



T.C.

KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Melissa officinalis EKSTRAKTI ÜZERİNE GÜMÜŞ
NİTRAT KULLANILARAK OLUŞTURULAN
NANOPARÇACIKLARININ ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Murat Hüdavendiğar MANAV

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR / 2020



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

Melissa officinalis EKSTRAKTI ÜZERİNE GÜMÜŞ
NİTRAT KULLANILARAK OLUŞTURULAN
NANOPARÇACIKLARININ ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Murat Hüdavendiğar MANAV

YÜKSEK LİSANS TEZİ

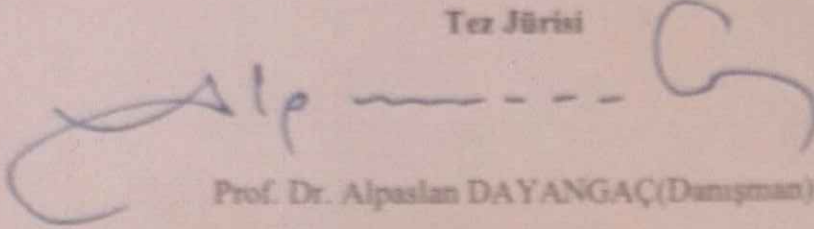
DANIŞMAN

Prof. Dr. Alpaslan DAYANGAÇ

KIRŞEHİR / 2020

"Melissa officinalis ekstraktı üzerine Gümüş Nitrat kullanılarak oluşturulan Nanoparçacıklarının Antimikrobiyal Ve Antioksidan Özelliklerinin Değerlendirilmesi" başlıklı araştırma 27/03/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

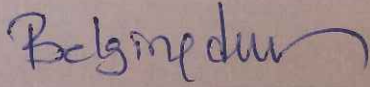
Tez Jürisi



Prof. Dr. Alpaslan DAYANGAÇ (Danışman)

OSMANIYE KORKUT ATA ÜNİVERSİTESİ

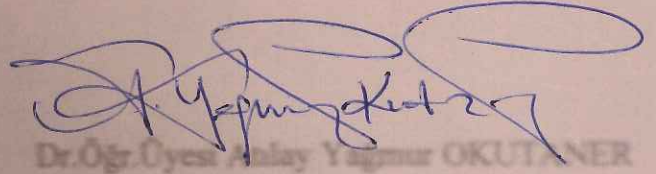
Sağlık Bilimleri Fakültesi



Doç. Dr. Belgin ERDEM

Karçehir Abi Evran Üniversitesi

Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu



Dr. Öğr. Üyesi Alay Yagmur OKUTANER

Karçehir Abi Evran Üniversitesi

Fen-Edebiyat Fakültesi

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Murat Hüdavendiğar MANAV



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.



ÖNSÖZ

Bu çalışma, Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Araştırmada, Bu çalışmadaki amacımız, *Melissa officinalis*'in yaprak ekstraktlarından gümüş nanopartiküllerini sentezlemek ve antimikrobiyal antioksidan özelliklerini belirlemektir.

Yüksek lisans çalışmam süresince her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen, bilgilerini ve tecrübelerini paylaştan saygıdeğer danışmanım Sayın Prof. Dr. Alpaslan DAYANGAÇ'a laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan maddi manevi desteğini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Belgin ERDEM'e, Ali İhsan KARAYEL'e ,Yunus Emre ŞAHİN'e ve Erdem KÖKSALDI' ya eğitimim süresince maddi-manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kırşehir-2020

Murat Hüdavendiğar MANAV

İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİMİ.....	1
ÖNSÖZ.....	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ.....	xiv
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. <i>Melissa Officinalis</i> 'in Özellikleri	3
2.2. Nanoteknoloji ve Gümüş Nanopartiküller.....	5
2.3.Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkileri	6
2.4. Antioksidan Aktivite.....	6
2.5. Fitokimyasallar	7
2.5.1. Flavonoidler	7
2.5.2. Terpenoidler.....	7
2.5.3. Saponinler.....	7
2.5.4. Alkoloidler.....	8
2.5.5. Taninler.....	8
2.5.6. Karbonhidratlar.....	8
2.5.7. Proteinler.....	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	10
3.1. Ekstrakt Hazırlanması	10
3.1.1 AgNP'lerin Biyosentezi.....	10
3.1.2. Besiyerlerinin Hazırlanması ve Saklanması.....	11
3.1.3. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması.....	11
3.1.4. Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemiyle Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi.....	12

3.1.5. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar.....	12
3.1.6. Kullanılan Kimyasal Madeler ve Çözücüler.....	12
3.2. Stok Hazırlığı	12
3.3. Ön Fitokimyasal Tarama	13
3.4. Tarama Prosedürü.....	13
3.5. Fitokimyasal Test.....	13
3.5.1. Flavonoit İçeriğinin Belirlenmesi.....	13
3.5.2. Karbonhidratlar İçeriğinin Belirlenmesi.....	14
3.5.3. Protein İçeriğinin Belirlenmesi.....	14
3.5.4. Alkaloidler İçeriğinin Belirlenmesi.....	15
3.5.5. Terpenoidler İçeriğinin Belirlenmesi.....	15
3.5.6. Tanninler İçeriğinin Belirlenmesi.....	16
3.5.7. Saponinler İçeriğinin Belirlenmesi.....	16
3.6. Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkisi	17
3.6.1. Mikrobiyal Suşların Toplanması.....	17
3.6.2. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi.....	17
3.6.3. Antimikrobiyal Test.....	18
3.6.4. UV-Görünür Spektrum Analizi.....	18
3.7. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Testi.....	18
3.7.1. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması.....	18
3.7.2. Agar Disk Difüzyon Yöntemiyle Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	18
3.8. Antioksidan Aktivite.....	19
4. BULGULAR.....	20
4.1 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	20
4.2. UV-Vis spektrofotometre Analizi	33
4.3. Antioksidan Aktivite.....	37
4.4. Fitokimyasal Tayin	38
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	41

5.1. Gümüş Nanopartikül Karakterizasyonu	41
5.2. UV-VIS spektroskopisi	42
5.3. Antimikrobiyal Aktivite	43
5.4. Antioksidan Aktivite.....	45
5.5. Fitokimyasal Tayin	45
6. KAYNAKLAR.....	48
7. ÖZGEÇMİŞ.....	54



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. <i>Melissa officinalis</i> L.'nin Ankara ili Gdl ilçesinden toplanan fotoğrafı.....	4
Şekil 2.2. <i>Melissa officinalis</i> L. doğada genel görünüm Foto. Prof. Dr. M. Koyuncu	5
Şekil 3.1. <i>Melissa officinalis</i> 'in çalkalayıcıda ve 1mM'lık AgNO ₃ <i>Melissa officinalis</i> ekstrat çözeltileri	11
Şekil 3.2. <i>M. officinalis</i> ekstraktının Flavonoidler Testi.....	13
Şekil 3.3. <i>M. officinalis</i> ekstraktının Karbonhidratlar Testi.....	14
Şekil 3.4. <i>M. officinalis</i> ekstraktının Protein Testi	14
Şekil 3.5. <i>M. officinalis</i> ekstraktının Alkaloidler Testi.....	15
Şekil 3.6. <i>M. officinalis</i> ekstraktının Terpenoitler Testi	16
Şekil 3.7. <i>M. officinalis</i> ekstraktının Tannin Testi	16
Şekil 3.8. <i>M. officinalis</i> ekstraktının Saponinler için Testi.....	17
Şekil 4.1. 1mM AgNO ₃ <i>P.aeruginosa</i> (ATCC27853)'nın antimikrobiyal aktivitesi	29
Şekil 4.2. 1mM AgNO ₃ <i>C. tropicalis</i> M007'nin antimikrobiyal aktivitesi	30
Şekil 4.3. 1mM AgNO ₃ <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 'nin antimikrobiyal aktivitesi.....	30
Şekil 4.4. 2mM AgNO ₃ <i>S. boydii</i> ATCC MYA-796'nin antimikrobiyal aktivitesi.....	31
Şekil 4.5. 2mM AgNO ₃ <i>Proteus Mirabilis</i> ATCC 29906' nin antimikrobiyal aktivitesi	31
Şekil 4.6. 2mM AgNO ₃ <i>C. parapsilosis</i> M006 'nin antimikrobiyal aktivitesi	32
Şekil 4.7. 2mM AgNO ₃ <i>L. monocytogenes</i> ATCC 35152 'nin antimikrobiyal aktivitesi	32
Şekil 4.8. Metanollü <i>M. officinalis</i> yaprak ekstraktından sentezlenen (1mM AgNO ₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları.....	33
Şekil 4.9. Asetonlu <i>M. officinalis</i> yaprak ekstraktından sentezlenen (1mM AgNO ₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları.....	33
Şekil 4.10. Saf Sulu <i>M. officinalis</i> yaprak ekstraktından sentezlenen (1mM AgNO ₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları.....	34

Şekil 4.11. Saf Su ile kaynatılmış <i>M. officinalis</i> yaprak ekstraktından sentezlenen (1mM AgNO ₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları.	34
Şekil 4.12. Metanollü <i>M. officinalis</i> yaprak ekstraktından sentezlenen (2mM AgNO ₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları.....	35
Şekil 4.13. Asetonlu <i>M. officinalis</i> yaprak ekstraktından sentezlenen (2mM AgNO ₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları.....	35
Şekil 4.14. Saf Sulu <i>M. officinalis</i> yaprak ekstraktından sentezlenen (2mM AgNO ₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları.....	36
Şekil 4.15. Saf Su ile kaynatılmış <i>M. officinalis</i> yaprak ekstraktından sentezlenen (2mM AgNO ₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları	36



TABLolar LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4.1. <i>M.officinalis</i> 'in yaprak ekstraktı +1mM AgNO ₃ 'den sentezlenen AgNP 'nin Zon çapları (mm) Antimikrobiyal Aktivitesi.....	21
Tablo 4.2. <i>M.officinalis</i> 'in yaprak ekstraktı +1mM AgNO ₃ 'den sentezlenen AgNP 'nin Zon çapları (mm) Antimikrobiyal Aktivitesi.....	22
Tablo 4.3. <i>M.officinalis</i> 'in yaprak ekstraktı +1mM AgNO ₃ 'den sentezlenen AgNP 'nin Zon çapları (mm) Antimikrobiyal Aktivitesi.....	23
Tablo 4.4. <i>M. officinalis</i> 'in yaprak ekstraktı +2mM AgNO ₃ 'den sentezlenen AgNP'nin Zon çapları (mm) Antimikrobiyal Aktivitesi.....	24
Tablo 4.5. <i>M. officinalis</i> 'in yaprak ekstraktı +2mM AgNO ₃ 'den sentezlenen AgNP 'nin Zon çapları (mm) Antimikrobiyal Aktivitesi.....	25
Tablo 4.6. <i>M. officinalis</i> 'in yaprak ekstraktı +1mM AgNO ₃ 'den sentezlenen AgNP 'nin Zon çapları (mm) Antimikrobiyal Aktivitesi.....	26
Tablo 4.7. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar üzerinde kullanılan farklı 1mM AgNO ₃ çözeltilerinin istatistiksel sonuçları.....	27
Tablo 4.8. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar üzerinde kullanılan farklı 2 mM AgNO ₃ çözeltilerinin istatistiksel sonuçları.....	28
Tablo 4.9. DPPH Testinde <i>M. officinalis</i> 'in AgNP ve metanol ekstraktının antioksidan aktivitesinin Absorbance Değerleri.....	38
Tablo 4.10. <i>M. officinalis</i> ekstraktlarında Fitokimyal tarama sonuçları.....	39

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Ag	: Gümüş
AgNO₃	: Gümüş nitrat
AgNP	: Gümüş nanopartikül
TSA	: Tyriptic Soy Agar
TSB	: Tyriptic Soy Broth
H	: Hidrojen
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
gr	: Gram
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
°C	: Santigrat derece
H₂SO₄	: Sülfirik Asit
NaOH	: Sodyum hidroksit
<i>M. officinalis</i>	: <i>Melissa officinalis</i>
CuSO₄	: Bakır sülfat

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Melissa officinalis EKSTRAKTI ÜZERİNE GÜMÜŞ NİTRAT KULLANILARAK OLUŞTURULAN NANOPARÇACIKLARININ ANTİMİKROBİYAL VE ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Murat Hüdavendiğar MANAV

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Alpaslan DAYANGAÇ

Bu çalışmada ülkemizde yetişen tıbbi aromatik bir bitki olan *Melissa officinalis*'in laboratuvar ortamında Gümüş Nanopartiküller sentezlenerek antimikrobiyal aktive etkilerini, UV-vis spektrum sonuçları ve antioksidan aktivitelerini tespit etmek amaçlandı. Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında Antimikrobiyal aktivite, Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi ile 18 bakteriyel izolat üzerinde yapıldı. Aseton, metanol, saf su ve kaynatılmış saf su'da *M. officinalis* AgNO₃'lerinin çeşitli bakterilerde antimikrobiyal aktiviteleri, UV-vis spektrumları antioksidan aktiviteleri incelendi. *M. officinalis* bitki ekstraktı kullanılarak AgNP'lerin biyosentezini değerlendirilerek in vitro ortamda gümüş nano partikül elde edilerek, *M.officinalis*'in antimikrobiyal aktivitesi araştırıldı. *M. Officinalis* ekstraktı kullanılarak AgNP'lerin biyosentezi yapıldı ve Ag'nin oluşumu UV-vis spektroskopisi yapıldı. Antimikrobiyal AgNP'lerin aktivitesi, agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Bitki ekstraktı, AgNP'lerin oluşumundan sonra özünde

sarıdan kahverengiye kadar renk değişikliği gösterdi. 450 nm'de bulunan yüzey Plazmon rezonansı, AgNP'lerin oluşumunu doğruladı. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı iyi inhibe edici aktivite gösterdi. *M. officinalis L.* 'in protein ve fenolik madde içeriği de tespit edildi. Toplam fenolik madde içeriği Folin Ciocalteu metodu kullanılarak 100 g taze bitki için 280 mg olarak bulundu. *M.officinalis L. subsp. officinalis*'in protein içeriği Bradford metodu kullanılarak 230 µg/mL olarak tespit edildi. Elde edilen nanopartiküller, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı iyi inhibe edici aktivite gösterildi.

Mart 2020, 71 Sayfa

Anahtar Kelimeler: *Melissa officinalis*, Gümüş Nanopartikül, Antimikrobiyal, Antioksidan,

ABSTRACT

MASTER'S DEGREE

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF NANOPARTICLES CREATED BY USING SILVER NITRATE ON *Melissa Officinalis* EXTRACT

Murat Hüdavendiğar MANAV

**Kirsehir Ahi Evran University
Graduate School of Sciences and Engineering
Department of Biology**

Supervisor: Prof. Dr. Alpaslan DAYANGAÇ

In this study, it was aimed to identify the antimicrobial activating effects, UV-vis spectrum results and antioxidant activities by synthesizing Silver Nanoparticles in a laboratory environment of *Melissa officinalis*, a medicinal aromatic plant grown in our country. Antimicrobial activity was performed on 18 bacterial isolates with Agar Kuyucuk Diffusion Method in Kırşehir Ahi Evran University Faculty of Science and Letters Microbiology Laboratory. Antimicrobial activities, UV-vis spectra antioxidant activities of *M. officinalis* AgNO₃ in various bacteria were investigated in acetone, methanol, purified water and boiled pure water. Antimicrobial activity of *M. officinalis* was investigated by obtaining silver nanoparticles in vitro by evaluating the biosynthesis of AgNPs using *M. officinalis* plant extract. AgNPs were biosynthesized using *M. Officinalis* extract, and the formation of Ag was performed by UV-vis spectroscopy. The activity of antimicrobial AgNPs was investigated by agar well diffusion method. The plant extract varied in essence from yellow to brown after the

formation of AgNPs. Surface Plasmon resonance at 450 nm confirmed the formation of AgNPs. It showed good inhibitory activity against Gram positive and Gram negative bacteria. Protein and phenolic content of *M. officinalis* L. were also determined. Total phenolic substance content was found as 280 mg for 100 g of fresh plants using Folin Ciocalteu method. *M.officinalis* L. subsp. The protein content of *officinalis* was determined as 230 µg / mL using Bradford method. Nanoparticles obtained, good inhibitory activity against Gram positive and Gram negative bacteria were shown.

March 2020, 71 Pages

Keywords: *Melissa officinalis*, Silver Nanoparticles, Antimicrobial, Antioxidant



1. GİRİŞ

Bitki ve bitki ürünlerinin ilaç olarak kullanımı, insan uygarlığının başlangıcı olarak kabul edilir (Akbar ve diğ.,2014). Bitkiler kullanılarak tedavi etmek şeklinde açıklayan "fitoterapi" ilk olarak Fransız doktor Henri Leclerc tarafından La Presse Medical adlı dergide kullanıldığı iddia edilmiş olsada bundan çok önce tarihte ne adla olursa olsun çok eski zamandan beri tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Çin, Hint, Mısır, Yunan, Roma ve pek çok uygarlığın tıbbında bitkiler kullanıldığı bilinmektedir. Ünlü Türk bilgini İbni Sina'nın En büyük eseri 3 ciltlik "El-kanun fit-tıb"dır. O'nun bu eserinde 900'den fazla tıbbi bitki, hayvani ve inorganik kökenli ilaç yer almaktadır. Müslüman bilim insanları 1600'den fazla tıbbi kullandıkları biliniyor (Kâhya E, 2000).

Çok yıllık bir bitki olan *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae, Labiatae) gövdeleri 28 -95 cm kadardır. Yaprakları dekusat dizilişli, ovattan romboidale kadar veya eliptik şekilde, derin krenattır. Genellikle alt yapraklar, üst yapraklardan büyüktür. Çiçek yaprakları (brakteler) normal yapraklara benzer tabanda kordattan kuneata kadar, kenarları krenat-serrattır. Vertisillatlar 4-12 çiçeklidir. Çiçekler 2 dudaklı, korolla (taç yaprakları) (8-) 9-14 (-16) mm acık sarı, beyaz, bazen hafifçe acık mor renklidir. *Melisa* bitkisi Doğu Akdeniz elementi olup, Kafkasya, İran, Irak'ta doğal olarak yetişmektedir (Mill, 1982).

Razi ve İbn-i Sina *M. officinalis* bitkisinin sakinleştirici ve kalbi rahatlatıcı etkilerini bildirmiştir. İbn-i Sina der ki; "Oğul otunun kalbi ferahlandırdığı, kalbe verdiği kuvveti kırmızı yakutun fiiline muadildir" (Işık, 2007).

Arap tıbbında Büyük Farmakope'ye kaydedilmiş olmasından dolayı da önem kazanmış, 16. yüzyıla kadar Avrupa'da da tıp kitaplarında öğrencilere önemli bir tıbbi bitki olarak okutulmuştur. İlaç olarak kullanılan ilk *Melissa* preparatının 1611 yılında hazırlandığı bilinmektedir ve bu preparat bitkinin alkollü distilatından başka limon kabuğu ve diğer bazı drogları da taşımaktadır (Işık, 2007).

M. officinalis bitkileri çok az kullanılır ama çok değerli bir şifalı bitkidir. *M. officinalis* bitkisinin terapotik etkisi esas olarak salgı tüylerindeki uçucu yağdan kaynaklanmaktadır. Bitki çok az miktarda uçucu yağ taşıdığı için ilk araştırmalar bitkideki uçucu yağın miktarı

üzerinde yoğunlaşmıştır. 19. yy'ın sonlarında başlayan bu çalışmalar, bitkideki uçucu yağ miktarının çeşitli faktörlere bağlı olduğunu göstermiştir. Bitkinin yetiştiği yer, iklim, gelişme evresi, toplama zamanı, kuruluk derecesi, depolanma şekli ve uçucu yağ elde etme yöntemi, uçucu yağ miktarında etkili olan parametrelerdir (Baykan, 2011). Çeşitli yiyecek ve içeceklerin içine konulan yapraklar eski zamandan bu yana sakinleştirmek, terletmek ve gaz söktürücü çay olarak hazırlanır. Ülser, kasılma, diş ağrısı ve damar tıkanıklığına karşı kullanılır (Baytop, 1997).

Uzun yıllardır tıbbi amaçla kullanılan bir bitki olan *M. officinalis* üzerinde yapılan in vitro, in vivo ve klinik çalışmalar, uçucu yağının ve değişik polaritelerdeki ekstraktlarının çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir. Uçucu yağının antimikrobiyal, ve antiparazitik özellikleri bulunmaktadır (Dikshit ve diğ., 1984; Leung ve diğ., 1996; Mikus ve diğ., 2000).

1974-2007 yılları arasında yapılmış çalışmalar antiviral, antimikrobiyal, antifungal, antioksidan, antiülser, antispazmodik, hipolipidemik, sedatif, sitotoksik ve Alzheimer hastalığına karşı etkiler başlıkları altında derlenerek monograf halinde yayınlanmıştır (Baykan, 2011).

Bu çalışmanın amacı, *M. officinalis*'in yaprak ekstraktlarını metanol, aseton, saf su ve kaynatılmış saf su gümüş nanopartiküllerini sentezlemek ve antimikrobiyal, antioksidan özelliklerini belirlemektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Melissa Officinalis'in Özellikleri

İnsan sağlığı üzerinde etkili olan birçok tıbbi ve aromatik bitki olduğu bilinmektedir. İnsanlar tarafından bunlardan çoğu bilinmemektedir. Bu tıbbi ve aromatik bitkilerden bir tanesi de *Melissa officinalis*'tir.

Fam: *Lamiacea*

Genus: *Melissa L.*

Sp.: *Melissa officinalis L.*

Subsp.: *officinalis*

Melissa, Labitae familyasından, Akdeniz bitkisi olup, yaprak tüylülüğü, tırtıklılığına göre 3 ayrılmaktadır. *Melissa* 3 alt türü vardır. Bunlar *Melissa officinalis officinalis L.*, *Melissa officinalis inodora* Bornm, *Melissa officinalis altissima* Arcangeli dır (Baytop, 1999; Mill, 1982).

Bu türlerden yalnızca ssp *officinalis* limon kokulu olmaktadır ve tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Ceylan, 1997; Baytop, 1999). *M. officinalis*'in dışında kalan diğer iki tür kokusuz ve tıbbi amaçla kullanılmamaktadır (Baytop,1999). *M. officinalis* düşük miktarda yağ oranına sahip olmasına rağmen pahalı olarak ürünlerden birisidir (Sarı ve diğ., 2002).

Melissa'nın boyu 100 cm kadar çıkmaktadır. Yapraklar basit ovat-lanseolat 1.5-3.0 cm eninde 2.5-4 cm boyundadır, uzun saplı, (2-9 cm.uzunluğunda) kenarları dentat ve her iki yüzü de tüylü, rengi yeşil, damarlanma pennattır. Haziran Eylül aylarında çiçek açmaktadır. Çiçeğin rengi beyaz açık pembeye yaklaşan, iki dudaklı, korolla tübü eğrice, stamen 4 tane, filamentler birbirine yaklaşmıştır (Baytop,1999).

Çok yıllık otsu bitkidir. Güzel kokusu sebebiyle eski zamanlardan beri bilinmektedir. Tıbbi aromatik bir bitki türüdür. Bu bitki ülkemizde İstanbul, Ankara, Bursa, Bilecik, Bolu, Amasya, Samsun, Kütahya, Malatya ve Tunceli illerinde bulunmaktadır (Akgül,1993).

M. officinalis'in otları çay ve baharat olarak kullanılmakta, uçucu yağı ise eczacılık, kozmetik ve gıda sanayinde kullanılmaktadır (Akgül,1993).

Ülkemizde kullanım alanı geniştir. *M. officinalis*'in çoğunluğu doğal ortamda bulunmaktadır. Ekonomik değeri yüksektir. *M. officinalis*'in kültüre alınarak yeni klonlarının geliştirilmesi, uçucu olan yağının standardize edilmesi aşırı derece bilinçsiz toplanmasının doğal floranın tahribini az da olsa önlemiş olacaktır. Ülkemizde bu çalışma Bursa ilinde yapılmıştır. Uçucu yağ üzerine etkili çalışmıştır (Akgül, 1993).

Sitronellal %36 ile ana bileşen olup sitral (neral+geranial) % 12 civarındadır (Schultze Von W ve diğ., 1989). *M. officinalis* üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucunda sinarosid, kosmosin, ramnositrin, izokuersetin, ursolik asit ve oleanolik asit, kafeik asit ve rosmarinik asit gibi flavonoidlerce ve esansiyel yağlarca (neral ve jeranial gibi) zengin olduğunu görülmüştür (Carnat ve diğ., 2003).

M. officinalis'in Alzheimer hastalığı tedavisinde rol oynadığı görülmüştür. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda *M. officinalis* kullanılarak asetilkolinesteraz aktivitesini inhibe ederek Epilepsi ve Alzheimer gibi hastalıklara iyi geldiği görülmüştür (Salah ve diğ., 2005).



Şekil 2.1. *Melissa officinalis* L.'nin Ankara ili Güdül ilçesinden toplanan fotoğrafı



Şekil 2.2. *Melissa officinalis* L. doğada genel görünüm Foto. Prof. Dr. M. Koyuncu

2.2. Nanoteknoloji ve Gümüş Nanopartiküller

Nanoteknoloji, maddelerin 1-100 nanometre arası ölçümler yapılarak, düzenlemeye ve şekillendirmeye yardımcı olan çalışmaların toplandığı bilim dalıdır. Çok yeni ve hızlı bir şekilde ilerleyen bir teknolojik alandır. Biyolojik anlamda da maddelerin yapılarını düzenleme, işleme konularıyla da ilgilenen bir teknolojidir. Endüstriyel alanda çarpıcı kar marjı nedeniyle kullanılmaya başlanmıştır. Son zamanlar da ilaç yapımında da kullanılan nanoteknoloji, ucuz maliyetli çalışmalar ile sektörün gelişmesine yardımcı olmaktadır (Çıracı, 2005; Roco, 2007; Rai ve diğ., 2009; Silver, 2003).

Biyolojik anlamda nanoteknoloji, maddelerin nanopartiküllerinin canlı hücreler üzerine etkisini araştırmaktadır. Nanopartikül elde edilmesi ve hücre ortamından sentezlenmesi için birçok yöntem bulunmasına rağmen maliyeti yüksek çalışmalardır. Bu nedenle daha az maliyet ve çevreye zararı olmayan yöntemlerin bulunduğu yeşil nanoteknoloji kullanılmaya başlanmıştır (Bar ve diğ., 2009). Bu anlamda, yeşil bitki özlerinden sentezlenen partiküller ile mikroorganizmalar kullanılmaktadır (Kumar ve diğ., 2009).

2.3.Gümüş Nanopatiküllerin Antimikrobiyal Etkileri

Gümüş nanopatiküller bakteriler üzerinde etkisini açıklamak için birçok mekanizma ileri sürülmüştür. İleri sürülen mekanizmalar gümüş nanopatiküllerin hücre duvarına tutulması ve dağılması esasına dayanır (Bindhu Umadevi, 2015).

Gümüşün fosfor ve sülfüre yüksek afinitesinin olması antimikrobiyal etkide önemli rol oynadığı düşünülmüştür (Rai ve diğ., 2009).

Modern tıpta gümüş elementi etkili bir antimikrobiyal ajan olarak görülür. İlk antibiyotik maddenin gümüş olduğu düşünülmektedir. Bugün ise neredeyse enfeksiyon kontrolünün zor olduğu birçok yerde, bandajlardan yanık tedavilerine kadar çok geniş bir alanda antimikrobiyal özelliği olması nedeniyle gümüş kullanılmaktadır. Gümüşün antimikrobiyal özelliği çok eski zamanlara dayanmaktadır. Eski Roma ve Yunan medeniyeti gümüş sikke ile suları temizleme de kullanırlardı. 19. yüzyıldan önce gümüş tıbbi araçlarda kullanılmaktadır. 19. yüzyılın son çeyreğinde ise bakteri ve çeşitli enfeksiyonlara karşı gümüş temizlemek için kullanılmıştır (Çelik, 2013).

2.4. Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar serbest radikallerin oluşumunu durdurur veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engeller, dejeneratif hastalıkların oluşumunu durdururlar (Baublis ve diğ., 2000; Sivritepe ve diğ., 2000).

Canlı organizmalar serbest radikallerin etkisinden korunmak için antioksidatif koruma sistemine sahiplerdir. Bazı durumlarda antioksidatif sistemi iyi çalışmadığında serbest radikallerin vücutta fazlalaştığı görülmektedir. Buda vücutta hasar meydana getirir. Serbest radikal arttıkça yaşlanmanın hızlanmasına, hücre ölümü, doku ölümü hatta beyin kanamasına neden olur (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999).

Serbest radikaller, bir atom veya molekül yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron içeren reaktif kimyasal ürünlerdir. Antioksidan Aktivitesi için yeniden ekstrakt hazırlandı. Blois tarafından 1958 yılında ortaya konan metoda göre DPPH radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ticari olarak satılan bir serbest radikaldir. Bu radikal 517 nm'de maksimum absorpsiyon göstermektedir. Antioksidanlarla muamele, DPPH'tan kaynaklanan mor rengin

şiddeti azalarak absorbansın düşüşüne sebep oldu. DPPH'nin absorbansındaki değişim ölçülerek aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanır (Gürdöl ve Ademoğlu, 2005).

$$\text{DPPH (\%)} = \frac{(\text{Absorbans kontrol} - \text{Absorbans test}) \times 100}{\text{Absorbans kontrol}}$$

(Absorbans kontrol)

2.5. Fitokimyasallar

2.5.1. Flavonoidler

Flavonoidler sebze, meyve çeşitli biyokimyasallar ve antioksidan etkiye sahip bazı içeceklerde bulunan aromatik pigment bileşiklerdir. Flavonoidler fizyolojik düzenleyici, hücre döngüsünün inhibitörü ve hücre içinde kimyasal haberci olarak görevi vardır. Flavonoidlerin yüksek antioksidan özellikleri yanında bazı hastalıklara karşı koruma etkisi vardır. Sayıları 4000 üzerinde flavonid vardır (Stavric B., 1994; Bors W ve diğ., 1990).

1930'lı yıllarda flavonoidler vitamin-p olarak adlandırıldı. Bu şekilde anılmasının sebebi ise kılcal damarlardaki geçirgenlik özelliğinden dolayıdır (Mobh S, 1938).

2.5.2. Terpenoidler

Bitkilerde farklı çeşitleri bulunmaktadır. Bitkilerde hastalığa yol açan canlıları ve böcekleri uzaklaştırmak için savunma işlevleri görürler. Fotosentezin ışık alma reaksiyonlarında da görev alırlar. Fazla ışık yüzünden gelen zararları engellerler. Bitkilerden elde edilen terpenoidler parfüm ve kozmetik sanayinde kullanılır (Baydar H., 2005; Graham ve diğ., 2004).

2.5.3. Saponinler

Saponinler, steroid veya triterpenoid yapıda lipofilik bir çekirdek ile bir veya çok sayıda karbonhidrat yan zincirine sahip glikozittir (Cheeke PR, 1999; Milgate J. ve Roberts DCK, 1995).

Bu glikozitlere, sulu çözeltilerinde güçlü köpürme özelliğinden dolayı saponin adı verilmiştir (Cheeke PR, 1999; Milgate J. ve Roberts DCK, 1995)

Saponinler yapısal olarak glikan ve aglikan olmak üzere iki kısımdan oluşur. Aglikanda yapısına göre steroidal ve tritepenoidal olarak sınıflandırılır. Aglikan kısmında -OH,-COOH,-CH₃ gibi fonksiyonel gruplara sahiptirler (Olesezek W., 2002).

2.5.4. Alkoloidler

Alkaloitler tıpta ve ilaç sanayinde kullanılırlar. Bitkide oynadıkları savunmadan dolayı önemlidirler. Alkaloitler azot içeren bazik karakterli bileşikler olduğundan, bitkilerde organik asitlere bağlı olarak bulunurlar. Alkaloitler genelde sinir sistemine etki ederler, ağrı dindirici, kasılmaları çözücü, kısmen uyusturucu, kan dolaşımını hızlandırıcı ve kan dindirici etki göstermektedirler. Aşırı miktarda alınırsa zehirleyici etki yapar (Baydar H., 2005; Graham ve diğ., 2004; Özer ve diğ., 2004).

2.5.5. Taninler

Taninler bitkilerde bulunan azotsuz polifenolik yapıdaki bileşiklerdir. Birçok bitkide bulunur. Su, etanol ve asetonda erir. Bitkilerde kompleks halinde bulunur ki tannoid kompleksi (alkaloit veya proteinle beraber) adını alır. Bazıları ozlarla (şeker yapıları) birleşmişlerdir, bunlara da tannozit denir. Bitkinin tüm organları tanin taşıyabilir (Sieniawska ve Baj, 2017).

2.5.6. Karbonhidratlar

Karbonhidratlar, yeryüzünde en fazla bulunan biyomoleküllerdir. Karbonhidratların genel formülü (CH₂O)_n kapalı formülüne sahiptir, bazıları da azot, kükürt, fosfor içerir. Bitkilerde karbonhidratlar fotosentezin ilk ürünüdür ve çiçek oluşumundan kışın hücre yaşamına kök oluşumu ve büyümesinden vejetatif büyümeye birçok önemli rol oynamaktadır. Karbonhidratları meydana getiren şekerlerin ve depo maddesi olarak kullanılanların bitkiler üzerinde önemli etkileri olduğu bilinmektedir (Köksal A. ve diğ., 2001; Kaşka, N. 1968).

2.5.7. Proteinler

Proteinler, aminoasitlerin zincir halinde birbirlerine bağlanması sonucu oluşan büyük organik bileşiklerdir. Proteinler, aminoasitlerin yapıtaşlarından oluşan polimerlerdir. Proteinlerin en küçük yapı taşı aminoasit denir (Çetiner ve Bilek, 2018).

Kimyada bir aminoasit hem amin hem de karboksil fonksiyonel gruplar içeren bir moleküldür. Aminoasitlerin peptit bağlarıyla uç uca eklenmesiyle oluşturdukları kısa polimer zincirler "peptid", uzun polimer zincirler ise "polipeptid" veya "protein" olarak adlandırılırlar (Saldamlı ve Temiz, 2017).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma Ankara İli Güdül İlçesinde 2018 yılı Nisan-Haziran aylarında arazi çalışmasında doğal ortamından *Melissa officinalis* bitkisi toplandı. Toplanan bitki Ahi Evran Üniversitesi'nde Mikrobiyoloji Araştırma laboratuvarına ortamına nakledildi. Tür tayini Ahi Evran Üniversitesi Öğretim üyesi Ekrem AKTOKLU tarafından yapılmıştır. Taze toplanmış *Melissa officinalis*'in yaprakları önce laboratuvar ortamında kurutuldu. Daha sonra toz haline getirildi (Adebayo ve Ishola, 2009). Laboratuvar ortamında kurutulan *M. officinalis* ekstraksiyonu yöntemi kullanıldı.

3.1. Ekstrakt Hazırlanması

M. officinalis'in yaprakları beş gramlık toz haline getirildi. 25 ml steril damıtık su, 25 ml metanol ve 25 ml aseton 250 ml steril şişe içinde 24 saat oda sıcaklığında 150 rpm'de çalkalayıcı da döndürüldü. Ekstrakt süzüldü ve daha sonra 7 dakika süreyle 4400 rpm'de santrifüjlendi. Beher kabının başlangıç ağırlığı not edildi ve ekstraksiyon, soxhlet aparatından geçirildi. Çözücünün, tam buharlaşmaya ulaşana kadar 121 °C'de sıcak hava fırınında buharlaştırıldı ve son ağırlık ile başlangıç ağırlığı ekstraktın ağırlığını verdi.

3.1.1 AgNP'lerin Biyosentezi

9 ml sulu 1 mM gümüş nitrat (AgNO_3) içine 1 ml *M. officinalis* ekstraktı eklendi ve oda sıcaklığında sabit rotasyonla tutuldu. Solüsyondaki renk değişimi Ag NP'lerin oluşumunu ortaya çıkardı. Hazırladığımız bu ekstratları metanol, aseton, saf su ve kaynatılmış su olarak ayrı ayrı beherlere yerleştirdi. Bu beherlerdeki 1mM'lık ve 2mM'lık Gümüş Nitratlı çözeltiye eklendi.

0,017 AgNO_3 100 ml saf su için 5ml çözeltisi üzerine 100 ml. AgNO_3 ile tamamlandı.

0,85gr *Melissa officinalis*'e 500 ml saf su ile AgNO_3 eklendi.

5ml saf su 100 ml AgNO_3 , 5ml metanol 100 ml AgNO_3 , 5 ml aseton 100 ml AgNO_3

50 ml saf suyu 0,25 gr *Melissa officinalis* ile kaynatıldı. Daha sonra 8ml kaynatılmış saf su 100 ml AgNO_3 eklendi.



Şekil 3.1. *Melissssa officinalis*'in çalkalayıcıda ve 1mM'lık $AgNO_3$ *Melissssa officinalis* ekstrat çözeltileri

3.1.2. Besiyerlerinin Hazırlanması ve Saklanması

Besiyerleri, üretici firmanın belirlediği kurallara uyularak hazırlanmıştır. Otoklavdan çıkarılan katı besiyerleri daha önce pastör fırınında $240^{\circ}C$ de 1,5 saat kadar steril edilen petri kutularına steril şartlarda döküldü. Hazır hale getirilen besiyerlerinin soğuması beklendikten sonra $37^{\circ}C$ 'lik etüv de bir gün kadar bekletilerek kontaminasyona uğrayıp uğramadığının denetimi yapıldı. Temiz olan besiyerleri deneyimizde kullanılmak için buzdolabında saklandı.

3.1.3. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması

Biyosentezlenen $AgNP$ 'lerin antimikrobiyal aktivitesi, bakteri türlerine karşı agar kuyucuk difüzyon kullanılarak analiz edildi. TSB ortamı hazırlandı ve $180^{\circ}C$ 'de sterilize edildi. Yaklaşık 25 ml ortam, her sterilize edilmiş petri plakalarına aseptik olarak aktarıldı. Bakteriyel suşlar, pipet kullanılarak petri plakalarına yayıldı. Daha sonra, farklı numuneler (damıtılmış su, bitki ekstraktı biyosentezlenmiş $AgNP$ 'ler) 6 mm çapında açılmış kuyucuklara $75 \mu g$ ilave edildi. $37^{\circ}C$ de 24 - 48 saat inkübe edildi. 48 saat boyunca inhibisyon zonu, mm cinsinden ölçüldü ve kaydedildi.

3.1.4. Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemiyle Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Antimikrobiyal etkinliği agar kuyucuk difüzyon tekniği ile tespit edildi (Kalemba ve Kunicka, 2003). Petri kaplarına 20'şer mL 121°C'de 15 dk otoklavda dezenfekte duruma getirilen TSB agar döküldü. Agarın katılaşması beklenip ardından 0,5 McFarland bulanıklık standartı ile belirlenmiş 100 µL bakteri süspansiyonunun petri kaplarına ekimi yayma plak tekniğiyle gerçekleştirildi. Besiyerleri oda sıcaklığında kısa bir süre kurumaya bırakıldı. Akabinde besiyerlerine 6 mm çapındaki steril mikro pipet ucu yardımıyla 5'er tane kuyucuk açılmış ve bu kuyucukların hem diğerlerine hem de petri kutusunun kenarlarına eş mesafede olmasına dikkat edildi. Besiyerleri 35°C 'de 24 saat süreyle inkübe edildi.

Çalışmamız her mikroorganizma ve antimikrobiyal aktivitesi için üç kez yapıldı. *Melissa officinalis* 1 mM çözelti stoku ve 2 mM çözülden kullanıldı. 37 °C'de 24 saat inkübasyon neticesinde antimikrobiyal aktivitesi ölçüldü.

3.1.5. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Antimikrobiyal aktivite için bu çalışmada *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida glabrata* ATCC 90030, *Campylobacter jejuni*, *Candida tropicalis* M 007, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Klebsiella spp.*, *Listeria monocytogenes* ATCC 35152, *Pseudomonas aerogenosa* ATCC 27853, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966, *Proteus mirabilis* ATCC 29906, *Proteus vulgaris* ATCC 29905, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Saccharomyces boulardii* ATCC MYA-796, *Shigella dysenteria* ATCC 11835, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, bakterileri kullanıldı.

3.1.6. Kullanılan Kimyasal Madeler ve Çözücüler

Tryptic Soy Broth(TSB), metanol, aseton, AgNO₃, H₂SO₄, NaOH, CuSO₄, Kloroform, kurşun asetat kullanıldı.

3.2. Stok Hazırlığı

Ekstaktlardan 2 mg alındı, uygun çözücü de 20 ml'ye seyreltilir ve standart olarak kullanılmıştır. Daha sonra kullanım için 4 °C'de saklandı.

3.3. Ön Fitokimyasal Tarama

Stok çözeltileri, karbonhidratlar (Molisch testi), Protein (Biuret testi), alkaloid,(Wagner ve Dragendroff testi) flavonoidleri,, taninler, saponinler, ve terpenoidler (Salkowski testi) gibi fitokimyasal testlerde kullanıldı.

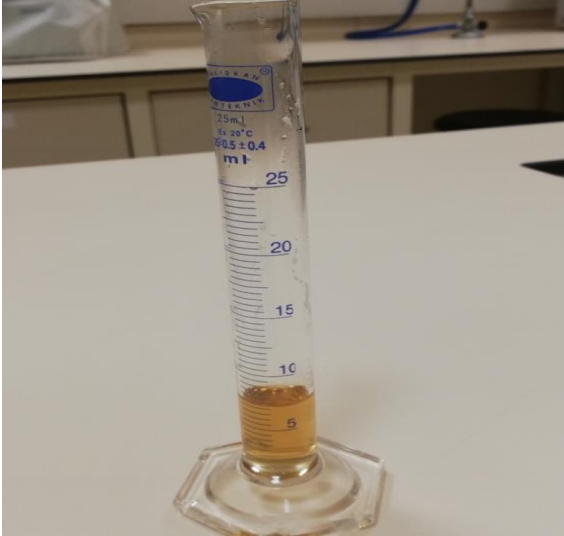
3.4. Tarama Prosedürü

M. officinalis'in saf su, kaynatılmış saf su, metanol ve aseton yaprakların ekstraktları, aşağıdaki yöntemlerle fitokimyasal bileşiklerin mevcudiyeti açısından tarandı.

3.5. Fitokimyasal Test

3.5.1. Flavonoit İçeriğinin Belirlenmesi

M. officinalis ekstraktının sulu filtratının bir kısmına 5 ml seyreltik amonyak çözeltisi ilave edildi ardından con. H_2SO_4 ilave edildi. Flavonoidlerin varlığını doğrulayan sarı bir renklenme gözlemlendi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: *M. officinalis* ekstratının Flavonoidler testi

3.5.2. Karbonhidratlar İçeriğinin Belirlenmesi

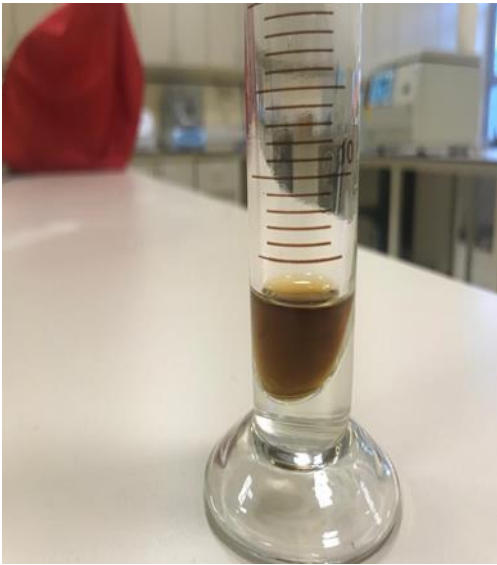
3.75 g 1-Naftol ($C_{10}H_8O$) 25 ml %99 etanol eklenerek molisch reaktifi elde edildi. Molisch reaktifinin 2 tanesi, *Melissa officinalis* ektratına 2 ml'sine eklendi ve 2 ml konsantrasyon sonra iyice çalkalandı Test tüpüne yandan H_2SO_4 ekledikçe iki katmanın birleştiği yerde kırmızımsı bir mor halka ortaya çıktı ve karbonhidratların varlığını gösterdi (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. *M. officinalis* ektratının Karbonhidrat Testi

3.5.3. Protein İçeriğinin Belirlenmesi

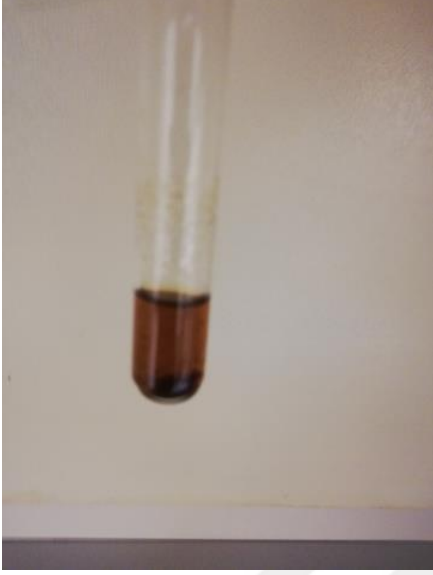
1 ml % 40'lık NaOH çözeltisi ve 1-2 damla% 1'lik $CuSO_4$ çözeltisi, her bir bitki ektratın 2 ml ilave edildi.. Mor bir renk, molekülün peptit bağının varlığını gösterdi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. *M. officinalis* ektratının Protein Testi

3.5.4. Alkaloidler İçeriğinin Belirlenmesi

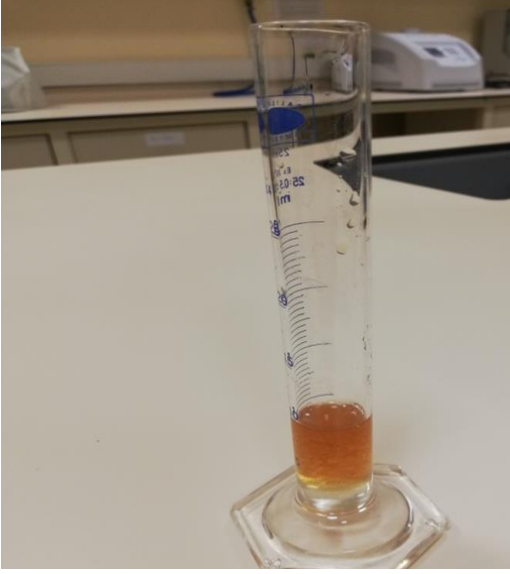
M. officinalis ekstraktına 2 ml'sinden % 1 HCl ve 6 damla Mayer'in reaktifi ve Dragendroff'un reaktifi eklendi. Organik bir çökelti, numunede alkaloidlerin varlığını gösterdi (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. *M. officinalis* ekstratının Alkaloidler testi

3.5.5. Terpenoidler İçeriğinin Belirlenmesi

M. officinalis ekstraktına 5 ml'sine 2 ml kloroform ve 3 ml H₂SO₄ 'e eklenildi ve ara yüzeyinin kırmızımsı kahverengi renklenmesi terpenoidler için pozitif sonuç oluşturduğu gösterdi (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. *M. officinalis* ekstratının Terpenoitler Testi

3.5.6. Tanninler İçeriğinin Belirlenmesi

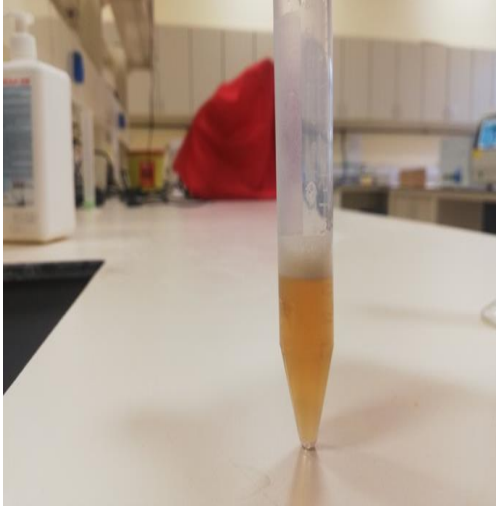
M. officinalis ekstraktına 5 ml özüt, birkaç damla% 1 kurşun asetata eklendi. Sarı bir çökelti oluştu, bu da tanninlerin varlığını gösterdi (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. *M. officinalis* ekstratının Tannin testi

3.5.7. Saponinler İçeriğinin Belirlenmesi

20 ml damıtılmış su ile *M. officinalis* ekstrakt, 15 dakika süreyle dereceli bir silindirde çalkalandı. 1 cm'lik köpük tabakasının oluştu ve saponinlerin varlığını gösterdi (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. *M. officinalis* ekstratının Saponinler için test

3.6. Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkisi

3.6.1. Mikrobiyal Suşların Toplanması

M. officinalis bitkisinin antimikrobiyal aktivitesinde 18 bakteri suşu kullanıldı. Bu mikrobiyal suşlar arasında şunlar yer alır. *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida glabrata* ATCC 90030, *Campylobacter jejuni*, *Candida tropicalis* M 007, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Klebsiella spp.*, *Listeria monocytogenes* ATCC 35152, *Pseudomonas aerogenosa* ATCC 27853, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966, *Proteus mirabilis* ATCC 29906, *Proteus vulgaris* ATCC 29905, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Saccharomyces boulardii* ATCC MYA-796, *Shigella dysenteria* ATCC 11835, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 kullanıldı. Ekstraktların in-vitro aktivitesi, seçilen bakteri suşlarına karşı denendi. Tüm ATCC suşları, 4 ° C'de NutrientBroth tüplerinde tutuldu. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliği, verilen suşlara karşı değerlendirildi. Nutrientbroth (NB) ve Muller Hinton Agar (MHA) mikroorganizmaların büyümesi için besi yeri olarak kullanıldı.

3.6.2. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

1 mM AgNO₃ çözeltisi hazırlandı ve koyu renkli şişede saklandı. 5 ml *M. officinalis* bitkinin ekstraktı ayrı ayrı alındı ve bu 50 ml 1mM AgNO₃ solüsyonu damla damla 50-60 °C'de sürekli karıştırarak ekledik ve renk değişimi gözlemlendi. Çözeltinin renk değişimi periyodik olarak kontrol ederek, daha sonra konik şişe oda sıcaklığında 48 saat süreyle

inkübe edildi. Yaprak ekstraktının sarıdan koyu kahverengiye dönüşümü, *M. officinalis* yapraklarından gümüş nanopartiküllerinin sentezini gösterildi.

3.6.2. Antimikrobiyal Test

M. officinalis yaprak ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi, Adeniye ve arkadaşları (1996) tarafından tarif edildiği gibi Agar well difüzyon tekniği kullanılarak test edildi. Daha sonra 0.1 ml seyreltilmiş mikrobiyal kültürler besin agar plakasına yayıldı. 6 mm çaplı kuyu, steril delici ile MHA agar plakaları aseptik olarak delindi. Steril mikropipet yardımı ile *M. officinalis* yaprak ekstraktları 0.1 ml, 0.2 ml, 0.3 ml'lik farklı konsantrasyonlarda (metanol, aseton, saf su ve kaynatılmış safsu ile) 100 µl kuyucuklara ilave edildi. Plakalara 24 saat 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, ortaya çıkan inhibisyon zonunun çapı ölçülerek ve ortalama değerler kaydedildi.

Antimikrobiyal aktivite için bitki ekstraktı (Kontrol), antibiyotik diskler (Standart), saf gümüş çözeltisi (1 mM AgNO₃), *M. officinalis*'in sentezlenmiş AgNP'leri de denemelerde kullanıldı ve plakalar 24 saat 37 °C'de inkübe edildi.

3.6.3. UV-görünür spektrum analizi

Metalik nano parçacıkların karakterizasyonu UV-Visible spektroskopisi (Shimazu 2401PC) kullanılarak gerçekleştirildi. Spektrumlar 300 ile 800 nm arasında UV-Görünür çift ışınli spektrofotometre üzerinde kaydedildi.

3.7. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Testi

3.7.1. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması

Antimikrobiyal aktivite tespit etmede kullanılacak bakteri suşları Tryptic Soy Broth (TSB) sıvı besiyerine ekilerek besiyeri ortamında 37°C'de 24 saat inkübe edilerek aktifleştirildi. Sıvı kültürde üretilen bakteriler Tryptic Soy Broth agar katı besiyerine ekilerek çalışmalarda kullanılmak üzere stok kültürler hazırlanıp ve +4°C'de saklandı.

3.7.2. Agar Disk Difüzyon Yöntemiyle Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivitenin tespit edilmesinde ayrıca disk difüzyon tekniği de kullanıldı. Bu yöntemde; bakterilerin TSB sıvı besiyerine ekilen ve bir gece etüvde üreyen bakteri kültürlerinden 100 µl alınarak TSB Agar katı besiyeri içeren petrilere yayma ekim yapıldı

(Sandri ve diğ. 2007). Önceden hazırlanan 5 mg/ml konsantrasyonlardaki bitki ekstraktlarından 10 ar µl steril boş disklerle 6 mm emdirilip petrilere yerleştirildi. Petriler 37°C’de 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra petrilereki disklerin etrafında oluşan zonların çapı mm cinsinden ölçüldü.

3.8. Antioksidan Aktivite

DPPH Testi *M. officinalis* yaprak ekstraktı 1 ml çözelti alındı. *M. officinalis* ekstraktları %50, %25 ve %12,5 derişiminde metanollü çözelti oluşturuldu. Çözeltiyi karıştırıcıda karıştırıldı. 0,04 gr DPPH radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) 100 ml metanol ile çözelti oluşturuldu. 1ml *M. officinalis* ekstraktına 3ml DPPH radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) eklendi. Daha sonra 517 nm UV-Görünür çift ışınli spektrofotometresinde absorbans değerlerini ölçüldü.

AgNP’lerin antioksidan aktivitesi aşağıdaki formül ile hesapladı.

$$\text{DPPH (\%)} = \frac{(\text{Absorbans kontrol} - \text{Absorbans test}) \times 100}{(\text{Absorbans kontrol})}$$

4. BULGULAR

4.1 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

M. officinalis ekstraktları 1mM AgNO₃ ve 2 mM AgNO₃ ayrı ayrı agar kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal etkilerine bakıldı.

M. officinalis'den elde edilen metanol, aseton, safsu, kaynatılmış saf su ekstraktları AgNO₃ eklenerek mikrobiyalsuşlara uygulandı ve antimikrobiyal etkileri belirlendi. Agar kuyucuk difüzyon yöntemine göre oluşan zon mm çapları Tablo 4.1 ile Tablo 4.6 arasında belirtildi.

Disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitesi deneyi yapıldı. *M.officinalis*'in antimikrobiyal aktivite özelliği metanol, aseton, saf su ve kaynatılmış safsu karışımları ile gözlemlendi. Yapılan bu sonuçlar Tablo 4.1 ile Tablo 4.6 arasındaki gibi gözlemlendi. Gümüş nitratın molaritesi arttıkça tablolarda olduğu gibi bakterilerin dirençlerini düşüğünü ve *M.officinalis*'in antimikrobiyal aktivite özellikleri arttığı gözlemlendi. Antimikrobiyal özelliği en iyi metanollü ekstraktlarda olduğu gözlemlendi.

Sentezlenen nanopartikülde genel olarak *C. glabrata*, *C. albicans*, *P. aeruginosa* türlerine karşı daha etkili oldu. AgNO₃ derişimi arttıkça antimikrobiyal etkisinin arttığı görüldü. Metanollü ekstraktalarda iyi bir antimikrobiyal etkinin olduğu zon çapları ölçülmesiyle görüldü.

Antimikrobiyal aktivitenin kuvvetli olduğu zon çapları ile belirlenir. Gümüş nanopartiküllü *M.officinalis*'lerin antimikrobiyal aktivitelerinin artması için AgNO₃ derişiminin artması gerektiği görüldü. *C. glabrata*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*'a karşı *M.officinalis*'lerin iyi antimikrobiyal olduğu görülmektedir.

Tez çalışmasında tespit edilmiş olan bilimsel veriler, IBM SPSS 25 istatistiksel analiz programında One-Way Anova yöntemiyle analiz edildi.

Tablo 4.1. *M. officinalis*'in yaprak ekstraktı +1mM AgNO₃'den sentezlenen AgNP 'nin Zon çapları (mm) Antimikrobiyal Aktivitesi

1mM AgNO ₃	Ekstraktlı Aseton-1	Ekstraktlı Metanol-1	Ekstraktlı Saf Su-1	Ekstraktlı K. Saf Su-1	AgNO ₃
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	9,7	10,1	9,7	7,2	20
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	10,1	10,3	15,8	0	15
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	14,6	15,7	25,2	0	0
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	16,3	20,2	14,7	0	20
<i>S. dysenteriae</i> ATCC 11835	0	0	0	0	10
<i>Klebsiella</i> spp.	15,1	14,7	0	0	0
<i>S. aureus</i> ATCC 85923	0	0	0	0	15
<i>P.vulgaris</i> ATCC 29905	10,3	10,4	9,8	0	5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0	0	0	0	5
<i>S. boydii</i> ATCC MYA-796	15,4	20,1	20,1	14,8	15
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 35152	9,8	0	0	0	15
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	0	0	15,2	0	10
<i>C. jejuni</i>	10,1	9,7	0	0	0
<i>P. mirabilis</i> ATCC 29906	0	0	0	0	0
<i>C .tropicalis</i> M 007	24,6	20,1	20,3	0	30
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7966	15,3	0	0	0	0
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	15,1	15,2	0	0	5
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0	15,1	0	0	15

Tablo 4.2. *M. officinalis*'in yaprak ekstraktı +1mM AgNO₃'den sentezlenen AgNP 'nin Zon çapları (mm) Antimikrobiyal Aktivitesi

1mM AgNO ₃	Ekstraktlı Aseton-2	Ekstraktlı Metanol-2	Ekstraktlı Saf Su-2	Ekstraktlı K. Saf Su-2	AgNO ₃
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	10,3	9,7	9,9	6,9	20
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	10,2	10,1	16,1	0	15
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	15,2	16,4	25,1	0	0
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	16,2	20,1	15,2	0	20
<i>S. dysenteriae</i> ATCC 11835	0	0	0	0	10
<i>Klebsiella</i> spp.	15,2	14,9	0	0	0
<i>S. aureus</i> ATCC 85923	0	0	0	0	15
<i>P.vulgaris</i> ATCC 29905	10,1	9,9	9,9	0	5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0	0	0	0	5
<i>S. boydii</i> ATCC MYA-796	14,9	20,4	20,1	14,9	15
<i>L.monocytogenes</i> ATCC 35152	9,9	0	0	0	15
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	0	0	14,9	0	10
<i>C. jejuni</i>	9,7	9,9	0	0	0
<i>P. mirabilis</i> ATCC 29906	0	0	0	0	0
<i>C .tropicalis</i> M 007	25,2	19,8	19,9	0	30
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7966	14,8	0	0	0	0
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	14,7	14,9	0	0	5
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0	15,3	0	0	15

Tablo 4.3. *M. officinalis*'in yaprak ekstraktı +1mM AgNO₃'den sentezlenen AgNP 'nin Zon çapları (mm) Antimikrobiyal Aktivitesi

1mM AgNO ₃	Ekstraktlı Aseton-3	Ekstraktlı Metanol-3	Ekstraktlı Saf Su-3	Ekstraktlı K. Saf Su-3	AgNO ₃
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	10	10,2	10,4	6,9	20
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	9,7	9,6	16,1	0	15
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	15,2	15,9	24,7	0	0
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	15,5	19,7	15,1	0	20
<i>S. dysenteriae</i> ATCC 11835	0	0	0	0	10
<i>Klebsiella</i> spp.	14,7	15,4	0	0	0
<i>S. aureus</i> ATCC 85923	0	0	0	0	15
<i>P.vulgaris</i> ATCC 29905	9,6	9,7	10,3	0	5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0	0	0	0	5
<i>S. boydii</i> ATCC MYA-796	14,7	19,5	19,8	15,3	15
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 35152	10,3	0	0	0	15
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	0	0	14,9	0	10
<i>C. jejuni</i>	10,2	10,4	0	0	0
<i>P. mirabilis</i> ATCC 29906	0	0	0	0	0
<i>C. tropicalis</i> M 007	25,2	20,1	19,8	0	30
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7966	14,9	0	0	0	0
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	15,2	14,9	0	0	5
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0	14,7	0	0	15

Tablo 4.4. *M. officinalis*'in yaprak ekstraktı +2mM AgNO₃'den sentezlenen AgNP'nin Zon çapları (mm) Antimikrobiyal Aktivitesi

2mM AgNO ₃	Ekstraktlı Aseton-1	Ekstraktlı Metanol-1	Ekstraktlı Saf Su-1	Ekstraktlı K. Saf Su-1	AgNO ₃
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	14,7	20,1	14,7	20,2	20
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	15,1	15,3	9,8	15,2	15
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	9,7	14,7	0	0	0
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	20,1	20,2	20,1	20,1	20
<i>S. dysenteriae</i> ATCC 11835	9,7	5,2	15,1	0	10
<i>Klebsiella</i> spp.	9,8	9,7	9,8	0	0
<i>S. aureus</i> ATCC 85923	0	15,1	10,1	9,8	15
<i>P.vulgaris</i> ATCC 29905	10,3	10,4	9,8	0	5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	9,7	5,1	9,8	5,2	5
<i>S. boydii</i> ATCC MYA-796	10,1	15,4	15,1	14,8	15
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 35152	0	20,1	20,2	14,7	15
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	10,1	9,7	9,7	0	10
<i>C. jejuni</i>	0	0	0	0	0
<i>P. mirabilis</i> ATCC 29906	0	15,1	9,8	10,3	0
<i>C .tropicalis</i> M 007	29,6	30,1	30,3	30,3	30
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7966	0	0	0	0	0
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	5,3	0	4,8	5,3	5
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	15,3	9,6	14,7	0	15

Tablo 4.5. *M. officinalis*'in yaprak ekstraktı +2mM AgNO₃'den sentezlenen AgNP 'nin Zon çapları (mm) Antimikrobiyal Aktivitesi

2mM AgNO ₃	Ekstraktlı Aseton-2	Ekstraktlı Metanol-2	Ekstraktlı Saf Su-2	Ekstraktlı K. Saf Su-2	AgNO ₃
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	15,3	19,7	14,9	19,9	20
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	15,2	15,1	10,1	15,1	15
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	9,9	15,4	0	0	0
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	19,7	20,1	20,1	19,7	20
<i>S. dysenteriae</i> ATCC 11835	9,9	4,7	15,3	0	10
<i>Klebsiella</i> spp.	10,1	9,9	9,9	0	0
<i>S. aureus</i> ATCC 85923	0	14,7	9,8	9,9	15
<i>P.vulgaris</i> ATCC 29905	10,1	9,9	9,9	0	5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	9,9	5,2	10,1	4,6	5
<i>S. boydii</i> ATCC MYA-796	9,7	14,9	14,7	14,9	15
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 35152	0	19,7	20,1	15,4	15
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	9,7	9,9	9,9	0	10
<i>C. jejuni</i>	0	0	0	0	0
<i>P. mirabilis</i> ATCC 29906	0	14,7	9,9	10,1	0
<i>C .tropicalis</i> M 007	29,8	30,1	29,6	30,2	30
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7966	0	0	0	0	0
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	4,6	0	4,9	5,2	5
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	15,1	9,9	15,3	0	15

Tablo 4.6. *M. officinalis*'in yaprak ekstraktı +1mM AgNO₃'den sentezlenen AgNP 'nin Zon çapları (mm) Antimikrobiyal Aktivitesi

2mM AgNO ₃	Ekstraktlı Aseton-3	Ekstraktlı Metanol-3	Ekstraktlı Saf Su-3	Ekstraktlı K. Saf Su-3	AgNO ₃
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	15	20,2	15,4	19,9	20
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	14,7	14,6	10,1	14,7	15
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10,4	14,9	0	0	0
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	20,2	19,7	19,8	20,2	20
<i>S. dysenteriae</i> ATCC 11835	10,4	5,1	14,7	0	10
<i>Klebsiella</i> spp.	10,1	10,4	10,3	0	0
<i>S. aureus</i> ATCC 85923	0	15,2	10,1	10,3	15
<i>P. vulgaris</i> ATCC 29905	9,6	9,7	10,3	0	5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	10,4	4,7	10,1	5,2	5
<i>S. boydii</i> ATCC MYA-796	10,2	14,7	15,2	15,3	15
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 35152	0	20,2	19,7	14,9	15
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	10,2	10,4	10,4	0	10
<i>C. jejuni</i>	0	0	0	0	0
<i>P. mirabilis</i> ATCC 29906	0	15,2	10,3	9,6	0
<i>C. tropicalis</i> M 007	30,6	29,8	30,1	29,5	30
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7966	0	0	0	0	0
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	5,1	0	5,3	4,5	5
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	14,6	10,5	15	0	15

Tablo 4.7. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar üzerinde kullanılan farklı 1mM AgNO₃ çözeltilerinin istatistiksel sonuçları

1mM AgNO ₃	
UYGULAMALAR	p değeri
Ekstraktlı Aseton-1	0,11
Ekstraktlı Aseton-2	0,09
Ekstraktlı Aseton-3	0,091
Ekstraktlı Metanol-1	0,365
Ekstraktlı Metanol-2	0,397
Ekstraktlı Metanol-3	0,362
Ekstraktlı Saf Su-1	0,675
Ekstraktlı Saf Su-2	0,68
Ekstraktlı Saf Su-3	0,671
Ekstraktlı K. Saf Su-1	0,763
Ekstraktlı K. Saf Su-2	0,772
Ekstraktlı K. Saf Su-3	0,777

IBM SPSS 25 istatistiksel analiz programında One-Way Anova yöntemiyle analize göre p değeri 0,05'den küçükse istatistiksel olarak anlamlıdır. 1mM AgNO₃ *M. officinalis*'in yaprak ekstrakt p değerleri 0,05'den büyük olduğu için gümüş nitrat uygulamalarında anlamlı değer bulunmamaktadır.

Tablo 4.8:Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar üzerinde kullanılan farklı 2 mM AgNO₃ çözeltilerinin istatistiksel sonuçları

2mM AgNO ₃	
UYGULAMALAR	p değeri
Ekstraktlı Aseton-1	0,009
Ekstraktlı Aseton-2	0,009
Ekstraktlı Aseton-3	0,007
Ekstraktlı Metanol-1	0,003
Ekstraktlı Metanol-2	0,002
Ekstraktlı Metanol-3	0,003
Ekstraktlı Saf Su-1	0,22
Ekstraktlı Saf Su-2	0,26
Ekstraktlı Saf Su-3	0,24
Ekstraktlı K. Saf Su-1	0,002
Ekstraktlı K. Saf Su-2	0,003
Ekstraktlı K. Saf Su-3	0,002

IBM SPSS 25 istatistiksel analiz programında One-Way Anova yöntemiyle analize göre p değeri 0,05'den küçükse istatistiksel olarak anlamlıdır. 2mM AgNO₃ *M. officinalis*'in yaprak ekstraktta anlamlı veri bulunmaktadır.

M. officinalis yaprak ekstraktı Aseton-1 p değeri 0,009 olduğu için gümüş nitrat uygulamasına göre anlamlıdır. *M. officinalis* yaprak ekstraktı Aseton-2 p değeri 0,009 olduğu için gümüş nitrat uygulamasına göre anlamlıdır. *M. officinalis* yaprak ekstraktı Aseton-3 p değeri 0,009 olduğu için gümüş nitrat uygulamasına göre anlamlıdır. *M. officinalis* yaprak ekstraktı Metanol-1 p değeri 0,003 olduğu için gümüş nitrat uygulamasına göre anlamlıdır. *M. officinalis* yaprak ekstraktı Metanol-2 p değeri 0,002 olduğu için gümüş nitrat uygulamasına göre anlamlıdır. *M. officinalis* yaprak ekstraktı Metanol-3 p değeri 0,003 olduğu için gümüş nitrat uygulamasına göre anlamlıdır. *M. officinalis* yaprak ekstraktı saf su p değerleri 0,05 büyük olduğu için gümüş nitrat uygulamasına göre anlamlı değildir. *M. officinalis* yaprak ekstraktı K.Saf.Su-1 p değeri 0,002 olduğu için gümüş nitrat uygulamasına göre anlamlıdır. *M. officinalis* yaprak

ekstraktı K.Saf. Su-2 p değeri 0,003 olduğu için gümüş nitrat uygulamasına göre anlamlıdır. *M. officinalis* yaprak ekstraktı K.Saf. Su-3 p değeri 0,002 olduğu için gümüş nitrat uygulamasına göre anlamlıdır.

Tablolarda Bakteri ve bazı mayaların zon çapları ölçüm sonucu gösterilmektedir. Bu Sonuçlara bakarak antimikrobiyal aktivitelerinin metanol ekstraktlı, aseton ekstraktlı, saf su ekstraktlı ve kaynatılmış saf su ekstraktlılarda ayrı ayrı sonuçları görülmektedir.

M.officinalis'lerin Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri tablolarda zon çapları görüldü. *M. officinalis* metanollu ekstraktlarda daha iyi antimikrobiyal etkileri görüldü.. *C. glabrata*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*'a, *L. monocytogenes*'e karşı iyi anti mikrobiyal aktivite olduğu gözlemlendi.Tablo 4.2' de daha net şekilde antimikrobiyal etkileri daha net şekilde görüldü.



Şekil 4.1. 1mM AgNO₃ *P.aeruginosa* (ATCC27853)'nın antimikrobiyal aktivitesi

Aseton, metanol, saf su ve kaynatılmış saf su ile oluşturulan ekstraktların *P.aeruginosa* (ATCC27853) zon çapları metanol ekstraktında 15 mm, aseton ekstraktında 16 mm ve saf su ekstraktında 25 mm'dir. Antimikrobiyal aktivitesi Şekil 4.1'de görülmektedir.



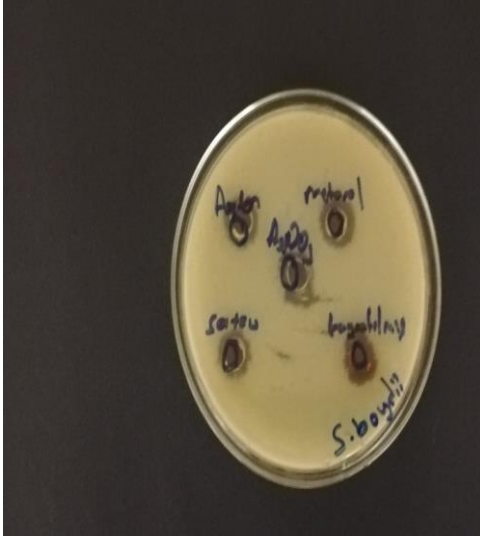
Şekil 4.2. 1mM AgNO₃ *C. tropicalis* M007'nin antimikrobiyal aktivitesi

Aseton, metanol, saf su ve kaynatılmış saf su ile oluşturulan ekstraktların *C. tropicalis* zon çapları metanollü ekstraktta 25 mm asetonlu ekstraktta 20 mm ve saf sulu ekstraktta 20 mm'dir. Antimikrobiyal aktivitesi Şekil 4.2'de görülmektedir.



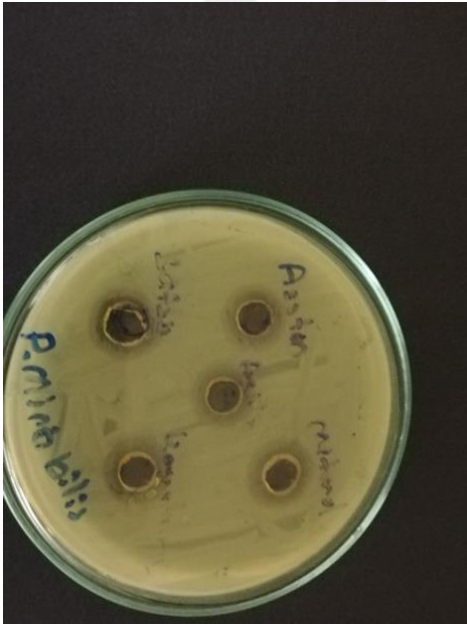
Şekil 4.3. 1mM AgNO₃ *S. epidermidis* ATCC 12228 'nin antimikrobiyal aktivitesi

Aseton, metanol, saf su ve kaynatılmış saf su ile oluşturulan ekstraktların *S. epidermidis*'nin zon çapları asetonlu ekstraktta 15 mm metanollü ekstraktta 15mm'dir. Antimikrobiyal aktivitesi Şekil 4.3'de görülmektedir.



Şekil 4.4. 2mM AgNO₃ *S. boydii* ATCC MYA-796'nın antimikrobiyal aktivitesi

Aseton, metanol, saf su ve kaynatılmış saf su ile oluşturulan ekstraktların *S. boydii*'nin zon çapları metanollü ekstraktta 15 mm asetonlu ekstraktta 10 mm saf sulu ekstraktta 15 mm kaynatılmış saf sulu ekstraktta 15 mm AgNO₃'de 15 mm'dir. Antimikrobiyal aktivitesi Şekil 4.4'de görülmektedir.



Şekil 4.5. 2mM AgNO₃ *Proteus Mirabilis* ATCC 29906' nın antimikrobiyal aktivitesi

Aseton, metanol, saf su ve kaynatılmış saf su ile oluşturulan ekstraktların *Proteus Mirabilis*'nin zon çapları asetonlu ekstraktta 15 mm saf sulu ekstraktta 10mm ve kaynatılmış saf sulu ekstraktta 10 mm'dir. . Antimikrobiyal aktivitesi Şekil 4.5'de görülmektedir.



Şekil 4.6. 2mM AgNO₃ *C. parapsilosis* M006 'nın antimikrobiyal aktivitesi

Aseton, metanol, saf su ve kaynatılmış saf su ile oluşturulan ekstraktların *C. parapsilosis*'nin zon çapları metanollu ekstraktında 20 mm asetonlu ekstraktında 15mm saf sulu ekstraktında 15 mm kaynatılmış saf sulu ekstraktında 20 mm ve AgNO₃'de 20 mm'dir. . Antimikrobiyal aktivitesi Şekil 4.6'da görülmektedir.

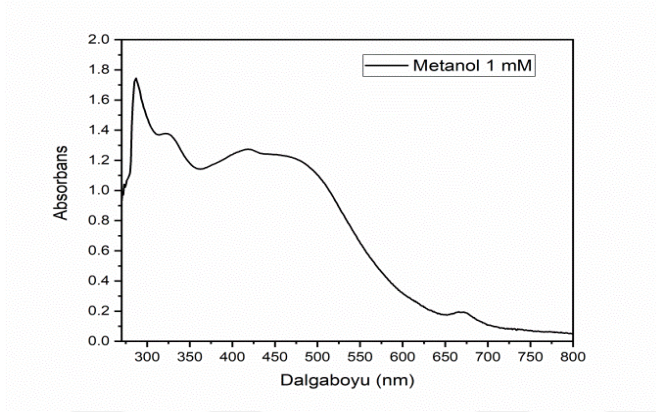


Şekil 4.7. 2mM AgNO₃ *L. monocytogenes* ATCC 35152 'nin antimikrobiyal aktivitesi

Aseton, metanol, saf su ve kaynatılmış saf su ile oluşturulan ekstraktların *L. monocytogenes*'nin zon çapları metanollu ekstraktında 20mm saf sulu ekstraktında 20 mm kaynatılmış saf sulu ekstraktında 15 mm AgNO₃'de 15 mm'dir. . Antimikrobiyal aktivitesi Şekil 4.7'de görülmektedir.

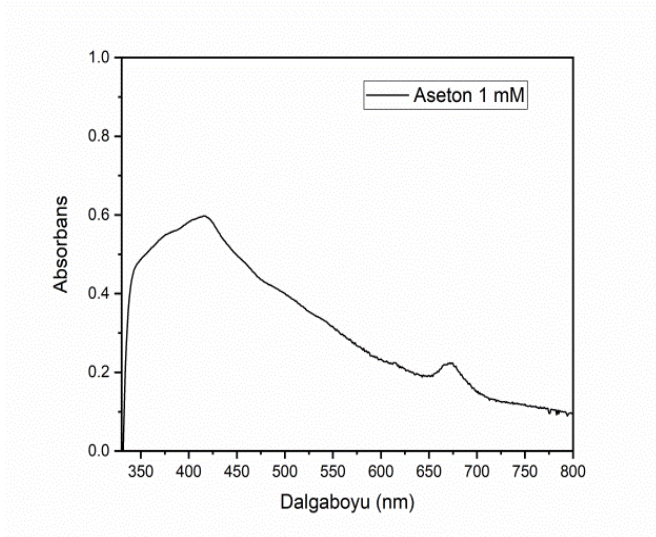
4.2. UV-Vis Spektrofotometre Analizi

Metanollü *M. officinalis* yaprak ekstraktının 450 nm'deki Maksimum noktaya çıktığı Şekil 4.8'de görülmektedir.



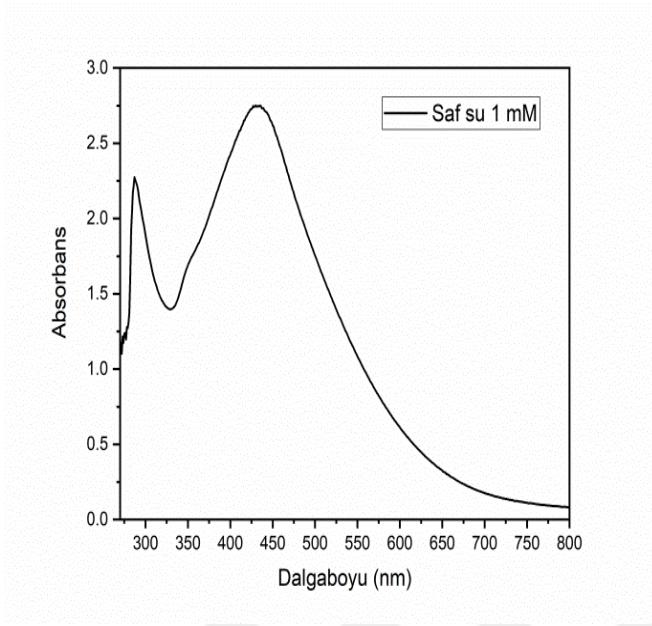
Şekil 4.8. Metanollü *M. officinalis* yaprak ekstraktından sentezlenen (1mM AgNO₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları.

Asetonlu *M. officinalis* yaprak ekstraktının 450 nm'deki Maksimum noktaya çıktığı Şekil 4.9'da görülmektedir.



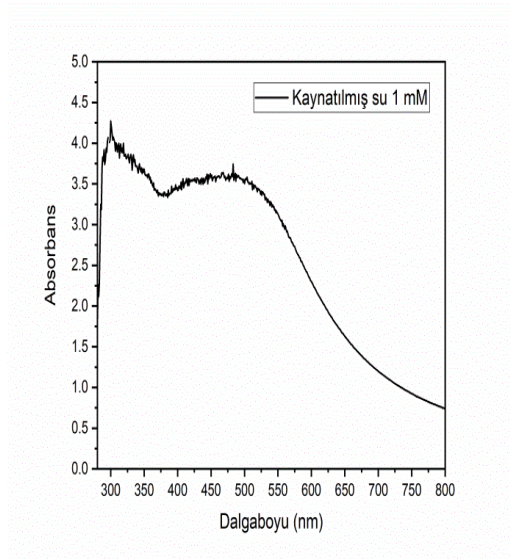
Şekil 4.9. Asetonlu *M. officinalis* yaprak ekstraktından sentezlenen (1mM AgNO₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları.

Saf sulu *M. officinalis* yaprak ekstraktının 450 nm'deki Maksimum noktaya çıktığı Şekil 4.10'da görülmektedir.



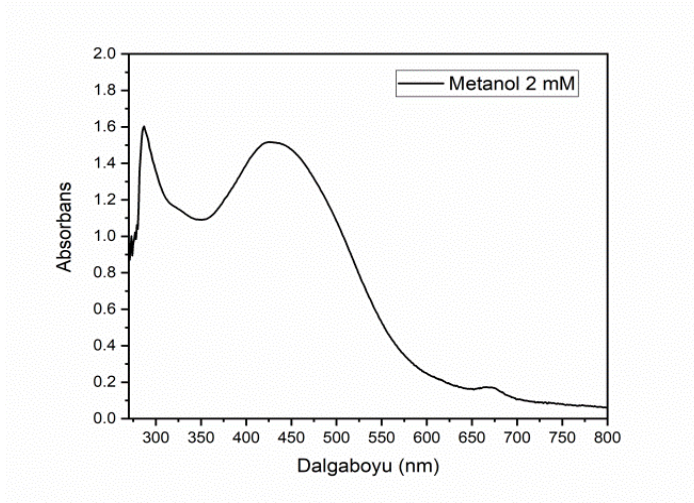
Şekil 4.10. Saf Sulu *M. officinalis* yaprak ekstraktından sentezlenen (1 mM AgNO_3) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları.

Kaynatılmış Saf sulu *M. officinalis* yaprak ekstraktının 450 nm'deki Maksimum noktaya Şekil 4.11'de çıktığı görülmektedir.



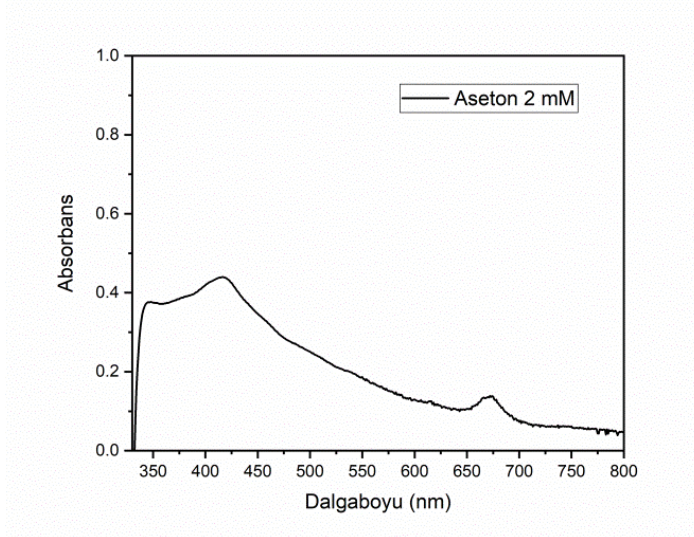
Şekil 4.11. Saf Su ile kaynatılmış *M. officinalis* yaprak ekstraktından sentezlenen (1 mM AgNO_3) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları.

Metanollü *M. officinalis* yaprak ekstraktının 2mM AgNO₃ nanopartiküllerin 450 nm'deki Maksimum noktaya çıktığı Şekil 4.12'de görülmektedir.



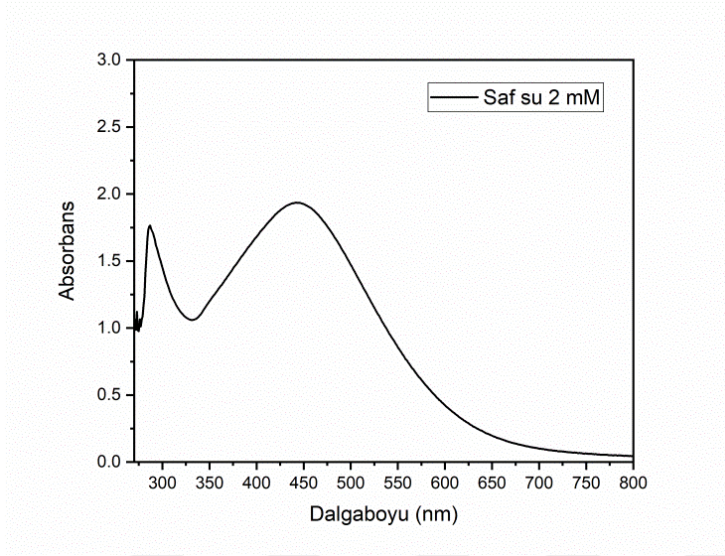
Şekil 4.12. Metanollü *M. officinalis* yaprak ekstraktından sentezlenen (2mM AgNO₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları

Asetonlu *M. officinalis* yaprak ekstraktının 2mM AgNO₃ nanopartiküllerin 450 nm'deki Maksimum noktaya çıktığı Şekil 4.13'de görülmektedir.



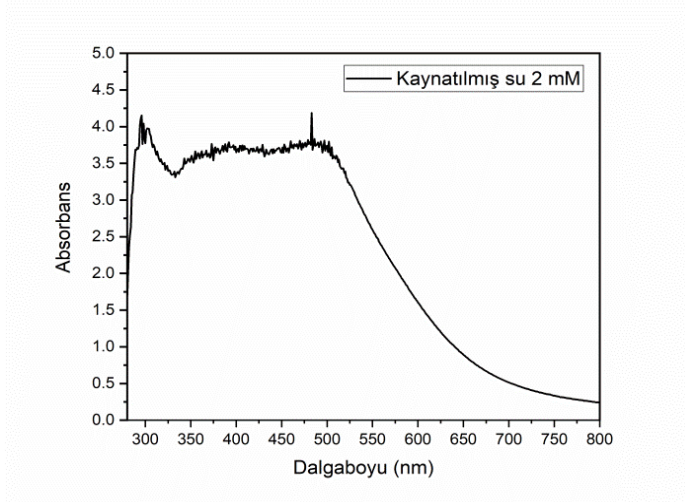
Şekil 4.13. Asetonlu *M. officinalis* yaprak ekstraktından sentezlenen (2mM AgNO₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları

Saf sulu *M. officinalis* yaprak ekstraktının 2mM AgNO₃ nanopartiküllerin 450 nm'deki Maksimum noktaya çıktığı Şekil 4.14'de görülmektedir.



Şekil 4.14. Saf Sulu *M. officinalis* yaprak ekstraktından sentezlenen (2mM AgNO₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları

Kaynatılmış Saf sulu *M. officinalis* yaprak ekstraktının 2mM AgNO₃ nanopartiküllerin 450 nm'deki Maksimum noktaya çıktığı Şekil 4.15'de görülmektedir.



Şekil 4.15. Saf Su ile kaynatılmış *M. officinalis* yaprak ekstraktından sentezlenen (2mM AgNO₃) gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları

M. officinalis'lerin UV-Visible spektroskopisi verilerine bakıldığında 450 nm'de maksimum noktaya ulaştığı görüldü.

UV-Visible spektroskopisi saf su, metanol, aseton ve kaynatılmış saf sulu *M. officinalis*'lerin 1mM ve 2mM çözeltilerinde bakıldı. UV-Visible spektroskopisi verilerine bakıldığında, şekillerde *M. officinalis* ekstraktlarının uv spektrofotometresin de 430 ile 500 arasında pik noktaya ulaştığı görülmektedir.

Molar derişimi arttıkça pik noktasına daha erken çıktığı görülmektedir. En kısa zamanda Aseton çözeltisi maksimum noktaya çıkarken en geç olarak maksimum noktaya da kaynatılmış saf sulu çözelti çıktığı görüldü.

4.3. Antioksidan Aktivite

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

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

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

Bu çalışmada antimikrobiyal, antioksidan aktivite ve fitokimyasallar için *M. officinalis* bitkisi değerlendirildi. DPPH oda sıcaklığında 517 nm'de karakteristik emiciliği olan mor renkli bir serbest radikaldir. *M. officinalis*'in yaprak ekstraktları, DPPH serbest radikali üzerinde konsantrasyona bağlı olarak anlamlı bir etki gösterdi. Denede kullanılan standart antioksidanlar ile karşılaştırıldığında, ekstrakt nispeten düşük DPPH serbest radikalleri arttırma potansiyeli gösterdi. *M. officinalis* 'in yaprak ekstraktlarının bu DPPH radikal temizleme aktivitesi, reaktif radikal türlerinin, duyarlı biyolojik ve gıda sistemlerinde DNA, protein, çoklu doymamış yağ asitleri ve şekerler gibi biyomoleküllere zarar vermesini önleyebilir (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. DPPH Testinde *M. officinalis*'in AgNP ve metanol ekstraktının antioksidan aktivitesinin Absorbance Değerleri

Absorbance (nm)		<i>M. officinalis</i>
Concentration (g/L)	Askorbik Asit	AgNP
12,5	0.116	1.246
25	0.034	0.887
50	0.041	0.901
100	0.035	0.215

M. officinalis'in ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin absorbans değerleri yukarıda Tablo 4.9' da verildi. Bu absorbans değerleri iyi bir antioksidan olan askorbik asit ile karşılaştırıldı. Absorbans değerleride görüldüğü gibi *M. officinalis*'in ekstraktlarının antioksidan aktivesi olduğu gösterdi.

4.4. Fitokimyasal Tayin

Fitokimyasal taramalarına göre flavonoidlerin varlığını *M. officinalis*'in yaprak kısmında sarı bir renklenme gözlemlendi, *M. officinalis*'in karbonhidrat taramasında kırmızımsı bir mor halka gözlemlendi. *M. officinalis*'in ekstraktlarında protein taraması sonucunda mor bir renk elde edilmesi yaprak ekstraktlarında pozitif olarak görüldü. *M. officinalis*'in ekstraktlarında terpenoidlerin kuvvetli pozitif olarak bulundu. *M. officinalis*'in yaprak ekstraktında sarı bir çökelti tanenlerin varlığını gösterdi. *M. officinalis*'in yaprak ekstraktında organik bir çökelti alkaloidlerin varlığını gösterdi (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. *M. officinalis* ekstraktlarında Fitokimyal Tarama Sonuçları

Fitokimyasallar	Test	Sonuç
Flavonoidler	Sihinoda	+
Terpenoidler	Salkwaski	+
Saponin	Frothing	+
Tanin	Ferric Chloride	+
Karbonhidrat	Molish	+
Protein	Biüret	+
Alkoloidler	Dragendroff	+

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

Oksidatif stres ile ilgili hastalıkların tedavisi için Peru Amazonları bitkiler geleneksel olarak, kanser, diyabet, kardiyovasküler, enflamatuar ve nörodejeneratif hastalıklar da kullanılmıştır (Duke ve diğ.,2009; Neri ve diğ., 2013).

Antioksidan aktiviteye ek olarak birçok fenolik bileşik antikanser veya antikarsinojenik/antimutagenik aktivitelerini daha fazla veya daha az ölçüde gösterdiği gösterilmiştir. Reaktif oksijen türleri (ROS) insanda çok çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. Flavonoidlerin antioksidan aktivite gösterdiği ve beslenme ve sağlığı üzerindeki etkileri oldukça fazladır (Pourmorad ve diğ. ,2006). Bazı çalışmalar fenolik bileşiklerden zengin şifalı bitkilerin antioksidan özelliklerini tanımlamıştır (Nijveldt ve diğ., 2001; Rong ve Zeyuan, 2004).

Fitokimyasal taramanın sonuçlarına göre, alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin ve tanen, bitkide aktif bileşenlerin varlığını belirlendi (Tablo 4.10). *M. officinalis* 'de bu fitokimyasalların bulunmasından dolayı antimikrobiyal ve antioksidan aktivitenin de olabileceğinin bir göstergesidir. Fenolik bileşiklerin, renk, tat, aroma ve aroma değiştirmede ve ayrıca sağlığa yararlı etkiler sağlamada kalite ve besin değerine katkıda bulunduğuna inanılmaktadır.

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

Spesifik tıbbi bitkilerin bileşiklerinin tanımlanması, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye gözlenebilmesi bu bitkilerin gelecek de halk sağlığı üzerinde rollerinin etkili olacağının bir göstergesidir.

AgNP'lerin yeşil sentezi, *M. officinalis* yaprak, ekstraktı kullanılarak gerçekleştirildi. Bu şekilde bitki ekstraktı ile nanopartikül sentezi, maliyet açısından etkili, çevre dostu ve kullanımı kolay olduğu için bilinen dirençli antibiyotiklerden daha avantajlıdır. Bu nanopartiküller, Gram pozitif bakterilere karşı güçlü inhibisyon etki gösterdi. AgNP'lerin biyomedikal özelliklerini geliştirmek için sentez mekanizması ve antimikrobiyal aktivite mekanizmaları hakkında daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bu çalışma ayrıca *M. officinalis* 'in ekstraktlarının fitokimyasalları farmasötik ürünler için ana kaynak olarak hizmet edebilir, bu nedenle bitki türleri, çeşitli kronik hastalıklar için terapi görevi yapmak için muazzam bir potansiyele sahip olabilir. *M. officinalis*'in ekstraktları antimikrobiyal ve antioksidan aktivite umut verici olup, yeni antioksidan ve antimikrobiyal ilaçlar elde etmek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada mikroorganizma olarak Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Mikrobiyoloji Labraturunda bulunan mikroorganizmalarından yararlanıldı. Ayrıca Ankara ili Gdl ilçesinden toplanan *M. officinalis* endemik bitkisinden bu çalışmada kullandık.

Gerek yurtdışında gerekte Türkiye'de tıbbi aromatik bitkilerde yapılan araştırma ve çalışmalarda antimikrobiyal aktivite ve antioksidan aktivite etkileri üzerinde çok sayıda çalışmalar yapılmıştır.

Bu çalışmada Ankara ili Gdl ilçesinde bulunan endemik bitki olan *M. officinalis*'i metanol, aseton, saf su ve kaynatılmış saf su ile ekstratları hazırlandı. Patojenik mikroorganizmalar ile antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivitesini ve n fitokimyasal taramasını inceledik.

5.1. Gümüş Nanopartikül Karakterizasyonu

Gümüş nanopartiküller biyomedikal alanında birçok uygulama bulmuştur. Son yıllarda ilaca dirençli mikroorganizmaların artması ile klinik uygulamalarda faydalı olan antibiyotiklerin kullanımı için gümüş nanopartiküllere olan ilgi günümüzde artmıştır. Bununla birlikte, gümüş nanopartikül sentezi için evre dostu yöntemler geliştirmek gerekir. Elde edilen gümüş nanopartiküller gösterdi ki, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı iyi bir inhibe edici aktivite göstermektedirler (Saba Pirtarighat ve diğ., 2017).

Bitki ekstraktı AgNP'lerin oluşumundan sonra zde sarıdan kahverengiye kadar renk değişikliği gösterildi. 450 nm'de bulunan yüzey plazmon rezonansı Ag NP'lerin oluşumunu doğruladı. Ag NP'leri. biyosentezlenmiş AgNP'ler, doğada kristalleşti ortalama çap 34.64 nm'dir. Gümüş iyonlarının biyo-azaltılması ve aralarındaki etkileşimler için, Elde edilen nanopartiküller gösterilmiştir. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı iyi inhibe edici aktivitesidir (Saba P. ve diğ., 2017).

Bizim çalışmamız ve diğer çalışmalar göz önüne alındığında *M. officinalis* iyi bir antimikrobiyal ve antioksidan özeliği olduğu gözlendi. *M. officinalis* yaprak ekstraktı AgNO₃ kullanılarak biyolojik sentezle sentezlendi. Sentezlenme sonunda grimsi bir renk oluştu.

5.2. UV-VIS spektroskopisi

AgNP'nin *M. Officinalis yaprak* ekstraktının sentezlenmesiyle ilişkili bir UV-vis spektrumunu sonuçlarını görülmüştür. *M. officinalis* ekstraktının 420 nm'de bulunan bir yüzey plazmon rezonans (SPR) bandı 1 saatlik reaksiyonda tanım landığını ve bu bantın AgNP'lerin oluşumunu doğruladığını bildirmişlerdir (Álvaro de J. Ruíz-Baltazar ve diğ., 2017). .

Aynı araştırmada, 1-72 saat aralığında 430'dan 433 nm'ye kadar bir SSPR kaymasını gözlemlemiştir. Bu, oluşan nanoparçacıkların sayısına ve 1 saatlik bir reaksiyondan sonra AgNP 'lerin büyümesine veya toplanmasına bağlanabilir.

Yukarıdaki UV – Vis spekturumda, Ag iyonu miktarının 1 saat de azalmasından hemen sonra tamamen azaldığını ve reaksiyonun termodinamik dengeye yakın olduğunu göstermektedir.

UV spektrum analiz sonuçları Şekil 4.8 ile Şekil 4.15 arasında görülmektedir. AgNO₃ mM artıkça daha hızlı sürede maksimum noktaya çıktığı gözlenmektedir. Partikül boyutu ölçümlerinde çözücü olarak saf su, aseton, kaynatılmış safsu ve metanol kullanılmıştır. Sentezlenen nanopartüküllerin antimikrobiyal etkileri bakterilere, derişime, çözücülere, nanopartüküllerin sentez yöntemine, nanopartüküllerin yüzey alanına bağlıdır. Nanopartüküller inceleyen bakteri ve maya türlerini üzerinde farklı antimikrobiyal etkidedir.

Sentezlenen nanopartüküllde genel olarak *C. glabrata*, *C. albicans*, *P. aeruginosa* türlerine karşı daha etkili olmuştur. AgNO₃ derişimi artıkça antimikrobiyal etkisinin artığı görülmüştür. Yapılan çalışmada sentezlenen AgNO₃ antimikrobiyal etki gösterdiği görülmüştür.

Litaratür taramalarında göz önüne alındığında *M. officinalis* ile ilgili çalışmalarda Álvaro de Jesús ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, *M. officinalis* ekstraktı kullanılarak AgNP sentezlenerek çalışmada *E. coli* ve *S. aureus* antimikrobiyal aktivitesine bakılmıştır (Álvaro de J. Ruíz-Baltazar ve diğ., 2017).

Pirtarighat ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *M. officinalis* ekstraktı kullanılarak AgNO₃ ile sentezlenip antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Yapılan bu çalışmada *M. officinalis* bitki ekstraktı kullanılarak AgNP'lerin biyosentezini değerlendirmek için, Bitki

ekstraktı kullanılarak Ag NP'lerin biyosentezi yapılmıştır ve Ag'nin oluşumu UV-Görünür spektroskopisi, X-ışını kırınımı (XRD), Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu ile onaylanan NP'ler (FESEM) ve Dinamik Işık Saçılımı (DLS) da test edilmiştir. Adsorbe edilen bileşiklerin fonksiyonel grupları AgNP'leri, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) çalışmaları kullanılarak tanımlanmıştır. Antimikrobiyal AgNP'lerin aktivitesi, agar disk difüzyon metodu ile araştırılmıştır.

Bitki ekstraktı AgNP'lerin oluşumundan sonra özünde sarıdan kahverengiye kadar renk değişikliği gösterilmiştir. 450 nm'de bulunan yüzey Plazmon rezonansı, AgNP'lerin oluşumunu doğruladı.

5.3. Antimikrobiyal Aktivite

M. officinalis 'in yaprak ekstraktından sentezlenen Ag NP'nin antimikrobiyal aktivitesi tez çalışmasında tespit edilmiş olan bilimsel veriler, IBM SPSS 25 istatistiksel analiz programında One-Way Anova yöntemiyle analiz edilmiştir. IBM SPSS 25 istatistiksel analiz programında One-Way Anova yöntemiyle analize göre p değeri 0,05'den küçükse istatistiksel olarak anlamlıdır. Tablo 4.1 ile Tablo 4.6 arasında görülmektedir. Tablo 4.7 ve Tablo 4.8 istatistiksel analiz sonucu p değerleri verildi. Bu p değerine bakılarak antimikrobiyal olarak anlamlı olduğu sonucuna varıldı. Bakterilerin kaynatılmış saf su, metanol, aseton ve saf su ile AgNO₃ varlığında ile bitki yaprak ekstraktının agar kuyu difüzyon yöntemi ile yapılan antimikrobiyal aktivitesi *P.aeruginosa*, *C.albicans*, *C.glabrata*, *S.boydii*, *P.vulgaris*, *S typhimurium*, *C.tropicalis*, 10-30 mm en geniş inhibisyon zon çapı görülmektedir.

Antimikrobiyaller virüs hariç mikroorganizmaları öldüren veya onların büyümelerini engelleyen maddelerdir. İnsanlarda görülen hastalıkların (tüberküloz, bakteriyel menenjit) tedavisinde yaygın olarak kullanılır, hayati riskin azaltılmasında kullanılır.

M. officinalis'den sentezlenen AgNP'ün *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı önemli inhibe edici aktiviteye gösterdiği bildirilmiştir (Álvaro de J Ruíz-Baltazar ve diğ., 2017).

Yapılan çalışmada AgNO₃ önemli kullanım alanına sahiptir. Gümüşün antimikrobiyal madde olarak önemli avantajları bulunmaktadır. Avantajları gümüşün çok geniş spektrumlu bir antibiyotik olması ve gümüşe karşı bakteri direncinin neredeyse hiç bulunmaması ve daha önce belirtildiği üzere düşük derişimde canlılar için toksik

olmamasıdır (Rai ve diğ., 2009). Biyolojik organizmalar kullanılarak nanopartikül sentezlenmesi biyolojik sentez tanımına girmektedir. Biyolojik sentez diğer sentezlere bakıldığında ekonomik, çevre dostu, hızlı ve güvenli bir yöntemdir. Bu yöntem bitkiler için önemli bir yerdir. Bakteriyel enfeksiyon hastalıkları insan sağlığını tehdit eden dünya çapında bir sorundur. Enfeksiyonların artması, bakterilerin belli süre sonra antibiyotiklere direnç kazanması, yeni bakteriyel mutasyonların oluşması, az gelişmiş ülkelerde uygun aşı eksikliği küresel olarak sağlık tehdidinde sebep olmaktadır. AgNO₃ gibi nanopartiküller alternatif ajan olarak kullanılabilir. bilmektedir.

Bu tez çalışmasında *M. officinalis* ekstraktlarına AgNO₃ ile sentezlenmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin UV Spektrum Analizi, antimikrobiyal aktivitesine, antioksidan aktivitesine bakıldı. Çözücü olarak saf su, aseton, kaynatılmış saf su ve metanol kullanıldı. Sentezlenen nanopartiküllerin antimikrobiyal etkileri araştırıldı. Antimikrobiyal aktivite testinde bakteriler için sıvı besi yeri olarak Tryptic Soy Broth (TSB) kullanıldı.

M. officinalis yaprak ekstraktı AgNO₃ kullanılarak biyolojik sentezle sentezlendi. Sentezlenme sonunda grimsi bir renk oluştu. UV spektrum analiz sonuçları şekillerde görülmektedir. AgNO₃ mM arttıkça daha hızlı sürede maksimum noktaya çıktığı gözlenmektedir.

Partikül boyutu ölçümlerinde çözücü olarak saf su, aseton, kaynatılmış saf su ve metanol kullanıldı. Sentezlenen nanopartiküllerin antimikrobiyal etkileri bakterilere, derişime, çözücülere, nanopartiküllerin sentez yöntemine, nanopartiküllerin yüzey alanına bağlıdır. Nanopartiküller incelenen bakteri ve maya türlerini üzerinde farklı antimikrobiyal etkidedir.

Sentezlenen nanopartiküllerde genel olarak *Candida glabrata*, *Candida albicans*, *P.aeruginosa* türlerine karşı daha etkili oldu. AgNO₃ derişimi arttıkça antimikrobiyal etkisinin artığı görüldü Yapılan çalışmada sentezlenen AgNO₃ antimikrobiyal etki gösterdiği görüldü.

Álvaro de Jesús Ruíz-Baltazar ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *M. officinalis* ekstraktı kullanılarak AgNO₃ ile sentezlenip antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Yapılan bu çalışmada *E. coli* ve *S. aureus* antimikrobiyal aktivitesine bakılmıştır. AgNP'nin yeşil metodolojilerden edindiği potansiyel bir araç artan antibiyotik direnci ile mücadele etmektir (Álvaro de J. ve diğ., 2017)

Álvaro de Jesús Ruíz-Baltazar ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *M. officinalis* ekstraktı Yeşil sentez yolu, *M. officinalis*'in indirgeyici ajan olarak kullanılmasına dayanır. Oda sıcaklığında sulu çözelti içinde gümüş iyonları tamamlayıcı, gümüş antimikrobiyal etkinliği *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı nanopartiküller doğrulanmıştır. Gümüş nanopartiküller elde edilen transmisyon elektron mikroskobu, X ışını kırınımı, UV-vis, Raman ile karakterize edilmiştir. FT-IR spektroskopisi Gözlenen sonuçlar *M. officinalis* kullanarak gerçekleştirilmesinin mümkün olduğunu göstermiştir (Álvaro de Jesús Ruíz-Baltazar ve diğ., 2017).

5.4. Antioksidan Aktivite

Bu çalışmada antioksidan aktivite için *M. officinalis* şifalı bitkisi değerlendirildi. Günümüzde, antioksidan aktivite öncelikle meyve ve sebzeler gibi genel gıda bitkilerinde incelenmektedir. Bununla birlikte son çalışmalar, şifalı bitkiler gibi diğer bitki kategorilerinin de önemli antioksidan etkinliğe sahip olduğunu göstermektedir (Jaberian ve ark., 2013).

Gıdalardaki antioksidan maddelerin ve tıbbi doğal kaynakların araştırılmasına ilgi artmıştır. Bu nedenle, diyetteki antioksidan alımını arttırmak ve gıda katkı maddesi olarak kullanılan bitkiler arasında doğal antioksidan kaynakları araştırmak önemlidir. DPPH serbest radikali oda sıcaklığında 517 nm'de karakteristik emiciliği olan mor renkli bir serbest radikaldir.

M. officinalis'in yaprak ekstraktları, DPPH serbest radikali üzerinde konsantrasyona bağlı olarak anlamlı bir etki göstermiştir. Deneyde kullanılan standart antioksidanlar ile karşılaştırıldığında, ekstrakt nispeten düşük DPPH serbest radikalleri arttırma potansiyeli göstermiştir.

5.5. Fitokimyasal Tayin

Fenolik maddeler antioksidan aktivitesi gösterdikleri için önemli bir bileşiktir. Primer antioksidanlar, serbest radikalleri daha kararlı olan ürünlere çevirir ve oksidasyonu geciktirirler veya inhibe eder. Biuret testine göre, *M. officinalis*'in ekstraktına bazik bakır sülfat çözeltisi ilave edilerek pembemsi mor renk oluşarak molekülerdeki peptit bağımlı gözlemledik.

Protein içeriği Bradford metoduna göre asidik bir boya olan Coomassie-Brillant Blue (CBB) G-250 solüsyonu kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülerek *M. officinalis* L. subsp. *officinalis*'in protein içeriği 230 g/mL olarak tespit edildi.

M. officinalis'in ekstraktına Biuret testine göre bazik bakır sülfat çözeltisi ilave edilerek pembemsi mor renk oluşarak molekülerdeki peptit bağı gözlemlendi.

Molisch Testi, Avusturyalı botanikçi Hans Molisch'ten sonra adlandırılan, karbohidratların varlığı için, karbohidratın sülfürik asit veya hidroklorik asit ile dehidrasyonuna dayanarak, bir fenolün iki molekülü ile yoğunlaşan bir aldehit üretmek üzere adlandırılmasına dayanan hassas bir kimyasal testtir. Molisch Testi, *M. officinalis* L. subsp. *officinalis*'in ekstraktına Molisch reaktifi ekleyerek bir yandan da H₂SO₄ ekleyerek karbohidrat varlığını gözlemlendi.

Dragendorff reaktifi bir test örneğindeki alkaloidleri tespit etmek için bir renk reaktifidir. Alkaloidler, numune çözeltisinde mevcutsa, Dragendorff reaktifi ile reaksiyona girecek ve turuncu veya turuncu-kırmızı bir çökelti üretecektir. Dragendorff testi, *M. officinalis* L. subsp. *officinalis*'in ekstraktına Dragendorff reaktifi ve HCl ekleyerek organik çökelti oluşturularak alkaloid varlığını gözlemlendi.

Salkowski testi, Bir steroid ve alkol birleşimi olan kolesterolün niteleyici olarak tayin edilmesidir. Yöntem, kolesterolün, sülfürik asit (H₂SO₄) gibi kuvvetli ve derişik asitlerle muamele edildiğinde oksitlenmesi esasına dayanmaktadır. Oksitlenen kolesterol kiraz kırmızısı bir renk oluşturur. Salkowski testi, *M. officinalis* L. subsp. *officinalis*'in ekstraktındaki flavonoid, tannin, terpenoid ve saponin varlıklarını gözlemlendi.

Bu tez çalışmasında *M. officinalis* ekstraktlarına AgNO₃ ile sentezlenen nanopartiküllerin UV-vis spektrum analizi, antimikrobiyal aktivitesine ve antioksidan aktivitesi incelendi. Çözücü olarak saf su, aseton, kaynatılmış saf su ve metanol kullanıldı.

Álvaro de Jesús Ruíz-Baltazar ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *M. officinalis* ekstraktı Yeşil sentez yolu, *M. officinalis*'in indirgeyici ajan olarak kullanılmasına dayanır.

Fenoloik madde bitkiler için renk ve tat oluşmasında önemli bir bileşiktir (Bradford ve diğ., 1976). Koyu renkli sebze ve meyvelerde karotenoidler, antosiyaninler ve flavonoidler fenoloik maddelerdir. Bununla birlikte renk oluşumunda da görevlidir (Maisuthisakul ve diğ., 2007).

Fenolik maddeler antioksidan aktivitesi gösterdikleri için önemli bir bileşiktir. Primer antioksidantlar, serbest radikalleri daha kararlı olan ürünlere çevirir ve oksidasyonu geciktirirler veya inhibe eder. Biuret testine göre, *M. officinalis* L. subsp. *officinalis*'in kstraktına bazik bakır sülfat çözeltisi ilave edilerek pembemsi mor renk oluşarak peptit bağını gözlemledik.

Çalışmamız ve diğer çalışmalar göz önüne alındığında *M. officinalis* iyi bir antimikrobiyal aktivitesi ve antioksidan özelliği olduğu gözlendi.

Bakteriyel enfeksiyon hastalıkları halk sağlığını tehdit eden önemli bir sorundur. Son zamanlarda, bakterilerin antibiyotiklere direnç kazanması, yeni bakteriyel mutasyonların oluşması, az gelişmiş ülkelerde uygun aşı eksikliği nedeni ile enfeksiyon hastalıklarında tehlikeli bir durumu ortaya çıkarmaktadır. Bu nedenle, dirençli bakterilere karşı yeni antibiyotiklere ihtiyaç duyulması nanoteknolojik gelişmelerde önemli olan bitki ekstraktları kullanılarak elde edilen gümüş nanopartiküllerin (AgNP) sentezlenmesi ile sağlık alanında yeni bir çığır açılacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Adebayo, E.A. and O.R.Ishola, 2009, Phyto chemical and anti microbial screening of crude extracts of Terminalia arguensis. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 3: 217-221.
- Adeniyi, B.A., H.A. Odelola and B.A. Oso, 1996, Antimicrobial potentials of Diospyros mespiliformis (Ebenaceae). African Journal of Medicine and Medical Sciences, 25: 221-224.
- Akbar, S., A. Majid, S. Hassan, A.U. Rehman T. Khan, M.A. Jadoon and M.U. Rehman, 2014, Comparative in vitro activity of ethanol and hot water extracts of Zanthoxylum armatum on some selective human pathogenic bacterial strains. International Journal of Biosciences, 4: 285-291.
- Akgül, A.. 1993, Baharat Bilimi & Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği yayınları, No:15, s: 133–135. Ankara
- Álvaro de J Ruiz-Baltazar, Á.D.J., Reyes-López, S.Y., Larrañaga, D., Estévez, M. 2017, Green synthesis of silver nanoparticles using a *Melissa officinalis* leaf extract with antibacterial properties. Results Phys. 7, 2639–2643
- Anter J., Romero-Jiménez, M., Fernández-Bedmar, Z., Villatoro-Pulido, M., Analla, M., Alonso-Moraga, Á., Muñoz-Serrano, A., 2011, Antigenotoxicity, cytotoxicity, and apoptosis induction by apigenin, bisabolol, and protocatechuic acid. J. Med. Food 14, 276– 283
- Bar, H., Bhui, D.K., Sahoo, G.P., Sarkar, P., De, S.P., Misra, A. 2009, Green synthesis of Silver Nanoparticles Using Latex Of Jatropha curcas. Colloids Surfaces A. Physicochem. Eng. Aspects, 134-139
- Baykan Erel Ş, 2011, “*Melissa officinalis* L.” Tedavide Kullanılan Bitkiler FFD Monografıları, Demirezer Ö, Ersöz T, Saraçoğlu Đ, Şener B (Eds.), 2. Baskı, MN Medical & Nobel Tıp Kitabevi, Ankara, 383- 90
- Baublis, A.J., Clydesdale, F.M., Decker, E. A., 2000, “Antioxidants in Wheat-Based Breakfast Cereals”, Cereals Foods World, 45:71-74

- Baydar, H., 2005,“Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri (Bilimi ve Teknolojisi)”, SDÜ yayınları, Isparta, 1-21
- Baytop A., 1997 Farmasötik Botanik. 4.Baskı. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları No:3158, Eczacılık Fakültesi YayınlarıNo:3158, İstanbul: Dilek Matbaası,
- Baytop T, 1999, Türkiye’de bitkilerle tedavi, geçmişte ve bugün, 2. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 307-308.
- Bindhu, M.R. and M. Umadevi, 2015, Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver nanoparticles. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 135: p. 373-8.
- Bilaloğlu, G.V., Harmandar, M., 1999, ”Flavonoidler”, Bakanlar Matbaacılık Ltd.Şti, İstanbul, 336-343
- Bors W , Heller W,Michel C,Saran M. 1990, Flavonoid as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies Methodsin Enzimology,186:343-355.
- Bradford, M., 1976, “A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding” Anal. Biochem, 72, 248-254.
- Carnat, A., Fraisse, D. and Lamaison, J.L., 1998, The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea, 72 (5), 301-305.
- Ceylan, A. 1997, Tıbbi Bitkiler-II (Uçucu Yağ İçerenler). Ege Üniv. Ziraat Fakültesi Yayın No:481, Ders Kitabı, 306 s.
- Cheeke PR,1999, Actual and potential applications of *Yucca schidigere* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. Proceeding of the American Society of Animal Science,1-10.
- Çelik G. 2013, İlaç Yüklü Nanolif Sistemlerden Kontrollü İlaç Salınımı, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Isparta.

- Çetiner M, Bilek S.E, 2018, Bitkisel Protein Kaynakları Çukurova J. Agric. Food Sci. 33(2): 111-126,
- Çıracı, S., 2005, Metrenin Bir Milyarda Birinde Bilim ve Teknoloji, Bilim ve Teknik, Ağustos, Ek sayı: 6-10.
- De la Rosa, L.A., Vazquez-Flores, A.A., Alvarez-Parrilla, E., Rodrigo-García, J., Medina-Campos, O.N., Ávila-Nava, A., González-Reyes, S., Pedraza-Chaverri, J., 2014, Content of major classes of polyphenolic compounds, antioxidant, antiproliferative, and cell protective activity of pecan crude extracts and their fractions.J. Funct. Foods 7, 219–228.
- Dikshit, A. and A. Husain. 1984, Antifungal action of some essential oils against animal pathogens. *Fitoterapia*, 55:171-176.
- Duke, J.A., Bogenschutz-Godwin, M.J., Ottesen, A.R., 2009, *Duke's Handbook of Medicinal Plants of Latin America*, 1st ed. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Graham, E. L., Graham, M. J., Wilcox, W. L., 2004, "Bitki Biyolojisi", Palme Yayıncılık, Ankara, 24-28
- Gürdöl, F., Ademoğlu, E., 2005, "Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres", "Biyokimya" Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul 832
- Işık, 2007, Anksiyete Tedavisinde Kullanılan Bitkisel İlaçlar üzerine Yapılan Çalışmalar
- Jaberian, H., Piri, K., Nazari, J., 2013, Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. *Food Chem.* 136,237–244
- Kâhya E, 2000, *El-Kanun Fi't Tıbb Dbn-i Sina, İkinci Kitap*, Atatürk Kültür Merkezi Başkanlığı Yayınları: 234, Külliyatlar Dizisi: 6, 141,
- Kaşka, N. 1968, Çok Yıllık Bitkiler ve Özellikle Meyve Ağaçlarında Karbonhidratların Kullanılması ve Depolanması. A. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 310. Yardımcı Ders Kitabı: 110. A. Ü. Basımevi. Ankara
- Kalemba, D., Kunicka, A., 2003, Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10, 813-829.

- Köksal A. İ, Yeşim Okay, Nevzat Artık, Burak Kunter, 2001, Batı Karadeniz Bölgesinde Yetiştirilen Bazı Fındık Çeşitlerinde Karbonhidrat Düzeylerindeki Değişimin Enzimatik Yöntemle Belirlenmesi tarım Bilimleri Dergisi, 7 (1), 111-118
- Kumar A, Ilavarasan R., Jayachandran T, Deearaman M, Aravindhan P, Padmanaban N, and Krishnan MRV. 2009, Phytochemical investigation on a tropical plant. Pakistan Journal of Nutrition 8 suppl 1: 83-85.
- Leung, A.Y. and S. Foster. 1996, Encyclopedia of common natural ingredient used in food, drugs and cosmetics. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Maisuthisakul, P., Suttajit, M., Pongsawatmanit, R., 2007, "Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants", Food Chemistry, 100, 1409-1418.
- Milgate J, Roberts DCK, 1995, The nutritional & biological significance of saponins. Nutr Research., 15(8):1223-1249
- Mill RR, 1982, "Melissa L." In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 7, ed. PH. Davis, Edinburgh: Edinburgh University Press, 262-4.
- Mikus, J., M. Harkenthal, D. Steverding and J. Reichling. 2000, In vitro effect of essential oils and isolated mono- and sesquiterpenes on *Leishmania major* and *Trypanosoma brucei*. Planta Med., 66: 366-368.
- Mobh, Shiro 1938, "Research for Vitamin P". The Journal of Biochemistry 29 (3): 487–501
- Neri-Numa, I.A., Carvalho-Silva, L.B., Morales, J.P., Malta, L.G., Muramoto, M.T., Ferreira, J.E.M., de Carvalho, J.E., Ruiz, A.L.T.G., Mar stica Junior, M.R., Pastore, G.M., 2013, Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of arac, á-boi fruit (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh – Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. Food Res. Int. 50, 70–76.
- Nijveldt, R. J., van Nood, E., van Hoorn, D. E., Boolens, P. G., van Norren, K., & van Leeuwen, P. A., 2001, Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential implications Euro. Journal of Cancer Prevention, 32, 401.

- Olesezek W, 2002, Chromatographic determination of plant saponins. J Chromatography A., 967:247-162
- Özer, Z., Tursun, N., Önen, H. 2004, “Bitkilerin Sağlığımız Açısından Önemi”, “Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam (Gıda ve Tedavi)”, 4 RENK YAYINLARI ,Ankara, 21-34
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., Shahabimajd, N. 2006, Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 5(11), 1142–1145
- Rai, M. K., Yadav, A. P., Gade, A. K. 2009, Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials .Biotech Adv 27 (1): 76-82.
- Rong, T., Zeyuan D., 2004, Separation procedures for naturally occurring antioxidant Phytochemicals. Journal of Chromatography B (1–2), 85–99
- Saba Pirtarighat, Maryam Ghannadnia, Saeid Baghshahi, 2017, Antimicrobial effects of green synthesized silver nanoparticles using *Melissa officinalis* grown under in vitro condition Nanomed. J. 4(3): 184-190, Summer 2017
- Salah, S.M. and Jager, A.K., 2005, Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities, Journal of Ethnopharmacology, 97, 145-149
- Saldamlı, İ., Temiz, A., 2017, Amino Asitler, Peptitler, Proteinler. Gıda Kimyası, Saldamlı, İ. (Baş Ed.), 227-317 Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Türkiye.
- Sandri, I. G., Zacaria, J., Fracaro, F., Delamare, A. P., & Echeverrigaray, S. 2007, Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against foodborne pathogens and spoiling bacteria. Food Chemistry (103), 823
- Sarı, A.O. ve A. Ceylan. 2002, Yield characteristics and essential oil composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) grown in the Aegean region of Turkey. Turk J Agric For., 26:217-224
- Stavric B. 1994, .Quercetin in Our diet: from potent mutagen to probable anti carcinogen. Clin. Biochem, 27(4):245-248.
- Sieniawska E, T. Baj, 2017, in Pharmacognosy,

Silver, S. 2003. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. FEMS, Microbiol. Rev. 27(2-3): 341- 353.

Sivritepe, N.2000,“Asma, Üzüm ve Şaraptaki Antioksidantlar”, Dünya Gıda, 12:73-78



7. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Murat Hüdavendiğar MANAV
Doğum Yeri	Kırşehir
Doğum Tarihi	21.04.1989
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	05453797097
E-Posta Adresi	mrtmnl@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ahi Evran Üniversitesi
Fakülte	Eğitim Fakültesi
Bölümü	Fen Bilgisi Öğretmenliği
Mezuniyet Yılı	2014