



**YEŞİL SENTEZ METODUYLA KARABAŞ OTUNDAN  
(*Lavandula stoechas* L.) BAKIR NANOPARTİKÜL  
SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTİMİKROBİYAL  
AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Esra YAPRAK**

**Yüksek Lisans Tezi  
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı  
Hayvansal Biyoteknoloji Bilim Dalı  
Prof. Dr. Abdulkadir ÇİLTAŞ  
2019**

**Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YEŞİL SENTEZ METODUYLA KARABAŞ OTUNDAN (*Lavandula  
stoechas* L.) BAKIR NANOPARTİKÜL SENTEZİ,  
KARAKTERİZASYONU VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ

Esra YAPRAK

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI  
Hayvansal Biyoteknoloji Bilim Dalı

ERZURUM  
2019

Her hakkı saklıdır



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



TEZ ONAY FORMU

YEŞİL SENTEZ METODUYLA KARABAŞ OTUNDAN (*Lavandula stoechas L.*) BAKIR  
NANOPARTİKÜL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ

Prof. Dr. Abdulkadir ÇİLTAŞ danışmanlığında, Esra YAPRAK tarafından hazırlanan bu çalışma, 04.12.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı-Hayvansal Biyoteknoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak ~~oybirliği / oy çokluğu (.../...)~~ ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Abdulkadir ÇİLTAŞ

İmza :

Üye : Doç. Dr. Murat AYDIN

İmza :

Üye : Doç. Dr. Emre İLHAN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu'nun 12./12/2019 tarih ve 48./.../35 nolu kararı ile onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Mehmet KARAKAN  
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.  
Proje No:FYL-2019-6981

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### YEŞİL SENTEZ METODUYLA KARABAŞ OTUNDAN (*Lavandula stoechas* L.) BAKIR NANOPARTİKÜL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Esra YAPRAK

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı  
Hayvansal Biyoteknoloji Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Abdulkadir ÇİLTAŞ

Metal nanopartiküller (bakır (Cu), gümüş (Ag), altın (Au), platinum (Pt), çinko (Zn)) gram negatif- gram pozitif bakteriler ve mantarlar gibi farklı mikroorganizma türlerine karşı geniş bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olup antibiyotiklere alternatif olarak kabul edilmektedir. Nanopartikül elde etme yöntemlerinden biri olan yeşil sentez metodu; daha basit, çevre dostu, ekonomik ve kısa zamanda ürüne dönüşmesinden dolayı tercih edilen bir metottur. Bu çalışmada tıbbi bir bitki olan karabaş otu ekstraktı kullanılarak CuNP sentezleme olanakları ve bu Np'lün antimikrobiyal aktivitesi araştırılması amaçlanmıştır. Sentezlenen CuNp'ler transmisyon elektron mikroskobu (TEM), taramalı elektron mikroskobu (SEM), UV-Vis spektroskopisi (UV-Vis), fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometre (FTIR) ve X-ışını kırınımı (XRD) ile karakterize edilmiştir. Sentezlenen Np'lerin <50 nm boyutunda olduğu ve küresel şekilli olduğu tespit edilmiştir. CuNp'lerin antibakteriyel etkinliği broth dilüsyon ve disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Bakteri suşları için MIC değerleri; *Bacillus subtilis* için 250 µg/mL, *Staphylococcus aureus* için 250 µg/mL, *Enterococcus faecalis* 500 µg/mL için, *Pseudomonas aeruginosa* için 250 µg/mL, *Salmonella enteritidis* için 250 µg/mL ve *Escherichia coli* için 500 µg/mL olarak kaydedilmiştir. Disk difüzyon testinde gram negatif ve gram pozitif tüm bakteri suşlarında CuNp konsatrasyonu arttıkça zon çapı da artmıştır. En yüksek inhibisyon çapları *B. subtilis*'de 15 mm, *S. aureus*'da 16,5 mm, *E. faecalis*'de 14 mm, *P. aeruginosa*'da 19,5 mm, *S. enteritidis*'de 16,5 mm ve *E. coli*'de 13,5 mm olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak karabaş otundan CuNp'lerin başarılı bir şekilde sentezlenebildiğini ve bu CuNp'lerin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur.

2019, 47 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** *Lavandula Stoechas* L., Yeşil Sentez, CuNp, antimikrobiyal aktivite, TEM, SEM, UV-Vis, FTIR, XRD

## ABSTRACT

Master Thesis

### **SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF COPPER NANOPARTICLES FROM KARABAŞ LAVENDER (*Lavandula stoechas* L.) BY GREEN SYNTHESIS METHOD**

Esra YAPRAK

Ataturk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Agricultural Biotechnology  
Department of Animal Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Abdulkadir ÇİLTAŞ

Metal nanoparticles (copper (Cu), silver (Ag), gold (Au), platinum (Pt), zinc (Zn)) have a wide antimicrobial activity against different types of microorganisms such as gram negative-gram positive bacteria and fungi and are alternatives to antibiotics. Green synthesis, which is one of the methods of obtaining nanoparticles, is a preferred method because it is more simple, environmentally friendly, economical and converts to product in a short time. In this study, it was aimed to investigate the possibilities of CuNP synthesis and antimicrobial activity of this Np using extract Karabaş lavender which is medicinal plant. The synthesized CuNps were characterized by transmission electron microscopy (TEM), scanning electron microscopy (SEM), UV-Vis spectroscopy (UV-Vis), fourier transform infrared spectrophotometer (FTIR) and X-ray diffraction (XRD). The synthesized Np's were found to be less than 50 nm and globular in shape. Antibacterial activity of CuNp was tested by broth dilution and disc diffusion methods. MIC values for *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* were determined as 250 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 250 µg/mL and 500 µg/mL, respectively. Disk diffusion test showed that zone diameter increased by increasing CuNp concentration in all gram negative and gram positive bacteria strains. The highest inhibition diameters were 15 mm in *B. subtilis*, 16.5 mm in *S. aureus*, 14 mm in *E. faecalis*, 19.5 mm in *P. aeruginosa*, 16.5 mm in *S. enteritidis* and 13.5 mm in *E. coli*. As a result, it has been shown that CuNps can be synthesized successfully from Karabaş lavender and these CuNps have antimicrobial effects.

**2019, 47 pages**

**Keywords:** *Lavandula Stoechas* L., Green synthesis, Copper nanoparticle, Antimicrobial activity, TEM, SEM, XRD, UV-Vis, FTIR

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu alıŐma Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakóltesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Hayvansal Biyoteknoloji Laboratuvarı ve Enzim Mikrobiyal Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Yüksek lisans tez çalıŐmamı hazırlarken değerli yardım ve katkılarından dolayı baŐta saygıdeğer tez danıŐmanım Sayın Prof. Dr. Abdulkadir ÇİLTAŞ olmak üzere hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Murat AYDIN'a ve Sayın Prof. Dr. Neslihan DİKBAŐ'a ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Semra ÇİÇEK'e teşekkür ederim.

Bu dönemde beni yalnız bırakmayan arkadaşlarım Meryem KUKARA'ya ve Sevda UÇAR'a teşekkür ederim.

Bana yaşamım boyunca güvenip desteklerini bir an bile esirgemeyen maddi manevi her zaman destekçim olan babam Muhammet YAPRAK'a, annem Sara YAPRAK'a, ablalarım Hatice YAPRAK'a ve Kübra ÖNAL'a, abim Ömer Faruk YAPRAK'a ve amcam Sayın Prof. Dr. Mustafa YAPRAK'a sonsuz teşekkür ederim.

**Esra YAPRAK**

**Eylül, 2019**

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
Å/saniye	Angstrom/saniye
Ag	Gümüş
Au	Altın
BTB	Bromotimol mavisi
CFU/ml	Konfluent/ mililitre
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
Cu	Bakır
Cu(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	Bakır asetat
Cu <sub>2</sub> O	Cuprit
CuO	Bakır oksit
CuO	tenorit
DLS	Dinamik ışık saçılımı
EDX	Enerji dağıtıcı X ışını spektroskopisi
Fe	Demir
FE-SEM	Alan emisyon taramalı elektron mikroskobu
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometre
g	Gram
Gd <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Gadolinyum oksit
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
HDN	Hesperidin
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
Np	Nanopartilül
NRG	Naringin
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit anyonu

O <sub>2</sub>	Oksjen
OH <sup>-1</sup>	Hidroksil radikalleri
Pt	Platinum
RO·	Alkoksi radikaller
ROO·	Peroksi radikaller
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RTEM	Yüksek çözünürlüklü transmisyon elektron mikroskobu
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SPR	Yüzey plazmon rezonans
TEM	Transmisyon elektron mikroskobu
Ti	Titantum
TiO <sub>2</sub>	Titanyum oksit
USEPA	ABD Çevre Koruma Ajansı
UV-Vis	UV-Vis spektroskopisi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XRD	X-ışını kırınımı
Zn	Çinko
ZnO	Çinko oksit
µg / mL	Mikrogram/mililitre
µL	Mikrolitre



## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iii</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>iv</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	<b>10</b>
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	<b>18</b>
3.1. Kullanılan Bitkinin Temini .....	18
3.2. Kullanılan Kimyasallar.....	18
3.3. Kullanılan Cihazlar.....	18
3.4. Bitki Ekstraktının Hazırlanması .....	19
3.5. CuNp Sentezi.....	20
3.6. Sentezlenen CuNp'lerin Karakterizasyonu .....	20
3.6.1. TEM analizi .....	21
3.6.2. SEM analizi .....	21
3.6.3. UV-Vis spektroskopisi .....	21
3.6.4. FTIR analizi.....	22
3.6.5. XRD analizi .....	22
3.7. Antimikrobiyal Aktivite Ölçümü .....	22
3.7.1. Kullanılan mikroorganizmalar .....	22
3.7.2. Besiyeri hazırlanması .....	23
3.7.3. Bakteri inokulumunun hazırlanması .....	23
3.7.4. Disk difüzyon testi.....	23
3.7.5. Broth dilüsyon metodu .....	24
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	<b>25</b>
4.1. CuNp'lerin Karakterizasyonu.....	25
4.1.1. TEM ve SEM Sonuçları .....	25

4.1.2. UV-Vis Sonucu .....	27
4.1.3. FTIR Analizi Sonucu.....	28
4.1.4. XRD analizi sonucu.....	28
4.2. Antimikrobiyal Aktivite .....	30
4.2.1. Broth dilüsyon testi sonucu .....	30
4.2.2. Disk Difüzyon Testi Sonucu .....	31
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>33</b>
KAYNAKLAR .....	38
ÖZGEÇMİŞ .....	48



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Nanopartikül sentezinde top-down ve bottom-up yaklaşımı .....	5
Şekil 1.2. Np biyosentezinin muhtemel mekanizması .....	7
Şekil 3.1. Karabaş otunun yaş ve kuru formu .....	18
Şekil 3.2. A; Karabaş otu ekstraktı, B; bakır asetat çözeltisi, C; Karabaş otu ekstraktı + bakır asetat çözeltisi .....	20
Şekil 4.1. CuNp'e ait TEM görüntüsü .....	25
Şekil 4.2. CuNp'e ait SEM görüntüsü .....	26
Şekil 4.3. CuNp'lere ait UV-Vis spektrumu .....	27
Şekil 4.4. CuNp FTIR Analizi .....	28
Şekil 4.5. CuNp'lere ait XRD Analizi .....	29
Şekil 4.6. CuNp'lerin oluşturduğu inhibisyon zonları .....	31

## ÇİZELGELER DİZİNİ

- Çizelge 4.1.** Broth dilüsyon yöntemi ile bakteri suşlarına karşı CuNp'lerin antimikrobiyal duyarlılıkları ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). “-” bakteriyel üreme yok, “+” bakteriyel üreme var. ....30
- Çizelge 4.2.** Disk difüzyon yöntemi ile bakteri suşlarına karşı CuNp'lerin mm cinsinden zon çapları. “-“ ile gösterilenlerde zon çapı oluşmamıştır. ....31



## 1. GİRİŞ

Bilim insanları tarih boyunca, hastalıklara neden olan mikroorganizmalarla savaşmıştır. 1940'lı yıllardan itibaren ise bakteriyel hastalıkların tedavilerinde, kemoterapötik ajanlar olarak ortaya çıkan antibiyotiklerin keşfiyle, önemli bir gelişme kaydedilmiştir (Tenover 2006; Sengupta *et al.* 2013). Fakat günümüzde patojenlerle mücadelede önemli ilerlemeler kaydedilmiş olmasına rağmen, enfeksiyonlara dayalı morbidite ve mortalite oranı oldukça yüksektir. Bunun sebebi Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2016-2017 raporunda da belirtildiği üzere antimikrobiyal direncin artmasıdır (Lagedroste *et al.* 2019; Canlı vd 2019).

Antibiyotikler, bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde düşük maliyetleri ve güçlü etkileri sebebiyle tercih edilmektedirler. Ancak aşırı ve bilinçsiz antibiyotik kullanımıyla ortaya çıkan çoklu ilaca dirençli süper bakteriler, antibiyotik direnci krizine sebep olmuştur. Ayrıca geleneksel antibiyotiklere zayıf cevap veren ve antibiyotik direnci geliştirebilen biyofilm oluşumu da bu krizin sebeplerinden bir diğeridir (Beyth *et al.* 2015; Lagedroste *et al.* 2019). Bu sebeple klasik antibiyotik tedavisine alternatif olarak kullanılacak antimikrobiyal bileşiklerin önemi büyük ölçüde artmış ve bu durum araştırmacıları alternatif antimikrobiyal ürün keşfine yönlendirmiştir (Lagedroste *et al.* 2019; Canlı vd 2019).

Nanopartikül (Np) bazlı ürünlerin kullanımı, birçok alanda olduğu gibi ilaç endüstrisinde de, yükselen bir trenddir. Mevcut antibiyotikler bakterilerde hücre duvarına, protein sentez mekanizmasına veya DNA replikasyonuna etki etmektedir (Tenover 2006; Wang *et al.* 2017). Np'ler ise hücreye nüfuz etmeden bakteri hücre çeperi ile doğrudan temas etmektedir. Böylece bakteriler antibiyotiklere karşı direnç geliştirmelerine rağmen Np'lere karşı direnç geliştirememektedir.

Metal Np'lerin antibakteriyel aktivitesi net bir şekilde ortaya konulmamış olmasına rağmen olası antibakteriyel mekanizmanın; iyonların serbest bırakılması, reaktif oksijen

türlerinin (ROS) oluşması ve Np'lerin hücre zarı ile etkileşimi şeklinde olabileceği bildirilmiştir (Zhang *et al.* 2010; Ivask *et al.* 2014; Arias and Murray 2015).

Nanopartüküllerin antibakteriyel mekanizmasının ilk basamağı, transmembran proteini yoluyla bakteriyel hücreye bağlanan metalik iyonların hücre zarında yapısal değişiklikler meydana getirerek, taşıma kanallarını tıkamasıdır. Böylece, Np'ler hücre içerisinde iyonlaşarak hücre ölümüne neden olmaktadır (Prabhu and Poulouse 2012; Dutta *et al.* 2012; Dizaj *et al.* 2014). Metal Np'ler tarafından üretilen ROS'lar antibakteriyel etkinlikte büyük rol oynamaktadır. Çoğunu serbest radikallerin (tekli oksijen ( $O_2$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikalleri ( $OH^{\cdot}$ ), süperoksit anyonu ( $O_2^{\cdot}$ ), hidroksi radikaller ( $\cdot OH$ ), peroksi radikaller ( $ROO\cdot$ ) ve alkoksi radikaller ( $RO\cdot$ )) oluşturduğu ROS'lar normal oksijen molekülüyle karşılaştırıldığında, kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır (Raffi *et al.* 2008; Baek and An 2011). Bu oksijen formlarının yüksek reaktivitesine bağlı olarak ROS'lar, peptidoglikan tabakaya, hücre zarlarına, DNA, mRNA, ribozomlara ve proteinlere zarar verebilmektedir. ROS'lar ayrıca transkripsiyon, enzimatik aktivite ve elektron taşıma zincirini de inhibe edebilmektedir (Raffi *et al.* 2008; Pelgrift and Friedman 2013). Ayrıca bazı metal oksit Np'lerin ana toksisite mekanizması olarak ROS oluşumuna dayandığı düşünülmektedir (Zhang *et al.* 2007; Prabhu and Poulouse 2012). Bunlara ek olarak metal atomları, tiol grubu enzimlerle bağlanma ve enzimlerin işlevini devre dışı bırakma eğilimindedirler. Metal iyonları, pürin ve pirimidin baz çiftleri arasına bağlanabilir, hidrojenin bağlarını kırabilir ve böylece DNA molekülünü tahrip edebilir. Bu durum metal iyonlarının hücreye girdikten sonra DNA ile bağlanma eğiliminde olduklarını göstermektedir (Jung *et al.* 2008; Hoseinzadeh *et al.* 2017; Shahzadi *et al.* 2018).

Np'ler boyutları, yüksek yüzey alanı, antibakteriyel aktivite gibi sahip oldukları eşsiz özellikleriyle antibiyotiklerin oluşturduğu boşlukları doldurma konusunda umut vadetmektedir (Beyth *et al.* 2015). Np'ler, küre, prizma, çubuk, küp, iğne ve tüpler gibi çeşitli şekillerde üretilebilen, 1-100 nm boyutunda ve 20-15.000 atom içeren materyallerdir.

Np'ler yüzey alanını artıran kendine özgü kristalografik yapıları ve dolayısıyla reaktivite dereceleri nedeniyle kimyasal aktiviteyi tetikleyebilmektedir (Dhillon *et al.* 2012). Maddenin boyutu küçüldükçe yüzey alanı da artmaktadır. Np'lerin neredeyse tüm özellikleri küçük boyutlu olmalarından kaynaklanmaktadır. Partikül boyutu çok büyük yüzey hacim oranı sağlamasının dışında, nanopartiküllerin biyoyumlulukları, yüzey özellikleri nanopartikül tarafından taşınan yüklere ve kimyasal reaksiyonlara bağlıdır. Np'lerin biyolojik dokularla etkileşimi Np'lerin yüzey kimyası ve reaktivitesi ile belirlenebilmektedir (Hoet *et al.* 2004). Np'ler boyutlarından ve fiziksel özelliklerinden dolayı mühendislik, gıda, sağlık, enerji, ulaşım, kozmetik, ilaç, uzay endüstrileri, kimya endüstrileri, biyomedikal bilimler ve tarım da dahil olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır (Annu *et al.* 2018; Shobha *et al.* 2014). ABD Çevre Koruma Ajansı'na (US EPA) göre nanopartiküller 4 sınıfa ayrılmaktadır (Anonymous 2019a). Bunlar;

- Metal Nanopartiküller (bakır oksit gibi metal oksitleri, nano gümüş vb.)
- Karbon Nanotüpler ve Flurenler
- Dendrimerler ve Nanoboyutlu Polimerler
- Kompozitler (iki veya daha fazla partikül veya bir nanopartikül ve bir dökme tip malzeme arasında nano-kil veya titanyum-DNA kombinasyonları gibi)

Metal nanopartiküller, saf metallere (Au, Ag, Cu, Pt, Zn, Fe gibi) ve bunların bileşiklerinden oluşmaktadır (Manikandan *et al.* 2017). Metal nanopartiküller optik, elektrik, katalitik, manyetik ve biyolojik aktiviteler gibi geniş bir dizi özellik göstermektedirler (Brayner *et al.* 2010; Ashraf *et al.* 2016).

Son yıllarda CuNp'ler, Ag, Au ve Pt gibi soy metalleriyle karşılaştırıldığında yüksek yüzey-hacim oranı, daha düşük preparasyon maliyetinden kaynaklanan mükemmel katalitik verimi ve antimikrobiyal aktiviteleri nedeniyle bilim insanlarının dikkatini çekmiştir (Olajire *et al.* 2017). CuNp'ler düşük maliyeti, sahip oldukları özellikleri ve erişilebilirliği nedeniyle diğer metalik nanopartiküller arasında büyük ilgi görmektedir (Shobha *et al.* 2014). CuNp'lerin antimikrobiyal aktivitesinin, nanopartiküllerden salınan iyonlarla bağlantılı olduğu bilinmektedir. Bu antimikrobiyal aktivite, küçük boyutlu

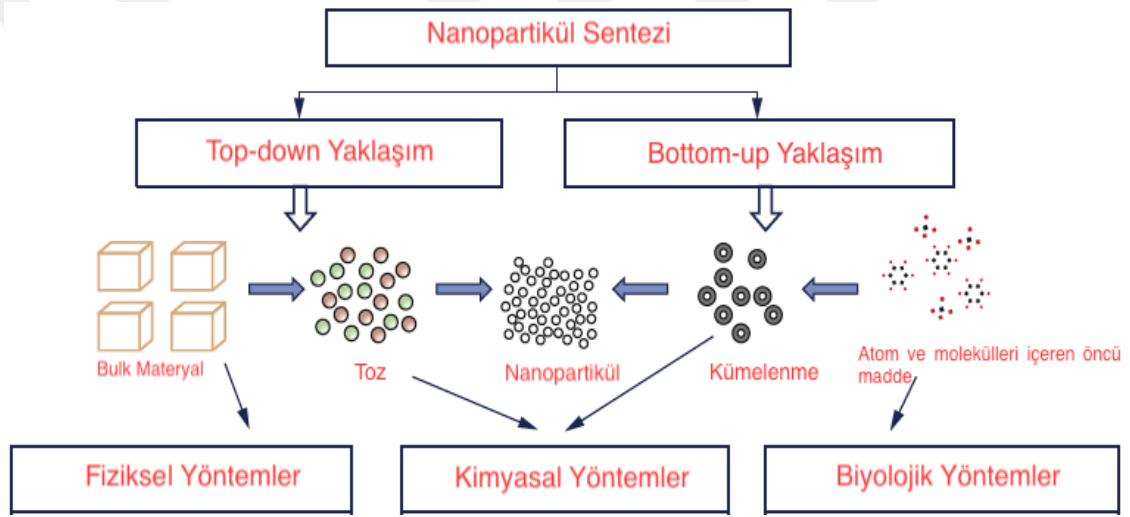
olması ve yüksek yüzey hacim alanına sahip olmasından dolayı, mikrobiyal membranlarla yakın etkileşime girmesiyle daha da artmaktadır (Mott *et al.* 2007).

Cu, kolayca bulunabilen bir metaldir ve canlı organizmaların çoğu için temel iz elementlerden biridir. Cu, hücrelerde enerji üretimi için kritik bir öneme sahiptir. Kanda bakır taşıyan ana protein olan seruloplazmin gibi kupro proteinlerin oluşumu, lisil oksidaz, sitokrom-c oksidaz, süperoksit dismutaz ve tirozinaz gibi enzimlerin aktivitesi için gerekli bir elementtir (Prabhu *et al.* 2010). Bakırın aynı zamanda yara iyileşmesi, cilt remodülasyonu ve anti-enflamatuar tedavilerinde antimikrobiyal aktivitesi olduğu da bilinmektedir. Cu, antimikrobiyal aktivitesi ile yara bölgesindeki mikrobiyal yükü azaltmaya yardımcı olarak iyileşme hızını artırmaktadır. Antimikrobiyal aktivitenin, Cu (I) ve Cu (II) iyonları arasındaki oksidasyonun değişme eğilimine bağlı olduğu bilinmektedir. Diğer iz metallerden farklı olarak Cu, mikroorganizmalarda nükleik asit ipliklerinin içinde sülfhidril amino ve karboksil grupları arasına çapraz bağlanıp temel proteinlere zarar vererek DNA molekülünün sarmal yapısının bozulmasına sebep olan hidroksil radikallerinin oluşumuna yol açmaktadır. Bu durum proteini denatüre eder ve enzimleri etkisiz hale getirir. Hücre zarları boyunca materyallerin taşınması için gerekli olan hücre yüzey proteinlerini inaktive ederek, böylece membran bütünlüğünü ve membran lipidlerini etkilemektedir. Ayrıca mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber bakteriyel hücrelerin içindeki bakır iyonları da biyokimyasal süreçleri etkilemektedir. Cu iyonunun proteinler ve mikroorganizmalardaki enzimler üzerinde denatüre edici etkisi Cu'ya antimikrobiyal özellikler kazandırmaktadır (Shobha *et al.* 2014).

Np'ler fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle sentezlenebilmektedir. Np'lerin sentezi için fiziksel ve kimyasal olarak birçok geleneksel yöntem kullanılsa da, bu yöntemler pahalı ve aynı zamanda toksik yan ürünler oluşturmaktadır. Ayrıca, bu yöntemlerle sentezlenen nanopartiküllerin yüzey kimyası, büyüklüğü ve yapısını kontrol etmek zordur. Tüm bu özellikler göz önünde bulundurulduğunda günümüzde daha ucuz, çevre dostu ve toksik etki göstermeyen biyolojik sentez (yeşil sentez) metodu ön plana çıkmaktadır.



Np'lerin üretiminde genellikle iki yaklaşım vardır. Bunlar yukarıdan aşağı (top down) ve aşağıdan yukarıya (bottom up) olarak adlandırılırlar. Top down yöntem, hacimsel malzemeye dışarıdan kimyasal veya mekaniksel işlemlerle enerji verilmesi sonucunda malzemenin nano boyuta kadar inebilecek küçük parçalara ayrılması esasına dayanmaktadır. Bottom up yöntem ise atomik veya moleküler boyuttaki yapıları indirgeme/oksidasyon reaksiyonları gibi kimyasal reaksiyonlar ile büyütürken partikül oluşumunun gerçekleştirilmesi olarak tanımlanmaktadır (Şekil 1.1) (Mittal *et al.* 2014; Hussain *et al.* 2016).



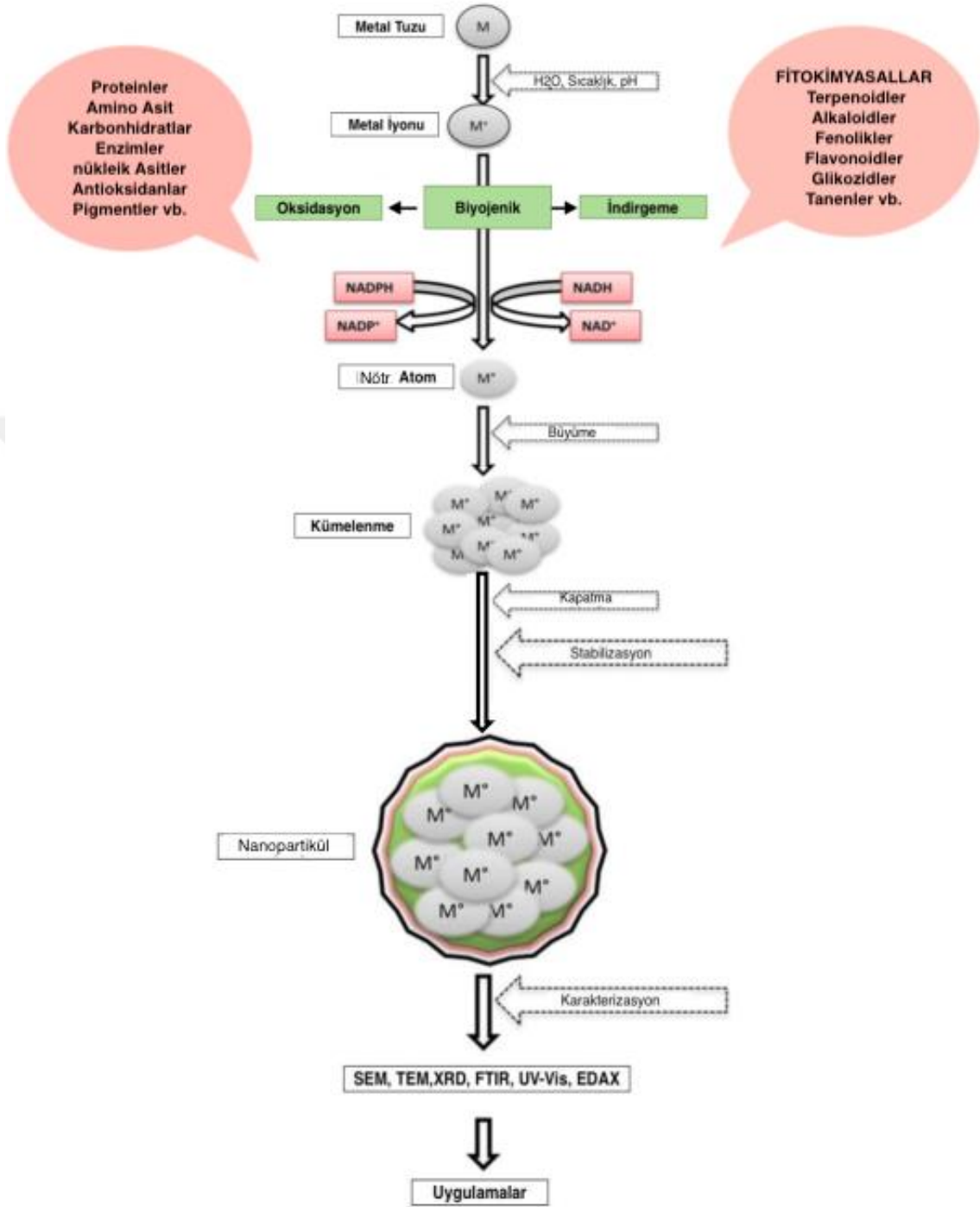
**Şekil 1.1.** Nanopartikül sentezinde top-down ve bottom-up yaklaşımı (Devatha and Thalla 2018).

Yeşil sentez metodu; biyolojik materyallerle ve inorganik maddeleri birlikte kullanarak nanopartikül sentezleme yöntemidir. Yeşil sentez metodu ile üretilen nanopartiküller birçok açıdan fiziksel ve kimyasal yöntemlerle üretilenlere göre daha üstün özelliklere sahiptir. Son on yılda, bitkiler, algler, su yosunları, bakteriler, mayalar ve mantarlar dahil birçok organizmada bulunan proteinlerin ve metabolitlerin indirgeyici etkileri ile inorganik metal iyonlarını metal nanopartiküllere dönüştürebileceği gösterilmiştir (Manikandan *et al.* 2017; Kumar 2017; Al-Gburi 2018).

Nanopartiküllerin yeşil sentez ile elde edilmesinin temeli, organizmalarda bulunan enzimler, proteinler, aminoasitler, polisakkaritler ve vitaminler gibi biyomoleküllerle

metal iyonlarının indirgenmesi prensibine dayanmaktadır (Şekil 1.2). Bitkilerin metalik iyonları aşırı biriktirme ve biyolojik olarak azaltma potansiyeline sahip olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Bu özelliklerinden dolayı, bitkilerin metalik nanopartiküllerin biyolojik olarak sentezlenmesi ve detoksifikasyonu için daha çevre dostu bir araç olduğu düşünülmüştür. Yeşil sentez metodu, düşük maliyetli, toksik kimyasal gerektirmeyen, daha basit, kısa zamanda ürüne dönüşebilen, büyüklük ve morfolojik olarak iyi tanımlanmış büyük ölçeklerde nanopartikül üretimini mümkün kılmaktadır (Mittal *et al.* 2013; Shah *et al.* 2015; Parveen *et al.* 2016).





**Şekil 1.2.** Np biyosentezinin muhtemel mekanizması (Hussain *et al.* 2015)

Yeşil sentez metodu ile nanopartikül sentezine bazı faktörler etki etmektedir. Bu faktörlerden bazıları aşağıda açıklanmıştır.

pH, yeşil sentez yöntemleriyle Np'lerin sentezini etkileyen önemli bir faktördür. Araştırmacılar, çözelti ortamının pH'sının, sentezlenen nanopartikülün boyutunu ve morfolojisini etkilediğini keşfetmişlerdir (Armendariz *et al.* 2004). Bitki ekstraktının pH'sının değişmesi ile birlikte metal anyon ve katyonlarının yükleri değişmektedir. Bu nedenle, nanoparçacık büyüklüğü, çözelti ortamının pH'sı değiştirilerek kontrol edilebilir. Yüksek pH'ya nazaran düşük pH'da (2-4) daha büyük partikül oluşmaktadır (Sathishkumar *et al.* 2009; Prakash and Soni 2011).

Np'lerin sentezi için bir diğer önemli faktör sıcaklıktır. Fiziksel ve kimyasal yöntemlerle kıyaslandığında yeşil sentez yöntemi daha düşük sıcaklıklarda gerçekleşmektedir. Reaksiyon ortamının sıcaklığı, oluşan Np'nin boyutunu etkilemektedir (Patra and Baek 2014). Dwivedi and Gopal (2010) tarafından yapılan çalışmada çubuk şeklindeki AuNp'lerin yüksek sıcaklıklarda, küresel şekilli AuNp'lerin ise düşük sıcaklıklarda oluşması, sıcaklığın Np'lerin şeklini de etkilediğini ortaya koymaktadır.

Yeşil sentez yöntemiyle sentezlenen Np'lerin kalitesi ve morfolojisi reaksiyon ortamının inkübe edildiği sürenin uzunluğundan büyük ölçüde etkilenmektedir. Bu nedenle Np'lerin tam nükleasyonu ve stabilitesi için optimum inkübasyon süresi gereklidir (Darroudi *et al.* 2011; Mittal *et al.* 2014).

Yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen Np'lerin sentez oranı, bitki ekstrakt konsantrasyonunun artışıyla doğru orantılı bir biçimde artmaktadır (Song *et al.* 2010). Bu nedenle bitki ekstraktlarının konsantrasyonu Np sentezi için önemli bir faktördür.

Yeşil sentez metodu ile üretilen Np'ler birçok açıdan fiziksel ve kimyasal yöntemlerle üretilenlere göre daha üstün özelliktedir. Bu yöntem içerisinde bitkiler geniş bir yer tutmaktadır. Bitkiler diğer canlı organizmalara nazaran Np sentezinde daha hızlı bir reaksiyon çizgisine ve verimine sahiptir. Np sentezinde bitkilerin kullanımı ayrıntılı süreçlere, hücre içi sentez veya çoklu saflaştırma adımlarına gerek duyulmadığı için avantajlıdır (Akhtar *et al.* 2013; Kharissova *et al.* 2013).

Yeşil sentez metodunda, nanopartikül oluşturmak amacıyla bitki özleri ve metal iyonları biyoredüksiyona tabi tutulurlar. Bitki metabolitleri, metal iyonlarının nanopartiküle indirgenmesinde ve stabilize edilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Birçok bitki türü biyoaktif alkaloidler, fenolik asitler, polifenoller, proteinler, şekerler ve terpenoidleri içermektedir (Shah *et al.* 2015; Parveen *et al.* 2016). Bitkiler düşük maliyetli olmaları, çevreye zarar vermemeleri ve daha az bakım gerektirmeleri ile doğanın kimyasal fabrikaları olarak nitelendirilirler. Bu sebeple, bitkiler biyolojik nanopartikül sentezlenmesinde en iyi seçenek olarak görülmektedir.

*Lamiaceae* (ballıbabagiller) familyasına ait olan karabaş otu, geleneksel tıpta kullanılan önemli bir tıbbi ve aromatik bitkidir. Karabaş otu Akdeniz'e özgü ve dağların alt kısımlarının doğal alanlarında yetişen bir bitkidir. Türkiye'de ise Marmara, Ege ve Güney Doğu Anadolu Bölgelerinde de yaygın olarak yetişmektedir. Karabaş otunun yaprakları uzun, doğrusal veya mızrak şeklinde, tüylü ve 1-4 cm uzunluğundadır. Sivri uçlu ince yapraksız saplar 20-60 cm uzunluktadır. Çiçekleri ise 2-3 cm uzunluğunda mor-mavi renktedirler ve ince yapraksız saplar üzerinde bulunurlar. Geleneksel Türk tıp sisteminde antimikrobiyal, antioksidan, antimutajenik aktivitelere sahip olduğu bilinen karabaş otu, antiseptik ve yara iyileştirici etkileri ile ön plana çıkmaktadır (Mokhtarzadeh *et al.* 2019).

Karabaş otu ile yapılan fitokimyasal çalışmalarda bitkinin toprak üstü kısımlarının glikozit ve saponinler, oleanolik asit, ursolik asit, vergatik asit,  $\beta$ -sitosterol,  $\alpha$ -amirin,  $\alpha$ -amirin asetat, lupeol, eritrodiol, flavonoidler luteolin, acasetin ve viteksin, longipin deriveleri 7-metoksi kumarin ve lavanol gibi moleküller içerdiği belirlenmiştir. Bunun yanı sıra %0,77-1,2 oranında uçucu yağ içerdiği ve ana bileşenler olarak KD-fenchone (%29,28),  $\alpha$ -pinen (%23,18), kafur (%15,97), kampen (%7,83), eucapur (%3,29), limonen, (%2,71) linalool, (%2,01) endobornil esetat (%1,03) taşıdığı saptanmıştır (Öztürk vd. 2005; Pérez-del Palacio *et al.* 2019).

Bu tezde, karabaş otunun ekstraktları kullanılarak yeşil sentez metodu ile toksik ve pahalı kimyasallar kullanılmadan, CuNp sentezi gerçekleştirilerek, elde edilen Np'lerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Yaygın bakteriyel patojenlerin mevcut antimikrobiyal terapötik maddelere karşı, giderek daha dirençli hale geldiği bilinmektedir. Antibiyotik direncindeki hızlı artış, halk sağlığı krizinin ortaya çıkmasına yol açan yeni antibiyotik ajanların gelişimini önemli ölçüde artırmaktadır. Bakteriyel enfeksiyonları kontrol etme kapasitesinin azalmasının bir sonucu olarak, antibiyotiğe dirençli patojenlerin, 2050 yılına kadar yılda ortalama 10 milyon insanın ölümüne neden olacağı ve bunun antibiyotik döneminin sonunu işaret ettiği tahmin edilmekle birlikte (Boudaher and Shaffer 2019), günümüzde, mevcut antibiyotiklere rağmen bakteriyel enfeksiyonlar dünya genelinde hala morbidite ve mortalite faktörü olmaya devam etmektedir (Hemeg 2017).

Çoklu ilaca dirençli bakterilerin ortaya çıkması, mevcut antibiyotiklerin azalan potansiyeli ve neredeyse hiç terapötik seçenek bırakmayan biyofilm oluşumuyla ilişkili olarak endişeler giderek artmaktadır. Bu nedenle, bilim dünyası alternatif antibakteriyel maddeler geliştirmeye yoğunlaşmıştır. Böylece son on yıl içinde, nanopartiküllerin kullanımı artmış, metal ve metal oksit nanopartiküllerinin antibakteriyel aktivitesi üzerine çalışmalar yürütülmüştür. Metal nanopartiküller, saf metallerden (Au, Ag, Cu, Pt, Zn, Fe gibi) ve bunların bileşiklerinden oluşurlar. Metal nanopartiküller; optik, elektrik, katalitik, manyetik ve biyolojik aktiviteler gibi geniş birçok özelliğe sahiptirler (Slavin *et al.* 2017). Bu özellikleri nedeniyle metal nanopartiküller son yıllarda biyomedikal, farmakoloji, kozmetik, tekstil, ziraat, seramik, elektronik, havacılık, inşaat ve petrokimya gibi birçok farklı alanda kullanılmaya başlanmıştır.

Stankic *et al.* (2016), metal ve metal oksit nanopartiküllerin bakterilere toksisite göstermek için özel olarak sentezlenebildiklerini bildirmişlerdir. Nanopartiküllerin antibakteriyel ajan olarak kullanımı antibiyotiklerin sınırlamalarını ortadan kaldırması açısından önemli hale gelmektedir. Au, Ag, Cu, Fe, Ti, Fe, TiO<sub>2</sub>, CuO, ZnO vb. nanopartiküllerin çok çeşitli bakterilere karşı etkili inhibisyon seviyesine sahip olduğu daha önceki çalışmalarda da bildirilmiştir (Lok *et al.* 2007; Rajathi *et al.* 2012; Gunalan *et al.* 2012; Meghana *et al.* 2015; Umar *et al.* 2019).

Metal nanopartiküller, birçok sektörde giderek daha fazla kullanılmasına rağmen üretimleri ile ilgili çevresel güvenlik konuları hala soru işareti oluşturmaktadır. Bu nedenle son yıllarda pahalı ve toksik kimyasal gerektiren geleneksel nanopartikül sentez yöntemleri (kimyasal ve fiziksel yöntemler) yerine biyolojik yöntemler (yeşil sentez) öne çıkmaktadır. Yeşil sentez yöntemi ile çevresel olarak güvenli, ucuz ve belirli özelliklere sahip nanopartiküller üretmek mümkündür. Yeşil sentez yöntemi ile bitkiler, algler, diatomlar, bakteriler, mayalar ve mantarlar kullanılarak nanopartikül sentezi gerçekleştirilmektedir. Bu organizmalarda bulunan proteinlerin ve metabolitlerin indirgeyici kapasiteleri, inorganik metal iyonlarını metal nanopartiküllere dönüştürebilmektedir (Makarov *et al.* 2014).

Elegbede *et al.* (2019), endüstriyel olarak önemli bir enzim olan ksilanazların nanoteknolojik uygulamalardaki potansiyellerini araştırmak amacıyla mısır koçanından üretilen *Aspergillus niger* L3 ve *Trichoderma longibrachiatum* L2'nin ksilanazları ile AgNp ve AuNp sentezi gerçekleştirmişlerdir. Ag-AuNp'ler UV-Vis, FTIR, alan emisyon taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) ve TEM ile karakterize edilmiştir. Ag-AuNp'lerin, 6.98 ila 52.51 nm arasında değişen boyutlarda küresel, oval ve anizotropik şekillerde oldukları bildirilmiştir. Ag-AuNp'lerin *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* bakterilerine karşı 17-24 mm inhibisyon zonu gösterdiği bildirilmiştir. Ag-AuNp'lerin *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*'a karşı ise antifungal aktivite sergilediği bildirilmiştir. Ayrıca, insan kanı ile muamele edilen Ag-AuNp'lerin olağanüstü antikoagülan ve trombolitik aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir.

Surendra *et al.* (2019) *Moringa oleifera* (moringa bitkisi) kabuğunun metanolik özütünü kullanarak yeşil sentez metodu ile gadolinyum oksit ( $Gd_2O_3$ ) nanopartiküllerini sentezlemiş ve karakterize etmişlerdir. SEM ve TEM analizi sonucunda  $Gd_2O_3$ Np'lerinin çubuk şeklinde ve  $26 \pm 2$  nm boyutunda olduğu tespit edilmiştir. Sentezlenen  $Gd_2O_3$ Np'leri *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı güçlü antibakteriyel aktivite, *Alternaria saloni* ve *Sclerotium rolfsii*'ye karşı ise güçlü antifungal aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Yine aynı çalışmada,  $Gd_2O_3Np$ 'lerin insan kanının kırmızı kan hücreleri üzerindeki toksisitesi test edilmiş, elde edilen sonuçların sentezlenen  $Gd_2O_3Np$ 'lerin insan eritrositleri için toksik olmadığı belirtilmiştir.

Anwar *et al.* (2019) beyin yiyen amiplere ve çoklu ilaca dirençli bakterilere karşı yeni antimikrobiyal ajanlar olarak narenciye flavonoid glikozitleri olan Hesperidin (HDN) ve Naringin (NRG) yüklü bitki zamklarını kullanarak yeşil sentez metodu ile Au ve Ag nanopartikül sentezi gerçekleştirmişlerdir. Sentezlenen AuNp ve AgNp'lerin önemli birer amip cinsi olan *Acanthamoeba castellanii* ve *Naegleria fowleri*'ye karşı anti-amoebik etkileri test edilirken, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve nöropatojenik *Escheria coli* K1'e karşı antibakteriyel etkileri de test edilmiştir. HDN'den sentezlenen AuNp'lerin *A. Castellanii*'nin canlılığını önemli ölçüde azalttığı, AgNp'lerin ise amiplerin canlılığını %100 oranında inhibe ederken *E. coli* K1'e karşı da önemli antibakteriyel etki sergilediği kaydedilmiştir. Ayrıca, bu Np'lerin antimikrobiyal deneyler için kullanılan konsantrasyonlarının yaklaşık üç katı insan hücrelerinde test edilmiş ve minimal (%23) sitotoksosite göstermiştir. Araştırma sonucunda, bu nanopartiküllerin, çoklu ilaca dirençli bakterilerin yanı sıra, beyin yiyen amiplerin neden olduğu enfeksiyonlara karşı terapötik ajanlar olarak kullanılabilme potansiyeline sahip ve ilaç geliştirmede kullanılabilceği bildirilmiştir.

Vanlalveni *et al.* (2018) yaptıkları çalışmada yeşil sentez metodu ile ilk kez bir siyanobakter (*Nostoc linckia*) kullanarak AgNp sentezi gerçekleştirmişlerdir. AgNp'lerin oluşumunu doğrulamak için UV-Vis, XRD, FTIR, TEM ve enerji dağıtıcı X ışını (EDX) spektroskopisi kullanılmıştır. Sentezlenen AgNp'lerin 5-60 nm aralığında, küresel şekilli olduğu tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda, elde edilen AgNp'lerin, dört farklı patojenik bakteriye (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus ssp.*) karşı güçlü antibakteriyel aktivite ve iki mantar suşuna (*Candida albicans* ve *Aspergillus niger*) karşı ise antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.



Annu *et al.* (2018) *Citrus limonum* (limon), *Citrus sinensis* (portakal) ve *Citrus limetta* (misket limonu) türlerinin kabuk ekstresini kullanarak AgNp sentezlemişlerdir. Sentezlenen gümüş nanopartiküller UV-Vis, dinamik ışık saçılımı (DLS) ve yüksek çözünürlüklü transmisyon elektron mikroskobu (RTEM) kullanılarak karakterize edilmiştir. AgNp'lerin disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivite, DPPH testi ile antioksidan aktivitesi ölçülmüştür. Araştırmada, Np'lerin hem gram pozitif (*S. aureus*) hem de gram negatif (*E. coli*) bakterilerine karşı iyi bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve meyve kabuklarından üretilen nanopartiküllerin çok yönlü potansiyel biyoaktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir.

Rezaie *et al.* (2018), antibakteriyel ve fotokatalitik özellikler kazandırmak için pamuktan CuONp sentezi gerçekleştirmişlerdir. FE-SEM, EDX, XRD, UV-Vis ve FTIR analizleri ile pamuk yüzeyinde CuONp'lerin var olduğu kanıtlanmıştır. Araştırmada, insan dermal fibroblast için düşük toksik olarak ayarlanmış dozların *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı mükemmel antibakteriyel performans (%100) gösterdiği belirlenmiştir. Yine araştırma sonucunda, antibakteriyel ve fotokatalitik uygulamalar için tasarlanan selülozik esaslı CuONp malzemelerin çevre dostu ve düşük maliyetli olduğu ortaya koyulmuştur.

Prakash *et al.* (2018), *Cordia sebestena* çiçeklerinin sulu özütlerini kullanarak yeşil sentez metodu ile CuONp sentezlemişlerdir. TEM ve DLS analizleri sonucunda partikül büyüklüğünün 20-35 nm arasında olduğu tespit edilmiştir. Np'lerin, hidrojen peroksit ile fotokataliz yoluyla bromotimol mavisini (BTB) degrade ettiği belirlenmiştir. Bu bulgular sonucunda Np'lerin fotolizde su kirletici maddelerin giderilmesi için kullanılabileceği bildirilmiştir. Yine bunlara ek olarak CuONp'lerin agar disk difüzyon metodu ile 4 patojen bakteriye karşı antibakteriyel aktivitesi test edilmiş ve *Bacillus subtilis*'de 22 mm, *Staphylococcus aureus*'da 24 mm, *Escherichia coli*'de 23 mm ve *Klebsiella pneumoniae*'da 21 mm inhibisyon zonu oluştuğu gözlemlenmiştir.

Alaghemand *et al.* (2018), *Nigella sativa L.* (çörek otu) tohumlarını kullanılarak ZnONp sentezlemişlerdir. ZnONp'ler, XRD, SEM ile tanımlanmıştır. Sentezlenen ZnONp'ler

püskürtme yöntemi ile bitkiye uygulanarak bitki boyu ve dal sayısı üzerine olan etkileri incelenmiştir. Araştırmada bitki boyunda ve dal sayısında önemli farklılıklar gözlemlenmiştir. Bu şekilde formüle edilen ve bitkiye uygulanan ZnONp'lerin, bitkide verimi artırmada, ürün geliştirmede ve gıda eksikliklerinin giderilmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir.

Rajesh *et al.* (2017), yeşil sentez yöntemi ile *Syzygium aromaticum* (karanfil) tomurcuğu ekstresi kullanılarak CuNp sentezlenmişler ve sentezlenen nanopartikülleri yapısal, morfolojik, optik ve antimikrobiyal olarak incelemişlerdir. FTIR, XRD, UV-Vis ve EDS ile nanopartiküllerin karakterizasyonu yapılmıştır. Araştırmada, karakterize edilen CuNp'lerin antimikrobiyal aktivitesi test edilmiş, *Bacillus spp* karşı 8 mm ve *Penicillium spp*'ye karşı 6 mm'lik inhibisyon zonu elde edildiği bildirilmiştir.

Manikandan *et al.* (2017), *Ficus benghalensis* (bengal kauçuğu) *prop* kök ekstresi (FBPRE) kullanılarak sentezlenen Ag<sub>2</sub>ONp'lerin dişlerde plağa neden olan bakteriyel suşlara karşı antibakteriyel aktivitesini değerlendirmişlerdir. FBPRE ve Ag<sub>2</sub>ONp karışımının, dental bakteriler olan *Streptococcus mutans* ve *Lactobacilli sp*'ye karşı mükemmel antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Araştırma sonucunda, Ag<sub>2</sub>ONp ve FBPRE karışımının hayvan modelleriyle yapılan kapsamlı bir araştırmadan sonra plak önleyici etkisinden dolayı diş macunu olarak yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Naika *et al.* (2015), *Gloriosa superba* L. (ateş lalesi) bitki ekstraktı kullanılarak yeşil sentez metodu ile CuONp sentezlemişlerdir. Sentezlenen CuONp'ler TEM ile karakterize edilmiş ve şekillerinin küresel, boyutlarının ise 5-10 nm olduğu saptanmıştır. Ayrıca sentezlenen CuONp'lerin gram negatif *Klebsiella aerogenes*, *Pseudomonas desmolyticum*, *Escherichia coli* ve gram pozitif *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı önemli antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu bildirilmiştir.

Kumar *et al.* (2015) aloe vera yaprağı ekstresini kullanarak, yeşil sentez metodu ile ortalama 20 nm büyüklüğünde CuONp sentezi gerçekleştirmişlerdir. Sentezlenen

CuONp'lerin balıklarda ciddi bulaşıcı hastalıklara neden olan *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Flavobacterium branchiophilum* bakterilerine karşı düşük konsantrasyonlarda (20 µg/mL) bile gelişmiş antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Elango and Roopan (2015), *Cocos nucifera* L.'nin metanolik ekstresini, PbNp'lerin sentezlenmesi için bir indirgeme maddesi olarak kullanmışlar ve 47 nm boyutunda PbNp'ler oluşturulmuştur. Araştırmada sentezlenen PbNp'ler UV-Vis, XRD, TEM ve EDAX ile karakterize edilmiştir. PbNp'lerin dört patojenik suşa karşı (*Stablococcus aureus*, *Escheria coli*, *Staphylococcus epidermis* ve *Bacillus subtilis*) antimikrobiyal aktivitesi test edilmiş ve *S. Aureus*'a karşı iyi antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir.

Glikozit, saponinler ve uçucu yağlar içeren, geleneksel tıpta kullanılan önemli bir tıbbi ve aromatik bitki olan, karabaş otu, Anadolu Halk Hekimliğinde antiseptik ve yara iyileştirici özellikleri ile ön plana çıkmaktadır. Türkiye'de yetişen karabaş otu bitkisinin içeriğini kromatografik tekniklerle araştırıldığı çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre glikozit, saponinler ve uçucu yağ taşımaktadır. Bu uçucu yağlar başlıca kafur, fenkon, borneol, terpinol, sineol linalol, linalil asetat, bornil asetat ve kadinendir. Bu uçucu yağların çoğunluğunu kafur (%30) ve fenkon (%18) oluşturmaktadır. Yani uçucu yağların nerdeyse yarısının ketonlardan oluştuğu kaydedilmiştir (Ayrıl 1997; Baytop 1999; Yenici 1999).

Öztürk vd (2005), karabaş otundan elde edilen uçucu yağların, *Proteus vulgaris*'e (ATCC 6897) karşı standart antibiyotiklerden daha kuvvetli antibakteriyel etki ve *Candida albicans* (ATCC 10239) fungusuna karşı ise Nistanin'e yakın düzeyde antifungal etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Canlı vd (2019), karabaş otu'nun etanol ekstresini 22 bakteri (*Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus*

*aureus Staphylococcus aureus, Salmonella enteritidis, Staphylococcus epidermidis, Salmonella infantis, Salmonella kentucky, Salmonella typhimurium, Acinetobacter baumannii, Proteus vulgaris, Streptococcus pneumoniae*) ve 1 mayaya (*Candida albicans*) karşı antimikrobiyal aktivitesini test etmişlerdir. Disk difüzyon ve broth dilüsyon testleri sonucunda bitki ekstraktının *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* dışındaki tüm mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirilmişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada karabaş otu ekstraktının biyokimyasal bileşimi araştırılmış ve majör bisiklo [2.2.1] heptan-2-on, 1,3,3-trimetil-, (1R)-) ve kafur (+)- 2-bornanon içerdiği rapor edilmiştir.

Bayrak vd (2018) karabaş otunun etanol ve metanol ekstraktlarının 8 gıda patojeni (*Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Salmonella typhimurium, Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Yersinia enterocolitica* ve *Candida albicans*) üzerine disk difüzyon yöntemleri ile antimikrobiyal aktiviteleri test etmişlerdir. Karabaş otu özlerinin, antimikrobiyal, antioksidan ve antimutagenik aktivitelere sahip olduğunu bildirilmişlerdir.

Kahraman ve Özoğul (2018), paketlenmiş hamsi filetosunun  $2\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 11 gün melisa ve karabaş otu ekstraktlarıyla (%1) vakum depolanması sonucunda, melisa ve karabaş otu ekstrelerinin hamsinin raf ömründe iki günlük bir artış sağladığı ve balık kalitesini koruduğunu bildirmişlerdir.

Sebai *et al.* (2013) karabaş otunun fitokimyasal profili ile esansiyel yağların yanı sıra, alloksan kaynaklı diyabete ve sıçandaki oksidatif strese karşı koruyucu etkileri araştırmışlardır. Karabaş otunun, D-fenchone (%29,28), a-pinen (%23,18), kafur (%15,97), kampen (%7,83), eucapur (%3,29), limonen, (%2,71) linalool, (%2,01) endobornil esetat (%1,03) ve ayrıca daha küçük yüzdelerde tricyclene, cymene, delta-cadinene içerdiği tespit edilmiştir. Bu bulgular karabaş otunun alloksan tedavisinin neden olduğu diyabet ve oksidatif strese karşı korunan esansiyel yağlara sahip olduğunu göstermiştir.

Dadaloğlu vd (2004), *Origanum minutiflorum*, *Laurus nobilis*, *Foeniculum vulgare* ve karabaş otu bitkilerinin esansiyel yağlarının kimyasal bileşimlerini ve gıda kaynaklı patojenler olan *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı inhibitör etkilerini araştırmışlardır. Tüm esansiyel yağların, test edilen bakterilere karşı çok gúçlü antibakteriyel aktivite sergilediğini bildirmışlerdir.



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Bitkinin Temini

Yapılan çalışmada Np'lerin sentezinde kullanılan karabaş otları ticari olarak temin edilmiştir. Çalışmada karabaş otlarının kurutulmuş formu kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Karabaş otunun yaş ve kuru formu (Anonymous 2019b).

#### 3.2. Kullanılan Kimyasallar

Bakır asetat çözeltisinin hazırlanması; 500 mL distile suya 36 g bakır asetat ( $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) eklenerek 20 °C'de manyetik karıştırıcıda çözelti hazırlanmıştır.

%70'lik etil alkol hazırlanması; 100 ml için 70 ml etil alkol, 30 ml saf su ile hazırlanmıştır.

#### 3.3. Kullanılan Cihazlar

- +4 buzdolabı (Uğur)
- Etüv (WiseCube)
- FT-IR (Bruker Vertex 70v)

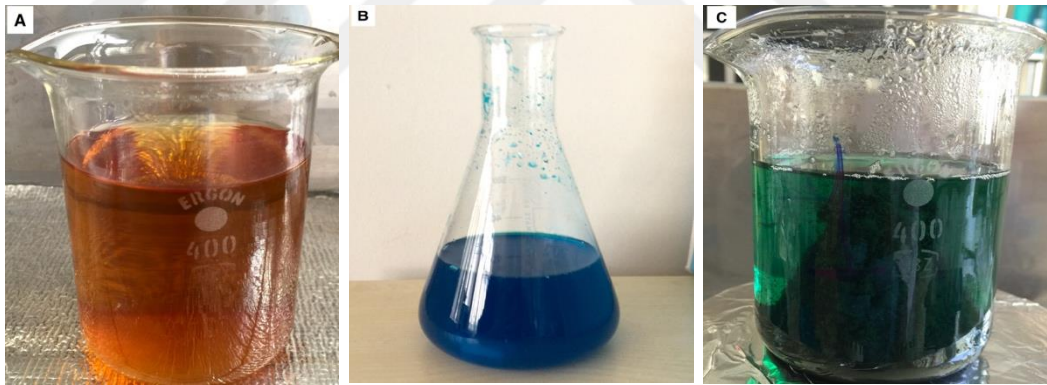
- Hassas terazi (Shimadzu)
- Manyetik karıştırıcı (Heidolph MR hei-standard)
- McFarland densitometre (Biosan)
- Otoklav (Hiclave HV-50 L)
- pH metre (Mettler Toledo)
- Saf su cihazı (Merck Milipore direct-Q 3,5,8)
- Santrifüj (Hettich EBA-20)
- SEM (Zeiss Sigma 30)
- SEM kaplama cihazı (Quorum Q150R)
- Steril kabin (Faster Safe Fast Classic 212)
- TEM (Hitachi HighTech HT7700)
- UV-Vis Spektrofotometre (Shimadzu Uv-3600 Plus)
- XRD (PANalytical empyrean)

#### **3.4. Bitki Ekstraktının Hazırlanması**

Kurutulmuş karabaş otları, toz ve kirden arındırılmak amacıyla birkaç kez distile su ile yıkanıp, kurutma kâğıdı üzerinde kurumaya bırakılmıştır. Kurutulduktan sonra bitki elle ufak parçalara ayrılmıştır. 15 g bitki 400 ml distile su olacak şekilde örnek hazırlanmış ve ışık görmeyecek şekilde alüminyum folyo ile kapatılarak oda sıcaklığında 24 saat 1000 rpm'de manyetik karıştırıcıda inkübasyona bırakılmıştır. Farklı bitki miktarı, sıcaklık ve inkübasyon sürelerinde yapılan ön denemelerin TEM ve SEM sonuçlarına göre ve en optimal şartların 24 saat oda sıcaklığı olduğu tespit edilmiştir. İnkübasyondan sonra bitki ekstraktı süzülerek 50 ml'lik falcon tüplerine aktarılmış ve 24°C'de, 5000 rpm'de, 5 dakika süreyle, 4 kez santrifüj edilmiştir. Her santrifüj sonunda süpernatant kısmı yeni tüpe aktarılmış ve pellet atılmıştır. Elde edilen bitki ekstraktı pH değerleri ölçülmüş (pH 6,6) ve daha sonra kullanılmak üzere 4°C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.5. CuNp Sentezi

CuNp'lerin sentezi için, bakır asetat ( $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) çözeltisi hazırlanmıştır. Elde edilen bitki ekstraktına (250 ml) 10:1 olacak şekilde bakır asetat (25 ml) çözeltisi yavaş yavaş eklenmiştir. Örnekler alüminyum folyo ile ışık görmeyecek şekilde kapatılarak, 60-70°C'de 2 saat manyetik karıştırıcıda inkübe edilmiştir. İnkübasyona süresi boyunca renk değişimi gözlemlenmiştir (Şekil 3.3). Bu renk değişimi bakır iyonlarının CuNp'lere dönüşümünün bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. Daha sonra örnekler 24°C'de 10000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı atılarak pellet bir kez distile su ile yıkanmıştır. İşlem sonunda elde edilen CuNp'ler beherlere aktarılarak etüvde 80°C'de 24 saat kurutulmuştur. Kurutulmuş CuNp'lere kazıma işlemi yapılarak steril tüplere aktarılmış ve ışık görmeyecek şekilde alüminyum folyo ile kapatılarak oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir (Iravani *et al.* 2011).



Şekil 3.2. A; Karabaş otu ekstraktı, B; bakır asetat çözeltisi, C; Karabaş otu ekstraktı + bakır asetat çözeltisi

### 3.6. Sentezlenen CuNp'lerin Karakterizasyonu

Nanopartikülleri karakterize etmek için birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu çalışmada ise CuNp'lerin karakterizasyonu için temel teknikler olan TEM, SEM, UV-Vis, XRD, FTIR kullanılmıştır. Analizler Atatürk Üniversitesi bünyesinde hizmet veren Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Merkezi'ne (DAYTAM) yaptırılmıştır.



### 3.6.1. TEM analizi

TEM, nano boyuttaki malzemelerin morfolojisini ve kimyasal içeriğini ölçmek için kullanılmaktadır (Wang 2000; Brice-Profeta *et al.* 2005). Np'lerin görüntülenmesinin yanı sıra, Np'lerin toplanması, dağılması, büyüklüğü, yapısı ve şeklini belirlemek için başarıyla uygulanmaktadır (Farré *et al.* 2009; Ren *et al.* 2009). Numunenin boyutlarını karakterize etmek için Hitachi HighTech HT7700 cihazı kullanılmış ve numune farklı açılardan görüntülenmiştir.

### 3.6.2. SEM analizi

SEM, nanopartiküllerin doğrudan görselleştirilmesiyle boyut, şekil ve yüzey morfolojisini belirler (Ali *et al.* 2016). İletken olmayan numuneler çok ince iletken malzemeyle kaplanarak incelenebilir hale getirilebilmektedir. Sentezlenen toz CuNp'ler yaklaşık 3 Å/saniye ince bir tabaka Au ile kaplanmıştır. Bu ultra ince tabaka, parçacıkların moleküler seviyelerde net görüntülerinin elde edilmesine yardımcı olmaktadır. Numune Au ile kaplandıktan sonra Zeiss Sigma 30 cihazı ile görüntüleri elde edilmiştir.

### 3.6.3. UV-Vis spektroskopisi

UV-Vis spektroskopisi, nanopartiküllerin yapısı, büyüklüğü, stabilitesi, konsantrasyonu ve toplanması hakkında bilgi vermektedir (Sapsford *et al.* 2011). 1 mg CuNp 3 mL deiyonize suda çözülmüş ve Np'lerin suda iyi bir dağılım göstermeleri için numune belirli bir süre sonikasyona tabi tutulmuştur. Bu solüsyon daha sonra küvete yerleştirilmiş ve Np'ler 200-875 nm arasındaki dalga boylarında UV-Vis spektrumları ölçülerek karakterize edilmişlerdir.

### 3.6.4. FTIR analizi

FTIR, ışığın dalga boyuna göre nanopartiküller ile biyolojik ekstraktların ilişkili fonksiyonel grupların yapısını ve yapısal özelliklerini belirlemek için kullanılır (Sbobha *et al.* 2014). Analizde Bruker Vertex 70v cihazı kullanılmıştır. Np'ler iyi sinyal/gürültü oranı elde etmek için 50/4000  $\text{cm}^{-1}$  aralığında bir kızılötesi kaynağına maruz bırakılarak karakterize edilmişlerdir.

### 3.6.5. XRD analizi

XRD, doğal ve yapay olarak imal edilen nanopartiküllerin kristalografik yapısı veya elemental bileşimi hakkında bilgi vermektedir (Yuan 2007). Sentezlenen CuNp'lerin XRD paterni PANalytical empyrean XRD cihazı ile  $10^\circ$  ile  $90^\circ$  arasında  $2\theta$  aralığında 0,02 adım büyüklüğü ile analiz edilmiştir.

UV-Vis spektrumları, FTIR ve XRD sonuçları OriginLab veri analizi programında değerlendirilerek grafikleri çizilmiştir.

## 3.7. Antimikrobiyal Aktivite Ölçümü

### 3.7.1. Kullanılan mikroorganizmalar

Antimikrobiyal aktivite ölçümünde kullanılan ve aşağıda listelenmiş olan patojen bakteriler, Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Enzim ve Mikrobiyal Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir.

- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Bacillus subtilis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Salmonella enteritidis*

- *Escherichia coli*
- *Enterococcus faecalis*

### 3.7.2. Besiyeri hazırlanması

Katı besiyeri hazırlamak için 28 gram nutrient agara, 1 litre distile su eklenerek çözündürmek için manyetik karıştırıcıda 10 dakika karıştırılmıştır. Sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Yaklaşık olarak 47 °C'ye kadar soğuduktan sonra steril petrilere dökülmüş ve donmaya bırakılmıştır. Sıvı besiyeri hazırlamak için ise 13 gram nutrient brotha, 1 litre distile su eklenerek çözündürmek için manyetik karıştırıcıda 10 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

### 3.7.3. Bakteri inokulumunun hazırlanması

Antimikrobiyal aktivite testinde kullanılacak standart bakteri suşları, nutrient broth besiyerinde, 35°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sonra gelişen koloniler, serum fizyolojik ile seyreltilerek, McFarland 0.5 bulanıklık standardına göre  $10^8$  CFU/ml olacak şekilde ayarlanmıştır.

### 3.7.4. Disk difüzyon testi

Karabaş otundan sentezlenen CuNp'lerin antimikrobiyal aktiviteleri, agar disk difüzyon metodu kullanılarak test edilmiştir. Önceden steril edilip petrilere dökülen besi yerlerine 0.5 McFarland bulanıklık standardına göre ( $10^8$  CFU/mL) hazırlanan bakteri süspansiyonlarından 20 µL alınıp, steril drigalski spatül ile besiyerine yayılarak ekim yapılmıştır. Toz halindeki nanopartiküller 250 µg/mL, 500 µg/mL, 750 µg/mL, 1 mg/mL, olacak şekilde stok solüsyonu hazırlanmıştır. Daha sonra, ticari olarak satın alınan 5 mm çapındaki steril disklere Np'ler yüklenmiş ve 30 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra diskler petrilere aktarılmış ve etüvde 35°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra oluşan zon çapları ölçülerek değerlendirme yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak antimikrobiyal aktivitesi olduğu bilinen bakır asetat çözeltisi

kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak ise steril distile su kullanılmıştır. Deneyle 3'er tekerrürlü olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **3.7.5. Broth dilüsyon metodu**

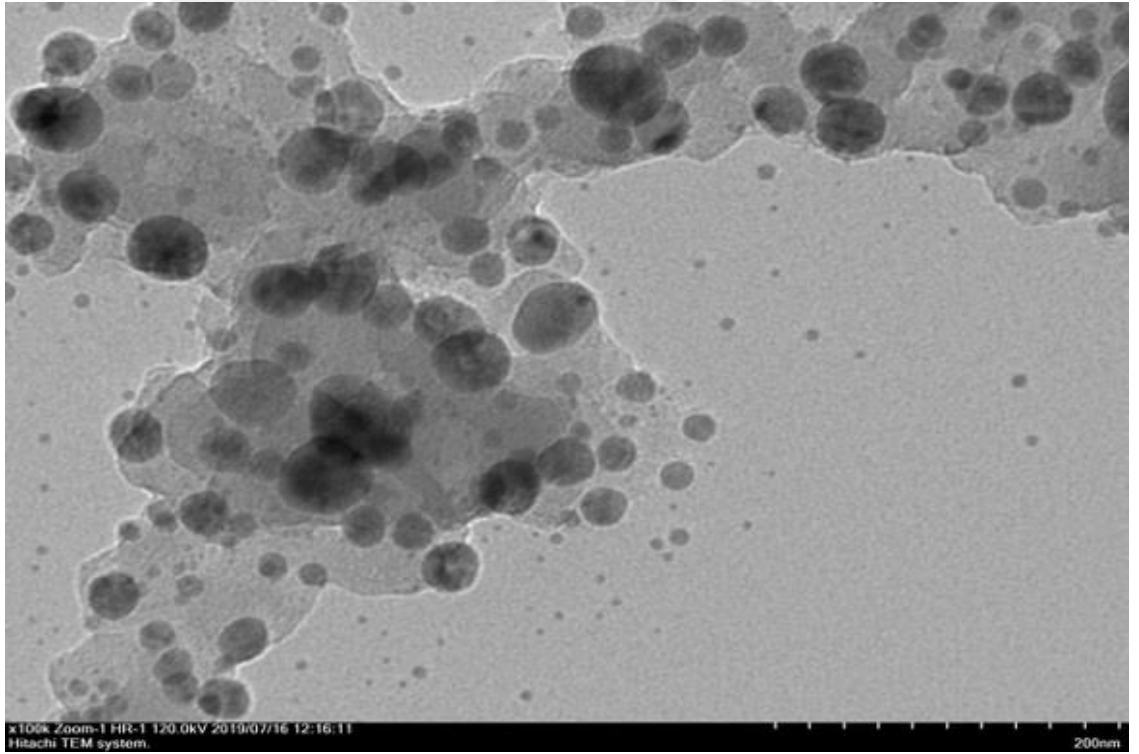
İlk olarak test tüplerinin hepsine 9'ar ml nutrient broth besiyeri konulmuştur. 1000 µg/mL konsantrasyonunda olacak şekilde 5 ml stok CuNp hazırlanmıştır. İlk tüpe stok maddeden 1 ml ilave edilip, iyice karıştırılarak 1 ml'si alınıp ikinci tüpe aktararak,  $10^{-1}$ 'den  $10^{-10}$ 'a kadar devam edilerek maddenin 2 katlı azalan konsantrasyonda (1000 ila 1,95 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda) seri dilüsyonu yapılmıştır. Her tüpe 20 µL Mcfarland 0.5'e ayarlanmış bakterilerden eklenip ve iyice karıştırılmıştır. Pozitif kontrol olarak ise bir tüpe 10 ml nutrient broth besiyeri ve 20 µL Mcfarland 0.5'e ayarlanmış bakteri süspansiyonu eklenmiştir. Etüvde 35°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu üremenin olup olmadığı kontrol edilerek üremenin olmadığı son tüp MIC değeri olarak kabul edilmiştir (Wiegand *et al.* 2008).

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

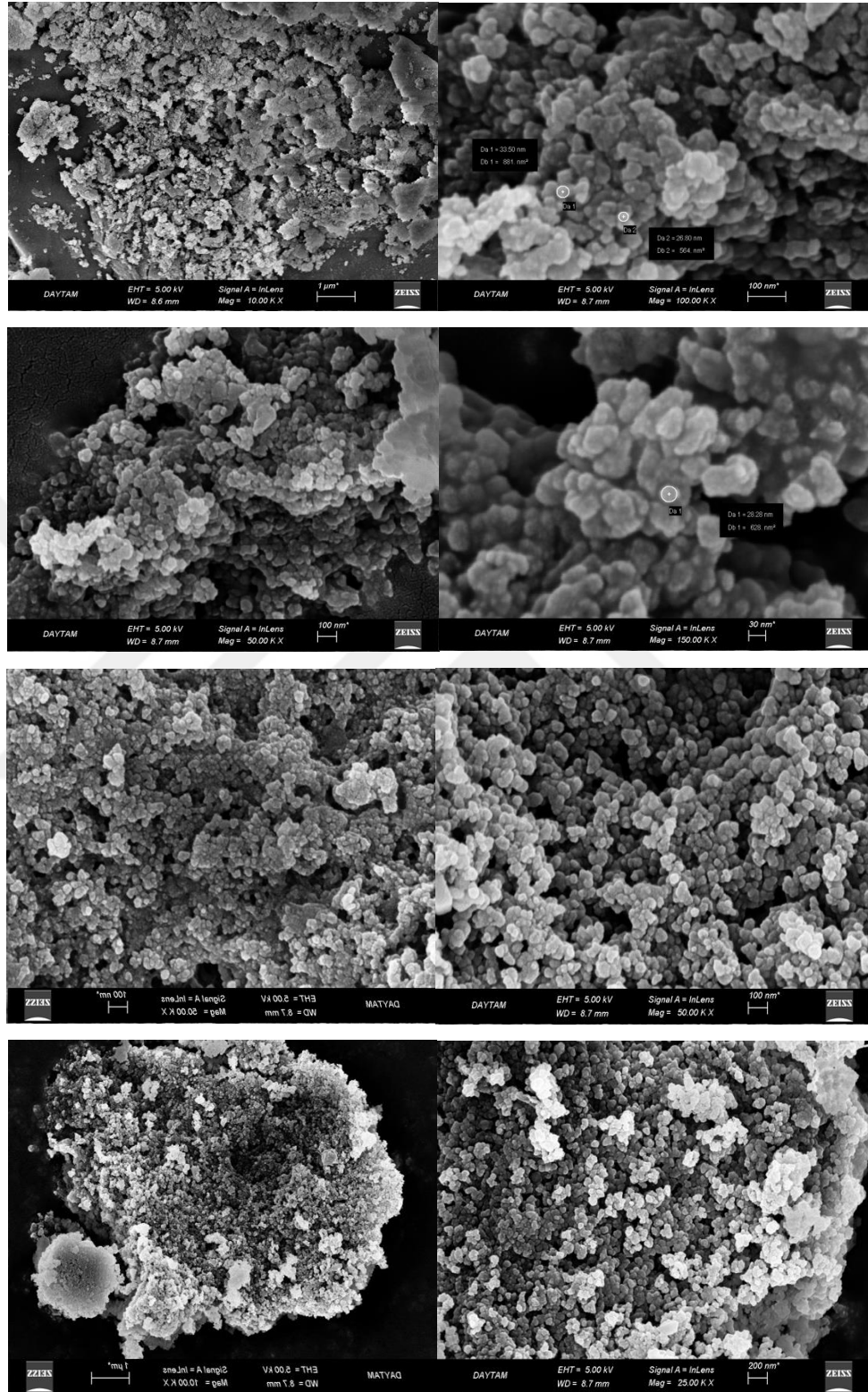
### 4.1. CuNp'lerin Karakterizasyonu

#### 4.1.1. TEM ve SEM Sonuçları

Yeşil sentez metodu ile karabaş otundan elde edilen CuNp'lere ait TEM ve SEM görüntüleri Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de verilmiştir. TEM ve SEM görüntülerinden partiküllerin farklı çaplarda ve büyüklükte oldukları görülmektedir. CuNp'lerin şekillerinin küresel ve boyutlarının  $<50$  nm olduğu tespit edilmiştir.



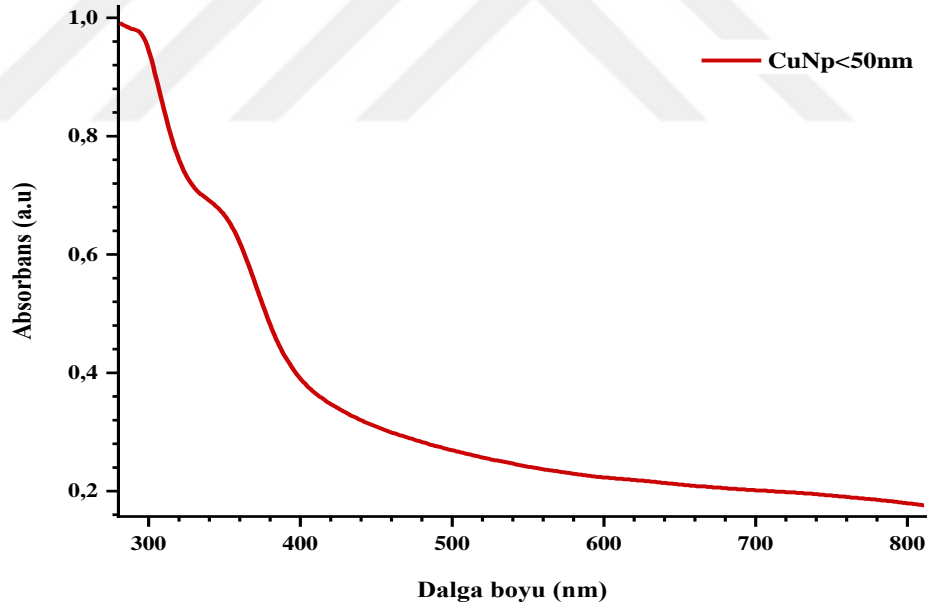
Şekil 4.1. CuNp'e ait TEM görüntüsü



Şekil 4.2. CuNp'e ait SEM görüntüsü

#### 4.1.2. UV-Vis Sonucu

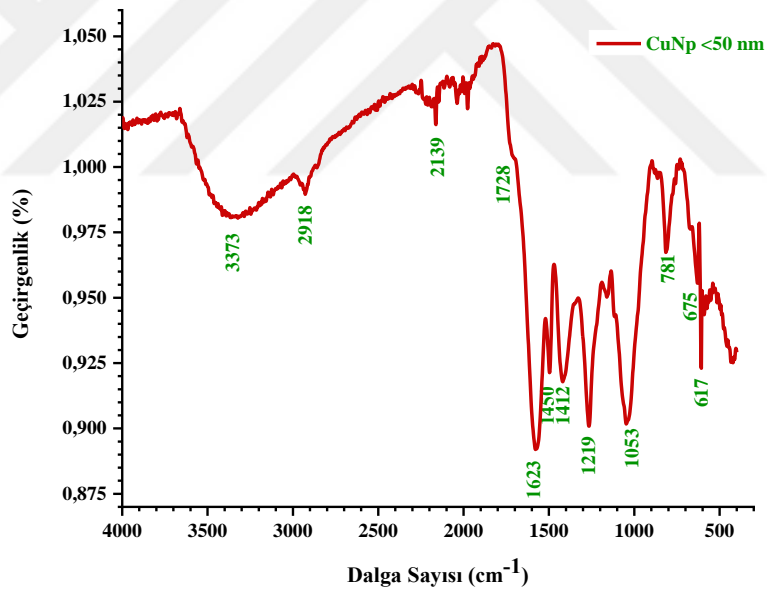
UV-Vis spektrumunun ölçümü nanopartiküllerin yüzey plazmon rezonans (SPR) özelliklerini belirlemek için önemli ve güvenilir bir yöntemdir. Bunun nedeni, her metalin SPR özelliği nedeniyle benzersiz ve ayırt edici optik özellikler sergilemesidir. UV-Vis analizinde, metalik Np'lerin serbest elektronları, farklı SPR absorpsiyon bantlarını sağlayabilirken, bu serbest elektronlar ultraviyole görünür aralığın spesifik ışık dalgası ile birlikte bir titreşim yaratır (Bindhu *et al.* 2013). Yeşil sentez yöntemiyle karabaş otundan sentezlenen CuNp'lerin UV-Vis spektrumu Şekil 4.3'de gösterilmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar, yeşil sentezlenmiş CuNp'lerin maksimum absorpsiyonunun 310-320 nm'de olduğunu göstermektedir. Maksimum pik değerinin 310-320 nm'de gerçekleşmesi, redüksiyon işlemini ve Np'lerin oluşumunu göstermektedir.



Şekil 4.3. CuNp'lere ait UV-Vis spektrumu

#### 4.1.3. FTIR Analizi Sonucu

CuNp'lerin yüzey yapısını karakterize etmek için gerçekleştirilen FTIR analizi Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Görünen bantlar, Np'ler üzerine adsorbe edilen biyomoleküllerin fonksiyonel gruplarını gösteren kafes titreşim modlarıdır. CuNp'lerin FTIR spektrumları, CuNp'lerin oluşumunu doğrulayan Cu titreşimlerine atfedilebilecek 500-600  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde titreşimler sergilemiştir. Cu'nun titreşimlerine bağlı olarak 617  $\text{cm}^{-1}$ 'de bir absorpsiyon bandı görülmüştür. Hidroksil fonksiyonel grupların gerilme hareketlerine karşılık gelen bölgede 3373  $\text{cm}^{-1}$  yoğun ve geniş bir bant ortaya çıkmıştır (Veisi *et al.* 2016). CuNp için yapılan FTIR analizinde 617, 675, 781, 1053, 1219, 1412, 1450, 1728, 2139, 2918 ve 3373  $\text{cm}^{-1}$  sayısal değerleri gösteren pikler gözlemlenmiştir.



Şekil 4.4. CuNp FTIR Analizi

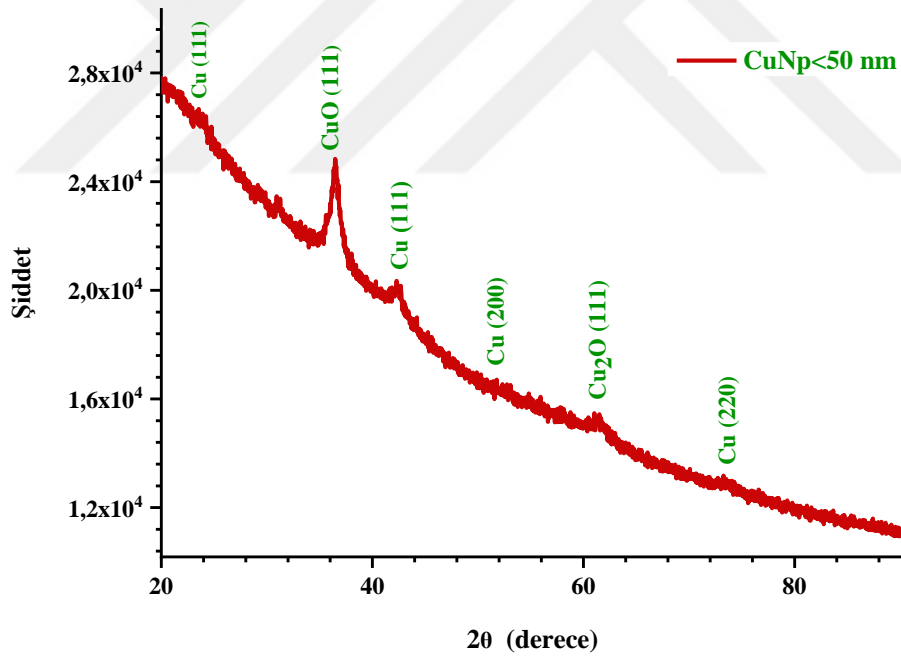
#### 4.1.4. XRD analizi sonucu

Moleküler seviyelerde partiküllerin kristallliğini ve üçüncül yapıları değerlendirmek için çok önemli bir anahtar araç olarak kabul edilen XRD ile CuNp'ler tanımlanmıştır (Sapsford *et al.* 2011; Li *et al.* 2015). X-ışını kırınımı ile CuNp'lerle ilişkili belirgin



kristalli fazlar: metalik Cu, cuprit ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) ve tenorit ( $\text{CuO}$ ) gözlenmiştir.  $\text{CuNp}$ 'lerine ait X-ışını kırınım desenleri  $2\theta = 20\text{--}80$  açı aralığında elde edilmiştir.  $36,46^\circ$  (111),  $42,69^\circ$  (111),  $50,5^\circ$  (200),  $61,49^\circ$  (111) ve  $73,25^\circ$  (200)'de kırınım pikleri gözlemlenmiştir (Şekil 4.5).

Ayrıca numuneler ışık görmeyecek ve hava almayacak şekilde muhafaza edilmiş olmasına rağmen numunede oksitlenme gözlemlenmiştir. Çünkü nanopartiküller boyutlarından dolayı artan yüzey alanları sayesinde aynı materyalin bulk haline göre çok daha hassastır. Bu nedenle oksijen ile temas eden nanopartiküller hızlı bir şekilde reaksiyona girer ve oksitlenir. Oksitlenen  $\text{CuNp}$ 'lerin ( $\text{CuONp}$ ) XRD spektrogramunun 111 olduğu kaydedilmiştir.



Şekil 4.5.  $\text{CuNp}$ 'lere ait XRD Analizi

## 4.2. Antimikrobiyal Aktivite

### 4.2.1. Broth dilüsyon testi sonucu

Seçilen gram pozitif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) ve gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*) bakterilerin biyosentezlenmiş CuNp'lere yönelik *in vitro* duyarlılıkları broth dilüsyon ve disk difüzyon yöntemleri ile belirlenmiştir. Np'lerin 1000 ila 1,95 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlar ile yapılan broth dilüsyon yönteminin sonucu Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Broth dilüsyon yöntemi ile bakteri suşlarına karşı CuNp'lerin antimikrobiyal duyarlılıkları (µg/mL). “-” bakteriyel üreme yok, “+” bakteriyel üreme var.

Bakteri	1000	500	250	125	62,5	31,25	15,62	7,81	3,90	1,95	Kontrol
<i>E. coli</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aerous</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. enteridis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecalis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

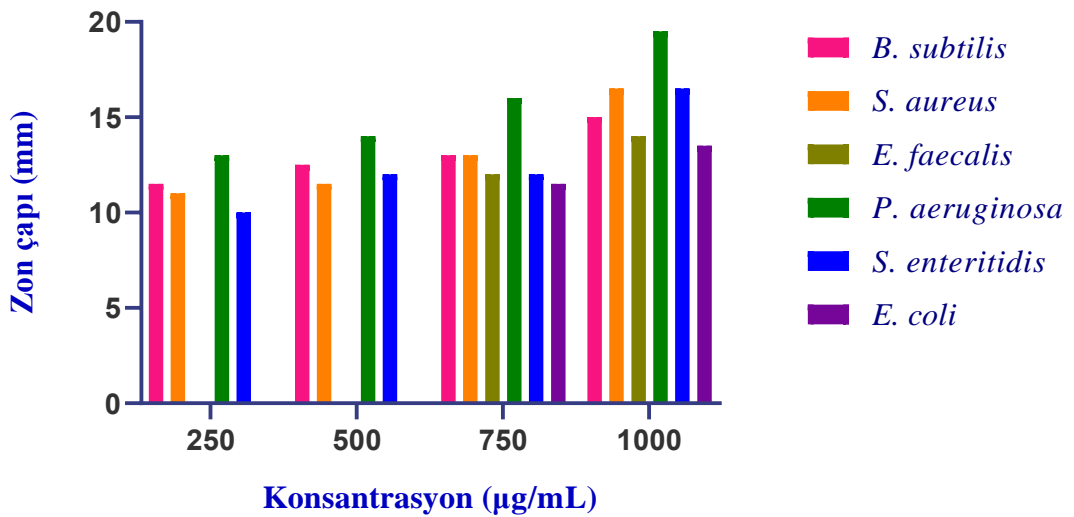
Bakteri suşları için MIC değerleri; *B. subtilis* için 250 µg/mL, *S. aureus* için 250 µg/mL, *E. faecalis* 500 µg/mL için, *P. aeruginosa* için 250 µg/mL, *S. enteritidis* için 250 µg/mL ve *E. coli* için 500 µg/mL olarak kaydedilmiştir.

#### 4.2.2. Disk Difüzyon Testi Sonucu

MIC değerine göre belirlenen konsantrasyonlar ile gerçekleştirilen disk difüzyon testinin sonucunda, diskler etrafında oluşan inhibisyon zon çapları (mm) Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. Ek olarak CuNp’lerin oluşturduğu inhibisyon zonlarının grafiği de Şekil 4.6’da verilmiştir.

**Çizelge 4.2.** Disk difüzyon yöntemi ile bakteri suşlarına karşı CuNp’lerin mm cinsinden zon çapları. “-“ ile gösterilenlerde zon çapı oluşmamıştır.

BAKTERİ	250 µg/mL	500 µg/mL	750 µg/mL	1000 µg/mL	Cu(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>
<i>B. subtilis</i>	11,5	12,5	13	15	11
<i>S. aureus</i>	11	11,5	13	16,5	10
<i>E. faecalis</i>	-	-	12	14	9
<i>P. aeruginosa</i>	13	14	16	19,5	9
<i>S. enteritidis</i>	10	12	12	16,5	8
<i>E. coli</i>	-	-	11,5	13,5	9



**Şekil 4.6.** CuNp’lerin oluşturduğu inhibisyon zonları

CuNp konsatrasyonu arttıkça zon çapı da artmıştır. Gram negatif ve gram pozitif tüm bakteri suşlarında en etkili stok solüsyonü 1000 µg/mL'dir. Bu konsantrasyonda görülen inhibisyon zonlarının çapları; *B. subtilis*'de 15 mm, *S. aureus*'da 16.5 mm, *E. faecalis*'de 14 mm, *P. aeruginosa*'da 19,5 mm, *S. enteritidis*'de 16,5 mm ve *E. coli*'de 13,5 mm olarak kaydedilmiştir.



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Np'lerin sentezi için, çevresel ve biyolojik açıdan potansiyel risk oluşturan, dış indirgeme maddeleri ve toksik organik çözücüler içeren fiziksel ve kimyasal yöntemler, son yıllarda yerini hızlı, temiz, toksik olmayan, uygun maliyetli ve çevre dostu bir yaklaşım olan yeşil sentez yöntemine bırakmıştır. Yeşil sentez yönteminde bitki özütlerinin kullanılması daha tercih edilen bir yaklaşımdır. Çünkü bitkiler içerdikleri flavonoidler, terpenoidler, taninler, alkaloidler, proteinler ve diğer fitokimyasallarla birlikte metal iyonları indirgeyebilmekte ve Np'lerin boyutunun büyümesini engelleyen stabilizör görevi görmektedirler. Np sentezi için *T. arjuna* (Yallappa *et al.* 2013), *Phyllanthus Amarus* (Acharyulu *et al.* 2014), *Tinospora cordifolia* (Nethravathi *et al.* 2015), *Matricaria chamomilla* (Duman vd 2016), *Abutilon indicum* (Ijaz *et al.* 2017), *Azadirachta indica* (Nagar and Devra 2018) gibi bitkilerin kullanıldığı bilinmektedir. Fakat bu çalışmada zengin doğal kaynaklı polifenolik bileşikler, flavonoidik gruplar, glikozitler, saponinler ve uçucu yağlar içermesi nedeniyle Np sentezi için hem indirgeyici hem de stabilize edici ajan olarak önemli bir tıbbi ve aromatik bitki olan karabaş otu ekstraktı tercih edilmiştir (Gören vd 2002; Sebai *et al.* 2013; Canlı vd 2019). Bütün bu bileşikler  $Cu^{+2}$  iyonunun indirgenmesi için indirgeyici madde olarak hareket ederek, bitki ekstraktı metal tuzu çözeltisi ile karıştırıldığında, polifenolik bileşiklerin hidroksil grupları  $Cu^{+2}$  ile kompleks oluşturarak onu Cu'ya indirgemektedir. Bu şekilde oluşturulan metalik bakır atomları, nükleasyonu izler ve bunu takiben CuNp'ler oluşmaktadır. Bu prosedür ile CuNp sentezi, uygun maliyeti, düşük sentez sıcaklıkları, zaman gereksinimi göz önünde bulundurulduğunda geleneksel protokollere alternatif sunarak, endüstri için kolayca ölçeklendirilebilir olduğunu göstermektedir.

Araştırmada sentezlenen nanopartiküllerin yapısal, morfolojik, optik özellikleri SEM, TEM, UV-Vis, FTIR ve XRD kullanılarak karakterize edilmiştir. CuNp'lerin boyut ölçümleri ve şekilsel karakterizasyonu TEM ve SEM kullanılarak incelenmiş ve elde edilen sonuçlar küresel morfolojiye sahip 50 nm'den küçük CuNp'lerin oluştuğunu göstermiştir. CuNp'lerin TEM görüntüleri, Np'lerin etrafında organik bir kaplama

tabakası olduğunu göstermiştir. Bu tabaka bitkiden sentezlenen nanopartiküllerin çözelti içinde mükemmel bir dağılım gösterdiğinin kanıtıdır (Kahrilas *et al.* 2013).

CuNp'leri genellikle 475-580 nm bant aralığında absorbands göstermektedir. Lee vd. (2013), *Magnolia* bitkisinin yapraklarından sentezledikleri CuNp'lerin UV-Vis spektrumunun 560 nm olduğunu rapor etmişlerdir. Ancak bitki kullanılarak yeşil sentez ile üretilen CuNp'lerinin UV-Vis spektrumlarında genellikle 300-400 nm arasında pik gözlenmesi oldukça fazladır (Gopinath *et al.* 2014; Angrasan and Subbaiya 2014; Sankar *et al.* 2014; Fernando and Gurulakshmi, 2016). Bu aralıktaki absorbands değerleri bitki kaynaklı oksidasyon ürünlerinin varlığı ile ilişkili olabilmektedir. Bu çalışmada, karabaş otundan sentezlenen CuNp'lerin oluşumları UV-Vis spektroskopisi ile analiz edilmiş ve en yüksek pik değerinin 310-320 nm olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, XRD deseninde CuO ve Cu<sub>2</sub>O'nun varlığının gözlenmesi, oksidasyon ürünlerinin mevcudiyetini kanıtlamaktadır.

Nanopartiküllerin boyutundaki küçülme UV-Vis bant genişliğinde bir artışa yol açmaktadır (Yeshchenko *et al.* 2012). Bu çalışmada karabaş otundan sentezlenen CuNp'lerin 20-50 nm arasındaki boyutlara sahip olması, UV-Vis spektrumunda dar bir bant aralığından ziyade geniş bir bant aralığı görülmesine yol açmıştır. Ayrıca, metal nanopartiküller Van Der Waals interaksiyonlarından kaynaklı olarak aglomera olabilmektedir. Bu nedenle elde edilecek olan absorbands değerleri beklenilenden sapma gösterebilmektedir (Hassanien *et al.* 2018).

FTIR analizi, CuNp'lerin yüzeyindeki fonksiyonel grupları karakterize etmek için kullanılmaktadır. Araştırmada FTIR spektrumunda fenolik bileşiklerdeki ve alkollerdeki hidroksil (OH) fonksiyonel grubundan kaynaklı olarak 3373 cm<sup>-1</sup>'de geniş bir bant gözlenmiştir. Sentezlenen CuNp'lerin piklerinin sayısal değerleri 617, 675, 781, 1053, 1219, 1412, 1450, 1728, 2139, 2918 ve 3373 cm<sup>-1</sup> olup, literatürdeki yeşil sentez ile elde edilen CuNp'lere ait FTIR pikleri ile büyük oranda benzerlik göstermektedir (Xiong *et al.* 2011; Kulkarni and Kulkarni 2013; Padil and Černík 2013; Hegazy *et al.* 2013; Zain *et al.* 2014; Abboud *et al.* 2014; Dong *et al.* 2014). Ayrıca, alkan (-CH bükülme, CH gerilme) bağları, serbest hidroksil (-OH) grupları, alken (=CH bükülme, C=C gerilme)

bağları, karbonil (C=O) ve NH<sub>2</sub> grupları standart IR-korelasyon tablosu ile doğrulanmıştır. Ölçülen spektrumlara göre 675- 781 cm<sup>-1</sup>'de alkenler (C-H), 1053 cm<sup>-1</sup>'de C-O bağları, 1219 cm<sup>-1</sup>'da alkol, ester, karboksilik asit, ester grupları, 1412-1450 cm<sup>-1</sup>'de aromatik halka (CH<sub>2</sub>), 1623-1728 cm<sup>-1</sup>'de aromatikler (C-O, C-H, C=C), 2139 cm<sup>-1</sup>'da alkinler (C=C), 2918 cm<sup>-1</sup>'de alkan streçler (C-H) ve 3373 cm<sup>-1</sup>'de ise aminlerin (N-H, -OH) varlığı tespit edilmiştir (Sulpizi *et al.* 2012; Sahaya Sathish *et al.* 2012; Conrad *et al.* 2014; Save *et al.* 2015; Smith 2018). Karabaş otu kullanılarak yeşil sentez ile elde edilen CuNp'lerin FTIR spektrumunda bu grupların ortaya çıkması, bazı indirgeyici şekerler, amino asit kalıntıları, proteinler, flavanonlar veya terpenoitler gibi bazı metabolitlerin varlığını doğrulamaktadır (Bar *et al.* 2009). Bu fonksiyonel gruplar bakır nanopartiküllerin sentezinde çok önemli rol oynamaktadır.

Karabaş otu kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle üretilen CuNp'nin ilk çekirdeklenmeden başlayarak son kristalleşme safhasına kadar olan tüm kristallenme olayları (yapısal değişimler) XRD ile takip edilmiştir. Araştırmada X-ışını kırınımı ile CuNp'lerle ilişkili metalik Cu, cuprit (Cu<sub>2</sub>O) ve tenorit (CuO) kristalli fazlar gözlenmiştir. CuNp'lerine ait X-ışını kırınım desenleri 2θ = 20–80 açı aralığında elde edilmiştir. 42,69°, 50,5°, 73,25°'de mevcut olan önemli kırınım pikleri, saf CuNp'lerinin (111), (200), (220)'da sıralanan kübik merkezli yüzey karakteristiklerinden sorumludur (JCPDS no. 71-4610). Ayrıca 36,46° ve 61,49°'de gözlenen kırınım pikleri, karabaş otu ekstraktı ile sentezlenmiş CuNp'lerinin çevresinde oksit kabuğunun varlığını doğrulayan ve Cu fazları ile örtüşen monoklinik bakır (II) oksit (CuO) ve Cu<sub>2</sub>O kırınımları ile ilişkilidir (JCPDS Card No.01-089-2529; JCPDS Card No. 01-078-2076). Cheirmadurai vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada *Lawsonia inermis* bitkisi ile yeşil sentez yöntemiyle üretilen CuNp'lerinin XRD deseninde CuO ve Cu<sub>2</sub>O kırınım piklerinin olduğunu bildirmiştir. Yapılan birçok çalışmada yeşil sentez ile bitki aracılığı ile üretilen CuNp'lerin XRD desenlerinde genellikle bu iki fazın olduğu bildirilmiştir (Sastry *et al.* 2013; Kumar *et al.* 2015; Rehana *et al.* 2017; Arya *et al.* 2018). Çünkü nano boyutlu Cu partiküllerinin yüzeyindeki elektrostatik çekim nedeniyle çevredeki oksijene karşı ilgisi oldukça yüksektir (Kent and Vikesland 2016). Piklerin şiddetindeki artış ve azalmaların yoğunluğu bitki materyalinin varlığından kaynaklı olarak da ortaya çıkabilmektedir (Berra *et al.* 2018).

Bu çalışmada, yeşil sentez yöntemiyle karabaş otundan sentezlenen CuNp'lerin gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere *in vitro* duyarlılıkları, disk difüzyonu ve broth dilüsyon yöntemleri ile belirlenmiştir. Disk difüzyon testinde maksimum zon çapı 19,5 mm ile *P. aeruginosa*'da gözlemlenirken, uygulanan düşük konsantrasyonlarda CuNp'ler *E. faecalis* ve *E. coli* bakterilerine karşı herhangi bir zon çapı oluşturmamıştır. Hem gram pozitif hem de gram negatif bakteri popülasyonlarına duyarlılık ve dirençteki farklılıklar, hücre yapısı, fizyoloji, metabolizma veya organizmaların Np'ler ile temas derecesindeki farklılıklar nedeniyle olabilir. Buna ek olarak, nanopartikül difüzyon hızı gibi diğer faktörler de bakteri suşunu farklı şekilde etkileyebilmektedir (Azam *et al.* 2012).

Disk difüzyon testinde tüm bakteri suşlarında, düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru zon çapı artmıştır. Bu mikrobisidal etki daha yüksek dozlarda bakır içeren Np'ler ile artmaktadır (Ren *et al.* 2009; Blecher *et al.* 2011). CuNp'lerin antimikrobiyal mekanizmaları net bir şekilde belli olmamakla birlikte, yeterince yüksek konsantrasyonlarda serbest Cu<sup>2+</sup> ve Cu<sup>1+</sup> iyonları bakterilerde hem DNA replikasyonu hem de amino asit sentezini inhibe eden ROS oluşumunu indüklediği düşünülmektedir (Huh and Kwon 2011; Pelgrift and Friedman 2013). Aynı zamanda Np'lerin inhibe edici etkisinin en önemli mekanizmasının, metal nanopartiküllerin negatif yüklü bakteriyel hücre duvarı ile birleşmesiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Burada kükürt ve fosfor içeren bileşiklerle etkileşime girmedi etkilidirler. Bu etkileşim, plazma zarının şeklini bozarak geçirgenliğini değiştirebilir (Matsumura *et al.* 2003). Hücre içine giren CuNp'lerden salınan bakır iyonları, DNA moleküllerine bağlanabilir ve nükleik asit ipliklerinin içinde ve arasında çapraz bağlanarak sarmal yapının bozulmasına neden olabilmektedir. Bakteriyel hücrelerin içindeki bakır iyonlarının da biyokimyasal süreci bozduğu bilinmektedir (Naika *et al.* 2015; Altıkatoğlu *et al.* 2017).

Np'lerin antibakteriyel aktivitesi mikrobiyal türlere bağlı olarak değişebilmektedir (Ruparella *et al.* 2008). Gram negatif *E. coli*, antimikrobiyal maddelere karşı önemli yeteneğine sahip özel bir hücre membran yapısına sahiptir (Liang *et al.* 2012). *E. coli*'nin dış hücre zarı, etkili bir geçirgenlik bariyeri sağlayan sıkıca paketlenmiş lipopolisakarit moleküllerinden oluşmaktadır (Thiel *et al.* 2007). *E. coli*'nin sahip olduğu bu özel mebran yapısı antimikrobiyal ajanların etki mekanizmasını etkileyerek, düşük



konsantrasyonlarda *E. coli*'yi inhibe edememektedir. Yüksek konsantrasyonlarda CuNp'ler *E. coli*'ye karşı tam sitotoksisite göstermektedir. Np'ler bakteri hücre duvarına yapışır ve hücre zarı boyunca nüfuz etmektedir. Cu iyonları kalınlaşan bakteriyel hücre duvarını tahrip ederek, sitoplazmanın yapısını bozar ve sonunda hücre ölümüne yol açar. Cu iyonları, bakteriyel hücrelere güçlü bir absorpsiyonla bağlanarak, konsantrasyona bağlı bir şekilde antibakteriyel etkinlik göstermektedir (Raffi *et al.* 2010). *B. subtilis* ve *S. aureus* gibi gram pozitif bakterilerin, hücre duvarları amin ve karboksil gruplarınca zengin olduğu için CuNp'leri daha güçlü bağlandıkları bilinmektedir (Huh and Kwon 2011; Blecher *et al.* 2011). Böylece CuNp'ler bu bakterilere karşı yüksek antimikrobiyal aktivite sergilemektedirler.

Bu çalışmada elde edilen sonuçların karabaş otundan sentezlenen CuNp'lerin patojen bakterilere karşı gösterdikleri antimikrobiyal etkinliğinin, literatürde yer alan çeşitli bitkilerden yeşil sentez yöntemiyle sentezlenmiş olan CuNp'lerin (Ruparelia *et al.* 2008; Usman *et al.* 2013; Saranyaadevi *et al.* 2014; Godymchuk *et al.* 2015; Rajesh *et al.* 2018; Hassan *et al.* 2018) antimikrobiyal etkinliklerine göre çok daha güçlü olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar CuNp'lerin, son yıllarda ciddi bir sorun olmaya devam eden antibiyotik direnci krizinin aşılması için mevcut antibiyotiklere/antimikrobiyal ürünlere alternatif olabileceğini göstermektedir.

**KAYNAKLAR**

- Abboud, Y., Saffaj, T., Chagraoui, A., El Bouari, A., Brouzi, K., Tanane, O., & Ihssane, B. (2014). Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles (CONps) produced using brown alga extract (*Bifurcaria bifurcata*). *Applied Nanoscience*, 4(5), 571-576.
- Acharyulu, N. P. S., Dubey, R. S., Swaminadham, V., Kalyani, R. L., Kollu, P., & Pammi, S. V. N. (2014). Green Synthesis of CuO Nanoparticles using *Phyllanthus Amarus* Leaf Extract and their Antibacterial Activity Against Multidrug Resistance Bacteria. *International Journal of Engineering Research & Technology*, 3(4).
- Akhtar, M. S., Panwar, J., & Yun, Y. S. (2013). Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1(6), 591-602.
- Al- Gburi, S. A., 2018. Green Synthesis of Silver Nanoparticles. Ms Thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Alaghemand, A., Khaghani, S., Bihamta, M. R., Gomarian, M., & Ghorbanpour, M. (2018). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Nigella sativa* L. extract: the effect on the height and number of branches. *Journal of Nanostructures*, 8(1), 82-88.
- Ali, A., Hira Zafar, M. Z., ul Haq, I., Phull, A. R., Ali, J. S., & Hussain, A. (2016). Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. *Nanotechnology, science and applications*, 9, 49.
- Altikatoglu, M. Attar, A. Erci, F. Cristache, C.M. ve Isildak, I., (2017). "Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *ocimum basilicum* extract and their antibacterial activity", *Fresenius Environmental Bulletin*, 26: 217-222.
- Angrasan, J.K.V.M., Subbaiya, R. 2014. Biosynthesis of Copper Nanoparticles by *Vitis vinifera* Leaf aqueous extract and its Antibacterial Activity. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 3(9) 768-774.
- Annu. Ahmeda, S. Kaurb, G. Sharmac, P. Singhc, S. Ikrama, S., 2018. Fruit waste (peel) as bio-reductant to synthesize silver nanoparticles with antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities. *Journal of Applied Biomedicine*, 175, 1-11.
- Anonymous, 2019a. Nanopartiküllerin Sınıflandırılması. <https://www.epa.gov/> (25.10.2019)
- Anonymous, 2019b. Karabaş otu. <https://www.bitkicenter.com/>, (29.10.2019)
- Anwar, A., Masri, A., Rao, K., Rajendran, K., Khan, N. A., Shah, M. R., & Siddiqui, R. (2019). Antimicrobial activities of green synthesized gums-stabilized nanoparticles loaded with flavonoids. *Scientific reports*, 9(1), 3122.
- Arias, C. A., & Murray, B. E. (2015). A new antibiotic and the evolution of resistance. *New England Journal of Medicine*, 372(12), 1168-1170.
- Armendariz, V., Herrera, I., Jose-yacaman, M., Troiani, H., Santiago, P., & Gardea-Torresdey, J. L. (2004). Size controlled gold nanoparticle formation by *Avena sativa* biomass: use of plants in nanobiotechnology. *Journal of nanoparticle research*, 6(4), 377-382.

- Arya, A., Gupta, K., Chundawat, T. S., & Vaya, D. (2018). Biogenic synthesis of copper and silver nanoparticles using green alga *Botryococcus braunii* and its antimicrobial activity. *Bioinorganic chemistry and applications*.
- Azam, A., Ahmed, A. S., Oves, M., Khan, M. S., & Memic, A. (2012). Size-dependent antimicrobial properties of CuO nanoparticles against Gram-positive and-negative bacterial strains. *International journal of nanomedicine*, 7, 3527.
- Baek, Y. W., & An, Y. J. (2011). Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*. *Science of the total environment*, 409(8), 1603-1608.
- 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 and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects*, 339(1-3), 134-139.
- Bayrak, D., Okmen, G., & Arslan, A. (2017). The biological activities of *Lavandula stoechas* L. Against food pathogens. *International Journal of Secondary Metabolite*, 4(3), 270-279.
- Baytop, T., 1999, Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 520 s.
- Berra, D., Laouini, S.E., Benhaoua, B., Ouahrani, M.R., Berrani, D., Rahal, A. 2018. Green synthesis *Pheonix dactylifera* leaves extract of copper oxide nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 13,4, 1231-1238.
- Beveridge, T. J., & Murray, R. G. (1980). Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*. *Journal of bacteriology*, 141(2), 876-887.
- Beyth, N., Hourri-Haddad, Y., Domb, A., Khan, W., & Hazan, R. (2015). Alternative antimicrobial approach: nano-antimicrobial materials. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2015.
- Bindhu, M. R., & Umadevi, M. (2013). Synthesis of monodispersed silver nanoparticles using *Hibiscus cannabinus* leaf extract and its antimicrobial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 101, 184-190.
- Blecher, K., Nasir, A., & Friedman, A. (2011). The growing role of nanotechnology in combating infectious disease. *Virulence*, 2(5), 395-401.
- Boudaher, E., & Shaffer, C. L. (2019). Inhibiting bacterial secretion systems in the fight against antibiotic resistance. *MedChemComm*, 10(5), 682-692.
- Brayner, R., Dahoumane, S. A., Yéprémian, C., Djediat, C., Meyer, M., Couté, A., & Fiévet, F. (2010). ZnO nanoparticles: synthesis, characterization, and ecotoxicological studies. *Langmuir*, 26(9), 6522-6528.
- Brice-Profeta, S., Arrio, M. A., Tronc, E., Menguy, N., Letard, I., dit Moulin, C. C., ... & Sainctavit, P. (2005). Magnetic order in  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles: a XMCD study. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 288, 354-365.
- Canlı, K., Yetgin, A., Benek, A., Bozyel, M. E., & Murat Altuner, E. (2019). In Vitro Antimicrobial Activity Screening of Ethanol Extract of *Lavandula stoechas* and Investigation of Its Biochemical Composition. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2019.
- Cheirmadurai, K., Murali, R., Thanikaivelan, P. 2014. Green synthesis of copper nanoparticles and conducting nanobiocomposites using plant and animal sources. *RSC Adv.*, 4, 19507-19511.
- Conrad, A. O., Rodriguez-Saona, L. E., McPherson, B. A., Wood, D. L., & Bonello, P. (2014). Identification of *Quercus agrifolia* (coast live oak) resistant to the invasive

- pathogen *Phytophthora ramorum* in native stands using Fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Frontiers in plant science*, 5, 521.
- Dadaloğlu, I., & Evrendilek, G. A. (2004). Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 8255-8260.
- Darroudi, M., Ahmad, M. B., Zamiri, R., Zak, A. K., Abdullah, A. H., & Ibrahim, N. A. (2011). Time-dependent effect in green synthesis of silver nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 6, 677.
- Devatha, C. P., & Thalla, A. K. (2018). Green synthesis of nanomaterials. In *Synthesis of Inorganic Nanomaterials* (pp. 169-184).
- Dhillon, G. S., Brar, S. K., Kaur, S., & Verma, M. (2012). Green approach for nanoparticle biosynthesis by fungi: current trends and applications. *Critical reviews in Biotechnology*, 32(1), 49-73.
- Dizaj, S. M., Lotfipour, F., Barzegar-Jalali, M., Zarrintan, M. H., & Adibkia, K. (2014). Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 44, 278-284.
- Dong, C., Cai, H., Zhang, X., & Cao, C. (2014). Synthesis and characterization of monodisperse copper nanoparticles using gum acacia. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 57, 12-20.
- Duman, F., Ocsoy, I., & Kup, F. O. (2016). Chamomile flower extract-directed CuO nanoparticle formation for its antioxidant and DNA cleavage properties. *Materials Science and Engineering: C*, 60, 333-338.
- Dutta, R. K., Nenavathu, B. P., Gangishetty, M. K., & Reddy, A. V. R. (2012). Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 94, 143-150.
- Dwivedi, A. D., & Gopal, K. (2010). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 369(1-3), 27-33.
- Elango, G., & Roopan, S. M. (2015). Green synthesis, spectroscopic investigation and photocatalytic activity of lead nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 139, 367-373.
- Elegbede, J. A., Lateef, A., Azeez, M. A., Asafa, T. B., Yekeen, T. A., Oladipo, I. C., & Gueguim-Kana, E. B. (2019). Silver-gold alloy nanoparticles biofabricated by fungal xylanases exhibited potent biomedical and catalytic activities. *Biotechnology progress*.
- Farré, M., Gajda-Schranz, K., Kantiani, L., & Barceló, D. (2009). Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 393(1), 81-95.
- Fernando, J., & Gurulakshmi, P. (2016). *Journal of Nanoscience and Technology*. *Journal of Nanoscience and Technology*, 2(5), 234-236.
- Godymchuk, A., Frolov, G., Gusev, A., Zakharova, O., Yunda, E., Kuznetsov, D., & Kolesnikov, E. (2015). Antibacterial properties of copper nanoparticle dispersions: influence of synthesis conditions and physicochemical characteristics. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 98, No. 1, p. 012033). IOP Publishing

- Gopinath, M., Subbaiya, R., Selvam, M. M., & Suresh, D. (2014). Synthesis of copper nanoparticles from Nerium oleander leaf aqueous extract and its antibacterial activity. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 3(9), 814-818.
- Gören, A. C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydoğmuş, Z., & Pezzuto, J. M. (2002). The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(9-10), 797-800.
- Gunalan, S., Sivaraj, R., & Rajendran, V. (2012). Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. *Progress in Natural Science: Materials International*, 22(6), 693-700.
- Hassan, S. E. D., Salem, S. S., Fouda, A., Awad, M. A., El-Gamal, M. S., & Abdo, A. M. (2018). New approach for antimicrobial activity and bio-control of various pathogens by biosynthesized copper nanoparticles using endophytic actinomycetes. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 11(3), 262-270.
- Hassanien, R., Husein, D.Z., Al-Hakkani, M.F. 2018. Biosynthesis of copper nanoparticles using aqueous *Tilia* extract: antimicrobial and anticancer activities. *Heliyon*, 4(12), e01077.
- Hegazy, M. A., Badawi, A. M., El Rehim, S. A., & Kamel, W. M. (2013). Influence of copper nanoparticles capped by cationic surfactant as modifier for steel anti-corrosion paints. *Egyptian Journal of Petroleum*, 22(4), 549-556.
- Hemeg, H. A. (2017). Nanomaterials for alternative antibacterial therapy. *International journal of nanomedicine*, 12, 8211.
- Hoet, P. H., Brüske-Hohlfeld, I., & Salata, O. V. (2004). Nanoparticles—known and unknown health risks. *Journal of nanobiotechnology*, 2(1), 12.
- Hoseinzadeh, E., Makhdoumi, P., Taha, P., Hossini, H., Stelling, J., & Amjad Kamal, M. (2017). A review on nano-antimicrobials: metal nanoparticles, methods and mechanisms. *Current drug metabolism*, 18(2), 120-128.
- Hoyt, V. W., & Mason, E. (2008). Nanotechnology: emerging health issues. *Journal of Chemical Health and Safety*, 15(2), 10-15.
- Huh, A. J., & Kwon, Y. J. (2011). “Nanoantibiotics”: a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *Journal of controlled release*, 156(2), 128-145.
- Hussain, I., Singh, N. B., Singh, A., Singh, H., & Singh, S. C. (2016). Green synthesis of nanoparticles and its potential application. *Biotechnology letters*, 38(4), 545-560.
- Ijaz, F., Shahid, S., Khan, S. A., Ahmad, W., & Zaman, S. (2017). Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Abutilon indicum* leaf extract: Antimicrobial, antioxidant and photocatalytic dye degradation activities. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 16(4), 743-753.
- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638-2650.
- Ivask, A., Kurvet, I., Kasemets, K., Blinova, I., Aruoja, V., Suppi, S., ... & Visnapuu, M. (2014). Size-dependent toxicity of silver nanoparticles to bacteria, yeast, algae, crustaceans and mammalian cells in vitro. *PloS one*, 9(7), e102108.
- Jadhav, S., Gaikwad, S., Nimse, M., & Rajbhoj, A. (2011). Copper oxide nanoparticles: synthesis, characterization and their antibacterial activity. *Journal of Cluster Science*, 22(2), 121-129.

- Jung, W. K., Koo, H. C., Kim, K. W., Shin, S., Kim, S. H., & Park, Y. H. (2008). Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(7), 2171-2178.
- Kahraman, R. Ö. ve Özoğul, F., 2018. Karabaş (*Lavandula stoechas*) ve Melissa (*Melissa officinalis* L.) Bitki Ekstrelerinin Hamsi (*Engraulis encrasicolus*) Filetosu Üzerindeki Antimikrobiyal ve Antioksidan Etkilerinin İncelenmesi. *Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 25 (7), 28-38.
- Kahrilas, G. A., Wally, L. M., Fredrick, S. J., Hiskey, M., Prieto, A. L., & Owens, J. E. (2013). Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles using orange peel extract. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(3), 367-376.
- Kent, R.D., Vikesland, P.J. 2016. Dissolution and Persistence of Copper-Based Nanomaterials in Undersaturated Solutions with Respect to Cupric Solid Phases. *Environ. Sci. Technol.* 50, 13, 6772-6781.
- Kharissova, O. V., Dias, H. R., Kharisov, B. I., Pérez, B. O., & Pérez, V. M. J. (2013). The greener synthesis of nanoparticles. *Trends in biotechnology*, 31(4), 240-248.
- Kulkarni, V. D., & Kulkarni, P. S. (2013). Green synthesis of copper nanoparticles using *Ocimum sanctum* leaf extract. *Int J Chem Stud*, 1(3), 1-4.
- Kumar, P. V., Shameem, U., Kollu, P., Kalyani, R. L., & Pammi, S. V. N. (2015). Green synthesis of copper oxide nanoparticles using Aloe vera leaf extract and its antibacterial activity against fish bacterial pathogens. *BioNanoScience*, 5(3), 135-139.
- Kumar, S. R., 2017. Green Synthesis of Nanoparticles Using Plant Extracts and Their Effect on Rumen Fermentation In Vitro. Ms Thesis, Department of Animal Nutrition College of Veterinary Science. Ms Thesis, India.
- Kumar, V. Mohan, S. Singh, D.K. Verma, D.K. Singh, V.K. ve Hasan, S.H., (2017). "Photo-mediated optimized synthesis of silver nanoparticles for the selective detection of Iron (III), antibacterial and antioxidant activity", *Materials Science and Engineering: C*, 71: 1004-1019.
- Lagedroste, M., Reiners, J., Smits, S. H., & Schmitt, L. (2019). Systematic characterization of position one variants within the lantibiotic nisin. *Scientific reports*, 9(1), 935.
- Lee, H. J., Song, J. Y., & Kim, B. S. (2013). Biological synthesis of copper nanoparticles using *Magnolia kobus* leaf extract and their antibacterial activity. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 88(11), 1971-1977.
- Li, Z., Xin, Y., Zhang, Z., Wu, H., & Wang, P. (2015). Rational design of binder-free noble metal/metal oxide arrays with nanocauliflower structure for wide linear range nonenzymatic glucose detection. *Scientific reports*, 5, 10617.
- Liang, X., Sun, M., Li, L., Qiao, R., Chen, K., Xiao, Q., & Xu, F. (2012). Preparation and antibacterial activities of polyaniline/Cu 0.05 Zn 0.95 O nanocomposites. *Dalton Transactions*, 41(9), 2804-2811.
- Lok, C. N., Ho, C. M., Chen, R., He, Q. Y., Yu, W. Y., Sun, H., ... & Che, C. M. (2007). Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 12(4), 527-534.
- Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliansky, M. E., & Kalinina, N. O. (2014). "Green" nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae (англоязычная версия)*, 6(1 (20)).

- Manikandan, V., Velmurugan, P., Park, J. H., Chang, W. S., Park, Y. J., Jayanthi, P., ... & Oh, B. T. (2017). Green synthesis of silver oxide nanoparticles and its antibacterial activity against dental pathogens. *3 Biotech*, 7(1), 72.
- Matsumura, Y., Yoshikata, K., Kunisaki, S. I., & Tsuchido, T. (2003). Mode of bactericidal action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(7), 4278-4281.
- Meghana, S., Kabra, P., Chakraborty, S., & Padmavathy, N. (2015). Understanding the pathway of antibacterial activity of copper oxide nanoparticles. *RSC advances*, 5(16), 12293-12299.
- Mittal, J., Batra, A., Singh, A., & Sharma, M. M. (2014). Phytofabrication of nanoparticles through plant as nanofactories. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 5(4), 043002.
- Mokhtarzadeh, S., Demirci, B., Ağalar, H. G., Khawar, K. M., & Kırimer, N. (2019). In vitro Propagation and Volatile Compound Characterization of *Lavandula stoechas*. An Economically Important Source of Essential Oil. *Records of Natural Products*, 13(2), 121-128.
- Mott, D., Galkowski, J., Wang, L., Luo, J., & Zhong, C. J. (2007). Synthesis of size-controlled and shaped copper nanoparticles. *Langmuir*, 23(10), 5740-5745.
- Nagar, N., & Devra, V. (2018). Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using *Azadirachta indica* leaves. *Materials Chemistry and Physics*, 213, 44-51.
- Naika, H. R., Lingaraju, K., Manjunath, K., Kumar, D., Nagaraju, G., Suresh, D., & Nagabhushana, H. (2015). Green synthesis of CuO nanoparticles using *Gloriosa superba* L. extract and their antibacterial activity. *Journal of Taibah University for Science*, 9(1), 7-12.
- Nethravathi, P. C., Kumar, M. P., Suresh, D., Lingaraju, K., Rajanaika, H., Nagabhushana, H., & Sharma, S. C. (2015). *Tinospora cordifolia* mediated facile green synthesis of cupric oxide nanoparticles and their photocatalytic, antioxidant and antibacterial properties. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 33, 81-88.
- Olajire, A. A., Ifediora, N. F., Bello, M. D., & Benson, N. U. (2018). Green Synthesis of Copper Nanoparticles Using *Alchornea laxiflora* Leaf Extract and Their Catalytic Application for Oxidative Desulphurization of Model Oil. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 42(4), 1935-1946.
- Orhan, S., 2007. Karabaş Otu (*Lavandula stoechas* L.) Bitkisinin Farklı In Vitro Besin Ortamlarında Kültüre Alınması. Y. Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Öztürk, B. Konyalıoğlu, S. Kantarcı, G. Çetinkol, D., 2005. İzmir Yöresindeki Yabani *Lavandula stoechas* L. subsp. Taksonunda Elde Edilen Uçucu Yağ Bileşimi, Antibakteriyel, Antifungal ve Antioksidan Kapasitesi, Anadolu: Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 15 (1), 61-72.
- Padil, V. V. T., & Černík, M. (2013). Green synthesis of copper oxide nanoparticles using gum karaya as a biotemplate and their antibacterial application. *International journal of nanomedicine*, 8, 889.
- Parveen, K., Banse, V., & Ledwani, L. (2016, April). Green synthesis of nanoparticles: Their advantages and disadvantages. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1724, No. 1, p. 020048). AIP Publishing.

- Patra, J. K., & Baek, K. H. (2014). Green nanobiotechnology: factors affecting synthesis and characterization techniques. *Journal of Nanomaterials*, 2014, 219.
- Pavani, K. V., Srujana, N., Preethi, G., & Swati, T. (2013). Synthesis of copper nanoparticles by *Aspergillus* species. *Lett. Appl. Nanobiosci*, 2, 110-113.
- Pelgrift, R. Y., & Friedman, A. J. (2013). Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Advanced drug delivery reviews*, 65(13-14), 1803-1815.
- Pérez-del Palacio, J., Díaz-Navarro, C., Martín-Blázquez, A., González-Olmedo, C., Vergara-Segura, N., Algeri, F., ... & Rodríguez-Cabezas, M. E. (2019). Metabolomic analysis of *Lavandula dentata* L. and *Lavandula stoechas* L. extracts by LC-QTOF/MS experiments and multivariate analysis techniques as a chemotaxonomical tool. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 1-10.
- Prabhu, B. M., Ali, S. F., Murdock, R. C., Hussain, S. M., & Srivatsan, M. (2010). Copper nanoparticles exert size and concentration dependent toxicity on somatosensory neurons of rat. *Nanotoxicology*, 4(2), 150-160.
- Prabhu, S., & Poulose, E. K. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International nano letters*, 2(1), 32.
- Prakash, S., & Soni, N. (2011). Factors affecting the geometry of silver nanoparticles synthesis in *Chrysosporium tropicum* and *Fusarium oxysporum*. *American journal of nanotechnology*, 2(1), 112-121.
- Prakash, S., Elavarasan, N., Venkatesan, A., Subashini, K., Sowndharya, M., & Sujatha, V. (2018). Green synthesis of copper oxide nanoparticles and its effective applications in Biginelli reaction, BTB photodegradation and antibacterial activity. *Advanced Powder Technology*, 29(12), 3315-3326.
- Raffi, M., Hussain, F., Bhatti, T. M., Akhter, J. I., Hameed, A., & Hasan, M. M. (2008). Antibacterial characterization of silver nanoparticles against *E. coli* ATCC-15224. *Journal of materials science and technology*, 24(2), 192-196.
- Raffi, M., Mehrwan, S., Bhatti, T. M., Akhter, J. I., Hameed, A., Yawar, W., & ul Hasan, M. M. (2010). Investigations into the antibacterial behavior of copper nanoparticles against *Escherichia coli*. *Annals of microbiology*, 60(1), 75-80.
- Rajathi, F. A. A., Parthiban, C., Kumar, V. G., & Anantharaman, P. (2012). Biosynthesis of antibacterial gold nanoparticles using brown alga, *Stoechospermum marginatum* (kützing). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 99, 166-173.
- Rajesh, K. M., Ajitha, B., Reddy, Y. A. K., Suneetha, Y., & Reddy, P. S. (2018). Assisted green synthesis of copper nanoparticles using *Syzygium aromaticum* bud extract: Physical, optical and antimicrobial properties. *Optik*, 154, 593-600.
- Rajesh, K. M., Ajitha, B., Reddy, Y. A. K., Suneetha, Y., Reddy, P. S., & Ahn, C. W. (2018). A facile bio-synthesis of copper nanoparticles using *Cuminum cyminum* seed extract: Antimicrobial studies. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 9(3), 035005.
- Rehana, D., Mahendiran, D., Kumar, R.S., Rahiman, A.K. 2017. Evaluation of antioxidant and anticancer activity of copper oxide nanoparticles synthesized using medicinally important plant extracts. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 1067-1077.



- Ren, G., Hu, D., Cheng, E. W., Vargas-Reus, M. A., Reip, P., & Allaker, R. P. (2009). Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *International journal of antimicrobial agents*, 33(6), 587-590.
- Rezaie, A. B., Montazer, M., & Rad, M. M. (2018). Environmentally friendly low cost approach for nano copper oxide functionalization of cotton designed for antibacterial and photocatalytic applications. *Journal of Cleaner Production*, 204, 425-436.
- Ruparelia, J. P., Chatterjee, A. K., Duttagupta, S. P., & Mukherji, S. (2008). Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta biomaterialia*, 4(3), 707-716.
- Saallah, S., & Lenggoro, I. W. (2018). Nanoparticles Carrying Biological Molecules: Recent Advances and Applications. *KONA Powder and Particle Journal*, 35, 89-111.
- Sahaya Sathish, S., Janakiraman, N., & Johnson, M. (2012). Phytochemical analysis of *Vitex altissima* L. using UV-Vis, FTIR and GC-MS. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 4(1), 56-62.
- Sankar, R., Manikandan, P., Malarvizhi, V., Fathima, T., Shivashangari, K. S., & Ravikumar, V. (2014). Green synthesis of colloidal copper oxide nanoparticles using *Carica papaya* and its application in photocatalytic dye degradation. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 121, 746-750.
- Sapsford, K. E., Tyner, K. M., Dair, B. J., Deschamps, J. R., & Medintz, I. L. (2011). Analyzing nanomaterial bioconjugates: a review of current and emerging purification and characterization techniques. *Analytical chemistry*, 83(12), 4453-4488.
- Saranyaadevi, K., Subha, V., Ravindran, R. E., & Renganathan, S. (2014). Synthesis and characterization of copper nanoparticle using *Capparis zeylanica* leaf extract. *Int J Chem Tech Res*, 6(10), 4533-4454.
- Sastry, A.B.S., Karthik Aamanchi, R.B., Sree Rama Linga Prasad, Murty, B.C. 2013. Large-scale green synthesis of Cu nanoparticles. *Environ Chem Lett*, 11, 183-187.
- Sathishkumar, M., Sneha, K., & Yun, Y. S. (2009). Palladium nanocrystal synthesis using *Curcuma longa* tuber extract. *Int J Mater Sci*, 4(1), 11-17.
- Save, S. A., Lokhande, R. S., & Chowdhary, A. S. (2015). Determination of 1, 2-Benzenedicarboxylic acid, bis (2-ethylhexyl) ester from the twigs of *Thevetia peruviana* as a Colwell Biomarker. *J Innov Pharm Biol Sci*, 2, 349-362.
- Sebai, H., Selmi, S., Rtibi, K., Souli, A., Gharbi, N., & Sakly, M. (2013). Lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Lipids in health and disease*, 12(1), 189.
- Sengupta, S., Chattopadhyay, M. K., & Grossart, H. P. (2013). The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. *Frontiers in microbiology*, 4, 47.
- Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S., & Poinern, G. (2015). Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. *Materials*, 8(11), 7278-7308.
- Shahzadi, S., Zafar, N., & Sharif, R. (2018). Antibacterial Activity of Metallic Nanoparticles. *Bacterial Pathogenesis and Antibacterial Control*, 51.
- Shobha, G., Moses, V., & Ananda, S. (2014). Biological synthesis of copper nanoparticles and its impact. *Int. j. pharm. Sci. Invent*, 3(8), 6-28.

- Sillankorva, S., Pereira, M. O., & Henriques, M. (2018). Antibiotic Alternatives and Combinational Therapies for Bacterial Infections. *Frontiers in microbiology*, *9*, 3359.
- Sivaraj, R., Rahman, P. K., Rajiv, P., Salam, H. A., & Venckatesh, R. (2014). Biogenic copper oxide nanoparticles synthesis using Tabernaemontana divaricate leaf extract and its antibacterial activity against urinary tract pathogen. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *133*, 178-181.
- Slavin, Y. N., Asnis, J., Häfeli, U. O., & Bach, H. (2017). Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of nanobiotechnology*, *15*(1), 65.
- Smith, B. C. (2018). *Infrared spectral interpretation: a systematic approach*. CRC press.
- Song, J. Y., Kwon, E. Y., & Kim, B. S. (2010). Biological synthesis of platinum nanoparticles using Diopyros kaki leaf extract. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, *33*(1), 159.
- Stankic, S., Suman, S., Haque, F., & Vidic, J. (2016). Pure and multi metal oxide nanoparticles: synthesis, antibacterial and cytotoxic properties. *Journal of Nanobiotechnology*, *14*(1), 73.
- Sulpizi, M., Gageot, M. P., & Sprik, M. (2012). The silica–water interface: how the silanols determine the surface acidity and modulate the water properties. *Journal of chemical theory and computation*, *8*(3), 1037-1047.
- Surendra, T. V., Roopan, S. M., & Khan, M. R. (2019). Biogenic approach to synthesize rod shaped Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles and its optimization using response surface methodology-Box–Behnken design model. *Biotechnology progress*.
- Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American journal of medicine*, *119*(6), S3-S10.
- Thiel, J., Pakstis, L., Buzby, S., Raffi, M., Ni, C., Pochan, D. E., & Shah, S. I. (2007). Antibacterial properties of silver-doped titania. *Small*, *3*(5), 799-803.
- Tiwari, M., Narayanan, K., Thakar, M. B., Jagani, H. V., & Rao, J. V. (2014). Biosynthesis and wound healing activity of copper nanoparticles. *IET nanobiotechnology*, *8*(4), 230-237.
- Umar, H., Kavaz, D., & Rizaner, N. (2019). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using Albizia lebbeck stem bark, and evaluation of its antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities on human breast cancer cell lines. *International journal of nanomedicine*, *14*, 87.
- Usman, M. S., El Zowalaty, M. E., Shameli, K., Zainuddin, N., Salama, M., & Ibrahim, N. A. (2013). Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, *8*, 4467.
- Vanlalveni, C., Rajkumari, K., Biswas, A., Adhikari, P. P., Lalfakzuala, R., & Rokhum, L. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using Nostoc linckia and its antimicrobial activity: a novel biological approach. *BioNanoScience*, *8*(2), 624-631.
- Veisi, H., Rashtiani, A., & Barjasteh, V. (2016). Biosynthesis of palladium nanoparticles using Rosa canina fruit extract and their use as a heterogeneous and recyclable catalyst for Suzuki–Miyaura coupling reactions in water. *Applied Organometallic Chemistry*, *30*(4), 231-235.

- Wang, L., Hu, C., & Shao, L. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International journal of nanomedicine*, 12, 1227.
- Wang, Z. L. (2000). Transmission electron microscopy and spectroscopy of nanoparticles. *Characterization of nanophase materials*, 3, 37-80.
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature protocols*, 3(2), 163.
- Xiong, J., Wang, Y., Xue, Q., & Wu, X. (2011). Synthesis of highly stable dispersions of nanosized copper particles using L-ascorbic acid. *Green Chemistry*, 13(4), 900-904.
- Yallappa, S., Manjanna, J., Sindhe, M. A., Satyanarayan, N. D., Pramod, S. N., & Nagaraja, K. (2013). Microwave assisted rapid synthesis and biological evaluation of stable copper nanoparticles using T. arjuna bark extract. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 110, 108-115.
- Yenici, N. (1999). Lavandula stoechas bitkisinin özellikleri ve fibrinolitik sisteme etkisinin araştırılması.
- Yeshchenko, O.A., Dmitruk, I., Alexeenko, A., Kotko, A.V., Vedral, J.L., Pinchuk, A. 2012. Size and temperature effects on the surface plasmon resonance in silver nanoparticles, *Plasmonics*, 7(4),
- Yuan, Y. (2007). Metal nanoplatelet synthesis and dispersion in suspension: Silver, copper, nickel and related alloys.
- Zaharkova, O. V. Gusev, A. A. Altabaeva, Y. U. Perova, S. Y., 2018. Biological Effects of Freshly Prepared and 24-h Aqueous Dispersions of Copper and Copper Oxide Nanoparticles on E. coli Bacteria. *Nanotechnologies in Russia*, 13 (3-4), 173-181.
- Zain, N. M., Stapley, A. G. F., & Shama, G. (2014). Green synthesis of silver and copper nanoparticles using ascorbic acid and chitosan for antimicrobial applications. *Carbohydrate polymers*, 112, 195-202.
- Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Daskalakis, N., Jeuken, L., Povey, M., ... & York, D. W. (2010). Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against E. coli. *Journal of Nanoparticle Research*, 12(5), 1625-1636.
- Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Povey, M., & York, D. (2007). Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *Journal of Nanoparticle Research*, 9(3), 479-489.

## ÖZGEÇMİŞ

07.04.1994 tarihinde ERZURUM ilinde doğdu. İlkokulu Sabancı İlköğretim okulunda okudu. Lise öğrenimini Mehmet Akif Ersoy Anadolu Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2012 yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji bölümünde lisans eğitimine başladı. 2016 yılında 3,30 agno ile bu bölümden mezun olarak aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Hayvansal Biyoteknoloji bilim dalında yüksek lisansa başladı ve halen aynı bilim dalında eğitimine devam etmektedir.