

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI**

**BOYUT KONTROLLÜ Ag NANOPARTİKÜLLERİNİN VE
Ag@GO NANOKOMPOZİTİN PAPATYA (MATRICARIA
CHAMOMILLA) BİTKİ EKSTRESİ KULLANILARAK
BİYOJENİK SENTEZİ VE ANTİBAKTERİYEL
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hazırlayan

Esra DOĞRU

Danışman

Yrd. Doç. Dr. İsmail ÖÇSOY

Yüksek Lisans Tezi

**Ağustos 2016
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI**

**BOYUT KONTROLLÜ Ag NANOPARTİKÜLLERİNİN VE
Ag@GO NANOKOMPOZİTİN PAPATYA (MATRICARIA
CHAMOMILLA) BİTKİ EKSTRESİ KULLANILARAK
BİYOJENİK SENTEZİ VE ANTİBAKTERİYEL
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Esra DOĞRU**

**Danışman
Yrd. Doç. Dr. İsmail ÖÇSOY**

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TYL-2015-6178 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Ağustos 2016
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Esra DOĞRU

İmza:



YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Boyut kontrollü Ag nanopartiküllerinin ve Ag@GO nanokompozitin papatya (matricaria chamomilla) bitki ekstresi kullanılarak biyojenik sentezi ve antibakteriyel aktivitelerinin araştırılması” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.


Tezi Hazırlayan

Esra DOĞRU



Danışman

Yrd. Doç. Dr. İsmail ÖÇSOY


Analitik Kimya ABD Başkanı

Prof. Dr. İbrahim Narin



Yrd. Doç. Dr. İsmail ÖÇSOY danışmanlığında Esra DOĞRU tarafından hazırlanan “Boyut kontrollü Ag nanopartiküllerinin ve Ag@GO nanokompozitin papatya (*M. Chamomilla*) ekstresi kullanılarak biyojenik sentezi ve antibakteriyel aktivitelerinin araştırılması” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

26 /08 / 2016

JÜRİ:

İmza

Danışman : Yrd. Doç. Dr. İsmail ÖÇSOY
(Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Kayseri)

Üye : Prof.Dr. Şenol KARTAL
(Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi, Kayseri)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Tülay OYMAK
(Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Sivas)

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... /..... / 2016

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ

TEŞEKKÜR

Akademik alandaki çalışmalara teşvik eden ve yüksek lisansı kendisi ile yapma fırsatı veren, çalışmalarımı yönlendirip, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen, değerli hocam Yrd. Doç. Dr. İsmail ÖÇSOY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmada kullanılan bitkinin teminini sağlayan Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Fatih DUMAN'a ve görüşleri ile destek olan Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Vedat YILMAZ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım süresince imkânlarından faydalandığım ERNAM (Erciyes Nanoteknoloji Araştırma Merkezi) çalışanlarına ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Yaşamımın her döneminde varlıklarını hissettiğim, maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan ve akademik alanda çalışma yapmaya teşvik eden sevgili aileme; en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir: Proje Numarası: TYL-2015-6178

Esra DOĞRU

KAYSERİ, Ağustos 2016

**BOYUT KONTROLLÜ Ag NANOPARTİKÜLLERİNİN ve Ag@GO
NANOKOMPOZİTİN PAPATYA (MATRICARIA CHAMOMILLA) BİTKİ
EKSTRESİ KULLANILARAK BİYOJENİK SENTEZİ ve ANTİBAKTERİYEL
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Esra DOĞRU

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Analitik Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Ağustos 2016

Danışman: Yrd. Doç. Dr. İsmail ÖÇSOY

ÖZET

Nanomalzemelerin sentezinin son yıllarda artması ile beraber, sentez yönteminin de belirlenmesi oldukça önem kazanmıştır. Birçok uygulama alanında kullanılan ve antibakteriyel etkinliği olan gümüş nanopartiküllerinin (Ag NP) kimyasal yöntemlerle sentezi mevcuttur. Ancak, zararlı kimyasalların kullanımı sonucunda, toksik özelliğe sahip Ag NP'lerin sentezi yerine biyolojik yöntemler ile sentezlenen Ag NP'lerin elde edilmesi son derece önem kazanmıştır. Bu çalışmada Ag NP'lerin sentezi için zararlı kimyasalların kullanılmadığı, çevre dostu, basit ve ucuz bir yöntem olan biyojenik sentez tekniği tercih edilmiştir. NP'lerin boyutlarındaki farklılık fiziksel, kimyasal ve mekanik özelliklerini doğrudan etkilemektedir. *Matricaria chamomilla* (*M. chamomilla*) sulu bitki ekstresi kullanılarak boyut kontrollü, farklı boyutlarda Ag NP'ler (70 ± 5 nm (Ag NP-1), 52 ± 5 nm (Ag NP-2) ve 37 ± 4 nm (Ag NP-3)) sentezlendi. Ag ile grafen oksit (GO) bir araya getirilmesiyle Ag@GO nanokompozitin (NK) sentezi gerçekleştirildi. Antibakteriyel aktivite testleri için Gram+ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), Gram- *Escherichia coli* (*E. coli*) bakterisi ve *Candida fungus albicans* (*C. albicans*) mikroorganizmaları kullanıldı. Ag NP'lerin oluşumuna Ag⁺ iyonu konsantrasyonu, bitki ekstresi konsantrasyonu ve reaksiyon süresinin etkileri incelendi. 100 mg/L M. chamomilla bitki ekstresi tüm hedef patojenlerin gelişiminin inhibe etmede hafif bir önleyici etki gösterdi. 100 mg/L Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3 ve Ag@GO NK'i tüm patojenlerin büyümesini ~%100'e yakın inhibe etmiştir. Ag NP-bitki ekstresi ve Ag NP-GO ikili çiftlerinin mikroorganizmaların inhibisyonunda sinerjistik etkiye sahip olduğu antibakteriyel testlerle gözlemlenmiştir. Sentezlenen boyut kontrollü Ag NP'lerinin ve Ag@GO NK'nin biyomedikal ve biyoanalitik uygulamalarda kullanımının genişleyecek olması umut vericidir.

Anahtar kelimeler: Gümüş Nanopartiküller, Grafen Oksit, Biyojenik Sentez, Nanokompozit, Papatya (*Matricaria chamomilla*) Bitkisi

BIOGENIC SYNTHESIS OF SIZE CONTROLLED Ag NANOPARTICLES AND Ag@GO NANOCOMPOSITES USING DAISY (MATRICARIA CHAMOMILLA) PLANT EXTRACT AND INVESTIGATION OF THEIR ANTIBACTERIAL ACTIVITIES

Esra DOĞRU

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences

Department of Analytic Chemistry

Ms. Thesis, August 2016

Supervisor: Assist. Prof. Dr. İsmail ÖÇSOY

ABSTRACT

Nanomaterials synthesis and determination of synthesis method has gained importance in recent years. There have been chemical methods for synthesis of silver nanoparticles (Ag NPs) which have been used in many application areas and have antibacterial activity. Ag NPs synthesized by biological methods compared to Ag NPs synthesized using toxic chemicals have significant advantages. Environmentally friendly, simple and cheap methods bio-synthesis technique was preferred in this study. The difference in NPs size directly affects their chemical and mechanical properties. In this work, the size-controlled Ag NPs with different sizes (70 ± 5 (Ag NP-1), 52 ± 5 (Ag NP-2) and 37 ± 4 nm (Ag NP-3)) were synthesized using *Matricaria chamomilla* (*M. chamomilla*) aqueous plant extract. Ag-graphene oxide nanocomposites (Ag@GO NC) has been produced with the interaction between Ag and GO. Gram+ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), Gram- *Escherichia coli* (*E. coli*) bacteria and *Candida albicans* (*C. albicans*) fungus microorganisms were used for antibacterial test. The effects of Ag^+ ion concentration, plant extract concentration and reaction time were investigated on the formation of Ag NPs. *M. chamomilla* with 100 mg/L plant extract showed a slight inhibitory effect in inhibiting the development of all target pathogens. 100 mg/L Ag NP-1, Ag NP-2 and Ag NP-3 and Ag @GO NC showed almost ~%100 inhibitory effect to the growth of all bacteria. Synergistic effect between Ag and plant extract; Ag NP and GO were observed and antibacterial test has been concluded with success. Potential use of the synthesized size controllable Ag NPs and Ag@GO NC in biomedical and bioanalytical applications are promising for the future.

Keywords: Ag Nanoparticles, Graphene Oxide, Biogenic Synthesis, Nanocomposites, Daisy (*Matricaria chamomilla*) Plant

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
İÇ KAPAK	I
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	II
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	III
KABUL VE ONAY SAYFASI	IV
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
KISALTMALAR	X
TABLolar LİSTESİ	XII
ŞEKİLLER LİSTESİ	XIII
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Nanopartiküller.....	4
2.2. Metal Nanopartiküller Ve Kullanım Alanları	5
2.3. Metal Nanopartikülleri Sentez Metotları.....	6
2.4. Biyojenik Sentez Tekniği	7
2.5. Metal Nanopartiküllerin Boyut Etkisi	9
2.6. Nanokompozitler	10
2.7. Gümüş Nanopartikülleri	11
2.8. Grafen Oksit	12
2.9. Ag@GO Nanokompoziti.....	13
2.10. Papatya (Matricaria Chamomilla) Bitkisi.....	14
2.11. Literatür Çalışmaları.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Gereç	21
3.1.1. Kimyasallar ve Materyaller	21

3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Karakterizasyon	21
3.2. Yöntem	21
3.2.1. Bitki Ekstraktının Hazırlanması	21
3.2.2. Ag Nanopartiküllerin Sentezi	22
3.2.3. Ag@GO Nanokompozitin Sentezi	22
3.2.4. Antibakteriyel Testi	22
4. BULGULAR	24
4.1. Matricaria Chamomilla Bitki Ekstresi Kullanılarak Boyut Kontrollü Ag Nanopartiküllerin Sentez Ve Karakterizasyonu	24
4.1.1. AgNO ₃ Konsantrasyonunun Etkisi	25
4.1.2. Bitki Ekstresi Hacminin Etkisi	26
4.1.3. Karışma Süresinin Etkisi	28
4.2. Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3'ün Antibakteriyel Aktivite Testi	30
4.3. Matricaria Chamomilla Bitki Ekstresi Kullanılarak Ag@GO Nanokompozitin Sentez Ve Karakterizasyonu	33
4.4. Ag@GO Nanokompozitin Antibakteriyel Aktivite Testi	36
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	40
6. KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	61

KISALTMALAR

Ag NP	: Gümüş Nanopartikül
AgNO ₃	: Gümüş Nitrat
Au NP	: Altın Nanopartikülleri
Ag@GO NK	: Grafen Oksit Üzerinde Gümüş Nanopartikül Oluşmuş Nanokompozit
<i>C. albicans</i>	: <i>Candida albicans</i>
CdS NP	: Kadmiyum Sülfür Nanopartikülleri
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EDX	: Enerji Dağılım X Işını Spektroskopisi
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
FDA	: Food and Drug Administration
GO	: Grafen Oksit
m	: Metre
<i>M. chamomilla</i>	: <i>Matricaria Chamomilla</i> (Papatya) Bitkisi
MIC	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
mL	: Mililitre
µL	: Mikrolitre
NaBH ₄	: Sodyum Borhidrür
NB	: Bakteri Besiyeri
NK	: Nanokompozit
nm	: Nanometre

NP	: Nanopartikül
rGO	: İndirgenmiş Grafen Oksit
RNA	: Ribo Nükleik Asit
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SERS	: Yüzeyi Güçlendirilmiş Raman Spektroskopisi
S. aureus	: Staphylococcus aureus
UV-Vis	: Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi
YEPDB	: Maya Ektresi Pepton Dekstroz Besiyeri
0D	: Sıfır Boyutlu
1D	: Bir Boyutlu
2D	: İki Boyutlu
3D	: Üç Boyutlu

TABLULAR LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Sentez metotlarının avantaj ve dezavantajları	7
Tablo 2.2. Yeşil kimya'nın hedefleri ve ilkeleri	9
Tablo 4.1. Minimum konsantrasyondeğerine göre Ag NP-, Ag NP-2 ve Ag NP-3'ün inhibisyon değerlerinin karşılaştırılması	32
Tablo 4.2. Minimum konsantrasyon değerine göre Ag NP-3, Bitki ekstresi-GO ve Ag@GO NK'nin inhibisyon değerlerinin karşılaştırılması	39



ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Nanomalzemeler ve boyutları.....	4
Şekil 2.2. Makro materyaller ve nano boyut.....	4
Şekil 2.3. Yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya sentez tekniği.....	6
Şekil 2.4. 5-100 nm aralığında farklı boyuta sahip Ag NPlerin çözeltilerindeki renk değişimi	10
Şekil 2.5. Grafen oksit	12
Şekil 2.6. Matricaria chamomilla bitkisi.....	15
Şekil 4.1. Matricaria chamomilla ekstresi kullanarak Ag NPlerin sentezinin şematik gösterimi	24
Şekil 4.2. Çeşitli Ag ⁺ konsantrasyonu ile Ag NPlerin oluşumunun SEM görüntüsü A) 10µM B) 250µM C) 5mM ve D) 50mM AgNO ₃ çözeltisi.....	25
Şekil 4.3. Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3'ün farklı hacimlerde ekstrakt kullanımı ile oluşumunun SEM görüntüsü A) 0.1mL B) 0.5mL ve C) 2mL M. chamomilla bitki ekstresi.....	27
Şekil 4.4. A) UV-Vis spektrumları, Ag NP-1 (0.1mL), Ag NP-2 (0.5mL) ve Ag NP-3 (2mL) B) Ag NPlerdeki Ag atomlarının varlığını gösteren EDX analizi ve C) Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3'ün sulu çözeltilerinin fotoğrafı.....	28
Şekil 4.5. Farklı karıştırma sürelerinde Ag NPlerin oluşumunun SEM görüntüsü A) 5 dk B) 10 dk ve C) 60 dk karışma süresi	29
Şekil 4.6. Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3, sırasıyla 0,1mL, 0,2mL ve 2mL ekstre ve hepsi 45 dk oda sıcaklığında karışma sonucu oluşmuştur, S. aureua, E. coli ve C. albians patojenlerine karşı inhibe edici aktiviteleri A) M. chamomilla bitki ekstresi B) Ag NP-1 C) Ag NP-2 ve D) Ag NP-3	31
Şekil 4.7. A) GO ve B) GO-M. chamomilla bitki ekstresinin SEM görüntüsü	33
Şekil 4.8. A) Ag NPleri B) Ag-GO-M.chamomilla bitki ekstresi (5mM) C) Ag-GO-M. chamomilla bitki ekstresi (20mM) SEM görüntüleri	34
Şekil 4.9. A) 1mL Ag NP-GO-NaCl (135nm) ve B) 5mL Ag NP-GO-NaCl (135nm).....	35
Şekil 4.10. Matricaria chamomilla bitki ekstresi	36
Şekil 4.11. Matricaria chamomilla bitki ekstresi-GO ikilisi	37
Şekil 4.12. Ag@GO Nanokompoziti	38

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Metal nanopartiküllerin (NP'lerin) sentezi ve çeşitli uygulamalarda kullanımı nanoteknolojideki gelişmeler ile birlikte artmıştır. Metal NP'lerden olan gümüş nanopartikülleri (Ag NP) yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olup farklı uygulamalarda kullanımına sıkça rastlanmaktadır (1). Ag NP'lerin antibakteriyel etkinliğe sahip olmalarından dolayı optik, elektronik, manyetik, sensörler, gıda endüstrisi, su arıtımı, tarım, tekstil ve ilaç salınımı gibi uygulamalarda kullanılmaktadırlar (2).

Nanokompozitler (NK'ler) iki farklı özelliğe sahip malzemelerin bir araya gelerek, tek başlarına iken gösterdikleri etkileri artan çok fonksiyonlu malzemelerdir (3). Grafen oksit (GO) antibakteriyel etkinliğe sahiptir. Ayrıca biyouyumlu, yüksek yüzey alanına sahip, mukavemeti yüksek ve çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır. Yapısında bulundurduğu fonksiyonel gruplar ve geniş yüzey alanı sayesinde çeşitli malzemelerin montajı için uygun bir platformdur (4). Ag@GO NK şeklinde bir araya geldiklerinde sinerjistik etki ile tek başlarına iken gösterdikleri antibakteriyel etkinlikleri artmıştır (5). Ag@GO NK'i biyouyumlu malzeme olmasından dolayı kanser tedavisi ve ilaç yükleme uygulamalarında kullanılmaktadır (6).

NP'lerin boyutu fiziksel ve kimyasal özelliklerini doğrudan etkilemektedir (2). Uygulanılacak alana göre NP'lerin boyutu daha da önem kazanmaktadır. Örneğin; akıllı ilaç taşıma çalışmalarında küçük boyutlara sahip NP'ler, yüzey alanlarının geniş olmasından dolayı tercih edilmektedirler (7).

Nanomalzemeler fiziksel ve kimyasal yöntemler ile sentezlenebilmektedirler. Ancak zararlı kimyasalların kullanımı, yüksek maliyet ve çevreye zarar vermesinden dolayı biyojenik sentez tekniği tercih edilmektedir. Son yıllarda biyojenik sentez tekniği ile nanomalzemelerin sentezinde artış görülmektedir.

Çevre dostu, maliyeti düşük ve fazlamiktarda NP sentezi için avantajlı bir yöntemdir. Mikroorganizmalar ve bitki kökenli malzemeler kullanılarak biyojenik sentez işlemi gerçekleştirilmektedir (8).

Ek olarak, bitki kökenli malzemeler ucuz ve kolay temin edilebildikleri gibi sahip oldukları doğal antibakteriyel etkinliklerinden dolayı sentez de kullanıldıklarında, sentezlenen malzemenin antibakteriyel etkinliğini arttırmaktadırlar. Doğal indirgeyici ajan olarak NP'lerin sentezinde bitki kullanımını son yıllarda popüler hale gelmiştir (9).

Bu tez çalışmasında papatya (*Matricaria Chamomilla*) bitki ekstresi indirgenme ajanı olarak kullanılmıştır. Boyut kontrollü Ag NP'leri ve Ag@GO NK'leri sentezlenmiştir. NP'lerin birçok fiziksel ve kimyasal özelliği doğrudan boyuta bağlıdır. Örneğin, nanopartiküllerin toksisite, biyouyumluluk ve biyoyararlanım özellikleri boyuta bağlı olarak değişmektedir.

Bu çalışmada, sentezlenen Ag NP ve Ag@GO NK'lerin morfolojileri ve antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. Genel itibari ile NP üretimi kimyasal yöntemler ile elde edilirken, bu çalışmada bitki ekstraktı kullanılarak yeşil sentez ile boyut kontrollü Ag NP'lerin toksisitesinin önemli oranda düşürülmesi hedeflenmiştir.

Yapılan literatür araştırmalarında, Ag@GO NK'lerin Ag-GO arasındaki sinerjistik etkiden dolayı çok yüksek antibakteriyel özelliğe sahip oldukları rapor edilmiştir. Fakat bitki ekstraktı kullanılarak boyut kontrollü Ag NP'ler ve Ag@GO NK'lerin sentezine literatürde rastlanmamıştır. Bu çalışma ile ilk kez boyutkontrollü ve biyojenik sentez tekniği ile çevre dostu NP'ler ve NK yapılar daha düşük maliyetle sentezlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

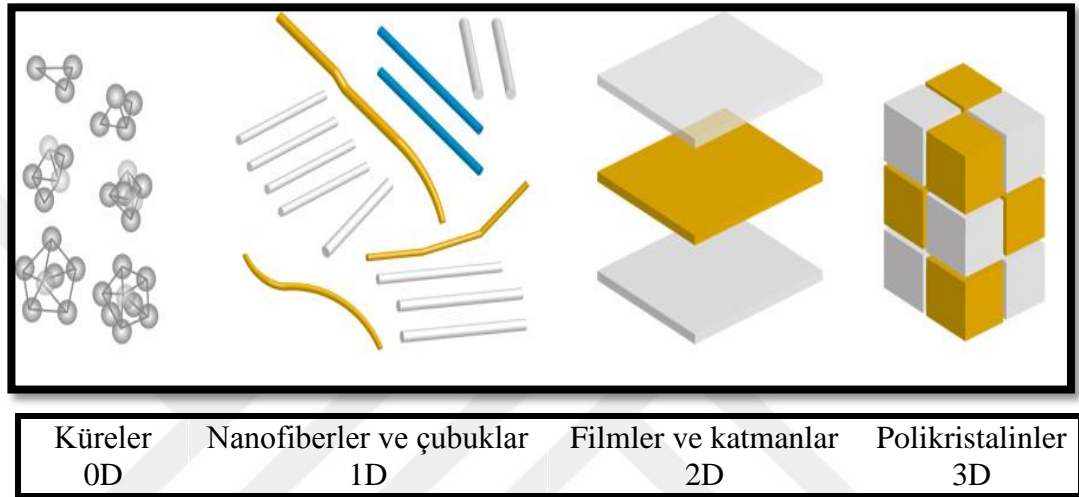
Nanobilim; nanoteknoloji, nanobiyoteknoloji, fizik, kimya, biyoloji ve mühendislik gibi alanları içermektedir. Bütün bu alanların ortak sonucu olarak da etkinliği yüksek, kontrol edilebilirliği kolay ve nano boyutlara sahip malzemelerin sentezlenmesi ve çeşitli uygulamalar için kullanılabilirliği sağlanmıştır (10). Nano boyut ifadesi ilk olarak Nobel ödülüne sahip fizikçi Richard Feynman tarafından "*Aşağıda daha çok yer var*" ifadesini kullanması ile birlikte bilim ve teknoloji alanlarında parçacık boyutunun daha küçük ölçekte olabileceğine dikkat çekmesinin ardından nanobilim ve nanoteknoloji alanlarında önemli gelişmeler sağlanmıştır (11).

Nano boyuta sahip materyallerin manyetik, optik ve elektriksel gibi birçok özelliği makro boyuttaki materyallere göre farklılık göstermektedir. Örneğin nano ölçekte kırmızı ve mavi renkte görünen altın, makro ölçekte sarı renge sahiptir (12). Nano malzemenin boyutu küçüldükçe yüzey alanı hacmine oranla büyür ve bunun sonucunda da esneklik ve sertlik gibi fiziksel özelliklerinde değişiklikler gözlemlenir (13). Bir nanometre(nm) metrenin(m) milyarda birine eşit olup ($1\text{nm} = 10^{-9}\text{ m}$), yüksek yüzey alanına sahip NP'lerin kimyasal reaksiyona girme aktiviteleri yüksektir. Tıp, mühendislik, sağlık gibi birçok alanda ve katalizör olarak da çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadırlar (14).

Nanomateryaller, şekil ve boyutlarına bağlı olarak elektronik, optik ve manyetizma gibi farklı fizikokimyasal özellikler göstermelerinden dolayı bilim adamlarının büyük ilgi odağı olmuşlardır (15). Buna bağlı olarak nanomateryallerin sentez ve uygulama alanlarında artış görülmektedir (16). Altın NP'ler ve polimerler, fonksiyonel hale getirildikten sonra biyoloji ve tıp uygulamalarında kullanılan bazı nanomateryallere örnek olarak verilebilir (17).

Nanomalzemeler, yapılarındaki partiküllerin (tanecik) büyüklüğüne ve geometrik şekillerine bağlı olarak dört farklı boyut olarak sınıflandırılırlar. Sıfır boyutlu (0

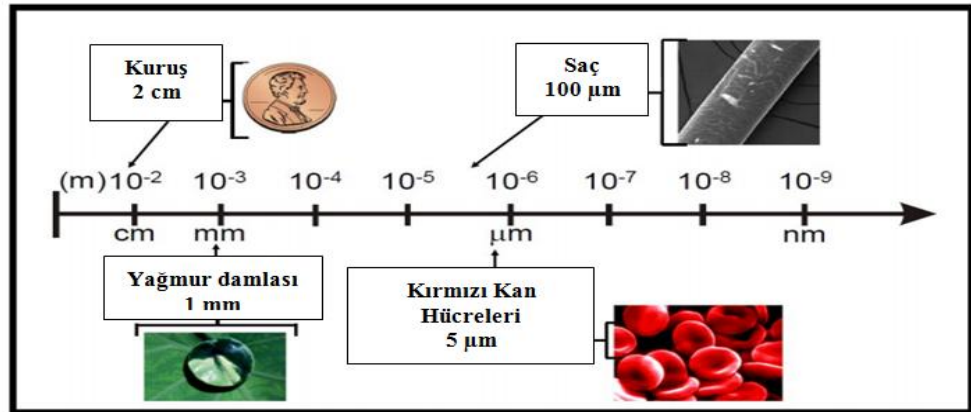
Dimensions, 0D) nanomalzemeler küme (cluster) malzemeler, bir boyutlu nanomalzemeler (1D) sınıfında nanofiberler, nanoçubuklar ve nanotüpler, iki boyutlu nanomalzemeler (2D) filmler ve katmanlar, üç boyutlu nanomalzemeler (3D) ise polikristalin olarak şekil 2.1'de gösterilmektedir (18).



Şekil 2.1. Nanomalzemeler ve boyutları (18).

2.1. Nanopartiküller

Boyutları 1-100 nm arasında olan parçacıklara NP denir (19, 20). NP'ler genellikle makro boyuttaki malzemelere göre çok daha üstün fiziksel ve kimyasal özellikler göstermektedirler (21).



Şekil 2.2. Makro materyaller ve nano boyut (22).

Ayrıca NP'ler kolay izole edilebilmeleri, katalizör olarak kullanılmaları ve tekrar kullanım özellikleri sayesinde oldukça düşük maliyetli olarak sentezlenmektedirler (23). Şekil 2.2'de görüldüğü üzere bir insan saç teli 80.000-100.000 nm genişliğine sahiptir (22).

2.2. Metal Nanopartiküller Ve Kullanım Alanları

Nano boyutta yeni fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olmalarından dolayı son yıllarda NP'ler çok çeşitli uygulama alanlarında kullanılmak için tercih edilmektedirler (24, 25). Kimyasal reaksiyonlarda yüksek katalitik aktivite gösterebilmelerinden ve yüzeylerinin fonksiyonel hale getirilebilmelerinden dolayı metal NP'ler bilim adamlarının yoğunlaştığı çalışmalar arasında yerini almıştır (26, 27). Şekil ve boyut kontrollü olarak sentezlenen metal NP'ler yakıt hücreleri ve depolama aygıtlarında katalizör olarak bulunmaktadır (27). Metal NP'ler ilaç ve gen aktarımında, kimya bilimlerinde oldukça yaygın kullanılmaktadır (28).

Metal NP'lerin uygulama alanları;

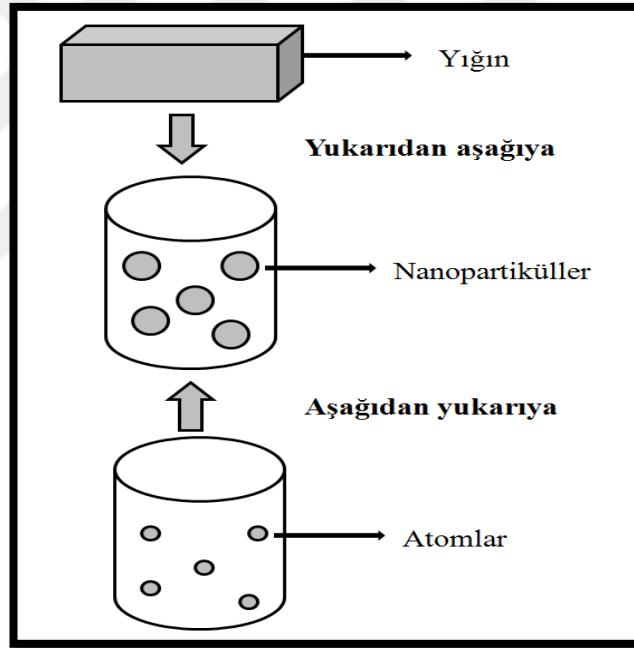
1. Biyomedikal (29),
2. Malzeme bilimi (30),
3. Kataliz (31),
4. Optik cihazlar (32),
5. İlaç salınım sistemleri (33),
6. Bazı kanser türlerinin tedavisinde (34),
7. Sensörler (35),
8. Güneş pilleri (36) ve
9. Elektronik alanlarındaki uygulamalarda kullanılmaktadırlar(37).

Ayrıca, CdS NP'leri fotoelektrokimyasal cihazlarda (38), Au@Ag NP'leri sensörlerin geliştirilmesinde (39), Au NP'leri fotokatalitik uygulamalarda kullanılmaktadır (40).

2.3. Metal Nanopartikülleri Sentez Metotları

Nanomalzemelerin sentezi ve fonksiyonel hale getirilmesi son on yılda artış göstermiştir. Yeni özelliklere sahip nanomalzemelere talep artışı ile birlikte nanomalzemelerin sentezi önem kazanmıştır (41).

Nanomalzemelerin sentezi için iki temel yaklaşım vardır. Bu yaklaşımlardan birincisi "aşağıdan yukarıya", ikincisi ise "yukarıdan aşağıya" sentezdir. Aşağıdan yukarıya sentez tekniğinde, atom veya moleküllerden büyük boyuta sahip malzemelerin sentezi gerçekleştirilir. Yukarıdan aşağıya sentez tekniğine ise, yığın şeklinde olan malzemenin daha küçük boyutlara sahip olan NP'ler elde edilir (42, 43).



Şekil 2.3. Yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya sentez tekniği

Yukarıdan aşağıya sentez tekniği, aşağıdan yukarıya sentez tekniğine göre dezavantajlıdır. Yukarıdan aşağıya sentez tekniğinde istenilen şekil ve boyuta sahip NP'lerin sentezi homojen olarak sağlanamaz iken, aşağıdan yukarıya sentez de ise daha homojen boyut ve şekile sahip nanomalzeme sentezi gerçekleştirilir (42). Aşağıdan yukarıya sentez tekniği ile atomların yüzeyleri fonksiyonel hale kolayca getirilebilir ve sentez mekanizması kontrol edilebilir. Böylece yüksek verimli yüzeye ve istenilen şekle, boyuta sahip malzemenin sentezi başarılı olarak gerçekleştirilir (44).

Nanomalzemeler bu iki temel yaklaşım ile birlikte, fiziksel, kimyasal ve biyolojik metotlar ile sentezlenmektedirler (45). Fiziksel metot da buharlaşma, yoğunlaşma ve öğütme işlemlerinin kullanılması ile malzemenin sentezlenmesini sağlamaktadır (42, 46).

Kimyasal metot da ise nanomalzemenin sentezi için ortamda indirgeyici moleküller (NaBH_4 gibi) kullanılır (42). Biyolojik metot da biyomoleküller (DNA, RNA, peptid, ve enzim), mikroorganizmalar ve bitki ekstresi kullanılarak sentez gerçekleştirilmektedir (46). Bütün bu metotların avantaj ve dezavantajları Tablo 2.1'de yer almaktadır.

Tablo 2.1. Sentez metotlarının avantaj ve dezavantajları (42)

Metot	Avantajı	Dezavantajı
Fiziksel metot	Kolay sentez ve yüksek miktarda üretim	Boyut ve morfoloji kontrolü zordur ve biyo uygulamalara uygun değildir
Kimyasal metot	Morfoloji kontrolü çok iyi	Çevreye zararlı toksik malzemelerin kullanılması, istenmeyen yan ürün oluşumu
Biyolojik metot	Basit, ucuz, çevre dostu, malzemeye ulaşım kolaylığı, kolay hazırlanabilir ve zehirli kimyasalların kullanılmaması	Stabilite problemi

2.4. Biyojenik Sentez Tekniği

NP'lerin biyomedikal ve sağlık gibi alanlarda ki uygulamalarda kullanımında ki artış ile birlikte sentezleri önem kazanmıştır. NP sentezlendiği tekniğe bağlı olarak farklı etkinliğe sahip olmaktadır. Bundan dolayı çevre dostu ve toksik olmayan malzemelerin sentezi son derece öneme sahiptir(47).

Biyojenik sentez tekniği yani diğer adıyla "yeşil sentez" tekniği nanobiyoteknolojideki gelişmeler ile birlikte NP'lerin sentezi için son yıllarda araştırmacıların ilgi odağı olmuştur(47). Metal NP'lerin sentez tekniği, boyut, morfoloji, dayanıklılık ve etkileşimlerini önemli derecede etkilemektedir (21). Kimyasal yöntemler ile metal NP'lerin sentezinde toksik malzemelerin kullanımı, zararlı yan ürün oluşumu gibi dezavantaja sebep olmaktadır (48).

Bundan dolayı bilim ve sanayide modern gelişmelerle birlikte "yeşil kimya" sentez yöntemleri; basit, tehlikeli çevresel atıkların azaltımı ve güvenilir NP'lerin sentezi için oldukça önem kazanmıştır (21, 23, 48, 49).

Yeşil kimya sentez yöntemlerinin tercih edilmesinin nedenleri; toksik olmayan kimyasalların kullanımı, çevreye zararsız çözücüler ve yenilenebilir kaynakların kullanımı ve bu yöntem ile sentezlenen NP'lerin elektronik, fizik, kimya, optik, malzeme bilimi ve biyomedikal gibi alanlar içinde uygulanabilir olmasıdır (50, 51).

NP'leri biyojenik sentez ile sentezlemek için mikroorganizmalar ve bitki gibi (doğal, ucuz, biyouyumlu ve toksik olmayan) malzemeler kullanılarak sentez işlemi gerçekleştirilir (47). Çevre dostu yeşil kimya süreci ile metal NP sentezinde bitki ekstresi kullanımı NP'lerin biyosentezi için en uygun yöntemdir (52).

Ayrıca sentez hızı, kararlılığı, biyoindirgenme mekanizmaları, farklı boyutlara ve morfolojiye sahip NP'lerin sentezi için bitki ekstraktı kullanımı birçok avantajı bir arada sağlamaktadır (52, 54). Yeşil kimya sentez tekniğinin hedefleri ve ilkeleri aşağıda Tablo 2.2'de kısaca özetlenmiştir.

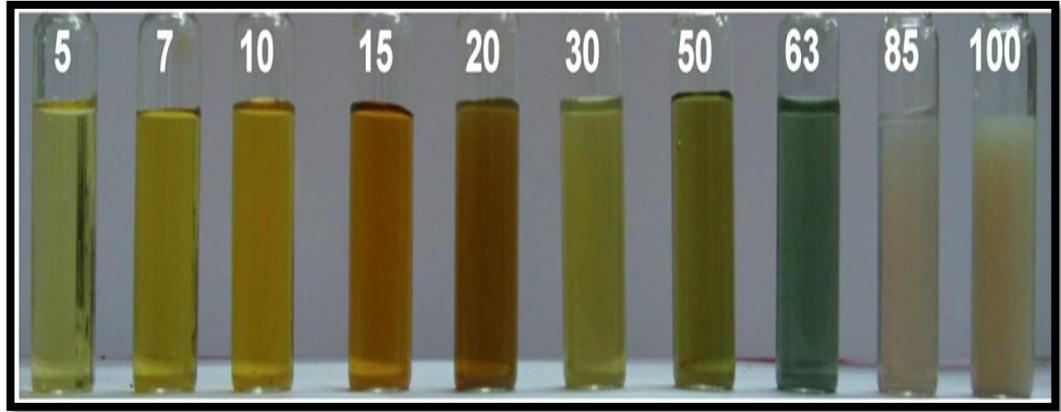
Tablo 2.2. Yeşil kimya'nın hedefleri ve ilkeleri (53).

Yeşil Kimya'nın Hedefleri	Yeşil Kimya'nın İlkeleri
<ul style="list-style-type: none"> • İşlem görmemiş örneklerin doğrudan ölçümü • Toksik reaktiflere ihtiyaç duyulmaması • Prosedürlerin kısalması • Otomasyon • Atıkların giderilmesi 	<ul style="list-style-type: none"> • Ekonomik malzeme tüketimi • Tehlikeli kimyasal sentezleri azaltmak • Güvenli kimyasal ve ürünleri tasarlamak • Reaksiyon koşullarına uygun güvenli çözücülerin kullanımı • Enerji tasarrufu sağlamak • Kimyasal katalizörlerin kullanımının azaltılması • Kirlilik ve bozulmaları azaltmak • Potansiyel kazaları en aza indirmek

2.5. Metal Nanopartiküllerin Boyut Etkisi

Metal NP'lerin çeşitli sentez teknikleri ile sentezlenmesi ve farklı uygulama alanlarında kullanımının artması ile birlikte, sentezlenen NP'lerin boyut ve şekillerinin kontrol edilebilir olması son derece önemlidir. Nanobiyoteknolojide ki gelişmeler ile birlikte biyojenik sentez tekniğinin sağladığı avantajlar metal NP'lerin sentezinde büyük öneme sahip olmuştur. Bitkilerin kullanımı ile istenilen şekil ve boyuta sahip NP'lerin sentezi sağlanmıştır (55).

Boyut etkisi NP'lerin toksisite, biyoyararlanım ve manyetik özelliklerini etkilemekte olup gıda ve ilaç salınım uygulamalarında çok önemlidir (56, 57). Farklı çaplara ve şekillere sahip nanopartiküller farklı fiziksel, kimyasal, manyetik, optik, ve elektriksel özellik gösterirler (56-58).



Şekil 2.4. 5-100 nm aralığında farklı boyuta sahip Ag NP'lerin çözeltilerindeki renk değişimi (59)

2.6. Nanokompozitler

Nanoteknolojide ki gelişmelerin son yıllarda artışını takiben nanomalzemelerin çeşitli uygulama alanlarında kullanımı da artmıştır. Özellikle sağlık alanında kanser türlerinin tedavisi ve kontrollü ilaç salınım uygulamalarında nanoölçekli malzemeler kullanılmaktadır. Bu gelişmelerle birlikte yeni işleve sahip nanomalzemelere ihtiyaç duyulmuştur. Bu ihtiyacı karşılamak için NK'ler (hibrit nanoyapılar) sentezlenip, çeşitli uygulama alanlarında kullanıma sunulmuştur. En az iki farklı bileşenin bir araya getirilmesi ile birden fazla fonksiyonu sağlayan nano ölçekteki malzemeler NK'ler olarak tanımlanır (60).

Hibrit nanoyapılar yüksek yüzey alanını elde etmek, dayanıklılık ve aynı anda çok işlevi bir arada sağlamak için uygun platformlar olmuşturlar. Farklı özelliklere sahip materyallerin birbiri ile uyumlu birleşimleri ve malzemeler arasındaki sinerjistik etki ile tek başına iken düşük etkiye sahip olan malzemeler, bir araya geldiklerinde üstün fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkinlik sağladıkları gözlemlenmiştir (61-67).

NK'ler elektrik, optik, mikro elektronik, enerji, sağlık, kanser tedavisi, biyomedikal ve biyoteknoloji uygulamalarında kullanılmaktadır (68-71). Hibrit nanoyapılar mikrofon, dambıl, diş fırçası ve çiçek benzeri gibi çeşitli şekillerde sentezlenmektedirler (61, 72). Örneğin; Zare et al. protein ve bakır(II) iyonları ile nanoçiçek şeklinde sentezledikleri hibrit nanoçiçek yapının, proteinin tek başına iken gösterdiği enzimatik aktiviteden çok daha yüksek bir enzimatik aktivite gösterdiğini çalışmalarında bildirmişlerdir (73).

2.7. Gümüş Nanopartikülleri

Metal NP'ler farklı fiziksel ve kimyasal özellikleri bakımından farklı uygulamalarda çeşitli amaçlarla kullanılmaktadırlar (74). Metal NP'lerden olan Ag NP'leri 2011 yılında dünya çapında ~320 ton üretilmiştir (75). Ag NP'leri özellikle antibakteriyel etkinliklerinden dolayı geçmişten günümüze bir çok tıbbi uygulama ve patojenik mikroorganizmalardan kaynaklı ölümlerin artışı ile birlikte antibakteriyel etkinliğe sahip yüzeyler elde etmek amacıyla kullanılmıştır (76-79).

Gümüş NP'lerin kullanıldığı alanlar;

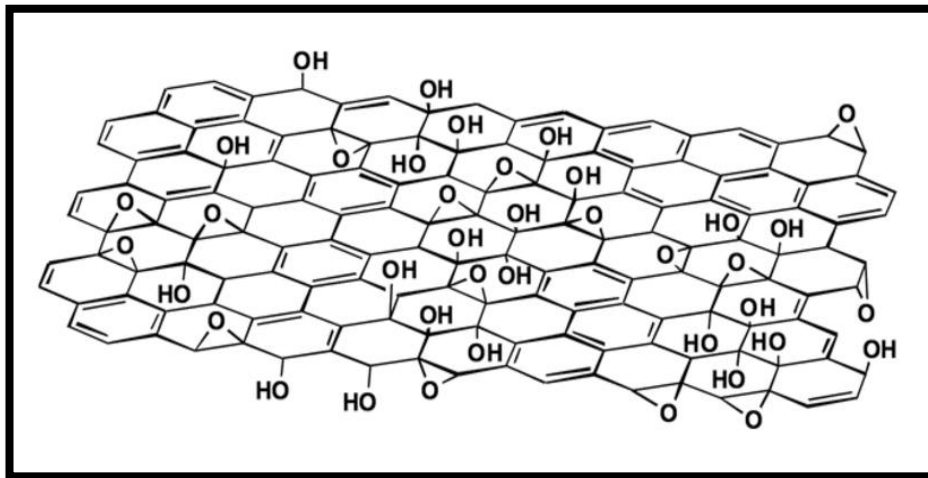
1. Gıda paketleri
2. Tekstil
3. tıbbi cihazlar (80),
4. fotoğrafçılık (81),
5. tarımda (gübre) (82),
6. biyosensörlerde (83),
7. plasmonik substrat olarak görüntülemeye (84),
8. kozmetik ürünlerinde
9. boyalarda
10. ev eşyalarında
11. toprak da (bitki ve sudaki organizmalarda) (85),
12. elektrokatalizörlerde (86),
13. antibakteriyel aktiviteyi artırmada hibrit nanoyapılarda (87),
14. yüzeyi güçlendirilmiş raman saçılımı (SERS) uygulamalarında (88), kullanılmaktadır.

2.8. Grafen Oksit

Grafenin indirgenmiş formu olup 2004 yılında keşfedilmiştir (89). İki boyutlu yapıya sahip olup epoksi, hidroksil ve karboksil (-O-, -OH, -COOH) gibi fonksiyonel gruplara sahiptir (90-94). Yapısındaki fonksiyonel gruplar eşsiz fiziksel, kimyasal, mekanik ve elektronik özellikler kazandırmaktadır (93, 95).

Kolay ve ucuz bir şekilde "Hummer yöntemi" ile sentezlenmekte olup, endüstriyel uygulamalarda sentez kolaylığından dolayı kullanımı mevcuttur (96). Ultra ince ve mekanik etkilere dayanıklı, antibakteriyel etkinliği yüksek, iletken ve esnek yapıya sahiptir. Ayrıca yüksek yüzey alanına sahip olup biyoyumlu bir malzemedir (97-99).

Fonksiyonel gruplardan dolayı hidrofilik özelliktedir. Su ve diğer çözücülerin içerisinde kolayca dağılmaktadır (95, 99). Yüksek yüzey alanı sayesinde farklı özelliğe sahip malzemeler ile işlevsel hale getirilebilmektedir. Böylece hibrit malzeme sentezi için uygun bir platform olarak kullanım kolaylığı sağlamaktadır. Ayrıca farklı malzemeler ile sinerjistik etkiyi sağlayarak birçok uygulamada etkinliği yüksek ve montaj kolaylığı sağlayan platform olarak tercih edilmektedir (99, 100). Kendine özgü morfolojisinden kaynaklı mekanik dayanıklılığı sayesinde, mikrofiberlerin gerilmelere karşı mukavemetini artırmada kullanılmaktadır (93, 99). Elektrik iletkenliğine sahip olup, elektrokimyasal uygulamalarda, iletken filmlerin sentezinde yararlanılmaktadır (95). Elektronik ve optik alanlarında yalıtım amacıyla kullanılmaktadır (94, 99, 101).



Şekil 2.5. Grafen oksitin yapısı (102).

Biyouyumlu bir malzeme olmasından dolayı hücre içi çalışmalarda ki biyolojik süreçlerde, protein, peptid, ilaç ve gen taşınımı için kullanılan malzemeler arasında araştırmacıların tercih ettiği bir platform olmuştur. Ayrıca antibakteriyel etkinliğinden dolayı, bakterileri öldürmede etkin olarak kullanılan bir platformdur (91, 97, 103). Metal NP'leri hareketsizleştirme (immobilize) amacıyla da kullanılmaktadır (95).

Optik uygulamalar (92), atık su arıtımı (96), kanser tedavisi (97), sensörler, nanoelektronik cihazlar (99), enerji depolama (100), biyomedikal uygulamalar, tıpta hastalıkların tanı ve teşhisi, hücre görüntüleme, akıllı ilaç ve gen taşınımı uygulamaları, lityum bataryaları, güneş pilleri, floresans uygulamaları, kompozit malzemelerin elde edilmesinde ve katalizör olarak birçok alanda kullanılmaktadır (103-112).Örneğin; Alzhemier hastalığının tanı ve teşhisi ile ilgili çalışmada ilaç iletimi ve hücrelerin görüntülenmesinde kullanılmıştır (97).

2.9. Ag@GO Nanokompoziti

Nanoteknoloji ve biyoteknolojide ki gelişmelerle birlikte farklı fonksiyonel özelliklerin aynı anda ve daha etkin kullanılabileceği malzemelere talep artmıştır. İki ya da daha fazla sayıda, farklı işlevleri olan malzemelerin nano boyutta bir araya getirilmesi ile NK malzemeler elde edilir (113).

Bir malzeme tek başına iken gösterdiği fiziksel, mekanik ve antibakteriyel etkinliği düşük olmasına karşın, bir araya geldiklerinde daha yüksek etkiye sahip çoklu fonksiyonu olan NK malzemeler oluşmaktadırlar. Malzemedен tasarruf ve aynı süre içerisinde daha fazla ürünün elde edilmesi gibi avantajlar sağlamaktadır. Malzemeler arasındaki sinerjistik etki ile daha güçlü etkinliğe sahip malzemeler elde edilmektedir (113, 114).

Grafen oksit eşsiz fiziksel, kimyasal ve optik özelliklere sahiptir. Geniş yüzey alanı sayesinde metal NP'lerinin (Ag NP) ve diğer malzemelerin montajı için uygun bir platformdur. Biyouyumlu olmasından dolayı da biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır. GO-Ag NP NK'i şeklinde SERS uygulamalarında Raman saçılım sinyallerini yükseltmek amacıyla kullanılmaktadır. Elektrik iletkenliğine ve yüksek mekanik mukavemete sahiptir (115).

GO ve Ag NP'leri arasında, sinerjistik etkileşim gözlenmiştir. GO metal NP'lerinin immobilize edilmesi için uygun bir yüzey olmuştur (116). Ag NP'leri DNA (deoksiribo nükleik asit) ve proteinlerin tespit edilmesi amacıyla sinyallerin güçlendirilmesi için elektrokimyasal uygulamalarda GO'ın yüzeyine sabitlenerek Ag NP-GO NK'leri biçiminde kullanılmıştır (117).

Ag NP'leri antibakteriyel etkinliklerinden dolayı diş dolgu malzemelerinde, tıbbi cihazlarda ve kaplama işlemlerinde kullanılmıştır. GO içerdiği fonksiyonel gruplar, yüksek yüzey alanı ve mukavemetinden dolayı metal NP'leri gibi malzemeleri sabitlemede uygun bir platform olmuştur. Ag NP'leri ve GO arasındaki sinerjistik etki ile antibakteriyel Ag@GO NK'lerin antibakteriyel etkinlikleri güçlü olmuştur. Ayrıca Ag@GO NK'leri gıda ambalajlarında, tıbbi cihazlar ve kaplama malzemesi olarak çeşitli uygulama alanlarında kullanılmıştır (118).

2.10. Papatya(Matricaria Chamomilla) Bitkisi

Matricaria Chamomilla (M. chamomilla) bitkisi papatyagiller ailesindedir. Geleneksel tıpta ülser, ishal, ağız ve diş eti rahatsızlıklarında, sindirim rahatsızlıklarında kullanılmaktadır (119). Ayrıca çay olarak da tüketilmektedir. Papatya ekstresi uçucu yağ, flavonoid, terpenoid ve kumarin bileşenlerini içermektedir(120).

Dünya çapında en sık kullanılan bitkiler arasındadır. Kolayca erişilebilirliği, düşük maliyeti ve doğal olmasından dolayı geleneksel tıpta tedavi amaçlı kullanımı yaygındır. Antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve anti-kanser özelliğe sahiptir. İbn-i Sina tarafından yazılmış olan kitapta, eklem ağrıları ve sinirsel rahatsızlıklar için faydalı olduğu belirtilmiştir. FDA'ın (Food and Drug Administration) güvenli bitkiler listesinde bulunmaktadır. İnsan vücudu için çeşitli rahatsızlıkların tedavisi için uygun bir bitkidir . Ek olarak anti-oksidan ve antinosiseptif etkileri de vardır (121, 122).



Şekil 2.6. Matricaria chamomilla bitkisi (123).

Antik çağlarda Mısırlılar tarafından "Güneş tanrısının çiçeği" ("Flower of the Sun God") olarak nitelendirilmiştir. Bugün dünya da ise hem modern hem de geleneksel tıpta papatyanın birçok rahatsızlığın tedavisinde kullanımına rastlanmıştır. Sedatif rahatsızlıklarda (örn; egzama), yanıkların tedavisinde, böcek ısırıkları, yaraların temizlenmesinde, mide ağrılarında, farenjit, iltihaplar da ve romatizma ağrılarında kullanılmaktadır (124). Ayrıca ülser tedavisinde de kullanılmaktadır (125).

Papatyanın ilaç ve kozmetik endüstrilerinde sıkça kullanımına rastlanmaktadır. Antibakteriyel ve antimikrobiyal etkinliğe sahip olup hem gram negatif hem de gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olmuştur (126, 127). Bakteriyel cilt rahatsızlıkları, idrar yolu iltihabı, solunum yolu iltihabı gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmakla birlikte çay olarak tüketimi batı ülkelerinde çok popülerdir (128).

2.11. Literatür Çalışmaları

Shankar ve arkadaşları Ag NP'leri ve altın NP'lerini *Neem* bitki ekstresi kullanarak sentezlemişlerdir. Bitkinin kullanımı ile daha hızlı NP'lerin oluştuğunu ve kimyasal yöntemler ile sentezden daha avantajlı olduğunu çalışmalarında rapor etmişlerdir (129).

Akhtar ve arkadaşları son yıllarda nanobiyoteknolojideki gelişmeler ile birlikte bitki ekstresi kullanılarak metal NP'lerin sentezinin diğer yöntemlere göre avantajlı olduğunu

belirtmişlerdir. Çünkü çevre dostu, toksik etkisi olmayan, basit ve hızlı bir yöntem olup NP'lerin sentezi için ideal bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir (130).

MubarakAli ve arkadaşları *Mentha piperita* bitki ekstraktını kullanarak Ag NP'leri sentezlemişlerdir. Karakterizasyon teknikleri ile oluşan Ag NP'leri incelemişlerdir (131).

Pavani ve arkadaşları nanotıp ve nanobiyoteknolojide Ag NP'lerin kullanımının artması üzerine doğal ve toksik özelliği olmayan Ag NP'leri sentezlemek için *Ipomoea indica* çiçeğinin özütünü kullanmışlardır. Farklı karakterizasyon teknikleri ile sentezlenen Ag NP'lerini incelemişlerdir. 10nm ile 50nm boyutuna sahip Ag NP'ler sentezlemişlerdir. Bitki özütü kullanma sebepleri; tarım, beslenme ve tıp alanlarında Ag NP'lerin kullanımına sıkça rastlanmasından dolayı ayrıca maliyeti düşük ve çevre dostu olduğu için tercih etmişlerdir (132).

Sheny ve arkadaşları yeşil kimya sentez tekniği ile Ag NP'lerini *Anacardium occidentale* bitki ekstraktını kullanarak sentezlemişlerdir. Sıcaklık ve pH parametrelerinin NP'lerin oluşumuna etkilerini incelemişlerdir (133).

Vijayaraghavan ve arkadaşları *Trachyspermum ammi* ve *Papaver somniferum* bitkilerinin ekstrelerini kullanarak Ag NP'lerini sentezlemişlerdir. Bu bitkilerin ekstrelerinin kimyasal indirgenme ajanlarından daha iyi birer indirgenme ajanı olduğunu keşfetmişlerdir. Biyoyumlu Ag NP'lerini sentezlemişlerdir (134).

Rajakumar ve arkadaşları sivrisinekler her yıl milyonlarca insanın hastalanmasına ve ölümlerine sebebiyet vermektedir. Bu amaçla hastalıklara sebep olan larvaların aktivitelerini kaybetmeleri için *Eclipta prostrata* bitki ekstresini kullanarak sentezlenen Ag NP'lerini kullanılmışlardır(135).

Sathishkumar ve arkadaşları *Curcuma longa* bitki ekstresi ile Ag NP'leri sentezlenmişlerdir. Sentezlenen NP'lerin antibakteriyel etkinlikleri test edilmiştir (136).

Ahamed ve arkadaşları yeşil sentez yaklaşımı ile Ag NP'ler sentezlemişlerdir. Sentez için *Sarımsak* ve *Karanfilek* ekstresi kullanmışlardır. İnsan karaciğer hücreleri üzerinde biyoyumluluk testlerini yapmışlardır. Çalışmalarının sonucunda, insan karaciğer hücreleri ile biyoyumlu olan Ag NP'lerinin elde edildiğini rapor etmişlerdir. Yeşil

sentez yönteminin basit, maliyeti düşük ve çevreye zararsız olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca biyoyumlu Ag NP'lerin sentezi için uygun bir yöntem olduğunu da belirtmişlerdir (137).

Ulug ve arkadaşları *Ficus carica* bitki ekstresini kullanarak Ag NP'lerini sentezlemişlerdir. Biosentez ile sentezlenen NP'leri karakterizasyon teknikleri ile incelemişlerdir. Bitki ekstresi Ag NP'lerin indirgenmesini ve sentezin hızlı bir şekilde gerçekleşmesini sağlamıştır (138).

Awwad ve arkadaşları *Ceratonia siliqua* (keçiboynuzu) yaprak ekstralarını kullanarak Ag NP'ler elde etmişlerdir. 5nm ile 40nm arasında ki boyutlarda Ag NP'ler sentezlenmiştir. Bu Ag NP'lerin antibakteriyel testleri yapılmış ve *Escherichia coli* bakterilerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir. Yeşil sentez yaklaşımı ile sentezlenen NP'lerin hızlı bir şekilde elde edildiğini çalışmalarında bildirmişlerdir (139).

Dubey ve arkadaşları NP'ler sentezlendikleri yönteme göre farklı biyolojik aktivitelere sahip olmaktadırlar. *Rosa rugosa* bitkisinin yaprak ekstresini kullanarak biyolojik sentez ile Ag NP'lerini sentezlemişlerdir. Ortalama partikül boyutu 11nm ile 12nm arasında Ag NP'ler oluşmuş ve çeşitli karakterizasyon teknikleri ile incelenmişlerdir (140).

Valodkar ve arkadaşları *Euphorbia nivullia* bitkisinin köklerinin ekstresini kullanarak toksik olmayan Ag NP sentezlemişlerdir. Yüksek konsantrasyonda bile Ag NP'lerin kararlı bir şekilde oluştuğunu ve sentezlenen Ag NP'lerin tekrar kullanılabilir olduğunu belirtmişlerdir. Sentezlenen Ag NP'lerin gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerinde etkin olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca yeşil sentez yaklaşımı sentezlenen NP'lerin antimikrobiyal etkinliklerinde dolayı biyomedikal alanındaki cihazlarda kullanımını da öngörmüşlerdir (141).

Logeswari ve arkadaşları *Solanum tricobatum*, *Syzygium cumini*, *Centella asiatica* ve *Citrus sinensis* bitkilerinin ekstresini kullanarak Ag NP'ler sentezlemişlerdir. Farklı karakterizasyon teknikleri ile incelemişler ve antibakteriyel testlerini yapmışlardır. Bu dört farklı bitki ile sentezlenen Ag NP'lerin hepsinin patojenik bakterilere karşı etkin olduğunu gözlemlemişlerdir. Ancak *Centella asiatica* ve *Citrus sinensis* bitki ekstraları

kullanılarak sentezlenen Ag NP'lerin diğerk bitki ekstraları ile sentezlenenlere göre biraz daha yüksek aktivite sergilediklerini rapor etmişlerdir (142).

Vanaja ve arkadaşları *Coleus aromaticus* bitkisinin yaprak ekstresini indirgenme ajanı olarak kullanıp Ag NP'ler sentezlenmişlerdir. Bitki kullanımının ucuz, çevre dostu ve güvenilir bir sentez için uygun olduğunu belirtmişlerdir. Kolay ve hızlı sentez amacıyla NP'lerin sentezi için uygun bir yöntemdir. Sentezlenen Ag NP'ler *Bacillus subtilis* ve *Klebsiella planticola* karşı yüksek aktivite sergilemişlerdir (143).

Kaviya ve arkadaşları *Citrus sinensis peel* bitki ekstresini indirgenme ajanı olarak kullanmışlar ve Ag NP'lerini biyogenik sentez ile sentezlemişlerdir. Ag NP'lerin sentezinde sıcaklığın etkisini incelemişlerdir (20⁰C ve 60⁰C). Antibakteriyel etkinliklerine bakılmıştır. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (gram negatif), ve *Staphylococcus aureus* (gram pozitif) bakterilerine karşı yüksek aktivite sergilemişlerdir (144).

Li ve arkadaşları *Magnolia kobus* bitki ekstresi ile Ag NP'lerini biyolojik yöntem ile sentezlemişlerdir. Çevre dostu yöntem ile sentezlenen Ag NP'lerinin *Esherichia coli* bakterisine karşı antibakteriyel etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir (145).

Dwivedi ve arkadaşları *Chenopodium album* bitki ekstresi ile Ag NP'leri biyolojik sentez tekniğı ile sentezlemişlerdir. Bitki ekstresi indirgenme maddesi olarak kullanılmıştır. Karakterizasyon teknikleri ile sentezlenen Ag NP'lerinin analizini yapmışlardır (146).

Kasthuri ve arkadaşları *Henna* (kına) yaprağı ekstresini kullanarak Ag NP'ler sentezlemişlerdir. Sentezlenen NP'lerin, kanser hücrelerine karşı etkilerini araştırmışlardır (147).

Huang ve arkadaşları *Cinnamomum camphora* bitkisinin yapraklarının ekstresini kullanarak Ag NP'ler elde etmişlerdir. Bitki ekstresi indirgeyici madde olarak kullanılmıştır. Bitki kullanımı ile NP'lerin sentezi basit ve sentezlenen NP'lerinde kararlı olduğunu bildirmişlerdir (148).

Marta ve arkadaşları insan derisinde bulunan ve ilaca direnci yüksek bakterilere karşı, etkinliğı oldukça yüksek yeni bir malzemeye ihtiyaç duyulduğunu belirtmişlerdir. Bu

bakterilerin deri de oluşan enfeksiyonlar sonucu vücuda girmesi ve beraberinde menenjit gibi rahatsızlıklara sebep olduğu belirtilmiştir. Ag NP'lerin biyomedikal uygulamalarda kullanımı ve yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olmasından dolayı kullanılmaktadır. Ayrıca diğer antibakteriyel özelliğe sahip malzemeler ile birleştirildiğinde sinerjistik etki sergilemişlerdir. GO yapısında bulunan farklı gruplar ve geniş yüzey alanına sahip olmasından dolayı tercih edilmiştir. Bu amaçla, antibakteriyel etkinliği yüksek yeni bir hibrit nanomalzeme sentezlemişlerdir. Ag NP'leri ile GO'ü birleştirerek AgNP-GO hibrit nanoyapıyı elde etmişlerdir. Bu yeni hibrit nanoyapının kararlı olduğunu ve bakterilere karşı yüksek antibakteriyel etkinlik gösterdiğini rapor etmişlerdir (149).

Gu ve arkadaşları indirgenmiş GO'ü (rGO) Ag NP'lerin yerleştirileceğı platform olarak kullanmışlardır. Geniş yüzey alanına sahip GO tabakaları sayesinde bakteriler ile temas yüzeyi artmıştır. Böylece daha az malzeme ile yüksek antibakteriyel etkinlik elde edilmiştir. Ag-rGO NK'ü sentezlemişler ve antibakteriyel etkinliğin arttığını gözlemlemişlerdir. Antibakteriyel nanomalzemelerin toksisite ve çevre kirliliğı gibi zararlarına karşın, bu sentezlenen Ag-rGO hibrit yapının çevre dostu ve biyoyumlu olduğunu bildirmişlerdir (150).

Huang ve arkadaşları GO üzerine Ag NP'lerini doğrudan yüklemek için NaBH_4 indirgenme ajanını kullanarak, GO-Ag NK'ü sentezlemişlerdir. Gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerinde GO-Ag NK'nin antibakteriyel etkinliğini araştırmışlar ve hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilere karşı etkin olduğunu rapor etmişlerdir (151).

Song ve arkadaşları içme sularını arıtmak amacıyla antibakteriyel etkiye sahip Ag-GO NK'ü kullanmışlardır. Ag ile GO arasındaki sinerjistik etkiden dolayı, antibakteriyel etkinliği yüksek olan Ag-GO NK'ü sulardan bakterilerin giderilmesi uygulamalarında kullanımının uygun olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmaları sonucunda içme suyunun gram negatif ve gram pozitif bakterilerinden dezenfekte edildiğini bildirmişlerdir (152).

Tüm bu literatür çalışmalarına bakıldığında, Ag NP'lerin farklı bitki ekstraktları kullanılarak sentezlendiğine rastlanmıştır. Ancak boyut kontrollü Ag NP'lerin biyogenik sentez tekniğı ile sentezine literatür araştırmaları sonucunda rastlanmamıştır. Ag@GO

NK'nin bitki ekstresi kullanılarak sentezlenmesine literatür araştırması sonucunda rastlanmamıştır.

Bu tez çalışması ile boyut kontrollü, basit, ucuz ve çevre dostu olan biyojenik sentez yaklaşımı ile *M. chamomilla* bitki ekstresi kullanılarak Ag@GO NK'i ve farklı boyutlara sahip Ag NP'ler sentezlenmiştir. Karakterizasyon çalışmaları ve antibakteriyel aktivite testleri yapılmıştır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kimyasallar ve Materyaller

Gümüş nitrat (AgNO_3) %99'luk Sigma Aldrich Firmasından. Bakteri besiyeri (NB) ve Maya Ekstresi Pepton Dekstroz Besiyeri (YEPDB) Merck Firmasından. Gram - Escherichia coli (E. coli) ATCC 11230, Gram + Staphylococcus aureus (S.aureus) ATCC 29213 ve mantar Candida albicans (C. albicans) ATCC 90028 Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji Araştırma Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edildiler. -20°C 'de muhafaza edildiler ve uygulamalardan önce %10 gliserol ile rejenere (canlandırma) edildi. Nano grafen oksit toz halinde 100mg (Graphene Supermarket).*Matricaria Chamomilla* bitkisinin ekstresi kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Karakterizasyon

ZEISS EVO LS10 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) 25 kV çalışma geriliminde kullanılarak görüntüler elde edilmiştir. Konsantre 50 μL Ag NP sulu çözeltisi karbon bant kaplı stub (koçan) üzerine damlatılır ve berrak görüntülerin elde edilmesi için bir gece boyunca kurutulmuştur. Ag NP'lerin element analizi ise SEM cihazına bağlanmış Enerji Dispersif X-ışını spektrometresi kullanılarak yapılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki Ekstresinin Hazırlanması

Matricaria Chamomilla çiçekleri Erciyes Üniversitesi kampüsünden toplanmıştır ve önce musluk suyu ile daha sonra deiyonize su ile yıkanmıştır. Toplanan numuneler güneş ışığında kurutulmuştur. Numuneler 250 mL'lik beher içinde, 100 mL deiyonize su ile karıştırılıp 5 dk kaynatılmıştır. Kaynatma işleminden sonra, oda sıcaklığında 20°C 'ye kadar soğutulduktan sonra, son karışım Whatman No.1 filtre kağıdı ile süzümüştür. Süzüntü $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

3.2.2. Ag Nanopartiküllerin Sentezi

Farklı boyutlarda Ag NP'lerin sentezi için bitki özü farklı hacimlerde kullanılarak sentezlenmiştir. M. chamomilla bitki ekstresinden 0,1 mL, 0,5 mL ve 2 mL kullanılarak 5 mM AgNO₃(final konsantarsayonu) çözeltisi ile ayrı ayrı karıştırılmıştır. Elde edilen karışımlar oda sıcaklığında (20 °C) 45 dk karıştırılır. Karışma süreleri bittikten sonra 10.000 rpm'de 20 dk boyunca santrifüj edilmişirler. Çökelti deiyonize su içinde yeniden dağıtılmış ve santrifüj işlemi tekrarlanmıştır. Bu yıkama işlemi, bağlanmamış bitki ekstresinin fazlasının ayrılması için 3 kez tekrarlanmıştır. Son ürün deiyonize su içerisinde daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere depolanmıştır. Burada Ag NP'lerin oluşumuna Ag⁺ iyonu konsantrasyonu ve reaksiyon süresi etkisi araştırılmıştır.

3.2.3. Ag@GO Nanokompozitin Sentezi

Ag@GO NK'i literatüre (153) göre sentezlenmiştir. GO tarafından Ag NP'lerin yakalanması için farklı konsantrasyonlarda iki aşamalı olarak NaCl çözeltisi eklenerek sentez işlemi gerçekleştirilir. GO (final konsantrasyonu 0,1 mg/mL) karıştırken üzerine önceden sentezlenmiş olan Ag NP çözeltisi 5 mM AgNO₃ (final konsantrasyonu), 2 mL bitki ekstresi ilave edilir. Karışma işlemi devam ederken birinci NaCl çözeltisi (2,4 mL, 0,09 M) damla damla ilave edilir. Ag NP'lerin ön toplanması gerçekleştikten belirli bir süre sonra (10s) ikinci NaCl çözeltisi (5 mL, 0,29 M) damla damla ilave edilir. Karışım 30 dk karışmaya bırakılır. Daha sonra karışım 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edilir. Oluşan Ag NP/GO parçacıkları santrifüj ile ayrılır. Katı Ag@GO parçacıkları 5 mL deiyonize su içerisinde dağıtılıp, santrifüj işlemi tekrarlanır.

3.2.4. Antibakteriyel Testi

Ag@GO NK'nin ve boyut kontrollü Ag NP'lerinin antibakteriyel testi için kullanılan model patojenler, Gram (-) *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 11230, Gram (+) *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) ATCC 29213 ve mantar türünden *Candida albicans* (*C. albicans*) ATCC 90028, -20°C'de muhafaza edildiler ve uygulamalardan önce %10 gliserol ile rejenere edildiler ve antibakteriyel test için kullanıldılar.

Ag NP'lerin boyuta bağılı inhibitör performans testi, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012) in vitro mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak değerlendirildi (154). Bakteriyel hücrelerin konsantrasyonu 1×10^8 CFU/mL ve mantar hücrelerinin konsantrasyonu 1×10^6 CFU/mL (NB ve YEPDB 1ml ayarlanmıştır) ve her bir patojen 24 saat aktivasyon için inkübe edildi (0,5 McFarland standart bulanıklık). Minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) bakteriyel suşların her biri için mg/ml olarak belirlendi. Bütün deneyler iki paralel şekilde kuruldu ve dört kez tekrarlandı.

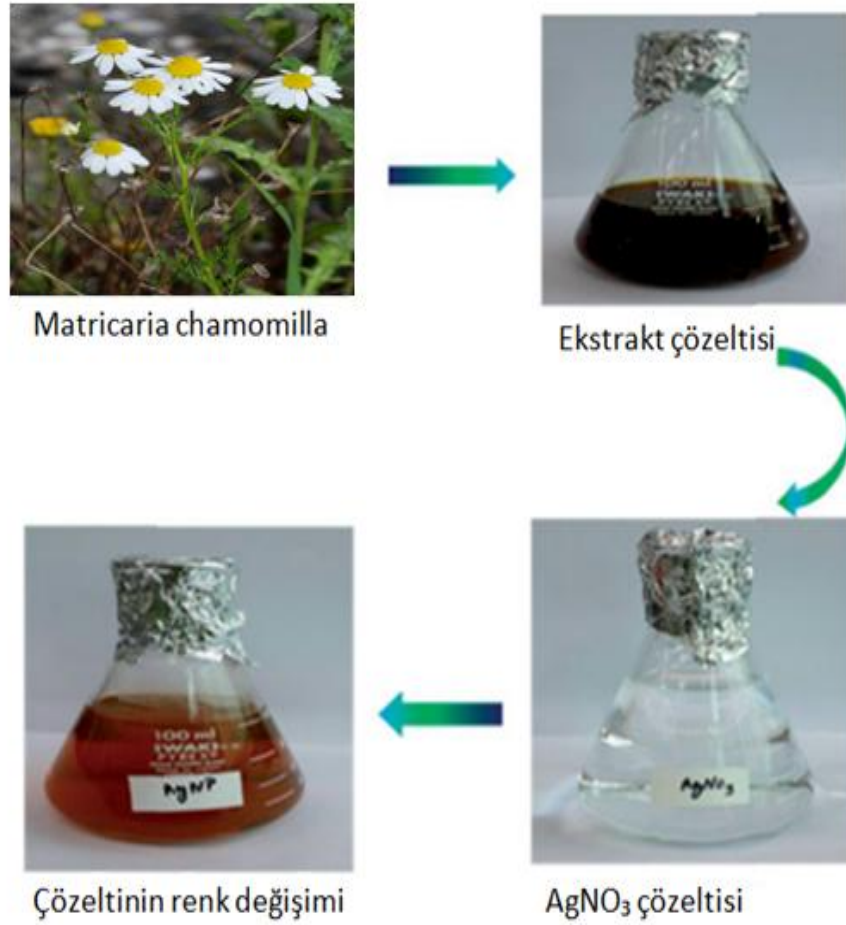
Ag@GO NK numunelerinin minimum inhibitör testi, National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2004) mikrodilüsyon tekniği kullanılarak antibakteriyel etkinliği test edilmiştir (156). Mikroorganizmaların besleyici sıvı ortam içindeki konsantrasyonu her mililitre için 1×10^8 olarak ayarlanmıştır ve mikroorganizmalar 24 saat aktivasyon için inkübe (0,5 McFarland standart bulanıklık) edildi. Minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC), mikroorganizmaların büyümesini önleyen en düşük konsantrasyon mg/mL olarak belirlendi. Deneyler iki paralel kurulumla dört kez tekrarlandı. Üreme gözlemlenen konsantrasyonlarda, mikroorganizmaların ekimi yeni petri kaplarına yapılarak MIC değerinin doğruluğu test edilir.

Disk difüzyon yöntemi ile inhibitör etkisi incelendi. Mikroorganizmalar büyümeleri için bakteri besiyeri (BN) içerisinde 24 saat boyunca 37°C 'de bırakılmıştır. *C. albicans* maya ekstresi pepton dekstroz besiyeri (YEPDB) içerisinde büyütülmüştür. Kültür süspansiyonları 0,5 Mcfarland bulanıklık değeri ile karşılaştırılarak ayarlandı. Test mikroorganizmaları, yüz mikrolitre katı ortam plakaları üzerine yayılmıştır. Filtre kâğıdı diskler (6 mm çapında) içerisine $20 \mu\text{L}$ ekstratlar emdirildi ve 24 saat inkübeye bırakıldı. İnkübasyon ölçümleri, kuluçkalamadan 24 saat sonra inhibisyon bölgelerinin çaplarının ölçümü ile gerçekleştirildi. Antibiyotik diskler ile pozitif kontroller yapıldı. Bunun için eritromisin ($15 \mu\text{g/disk}$) ve nistatin ($30 \mu\text{g/disk}$) kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Matricaria Chamomilla Bitki Ekstresi Kullanılarak Boyut Kontrollü Gümüş Nanopartiküllerin Sentez Ve Karakterizasyonu

Genel olarak, NP'lerin şekil ve boyutları çeşitli indirgeyici kimyasallar kullanılarak kontrol edilebilir. Bu çalışmada Ag NPLerin sentezi için indirgeyici ajan olarak M. chamomilla bitki ekstresi kullanılmıştır.

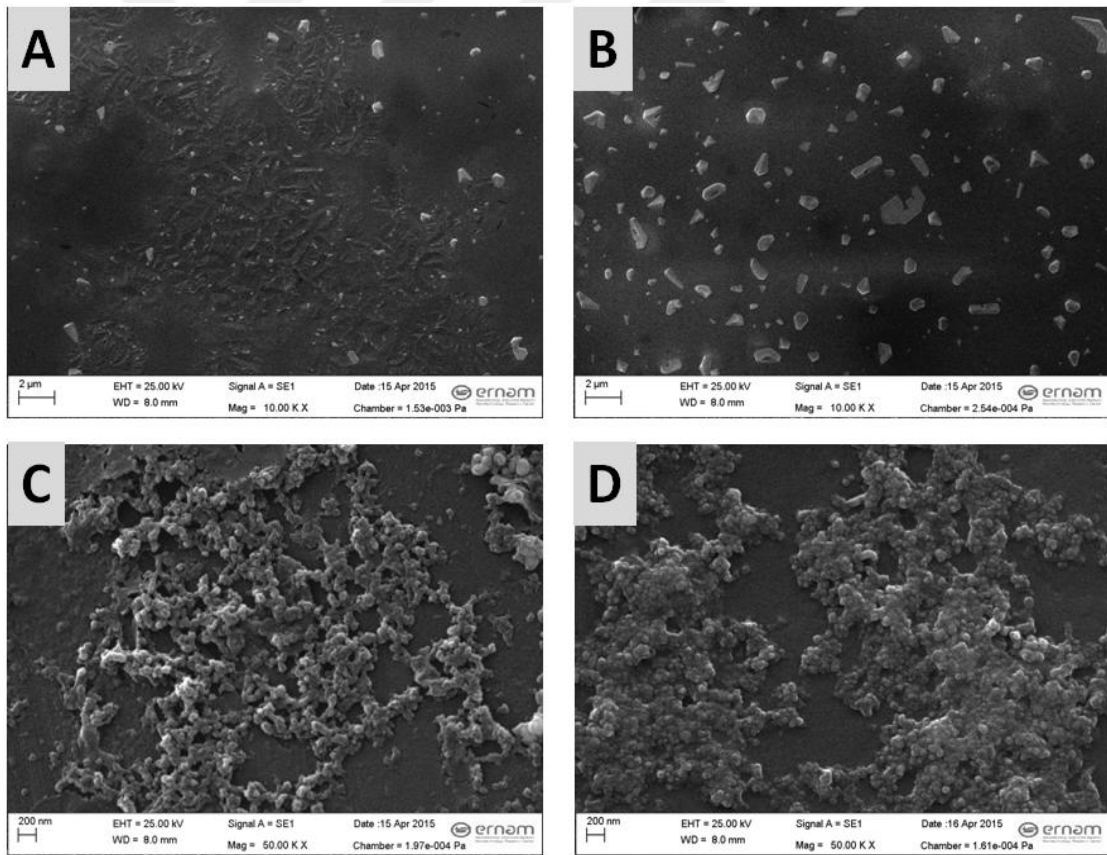


Şekil 4.1. Matricaria chamomilla bitki ekstresi kullanarak Ag NP'lerin sentezinin şematik gösterimi (156).

4.1.1. AgNO₃ Konsantrasyonunun Etkisi

Ag NP'lerin oluşumunda AgNO₃ konsantrasyonunun etkisi incelendi. Ag⁺ iyonu konsantrasyonu (AgNO₃), Ag NP sentezinde çekirdeklenmenin başlayıp büyüme sürecinin devamı için önemli bir kilit noktadır. Ag⁺ iyonu konsantrasyonu sırasıyla, 10 µM, 50 µM, 250 µM, 1 mM, 5 mM ve 50 mM (final konsantrasyonları) ile ayrı ayrı her birine 2 mL bitki ekstresi ilave edilerek 60 dk süre ile oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı.

10 µM, 50 µM, 250 µM ve 1 mM Ag⁺ konsantrasyonlarının kullanıldığı deneylerde Ag NP'lerin oluşumu gözlenmemiştir. Deney sonuçlarına göre 5 mM Ag⁺ konsantrasyonu Ag NP'lerin oluşumu için uygun eşik değeri olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. Çeşitli Ag⁺ konsantrasyonu ile Ag NP'lerin oluşumunun SEM görüntüsü
 A) 10µM B) 250µM C) 5mM ve D) 50mM AgNO₃ çözeltisi

Şekil 4.2.A ve 4.2.B'de görüldüğü gibi, Ag NP'lerin oluşumu gerçekleşmemiştir. Şekil 4.2.C ve 4.2.D'deki SEM görüntülerinde oluşmuş Ag NP'ler gözlenmektedir.

5mM ve daha yukarı değerdeki Ag^+ iyon konsantrasyonunda (50mM), ~40nm ve ~45nm boyutlara sahip Ag NP'ler düzgün bir şekilde oluşmuştur. Yüksek Ag^+ konsantrasyonunda, topaklanma riskinin yüksek olduğu Ag NP'lerin oluşumuna neden olmaktadır.

LaMer teorisine göre Ag NP oluşumunda Ag^+ iyonu konsantrasyonun rolü tartışıldığında, çekirdeklenme, büyüme ve tamamlanıp sonlanma olmak üzere bir reaksiyon genel olarak bu üç adımı içerir.

Düzgün ve homojen Ag NP'ler üretebilmek için, çekirdeklenme aşamasının homojen olması gereklidir. Bununla birlikte Ag^+ iyonu konsantrasyonu Ag NP'lerin sentezi için küresel çekirdeğin oluşabilmesi için Gibbs serbest enerjisi bariyerini aşabilecek uygun değere ulaşmalıdır. Çekirdeklenme, büyüme ve oluşum aşamalarının tamamının gerçekleşip Ag NP'lerin sentezlenmesi için temel etkileyici güç Ag^+ konsantrasyonu olduğu sonucuna varılmıştır.

4.1.2. Bitki Ekstresi Hacminin Etkisi

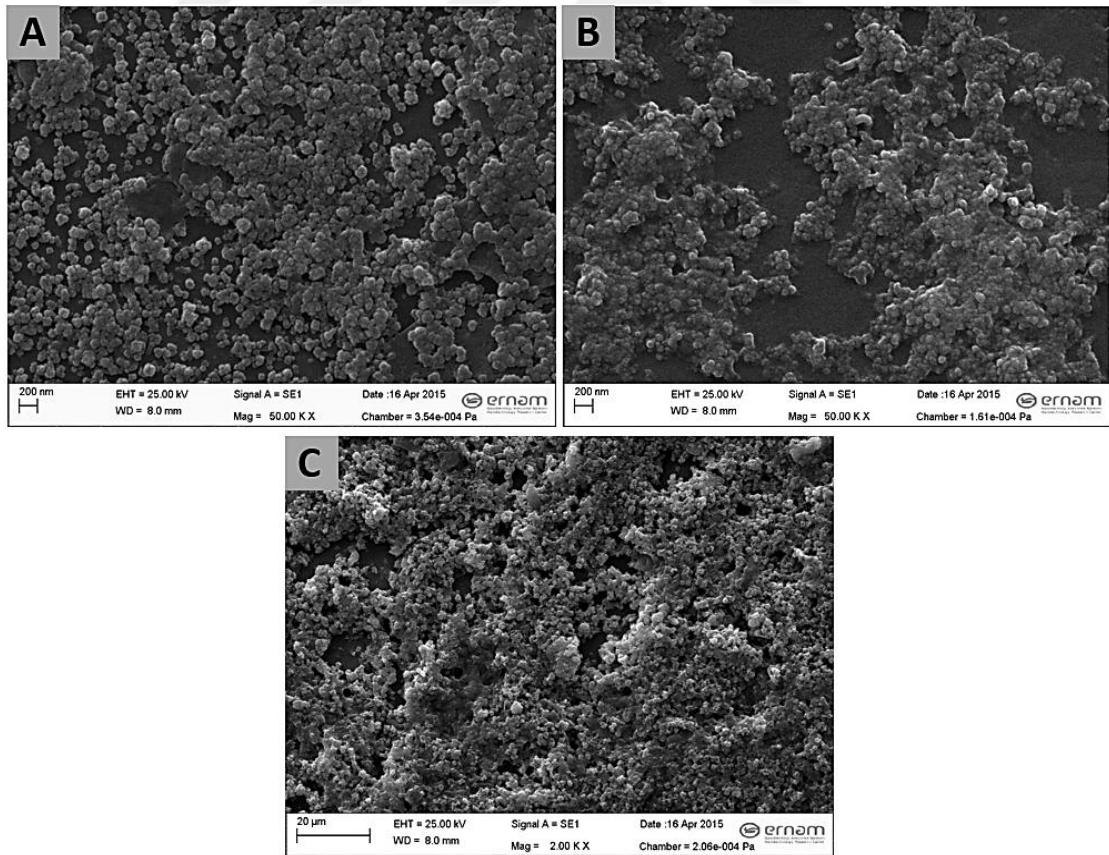
Farklı miktarlarda bitki ekstresi kullanılarak Ag NP boyutlarındaki değişiklikler gözlemlendi. 0,1 mL bitki ekstresi (Ag NP-1), 0,5 mL bitki ekstresi (Ag NP-2) ve 2 mL bitki ekstresi (Ag NP-3) olarak değerlendirildi. Ag NP'lerin sentezinde kullanılan öncül gümüş konsantrasyonu (5 mM $AgNO_3$) sabit oldu. 0,1, 0,5 ve 2 mL bitki ekstrelerinin her birine 5 mM $AgNO_3$ (final konsantrasyonu) ilave edilerek, her bir karışım 45 dk boyunca oda sıcaklığında (20 °C) karışmıştır. Ekstrelerin üzerine $AgNO_3$ 'ün sulu çözeltisi ilave edildikten 15 dk sonra karışımlarda renk değişimi ortaya çıkmıştır. Bu renk değişimi Ag NP'lerin oluşmaya başladığının göstergesidir.

Ag NP'lerin Taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 4.3'de gösterilmiştir. SEM görüntüleri göstermektedir ki, farklı bitki ekstresi hacimlerine sahip Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP- 3 küresel şekillere sahipler ve farklı boyutlarda oluştukları gözlenmiştir. Sırasıyla boyutları, 70 ± 5 (Şekil 4.3.A), 52 ± 5 (Şekil 4.3.B), 37 ± 4 nm (Şekil 4.3.C). Burada kullanılan bitki ekstresi konsantrasyonu arttırıldıkça küçük boyutlu Ag NP'lerin sentezi sağlanırken, daha düşük bitki ekstresi konsantrasyonu ile büyük boyuta sahip Ag NP'lerin elde edilebileceği sonucuna varılabilir.

Çünkü Ag NP'lerin yüzeyine bağlanan bitki özütü molekülleri miktarı arttıkça, oluşan NP'lerin boyutu küçülmektedir. Bu sayede kullanılan bitki özütü konsantrasyonu değiştirilerek farklı boyutlara sahip NP'ler sentezlenebilmektedir.

UV-Vis spektrumu Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3'ün karakteristik absorpsiyon tepelikleri sırasıyla, ~445nm, ~439nm ve ~430nm'dir (Şekil 4.4.A). Altın, gümüş ve bakır olmak üzere plasmonik NP'lerin yüzey plazmon rezonans özellikleri bu NP'lerin boyutuna ve şekline doğrudan bağlıdır (157, 158).

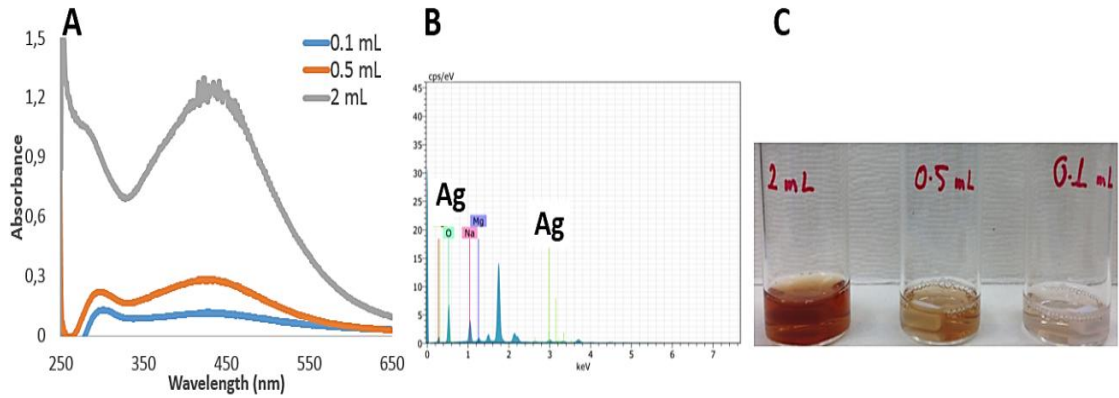
Bu nedenle Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3'ün emme noktaları boyutlarındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Ag NP'lerin boyutundaki azalma sebebiyle maviye kayma (sola kayma), artan boyut sebebiyle de UV-Vis spektrumlarında kırmızıya kayma (sağa kayma) gözlemlenmiştir.



Şekil 4.3. Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3'ün farklı hacimlerde bitki ekstesi kullanımı ile oluşumunun SEM görüntüsü, A) 0,1mL B) 0,5mL ve C) 2mL M. chamomilla bitki ekstresi

Ag NP-1 ve Ag NP-2'nin UV-Vis spektrumlarının Ag NP-3 ile karşılaştırıldığında oldukça geniş olduğu görünür. Düşük konsantrasyonda bitki ekstresi kullanımı ve bazı Ag NP'lerin topaklaşarak büyümesi sonucu Ag NP'lerin üretim verimliliğinde düşüşe sebep olduğunu (düşük absorbans yoğunluğu verir) varsayabiliriz. Ag atomunun varlığı EDX analizi ile çizgi tarama modunda Şekil 4.4.B'de gösterilmektedir. Şekil 4.4.C'de Ag NP-1, Ag NP-2, Ag NP-3'ün sulu çözeltilerinin renkli fotoğrafı görülmektedir.

Ag NP'lerin oluşumunu belirtmek için, Ag NP'lerin sulu çözeltilerinin renk değişimi açık sarıdan koyu kahverengine doğru partikül oluşumu gözlenmektedir. Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3 karşılaştırıldığında Ag NP-3'ün daha yoğun kahverengi bir renge sahip olduğu belirlenmiştir. Bunun sebebi, daha yüksek bitki ekstraktı konsantrasyonu ile Ag NP üretim verimi artmakta ve Ag NP-3'ün daha koyu renkte görünmesine sebep olmaktadır. Ag NP'lerin UV-Vis spektrumları ve fotoğrafları birbiriyle ve bu açıklamalar ile tutarlıdır.

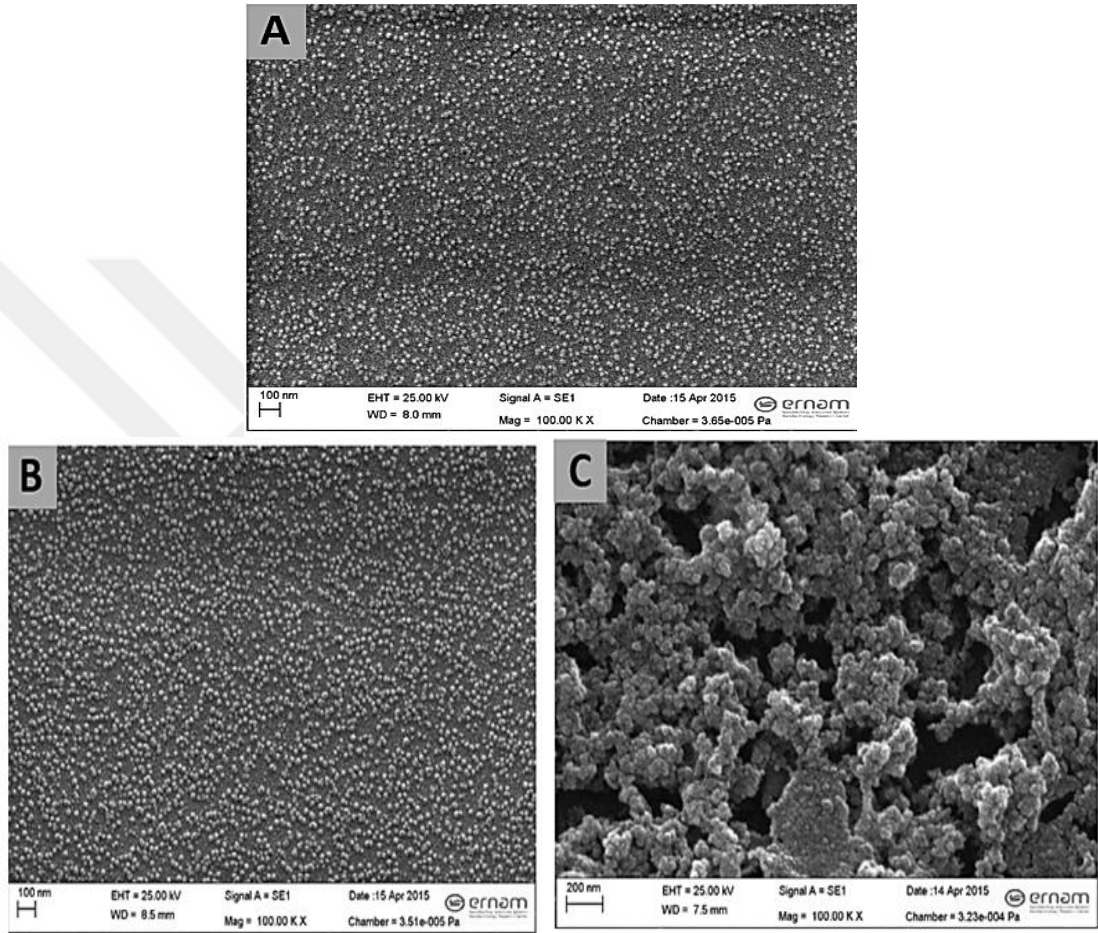


Şekil 4.4. A) UV-Vis spektrumları, Ag NP-1 (0,1 mL), Ag NP-2 (0,5 mL) ve Ag NP-3 (2 mL) B) Ag NP'lerdeki Ag atomlarının varlığını gösteren EDX analizi ve C) Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3'ün sulu çözeltilerinin fotoğrafı

4.1.3. Karışma Süresinin Etkisi

Ag NP'lerin oluşumunda reaksiyon süresinin etkisi incelenmiştir. Reaksiyon zamanının bir fonksiyonu olarak, 2 mL bitki ekstresi ve 5 mM AgNO₃ (final konsantrasyonu) çözeltisi karıştırılmış ve 5, 10 ve 60 dk oda sıcaklığında karışmaya bırakılmıştır.

Daha sonra 5, 10 ve 60 dk karıştırma işlemlerinin her birinden ayrı ayrı 2 mL solüsyonlar alınıp, Ag NP'lerin çekirdeklenmelerini önlemek yada büyüme reaksiyonunu durdurmak için santrifüj işlemi uygulanmıştır.



Şekil 4.5. Farklı karıştırma sürelerinde Ag NP'lerin oluşumunun SEM görüntüsü
A) 5 dk B) 10 dk ve C) 60 dk karışma süresi

5, 10 ve 60 dk karışma ile oluşan Ag NP'lerin SEM görüntüleri Şekil 4.5'te verilmiştir. Küresel şekle sahip Ag NP'ler bütün karıştırma sürelerinde oluşmuş olup farklı çaplara sahiptirler. Şekil 4.5.A (~18nm), Şekil 4.5.B (~30nm) ve Şekil 4.5.C (~30nm) boyutuna sahip Ag NP'lerin oluştuğunu göstermektedir. SEM görüntüleri bitki ekstresinin eklenmesinden sonra, anlık çekirdeklenme ve büyüme aşamalarını göstermektedir. Uzun bir reaksiyon süresinde Ag NP'lerin daha fazla büyümesi sağlanabilir fakat topaklanma riskini de tetiklemektedir.

4.2. Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3'ün Antibakteriyel Aktivite Testi

Ag NP'lerin antibakteriyel etkinliklerinden çeşitli mikroorganizmalarla mücadelede aktif olarak yararlanılmıştır. Ancak Ag NP'lerin toksik etkiye sahip olduğu düşüncesi ile biyomedikal ve biyoanalitik uygulamalarda kullanımı sınırlanmaktadır (159).

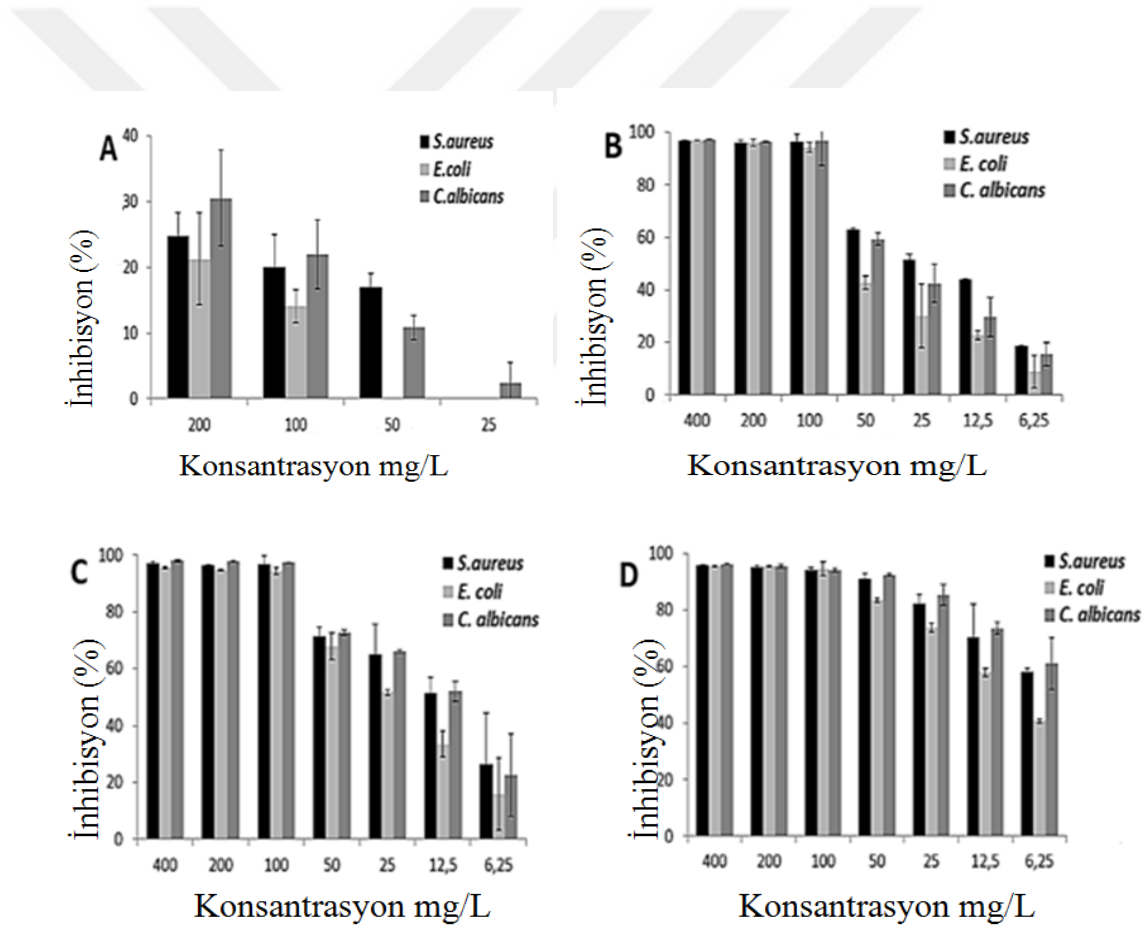
Antibakteriyel aktiviteyi artırmak ve Ag NP'leri çevre dostu hale getirmek için, farklı boyutlarda, doğal malzemeler kullanılarak sentezlenmiştir. Son zamanlarda bazı araştırmacılar, farklı yöntemler kullanarak Ag NP'lerin antibakteriyel etkinlikleri üzerine çalışmışlardır. Örneğin, Mukherji ve ark. boyut aralığı 5-100 nm (5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 63, 85 ve 100 nm) büyüklüğe sahip Ag NP'lerin antibakteriyel etkinliğe sahip olduklarını rapor etmişlerdir. Ag NP'lerin sentez protokolünde indirgenme maddesi olarak NaBH_4 kullanılmış ve iyi verim sağlamasına rağmen toksisitesinden dolayı çevreye zararlı ve tehlikeli Ag NP'lerin sentezi gerçekleştirilmiştir (160).

Bu antibakteriyel çalışmada, Ag NP-1 ($70 \pm 5 \text{ nm}$), Ag NP-2 ($52 \pm 5 \text{ nm}$), Ag NP-3 ($37 \pm 4 \text{ nm}$) kullanılmıştır ve Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Ag NP'lerin boyutu bitki ekstresi konsantrasyonu değiştirilerek ayarlandı. *M. chamomilla* bitki ekstresi, tıbbi uygulamalarda kullanılan, antibakteriyel etkinliğe sahip olup patojenik suşlara karşı hafif inhibitör aktivite göstermektedir. *M. chamomilla* bitki ekstresi ile sentezlenen, üç farklı boyutta ki Ag NP'ler *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* patojenlerine karşı çok yüksek antibakteriyel aktivite göstermişlerdir (Şekil 4.6).

Şekil 4.6.A'da görüldüğü üzere, 200 mg/L bitki ekstresi sadece % 25, ~% 21 ve ~% 30, sırasıyla *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* hücrelerinin büyümesini inhibe ettiğini göstermektedir. 100 mg/L bitki ekstresi üç patojeni ~% 20, ~% 14 ve ~% 22, sırasıyla *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* hücrelerinin büyümesini 200 mg/mL bitki ekstresine göre daha az inhibe ettiğini göstermektedir. Ayrıca, 50 mg/L bitki ekstresi *E. coli* patojenine karşı inhibe edici etki göstermediği, *S. aureus* patojenine ise ~% 10 oranında inhibe ettiği, *C. albicans* patojenine karşı ~% 17 inhibe etkisi göstermiştir. Son olarak, 25 mg/L bitki ekstresi sadece *C. albicans* patojeninin ~% 2'ni inhibe ettiğini göstermiştir.

Bitki ekstresinin aksine, 400, 200 ve 100 mg/L Ag NP-1, Ag NP-2, Ag NP-3'ün neredeyse her patojenin büyümesine karşı tam inhibisyon göstermişlerdir.

50 mg/L Ag NP-1, ~% 63, ~% 42 ve ~% 59, sırasıyla *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* hücrelerinin büyüme yoğunluğunu azaltmış ve Ag NP-2 ise ~% 71, ~% 67 ve ~% 72, sırasıyla *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* hücrelerinin büyüme yoğunluklarını inhibe etmiştir. 50 mg/L Ag NP-3 ise ~% 90, ~% 83 ve ~% 85, sırasıyla *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* hücrelerinin önemli oranda hücrelerin yoğunluklarının azalmasında etkin olmuştur. 25 ve 12,5 mg/L Ag NP-3, aynı konsantrasyondaki Ag NP-1 ve Ag NP-2'ye göre çok daha etkili bir şekilde patojenik hücrelerin çoğalmasını inhibe etmiştir. Hatta 6,25 mg/L Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3 tüm patojenlerin büyümelerine karşı farklı yüzdelerde engellemeler gösterdi.



Şekil 4.6. Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3, sırasıyla 0,1mL, 0,2mL ve 2mL ekstre ve hepsi 45 dk oda sıcaklığında karışma sonucu oluşmuştur, *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* patojenlerine karşı inhibe edici aktiviteleri A) *M. chamomilla* bitki ekstresi B) Ag NP-1 C) Ag NP-2 ve D) Ag NP-3

Tablo 4.1. Minimum konsantrasyondeğerine göre Ag NP-1, Ag NP-2 ve Ag NP-3'ün inhibisyon değerlerinin karşılaştırılması

6,25 mg/L konsantrasyon	Ag NP-1 (70±5nm)	Ag NP-2 (52±5nm)	Ag NP-3 (37±4nm)
S. aureus	~% 18	~% 25	~% 58
E. coli	~% 7	~% 17	~% 39
C. albians	~% 14	~% 21	~% 62

Bütün sonuçlar Tablo 4.1'e göre değerlendirildiğinde, Ag NP-3'ün Ag NP-1 ve Ag NP-2'ye göre çok daha iyi inhibitör özelliğinin olduğu ve bunun sebebinin ise daha küçük boyuta sahip ve topaklanmanın en az olmasıdır. Daha küçük boyuta sahip Ag NP-3 yüksek yüzey alanına sahip olmasından dolayı, patojenik hücreler ile reaksiyona giren aktif atom sayısının hacimsel oranı fazladır. Böylece, aktif atom sayısının artması Ag NP-3'ün inhibe edici etkisini geliştirmesine katkıda bulunur. Genel olarak, Ag NP'lerin topaklanma derecesi antibakteriyel etkinliği büyük oranda etkilemektedir.

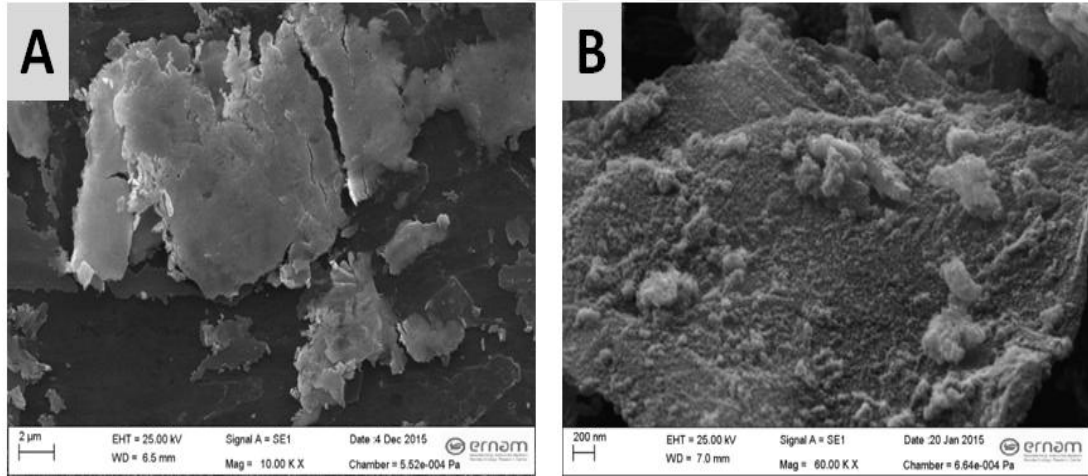
Ag NP'ler topaklandığı zaman, hücreler ile temas eden aktif yüzey alanı azalır ve Ag NP'lerin antibakteriyel aktiviteleri önemli ölçüde zayıflar. Bu durumda, Ag NP-3, Ag NP-1 ve Ag NP-2 ile karşılaştırıldığında oldukça az topaklanma göstermiştir. Bu sebeple Ag NP-3'ün aktif yüzey alanı geniş çaptadır. Bunun sonucunda da daha iyi antibakteriyel aktivite sergilemiştir.

Bu nedenlere ek olarak, M. chamomilla bitki ekstresi hafif etkiye sahip antibakteriyel ajan etkisi göstermiş ve bitki ekstresi moleküllerinin Ag NP'lerin yüzeyindeki mevcudiyetleri arttıkça, yukarıda sözü edilen antibakteriyel etkinliğin artmasına katkıda bulunmuştur. Topaklanmanın en az olduğu ve boyutu küçük olan Ag NP-3'ün yüzeyine bağlanmış bitki ekstresi moleküllerinin sayısının çokluğu, antibakteriyel etkinliğin daha yüksek olmasını sağlamıştır. M. chamomilla bitki ekstresi kullanımı ile sentezlenen Ag NP'ler (Ag NP-3) büyük ölçüde antibakteriyel özellik sergilemişlerdir.

4.3. Matricaria Chamomilla Bitki Ekstresi Kullanılarak Ag@GO Nanokompozitinin Sentez Ve Karakterizasyonu

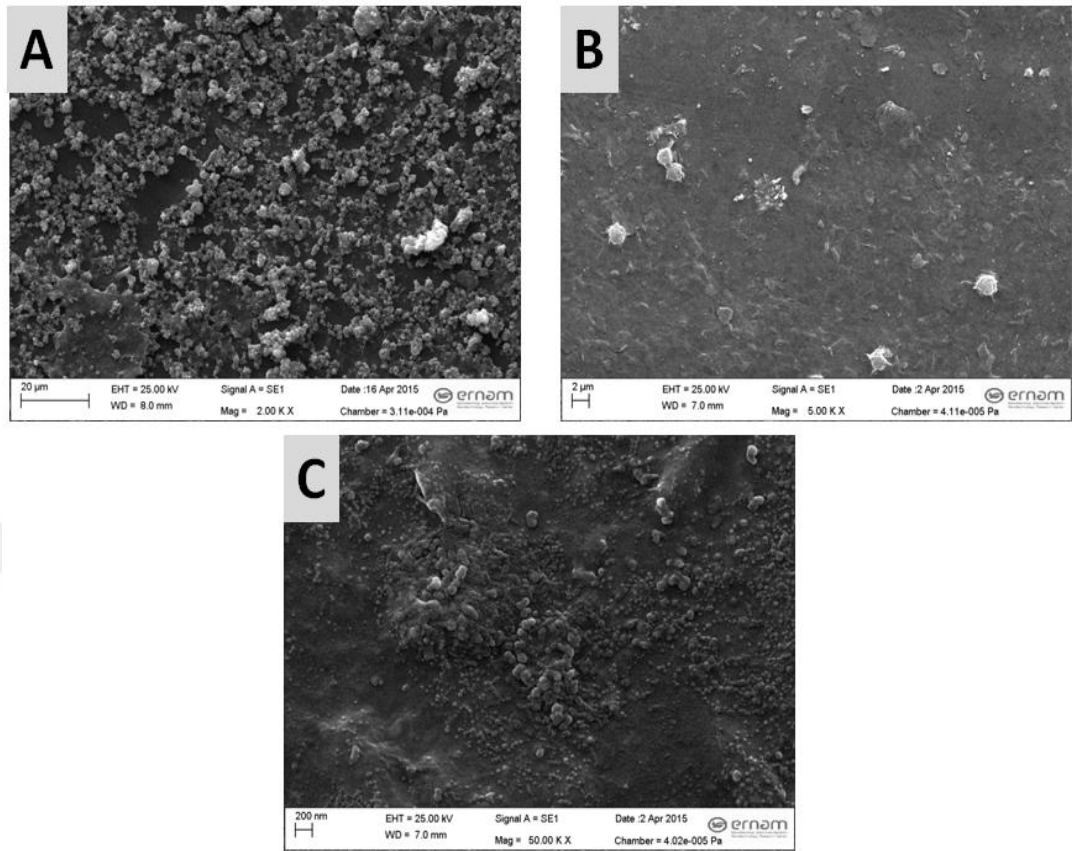
Ag@GO NK'i sentezlemek amacıyla M. chamomilla bitki ekstresi kullanılmıştır. M. chamomilla bitki ekstresi ile sentezlenen Ag NP'ler, GO tabakası üzerinde tutunmaları sağlanarak Ag@GO NK sentezi sağlanmıştır. Tıbbi uygulamalarda sınırlı kullanıma sahip birçok NK'in sentezi için de örnek bir çalışma olmuştur.

Şekil 4.7.A'da sadece GO'nin SEM görüntüsü ve Şekil 4.7.B'de ise 0,1 mg/mL GO (final konsantrasyonu) üzerine 0,5 mL M. chamomilla bitki ekstresi ilave edildi ve 30 dk karışmaya bırakıldı. Daha sonra 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edildikten sonra, elde edilen katı kısmın SEM fotoğrafı görülmektedir.



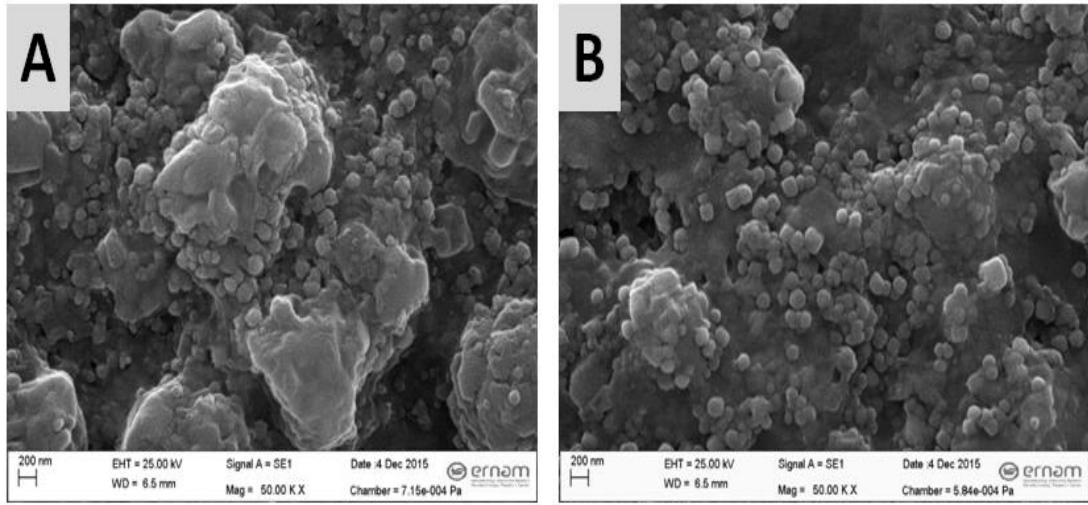
Şekil 4.7. A) GO ve B) GO-M. chamomilla bitki ekstresinin SEM görüntüsü

Şekil 4.8.A'da 5 mM AgNO₃ (final konsantrasyonu) çözeltisi ile 2 mL M. chamomilla bitki ekstresinin 60 dk karışması sonucu oluşan Ag NP'lerinin SEM fotoğrafı görülmektedir. Şekil 4.8.B'de 0,5 mg/mL GO (final konsantrasyonu) üzerine 1mL M. chamomilla bitki ekstresi eklenip 1 saat karışmaya bırakıldı. Daha sonra karışım 12.000 rpm'de 10 dk santrifüj edilip katı kısım ayrıldı. 5 mM 5 mL AgNO₃ çözeltisi katı kısmın üzerine eklenip 1 saat karışmaya bırakıldı. Karışma bittikten sonra 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve katı kısmın SEM görüntüsü alındı.



Şekil 4.8. A) Ag NP'leri B) Ag-GO-M.chamomilla bitki ekstresi (5mM) C) Ag-GO-M.chamomilla bitki ekstresi (20mM) SEM görüntüleri

Şekil 4.8.C'de ise Şekil 4.8.B'deki işlemlerin aynısı uygulanıp, 5 mM 5 mL AgNO₃ çözeltisi yerine 20 mM 5 mL AgNO₃ çözeltisi kullanıldı. Şekil 4.8.B ve Şekil 4.8.C'deki sentez yönteminde amaç, GO üzerinde bitki ekstresinin Ag NP'lerin tutunabileceği noktaları oluşturmaya idi. Böylece bitki ekstresinin bulunduğu bu noktalarda Ag NP'ler biyogenik sentez ile çekirdeklenip büyüyeceklerdi. SEM görüntülerine bakıldığında ise 5mM AgNO₃ çözeltisi kullanıldığında oluşan Ag NP'lerin sayısının yok denecek kadar az olduğu görülmektedir. 20mM AgNO₃ çözeltisi kullanıldığında ise Ag NP'lerin boyut dağılımının çok düzensiz ve topaklanmanında çok fazla olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak GO üzerinde doğrudan Ag NP'lerin büyütülüp, Ag@GO NK'in sentezi için bu sentez şeklinin uygun olmadığı belirlenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda Ag@GO nanokompozitinin biyogenik sentezi için, Li ve arkadaşlarının (153) yaptığı çalışmaya göre Ag@GO NK'i sentezlenmiştir.



Şekil 4.9. A) 1mL Ag NP-GO-NaCl (135nm) ve B) 5mL Ag NP-GO-NaCl (135nm)

Şekil 4.9'da GO tarafından Ag NP'lerin yakalanması için farklı konsantrasyonlarda iki aşamalı olarak NaCl çözeltisi eklenerek sentez gerçekleştirilmiştir. GO (final konsantrasyonu 0,1 mg/mL) karıştırken üzerine önceden sentezlenmiş olan Ag NP çözeltisi (5 mM AgNO₃(final konsantrasyonu), 2 mL bitki ekstresi) ilave edildi. Karışma işlemi devam ederken birinci NaCl çözeltisi (2,4 mL, 0,09 M) damla damla ilave edildi. Ag NP'lerin ön toplanması gerçekleştikten belirli bir süre sonra (10s) ikinci NaCl çözeltisi (5 mL, 0,29 M) damla damla ilave edilir. Karışım 30dk karışmaya bırakılır. Daha sonra karışım 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edilir. Oluşan Ag NP/GO parçacıkları sıvı kısımdan santrifüj ile ayrılır. Katı Ag@GO parçacıkları 5 mL deiyonize su içerisinde dağıtılıp, santrifüj işlemi tekrarlanır. Böylece GO tabaka tarafından yakalanmayan Ag NP'ler ve NaCl tuz çözeltisi ortamdan uzaklaştırılır. Sonuçta kararlı bir Ag@GO NK'i elde edilmiştir.

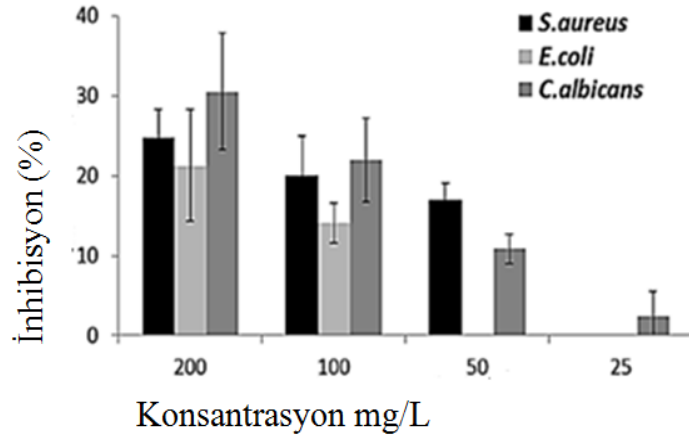
Önceden sentezlenmiş Ag NP'ler 5 mL deiyonize su içerisinde dağıtılır. Bu stok çözelti deneylerde kullanılır. Şekil 4.9.A'da 1mL stok Ag NP çözeltisi kullanılarak NK sentezi gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.9.B'de ise 5 mL stok Ag NP çözeltisi kullanılarak Ag@GO NK'i başarılı bir şekilde sentezlenmiştir. Şekil 4.9'da sentezlenen Ag@GO NK'lerin SEM fotoğrafında görüldüğü üzere Ag NP'lerin topaklanmadan dağılıp, NK yapının oluştuğu belirlenmiştir.

Bu sentez yöntemi ile herhangi kimyasal bir bağlayıcı gerekmeden GO üzerine Ag NP'lerin tutunması sağlanmıştır. Kullanılan NaCl tuz çözeltisi ortamın iyonik şiddetini

değiştirmiş ve fonksiyonel gruplara sahip (oksijen yönünden zengin) olan GO'in ortamdaki Ag NP'lerine farklı etkileşimler ile tutunmasını sağlamıştır. Topaklanmanın önüne geçilmiştir. Suda kolayca dağılabilen ve uygulamalarda kullanımını oldukça kolay olan NK'in sentezi gerçekleştirilmiştir. Bitki ekstresi kullanılarak sentezlenen Ag NP'lerin, GO yapısına dâhil olması ile aralarında sinerjistik etki sağlanmıştır.

4.4. Ag@GO Nanokompozitinin Antibakteriyel Aktivite Testi

Şekil 4.10'da görüldüğü üzere, 200 mg/L M. chamomilla bitki ekstresi *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* hücrelerinin büyümesini sırasıyla, % 25, ~% 21 ve ~% 30 inhibe ettiğini göstermektedir. 100 mg/L M. chamomilla bitki ekstresi üç patojeni sırasıyla ~% 20, ~% 14 ve ~% 22 oranları ile 200 mg/L bitki ekstresine göre daha az inhibe ettiğini göstermektedir. 50 mg/L bitki ekstresi *E. coli* patojenine karşı inhibe edici etki göstermez iken, *S. aureus* patojenini ise ~% 10 oranında inhibe ettiği, *C. albicans* patojenine karşı ~% 17 inhibe etkisi göstermiştir. Ek olarak, 25 mg/L bitki ekstresi sadece *C. albicans* patojenini ~% 2 gibi çok düşük bir oranla inhibe ettiğini göstermiştir.

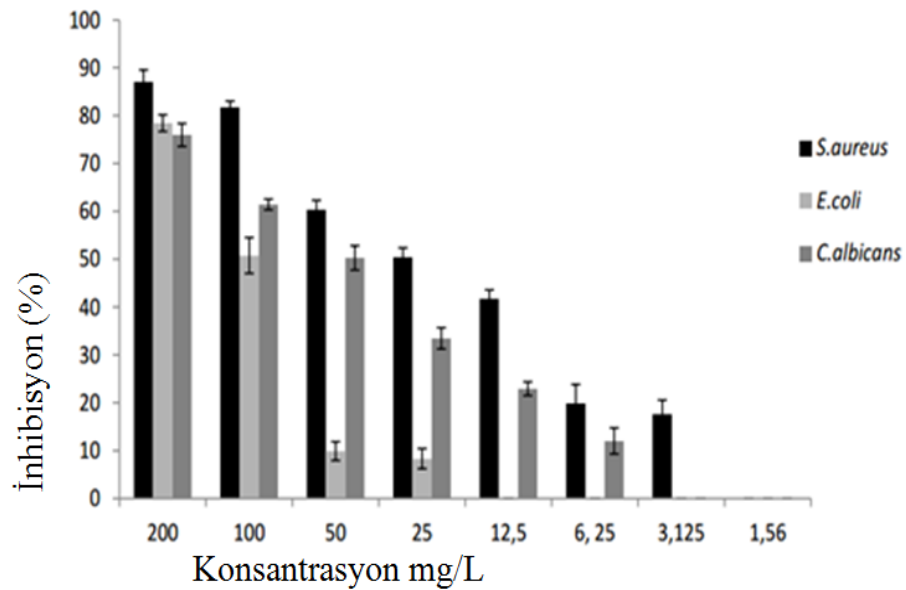


Şekil 4.10. Matricaria chamomilla bitki ekstresi

Matricaria chamomilla ve GO karışımının mikroorganizmalara karşı inhibe edici etkileri test edilmiştir. 0,1 mg/mL GO (final konsantrasyonu) üzerine 0,5 mL M. chamomilla bitki ekstresi ilave edildi ve 30 dk karışmaya bırakıldı. Daha sonra 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edildikten sonra elde edilen M. chamomilla-GO ikili yapının antibakteriyel test

sonuçları Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Şekil 4.11'de görüldüğü üzere 200 mg/L çözelti *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* mikroorganizmalarına sırasıyla ~% 87, ~% 78, ~% 75 inhibe etmiştir. 100 mg/L çözelti ~% 82, ~% 51, ~% 62 sırasıyla *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* mikroorganizmalarının büyümesini inhibe ettiğini göstermektedir. 50 mg/L çözelti kullanıldığında ~% 60, ~% 9, ~% 51 sırasıyla çözelti *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* mikroorganizmalarının büyümesini inhibe etmiştir. 25 mg/L'de *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* sırasıyla, ~% 51, ~% 8, ~% 33 büyümelerini engellemiştir. 12,5 mg/L'de *S. aureus* ve *C. albicans* sırasıyla , ~% 42, ~% 22 büyümelerini engeller iken *E. coli* hücrelerinin büyümelerine karşı engelleyici etki gözlemlenmemiştir. 6,25 mg/L çözelti için *S. aureus* ve *C. albicans* sırasıyla , ~% 17, ~% 11 büyümelerini engeller iken *E. coli* hücrelerinin büyümelerine karşı engelleyici etkisi olmamıştır.

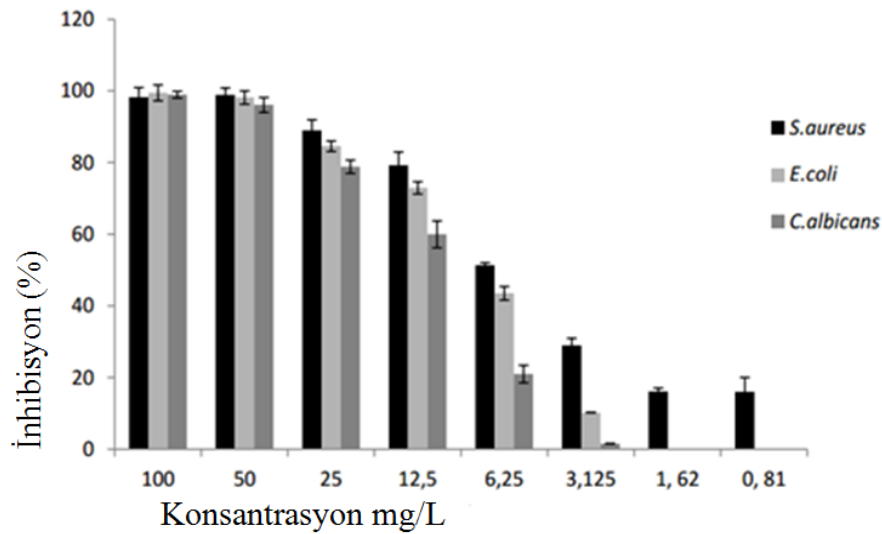
Son olarak, 3,125 mg/L gibi çok düşük konsantrasyondaki çözelti *S. aureus* mikroorganizmalarının büyümesini ~% 16 oranında engellemiştir. Sadece bitki ekstresini gösterdiği inhibisyona karşı, bitki-GO ikilisinin mikroorganizmaların büyümesini daha iyi engellediği sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.11. Matricaria chamomilla bitki ekstresi-GO ikilisi

Ag@GO NK'nin antibakteriyel aktivitesi test edilmiştir. Şekil 4.12'ye göre 100 mg/L çözelti *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* mikroorganizmalarını sırasıyla ~% 97, ~% 99, ~% 98 inhibe etmiştir. 50 mg/L çözelti *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* mikroorganizmalarını sırasıyla ~% 98, ~% 97, ~% 96 oranlarında büyümelerini engellemiştir. 25 mg/L çözelti ~% 90, ~% 87, ~% 80 sırasıyla *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* mikroorganizmalarını inhibe etmiştir. 12,5 mg/L çözelti ~% 80, ~% 76, ~% 59 sırasıyla *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* mikroorganizmalarının büyümelerini durdur-muştur. 6,25 mg/L çözelti *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* mikroorganizmalarına sırasıyla ~% 50, ~% 43, ~% 17 inhibe etmiştir. 3,123 mg/L çözelti *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* mikroorganizmalarına sırasıyla ~% 27, ~% 10, ~% 1 inhibe olmalarını sağlamıştır.

1,62 mg/L ve 0,81 mg/L gibi çok düşük konsantrasyondaki çözeltiler sadece *S. aureus* mikroorganizmasına karşı her ikisi de ~% 17 oranında inhibe edici etkinlik sergilemişlerdir.



Şekil 4.12. Ag@GO Nanokompoziti

Yapılan üç antibakteriyel testin sonuçlarına göre, sadece *M. chamomilla* bitki ekstresi düşük oranlarda mikroorganizmaları inhibe ettiği sonucuna varılmıştır. Oysa ki GO ile bitki ekstresi ikili karışımının antibakteriyel test sonucunda, mikroorganizmalara karşı gösterdiği engellemenin % oranlarının arttığı gözlemlenmiştir. Ag@GO NK'nin ise antibakteriyel etkinliğinin testler sonucunda diğer malzemelerden çok daha yüksek

olduđu sonucuna varılmıřtır. 6,25 mg/L gibi dűřűk bir konsantrasyon deđerinde bile her űç mikroorganizmayı da engellediđi testler sonucunda gűzlemlenmiřtir. Tablo 4.2'de karřılařtırılmalı olarak gűsterilmiřtir.

Bitki ekstresi ile sentezlenen Ag NP'leri ile GO arasındaki sinerjistik etki, antibakteriyel etkinliđi arttırmıř ve mikroorganizmaların bűyűmesini (~ % 97-% 100) yűksek oranda inhibe etmiřtir.

Tablo 4.2. Minimum konsantrasyon deđerine gűre Ag NP-3, Bitki ekstresi-GO ve AG@GO NK'nin inhibisyon deđerlerinin karřılařtırılması

6,25 mg/L konsantrasyon	Bitki ekstresi-GO	Ag@GO NK
S. aureus	~% 17	~% 50
E. coli	~% 1	~% 42
C. albians	~% 11	~% 21

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

NP'lerin sentezi için çevre dostu olan biyojenik sentez tekniği son yıllarda araştırmacıların odak noktası olmuştur. Fiziksel ve kimyasal yöntemler ile NP'lerin sentezinde, toksik kimyasalların kullanımı ve zararlı yan ürünlerin oluşumu sentezlenen NP'lerin kullanım alanını sınırlandırmaktadır. Biyojenik sentez tekniği ise; basit ve ucuz bir yöntem olup, toksik kimyasalların kullanılmaması gibi birçok önemli avantaja sahiptir. Aşağıdan yukarıya sentez yaklaşımı ile NP'lerin biyojenik sentez yöntemi ile elde edilmelerinde şekil ve boyut kontrolü sağlanabilmektedir. Ayrıca, NP'lerin biyomedikal ve biyoanalitik uygulama alanlarında kullanılabilme sınırlamalarını ortadan kaldıracakđı da umut vericidir. Ag NP'ler antibakteriyel etkinliğe sahip olmalarından dolayı günlük yaşamda ki birçok alanda kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Fakat az da olsa toksik etkiye neden olabileceğinden dolayı, araştırmacılar özellikle tıbbi uygulama alanlarında kullanımının sınırlı düzeyde olmasını geçmiş yıllarda ki çalışmalarında belirtmişlerdir. Günümüz de ise, biyojenik sentez yöntemi, genel adıyla "yeşil kimya" yaklaşımı ile NP'lerin sentezi oldukça ilgi çekici olmuştur. Çevre dostu ve zararlı kimyasalların kullanılmaması, sentezlenen Ag NP'lerin mikroorganizmalar ile mücadele de kullanımını yaygın hale getirmiştir. NK'ler, çoklu fonksiyona sahip ve en az iki malzemenin bir araya gelmesi ile oluşan yapılardır. Tek başına iken bir malzemenin gösterdiği etkinlik oranı düşük olmasına rağmen, başka bir malzeme ile bir araya geldiğinde var olan etkinlikleri birbirlerini güçlendirip, etkinliği çok daha yüksek yeni bir malzeme meydana gelmektedir.

Bu çalışmada, tıbbi bir bitki olan *M. chamomilla* çiçeğinin bitki ekstresi kullanılarak Ag@GO NK'i ve farklı boyutlarda Ag NP'leri biyojenik sentez tekniği ile sentezlendiler. Çevre dostu ve tek işlem basamağına sahip biyojenik sentez yöntemi basit ve ucuz bir teknik olmasından dolayı, bol miktarda nanomalzeme sentezi için çalışmada tercih edilmiştir. Biyojenik sentez ile sentezlenen farklı boyutlardaki

Ag NP'lerin ve Ag@GO NK'in karakterizasyon ve antibakteriyel aktivite çalışmaları gerçekleştirildi. Antibakteriyel aktivite testleri için Gram (+) *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), Gram (-) *Esherichia coli* (*E. coli*) bakterisi ve *Candida fungus albicans* (*C. albicans*) mantarı kullanılmıştır.

Ag NP'lerin morfolojisine, Ag⁺ iyonu konsantrasyonunun, bitki ekstresi hacminin ve karışma süresinin etkisi incelendi. Ag⁺ iyonu konsantrasyonu (AgNO₃), Ag NP sentezinde çekirdeklenmenin başlayıp büyüme sürecinin devamı için önemli bir kilit noktasıdır. Ag⁺ iyon konsantrasyonu 5 mM'ın altında olduğunda Ag NP'lerin oluşmadığı ve 5 mM konsantrasyon üzerindeki değerlerde (50 mM) ise topaklanmanın olduğu SEM görüntüleri ile anlaşılmıştır (Şekil 4.2). LaMer teorisine göre NP'lerin sentezi üç aşamada gerçekleşmektedir. Çekirdeklenme, büyüme ve sonlanma olmak üzere bu üç adımı içermektedir. Homojen dağılıma sahip Ag NP'ler elde edebilmek için çekirdeklenme aşamasının homojen olması gerekmektedir. Bunun sağlanabilmesi içinde kilit nokta Ag⁺ iyonu konsantrasyonudur. Deneyler sonucunda Ag⁺ iyonu konsantrasyonu 5 mM olarak belirlendi. Bitki ekstresi hacim miktarı değiştirilerek farklı boyutlara sahip Ag NP'ler elde edildi. Kullanılan bitki ekstresi hacmi arttıkça, sentezlenen Ag NP'lerin boyutu azaldı. Çünkü *M. chamomilla* bitkisi doğal bir indirgenme ajanı olarak kullanıldı ve Ag NP'lerin yüzeyine bağlanan bitki ekstresindeki moleküllerin miktarı arttıkça, oluşan NP'lerin boyutu küçülmektedir. Bu sayede kullanılan bitki ekstresi konsantrasyonu değiştirilerek farklı boyutlara sahip NP'ler sentezlenebildi. Ag NP'lerin oluşumuna karışma süresinin etkisi incelendi. Karışma süresi arttıkça, oluşan Ag NP'lerde topaklanma gözlemlendi. Antibakteriyel çalışmada, Ag NP-1 (70±5nm), Ag NP-2 (52±5nm), Ag NP-3 (37±4nm) kullanılmıştır (Şekil 4.3). 100 mg/L bitki ekstresi üç patojeni ~% 20, ~% 14 ve ~% 22, sırasıyla *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albians* hücrelerinin büyümelerini inhibe etmiştir. Oysa 100 mg/L Ag NP-1, Ag NP-2, Ag NP-3'ün neredeyse her patojenin büyümesine karşı tam inhibisyon göstermişlerdir. Ag NP-3'ün Ag NP-1 ve Ag NP-2'ye göre çok daha iyi inhibitör özelliğinin olduğu ve bunun sebebinin ise daha küçük boyuta sahip ve topaklanmanın en az olmasıdır. Daha küçük boyuta sahip Ag NP-3 yüksek yüzey alanına sahip olmasından dolayı, patojenik hücreler ile reaksiyona giren aktif atom sayısının hacimsel oranı fazladır. Böylece, aktif atom sayısının artması Ag NP-3'ün inhibe edici etkisini geliştirmesine katkıda bulunur.

Ag NP'lerin topaklanma derecesi antibakteriyel etkinliği büyük oranda etkilemektedir. Ag NP'ler topaklandığı zaman, hücreler ile temas eden aktif yüzey alanı azalır ve Ag NP'lerin antibakteriyel aktiviteleri de önemli ölçüde zayıflar. Ag NP-3, Ag NP-1 ve Ag NP-2 ile karşılaştırıldığında oldukça az topaklanma göstermiştir. Bu sebeple Ag NP-3'ün aktif yüzey alanı geniş çaptadır ve yüzeyindeki bitki ekstresi moleküllerinin miktarının fazla olmasından dolayı daha iyi antibakteriyel aktivite sergilemiştir.

Sentez aşamaları birbirinden farklı, ayrı iki yöntem ile Ag@GO NK'i sentezlendi. İlk yöntemde, GO ile M. chamomilla bitki ekstresi karıştırılıp Ag NP'lerin GO üzerindeki bitki moleküllerine bağlanıp biyojenik olarak sentezin gerçekleştirilmesi amaçlandı. SEM görüntülerinde ise 5 mM AgNO₃ çözeltisi kullanıldığında oluşan Ag NP'lerin sayısının yok denecek kadar az olduğu görülmektedir. 20 mM AgNO₃ çözeltisi kullanıldığında ise Ag NP'lerin boyut dağılımının çok düzensiz ve topaklanmanında çok fazla olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak GO üzerinde doğrudan Ag NP'lerin büyütülüp, Ag@GO NK'in sentezi için bu sentez şeklinin uygun olmadığı belirlendi. Bu çalışmalar sonucunda Ag@GO NK'nin biyojenik sentezi için Li ve arkadaşlarının (155) yaptığı çalışmaya göre Ag@GO NK'i sentezlendi. Farklı konsantrasyonlarda iki aşamalı NaCl çözeltisi eklenerek sentez gerçekleştirildi. Sentezde daha önceden bitki ekstresi ile sentezlenen Ag NP'in deiyoniz suda dağıtılmış stok çözeltisi kullanıldı. Bu yöntem ile toksik kimyasal kullanılmadan bitki ekstresi ile sentezlenen Ag NP'ler kullanılarak, çevre dostu yeni nesil Ag@GO NK'i sentezlendi. 100 mg/L M. chamomilla bitki ekstresi-GO ikilisinin çözeltisi ~% 82, ~% 51, ~% 62 sırasıyla çözelti S. aureus, E. coli, C. albicans mikroorganizmalarının büyümesini inhibe ettiği gözlemlendi. 100 mg/L Ag@GO NK çözeltisi S. aureus, E. coli, C. albicans mikroorganizmalarını sırasıyla ~% 97, ~% 99, ~% 98 inhibe etmiştir. Papatya bitki eksterisi ile sentezlenen Ag NP'leri ile GO arasındaki sinerjistik etki, antibakteriyel etkinliği arttırmış ve mikroorganizmaların büyümesini yüksek oranda inhibe etmiştir.

Sentezlenen Ag@GO NK'i ve farklı boyutlara sahip Ag NP'lerin, başarılı bir şekilde mikroorganizmaları inhibe ettiği sonucuna varılmıştır. Basit, hızlı, ucuz ve çevre dostu biyojenik sentez yöntemi ile farklı uygulama alanlarında rahatlıkla kullanılacak yeni nesil nanomalzemelerin sentezi öngörülmektedir.

Farklı özellikteki malzemeler bir araya getirilip, aralarında sinerjistik etkinin sağlanması ile çok daha verimli nanoyapıların sentezi ve biyomedikal, biyoanalitik uygulamalarda kullanımının genişlemesi adına umut verici bir çalışma olmuştur.



6. KAYNAKLAR

1. Youssef AM, Mohammed SA, Abdel-Aziz MS, et al. Biological studies and electrical conductivity of paper sheet based on PANI/PS/Ag-NPs nanocomposite. *Carbohydrate Polymers* 2016; 147: 333–343.
2. Karthik R, Hou YS, Chen SM, et al. Eco-friendly synthesis of Ag-NPs using *Cerasus serrulata* plant extract – Its catalytic, electrochemical reduction of 4-NPh and antibacterial activity. *J. Ind. Eng. Chem.* 2016; <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2016.03.044>.
3. Rehan M, Mashaly HM, Mowafi S, El-Kheir AA, Emam HE. Multi-functional textile design using in-situ Ag NPs incorporation into natural fabric matrix. *Dyes and Pigments* 2015; 118: 9-17.
4. Pant B, Pokharel P, Tiwari AP, et al. Characterization and antibacterial properties of aminophenol grafted and Ag NPs decorated graphene nanocomposites. *Ceramics International* 2015; 41: 5656–5662.
5. Kim JD, Yun H, Kim GC, Lee CW, Choi HC. Antibacterial activity and reusability of CNT-Ag and GO-Ag nanocomposites. *Applied Surface Science* 2013; 283: 227–233.
6. Shi J, Zhang J, Ma R, et al. A tumor-targeting near-infrared laser-triggered drug delivery system based on GO@Ag nanoparticles for chemo-photothermal therapy and X-ray imaging. *Biomaterials* 2014; 35: 5847-5861.
7. Li X, Qin Y, Liu C, et al. Size-controlled starch nanoparticles prepared by self-assembly with different green surfactant: The effect of electrostatic repulsion or steric hindrance. *Food Chemistry* 2016; 199: 356–363.

8. Zhang X, Qu Y, Shen W, et al. Biogenic synthesis of gold nanoparticles by yeast *magnusiomyces ingens* LH-F1 for catalytic reduction of nitrophenols. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 2016; 497: 280–285.
9. Karthik R, Chen SM, Elangovan A, et al. Phyto mediated biogenic synthesis of gold nanoparticles using *cerasus serrulata* and its utility in detecting hydrazine, microbial activity and DFT studies. *Journal of Colloid and Interface Science* 2016; 468: 163–175.
10. Yousaf AA, Ali S. Why nanoscience and technology? What is there for us? *J. Fac. Eng. &Tech.* 2008; 11-20.
11. Keskin CS. Gümüş Nano Malzemelerin Üretimi ve Bazı Biyolojik Maddelerin Kantitatif Analizinde Kullanılması, Doktora Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya 2012: 285.
12. Arık K. Kadmiyum Oksit Yapılı Nano Malzemelerin Sol Jel Metoduyla Oluşturulması ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bingöl 2013: 52.
13. Çorman ME. Moleküler Baskılanmış Nanopartiküllerin Hazırlanması, Karakterizasyonu ve Lizozim Saflaştırılmasında Kullanılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Aydın 2010: 75.
14. Demirel ÖR. Askeri Malzemelerde Nanoteknoloji Kullanımı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Ticaret Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2007: 61.
15. Yigit MV, Moore A, Medarova Z. Magnetic nanoparticles for cancer diagnosis and therapy. *Pharm. Res.* 2012; 29: 1180-1188.
16. Lee JH, Yigit MV, Mazumdar D, Lu Y. Molecular diagnostic and drug delivery agents based on aptamer-nanomaterial conjugates. *Adv. Drug Delivery Rev* 2010; 62: 592-605.
17. Prencipe G, Tabakman SM, Welsher K, et al. PEG branched polymer for functionalization of nanomaterials with ultralong blood circulation. *J. Am. Chem. Soc.* 2009; 131: 4783–4787.

18. Gusev AI, Rempel AA. *Nanocrystalline Materials* (1.baskı), Antony Rowe Ltd, Cambridge International Science Publishing, 2004: 347.
19. Auffan M, Rose J, Bottero JY, et al. Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nat. Nanotechnol.* 2009; 4: 634 - 641.
20. Sangeetha G, Rajeshwari S, Venckatesh R. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by aloe barbadensis miller leaf extract: structure and optical properties. *Mater. Research Bulletin* 2011; 46: 2560-2566.
21. Abdoul-Latif FM, Mohammed N, Edou P, et al. Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and methanol extract of *matricaria chamomilla* l. from djibouti. *Journal of Medicinal Plants Research* 2011; 5: 1512-1517.
22. Rao CNR, Cheetham AK. Science and technology of nanomaterials: current status and future prospects. *J. Mater. Chem.* 2001; 11: 2887-2894.
23. Kováčik J, Klejdus B, Bačkor M, Repčák M. Phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic compounds accumulation in nitrogen-deficient *matricaria chamomilla* leaf rosettes. *Plant Science* 2007; 172: 393-399.
24. Arboleda DM, Santillán MJ, Herrera LJM, et al. Size-dependent complex dielectric function of Ni, Mo, W, Pb, Zn and Na nanoparticles. application to sizing. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2016; 49: 10.
25. Lemineur JF, Saci N, Ritcey AM. Impact of concentration and capping ligand length on the organization of metal nanoparticles in Langmuir-Blodgett surface micelles and nanostrands. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 2016; 498: 88-97.
26. Chen Y, Zhu QL, Tsumori N, Xu Q. Immobilizing highly catalytically active noble metal nanoparticles on reduced graphene oxide: A non-noble metal sacrificial approach. *J. Am. Chem. Soc.* 2015; 137: 106-109.

27. Li Q, Sun S. Recent advances in the organic solution phase synthesis of metal nanoparticles and their electrocatalysis for energy conversion reactions. *Nano Energy* 2016; <http://dx.doi.org/10.1016/j.nanoen.2016.02.030>.
28. Avallone R, Zanolli P, Puia G, et al. Pharmacological profile of apigenin, a flavonoid isolated from *matricaria chamomilla*. *Biochemical Pharmacology* 2000; 59: 1387-1394.
29. Siddiqui MA, Saquib Q, Ahamed M, et al. Molybdenum nanoparticles-induced cytotoxicity, oxidative stress, G2/M arrest, and DNA damage in mouse skin fibroblast cells (L929). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2015; 125: 73–81.
30. Hdz-García HM, Pech-Canul MI, Muñoz-Arroyo R, et al. 304 stainless steel brazing incorporating tungsten nanoparticles. *J. Mater. Process. Tech.* 2015; 215: 1-5.
31. Park J, Kang E, Son SU, et al. Monodisperse nanoparticles of Ni and NiO: synthesis, characterization, self-assembled superlattices, and catalytic applications in the suzuki coupling reaction. *Adv. Mater.* 2005; 17: 429–434.
32. Kamat PV. Photophysical, photochemical and photocatalytic aspects of metal nanoparticles. *J. Phys. Chem. B.* 2002; 106: 7729–7744.
33. Mann S, Ozin GA. Synthesis of inorganic materials with complex form. *Nature* 1996; 382: 313 - 318.
34. O'Neal DP, Hirsch LR, Halas NJ, Payne JD, West JL. Photo-thermal tumor ablation in mice using near infrared-absorbing nanoparticles. *Cancer Lett.* 2004; 209: 171-6.
35. Wei X, Wang MS, Bando Y, Golberg D. Thermal stability of carbon nanotubes probed by anchored tungsten nanoparticles. *Sci. Technol. Adv. Mater.* 2011; 12: 6.
36. Ismail RA, Al-Jawad SMH, Hussein N. Preparation of n-ZnO/p-Si solar cells by oxidation of zinc nanoparticles: effect of oxidation temperature on the photovoltaic properties. *Appl. Phys. A.* 2014; 117: 1977–1984.

37. Elango G, Roopan SM. Green synthesis, spectroscopic investigation and photocatalytic activity of lead nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2015; 139: 367–373.
38. Barroso J, Saa L, Grinyte R, Pavlov V. Photoelectrochemical detection of enzymatically generated CdS nanoparticles: Application to development of immunoassay. *Biosensors and Bioelectronics* 2016; 77: 323–329.
39. Achadu OJ, Uddin I, Nyokong T. The interaction between graphene quantum dots grafted with polyethyleneimine and Au@Ag nanoparticles: Application as a fluorescence “turn-on” nanoprobe. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2016; 324: 96–105.
40. Wang P, Wu D, Ao Y, Wang C, Hou J. ZnO nanorod arrays co-loaded with Au nanoparticles and reduced graphene oxide: Synthesis, characterization and photocatalytic application. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 2016; 492: 71–78.
41. Zienkiewicz-Strzałka M, Deryło-Marczewska A, Pikus S. Bimetallic systems of mesoporous ordered silica supports and noble metals nanoparticles. *Microporous and Mesoporous Materials* 2016; 227: 228-241.
42. Tavakoli A, Sohrabi M, Kargar A. A review of methods for synthesis of nanostructured metals with emphasis on iron compounds. *Chem. Pap.* 2007; 61: 151-170.
43. Nirmal RM. Studies on Pure and Zn and Mn Doped Nanocrystalline CdS Prepared by Thermal Decomposition Using Single Source Molecular Precursors, PhD Thesis, Anna University Faculty Of Science and Humanities, Chennai 2015: 177.
44. Sun Q, Cai L, Wang S, et al. Bottom-up synthesis of metalated carbyne. *J. Am. Chem. Soc.* 2016; 138: 1106–1109.
45. Kulkarni SK. *Nanotechnology: Principles and Practices*, Capital Publishing Company, India, 2015: 399, DOI 10.1007/978-3-319-09171-6.

46. Iravani S, Korbekandi H, Mirmohammadi SV, Zolfaghari B. synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Res Pharm Sci.* 2014; 9: 385-406.
47. Patra JK, Baek KH. Green nanobiotechnology: factors affecting synthesis and characterization techniques. *Journal of Nanomaterials* 2014; 12.
48. Avallone R, Zanolli P, Puia G, et al. Pharmacological profile of apigenin, a flavonoid isolated from *matricaria chamomilla*. *Biochemical Pharmacology* 2000; 59: 1387-1394.
49. Segal R, Pilote L. Warfarin interaction with *matricaria chamomilla*. *Canadian Medical Association Journal* 2006; 174: 1281-1282.
50. Tolouee M, Jaimand K, Taeb J, et al. Effect of *matricaria chamomilla* l. flower essential oil on the growth and ultrastructure of *aspergillus niger* van tieghem. *International Journal of Food Microbiology* 2010; 139: 127-133.
51. El Badawy AM, Silva RG, Morris B, et al. Surface charge-dependent toxicity of silver nanoparticles. *Environ. Sci. Technol.* 2011; 45: 283–287.
52. Laban G, Nies LF, Turco RF, Bickham JW, Sepúlveda MS. The effects of silver nanoparticles on fathead minnow (*pimephales promelas*) embryos. *Ecotoxicology* 2010; 19: 185–195.
53. Guardia MDL, Garrigues S. *Handbook of Green Analytical Chemistry (1.baskı)*, John Wiley & Sons, Ltd, 2012: 566, ISBN: 978-0-470-97201-4.
54. Kawzta K, Osawa M, Okabe S. In vitro toxicity of silver nanoparticles at noncytotoxic doses to hepG2 human hepatoma cells. *Environ. Sci. Technol* 2009; 43: 6046–6051.
55. Akhtar MS, Panwar J, Yun YS. Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2013; 1: 591–602.
56. Sharma VK, Yngard RA, Lin Y. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science* 2009;145: 83–96.

57. Vigneshwaran N, Nachane RP, Blasubramanya RH, Varadarajan PV. A novel one-pot 'green' synthesis of stable silver nanoparticles using soluble starch. *Carbohydrate Research* 2006; 341: 2012–2018.
58. Raveendran P, Fu J, Wallen SL. Completely "Green" synthesis and stabilization of metal nanoparticles. *J. AM. CHEM. SOC.* 2003; 125: 13940–13941.
59. Agnihotri S, Mukherji S, Mukherji S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *RSC Adv.* 2014; 4: 397.
60. He C, Liu D, Lin W. Nanomedicine applications of hybrid nanomaterials built from metal–ligand coordination bonds: nanoscale metal–organic frameworks and nanoscale coordination polymers. *Chem. Rev.* 2015; 115: 11079–11108.
61. Liang S, Liu XL, Yang YZ, et al. Symmetric and asymmetric Au–AgCdSe hybrid nanorods. *Nano Lett.* 2012; 12: 5281–5286.
62. Li H, Sang Y, Chang S, et al. Enhanced ferroelectric-nanocrystal-based hybrid photocatalysis by ultrasonic-wave-generated piezophototronic effect. *Nano Lett.* 2015; 15: 2372–2379.
63. Li X, Zhang J, Wang R, et al. In situ synthesis of carbon nanotube hybrids with alternate MoC and MoS₂ to enhance the electrochemical activities of MoS₂. *Nano Lett.* 2015; 15: 5268–5272.
64. Zhou X, Wenger J, Viscomi FN, et al. Two-color single hybrid plasmonic nanoemitters with real time switchable dominant emission wavelength. *Nano Lett.* 2015; 15: 7458–7466.
65. Zhang Y, Ang CY, Li M, et al. Polymeric prodrug grafted hollow mesoporous silica nanoparticles encapsulating near-infrared absorbing dye for potent combined photothermal-chemotherapy. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2016; 8: 6869–6879.
66. Katwal G, Paulose M, Rusakova IA, Martinez JE, Varghese OK. Rapid growth of zinc oxide nanotube–nanowire hybrid architectures and their use in breast cancer-

- related volatile organics detection. *Nano Lett.* 2016; DOI:10.1021/acs.nanolett.5b05280.
67. Wang X, Jana SC. Synergistic hybrid organic–inorganic aerogels. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2013; 5: 6423–6429.
 68. Sanchez C, Belleville P, Popall M, Nicole L. Applications of advanced hybrid organic–inorganic nanomaterials: from laboratory to market. *Chem. Soc. Rev.* 2011; 40: 696-753.
 69. Lee MS, Lee K, Kim SY, et al. High-performance, transparent, and stretchable electrodes using graphene–metal nanowire hybrid structures. *Nano Lett.* 2013; 13: 2814–2821.
 70. Cheng L, Wang C, Feng L, Yang K, Liu Z. Functional Nanomaterials for Phototherapies of Cancer. *Chem. Rev.* 2014; 114: 10869–10939.
 71. Ma S, Hu Y, Wang R. Amphiphilic block copolymer aided design of hybrid assemblies of nanoparticles: nanowire, nanoring, and nanocluster. *Macromolecules* 2016; DOI: 10.1021/acs.macromol.5b02778.
 72. Yu H, Chen M, Rice PM, et al. Dumbbell-like bifunctional Au–Fe₃O₄ nanoparticles. *Nano Lett.* 2005; 5: 379-382.
 73. Zare RN, Ge J, Lei J. Protein-inorganic hybrid nanoflowers. *Nature Nanotechnology* 2012; 7: 428-432.
 74. Wang Y, Wan XK, Ren L, et al. Atomically precise alkynyl-protected metal nanoclusters as a model catalyst: observation of promoting effect of surface ligands on catalysis by metal nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* 2016; 138: 3278–3281.
 75. Grag S, Rong H, Miller CJ, Waite TD. Oxidative dissolution of silver nanoparticles by chlorine: implications to silver nanoparticle fate and toxicity. *Environ. Sci. Technol.* 2016; 50: 3890–3896.
 76. He W, Zhou YT, Wamer WG, Boudreau MD, Yin JJ. Mechanisms of the pH dependent generation of hydroxyl radicals and oxygen induced by Ag nanoparticles. *Biomaterials* 2012; 33: 7547-7555.

77. Joshi CP, Bootharaju MS, Alhilaly MJ, Bakr OM. $[\text{Ag}_{25}(\text{SR})_{18}]^-$: The “Golden” silver nanoparticle. *J. Am. Chem. Soc.* 2015; 137: 11578–11581.
78. Brasiliense V, Patel AN, Martinez-Marrades A, et al. Correlated electrochemical and optical detection reveals the chemical reactivity of individual silver nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* 2016; 138: 3478–3483.
79. Gehring J, Trepka B, Klinkenberg N, et al. Sunlight-triggered nanoparticle synergy: Teamwork of reactive oxygen species and nitric oxide released from mesoporous organosilica with advanced antibacterial activity. *J. Am. Chem. Soc.* 2016; 138: 3076–3084.
80. Huang K, Xu K, Tang J, et al. Room temperature cation exchange reaction in nanocrystals for ultrasensitive speciation analysis of silver ions and silver nanoparticles. *Anal. Chem.* 2015; 87: 6584–6591.
81. Saran R, Liu J. A Silver DNAzyme. *Anal. Chem.* 2016; 88: 4014–4020.
82. Stegemeier JP, Schwab F, Colman BP, et al. Speciation matters: bioavailability of silver and silver sulfide nanoparticles to alfalfa (*Medicago sativa*). *Environ. Sci. Technol.* 2015; 49: 8451–8460.
83. Yang P, Xu Y, Chen L, et al. Encapsulated silver nanoparticles can be directly converted to silver nanoshell in the gas phase. *Nano Lett.* 2015; 15: 8397–8401.
84. Pazos E, Sleep E, Pérez CMR, et al. Nucleation and growth of ordered arrays of silver nanoparticles on peptide nanofibers: hybrid nanostructures with antimicrobial properties. *J. Am. Chem. Soc.* 2016; DOI: 10.1021/jacs.6b01570.
85. Molleman B, Hiemstra T. Surface structure of silver nanoparticles as a model for understanding the oxidative dissolution of silver ions. *Langmuir* 2015; 31: 13361–13372.
86. Kim C, Jeon HS, Eom T, et al. Achieving selective and efficient electrocatalytic activity for CO_2 reduction using immobilized silver nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* 2015; 137: 13844–13850.

87. Planas O, Macia N, Agut M, Nonell S, Heyne B. Distance-dependent plasmon-enhanced singlet oxygen production and emission for bacterial inactivation. *J. Am. Chem. Soc.* 2016; 138: 2762–2768.
88. Li CY, Meng M, Huang SC, et al. “Smart” Ag nanostructures for plasmon-enhanced spectroscopies. *J. Am. Chem. Soc.* 2015; 137: 13784–13787.
89. Karim M, Hatakeyama K, Matsui T, et al. Graphene oxide nanosheet with high proton conductivity. *J. Am. Chem. Soc.* 2013; 135: 8097–8100.
90. Ji L, Rao M, Zheng H, et al. Graphene oxide as a sulfur immobilizer in high performance lithium/sulfur cells. *J. Am. Chem. Soc.* 2011; 133: 18522–18525.
91. Ocsoy I, Gulbakan B, Chen T, et al. DNA-guided metal-nanoparticle formation on graphene oxide surface. *Adv. Mater.* 2013; 25: 2319–2325.
92. Shao Y, Wang H, Zhang Q, Li Y. Fabrication of large-area and high-crystallinity photoreduced graphene oxide films via reconstructed two-dimensional multilayer structures. *NPG Asia Materials* 2014; 6: DOI:10.1038/am.2014.59.
93. Li Y, Zhu H, Zhu S, et al. Hybridizing wood cellulose and graphene oxide toward high-performance fibers. *NPG Asia Materials* 2015; 7: DOI:10.1038/am.2014.111.
94. Li Y, Wu Y. Coassembly of graphene oxide and nanowires for large-area nanowire alignment. *J. Am. Chem. Soc.* 2009; 131: 5851–5857.
95. Chen D, Feng H, Li J. Graphene oxide: preparation, functionalization, and electrochemical applications. *Chem. Rev.* 2012; 112: 6027–6053.
96. Sun P, Chen Q, Li X, et al. Highly efficient quasi-static water desalination using monolayer graphene oxide/titania hybrid laminates. *NPG Asia Materials* 2015; 7: DOI:10.1038/am.2015.7.
97. Feng L, Wu L, Qu X. New horizons for diagnostics and therapeutic applications of graphene and graphene oxide. *Adv. Mater.* 2013; 25: 168–186.
98. Hu K, Gupta MK, Kulkarni DD, Tsukruk VV. Ultra-robust graphene oxide-silk fibroin nanocomposite membranes. *Adv. Mater.* 2013; 2: 2301–2307.

99. Eaorgakilas V, Tiwari JN, Kemp KC, et al. Noncovalent functionalization of graphene and graphene oxide for energy materials, biosensing, catalytic, and biomedical applications. *Chem. Rev.* 2015; DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00620.
100. Zhao F, Liang Y, Cheng H, Jiang L, Qu L. Highly efficient moisture-enabled electricity generation from graphene oxide frameworks. *Energy Environ. Sci.* 2016; 9: 912-916.
101. Larcipret R, Fabris S, Sun T, et al. Dual path mechanism in the thermal reduction of graphene oxide. *J. Am. Chem. Soc.* 2011; 133: 17315–17321
102. Zhu Y, Murali S, Cai W, et al. Graphene and graphene oxide: synthesis, properties, and applications. *Adv. Mater.* 2010; 35: 3906-3924
103. Tu Y, Lv M, Xiu P, et al. Destructive extraction of phospholipids from Escherichia coli membranes by graphene nanosheets. *Nature Nanotechnology* 2013; 8: DOI:10.1038/NNANO.2013.125.
104. Zhu Y, James DK, Tour JM. New routes to graphene, graphene oxide and their related applications. *Adv. Mater.* 2012; 24: 4924-4955.
105. Yoon HJ, Kim TH, Zhang Z, et al. Sensitive capture of circulating tumour cells by functionalized graphene oxide nanosheets. *Nature Nanotechnology* 2013; 8: 735-881.
106. Han ZJ, Seo DH, Yick S, Chen JH, Ostrikov KK. MnO_x/carbon nanotube/reduced graphene oxide nanohybrids as high-performance supercapacitor electrodes. *NPG Asia Materials* 2014; 6:DOI:10.1038/am.2014.100.
107. Mao S, Huang X, Chang J, et al. One-step, continuous synthesis of a spherical Li₄Ti₅O₁₂/graphene composite as an ultra-long cycle life lithium-ion battery anode. *NPG Asia Materials* 2015; 7: DOI:10.1038/am.2015.120.
108. Lin D, Liu Y, Liang Z, et al. Layered reduced graphene oxide with nanoscale interlayer gaps as a stable host for lithium metal anodes. *Nature Nanotechnology* 2016; DOI: 10.1038/NNANO.2016.32.

109. Yavuz S, Kuru C, Choi D, et al. Graphene oxide as a p-dopant and an anti-reflection coating layer, in graphene/silicon solar cells. *Nanoscale* 2016; 8: 6473-6478.
110. Wei Y, Zhou F, Zhang D, Chen Q, Xing D. A graphene oxide based smart drug delivery system for tumor mitochondria-targeting photodynamic therapy. *Nanoscale* 2016; 8: 3530-3538.
111. Primo A, Puche M, Pavel OD, et al. Graphene oxide as a metal-free catalyst for oxidation of primary amines to nitriles by hypochlorite. *Chem. Commun.* 2016; 52: 1839-1842.
112. Eng AYS, Chua CK, Pumera M. Facile labelling of graphene oxide for superior capacitive energy storage and fluorescence applications. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2016; 18: 9673-9681.
113. Rogachev SO, Sundeev RV, Khatkevich VM. Evolution of the structure and strength of steel/vanadium alloy/steel hybrid material during severe plastic deformation. *Materials Letters* 2016; 173: 123–126.
114. Moghimi N, RahseparFR, Leung KT. Supported binary hybrid nanomaterials and their applications. *Coordination Chemistry Reviews* 2016; <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.ccr.2016.04.011>.
115. Sakho AM, Oluwafemi OS, Saha A, Thomas S, Kalarikkal N. Ultrasensitive detection of a 1-pyrenecarboxylic acid by surface enhanced Raman scattering hot spot with reduced graphene oxide/silver nanoparticles composites. *Materials Letters* 2016; 171: 137–141.
116. Joshi AC, Markad GB, Haram SK. Rudimentary simple method for the decoration of graphene oxide with silver nanoparticles: Their application for the amperometric detection of glucose in the human blood samples. *Electrochimica Acta* 2015; 161: 108–114.
117. Tang S, Tong P, You X, et al. Label free electrochemical sensor for Pb^{2+} based on graphene oxide mediated deposition of silver nanoparticles. *Electrochimica Acta* 2016; 187: 286–292.

118. Zhang HZ, Zhang C, Zeng GM, et al. Easily separated silver nanoparticle-decorated magnetic graphene oxide: Synthesis and high antibacterial activity. *Journal of Colloid and Interface Science* 2016; 471: 94–102.
119. Ortiz MI, Fernández-Martínez E, Soria-Jasso LE, et al. Isolation, identification and molecular docking as cyclooxygenase (COX) inhibitors of the main constituents of *matricaria chamomilla* l. extract and its synergistic interaction with diclofenac on nociception and gastric damage in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2016; 78: 248–256.
120. Garbossa WAC, Campos PMBGM. *Euterpe oleracea*, *matricaria chamomilla*, and *camellia sinensis* as promising ingredients for development of skin care formulations. *Industrial Crops and Products* 2016; 83: 1–10.
121. Hashempur MH, Lari ZN, Ghoreishi PS, et al. A pilot randomized double-blind placebo-controlled trial on topical chamomile (*matricaria chamomilla* l.) oil for severe carpal tunnel syndrome. *Complementary Therapies in Clinical Practice* 2015; 21: 223-228.
122. Asgharzade S, Rabiei Z, Rafieian-Kopaei M. Effects of *matricaria chamomilla* extract on motor coordination impairment induced by scopolamine in rats. *Asian Pac J Trop Biomed* 2015; 5: 829–833.
123. WEB_1.(2016). Wikipedia web site.https://en.wikipedia.org/wiki/Matricaria_chamomilla(27.07.2016).
124. Kolodziejczyk-Czepas J, Bijak M, Saluk J, et al. Radical scavenging and antioxidant effects of *matricaria chamomilla* polyphenolic–polysaccharide conjugates. *International Journal of Biological Macromolecules* 2015; 72: 1152–1158.
125. Bozo IM, Pinto AO, Alcayaga GR, et al. Reporte preliminar sobre el efecto de un sustituto salival a base de manzanilla (*matricaria chamomilla*) y linaza (*linum usitatissimum*) en el alivio de la xerostomía en adultos mayores. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral*. 2015; 8: 144-149.

126. Roby MHH, Sarhan MA, Selim KAH, Khalel KI. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*foeniculum vulgare* l.) and chamomile (*matricaria chamomilla* l.). *Industrial Crops and Products* 2013; 44: 437–445.
127. Tadbir AA, Pourshahidi S, Ebrahimi H, et al. The effect of *Matricaria chamomilla* (chamomile) extract in Orabase on minor aphthous stomatitis, a randomized clinical trial. *JOURNAL OF HERBAL MEDICINE* 2015; 5: 71–76.
128. Farmisano C, Delfşne S, Oliviero, et al. Correlation among environmental factors, chemical composition and antioxidative properties of essential oil and extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) collected in Molise (South-central Italy). *Industrial Crops and Products* 2015; 63: 256–263.
129. Shankar S, Rai A, Ahmad A, Sastry M. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using neem (*azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of Colloid and Interface Science* 2004; 275: 496–502.
130. Akhtar MS, Panwar J, Yun YS. Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2013; 1: 591–602.
131. Mubarak Ali D, Thajuddin N, Jeganathan K, Gunasekaran M. Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2011; 85: 360–365.
132. Pavani KV, Gayathamma K, Banerjee A, Suresh S. Phyto-synthesis of silver nanoparticles using extracts of *pomoea indica* flowers. *American Journal of Nanomaterials* 2013; 1: 5-8.
133. ShenY DS, Mathew J, Philip D. Phytosynthesis of Au, Ag and Au–Ag bimetallic nanoparticles using aqueous extract and dried leaf of *anacardium occidentale*. *Spectrochimica Acta Part A* 2011; 79: 254–262.
134. Vijayaraghavan K, Nalini SP, Prakash NU, Madhankumar D. One step green synthesis of silver nano/microparticles using extracts of *trachyspermum ammi* and *Papaver somniferum*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2012; 94: 114–117.

135. Rajakumar G, Rahuman AA. Larvicidal activity of synthesized silver nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaf extract against filariasis and malaria vectors. *Acta Tropica* 2011; 118: 196–203.
136. Sathishkumar M, Sneha K, Yun YS. Immobilization of silver nanoparticles synthesized using *Curcuma longa* tuber powder and extract on cotton cloth for bactericidal activity. *Bioresource Technology* 2010; 101: 7958–7965.
137. Ahamed M, Khan MAM, Siddiqui MKJ, Alsalhi MS, Alrokayan SA. Green synthesis, characterization and evaluation of biocompatibility of silver nanoparticles. *Physica E* 2011; 43: 1266–1271.
138. Ulug B, Turkdemir MH, Cicek A, Mete A. Role of irradiation in the green synthesis of silver nanoparticles mediated by fig (*Ficus carica*) leaf extract. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2015; 135: 153–161.
139. Awwad AM, Salem NM, Abdeen AO. Green synthesis of silver nanoparticles using carob leaf extract and its antibacterial activity. Awwad et al. *International Journal of Industrial Chemistry* 2013; 4: 29. <http://www.industchem.com/content/4/1/29>.
140. Dubey SP, Lahtinen M, Sillanpää M. Green synthesis and characterizations of silver and gold nanoparticles using leaf extract of *Rosa rugosa*. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 364: 2010; 34–41.
141. Valodkar M, Nagar PS, Jadeja RN, et al. Euphorbiaceae latex induced green synthesis of non-cytotoxic metallic nanoparticle solutions: A rational approach to antimicrobial applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 2011; 384: 337–344.
142. Logeswari P, Silambarasan S, Abraham J. Ecofriendly synthesis of silver nanoparticles from commercially available plant powders and their antibacterial properties. *Scientia Iranica F* 2013; 20: 1049–1054.
143. Vanaja M, Annadurai G. *Coleus aromaticus* leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles and its bactericidal activity. *Appl Nanosci* 2013; 3: 217–223.

144. Kaviya S, Santhanalakshmi J, Viswanathan B, Muthumary J, Srinivsan K. Biosynthesis of silver nanoparticles using citrus sinensis peel extract and its antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A* 2011; 79: 594–598.
145. Lee HJ, Song JY, Kim BS. Biological synthesis of copper nanoparticles using magnolia kobus leaf extract and their antibacterial activity. *J Chem Technol Biotechnol* 2013; 88: 1971–1977.
146. Dwivedi AD, Gopal K. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using chenopodium album leaf extract. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 2010; 369: 27–33.
147. Kasthuri J, Veerpandian S, Rajendiran N. Biological synthesis of silver and gold nanoparticles using apiin as reducing agent. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2009; 68: 55–60.
148. Huang J, Li Q, Sun D, et al. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf. *Nanotechnology* 2007; 18:11. DOI:10.1088/0957-4484/18/10/105104.
149. Marta B, Potara M, Illiut M, et al. Designing chitosan–silver nanoparticles–graphene oxide nanohybrids with enhanced antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 2015; 487: 113–120.
150. Gu D, Chang X, Zhai X, et al. Efficient synthesis of silver-reduced graphene oxide composites with prolonged antibacterial effects. *Ceramics International* 2016; 42: 9769–9778.
151. Huang L, Yang H, Zhang Y, Xiao W. Study on synthesis and antibacterial properties of Ag NPs/GO nanocomposites. *Journal of Nanomaterials* 2016; <http://dx.doi.org/10.1155/2016/5685967>.
152. Song B, Zhang C, Zeng G, et al. Antibacterial properties and mechanism of graphene oxide-silver nanocomposites as bactericidal agents for water disinfection. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2016; <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2016.04.018>.

153. Bei F, Hou X, Chang SLY, Simon GP, Li D. Interfacing colloidal graphene oxide sheets with gold nanoparticles. *Chem. Eur. J.* 2011; 17: 5958-5964.
154. Wady AF, Machado AL, Zucolotto V, et al. Evaluation of candida albicans adhesion and biofilm formation on a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles. *J Appl Microbiol* 2012; 112: 1163–1172.
155. Sheehan DJ, Brown SD, Pfaller MA, et al. NCCLS. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline. NCCLS document M44-A 2004; 24: ISBN 1-56238-532-1.
156. Arokiyaraj S, Vincent S, Saravanan M, et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Rheum palmatum* root extract and their antibacterial activity against staphylococcus aureus and pseudomonas aeruginosa. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* 2016; <http://dx.doi.org/10.3109/21691401.2016.1160403>.
157. Ocoy I, Gulbakan B, Tan W, et al. Aptamer-conjugated multifunctional nanoflowers as a platform for targeting, capture, and detection in laser desorption ionization mass spectrometry. *ACS Nano* 2013; 7 : 417-427.
158. Ocoy I, Paret ML, Tan W, et al. Nanotechnology in plant disease management: dna-directed silver nanoparticles on graphene oxide as an antibacterial against xanthomonas perforans. *ACS Nano* 2013; 7: 8972–8980.
159. Neal A. What can be inferred from bacterium-nanoparticle interactions about the potential consequences of environmental exposure to nanoparticles? *Ecotoxicology* 2008; 17: 362–371.
160. Wynn M. The Synthesis and Characterization of Gold and Silver Nanoparticles in Formal and Informal Settings, Materials Engineering Department California Polytechnic State University, San Luis Obispo 2012.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı : Esra DOĞRU

Uyruğu : Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri : 1989, İstanbul

Medeni Durumu : Bekar

Tel : +90 507 379 30 04

e-mail : ayyildiz-6638@hotmail.com

Yazışma Adresi : Mimsin Koop. Evleri, Şirintepe Mah. No: 9/A-6
Melikgazi/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2014-halen
Lisans	Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Fakültesi	2009-2013

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

Öçsoy I., Doğru E., Usta S., "A New Generation Of Flowerlike Horseradish Peroxides As A Nanobiocatalyst For Superior Enzymatic Activity", ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY, vol.75-76, pp.25-29, 2015.