



***RHEUM RİBERS* (IŞGIN) ve *PAEONIA KESRAUNENSİS* (AYIGÜLÜ) BİTKİLERİNİN EKSTRAKTINDAN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU ve SİTOTOKSİSİTESİNİN BELİRLENMESİ**

**İLKAY ÜNAL**

**DOKTORA TEZİ**

**BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI**

**Doç. Dr. Sinan EĞRİ**

**Doç. Dr. Mehmet ATEŞ**

**EYLÜL, 2019**

T.C.  
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

*RHEUM RİBERS* (IŞGIN) VE *PAEONİA KESRAUNENSİS* (AYIGÜLÜ)  
BİTKİLERİNİN EKSTRAKTINDAN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL SENTEZİ,  
KARAKTERİZASYONU VE SİTOTOKSİSİTESİNİN BELİRLENMESİ

İLKAY ÜNAL

TOKAT  
Eylül - 2019

Her hakkı saklıdır



**Bu tez çalışması;**

**Tokat-Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından  
BAP-2017/43 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**İlkay ÜNAL** tarafından hazırlanan “*Rheum ribes* (Işgın) ve *Paeonia kesrouanensis* (Ayıgülü) Bitkilerinin Ekstraktından Gümüş Nanopartikül Biyosentezi, Karakterizasyonu ve Sitotoksitesinin Belirlenmesi” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 19 EYLÜL 2019 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

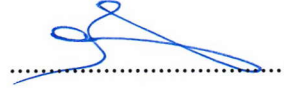
Danışman  
Doç. Dr. Sinan EĞRİ



Üye  
Prof. Dr. Cemil ALKAN  
Gaziosmanpaşa Üniversitesi



Üye  
Doç. Dr. Ali ÖZER  
Cumhuriyet Üniversitesi



Üye  
Doç. Dr. Mehmet YILMAZ  
Atatürk Üniversitesi



Üye  
Dr. Öğr. Üy. Özlem EĞRİ  
Gaziosmanpaşa Üniversitesi



ONAY



Prof. Dr. Çetin ÇEKİCİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

24/9/2019

## **TEZ BEYANI**

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.



**İlkay ÜNAL**  
**19 Eylül 2019**

## ÖZET

### DOKTORA TEZİ

#### ***RHEUM RIBES* (IŞGIN) VE *PAEONIA KESROUANENSIS* (AYIGÜLÜ) BİTKİLERİNİN EKSTRAKTINDAN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL BİYOSENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE SİTOTOKSİSİTESİNİN BELİRLENMESİ**

İLKAY ÜNAL

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. SİNAN EĞRİ)  
(İKİNCİ DANIŞMAN: DOÇ. DR. MEHMET ATEŞ)

Nano malzeme sektöründe sağlıktan kozmetiğe birçok alanda kullanılan gümüş nanopartikülleri (Ag-NP) en hızlı büyüyen ürün kategorilerinden biri olmuştur. Kimyasal yöntemle sentezlenmiş NP'lerin toksisite etkileri çokça bildirilmiştir. Dolayısıyla, son yıllarda NP'lerin biyosentezi üzerine yapılan çalışmalarda artış göstermiştir. Doğal olarak güçlü indirgeyiciler bulunduran ve antioksidan özellik gösteren bazı bitki türlerinden Ag-NP'lerin laboratuvar ortamında biyosentezlenmesiyle, bu alanda görülen bazı sorunlara çözüm geliştireceği hedeflenmektedir. Bu çalışmada, *Paeonia kesrouanensis* (Ayıgülü) ve *Rheum ribes* (Işgın) yaprak ve gövde ekstraktı (taze ve kurutulmuş) kullanarak gümüş nitrat ( $AgNO_3$ ) çözeltisinin indirgenmesiyle oluşan koloidal Ag-NP'lerin sentezi için basit ve etkili bir yeşil kimya yaklaşımı tasarlandı. Ag-NP'ler, 1 mM  $AgNO_3$  çözeltisi kullanılarak sentezlendi ve NP sentezi için optimum koşullar, UV-vis spektrofotometresi kullanılarak belirlendi. Ag-NP'lerin boyut, şekil ve yüzey karakterizasyonu için FT-IR, TEM, SEM, EDX, XRD, DLS ve Zeta Potansiyel analizleri yapıldı. *A.salina*'da farklı konsantrasyonlarda gümüş NP'lerin birikimi ve eliminasyon oranı, 24, 48 ve 72 saatlik periyotlar için ICP-MS analizi ile belirlendi. Zaman ve konsantrasyon artışına bağlı birikimin arttığı görüldü. Biyosentez Ag-NP'lerin HUVEC hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi değerlendirildi. Sonuçlar, 100  $\mu g/mL$ 'nin altındaki konsantrasyonlarda Ag-NP'lerin hücre ile biyolojik olarak uyumlu olduğunu gösterdi.

2019 - 114 SAYFA

**ANAHTAR KELİMELER:** *Paeonia kesrouanensis*, *Rheum ribes*, Nanopartikül, Biyosentez, Karakterizasyon, Sitotoksisite, Eliminasyon, Birikim

## ABSTRACT

### DOCTORATE THESIS

#### **BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES FROM *RHEUM RIBES* (IŞGIN) AND *PAEONIA KESROUANENSIS* (AYIGÜLÜ) PLANT EXTRACT, CHARACTERIZATION AND DETERMINATION OF THE CYTOTOXICITY**

**İLKAY ÜNAL**

**TOKAT GAZIOSMANPASA UNIVERSITY  
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**DEPARTMENT OF BIOENGINEERING**

**(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. SİNAN EĞRİ)  
(CO-SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. MEHMET ATEŞ)**

Silver nanoparticles (Ag-NPs), which are used in many fields from health to cosmetics in the nano material industry, have been one of the fastest growing product categories. There are many studies reporting the toxicity effects of chemical synthesized NPs. Hence, during recent years, studies on biosynthesis of NPs have increased. By means of biosynthesis of Ag-NPs from some plant species which naturally contain strong reducing and stabilizing agents, it is aimed to develop solutions related to the deficiencies and some problems encountered in this are In this thesis, we have designed a simple and efficient green chemistry approach for the synthesis of colloidal silver nanoparticles that is formed by the reduction of silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>) solution using *P.kesrouanensis* (Ayıgülü) and *R. ribes* (Işgın) leaf and stem extract (as fresh and sun dried). Ag-NPs were synthesized by using 1 mM AgNO<sub>3</sub> solution and optimum conditions for nanoparticle synthesis were determined using UV-Vis spektrofotometer. FT-IR, TEM, SEM, EDX, XRD, DLS and Zeta Potential analyses were performed for the characterization of the Ag-NPs. The accumulation and elimination rate of Ag-NPs at different concentrations in *A.salina* was determined by ICP-MS analysis for 24, 48 and 72 hours periods. Accumulation increased due to time and concentration increase. The cytotoxic effect of biosynthesized silver nanoparticles on HUVECs cells was evaluated. The results showed that silver nanoparticles at concentrations below 100 µg/mL were biocompatible with the cell.

2019 - 114 PAGE

**KEYWORDS:** *Paeonia kesrouanensis*, *Rheum ribes*, Nanoparticle, Biosynthesis, Characterization, Cytotoxicity, Elimination, Accumulation

## ÖNSÖZ

Bu çalışmada bana destek olan, yardımını, bilgisini ve tecrübesini esirgemeyen, çalışmamın her aşamasında göstermiş olduğu ilgi ve destekle birikimlerinden faydalandığım değerli danışman hocalarım Doç. Dr. Sinan EĞRİ ve Doç. Dr. Mehmet ATEŞ'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam sırasında bilgi ve tecrübesini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Ersen YILMAZ'a, laboratuvarlarının imkanlarını kullanmama olanak sağlayan MESKİ çalışanı V.Vural KAHRAMAN'a; bilgi ve tecrübesinden faydalandığım ve çalışmama verdiği desteklerden dolayı değerli hocalarım Doç. Dr. Murat DEMİRBİLEK'e, Prof. Dr. Zikri ASLAN'a, Prof. Dr. Mustafa TÜRK'e çok teşekkür ederim. Sorularıma önemle cevap veren Prof. Dr. Matteo LEONİ'ye ve ODTÜ Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji AR-GE Merkezinde çalışan Uzm. Dr. Tezcan SEYMENLER'e ve desteklerinden dolayı Dr. Işıl Canan ÇİÇEK ÇİMEN'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Bana vermiş oldukları eğitim ve anlayışla bugünlere gelmemi sağlayan sevgili aileme, tüm çalışmalarım süresince yapmış olduğu yardımlar ve göstermiş olduğu fedakarlıklar dolayısıyla eşim Dr. Öğr. Üyesi İnan ÜNAL'a ve sevgili oğlum İlkin Deniz ÜNAL'a sonsuz teşekkürler.

**İLKAY ÜNAL**

**Eylül - 2019**



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖZET .....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiv
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Nanobilim, Nanoteknoloji ve Nanoölçek .....	4
2.2. Nanoteknolojinin Gelişim Süreci.....	5
2.3. Nanoboyutun Önemi.....	6
2.4. Nanomalzemeler ve Nanomalzemelerin Sınıflandırılması .....	8
2.4.1. Kökenlerine göre nanomalzemeler.....	10
2.4.2. Boyutlarına göre nanomalzemeler .....	11
2.5. Nanopartiküller.....	13
2.5.1. Karbon-bazlı nanopartikül .....	14
2.5.2. Polimerik nanopartiküller .....	14
2.5.3. Seramik nanopartiküller .....	14
2.5.4. Yarı iletken nanopartiküller .....	14
2.5.5. Metal nanopartiküller .....	15
2.6. Elementel Gümüş ve Gümüş Nanopartikül.....	15
2.7. Gümüş Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri .....	17
2.7.1. Fiziksel sentez.....	18
2.7.2. Kimyasal sentez.....	18
2.7.3. Biyolojik (Yeşil) sentez .....	19
2.8. Bitki Ekstraktı Kullanarak Gümüş Nanopartikül Sentezi .....	19
2.8.1. Gümüş nanopartikül sentez mekanizması.....	21
2.9. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyon Yöntemleri.....	22

2.10. Bitki Ekstraktı Kullanılarak Sentezlenen Ag-NP'lerin Antibakteriyal Etkisi.....	25
2.11. Bitki Ekstraktı Kullanılarak Sentezlenen Ag-NP'lerin <i>in-vitro</i> Sitotoksik Etkileri .....	26
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	29
3.1. Materyal.....	29
3.2. Bitkilerin Seçimi.....	29
3.2.1. <i>Paeonia kesrouanensis</i> (Ayıgülü) bitkisi .....	29
3.2.2. <i>Rheum ribes</i> (Işgın) bitkisi.....	30
3.3. Taze Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması .....	31
3.4. Kuru Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması .....	32
3.5. Gümüş Nitrat Çözeltisinin Hazırlanması .....	32
3.6. Gümüş Nanaopartiküllerinin Sentezlenmesi.....	32
3.7. Elde Edilen Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu .....	33
3.7.1. UV-vis spektroskopisi .....	34
3.7.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) .....	34
3.7.3. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM).....	34
3.7.4. Fouier dönüşümlü kızıl ötesi spektroskopisi (FT-IR).....	34
3.7.5. X-ışını kırınım spektroskopisi (XRD) .....	35
3.7.6. Dinamik ışık saçılımı (DLS) .....	35
3.7.7. Zeta potansiyeli .....	35
3.8.Gümüş Nanopartiküllerin <i>A.salina</i> Üzerinde Toksik Etkisinin Değerlendirilmesi .....	35
3.8.1. <i>A.salina</i> kistlerinin açtırılması .....	36
3.8.2. Toksikite biyodeneş düzeneği.....	37
3.8.3. Gümüş nanopartiküllerin LC <sub>50</sub> değerlerinin belirlenmesi.....	38
3.8.4. Birikim ve eliminasyon analizleri .....	39
3.8.5. Metal iyon analizi.....	40
3.9. Hücre Kültür Çalışması .....	41
3.10. İstatiksel Analizler .....	42
4. BULGULAR ve TARTIŞMA .....	43
4.1. Karakterizasyon Analiz Sonuçları .....	43

4.1.1. Renk değişiminin gözlenmesi .....	43
4.1.2. UV-vis spektrofotometresi analiz sonuçları .....	44
4.1.2. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analiz sonuçları.....	61
4.1.3.Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analiz sonuçları .....	64
4.1.4. X-ışını kırınımı (XRD) analiz sonuçları.....	71
4.1.5. Fouier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) analizi sonuçları.....	74
4.1.6. Dinamik ışık saçılımı spektrometresi (DLS) analiz sonuçları .....	79
4.1.7. Zeta potansiyeli analiz sonuçları .....	82
4.2. Gümüş Nanopartiküllerin <i>A. salina</i> Üzerindeki Toksikite Test Sonuçları.....	85
4.2.1. <i>A. salina</i> 'da yaşam oranı .....	85
4.2.2. <i>A. salina</i> 'nın birikim ve eliminasyon sonuçları .....	86
4.2.3. Faz kontrast mikroskobu analiz sonuçları .....	90
4.2.4. Metal iyon salımı sonuçları .....	91
4.3. Hücre Kültürü Analiz Sonuçları .....	92
5. SONUÇ .....	95
6. KAYNAKLAR .....	97
7. ÖZGEÇMİŞ .....	114

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
%	Yüzde
µg	Mikrogram
Å	Ångström
g	Gram
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mV	Milivolt
nm	Nanometre
°C	Derece
PDI	Polidispersite indisi
ppm	Milyonda bir
rpm	Dakikadaki devir sayısı

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
Ag	Gümüş
Ag <sub>2</sub> O	Gümüş (I) oksit
AgNO <sub>3</sub>	Gümüş nitrat
AgOH	Gümüş hidroksit
C	Karbon
Cl	Klor
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
DLS	Dinamik ışık saçılımı
DMSO	Dimetil sülfoksit
DORM-2	Spiny dogfish (Squalus acanthias) kası
EDX	Enerji saçınımlı x-ışını spektroskopisi

FBS	Fetal bovin serum
FT-IR	Fourier dönüşüm kızılötesi
HCl	Hidroklorik asit
HNO <sub>3</sub>	Nitrik asit
HUVEC	İnsan umlikal ven endotel hücre
ICP-MS	Endüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi
LC <sub>50</sub>	Ortalama öldürücü konsantrasyon
MTT	Tetrazolium tuzu
NaOH	Sodyum hidroksid
NP	Nanopartikül
O	Oksijen
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
TORT-2	Amerikan lobster ( <i>Homarus americanus</i> )
UV-vis	Ultraviyole görünür spektrofotometresi
XRD	X-ışını kırınımı

## ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Santimetre'den nanoboyuta değişen küpler için yüzey alanındaki artış (Baxter ve Maynard, 2007).....	8
Şekil 2.2. Farklı boyutlarda karbon NP'lerin allotropları (Wan ve ark., 2012) .....	10
Şekil 2.3. Nanomalzemelerin çeşitli boyutlarının (0D, 1D, 2D ve 3D) şematik gösterimi .....	13
Şekil 2.4. Bitki ekstraktında bulunan polifenollerle kaplı Ag-NP'ler (Rao ve Paria, 2013).....	21
Şekil 2.5. Bitki ekstraktından Ag-NP sentezinin olası mekanizması (Annavaram ve ark., 2015) .....	22
Şekil 3.1. a) Taze <i>P. kesrouanensis</i> (Ayıgülü) gövde ve yaprak b) Kurutulmuş <i>P. kesrouanensis</i> gövde c) Kurutulmuş <i>P. kesrouanensis</i> yaprak bitkisi .....	30
Şekil 3.2. a) Taze Rheum ribes (Işgın) gövde b) Kurutulmuş Rheum ribes gövde.....	31
Şekil 3.3. <i>P. kesrouanensis</i> ve <i>R. ribes</i> bitkilerinin ekstraktından Ag-NP'lerin genel sentez şeması .....	33
Şekil 3.4. a) <i>A. salina</i> organizma yumurtaların inkübasyonu b-c) Yumurtadan yeni çıkmış larvalar (orijinal) .....	37
Şekil 3.5. Ag-NP eklenmiş <i>Artemia salina</i> düzeneği .....	38
Şekil 3.6. a) Filtrasyon sonrası toplanan <i>A. salina</i> örneği b) Nitrik asitte (HNO <sub>3</sub> ) çözdürülen örneklerin mikrodalgada yakma işlemi c) ICP-MS analizi için yakma sonrası çözelti haline getirilen örnek.....	40
Şekil 4.1. Sırasıyla Kurutulmuş a) <i>P. kesrouanensis</i> gövde b) <i>P. kesrouanensis</i> yaprak c) <i>R. ribes</i> gövde bitki ekstraktları (üst) ve ekstraktlarından sentezlenen Ag-NP kolloidal süspansyonu (alt).....	43
Şekil 4.2. Sırasıyla taze a) <i>P. kesrouanensis</i> gövde b) <i>P. kesrouanensis</i> yaprak c) <i>R. ribes</i> gövde bitki ekstraktları (üst) ve ekstraktlarından sentezlenen Ag-NP kolloidal süspansyonu (alt).....	43
Şekil 4.3. Farklı dağılıma sahip Ag-NP'lerin absorpsiyon spektrumlarında. küçük MYTG monodispersiteyi gösterirken, daha yüksek değerler partiküllerin çoklu dağılımını gösterir (Oliveira ve ark., 2017) .....	44
Şekil 4.4. Farklı boyuttaki Ag- NP'lere ait UV-vis spektrumu (Anonim,2019) .....	45

**Şekil****Sayfa**

- Şekil 4.5. Farklı reaksiyon sürelerinde kurutulmuş a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1/9 oranında, 1mM AgNO<sub>3</sub>).....46
- Şekil 4.6. Farklı reaksiyon sürelerinde taze a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1/9 oranında, 1mM AgNO<sub>3</sub>).....47
- Şekil 4.7. Farklı sıcaklıklarda kurutulmuş a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 1 mM AgNO<sub>3</sub>, 1/9 oranında, reaksiyon süresi 24 saat)..... 49
- Şekil 4.8. Farklı sıcaklıklarda taze a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi ( Sentez koşulları; 1 mM AgNO<sub>3</sub>, 1/9 oranında, reaksiyon süresi 24 saat ) .....50
- Şekil 4.9. Farklı AgNO<sub>3</sub> konsantrasyonlarında kurutulmuş a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1/9 oranında, reaksiyon süresi 24 saat)..... 52
- Şekil 4.10. Farklı AgNO<sub>3</sub> konsantrasyonlarında taze a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1/9 oranında, reaksiyon süresi 24 saat).....53
- Şekil 4.11. Farklı pH'da kurutulmuş a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1/9 oranında, 1 mM AgNO<sub>3</sub>, reaksiyon süresi 24 saat).....55
- Şekil 4.12. Farklı pH'da taze a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1/9 oranında, 1 mM AgNO<sub>3</sub>, reaksiyon süresi 24 saat)..... ..56
- Şekil 4.13. Farklı bitki/AgNO<sub>3</sub> oranlarında kurutulmuş a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1 mM AgNO<sub>3</sub>, reaksiyon süresi 24 saat)..... 58

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.14. Farklı bitki/AgNO <sub>3</sub> oranlarında kurutulmuş a) <i>P. kesrouanensis</i> gövde b) <i>P. kesrouanensis</i> yaprak c) <i>R. ribes</i> gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi ((Sentez koşulları; 37 °C, 1 mM AgNO <sub>3</sub> , reaksiyon süresi 24 saat).....	59
Şekil 4.15. Kurutulmuş a) <i>P. kesrouanensis</i> gövde b) <i>P. kesrouanensis</i> yaprak c) <i>R. ribes</i> gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin TEM görüntüsü .....	62
Şekil 4.16. Taze a) <i>P. kesrouanensis</i> gövde b) <i>P. kesrouanensis</i> yaprak c) <i>R. ribes</i> gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin TEM görüntüsü.....	63
Şekil 4.17. Kurutulmuş <i>P. kesrouanensis</i> gövde SEM görüntüsü .....	64
Şekil 4.18. Kurutulmuş <i>P. kesrouanensis</i> yaprak SEM görüntüsü .....	65
Şekil 4.19. Kurutulmuş <i>R. ribes</i> gövde SEM görüntüsü.....	65
Şekil 4.20. Taze <i>P. kesrouanensis</i> gövde SEM görüntüsü .....	66
Şekil 4.21. Taze <i>P. kesrouanensis</i> yaprak SEM görüntüsü .....	66
Şekil 4.22. Taze <i>R. ribes</i> gövde SEM görüntüsü .....	67
Şekil 4.23. Kurutulmuş <i>P. kesrouanensis</i> gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin sırasıyla SEM görüntüsü ve EDX spektrumu.....	68
Şekil 4.24. Kurutulmuş <i>P. kesrouanensis</i> yaprak ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin sırasıyla SEM görüntüsü ve EDX spektrumu.....	68
Şekil 4.25. Kurutulmuş <i>R. ribes</i> ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin sırasıyla SEM görüntüsü ve EDX analizi .....	68
Şekil 4.26. Taze <i>P. kesrouanensis</i> gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin sırasıyla SEM görüntüsü ve EDX spektrumu .....	69
Şekil 4.27. Taze <i>P. kesrouanensis</i> yaprak ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin sırasıyla SEM görüntüsü ve EDX spektrumu .....	69
Şekil 4.28. Taze <i>R. ribes</i> ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin sırasıyla SEM görüntüsü ve EDX spektrumu .....	70
Şekil 4.29. Kurutulmuş a) <i>P. kesrouanensis</i> gövde b) <i>P. kesrouanensis</i> yaprak c) <i>R. ribes</i> gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin XRD spektrumu.....	71



<b><u>Şekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
Şekil 4.30. Taze a) <i>P.kesrouanensis</i> gövde b) <i>P.kesrouanensis</i> yaprak c) <i>R ribes</i> gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin XRD spektrumu.....	73
Şekil 4.31. a) AgNO <sub>3</sub> b) Kurutulmuş <i>P.kesrouanensis</i> gövde c) Kurutulmuş <i>P.kesrouanensis</i> gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'ye ait FT-IR spektrumu.....	75
Şekil 4.32. a) AgNO <sub>3</sub> b) Kurutulmuş <i>P.kesrouanensis</i> yaprak c) Kurutulmuş <i>P.kesrouanensis</i> yaprak ekstraktından sentezlenen Ag-NP'ye ait FT-IR spektrumu.....	75
Şekil 4.33. a) AgNO <sub>3</sub> b) Kurutulmuş <i>R.ribes</i> gövde c) Kurutulmuş <i>R.ribes</i> gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'ye ait FT-IR spektrumu .....	76
Şekil 4.34 a)AgNO <sub>3</sub> b)Taze <i>P.kesrouanensis</i> gövde c)Taze <i>P.kesrouanensis</i> gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'ye ait FT-IR spektrumu .....	77
Şekil 4.35. a)AgNO <sub>3</sub> b)Taze <i>P.kesrouanensis</i> yaprak c)Taze <i>P.kesrouanensis</i> yaprak ekstraktından sentezlenen Ag-NP'ye ait FT-IR .....	77
Şekil 4.36. a) AgNO <sub>3</sub> b)Taze <i>R.ribes</i> gövde c) Taze <i>R.ribes</i> gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'ye ait FT-IR spektrumu .....	78
Şekil 4.37. Kurutulmuş a) <i>P.kesrouanensis</i> gövde b) <i>P.kesrouanensis</i> yaprak c) <i>R ribes</i> gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin boyut dağılımı grafiği .....	80
Şekil 4.38. Taze a) <i>P.kesrouanensis</i> gövde b) <i>P.kesrouanensis</i> yaprak c) <i>R ribes</i> gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin boyut dağılımı grafiği .....	81
Şekil 4.39. Kurutulmuş a) <i>P.kesrouanensis</i> gövde b) <i>P.kesrouanensis</i> yaprak c) <i>R ribes</i> gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin zeta potansiyel grafiği .....	83
Şekil 4.40. Taze a) <i>P.kesrouanensis</i> gövde b) <i>P.kesrouanensis</i> yaprak c) <i>R.ribes</i> gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin zeta potansiyel grafiği .....	84
Şekil 4.41. Kurutulmuş a) <i>P.kesrouanensis</i> b) <i>R. ribes</i> gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerin <i>A. salina</i> uygulaması sonrası bireylerin yaşam oranını gösteren grafik.....	85
Şekil 4.42. Kurutulmuş <i>P. kesrouanensis</i> gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin faz kontrast mikroskop görüntüsü a) kontrol b) 72.saat 50 mg/L 'de uygulamaya maruz bırakılmış <i>A. salina</i> .....	90

**Şekil****Sayfa**

- Şekil 4.43. Kurutulmuş *R.ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin faz kontrast mikroskop görüntüsü a) kontrol  
b) 72.saat 50 mg/L 'de uygulamaya maruz bırakılmış *A. salina* ..... 91
- Şekil 4.44. MTT reaktifleri kullanılarak hücre canlılığı deneyi. HUVEC hücresinde MTT reaktifi ile yapılan *in vitro* anti -proliferatif test  
a) Kurutulmuş *P.kesrouanensis* b) Kurutulmuş *R. ribes* ..... 93



## ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Elementel gümüşün fiziksel özellikleri.....	16
Çizelge 4.1. Bitki ekstraktlarından Ag-NP sentez çalışmalarında kullanılan reaksiyon koşulları.....	61
Çizelge 4.2. Kurutulmuş bitki ekstraktlarından elde edilen Ag-NP'lerin boyut dağılım ve PDI tablosu.....	80
Çizelge 4.3. Taze bitki ekstraktlarından elde edilen Ag-NP'lerin boyut dağılım ve PDI tablosu.....	82
Çizelge 4.4. Kurutulmuş <i>P. Kesrouanensis</i> gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerin <i>A.salina</i> bireylerinde birikim ve eliminasyon değerleri (µg/g).....	87
Çizelge 4.5. Konsantrasyonun Ag-NP birikimine etkisi.....	87
Çizelge 4.6. Maruziyet süresinin Ag-NP birikimine etkisi.....	88
Çizelge 4.7. Kurutulmuş <i>R. ribes</i> gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerin <i>A. salina</i> bireylerinde birikim ve eliminasyon değerleri (µg/g).....	88
Çizelge 4.8. Konsantrasyonun Ag-NP birikimine etkisi.....	89
Çizelge 4.9. Maruziyet süresinin Ag-NP birikimine etkisi.....	89
Çizelge 4.10. Kurutulmuş <i>P.kesrouanensis</i> ve <i>R. ribe</i> gövde ekstraktı kullanarak sentezlenen Ag-NP'nin ortama verdiği Ag <sup>+</sup> iyon miktarı (µg/L).....	92
Çizelge 4.11. <i>P.kesrouanensis</i> ve <i>R. ribes</i> bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin MTT absorbans değerleri .....	93

## 1. GİRİŞ

Nanoteknoloji, modern materyal bilim ve teknolojide en aktif araştırma alanı olup materyalleri nanometre seviyesinde ölçülebilecek düzeyde işleyen, pek çok araştırma alanını ya da disiplini birleştiren multidisipliner bir teknolojidir (Shankar ve ark., 2016). Nanoteknoloji, daha büyük haldeki maddeden boyuta bağlı olarak önemli ölçüde farklı fizikokimyasal özelliklere sahip ve daha üstün nanomalzemeler ve nanopartiküller (NP'ler) üreterek hızla büyümektedir. Boyutları 1-100 nm arası değişen NP'ler sahip oldukları özellikler ile tıpta, kozmetikte, yenilenebilir enerjide, çevresel iyileştirmede ve biyomedikal cihazlarda oldukça çeşitli potansiyel uygulamalara sahiptir. Bunların arasında, gümüş nanopartiküller (Ag-NP'ler veya nanogümüş), makro ölçekli formuna kıyasla benzersiz fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri nedeniyle artan bir ilgi görmüştür. Ag-NP'ler yüksek elektriksel ve termal iletkenlik, yüksek spesifik yüzey alanı, yüksek mekanik dayanıklılık, katalitik aktivite ve plazmon-rezonans optik saçılma gibi belirgin fizikokimyasal özelliklere sahiptir (Shahverdi ve ark., 2007; Cho ve ark., 2005; Wei ve ark., 2015). Sahip olduğu bu özellikler Ag-NP'leri mikroelektronik ve tıbbi görüntüleme gibi alanlarda önemli hale getirmektedir. Ayrıca, Ag-NP'ler sergiledikleri antimikrobiyal, antibakteriyal özelliklerinden ötürü yara bantları, plastik, sabun, macun, mutfak aletleri, oyuncak, gıda ve tekstil gibi çeşitli tüketici ürünlerinde pazar değerlerini artırmıştır (Kim ve ark., 2011; Marambio-Jones ve Hoek, 2010; Qian ve ark., 2013). Bundan dolayı, üretilen Ag-NP'lerin insan sağlığı ve çevre üzerinde toksik etkilere sahip olup olmadıkları hakkında çalışmalar önem arz etmektedir. Çeşitli çalışmalar bazı nano boyuttaki partiküllere maruz kalmanın ve bu küçük partiküllerin deri, solunum, beslenme ve damar yolu ile vücuda kolayca alınmasının insanlarda ve hayvanlarda bazı olumsuz etkilere yol açabileceğini göstermiştir (Nowack ve ark., 2011 ; Verma ve ark., 2010). Bu nedenle, çok işlevli Ag-NP üretimi için basit, tek adımlı, güvenilir, düşük maliyetli, toksik olmayan, çevre dostu ve yeşil kimya olarak bilinen teknoloji ve yöntemlerin tasarımı ve geliştirilmesi, biyomedikal ve biyoteknoloji uygulamalarını genişletmek için büyük önem taşımaktadır (Mukherjee, ve ark., 2014). Fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanarak bu NP'leri sentezlemeye yönelik çok fazla çalışma yapılmaktadır. Fiziksel proseslerde, yüksek sıcaklık, basınç ve enerjiyi korumaya her zaman ihtiyaç duyulurken, kimyasal yöntemde NP'lerin indirgenmesinde (etilen glikol vb.) ve kümeleşmesini önlemede kullanılan stabilize edici/kaplayıcı ajanlar (PVP vb.)

gibi kimyasalların sadece çevre için değil aynı zamanda biyolojik sistemlerde toksik potansiyel sahip olduğu tespit edilmiştir (Rajan ve ark., 2015). Sahip olduğu bu toksisiteden dolayı, son zamanlarda tıbbi bitki ekstraktlarının kullanılmasıyla bu sorunun önüne geçilmeye çalışılmaktadır. Böylelikle çeşitli yollarla vücuda alınan ve kullanım sonucu doğaya salınan NP'lerin oluşturabileceği tahribat en aza indirilmeye çalışılmıştır. Son yıllarda, Ag-NP yapılarının karakterizasyonu, çevresel etkileri ve biyolojik toksisitesi hakkındaki çalışmalar artış göstermiştir. Yapılan çalışmalar partiküllerin boyut ve şekline bağlı olarak, sucül ve karasal canlılar için giderek olumsuz etkilere neden olduğunu göstermiştir. Ag-NP'leri fare fibroblast, insan hepatosellüler kanser ve insan deri kanser hücrelerine uygulanarak sitotoksitesinin değerlendirildiği çalışmaların hepsinde bu NP'lerin serbest radikal oluşumuna (Taju ve ark., 2014) ve oksidatif strese bağlı hücre apoptosisinde artışa neden olduğu gözlemlenmiştir (Yildirim ve ark., 2011). Ag-NP'ler endositozla hücreye alınmasıyla veya hücre membranında partikülün çözünmesiyle ortama saldıgı Ag<sup>+</sup> iyonların hücreye alınmasıyla mitokondri ve çekirdek başta olmak üzere hedef organellere translokasyon gerçekleştirdiği ve oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon, DNA hasarı, hücre döngüsü tutuklanması ve daha sonra apoptoz gibi sayısız mekanizmayla sitotoksositeye neden olduğu bildirilmiştir. (Ahmed ve ark., 2016).

Ag-NP'lerin endüstriyel alanda kullanımıyla çevreye salımına neden olabilecek çeşitli uygulamalara sahiptir (antimikrobiyal kaplamalar, yakıt hücreleri, su elektrolizi, hava ve su arıtma ve biyomedikal görüntüleme kontrast maddeleri). Maruz kalma olasılığı ve nanometalleri formüle etmek için kullanılan metallerin birçoğunun sucül türler için toksik olduğu göz önüne alındığında, bu türler için potansiyel toksik etkilerini değerlendiren araştırmalara her zaman ihtiyaç duyulmuştur (Griffitt ve ark., 2008). Bu amaçla sucül ortamda toksisite testi için ise zooplankton kültüründen olan ve tuzlu su karidesi olarak da bilinen *Artemia salina* organizmaları seçilmiştir. Bu testte Ag-NP'lerin sucül canlılar üzerinde toksik etkilerini belirlemek amacıyla *A. salina* organizmasının tercih edilmesinin sebebi, laboratuvar ortamında toksikolojik deneylerinde kullanılan organizma olması ve özellikle laboratuvar şartlarında üretiminin kolay, ekonomik ve yumurtadan çıkan tüm larvaların (nauplii) aynı boy ve özellikte olmasıdır. Çalışmadan elde edilecek bilgilerin güvenliği ve tekrarlanabilirliği açısından bu önemlidir (Ateş ve ark., 2013).

Çalışmada Ag-NP'lerin sentezlenmesi için ilimizde yüksek dağlarda ve ormanlık alanlarda doğal olarak yetişmekte olan sadece ilkbahar dönemlerinde bulunan, eski zamanlardan beri geleneksel halk ilacı olarak kullanılan ve gıda maddesi olarak tüketilen, yapısında alkaloidler, flavonoidler ve polifenoller gibi indirgeyici ve stabilize edici kaplayıcı ajanları doğal olarak bulunduran *P.kesrouanensis* (Ayıgülü) ve *R. Ribes* (Işgın) olmak üzere iki farklı bitki seçilmiştir. Aynı bitkinin farklı kısımlarının ve kuru ve taze olmasına bağlı olarak kimyasal yapısının farklılık göstermesinden ötürü, bitkiler yaprak-gövde, kuru-taze olarak gruplandırılmış ve biyosentez çalışmalarında kullanılmıştır. Elde edilen NP'lerin karakterizasyon analizi yapıldıktan sonra hücre üzerinde sitotoksik etkileri ve zooplankton üzerindeki toksik etkilerini belirlenmiştir. *in-vitro* sitotoksikite çalışması için insan umbilikal ven endotel hücreleri (HUVEC) seçilmiştir. Endotel hücreleri, Ag-NP'nin kana girdikten sonra temas ettiği ilk hücrelerden biridir. Bu hücreler kalp ve kan damarlarının iç yüzeyinde bulunarak, besin maddelerinin, biyolojik olarak farklı birçok aktif molekülün ve kan hücrelerinin akışını düzenler. Trombosit yapışmasını ve pıhtılaşmayı önleyen yüzeyi sayesinde kan akışını kolaylaştırır. Bu hücre endotel hücrelerinin temel özelliklerini taşıdığı gibi doğumdan hemen sonra atılan bir dokudan elde edilebildiği için bulunması kolay ve ucuzdur. Büyük olması ve geniş yüzeye sahip bir damar olması özelliğiyle üzerinde çalışılması kolaydır (Yazır ve Dalçık, 2012; Sun ve ark., 2016).

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Nanobilim, Nanoteknoloji ve Nanoölçek

Nanoteknoloji ve nano bilimine girmeden önce, ilk olarak “nanoteknoloji”, “nanobilim” ve “nano ölçek” gibi terimleri kullandığımızda ne demek istediğimizi açıkça belirtmeliyiz.

Nano kelimesi Yunanca “*nannos*” kelimesinden gelir ve “*cüce*” demektir. Günümüzde nano teknik bir ölçü birimi olarak genellikle metre ile birlikte kullanılır. Nanometre, 1 metrenin milyarda biri ölçüsünde bir uzunluğu temsil eder (yaklaşık olarak ard arda dizilmiş 5 ila 10 atom). Teknoloji kelimesi ise yine Yunanca “*tekhné*” ve “*logia*” kelimelerinden oluşmuştur.

Bu terminolojiyi kullanmak, nanoteknolojide, temel nesnelerin yani atomların boyutunu tartışmayı kolaylaştırır. Eğer atomların ve moleküllerin büyüklüğünü feet ya da metre olarak tanımlamak istersek, bir hidrojen atomunun (en küçük atom)  $7.874 \times 10^{-10}$  feet ya da  $2.4 \times 10^{-1}$  metre olduğunu söylemek zorundayız. Bunun yerine, nanometreleri kullanabilir ve hidrojen atomunun 0.24 nm olduğunu söyleyebiliriz. Kabul edilen temel görüş ise nano boyutta var olan bir şey için, boyutlarından (yükseklik, genişlik veya derinlik) en az birinin yaklaşık 100 nanometreden daha az olması gerektiğidir.

Bir nanometre boyutunu daha yaygın olarak bilinen boyutlara göre açıklamak için kullanabileceğimiz birkaç benzetme vardır. Örneğin, tek bir insan saç telinin genişliği 50,000 nm'dir. Damarlarımızda akan kırmızı kan hücreleri yaklaşık 8 mikron çapındadır. Bundan bile daha küçük, hücrelerimizin ATP sentaz çapı 10 nm'dir. Nano ölçekteki DNA'nın çift sarmalının boyutu yaklaşık 2 nm genişliğindedir. Son olarak, atomların kendileri tipik olarak bir nanometre boyutundan daha küçüktür (Allhoff ve ark., 2010)

Ulusal Nanoteknoloji Girişimi (NNI)'e göre nanoteknolojinin tanımı 1-100 nanometre boyutlarda maddelerin anlaşılması, kontrol edilmesi ve atomsal/ moleküler seviyede çalışılarak gelişmiş ve/veya tamamen yeni fiziksel, kimyasal, biyolojik özelliklere sahip yapılar elde edilmesidir (Benelmekki, 2015). Yani genel olarak, nanoteknoloji, sadece nanomateryaller oluşumuna olanak veren değil, aynı zamanda materyallerin etkinliğini

arttıran veya onları kullanılmak istenilen amaca göre kontrol edilebilmesine izin veren bir teknoloji olarak anlaşılabilir (Tolochko, 2009)

Nanobilim ve nanoteknoloji arasında keskin bir ayırım olmamakla birlikte, nanobilim, büyük ölçekli yapılarından önemli ölçüde farklılık gösteren, atomik, moleküler ve makromoleküler ölçeklerde yani atomik ve atom altı seviyelerinde fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere bağlı olarak malzemelerin davranışlarını anlamamızı sağlarken (Adams ve Barbante, 2010), nanoteknoloji ise nanometre ölçeğinde şekil ve büyüklüğü kontrol ederek yapıların, cihazların ve sistemlerin tasarımına karakterizasyonuna, üretimine ve uygulamasına olanak verir (Anonim, 2004).

## **2.2. Nanoteknolojinin Gelişim Süreci**

Nanoteknoloji, diğer başarılı teknolojiler gibi birçok kurucuya sahiptir. Nanoteknoloji kavramı ilk kez, Nobel ödüllü Richard Feynman tarafından, Amerikan Fizik Derneği'nin 1959 tarihli Kaliforniya Teknoloji Enstitüsünde düzenlediği bir kongrede "*There's Plenty of Room at the Bottom (Aşağıda daha çok yer var)*" başlıklı konuşmasında ortaya atılmıştır (Benelmekki, 2015). O zamandan sonra, Feynman'ın atomik ölçekte maddeyi işleme fikriyle fizik, kimya, biyoloji alalarında oldukça yenilikçi gelişmeler olmuştur. 1959 yılında yaptığı bu konuşma nanobilim ve nanoteknolojinin başlangıcı kabul edilmektedir.

1974 yılında, Norio Taniguchi (Tokyo Bilim Üniversitesi'nde bir profesör), ekstra yüksek hassasiyet ve ultra ince boyutları tanımlamak için 'nanoteknoloji' terimini ortaya atmıştır. Entegre devrelerde, optoelektronik cihazlarda, mekanik cihazlarda ve bilgisayar bellek cihazlarında iyileştirmeler ve küçültme öngörülerek "yukarıdan aşağıya yaklaşım" ı tanıtmıştır.

Yaklaşık on yıl sonra, K Eric Drexler, atomik ve moleküler bileşenlerinden daha büyük nesnelerin oluşturulmasını tartışırken "aşağıdan yukarıya yaklaşım" ı tanıttı. 1986' da yayınladığı "*Yaratma Motorları: Nanoteknolojinin Yaklaşan Devri*" ve "*Nanosistemler: Moleküler Mekanizmalar, Üretim ve Hesaplama*" kitaplarında istediğimiz maddeyi atom atom dizerek oluşturan nanorobotların varolabileceğini ispat etmeye ve bu teknolojinin etkilerini ortaya çıkarmaya çalışmıştır.



Nanoteknoloji ve nanobilim 1980'lerin ilk yıllarında iki büyük gelişmeyle yoluna başlamış; kümelenmiş bilim ve Tarama Tünelleme Mikroskopunun (TTM) keşfi. Bu gelişmeler sayesinde 1986'da fullerenler ve 1991 yılında karbon nanotüpler keşfedilmiştir. Diğer bir gelişme ise yarıiletken nanokristallerin sentez çalışmaları olmuştur. TTM'den yaklaşık altı yıl sonra atomik kuvvet mikroskobu bulunmuştur. 2001 yılında da ise nanolazer yapılmış ve 2005 yılında ilk dört tekerlekli nanoaraba modeli hareket ettirilmiştir (Anonim, 2011). 2000'li yıllarda ABD' nin nanoteknolojiye yatırım yapması sonucu Dünya'nın birçok ülkesinde nanoteknoloji araştırmaları başlamıştır.

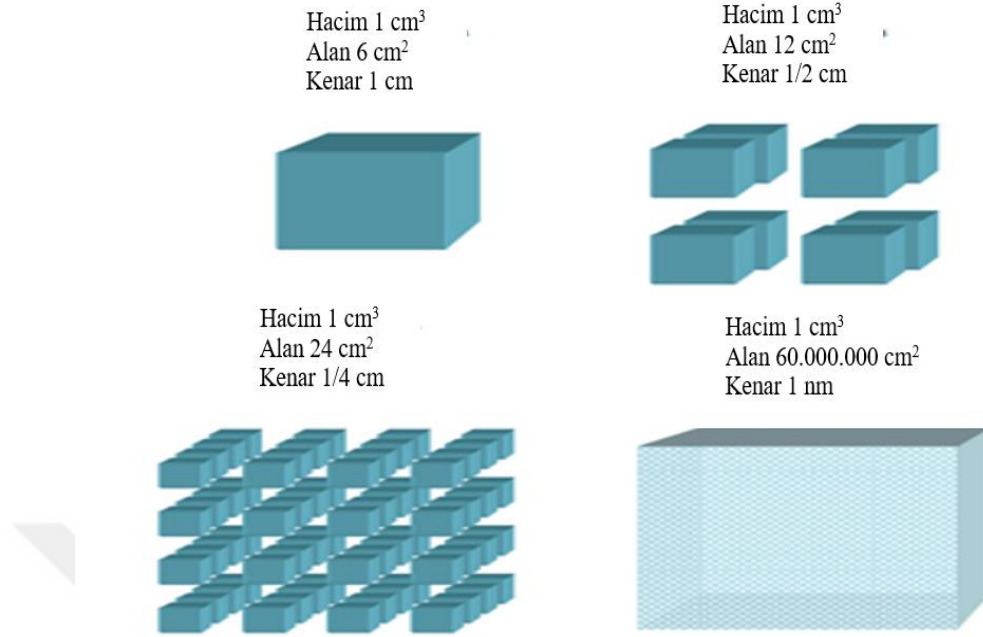
Tel-Aviv Üniversitesi'nde Teknoloji için Disiplinlerarası Analiz ve Tahmin Etme Merkezi (ICTAF) nanobiyoteknolojinin gelişmesi hakkında hazırlanan raporda 2008 ve sonrasında hücre içi analizler için nanoajanlar, 2015 yılında kendi kendini onarabilen yapay sistemler, 2018'de insan organlarının iç yapılarının tanımlanması, 2021'de ise vücudun içinde nanomakinaların, nanoteknolojik süreçte gelişeceğini göstermiştir (Anonim, 2011).

### **2.3. Nanoboyutun Önemi**

Nanobilimin bir başka önemli yönü de nano ölçekli materyallerin ve cihazların oluşumunu anlamaktır. Nanoboyutlu malzemeler üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda tek başına önemli olma doğrultusunda büyük bir gelişme göstermiştir. Nano ölçüme bakıldığında, geleneksel (nano olmayan) malzemeler, yapılar ve cihazlar genellikle "*bulk teknoloji*" olarak adlandırılır. Bu "*bulk*" teknoloji tarzı birçok büyük başarıya imza atmıştır: harika bilgisayar cihazları, ultra güçlü çelik ve çok saf seramikler üretilmiştir. Bulk teknoloji kullanılarak, zarif küçük cihazlar ve materyaller oluşturmak mümkündür. Bununla birlikte, bu teknoloji ile yeni cihaz, yapı veya malzemeyi oluşturmak için malzemeleri kesmek, yontmak, vurmak, ekstrüde etmek, eritmek gibi işlemlere tabi tutmak gerekmektedir.

Nanoteknoloji ile bulk teknoloji arasındaki temel fark bu oluşum sürecidir. Nanoteknoloji ile atomik ölçekte başlanır, atomik/moleküler yerleşim ve düzen kontrol edilerek, bu teknoloji, benzersiz cihazlara, malzemelere ve yapılara dönüştürülür. Bu yeni yaklaşım, nano ölçekteki materyallerin eldesi için, yeni sentez türleri gereksinimi de ortaya çıkarmıştır. Dahası, birçok materyal nano ölçekte geliştirildiğinde son derece benzersiz

özelliklere sahiptir ve aynı malzemelerin bulk biçiminde görülmeyen farklı atomik düzenlemeleri bulunur. Bunun en iyi örnekleri arasında altın yer almaktadır. Altın nanoboyutta oldukça yüksek hız ve verimde reaksiyon vermektedir. Benzer şekilde silikon bulk formda yalıtkan iken nanoboyutta iletken hale dönüşmektedir. Bu materyallerin daha küçük ölçekte uğradığı değişiklikleri anlamak, bu materyallerin cihazlarda kullanımını geliştirmek için büyük önem taşımaktadır. Nanoteknoloji bugün, daha önce de belirttiğimiz gibi, nano boyutta materyallerin geliştirilmesi, anlaşılması ve kullanılması üzerine odaklanmaktadır. Materyaller, malzemenin özelliğini tanımlamaya yardımcı olan belirli atomların düzenlemesi ile oluşturulmaktadır. Teknolojinin ölçeği nedeniyle, atomik tür ve yapı sadece malzemenin özelliklerini değil, aynı zamanda cihazın işlevini de tanımlar. Ayrıca, farklı malzemeler nano boyutta çevreleriyle farklı şekilde etkileşirler. Bulk formda materyaller çevreleriyle belirli bir şekilde etkileşirler çünkü atomlarının büyük bir çoğunluğu yüzeyden ziyade malzemenin hacindedir; Bu, yüzey-hacim oranını çok küçük yapar. Nano ölçekli materyallerle ise birçok atom malzemenin yüzeyinde bulunur ve bu nedenle yüzey-hacim oranı çok daha büyüktür. Yapı bloklarının boyutları küçüldüğünde, Şekil 2.1’de görüldüğü gibi hacim aynı kalırken, malzemenin yüzeyi 6 milyon kat artar. (Kumar ve Kumbhat, 2016). Örneğin, herhangi bir malzemenin  $1 \text{ cm}^3$  nü  $1 \text{ nm}$  partiküllere ayrılmasıyla toplam yüzey alanını 6’dan  $60.000.000 \text{ cm}^2$ ’ye çıkar ki bu da ilk yüzey alanının 10 milyon katı demektir (Şekil 2.1). Yüzeydeki nispi atom miktarı, bir bütün olarak malzemenin özelliklerini büyük ölçüde etkileyebilir. 100 mikrometrelik bir yarıçapa sahip olan bir küresel partikül, yaklaşık 30.000’lik bir yüzey-hacim oranına sahip olacaktır. Bu oldukça büyük görünebilir, ancak malzemenin yüzeyindeki atom yüzdesi çok küçüktür, sadece yüzde 0.006’dır (yani, her 100.000 atomun sadece 6’sı yüzeydedir). Bunu, 10 nm yarıçapa sahip bir parçacığın yüzey-hacim oranıyla karşılaştırdığımızda, bu oran 300.000.000 olur. Burada, malzemenin yüzeyindeki atomların yüzdesi, yüzde 6’dan daha büyüktür (veya her 100 atomun 6’sı). Bu, malzemenin özelliklerini, kimyasal reaktivitesini, çevresiyle nasıl etkileşimde bulunduğunu ve cihazlarda nasıl kullanılabileceğini kökten değiştirebilir (Allhoff ve Moore, 2010).



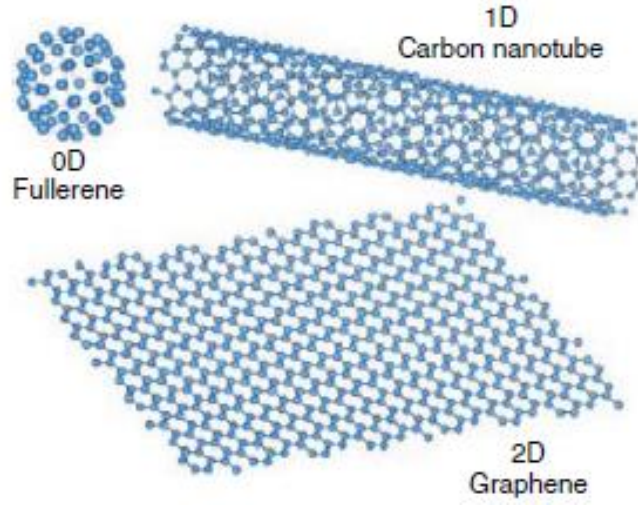
Şekil 2.1. Santimetre'den nanoboyuta değişen küpler için yüzey alanındaki artış (Baxter ve Maynard, 2007)

#### 2.4. Nanomalzemeler ve Nanomalzemelerin Sınıflandırılması

Nanoteknoloji, uzun yıllardan beri elektronik, fizik, mühendislik, biyofizik, moleküler biyoloji ve biyomühendislik gibi birçok bilim dallarında en yaygın olarak kullanılan multidisipliner bir bilim haline gelmiştir (Bhatia, 2016). Bu multidisipliner bilim, elektronikten kozmetiğe kadar değişen alanlarda potansiyel uygulamalara sahip olmuştur (Manikprabhu ve Lingappa, 2014). Bugün, Avrupa Birliği (AB) ve ABD'de nanomalzemelere (NM'lere) özel referanslar içeren birkaç mevzuat bulunmaktadır. Bununla birlikte, NM'ler için uluslararası kabul görmüş tek bir tanım mevcut değildir. Farklı örgütlerin NM'leri tanımlamada farklı görüşleri vardır (Boverhof ve ark., 2015). Benzer şekilde, Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO), NM'leri “*herhangi bir dış nano ölçekli boyutta veya iç nano ölçekli yüzey yapısına sahip bir materyal*” olarak tanımlamıştır. Bu ISO tanımına göre nanofiberler, nanoplatlar, nanoteller, kuantum noktaları ve diğer ilgili terimler tanımlanmıştır. Aynı şekilde, nanomateryal terimi, AB Komisyonuna göre, “*dış boyutların 1–100 nm boyut aralığı arasında olduğu, bağlanmamış, kümelenmiş veya topaklanmış partiküllara sahip üretilmiş veya doğal bir malzeme*” olarak tanımlanmaktadır. Son zamanlarda, İngiliz Standartlar Enstitüsü, “*Nano ölçekli boyutta herhangi bir iç veya dış yapıya sahip materyal*” olarak tanımlanmıştır.

(Jeevanandam ve ark., 2018). NM'ler, erime noktası, ıslanabilirlik, elektriksel ve ısı iletkenlik, katalitik aktivite, ışık emilimi ve saçılma gibi ayarlanabilen fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak teknolojik ilerlemelerde önem kazanmışlardır. NP'lerin bu davranışının iki temel nedeni vardır: yüzey etkileri ve kuantum etkileri (Anonim, 2011). Nano malzemelerin alan-hacim oranlarının yüksek olması yeni uygulamalara kapı açmaktadır (Ateş,2015). Mevcut NM'lerin çoğu, malzeme türüne göre dört temel katogoride sınıflandırılmaktadır.

*Karbon-temelli NM'ler:* Karbon, ilaçlardan sentetik malzemelere kadar birçok teknolojik uygulama için önemlidir. Karbon NM'lerini kimyacılar, fizikçiler ve malzeme bilimcileri için bu kadar çekici kılan şey karbonun kendisine ve neredeyse sınırsız çeşitlilikteki tüm elementlere bağlanma yeteneğinin bir sonucudur. Organik bileşiklerin ve moleküllerin yapısal çeşitliliğiyle birlikte çok çeşitli kimyasal ve fiziksel özellikler de ortaya çıkmaktadır. Karbon, çeşitli allotropların keşfinden sonra bilimsel çevrede büyük ilgi görmüştür. Genel olarak, karbo- bazlı nano NM'ler karbon içerirler ve içi boş tüp, elipsoit veya küre gibi morfolojilerde bulunurlar. Yüksek mukavemet, korozyona karşı direnç ve olağanüstü elektriksel ve termal iletkenlik ve stabilite gibi benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikler göstermektedir. İlk kez Kroto ve ark.,(1985) tarafından fullerenlerin tesadüf üzeri keşfiyle karbon allotroplarının ya da daha bilinen adıyla karbon nanomateryallerin dönemi başlamıştır. Karbon esaslı NM'ler kategorisinde, fullerenler (C<sub>60</sub>), karbon nanotüpler (KNT'ler), karbon nanofiberler, karbon siyahı, grafen (Gr) ve karbon soğanları bulunur (Şekil 2.2). Lazer ablasyonu, ark deşarjı ve kimyasal buhar biriktirme (CVD), bu karbon-bazlı materyal üretimi için önemli üretim yöntemleridir (karbon siyahı hariç) (Kumar ve Kumbhat, 2016). Karbon bazlı nano malzemeler, hidrojen depolama, su filtrasyonu, elektronik ve enerji uygulamaları dahil olmak üzere geniş bir yelpazede yaygın olarak kullanılmaktadır (Anooj ve ark., 2017).



Şekil 2.2. Farklı boyutlarda karbon NP'lerin allotropları (Wan ve ark., 2012).

*İnorganik bazlı NM'ler:* Bu NM'ler, metal ve metal oksit NP'leri ve NM'leri içerir. Bu NM'ler, Au veya Ag gibi metal, TiO<sub>2</sub> ve ZnO gibi metal oksit ve silikon ve seramik gibi yarı iletken NP'lerden sentezlenebilir.

*Organik bazlı NM'ler:* Bunlar, karbon bazlı veya inorganik bazlı NM'ler hariç, çoğunlukla organik maddeden yapılan NM'leri içerir. Moleküllerin kendi kendine kurulumu ve tasarımı için kovalent olmayan (zayıf) etkileşimlerin kullanılması, organik NM'leri dendrimerler, miseller, lipozomlar ve polimer NP'ler gibi istenilen yapılarla dönüştürmeye yardımcı olur.

*Kompozit tabanlı NM'ler:* Nano boyutta bir veya daha fazla benzer malzemenin karıştırılmasıyla yeni yapıları kontrol etmek ve geliştirmek için oluşturulan yeni nesil yapılardır. Nanokompozitler yapılarında kullanılan destek malzemelerine ve matris malzemelere göre Polimer Matris Nanokompozitler, Seramik Matris Nanokompozitler, Metal Matris Nanokompozitler olarak sınıflandırılır (Khan ve ark., 2016).

#### 2.4.1. Kökenlerine göre nanomalzemeler

Boyut ve malzeme temelli sınıflandırmalar dışında, NP'ler ve NM'ler, kökenlerine göre üç sınıfta incelenebilir.

Doğal nanoyapılı malzemeler: Organizmaların, böceklerin, bitkilerin, hayvanların ve insan vücutlarında bulunabilen doğal olarak üretilen NM'lerdir.

Endüstriyel nanoyapılı malzemeler: insanlar tarafından belirli özelliklere sahip olacak şekilde üretilen yapılardır. Bu tür materyallerin örnekleri karbon nanotüpler, kuantum noktaları vb. gibi yarı iletken NM'lerdir (Al-Mubaddel ve ark., 2017).

Tesadüfi oluşan nanoyapılı malzemeler: NP'ler, tesadüfen mekanik veya endüstriyel işlemlerin bir yan ürünü olarak üretilir. Araç motoru egzozları, kaynak dumanları, evsel katı yakıt ısıtma ve pişirme işlemlerinden kaynaklanan yanma prosesi ve hatta orman yangınları gibi bazı doğal prosesler tesadüfi oluşan NP'lerin kaynağını oluşturmaktadır (Jeevanandam ve ark., 2018).

#### **2.4.2. Boyutlarına göre nanomalzemeler**

Son yirmi yılda yüzlerce yeni NM'lerin elde edilmesiyle birlikte sınıflandırılmada yeniliklere ihtiyaç duyulmuştur. NM'lerin ilk sınıflandırma fikri Gleiter tarafından 1995 yılında verildi (Gleiter, 2000) ve 2000 yılında Skorokhod tarafından açıklandı (Skorokhod, 2001). Ancak, Gleiter ve Skorokhod şeması NM'lerin sıfır boyutlu (0-D), bir boyutlu (1-D), iki boyutlu (2-D) ve üç boyutlu (3-D) yapılarını dikkate almadığı için geçerli olmamıştır. Bu nedenle, 0-D, 1-D, 2-D ve 3-D nano ölçekli bileşenlerin dahil edildiği NM'ler için Pokropivny ve Skorokhod (2007), tarafından modifiye edilmiş bir sınıflandırma şeması bildirilmiştir (Şekil 2.3).

##### Sıfır boyutlu (0-D) NM

Çeşitli nanoyapı türlerini ayırt eden önemli bir özellik boyutsallıklarıdır. Son 10 yılda, 0D NM'ler alanında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Oldukça iyi bir şekilde kontrol edilebilen boyutlarda 0D NM'lerin üretilmesi için zengin çeşitlilikteki fiziksel ve kimyasal yöntemler geliştirilmiştir. Bu nanomateryaller, her üç yönde de nano boyutlara sahiptir. Altın ve gümüş gibi metalik NP'ler ve kuantum noktaları gibi yarı iletkenler dâhil olmak üzere bu tür NP'ler örnek olarak verilebilir (Kim ve ark., 2010; Zhang ve Wang, 2008; Wang ve ark., 2009). Ayrıca, kuantum noktaları gibi 0D NM'ler, ışık yayan diyotlarda (LED'ler) (Stouwdam ve Janssen. 2008), güneş hücrelerinde (Lee ve ark., 2009) ve lazerlerde (Ustinov ve ark., 2000) kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır. Bu NP'lerin

çoğu, boyut olarak küreseldir ve bu partiküllerin çapı 1-50 nm aralığındadır. Bu tür NP'ler küp ve çokgen şekillerde de bulunabilir (Alagarsi, 2011)

### Bir boyutlu (1D) NM

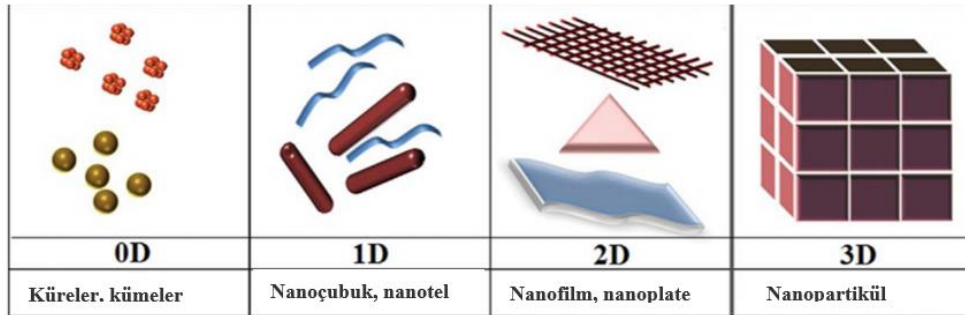
Son on yılda, 1D NM'ler araştırma ve geliştirmelerdeki önemi nedeniyle son derecede ilgi görmüş ve çok çeşitli potansiyel uygulamalara sahip olmuştur. Bu nanoyapılarda, nano yapının bir boyutu nanometre aralığının dışındadır (Alagarsi, 2011). 1D NM'lerin, nano ölçekte çok sayıda yeni fenomeni keşfetmek ve fonksiyonel özelliklerin boyut ve boyutsal bağımlılığını araştırmak için ideal sistemler olduğu genel olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, elektronik ve optoelektroniklerin nano ölçekli boyutlarda üretilmesindeki kilit birimler olarak önemli bir rol oynaması beklenmektedir. 1D NM'ler nanoelektronik, nanoaletler ve sistemlerde, nanokompozit materyallerde, alternatif enerji kaynaklarında ve ulusal güvenlikte büyük bir etkiye sahiptir (Kuchibhatla ve ark., 2007). Bu nanoyapılar nanoteller, nanorodlar, nanotüpler, nanokemerler ve nanoşeritler'den oluşmaktadır (Huang ve ark., 2002; Okada ve ark., 2005; Xia ve ark., 2010; Li ve ark., 2010). Bu malzemeler uzun (birkaç mikrometre uzunluğunda), ancak sadece birkaç nanometre çaplıdır (Alagarsi, 2011).

### İki boyutlu (2D) NM

2D nanoyapıların nano büyüklüğü dışında iki boyutu bulunmaktadır. 2D NM'lerin sentezi, yığın özelliklerinden farklı olarak birçok düşük boyutlu özelliklerinden dolayı malzeme araştırmalarının odak noktası haline gelmiştir. Belirli geometrilere sahip 2D NM'ler, şekle bağımlı benzersiz özellikler gösterirler ve nanoaletler'in temel bileşenleri için yapı taşları olarak kullanılmaktadır (Jun, ve ark., 2005; Kim ve ark., 2009; Bae ve ark., 2010). Buna ek olarak, bir 2D NM'ler özellikle nanoyapı büyümesinin mekanizmasının temel olarak anlaşılması için değil, aynı zamanda sensörlerin, fotokatalistlerin, nano konteynırların, nanöreaktörlerin ve diğer malzemelerin 2D yapıları için yeni uygulamaların araştırılması ve geliştirilmesi için de ilgi çekicidir (Pradhan ve Leung 2008). Bu yapılara dallı yapılar, nanoplakalar, nanodUVarlar, nanolevhalar, nanotabakalar ve nanodiskler gibi farklı nano filmler örnek olarak verilebilir (Visakh ve Morlanes, 2016). Nano filmlerin alanı büyük olabilir (birkaç kare mikrometre), ancak kalınlık her zaman nano aralıktadır (Alagarsi, 2011).

## Üç boyutlu (3D) NM

Bunların tüm boyutları nanometre aralığının dışındadır. 3 boyutlu sistemde (yığın), elektronlar her üçünde de serbesttir ve sınırlama ve kısıtlama yoktur. 0-D, 1-D ve 2-D'nin nano yapısal elemanlarının birbirleriyle yakından ilişkili olduğu ve ara yüzler oluşturduğu çok katmanlı, lifli ve polikristal malzemeler bu yapıya örnek olarak verilebilir. 3D NM'ler, önemli bir araştırma konusu olmuştur ve son yıllarda birçok 3D NM sentezlenmiştir (Ren ve ark., 2000; Oliveira ve ark., 2006). NM'lerin davranışlarının büyük ölçüde boyutlarına, şekillerine ve morfolojilere bağlı olduğu iyi bilinir ki bu da onların performansları ve uygulamaları için temel faktörleri oluşturmaktadır. Bu nedenle, 3D NM'lerin kontrollü bir yapı ve morfoloji ile sentezlenmesi önemlidir. Ayrıca, 3D nano yapılar sahip olduğu yüksek yüzey alanı ve üç boyutlu gözenekli yapısı ile kataliz, manyetik malzeme ve elektrot malzemesi alanındaki geniş uygulamaları nedeniyle önemli bir malzemedir (Shen ve ark., 2008; Teng ve ark., 2006).



Şekil 2.3. Nanomalzemelerin çeşitli boyutlarının (0D, 1D, 2D ve 3D) şematik gösterimi

## **2.5. Nanopartiküller**

NP'ler; "American Society for Testing and Materials (ASTM)"ın standart tanımlamasına göre partikül boyutları iki ya da üç boyutlu olan 1-100 nm boyutundaki partiküller olarak tanımlanmaktadır (Berk ve Akkurt, 2012; Alanazi, 2010). NP'lerin farklı özelliklerine göre farklı sınıflandırmaları bulunmakla birlikte basit olarak karbon NP'ler, metal NP'ler, seramik NP'ler ve polimerik NP'ler olarak ayrılır (Dwivedi, 2010). NP'ler, yüksek yüzey alanlarından ve nano ölçekli boyutlarından dolayı benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir. Optik özelliklerinin, görünür bölgedeki absorpsiyonundan kaynaklı farklı renkler vermesinin boyutuna bağlı olduğu bildirilmektedir. 20 nm altın (Au), platin



(Pt), gümüş (Ag) ve paladyum (Pd) NP'leri, sırasıyla karakteristik şarap kırmızısı rengi, sarımsı gri, siyah ve koyu siyah renklerine sahiptir (Dreaden ve ark. 2012).

### **2.5.1. Karbon-bazlı nanopartikül**

Fullerenler ve karbon nanotüpleri (KNT'ler) iki ana karbon bazlı NP sınıfını temsil eder. Fullerenler büyük, kapalı kafes, karbon kümeleridir ve daha önce başka herhangi bir bileşikte bulunmayan birkaç özel özelliğe sahiptir. Fullerenler toksik özellik göstermezler ve organik çözücülerde rahatlıkla çözünür. Karbon nanotüpler (KNT) olağanüstü özelliklere sahip, grafit karbonun moleküler ölçekli tüpleridir (Harris, 2004). Buckytubes olarak da adlandırılan KNT'lerin, çok hafif olması, yüksek elastiklik modülüne sahip olması ve bilinen en dayanıklı fiber olmaları en önemli özelliklerindedir (Küçükıyıldırım and Eker, 2012). Karbon nanotüpler, tek, çift ve çok duvarlı karbon nanotüpler olarak sınıflandırılmıştır (İbrahim, 2013).

### **2.5.2. Polimerik nanopartiküller**

Bunlar normalde organik bazlı NP'lerdir. Çoğunlukla nanoküre ve nanokapsüller şeklindedirler (Mansha ve ark., 2017). Kontrollü salım, ilaç moleküllerinin korunması, tedavi ve görüntülemeyi birleştirme yeteneği, spesifik hedefleme polimerik NP'lerin özelliklerinden bazılarıdır (Puri ve ark., 2009).

### **2.5.3. Seramik nanopartiküller**

Seramik NP'ler, ısıtma ve ard arda soğutma yoluyla sentezlenen oksitler, karbürler, karbonatlar ve fosfatlardan oluşan inorganik metalik olmayan katı maddelerdir. Amorf, çok kristalli, yoğun, gözenekli veya içi boş formlarda bulunabilirler (Sigmund, 2006). Bu nedenle, bu NP'ler, kataliz, fotokataliz, boyaların fotodegradasyonu ve görüntüleme uygulamaları gibi alanlarda kullanılmasından dolayı büyük ilgi çekmektedir (C Thomas, 2015).

### **2.5.4. Yarı iletken nanopartiküller**

Yarı iletken malzemeler metaller ile metal olmayanlar arasında özelliklere sahiptir ve literatürde bu özellikleri nedeniyle çeşitli uygulamalar bulmuşlardır. (Ali ve ark., 2017). Fotokataliz, foto optik ve elektronik cihazlarda kullanılan çok önemli materyallerdir. Yarı

iletken NP'lere, ZnO, ZnS, CdS, CdSe, CdTe, GaN, GaP, InP, InA, silikon ve germanyum örnek olarak verilebilir (Sun, 2000).

### **2.5.5. Metal nanopartiküller**

Metal NP'ler tamamen metal öncülerden elde edilir. İyi bilinen lokalize yüzey plazmon rezonans (LSPR) özellikleri nedeniyle, Ag, Au, Pb gibi metal nanopartiküller eşsiz optoelektrik özelliklere sahiptir. Sahip oldukları bu özellik sayesinde nanoteknoloji alanında çok fazla ilgi görmüştür. Alkali ve Cu, Ag ve Au gibi soymetallerin NP'leri, elektromanyetik güneş spektrumunun görünür bölgesinde geniş bir soğurma bandına sahiptir (Dreaden, 2012).

### **2.6. Elementel Gümüş ve Gümüş Nanopartikül**

Elementel veya metalik gümüş (Ag), beyaz metalik parlaklık görünümünde dövülebilir geçiş metali olan kimyasal bir elementtir. Tüm metaller arasında, gümüş en yüksek elektriksel iletkenliğe (şu anda birçok elektriksel uygulamada kullanılan bakırdan daha yüksek), termal iletkenliğe, en düşük temas direncine, yüksek optik yansıma özelliğine sahiptir. Saf gümüş hava ve suda kararlıdır.  $Ag^0$ ,  $Ag^+$ ,  $Ag^{2+}$ ,  $Ag^{3+}$  olmak üzere dört farklı yükseltgenme basamağına sahiptir. İlk ikisi en çok bulunanıdır. Gümüş, birçok izotopa sahiptir. En yaygın olanı  $^{107}Ag$  izotopudur. Ag suda çözünmez, ancak metalik tuzları, örneğin,  $AgNO_3$  ve  $AgCl$  suda çözünür (Singh ve ark., 2016)

Çizelge 2.1. Elementel gümüşün fiziksel özellikleri

Özellik	Birim	Değer
Formülü		Ag (Argentum))
Yoğunluk	gr/cm <sup>3</sup>	10.5
Ergime derecesi	°C	961.5
Çekme mukavemeti	N/mm <sup>2</sup>	160
Uzama		%50-20
Sertlik, Brinell	MPa	24.5
Mors Ölçeği		2.5-3
Kristal Yapısı		YMK
Atomik Ağırlık	gr	107.8682
Atom numarası		47

Yüzey etkileri ve kuantum etkileri NP'leri yığın (bulk) formundan ayıran iki önemli faktördür. Bu etkilerden dolayı, malzemelerin kimyasal, mekanik, optik, elektrik ve manyetik özelliklerinde önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Bu nedenle nanogümüş, yığın (bulk) haldeki gümüşde bulunmayan ve tıbbi uygulamalarda çok faydalı olan benzersiz optik ve fiziksel özelliklere sahiptir (Roduner, 2006). Ag-NP eşsiz fiziko-kimyasal özellikleri, yüksek termal iletkenlik, plazmonik özellikler, kimyasal stabilite ve antibakteriyel, anti-viral, antifungal yetenekleri nedeniyle bilimsel alanda giderek artan ilgi görmüştür (Beyene, 2017; Chen ve Schluesener, 2008).

Farklı boyut ve şekillerde nanogümüş sentezi için çok çalışma yapılmıştır. Ag-NP'lerin boyut dağılımı sabit kalmayabilir ve bu çevresindeki kimyasal ve fiziksel ortama bağlılık göstermektedir. Yüksek tuzluluk veya sert pH değerlerine sahip akuatik ortamda, Ag-NP'ler büyük kümeler oluşturmak üzere toplanma eğilimindedir ve buna bağlı fizikokimyasal özellikleri ve hareketliliği de değişebilir. Farklı boyut ve şekillerde Ag-NP'ler, farklı antimikrobiyal aktivite sergiler. Küçük NP'ler, bakterileri öldürmek için daha büyüklerinden daha etkilidirler. Muhtemelen bu hücre zarlarına bağlanmalarını ve hücrelere girmelerini kolaylaştıran yüksek yüzey alanlarından kaynaklanmaktadır. Nanogümüşün, partikül, çubuk ve plate içeren farklı şekillerinin antibakteriyel etkileri de

test edilmiş ve sahip olduğu şekile göre antimikrobiyal aktivitesinin değiştiği bildirilmiştir (Pal, 2007).

Çalışmalar çeşitli yüzey yüklerine sahip Ag-NP'lerin ( negatif yükle pozitif yük arasında değişen), basil türlerine karşı farklı inhibisyon etkileri sergilediklerini göstermiştir. Bunun bakterilerin hücresel membranlarında bulunan karboksil, fosfat ve amino gruplarından kaynaklı yük farklılığından ve bu yüzden farklı yüklü Ag-NP'lerin, farklı antibakteriyel faaliyetlere girmek için patojenleri çekme ya da itmesine bağlı olduğu belirtilmiştir (El Badawy ve ark., 2010).

Son yıllarda tıbbi, gıda, sağlık, tüketici ve endüstriyel amaçlar dahil olmak üzere çeşitli alanlarda giderek daha fazla uygulama bulmaktadır. Sahip olduğu özelliklerinden ötürü, endüstriyel, evsel ve sağlıkla ilgili ürünlerde, tüketici ürünlerinde, tıbbi cihaz kaplamalarında, optik sensörler ve kozmetik ürünlerinde, ilaç endüstrisinde, gıda endüstrisinde, teşhislerde, ortopedilerde, ilaç salımında ve antikanser ajan olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda, Ag-NP'ler birçok tekstil ürünlerinde, klavyeler, yara bantları ve biyomedikal cihazlarda da sıklıkla kullanımı artmıştır (Mukherjee, 2001; Sondi ve Salopek-Sondi, 2004).

## **2.7. Gümüş Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri**

Metal NP'ler, fiziksel, kimyasal veya biyolojik yöntemler kullanılarak sentezlenebilir. Yapısal açıdan bakıldığında, metal NP'lerin sentez yöntemlerinde “*yukarıdan aşağı (top down)*” ve “*aşağıdan yukarı (bottom up)*” olarak adlandırılan iki ana yaklaşım bulunmaktadır. NP'lerin hem kimyasal hem de biyolojik sentezi, atom veya moleküller ile nano boyutta yapı oluşun destekleyen aşağıdan yukarıya (bottom up) yöntemine dayanmaktadır. Metalik NP'leri sentezlemeye yönelik fiziksel yaklaşımlar çoğunlukla hacimsel malzemeye dışarıdan mekaniksel ve/veya kimyasal işlemler ile enerji verilmesi sonucunda malzemenin nano boyuta kadar inebilecek küçük parçalara ayıran yukarıdan aşağı tekniğine dayanmaktadır. NP'lerin üretimi için “aşağıdan yukarıya” tekniği daha az kusurlu monodispers nanoyapıların elde edilmesi için daha uygundur (De Matteis ve Rinaldi, 2018; Singh ve ark., 2016).

### **2.7.1. Fiziksel sentez**

Fiziksel yöntemlerde NP'ler, atmosferik basınçta bir tüp fırını kullanılarak buharlaşma-yoğunlaştırma yoluyla hazırlanır (Gurav ve ark., 1994, Magnusson ve ark., 1999). Fiziksel yaklaşımlar arasında Plazma arkı, bilyalı öğütme, termal buharlaşma, püskürtme pirolizi, ultra ince filmler, darbeli lazer desorpsiyonu, litografik teknikler, püskürtme çökeltme, tabaka tabaka büyüme, moleküler ışın epistaksisi ve difüzyon alev sentezi bulunur (Iravani ve ark, 2014). Fiziksel yöntemler hızlı olması, indirgeyici ajan olarak ışın kullanılması, dar boyutta NP elde edilmesi ve tehlikeli kimyasallar içermemesi gibi avantaj sağlasada, pahalı ekipmanlara (örn., lazerler) ihtiyaç duyulması, düşük verim ve yüksek işletme maliyetlerine neden olan yüksek enerji tüketimi, çözücü kirliliği ve homojen dağılım görülmemesi yöntemin dezavantajını oluşturmaktadır (Shameli ev ark., 2010; El-Nour ve ark. 2010 ).

### **2.7.2. Kimyasal sentez**

Kimyasal indirgeme yöntemi metal NP sentezinde en çok kullanılan yöntemdir (Pal ve ark., 2011). Kimyasal indirgeme gümüş tuzu, indirgeyiciler ve bir stabilize veya kaplama maddeleri gibi Ag-NP'nin kontrollü büyümesini sağlayan üç ana bileşen kullanarak yapılan sentez yöntemidir. Bunların arasında gümüş nitrat, diğer mevcut gümüş tuzlarına kıyasla düşük maliyeti ve kimyasal stabilitesi nedeniyle Ag-NP sentezi için sıklıkla kullanılan bir gümüş tuzudur (Tien ve ark., 2008). İndirgeyici olarak borohidrit (Evanoff ve Chumanov, 2005), sitrat (Pyatenko ve ark., 2017), askorbat (Blanco-Andujar ve ark., 2010) ve hidrojen gazı kullanılır. Borohidrit, daha hızlı bir indirgeme oranına sahip küçük partiküller oluşturabilen güçlü bir indirgeyici ajandır (Moore, 2006). Yüksek kararsızlıklar nedeniyle büyük oranda Ag-NP elde etmek zordur. Bu nedenle hazırlama sırasında stabilizatörler kullanılmaktadır. Stabilizatörler, polivinilpirrolidon, poli (etilen glikol), poli (metakrilik asit), poli (metil metakrilat) ve diğerleri gibi fonksiyonel gruplar içeren surfaktanlar ve ligandları veya polimerlerden oluşmaktadır (Ge ve ark. 2014). Elektrikle biriktirme, sol-jel prosesi, kimyasal çözelti biriktirme, kimyasal buhar biriktirme ve çökeltme gibi kimyasal yöntemler metalik NP sentezlemede kullanılan bazı kimyasal yöntemlerdir (Rajput ve ark., 2015). Dallanmış polietilenimin, pozitif yüklü NP'ler oluşturur (Note ve ark., 2006; Nguyen ve ark., 2010 ). Bu işlemler büyük ölçekte üretim için nispeten daha ucuzdur ancak çevreye zararlı toksik kimyasalların kullanılması

yöntemin dezavantajını oluşturur. Kullanılan bu kimyasallar NP yüzeyine adsorbe olarak medikal kullanımına sınır koymaktadır (Lalitha ve ark., 2013; Schröfel ve Kratošová, 2011).

### **2.7.3 Biyolojik (Yeşil) sentez**

Doğal ürünlerin NP sentezi için bir reaktif olarak kullanımı yeşil sentez olarak tanımlanır (Rafique ve ark., 2017). Nanogümüş biyosentezi (yeşil sentezi), çevresel olarak artan ihtiyaç nedeniyle geniş ilgi görmüştür. Biyolojik sentezde indirgeme, kaplama ve stabilize edici ajan olarak toksik olmayan bileşikler ve bitki, bakteri, mantar ve mikroalg gibi çevre dostu kaynaklar kullanır (Rajan ve ark., 2015).

Mikroorganizmalar, fizyolojik hücresel faaliyetlere katkıda bulunan enzimler tarafından metalik NP'ler üretebilir. NP'lerin lokalizasyonuna bağlı olarak, sentez hücre içi veya hücre dışı olarak gerçekleşebilir. Ag-NP'lerin hücre içi sentezi, metal iyonlarının mikroorganizmaya aktarılmasından kaynaklanırken, hücre dışı sentezde metal iyonları hücre yüzeyine yerleşir. Bunlarda bulunan enzimler, fonksiyonel gruplar ve proteinler iyonları indirgemede sorumludur (Zhang ve ark., 2011).

Mikrobiyal sentez yöntemi güçlü şusun belirlenmesi, mikroorganizmaların gelişmesi için aseptik koşulların korunması, enfeksiyon ve kontaminasyon riski gibi çeşitli dejavantajlara sahiptir (Kumar ve Yadav, 2009; Njagi ve ark., 2010). NP üretiminde mikroorganizmanın kullanılması bitki ekstraktı kullanımına göre oldukça pahalı bir yöntemdir (Dhillon ve ark. 2012; Luangpipat ve ark., 2011). Herşeyden önce mikrobiyal sentez oldukça zaman alıcıdır ve güçlü bir süşun büyümesi için 2-3 gün, NP sentezi ve saflaştırılması için 1-2 gün gereklidir.

### **2.8. Bitki Ekstraktı Kullanarak Gümüş Nanopartikül Sentezi**

NP sentezi için bitki kullanımının en önemli sebeplerinden biri kolay bulunabilirliğidir. Metal NP'ler bitkinin tümünden veya kök, gövde, yaprak ve tohum gibi bitkinin belirli kısımlarının ekstraktı kullanılarak sentezlenebilir. Bitki özü kullanarak sentez yapılan çalışmaların sayısı 2009'dan bu yana giderek artmıştır (Iravani, 2011). Özellikle tıbbi bitkiler kullanan Ag-NP'lerin biyolojik sentezleriyle ilgili rapor edilen çalışmalar gelecek vadetmektedir. Bitki ekstraktında suda çözülmüş olarak bulunan terpenoidler,

flavonoidler, fenol türevleri, ketonlar, aldehitler, amitler, karboksilik asitler, organik asitler, kinonlar iyonların indirgenmesinden sorumlu temel fitokimyasallardır (Rao ve Paria, 2013).

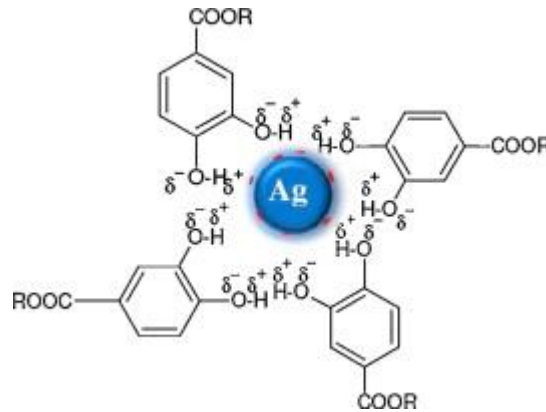
Bitki ekstraktının bioindirgeme potansiyeli mikrobiyal senteze göre daha yüksektir. Bununla birlikte Ag-NP sentez işleminden sonra elde edilen atık ürünler genellikle çevre ile uyumludur. Bitki aracılı sentez neredeyse sıfır kirliliğe sahiptir. Ayrıca bitki ekstraktında bulunan fitokimyasalların metal iyonlarını indirgemesi dışında oluşan NP'leri stabilize ettiği bilinmektedir (Irvani, 2011; Dahl ve ark., 2007). Bu yöntem sentez için bütün kriterleri sağlamakta ve teropatik kullanım için güvenli, çevre dostu, düşük maliyetli ve kolay bulunmasıyla sentez için uygun olmaktadır. Bu avantajları nedeniyle diğer sentez yöntemlerine bir alternatif olmuştur (Gan ve Li, 2012; Kumar ve Yadav, 2009; Mittal ve ark., 2012).

AgNO<sub>3</sub> varlığında kavrulmuş *Coffea arabica* çekirdeği ekstresi, Ag<sup>+</sup> 'yı Ag<sup>0</sup> ye indirgemiş ve bunun sonucunda küresel (20 nm) ve elips şeklinde (30 nm) Ag-NP'ler oluşmuştur (Dhand ve ark, 2016). Krishnaraj ve ark. (2010). AcalypHa indica yaprak ekstraktından küresel Ag-NP'ler (15-50 nm) sentezlemiştir. Khalil ve ark. (2014) Ag-NP'leri elde etmek amacıyla AgNO<sub>3</sub>'ü indirgemek için zeytin yaprağı kullanmışlardır. Ayrıca *Botryococcus braunii* (Arya ve ark., 2019), *berberis vulgaris* (Behravan ve ark., 2019), *Melissa officinalis* (de Jesús Ruíz-Baltazar ve ark., 2017), *Azadirachta indica* (Ahmed ve ark., 2016), *Annona reticulata* (Parthiban ve ark., 2019), *Enicostemma axillare* (Raj ve ark., 2018), *Zerdeçal* (Alsammarraie ve ark., 2018), *Shikakai* ve *Reetha* (Sur ve ark., 2018), *Mulberry* (Chunfa ve ark., 2018), *Caulerpa scalpelliformis* (Manikandan ve ark., 2019), *Cocos nucifera* L. (Roopan ve ark., 2013), *Cynodon dactylon* (Sahu ve ark., 2013), *Morinda citrifolia* (Suman ve ark., 2013), *Aerva lanata* (JosepH ve Mathew, 2015), *Naringi crenulata* (Bhuvaneswari ve ark., 2014), yeşil çay (*Camellia sinensis*) ekstraktı (Nestor ve ark., 2008), *Aloe vera* bitki ekstraktı (Chandran ve ark., 2006) kızılçik ve dağ kızılçığı suyu (Puiso ve ark., 2014), *ZizipHus spina-christi* (Zayed ve ark., 2014), *Syzgium cumin* (Mittal ve ark., 2013), *Moringa oleifa* (Tnkv ve Ek, 2011), *Azadirachta indica* (Neem) yaprakları (Tripathy ve ark., 2010), *Coleus aromaticus* (Vanaja ve ark., 2013), *Morinda citrifolia* kökü (Suman ve ark., 2013), *Andrographis paniculata* (Suriyakalaa ve ark., 2013), *Gardebia jasminoides* (Fenfen ve

ark., 2014) gibi birçok bitkinin yaprak, kök, gövde ve meyveleri kullanılarak biyosentez yöntemiyle Ag-NP'lerin sentezlenme çalışmaları yapılmıştır.

### 2.8.1. Gümüş nanopartikül sentez mekanizması

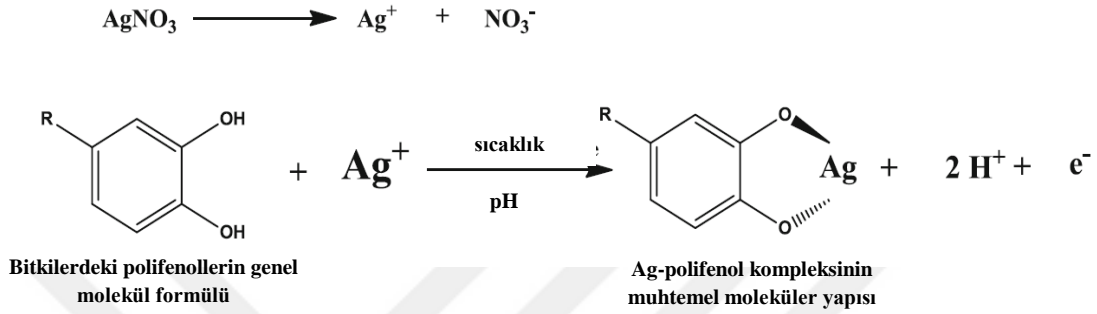
NP oluşumunun mekanizması esas olarak üç aşamadan oluşur: iyonların indirgenmesi, çekirdekleşme ve NP'lerin büyümesi. Her aşamanın özellikleri, indirgeyici ajanın yapısına, konsantrasyonuna, pH'ya, AgNO<sub>3</sub> konsantrasyonuna bağlıdır (Jain ve Mehata, 2017). Bilimsel araştırmalar bitkilerin yüksek seviyede suda çözünür antioksidanlar, polifenoller (Flavonoidler) içerdiğini göstermiştir. Fenolik bileşikler, metallere bağlanabilen ve şelat etkisi gösteren hidroksil ve ketonik gruplara sahiptir (Saxena ve ark., 2012). Moran ve ark., (1997), fenolik bileşiklerin genel bağlanma kabiliyetinin, molekül içindeki özel şelatlama gruplarından ziyade aromatik halkaların yüksek nükleofilik karakteriyle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Bazı araştırmacılar, quercetin gibi flavonoidlerde bulunan -OH gruplarının, gümüş iyonlarının Ag-NP'lere indirgenmesinden sorumlu olabileceğini belirtmiştir. Muhtemelen flavonoidler enol formundan keto forma tatomerik dönüşüm sırasında, gümüş iyonlarını Ag-NP'lerine indirgeyen reaktif hidrojen atomu salımı yapmaktadır (Jain ve Mehata, 2017). Flavonoidlerin antioksidan etkisi, esas olarak elektronları veya hidrojen atomlarını verme yeteneklerinde bulunur. Fenolikler ve bitki yaprağı ekstresi içindeki diğer kimyasal maddeler sadece gümüş tuzlarını titizlikle indirgemekle kalmaz, aynı zamanda partikül etrafını sararak agregasyona karşı mükemmel bir dayanıklılık sağlar (Şekil 2.4).



Şekil 2.4.Bitki ekstraktında bulunan polifenollerle kaplı Ag-NP'ler (Rao ve Paria, 2013)



Şekil 2.5’ te Ag-NP oluşumunun olası mekanizması verilmiştir. Bitki ekstraktında bulunan proteinler ve enzimler,  $Ag^+$  indirgemesiyle saf Ag-NP’lerin oluşumunu kolaylaştırmaktadır (Saxena ve ark., 2012; Singh ve ark., 2016).



Şekil 2.5.Bitki ekstraktından Ag-NP sentezinin olası mekanizması (Annaram ve ark., 2015)

## 2.9. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyon Yöntemleri

Yapılan sentezden sonra, en önemli adımlardan biri elde edilen NP’lerin karakterizasyonudur. Çünkü partiküllerin fizikokimyasal özellikleri biyolojik özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. NP’lerin nanomedikal veya sağlık sektörü vb. alanlarda kullanılmadan önce olası sorunları belirleyebilmek için hazırlanan NP’lerin boyut, şekil, boyut dağılımı, yüzey alanı, çözünürlük, kümelenme vb. gibi karakteristik özelliklerini toksisite veya biyoyumluluk çalışmalarından önce karakterize etmek gerekir (Lin ve ark., 2014; Murdock ve ark., 2008). Sentezlenen NP’leri değerlendirmek için, ultraviyole görünür spektroskopisi (UV-vis spektroskopisi), X-ışını difraktometrisi (XRD), Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), dinamik ışık saçılımı (DLS), taramalı elektron mikroskopu (SEM), geçirimli elektron mikroskopu (TEM) gibi teknikler kullanılmaktadır (Gurunathan ve ark., 2015; Sapsford ve ark., 2011).

### *UV-Vis spektroskopisi*

UV-vis spektroskopisi, sentezlenmiş NP’lerin, sentezini ve stabilitesini izlemek için kullanılan güvenilir ana tekniklerden biridir (Sastry ve ark., 1998). Numune çözeltisinden bir ışık gönderilir ve absorblanan ışık miktarı ölçülür. Belirli dalgaboyu aralığı belirlenir ve absorbans her dalga boyunda ölçülür. Ag-NP’ler, belirli ışık dalgaboylarıyla güçlü

etkileşime girmelerini sağlayan benzersiz optik özelliklere sahiptir. Ayrıca, UV-vis spektroskopisi hızlı, kolay, basit, hassas ve farklı NP tipleri için seçicidir, ölçüm için sadece kısa bir süre gerekir ve koloidal süspansiyonların partikül karakterizasyonu için kalibrasyon gerektirmez (Tomaszewska ve ark., 2013). Tipik olarak, bir UV-vis spektrumundaki maksimum absorpsiyon dalgaboyu ortalama partikül büyüklüğü ile ilişkilidir. Ag-NP'lerin oluşumu, UV-vis absorpsiyon spektroskopisinde optik yoğunluk belirlenerek doğrulanır. Koloidal Ag-NP'lerin karakteristik yüzey plazmon absorpsiyon bandı görünür aralıkta gözlenir. Yüzey plazmonu, metalik bir partikültaki serbest elektronların salımdan kaynaklanmaktadır.

#### *Taramalı elektron mikroskobu (SEM)*

SEM, sentezlenen partiküllerin mikro ve nanoboyuttaki yüzey morfolojilerini farklı partikül boyutlarını, boyut dağılımlarını ve NP'lerin şekillerini tanımlamada kullanılan yüzey görüntüleme yöntemidir (Hall ve ark., 2007). SEM tekniği NP yüzeyleriyle etkileşime geçmek için bir elektron ışını kullanır ve ikincil elektronlar, geri saçılmış elektronlar veya X ışını fotonları ölçülür (Simonet ve Valcárcel 2009). SEM numuneleri toplu halde analiz edilebilir, bu nedenle numune hazırlama çok daha kolaydır. Numuneler, ince kesitler halinde kesilmeden doğrudan alüminyum veya karbon çubuklar üzerine monte edilebilir (Dudkiewicz ve ark., 2011). Bununla birlikte, görüntüleme sırasında elektron ışınması nedeniyle numunede statik elektrik alanlarının oluşması riski vardır, bu nedenle numunenin, en azından yüzeyinin iletken olması gerekir. Bazı yüzey bilgileri kaybolabilme ihtimali olsa da iletken olmayan numunenin ince bir altın tabakası ile kaplanması gereklidir.

#### *Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)*

TEM, partiküllerin, tane büyüklüğünün, boyut dağılımının ve morfolojinin niceliksel ölçümlerini elde etmek için sık kullanılan ve önemli bir tekniktir (Williams ve Carter, 1996). Nanometre mertebesinde çok küçük ve ince alanlardan, milyon katı büyütmelemlerde malzemenin kristalagrofik ve morfolojik bilgilerine aynı anda ulaşılmasını olanaklı kılmaktadır (Ates, 2018). TEM'de, yüksek enerjili bir elektron ışını numunenin çok ince bir katmanından iletilir ve adsorbe edilmeyen elektronlar, hedef NP'lerin doğrudan bir görüntüsünü sağlayan bir görüntüleme detektörüne odaklanır (Tiede ve ark., 2008).

Sadece partikül büyüklüğü ve morfolojisi hakkında bilgi vermekle kalmaz, aynı zamanda agregasyon, dağılıma özellikleri hakkında da bilgi sağlar. Yüksek çözünürlüklü TEM ayrıca, kristalin numunelerin atomik katmanlarının görselleştirilmesine izin verir. TEM için, teknolojiye çözünürlük yaklaşık 0.07 nm'dir ve esas olarak elektron ışını için hızlanma voltajına ve numunenin kalınlığına bağlıdır (Dudkiewicz ve ark., 2011). Daha yüksek voltaj ve daha ince örnekler daha iyi bir teorik çözünürlük elde eder.

#### *Fouier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) analizi*

Kızılötesi (IR) spektroskopisi, organik veya inorganik bileşiklerin karakterize edilmesinde kullanılan bir araçtır. IR spektrumu, maddeyi oluşturan atomlar arasındaki bağların titreşimiyle oluşan frekanslara karşılık gelen absorpsiyon pikleri ile örneğin parmak izini göstermektedir. Her maddenin kendine has bir spektrumu vardır (Büyüksırt ve Kuleaşan, 2015). FT-IR, verilen numunedeki Ag-NP'lerin indirgenmesinde, kaplanmasında ve stabilizesinden sorumlu muhtemel biyomoleküllerin tanımlanmasında kullanılan uygun maliyetli ve basit bir tekniktir (Khan ve ark., 2017). Kızılötesi ışın Ag-NP örnekleriyle etkileşime girdiğinde, kimyasal bağlar gerilme, büzülme ve bükülme gibi farklı titreşim hareketleri nedeniyle adsorbe edilir ve kızıl ötesi bölgesinde kimyasal bağların titreşimindeki değişim ve absorpsiyon özellikleri spektral piklerin oluşmasını sağlar (Kılıç ve Karahan, 2010).

#### *X-ışını kırınım spektroskopisi (XRD) analizi*

X-ışını kırınımı (XRD), hem moleküler hem de kristal yapıların analizi için kullanılan yaygın bir analitik tekniktir (Waseda ve ark., 2011). X-ışınları ölçümleri kristale zarar vermeksizin yapısı hakkında bilgi veren güçlü bir yöntemdir. X-ışınlarının dalgaboyu, 1 Å civarındadır ve bu da bir kristal içindeki atomlar arası mesafe mertebesinde dir. Kristallerin atom dizilişlerinin incelenmesinde bu yüzden X-ışınlarına ihtiyaç duyulur. X-ışınları kırınım desenlerinden, bir katıdaki düzlemler arasındaki mesafe (atomların oluşturduğu sıralar), tek kristalin veya taneciğin yönelimi, bilinmeyen bir malzemenin kristal yapısı, tanecik boyutu ve şekli hakkında bilgi elde edilebilir (Özcan, 2014).

#### *Dinamik ışık saçılımı (DLS) analizi*

DLS, boyutları submikrondan bir nanometreye kadar değişen küçük partiküllerin süspansiyondaki boyut ve boyut dağılımını ölçen bir tekniktir (Lin ve ark., 2014).

Enstrüman, dinamik ışık saçılımı ilkesi üzerinde çalışır. Yöntem, çözeltilerde Brownian hareketi sırasında küçük moleküllerin ışık saçılımının ölçülmesine ve bunun partiküllerin boyutuna korelasyonuna dayanır (Fissan ve ark., 2014). Bu prensipte, bir ışık demeti (lazer) bir partikül grubu tarafından saçıldığı zaman, ışık saçılma açısı partikül büyüklüğü ile ters orantılıdır, yani partikül büyüklüğü küçük olduğunda ışık saçılma açısı büyük, şiddeti az olacaktır. DLS (hidrodinamik çap) ile ölçülen NP'lerin boyutu, elektron mikroskobu (çekirdek çap) ile ölçülenden biraz daha büyük olabilir, çünkü hidrodinamik çapa bir solvent molekülü tabakası dahil edilebilir (Fedotov ve ark., 2011). Bununla birlikte, DLS tekniğinin bazı doğal dezavantajları vardır. Daha büyük partiküller daha fazla ışık saçtığından, çok daha büyük agregaların varlığı, Ag-NP'lerin etkili çaplarını çarpıtarak büyük bir boyut dağılımı verir. Bu nedenle, polidispers örneklerden elde edilen DLS verilerinin yorumlanması zordur.

#### *Zeta potansiyel analizi*

Zeta potansiyel analizi, kolloid NP'lerin yüzey yükünü belirleme tekniğidir. İyonik bir çözeltide, yüklü bir partikülün yüzeyine, zıt yüklü iyonlar sıkıca bağlanır ve Stern katmanı adı verilen bir katman oluşur. Bu katmanın etrafında iyonların daha gevşek bağlı olduğu ince bir sıvı dış difuz katmanı oluşur. Bu iki katman, elektriksel çift katman olarak adlandırılır (Clogston ve Patri, 2011). Yüklü partikül ve dış difuz katmanı tek bir parça olarak hareket eder. Zeta potansiyel ölçümü Doppler prensibi kullanılarak elektrik alanı uygulanan partiküllerin hızının ölçümü esasına dayanır (Henry Formülü). Zeta potansiyelinin değeri, partikül stabilitesi hakkında bilgi verir. Zeta potansiyelinin artmasıyla partiküller arasında daha büyük bir elektrostatik itme nedeniyle partiküllerin bir araya gelerek agregat oluşturması engellenir ve kolloidal süspansiyonda kararlılık artar. Tanelerin polar sıvılar içerisindeki davranışlarını yüzeylerindeki elektrik yükü değil, zeta potansiyel değerleri belirler. Zeta potansiyel parçacığın içinde bulunduğu sıvının pH değeri ile değişir (Anonim, 2019).

#### **2.10. Bitki Ekstraktı Kullanılarak Sentezlenen Ag-NP'lerin Antibakteriyal Etkisi**

NP'lerin spesifik yüzey alanı arttıkça, biyolojik etkinlikleri de arttırılabilir. Boyut, şekil ve stabilite gibi fiziksel özellikler, sentezlenen NP'lerin biyolojik özelliklerini arttırmak için gereklidir. Bugüne kadar yapılan araştırmalar, bitki özü kullanılarak sentezlenen

NP'lerin biyolojik yeterliliğinin, eko-güvenlikleri ve benzersiz sentez mekanizmaları nedeniyle önemli ölçüde arttığını göstermektedir. Bitki özü ile sentezlenmiş Ag-NP'lerin özellikleri ve uygulamaları mikrobiyal olarak sentezden oldukça farklıdır. Üstelik tanımlanan indirgeme ve kaplama ajanları çoğunlukla fenolik türevlerdir; bu da, sentezlenmiş Ag-NP'lerin antimikrobiyal, antioksidan ve antikanser özellikleri önemli ölçüde arttırmaktadır. Bugüne kadar yapılan birçok çalışma, bitki ekstraktından sentezlenmiş Ag-NP'lerin, çoklu-ilaç dirençli insan patojenleri dâhil olmak üzere gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu ve mantar ve maya patojenlerine karşı etkili olduğunu göstermiştir (Das ve ark., 2013; Gopinath ve ark., 2012; Nabikhan ve ark., 2010; Prakash ve ark., 2013). Sathishkumar ve ark., (2012), *Morinda sitrifolia* yaprak ekstraktıyla sentezlenmiş Ag-NP'lerin, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* (gram-negatif), *Bacillus cereus* ve *Enterococcus faecalis* (gram-pozitif) gibi çeşitli insan patojenlerine karşı inhibe edici aktivitesini değerlendirmiş ve Ag-NP'lerin, gram-negatif bakterilere (*P. aeruginosa*, *E. coli*) karşı gram-pozitif (*Enterococcus sp.*) bakterilerden daha fazla antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Son zamanlarda, bitki özü ile sentezlenmiş Ag-NP'lerin antitümör aktivitesi ve normal hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi üzerine araştırmalar, nanobiyoteknolojinin ana alanlarından biri olarak ortaya çıkmıştır.

### **2.11. Bitki Ekstraktı Kullanılarak Sentezlenen Ag-NP'lerin *in-vitro* Sitotoksik Etkileri**

Hücre kültürü, çok hücreli organizmalara ait hücrelerin, laboratuvar ortamında özel olarak tasarlanmış kaplarda, ısı, nem, besin gibi ortam şartlarının kontrol edilerek kontaminasyondan uzak bir şekilde yaşatılmasıdır. İnsan da dâhil olmak üzere herhangi bir canlıdan alınan hücrelerin suni ortamda yaşatılabilmesi, herhangi bir doku ya da organdan alınan hücrelerin kullanılabilmesi ve birçok etik kaygıyı gidermesi, hücre kültürü çalışmalarının tercih sebepleri arasında yer almaktadır. Sitotoksik terimi, hücre ölümüne neden olan anlamına gelmektedir. Sitotoksikite araştırmaları, bir maddenin toksik potansiyelinin olup olmadığının belirlenmesi amacıyla yapılır. Hücre temelli sitotoksikite çalışmaları, gerek uygulama kolaylığı, gerekse *in vivo* çalışmalardan elde edilen verilerle uyum göstermesi nedeniyle, hayvan deneylerine alternatif olarak doğmuş

ve toksikoloji laboratuvarlarında sıkça tercih edilir hale gelmiştir. Sitotoksosite, incelenen maddenin dozuna ve maruziyet süresine bağlı olarak hücelere değişik derecelerde zarar veren bir olaydır. Hücreler, sitotoksik maddeye maruz kalırsa apoptoz, otofaji ve nekroz gibi olaylar sonucu ölebilir ya da sitostazis nedeniyle proliferasyon özelliklerini kaybedebilirler (Tokur ve Aksoy, 2017). Son zamanlarda, tek başına NP'ler ve NP- bazlı ilaç salım sistemleri, biyomedikal teknolojideki tanı ve tedavi amaçlı yaygın olarak kullanılmaktadır. NP'lerin güvenli kullanımı için *in vitro* test uygulamaları önemlidir. Hafif toksisitesite bile göstermesi, terapötik uygulamada NP'lerin kullanımını sınırlayabilir. Bir NP'nin toksisitesi, büyük ölçüde fiziksel, kimyasal ve yapısal özelliklerine bağlıdır.

Ag-NP'ler birçok yarar sağlasa da, genel toksisiteleri hakkında çok az şey bilinmektedir. Ag-NP'lerin biyolojik sistemler, yani virüsler, bakteriler veya insan hücreleri üzerindeki toksik etkileri üzerine yayınlanmış az sayıda çalışma bulunmasıyla birlikte bu çalışmalarda farklı ve hatta çelişkili sonuçlar ortaya çıkmıştır.

NP'lerin toksisitesini incelemek için yeni stratejilerin geliştirilmesi ve farklı biyolojik sistemler üzerindeki etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi öncelikli görevler haline gelmiştir. Genel olarak NP'lerin toksisitesinin biyolojik sistemlerin karmaşıklığı arttıkça azaldığı varsayılmaktadır. Bu nedenle, hücre/organizma ne kadar karmaşık olursa, Ag-NP'lerin toksik etkilerine karşı o kadar az hassas olmaktadır. Bununla birlikte çalışmalarda Ag-NP'lerin sadece iki veya üç farklı biyolojik grup üzerindeki etkisinin karşılaştırılması, farklı kültür ortamları, kültür koşulları ve metodolojisi kullanılması; Ag-NP'ler farklı şekillerde, farklı boyutlarda, farklı kaplama ajanı vb. kullanılarak sentezlenmesi gibi nedenlerden ötürü toksisite karşılaştırmaları zorlaşmaktadır (Vazquez-Muñoz ve ark., 2017).

Mukherjee ve ark. (2014) 3 farklı normal hücre hattı ve 3 farklı kanser hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmada hem kimyasal yöntemle hem de bitkiden elde edilen Ag-NP'lerin sitotoksik etkinin hücre türüne göre değiştiğini göstermişlerdir. Kimyasal yöntemle elde edilen NP'ler normal hücre hattında benzer konsantrasyonlarda sitotoksik etki gösterirken bitki tabanlı Ag-NP hücelere karşı biyoyumumluluk göstermiş ve hücre canlılığında kayda değer bir azalma olmamıştır. Fakat aynı NP'ler kanser hücreleri üzerinde kimyasal sentezle elde edilen NP'lere göre daha fazla sitotoksik etki göstermiştir. Bu farklılığın nedenini

ise Ag-NP'lerin anti-anjiyojenik özelliklerine bağlamışlar ve asidik tümör ortamının, bitki ekstraktlı Ag-NP'lerin antikanser aktivitesinin daha da artmasına yardımcı olan fitobileşenlerinin biyosentezlenmiş gümüş nano-konjüglatlardan salınmasına yardımcı olduğunu ve hücre ölümüne sebebiyet veren Ag<sup>+</sup> salımının asidik ortamda daha fazla olduğunu belirtmişleridir.

Benzer şekilde çay bitki ekstraktından elde edilen çalışmada da elde edilen Ag-NP yüksek konsantrasyonlarda bile (100 µg/ml) HaCaT hücreleri için toksik olmadığı belirtilmiştir (Moulton ve ark., 2010). Kasımpatadan elde edilen Ag-NP'lerin 'de 25 µg/ml de 3T3 fare embriyosu fibroblast hücrelerine karşı toksisite göstermemiştir (Arokiyaraj ve ark., 2014). Bitki ekstraktı ile sentezlenmiş Ag-NP'lerin *in vitro* antikanser aktivitesi farklı insan kanser hücrelerinde denenmiştir. A549 akciğer kanseri hücre hattı (Ahamed ve ark., 2011; Gengan ve ark., 2013; Sankar ve ark., 2013), MCF-7 göğüs kanseri hücre hattı (Jeyaraj ve ark., 2013; Vivek ve ark., 2012), Hep-2 karaciğer kanser hücresi hattı (Jacob ve ark., 2012; Satyavani ve diğerleri, 2011), HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı (Jeyaraj ve ark., 2013a; Sukirtha ve ark., 2012; Suman ve ark., 2013) ve kolon kanseri hücre hattı (RKO) (Devanesan ve ark., 2018) üzerine sitotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Tez çalışmasında kullanılan bütün kimyasallar satın alma yoluyla temin edilmiştir. Tüm sentez ve yıkama işlerinde saf su kullanılmıştır. Araştırmada kullandığımız gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ , %99.8), etanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ), sodyum hidroksit ( $\text{NaOH}$ ), hidroklorik asit ( $\text{HCl}$ ), F-12 Besin Karışımı (Ham), Tripsin-EDTA Solüsyonu, Fetal Bovine Serumu, fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS), MTT (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazoluim bromide) tuzu, tripan mavisi, nitrik asit ( $\text{HNO}_3$ ) gibi partikül sentezinde ve toksisite analizinde kullanılan kimyasallar; Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Sentezde kullanılan bitkiler bölge pazarından satın alınmıştır. *Artemia salina* yumurtası ise ticari bir firmadan, HUVEC hücreleri şap enstitüsünden temin edilmiştir. Partikül sentezi çalışmalarında etüv, karıştırılmalı ısıtıcı, su banyosu, santrifüj, UV-spektrofotometresi, liyofilizatör; *A. salina* üzerindeki toksisite analizi için mikrodalga fırın, ICP-MS cihazı; hücre üzerindeki sitotoksosite değerlendirilmeleri için mikroplate cihazı kullanılmıştır

#### 3.2. Bitkilerin Seçimi

Bu çalışmada Ag-NP'nin biyosentezi için Tunceli ilinde endemik bitkilerden olan Mayıs-Haziran aylarında yüksek yerlerde doğal olarak yetişen, halk sağlığında kullanılan ve gıda maddesi olarak tüketilen *Paeonia kesrouanensis* (Ayıgülü) ve *Rheum ribes* (Işgın) bitkileri seçilmiştir

##### 3.2.1. *Paeonia kesrouanensis* (Ayıgülü) bitkisi

Tunceli ilinde Munzur dağlarında yetişen Şakayıkçiller familyasından olan bitkinin latince ismi *Paeonia kesrouanensis*' dir. Bölgede ise "Ayı gülü, Gulorç, Gül horç, Savıle" gibi isimlerle bilinmektedir. Bitki Mayıs-Haziran dönemlerinde yüksek kesimlerde yetişmektedir. *P. kesrouanensis* bitkisi bölgede soğuk algınlığı ve şeker hastalığı tedavisinde kullanılmaktadır (Tuzlacı ve Doğan, 2010). Ayrıca bitki bölgede tam erginleşmediği dönemde gıda maddesi olarak tüketilmektedir.(Şekil 3.1)





Şekil 3.1. a) Taze *P. kesrouanensis* (Ayıgülü) gövde ve yaprak b) Kurutulmuş *P. kesrouanensis* gövde c) Kurutulmuş *P. kesrouanensis* yaprak bitkisi

### 3.2.2. *Rheum ribes* (Işgın) bitkisi

Kuzukulağigiller familyasından olan bitkinin Latince ismi *Rheum ribes.*'dir. *R. ribes* Anadolu'da ışkın, aşgın, aşkın, eşkin, eşgin, içgın, içkın, uçgun, uçkun, uşgun ve uşkun isimleriyle de bilinmektedir. Doğu Anadolu bölgesinde ise yayla muzı ve dağ muzı olarak da bilinir. (Şekil 3.2) Tozlaşması rüzgârlarla olan ve kendi cinsinin diğer türleriyle melezlenebilen *R. ribes* tıbbi bitkiler sınıfına girdiğinden farmakolojik araştırmalarda çok kullanıldığı gibi gıda maddesi olarak da kullanılmaktadır. *R. ribes* bitkisinin filizleri ve yaprakları diyare, mide hastalıklarında kullanılırken bazı bölümlerinin suyu; hemorid, kızamık, çiçek hastalığı ve safra

hastalıklarında, köklerinde şeker hastalığını tedavi etmek için kullanılır (Öztürk ve ark., 2007)



Şekil 3.2. a) Taze *Rheum ribes* (Işgın) gövde b) Kurutulmuş *Rheum ribes* gövde  
Bölge halkından temin edilen bitkiler laboratuvar ortamında (herhangi bir kimyasal vb. malzemelerin bulunmadığı bir ortam), farklı kısımlara ayrılarak ( gövde ve yapraklar) hem yaş (taze) hem de gölgede kurutulmuş olarak sentez çalışmasında kullanılmıştır. *R.ribes* bitksinin tohum kısmı yıkama sonrası oluşan küflenme nedeniyle çalışma dışında tutulmuştur.

### 3.3. Taze Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Temin edilen *P.kesrouanensis* (Ayıgülü) ve *R.ribes* (Işgın) bitkileri üzerinde bulunan toprak, toz vb. kirlilikleri arındırmak için öncelikle çeşme suyuyla ardından distile suyla birkaç kez yıkandı. *P.kesrouanensis* bitksinin yaprak ve gövde kısımları, *R.ribes* bitksinin ise sadece gövde kısmı kullanıldı. Küçük parçalara ayrılan her bir örnekten 20 gr tartılıp 250 ml beherde 100 ml saf su ile 60 °C' de 10 dk karıştırıldı. Kaynatıldıktan sonra, karışım soğutuldu ve Whatman kağıdı No. 1 ile süzüldü. Filtrat toplandı ve analiz için 4 ° C'de saklandı. Taze örneklerin bir kısmı daha sonra kullanılmak üzere paketlenip -80 ° C ' de saklandı.

### 3.4. Kuru Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

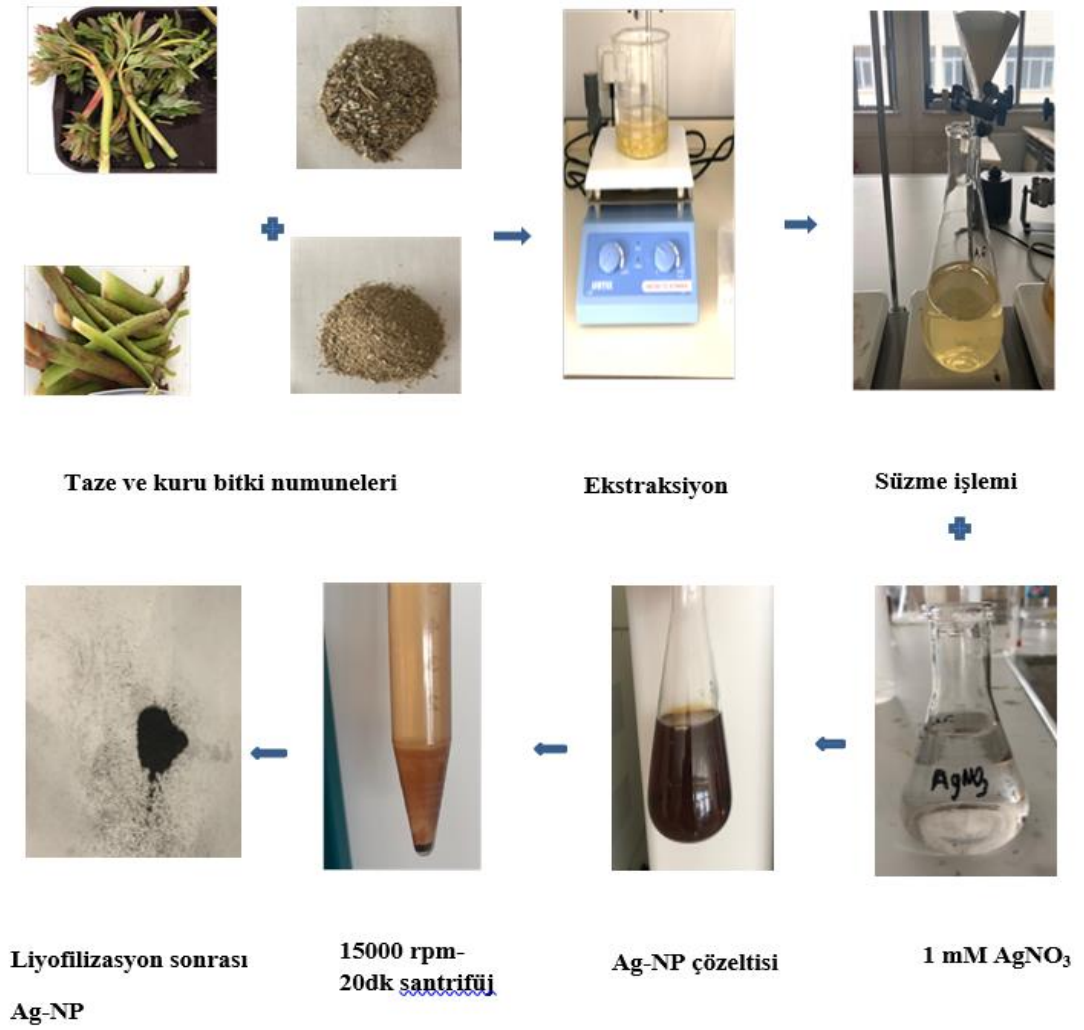
Temizlendikten sonra gölgede kurutulmuş bitkiler blenderle öğütüldü. Öğütülen her bir örnekten 5 g tartılıp 250 ml beherde 100 ml saf su ile 60 °C’ de 10 dk karıştırıldı. Örnekler 2000 rpm de 15 dk santrifüj edildi. Soğuyan karışım Whatman No. 1 kağıdı ile süzüldü. Filtrat toplandı ve analiz için 4 ° C’de saklandı.

### 3.5. Gümüş Nitrat Çözeltisinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan AgNO<sub>3</sub> Sigma-Aldrich firmasından satın alındı. 0.0169 g AgNO<sub>3</sub> 100 ml saf su içinde çözülerek 1 mM çözelti hazırlandı ve Ag-NP ‘nin biyosentezinde kullanıldı.

### 3.6. Gümüş Nanaopartiküllerinin Sentezlenmesi

Ag-NP’nin biyosentezinde *P. kesrouanensis* bitkisi taze ve kuru örneklerinden elde edilen bitki ekstraktının 10 ml’si 90 mL 1 mM AgNO<sub>3</sub> çözeltisine eklendi. Taze ve kuru *R. ribes* bitkisi örneklerinden elde edilen ekstraktın ise 25 ml si 75 ml 1 mM AgNO<sub>3</sub> çözeltisine ilave edildi. Bitki ekstraktının indirgeyici etkisi farklı reaksiyon sürelerinde (1, 6, 12 ve 24 saat), farklı pH’da (3, 5, 7, 9, 11, 13), farklı sıcaklıklarda (26, 37, 50 ve 80 °C), farklı konsantrasyonlarda (1,2,3,4,5 mM AgNO<sub>3</sub>) ve farklı bitki ekstraktı/AgNO<sub>3</sub> oranlarında (1:2,1:3,1:9) araştırıldı. Böylelikle Ag<sup>+</sup> iyonunun indirgenmesinde en etkili olan deney koşulları belirlemek üzere optimizasyon çalışmaları yapıldı. Yüzey plazmon bantlarının oluşumu ve Ag<sup>+</sup> iyonlarının Ag’ye indirgenme sırasında karışımın periyodik olarak açık sarıdan sarımsı kahverengiye ve son olarak kırmızımsı kahverengiye dönüşmesi görsel olarak doğrulandı. Ag-NP oluşumu UV-spektrofotometre kullanılarak izlendi. Ag-NP çözeltisi 15000 rpm’de 20 dk boyunca santrifüj edildi. Elde edilen pellet reaksiyona girmeden kalan protein ve ikincil metabolitleri uzaklaştırmak için etanolle yıkandı tekrar santrifüj sonrası elde edilen pelletler, liyofilizatörde kurutuldu (Şekil 3.3)



Şekil 3.3. *P. kesrouanensis* ve *R. ribes* bitkilerinin ekstraktından Ag-NP'lerin genel sentez şeması

### 3.7. Elde Edilen Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Ag-NP'lerin karakterizasyonunda farklı birçok spektroskopik ve mikroskopik teknikler kullanılmaktadır. Bu doğrultuda çalışmada, karakterizasyon için Transmisyon/Geçirimli Elektron Mikroskop (TEM), Dinamik Işık Saçılımı (DLS), Zeta Potansiyeli ve partikül boyut dağılımı, X-ışını Difraksiyonu (XRD), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FT-IR) ve UV-Görünür Spektroskopisi teknikleri kullanılmıştır (Rao ve ark., 2013).

### **3.7.1. UV-vis spektroskopisi**

Her iki bitkiden elde edilen Ag-NP'lerin dalgaboyu, 325 nm ila 600 nm aralığında 1 nm çözünürlükte ışık emiciliğine dayanarak UV-vis spektroskopisinde (Optima, SP-3000 Nano) kuvars küvet içine 100 µL örnek üzerine saf su eklenip son hacim 2 ml olacak şekilde numune doldurularak ölçüldü. Kontrol çözeltisi olarak saf su kullanıldı (Sharma ve ark., 2013). Elde edilen tüm verilerden Origin Pro 9.1 SRO yazılımı (OriginLab Corp, Northampton, MA, ABD) kullanılarak grafikler haline dönüştürüldü.

### **3.7.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)**

Ag-NP'lerin yüzey morfolojisi ve büyüklüğü bir taramalı elektron mikroskobu TESCAN MIRA3 XMU kullanılarak incelendi. Görüntüleme için, çift taraflı yapışkan karbon iletken bandın bir tarafına 0.5 mg Ag-NP numunesi koyuldu. Bant daha sonra 8 mm çapındaki alüminyum plakaya monte edildi. Örnek farklı büyütmede gözlemlendi ve görüntüler resimlendi.

Ayrıca, SEM'in enerji saçınımlı x-ışını spektroskopisi (EDX), biyosentez Ag-NP'lerin element yapısını belirlemek için kullanıldı (Puchalski ve ark., 2007)

### **3.7.3. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)**

Çalışmada NP'lerin boyut ve şekilleri TEM ile 40-100 kV hızlanan gerilim altında 50-106 büyütme ile 0,2 nm çözünürlük sağlayan JEOL-1011 TEM enstrümanı kullanılarak karakterize edildi. TEM ölçümleri için, NP'lerin koloidal çözeltisi ilk olarak 15.000 rpm de santrifüj edildi elde edilen pellet saf su ile yıkandı ve tekrar saf su içinde dağıtıldı. Bir damlası (8-10µL) 50 A° kalınlığında karbon-kaplanmış bakır ızgaralar (grid) üzerine damlatıldı ve TEM görüntüsünü kaydetmek için 24 saat kurumaya bırakıldı. Net mikroskobik görünüm, farklı büyütme aralığında gözlemlendi ve belgelendi (Gopinath ve ark., 2012).

### **3.7.4. Fouier dönüşümlü kızıl ötesi spektroskopisi (FT-IR)**

Bu çalışmada yaklaşık 0.5 g sentezlenmiş Ag-NP katı (toz) formlardaki örnekleri Jasco ATR-FT-IR 6700 kullanılarak 4000–400 cm<sup>-1</sup> aralığında tarandı. Sonuçlar spektral kütüphane veri tabanları, kızılötesi tablosuyla karşılaştırıldı.

### 3.7.5. X-ışını kırınım spektroskopisi (XRD)

XRD analizi için Rigaku Miniflex 600 X-Ray Diffractometer cihazı kullanıldı. Kurutulmuş NP'ler XRD ızgarası üzerine kaplandı ve spektrum, 40 kV'da çalışan XRD cihazı ve Cu-K $\alpha$ 1 radyasyonu ile 15 mA'lık bir akım kullanılarak kaydedildi. Cihaz 2 $\theta$  20-80 ° aralığında çalıştırıldı (Jyoti ve ark., 2016)

XRD modelinden elde edilen sonuç, Ag-NP'lerin karakterizasyonu için Standart Toz Kırınım Standartları Komitesinin (JCPDS kart no 04-0783) standart referansı ile yorumlandı (Theivasanthi ve Alagar, 2011)

### 3.7.6. Dinamik ışık saçılımı (DLS)

Her bir NP'ün sulu ortamdaki (solüsyon/medium) gerçek boyut dağılımı DLS ölçümleri (Malvern Zetasizer Nano ZS Instrument) ile belirlendi. NP'lerin gerçek boyut dağılımları, deiyonize su içinde stok süspansiyonlarında incelendi Konsantrasyonun çok yüksek olması durumunda, seyreltilip cihazın saniyede sayım elde edebileceği düşük konsantrasyonlara (<10  $\mu$ g/mL) ayarlandı. Her bir süspansiyonun bir kısmı, görünür kümelerin parçalanması (eğer varsa) için 10 dakika sonike edildi ve daha sonra DLS ölçümleri için 1,5 mL'lik temiz kare küvete konuldu (Brar ve Verma, 2011). Her bir NP çözeltisi için ortamdaki beş DLS ölçümü arka arkaya alınmıştır ve ortalama boyut; ölçülen yoğunluk, hacim ve sayı dağılımlarından enstrüman yazılımı ile elde edilmiştir. Ölçümler 0,1 ile 10,000 nm arasında alınmıştır.

### 3.7.7. Zeta potansiyeli

Zeta potansiyel ölçümleri için koloidal çözeltiden 1 mL örnek alınıp, temiz elektrotlu - zeta potansiyel küvetine konularak zetasizer (Malvern Nano ZS) cihazında analiz edildi.

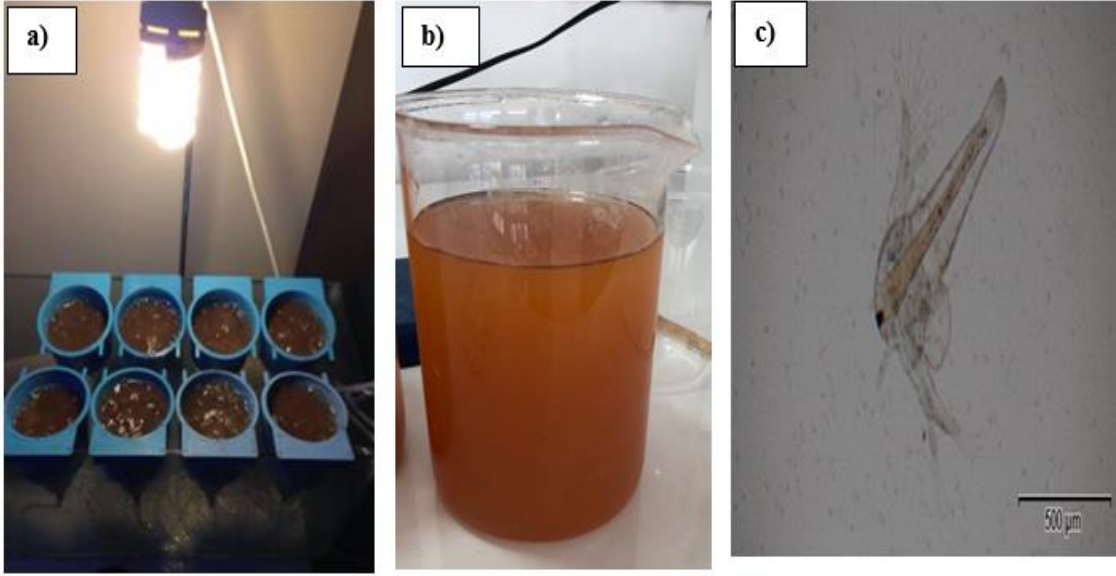
## 3.8. Gümüş Nanopartiküllerin *A.salina* Üzerinde Toksik Etkisinin Değerlendirilmesi

Çalışmanın toksisite testleri, kurutulmuş *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitkilerinin gövde ekstraktlarından elde ettiğimiz Ag-NP'ler için Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Teşkilatı [OECD bölüm 202 (zooplankton)] test yönergesine (OECD 2004) göre gerçekleştirildi. Toksikite deneylerinde metal NP konsantrasyonların önemli olduğu bilinmektedir.

Çalışmada özellikle çevresel oranda olacak şekilde düşük NP konsantrasyonları ayarlandı.

### 3.8.1. *A. salina* kistlerinin açtırılması

Nanotoksisite deneyi için kullanılan birincil tüketici olan zooplankton türü olan *A. salina* tuzlu göl sularında ve tuz göllerinde yaşayan bir tür eklembacaklıdır. Ayrıca tuzlu su karidesi olarak bilinen ve geniş tuzluluk aralığına (%1-200 ppt) dayanıklı bir organizmadır. *A. salina*'lar doğal ortamlarında 2 cm boyutlarına kadar büyüyebilirler. Genellikle sudaki mikroskobik boyutlardaki fitoplanktonları süzerek beslenirler. Besin zincirinde özellikle yavru balıkların beslenmesinde çok değerli bir canlı besin kaynağı olarak bilinirler. Proteince besin değeri yüksek ve laboratuvar ortamında üretimi en kolay olan zooplanktonik organizmaların başında gelmektedir. Kültür ortamında çoğaltılan *A. salina*'lar, yani inkübasyon işleminden sonra yumurtadan çıkan yavruların hemen hepsinin aynı boy ve özellikte olmaları ve en önemlisi de herhangi bir parazit barındırmadıkları için toksikolojik veya biyodeneysel çalışmalar için çok önem arz etmektedirler (Ateş ve ark., 2013). *A. salina* yumurtaları deniz suyunda inkübasyona bırakılarak larvaların çıkması sağlandı. Bunun için laboratuvar ortamında deionize edilmiş su içerisine sentetik deniz tuzu olan Instant Ocean®'ın uygun miktarda çözdürülmesiyle deniz suyu (30 ‰ m/v: 1 Lt suya 30 gr sentetik deniz tuzu konularak deniz suyu hazırlanır) hazırlandı. *A. salina* yumurtasının çatlatılması veya inkübasyonu özetle aşağıda belirtilen yönteme göre yapılmış olup, organizmalar biyodeneysel için hazır hale getirildi. Yaklaşık 3 g *A. salina* yumurtası, 1 L'lik deniz suyunda 30±1°C'de, konik plastik dereceli bir kap içinde inkübasyona bırakılmıştır. *A. salina* yumurtaları bazik ortamda çıktıkları için eğer pH seviyesi 7.6'in altında ise suyun içine bir miktar karbonat eklenmelidir. Floresan bir lamba ile 1500 lux gün ışığı sürekli olacak şekilde steril bir ortam sağlanmıştır. Ayrıca güçlü ve sürekli bir havalandırma için akvaryum hava pompasından kuluçka sisteminin (konik plastik) alt kısmına kadar uzanan küçük bir havalandırma hortumu yardımı ile deniz suyu ortamına hava verildi. Böylelikle *A. salina* yumurtalarının su içinde sirkülasyonunun devamlılığı sağlandı (Şekil 3.4 a). Bu koşullar altında, *A. salina* yumurtası 24-36 saat süre ile karıştırıldı ve daha sonra kuluçka sonucunda yeni çıkan canlı yavrular (Şekil 3.4 -b-c) NP uygulamaları için 1000 ml cam beherde toplandı



Şekil 3.4. a) *A. salina* organizma yumurtalarının inkübasyonu b-c) Yumurtadan yeni çıkmış larvalar (orijinal)

### 3.8.2. Toksikite biyodeneş düzeneği

Zooplankton deneş çalışmaları ölçeklendirilmiş konik yapılı plastik kaplarda (0,75 L iç hacim) yapıldı. Deneş kapları kontrol dışında toplam 6 farklı konsantrasyon (0,2, 1, 5, 10, 25 ve 50 µg/mL) ve 3 tekrar olacak şekilde düzeneğe yerleştirildi. 500 mL hacim seviyesi işaretlenen kaplara, bir miktardaniz suyu eklendikten sonra, beherde toplanan *A. salina* organizması eşit dağılımlı sağlamak amacıyla sürekli karıştırılarak 50 ml ölçölüp her bir kaba konuldu ve deniz tuzuyla son hacim 500 ml tamamlandı (Şekil 3.5). NP uygulamasından önce her bir kaptaki *A.salina* sayısını belirlemek için, örneklerden 1 ml alındı deniz suyuyla 10 kat seyreltildi ve seyreltilen örnekten 1 mL alınıp ışık altında sayım yapıldı. Toplam iç hacim 500 mL olan plastik kap içinde, deneş başlangıcında ortalama 1 mL’de 60-65 adet *A. salina* organizma olarak not edildi.

#### NP solüsyonlarının hazırlanması ve uygulanması

150 mg NP tartıldı ve saf suyla 50 mL tamamlandı. Hazırlanan süspansiyon ilk olarak 5 dk vortekslendi ve NP’nin daha iyi dağılması için 20 dk ultrasonik banyoda bekletildi. Hazırlanan artemia düzeneğine kontrol dışındaki gruplara konsantrasyonlar 0,2, 1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L olacak şekilde stok süspansiyonundan otomatik pipet yardımıyla uygun hacimler alınarak, hemen deneş üniteleri içine transfer edildi ve deneş organizmaları Ag-NP’lere maruz bırakıldı (Şekil 3.5).





Şekil 3.5. Ag-NP eklenmiş *Artemia salina* düzeneği

### 3.8.3. Gümüş nanopartiküllerin LC<sub>50</sub> değerlerinin belirlenmesi

Araştırmada kullanılan Ag-NP'lerin LC<sub>50</sub> değerlerinin belirlenmesi için NP'lere maruz bırakılan organizma ortamından; başlangıç (0. saat), 24., 48. ve 72. saat zaman dilimlerinde pipet yardımıyla 1,0 mL alınıp deniz suyu ile 10 mL'ye seyreltildi (*A. salina* için 10-kat seyreltme). Daha sonra, bu seyreltik çözülden 1 mL karıştırılırken alındı ve ışık altında organizmaların sayısı bu hacimde görsel olarak belirlendi. Her bir sayım için 3 tekrar yapıldı ve sayıların ortalaması alındı. 72 saatlik deney sonucunda öldürücü konsantrasyonu bulmak amacıyla her konsantrasyon ölüm yüzdesi

$$\% \text{ Ölüm oranı} = \frac{\text{Ölen } A. \text{ salina sayısı}}{\text{Başlangıçtaki } A. \text{ salina sayısı}} \times 100$$

formülü kullanılarak hesaplandı. Probit programı kullanılarak LC<sub>50</sub> değeri belirlendi.

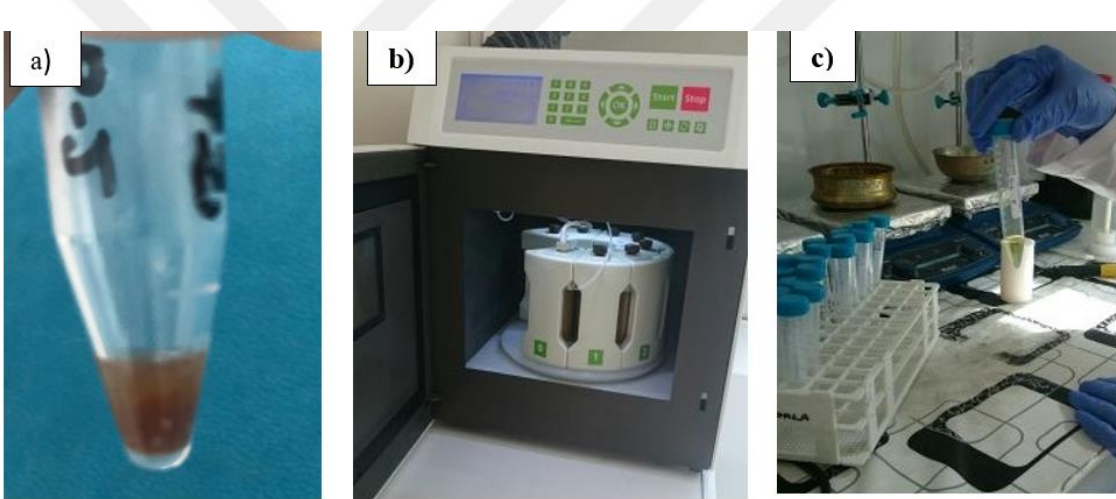
#### 3.8.4. Birikim ve eliminasyon analizleri

*A.salina* organizmalarında muhtemel NP birikim ve eliminasyon tespiti için, deney süresinin belirli zaman dilimlerinde ve deneyin sonunda [24. saat; 48. saat; 72. saat ve eliminasyon (ilave 24 saat)] organizmadan numuneler alınarak kimyasal analizler yapıldı. Organizmalarda NP'lere bağlı olarak birikim ve eliminasyon oranı ICP-MS (Endüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi) cihazında metal analizin yapılmasıyla tespit edildi.

Bu kapsamda *A.salina*'da birikim ve eliminasyon oranlarını belirlenmesi için uygulanan analiz öncesi örneklerin hazırlama prosedürü kısaca şu şekildedir; 24 saat sonunda kontrol grubundan başlanarak ağız geniş şırınga yardımıyla her bir kaptan 100 ml örnek alınıp behere aktarıldı. Vakum pompasına bağlı bir filtre düzeneğinde kullanılan 0,47mm Whatman filtre kâğıdından örnekler süzülerek filtre edildi. Filtre edilen organizma yaş örneklerinden yaklaşık 100-150 mg hassas terazide tartılıp ve bir spatula yardımı ile numaralandırılmış (kodlanmış) 2 mL'lik ependorf tüplere aktarıldı (Şekil 3.6a). Bu işlem 48., 72. ve eliminasyon (ilave 24 saat) süresi sonunda tekrarlandı. Digest (çözdürme) analizlerin yapılma zamanına kadar ependorf tüplerdeki örnekler minimum 4 °C olacak şekilde soğuk bir dolapta bekletildi. 0,5 mL (yaklaşık 500 µL) saf nitrik asit (HNO<sub>3</sub>) otomatik pipet yardımı ile örneklerin olduğu ependorf tüplere aktarılıp ve örnekler asitle hafif bir şekilde karıştırıldıktan sonra bekletmeden digest etmek için ısıya dayanıklı teflon tüplere aktarıldı. Teflon tüplerdeki asit oranı 2 mL'ye tamamlandı ve daha sonra tüplerin ağızları dikkatlice kapatıldıktan sonra örnekler mikrodalga fırında 200 °C' de 30 atm'de 10 dk yakıldı (Şekil 3.6b). Çözdürme işleminden sonra soğumaya bırakılan örnekler, çeker ocak altında 15'lik tüplere aktarıldı (Şekil 3.6c). Bunu takiben teflon tüpler 1-2 sefer daha ultra saf su (yaklaşık 4-5 ml) ile yıkanıp ve örneklerin konulduğu 15 mL'lik tüplere aktarılarak tüpler saf su ile 15 mL'ye tamamlandı. HNO<sub>3</sub> oranı %5'e indirgenen örnekler 2 ml ependorf tüplere konuldu. Ayrıca tüm NP'ların tamamen çözünmesi görsel olarak da kontrol edildi (örnekte herhangi bir bulanıklık olmadan berrak çözelti elde edilmesi gibi). Seyreltme sonucunda ortamdaki HNO<sub>3</sub> oranı %5 olduktan sonra ICP-MS cihazı ile Ag metal analizi yapıldı.

Organizmalardaki birikim ve eliminasyon metal analizleri için Spiny Dogfish (*Squalus acanthias*) kası (DORM-2) ile American lobster (*Homarus americanus*) hepatopankreası

(TORT-2), ICP-MS kalibrasyonunda sertifikalı referans materyali olarak kullanıldı. Referans materyal olarak kullanılan DORM-2 ve TORT-2 malzemeleri Kanada Ulusal Araştırma Birimi'nden satın alındı. Sertifikalı değerler için ölçülen değerler %90-115 arasında bulundu. Ayrıca ICP-MS analizinde kullanılan stok standart Ag çözeltisi ise (100 µg/mL) SCP Science (Champlain, NY, ABD) firmasından satın alındı. ICP-MS ölçümleri için kalibrasyon standartları 0-100 µg/L aralığında %5'lik HNO<sub>3</sub> içinde Ag standart çözeltisinden hazırlandı. Hazırlanan örneklerin (nihai asit oranı %5'lik HNO<sub>3</sub> olacak şekilde), metal içeriğinin belirlenmesi için, ICP-MS cihazı (Varian 820-MS, Avustralya) kullanılarak analizler yapıldı. Elde edilen sonuçlarda, kullanılan asidin seyreltme oranı ile kullanılan yaş organ ağırlık oranları dikkate alınarak toplam metal içeriği, kuru ağırlık (µg/g) olarak ifade edildi.



Şekil 3.6. a) Filtrasyon sonrası toplanan A. salina örneği b) Nitrik asitte (HNO<sub>3</sub>) çözdürülen örneklerin mikrodalgada yakma işlemi c) ICP-MS analizi için yakma sonrası çözelti haline getirilen örnek

### 3.8.5. Metal iyon analizi

Metal NP'lerin bulunduğu ortama iyon salımları toksisite açısından önem arz etmektedir. Metal bazlı NP'lerin toksisite oranlarını genelde ortama verdiği iyon miktarı belirler. Toksik olmayan bazı NP'ler ortama verdiği iyon miktarından dolayı organizma için zararlı olur ve organizmanın ölüm oranındaki artış ise ortamda bulunan iyon salımlarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca NP'lerin akuatik ortamda çözümleri farklılık göstermektedir. Sentezlediğimiz Ag-NP'lerin ortamda çözümlerini ve iyon miktarlarını belirlemek için deney ortamında (NP'lere maruz bırakılan organizmaların bulunduğu ortamdan) su örneği alınarak ICP-MS cihazı ile iyon analizi yapıldı. Alınan

su örneğinde herhangi bir partikül veya organizma gelmemesi için bir mikro gözenekli plankton kepçe kullanılarak zooplankton organizmaların bulunduğu ortamdan ve steril bir şırınga yardımıyla 2 mL örnek alınıp ve 0.45 µm gözenekli MILLEX-HP filtreden geçirildi. Daha sonra alınan örnek 2 ml'lik ependorf tüp içinde 30 dakika 13000 rpm'de mikrosantrifüjde santrifüj edildi. Supernatant ortamından 0.25 mL alınıp %5'lik HNO<sub>3</sub> ile 2 mL'ye tamamlandı (8 kat seyreltme yapıldı) ve ICP-MS cihazı ile metal iyon salım analizleri yapıldı.

### 3.9. Hücre Kültür Çalışması

Hücre kültürü çalışmalarının amacı sentezlenen Ag-NP'lerin hücreler üzerine etkisini *in-vitro* ortamda incelemektir. Bu çalışmada biyosentez yöntemi ile elde edilen Ag-NP'lerin olası sitotoksik etkilerini incelemek için HUVEC hücresi kullanıldı. Sitotoksikite MTT (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide; Thiazolyl blue) testi ile değerlendirildi. MTT testi; çeşitli kimyasal ajanların sitotoksik aktivitelerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmakta ve hızlı, kesin ve duyarlı sonuçlar vermektedir. MTT bir tetrazolyum tuzu olup, canlı hücrelerin mitokondrilerinde süksinat-dehidrogenaz enzimine spesifiktir. Bu yöntemde, canlı hücrelerin mitokondrisinde yer alan süksinat-dehidrogenaz enzimi, MTT boyasının tetrazolium halkasını parçalayarak 570 nm'de ışığı absorblayan, organik çözücülerde çözünen formazan tuzları oluşturur. MTT yönteminde spektrofotometrik olarak ölçülen değer, kültürdeki hücrelerin metabolik aktivitelerini gösterir ve bu değer, canlı hücre sayısı ile ilişkilidir.

Kriyotüpler kullanılarak -80°C de dondurularak saklanan HUVEC hücreleri, dondurucudan alınarak çözülmesi sağlandı. %89 F-12 Nutrient Mixture, %10 FBS ve %1 Penisilin Streptomisin olacak şekilde besiyeri hazırlandı. Hücre besiyeri ile süspanse edilerek flaska aktarıldı. 37°C de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatöre alınan flasklar 24 saatte bir kontaminasyon ve hücre çoğalmalarının incelenmesi için kontrol edildi. Bu işlemin ardından hücre sayımı hücrelerin tripan mavisi ile boyandıktan sonra sayılan hücreler her biri kuyucuk başına 10.000 hücre düşecek şekilde 96 well-plate ekildi. HUVEC hücreleri için %89 F-12 Nutrient , %10 FBS ve %1 Penisilin Streptomisin olacak şekilde besiyeri eklendi. Hücreler 37°C de %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde 24 saat inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyonun ardından Ag-NP'ler hücrelere 4 farklı konsantrasyon ve 6 tekrar olarak uygulandı. 24 saat inkübasyondan sonra platelerin içindeki besiyeri atıldı ve her bir

kuyucuk başına 100 µL fenol redsiz besiyeri ve 50 µL MTT solüsyonundan eklendi ve solüsyon eklendikten sonra 2 saat etüvde bekletildi. 2 saatin sonunda MTT solüsyonu çekilip üzerine 100 µL izopropanol eklendi. Negatif kontrol olarak besiyeri içeren hücre, pozitif kontrol olarak öldürücülü kesin olarak bilinen %20'lik DMSO kullanıldı. ELİSA okuyucuda 570 nm'de okutuldu.

$$\% \text{ Canlılık} = \frac{\text{Örneklerin absorbansı}}{\text{Negatif kontrol absorbansı}} \times 100$$

formülünden % Canlılık oranları hesaplandı. Sonuçlar grafiksel olarak değerlendirildi.

### **3.10. İstatiksel Analizler**

Tez kapsamında çalışmaların sonuçları IBM SPSS istatistik 24 programı kullanılarak bilgisayar ortamında değerlendirilmiştir. Grup ortalamaları arasındaki farkın önemli olup olmadığı One-Way ANOVA ve Two-Way ANOVA kullanılarak belirlenmiş, önemli çıkan farkların hangi gruplar arasında olduğu Duncan çoklu karşılaştırma testi ile istatistiksel olarak tespit edilmiştir. İstatistiksel önem seviyesi  $p < 0.05$  olarak kabul edilmiştir. Fark,  $p < 0.05$ 'ten küçük olduğunda değerler arasındaki farklar anlamlı kabul edilmiştir.

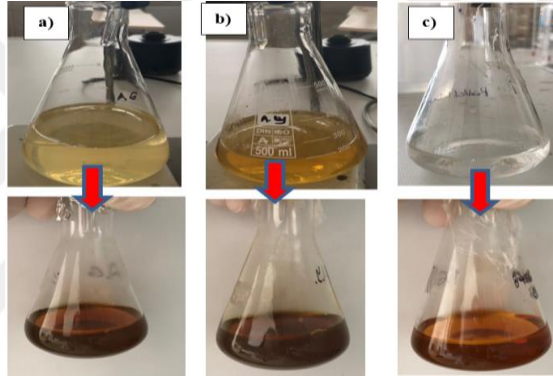
## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. Karakterizasyon Analiz Sonuçları

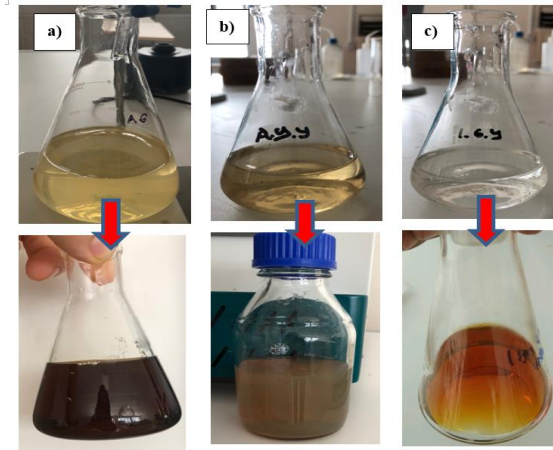
#### 4.1.1. Renk değişiminin gözlenmesi

Literatüre göre, Ag-NP oluşumun en önemli göstergesi çözelti renginin koyu kahverengi, kıvılcık-kahve ve grimsi kahveye dönüşmesidir (Paulkumar ve ark., 2014; Velmurugan ve ark., 2014; Manivasagan ve ark., 2013)

Şekil 4.1’de kurutulmuş bitki örneklerinden, Şekil 4.2’de taze bitki örneklerinden elde edilen Ag-NP’lerin renk değişimi gösterilmiştir.



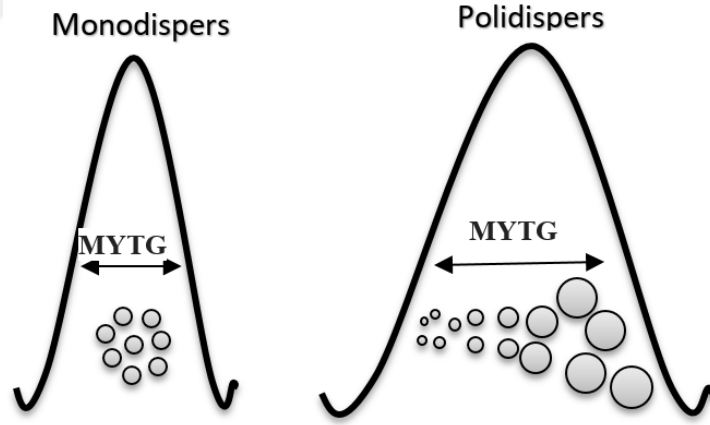
Şekil 4.1. Sırasıyla Kurutulmuş a) *P.kesrouanensis* gövde b) *P.kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde bitki ekstraktları (üst) ve ekstraktlarından sentezlenen Ag-NP kolloidal süspansyonu (alt)



Şekil 4.2. Sırasıyla taze a) *P.kesrouanensis* gövde b) *P.kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde bitki ekstraktları (üst) ve ekstraktlarından sentezlenen Ag-NP kolloidal süspansyonu (alt)

#### 4.1.2. UV-vis spektrofotometresi analiz sonuçları

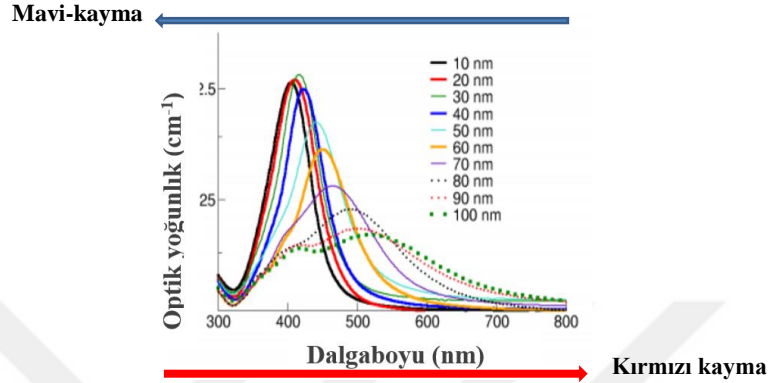
Ag-NP'ler boyutuna, şekline, yoğunluğa, kümeleşme durumuna karşı hassas optik özelliklere sahiptir, bu sebepten dolayı UV-vis spektroskopisi ile NP'lerin teşhis edilmesi, karakterize edilmesi ve incelenmesi oldukça önemlidir. Gümüş gibi metal NP'lerde iletkenlik ve değerlik bandları elektronların serbestçe hareket edeceği şekilde birbirine oldukça yakındır. Işınla rezonansa giren metal NP elektronlarının kollektif salımıyla bu serbest elektronlar SPR (yüzey plazmon rezonans) absorbands bandını oluşturur. SPR bandının dalgaboyu ve genişliği (Maksimum dalgaın yarısı tam genişlik (MYTG), partikülün serbest elektron yoğunluğuna (boyut), ortamın dielektrik özelliklerine ve yüzeye absorbe edilen türlere büyük ölçüde bağlıdır (Das ve ark., 2010). Partikül boyutundaki değişim SPR bandının MYTG'sinde artışa ya da azalışa sebep olmaktadır. Simetrik ve dar SPR bandı, dar boyut aralığı ve uniform Ag-NP'leri gösterir. Düşük MYTG monodispersiteyi gösterirken, daha yüksek değerler partiküllerin polidispers dağılıma sahip olduğunu göstermektedir(Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Farklı dağılıma sahip Ag-NP'lerin absorpsiyon spektrumlarında. küçük MYTG monodispersiteyi gösterirken, daha yüksek değerler partiküllerin çoklu dağılımını gösterir (Oliveira ve ark., 2017)

350-450 nm bölgesinde maksimum absorbands bandı Ag-NP'ler için tipik bir özelliktir. Bunun dışında SPR bandında kayma ve şekil değişimi  $\lambda_{max}$  absorbandsında artma ya da azalmaya neden olur.  $\lambda_{max}$  dalgaboyu değerindeki değişim NP'lerin karakterize edilmesinde ve solüsyonda meydana gele değişimin izlenmesine yardımcı olmaktadır (Velgosová, ve ark., 2016). Teorik ve deneysel olarak, NP'lerin boyutu küçüldüğünde, SPR bandı daha kısa dalga boyu tarafına doğru (blue shift) kaydığı bulunmuştur. Tam

tersi durumda partiküllerin çapı büyüdükçe, yüzey plazmon elektronlarının uyarılması için gereken enerji azalır, bunun sonucunda.  $\lambda_{\max}$  uzun dalga boyu bölgesine (red-shift) doğru kayar (Şekil 4.4). Yani soğurma spektrumu zayıf ve geniş olur (Alvarez ve ark., 1997; Verma ve Mehata, 2016).



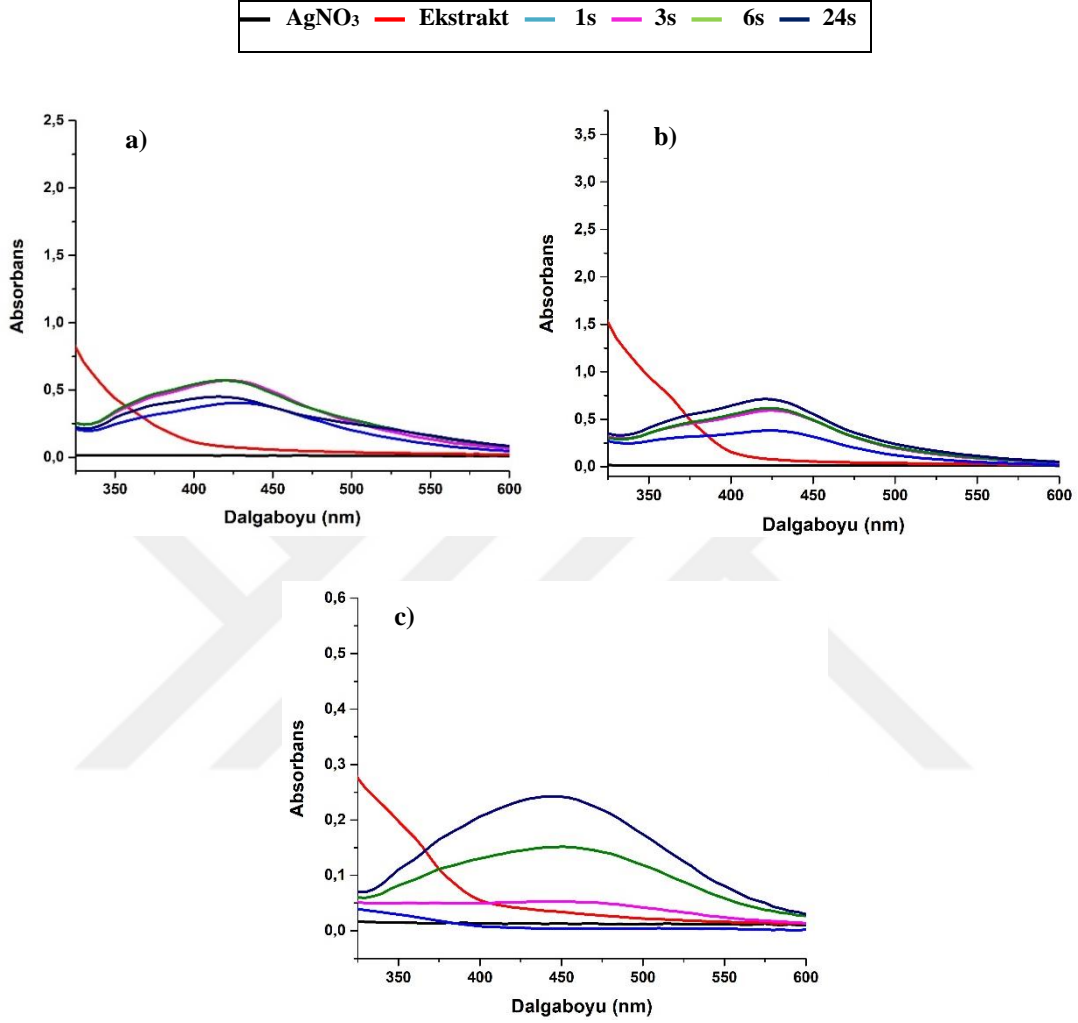
Şekil 4.4. Farklı boyuttaki Ag- NP'lere ait UV-vis spektrumu (Anonim,2019)

*P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktlarından NP sentezinin optimizasyon çalışmalarında SPR piklerinin geniş olduğu görülmüştür. Bu genişlemenin nedeni NP'lerin polidispers özellik göstermesinden (Kvítek ve ark., 2013) ya da NP'lerin yüzeyinde bulunan bitki konpanentlerinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Ramteke ve ark., 2012). Reaksiyon süresi boyunca artan absorbans ortamda Ag-NP'nin oluşumunun devam etmesinden kaynaklıdır. UV-spektrumunda, küresel Ag-NP'ler yaklaşık 350–450 nm'de bir SPR bandı sergilemektedir (Shameli ve ark., 2014; Kelly ve ark., 2003). Pik konumunda herhangi bir değişikliğin olmaması Ag-NP'lerin çekirdeklenmesinin yalnızca reaksiyon süresinin başlamasıyla başladığını ve boyutunun reaksiyon boyunca değişmeden kaldığını göstermektedir (Ramteke ve ark., 2012). Sıcaklık, zaman, pH ve reaktiflerin konsantrasyonu gibi proses koşulları, NP'lerin boyutunu ve şeklini etkileyen önemli faktörlerdir (Sedighi and Montazer, 2016). Bu da reaksiyon parametrelerini daha fazla kontrol altına alma gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır.



## Reaksiyon süresinin Ag-NP oluşumuna etkisi

### *Kurutulmuş P. kesrouanensis ve R. ribes bitki ekstraktı kullanarak sentezlenen Ag-NP*

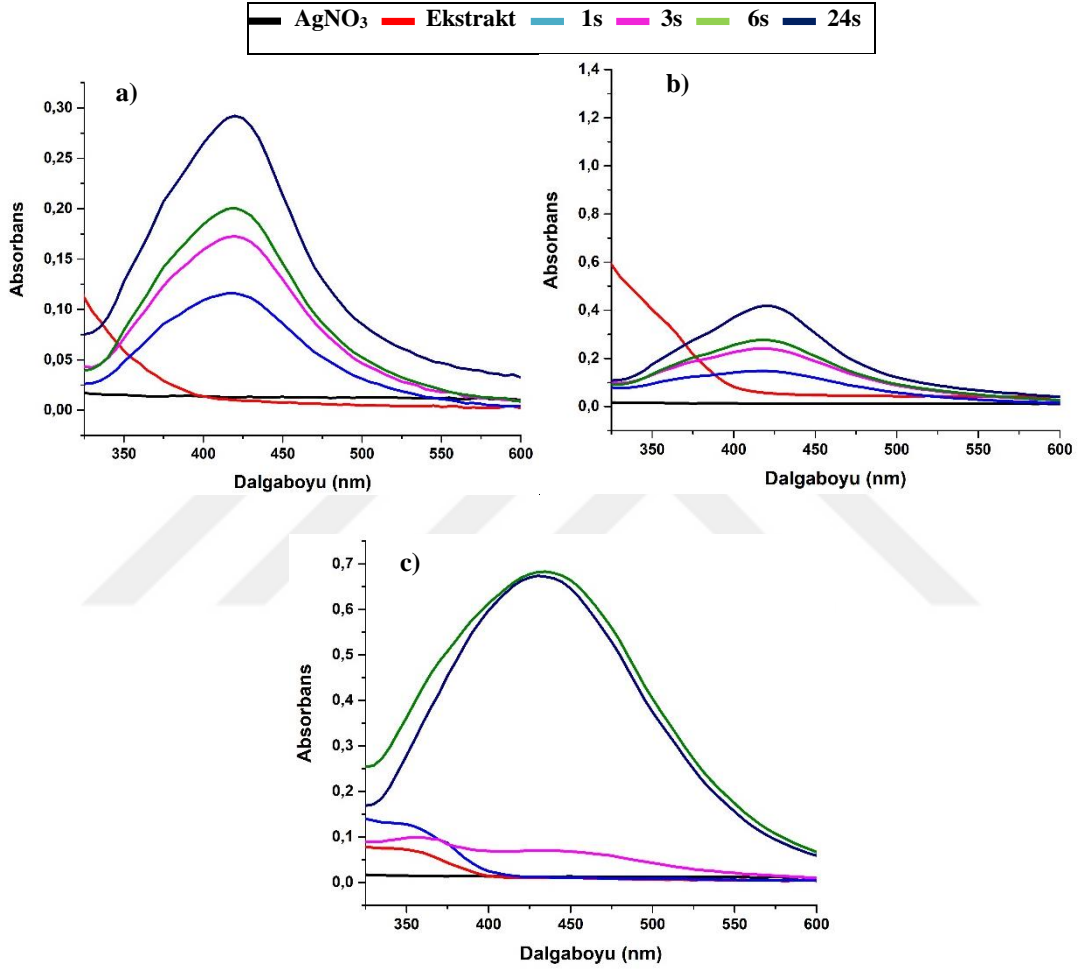


Şekil 4.5. Farklı reaksiyon sürelerinde kurutulmuş a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1/9 oranında, 1mM AgNO<sub>3</sub>)

Ag-NP'lerin UV-vis absorpsiyon spektrumları 325-600 nm aralığında izlenmiştir. Reaksiyonun 1. saatinde *P. kesrouanensis* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP  $\lambda_{\max}$  değeri 430 nm, yaprak ekstraktından sentezlenen NP'lerde  $\lambda_{\max}$  değeri 425 nm olarak bulunurken, sentez için *R. ribes* bitkisi gövde ekstraktı kullanıldığında 1. ve 3. saatin sonunda Ag-NP sentezi gerçekleşmediği görülmüştür. 24 saat reaksiyon süresi sonrasında *P. kesrouanensis* gövde ve yaprak ekstraktından sentezlenen NP'lerde  $\lambda_{\max}$  değeri sırasıyla 415 nm ve 420 nm ile mavi bölgeye kaymıştır. *R. ribes*'te 6.ve 24. saat sonunda reaksiyon gerçekleşmiş ve  $\lambda_{\max}$  değeri 450 nm'den 445 nm kaymıştır. Spektrumlar

incelendiğinde *P. kesrouanensis* gövde ve yaprak ekstraktından ilk 1 saat içinde Ag-NP sentezlenirken, *R. ribes* ekstraktlarında Ag-NP oluşumu için reaksiyon süresinin daha uzun olduğu görülmüştür (Şekil 4.5).

Taze *P. kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP



Şekil 4.6. Farklı reaksiyon sürelerinde taze a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1/9 oranında, 1mM AgNO<sub>3</sub>)

Taze *P. kesrouanensis* gövde ekstraktı kullanarak sentezlenen Ag-NP'lerde reaksiyonun 1., 3., 6. ve 24. saatlerinde  $\lambda_{max}$  değeri değişmemiş ve 420 nm olarak bulunmuştur. Yaprak ekstraktı kullanarak sentezlenen Ag-NP'lerde ise 1. ve 3. saatlerde  $\lambda_{max}$  değeri 415 nm iken reaksiyonun 6. ve 24. saatlerinde bu değer 420 nm olmuştur. Taze *R. ribes* bitkisinde 1. ve 3. saatlerde reaksiyon oluşumu görülmemiştir. 6. ve 24. saatte Ag-NP

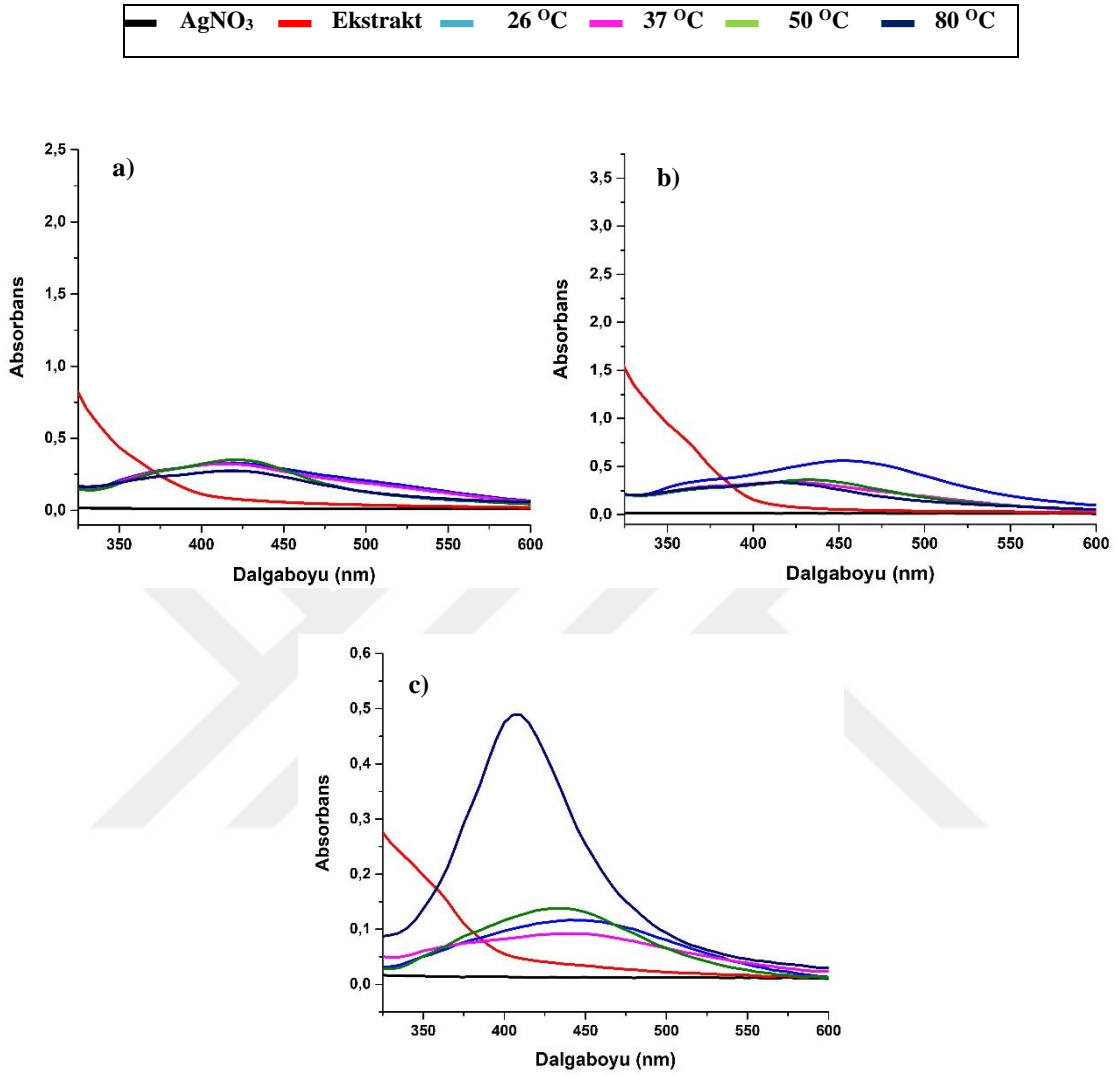
absorbsiyonu artış göstermiş ve reaksiyon 6. saatte nerdeyse tamamlanmıştır ve  $\lambda_{\max}$  435 nm olarak ölçülmüştür (Şekil 4.6)

Her iki bitki grubunda zaman geçtikçe absorbansta bir artış olduğu gözlenmiştir. Bu artış daha fazla  $Ag^+$  iyonunun  $Ag^0$ 'e indirildiğini ve buna bağlı  $Ag-NP$  oluşumunun devam ettiğini göstermektedir. SPR bant genişliği homojen olmayan bir boyut dağılımının olduğunu göstermektedir (Orbaek ve ark., 2014). Benzer şekilde Tran ve ark., (2013) *Tithonia diversifolia* yaprak ekstratlarıyla yaptığı çalışmada reaksiyon süresinin  $NP$  oluşumuna etkisini incelemiş ve 24 saate kadar reaksiyon süresinde, absorbanın yoğunluğunun sabit bir şekilde arttığını ve süre ilerledikçe daha fazla  $Ag^+$  iyonunun indirgenerek  $Ag-NP$  konsantrasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir.

#### Sıcaklığın $Ag-NP$ oluşumuna etkisi

Sıcaklık etkisi,  $Ag-NP$ 'lerin sentezini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Bu etki 26 °C, 37 °C, 50 °C ve 80 °C olmak üzere 4 farklı sıcaklıkta çalışılarak doğrulanmıştır. Artan sıcaklıkla birlikte  $Ag-NP$ 'lerin oluşum oranında bir artış gözlemlenmiştir.

Kurutulmuş *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP

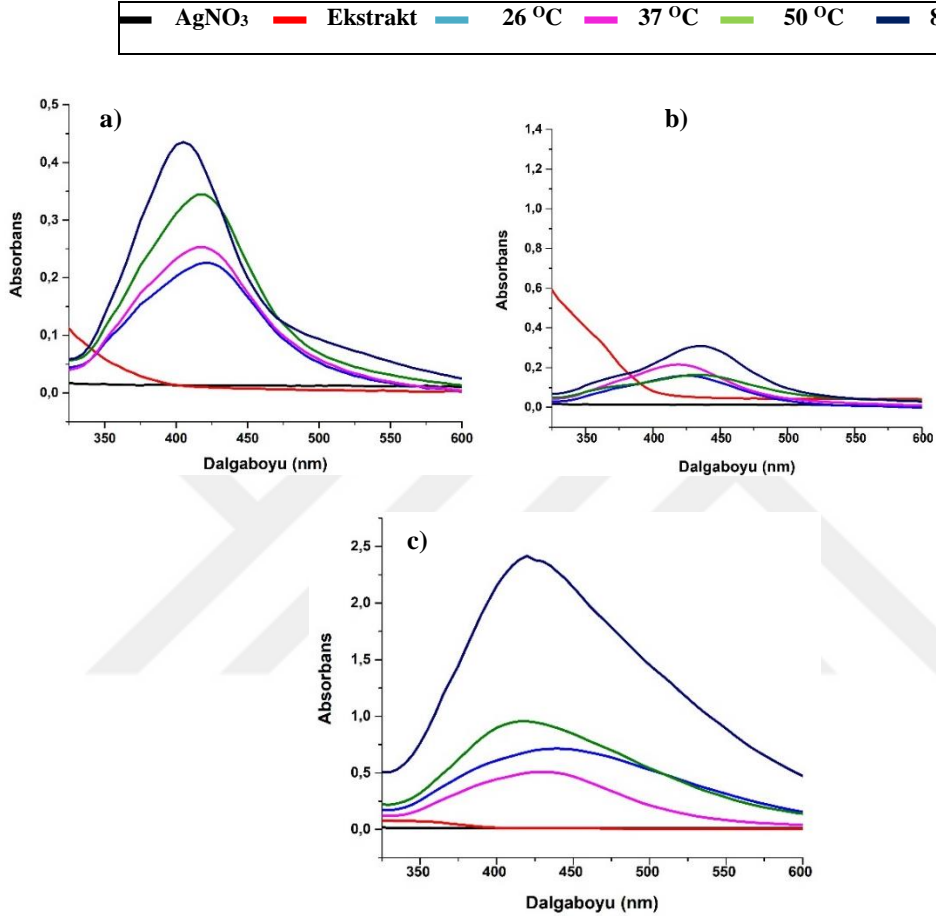


Şekil 4.7. Farklı sıcaklıklarda kurutulmuş a) *P.kesrouanensis* gövde b) *P.kesrouanensis* yaprak c) *R.ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 1 mM AgNO<sub>3</sub>, 1/9 oranında, reaksiyon süresi 24 saat)

24 saat reaksiyon süresi sonunda *P.kesrouanensis* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin 26 °C, 37 °C ve 50 °C ve 80 °C' de  $\lambda_{max}$  'ı sabit kalmış ve 420 nm bulunmuştur. NP absorbansı en az 80 °C ' de görülmüştür (Şekil 4.7a). Yaprak ekstratında ise 26 °C 'de  $\lambda_{max}$  455 nm, 37 °C'de  $\lambda_{max}$  420 nm iken 50 °C'de 430 nm ve 80 °C'de  $\lambda_{max}$  415 nm 'ye kaymıştır (Şekil 4.7b). Bununla birlikte sıcaklığın artmasına bağlı artan boyuttan dolayı absorbans değerinde azalma meydana gelmiştir. Benzer şekilde *R.ribes* gövde ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin 26 °C, 37 °C 'de  $\lambda_{max}$  'ı 440 nm iken 50 ve 80 °C'de  $\lambda_{max}$  sırasıyla 435 ve 415 nm'ye kaymıştır (Şekil 4.7c). Sıcaklığın

artmasıyla birlikte SPR absorbans pikleri partikül boyut azalmasına bağlı mavi bölgeye kayma göstermiştir.

Taze *P. kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP



Şekil 4.8. Farklı sıcaklıklarda taze a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi ( Sentez koşulları; 1 mM AgNO<sub>3</sub>, 1/9 oranında, reaksiyon süresi 24 saat )

24 saat reaksiyon süresi sonunda taze *P. kesrouanensis* gövde ekstraktı kullanarak sentezlenen Ag-NP'lerin 26 °C, 37 °C ve 50 °C 'de  $\lambda_{max}$  'ı 420 nm iken, 80 °C 'de 405 nm olarak ölçülmüştür. *P. kesrouanensis* yaprak ektratında ise 26 °C ve 37 °C'de  $\lambda_{max}$  420 nm, 50 ve 80 °C  $\lambda_{max}$  435 nm olarak bulunmuştur (Şekil 4.8a-b). Sıcaklık artışına bağlı boyut artmış ve SPR piki kırmızı bölgeye kaymıştır. *R. ribes*'den sentezlenen Ag-NP'lerin 26 °C'de  $\lambda_{max}$  440 nm, 37 °C 430 nm, 50 °C de 415 nm ve 80 °C 420 nm olarak bulunmuştur (Şekil 4.8c). Sıcaklığın artmasıyla Ag-NP absorbansı artış göstermiştir.

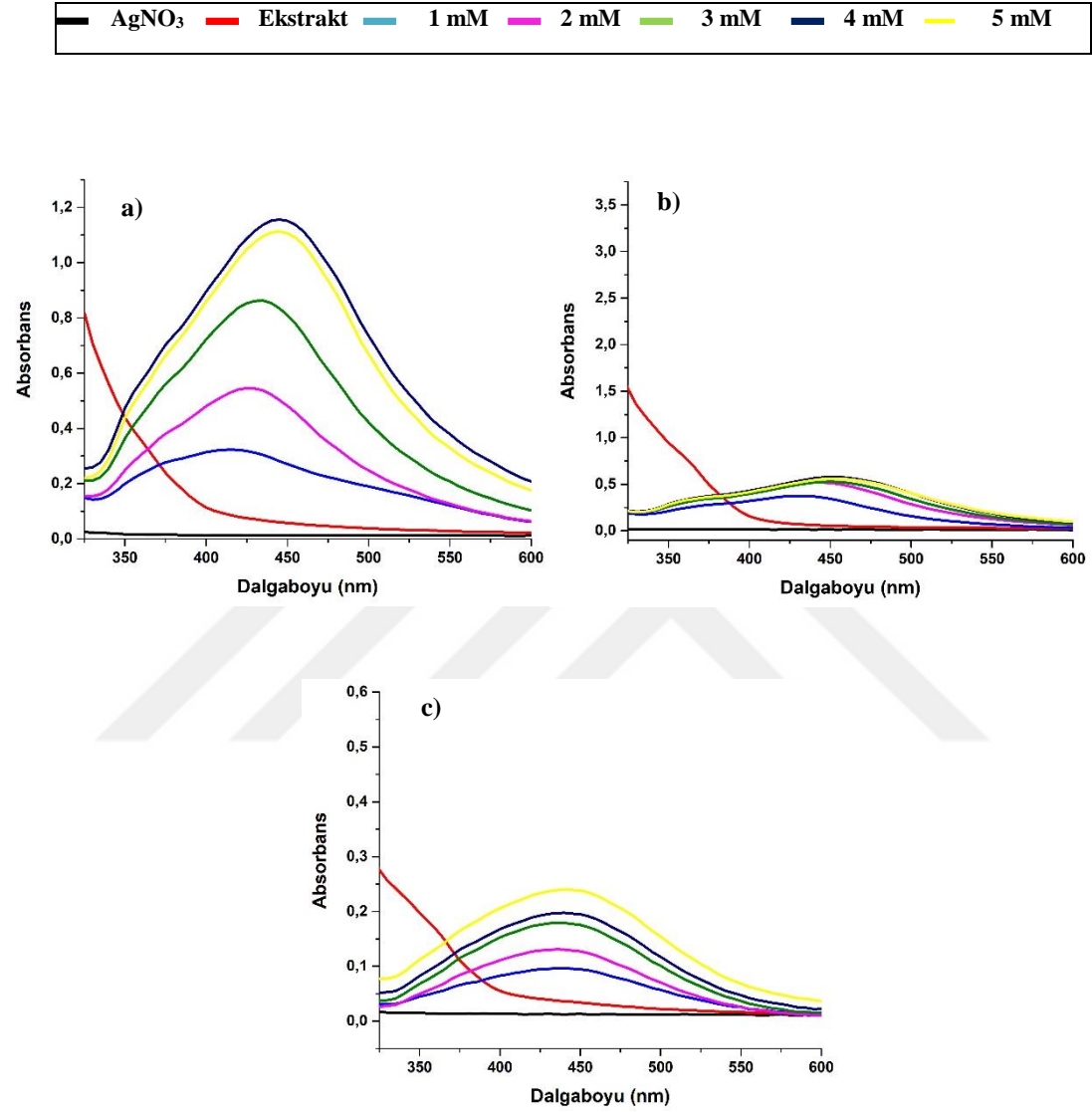
Raporların çoğu, reaksiyon sıcaklığının artmasıyla SPR bandının NP'lerin boyutunun azaldığını gösteren daha küçük dalgaboyuna kaydığını kaydetmiştir.

Fayaz ve ark., (2009) ve Khalil ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada benzer sonuçları bulmuşlar ve reaksiyon sıcaklığının artmasının, Ag<sup>+</sup> iyonlarının hızlı bir şekilde indirgenmesine ve ardından Ag'nin homojen çekirdeklenmesiyle küçük boyutta Ag-NP'lerin oluşumuna sebep olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak, genel olarak yüksek sıcaklığın çekirdeklenmeye elverişli olduğu, düşük sıcaklığın ise yaş kimyasal NP sentezi alanında büyümeye elverişli olduğu kabul edilmiştir. Bunun aksine Moosa ve ark (2015), Kumar ve ark (2012) bitki ekstraktını kullanarak Ag-NP sentezlediği çalışmada sıcaklığın boyut üzerine etkisini incelemiş ve sıcaklık artışına bağlı olarak boyutun arttığını bulmuşlardır. Bunun ise 80 °C sıcaklıkta çekirdeklenmenin artması ve çekirdeklenmiş ürünün hali hazırda oluşmuş Ag-NP ile çarpışarak aglomerasyona sebep olmasından kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir.

Çalışmada hem kurutulmuş hem de taze örnekler kullanarak yapılan sentezlerde genel olarak sıcaklık artışının SPR pikinin mavi-bölgeye kaymasına sebep olduğu görülmüştür. Bununla birlikte yüksek sıcaklığın NP'lerin indirgenmesinden sorumlu olan olan biyoorganik yapılar üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı sentez oluşan Ag-NP'lerin miktarı, en iyi verim, kabul edilebilir partikül boyutunu baz alınarak 37 °C 'de yapılmıştır.

## AgNO<sub>3</sub> konsantrasyonunun Ag-NP oluşumuna etkisi

### Kurutulmuş *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP

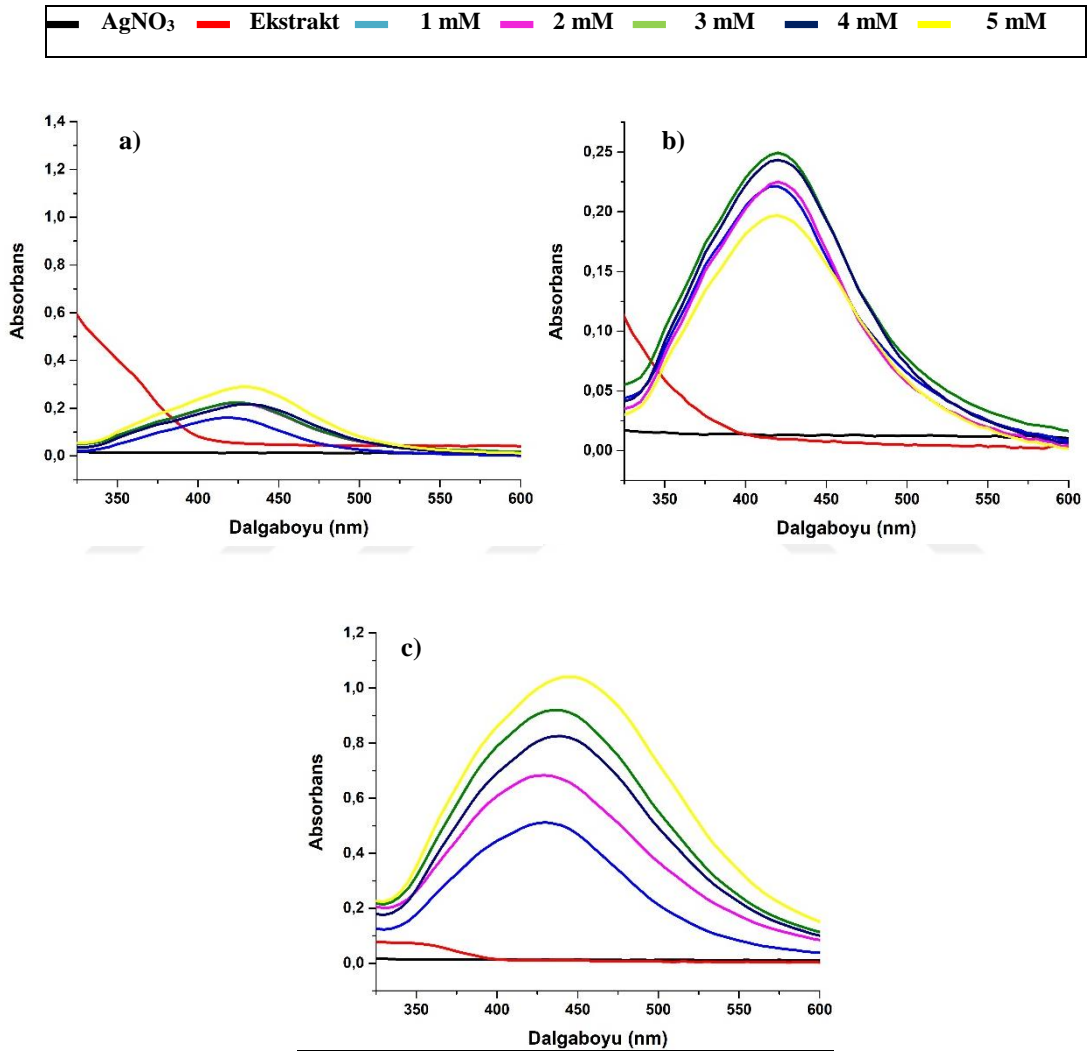


Şekil 4.9. Farklı AgNO<sub>3</sub> konsantrasyonlarında kurutulmuş a) *P.kesrouanensis* gövde b) *P.kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1/9 oranında, reaksiyon süresi 24 saat)

24 saat reaksiyon süresi sonunda *P.kesrouanensis* gövde ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin konsantrasyon artışına bağlı olarak 1 mM'da  $\lambda_{max}$  değeri 415 nm, 2 mM'da 425 nm, 3 mM'da 435 nm ve diğer konsantrasyonlarda 445 nm olarak bulunmuştur. 3 mM'dan sonra konsantrasyon artışına bağlı pik konumunda değişiklik olmamıştır (Şekil 4.9a). Yaprak ekstratında ise  $\lambda_{max}$  1 mM'da 430 nm iken 2 mM'da  $\lambda_{max}$  değeri 440 nm,

3 ve 4 mM'da 450 nm, 5 mM'da 455 nm ve diğer konsantrasyonlarda 445 nm'ye kaymıştır (Şekil 4.9b). *R. ribes* bitkisinde 1 mM, 2 mM ve 3 mM'da  $\lambda_{max}$  değeri 435 nm iken diğer konsantrasyonlarda 440 nm olarak ölçülmüştür. (Şekil 4.9c).  $AgNO_3$  konsantrasyonunun artması partikül boyutu arttırmış SPR piki kırmızı bölgeye kaymıştır.

Taze *P. kesrouanensis* ve *R. ribes* ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP



Şekil 4.10. Farklı  $AgNO_3$  konsantrasyonlarında taze a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1/9 oranında, reaksiyon süresi 24 saat)

*P. kesrouanensis* gövde ekstraktı kullanarak yapılan sentezde 1 mM'da  $AgNO_3$  kullanıldığında  $\lambda_{max}$  değeri 420 nm, diğer konsantrasyonlarda 425 nm olarak bulunmuştur (Şekil 4.10a). *P. kesrouanensis* yaprak ekstraktıyla yapılan sentezde ise 1 mM'da'da  $\lambda_{max}$



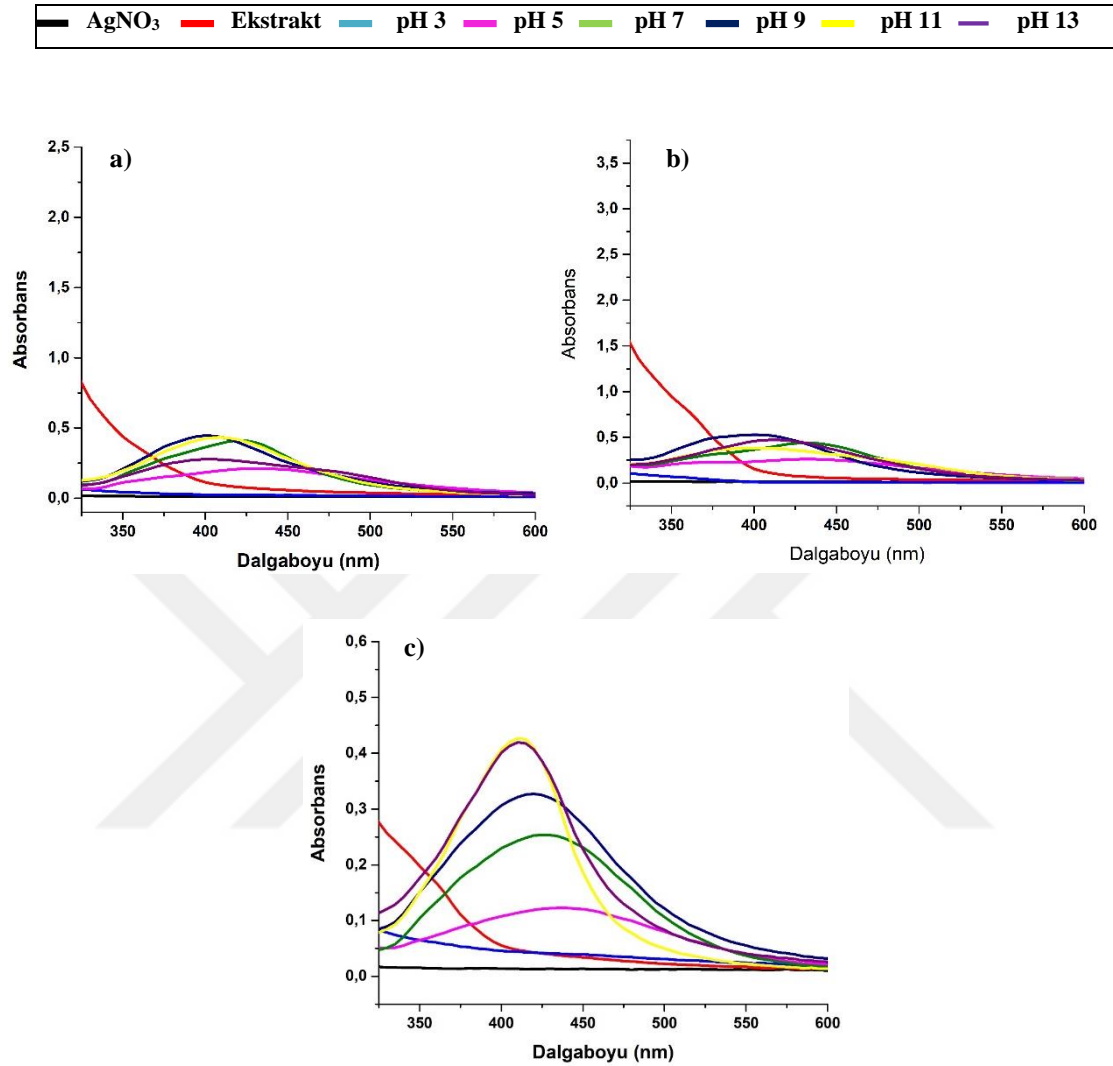
420 nm , 2 mM ve 3 mM'da  $\lambda_{\max}$  425 nm, 4 mM ve 5 mM'da ise 430 nm olarak kaydedilmiştir. 5 mM'da partikül boyutunun artışına bağlı absorban değerinde azalma olmuştur (Şekil 4.10b). *R. ribes* bitkisinde 1 mM, 2 mM ve 3 mM'da  $\lambda_{\max}$  değeri 440 nm iken diğer konsantrasyonlarda 455 nm olarak ölçülmüştür (Şekil 4.10c).

AgNO<sub>3</sub> konsantrasyon artışıyla oluşan aglomerasyonun partikül boyutunun artmasına ve SPR bandının kırmızı bölgeye kaymasıyla bandın genişlemesine sebep olmuştur. Huang ve ark., (2011), *Cacumenplatyclad*'ın yaprak ekstraktını kullanarak Ag-NP'leri farklı AgNO<sub>3</sub> konsantrasyonlarında sentezlemiş ve konsantrasyonun artmasıyla  $\lambda_{\max}$  değerinin kırmızı bölgeye kaydığını ve SPR piklerinin boyut artışına bağlı olarak genişlediğini belirtmiştir. Benzer şekilde López-Miranda ve ark. (2016), AgNO<sub>3</sub> konsantrasyonundaki artışın, birçok gümüş iyonunun indirgenmesiyle Ag-NP oluşumunu ve boyutun konsantrasyonla birlikte arttığını bildirmiştir. Sobczak-Kupiec ve ark., (2011) oluşan Ag-NP'lerin şekil ve boyutunun AgNO<sub>3</sub> konsantrasyonuna bağlı olduğunu bildirmiştir.

#### pH'in Ag-NP oluşumuna etkisi

pH, Ag-NP'lerin sentezinde, özellikle NP'lerin boyutu ve morfolojisi üzerinde önemli bir rol oynar. Çünkü pH, stabilite ve kaplamada etkili olan olan biyomoleküllerin yükünü değiştirme yeteneğine sahiptir. Reaksiyon ortamının pH'ı, bitki ekstraktının gümüş iyonlarıyla reaktivitesini indükleyerek NP sentezinde rol oynar. Alkali pH aralığı partiküller arasında artan itici elektrostatik etkileşimden dolayı agregasyonu engelleyerek koloidal çözeltide stabiliteyi arttırmaktadır (Anigol ve ark., 2017).

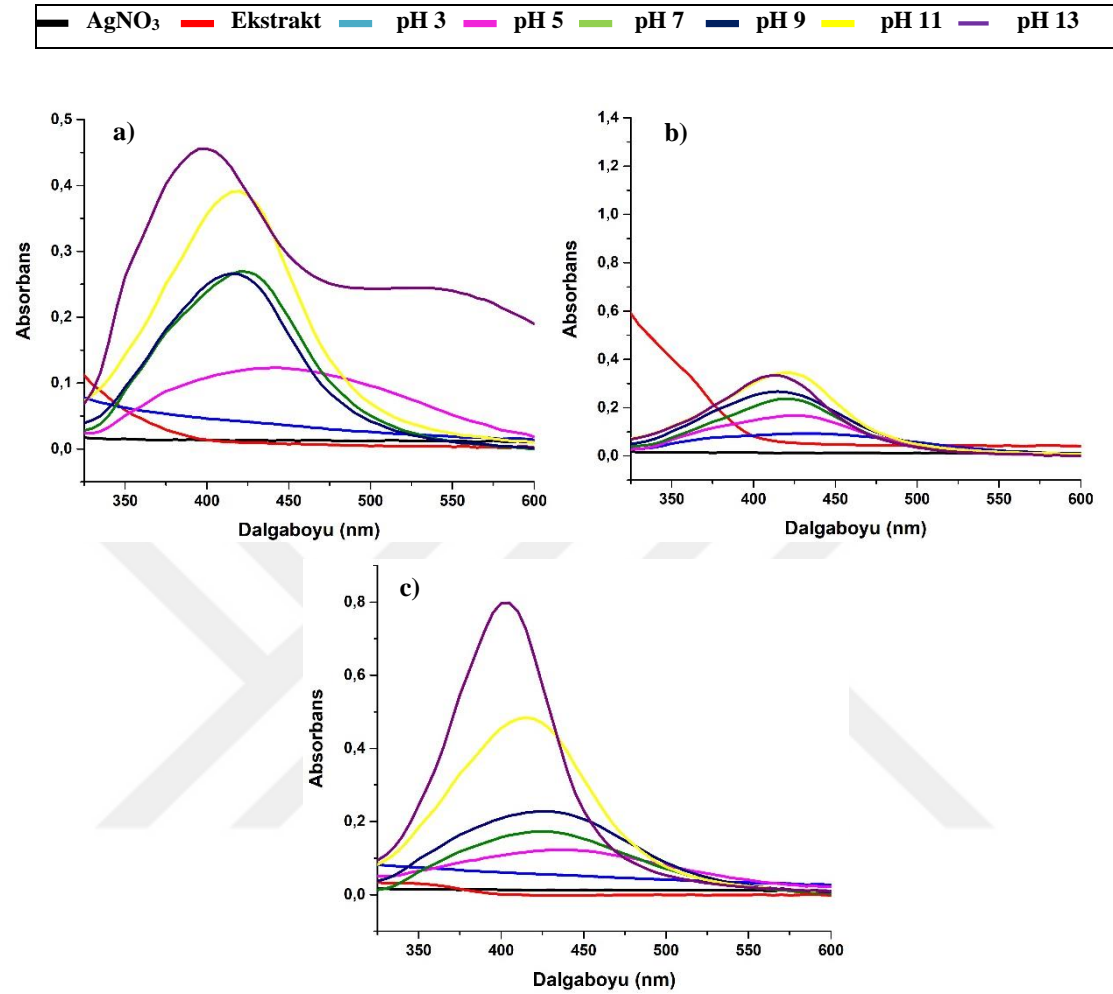
*Kurutulmuş P. kesrouanensis ve R. ribes bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP*



Şekil 4.11. Farklı pH’da kurutulmuş a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP’lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1/9 oranında, 1 mM AgNO<sub>3</sub>, reaksiyon süresi 24 saat)

Kurutulmuş *P. kesrouanensis* gövde (Şekil 4.11a), yaprak (Şekil 4.11b) ve *R. ribes* gövde (Şekil 4.11c) ekstraktı kullanarak yapılan sentezde yüksek asidik pH’da AgNP oluşumu görülmemiştir. Bunun aksine yüksek alkali ortamda (pH 9,11 ve 13) boyutun azalmasına bağlı daha küçük dalgaboyunda ve dar SPR bandları elde edilmiştir. (Şekil 4.11).

Taze *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP



Şekil 4.12. Farklı pH’da taze a) *P.kesrouanensis* gövde b) *P.kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP’lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1/9 oranında, 1 mM AgNO<sub>3</sub>, reaksiyon süresi 24 saat)

Benzer şekilde taze *P.kesrouanensis* gövde (Şekil 4.12a), yaprak (Şekil 4.12b) ve *R. ribes* gövde (Şekil 4.12c) ekstraktı kullanarak yapılan sentezde yüksek asidik pH’da (pH 3) AgNP oluşumu görülmemiştir. *P.kesrouanensis* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP’lerde pH 13 de, yaprak ekstraktında pH 9 ‘te *R. ribes* gövde ekstraktında ise pH 13’te daha küçük dalgaboyunda SPR bantları elde edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Vanaja ve ark., (2014) *Solanum trilobatum* bitki ekstraktı kullanarak yaptığı çalışmada pH’ı 5.8, 6.8, 7.8 ve 8.8. olarak ayarlamış ve pH 8.8’ de 480 nm geniş absorbans piki elde ederken, pH 7.8’de 440 nm dar absorbans piki elde etmiştir. Iravani and Zolfaghari (2013) *Pinus eldarica* kabuk ekstraktı

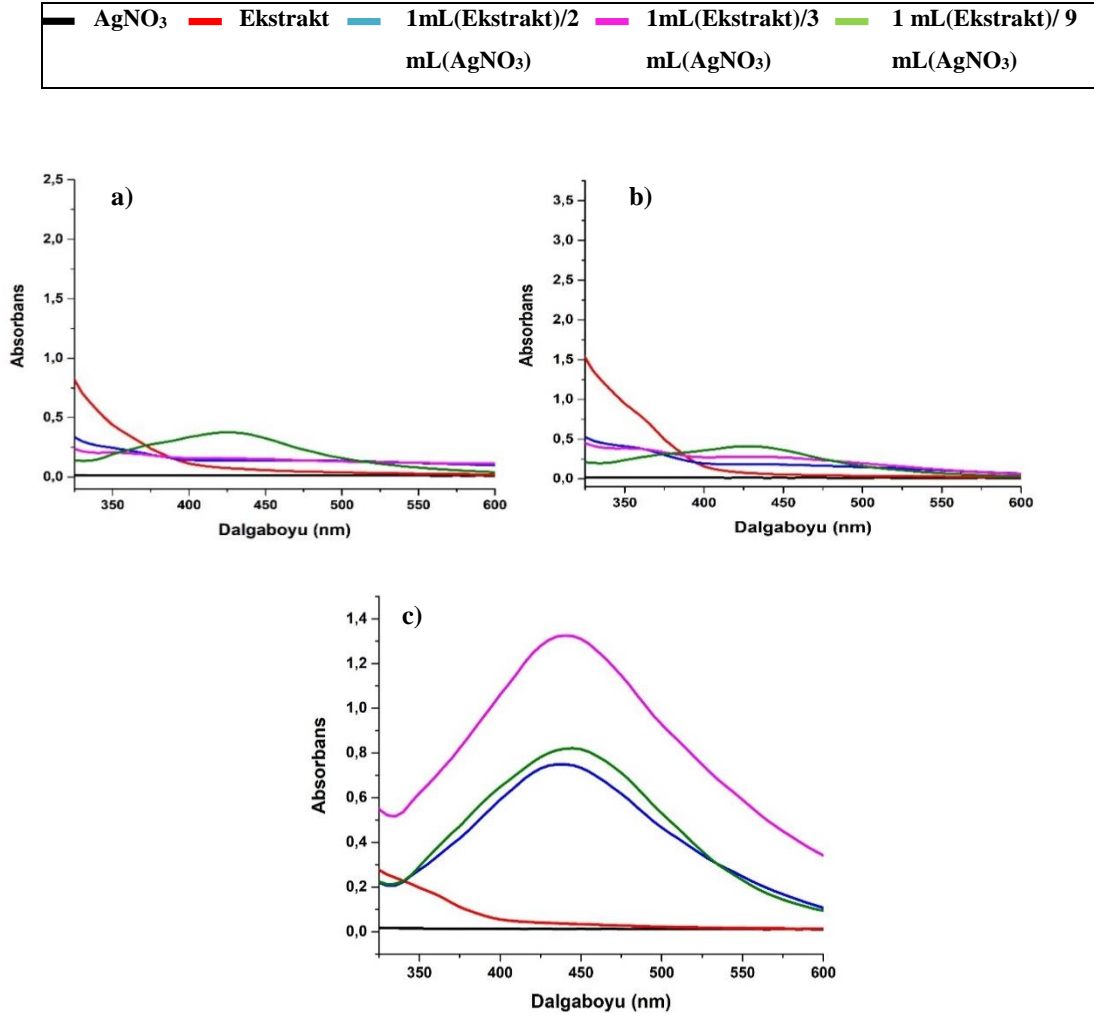
kullanarak pH 3-11 arasında Ag-NP sentezlemiş düşük pH'de büyük ve yüksek pH'da küçük boyutta Ag-NP'ler elde etmiştir. *Garcinia mangostana* yaprakları ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerde de benzer sonuçlar görülmüştür. Krishnaraj ve ark., (2012) *Acalypha indica* taze yaprak ekstraktının 2-13 pH aralığında Ag-NP oluşumuna etkisini incelemiştir. Asidik pH'da Ag-NP'ler elde edilemezken, alkalik pH'da hızlı bir renk oluşumu gözlenmiştir, baziklik arttıkça absorpsiyon piki 500 nm kaymış ve pH 13'te aglomerasyon meydana gelmiştir. GardeaTorresdey ve ark., (2003), bitkiler kullanılarak sentezlenen NP'lerin şeklinin ve boyutunun, pH değiştirilerek kontrol edilebildiğini bildirmiştir. Asidik pH, NP agregasyonu ile birlikte Ag-NP'lerin oluşumunu baskılayarak, alkalik pH, çekirdeklenme ve yüksek oranda küçük Ag-NP'lerin oluşumunu kolaylaştırmıştır.

Ag<sup>+</sup> zayıf bir Bronsted asididir. pH 8'in üzerinde, çözelti içindeki Ag<sup>+</sup>, partiküllerin yüzeyinde bioorganik-Ag(OH)<sub>x</sub> kompleksi ve ortamda AgOH/Ag<sub>2</sub>O kolloidi oluşturmak üzere çözeltide kısmen hidrolize olmaktadır. Hidroliz derecesi ve kolloid oluşumu, çözeltinin pH'ının artmasıyla artar (Corciova ve Ivanescu, 2018; Elemike ve ark., 2017). Bundan dolayı çalışmada her bitki için kendi pH'sında çalışılmış herhangi bir değişiklik yapılmamıştır.

#### Farklı Bitki/AgNO<sub>3</sub> oranlarının Ag-NP oluşumuna etkisi

Uniform partikül oluşturmak için partikül büyüklüğü ve şeklinin kontrolü önemlidir. NP morfolojisini etkileyebilecek parametrelerden biri bitki ekstraksiyonu konsantrasyonudur. Bitki ekstraksiyon miktarının artmasına bağlı çözeltideki indirgeyici ve kaplayıcı ajanların konsantrasyonu artar ve buna bağlı daha fazla partikül oluşumu gözlenir.

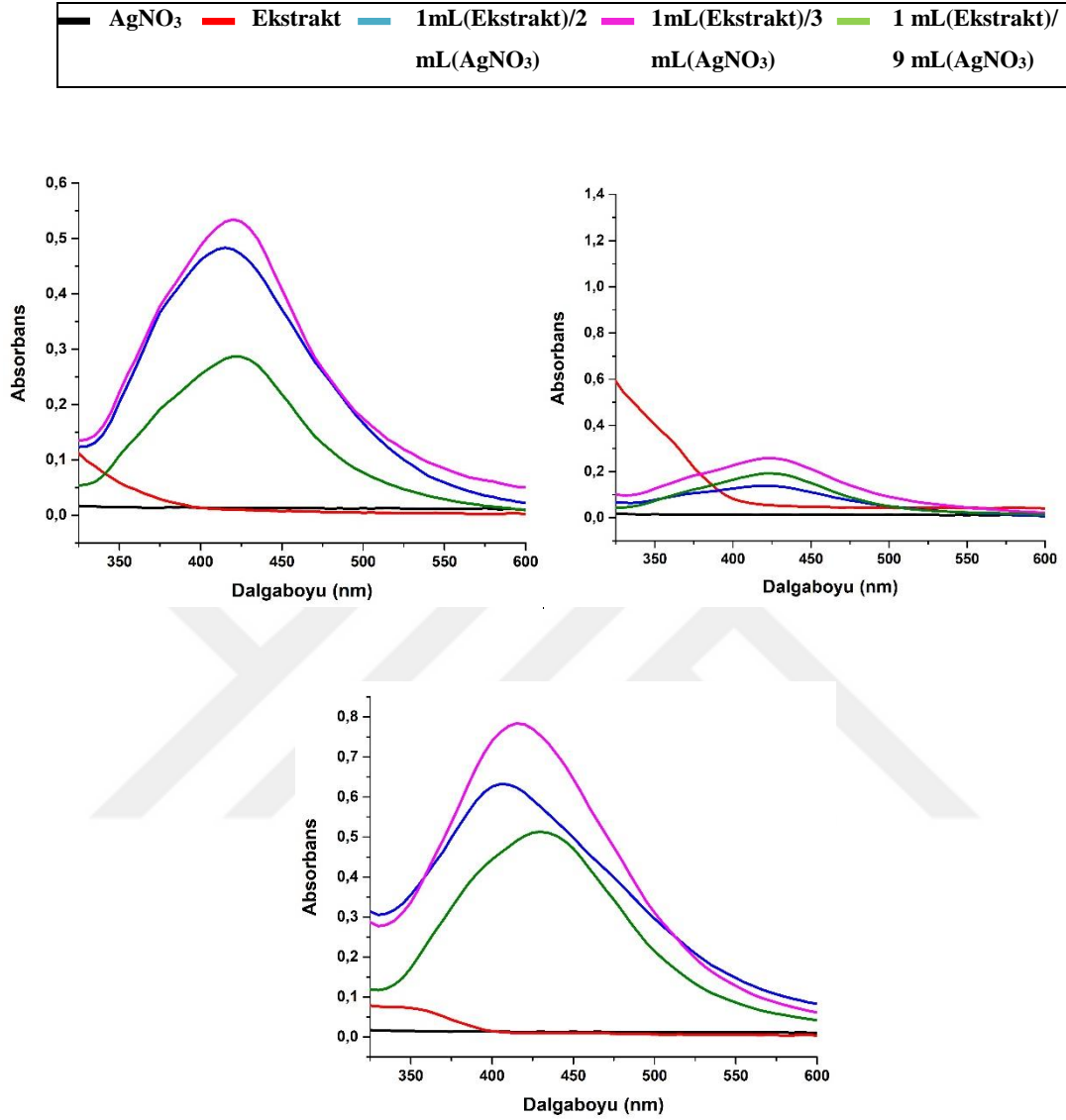
*Kurutulmuş P.kesrouanensis ve R. ribes bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP*



Şekil 4.13. Farklı bitki/AgNO<sub>3</sub> oranlarında kurutulmuş a) *P.kesrouanensis* gövde b) *P.kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi (Sentez koşulları; 37 °C, 1 mM AgNO<sub>3</sub>, reaksiyon süresi 24 saat)

24 saat reaksiyon süresi sonunda *P.kesrouanensis* gövde (Şekil 4.13a) ve yaprak (Şekil 4.13b) ekstraktı kullanarak 1/2 ve 1/3 oranında yapılan sentezde reaksiyon gerçekleşmediği görülmüştür. 1mL ekstrakt 9 mL AgNO<sub>3</sub> ile olan reaksiyonunda  $\lambda_{max}$  değeri sırasıyla 425 nm ve 430 nm olarak bulunmuştur. *R. ribes* bitkisi ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin dalgaboyu *P.kesrouanensis*'nden farklı olarak 1/3 oranında maksimum absorbans göstermiştir ve  $\lambda_{max}$ 'ı 440 nm olarak ölçülmüştür (Şekil 4.13c).

Taze *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP



Şekil 4.14. Farklı bitki/AgNO<sub>3</sub> oranlarında kurutulmuş a) *P.kesrouanensis* gövde b) *P.kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektrofotometresi ((Sentez koşulları; 37 °C, 1 mM AgNO<sub>3</sub>, reaksiyon süresi 24 saat)

Taze *P.kesrouanensis* gövde ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin 1/2 mL AgNO<sub>3</sub> ile olan reaksiyonunda  $\lambda_{max}$  değeri 425, 1/3 oranında 425nm, 1/9 oranında 420 nm iken yaprak ekstratından biyosentezde  $\lambda_{max}$  sırasıyla 420 nm, 425 nm ve 420 nm olarak bulunmuştur. UV spektrumları bitki ekstrakt konsantrasyonunun artması SPR bandının genişlemesine ve kırmızı bölgeye kaymasına neden olmuştur. *R. ribes* bitkisi ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin  $\lambda_{max}$  1/3 oranında maksimum absorbans

göstermiştir ve  $\lambda_{\max}$ 'ı 425 nm olarak bulunmuştur (Şekil 4.14). Diğer oranlarda SPR bandının kırmızı bölgeye kaydığı görülmüştür. Bitki ekstrakt konsantrasyonunun artması SPR bandının genişlemesine ve partikül boyutunun artmasına sebep olmuştur.

Sarsar ve ark., (2014) 1/9, 2/8, 3/7, 4/6, 5/5 (bitki ekstraktı (mL) /AgNO<sub>3</sub> (mL) ) oranlarının Ag-NP oluşumuna etkisini incelemiş ve 1 ml *P. guajava* bitkisinin yaprak ekstraktı ve 9 ml AgNO<sub>3</sub>'ın 440 nm'de max absorbans verdiğini diğer oranlarda SPR bandında kırmızı bölgeye kayma olduğunu belirtmişlerdir. Kumar ve ark., (2017) 10 ml 0.01 M AgNO<sub>3</sub> çözeltisine farklı hacimlerde (1.0, 2.0, 3.0, 4.0 ve 5.0 ml) *Prunus persica* bitki ekstraktından eklemiş ve ekstrakt miktarındaki artışa bağlı absorbansın arttığını gözlemlemişlerdir. Dwivedi ve Gopali (2010) yaptığı çalışmada 30 dk.'lık reaksiyon süresinde yaprak ekstraksiyon oranının artmasıyla UV-Vis spektrumunda pik absorbansının ve daha küçük boyutlu NP sentezini gösteren pik keskinliğinin arttığını bildirmişlerdir. Shaik ve ark.(2018) *Origanum vulgare L* ekstraktından 1.0 mL, 2.5 mL, 5.0 mL ve 7.5 mL olarak toplam hacim 50 ml olacak şekilde AgNO<sub>3</sub> ile reaksiyona tabi tutmuştur. Düşük bitki ekstraksiyonu konsantrasyonundan (1 mL) hazırlanan Ag-NP'ler, ~ 425 nm'de bir absorpsiyon bandı sergilerken; bu, bitki ekstraktının konsantrasyonunu 2.5 (~ 420 nm) ve 5 mL'ye (~ 417 nm) kadar arttırdıktan sonra yavaş yavaş mavi bölgeye doğru kayma olmuştur. Bununla birlikte, bitki ekstraktının konsantrasyonu 7.5 mL'ye yükseltildiğinde, soğurma bandı daha geniş hale gelmiş ve pik ~ 439 nm'de kırmızı bölgeye doğru kaymıştır. Bunun, reaksiyon ortamlarında Ag iyonlarının hızlı bir şekilde indirgenmesine neden olan çok sayıda indirgeyici maddenin (elektron bakımından zengin fitomoleküller) varlığından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Ag iyonlarının hızlı bir şekilde indirgenmesi, NP'lerin büyüklüğünde bir artışa yol açan Ostwald olgunlaşması adı verilen bir olgu ile NP'lerin büyümesini kolaylaştırır. Bu sonuçta, SPR bandının daha yüksek bir dalga boyuna doğru kaymasına katkıda bulunmuştur. Kolloidlerde yüksek miktarda bitki özü bulunması, NP'lerin kararsızlığına neden olur. Sentezden sonra polifenol bileşikleri ve oksitlenmiş formları polimerleşebilir ve şişenin dibinde çöken yüksek molekül ağırlıklı bileşikler oluşturabilir (Ranoszek-Soliwoda ve ark., 2019).

Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde sentez yapılmıştır.

Çizelge 4.1. Bitki ekstraktlarından Ag-NP sentez çalışmalarında kullanılan reaksiyon koşulları

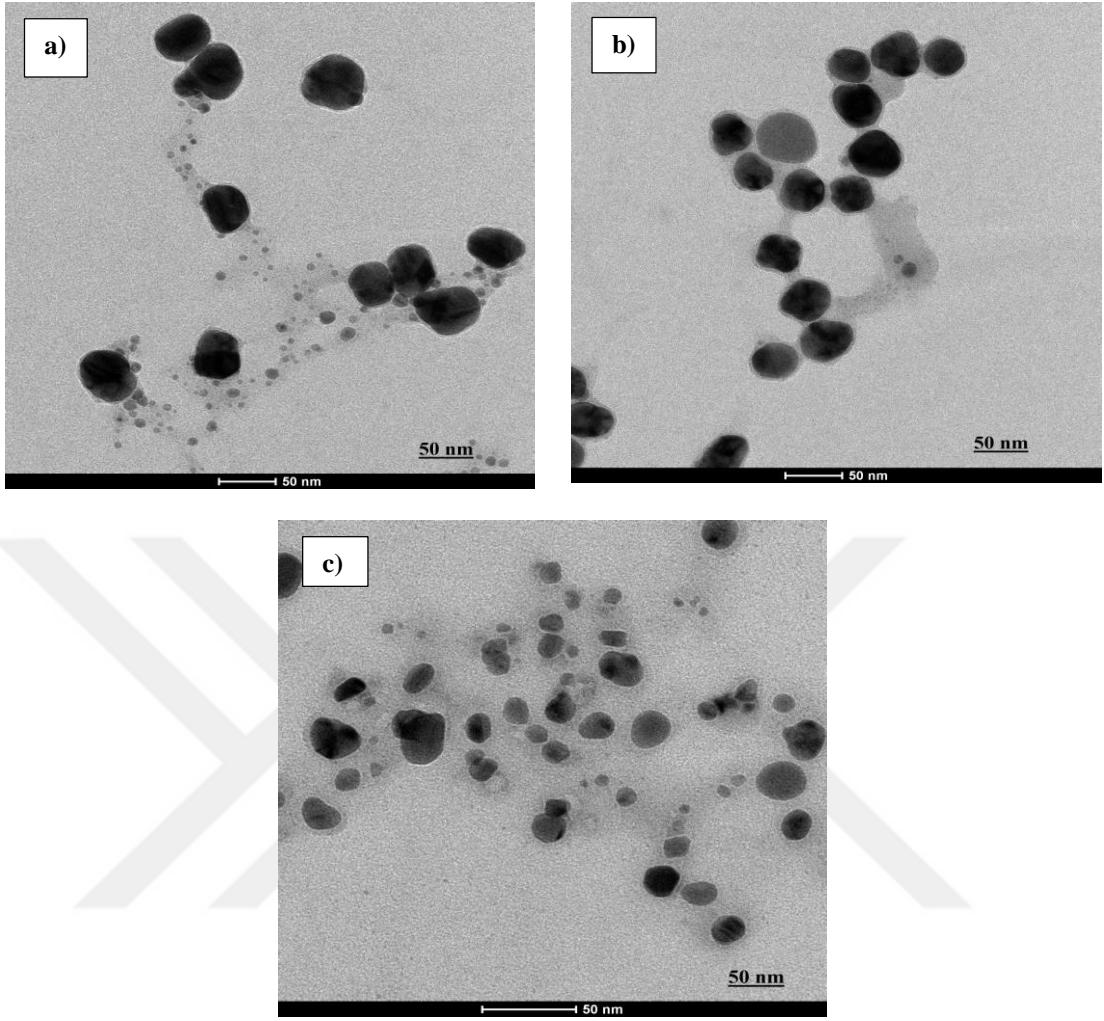
	<i>P.kesrouanensis</i> gövde	<i>P.kesrouanensis</i> yaprak	<i>R. ribes</i> gövde
Kurutulmuş	24s, 37 °C, 10 mL ekstrakt + 90 mL 1 mM AgNO <sub>3</sub> , pH =6.20	24s, 37 °C, 10 mL ekstrakt + 90 mL 1 mM AgNO <sub>3</sub> , pH =6.07	24s, 37 °C, 25 mL ekstrakt + 75 mL 1 mM AgNO <sub>3</sub> , pH =3.30
Taze	24s, 37 °C, 10 mL ekstrakt + 90 mL 1 mM AgNO <sub>3</sub> , pH =6.10	24s, 37 °C, 10 mL ekstrakt + 90 mL 1 mM AgNO <sub>3</sub> , pH =5.98	24s, 37 °C, 10 mL ekstrakt + 90 mL 1 mM AgNO <sub>3</sub> , pH =3.15

#### 4.1.2. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analiz sonuçları

##### Kurutulmuş *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP

Boyut dağılımlarını bakımından incelendiğinde *P.kesrouanensis* gövde ve yaprak ekstraktından elde edilen Ag-NP'leri küresel şekilde ve boyutları sırasıyla 40-60 ve 20-40 nm aralığında homojen bir dağılım gösterdiği görülmüştür. (Şekil 4.15 a-b). *R. ribes* bitkisi ekstraktından elde edilen partiküllerin boyutu 5-40 nm aralığında bulunmuştur. Bu ekstraktı kullanılarak sentezlenen NP'ler oldukça polidispers dağılım göstermiştir (Şekil 4.15c ).

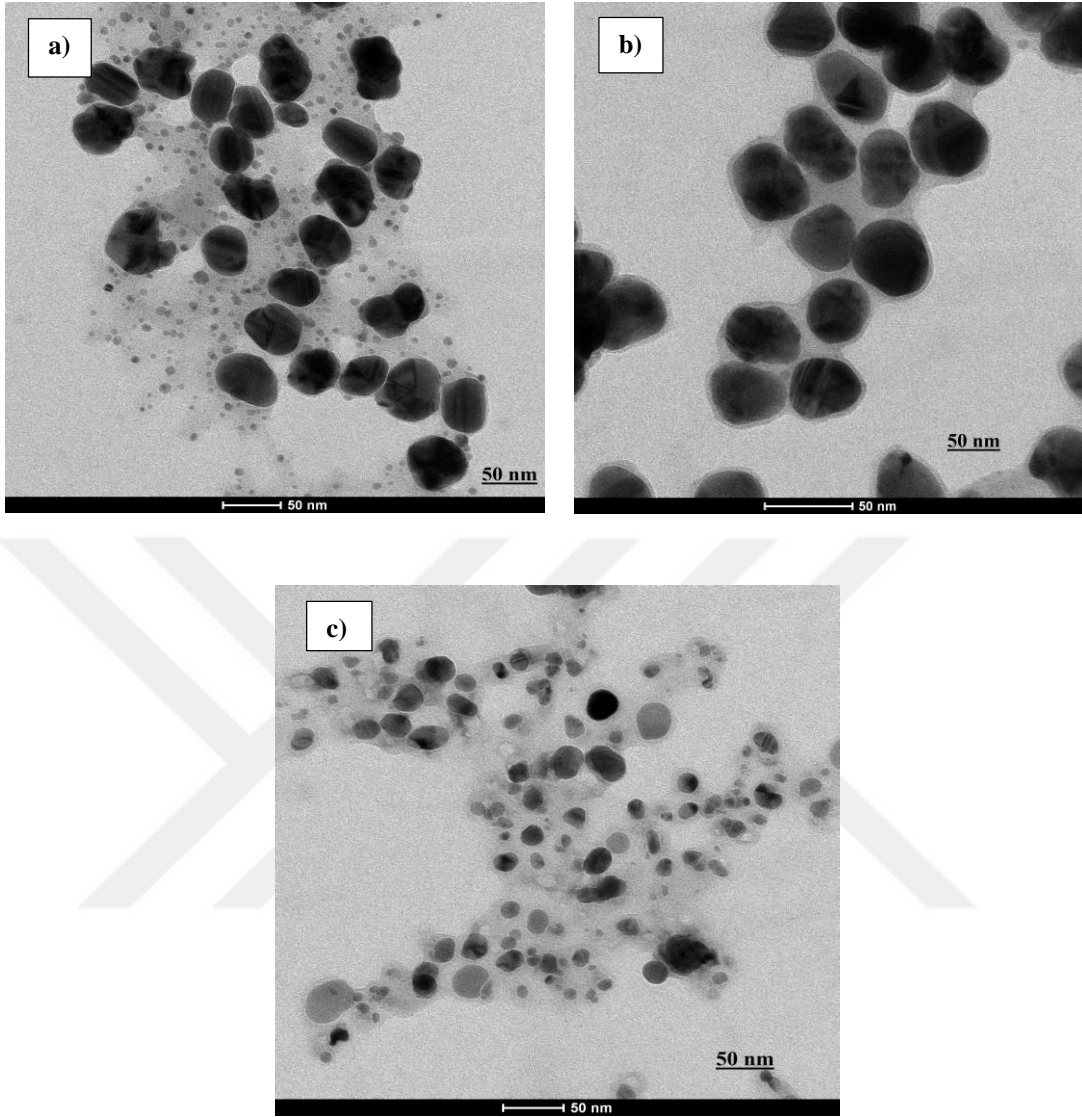




Şekil 4.15. Kurutulmuş a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin TEM görüntüsü

Taze *P. kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP

*P. kesrouanensis* gövde, yaprak ve *R. ribes* bitkisi ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin küresel şekilde ve boyutlarının sırasıyla 20-50 nm, 30-40 nm ve 10-60 nm aralığında olduğu görülmüştür. Özellikle *R. Ribes* NP'ler polidispers dağılım göstermiştir (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Taze a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin TEM görüntüsü

Boyut dağılımındaki bu varyasyonlar biyolojik olarak sentezlenmiş NP'lerde yaygındır. Özellikle kenarların merkezden daha açık olması, Ag-NP'leri kaplayan biyomolekül proteinlerinden kaynaklanmaktadır (Zargar ve ark., 2014). TEM analizi ile partikül ortalama boyutları ve kümeleşme yapıp yapmadıkları tespit edilmiştir. Ag-NP'lerin TEM görüntülerine göre nano boyutta (<100 nm) partiküller her iki bitki türünden elde edilmiştir. TEM çalışması, NP'lerin morfolojisinin temel olarak küresel olduğunu doğrulamıştır. Görüntülerde daha açık görünen küresel partiküller tek bir Ag-NP oluşumundan kaynaklanmaktadır. Tek bir partikülde birden çok Ag-NP kristalitlerinin bulunması cihazdan gelen ışının partikülden geçmesini engellemekte ve buna bağlı olarak partikülün daha koyu görünmesine sebep olmaktadır. Boyut olarak incelendiğinde ise

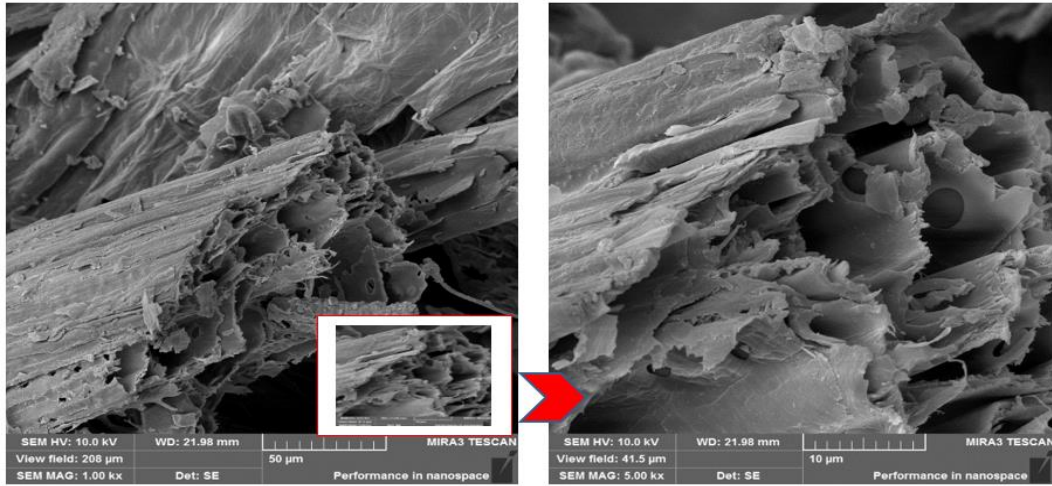
genellikle tüm partiküllerin 100 nm'den küçük olduğu ve *P.kesrouanensis* bitkisinden elde edilen NP'lerin oldukça iyi dağıldığı ve kümeleşme yapmadıkları görülmüştür.

Bindhani ve Panigrahi (2015) *Ocimum Sanctum L (Tulsi)* ekstraktında sentezlediği Ag-NP'lerin küresel, 15-45 nm aralığında ve yaklaşık %75'inin 5 nm ila 30 nm arasında olduğunu bildirmiştir. Christensen ve ark. (2011) köri yaprağı ekstraktıyla yaptığı çalışmada TEM görüntülerine göre, sentezlenmiş Ag-NP'lerin polidispers ve yaklaşık olarak 10-25 nm aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Rasheed ve ark., (2017) elde ettikleri NP'lerin yuvarlak ve ortalama 25 nm aralığında olduğunu ve agregasyon olmasına rağmen bazı partiküllerin şeklinin düzensiz olduğunu bildirmişlerdir.

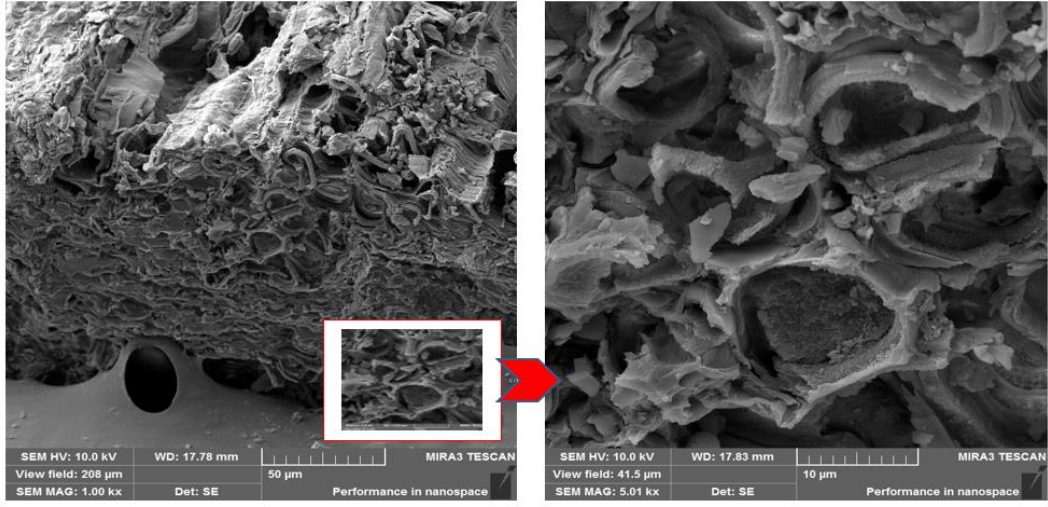
#### 4.1.3.Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analiz sonuçları

Sentez çalışmalarında kuru (gövde, yaprak) ve taze (gövde, yaprak) olarak ayrılan bitkilerin yapısal farklılıkları ve bu farklılıkların Ag-NP oluşumu üzerine etkilerinin değerlendirilmesi için bitkilerin SEM görüntüleri incelenmiştir.

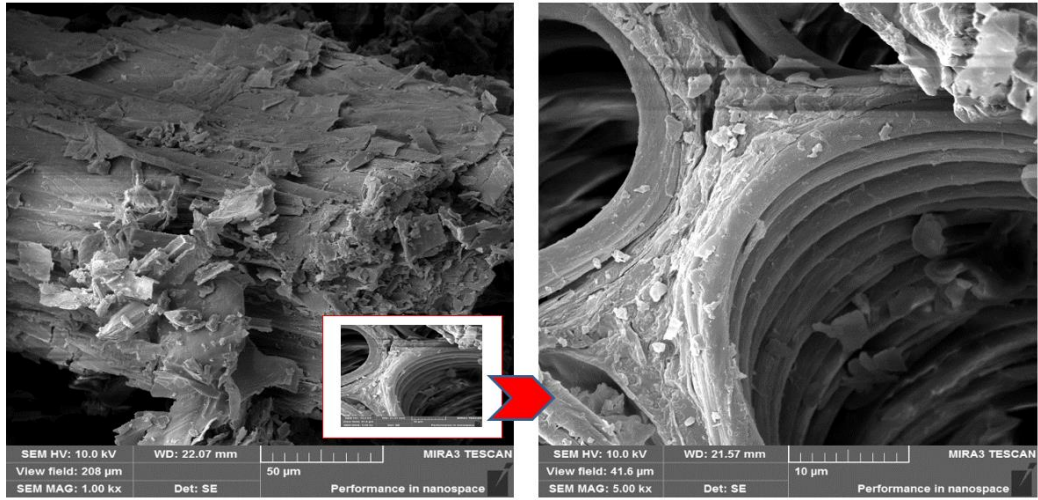
##### Kurutulmuş Bitkiler



Şekil 4.17. Kurutulmuş *P.kesrouanensis* gövde SEM görüntüsü



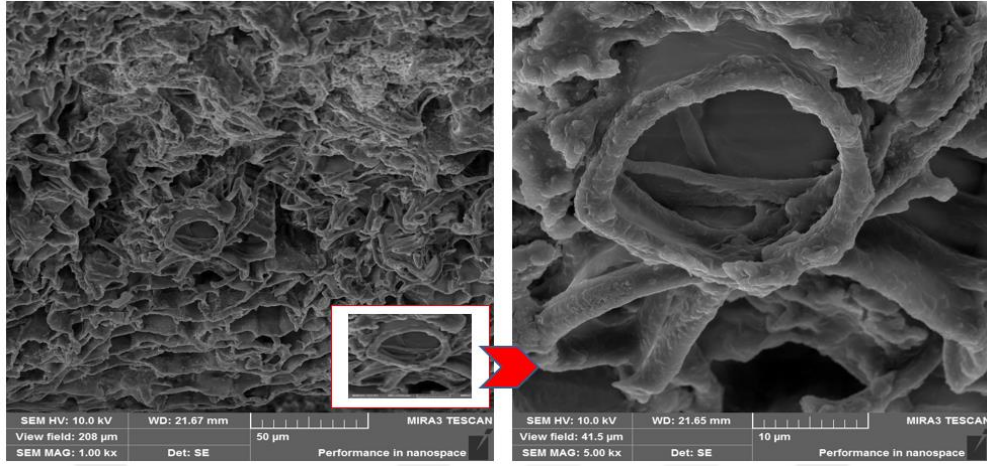
Şekil 4.18. Kurutulmuş *P. kesrouanensis* yaprak SEM görüntüsü



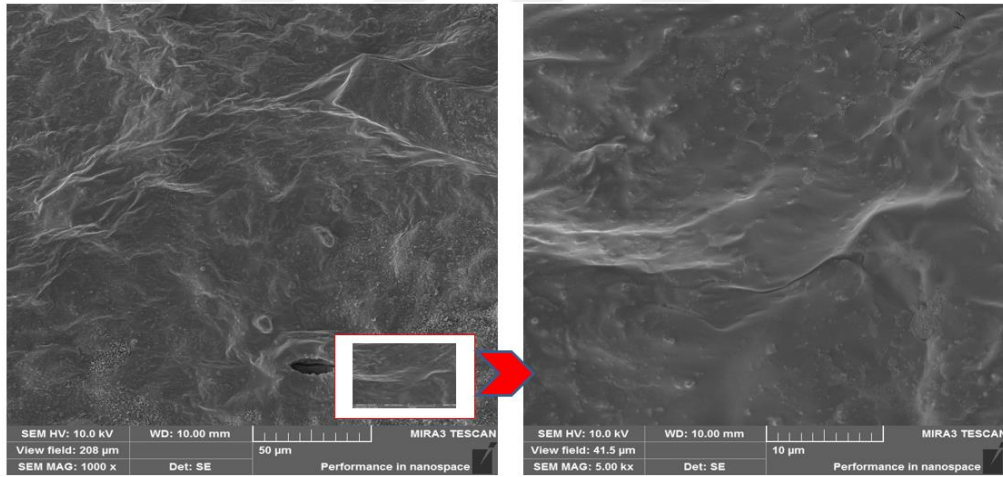
Şekil 4.19. Kurutulmuş *R. ribes* gövde SEM görüntüsü

Bitkilerde bulunan hidrokarbanların kuruma sırasında buharlaşmasıyla yapılarda gözenek oluşumu görülmüştür. Kurutulmuş bitkilerde oluşan gözenekler sayesinde çözücünün hücrelere nüfuz etmesi kolaylaşmakta ve böylelikle fitokimyasalların ekstraksiyon ortamına geçmesi için daha fazla alan ortaya çıkmaktadır.

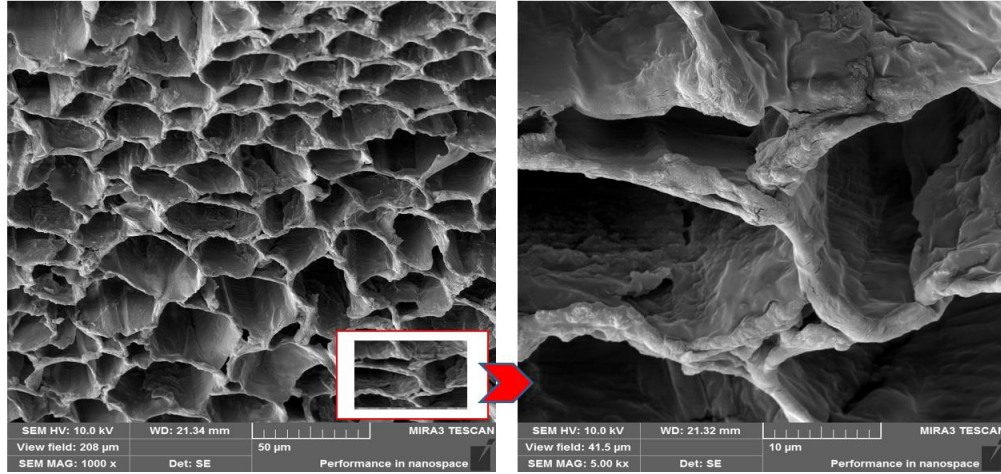
## Taze bitkiler



Şekil 4.20. Taze *P. kesrouanensis* gövde SEM görüntüsü



Şekil 4.21. Taze *P. kesrouanensis* yaprak SEM görüntüsü

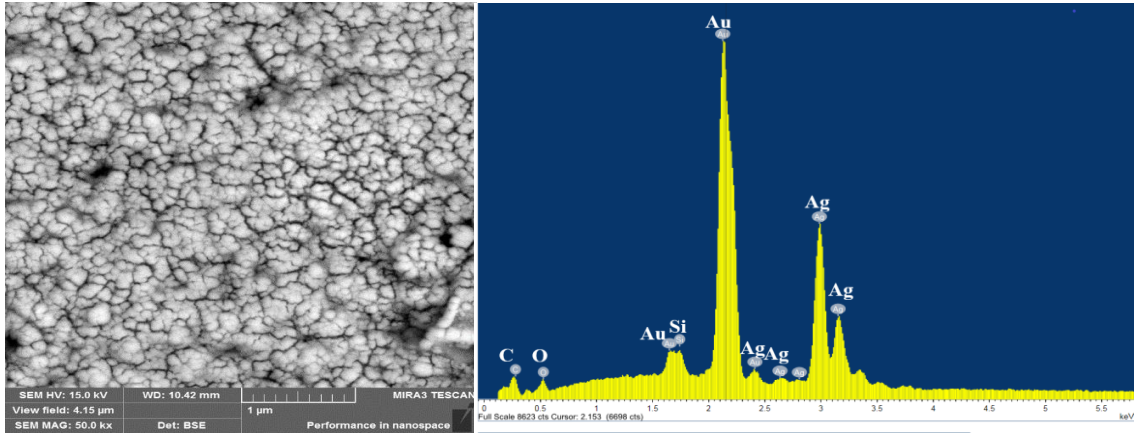


Şekil 4.22. Taze *R. ribes* gövde SEM görüntüsü

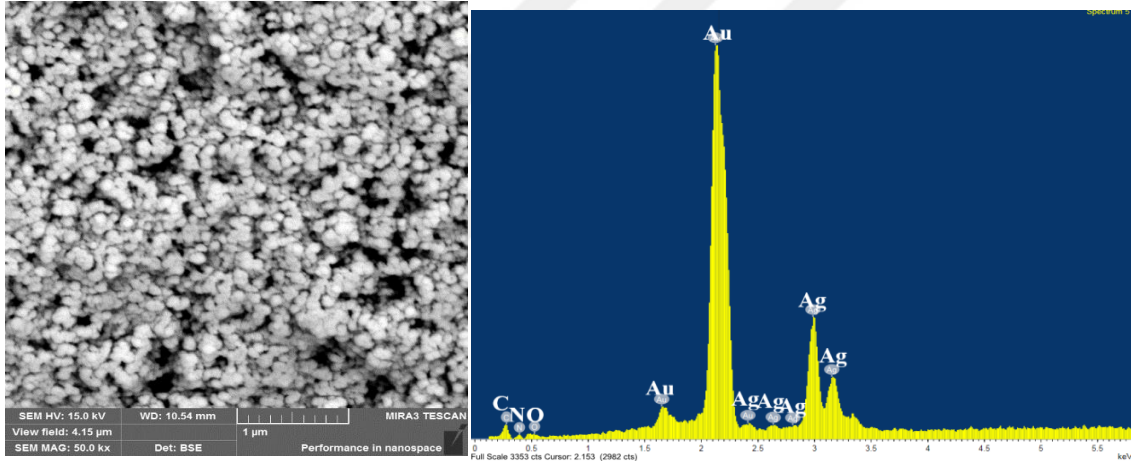
Taze bitki örneklerine ait SEM görüntüleri incelendiğinde bitkilerin yapısında bulunan suyun gözenek oluşumu azalttığı görülmüştür. Yapıda bulunan su miktarının fazla olması ve hidrokarbonlara bağlı olarak gözeneklerin dolu olması redüksiyon yüzeyini azaltmaktadır. Bitkilerin yapısında bulundukları su daha fazla viskozite oluşturur, bu da kurutulmuş örneklerle kıyasla, taze bitki örneklerinden çözücü ortamına geçen fitokimyasalların azalmasıyla partikül üretimi üzerinde negatif etkiye neden olmaktadır.

#### Kurutulmuş *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP

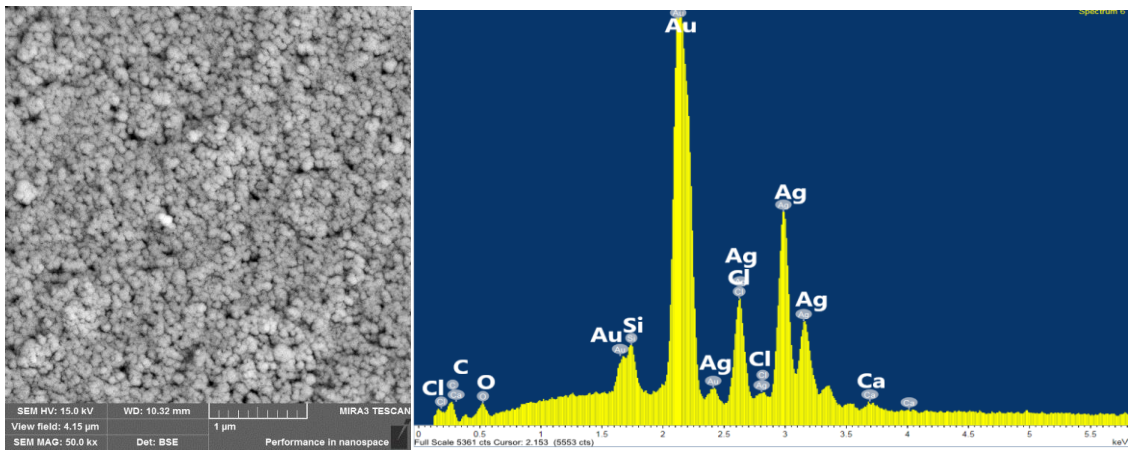
Kurutulmuş *P.kesrouanensis* gövde (Şekil 4.23), yaprak (Şekil 4.24) ve *R. ribes* gövde (Şekil 4.25) ekstraktı kullanarak sentezlenen Ag-NP'lerin morfolojisi ve elementel birleşimi SEM ve EDX analizleriyle belirlendi. Gözlemler, Ag-NP'lerin şekillerinde genel olarak küresel olduğunu ve partiküllerin bir araya gelerek agregatlar oluşturduğunu ortaya koydu. SEM ile partikül boyutlarının değişkenlik gösterdiği görüldü. Ortalama partikül boyutu *P.kesrouanensis* gövde'de  $61.91 \pm 9.19$ , *P.kesrouanensis* yaprak'ta  $72.21 \pm 13.77$ , *R. ribes* gövde'de  $59.12 \pm 11.20$  nm olarak hesaplandı. EDX analizi ile Ag elementinin varlığı doğrulandı. 3 keV civarında Ag atomları için güçlü sinyal enerji piki, metalik ve Ag nanokristallerin sahip olduğu yüzey plazmından kaynaklı tipik bir piktir (Ponarulselvam ve ark., 2012). EDX spektrumunda Ag pikleri dışında *P.kesrouanensis* gövde ve yaprak ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerde bitkilerin yapısında bulunan hidrokarbonlara ait C piki, oksidasyona bağlı O piki ve bunun dışında N ve Si pikleri, *R. ribes* gövde ekstraktında ise C ve O pikinden farklı olarak Cl pikleri görüldü.



Şekil 4.23. Kurutulmuş *P. kesrouanensis* gövde ektraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin sırasıyla SEM görüntüsü ve EDX spektrumu



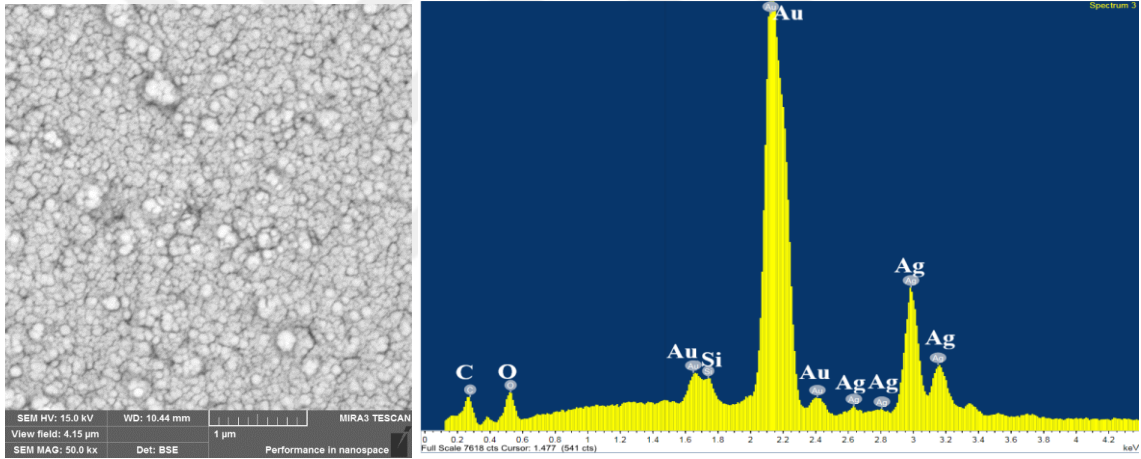
Şekil 4.24. Kurutulmuş *P. kesrouanensis* yaprak ektraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin sırasıyla SEM görüntüsü ve EDX spektrumu



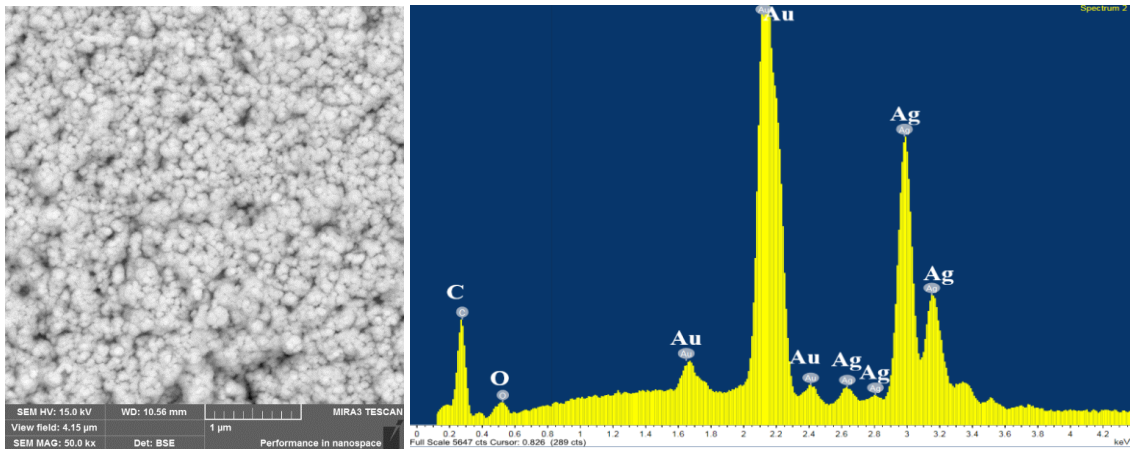
Şekil 4.25. Kurutulmuş *R. ribes* ektraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin sırasıyla SEM görüntüsü ve EDX analizi

### Taze *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP

Taze *P.kesrouanensis* gövde (Şekil 4.26), yaprak (Şekil 4.27) ve *R. ribes* gövde (Şekil 4.20) ekstraktlarından sentezlenen Ag-NP'lerin morfolojisi ve elementel birleşimi SEM ve EDX analizleriyle belirlendi. Taze bitki örneklerinden elde edilen Ag-NP'lerin de farklı boyutlarda ve küresel özellikte olduğu görüldü. Ortalama partikül boyutu *P.kesrouanensis* gövde'de  $61.91 \pm 9.19$ , *P.kesrouanensis* yaprak'ta  $38.22 \pm 10.68$ , *R. ribes* gövde'de  $68.13 \pm 9.43$  nm olarak hesaplandı. EDX spektrumunda Ag pikleri dışında *P.kesrouanensis* gövde ve yaprak ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerde bitkilerin yapısında bulunan hidrokarbonlara ait C piki, oksidasyona bağlı O piki ve bunun dışında N ve Si pikleri, *R. ribes* gövde ekstraktında ise C ve O pikinden farklı olarak Cl pikleri görüldü.

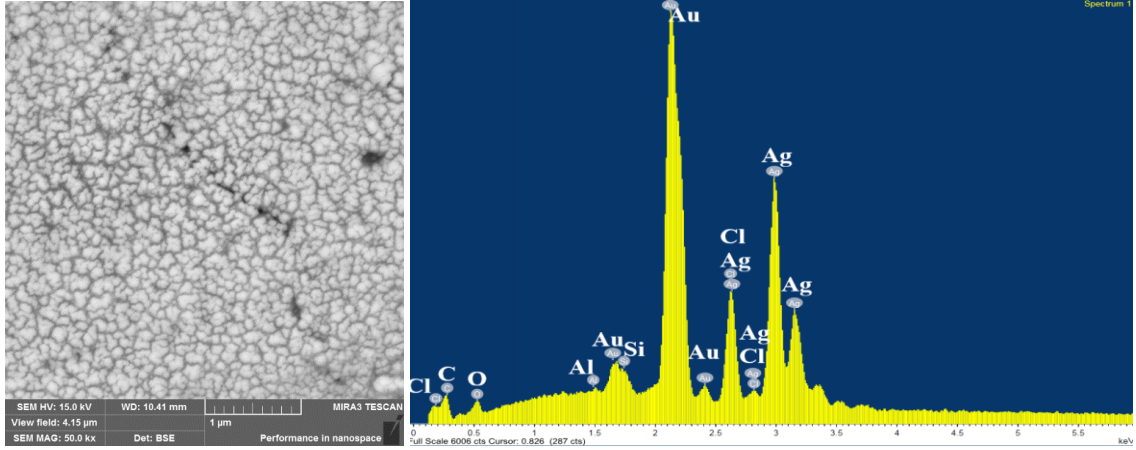


Şekil 4.26. Taze *P.kesrouanensis* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin sırasıyla SEM görüntüsü ve EDX spektrumu



Şekil 4.27 Taze *P.kesrouanensis* yaprak ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin sırasıyla SEM görüntüsü ve EDX spektrumu





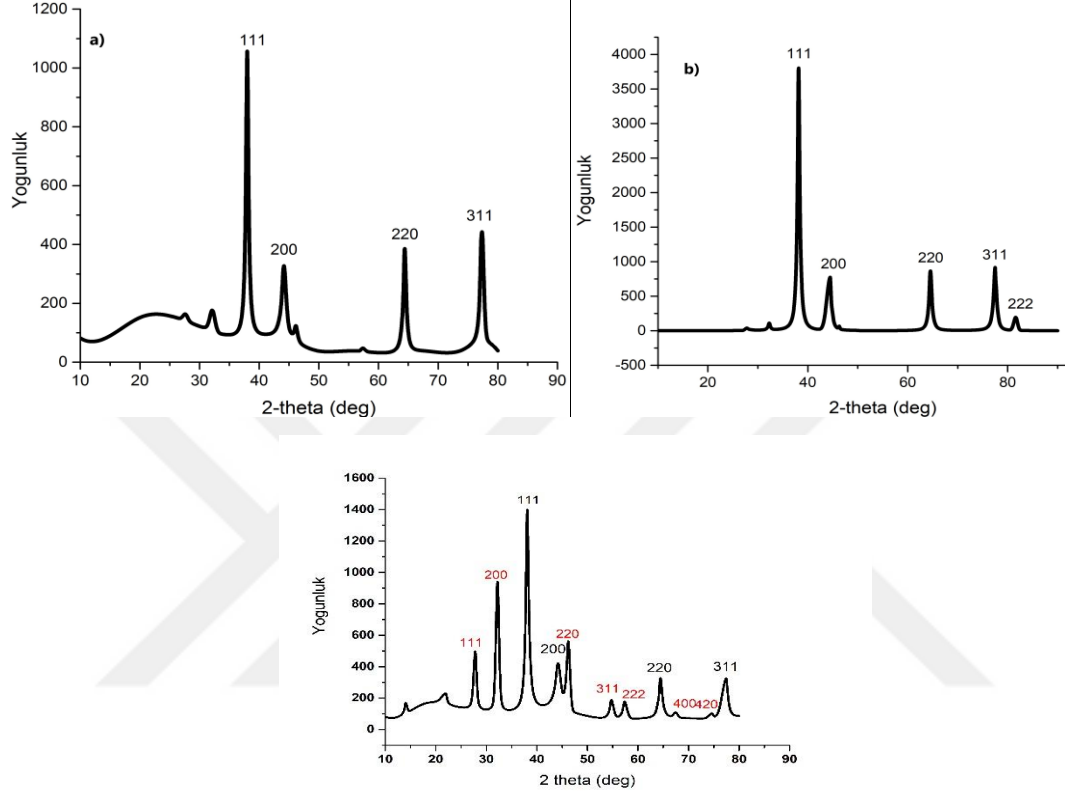
Şekil 4.28. Taze *R. ribes* ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin sırasıyla SEM görüntüsü ve EDX spektrumu

Ag'nin varlığı kesinlikle Ag-NP'lerin oluşumundan kaynaklanırken, C, Cl, Si atomlarının varlığının bitki ekstraktından, O varlığının ise hem bitki ekstraktından hem de Ag-NP oksidasyona uğramasından kaynaklandığı düşünülmektedir. SEM'de NP boyutundaki artış aglomerasyondan ya da hızlı çekirdeklemeye bağlı yeni oluşan çekirdeklerin oluşan NP'lerin yüzeyine bağlanmasından kaynaklanmaktadır.

Khan ve ark., (2013), Paramasivam ve ark., (2017) ve Raj ve ark., (2018) yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçları bulmuşlardır. Ponarulselvam ve ark., (2012) *Catharanthus roseus* bitkisinden sentezledikleri Ag-NP'lerin SEM analiz sonuçlarına göre küresel ve 35-55 nm aralığında olduğunu, Sathishkumar ve ark. (2012)'da *Morinda citrifolia L.* bitkisinden sentezledikleri Ag-NP'lerin küresel ve 10-60 nm aralığında bir boyut dağılımına sahip olduğunu belirtmişlerdir.

#### 4.1.4. X-ışını kırınımı (XRD) analiz sonuçları

Kurutulmuş *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP



Şekil 4.29. Kurutulmuş a) *P.kesrouanensis* gövde b) *P.kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin XRD spektrumu

Sentezlenen Ag-NP'lerle  $2\theta$  10-80° aralığında *P.kesrouanensis* gövde için 37.9°, 44.1°, 64.3°, ve 77.2° (Şekil 4. 29a), *P.kesrouanensis* yaprak için 38.1°, 44.4°, 64.3°, 77,4° ve 81.5° (Şekil 4. 29b), *R. ribes* gövde için 38.0°, 44.1°, 64.3° ve 77,4° (Şekil 4.29c) 'de kırınım pikleri saf Ag'nin YMK yapıda olduğunu belirten (111), (200), (220), (311) ve (222) güçlü Bragg saçılmasına karşılık gelir (JCPDS dosya no 04-0783). *P.kesrouanensis* gövde ve *R. ribes* gövde'ye ait XRD spektrum başlangıcında bulunan geniş pikler Ag-NP yapısında bulunan biyomoleküllerin neden olduğu amorflikten kaynaklanmaktadır.

*R. ribes* gövde ekstraktında 27.8°, 32.1°, 46.1°, 54.6°, 57.2°, 67.° ve 74.6°' da (111), (200), (220), (311), (222), (400) ve (311) Bragg saçılmalarına karşılık gelen pikler ortamda AgCl-NP oluşumunu göstermektedir (Zhao ve ark., 2015). Nanomalzemelerde

materyalin özellikleri birçok faktör dışında kristalit boyuta bağlıdır. Ag-NP'lerin kristalit boyutu aşağıda belirtilen

$$Dp = K\lambda / \beta \cos\theta$$

Scherrer denklemini kullanarak hesaplanmıştır. Formülde;

Dp: Partikül kristalit boyutu (nm)

$\beta$ : yarı maksimumda tam genişliktir (FWHM)

$\theta$ : Bragg saçılma açısı,  $2\theta$ 'nin yarısı

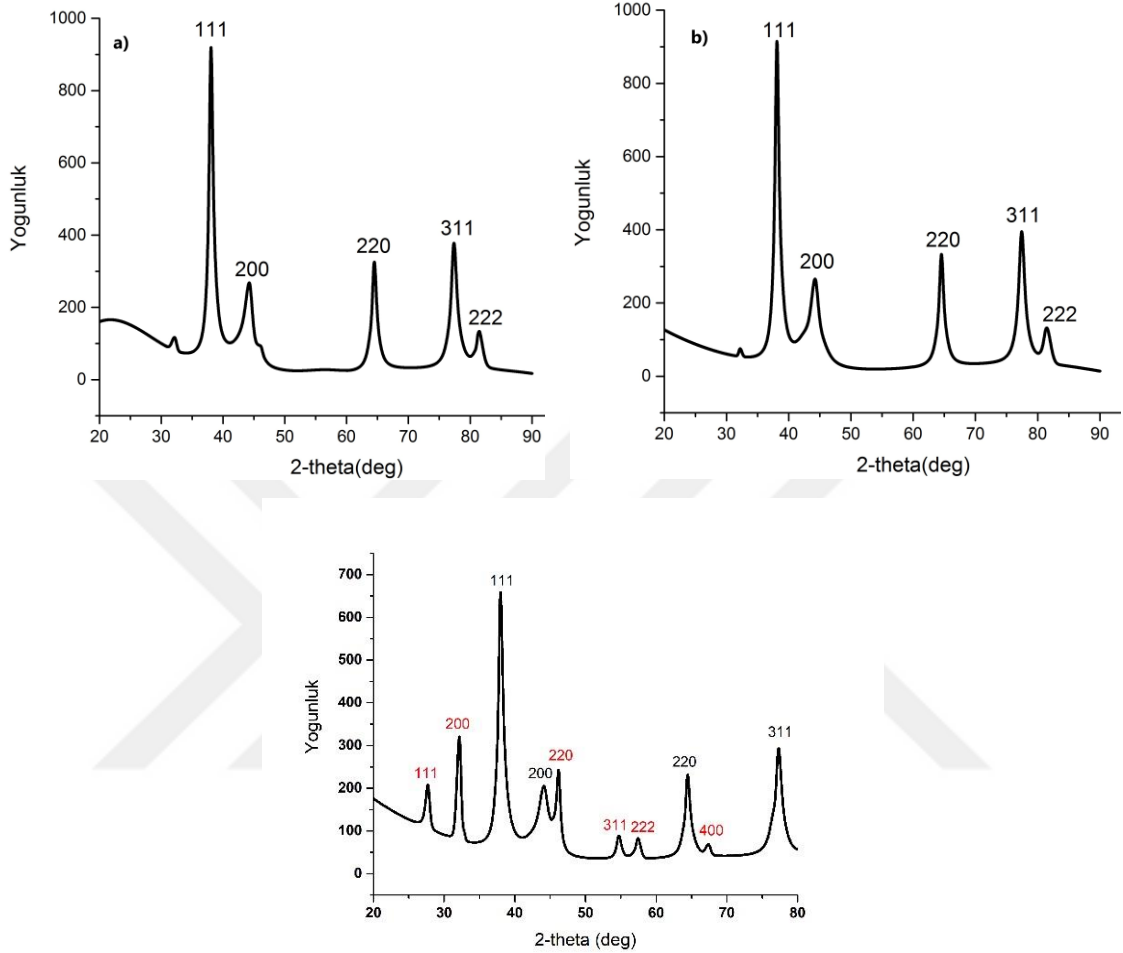
K: Scherrer sabiti. K, 0.68 ila 2.08 arasında değişir. Küresel kristalitler için K = 0.94'dur

$\lambda$ : X ışını dalga boyu. Cu K $\alpha$  ortalaması = 1.54178 Å

ifade etmektedir.

Yapılan hesaplamalar sonucu *P.kesrouanensis* gövde, *P.kesrouanensis* yaprak ve *R.ribes* gövde ekstraktından elde edilen Ag-NP'nin kristalit boyutu sırasıyla 16.75 nm, 15.58 nm ve 11.69 nm olarak bulunmuştur.

Taze *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP



Şekil 4.30. Taze a) *P.kesrouanensis* gövde b) *P.kesrouanensis* yaprak c) *R.ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin XRD spektrumu

Sentezlenen Ag-NP'lerle  $2\theta$  10-80° aralığında *P.kesrouanensis* gövde için 38.0°, 44.2°, 64.4°, 77.2° ve 81.2° (Şekil 4. 30a), *P.kesrouanensis* yaprak için 38.0°, 44.2°, 64.4°, 77.3° ve 81.3° (Şekil 4. 30b), *R.ribes* gövde için 37.9°, 44.0°, 64.3° ve 77.2° (Şekil 4. 30c) 'de görülen kırınım pikleri, saf Ag'nin YMK yapıda olduğunu belirten (111), (200), (220), (311), ve (222) düzlem kümelerine karşılık gelir. (JCPDS dosya no 04-0783). *R.ribes* bitkisinden elde edilen Ag-NP'lerde 27.6°, 32.2°, 46.2°, 54.7°, 57.3°, 67.3° görülen ve (111), (200), (220), (311), (222) ve (400) Bragg saçılmalarına karşılık gelen pikler ortamda AgCl-NP oluşumunu göstermektedir. Bu pikler bitki ekstraktından gelen Cl'ün AgCl-NP oluşturmasından kaynaklıdır.

Benzer şekilde Scherrer denklemi kullanarak taze örneklerden elde edilen Ag-NP'lerin kristalit boyutları hesaplanmıştır. Yapılan hesaplamalar sonucu *P.kesrouanensis* gövde, *P.kesrouanensis* yaprak ve *R.ribes* gövde ekstraktından elde edilen Ag-NP'nin kristalit boyutu sırasıyla 9.27 nm, 8.82 nm ve 9.69 nm olarak bulunmuştur.

Hem kurutulmuş hem de taze bitkilerden elde edilen Ag-NP'lerin XRD ile hesaplanan kristalit boyutları ile TEM boyutları arasında fark görülmüştür. Bu farklılık partiküllerin tek bir kristalit yerine birden çok kristalitten oluşması, deneysel hata ve partikül oluşumu sırasında meydana gelen kristal kusurlardan kaynaklı olabilmektedir.

YMK materyalleri için yüksek yoğunluklu pik genellikle (111) yansımada görülür. Pikin yoğunluğu, Ag-NP'lerin yüksek kristallik derecesini yansıtır. Bununla birlikte, piklerde görülen genişleme kristalit boyutun küçük olmasından kaynaklanmaktadır. (200), (220), (311) ve (222) Bragg yansımaları, yoğun (111) yansımaya göre zayıf ve geniş olduğu görülmektedir. Bu özellik nanokristallerin anizotropik olduğunu gösterir (Philip, 2011).

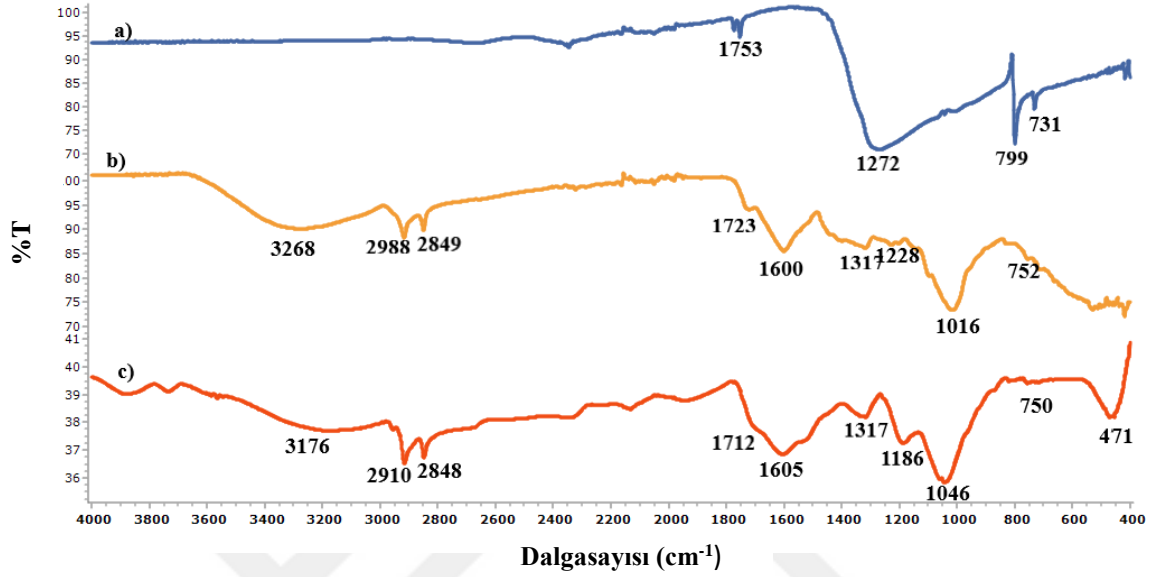
Kurutulmuş ve taze bitki ekstraktıyla sentezlenen Ag-NP'lerin X-Işını Kırınımı (XRD) modeli, standart nano Ag modelleri ile oldukça uyumlu olduğu yapılan analizlerle görülmüştür.

Mehta ve ark., (2017) *Santalum albüm* bitkisinden sentezledikleri Ag-NP'lerin XRD spektrumunda *R. ribes* bitkisinden elde edilen NP'lerin XRD spektrumuna benzer sonuçlar bulmakla birlikte varolan diğer piklerin örnek üzerinde çok az miktarda bulunan ve indirgenmeden kalan AgNO<sub>3</sub>'ten kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca önceki çalışmalarda *Morinda tinctoria* (Vanaja ve ark., 2014) ve *Olea europaea* (Awwad ve ark., 2012) bitki ekstraktlarından sentezlenen Ag-NP kristal yapılarının YMK olduğu rapor edilmiştir.

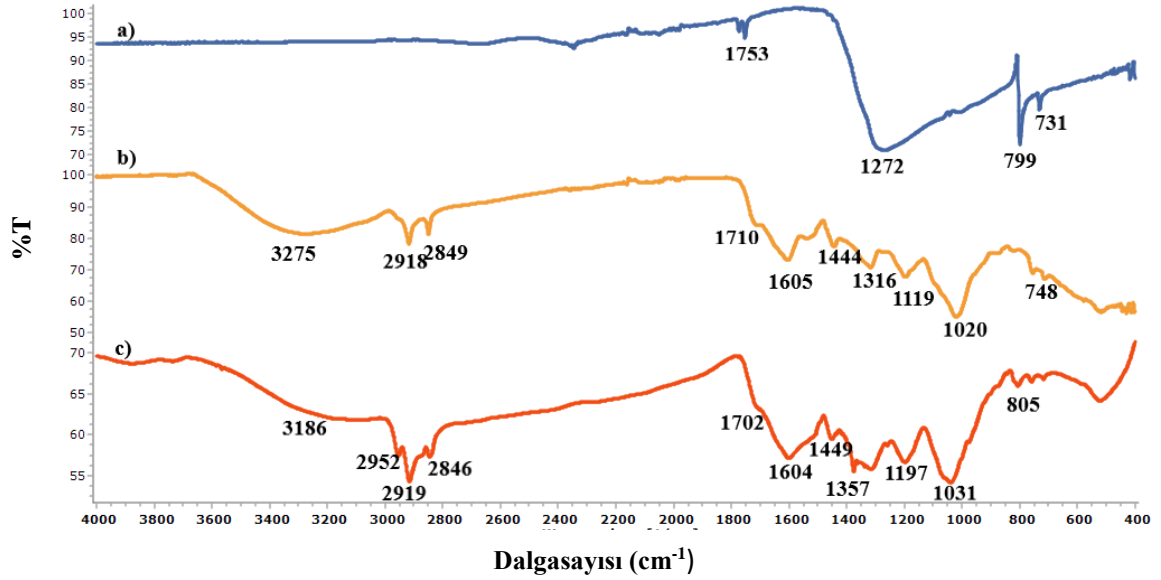
#### **4.1.5. Fouier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) analizi sonuçları**

FT-IR spektral analizi ile, standart kızılötesi (IR) tablosu baz alınarak, Ag-NP'lerin sentezinde kullanılan bitki ekstraktlarında bulunan ve NP'lerin indirgenmesinde ve kaplanmasında sorumlu olan fitokimyasallara ait olası fonksiyonel grupların varlığı gösterilmiştir.

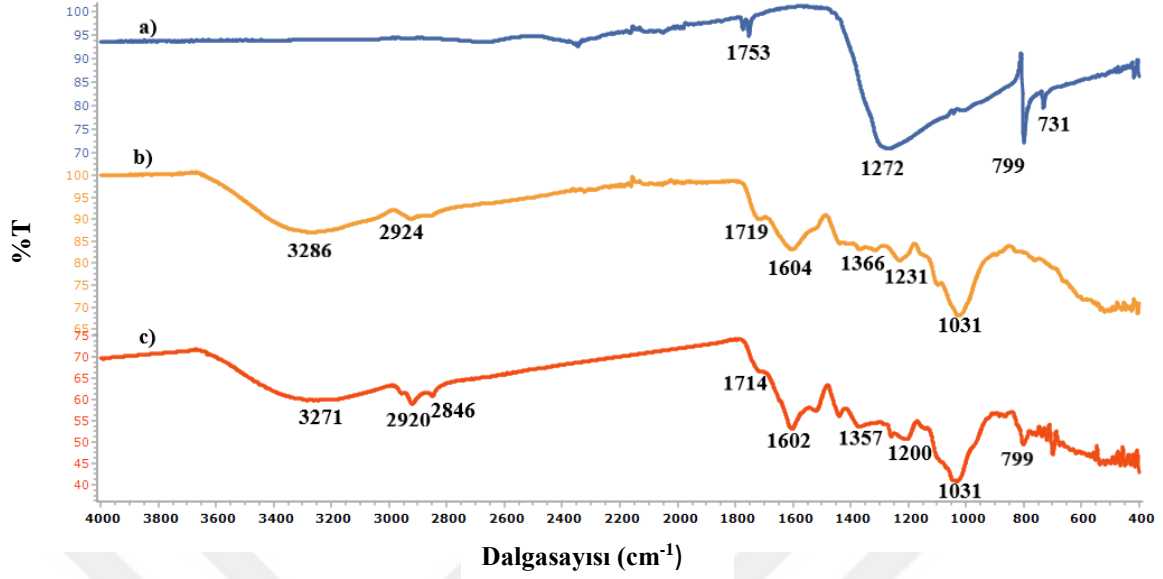
Kurutulmuş *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP



Şekil 4.31. a) AgNO<sub>3</sub> b) Kurutulmuş *P.kesrouanensis* gövde c) Kurutulmuş *P.kesrouanensis* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'ye ait FT-IR spektrumu



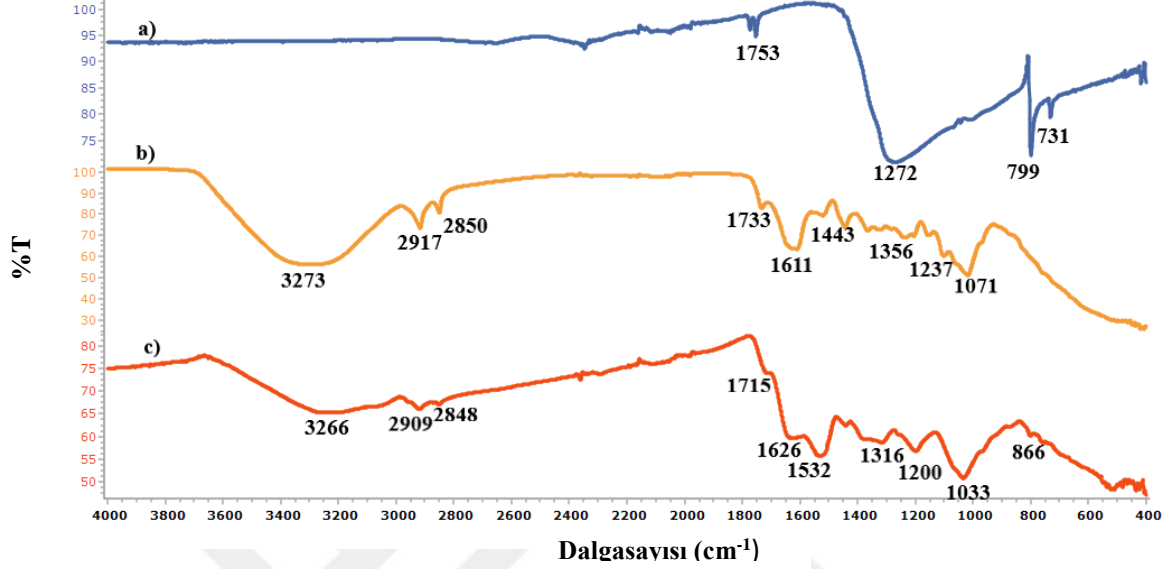
Şekil 4.32. a) AgNO<sub>3</sub> b) Kurutulmuş *P.kesrouanensis* yaprak c) Kurutulmuş *P.kesrouanensis* yaprak ekstraktından sentezlenen Ag-NP'ye ait FT-IR spektrumu



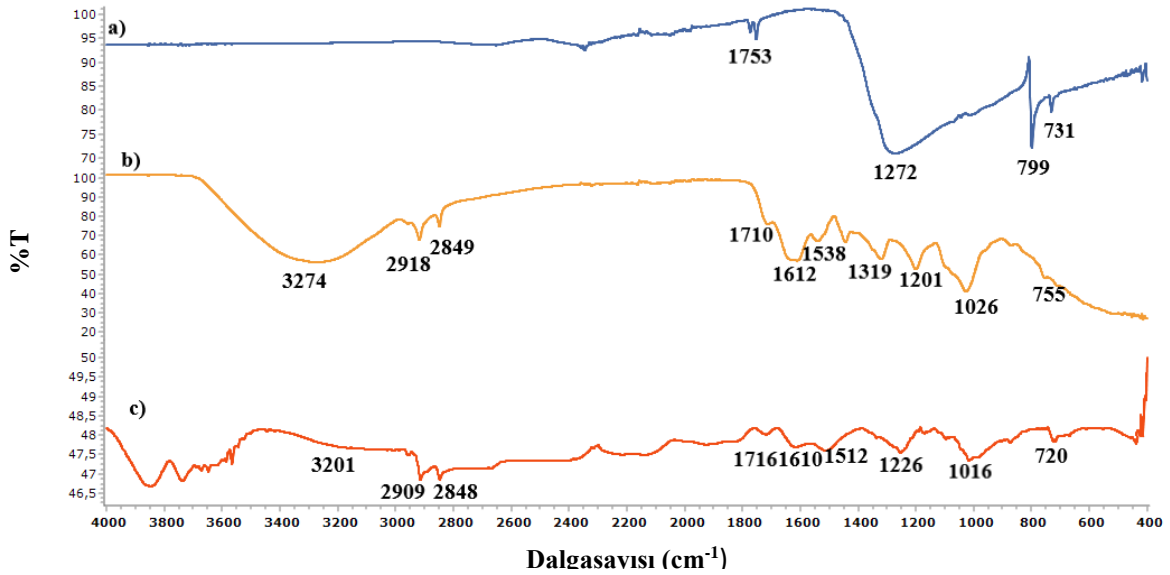
Şekil 4.33. a) AgNO<sub>3</sub> b) Kurutulmuş *R.ribes* gövde c) Kurutulmuş *R.ribes* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'ye ait FT-IR spektrumu

Şekil 4.31, 4.32, 4.33'de hem kurutulmuş bitkilerin hem de AgNO<sub>3</sub> ve bitki ekstraktlarından sentezlenen AgNP'lere ait FT-IR pektrumları verilmiştir. Spektrumlar incelendiğinde *P.kesrouanensis* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerde (Şekil 4.31) 3176 cm<sup>-1</sup> alkole ait O-H gerilmesi, 2910- 2848 cm<sup>-1</sup> C-H gerilmesi, 1712 cm<sup>-1</sup> karboksili asitlere ait C=O gerilmesi, 1605 aminlere ait N-H bükülmesi, 1317 cm<sup>-1</sup> fenole ait O-H gerilmesi, 1046 cm<sup>-1</sup>'de alifatik aminlere ait C-N gerilim titreşimi; *P. kesrouanensis* yaprak ekstraktından sentezlenen Ag-NP (Şekil 4.32) 3176 cm<sup>-1</sup> alkole ait güçlü O-H gerilmesi, 2952-2846 cm<sup>-1</sup> C-H gerilmesi, 1710 karboksili asitlere ait C=O gerilmesi, 1601 cm<sup>-1</sup>, aminlere ait N-H bükülmesi, 1375 cm<sup>-1</sup> fenole ait O-H gerilmesi, 1038 cm<sup>-1</sup> alifatik aminlere ait C-N gerilim titreşimi; *R. ribes* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerde (Şekil 4.33) 3346 cm<sup>-1</sup> alkole ait güçlü O-H gerilmesi, 2910 ve 2849 cm<sup>-1</sup> alkene ait C-H gerilmesi, 1710 cm<sup>-1</sup> karboksilik asite ait C=O gerilmesi, 1604 cm<sup>-1</sup> aminlere ait N-H bükülmesi 1357 fenole ait O-H gerilmesi, 1031 cm<sup>-1</sup> 'de aminlere ait C-N gerilimi görülmüştür.

Taze *P. kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP

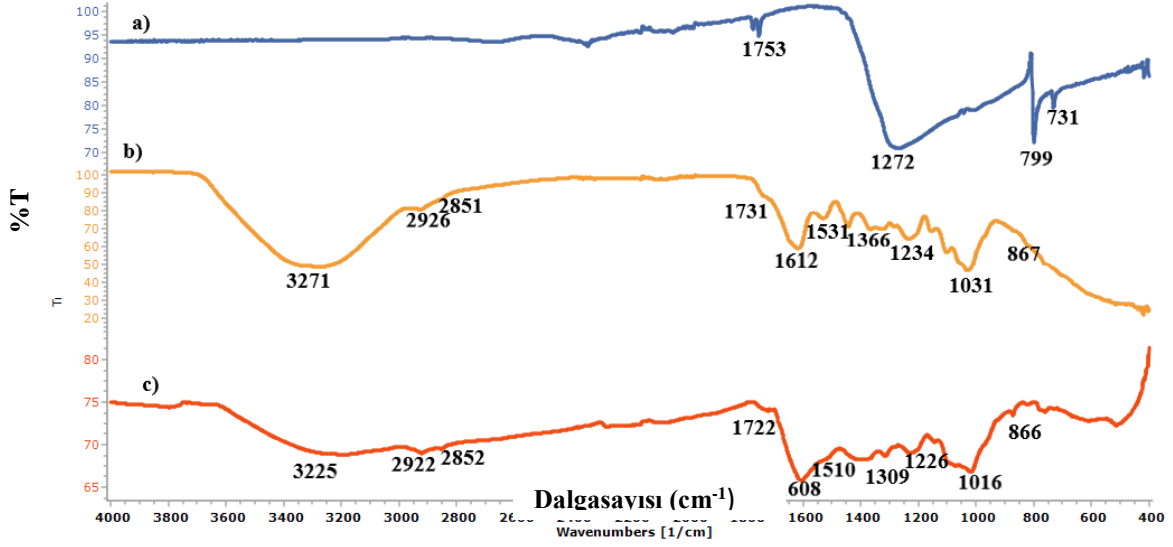


Şekil 4.34 a)AgNO<sub>3</sub> b)Taze *P. kesrouanensis* gövde c)Taze *P. kesrouanensis* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'ye ait FT-IR spektrumu



Şekil 4.35. a)AgNO<sub>3</sub> b)Taze *P. kesrouanensis* yaprak c)Taze *P. kesrouanensis* yaprak ekstraktından sentezlenen Ag-NP'ye ait FT-IR spektrumu





Şekil 4.36. a)  $AgNO_3$  b) Taze *R.ribes* gövde c) Taze *R.ribes* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'ye ait FT-IR spektrumu

Taze *P.kesrouanensis* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP' lerde (Şekil 4.34)  $3254\text{ cm}^{-1}$  alkole ait güçlü O-H gerilmesi,  $2922$  ve  $2849\text{ cm}^{-1}$  alkene ait C-H gerilmesi,  $1715\text{ cm}^{-1}$  karboksilik asite ait C=O gerilmesi,  $1626\text{ cm}^{-1}$  aminlere ait N-H bükülmesi,  $1318\text{ cm}^{-1}$  fenole ait O-H gerilmesi,  $1034\text{ cm}^{-1}$  alifatik aminlere ait C-N gerilim titreşimi,  $831\text{ cm}^{-1}$  C-H bükülmesi; *P. kesrouanensis* yaprak ekstraktından sentezlenen Ag-NP' lerde (Şekil 4. 35),  $32\text{ cm}^{-1}$  alkole ait O-H gerilmesi,  $2909$  and  $2848\text{ cm}^{-1}$  C-H gerilmesi,  $1716\text{ cm}^{-1}$  karboksilik asite ait C=O gerilmesi,  $1630\text{ cm}^{-1}$  aminlere ait N-H bükülmesi,  $1019\text{ cm}^{-1}$  alifatik aminlere ait C-N gerilimi; *R. ribes* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP' lerde (Şekil 4.36)  $3225\text{ cm}^{-1}$  alkole ait O-H gerilmesi,  $2922$ - $2852\text{ cm}^{-1}$  alkene ait C-H gerilmesi,  $1722\text{ cm}^{-1}$  karboksilik asite ait C=O gerilmesi,  $1592\text{ cm}^{-1}$  aminlere ait N-H bükülmesi,  $1309$  fenole ait O-H gerilmesi,  $1016\text{ cm}^{-1}$  alifatik aminlere ait C-N gerilim titreşimi, görülmüştür.

Hem taze hem de kurutulmuş bitkilerin FT-IR spektrumlarıyla, sentezlenen Ag-NP 'lere ait spektrumlarında görülen değişiklik fenolik grupların iyon değişim reaksiyonuna katılmasından kaynaklanmaktadır.

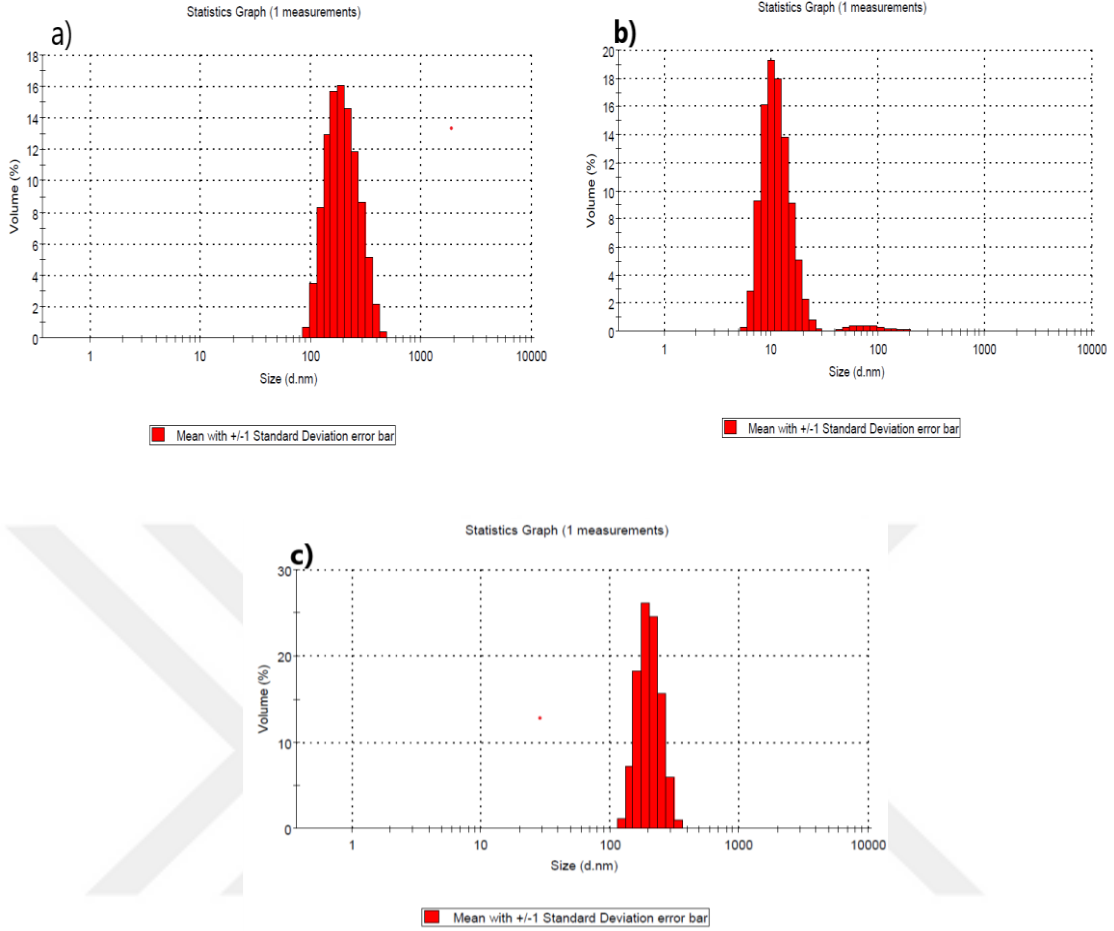
Çalışmada, Ag-NP'lerin sentezi için kullanılan bitkilerdeki, fitokimyasallara ait farklı fonksiyonel grupların varlığı doğrulanmıştır. Bitkilede bulunan hidroksil, karboksil, fenol

ve amin grupları metalle bağ oluşturarak Ag<sup>+</sup> iyonunu Ag<sup>0</sup> 'ye indirgesinde etkili olmuş ve oluşan Ag-NP'lerin için kaplayıcı ve stabilize edici ajan olarak davranmıştır. Bu nedenle, yukarıdaki bitki kaynaklarında bulunan fitokimyasalların/biyomoleküllerin, yeşil sentezlenen Ag-NP'lerin oluşumunda ve stabilizasyonunda ikili bir rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Terpenoidler, flavonoidler, polifenoller, alkaloidler, proteinler ve karbonhidratlar bitkilerde bulunan ikincil metabolitlerdir. Bu yapıların amin, hidroksil, karbonil gruplarına sahip olduğu iyi bilinmektedir. FT-IR çalışmalarının sonucunda bu farklı metabolitlerin fonksiyonel gruplarının metal iyonlarıyla reaksiyona girdiği ve büyüklüklerini nano aralığına indirgediği ortaya çıkmıştır (Rajan ve ark., 2015). Vanaja ve ark., (2014), Bindhani ve Panigrahi (2015) ve Raut Rajesh ve ark., (2009) yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçları rapor etmişlerdir.

#### **4.1.6. Dinamik ışık saçılımı spektrometresi (DLS) analiz sonuçları**

NP'lerin fiziksel olarak stabil olduklarını anlayabilmek için partikül boyutu ve partiküllerin dağılımına bakılır. Dinamik ışık saçılması analizi ile partikül boyutu ve partikül dağılımları elde edilebilir. Bu yöntemdede en önemli parametre PDI (Poly dispersity index) değeridir. PDI değeri 0.1- 0.5 arasında olursa istenilen dar partikül dağılım elde edilebilir. Eğer elde edilen PDI değeri 0.5'in üzerinde olursa geniş dağılım elde edilir.

Kurutulmuş *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP  
*P.kesrouanensis* gövde (Şekil 4.37a), *P.kesrouanensis* yaprak (Şekil 4.37b) ve *R. ribes* gövde (Şekil 4.37c,) ekstratından elde edilen Ag-NP'lerin DLS analiz sonuçlarına göre hidrodinamik boyutları sırasıyla 142.0 nm, 72,0 nm, 337.28 nm; PDI değerleri de 0,291, 0,502, 0.517 olarak bulunmuştur ( Çizelge 4.2).



Şekil 4.37. Kurutulmuş a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin boyut dağılımı grafiği

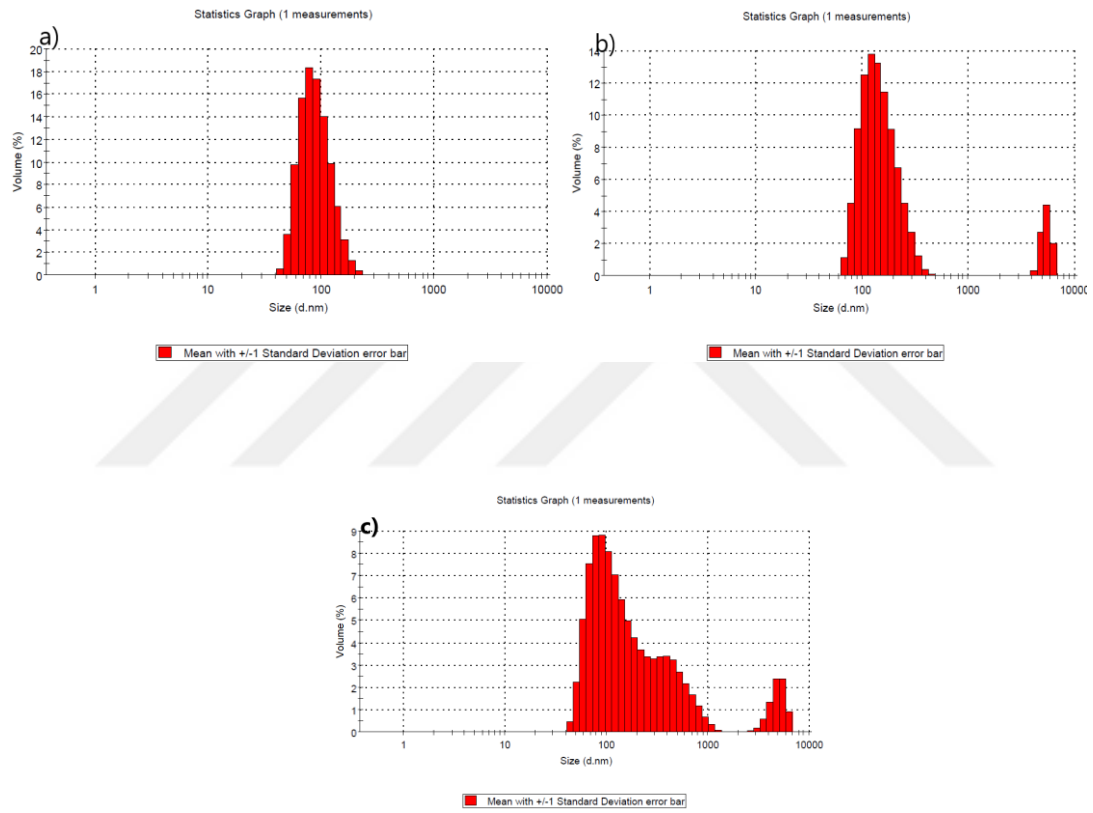
*P. kesrouanensis* yaprak ekstraktından elde edilen NP'ler kolloidal çözelt ortamında 100 nm altında dar bir boyut dağılımı gösterdiği görülmüştür. %97.2' lik bir hacimin ortalama boyutu 11.66 nm'dir. Bunun aksine *R. ribes* 'dan elde edilen NP'lerin sıvı ortamda son derece kümeleştiği ve 122 nm ile 295 nm aralığında bir boyut dağılımına sahip olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.2. Kurutulmuş bitki ekstraktlarından elde edilen Ag-NP'lerin boyut dağılım ve PDI tablosu

Ag-NP	DLS size [Z-Ave (d.nm)]	PDI
<i>P. kesrouanensis</i> gövde ekstraktından sentezlenen	142.0	0,291
<i>P. kesrouanensis</i> yaprak ekstraktından sentezlenen	72,0	0,502
<i>R. ribes</i> gövde ekstraktından sentezlenen	337.28	0.517

Taze *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP

*P.kesrouanensis* gövde (Şekil 4.38a), *P.kesrouanensis* yaprak (Şekil 4.38b) ve *R. ribes* gövde (Şekil 4.38c) ekstratından elde edilen Ag-NP'lerin DLS analiz sonuçlarına göre hidrodinamik boyutları sırasıyla 105.1 nm, 155 nm, 161.1 nm; PDI değerleri de 0.338, 0.297, 0.434 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3). Sonuçları incelediğimizde boyut dağılımının 100 nm üzerine olduğu görülürken, *R. Ribes*' den elde edilen NP'ler multimodal bir dağılım göstermiştir.



Şekil 4.38. Taze a) *P.kesrouanensis* gövde b) *P.kesrouanensis* yaprak c) *R.ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin boyut dağılımı grafiği

Partikül boyutlarının yüksek aralıkta dağılım göstermesi, fitokimyasalların gümüş ile eksik ya da zayıf reaksiyona girmesinden dolayı daha büyük partiküllerin oluşmasından kaynaklı olabilir

Bununla birlikte TEM ile elde edilen sonuçların, DLS ile elde edilen sonuçları sıklıkla desteklemediği görülür. Aslında bu, iki yöntem arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır. TEM'de örnek vakum altında kurutulurken, DLS'de örnekler sıvı

ortamda dağıtılır, TEM sayı-bazlı bir teknikken, DLS yoğunluk bazlı bir tekniktir. DLS, dağılmış partiküllerin hidrodinamik çapını ölçer, oysaki TEM, elektronlarının ne kadarının numune üzerinden iletiildiğine bağlı olarak öngörülen yüzey alanını belirler. Bu nedenle DLS ile elde edilen boyut TEM' den büyüktür (Ahmed ve ark., 2016).

*Eriobotrya japonica* ekstraktından sentezlediği Ag-NP'lerin TEM analizi ile belirlenen ortalama partikül boyutunun (yaklaşık 19.75 nm), DLS metodu ile ölçülen değerden (yaklaşık 54.47 nm) önemli ölçüde daha küçük olduğu rapor etmişleridir. Bu farklılığın ise bitkiden gelen organik stabilizatörlerin Ag-NP yüzeyine absorbe olmasından, bazı küçük boyutlu NP'lerin agregasyonundan veya stabil Ag-NP'lerin yüzeyine suyun absorbe olmasından kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir (Rao ve Tang, 2017).Huang ve ark. (2007) ve Erjaee ve ark. (2017) yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçlar bulmuştur.

Çizelge 4.3. Taze bitki ekstraktlarından elde edilen Ag-NP'lerin boyut dağılım ve PDI tablosu

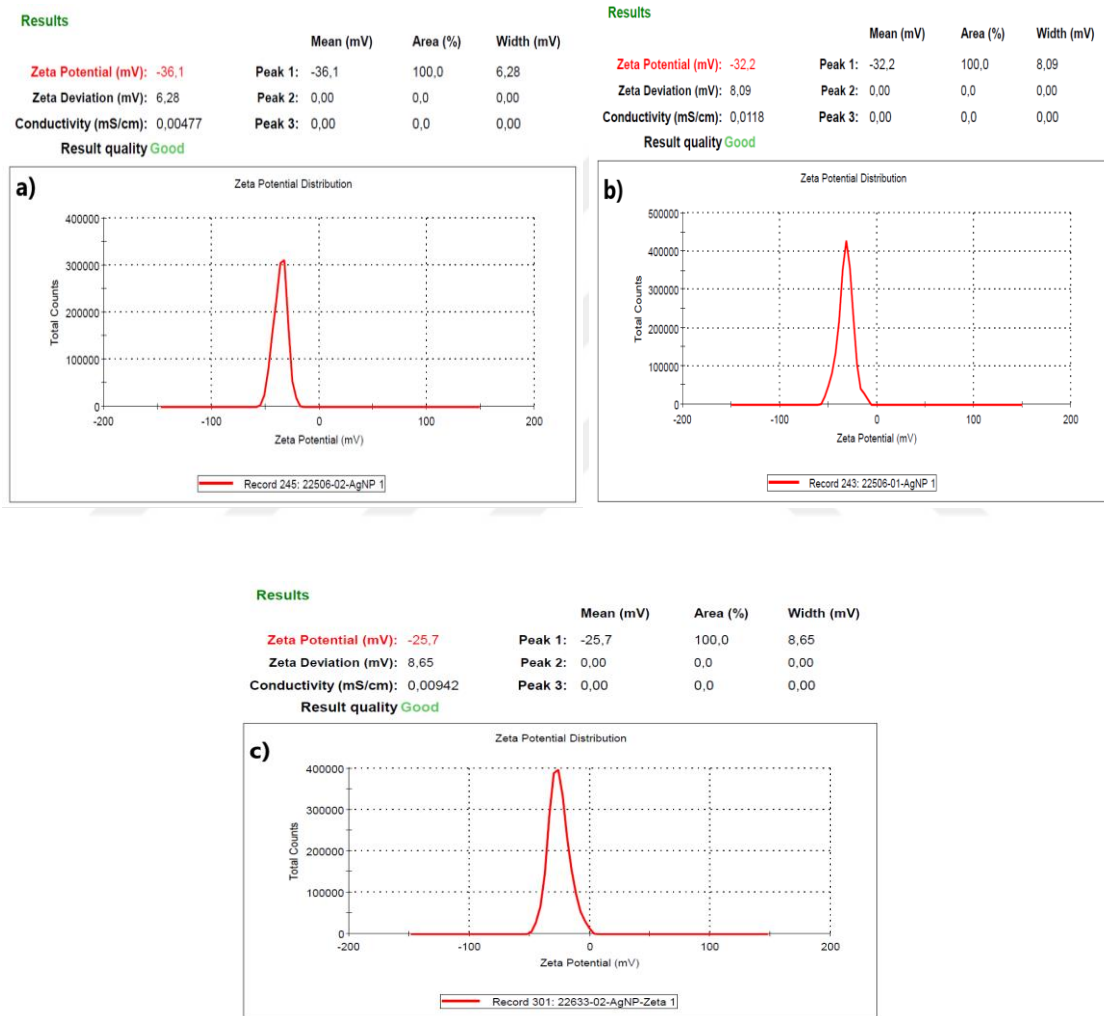
Ag-NP	DLS size [Z-Ave (d.nm)]	PDI
<i>P.kesrouanensis</i> gövde ekstraktından sentezlenen	105.1	0,338
<i>P.kesrouanensis</i> yaprak ekstraktından sentezlenen	155	0,297
<i>R. ribes</i> gövde ekstraktından sentezlenen	161,1	0,434

#### 4.1.7. Zeta potansiyeli analiz sonuçları

NP'lerin en çok karşılaşılan sıkıntıları kararlılıklarıdır. Zeta potansiyelinin ölçülmesi, koloidal dispersiyonun saklama stabilitesi hakkında tahminde bulunmaya olanak vermektedir. Genel olarak, yüklü partiküllerde (yüksek zeta potansiyeli), elektriksel itme nedeniyle, partikül agregasyonunun meydana gelme ihtimali daha azdır. NP'lerin zeta potansiyellerine bakılarak kararlılıkları ve topaklaşma eğilimleri hakkında bilgi elde edilebilir. Süspansiyondaki tüm partiküllerin büyük bir negatif veya pozitif zeta potansiyeli varsa, birbirlerini itme eğiliminde olacaklardır ve kümeleşme eğilimi olmayacaktır. Bununla birlikte, eğer partiküllerin düşük zeta potansiyel değerleri varsa, partiküllerin bir araya gelmesini ve kümeleşmesini önleyen bir kuvvet söz konusu olamayacaktır (Singh ve ark., 2014). Yani daha yüksek büyüklükteki potansiyeller artan elektrostatik itme ve dolayısıyla artan kararlılığı göstermektedir. Örneğin 0-5 mV partiküller kümeleşme veya bir araya gelme eğilimi sergilerler, 5-20 mV partiküller

minimal düzeyde, 20-40 mV partiküller orta düzeyde, 40+ mV'dan büyük zeta potansiyeline sahip partiküller son derece kararlıdır (Ateş, 2018).

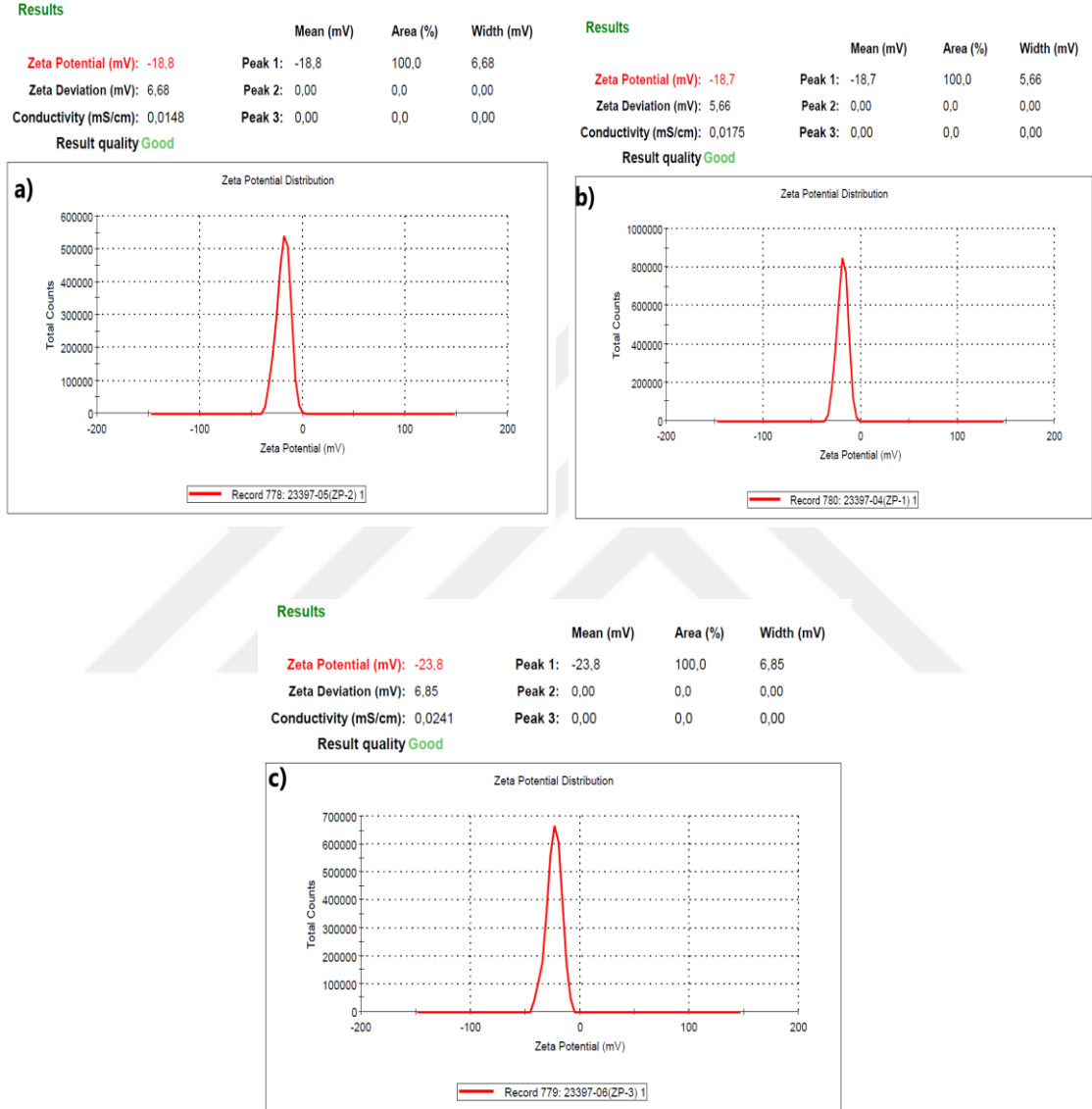
Kurutulmuş *P. kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP  
*P. kesrouanensis* gövde (Şekil 4.39a), *P. kesrouanensis* yaprak (Şekil 4.39b) ve *R. ribes* gövde (Şekil 4.39c) ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin zeta potansiyelleri sırasıyla -36. mV, -32.2 mV, -25 mV olarak bulunmuştur. NP'ler orta düzeyde kararlılık göstermiştir.



Şekil 4.39. Kurutulmuş a) *P. kesrouanensis* gövde b) *P. kesrouanensis* yaprak c) *R. ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin zeta potansiyel grafiği

Taze *P. kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP  
*P. kesrouanensis* gövde (Şekil 4.40a), *P. kesrouanensis* yaprak (Şekil 4.40b) ve *R. ribes* gövde (Şekil 4.40c) ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin zeta potansiyelleri sırasıyla -

18.8 mV, -18.7 mV, -23.8 mV olarak bulunmuştur. Taze *P.kesrouanensis* bitksinden elde edilen NP'ler koloidal ortamda minimal düzeyde kararlılık gösterirken *R. ribes* 'den elde edilen NP'ler orta düzeyde kararlılık göstermiştir.



Şekil 4.40. Taze a) *P.kesrouanensis* gövde b) *P.kesrouanensis* yaprak c) *R.ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin zeta potansiyel grafiği

Biyosentez yöntemiye elde edilen Ag-NP'ler genellikle negatif yük taşır. Sentezlenen tüm Ag-NP'ler negatif yük göstermiştir.

Raja ve ark. (2017) *Calliandra haematocephala* bitkisinden sentezledikleri Ag-NP'lerin zeta potansiyel değerini -17.2 mV, Singh ve ark. (2018) *Cannabis sativa* bitkisinden

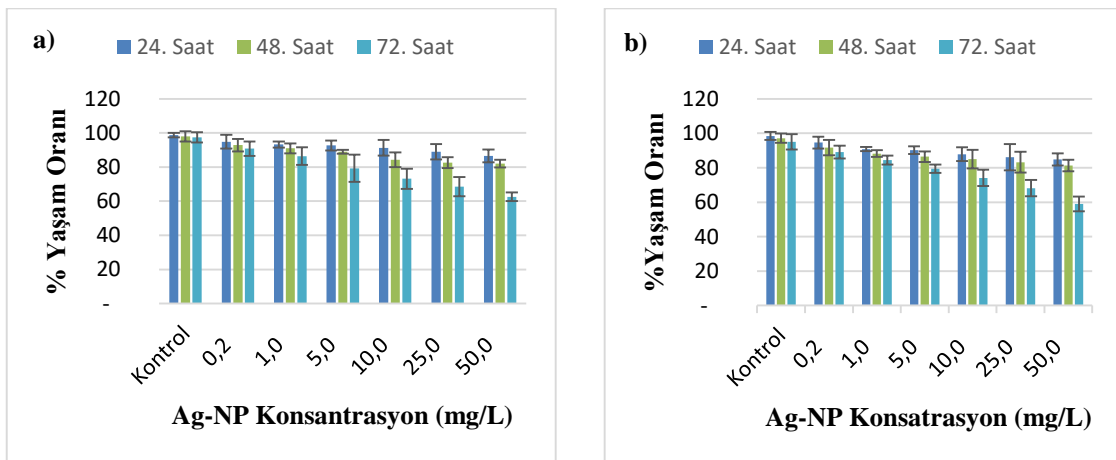
sentezledikleri Ag-NP'lerin zeta potansiyelini -29.2 mV, olarak bulmuştur. Zeta potansiyelindeki farklılık kullanılan bitki türüne, aynı bitkinin farklı kısımlarına ve yüzeye bağlanan biyorganik yapılardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### 4.2. Gümüş Nanopartiküllerin *A. salina* Üzerindeki Toksikite Test Sonuçları

Sentezlenen Ag-NP'ler arasında kurutulmuş *P.kesrouanensis* ve *R. Ribes* bitkisinden gövde ekstraktından elde edilen iki farklı NP'nin *A.salina* ve HUVEC hücresi üzerinde toksisite çalışmaları yapıldı.

##### 4.2.1. *A. salina*'da yaşam oranı

Ag-NP etkileri sonucunda *A. salina* 'ların yaşam oranını gösteren grafikler Şekil 4.41'de verilmiştir. Kurutulmuş *P.kesrouanensis* ve *R. Ribes* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerin *A. salina* üzerinde hem doz hem de sürenin etkili olduğu görülmüştür. Elde edilen her iki Ag-NP konsantrasyon ve maruziyet süresinin artışıyla organizmalarda yaşam oranı azalmıştır. *P.kesrouanensis*'den elde edilen NP'lerde 72. saat sonunda kontrol grubunda %97 lik bir yaşam oranı görülürken 0.2, 1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L'de bu oranlar sırasıyla %91,%86, %79, %73,%68 ve %63 olmuştur (Şekil 4.29a). *R. ribes* bitkisinden elde edilen Ag-NP'lerin organizma üzerinde daha fazla toksik etki göstermiştir. Kontrol grubunda %95 lik bir yaşam görülürken 0.2, 1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L'de sırasıyla bu oranlar %89, %84, %79, %74 %68 ve %59 olmuştur (Şekil 4.29b). Süre olarak her iki grup incelendiğinde ise 72. saatteki yaşam oranı azalmış ve ölüm oranlarının maksimum olduğu görülmüştür.



Şekil 4.41. Kurutulmuş a) *P.kesrouanensis* b) *R. ribes* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerin *A. salina* uygulaması sonrası bireylerin yaşam oranını gösteren grafik



Biyosentez yöntemiyle elde edilen Ag-NP'lerin LC<sub>50</sub> değerleri incelendiğinde, *P.kesrouanensis*'den elde edilen Ag-NP'lerin *R. ribes*'ten elde edilenlere göre daha az toksik olduğu bulunmuştur. Buna göre *P.kesrouanensis*'den elde edilen Ag-NP'lerin LC<sub>50</sub> değeri 102 mg/L iken *R. ribes*'ten elde edilenin LC<sub>50</sub> değeri 84 mg/L olarak bulunmuştur.

#### **4.2.2. *A. salina*'nın birikim ve eliminasyon sonuçları**

Ag-NP'lere maruz bırakılan ve 3 tekrarlı yapılan gruplardan alınan örnekler belirtilen zaman dilimlerinde (24., 48. ve 72. saatler ve eliminasyon: NP'lerin organizma vücudundan uzaklaştırılması dönemi) organizmalardan örnekler alınmış ve analiz örnekleri prosedürüne göre hazırlanmıştır. Genellikle bu tür organizmalar süzerek beslendiği için sulu ortamda bulunan mikro veya makro boyuttaki tüm partikülları besin yoluyla vücuduna alırlar (GopHen ve Geller, 1984) Ancak vücuda alınan bu partiküllerin ne kadarının NP olduğunun veya organizmada bu NP'lerin birikim yapıp yapmadığının ise ancak ICP-MS analizleri sonuçları ile belirlenebilir.

#### **Kurutulmuş *P.kesrouanensis* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP *A. salina*'da birikim ve eliminasyon sonuçları**

Kurutulmuş *P. kesrouanensis* gövde ekstraktı kullanarak sentezlenen Ag-NP'lere maruz bırakılan *A. salina* bireylerinde birikim ve eliminasyon değerlerin belirlenmesi için ICP-MS cihazı ile yapılan analiz sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde tüm gruplarda konsantrasyon artışına bağlı olarak birikim oranında bariz artış olduğu görülmektedir. Ancak maruziyet süresinin artmasıyla organizmalarda oransal olarak birikiminin azaldığı görülmektedir. Bunun asıl sebebi süzerek beslenen bu tür planktonik organizmalar ortamdaki organik veya inorganik kimyasalları hızlı bir şekilde bünyelerinde biriktirler ancak belli bir süre sonra atık olarak veya ağızdan çıkararak ortama geri bırakırlar. *A. salina* organizmaları ilk 24 saat içerisinde maksimum oranında birikim yaptıkları ve 0.2 ve 1 mg/L dışında süre artışına bağlı olarak organizmalarda birikim oranının azaldığı görülmüştür.

Çizelge 4.4. Kurutulmuş *P. Kesrouanensis* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerin *A.salina* bireylerinde birikim ve eliminasyon değerleri (µg/g).

Gruplar	24. saat	48. saat	72. saat	Eliminasyon
<b>Kontrol</b>	0.15±0,08	0,38±0,34	0.40±0.11	0.42±0.02
<b>0.2 mg/L</b>	0,76±0,06	2.26±0,35	2.60±1,13	2.00±0.69
<b>1 mg/L</b>	3.25±0,32	3.64±0,40	4.17±0.99	3.21±0.83
<b>5 mg/L</b>	7.45±1,11	5.64±0,51	4.59±0.45	3.24±0.67
<b>10 mg/L</b>	7.82±0,63	6.04±0,72	5.26±0.61	3.85±0.93
<b>25 mg/L</b>	8.34±0,72	6.75±0,52	5.56±0.96	4.36±0.91
<b>50 mg/L</b>	9.32±1,53	7.59±1,20	6.05±0.77	4.73±0.71

Buna ilave olarak konsantrasyon ve maruziyet süresinin Ag-NP birikimine etkisi ve aralarındaki ilişki istatistiksel olarak incelendi (Çift-yönlü Anova). Analiz sonucunda konsantrasyon artışının (Çizelge 4.5) ve Ag-NP ile etkileşim süresinin (Çizelge 4.6) birikim üzerinde önemli olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Kontrol hariç tutularak en düşük konsantrasyon, 0.2 mg/L olarak alındı. Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5 incelendiğinde en düşük birikimi 0.2 mg/L'nin 72. saatinde, en yüksek birikim ise 50 mg/L' in 24. saatinde görülmüştür. Konsantrasyon artışına bağlı olarak *A. salina*'da Ag birikimi artmıştır. 10 mg/L 'de Ag birikimi 5 ve 25 mg/L'dekine benzer sonuçlar gösterirken, süre artışına paralel olarak *A.salina*'ların bünyelerinde biriktirdiği Ag-NP tekrar atık olarak ortama salmaları sonucu, birikimin azaldığı dikkat çekmektedir.

Çizelge 4.5. Konsantrasyonun Ag-NP birikimine etkisi

#### Konsantrasyon

	Kontrol	0.2 mg/L	1 mg/L	5 mg/L	10 mg/L	25 mg/L	50 mg/L	Standart hata
<b>Ag (ug/g)</b>	0,31 a	1,87 b	3,69 c	5,89 d	6,37 de	6,86 e	7,65 f	0,25

(Not: Farklı harfleri alan ortalama değerler arasında istatistiksel olarak farklılık varken, en az bir harfi ortak paylaşan grupların ortalama değerleri arasında farklılık yoktur  $p<0,05$ ).

Çizelge 4.6. Maruziyet süresinin Ag-NP birikimine etkisi

**Maruziyet süresi**

	<b>24 saat</b>	<b>48 saat</b>	<b>72 saat</b>	<b>Standart hata</b>
<b>Ag (ug/g)</b>	5,30 c	4,61 b	4,09 a	0,16

(Not: Farklı harfleri alan ortalama değerler arasında farklılık varken, en az bir harfi ortak paylaşan grupların ortalama değerleri arasında farklılık yoktur.  $p<0,05$ ).

Kurutulmuş *R. ribes* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerin birikim ve eliminasyon sonuçları

Kurutulmuş *R. ribes* gövde ekstraktı kullanarak sentezlenen Ag-NP'lerin Ag (ug/g) birikim ve eliminasyon ortalama değerleri Çizelge 4.7'de verilmiştir. Veriler incelendiğinde kurutulmuş *R. ribes* gövde ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin oransal olarak daha fazla birikim yaptıkları görülmüştür. Çizelge 4.6'daki değerler incelendiğinde 72. saate doğru birikimin azaldığı ve tüm uygulama sürelerinde konsantrasyon artışına paralel organizmada NP birikiminin arttığı görülmüştür.

Çizelge 4.7. Kurutulmuş *R. ribes* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerin *A. salina* bireylerinde birikim ve eliminasyon değerleri ( $\mu\text{g/g}$ ).

<b>Gruplar</b>	<b>24. saat</b>	<b>48. saat</b>	<b>72. saat</b>	<b>Eliminasyon</b>
<b>Kontrol</b>	0,21±0,51	0,26±0,34	0,37±0,75	0,43±0,10
<b>0,2 mg/L</b>	1,06±0,20	1,87±0,52	2,62±0,24	2,09±0,76
<b>1 mg/L</b>	3,92±0,75	4,41±0,64	5,24±0,81	4,07±0,70
<b>5 mg/L</b>	7,10±0,46	6,51±0,51	5,88±0,84	4,17±0,71
<b>10 mg/L</b>	8,92±0,40	7,82±1,16	6,27±0,54	5,62±0,80
<b>25 mg/L</b>	9,71±0,17	8,34±1,14	6,69±0,41	5,86±0,76
<b>50 mg/L</b>	11,26±0,65	8,81±0,87	7,28±0,71	6,14±1,05

Ayrıca istatistiksel analiz sonucunda konsantrasyon artışının ve Ag-NP ile etkileşim süresinin birikim üzerinde önemli olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Kurutulmuş *R. Ribes* 'den elde edilen NP'ler de kontrol dışında en düşük birikim 0.2 mg/L'de 72. saatte, en yüksek birikim 50 mg/L'de 24. saatte görülmüştür. Genel olarak birikim açıklanacak

olursa 10 mg/L ‘dan 25 mg/L’ye geçiş dışındaki konsantrasyonlarda birikimin arttığı görülmüştür. Tüm konsantrasyonda en yüksek birikim 24. saatte meydana gelirken en düşük 72. saatte görülmüştür. Süre artışına paralel olacak şekilde birikim azaldığı dikkat çekmektedir (Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9).

Çizelge 4.8. Konsantrasyonun Ag-NP birikimine etkisi

<b>Konsantrasyon</b>								
	<b>Kontrol</b>	<b>0,2</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>Standart</b>
		<b>mg/L</b>	<b>mg/L</b>	<b>mg/L</b>	<b>mg/L</b>	<b>mg/L</b>	<b>mg/L</b>	<b>hata</b>
<b>Ag</b>	0,28 a	1,85 b	4,52 c	6,50 d	7,67e	8,24 e	9,11 f	0,22
<b>(ug/g)</b>								

(Not: Farklı harfleri alan ortalama değerler arasında farklılık varken, en az bir harfi ortak paylaşan grupların ortalama değerleri arasında farklılık yoktur önemlidir.  $p<0,05$ ).

Çizelge 4.9. Maruziyet süresinin Ag-NP birikimine etkisi

<b>Maruziyet süresi</b>				
	<b>24 saat</b>	<b>48 saat</b>	<b>72 saat</b>	<b>Standart hata</b>
<b>Ag (ug/g)</b>	6,02 c	5,43 b	4,91 a	0,13

(Not: Farklı harfleri alan ortalama değerler arasında farklılık varken, en az bir harfi ortak paylaşan grupların ortalama değerleri arasında farklılık yoktur.  $p<0,05$ ).

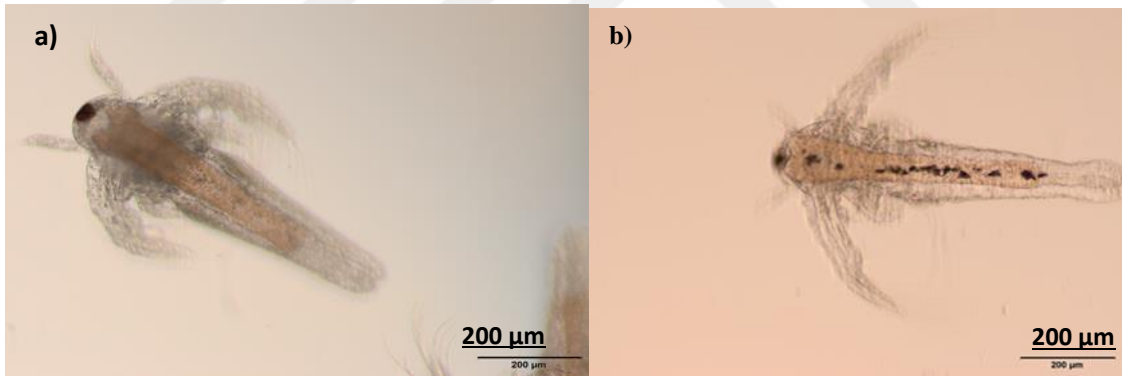
Her iki NP için eliminasyon oranları değerlendirildiğinde 72 saat reaksiyon sonrasında, hiçbir uygulama yapılmamış ve aynı fiziksel özellikteki deniz suyu içerisine alınan *A.salina*’larda eliminasyon ( +24 saat) analizi yapılmış ve sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır (T- testi). Artemia salinaların her konsantrasyondaki Ag-NP’leri %20 ila %30 arasında bir değerde vücuttan uzaklaştırdığı görülmüştür( (bkz. Çizelge 4.4 ve 4.7). Fakat istatistiksel analiz sonucuna göre 72. saat birikim ve eliminasyon değerleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ( $p>0,05$ ).

Maruziyet süresinin artışına bağlı görülen birikimdeki azalmanın nedeni NP’lerin, yüksek tuz çözeltilerine maruz kaldığında, aglomerasyon oluşturmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. NP malzemesine, boyutuna ve yüzeyine bağlı olarak, aglomerasyon anında veya birkaç gün içinde gerçekleşebilir. Partiküller kümeleştğinde, çok daha büyük

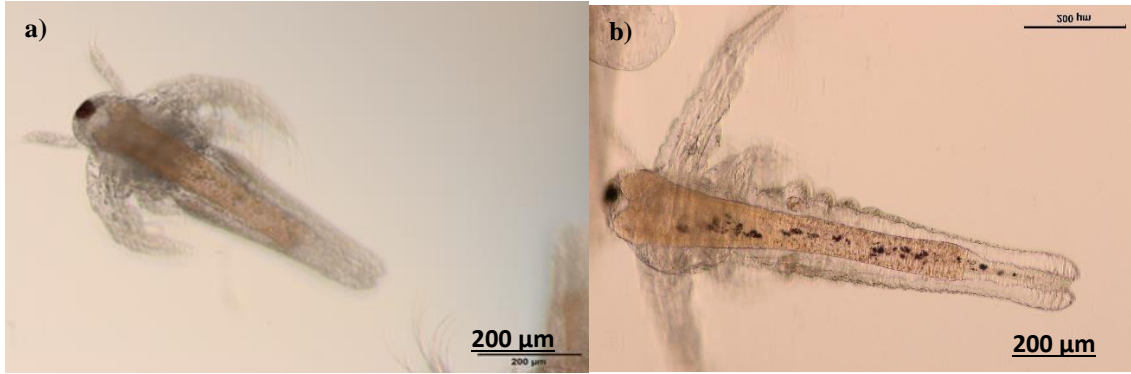
partiküller gibi davranırlar ve hücre için alımları zorlaştığı gibi hızlı çökelme hızlarına sahip olabilirler (Anonim, 2019).

#### 4.2.3. Faz kontrast mikroskobu analiz sonuçları

Deneyde kullanılan tüm canlı organizmaların NP'ler ile olan etkileşimlerini görmek için yapılan faz kontrast mikroskopik analizi sonucunda elde edilen görsellere göre; zooplanktonik organizma olan *A. salina* organizmalarının ortamda bulunan NP'leri süzerek aldıkları ve vücut içindeki organların parçacıklarla dolu oldukları açıkça görülmektedir (Şekil 4.42 ve Şekil 4.43). Ag-NP'ler faz kontrast mikroskobu ile gözle görülmezler ancak kümeleşmeye meyilli olan Ag-NP'ler organda bulunan besinlere veya organik kirleticilere yapışarak organizma içinde bulunurlar. *A. salina* bireylerin vücutları saydam görünümde oldukları için faz kontrast mikroskobu ile organizma içinde bulunan her şey siyah renk olarak görünür. Kontrol ile karşılaştırma yapmak için deney grubundan sadece bir görüntü kullanılmıştır.



Şekil 4.42. Kurutulmuş *P. kesrouanensis* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin faz kontrast mikroskop görüntüsü a) kontrol b) 72.saat 50 mg/L 'de uygulamaya maruz bırakılmış *A. salina*



Şekil 4.43. Kurutulmuş *R.ribes* gövde ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin faz kontrast mikroskop görüntüsü a) kontrol b) 72.saat 50 mg/L 'de uygulamaya maruz bırakılmış *A. salina*

#### 4.2.4. Metal iyon salımı sonuçları

Çevresel ve biyolojik ortamda, Ag-NP'ler sayısız transformasyon geçirir. Diğerlerinin yanı sıra, çözünme, Ag-NP'lerin davranışını ve etkisini belirleyen önemli süreçlerden biridir. Birçok çalışmada farklı deney koşulları altında Ag-NP'lerin çözünme kinetiğini araştırılmıştır. Bu çalışmalar, Ag-NP'lerin çözülmesinin fizikokimyasal özelliklerine (örneğin, boyut, şekil, yüzey kaplama vb.), konsantrasyona, agregasyona ve çevreleyen ortamın özelliklerine (örn., Sıcaklık, natural organik maddenin varlığı ve ligand tipi ve konsantrasyonu vb.) bağlı olduğunu göstermiştir (Sikder ve ark., 2018).

Biyodenedeyde kullandığımız *A. salina* organizmaların buldukları ortamdan su örnekleri alınarak Ag-NP'lerin her iki ortamdaki iyon salımları incelenmiştir. Bu kapsamda deniz suyunun (*A. salina* organizmaların bulunduğu ortam) bulunduğu ortamlarda NP'lerin çözünmelerine bağlı olarak ortama (medium) saldıkları Ag metali iyon analizleri ICP-MS ile yapılmış ve sonuçlar ppb ( $\mu\text{g/L}$ ) olarak aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.10).

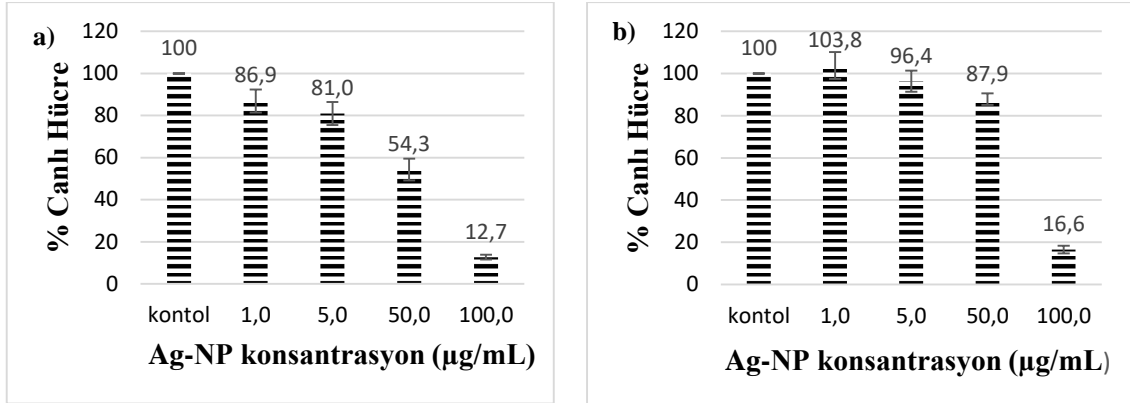
Çizelge 4.10. Kurutulmuş *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* gövde ekstraktı kullanarak sentezlenen Ag-NP'nin ortama verdiği Ag<sup>+</sup> iyon miktarı (µg/L)

Gruplar	<i>P.kesrouanensis</i> Ag-NP			<i>R. ribes</i> Ag-NP		
	24.h	48.h	72.h	24.h	48.h	72.h
<b>Kontrol</b>	16.44	16.9	16.7	17.9	17.9	19.1
<b>0,2 mg/L</b>	25.92	29.1	62.4	23.7	29.3	33.2
<b>1 mg/L</b>	27.36	30.5	87.3	36.2	50.4	56.6
<b>5 mg/L</b>	335.4	422.9	427.6	323.3	315.4	374.8
<b>10 mg/L</b>	455.9	483.0	470.2	443.8	459.7	473.8
<b>25 mg/L</b>	470.4	494.6	586.6	448.1	478.7	491.2
<b>50 mg/L</b>	513.7	575.0	616.3	472.6	502.3	522.5

Deneysel çalışmada kullandığımız Ag-NP'lerin 0.2 ve 1 mg/L konsantrasyonlardaki gruplarda fazla iyon salımı olmamıştır. 5 mg/L'den başlayarak her konsantrasyonda iyon salımı hem konsantrasyon artışına bağlı olarak ve hem de zamana bağlı olarak artmıştır. Arulvasu ve ark., (2014) küresel ve 30-40 nm aralığındaki kimyasal sentez Ag-NP'lerin *A.salina*'daki toksisitesi araştırmış ve 24 saat maruziyet süresi sonunda minimum 2 nM konsantrasyonda mortalite % 16, 4 nM, 6 nM ve 8 nM'da konsantrasyon arttıkça mortalite yaklaşık% 33,% 36,6 ve% 43 'e ulaşmıştır. *A.salina* popülasyonunun yaklaşık% 53.3'ü ve % 66.6'sı, 10 nM ve 12 nM test konsantrasyonlarında konsantrasyonun maksimuma çıkarılmasından dolayı ölüm oranının arttığını belirtmişlerdir. 48 saat reaksiyon süresi sonunda ise bu oran %93'lere ulaşmıştır.

#### 4.3. Hücre Kültürü Analiz Sonuçları

Kurutulmuş *P.kesrouanensis* ve *R. ribes* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP'lerin *in vitro* biyoyumluluk çalışması, MTT testi kullanılarak HUVEC (insan umbilikal ven endotel hücreleri) hücreleri üzerinde 24 saat süre ile değerlendirildi. İlk olarak, HUVEC hücreleri, hem *P.kesrouanensis*'nden elde edilen Ag-NP ile hem de *R.ribes*'den sentezlenmiş NP'ler ile bir doza bağımlı olarak (1-100 µg/mL) inkübe edildi Alınan sonuçlar % canlı hücre oranının konsantrasyona karşı çizilen grafiği ile verilmiştir (Şekil 4.44 a-b).



Şekil 4.44. MTT reaktifleri kullanılarak hücre canlılığı deneyi. HUVEC hücresinde MTT reaktifi ile yapılan *in vitro* anti -proliferatif test a) Kurutulmuş *P. kesrouanensis* b) Kurutulmuş *R. ribes*

Kurutulmuş *P. kesrouanensis* ve *R. ribes* gövde ekstraktından sentezlenen Ag-NP 'ler 100 µg/mL ' de sırasıyla % 87,3 ve % 83,4 oranında sitotoksik etki göstermiştir. *R. ribes* 'den sentezlene Ag-NP'lerin 1, 5 ve 50 µg/mL'de hücre poliferasyonunu, *P. kesrouanensis*'e göre daha az baskıladığı görülmüştür. Her iki uygulamadaki konsantrasyonlar arası farklar istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve *P. kesrouanensis* ekstraktından sentezlenen NP'lerin hücre üzerindeki sitotoksitesinin konsantrasyona bağlı olduğu ve konsantrasyonlar arasındaki sitotoksik etkinin istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur. *R. ribes* ekstraktından sentezlenen NP'ler de 5µg/mL'lik konsantrasyonun hücreler üzerindeki etkisi 1 µg/mL'de ve 50 µg/mL'de ile benzer sonuçlar gösterirken 100 µg/mL'de hücre poliferasyonunun oldukça azaldığı görülmüştür (Çizelge 4.11). Sonuçlar elde edilen Ag-NP'lerin düşük konsantrasyonlarda HUVEC hücresi için biyoyumlu olabileceğini göstermiştir.

Çizelge 4.11. *P. kesrouanensis* ve *R. ribes* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen Ag-NP'lerin MTT absorbans değerleri

	1 µg/mL	5 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
<i>P. kesrouanensis</i>	0.569±0.037	0.533±0.037	0.350±0.027	0.807±0.006
	a	b	c	d
<i>R. ribes</i>	0.680±0.079	0.632±0.097	0.574±0.037	0.105±0.100
	a	ab	b	c

(Not: Farklı harfleri alan ortalama değerler arasında farklılık varken, en az bir harfi ortak paylaşan grupların ortalama değerleri arasında farklılık yoktur) p<0.05



Mukherjee ve ark., (2014) *Olex* bitki ekstraktından elde ettikleri Ag-NP'lerin normal ve kanser hücreleri üzerindeki sitotoksitesini değerlendirdikleri çalışmada biyosentez Ag-NP'ler A549: insan akciğer kanseri hücre çizgileri, B16: fare melanom hücre çizgisi ve MCF7: insan meme kanseri hücrelerine karşı anti-kanser aktivite gösterirken bu NP'ler, 30  $\mu$ M'da sıçan kardiyomyoblast normal hücre hattında (H9C2) hafif sitotoksik etki göstermiş, insan ven endotel hücrelerine (HUVEC) ve Çin hamsteri yumurtalık hücrelerine karşı (CHO) biyolojik olarak uyumlu bulunmuştur. Kimyasal yolla elde ettikleri Ag-NP'lerin kanser hücreleri üzerindeki antikanser etkisi biyosentez yöntemiyle elde edilen NP'lere göre daha az bulunmuştur. Ahmad ve ark., (2015) fare makrofajlarında biyosentez yöntemiyle elde edilen 3–8 nm küresel Ag-NP'lerin, 10-1000  $\mu$ g/mL aralığında konsantrasyonları kullanarak yaptığı sitotoksite çalışmasında , 80  $\mu$ g/mL'den daha düşük bir konsantrasyonda daha az sitotoksik etki gösterdiğini belirtmişlerdir. AshaRani ve ark., (2009) akciğer fibroblastları için benzer sonuçlar bildirmiştir ve NP'lerin sitotoksitenin konsantrasyona bağlı olduğunu belirtmişlerdir

## 5. SONUÇ

Biyosentez yöntemi ile Ag-NP sentezlenmesi ve sentezlenen NP'lerin hücre üzerinde sitotoksik ve akuatik ortamda toksik etkisinin araştırılması üzerine yapılan tez çalışması birkaç bölümden oluşmaktadır. Bunlardan ilkinin oluşturduğu bölümünde *P. kesrouanensis* bitkisi yaprak ve gövde bölümünden *R. ribes* bitkisinin ise tohumlarında oluşan küflenme nedeniyle sadece gövde kısmı taze ve kurutulmuş olarak Ag-NP biyosentez çalışmasında kullanılmıştır. Ag-NP biyosentezi için UV-vis sonuçları değerlendirilerek istenilen boyutta partikül elde etmek için optimum koşullar ayarlanmıştır. NP'ler 1mM AgNO<sub>3</sub> kullanılarak taze ve kurutulmuş *P. kesrouanensis* bitkisi için 1/9 (bitki/AgNO<sub>3</sub>) oranında, *R. ribes* bitkisi için 1/3 (bitki/AgNO<sub>3</sub>) oranında 37 °C'de sentezlenmiştir. pH değeri NP'lerin oluşumu üzerindeki en önemli faktörlerden biridir. Bu kapsamda deneyde kullanılan bitkilerin kendi pH değerlerinde NP oluşumunu değerlendirmek için pH'da herhangi bir değişiklik yapılmamıştır. Biyosentez aşamalarında kullanılan bitki ekstraktları pH değerlerinde farklılık göstermiştir. Taze *P. kesrouanensis* bitki ekstraktları için gövde pH değeri 6.10 ve yaprak pH'sı ise 5.98 olurken *R. ribes* bitkisinde ise pH 3.15 olmuştur. Kurutulmuş örneklerde ise *P. kesrouanensis* gövde pH'sı 6.20 ve yaprak pH'sı 6.07 olurken *R. ribes* pH'sı 3.30 olarak elde edilmiştir. Ag-NP oluşumunu gösteren kıvılcak-kahve-gri renk değişimi *P. kesrouanensis* 'nde ilk 15 dk içinde gerçekleşirken, *R. ribes* bitki ekstraktının oldukça asidik pH'ya sahip olması reaksiyon süresini uzatmış ve ilk 6. saatten sonra renk değişimi meydana gelmiştir. Çalışmada asidik ortamın Ag-NP oluşumu için reaksiyon süresinin uzattığı ve boyut aralığını arttırdığı görülmüştür. Bununla birlikte bitkilerin kuru ve taze haldeki tüm bölümlerinden Ag-NP başarılı bir şekilde sentezlenmiştir.

İkinci bölümde liyofilizasyonda kurutularak elde edilen NP'lerin boyutları, şekilleri, stabiliteyi, kristal yapıları, zeta potansiyelleri ve Ag-NP'lerin indirgeyici, kaplayıcı ve stabilize edici ajan olarak etki eden bitki biyomolekülleri TEM, SEM, XRD, DLS, FT-IR, yöntemleriyle karakterize edildi. Bu sonuçlara göre kurutulmuş *P. kesrouanensis* ve *R. ribes* gövde ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin sahip oldukları dar boyut dağılımı, yüksek stabilite ve kristal yapılarındaki kirliliğin az olması gibi nedenlerden ötürü diğer bitkilere kıyasla Ag NP'nin yeşil sentezi için daha uygun olduğu görülmüştür.

Üçüncü bölümde kurutulmuş *P. kesrouanensis* ve *R.ribes* gövde ekstraktından elde edilen Ag-NP'lerin akuatik toksisitesini değerlendirmek için zooplankton türlerinden olan ve tuzlu suda yaşayan *A. salina* organizmaları kullanıldı. Belirli sayıda *A. salina* üzerine kontrol grubu hariç 6 farklı konsantrasyonda Ag-NP'ler 24, 48, 72 saat süreyle 3 tekrarlı olacak şekilde toksisite deneyi başarılı bir şekilde uygulandı. Elde edilen her iki NP'de birikimin konsantrasyon artışına bağlı olarak arttığı görüldü. Her iki NP'de maruziyet süresi arttıkça birikim azaldı. Uygulama yapılan tüm organizmalarda vücuda alınan NP'lerin eliminasyon analiziyle %20-30 arasını vücudundan uzaklaştırıldığı belirlendi. Yaşam oranları incelendiğinde 72. saatte ve yüksek konsantrasyonlarda birey sayısında önemli bir azalma olduğu görüldü. Bu azalma *R.ribes* 'den elde edilen Ag-NP uygulanan bireylerde daha fazla olmuştur. Deniz suyu ortamında bulunan Ag-NP'lerin ortama metal iyon salımları ICP-MS analiziyle incelenmiş, süre artışına ve konsantrasyon artışına bağlı Ag<sup>+</sup> iyon salımı artmıştır.

Dördüncü bölümde ise Ag-NP'lerin hücre kültür ortamında HUVEC hücresi ile etkileşimi MTT analizi ile incelenmiştir. HUVEC hücrelerinin proliferasyon eğrileri MTT yöntemi ile çıkartılmıştır. *P. kesrouanensis* 'den elde edilen Ag-NP'ler 50 µg/mL'de %45.7, 100 µg/mL'de ise %87.3 oranında, *R.ribes* dan elde edilen Ag-NP'ler ise 50 µg/mL'de %12.1, 100 µg/mL'de %83.4 oranında, sitotoksik etki göstermiştir. Her iki NP 100 µg/mL'de oldukça sitotoksik etki gösterirken 1 ve 5 µg/mL'de hücrelerle biyouyumlu olduğu görülmüştür.

## 6. KAYNAKLAR

- Adams, F. C. ve Barbante, C. 2013. Nanoscience, nanotechnology and spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 86, 3-13.
- Ahamed, M., Khan, M. M., Siddiqui, M. K. J., AlSalhi, M. S. ve Alrokayan, S. A. 2011. Green synthesis, characterization and evaluation of biocompatibility of silver nanoparticles. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 43(6), 1266-1271
- Ahmad, A., Syed, F., Shah, A., Khan, Z., Tahir, K., Khan, A. U. . ve Yuan, Q. (2015). Silver and gold nanoparticles from *Sargentodoxa cuneata*: synthesis, characterization and antileishmanial activity. *RSC Advances*, 5(90), 73793-73806.
- Ahmed, K.B.R., Nagy, A.M., Brown, R.P., Zhang, Q., Malghan, S.G. ve Goering, P.L. 2016." Silver nanoparticles: Significance of physicochemical properties and assay interference on the interpretation of in vitro cytotoxicity studies", *Toxicology in Vitro*, 38, 179–192.
- Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L ve Ikram, S. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(1), 1-7.
- Ahmed, S., Manzoor, K. ve Ikram, S. (2016). Synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Crotalaria retusa* as antimicrobial green catalyst. *Journal of Bionanoscience*, 10(4), 282-287.
- Alagarsi A. 2011. *Introduction to nanomaterials*. USA
- Alanazi, F. K., Radwan, A. A. ve Alsarra, I. A. (2010). Biopharmaceutical applications of nanogold. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 18(4), 179-193.
- Ali, S., Khan, I., Khan, S. A., Sohail, M., Ahmed, R., ur Rehman, A. ve Morsy, M. A. (2017). Electrocatalytic performance of Ni@ Pt core–shell nanoparticles supported on carbon nanotubes for methanol oxidation reaction. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 795, 17-25.
- Allhoff, F., Lin, P. ve Moore, D. *What is nanotechnology and why does it matter?: from science to ethics*. 2010. Chichester, UK.
- Al-Mubaddel, F. S., Haider, S., Al-Masry, W. A., Al-Zeghayer, Y., Imran, M., Haider, A. ve Ullah, Z. 2017. Engineered nanostructures: A review of their synthesis, characterization and toxic hazard considerations. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S376-S388.
- Alsammarraie, F. K., Wang, W., Zhou, P., Mustapha, A. ve Lin, M. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using turmeric extracts and investigation of their antibacterial activities. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 171, 398-405.
- Alvarez, M. M., Khoury, J. T., Schaaff, T. G., Shafigullin, M. N., Vezmar, I. ve Whetten, R. L. 1997. Optical absorption spectra of nanocrystal gold molecules. *The Journal of Physical Chemistry B*, 101(19), 3706-3712.
- Anigol, L. B., Charantimath, J. S. ve Gurubasavaraj, P. M. 2017. Effect of concentration and ph on the size of silver nanoparticles synthesized by green chemistry. *Organic Medicinal Chem*, 3(5), 1-5.
- Annavaram, V., Posa, V. R., Uppara, V. G., Jorepalli, S. ve Somala, A. R. (2015). Facile

- green synthesis of silver nanoparticles using *Limonia acidissima* leaf extract and its antibacterial activity. *BioNanoScience*, 5(2), 97-103.
- Anonim, 2019. Salt Stability of Nanoparticles. <https://nanocomposix.com/pages/salt-stability-of-nanoparticles>. (02.01.2019).
- Anonim 2004. Nanoscience and Nanotechnologies: Opportunities and Uncertainties: Summary and Recommendations. Royal Society.
- Anonim 2019. zeta-potential nanoparticle analysis <https://nanocomposix.com/products/?variant=14138179780> (09.01.2019)
- Anonim 2019. <https://nanocomposix.com/pages/silver-nanoparticles-optical-properties>. (02.01.2019)
- Anonim, 2011. Nanomaterials. <https://ninithi.wordpress.com>. (09.07.2018)
- Anonim, 2011. Nanoteknolojinin Tarihi. <http://www.kuark.org>. (08.07.2018)
- Anooj, E.S., Gopukumar, S.T., Praseetha, ve P. K. 2017. Synthesis and characterization of carbon based nanostructures from natural resources. *Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences*, 8(3): 4268-427
- Arokiyaraj, S., Arasu, M. V., Vincent, S., Prakash, N. U., Choi, S. H., Oh, Y. K. ve Kim, K. H. 2014. Rapid green synthesis of silver nanoparticles from *Chrysanthemum indicum* L and its antibacterial and cytotoxic effects: an in vitro study. *International journal of nanomedicine*, 9, 379.
- Arulvasu, C., Jennifer, S. M., Prabhu, D. ve Chandhirasekar, D. 2014. Toxicity effect of silver nanoparticles in brine shrimp *Artemia*. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Arya, A., Mishra, V. ve Chundawat, T. S. 2019. Green Synthesis of Silver Nanoparticles from Green Algae (*Botryococcus braunii*) and its Catalytic Behavior for the Synthesis of Benzimidazoles. *Chemical Data Collections*, 100190.
- AshaRani, P. V., Mun, G. K., Hande, M. P. ve Valiyaveetil, S. 2009. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanomaterials. In *Proceedings of Technical Proceedings of the 2009 NSTI Nanotechnology Conference and Expo NSTI-Nanotech* (pp. 383-386).
- Asharani, P. V., Wu, Y. L., Gong, Z. ve Valiyaveetil, S. 2008. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. *Nanotechnology* 19, 255102 (8pp)
- Ateş, H. 2015. Nano partiküller ve nano teller. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi Part C: Tasarım ve Teknoloji*, 3(1), 437-442.
- Ateş, M. 2018. NPLarın Ölçme ve İnceleme Teknikleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 11(1), 63-69.
- Awwad, A. M., Salem, N. M. ve Abdeen, A. O. 2012. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Olea europaea* leaves extract and its antibacterial activity. *Nanosci Nanotechnol*, 2(6), 164-170
- Bae, S., Kim, H., Lee, Y., Xu, X., Park, J. S., Zheng, Y. ve Kim, Y. J. 2010. Roll-to-roll production of 30-inch graphene films for transparent electrodes. *Nature nanotechnology*, 5(8), 574.
- Behravan, M., Panahi, A. H., Naghizadeh, A., Ziaee, M., Mahdavi, R. ve Mirzapour, A. 2019. Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Berberis vulgaris* leaf and root aqueous extract and its antibacterial activity. *International journal of biological macromolecules*, 124, 148-154.
- Benelmekki, M. 2015. An introduction to nanoparticles and nanotechnology. In *Designing Hybrid Nanoparticles*. Morgan Claypool Publishers.
- Berk, S. ve Akkurt, İ. 2012. Nanopartikül: Geleceğin korkulu rüyası. *Tuberk Toraks*, 60(2), 180-4.

- Beyene, H. D., Werkneh, A. A., Bezaab, H. K. ve Ambaye, T. G. 2017. Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (Ag-NPs), a review. *Sustainable materials and technologies*, 13, 18-23.
- Bharathi, D., Josebin, M. D., Vasantharaj, S. ve Bhuvaneshwari, V. 2018. Biosynthesis of silver nanoparticles using stem bark extracts of *Diospyros montana* and their antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 8(1), 83-92.
- Bhatia, S. 2016. Nanoparticles types, classification, characterization, fabrication methods and drug delivery applications. In *Natural polymer drug delivery systems* (pp. 33-93). Springer, Cham.
- Bindhani, B. K. ve Panigrahi, A. K. 2015. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles (SNPs) by using leaf extracts of *Ocimum Sanctum L* (Tulsi) and study of its antibacterial activities. *Journal of Nanomedicine Nanotechnology*, (S6), 1.
- Blanco-Andujar, C., Tung, L.D. ve Thanh, NTK. 2010. Synthesis of nanoparticles for biomedical applications. *Annual Reports Section "A" (Inorganic Chemistry)*. 106:553–568.
- Boverhof, D. R., Bramante, C. M., Butala, J. H., Clancy, S. F., Lafranconi, M., West, J. ve Gordon, S. C. 2015. Comparative assessment of nanomaterial definitions and safety evaluation considerations. *Regulatory toxicology and pharmacology*, 73(1), 137-150.
- Brar, S. K. ve Verma, M. 2011. Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(1), 4-17.
- Büyüksırt, T. ve Kuleaşan, H. 2015. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Gıda Analizlerinde Kullanımı. *GIDA*, 39(4), 235-241.
- C Thomas, S., Kumar Mishra, P. ve Talegaonkar, S. 2015. Ceramic nanoparticles: fabrication methods and applications in drug delivery. *Current pharmaceutical design*, 21(42), 6165-6188.
- Chen, X. ve Schluesener, H. J. 2008. Nanogümüş: a nanoparticle in medical application. *Toxicology letters*, 176(1), 1-12.
- Cheng, F., Betts, J. W., Kelly, S. M. ve Hector, A. L. 2015. Green synthesis of highly concentrated aqueous colloidal solutions of large starch-stabilised silver nanoplatelets. *Materials Science and Engineering: C*, 46, 530-537.
- Cho, K. H., Park, J. E., Osaka, T. ve Park, S. G. 2005. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanogümüş ingredient. *Electrochimica Acta*, 51, 956–960.
- Christensen, L., Vivekanandhan, S., Misra, M. ve Mohanty, A. K. 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles using *murraya koenigii* (curry leaf): an investigation on the effect of broth concentration in reduction mechanism and particle size. *Advanced Materials Letters*, 2(6), 429-434.
- Chunfa, D., Fei, C., Xianglin, Z., Xiangjie, W., Xiuzhi, Y. ve Bin, Y. 2018. Rapid and green synthesis of monodisperse silver nanoparticles using mulberry leaf extract. *Rare Metal Materials and Engineering*, 47(4), 1089-1095.
- Clogston, J. D. ve Patri, A. K. 2011. Zeta potential measurement. In *Characterization of nanoparticles intended for drug delivery* (pp. 63-70). Humana Press.
- Corciova, A. ve Ivanescu, B. 2018. Biosynthesis, characterization and therapeutic applications of plant-mediated silver nanoparticles. *J. Serb. Chem. Soc.*, 83(5), 515-538.

- Dahl, J. A., Maddux, B. L. ve Hutchison, J. E. 2007. Toward greener nanosynthesis. *Chemical reviews*, 107(6), 2228-2269.
- Dare, E. O., Makinde, O. W., Ogundele, K. T., Osinkolu, G. A., Fasasi, Y. A., Sonde, I. ve Adewoye, O. O. 2012. Zinc-Salt-Mediated Synthesis, Growth Kinetic, and Shaped Evolution of Silver Nanoparticles. *ISRN Nanomaterials*, 2012.
- Das, J., Das, M. P. ve Velusamy, P. 2013. *Sesbania grandiflora* leaf extract mediated green synthesis of antibacterial silver nanoparticles against selected human pathogens. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 104, 265-270.
- Das, R., Nath, S. S., Chakdar, D., Gope, G. ve Bhattacharjee, R. 2010. Synthesis of silver nanoparticles and their optical properties. *Journal of Experimental Nanoscience*, 5(4), 357-362.
- De Jesús Ruíz-Baltazar, Á., Reyes-López, S. Y., Larrañaga, D., Estévez, M. ve Pérez, R. 2017. Green synthesis of silver nanoparticles using a *Melissa officinalis* leaf extract with antibacterial properties. *Results in physics*, 7, 2639-2643.
- De Matteis, V. ve Rinaldi, R. 2018. Toxicity assessment in the nanoparticle era. In *Cellular and Molecular Toxicology of Nanoparticles* (pp. 1-19). Springer, Cham.
- Devanesan, S., AlSalhi, M. S., Balaji, R. V., Ranjitsingh, A. J. A., Ahamed, A., Alfuraydi, A. A. ve Othman, A. H. 2018. Antimicrobial and Cytotoxicity Effects of Synthesized Silver Nanoparticles from *Punica granatum* Peel Extract. *Nanoscale research letters*, 13(1), 315.
- Dhand, V., Soumya, L., Bharadwaj, S., Chakra, S., Bhatt, D. ve Sreedhar, B. 2016. Green synthesis of silver nanoparticles using *Coffea arabica* seed extract and its antibacterial activity. *Materials Science and Engineering: C*, 58, 36-43.
- Dhillon, G.S., Brar, S.K., Kaur, S. ve Verma, M., 2012. Green approach for nanoparticle biosynthesis by fungi: current trends and applications. *Crit. Rev. Biotechnol.* 32, 49-73.
- Dreaden, E. C., Alkilany, A. M., Huang, X., Murphy, C. J. ve El-Sayed, M. A. 2012. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2740-2779.
- Dreaden, E. C., Alkilany, A. M., Huang, X., Murphy, C. J. ve El-Sayed, M. A. 2012. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2740-2779.
- Dudkiewicz, A., Tiede, K., Loeschner, K., Jensen, L. H. S., Jensen, E., Wierzbicki, R. ve Molhave, K. 2011. Characterization of nanomaterials in food by electron microscopy. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(1), 28-43.
- Dwivedi, A. D. ve 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.
- El Badawy, A. M., Silva, R. G., Morris, B., Scheckel, K. G., Suidan, M. T. ve Tolaymat, T. M. 2010. Surface charge-dependent toxicity of silver nanoparticles. *Environmental science technology*, 45(1), 283-287.
- Elemike, E. E., Onwudiwe, D. C., Arijeh, O. ve Nwankwo, H. U. 2017. Plant-mediated biosynthesis of silver nanoparticles by leaf extracts of *Lasienthra africanum* and a study of the influence of kinetic parameters. *Bulletin of Materials Science*, 40(1), 129-137
- El-Nour, K. M. A., Eftaiha, A. A., Al-Warthan, A. ve Ammar, R. A. 2010. Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arabian journal of chemistry*, 3(3), 135-140.

- Erjaee, H., Rajaian, H. ve Nazifi, S. 2017. Synthesis and characterization of novel silver nanoparticles using *Chamaemelum nobile* extract for antibacterial application. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 8(2), 025004.
- Evanoff Jr, D. D. ve Chumanov, G. 2005. Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays. *ChemPhysChem*, 6(7), 1221-1231.
- Fayaz, A. M., Balaji, K., Kalaichelvan, P. T. ve Venkatesan, R. 2009. Fungal based synthesis of silver nanoparticles—an effect of temperature on the size of particles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74(1), 123-126.
- Fedotov, P. S., Vanifatova, N. G., Shkinev, V. M. ve Spivakov, B. Y. 2011. Fractionation and characterization of nano- and microparticles in liquid media. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 400(6), 1787-1804.
- Feldman, M. 2014. *Nanolithography: the art of fabricating nanoelectronic and nanophotonic devices and systems*. Woodhead publishing. USA
- Fissan, H., Ristig, S., Kaminski, H., Asbach, C. ve Epple, M. 2014. Comparison of different characterization methods for nanoparticle dispersions before and after aerosolization. *Analytical Methods*, 6(18), 7324-7334
- Gan, P.P. ve Li, S.F.Y. 2012. Potential of plant as a biological factory to synthesize gold and silver nanoparticles and their applications. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 11, 169–206.
- Ge, L., Li, Q., Wang, M., Ouyang, J., Li, X. ve Xing, M. M. 2014. Nanogümüş particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. *International journal of nanomedicine*, 9, 2399.
- Gengan, R. M., Anand, K., Phulukdaree, A. ve Chuturgoon, A. 2013. A549 lung cell line activity of biosynthesized silver nanoparticles using *Albizia adianthifolia* leaf. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 105, 87-91.
- Gleiter, H. (2000). *Nanostructured materials: basic concepts and microstructure*. *Acta materialia*, 48(1), 1-29.
- Gopinath, V., MubarakAli, D., Priyadarshini, S., Priyadharsshini, N. M., Thajuddin, N. ve Velusamy, P. 2012. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Tribulus terrestris* and its antimicrobial activity: a novel biological approach. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 96, 69-74.
- Griffitt, R. J., Luo, J., Gao, J., Bonzongo, J. C. ve Barber, D. S. 2008. Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(9), 1972-1978.
- Gurav, A. S., Kodas, T. T., Wang, L. M., Kauppinen, E. I. ve Joutsensaari, J. 1994. Generation of nanometer-size fullerene particles via vapor condensation. *Chemical Physics Letters*, 218(4), 304-308.
- Gurunathan, S., Han, J. W., Kim, E. S., Park, J. H. ve Kim, J. H. 2015. Reduction of graphene oxide by resveratrol: A novel and simple biological method for the synthesis of an effective anticancer nanotherapeutic molecule. *International journal of nanomedicine*, 10, 2951.
- Hall, J. B., Dobrovolskaia, M. A., Patri, A. K. ve McNeil, S. E. 2007. Characterization of nanoparticles for therapeutics.
- Harris, P. J. (2004). Carbon nanotube composites. *International Materials Reviews*, 49(1), 31-43.
- Huang, J., Li, Q., Sun, D., Lu, Y., Su, Y., Yang, X. ve Hong, J. 2007. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf. *Nanotechnology*, 18(10), 105104.



- Huang, J., Zhan, G., Zheng, B., Sun, D., Lu, F., Lin, Y. ve Li, Q. 2011. Biogenic silver nanoparticles by *Cacumen platycladi* extract: synthesis, formation mechanism, and antibacterial activity. *Industrial Engineering Chemistry Research*, 50(15), 9095-9106.
- Huang, L., Wang, H., Wang, Z., Mitra, A., Zhao, D. ve Yan, Y. 2002. Cuprite nanowires by electrodeposition from lyotropic reverse hexagonal liquid crystalline phase. *Chemistry of materials*, 14(2), 876-880.
- Ibrahim, K. S. (2013). Carbon nanotubes-properties and applications: a review. *Carbon letters*, 14(3), 131-144.
- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638-2650.
- Iravani, S. ve Zolfaghari, B. 2013. Green synthesis of silver nanoparticles using *Pinus eldarica* bark extract. *BioMed research international*, 2013.
- Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V. ve Zolfaghari, B. 2014. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Research in pharmaceutical sciences*, 9(6), 385.
- Jacob, S. J. P., Finub, J. S. ve Narayanan, A. 2012. Synthesis of silver nanoparticles using *Piper longum* leaf extracts and its cytotoxic activity against Hep-2 cell line. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 91, 212-214.
- Jain, S. ve Mehata, M. S. 2017. Medicinal plant leaf extract and pure flavonoid mediated green synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial property. *Scientific reports*, 7(1), 15867.
- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A. ve Danquah, M. K. 2018. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein journal of nanotechnology*, 9(1), 1050-1074.
- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A. ve Danquah, M. K. 2018. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein journal of nanotechnology*, 9(1), 1050-1074.
- Jeyaraj, M., Rajesh, M., Arun, R., MubarakAli, D., Sathishkumar, G., Sivanandhan, G. ve Ganapathi, A. 2013. An investigation on the cytotoxicity and caspase-mediated apoptotic effect of biologically synthesized silver nanoparticles using *Podophyllum hexandrum* on human cervical carcinoma cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102, 708-717.
- Jeyaraj, M., Sathishkumar, G., Sivanandhan, G., MubarakAli, D., Rajesh, M., Arun, R. ve Ganapathi, A. 2013. Biogenic silver nanoparticles for cancer treatment: an experimental report. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 106, 86-92.
- Jun, Y. W., Seo, J. W., Oh, S. J. ve Cheon, J. 2005. Recent advances in the shape control of inorganic nano-building blocks. *Coordination Chemistry Reviews*, 249(17-18), 1766-1775.
- Jyoti, K., Baunthiyal, M. ve Singh, A. 2016. Characterization of silver nanoparticles synthesized using *Urtica dioica* Linn. leaves and their synergistic effects with antibiotics. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(3), 217-227.
- Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L. ve Schatz, G. C. 2003. The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment.
- Khalil, M. M., Ismail, E. H., El-Baghdady, K. Z. ve Mohamed, D. 2014. Green synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and its antibacterial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(6), 1131-1139.
- Khan, M., Khan, M., Adil, S. F., Tahir, M. N., Tremel, W., Alkathlan, H. Z. ve Siddiqui,

- M. R. H. 2013. Green synthesis of silver nanoparticles mediated by *Pulicaria glutinosa* extract. *International journal of nanomedicine*, 8, 1507.
- Khan, M. A., Khan, T. ve Nadhman, A. 2016. Applications of plant terpenoids in the synthesis of colloidal silver nanoparticles. *Advances in colloid and interface science*, 234, 132-141.
- Khan, W. S., Hamadneh, N. N. ve Khan, W. A. 2016. Polymer nanocomposites–synthesis techniques, classification and properties. *Science and applications of Tailored Nanostructures: One Central Press (OCP)*.
- Kılıç, G. B. ve Karahan, A. G. 2010. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Laktik Asit Bakterilerinin Tanısında Kullanılması. *GIDA/THE JOURNAL OF FOOD*, 35(6), 445-452.
- Kim, H. R., Kim, M. J., Lee, S. Y., Oh, S. M. ve Chung, K. H. 2011. "Genotoxic effects of silver nanoparticles stimulated by oxidative stress in human normal bronchial epithelial (BEAS-2B) cells", *Mutation Research* 726, 129– 135.
- Kim, K. S., Zhao, Y., Jang, H., Lee, S. Y., Kim, J. M., Kim, K. S. ve Hong, B. H. 2009. Large-scale pattern growth of graphene films for stretchable transparent electrodes. *nature*, 457(7230), 706.
- Kim, S., Choi, J. E., Choi, J., Chung, K.H., Park, K., Yi, J. ve Ryu, D. Y. 2009. "Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells", *Toxicology in Vitro*, 23, 1076–1084.
- Kim, Y. T., Han, J. H., Hong, B. H. ve Kwon, Y. U. 2010. Electrochemical deposition of CdSe quantum dot arrays on large-scale graphene electrodes using mesoporous silica thin film templates. *Adv. Mater*, 22, 515-518.
- Krishnaraj, C., Jagan, E. G., Rajasekar, S., Selvakumar, P., Kalaichelvan, P. T. ve Mohan, N. J. C. S. B. B. 2010. Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 76(1), 50-56.
- Krishnaraj, C., Ramachandran, R., Mohan, K. ve Kalaichelvan, P. T. 2012. Optimization for rapid synthesis of silver nanoparticles and its effect on phytopathogenic fungi. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 93, 95-99.
- Kroto, H. W., Heath, J. R., O'Brien, S. C., Curl, R. F. ve Smalley, R. E. 1985. C<sub>60</sub>: Buckminsterfullerene. *Nature*, 318(6042), 162.
- Kuchibhatla, S. V. N. T., Karakoti, A. S., Bera, D. ve Seal, S. 2007. ZnO nanobelt/nanowire schottky diodes formed by dielectrophoresis alignment across au electrodes. *Prog. Mater. Sci.*, 52, 699-913.
- Kumar, N. ve Kumbhat, S. 2016. *Essentials in nanoscience and nanotechnology*.
- Kumar, R., Ghoshal, G., Jain, A. ve Goyal, M. 2017. Rapid Green synthesis of silver nanoparticles (Ag-NPs) using (*Prunus persica*) plants extract: Exploring its antimicrobial and catalytic activities. *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*, 8(452).
- Kumar, V. ve Yadav, S. K. 2012. Synthesis of different-sized silver nanoparticles by simply varying reaction conditions with leaf extracts of *Bauhinia variegata* L. *IET nanobiotechnology*, 6(1), 1-8.
- Kumar, V. ve Yadav, S.K. 2009. Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 84, 151–157.
- Küçükıldırım, B. O. ve Eker, A. A. 2012. Karbon nanotüpler, sentezleme yöntemleri ve kullanım alanları. *Engineer the Machinery Magazine*, (630).

- Kvítek, O., Siegel, J., Hnatowicz, V. ve Švorčík, V. 2013. Noble metal nanostructures influence of structure and environment on their optical properties. *Journal of Nanomaterials*, 2013, 111.
- Lalitha, A., Subbaiya, R. ve Ponmurugan, P. 2013. Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extract *Azadirachta indica* and to study its anti-bacterial and antioxidant property. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 2(6), 228-235.
- Lee, W., Kang, S. H., Kim, J. Y., Kolekar, G. B., Sung, Y. E. ve Han, S. H. 2009. TiO<sub>2</sub> nanotubes with a ZnO thin energy barrier for improved current efficiency of CdSe quantum-dot-sensitized solar cells. *Nanotechnology*, 20(33), 335706.
- Li, G. R., Feng, Z. P., Zhong, J. H., Wang, Z. L. ve Tong, Y. X. 2010. Electrochemical synthesis of polyaniline nanobelts with predominant electrochemical performances. *Macromolecules*, 43(5), 2178-2183.
- Lin, P. C., Lin, S., Wang, P. C. ve Sridhar, R. 2014. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnology advances*, 32(4), 711-726.
- Link, S. ve El-Sayed, M. A. 2000. Shape and size dependence of radiative, non-radiative and photothermal properties of gold nanocrystals. *International reviews in physical chemistry*, 19(3), 409-453.
- Liu, H., Zhang, H., Wang, J. ve Wei, J. 2017. Effect of temperature on the size of biosynthesized silver nanoparticle: Deep insight into microscopic kinetics analysis. *Arabian Journal of Chemistry*.
- López-Miranda, J. L., Vázquez, M., Fletes, N., Esparza, R. ve Rosas, G. 2016. Biosynthesis of silver nanoparticles using a *Tamarix gallica* leaf extract and their antibacterial activity. *Materials Letters*, 176, 285-289.
- Luangpipat, T., Beattie, I.R., Chisti, Y. ve Haverkamp, R.G. 2011. Gold nanoparticles produced in a microalga. *J. Nanopart. Res.* 13, 6439–6445.
- Mabena, L. F., Ray, S. S., Mhlanga, S. D. ve Coville, N. J. 2011. Nitrogen-doped carbon nanotubes as a metal catalyst support. *Applied Nanoscience*, 1(2), 67-77.
- Magnusson, M. H., Deppert, K., Malm, J. O., Bovin, J. O. ve Samuelson, L. 1999. Size selected gold nanoparticles by aerosol technology. *Nanostructured Materials*, 12(1-4), 45-48.
- Manikandan, R., Anjali, R., Beulaja, M., Prabhu, N. M., Koodalingam, A., Saiprasad, G. ve Arumugam, M. 2019. Synthesis, characterization, anti-proliferative and wound healing activities of silver nanoparticles synthesized from *Caulerpa scalpelliformis*. *Process Biochemistry*.
- Manikprabhu, D. ve Lingappa, K. 2014. Synthesis of silver nanoparticles using the *Streptomyces coelicolor* klmp33 pigment: an antimicrobial agent against extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli*. *Materials Science and Engineering: C*, 45, 434-437.
- Manivasagan, P., Venkatesan, J., Senthilkumar, K., Sivakumar, K. ve Kim, S. K. 2013. Biosynthesis, antimicrobial and cytotoxic effect of silver nanoparticles using a novel *Nocardiosis* sp. MBRC-1. *BioMed research international*, 2013.
- Mansha, M., Khan, I., Ullah, N. ve Qurashi, A. 2017. Synthesis, characterization and Visible-light-driven photoelectrochemical hydrogen evolution reaction of carbazole-containing conjugated polymers. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(16), 10952-10961.
- Jain, S. ve Mehata, M. S. 2017. Medicinal plant leaf extract and pure flavonoid mediated green synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial property. *Scientific reports*, 7(1), 15867.

- Marambio-Jones, C.M. ve Hoek, E. M. V. 2010. "A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment", *J Nanopart Res*, 12:1531–1551.
- Mehta, B. K., Chhajlani, M. ve Shrivastava, B. D. 2017. Green synthesis of silver nanoparticles and their characterization by XRD. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 836, No. 1, p. 012050). IOP Publishing.
- Mittal, A.K., Kaler, A. ve Banerjee, U.C., 2012. Free radical scavenging and antioxidant activity of silver nanoparticles synthesized from flower extract of *Rhododendron dauricum*. *Nano Biomed. Eng.* 4, 118–124.
- Moore, K. 2006. A new silver dressing for wounds with delayed healing. *WOUNDS UK*, 2(2), 70.
- Moran, J. F., Klucas, R. V., Grayer, R. J., Abian, J. ve Becana, M. 1997. Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: prooxidant and antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(5), 861-870.
- Moulton, M. C., Braydich-Stolle, L. K., Nadagouda, M. N., Kunzelman, S., Hussain, S. M. ve Varma, R. S. 2010. Synthesis, characterization and biocompatibility of "green" synthesized silver nanoparticles using tea polyphenols. *Nanoscale*, 2(5), 763-770.
- Mukherjee, P., Ahmad, A., Mandal, D., Senapati, S., Sainkar, S. R., Khan, M. I. ve Sastry, M. 2001. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: a novel biological approach to nanoparticle synthesis. *Nano Letters*, 1(10), 515-519.
- Mukherjee, S., Chowdhury, D., Kotcherlakota, R. ve Patra, S. 2014. Potential theranostics application of bio-synthesized silver nanoparticles (4-in-1 system). *Theranostics*, 4(3), 316.
- Murdock, R. C., Braydich-Stolle, L., Schrand, A. M., Schlager, J. J. ve Hussain, S. M. 2008. Characterization of nanomaterial dispersion in solution prior to in vitro exposure using dynamic light scattering technique. *Toxicological sciences*, 101(2), 239-253.
- Nabikhan, A., Kandasamy, K., Raj, A. ve Alikunhi, N. M. 2010. Synthesis of antimicrobial silver nanoparticles by callus and leaf extracts from saltmarsh plant, *Sesuvium portulacastrum* L. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 79(2), 488-493.
- Ngoy, J. M., Wagner, N., Riboldi, L ve Bolland, O. (2014). A CO<sub>2</sub> capture technology using multi-walled carbon nanotubes with polyaspartamide surfactant. *Energy Procedia*, 63, 2230-2248.
- Nguyen, D. T., Kim, D. J., So, M. G. ve Kim, K. S. 2010. Experimental measurements of gold nanoparticle nucleation and growth by citrate reduction of H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>. *Advanced Powder Technology*, 21(2), 111-118.
- Njagi, E. C., Huang, H., Stafford, L., Genuino, H., Galindo, H. M., Collins, J. B. ve Suib, S. L. 2010. Biosynthesis of iron and silver nanoparticles at room temperature using aqueous sorghum bran extracts. *Langmuir*, 27(1), 264-271.
- Note, C., Kosmella, S. ve Koetz, J. 2006. Poly (ethyleneimine) as reducing and stabilizing agent for the formation of gold nanoparticles in w/o microemulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 290(1-3), 150-156.
- Nowack, B., Krug, H. F. ve Height, M. 2011. "120 Years of Nanogümüş History: Implications for Policy Makers", *Environ. Sci. Technol*, 45, 1177–1183.

- OECD. 2004. "Guideline for testing of chemicals- D. magna sp. acute immobilisation test". 202 of toxicity and oxidative stress induced by copper oxide nanoparticles in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Aquatic Toxicology*, 143, 431e440.
- Okada, T., Kawashima, K., Nakata, Y. ve Ning, X. 2005. Synthesis of ZnO nanorods by laser ablation of ZnO and Zn targets in He and O<sub>2</sub> background gas. *Japanese journal of applied physics*, 44(1S), 688.
- Oliveira, E. C. D., Pires, C. T. ve Pastore, H. O. 2006. Why are carbon molecular sieves interesting?. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17(1), 16-29.
- Oliveira, J. P., Prado, A. R., Keijok, W. J., Ribeiro, M. R., Pontes, M. J., Nogueira, B. V. ve Guimarães, M. C. 2017. A helpful method for controlled synthesis of monodisperse gold nanoparticles through response surface modeling. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Orbaek, A. W., McHale, M. M. ve Barron, A. R. 2014. Synthesis and characterization of silver nanoparticles for an undergraduate laboratory. *Journal of Chemical Education*, 92(2), 339-344.
- Özcan, Y. (2014). *Katkısız ve Katkılı CdTe İnce Filmlerin Elektrik ve Fotoelektrik Özelliklerinin Araştırılması*
- Öztürk, M., Aydoğmus, Öztürk, F., Duru, M. E. ve Topcu, G. 2007. "Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant", *Food Chemistry*, 103, 623–630.
- Pal, S. L., Jana, U., Manna, P. K., Mohanta, G. P. ve Manavalan, R. 2011. Nanoparticle: An overview of preparation and characterization. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(6), 228-234.
- Pal, S., Tak, Y. K. ve Song, J. M. 2007. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73(6), 1712-1720.
- Pal, S., Tak, Y. K. ve Song, J. M. 2007. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73(6), 1712-1720.
- Paramasivam, G., Kannan, R., Paulraj, S. M. ve Pandiarajan, J. 2017. Green synthesis of silver nanoparticles from *Morinda tinctoria* Roxb and scrutiny of its multi facet on biomedical applications. *Pharmaceutical and Biological Evaluations*, 4(5), 222-233.
- Parthiban, E., Manivannan, N., Ramanibai, R. ve Mathivanan, N. 2019. Green synthesis of silver-nanoparticles from *Annona reticulata* leaves aqueous extract and its mosquito larvicidal and anti-microbial activity on human pathogens. *Biotechnology Reports*, 21, e00297.
- Paulkumar, K., Gnanajobitha, G., Vanaja, M., Rajeshkumar, S., Malarkodi, C., Pandian, K. ve Annadurai, G. 2014. Piper nigrum leaf and stem assisted green synthesis of silver nanoparticles and evaluation of its antibacterial activity against agricultural plant pathogens. *The Scientific World Journal*,
- Peng, H., Zhang, X., Wei, Y., Liu, W., Li, S., Yu, G., Fu, X., Cao, T. ve Deng, X. 2012. Cytotoxicity of Silver Nanoparticles in Human Embryonic Stem Cell-Derived Fibroblasts and an L-929 Cell Line. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Nanomaterials Volume*, Article ID 160145, 9 pages.

- Philip, D. 2011. *Mangifera indica* leaf-assisted biosynthesis of well-dispersed silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78(1), 327-331.
- Pileni, M. P. 1998. Optical properties of nanosized particles dispersed in colloidal solutions or arranged in 2D or 3D superlattices. *New Journal of Chemistry*, 22(7), 693-702.
- Pokropivny, V. V. ve Skorokhod, V. V. 2007. Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science. *Materials Science and Engineering: C*, 27(5-8), 990-993.
- Ponarulselvam, S., Panneerselvam, C., Murugan, K., Aarthi, N., Kalimuthu, K. ve Thangamani, S. 2012. Synthesis of silver nanoparticles using leaves of *Catharanthus roseus* Linn. G. Don and their antiplasmodial activities. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(7), 574-580.
- Pradhan, D. ve Leung, K. T. 2008. Vertical growth of two-dimensional zinc oxide nanostructures on ITO-coated glass: effects of deposition temperature and deposition time. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(5), 1357-1364.
- Prakash, P., Gnanaprakasam, P., Emmanuel, R., Arokiyaraj, S. ve Saravanan, M. 2013. Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extract of *Mimusops elengi*, Linn. for enhanced antibacterial activity against multi drug resistant clinical isolates. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 108, 255-259.
- Puchalski, M., Dąbrowski, P., Olejniczak, W., Krukowski, P., Kowalczyk, P. ve Polański, K. 2007. The study of silver nanoparticles by scanning electron microscopy, energy dispersive X-ray analysis and scanning tunnelling microscopy. *Materials Science-Poland*, 25(2), 473-478.
- Puri, A., Loomis, K., Smith, B., Lee, J. H., Yavlovich, A., Heldman, E. ve Blumenthal, R. 2009. Lipid-based nanoparticles as pharmaceutical drug carriers: from concepts to clinic. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 26(6).
- Pyatenko, A., Yamaguchi, M. ve Suzuki, M. 2007. Synthesis of spherical silver nanoparticles with controllable sizes in aqueous solutions. *The Journal of Physical Chemistry C*, 111(22), 7910-7917.
- Qian, H., Peng, X., Han, X., Ren, J., Sun, L. ve Fu, Z. 2013. Comparison of the toxicity of silver nanoparticles and silver ions on the growth of terrestrial plant model *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Environmental Sciences*, 25(9), 1947-1955
- Rafique, M., Sadaf, I., Rafique, M. S. ve Tahir, M. B. 2017. A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 45(7), 1272-1291.
- Raj, S., Mali, S. C. ve Trivedi, R. 2018. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Enicostemma axillare* (Lam.) leaf extract. *Biochemical and biophysical research communications*, 503(4), 2814-2819.
- Raja, S., Ramesh, V. ve Thivaharan, V. 2017. Green biosynthesis of silver nanoparticles using *Calliandra haematocephala* leaf extract, their antibacterial activity and hydrogen peroxide sensing capability. *Arabian journal of chemistry*, 10(2), 253-261.
- Rajan, R., Chandran, K., Harper, S. L., Yun, S. I. ve Kalaichelvan, P. T. 2015. Plant extract synthesized silver nanoparticles: an ongoing source of novel biocompatible materials. *Industrial Crops and Products*, 70, 356-373.
- Rajput, N. 2015. Methods of preparation of nanoparticles-A review. *International Journal of Advances in Engineering Technology*, 7(6), 1806.

- Ramteke, C., Chakrabarti, T., Sarangi, B. K. ve Pandey, R. A. 2012. Synthesis of silver nanoparticles from the aqueous extract of leaves of *Ocimum sanctum* for enhanced antibacterial activity. *Journal of chemistry*, 2013.
- Ramteke, C., Chakrabarti, T., Sarangi, B. K. ve Pandey, R. A. 2012. Synthesis of silver nanoparticles from the aqueous extract of leaves of *Ocimum sanctum* for enhanced antibacterial activity. *Journal of chemistry*, 2013.
- Ranoszek-Soliwoda, K., Tomaszewska, E., Malek, K., Celichowski, G., Orłowski, P., Krzyzowska, M. ve Grobelny, J. 2019. The synthesis of monodisperse silver nanoparticles with plant extracts. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*.
- Rao, B. ve Tang, R. C. 2017. Green synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activities using aqueous *Eriobotrya japonica* leaf extract. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 8(1), 015014.
- Rao, K. J. ve Paria, S. 2013. Green synthesis of silver nanoparticles from aqueous *Aegle marmelos* leaf extract. *Materials Research Bulletin*, 48(2), 628-634.
- Rao, Y. S., Kotakadi, V. S., Prasad, T. N. V. K. V., Reddy, A. V. ve Gopal, D. S. 2013. Green synthesis and spectral characterization of silver nanoparticles from *Lakshmi tulasi* (*Ocimum sanctum*) leaf extract. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 103, 156-159.
- Rasheed, T., Bilal, M., Iqbal, H. M. ve Li, C. 2017. Green biosynthesis of silver nanoparticles using leaves extract of *Artemisia vulgaris* and their potential biomedical applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 158, 408-415.
- Raut Rajesh, W., Lakkakula Jaya, R., Kolekar Niranjana, S., Mendhulkar Vijay, D. ve Kashid Sahebrao, B. 2009. Phytosynthesis of silver nanoparticle using *Gliricidia sepium* (Jacq.). *Current Nanoscience*, 5(1), 117-122.
- Ren, X., Zelenay, P., Thomas, S., Davey, J., Gottesfeld, S. (2000). Recent advances in direct methanol fuel cells at Los Alamos National Laboratory. *Journal of Power Sources*, 86(1-2), 111-116.
- Roduner, E. 2006. Size matters: why nanomaterials are different. *Chemical Society Reviews*, 35(7), 583-592.
- Roopan, S. M., Madhumitha, G., Rahuman, A. A., Kamaraj, C., Bharathi, A. ve Surendra, T. V. 2013. Low-cost and eco-friendly phyto-synthesis of silver nanoparticles using *Cocos nucifera* coir extract and its larvicidal activity. *Industrial Crops and Products*, 43, 631-635.
- Saeed, K. ve Khan, I. 2014. Preparation and properties of single-walled carbon nanotubes/poly (butylene terephthalate) nanocomposites. *Iranian Polymer Journal*, 23(1), 53-58.
- Sahu, N., Soni, D., Chandrashekar, B., Sarangi, B. K., Satpute, D. ve Pandey, R. A. 2013. Synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Cynodon dactylon* leaves and assessment of their antibacterial activity. *Bioprocess and biosystems engineering*, 36(7), 999-1004.
- Sankar, R., Karthik, A., Prabu, A., Karthik, S., Shivashangari, K. S. ve Ravikumar, V. 2013. *Origanum vulgare* mediated biosynthesis of silver nanoparticles for its antibacterial and anticancer activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 108, 80-84.
- Sapsford, K. E., Tyner, K. M., Dair, B. J., Deschamps, J. R. ve Medintz, I. L. 2011. Analyzing nanomaterial bioconjugates: a review of current and emerging purification and characterization techniques. *Analytical chemistry*, 83(12), 4453-4488

- Sarsar, V., Selwal, M. K. ve Selwel, K. K. 2014. Significant parameters in the optimization of biosynthesis of silver nanoparticles using *Psidium guajava* leaf extract and evaluation of their antimicrobial activity against human pathogenic bacteria. *Pharmanest*, 5(1), 1769-1775.
- Sastry, M., Patil, V. ve Sainkar, S. R. 1998. Electrostatically controlled diffusion of carboxylic acid derivatized silver colloidal particles in thermally evaporated fatty amine films. *the journal of physical chemistry B*, 102(8), 1404-1410.
- Sathishkumar, G., Gobinath, C., Karpagam, K., Hemamalini, V., Premkumar, K. ve Sivaramakrishnan, S. 2012. Phyto-synthesis of silver nanoscale particles using *Morinda citrifolia* L. and its inhibitory activity against human pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 95, 235-240.
- Sathishkumar, M., Sneha, K., Won, S. W., Cho, C. W., Kim, S. ve Yun, Y. S. 2009. Cinnamon zeylanicum bark extract and powder mediated green synthesis of nanocrystalline silver particles and its bactericidal activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 73(2), 332-338.
- Satyavani, K., Gurudeeban, S., Ramanathan, T. ve Balasubramanian, T. 2011. Biomedical potential of silver nanoparticles synthesized from calli cells of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. *Journal of nanobiotechnology*, 9(1), 43.
- Saxena, A., Tripathi, R. M., Zafar, F. ve Singh, P. 2012. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous solution of *Ficus benghalensis* leaf extract and characterization of their antibacterial activity. *Materials letters*, 67(1), 91-94.
- Schröfel, A. ve Kratošová, G. 2011. Biosynthesis of metallic nanoparticles and their applications. In *Intracellular Delivery* (pp. 373-409). Springer, Dordrecht.
- Sedighi, A. ve Montazer, M. 2016. Tunable shaped N-doped CuO nanoparticles on cotton fabric through processing conditions: synthesis, antibacterial behavior and mechanical properties. *Cellulose*, 23(3), 2229-2243.
- Shahverdi, A. R., Fakhimi, A., Shahverdi, H. R. ve Minaian, S. 2007. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3, 168–171.
- Shaik, M. R., Khan, M., Kuniyil, M., Al-Warthan, A., Alkhathlan, H. Z., Siddiqui, M. R. H. ve Adil, S. F. 2018. Plant-Extract-Assisted Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Origanum vulgare* L. Extract and Their Microbicidal Activities. *Sustainability*, 10(4), 913.
- Shameli, K., Ahmad, M. B., Shabanzadeh, P., Al-Mulla, E. A. J., Zamanian, A., Abdollahi, Y. ve Haroun, R. Z. 2014. Effect of *Curcuma longa* tuber powder extract on size of silver nanoparticles prepared by green method. *Research on Chemical Intermediates*, 40(3), 1313-1325.
- Shameli, K., Ahmad, M. B., Yunus, W. M. Z. W., Rustaiyan, A., Ibrahim, N. A., Zargar, M. ve Abdollahi, Y. 2010. Green synthesis of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites using the UV irradiation method and evaluation of antibacterial activity. *International journal of nanomedicine*, 5, 875.
- Shankar, D., Shobana, S., Karuppusamy, I., Pugazhendhi, A., S. R ve Vijayan, A., Sundaram, K. 2016. A review on the biosynthesis of metallic nanoparticles (gold and silver) using bio-components of microalgae: Formation mechanism and applications. *Enzyme and Microbial Technology*, 95, 28–44.
- Sharma, R. K., Tahiliani, S., Jain, N., Priyadarshi, R., Chhangani, S., Purohit, S. D. ve



- Joshi, P. 2013. Cynodon dactylon leaf extract assisted green synthesis of silver nanoparticles and Their anti-microbial activity. *Advanced Science, Engineering and Medicine*, 5(8), 858-863.
- Shen, Q., Jiang, L., Zhang, H., Min, Q., Hou, W. ve Zhu, J. J. 2008. Three-dimensional dendritic Pt nanostructures: sonoelectrochemical synthesis and electrochemical applications. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(42), 16385-16392.
- Shin, W. K., Cho, J., Kannan, A. G., Lee, Y. S. ve Kim, D. W. 2016. Cross-linked composite gel polymer electrolyte using mesoporous methacrylate-functionalized SiO<sub>2</sub> nanoparticles for lithium-ion polymer batteries. *Scientific reports*, 6, 26332.
- Sigmund, W., Yuh, J., Park, H., Maneeratana, V., Pyrgiotakis, G., Daga, A. ve Nino, J. C. 2006. Processing and structure relationships in electrospinning of ceramic fiber systems. *Journal of the American Ceramic Society*, 89(2), 395-407.
- Simonet, B. M. ve Valcárcel, M. 2009. Monitoring nanoparticles in the environment. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 393(1), 17.
- Singh, J., Kaur, G., Kaur, P., Bajaj, R. ve Rawat, M. 2016. A review on green synthesis and characterization of silver nanoparticles and their applications: a green nanoworld. *World J Pharm Pharm Sci*, 7, 730-762.
- Singh, J., Kaur, G., Kaur, P., Bajaj, R. ve Rawat, M. 2016. A review on green synthesis and characterization of silver nanoparticles and their applications: a green nanoworld. *World J Pharm Pharm Sci*, 7, 730-762.
- Singh, P., Pandit, S., Garnæs, J., Tunjic, S., Mokkaapati, V. R., Sultan, A. ve Baun, A. 2018. Green synthesis of gold and silver nanoparticles from Cannabis sativa (industrial hemp) and their capacity for biofilm inhibition. *International journal of nanomedicine*, 13, 3571.
- Singh, S., Bharti, A. ve Meena, V. K. 2014. Structural, thermal, zeta potential and electrical properties of disaccharide reduced silver nanoparticles. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 25(9), 3747-3752.
- Skorokhod, V. V., Uvarova, I. V. ve Ragulya, A. V. 2001. Physico-chemical kinetics in nanostructured systems. *Kyiv: Academperiodica*, 1, 180-192.
- Sobczak-Kupiec, A., Malina, D., Wzorek, Z. ve Zimowska, M. 2011. Influence of silver nitrate concentration on the properties of silver nanoparticles. *IET Micro Nano Letters*, 6(8), 656-660.
- Sondi, I. ve Salopek-Sondi, B. 2004. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of colloid and interface science*, 275(1), 177-182.
- Stouwdam, J. W. ve Janssen, R. A. 2008. Red, green, and blue quantum dot LEDs with solution processable ZnO nanocrystal electron injection layers. *Journal of Materials Chemistry*, 18(16), 1889-1894.
- Sukirtha, R., Priyanka, K. M., Antony, J. J., Kamalakkannan, S., Thangam, R., Gunasekaran, P. ve Achiraman, S. 2012. Cytotoxic effect of Green synthesized silver nanoparticles using Melia azedarach against in vitro HeLa cell lines and lymphoma mice model. *Process Biochemistry*, 47(2), 273-279.
- Suliman Y, A. O., Ali, D., Alarifi, S., Harrath, A. H., Mansour, L., Alwasel, S. H. 2013. Evaluation of Cytotoxic, Oxidative stress, Proinflammatory and Genotoxic Effect of Silver Nanoparticles in Human Lung Epithelial Cells. *Environmental Toxicology*.
- Suman, T. Y., Rajasree, S. R., Kanchana, A. ve Elizabeth, S. B. 2013. Biosynthesis,

- characterization and cytotoxic effect of plant mediated silver nanoparticles using *Morinda citrifolia* root extract. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 106, 74-78.
- Sun, S., Murray, C. B., Weller, D., Folks, L. ve Moser, A. 2000. Monodisperse FePt nanoparticles and ferromagnetic FePt nanocrystal superlattices. *science*, 287(5460), 1989-1992.
- Sun, X., Shi, J., Zou, X., Wang, C., Yang, Y. ve Zhang, H. 2016. Silver nanoparticles interact with the cell membrane and increase endothelial permeability by promoting Ve-cadherin internalization. *Journal of Hazardous Materials*, 317, 570–578.
- Sur, U. K., Ankamwar, B., Karmakar, S., Halder, A. ve Das, P. 2018. Green synthesis of Silver nanoparticles using the plant extract of Shikakai and Reetha. *Materials Today: Proceedings*, 5(1), 2321-2329.
- Teng, X., Liang, X., Maksimuk, S. ve Yang, H. 2006. Synthesis of porous platinum nanoparticles. *small*, 2(2), 249-253.
- Theivasanthi, T. ve Alagar, M. 2011. Electrolytic synthesis and characterizations of silver nanopowder. *arXiv preprint arXiv:1111.0260*.
- Tiede, K., Boxall, A. B., Tear, S. P., Lewis, J., David, H. ve Hassellöv, M. 2008. Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment. *Food additives and contaminants*, 25(7), 795-821.
- Tien, D. C., Liao, C. Y., Huang, J. C., Tseng, K. H., Lung, J. K., Tsung, T. T. ve Lin, H. M. 2008. Novel technique for preparing a nano-silver water suspension by the arc-discharge method. *Rev. Adv. Mater. Sci*, 18, 750-756.
- Tokur, O. ve Aksoy, A. 2017. In vitro sitotoksisite testleri. *Harran Üniversitesi Vet. Fakültesi Derg*, 6, 112-118.
- Tolochko, N. K. 2009. History of nanotechnology. *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*, Belarus
- Tomaszewska, E., Soliwoda, K., Kadziola, K., Tkacz-Szczesna, B., Celichowski, G., Cichomski, M. ve Grobelny, J. 2013. Detection limits of DLS and UV-Vis spectroscopy in characterization of polydisperse nanoparticles colloids. *Journal of Nanomaterials*, 2013, 60.
- Tran, T. T. T., Vu, T. T. H. ve Nguyen, T. H. 2013. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Tithonia diversifolia* leaf extract and their antimicrobial activity. *Materials Letters*, 105, 220-223.
- Tuzlacı, E. ve Dogan, A. 2010. Turkish folk medicinal plants, IX: Ovacık (Tunceli). *Marmara Pharmaceutical Journal*, 14, 136-143.
- Ustinov, V. M., Zhukov, A. E., Kovsh, A. R., Mikhrin, S. S., Maleev, N. A., Volovik, B. V. ve Tsatsul'nikov, A. F. 2000. Long-wavelength quantum dot lasers on GaAs substrates. *Nanotechnology*, 11(4), 397.
- Vanaja, M., Paulkumar, K., Baburaja, M., Rajeshkumar, S., Gnanajobitha, G., Malarkodi, C. ve Annadurai, G. 2014. Degradation of methylene blue using biologically synthesized silver nanoparticles. *Bioinorganic chemistry and applications*, 2014.
- Vazquez-Muñoz, R., Borrego, B., Juárez-Moreno, K., García-García, M., Morales, J. D. M., Bogdanchikova, N. ve Huerta-Saquero, A. 2017. Toxicity of silver nanoparticles in biological systems: Does the complexity of biological systems matter?. *Toxicology letters*, 276, 11-20.
- Veerasingam, R., Xin, T. Z., Gunasagaran, S., Xiang, T. F. W., Yang, E. F. C., Jeyakumar,

- N. ve Dhanaraj, S. A. 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15(2), 113-120.
- Velgosová, O., Mražíková, A. ve Marcinčáková, R. 2016. Influence of pH on green synthesis of Ag nanoparticles. *Materials letters*, 180, 336-339.
- Velmurugan, P., Anbalagan, K., Manosathyadevan, M., Lee, K. J., Cho, M., Lee, S. M. ve Oh, B. T. 2014. Green synthesis of silver and gold nanoparticles using *Zingiber officinale* root extract and antibacterial activity of silver nanoparticles against food pathogens. *Bioprocess and biosystems engineering*, 37(10), 1935-1943.
- Verma, A. ve Mehata, M. S. 2016. Controllable synthesis of silver nanoparticles using Neem leaves and their antimicrobial activity. *Journal of radiation Research and applied sciences*, 9(1), 109-115.
- Verma, S. K., Prabhat K. C., Goyal, L., Rani, Manita. ve Jain, A. 2010. A critical review of the implication of nanotechnology in modern dental practice. *Natl J Maxillofac Surg*. Vol 1, Issue 1.
- Visakh, P. M. ve Morlanes, M. J. M. 2016. *Nanomaterials and Nanocomposites: Zero-to Three-Dimensional Materials and Their Composites*. John Wiley Sons.
- Vivek, R., Thangam, R., Muthuchelian, K., Gunasekaran, P., Kaveri, K. ve Kannan, S. 2012. Green biosynthesis of silver nanoparticles from *Annona squamosa* leaf extract and its in vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells. *Process Biochemistry*, 47(12), 2405-2410.
- Wan, X., Huang, Y. ve Chen, Y. 2012. Focusing on energy and optoelectronic applications: a journey for graphene and graphene oxide at large scale. *Accounts of chemical research*, 45(4), 598-607.
- Wang, J., Lin, M., Yan, Y., Wang, Z., Ho, P. C. ve Loh, K. P. 2009. CdSe/AsS Core-Shell Quantum Dots: Preparation and Two-Photon Fluorescence. *Journal of the American Chemical Society*, 131(32), 11300-11301.
- Waseda, Y., Matsubara, E. ve Shinoda, K. 2011. *X-ray diffraction crystallography: introduction, examples and solved problems*. Springer Science Business Media.
- Wei, L., Lu, J., Xu, H., Patel, A., Chen Z. S. ve Chen, G. 2015. Silver nanoparticles: synthesis, properties and therapeutic applications. *Drug Discovery Today*, 20, 5.
- Williams, D. B. ve Carter, C. B. 1996. The transmission electron microscope. In *Transmission electron microscopy* (pp. 3-17). Springer, Boston, MA.
- Xia, H., Feng, J., Wang, H., Lai, M. O. ve Lu, L. 2010. MnO<sub>2</sub> nanotube and nanowire arrays by electrochemical deposition for supercapacitors. *Journal of Power Sources*, 195(13), 4410-4413.
- Yazır, Y. ve Dalçık, H. 2012. An Important Method in the Investigation of Vascular Pathologies: Endothelial Cell Culture. *Koşuyolu Kalp Dergisi*, 15, 137-142.
- Yildirim, L., Thanh, N. T. K., Loizidou, M. ve Seifalian, A. M. 2011. Toxicological considerations of clinically applicable nanoparticles. *Nano Today*, 6, 585—607.
- Zargar, M., Shameli, K., Najafi, G. R. ve Farahani, F. 2014. Plant mediated green biosynthesis of silver nanoparticles using *Vitex negundo* L. extract. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(6), 4169-4175.
- Zhang, G. ve Wang, D. 2008. Fabrication of heterogeneous binary arrays of nanoparticles via colloidal lithography. *Journal of the American Chemical Society*, 130(17), 5616-5617.
- Zhang, X., Yan, S., Tyagi, R. D. ve Surampalli, R. Y. 2011. Synthesis of nanoparticles

by microorganisms and their application in enhancing microbiological reaction rates. *Chemosphere*, 82(4), 489-494.

Zhao, X., Zhang, J., Wang, B., Zada, A. ve Humayun, M. 2015. Biochemical synthesis of Ag/AgCl nanoparticles for visible-light-driven photocatalytic removal of colored dyes. *Materials*, 8(5), 2043-2053.



## 7. ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** İlkay ÜNAL

**Doğum Yeri:** Aksaray

**Doğum yılı:** 1985

**Medeni Hali:** Evli

**Eğitim ve Akademik durumu:**

**Y.lisans:** 2010-2013 Munzur üniversitesi Gıda mühendisliği Gıda Bilimleri Anabilim Dalı

**Lisans:** 2005-2009 Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü

**Lise:** 2000-2003 Sunar Nuri Çomu Süper Lisesi (ADANA)

**İş deneyimi:** 2014- Halen. Munzur Üniversitesi Araştırma Görevlisi