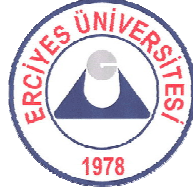


T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



Mor Havuç Bitkisi Ekstraktı Kullanılarak Yeşil Kimya Yöntemi ile Altın Nanopartiküllerin Biyosentezi Karakterizasyonu ve Antibakteriyel Özelliğinin İncelenmesi

Proje No: FHD-2016-6953

Proje Türü: Hızlı Destek Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Yrd.Doç.Dr. Vedat YILMAZ
Eczacılık Fakültesi/Analitik Kimya Anabilim Dalı

Araştırmacılar
Doç.Dr. İsmail Öçsoy
Eczacılık Fakültesi/Analitik Kimya Anabilim Dalı
Yrd.Doç.Dr. Ayşe Baldemir
Eczacılık Fakültesi/Farmasotik Botanik
Yrd.Doç.Dr. Nilay Ildiz
Eczacılık Fakültesi/Farmasotik Mikrobiyoloji

Mart 2018

KAYSERİ

TESEKKÜR

FHD-2016-6953 numaralı projemiz Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Projemize finansal desteklerinden dolayı Erciyes Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimine teşekkür bir borç bilirim. Projenin çalışma süresince araştırmacı olarak önemli katkıları olan, Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi öğretim üyeleri, Doç. Dr. İsmail Öçsoy'a, Yard. Doç. Dr. Ayşe Baldemir'e ve Yard. Doç. Dr. Nilay Ildiz'a teşekkür ederiz. Projemiz kapsamında hizmet alımı Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (ERÜ-TAUM) laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
ABSTRACT	6
1. GİRİŞ	7
2.GENEL BİLGİLER	9
3.GEREÇ VE YÖNTEM	11
3.1. Titanyumdioksit/Gümüş (TiO_2/Ag), Titanyumdioksit/Çinko (TiO_2/Zn) ve Titanyumdioksit/Bakır (TiO_2/Cu) Bimetalik Nanopartiküllerin Sentezi	
3.2. Bimetalik Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	
4.BULGULAR	13
4.1. Bimetalik Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	
17	
6.KAYNAKLAR	18

ÖZET

Önerilen bu projede, antosiyanince zengin mor havuç (*Daucus carota*) ekstresi kullanılarak yeşil kimya tekniği ile altın nanopartiküller (Au NP'ler) sentezlenmiştir. Au NP'lerin sentezlenmesinde mor havuç ekstresi kullanılmasının nedeni, bitki ekstresinin içeriğinden dolayı hem indirgen olarak kullanılması hemde elde edilen NP'lerin biyouyumlu, yüksek verimde ve yüksek kararlılığa sahip olmasından dolayıdır. Diğer sentez (kimyasal) yöntemlerinin yüksek maliyet ve toksik kimyasal atık üretimi gibi dezavantajlarının ortadan kaldıracığı hedeflenmektedir. Literatür çalışmalarına bakıldığında Au NP'lerin sentezinde indirgenme ajanı olarak bitkisel kaynaklı biyomoleküllerin kullanılması daha kararlı partiküllerin oluşumunu sağlamaktadır. Sentezlenen ürünlerin karakterizasyon işlemi yapılarak boyut analizleri yapılmıştır. Nano boyutlarda sentezlenmesi partiküllerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine önemli derecede avantaj sağlayacağı düşünülmektedir. Elde edilen Au NP'lerin yaygın kullanım alanına sahip olacağı beklendiğinden antibakteriyel özelliklerine incelenmiştir. Yapılacak olan bu çalışmanın önemi ilk kez mor havuç ekstresi kullanılarak yeşil kimya tekniği ile Au NP'lerin sentezlenmesidir.

ABSTRACT

In this proposed project, gold nanoparticles (Au NPs) were synthesized by green chemistry using anthocyanin-rich purple carrot (*Daucus carota*) extract. The reason for the use of purple carrot extract in the synthesis of Au NPs is that they are both biodegradable because of the content of the plant extract and because they have biocompatibility, high efficiency and high stability. Other synthesis (chemical) methods are aimed to overcome the disadvantages such as high cost and toxic chemical waste production. Literature studies have shown that the use of plant biomolecules as a reducing agent in the synthesis of Au NPs leads to the formation of more stable particles. Characterization of the synthesized products was carried out and size analyzes were carried out. Synthesis in the nanoscale dimensions is thought to provide significant advantages over the physical and chemical properties of the particles. Since the obtained Au NPs are expected to have widespread use, their antibacterial properties have been examined. The key to this work is the synthesis of Au NPs with green chemistry technique using purple carrot extract for the first time.

1. GİRİŞ

Metal nanopartiküller belirgin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinden dolayı araştırmacılar tarafından son birkaç on yıldır büyük ilgi görmektedir ve en aktif araştırma alanı haline gelmiştir. Nanopartiküllerin öneminden dolayı pek çok araştırmacı çeşitli kimyasal ve fiziksel metotları kullanarak nanopartiküllerin sentezine odaklanmaktadır. Altın nanopartiküllerin (NP'lerin) sentezi için kullanılan bu metotlar oldukça pahalı ve çeşitli biyolojik risklerden sorumlu toksik ve tehlikeli kimyasalların kullanımını içeren çevreye zararlı metotlardır.

Biyouyumlu, sentezi kolay, hızlı ve düşük maliyetli yeşil sentez tekniği ile Au NP'lerin sentezi, antibakteriyel ve antioksidan özelliklerinin araştırılması hedeflenmiştir. Kimyasal madde kullanımını azaltmak amacıyla bitkisel kaynaklı olması için bitki ekstraktı kullanılması düşünülmüştür. Bitki (mor havuç) ekstraktı (*Daucus carota*) indirgenme ajanı olarak kullanılmasıyla Au NP'lerin biyosentezi yapılacaktır. Au NP'lerin fiziksel ve kimyasal özellikleri hibrit olmayan NP'lerde tek başına bulunmayan özellikleri de beraberinde getirmektedir. Bundan dolayı çalışmamızda bitki ekstraktı kullanılarak Au NP'ler yeşil kimya sentez tekniği kullanılarak yapılacaktır. Bitki ekstraktı kullanımı, kimyasal madde kullanımını azalttığından dikkat çekici öneme sahiptir. Bu amaçla biyouyumlu, ucuz ve çevre dostu olması gibi birçok avantajları vardır. Ayrıca antibakteriyel özelliklerinin incelenmesi insan ve çevre sağlığı açısından önem arz etmektedir.

Bu çalışmada mor havuç (*Daucus carota*) bitki ekstraktı kullanılarak altın nanopartiküller (Au NP'ler) sentezlenecektir. Sentezlenen Au NP'ler UV, DLS, EDX ve SEM ölçümleri yapılarak karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilecektir. Elde edilecek NP'lerin kullanım alanının fazla

olmasından dolayı canlıya etkisini incelemek için antibakteriyel özelliğine bakılacaktır. Çalışmamızın sonunda bitki ekstraktı kullanılarak çevre dostu, biyouyumlu, ucuz ve ilk kez Au NP'ler sentezlenmiş olacaktır. Ayrıca yapılan geniş çaplı literatür araştırması sonucu, bu yöntem ile sentezlenmiş Au NP'lere rastlanmamıştır. Proje kapsamında ilk defa bitki ekstraktı kullanılarak Au NP sentezi yapılacaktır. Bu bakımdan önerilen proje oldukça yenilikçi ve özgündür.

2. GENEL BİLGİLER

Son zamanların yeni trendi olan, “yeşil kimya” veya “yeşil sentez” olarak adlandırılan, NP’lerin sentezlenmesinde kullanılan kimyasal maddelerin minimize edilmesinden yola çıkılarak, bitki ekstralerinden ve canlı doğal maddelerden bakteri ve mantarlar gibi, faydalanılması araştırmaların bu yönde geliştirilmesine ve yeni özel tekniklerle kullanım sahasının artırılmasına yol açmıştır [1-6]. Bu trendin amacı günümüzde birçok alanda kullanılan NP’lerin biyoyoumlu maddelerden sentezlenerek daha güvenli hale getirilip, insanlara ve çevreye vereceği zararı azaltmaktır ya da ortadan kaldırmaktır. Bitki ekstraleri kullanılarak NP’lerin sentezi basitliği, tek basamaklı olması, ucuzluğu, ve çevre dostu olması gibi sahip olduğu birçok avantajı sayesinde diğer metotlara üstünlük sağlamaktadır [7,8]. Au NP’lerin bitki ekstraleri kullanılarak biyosentezi nanopartiküllerin güçlü antibakteriyel özelliklerinden ve Au tuzlarının kolay indirgenmesinden dolayı daha popüler hale gelmektedir. Au NP’lerin sentezi için çeşitli bitkilerin kullanımı Tablo 1’de verildiği gibi literatürde rapor edilmektedir [9- 31].

Mor havuç (*Daucus Carota*) özellikle Çukurova yöresinde kullanımı yaygın olan şalgam suyunun hammaddesidir. Bilimsel olarak da kanıtlanmış faydalarının en önemli kaynağı mor havuca rengini veren antosiyanin pigmentinin antioksidan özelliğinden gelmektedir.

Mor havuç antosiyanin pigmentleri açısından oldukça zengindir. Mazza ve Miniati [32] taze mor havuçta antosiyanin içeriğinin 1750 mg/kg kadar olabileceğini rapor etmişlerdir. Mor havuç oldukça yüksek miktarlarda açillenmiş antosiyaninler içerir. Mor havuç ekstraktında dört temel antosiyanin tanımlanmış ve bunların %41’i açillenmiş formda olduğu belirtilmiştir. Mor havuçta antosiyanin olmayan fenolikler daha düşük miktarda bulunur. Mor havuçta fenolik asitlerden p-kumarik, kafeik asit ve ferulik asit bulunur. Ayrıca 40 çeşit fenolik asit türevi de

görülmüştür. Kök kısmında 657 mg/kg ve konsantresinde 5815 mg/kg olmak üzere klorojenik asit (5-O-kafeoilquinik asit) en baskın fenolik bileşendir [33, 34]. Mor havuç antosiyaninleri asidik pH da oldukça parlak kırmızı renktedir. Bu nedenle mor havuç suyu meyve suları, nektar, marmelat, konserve, şekerleme gibi ürünleri renklendirmede tercih edilir. Mor havuç suyu gıdalara renklendirici ingrediye olarak eklenmektedir. Yüksek miktarlarda nutrasetik komponentler içerdüğinden mor havuç ile renklendirilmiş gıdalar sağlık açısından olumlu yararlar sağlamaktadır [35]. Havuç antosiyaninlerinin antioksidant aktivitesi sayesinde nanopartikül sentezi için kullanımını mümkün kılmaktadır. Abubakar ve arkadaşları mor havuç ekstresini kullanarak gümüş nanopartiküllerini sentezlemişlerdir. Fakat mor havuç ekstresi kullanılarak Au NP'lerin biyosentezi, karakterizasyonu ve antibakteriyel özelliğinin incelenmesi ile ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır [36].

Tablo 1. Farklı bitkilerin ekstreleri kullanılarak Au NP'lerin sentezi

No	Bitki ekstresi	Nanopartiküllerin şekil ve boyutu	Referans
1	Mango	6.03-18 nm,; küresel	[9]
2	Gymnocladus assamicus	4-22 nm; heksagonal, pentagonal ve üçgensel	[10]
3	Cacumen Platycladi	değişken	[11]
4	Pogestemon benghalensis	13.07 nm; kübik	[12]
5	Coriander	6.75-57.91 nm; küresel	[13]
6	Nerium oleander	2-10 nm; küresel	[14]
7	Butea monosperma	10-100 nm; küresel, üçgensel	[15]
8	Pea nut	110 to 130 nm; değişken	[16]
9	Solanum nigrum	50 nm; küresel	[17]
10	Hibiscus cannabinus	10-13 nm; küresel	[18]
11	Sesbania grandiflora	7-34 nm; küresel	[19]
12	Salix alba	50-80 nm; ---	[20]
13	Eucommia ulmoides	----; küresel	[21]
14	Galaxaura elongata	3.85–77.13 nm; küresel	[22]
15	Ocimum sanctum	30 nm; heksagonal	[23]

16	Torreyia nucifera	10-125 nm; küresel	[24]
17	olive	50-100 nm; üçgensel, heksagonal ve küresel	[25]
18	Rosa indica	23.52-60.83 nm; küresel	[26]
19	Pistacia integerrima	20-200 nm; ----	[27]
20	Terminalia arjuna	60 nm, küresel	[28]
21	Euphorbia hirta	6-71 nm, küresel	[29]
22	Morinda citrifolia	12.17-38.26 nm, küresel	[30]
23	Zizyphus mauritiana	20-40 nm, küresel	[31]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Mor Havuç Ekstresinin Hazırlanması

Mor havuç örneği bıçakla küçük parçalara ayrıldıktan sonra blender ile birkaç dakika parçalanmış ve homojen hale getirilecektir. 10 g mor havuç örneği bir balon içerisine alınacak ve üzerine 100 ml saf su ilave edilip 5 dakika kaynatılacaktır. Kaynama işleminden sonra oda sıcaklığına soğutulacaktır. Soğutulan ekstraktlar süzülecek ve sentezde kullanılmak için buzdolabında +4 °C’de depolanacaktır [33].

3.2. Au NP’lerin sentezi

Au NP sentezi için farklı miktarlarda mor havuç bitki ekstresine farklı konsantrasyonlarda kloroaurik asit (HAuCl_4) çözeltisi eklenerek konsantrasyon denemeleri yapılacaktır. Daha sonra manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak karıştırma süreleri denenerek NPlerin boyut analizleri yapılacaktır [11,12,13].

3.3. Au NP’lerin Karakterizasyonu

Sentezlenen Au NP’lerin karakterizasyonu için Erciyes Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma Merkezi’nde bulunan cihazlar kullanılacaktır. Sentezlenen Au NP’lerin boyut analizleri için Dinamik Işık Saçılım (DLS) cihazı kullanılacaktır. Au NP’lerin belirli dalga boylarındaki absorpsiyon yaptıkları pikleri gözlemek için UV-Vis cihazı kullanılacaktır. Au NP’lerin boyut ve şekil analizi için Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile görüntüleri alınacaktır.

3.4. Bakteri Kültürünün Hazırlanması

Bakteri kültürünün hazır hale getirilmesi için en uygun yöntem üreten firmanın kültür kurallarına uyulmasıdır. Antibakteriyel deneyler için iki tür gram-pozitif (*Staphylococcus aureus*) ve gram-negatif (*Escherichia coli*) bakteriler kullanılacaktır. Luria-Bertani (LB) kültür ortamı içinde 37°C de bir gece çalkalayıcı inkübatör içinde hazırlanmaktadır. *S. aureus* çözeltisi 4000 rpm de 8dk santrifüj edilir ve fosfat tamponu (pH 7.4) ile yıkanır. Daha sonra tekrar fosfat tamponunda ağıtılır ve konsantrasyonu optik yoğunluk (optical density, OD) cihazı ile (OD600, 1OD600 = 108 hücre/mL) ayarlanır. Kontrol deneyleri için kullanılacak farklı bakteri kolonileri için benzer bakteri kültürü hazırlama protokolü olsa da kullanılan kültür çözeltisinin içeriği ve bakterilerin inkübasyon sıcaklıkları farklı olabilir [37, 38].

3.5. Sentezlenen Nanopartiküllerin Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi

100 µL gram-pozitif (*Staphylococcus aureus*) ve gram-negatif (*Escherichia coli*) bakteri çözeltileri (~10⁶ CFU/mL) 1 mL belli konsantrasyonda bakteriler Au NP çözeltileri ile ayrı ayrı karıştırılır ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilir. Eğer inkübasyon süresi uzatılırsa Au NP'lerin bakterilerin yüzeyine bağlanmak yerine hücre içerisine girme ihtimali olduğu için inkübasyon süreleri ayarlanır. İnkübasyondan sonra, karışım 3000 rpm de santrifüj edilerek bağlanmamış Au NP'ler süpernatant ile uzaklaştırılır. Daha sonra bakteri kolonilerinin sayım işlemi yapılarak, Au NP'lerin anti-bakteriyel aktiviteleri gözlemlenir [37, 38].

4. BULGULAR

4.1. MOR HAVUÇ EKSTRELERİNİN HAZIRLANMASI:

Temin edilen mor havuç bozulma ihtimaline karşı -80°C de saklanır. Yaklaşık 100 g havuç çamur, toprak ve diğer kirliliklerden arındırılmak için su ile yıkanır. Dış kabuğu soyulur ve rende yardımıyla küçük parçalar oluşturulur. Geniş bir behere alınan bu parçaların üzerine 100°C de 100 ml distile su eklenir. 2 dakika boyunca bekletilir. Bekletilen numune süzgeç kağıdı yardımı ile süzülür. Posa sıkılmak suretiyle aynı şekilde süzgeç kağıdından geçirilir. Süzüntü oda sıcaklığına kadar soğutularak ardından -20°C de saklanır.

%100 Havuç ekstresi: Yukarıdaki yöntemle hazırlanan ekstre %100 kullanılacak stok olarak kabul edilmektedir.

%50 Havuç ekstresi: Stok çözeltiden 5 ml pipet yardımı ile bir tüpe aktarılacak üzerine 5 ml saf su ilave edilir. Son hacim 10 ml'ye tamamlanır.

%25 Havuç ekstresi: Stok çözeltiden 2,5 ml pipet yardımı ile bir tüpe aktarılacak üzerine 5 ml saf su ilave edilir. Son hacim 10 ml'ye tamamlanır.

%10 Havuç ekstresi: Stok çözeltiden 1 ml pipet yardımı ile bir tüpe aktarılacak üzerine 5 ml saf su ilave edilir. Son hacim 10 ml'ye tamamlanır.

%5 Havuç ekstresi: Stok çözeltiden 0,5 ml pipet yardımı ile bir tüpe aktarılacak üzerine 5 ml saf su ilave edilir. Son hacim 10 ml'ye tamamlanır.

4.2. KLOROAURİK ASİT ÇÖZELTİLERİNİN HAZIRLANMASI

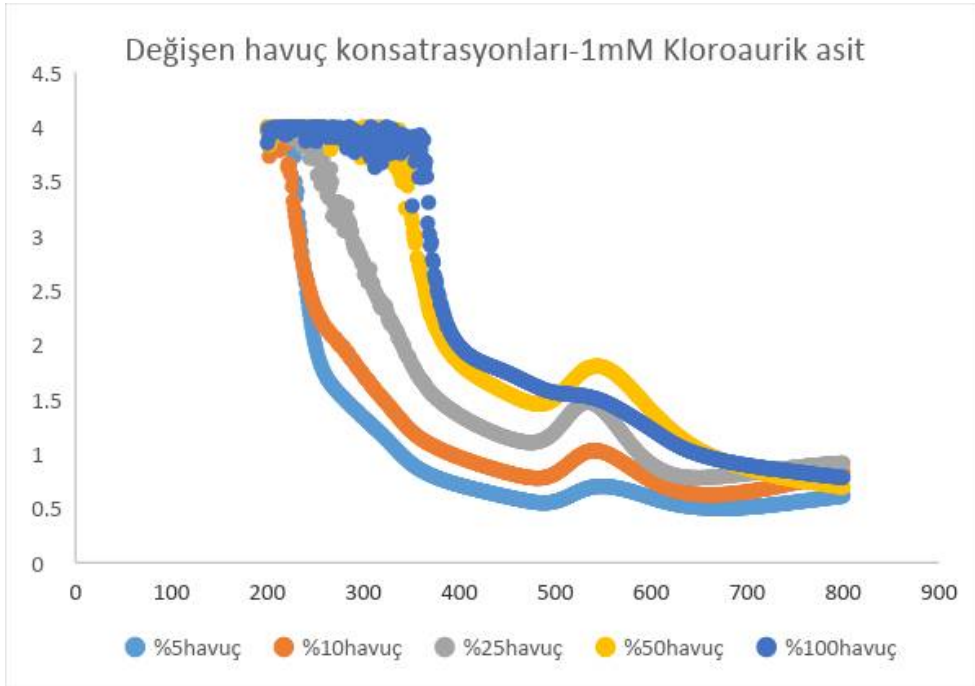
4.2.1. 20mM Kloroaurik asit çözeltisinin hazırlanması: 20mM HAuCl_4 çözeltisinin hazırlanması için stok amacı ile hacim 50 ml olarak belirlenmiştir. $M=n/V$ formülü yardımı ile yapılan hesaplamada 0,340 g saf susuz HAuCl_4 plastik spatül yardımı ile hassas terazide tartılır. Bir miktar distile su ile beherde çözüldükten sonra balonjojede hacmi 50 ml'ye tamamlanmıştır.

4.2.2. 2mM Kloroaurik asit çözeltisinin hazırlanması: Hazırlanan 20mM HAuCl_4 çözeltisinden pipet yardımı ile 5 ml çekilerek balonjojeye aktarılır. Balonjoje son hacim 50 ml olacak şekilde saf su ile tamamlanır.

4.2.3. 1mM Kloroaurik asit çözeltisinin hazırlanması: Hazırlanan 20mM HAuCl_4 çözeltisinden pipet yardımı ile 2,5 ml çekilerek balonjojeye aktarılır. Balonjoje son

hacim 50 ml olacak şekilde saf su ile tamamlanır. Çalışma 2mM ve 1mM Kloroaurik asit çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

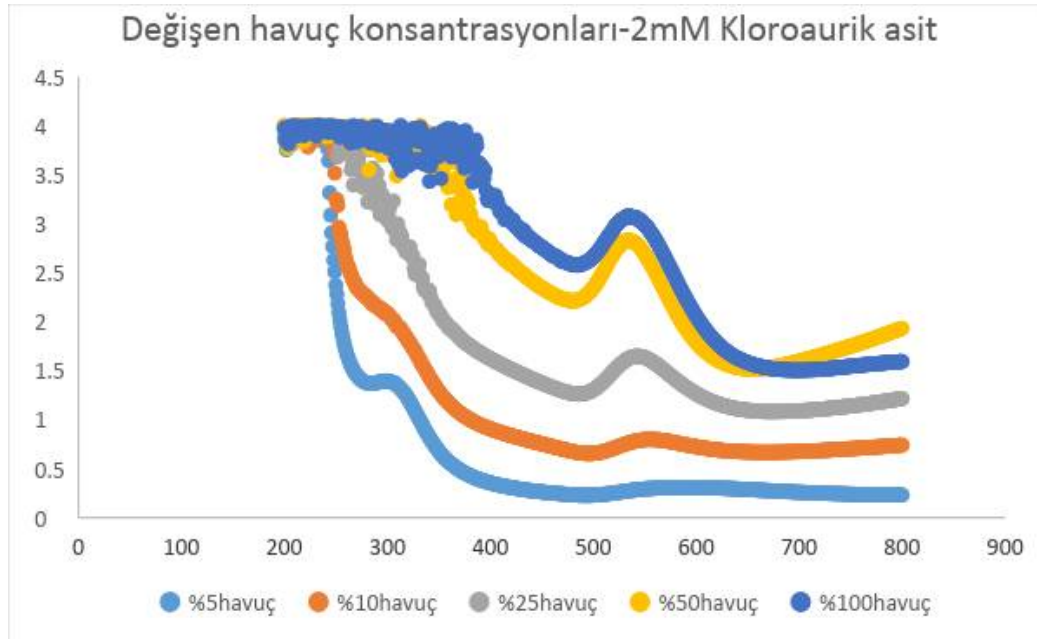
4.2.4. 1mM Kloroaurik asit çözeltisi ve değişen mor havuç konsantrasyonları ile sentez: Stok çözeltiden hazırlanan yüzde derişimi %100,%50,%25,%10 ve %5 olan numuneler prosedürde belirtildiğı gibi hazırlanır. Herbir numuneden 5 ml pipet yardımıyla flakon içerisine aktarılır.Üzerine 5 ml 1mM Kloroaurik asit çözeltisi ilave edilerek 12 saat boyunca manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılır.



Şekil 1. Değişen mor havuç konsantrasyonları-1mM Kloroaurik asit 12 saat sentez verileri

2mM Kloroaurik asit çözeltisi ve değişen mor havuç konsantrasyonları ile sentez:

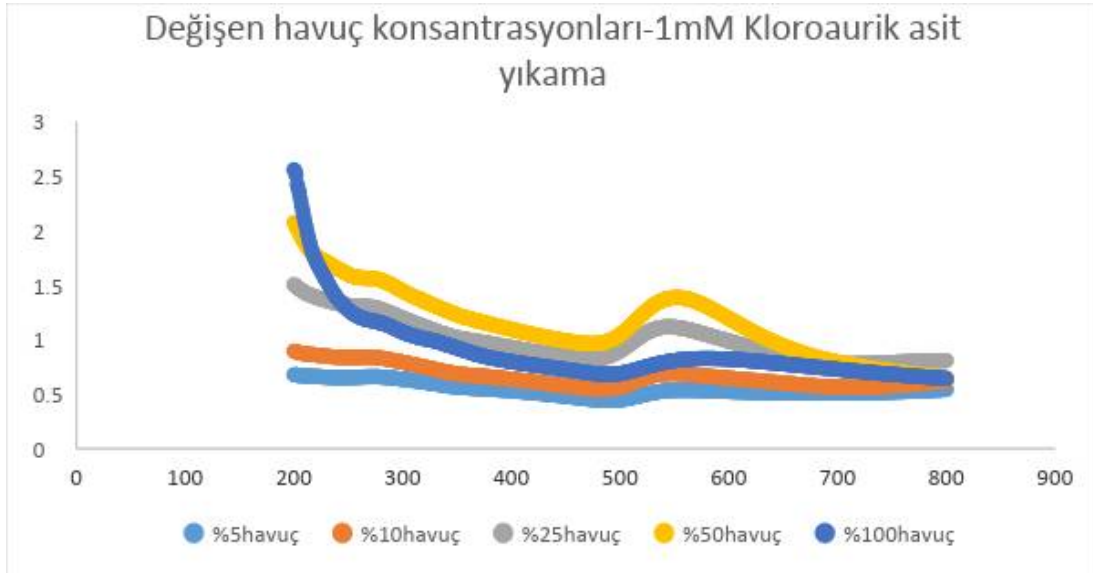
Stok çözeltiden hazırlanan yüzde derişimi %100,%50,%25,%10 ve %5 olan numuneler prosedürde belirtildiğı gibi hazırlanır. Herbir numuneden 5 ml pipet yardımıyla flakon içerisine aktarılır.Üzerine 5 ml 2mM Kloroaurik asit çözeltisi ilave edilerek 12 saat boyunca manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılır.



Şekil 2. Değişen mor havuç konsantrasyonları-2mM Kloroaurik asit 12 saat sentez verileri

1mM Kloroaurik asit çözeltisi ve değişen mor havuç konsantrasyonları sentezinin yıkanması:

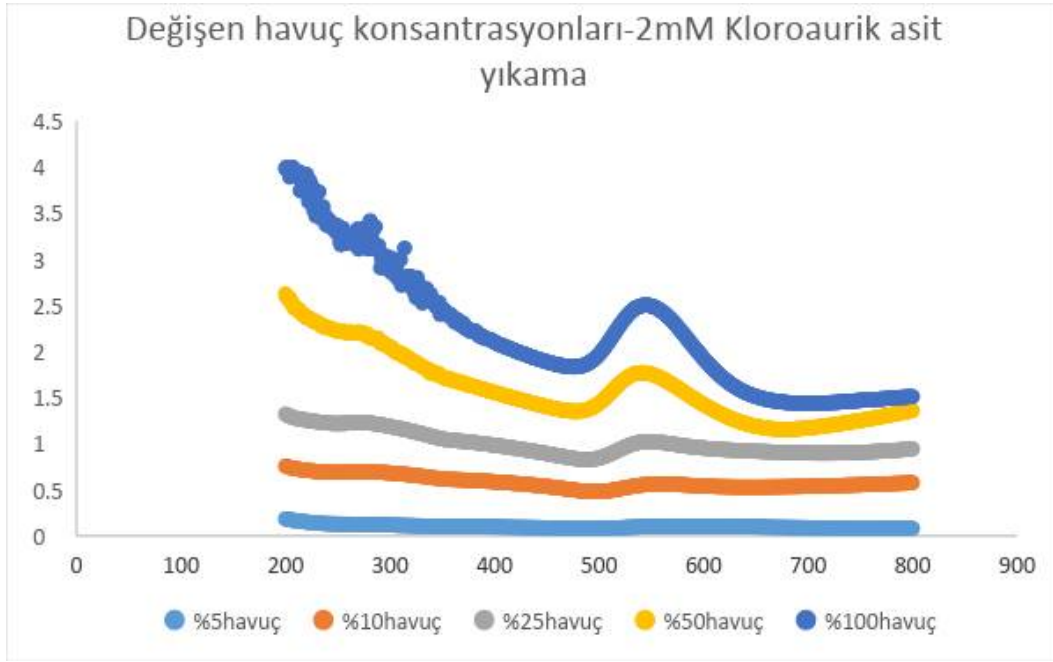
1mM Kloroaurik asit ve değişen mor havuç konsantrasyonları ile hazırlanan sentezden 2ml numune alınarak santrifüj cihazında 10 dakika 15000 rpm de santrifüj edilir. Tüp içerisindeki süpernatant atılarak hacim distile su ile tekrar 2ml'ye tamamlanır. Numune ultrasonik banyoda tam çözünme sağlanana kadar muamele edilir. Ardından tekrar 10 dakika 15000 rpm de santrifüj edilir. Tekrar süpernatant atılarak hacim distile su ile 2 ml'ye tamamlanır. Ultrasonik banyoda tam çözünme sağlanarak yıkama işlemi sonlandırılır. Spektrofotometrede numune verileri okunur.



Şekil 3. Değişen havuç konsantrasyonları-1mM Kloroaurik asit 12 saat sentez yıkama sonucu

2mM Kloroaurik asit çözeltisi ve değişen mor havuç konsantrasyonları sentezinin yıkanması:

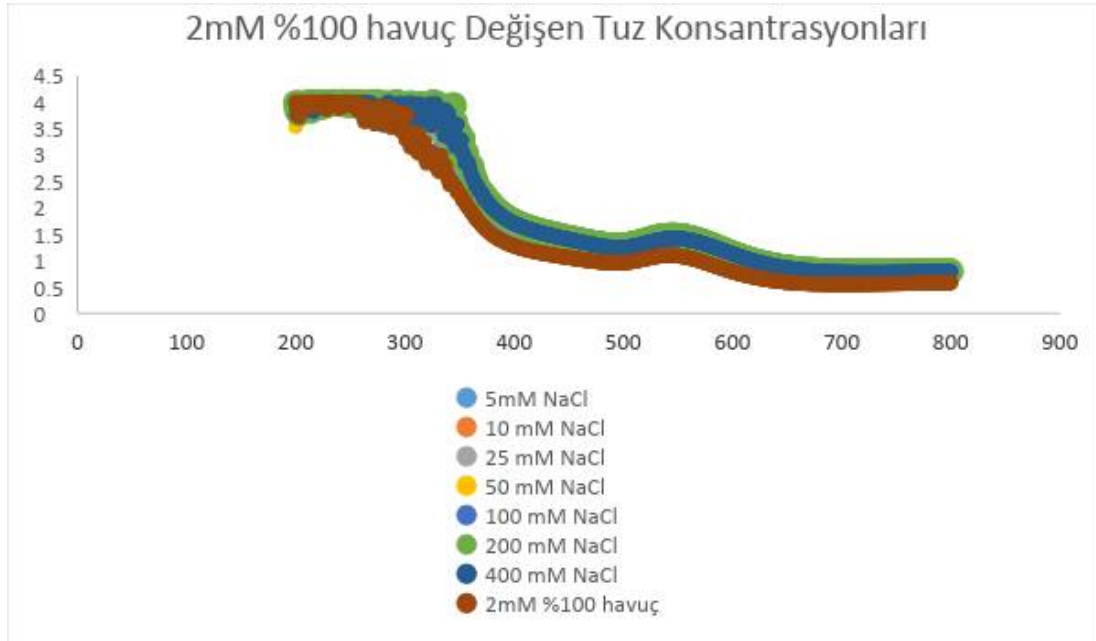
1mM Kloroaurik asit ve değişen mor havuç konsantrasyonları ile hazırlanan sentezden 2ml numune alınarak santrifüj cihazında 10 dakika 15000 rpm de santrifüj edilir.Tüp içerisindeki süpernatant atılarak hacim distile su ile tekrar 2ml'ye tamamlanır.Numune ultrasonik banyoda tam çözünme sağlanana kadar muamele edilir.Ardından tekrar 10 dakika 15000 rpm de santrifüj edilir.Tekrar süpernatant atılarak hacim distile su ile 2 ml'ye tamamlanır.Ultrasonik banyoda tam çözünme sağlanarak yıkama işlemi sonlandırılır.Spektrofotometrede numune verileri okunur.



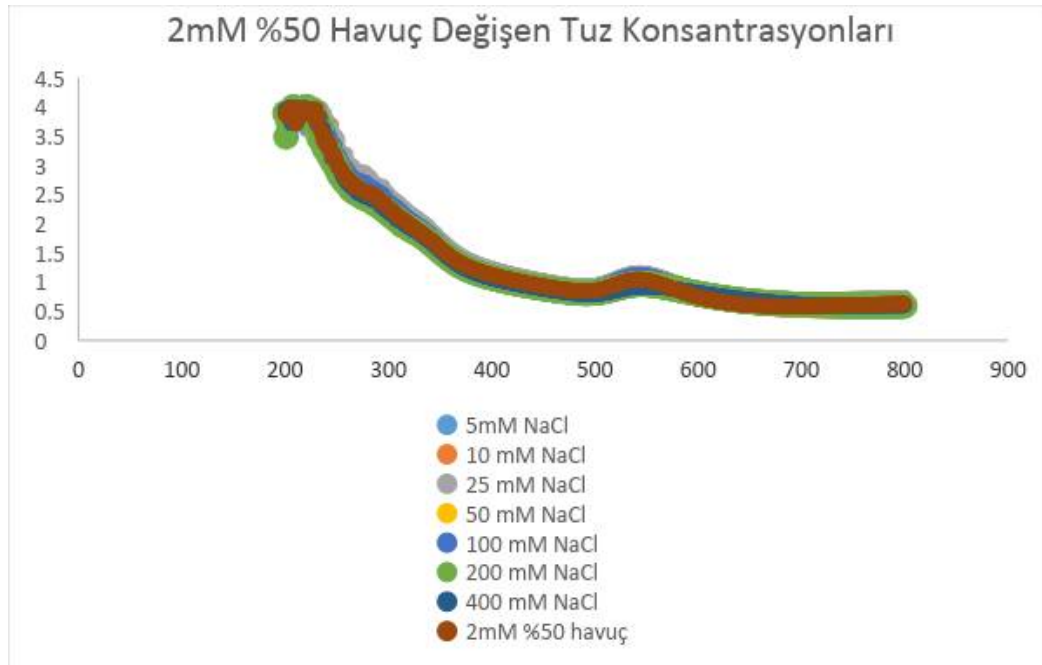
Şekil 4. Değişen havuç konsantrasyonları-2mM Kloroaurik asit 12 saat sentez yıkama sonucu

Tuz toleransı deneyleri:

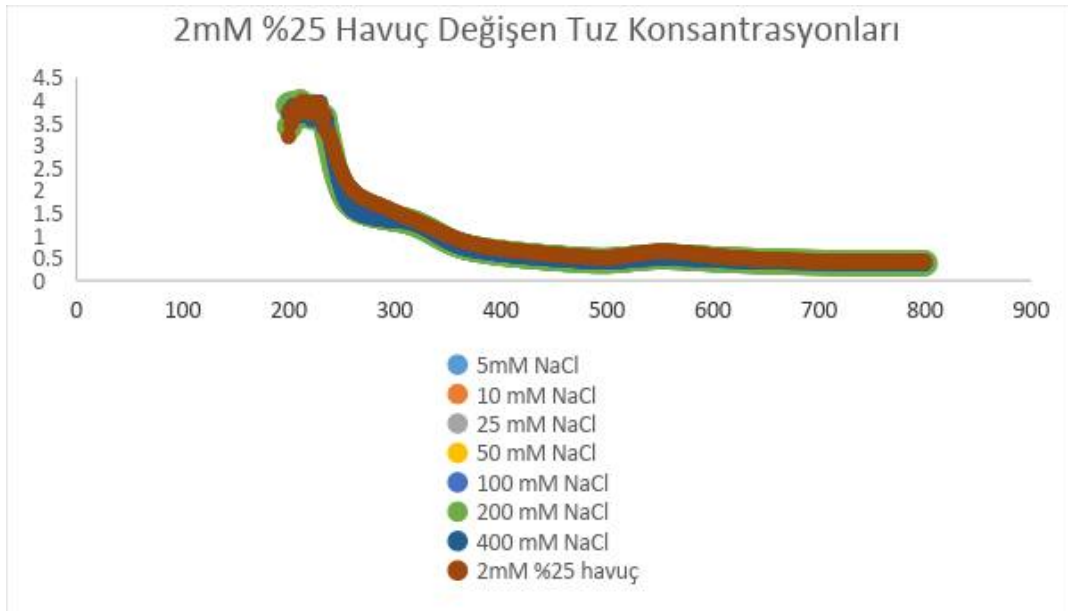
Tuz toleransı deneyleri için yıkama yapılarak elde edilen sentez örneklerinden 2'şer ml alınarak deney tüplerine aktarılır. Bu örnekler üzerine 5, 10, 25, 50 ve 100 mM konsantrasyonunda hazırlanan NaCl çözeltilerinden 200'er mikrolitre eklenir. Ultrasonik banyoda 2 dakika boyunca homojen dağılım sağlanarak sonuçlar spektrofotometrede ölçülür.



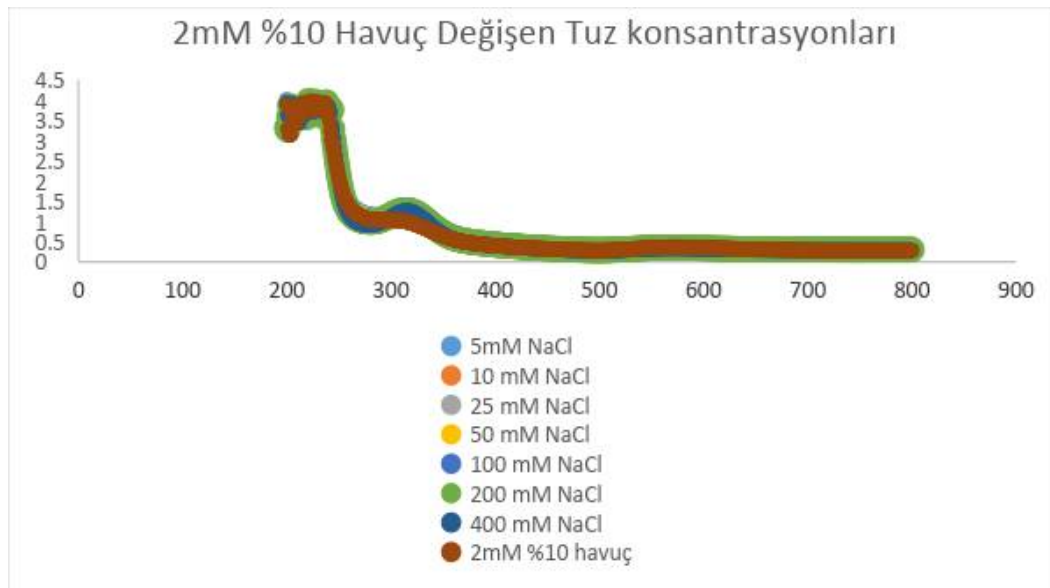
şekil 5. %100 havuç-2mM Kloroaurik asit sentez rneėi değişen tuz konsantrasyonları



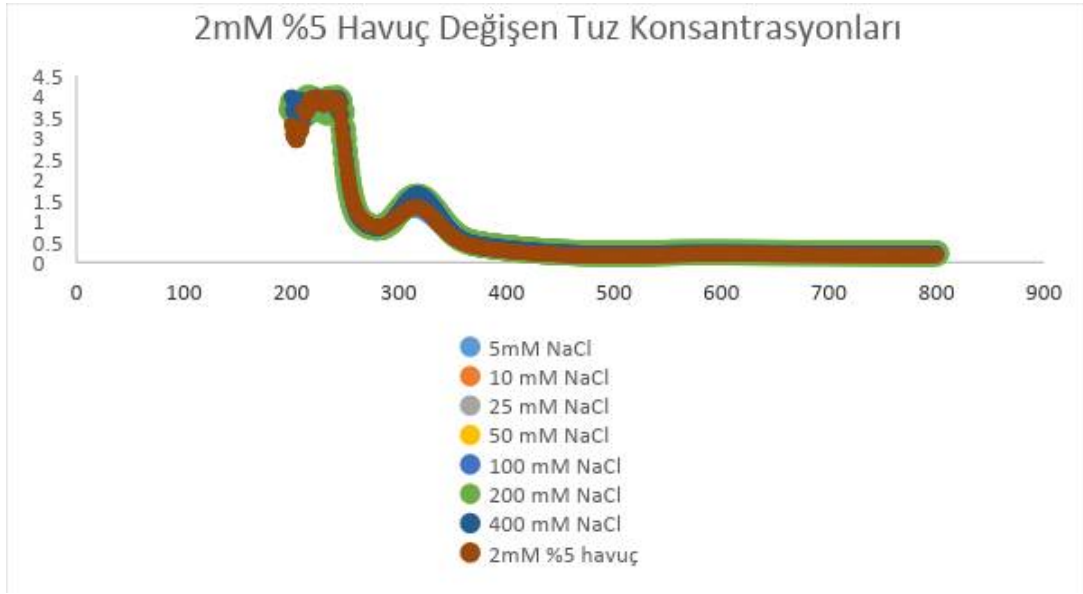
şekil 6. %50 havuç-2mM Kloroaurik asit sentez rneėi değişen tuz konsantrasyonları



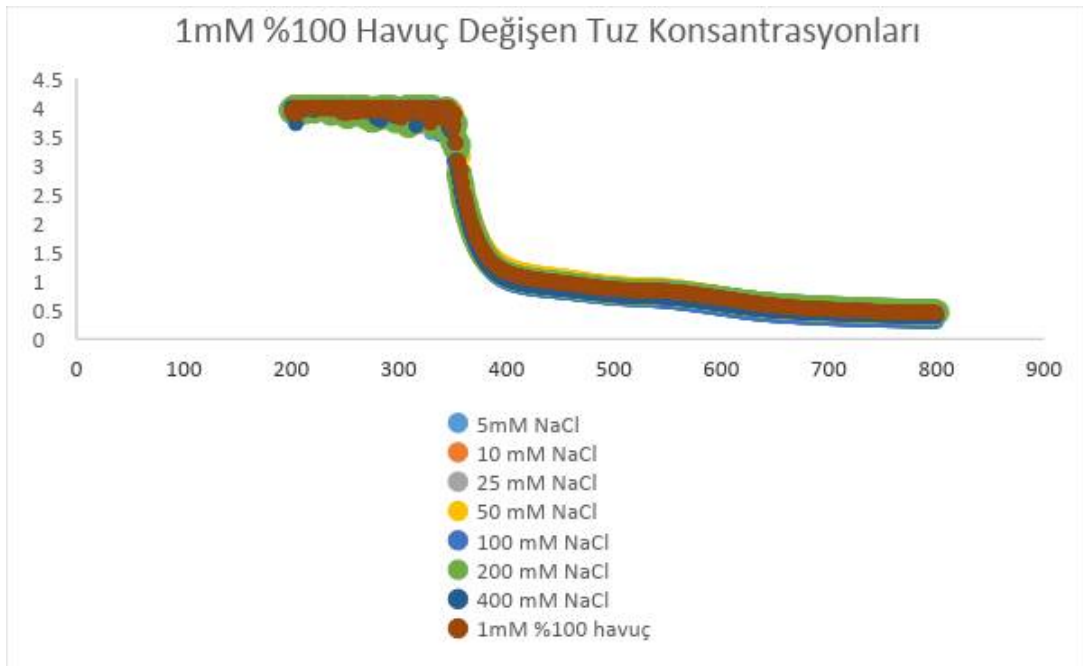
Şekil 7. %25 havuç-2mM Kloroaurik asit sentez örneği değişen tuz konsantrasyonları



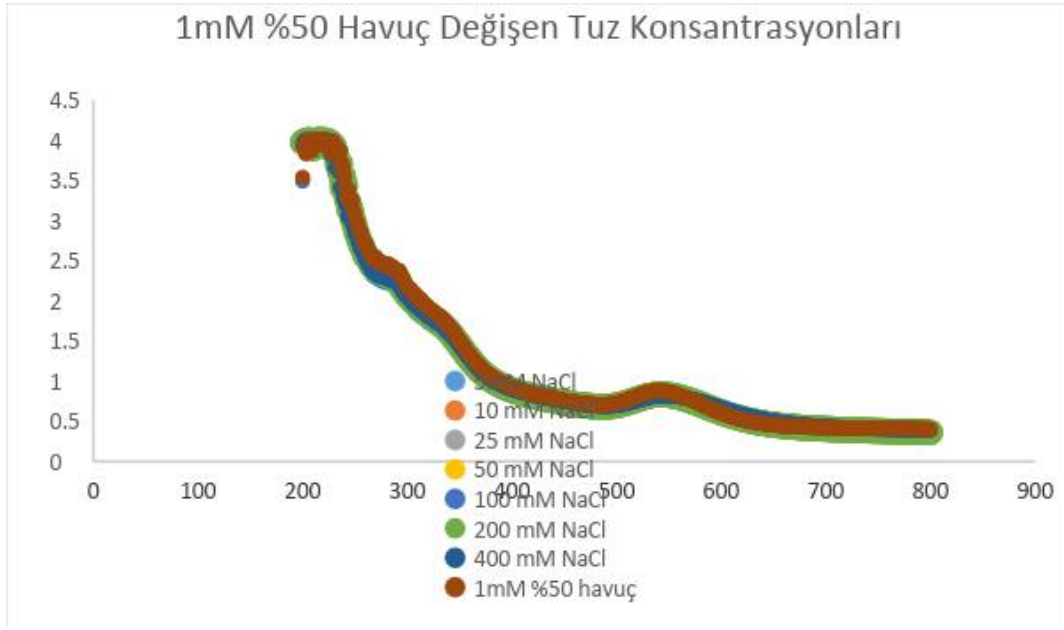
Şekil 8. %10 havuç-2mM Kloroaurik asit sentez örneği değişen tuz konsantrasyonları



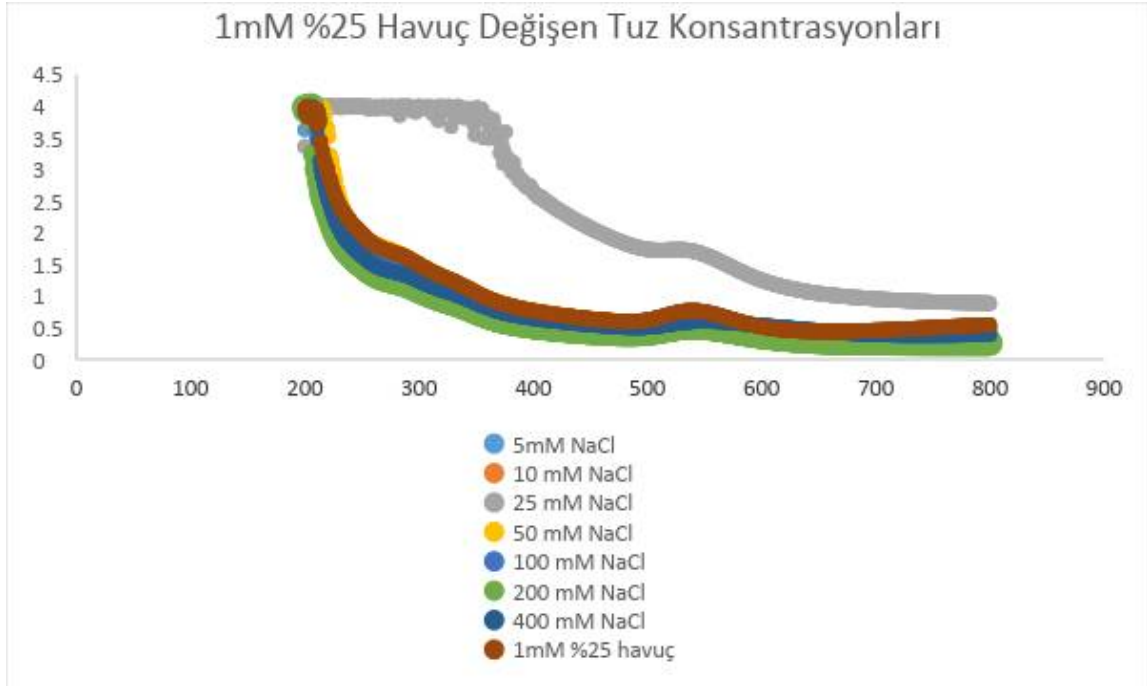
şekil 9. %5 havuç-2mM Kloroaurik asit sentez rneėi değişen tuz konsantrasyonları



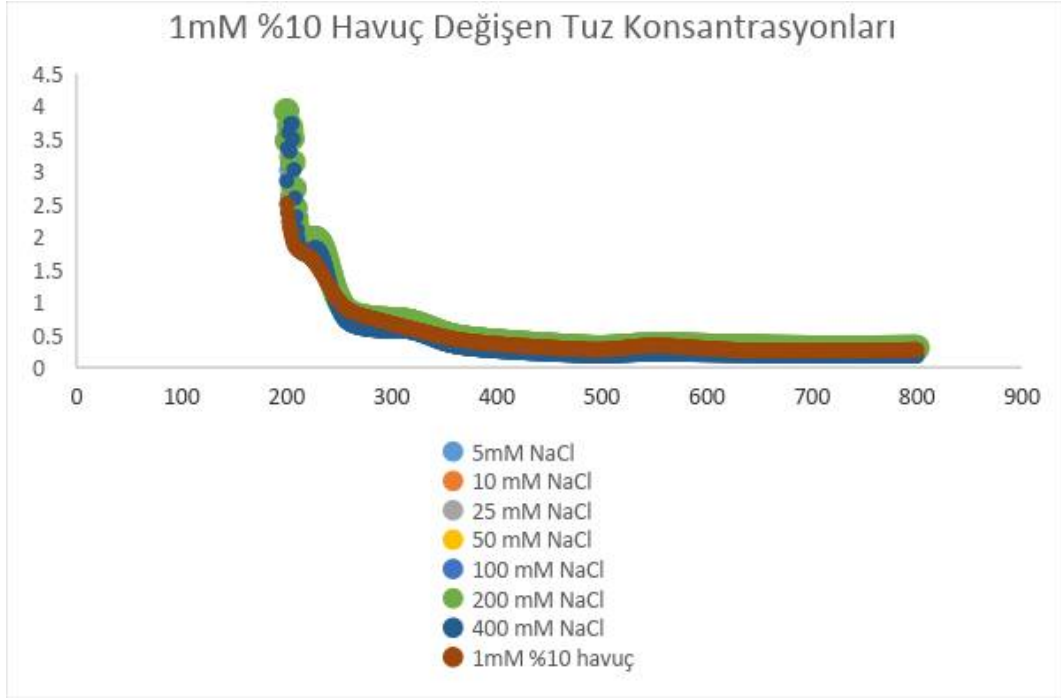
şekil 10. %100 havuç-1mM Kloroaurik asit sentez rneėi değişen tuz konsantrasyonları



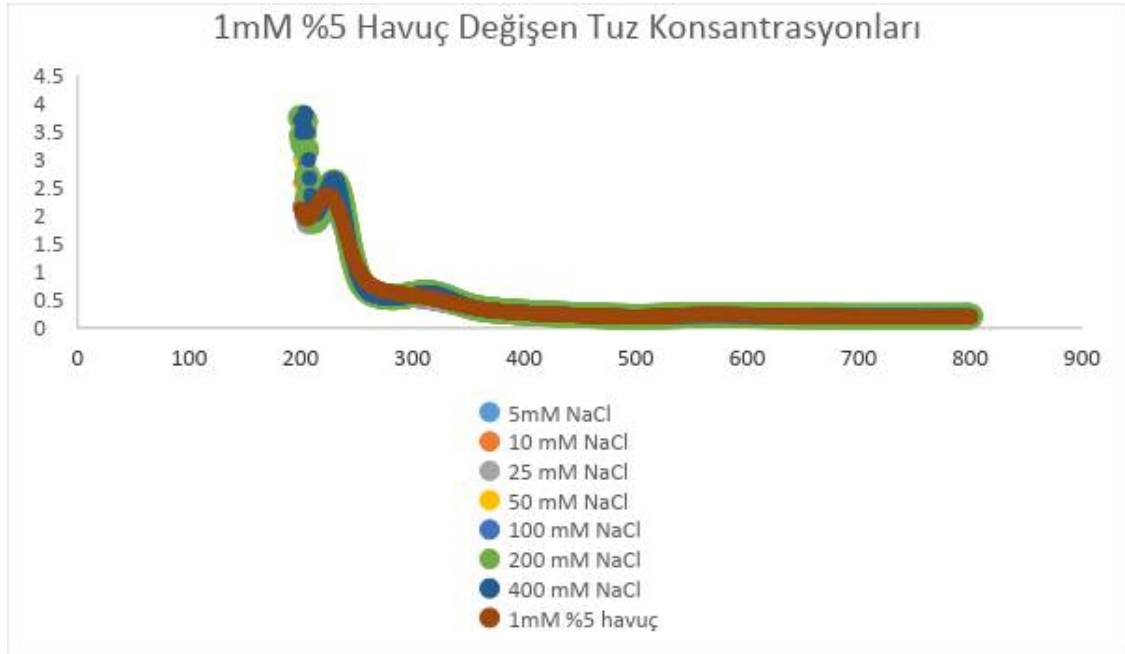
Şekil 11. %50 havuç-1mM Kloroaurik asit sentez örneği değişen tuz konsantrasyonları



Şekil 12. %25 havuç-1mM Kloroaurik asit sentez örneği değişen tuz konsantrasyonları

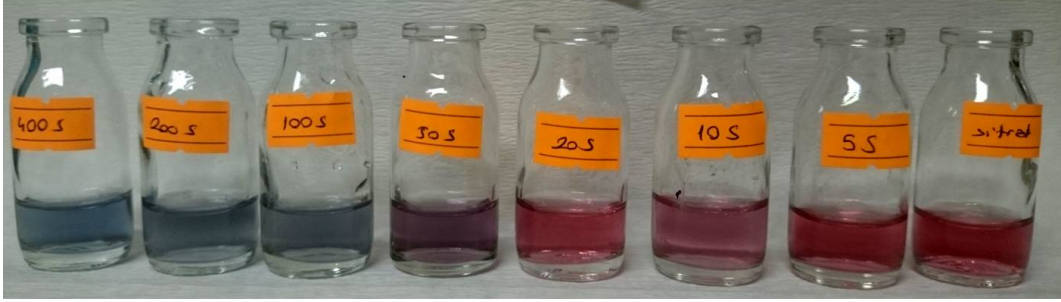


Şekil 13. %10 havuç-1mM Kloroaurik asit sentez örneği değişen tuz konsantrasyonları



Şekil 14. %5 havuç-1mM Kloroaurik asit sentez örneği değişen tuz konsantrasyonları

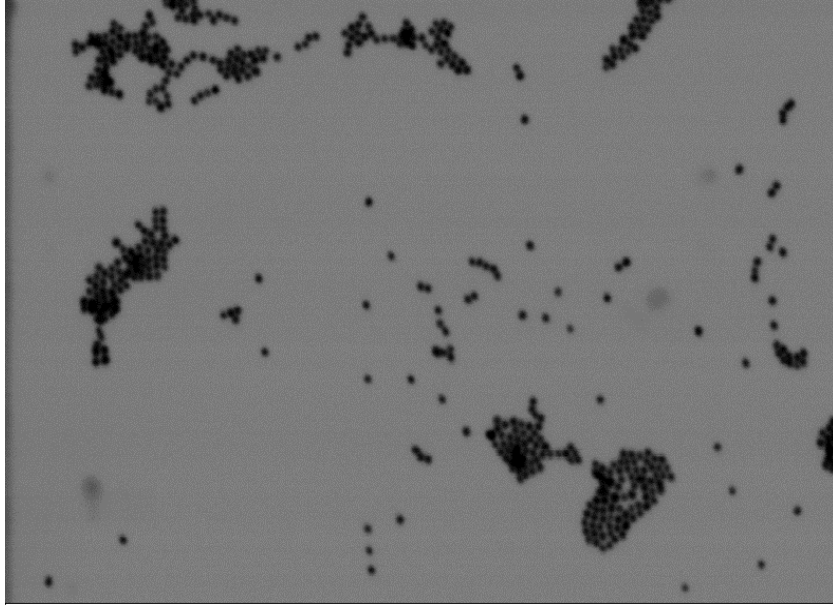
Sitrat ile sentezlenmiş Au NP



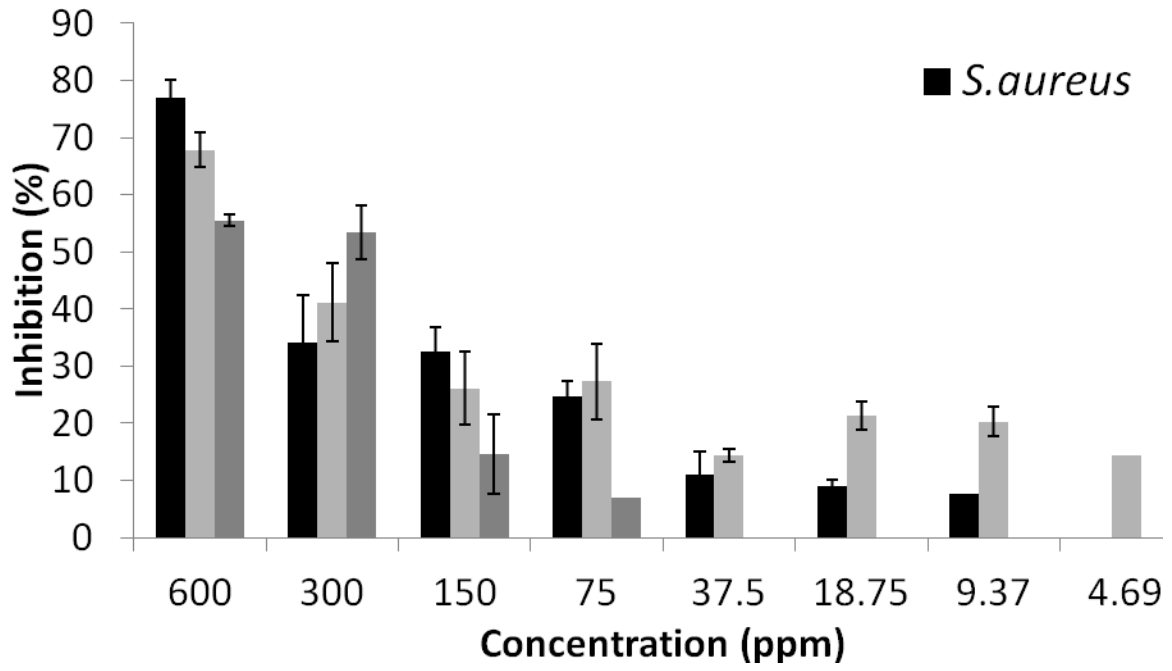
Havuc ekstresi ile sentezlenmiş Au NP



Şekil 14. Sitrat ve %10 havuç-1mM Kloroaurik asit ile sentezlenmiş Au NP sentez değişen tuz konsantrasyonlarına karşı resimleri.



Şekil 14. Sitrat ve %10 havuç-1mM Kloroaurik asit ile sentezlenmiş Au NP sentez değişen tuz konsantrasyonlarına karşı resimleri.



Şekil 15. %10 havuç-1mM Kloroaurik asit ile sentezlenmiş Au NPlerin patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Proje kapsamında Mor Havuç Bitkisi Ekstraktı kararlı Au NP'leri başarılı bir şekilde sentezleşmiş ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. Yeşil kimya sentez tekniği son yıllarda bilim insanlarının dikkatini oldukça çekmiş ve yoğun bir şekilde de kullanılmaktadır. Çünkü diğer kimyasal ve fiziksel yöntemler kullanılarak Au NP sentezlenmesi sırasında kullanılan zararlı ve toksik özelliği ya da pahalı kimyasal maddelerin kullanımının yerine bitkilerde bulunan doğal indirgenme ajanının kullanılması bir çok avantaj sağlamaktadır Proje kapsamında sistematik bir şekilde farklı kütle oranlarda Mor Havuç Bitkisi Ekstraktı ve farklı konsantrasyonlarda Au³⁺ çözeltisi kullanılmış ve Uv-Vis spektrofotometri sonuçları deneysel parametreler ışığında 525-580 nm aralığında Au NPlere ait karakteristik absorpsiyon noktaları vermiştir. Ayrıca, benzer morfoloji ve boyutta Au NPlerin üretildiği geçişli elektron mikroskobu (TEM) resimleri ile kanıtlanmıştır. Mor Havuç Bitkisi Ekstraktı kullanılarak elde edilen Au NPlerin en önemli özelliklerinden biri ise yüksek tuz konsantrasyonlarında dahi Au NPlerin agregasyon oluşturmamasıdır ve orijinal kırmızı rengini muhafaza etmesidir. Budurum Au NPlerin yüksek tuz konsantrasyonu içeren ortamlarda kullanıma imkanı verirken, biyoanalitik ve biyomedikal uygulamalar içinde umut vaat etmektedir.

Bu çalışmada, ayrıca Mor Havuç Bitkisi Ekstraktı kullanılarak elde edilen biyoyumlu Au NPlerin oldukça kolay ve düşük maliyetli sentezlenmesine olanak sağlamıştır. Au NPlerin Antibakteriyel aktivite testleri için Gram (-) *Escherichia coli* (E. Coli), Gram (+) *Staphylococcus aureus* (S. aureus) bakterisi ve *Candida fungus albicans* (C. albicans) mantarı üzerinde uygulanmıştır.

Tüm bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsüne (CLSI, 2012) dayanan *in vitro* sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak test edildi. Bakteri konsantrasyonu 1 x 10⁸ cfu / ml ve mantar konsantrasyonu 1 x 10⁶ cfu / ml olarak ayarlandı. Yu ve ark.'na göre,(2016) her bakteri ve mantar suşu için inhibisyon yüzdesi spektrofotometrik olarak hesaplandı. Tüm deneyler iki paralelde kuruldu ve üç kez tekrarlandı. Yu, Q., Li, J., Zhang, Y., Wang, Y., Liu, L., & Li, M. (2016). Inhibition of gold nanoparticles (AuNPs) on pathogenic biofilm formation and invasion to host cells. Scientific Reports, 6.

6. KAYNAKLAR

1. J. Safari, Z. Zarnegar, Advanced drug delivery systems: Nanotechnology of health design A review, J. Saudi Chem. Soc., 2014, 18, 85- 99.
2. S.K. Sahoo, S.P.J. Parveen, The present and future of nanotechnology in human health care. Nanomedicine, 2007, 3, 20-31.
3. S. Ahmed, M. Ahmad, B.L. Swami, S. Ikram, A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications : A green expertise. J. Adv. Res. 2016, 7, 17- 28.
4. A. Kumar, Y. Chisti, U. Chand, Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. Biotechnol. Adv., 2013, 31, 346-356.
5. S. Ahmed, S. Ullah, M. Ahmad, B.L. Swami, Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract, J. Rad. Res. App., 2016, 9, 1-7.
6. K. Krishnaswamy, H. Vali, V. Orsat, Value-adding to grape waste : Green synthesis of gold nanoparticles, Journal of Food Engineering, 2014, 142, 210-220.
7. N. Kulkarni, U. Muddapur, Biosynthesis of Metal Nanoparticles: A Review, J. Nanotechnol. 2014, 1-8.
8. J. Mittal, A. Batra, A. Singh, M.M. Sharma, Phytofabrication of nanoparticles through plant as nanofactories, Adv. Nat. Sci. Nanosci Nanotechnol 2014, 5, 1-10.
9. N. Yang, L. WeiHong, L. Hao, Biosynthesis of Au nanoparticles using agricultural waste mango peel extract and its in vitro cytotoxic effect on two normal cells. Mater. Lett., 2014, 134, 67-70.
10. C. Tamuly, M. Hazarika, M. Bordoloi, Biosynthesis of Au nanoparticles by *Gymnocladus assamicus* and its catalytic activity. Mater. Lett., 2013, 108, 276-279.
11. W. Wu, J. Huang, L. Wu, D. Sun, L. Lin et al. Two-step size- and shape-separation of biosynthesized gold nanoparticles, Sep. Purif. Technol., 2013, 106, 117-122.
12. B. Paul, B. Bhuyan, D. Dhar Purkayastha, M. Dey, S.S. Dhar, Green synthesis of gold nanoparticles using *Pogestemon benghalensis* (B) O. Ktz. leaf extract and studies photocatalytic activity in degradation of methylene blue, Mater. Lett., 2015, 148, 37-40.
13. K.B. Narayanan, N. Sakthivel, Coriander leaf mediated biosynthesis of gold nanoparticles, Mater. Lett., 2008, 62, 4588-4590.

14. K. Tahir, S. Nazir, B. Li, A.U. Khan, Z.U.H. Khan, et al. Nerium oleander leaves extract mediated synthesis of gold nanoparticles and its antioxidant activity, *Mater. Lett.*, 2015, 156, 198-201.
15. S. Patra, S. Mukherjee, A.K. Barui, A. Ganguly, B. Sreedhar, et al. Green synthesis, characterization of gold and silver nanoparticles and their potential application for cancer therapeutics, *Mater. Sci. Eng. C*, 2015, 53, 298-309.
16. D. Raju, R.K. Vishwakarma, B.M. Khan, U.J. Mehta, A. Ahmad, Biological synthesis of cationic gold nanoparticles and binding of plasmid DNA, *Mater. Lett.*, 2014, 129, 159-161.
17. A. Muthuvel, K. Adavallan, K. Balamurugan, N. Krishnakumar, Biosynthesis of gold nanoparticles using *Solanum nigrum* leaf extract and screening their free radical scavenging and antibacterial properties, *Biomed. Prev. Nutr.*, 2014, 4 (2), 325-332.
18. M. R. Bindhu, P. Vijaya Rekha, T. Umamaheswari, M. Umadevi, Antibacterial activities of *Hibiscus cannabinus* stem-assisted silver and gold nanoparticles. *Mater. Lett.*, 2014, 131, 194-197.
19. J. Das, P. Velusamy, Catalytic reduction of methylene blue using biogenic gold nanoparticles from *Sesbania grandiflora*, *L. J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 2014, 45, 2280-2285.
20. N. Ul, K. Jalil, M. Shahid, A. Rauf, N. Muhammad et al., Green synthesis and biological activities of gold nanoparticles functionalized with *Salix alba*, *Arabian Journal of Chemistry* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.06.025> 2015, 1-12.
21. M. Guo, Li. W, F. Yang, H. Liu, Controllable biosynthesis of gold nanoparticles from a *Eucommia ulmoides* bark aqueous extract, *Spectrochim. Acta Part a Mol. Biomol Spectrosc.*, 2015, 142, 73-79.
22. N. Abdel-Raouf, N.M. Al-Enazi, I.B.M. Ibraheem, Green biosynthesis of gold nanoparticles using *Galaxaura elongata* and characterization of their antibacterial activity, *Arab J Chem.*, 2013, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.11.044>, 1-11.
23. D. Philip, C. Unni, Extracellular biosynthesis of gold and silver nanoparticles using Krishna tulsi (*Ocimum sanctum*) leaf. *Phys E Low-dimensional Syst Nanostructures*, 2011, 43, 1318-1322.
24. D. Kalpana, J.H. Han, W.S. Park, S.M. Lee, Y.S. Lee, et al. Green Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Torreya nucifera* and their Antibacterial Activity, *Arab J Chem.*, 2014, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.08.016>, 1-11.
25. M. M. H. Khalil, E. H. Ismail, F. El-Magdoub, Biosynthesis of Au nanoparticles using olive leaf extract. *Arab. J. Chem.* 2012, 5, 431-437.

26. R. Manikandan, B. Manikandan, T. Raman, K. Arunagirinathan, N.M. Prabhu, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using ethanolic petals extract of *Rosa indica* and characterization of its antibacterial, anticancer and anti-inflammatory activities, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2014, 138C, 120-129.
27. N. U. Islam, K. Jalil, M. Shahid, N. Muhammad, A. Rauf, *Pistacia integerrima* gall extract mediated green synthesis of gold nanoparticles and their biological activities. *Arab. J. Chem.*, 2015, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.02.014>, 1-10.
28. K. Mohan Kumar, B. K. Mandal, H. A. Kiran Kumar, S. B. Maddinedi, Green synthesis of size controllable gold nanoparticles. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2013, 116, 539-545.
29. A. Annamalai, V.L.P. Christina, D. Sudha, M. Kalpana, P. T. V. Lakshmi, Green synthesis, characterization and antimicrobial activity of Au NPs using *Euphorbia hirta* L. leaf extract. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 2013, 108, 60-65.
30. T. Y. Suman, S. R. R. Rajasree, R. Ramkumar, C. Rajthilak, P. Perumal, The Green synthesis of gold nanoparticles using an aqueous root extract of *Morinda citrifolia* L. *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2014, 118, 11-16.
31. B. Sadeghi, *Zizyphus mauritiana* extract-mediated green and rapid synthesis of gold nanoparticles and its antibacterial activity, *J. Nanostructure Chem.*, 2015, 5, 265-273.
32. G. Mazza, E. Miniati, Anthocyanin in fruits, vegetables and grains (p 32). Boca Raton, FL.CRC pres: 1993 (Alınmıştır: Kırca, A., Özkan, M. And Cemeroğlu, B.,. Stability of black carrot anthocyanins in various fruits juices and nectars. *Food Chemistry*. 2005, 97, 598-605).
33. E. C. Montilla, M. R. Arzaba, S. Hillebrand, P. Winterhalter, Anthocyanin composition of Black Carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) cultivars antonina, beta sweet, deep purple, and purple haze. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, 59, 3385–3390.
34. D. Kammarer, R. Carle, and A. Schiber,. Characterization of phenolics acids in black carrots (*Daucus carota* ssp. *Sativus* var. *Atrorubens* Alef.) by high performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Pub-Med*, 2004, 18(12), 1331-1340.
35. A. Kırca, M. Özkan and B. Cemeroğlu, Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. *Food Chemistry*, 2005, 97, 598-605.
36. A. S. Abubakar, I. B. Salisu, S. Chahal, G. Sahni, R. N. Pudake, Biosynthesis and characterization of silver nano particles using black carrot root extract. *Int. J. Cur. Res. Rev.*, 2014, 6, 17 5-8.

- 37.** I. Ocsoy, M.L. Paret, M.A. Ocsoy, S. Kunwar, T. Chen, M. You, W. Tan, Nanotechnology in plant disease management: DNA-directed silver nanoparticles on graphene oxide as an antibacterial against *Xanthomonas perforans*,. ACS Nano 2013, 7, 8972-8980.
- 38.** I. Ocsoy, B. Gulbakan, T. Chen, G. Zhu, Z. Chen, M. Sari, L. Peng, X. Xiong, X. Fang, W. Tan, DNA-guided metal-nanoparticle formation on graphene oxide surface. Adv. Mater. 2013, 25(16), 2319-2325.