlenen bu değer literatür ile benzerlik göstermektedir [57].

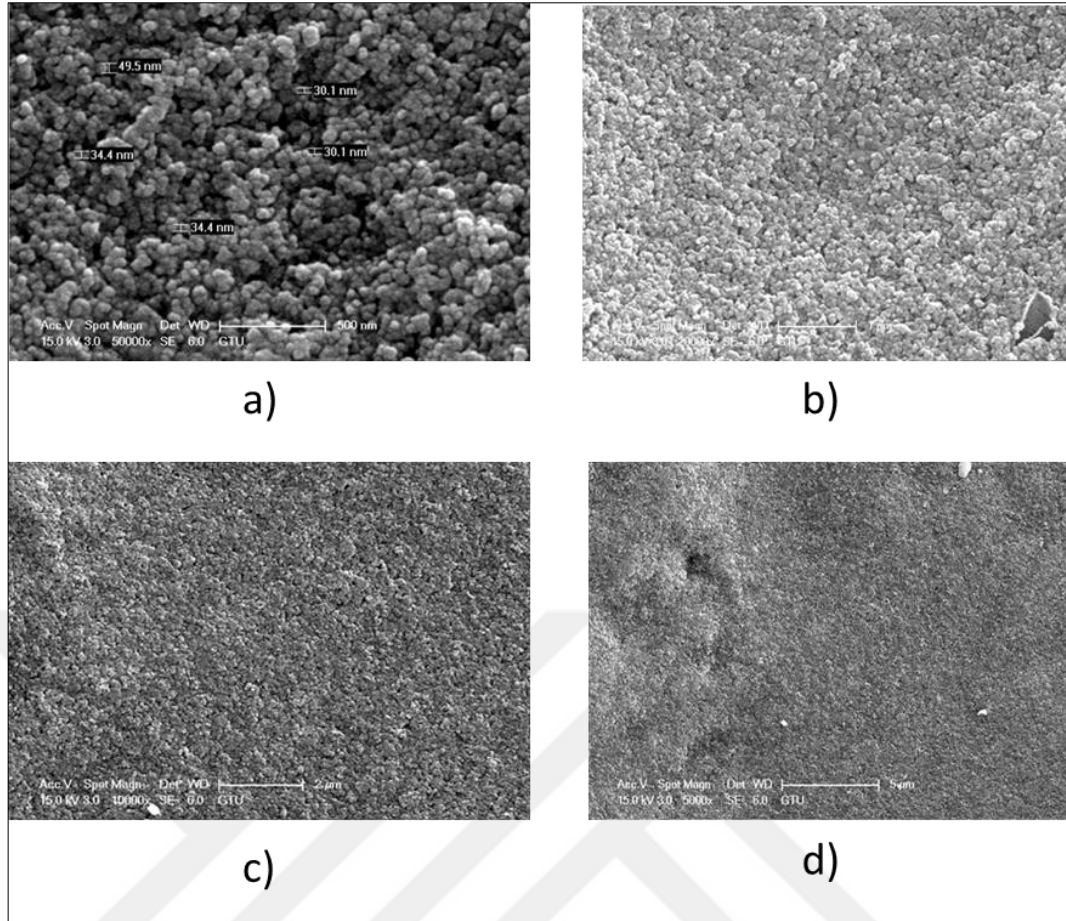
5.4.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri

Gebze Teknik Üniversitesi Malzeme Mühendisliği Bölümü SEM (Philips XL 30 SFEG) cihazı ile Karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve Tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) ekstraktı/AgNP'lerin boyut ve morfoloji analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen nanopartiküllerin yüzey morfolojileri ise SEM analizleri ile belirlenmiştir.



Şekil 5.17: Karanfil ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin a) 500 nm b) 1 µm c) 2 µm d) 5 µm Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü

Elde ettiğimiz SEM görüntüsü, karanfil ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin ortalama 27.95 nm boyuta sahip olduklarını ve küresel şekilli olduklarını göstermiştir (Şekil 5.17). Karanfil ekstraktı ile elde edilen küresel nanopartiküller literatür ile uyumludur [65].

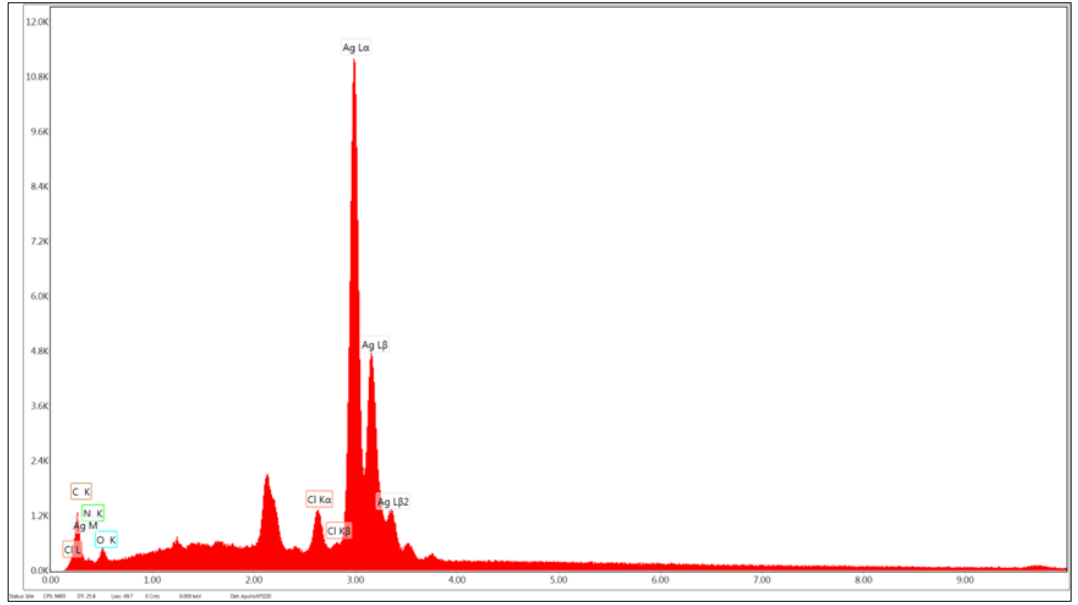


Şekil 5.18: Tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin a) 500 nm b) 1 µm c) 2 µm d) 5 µm Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü.

Elde ettiğimiz SEM görüntüsü, tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin ortalama 35.7 nm boyutlara sahip olduklarını ve küresel şekilli olduklarını göstermiştir (Şekil 5.18).

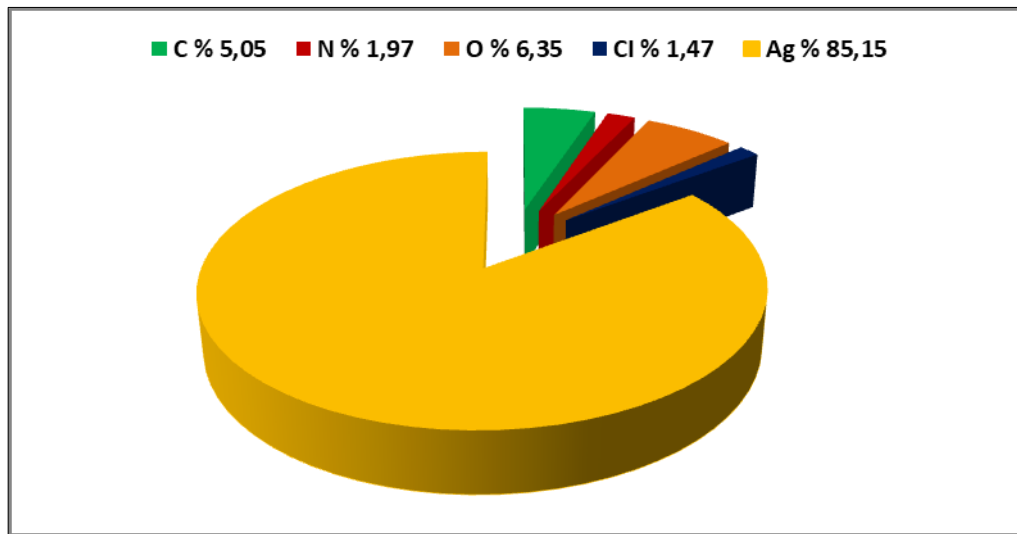
5.4.3. Enerji Dağılımı Spektrometresi (EDS) Analizleri

Gebze Teknik Üniversitesi Malzeme Mühendisliği Bölümü'nde bulunan cihaz ile karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) ekstraktı/AgNP'lerin temel bileşenlerinin analizi gerçekleştirilmiş ve temel elementleri belirlenmiştir.

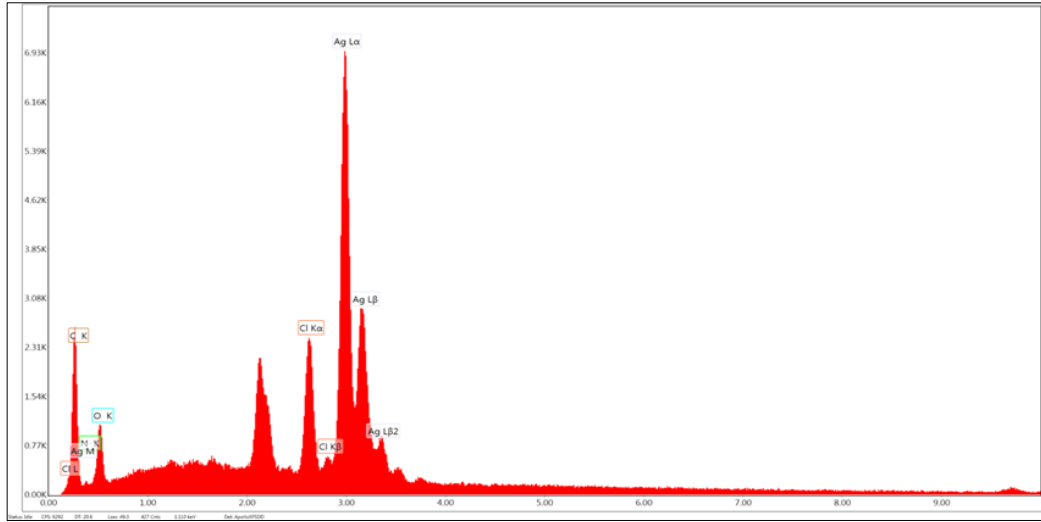


Şekil 5.19: Karanfil ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin Enerji Dağılımı Spektrometresi (EDS) görüntüsü.

EDS analizine göre karanfil ekstraktı ile sentezlenen AgNP'lerin temel bileşeninin Ag olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda C, N, O, Cl elementlerinin de sentezlenen nanopartiküllerde bulunduğu gözlenmiştir. Bu elementlerin tespiti, gümüş nanopartiküllerde karanfil kaynaklı biyomoleküllerin varlığına bağlanmıştır. Bu sonuçlar karanfil ekstraktlarının AgNP'lerin üretiminde indirgeyici ve stabilize edici bir ajan olarak hareket edebileceğini gösterir.

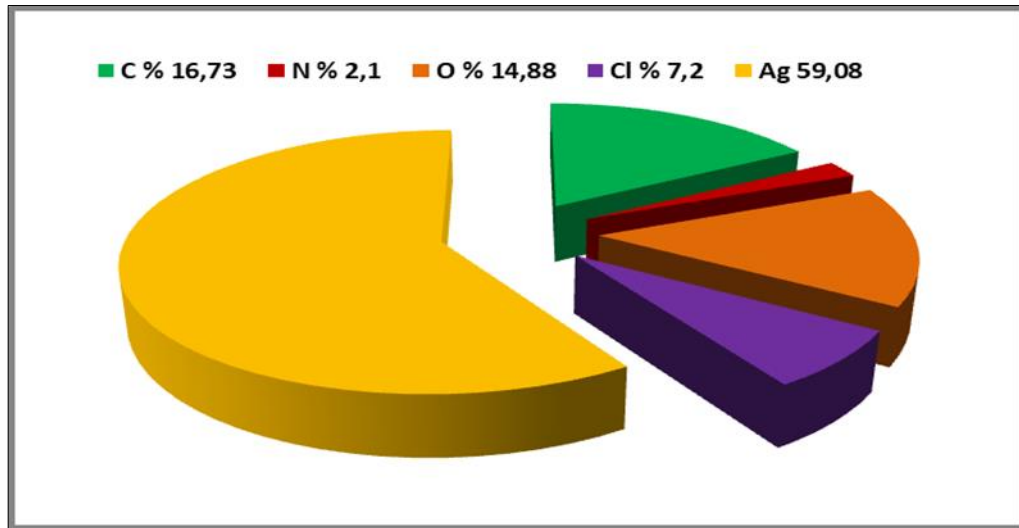


Şekil 5.20: Karanfil ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin kantitatif analizleri



Şekil 5.21: Tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin Enerji Dağılımı Spektrometresi (EDS) görüntüsü.

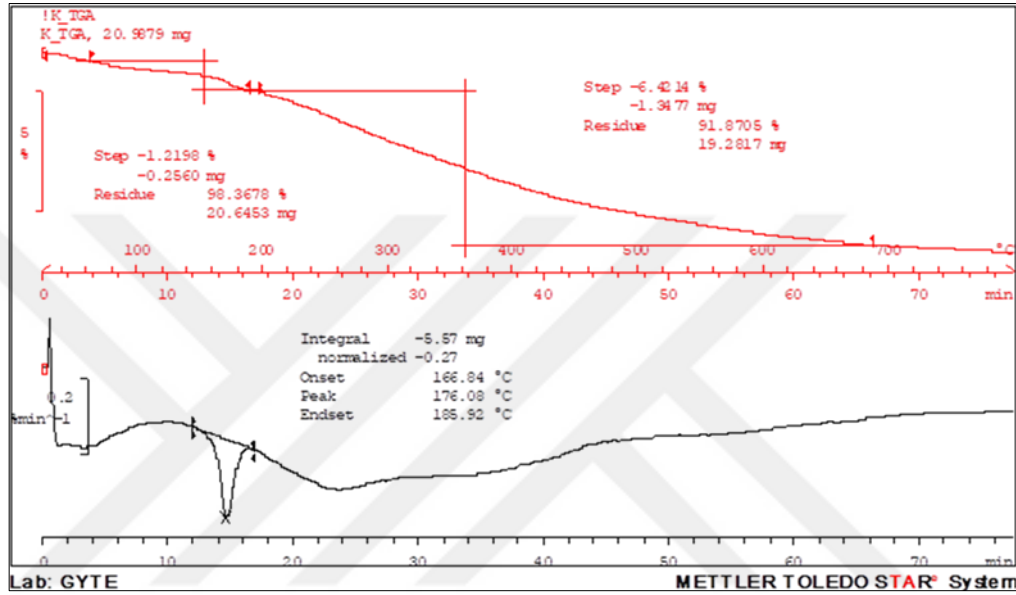
EDS analizine göre tarçın kabuğu ekstraktı ile sentezlenen AgNP'lerin temel bileşeninin Ag olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda C, N, O, Cl elementlerinin de sentezlenen nanopartiküllerde bulunduğu gözlenmiştir. Bu elementlerin tespiti, gümüş nanopartiküllerde tarçın kaynaklı biyomoleküllerin varlığına bağlanmıştır. Bu sonuçlar tarçın kabuğu ekstraktlarının AgNP'lerin üretiminde indirgeyici ve stabilize edici bir ajan olarak hareket edebileceğini gösterir.



Şekil 5.22: Tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin kantitatif analizleri.

5.5.4. Termogravimetrik (TGA) Analizleri

Gebze Teknik Üniversitesi Kimya Bölümü Mettler Toledo cihazı ile karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) ekstraktı/AgNP'lerin sıcaklık ve zamana karşı kütle değişimleri analizi yapılmış, malzemelerin fiziksel ve kimyasal değişiklikleri analiz edilmiştir.



Şekil 5.23: Karanfil ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin Termogravimetrik (TGA) görüntüsü.

Karanfil ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin Termogravimetrik (TGA) analizi Şekil 5.23'te görüldüğü üzere üç kısma ayrılabilir.

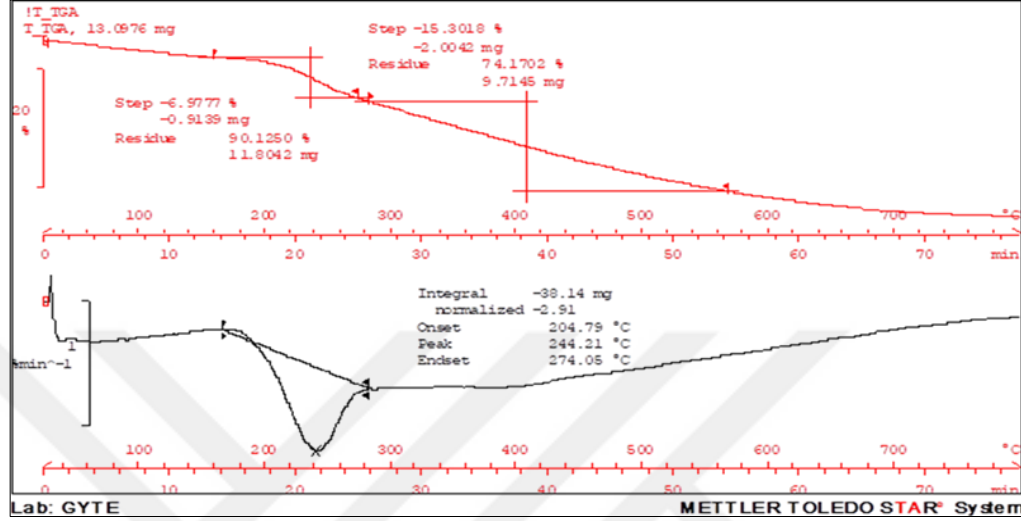
0-165°C aralığında yaklaşık % 1.22 'lık kütle kaybının gerçekleştiği görülmektedir. Literatür incelendiğinde [34] bu aralıkta gerçekleşen kütle kaybının fiziksel olarak absorbe edilmiş su ve uçucu bileşiklerden kaynaklandığı söylenebilir.

165-186°C aralığında gerçekleşen kütle kaybının muhtemel nedeni kimyasal absorbe edilmiş su, uçucu bozunma ürünleri ve ana maddenin yan gruplarındaki kopmalar olabilir. İncelenen maddede meydana gelen kütle kaybının bu aralıkta olduğu söylenebilir.

186°C ve üstü sıcaklıklarda incelenen maddenin kütle kaybında kayda değer bir değişim gözlenmemiştir.

Grafiğin tümü incelendiğinde, başlangıç madde miktarı ve bitiş madde miktarı karşılaştırıldığında maksimum kütle kaybı %8.2 olarak ölçülmüştür. İncelenen

maddenin maksimum kütle kaybının yaşandığı başlangıç sıcaklık 166.84°C olarak ölçülmüş olup madde bozunmasının sonlandığı sıcaklık 185.9°C olarak ölçülmüştür. Bunun üzerindeki sıcaklıklarda kütle kaybı çok azdır ve bozunmadan kalan madde miktarı % 91.8'dir.



Şekil 5.24: Tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin Termogravimetrik (TGA) görüntüsü.

Tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin Termogravimetrik (TGA) analizi şekil 5.24'te görüldüğü üzere üç kısma ayrılabilir.

0-195°C aralığında yaklaşık % 6.98 'lik kütle kaybının gerçekleştiği görülmektedir. Literatür incelendiğinde [34] bu aralıkta gerçekleşen kütle kaybının fiziksel olarak absorbe edilmiş su ve molekül ağırlığı küçük ve kaynama noktası düşük olan uçucu bileşiklerden kaynaklandığı söylenebilir.

195-275°C aralığında gerçekleşen kütle kaybının muhtemel nedeni kimyasal absorbe edilmiş su, uçucu bozunma ürünleri olabilir. İncelenen maddede meydana gelen kütle kaybının bu aralıkta olduğu söylenebilir.

275°C ve üstü sıcaklıklarda kütle kaybında kayda değer bir değişim gözlenmemiştir.

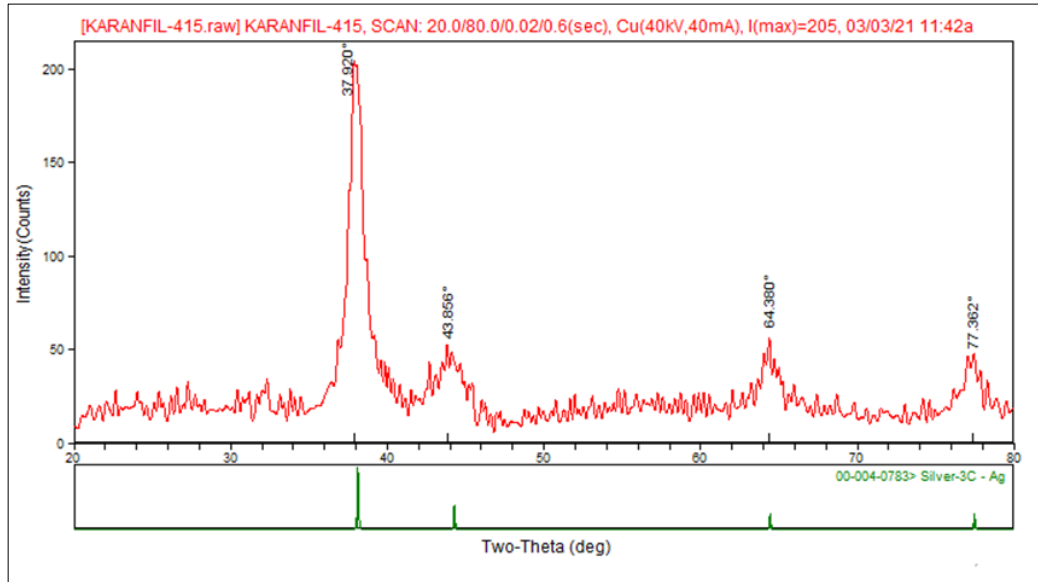
Grafiğin tümü incelendiğinde, başlangıç madde miktarı ve bitiş madde miktarı karşılaştırıldığında maksimum kütle kaybı %25.83 olarak ölçülmüştür. İncelenen maddenin maksimum kütle kaybının yaşandığı başlangıç sıcaklık 204.79°C olarak ölçülmüş olup madde bozunmasının sonlandığı sıcaklık 274.05°C olarak

ölçülmüştür. Bunun üzerindeki sıcaklıklarda kütle kaybı çok azdır ve bozunmadan kalan madde miktarı %74.17'dir.

5.4.5. XRD Analizleri

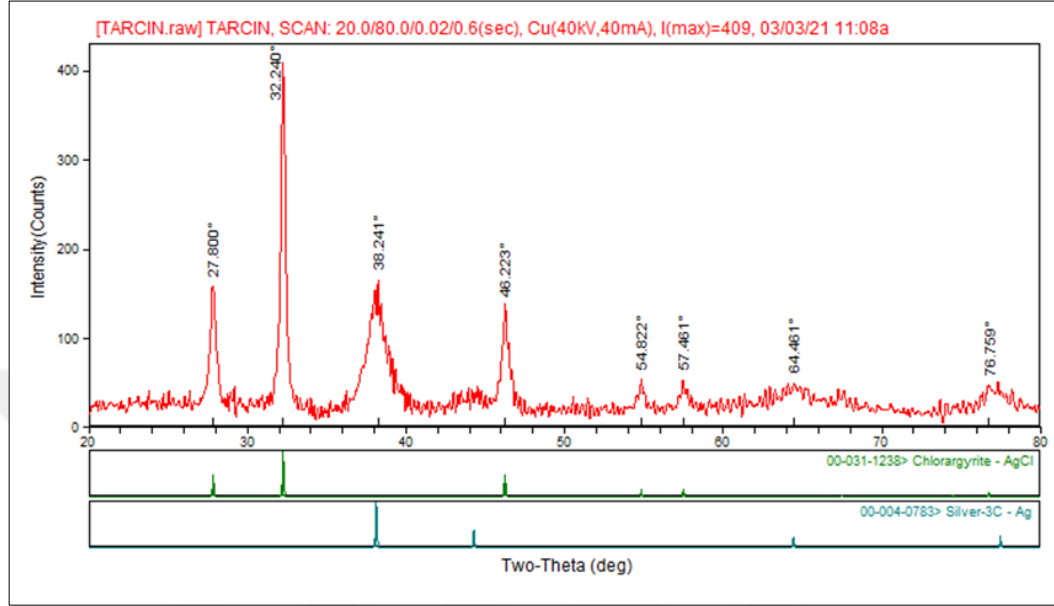
Gebze Teknik Üniversitesi Malzeme Mühendisliği Bölümü'nde bulunan cihaz ile karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) ekstraktı/AgNP'lerin X-ışını Kırınım teknikleri ile malzemelerin fiziko-kimyasal yapısı incelenmiştir.

Optimize edilmiş koşullarda sentezlenen gümüş nanoparçacıkların yapı ve kristal boyutlarının analizi XRD ile gerçekleştirilmiştir. Karanfil ekstraktı ile sentezlenen gümüş nanoparçacıkların XRD analizi, sırasıyla 38.2°, 44.3°, 64.5°, 77.4°'de kırınım pikleri göstermiştir. Kırınım grafiği, elementel gümüşe (JCPDS 04-0783) karşılık gelen pikleri göstermektedir. Literatürle [66] karşılaştırıldığında, pikler, gümüşün sırasıyla (111), (200), (220), (311) düzlemlerine atanabilir. Referans pikleri ile analiz sonucu elde edilen pikler birbiriyle eşleşmektedir. Yapıdaki pikler incelendiğinde yapının polikristal gümüş nanoparçacıklardan oluştuğu anlaşılmıştır.



Şekil 5.25: Karanfil ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin X-ışını Kırınımı (XRD) görüntüsü.

Debye-Scherrer formülü ile nanopartiküllerin boyutu hesaplanmıştır. Bu formüle göre karanfil ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin boyutları ortalama 13.27 nm olarak bulunmuştur.



Şekil 5.26: Tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin X-ışını Kırınımı (XRD) görüntüsü.

Optimize edilmiş koşullarda sentezlenen tarçın nanoparçacıkların yapı ve kristal boyutlarının analizi XRD ile gerçekleştirilmiştir. Tarçın ekstraktı ile sentezlenen gümüş nanoparçacıkların XRD analizi, 27.8°, 32.2°, 38.2°, 46.2°, 54.8°, 57.4°, 64.4°, 76.7°'de kırınım pikleri göstermiştir. Bu literatür ile de uyumludur [67]. Kırınım grafiği, elementel gümüşe (JCPS 04-0783) karşılık gelen pikleri gösterir. Literatürle [66], [68] karşılaştırıldığında, zirveler gümüşün sırasıyla (220), (122), (111), (231), (331), (241), (220), (311) düzlemlerine atanabilir.

Bununla birlikte, $2\theta = 28, 33, 47^\circ$ 'deki pikler AgCl düzlemlerine karşılık gelir ve bu da sulu ekstraktlarda AgCl oluşumuna yol açan klorür iyonunun varlığını gösterir. Saf gümüş nanopartiküller çevrede kimyasal olarak kararlı değildir ve gümüş oksitlendiğinde sülfür ve klorür gibi inorganik ligandlarla güçlü bir şekilde reaksiyona girebilir. Doğal sulu sistemlerde en yaygın tek değerli anyonlardan biri olan klorür iyonları, AgNP'lerin sentezi sırasında kullanılan bitki ekstraktlarında bulunur. Bitki özleri kullanılarak AgNP'lerin sentezi sırasında, Cl^- ve Ag^+ arasındaki etkileşim, hem AgCl hem de AgNP'lerin oluşumuna ve dolayısıyla XRD profilindeki

varlıklarına yol açar [5]. XRD ile gösterilen bu sonuçlar EDS analizi ile de uyumludur.

Debye-Scherrer formülü ile nanopartiküllerin boyutu hesaplanmıştır. Bu formüle göre tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin boyutları ortalama 17.81 nm olarak bulunmuştur.

5.5. Karanfil ve Tarçın Ekstraktları ile Hazırlanmış Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Özelliklerinin İncelenmesi

Gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel etkisi yüzyıllardır bilinmektedir. Literatür incelendiğinde çeşitli faktörlerin antibakteriyel özelliği etkilediği rapor edilmiştir. Nanopartiküllerin boyutları, şekilleri ve bakterilerin türleri nanopartiküllerin antibakteriyel özelliklerini etkileyen faktörlerdir.

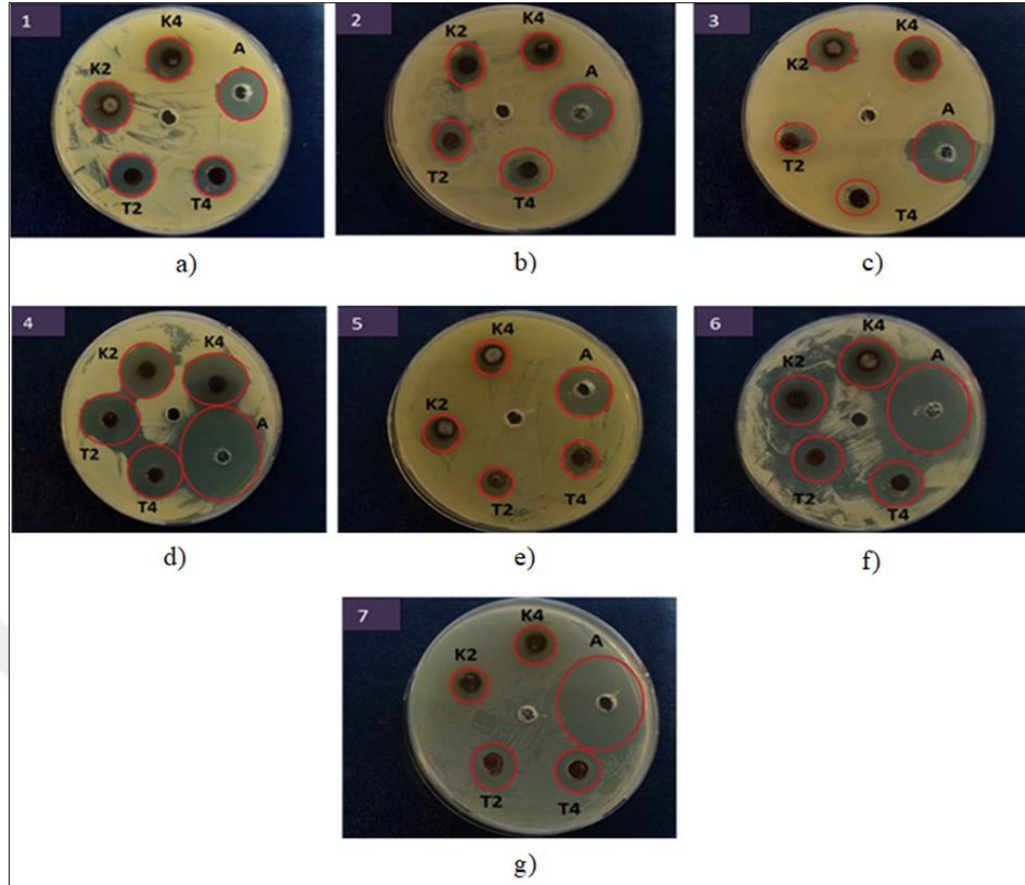
Genel olarak daha küçük boyuttaki NP'ler büyük nanopartiküllere göre daha fazla antibakteriyel etki göstermektedir [69], [70], [71], [72]. Daha küçük nanopartikülerde yüzey-hacim oranı daha büyüktür ve bu sebeple partiküllerin gümüş iyonlarını serbest bırakması daha fazladır [71], [72], [41]. Daha fazla gümüş iyonunun serbest bırakılması toksisiteyi artırır. Ek olarak, daha küçük boyutlu partiküller, bakteri membran gözeneklerinden kolaylıkla geçebilir [71]. AgNP'lerin şekli antibakteriyel özelliği etkileyen bir faktördür. Yapılan çalışmalarda küresel, üçgen, beşgen altıgen, kübik, çubuk gibi şekiller rapor edilmiştir. Farklı şekiller arasında benzer boyuttaki nanopartiküller arasında üçgen şekilli nanopartiküllerin diğer şekillere göre daha etkili oldukları gösterilmiştir. Üçgen şekilli AgNP'lerin, Ag'nin kükürt içeren bileşenlere bağlanma etkinliğini artıran yüksek bir atomik yoğunluğa sahip olan 111 düzlemine sahip olduğu için diğer şekillere kıyasla daha iyi antibakteriyel aktivite gösterdiği bulunmuştur. Diğer şekilli nanopartiküller ise yüksek oranda (1 0 0) düzlemlere sahiptir. Düzlemler (1 1 1) ve (1 0 0) gümüş iyonlarının reaktivitesinden sorumludur. (1 1 1), Ag'nin kükürt içeren bileşenlere bağlanma etkinliğini artıran yüksek bir atom yoğunluğuna sahiptir ve antimikrobiyal etkiyi artırır [57], [58], [71].

Antibakteriyel etki için bakterinin özellikleri de rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalar gram negatif bakterilerin gram pozitif bakterilere kıyasla nanopartiküllere daha duyarlı olduklarını göstermiştir. Bakteri hücre duvarlarındaki farklılıklar bu

etkinin sebebidir. Gram-negatif bakteriler, negatif yük taşıyan lipopolisakkarit molekülleri ile kaplıdır. Bu negatif yüklü moleküller, NP'lerin çoğunun saldığı pozitif iyonlar için daha yüksek bir afiniteye sahiptir, bu da iyonların birikmesine ve alımının artmasına neden olur, bu da daha sonra hücre içi hasara neden olur. Yani pozitif yüklü AgNP'ler hücre zarı tarafından çekilir ve daha yüksek derecede etkileşime izin verir, bu da daha yüksek toksisite ile sonuçlanır [37], [40], [41], [58].

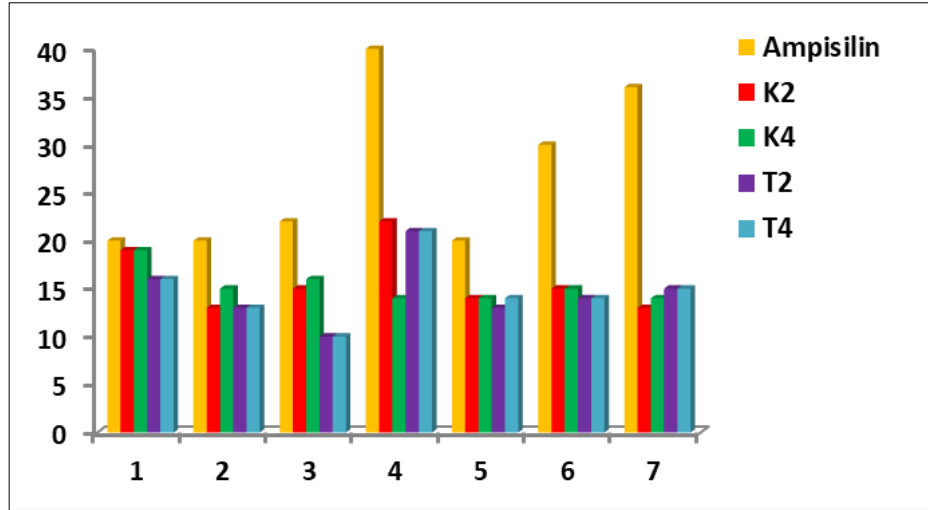
Çalışmada gram pozitif bakterilerden *Bacillus subtilis* ATCC 66033, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Bacillus cereus* ATCC 11778; gram negatif bakterilerden *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* ATCC 14028 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 karanfil ve tarçın ekstraktı ile hazırlanmış gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel etkilerini araştırmak için kullanılmıştır.

Mueller-Hinton agar plakalar üzerine bakteri suşlarından 50 µl ekim yapılmıştır. Ekim yapılmış agar üzerinde steril olarak açılan 6 mm kuyucuklara 50 µl karanfil ve tarçın kabuğu ekstraktı ile hazırlanmış gümüş naopartiküllerden (50 mg/ml) ilave edilmiştir. Hazırlanan petriler 16 saat, 37°C da etüvde inkübe edilmiştir. Ertesi gün, oluşan inhibisyon zonları ölçülerek AgNP'lerin antibakteriyel ajan olarak etkinliği belirlenmiştir. Karanfil ve tarçının yeşil sentezi ile elde edilen gümüş nanopartiküller test edilen tüm bakterilere karşı antibakteriyel etki göstermiştir.



Şekil 5.27: Karanfil ve tarçın ekstraktları kullanılarak hazırlanan AgNP konsantrasyonlarının ve Ampisilin'in bazı bakteri izolatlarına karşı antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon fotoğrafları A:Ampisilin, K2: karanfil 2 (mg/ml), K4: karanfil 4 (mg/ml), T2: tarçın 2 (mg/ml), T4 :tarçın 4 (mg/ml) a) *Pseudomonas aeruginosa*, b) *Bacillus subtilis* ATCC 66033, c) *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, d) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, e) *Salmonella enterica* ATCC 14028, f) *Bacillus cereus* ATCC 11778, g) *Escherichia coli* ATCC 25922.

Bu çalışmada standart antibiyotik olarak kullanılan ampisilin, maksimum inhibisyon zon çapları sırasıyla *Pseudomonas aeruginosa* (20 mm), *Bacillus subtilis* ATCC 66033 (20 mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (22 mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (40 mm), *Salmonella enterica* ATCC 14028 (20 mm), *Bacillus cereus* ATCC 11778 (30 mm), *Escherichia coli* ATCC 25922 (36 mm) olarak belirlenmiştir (Tablo 5.16).



Şekil 5.28: Karanfil ve Tarçın ekstraktlarından sentezlenen AgNP'lerin ve Ampisilin'in maksimum inhibisyon çapları. A:Ampisilin, K2: Karanfil 2 mg/ml ,K4: Karanfil 4 mg/ml, T2: Tarçın 2 mg/ml, T4: Tarçın 4 mg/ml. 1:*Pseudomonas aeruginosa*, 2:*Bacillus subtilis* ATCC 66033, 3:*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, 4: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, 5:*Salmonella enterica* ATCC 14028, 6:*Bacillus cereus* ATCC 11778, 7:*Escherichia coli* ATCC 25922.

Karanfil AgNP ve tarçın AgNP, çalışılan bütün gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerinde antibakteriyel etki göstermiştir. Karakterizasyon sonuçlarına göre karanfil ekstraktından daha yüksek oranda AgNP sentezlendiği görülmüş fakat antibakteriyel sonuçlar üzerinde karanfil ve tarçın AgNP'ler benzer etki göstermiştir. Farklı konsantrasyonlarının inhibisyon çapları üzerindeki etkileri incelenmiş ve belirgin fark olmadığı gözlenmiştir.

Tablo 5.16: Karanfil ve tarçın ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesi (mm cinsinden ölçülen inhibisyon zonu).

Bakteri Suşları	Karanfil AgNP İnhibisyon Çapları (mm)		Tarçın AgNP İnhibisyon Çapları (mm)		Ampisilin (mm)
	2 mg	4 mg	2 mg	4 mg	10 µg
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21	18	16	16	20
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 66033	13	15	13	13	20
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	15	16	10	10	22
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	22	24	21	21	40
<i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028	14	14	13	14	20
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	15	15	14	14	30
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	13	14	15	15	36

6. DEĞERLENDİRME ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında AgNP'lerin tarçın kabuğu ve karanfil özütleri kullanılarak biyosentez yöntemi ile sentezlenebileceği gösterilmiştir. Karanfil ve tarçından üç farklı yöntemle (kaynatma, ultrasonikasyon, maserasyon) ekstraksiyon yapılmıştır. Bu farklı yöntemlere göre ekstrakt verimleri hesaplanmıştır. Karanfil ve tarçın ekstraksiyonları için 80°C kaynatma yöntemi seçilmiştir. Seçilen yöntemden sonra literatürde belirtilen prosedüre uygun olarak Folin-Ciocalteu metodu ile fenolik bileşen tayini yapılmıştır. Sonuçlara göre en yüksek mg GAE/g kuru ekstrakt ağırlığı belirlenmiş ve kaynatma yönteminin etkili olduğu görülmüştür.

Karanfil ve tarçın örneklerinin antioksidan aktiviteleri ABTS/TE ve DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. Her iki yöntemde de örneklerin antioksidan aktivite gösterdikleri görülmüştür.

Deneyisel çalışmalar optimizasyon deneyleri ile devam etmiştir. Bitki ekstrakt miktarları, AgNO₃ konsantrasyonu, pH, reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi gibi parametreler çalışılmıştır. Her bir deney sonunda UV-Vis spektrometresinde absorbans ölçümü yapılmıştır.

Optimizasyon deneyleri yapıldıktan sonra biyosentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin karakterizasyonları yapılmıştır. UV-Vis, SEM Analizi, EDS analizi, TGA, XRD analizi gerçekleştirilmiştir. UV-Vis spektrometresinde gümüşe ait absorbans değerleri deney sonuçlarımızla uyushmaktadır ve optimizasyon sonucu sentezlenen AgNP'lerin absorbans değerleri karanfil için 422 nm, tarçın için 428 nm olarak ölçülmüştür. SEM analizlerinde nanopartiküllerin boyut ve morfoloji analizleri gerçekleştirilmiştir. SEM analizlerine göre karanfil ekstraktı ile hazırlanan AgNP'lerin ortalama 27.95 nm ve küresel şekilli olduğu gösterilmiştir. Tarçın ekstraktı ile hazırlanan AgNP'lerin ise ortalama 35.7 nm ve küresel şekilli olduğu görülmüştür. Enerji Dağılımı Spektrometresi (EDS) analizi ile AgNP'lerin temel bileşenleri gösterilmiştir. Buna göre sentezlenen nanopartiküllerin temel bileşeninin gümüş olduğu belirlenmiştir. Karanfil ekstraktı ile hazırlanan AgNP'lerin elementel bileşiminin gümüş (%85.15), klor (%1.47), azot (%1.97), oksijen (%6.35) ve karbon (%5.05) elementlerinin olduğu, tarçın ekstraktı ile hazırlanan AgNP'lerin ise elementel bileşiminin gümüş (%59.08), klor (%7.2), azot (%2.1), oksijen (%14.88) ve karbon (%16.73) olduğu gösterilmiştir. Yapılan termogravimetrik (TGA) analizi

ile AgNP'lerin sıcaklık ve zamana karşı fiziksel ve kimyasal değişiklikleri analiz edilmiştir. 0-800°C aralığındaki kütle kayıplarının sebepleri gösterilmiştir. Bunun sonucunda karanfil ekstraktı ile sentezlenen AgNP'lerin kütlece %91.75'i; tarçın ekstraktı ile sentezlenen AgNP'lerin kütlece %74.17'si korunmuştur. Son olarak XRD analizleri ile nanopartiküllerin yapı ve kristal boyut analizleri yapılmıştır. Kırınım grafiklerine göre elementel gümüşün karakteristik piklerinin literatürle uyumlu olduğu gösterilmiştir.

Tez çalışmasının son kısmında sentezlenen AgNP'lerin antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. Gram pozitif bakterilerden *Bacillus subtilis* ATCC 66033, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Bacillus cereus* ATCC 11778; gram negatif bakterilerden *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* ATCC 14028 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 karanfil ve tarçın ekstraktı ile hazırlanmış gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel etkilerini araştırmak için kullanılmıştır. *Pseudomonas aeruginosa* (20 mm), *Bacillus subtilis* ATCC 66033 (20 mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (22 mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (40 mm), *Salmonella enterica* ATCC 14028 (20 mm), *Bacillus cereus* ATCC 11778 (30 mm), *Escherichia coli* ATCC 25922 (36 mm) olarak inhibisyon çapları ölçülmüştür. Buna göre gram negatif ve gram pozitif bakteriler arasında belirgin fark görülmemiştir. Çalışmada kullanılan bütün bakterilerde antibakteriyel etki görülmüştür.

Antibakteriyel ve antioksidan aktivitesi gösteren gümüş nanopartiküller nanoteknoloji, kataliz, elektrokimya, biyotıp, ilaç, sensör, gıda teknolojisi, kozmetik gibi çeşitli alanlarda ve mikrobiyoloji, kimya, hücre biyolojisi, farmakoloji ve parazitoloji gibi geniş uygulama alanlarında kullanılabilir.

Bitki özleri kullanılarak gümüş nanopartiküllerin sentezi, toksik kimyasalların kullanımını azaltan veya ortadan kaldıran, en basit, kullanışlı, ekonomik ve çevre dostu yöntemlerden biridir. Aynı zamanda düşük maliyetli, kolay temin edilebilme, büyük ölçekte ve tekrarlanabilir sentezlenebilme gibi avantajlara sahiptir. Bitki özlerinde bulunan alkaloidler, flavonoidler, saponinler, steroidler, tanenler, terpenoidler, polifenoller, fenolik asitler, ketonlar, aldehitler ayrıca polisakkaritler, amino asitler, proteinler ve vitaminler metalin indirgenmesinde rol oynar. Bu sayede ek ürün ve ek işlemler gerektirmeyen yeşil bir yolla sentez gerçekleştirilir.

Tez çalışmasında tamamen yeşil bir yolla biyosentez gerçekleştirilmiştir. Literatür incelendiğinde çözücü olarak organik çözücülerin kullanıldığı çalışmalar

görülmüş fakat yeşil sentezi doğrulayan ve çözücü olarak ultra deiyonize su kullanılan çalışmaların eksik olduğu görülmüştür. Bu tez kapsamında organik çözücüler kullanılmadan yeşil sentez yoluyla gümüş nanopartiküllerin sentezlendiği gösterilmiştir.



KAYNAKLAR

- [1] Bayda S., Adeel M., Tuccinardi T., Cordani M., Rizzolio F., (2020), “The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine”, *Molecules*, 25, 112.
- [2] Beykaya M., Çağlar A., (2016), “Bitkisel Özütler Kullanılarak Gümüş-Nanopartikül (AgNP) Sentezlenmesi ve Antimikrobiyal Etkinlikleri Üzerine Bir Araştırma”, *Akü Femübid* 16, 035403, 631-641.
- [3] Roy S., Das T.K., (2015), “Plant Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles”, *Int J Plant Biol Res* 3(3), 1044.
- [4] Chung M., Park I., Seung-Hyun K., Thiruvengadam M., Rajakumar G., (2016), “Plant-Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles, Their Characteristic Properties and Therapeutic Applications”, *Nanoscale Research Letters*, 11-40.
- [5] Mitiku A.A., Yilma B., (2017), “A Review on Green Synthesis and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles”, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 46(1), 52-57 .
- [6] Parveen K., Banse V., Ledwani L., (2015), “Green Synthesis of Nanoparticles, Their Advantages and Disadvantages”, *AIP Conf. Proc.* 1724, 020048-1, 020048-7.
- [7] Cansız E.İ., Kırmusaoğlu S., (2018), “Nanoteknolojide Nano Gümüşün Antibakteriyel Özelliği”, *Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1, 119-130.
- [8] Mittal A.K., Chisti Y., Banerjee U.C., (2013), “Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts”, *Biotechnology Advances* 31(2), 346-356.
- [9] Akhtar M.S., Panwar J., Yun Y.S., (2013), “Biogenic Synthesis of Metallic Nanoparticles by Plant Extracts”, *ACS Sustainable Chemistry Engineering* 1, 591–602.
- [10] Singh P., Kim Y.J., Zhang D., Yang D.C., (2016), “Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms”, *Trends in Biotechnology*, 34(7).
- [11] Shamaila S., Sajjad A.K.L., Ryma N.A., Farooqi S.A., Jabeen N., Majeed S., Farooq I., (2016), “Advancements in nanoparticle fabrication by hazard free eco-friendly green routes”, *Applied Materials Today* 5, 150-199.
- [12] Arshad H., Sami M.A., Sadaf S., Hassan U., (2021), “Salvadora persica mediated synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial efficacy”, *Scientific Reports*, 11-5996.
- [13] Cardoso-Avila P.E., Ptakfalvi R., Rodriguez-Pedroza C., Aparicio Fernandez X., Loza-Cornejo S., Martinez-Cano E., (2021), “One-pot green synthesis of

gold and silver nanoparticles using *Rosa canina* L. Extract”, RSC Adv. , 11, 14624–14631.

- [14] Anupam Roy A., Bulut O., Some S., Mandal A.K., Yilmaz M.D., (2019), “Green synthesis of silver nanoparticles, biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity”, RSC Adv., 9, 2673-2702.
- [15] Skonieczna M., Hudy D., (2018), “Biological Activity of Silver Nanoparticles and Their Applications in Anticancer Therapy”, Silver Nanoparticles Fabrication, Characterization and Applications, Chapter 7.
- [16] Baysal G., (2020), “Gıda Endüstrisinde Nanosistemlerin Kullanımı”, Gıda The Journal Of Food, 45(3) 517-529.
- [17] Kumar S.S.D., Rejendran N.K., Houreld N.N., Abrahams H., (2018), “Recent advances on silver nanoparticle and biopolymer-based biomaterials for wound healing applications”, International Journal of Biological Macromolecules 115, 165-175.
- [18] Srikar S.K. Giri D.D., Pal D.B., Mishra P.K., Upadhyay S.N., (2016), “Green Synthesis of Silver Nanoparticles”, Green and Sustainable Chemistry, 6, 34-56.
- [19] Nayantara, Kaur P., (2018), “Biosynthesis of nanoparticles using eco-friendly factories and their role in plant pathogenicity, a review”, Biotechnology Research and Innovation 2, 63-73.
- [20] Rafique M., Sadaf I., Rafique M.S., Tahir M.B., (2017), “A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications”, Artificial Cells, Nanomedicine, And Biotechnology, 45(7), 1272-1291.
- [21] He Y., Li X., Zheng Y., Wang Z., Ma Z., Yang Q., Yao B., Zhao Y., Zhang H., (2018), “Green approach for synthesizing silver nanoparticles, and their antibacterial and cytotoxic activities”, New J. Chem., 42, 2882-2888.
- [22] Wang Y. Wei S., Wang K., Wang Z., Duan J., Cui L., Zheng H., Wanh Y., Wang S., (2020), “Evaluation of biosynthesis parameters, stability and biological activities of silver nanoparticles synthesized by *Cornus Officinalis* extract under 365 nm UV radiation”, The Royal Society of Chemistry, 10, 27173-27182.
- [23] Ahmed S., Ahmad M., Swami B.L., Ikram S., (2016), “A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise”, Journal of Advanced Research 7, 17-28.
- [24] Roy A., Rajeshkumar S., (2019), “Anti-inflammatory activity of cinnamon oil mediated silver nanoparticles -An in vitro study”, International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences, 10(4), 2970-2972.
- [25] McGillicuddy E., Murray I., Kavanagh S., Morrison L., Fogarty A., Cormican M., Dockery P., Prendergast M., Morris D., (2017), “Silver nanoparticles in the

environment: Sources, detection and ecotoxicology'', Science of the Total Environment 575, 231-246.

- [26] Borase H.P., Salunke B.K., Salunkhe R.B., Patil C.D., Hallsworth J.E., Kim B.S., Patil S.V., (2014), "Plant Extract: A Promising Biomatrix for Ecofriendly, Controlled Synthesis of Silver Nanoparticles'', Appl Biochem Biotechnol 173,1-29.
- [27] Sharma V.K., Yngard R.A., Lin Y., (2009), "Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities'', Advances in Colloid and Interface Science 145, 83-96.
- [28] Esmeray E., Özata O., (2019), "Nanopartiküllerin Çevre Mühendisliği Alanında Kullanımı ve Temel Laboratuvar Malzemeleri ile Gümüş Nanopartikül (AgNPs) Sentezi'', European Journal of Science and Technology 16, 521-527.
- [29] Rocha F.S., Gomes A.J., Lunardi C.N., Kaliaguine S., Patience G.S., (2018), "Experimental Methods in Chemical Engineering, Ultraviolet Visible Spectroscopy UV-Vis'', The Canadian Journal Of Chemical Engineering (96).
- [30] Tomaszewska E., Soliwoda K., Kadziola K., Tkacz-Szczesna B., Celichowski G., Cichomski M., Szmaja W., Grobelny J., (2013), "Detection Limits of DLS and UV-Vis Spectroscopy in Characterization of Polydisperse Nanoparticles Colloids'', Journal of Nanomaterials, Vol 2013.
- [31] Hall J.B., Dobrovolskaia M.A., Patri A.K., Mcneil S.E., (2007), "Characterization of nanoparticles for therapeutics'', Nanomedicine 2(6), 789-803.
- [32] Dubey K., Anand B.G., Shekhawat D.S., Kar K., (2017), "Eugenol prevents amyloid formation of proteins and inhibits amyloid-induced hemolysis'', Scientific Reports 7,40744.
- [33] Saadatkhan N., Garcia A.C., Ackermann S., Leclerc P., Latifi M., Samih S., Patience G.S., (2019), "Experimental methods in chemical engineering, Thermogravimetric analysis TGA'', Can J Chem Eng.98, 34-43.
- [34] Prime R.B., Bair H.E., Vyazovkin S., Gallagher P.K., Riga A., (2008), "Thermogravimetric Analysis (TGA), Thermal Analysis of Polymers, Fundamentals and Applications'', Chapter 3.
- [35] Özcan Y., (2014), "Katkısız ve Katkılı CdTe İnce Filmlerin Elektrik ve Fotoelektrik Özelliklerinin Araştırılması'', Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (PAUBAP).
- [36] Kumar P.P.P.N.V., Pammi S.V.N., Kollu P., Satyanarayana K.V.V., Shameem U., (2014), "Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Boerhaavia diffusa plant extract and their anti bacterial activity'', Industrial Crops and Products 52, 562-566.

- [37] Salem S.S., Fouda A., (2021), “Green Synthesis of Metallic Nanoparticles and Their Prospective Biotechnological Applications: an Overview”, *Biological Trace Element Research* 199, 344–370.
- [38] Wang H., Wang M., Xu X., Gao P., Xu Z., Zhang Q., Li H., Yan A., Kao R.Y.T., Sun H., (2021), “Multi-target mode of action of silver against *Staphylococcus aureus* endows it with capability to combat antibiotic resistance”, *Nature Communications*.
- [39] Durān N., Durān M., Jesus M.B., Seabra A.B., Fāvaro W.J., Nakazato G., (2016), “Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity”, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 12, 789-799.
- [40] Slavin Y.N., Asnis J., Häfeli U.O., Bach H., (2017), “Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity”, *Journal of Nanobiotechnology* 15, 65.
- [41] Mijndonckx K., Leys N., Mahillon J., Silver S., Houdt R.V., (2013), “Antimicrobial silver: uses, toxicity and potential for resistance”, *Biomaterials* 26, 609-621.
- [42] Pal S., Tak Y.K., Song J.M., (2007), “Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*”, *American Society for Microbiology Applied and Environmental Microbiology* 73(6), 1712-1720.
- [43] Santos C.A.D., Seckler M.M., Ingle A.P., Gupta I., Galdiero S., Galdiero M., Gade A., Rai M., (2014), “Silver Nanoparticles: Therapeutic Uses, Toxicity, and Safety Issues”, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103 (7), 1931-1944.
- [44] Rolim W.R., Pelegrino M.T., Lima B.A., Ferraz L.S., Costa F.N., Bernardes J.S., Rodrigues T., Brocchi M., Seabra A.B., (2019), “Green tea extract mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles: Characterization, cytotoxicity evaluation and antibacterial activity”, *Applied Surface Science* 463, 66–74.
- [45] Batiha G.E.S., Alkazmi L.M., Wasef L., Beshbishy A.M., Nadwa E.H., Rashwan E.K., (2020), “*Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities”, *Biomolecules* 10, 202.
- [46] Sharif M.K., Ejaz R., Pasha I., (2018), “Nutritional and Therapeutic Potential of Spices, Therapeutic Foods and Ingredient”, *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods*, 181-199.
- [47] Pramod K., Ansari S.H., Ali J., (2010), “Eugenol: A Natural Compound with Versatile Pharmacological Actions”, *Natural Product Communications* 5 (12), 1999-2006.

- [48] Selvaraj V., Sagadevan S., Muthukrishnan., Johan M.R., Podder J., (2019), “Eco-friendly approach in synthesis of silver nanoparticles and evaluation of optical, surface morphological and antimicrobial properties”, *Journal of Nanostructure in Chemistry* 9, 153-162.
- [49] Jiao L., Zhang X., Huang L., Gong H., Cheng B., Sun Y., Li Y., Liu Q., Zheng L., Huang K., (2013), “Proanthocyanidins are the major anti-diabetic components of cinnamon water extract”, *Food and Chemical Toxicology* 56, 398-405.
- [50] Adarsh A., Chettiyar B., Kanthesh B.M., Raghu N., (2020), “Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of “Cinnamon zeylanicum”, *International Journal of Pharmaceutical Research and Innovation* 13, 22-33.
- [51] Wei Q.Y., Xiong J.J., Jiang H., Zhang C., Ye W., (2011), “The antimicrobial activities of the cinnamaldehyde adducts with amino acids”, *International Journal of Food Microbiology* 150, 164-170.
- [52] Rangel J.C.S., Benavides J., Heredia J.B., Cisneros-Zevallos L., Jacobo-Velázquez D.A., et al., (2013), “The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination”, *Analytical Methods* 5, 5990–5999.
- [53] Ainsworth E.A., Gillespie K.M., (2007), “Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent”, *Nature Protocols* Vol.2 No.4.
- [54] Cicco N., Lanorte M., Paraggio M., Viggiano M., Lattanzio V., (2009), “A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts”, *Microchemical Journal* 91, 107–110.
- [55] Blainski A., Lopes G.C., Mello J.C.P., (2013), “Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L.”, *Molecules* 18, 6852-6865.
- [56] Jing P., Ye T., Shi H., Sheng Y., Slavin M., Gao B., Liu L., Yu L., (2012), “Antioxidant properties and phytochemical composition of China-grown pomegranate seeds”, *Food Chemistry* 132, 1457–1464.
- [57] Vanlalveni C., Rajkumari K., Biswas A., Adhikari P.P., Lalfakzuala R., Rokhum L., (2018), “Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Nostoc linckia* and its Antimicrobial Activity: a Novel Biological Approach”, *BioNanoScience* 8, 624–631.
- [58] Vanlalveni C., Lallianrawna S., Biswas A., Selveraj M., Changmai B., Rokhum S.L., (2021), “Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities, a review of recent literature”, *Royal Society of Chemistry* 11, 2804–2837.

- [59] Ajitha B., Reddy Y.A.K., Lee Y., Kim M.J., Ahn C.W., (2019), “Biomimetic synthesis of silver nanoparticles using *Syzygium aromaticum* (clove) extract: Catalytic and antimicrobial effects”, *Appl Organometal Chem* 33, 4867.
- [60] Verma A., Mehata M.S., (2016), “Controllable synthesis of silver nanoparticles using Neem leaves and their antimicrobial activity”, *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 109-115.
- [61] Amaladhas T.P., Usha M., Naveen S., (2013), “Sunlight induced rapid synthesis and kinetics of silver nanoparticles using leaf extract of *Achyranthes aspera* L. and their antimicrobial applications” *Adv. Mat. Lett.*, 4(10), 779-785.
- [62] Vanaja M., Rajeshkumar S., Paulkumar K., Gnanajobitha G., Malarkodi C. And Annadura G., (2013), “Kinetic study on green synthesis of silver nanoparticles using *Coleus aromaticus* leaf extract”, *Adv. Appl. Sci. Res.*, 4(3), 50-55.
- [63] Manosalva N., Tortella G., Diez M.C., Schalchli H., Seabra A.B., Durán N., Rubilar O., (2019), “Green synthesis of silver nanoparticles, effect of synthesis reaction parameters on antimicrobial activity”, *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 35, 88.
- [64] Darroudi M., Ahmad M.B., Zamiri R., Zak A.K., Abdullah A.H., Ibrahim N.A., (2011), “Time-dependent effect in green synthesis of silver nanoparticles”, *International Journal of Nanomedicine* 6, 677–681.
- [65] Vijayaraghavan K., Nalini S.P.K., Prakash N.U., Madhankumar D., (2012), “Biomimetic synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Syzygium aromaticum*”, *Materials Letters* 75, 33–35.
- [66] Singh A.K. et al., (2010), “Biosynthesis of gold and silver nanoparticles by natural precursor clove and their functionalization with amine group”, *J Nanopart Res* 12, 1667–1675.
- [67] Gauthami M., Srinivasan N., Goud N.M., Boopalan K., Thirumurugan K., (2015), “Synthesis of Silver Nanoparticles using *Cinnamomum zeylanicum* Bark Extract and its Antioxidant Activity”, *Nanoscience & Nanotechnology-Asia* 5, 2-7.
- [68] Roy K., Sarkar C.K., Ghosh C.K., (2015), “Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles using parsley (*Petroselinum crispum*) leaf extract, spectral analysis of the particles and antibacterial study”, *Appl Nanosci* 5, 945–951.
- [69] Premkumar J., Sudhakar T., Dhakal A., Shrestha J.B., Krishnakumar S., Balashanmugam P., (2018), “Synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) from cinnamon against bacterial pathogens”, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 15, 311-316.
- [70] Kanmani P., Lim S.T., (2013), “Synthesis and structural characterization of silver nanoparticles using bacterial exopolysaccharide and its antimicrobial

activity against food and multidrug resistant pathogens'', Process Biochemistry 48, 1099–1106.

- [71] Acharya D., Singha K.M., Pandey P., Mohanta B., Rajkumari J., Singha L.P., (2017), "Shape dependent physical mutilation and lethal effects of silver nanoparticles on bacteria'', Scientific Reports 8, 201.
- [72] Sharma V.K., Yngard R.A., Lin Y., (2009), "Silver nanoparticles, Green synthesis and their antimicrobial activities'', Advances in Colloid and Interface Science 145, 83-96.



ÖZGEÇMİŞ

GülDen DOĞAN, 2005 yılında Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. Lisans eğitimini 2009 yılında tamamladı ve aynı yıl İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ortaöğretim Alan Öğretmenliği Bölümü'nde Biyoloji Öğretmenliği tezsiz yüksek lisans eğitimini tamamladı. 2014 yılında MEB'e biyoloji öğretmeni olarak atandı ve o yıldan itibaren görevine devam etmektedir.

