

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**CuO, ZnO ve TiO₂ NANOPARTİKÜLLERİNİN *Mentha aquatica* L.
BİTKİSİNİN YAPRAK EKSTRAKTI KULLANILARAK
BİYOSENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE GENOTOKSİK
ETKİLERİ**

**Hazırlayan
Fatih Doğan KOCA**

**Danışman
Prof. Dr. Fatih DUMAN**

Doktora Tezi

**Eylül 2017
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**CuO, ZnO ve TiO₂ NANOPARTİKÜLLERİNİN *Mentha
aquatica* L. BİTKİSİNİN YAPRAK EKSTRAKTI
KULLANILARAK BİYOSENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE GENOTOKSİK ETKİLERİ
(Doktora Tezi)**

**Hazırlayan
Fatih Doğan KOCA**

**Danışman
Prof. Dr. Fatih DUMAN**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından FDK-2015-5650 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Eylül 2017
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

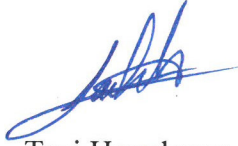
Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Fatih Doğan KOCA



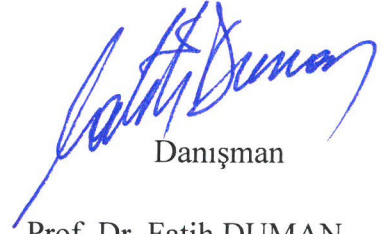
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

CuO, ZnO ve TiO₂ Nanopartiküllerinin *Mentha aquatica* L. Bitkisinin Yaprak Ekstraktı Kullanılarak Biyosentezi, Karakterizasyonu ve Genotoksik Etkileri adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.



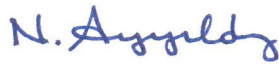
Tezi Hazırlayan

Fatih Doğan KOCA



Danışman

Prof. Dr. Fatih DUMAN



Biyoloji ABD Başkanı

Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

Prof. Dr. Fatih DUMAN danışmanlığında **Fatih Doğan KOCA** tarafından hazırlanan “**CuO, ZnO ve TiO₂ Nanopartiküllerinin *Mentha aquatica* L. Bitkisinin Yaprak Ekstraktı Kullanılarak Biyosentezi, Karakterizasyonu ve Genotoksik Etkileri**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

20 /09/ 2017

JÜRİ:

Danışman : Prof. Dr. Fatih DUMAN
 Üye : Prof. Dr. Dilek DEMİREZEN YILMAZ
 Üye : Doç. Dr. Cemil İŞLEK
 Üye : Yrd. Doç. Dr. İsmail ÖÇSOY
 Üye : Yrd. Doç. Dr. Göksal SEZEN

(Handwritten signatures of the jury members)

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 10/10/2017 tarih ve 2017/44-05 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

(Handwritten signature of Prof. Dr. Mehmet AKKURT)

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans ve Doktora öğrenimim boyunca danışmanlığımı yürüten, tezin tüm aşamalarında yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve bu günlere gelmemde en büyük katkı sahiplerinden biri olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Fatih DUMAN'a, çalışmalarım sırasında bilgi ve görüşlerinden faydalandığım ve manevi desteğini benden esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Dilek DEMİREZEN YILMAZ'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Deneyisel çalışmalarım sırasında karşılaştığım zorlukları aşmamda yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. İsmail ÖÇSOY, Doç. Dr. Fatma Öztürk KÜP, Yrd. Doç. Dr. İsmail ÜLGER, Erciyes Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma Merkezi Personeli Teknisyen İsmail KILIÇ, Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Personeli Yüksek Kimyager Fatma KILIÇ DOKAN, Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi Personeli Uzman Dilek BAHAR, sevgili arkadaşım Arş. Gör. Mithat GÜLLÜ'ye, tanıştığım günden beri hayatımın her anında yanımda olan, maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen değerli büyüğüm Erkan ÜREY ve çalışmalarım boyunca aynı laboratuvarı kullandığımız çalışma arkadaşım Haydar Matz MUHY'a teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasına maddi destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: FDK-2015-5650) teşekkür ederim.

Ayrıca; çalışmalarım süresince sabır göstererek beni daima destekleyen aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Fatih Doğan KOCA

Kayseri, Eylül 2017

**CuO, ZnO ve TiO₂ NANOPARTİKÜLLERİNİN *Mentha aquatica* L. BİTKİSİNİN
YAPRAK EKSTRAKTI KULLANILARAK BİYOSENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE GENOTOKSİK ETKİLERİ**

Fatih Doğan KOCA
Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Doktora Tezi, Eylül 2017

Danışman: Prof. Dr. Fatih DUMAN

ÖZET

100 nm'den daha küçük boyuta sahip olan nanopartiküller, geniş yüzey alanlarına ve yüksek yüzey enerjisine sahiptir. Nanomalzemeler sahip oldukları bu eşsiz özellikleri sayesinde tıpta, biyomedikal, elektronik uygulamaları, ilaç salınımı ve gen transferi, kozmetik sanayi ve biyosensör uygulamalarında kendisine yer bulmaktadır. Bu çalışmada, *Mentha aquatica* bitkisinin yaprak özütü ile CuO, ZnO ve TiO₂ nanopartikülleri (NP) biyolojik yöntemle sentezlenmiştir. Sentezlenen NP'lerin karakterizasyonu UV-Vis, yüzey yükü, SEM, XRD, FT-IR, DLS ve TGA ile gerçekleştirilerek, genotoksik ve sitotoksik özellikleri incelenmiştir. CuO NP'nin ışık emme noktası 343 nm, yüzey yükü -13.9 mV, ortalama boyutu 57 nm olarak belirlenmiştir. ZnO NP'nin ışık emme noktasının 366 nm, yüzey yükünün -13.3 mV, ortalama boyutunun 74 nm civarında olduğu gözlenmiştir. TiO₂ NP'nin ışık emme noktası 354 nm, yüzey yükü -37.6 mV, ortalama boyutu 69 nm olarak tespit edilmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin plazmid DNA'sı (pBR 322) ile etkileşimi incelenmiş, konsantrasyon artışı ile DNA yapılarında hasara neden olduğu gözlenmiştir. CuO NP'nin çalışılan tüm konsantrasyonlarında DNA hasarına yol açtığı ve bu hasarın iyon formuna göre daha şiddetli olduğu gözlenmiştir. ZnO ve TiO₂ NP'lerin konsantrasyon artışına bağlı olarak plazmid DNA'sında hasara yol açtığı belirlenmiştir. Fare kemik iliği kaynaklı mezankimal kök hücreleri (rKİ-MKH) üzerinde yapılan sitotoksisite testlerinde CuO, ZnO ve TiO₂ NP'lerin konsantrasyon ve zamana bağlı olarak hücre canlılığında azalmaya neden olduğu kaydedilmiştir. Ayrıca Cu, Zn ve Ti iyon formlarının nano formuna kıyasla fare kemik iliği kaynaklı mezankimal kök hücre canlılığında daha fazla azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada *M. aquatica* yaprak özütü ile CuO, ZnO ve TiO₂ NP'lerin ucuz, kısa sürede ve çevre dostu yöntemle sentezlenerek genotoksik ve sitotoksik çalışmalarda kullanılabileceği öngörülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Mentha aquatica*, CuO NP, ZnO NP, TiO₂ NP, Biyosentez, Genotoksisite, Sitotoksisite.

**CHARACTERIZATION and GENOTOXIC EFFECTS OF BIOLOGICALLY
SYNTHETIZED CuO, ZnO and TiO₂ NANOPARTICLES USING *Mentha
aquatica* L. LEAF EXTRACT**

Fatih Doğan KOCA

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

PhD Thesis, September 2017

Supervisor: Prof. Dr. Fatih DUMAN

ABSTRACT

Nanoparticles smaller than 100 nm have large surface areas and high surface energy. Nanomaterials with these unique properties have medical, biomedical, electronic, drug deliver, gene transfer, cosmetic and biosensor applications. In this study, CuO, ZnO and TiO₂ nanoparticles (NP) were synthesized biologically with leaf extract of *Mentha aquatica*. Characterization of the synthesized NPs was carried with UV-Vis, Zeta, SEM, XRD, FT-IR, DLS and TGA, also genotoxic and cytotoxic properties were investigated. It was determined that the UV-Visible absorption spectra of the CuO NP was 343 nm, the zeta potential was -13.9 mV and the average size was 57 nm. It was observed that the UV-Vis absorption spectra of the ZnO NP was 366 nm, the zeta potential was -13.3 mV and the average size was around 74 nm. The UV-Vis absorption spectra of the TiO₂ NP was 354 nm, the zeta potential was -37.6 mV and the average size was 69 nm. The interaction of the synthesized nanoparticles with plasmid DNA (pBR 322) was investigated and it was observed that an increase in the concentration caused damage to the DNA constructs. CuO NP caused DNA damage at all studied concentrations and this damage was observed to be more severe than the ionic form. It has been determined that ZnO and TiO₂ NPs caused damage to the plasmid DNA depending on an increase in the concentration. It has been noted that CuO, ZnO and TiO₂ NPs in cytotoxicity tests on mouse bone marrow derived mesenchymal stem cells (rKi-MKH) caused a decrease in the cell viability depending on the concentration and time. It has also been determined that Cu, Zn and Ti ionic forms caused a further decrease in the mesenchymal stem cell viability induced by mouse bone marrow compared to the nanoparticles. In this study, it was predicted that CuO, ZnO and TiO₂ NPs could be used in genotoxic and cytotoxic studies when synthesized with a cheap, short time and environmentally friendly method with the *M. aquatica* leaf extract.

Keywords: *Mentha aquatica*, CuO NP, ZnO NP, TiO₂ NP, Biosynthesis, Genotoxicity,

Cytotoxicity

İÇİNDEKİLER

CuO, ZnO ve TiO ₂ NANOPARTİKÜLLERİNİN <i>Mentha aquatica</i> L. BİTKİSİNİN YAPRAK EKSTRAKTI KULLANILARAK BİYOSENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE GENOTOKSİK ETKİLERİ.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
ONAY :.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER.....	xi
TABLolar LİSTESİ.....	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvi
GİRİŞ	2

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1 Nanopartiküllerin Özellikleri ve Kullanım Alanları	3
1.1.1 CuO, TiO ₂ ve ZnO Nanopartiküllerin Kullanım Alanları.....	3
1.2 Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri	6
1.2.1 Biyolojik Sentezde Kullanılan Biyolojik Ajanlar	8
1.2.1.1 Mikroorganizmalar	8
1.2.1.2 Algler	8
1.2.1.3 Mantar ve Likenler	9
1.2.1.4 Bitkiler	9

1.3. Bitki Özütleri Kullanılarak Sentezlenen Nanopartikülün Yapısına Etki Eden Faktörler	16
1.3.1. Bitki Türü Ve Kısımları	16
1.3.2 Bitki Özütü Konsantrasyonu	17
1.3.3 Metal Konsantrasyonu	19
1.3.4 Reaksiyon Süresi	20
1.3.5 Asitlik-Bazlık	20
1.3.6 Sıcaklık	21
1.4. Bazı Nanopartikül Grupları	23
1.4.1. Karbon Nanotüpleri	23
1.4.2. Karbon Fiber ve Karbon Nanofiberler	23
1.4.3. Quatum Dot	24
1.5 İndirgeyici ajan <i>Mentha aquatica</i>	24
1.6 Bitki Özütleri İle Sentezlenen Nanopartiküllerin Kullanılabilirlik Değerlendirilmeleri	25
1.8. Literatür Özeti	28

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOD

2.1 <i>Mentha aquatica</i> L.	42
2.2 Bitki Örneklerinin Toplanması	47
2.3 <i>Mentha aquatica</i> Yaprak Özütü ile ZnO, CuO ve TiO₂ Nanopartiküllerinin Sentezi	47
2.3.1 CuO NP Biyosentezi	47
2.3.2 ZnO NP Biyosentezi	49
2.3.3 TiO ₂ NP Biyosentezi	49
2.4 Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	50
2.5 Sentezlenen Nanopartiküllerin Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi	51

2.6 Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi	52
2.7 İstatistiksel Analiz	53

3.BÖLÜM

BULGULAR

3.1 CuO NP'nin Karakterizasyonu	54
3.1.1 Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopi Analizi	54
3.1.2 Yüzey Yükü Ölçümü	55
3.1.3 Dinamik Işık Saçılım Analizi	56
3.1.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi Analizi	56
3.1.5 X-Işınları Toz Difraksiyon Analizi	59
3.1.6 Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüsü.....	60
3.1.7 Termogravimetrik ve Diferansiyel Termal Analizi.....	60
3.2. ZnO NP'nin Karakterizasyonu	61
3.2.1 Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopi Analizi	61
3.2.2 Yüzey Yükü Ölçümü	61
3.2.3 Dinamik Işık Saçılım Analizi	62
3.2.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi Analizi	62
3.2.5 X-Işınları Toz Difraksiyon Analizi	63
3.2.6 Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüsü.....	63
3.2.7 Termogravimetrik ve Diferansiyel Termal Analizi.....	64
3.3 TiO ₂ NP'nin Karakterizasyonu	65
3.3.1 Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopi Analizi	65
3.3.2 Yüzey Yükü Ölçümü	65
3.3.3 Dinamik Işık Saçılım Analizi	66
3.3.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi Analizi	66

3.3.5 X-Işınları Toz Difraksiyon Analizi	67
3.3.6 Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüsü.....	67
3.3.7 Termogravimetrik ve Diferansiyel Termal Analizi.....	68
3.4 Sentezlenen Nanopartiküllerin Sitotoksik Etkileri	69
3.4.1 CuO NP'nin Sitotoksik Etkisi	69
3.4.1 ZnO NP'nin Sitotoksik Etkisi	70
3.4.1 TiO ₂ NP'nin Sitotoksik Etkisi	71
3.4 Sentezlenen NP'lerin Genotoksik Etkisi.....	72

4. BÖLÜM

SONUÇ, TARTIŞMA ve ÖNERİLER

4.1 CuO NP'nin Karakterizasyonu	75
4.2 ZnO NP'nin Karakterizasyonu	77
4.3 TiO ₂ NP'nin Karakterizasyonu	79
4.4 Nanopartiküllerin Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi.....	81
4.4.1 CuO NP'nin Sitotoksik Etkisi	81
4.4.2 ZnO NP'nin Sitotoksik Etkisi	83
4.4.3 TiO ₂ NP'nin Sitotoksik Etkisi	84
4.5 CuO, ZnO ve TiO ₂ NP'lerin Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi.....	85
4.6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	87
4.6.1 Sonuç.....	87
4.6.2 Öneriler	88
KAYNAKLAR.....	90
ÖZGEÇMİŞ	119

KISALTMALAR ve SİMGELER

NP	Nanopartikül
CuO	Bakır oksit
ZnO	Çinko oksit
TiO ₂	Titanyum dioksit
Ti	Titanyum
Au	Altın
Pd	Paladyum
Fe	Demir
Ag	Gümüş
Pt	Platin
Se	Selenyum
Hg	Civa
Zr	Zirkon
Pb	Kurşun
Cd	Kadmiyum
Ni	Nikel
Mn	Mangan
Cr	Krom
Fe	Demir
Fe ₃ O ₄	Demir oksit
In ₂ O ₃	Indium oxide
MgO	Magnezyum oksit
Al ₂ O ₃	Aluminyum oksit
CdS	Kadmiyum sülfür
AgNO ₃	Gümüş Nitrat

NaBH_4	Sodyum borohidrat
ZnNO_3	Çinko nitrat
CuSO_4	Bakır sülfat
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5 sulu bakır sülfat
QDs	Kuantum dotlar
CuQDs	Bakır quantum dotlar
CdS QDs	Kadmiyum sülfid quantum dotlar
pH Power of hydrogen	Hidrojen Gücü
$\pm$	Artı ve eksi yönde değişken
$>$	Büyük
$\leq$	Küçük eşit
%	Yüzde
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
rpm (Route Per Minute)	Dakikadaki dönüş sayısı
nm	Nanometre
cm	Santimetre
L	Litre
ml	Mililitre
μl	Mikrolitre
g	Gram
mg	Miligram
μg	mikrogram
M	Molar
mM	Milimolar
μM	Mikromolar

mV	milivolt
FESEM	Alan emisyonu taramalı elektron mikroskobu
DLS	Dinamik ışık dağılım
FT-IR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SPR	Yüzey plazmon rezonans
UV-Vis	Ultraviyole görünür bölge spektroskopisi
SPR	Yüzey plazmon rezonans
XRD	X Işınları Toz Difraksiyonu
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
TGA	Termogravimetrik ve diferansiyel termal analiz
LLC-PK1	Domuz böbrek hücre dizisi
A549	İnsan akciğer kanser epitel hücre hattı
MG-63	Osteosarkoma hücresi
Hep-2	İnsan monolayer tümör hücreleri
HepG2	İnsan karaciğer hücre dizisi
MCF7	İnsan meme kanser epitel hücre dizisi.
HeLa	İnsan rahimağzı kanser hücre dizisi
rKİ-MKH	Fare kemik iliği kaynaklı mezankimal kök hücreleri
MTCC 3160	<i>S. aureus</i>
E1 9886	<i>S. aureus</i>
MTCC 574	<i>E. coli</i>
ATCC 9027	<i>P. aeruginosa</i>
ATCC 8739	<i>E. coli</i>
pBR322	plazmid DNA
DNA	Deoksiribonükleik asit

ROS	Reaktif oksijen türleri
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DMEM	(Dulbecco's Modified Eagle Medium)
FBS	Fetal Bovine Serum
CO ₂	Karbondioksit
DMSO	Dimetil sülfoksit
TAE	Tris Asetik Asit Edta
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5- difeniltetrazolium bromid
α	Alfa
β	Beta
γ	Gamma
δ	Delta
ϵ	Epsilon
ζ	Zeta

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1.	CuO, ZnO ve TiO ₂ nanopartiküllerinin kullanım alanları.....	4
Tablo 1.2	Biyolojik indirgeyici ajanlar ile sentezlenen nanopartiküller	11
Tablo 1.3.	Bitki özütleri ile sentezlenen nanoaprtiküllerin endüstride kullanılabilirliği.....	25
Tablo 2.1.	<i>M. aquatica</i> sistematigi.....	43
Tablo 2.2.	Türkiye’de yetişen <i>Mentha aquatica</i> ’nın uçucu yağ içerikleri	43
Tablo 2.3.	<i>M. aquatica</i> ’nın toplam fenolik içeriğinin bazı bitkilerle karşılaştırılması	44
Tablo 2.4.	<i>M. aquatica</i> ’nın toplam flavanoid içeriğinin bazı bitkilerle karşılaştırılması	46
Tablo 2.5.	Nanopartiküllerin karakterizasyonlarının belirlenmesi	50
Tablo 3.1	Organik fonksiyonel grupların karakteristik IR emme frekansı	57

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1	Nanopartiküllerin genel kullanım alanları	5
Şekil 1.2.	Bazı nanopartiküllerin kullanım alanları.....	6
Şekil 2.1:	<i>Mentha aquatica</i> 'nın genel görünüşü	42
Şekil 2.2.	CuO sentez süreci a) <i>M. aquatica</i> özütü b) Bitki özütü ve CuSO ₄ karışım solüsyonu (başlangıç) c) CuO NP solüsyonu (24 saat sonra) d) Toz halinde CuO NP	48
Şekil 2.3.	ZnO sentez süreci a) %50 <i>M. aquatica</i> özütü b) ZnO NP solüsyonu (6 saat sonra) c) Toz halinde ZnO NP	49
Şekil 2.4.	TiO ₂ NP sentezi. a) <i>M. aquatica</i> özütü b) TiO ₂ NP Solüsyonu c) Toz TiO ₂ NP	50
Şekil 3.1.	Bitki Özütünün Ultraviyole Görünür Bölge Absorbsiyon Grafiği	54
Şekil 3.2.	CuO NP Solüsyonunun Ultraviyole Görünür Bölge Absorbsiyon Grafiği..	55
Şekil 3.3:	CuO NP'nin Yüzey Yüğü	55
Şekil 3.4.	CuO NP'nin Etkin Çapı	56
Şekil 3.5.	CuO NP Solüsyonunun FT-IR Analizi	56
Şekil 3.6.	CuO NP'nin XRD Analizi	59
Şekil 3.7.	CuO NP'nin SEM Görüntüsü.....	60
Şekil 3.8.	CuO NP'nin TGA Analiz Sonucu	60
Şekil 3.9.	ZnO NP Solüsyonunun UV Görünür Bölge Absorbsiyon Grafiği.....	61
Şekil 3.10.	ZnO NP'nin Yüzey Yüğü	61
Şekil 3.11.	ZnO NP'nin Etkin Çapı	62
Şekil 3.12.	ZnO Solüsyonunun FT-IR Analizi	62
Şekil 3.13.	ZnO NP'nin XRD Analizi.....	63
Şekil 3.14.	ZnO NP'nin SEM Görüntüsü.....	64
Şekil 3.15.	ZnO NP'nin TGA Analiz Sonucu	64
Şekil 3.16.	TiO ₂ NP Solüsyonunun Ultraviyole Görünür Bölge Absorbsiyon Grafiği .	65
Şekil 3.17.	TiO ₂ NP'nin Yüzey Yüğü	65

Şekil 3.18	TiO ₂ NP'nin Etkin Çapı	66
Şekil 3.19	TiO ₂ Solüsyonunun FT-IR Analizi.....	66
Şekil 3.20	TiO ₂ NP'nin XRD Analizi	67
Şekil 3.21.	TiO ₂ NP'nin SEM Görüntüsü	68
Şekil 3.22.	TiO ₂ NP'nin TGA Analiz Sonucu	68
Şekil 3.23.	CuO NP'nin Uygulama Konsantasyonuna Bağlı Olarak Hücre Canlılığındaki Değişimler.	69
Şekil 3.24.	ZnO NP'nin Uygulama Konsantasyonuna Bağlı Olarak Hücre Canlılığındaki Değişimler.	70
Şekil 3.25.	TiO ₂ NP'nin Uygulama Konsantasyonuna Bağlı Olarak Hücre Canlılığındaki Değişimler.	71
Şekil 3.26.a.	Cu iyonlarının pBR322 plazmid DNA etkileşimi.	72
Şekil 3.26.b	CuO NP'nin pBR322 plazmid DNA etkileşimi.	72
Şekil 3.27.a.	Zn iyonlarının pBR322 plazmid DNA etkileşimi.	73
Şekil 3.27.b.	ZnO NP'nin pBR322 plazmid DNA etkileşimi.	73
Şekil 3.28.a.	Ti iyonlarının pBR322 plazmid DNA etkileşimi.	74
Şekil 3.28.b.	TiO ₂ NP'nin pBR322 plazmid DNA etkileşimi.....	74

GİRİŞ

Teknoloji alanında kaydedilen gelişmeler insanların yaşam kalitesini artırmaya yönelik olarak günümüzde hız kazanmıştır. Özellikle nanopartiküllerin üretimi, avantaj ve dezavantajları gibi yönleriyle dikkatleri üzerine toplamıştır. Geleceğin teknolojisi olarak görülen nanopartiküller, uzun yıllar boyunca fiziksel ve kimyasal yöntemlerle sentezlenmiştir. Ancak gelişen teknoloji ile birlikte günümüzde daha ucuz, güvenli, kontrol edilebilir ve toksik olmayan malzeme ihtiyacı doğmuştur. Bu arayış içerisinde nanopartiküllerin biyolojik ajanlar ile sentezi üzerine yapılan çalışmalar hız kazanmıştır [1].

Nanomateriyaller 100 nm'den daha küçük boyutta ve yüksek yüzey enerjisine sahip olan parçacıklardır [2-3]. Sahip oldukları eşsiz özellikleri ile medikal, elektronik ve kozmetik uygulamalar başta olmak üzere birçok endüstride kullanılmaktadırlar [4]. CuO NP biyosensör üretimi, inorganik kirleticilerin arıtımı, güneş enerjisi dönüşüm sistemleri gibi farklı alanlarda kullanım olanaklarına sahiptir [5]. ZnO NP güneş pilleri, akustik dalga cihazları, kimyasal sensörü, ilaç ve kozmetik sanayi gibi endüstriyel alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır [3]. TiO₂ NP fotokatalitik ve biyomedikal uygulamalarda önemli bir yere sahiptir [6]. Endüstride yaygın kullanımı nedeni ile metal nanopartiküllerin sentezi, kullanılabilirliği ve toksisitesi önem arz etmektedir. Son yıllara kadar nanopartiküllerin geleneksel yöntemlerle sentezi, yüksek maliyet ve enerji gerektirmesinin yanında kimyasal ajanların kullanılması yönüyle de dezavantaj oluşturmuştur. Özellikle tıbbi uygulamalar için sentezlenen nanopartiküllerin toksik olmaması gerekmektedir [1]. Biyolojik sentezle kimyasal ajanların yerine mikroorganizmalar (*Pseudomonas antarctica*, *Arthrobacter kerguelensis*), makroalgler (*Colpomenia sinusa*, *Ulva fasciata*), mantarlar (*Aspergillus versicolor*, *Colletotrichum sp.*) ve bitki özütleri (*Salvia officinalis*, *Lippia citriodora*) sıklıkla kullanılmaktadır [7, 8, 9, 10, 11]. Bu yöntemin en önemli avantajı ucuz, kolay uygulanabilir ve çevre dostu olmasıdır. [2, 3]. Nanomalzemelerin bitki özütü ile sentezinde fenolik gruplar,

proteinler, polisakkaritler ve organik asitler gibi bitkisel bileşikler sentez sürecinde indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak önemli rol oynamaktadır [12, 13]. Biyolojik indirgeyici ajanlar olarak bitki özütlerinin kullanımı, hücre kültürüne ihtiyaç duymaması, bitkisel atıklarının kullanılabilmesi ve işlem süresinin daha kısa olması gibi özel nedenler ile daha cazip görünmektedir [14]. Ayrıca bitki özütü ile sentezlenen nanopartiküllerin fiziksel özelliklerine bitkinin türü, ortam sıcaklığı, reaksiyon süresi, özüt miktarı ve metal iyon konsantrasyonu gibi faktörlerle müdahale edilebilmektedir [15].

Hayatımızın bir parçası olan teknolojik ürünlerin toksik etkilerinin değerlendirmesi, insan ve çevre sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Vücuda solunum veya deri yoluyla geçebilen nanopartiküller, difüzyonla veya çekirdek porlarından geçerek hücre içerisine girdikten sonra ya DNA ile doğrudan etkileşime girerek ya da hücrede oksidatif hasara neden olarak toksik etki göstermektedir [16]. Diğer bir etki mekanizması ise reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı ile hücrelerde meydana gelen indirgenme-yükseltgenme dengesizliğinin neden olduğu oksidatif hasardır. ROS, hücrenin metabolik dengesini bozarak DNA ve protein gibi hücresel makromoleküllere zarar verebilmektedir. Bazı araştırmacılar nanopartiküllerden serbest kalan iyonların oksidatif hasara neden olduğunu savunmaktadır [17]. Nanopartiküllerin hücrelerde meydana getirdiği toksik etki partiküllerin boyutu, şekli ve porlu yapısına bağlıdır [18, 19].

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1 Nanopartiküllerin Özellikleri ve Kullanım Alanları

Dünya nüfusundaki artışa paralel olarak insanların sağlık, enerji ve kişisel bakım gibi ihtiyaçları da artmıştır. Artan ihtiyaçların daha güvenilir, ucuz, kolay ve hızlı karşılanmasına yönelik ilerlemeler kaydedilmektedir. Son yıllarda nanoteknoloji alanındaki gelişmelerle birlikte hammadde üretim çalışmaları da hız kazanmıştır. Günalan, nanomateriyalleri “modern tıbbın bir harikası” olarak adlandırmıştır [2]. Nanopartiküller, yüzey alanının büyüklüğü nedeniyle yüksek yüzey enerjisine sahip olan, atom benzeri davranışlar gösteren, 100 nanometreden (nm) daha küçük boyutlara sahip parçacıklardır [3]. Metal ve metal oksit nanopartikülleri geniş yüzey alanları ve yüzey enerjilerinin yüksek olması nedeni ile antimikrobiyal, manyetik, elektronik ve katalitik aktivite göstermektedirler. [4, 6, 14]. Metal nanopartiküller, farklı katalitik, optik ve manyetik özelliklere sahip olup, fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri de birbirinden farklıdır. Ayrıca, iyonik ve bulk (yığın) formlarının özellikleri değişim göstermektedir [20, 21]. Nanopartiküllerin kullanım alanları ve özellikleri, ürünün boyutu, şekli, içeriği, morfolojisi ve kristal yapısına göre değişmektedir [5]. Bu açıdan nanomalzemelerin kullanım alanları farklı bir başlık altında verilmiştir.

1.1.1 CuO, TiO₂ ve ZnO Nanopartiküllerin Kullanım Alanları

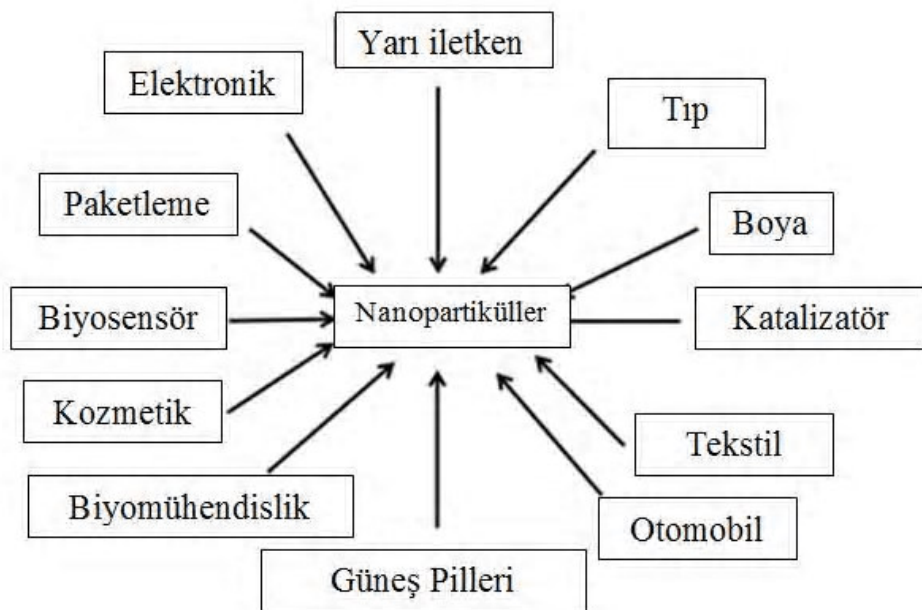
Nano boyutlu geçiş metal oksitleri, yarı iletkenlik özellikleri nedeniyle kimya, fizik, malzeme bilimi, tıp, biyoteknoloji ve çevresel teknoloji gibi alanlarda oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Şekil 1.1 ve 1.2). Ayrıca, yüzey hacim oranlarının yüksek olması ve boyutunun kontrol edilebilmesi gibi özellikleri nedeni ile ilaç transfer çalışmalarında da kullanılabilir [22, 23]. Nanopartikül bağlı ilaçların salınım açısından geleneksel ilaçlara göre bazı avantajları söz konusudur (uzatılmış yarı ömrü,

uzun sirkülasyon süresi, hedef organa etki, yan etkileri azaltılabilmesi, sıvı içerisinde kolayca süspanse edilebilmesi, organ ve dokulara daha etkili nüfus edebilmesi gibi) [1]. CuO, ZnO ve TiO₂ nanopartiküllerinin uygulama alanları tablo 1.1’de verilmiştir.

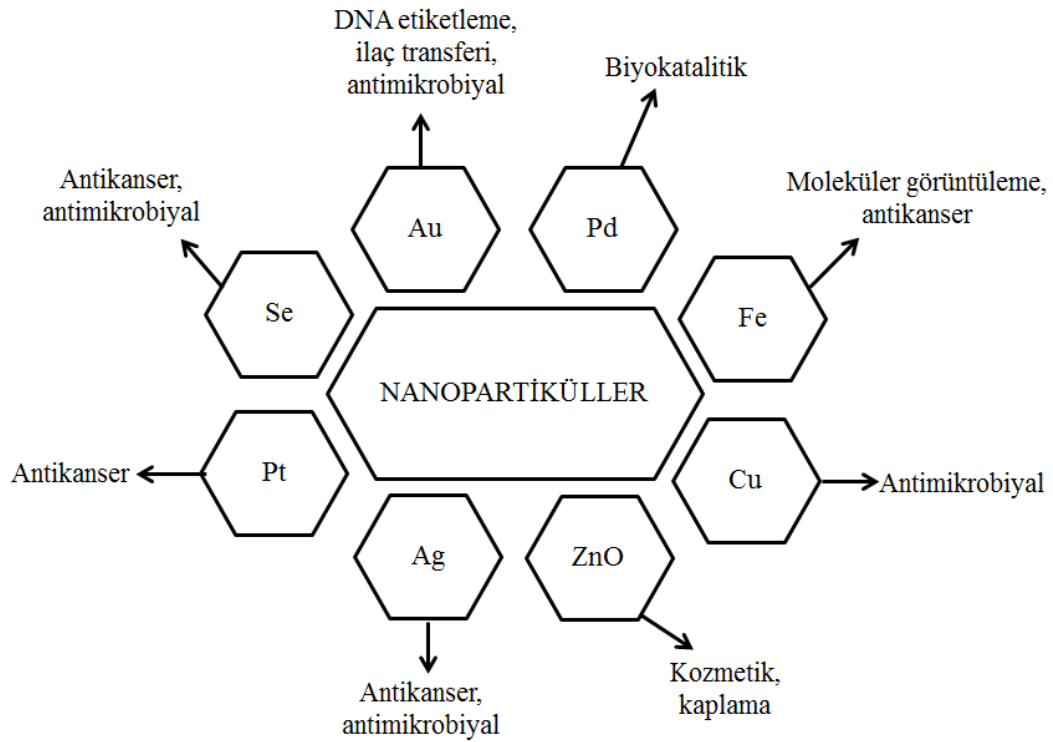
Tablo 1.1. CuO, ZnO ve TiO₂ nanopartiküllerinin kullanım alanları

Nanopartikül Türü	Kullanım Alanı	Referans
ZnO	Güneş Kremi, Kauçuk işleme, atıksu arıtımı, antibakteriyal	[2]
ZnO	Biyomedikal alanlar, eczacılık,	[3]
ZnO	Nanogübre	[24]
ZnO	Katalizör	[25]
ZnO	Işık yayan diyotlar, hidrojen depolama aygıtları	[26]
ZnO	Fungusit	[27]
ZnO	Bellek cihazları, fotokatalizör	[28]
ZnO	Yüzey akustik dalga cihazları, gaz algılama ve optoelektronik uygulamaları	[29]
CuO	Gaz Sensörü, Güneş enerji sistemleri,	[5]
CuO	Güneş pilleri, fotokatalitik uygulamalar	[22]
CuO	katalizör, süper iletkenler, güneş enerjisi dönüşüm sistemleri, alan emisyon yayıcıları	[30]
CuO	Lityum pilleri, biyosensör, fotodedektör, inorganik kirletici giderimi, manyetik depolama aletleri	[31]
CuO	Organik antimikrobiyal maddelerden daha kararlı ve uzun ömürlü antimikrobiyal uygulamalar	[32]
CuO	Pansuman malzemeleri	[33]
TiO ₂	Hava ve su arıtımı, boya, mürekkep, otomobil malzemeleri, kozmetik alanda,	[4]
TiO ₂	Dolgu Maddeleri	[6]

Nanopartikül Türü	Kullanım Alanı	Referans
TiO ₂	Elektronik veri toplama aletleri	[34]
TiO ₂	Diş macunu yapımında	[35]
TiO ₂	Kemik doku mühendisliği	[36]
TiO ₂	Korozyona dirençli aletlerin yapımında (korozyona karşı güçlü direnç göstermesi ve bu nedenle tuzdan arındırma tesislerinde kullanılması)	[37-38]
TiO ₂	Antimikrobiyal ürünler	[38]
TiO ₂	Mürekkep baskı, araba aletleri, havanın temizlenmesi, atık sularda organik madde arıtımı	[39]
TiO ₂	Boya, vernik, plastik üretimi	[40]
TiO ₂	Fotokatalizör	[41]
TiO ₂	Biyosensör	[42]
TiO ₂	Cilt bakım ürünleri	[43]



Şekil 1.1 Nanopartiküllerin genel kullanım alanları [39]



Şekil 1.2. Bazı nanopartiküllerin kullanım alanları [1].

1.2 Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri

Nanopartiküller endüstriyel boyutta geleneksel olarak fiziksel ve kimyasal yöntemlerle sentezlenmektedir. Nanopartiküller lazer ablasyon, piroliz, proton ışınlama yöntemi, kimyasal buhar, sol-jel tekniği, mikroemülsiyon, sonokimyasal redüksiyon gibi fiziksel ve kimyasal yöntemlerle sentezlenmektedir [44, 45]. Nanopartikül sentezinde yaygın olarak kullanılan hidrazin, N, N-dimetilformamid ve sodyum borohidrit gibi indirgeyici kimyasal ajanlar yüksek toksisiteye sahiptir [46]. Nanopartiküllerinin fiziksel sentezi termal buharlaşma, kimyasal buhar biriktirme, darbeleri lazer birikimi, moleküler ışın epitaksisi gibi yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. Ancak bu yöntemler yüksek vakum, enerji ve maliyet gerektirmektedir [29, 47]. Kimyasal yöntemler, ise solvotermal, sol-jel, sonokimyasal, hidrotermal, piroliz sprej ve elektrodpozisyon gibi pahalı ve çevre dostu olmayan yöntemlerle gerçekleştirilmektedir [29]. Fiziksel ve kimyasal yöntem sentezlemelerinde enerji dengesizliği ve zararlı atık problemi ortaya çıkmaktadır. Nispeten kısa zamanlı olarak kimyasal çöktürme, hidrotermal, elektrokimyasal teknolojiler gibi fiziksel ve kimyasal yöntemlerle metal nanopartiküllerinin sentezi

yapılmaktadır. Metal nanopartiküllerinin kimyasal sentezi bazı toksik maddelerin kullanılması nedeni ile tıbbi ve biyomedikal uygulamalarda olumsuz etki göstermektedir [1]. Metal nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal yöntemlerle sentezinde toksik maddelerin kullanımı, zararlı ürün oluşumu ve maliyetli olması gibi etkenler bu yöntemler için dezavantaj oluşturmaktadır [22]. Protein kaplı nanopartiküllerin sistematik dolaşımla ilaç salınımı için araç olarak kullanılmasının daha uygun olduğunu bildirilmiştir [48].

Bitki özütü gibi biyolojik ajanlar ile nanopartiküllerin biyosentezi ile ilgili çalışmalar günümüzde hız kazanmıştır. Nanopartiküllerin biyolojik sentezi; basit, toksik olmayan, güvenilir olarak doğal canlıların kullanılması olarak tanımlanabilir [32]. Bitki özütünde doğal olarak bulunan sekonder metabolitler (vitamin, şeker, terpen, flavonoid vb.) indirgeyici ajan olarak görev yapabilmektedir [1, 49-51]. Nanopartikül sentezinde bitki özütlerinin kullanılması, hücre kültürü oluşturulması, devamının sağlanması gibi ayrıntılı bir sürece ihtiyaç duymaması, daha yüksek miktarda sentez sağlanabilmesi ve işlem süresinin daha kısa olması gibi özellikleri ile diğer biyolojik yöntem sentezlerine karşı avantaj oluşturmaktadır [14, 51]. Bitki yaprak özütü kullanılarak sentezlenen nanopartiküllerin yüksek miktarda üretim için uygun olduğu, sentezlenen metal veya metal oksit nanopartiküllerinin oldukça stabil olduğu belirlenmiştir [51]. Metal akümülatör bitkilerde metaller, bitki bünyelerinde nanopartikül şeklinde depolanmaktadır [13]. Bitki özütlerinin içeriğinde bulunan organik indirgeyici ajanların kombinasyonları farklı olduğu için farklı bitki özütleri nanopartiküllerin karakterizasyonunu etkilemektedir [1].

Geçiş metal nanopartiküllerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri nanokristallerin yapısına, oluşumuna, şekil ve boyutuna bağlı olup, bitki özütleri ile sentezde bu özellikler kontrol edilebilmektedir. [31, 50]. Biyolojik sentez yöntemi ile elde edilen nanopartiküller sentez sürecinde toksik kimyasalların kullanılmaması, etraflarının protein ve nişasta ile kaplı olması yönüyle biyomedikal uygulamaları için uygundur [48]. Biyolojik sentezde fenol, flavanoid gibi biyoaktif bileşikler indirgeyici ajan olarak kullanılmakta, proteinler ise kaplayıcı ajan madde olarak rol oynamaktadır [52]. Fiziksel ve kimyasal sentez yöntemleri fazladan emek, maliyet ve zaman gerektirirken, biyolojik sentez yüksek miktarda nanopartikül sentezi için kolay bir yöntem olup yüksek basınç, sıcaklık ve yüksek enerji gerektirmemektedir [53-55].

1.2.1 Biyolojik Sentezde Kullanılan Biyolojik Ajanlar

1.2.1.1 Mikroorganizmalar

Mikroorganizmalar tarafından salgılanan protein ve enzim gibi biyomoleküller ile nanopartiküllerin biyolojik sentezi sağlanmaktadır [15]. Mikroorganizmalar, metal iyonlarını redoks durumunu değiştirerek akümüle etmekte, bu durum nanopartikül sentezi için mikroorganizmaların potansiyel olarak kullanılabilirliğini ortaya koymaktadır [56]. Sinha ve Khare (2011), *Enterobacter* cinslerinin cıvayı (Hg^{+2}) nanopartikül şeklinde depoladığını bildirmiştir [57]. Jha ve Prasad (2010), yoğurt ve probiyotiklerden elde ettikleri *Lactobacillus* ile 10-25 nm boyutlarında Ag ve 10-70 nm boyutlarında Ti NP sentezlemişlerdir [58]. Juibari ve ark (2011), *Ureibacillus thermosphaericus* ile değişen sıcaklık (60, 70 ve 80 °C) ve $Ag(NO)_3$ konsantrasyonlarında (10^{-2} ve 10^{-3} M) 10-100 nm boyutlarında Ag NP sentezlendiğini bildirmiştir [59]. *Pseudomonas fluorescens* bakterileri ile 50-70 nm boyutlarında altın [60], *Exiguobacterium mexicanum* bakterileri ile 5-40 nm boyutlarında gümüş [61], *Planomicrobium sp* ile 8.89 nm boyutlarında TiO_2 NP [38] sentezlenmiştir. Bakterilerle sentezlenen diğer bazı nanopartiküller Tablo 1.2’de verilmiştir. Önceki çalışmalarda, nanopartiküllerin mikroorganizmalar tarafından hücre içerisi ve dışında sentezlendiği bildirilmiştir. Bakteri kültürünün hazırlanması için besin, ışık, ortam pH’ının ayarlanması ve sıcaklık kontrolü gibi karmaşık bir süreç gerektirmektedir [15]. Mikroorganizmalar kullanılarak nanopartikül sentezi birçok avantajına rağmen mikroorganizmaların üretilmesi ve kültürün sürekliliği maliyeti artırması dezavantaj olarak değerlendirilebilir [1].

1.2.1.2 Algler

Alglerin nanopartikül sentezinde kullanılması, kimyasal yöntemle kıyasla ucuz, etkili ve çevre dostu bir yöntem olup tıp, tarım, kozmetik ve ilaç sanayisinde kullanılmaktadır [62]. Denizel makroalgler yağ, mineral, protein ve fenolik bileşikler yönünden zengindir. Alglerin içeriğinde bulunan hidroksil ve karboksil gibi fonksiyonel grupların, metallerin indirgenmesi ve kaplanmasında etkili olması nedeni ile nanopartikül sentezi için uygundur [63]. Alglerle sentezlenen diğer bazı nanopartiküller Tablo 1.2’de verilmiştir. Jena ve ark (2014), *Scenedesmus sp.* ile 15-20 nm boyutunda Ag NP’nin hücre içi (15-20 nm) ve hücre dışında (5-10 nm) sentezini gerçekleştirmişlerdir. [64].

Algler ile sentezlenen nanopartiküllerin boyutları pH ve sıcaklık gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Castro ve ark (2013), *Chondrus crispus* ile pH 2 ortamında sentezlenen Au NP'nin boyutu 200 nm iken pH 4'te yaklaşık 30 nm boyutlarında gözlemişlerdir [65]. Prasad ve ark (2013), *Cystophora moniliformis* ile 65 °C' de sentezlenen Ag NP'nin boyutunun 50-100 nm (ort 75 nm), 95 °C'de sentezinde ise partiküllerin kümeler oluşturduğunu ve bu nanopartikül kümelerinin boyutlarının 2 µm'den daha büyük olduğunu belirlemişlerdir [66].

1.2.1.3 Mantar ve Likenler

Protein ve enzim içeriği yüksek olan mantarlar, hücre duvarında bulunan indirgeyici ajanlar ile nanopartiküllerin sentezini sağlamaktadır [15]. Mantarların bakterilere kıyasla ekonomik olması, yüksek biyokütlesi, metal iyonlarına toleransı ve akümüle yeteneğinin yüksek olması nanopartikül sentezi için kullanımı konusunda avantaj oluşturmaktadır [67]. Özellikle, saprofit mantarlar yüksek miktarda ve çeşitte enzim ve protein sentezlemektedir [68]. Sentezlenen enzim ve proteinler nanopartikül sentezi sürecinde indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak rol oynamaktadır. Mantar ve likenlerle sentezlenen diğer bazı nanopartiküller tablo 1.2'de verilmiştir. Schasffie ve Hosseini (2014), *Fusarium oxyporum* aracılığı ile maden atık suyundan 10-40 nm boyutlarında bakır sülfid nanopartikülü sentezlemiştir [69]. Honary ve ark (2012), pH 5 ortamında ve 1 mol/L metal tuzu konsantrasyonlarında *Penicillium aurantiogriseum* ile 91 nm, *Penicillium citrinum* ile 91 ve *Penicillium waksmanii* ile 80 nm boyutlarında CuO NP'leri sentezlemiştir [33]. Arun ve ark (2014), *Schizophyllum commune* ile hücre dışında sentezlenen Ag NP'nin boyutlarının 51-93 nm boyutlarında ve yuvarlak şekilli olduğunu kaydetmişlerdir [68].

1.2.1.4 Bitkiler

Bitki özütleri ile nanopartiküllerin sentezinde işlem süresinin daha kısa olması [14], yüksek sıcaklık, yüksek basınç gibi maliyet gerektirmemesi ve toksik madde kullanılmaması gibi özellikleri fazla miktarda üretim için avantaj oluşturmaktadır [70]. Diğer sentez yöntemlerine kıyasla nanomalzemelerin bitkisel sentezi kolay, hızlı ve normal reaksiyon koşulları gerektirmektedir [52]. Çevre dostu ve ekonomik bir yöntem olup nanopartiküllerin morfolojisi ve stabilitesi kontrol edilebilmektedir [1]. Bitkilerde doğal olarak bulunan bileşikler (enzim, protein, alkaloid, fenolik bileşikler, amino asit,

polisakkarit, organik asit vb.) sentez sürecinde indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak rol oynamaktadır [12, 13]. Bitkisel destekli nanopartiküllerin sentez sürecinin temel adımları;

-Sentez süresince metal iyon formlarının (1 veya 2 değerlikli) sıfır değerlikli oksidasyon durumuna dönüşmesi,

-Büyüme dönemi (metal iyonlarının redüksiyonu devam ederken etrafındaki partiküllerle birleşmesi). Nanopartiküllerin şekil ve boyut gibi morfolojik özelliklerinin bu dönemde kazandığı bildirilmiştir.

-Bitki özütlerinde bulunan doğal kaplayıcılar ile stabilize hale gelmesidir [15].

Bitkilerle sentezlenen diğer bazı nanopartiküller Tablo 1.2’de verilmiştir. Bitki özütünün içeriğinde bulunan doğal indirgeyici, kaplayıcı ve stabilizatör ajanların bileşenleri ve konsantrasyonlarının farklı olması nedeni ile sentezlenen nanopartiküllerin yapısal özellikleri bitki türüne göre değişmektedir [1]. *Tephrosia tinctoria* bitkisinin gövde özütü ile sentezlenen Ag NP’nin ortalama boyutları 73 nm [71], *Protorhus longifolia* kök özütü ile sentezlenen Ag NP’nin boyutları 20-30 nm, aynı özüt ile sentezlenen Au NP’nin 10-20 nm [72], *Melia dubia* yaprak özütü ile sentezlenen Ag NP’nin ortalama boyutları ise 7.3 nm olarak belirlenmiştir [73]. Harshiny ve ark (2015), *Amaranthus dubius* bitkisinin yaprak özütü ile sentezledikleri Fe NP’nin yuvarlak ve kübik yapıya olduğunu gözlemlemişlerdir [51]. Mikroorganizmaların yerine bitki özütlerinin kullanılması ile birlikte hücre kültürünün devamlılığını sağlamak gibi ayrıntılı süreçlere ihtiyaç duyulmamaktadır [74]. Bitkiler metalleri akümüle ederek bünyelerinde nanoboyutlarda biriktirmektedir. Ancak metal nanopartiküllerinin boyut ve şekil gibi morfolojik özelliklerinin bitkide biriktiği dokuya bağlı olması ve bitki içerisinde biriken nanopartikülün geri kazanılmasının zor olması gibi nedenler dezavantaj oluşturmaktadır. Bununla birlikte nanopartikül sentezinde bitki özütünün kullanılması ile nanopartiküllerin boyut ve şekil gibi özellikleri kontrol edilebilmekte ve daha kısa sürede sonuç alınabilmektedir [13]. Ayrıca meyve ve ağaç kabukları gibi atıkların kullanılarak çeşitli nanopartiküllerin sentezlenmesi ile hem atık ürünlerin değerlendirilmesi hem de maliyetin düşmesi büyük bir avantaj sağlamaktadır. Bitkisel atıklar kullanılarak yapılan bazı nanopartikül çalışmaları Tablo 1.2’de verilmiştir.

Tablo 1.2 Biyolojik indirgeyici ajanlar ile sentezlenen nanopartiküller

Biyolojik İndirgeyici ve Kaplayıcı Ajan	Nanopartikül	Boyut	Morfoloji	Referans
Bakteriler				
<i>Pseudomonas antarctica</i>	Ag	12.2±5.7 nm	Yuvarlak	[7]
<i>Pseudomonas proteolytica</i>	Ag	6.9±2.5 nm	Yuvarlak	[7]
<i>Arthrobacter kerguelensis</i>	Ag	8.1±5.9 nm	Yuvarlak	[7]
<i>Bacillus cecembensis</i>	Ag	7.5±3.8 nm	Yuvarlak	[7]
<i>Morganella sp.</i>	Ag	20±5 nm	Yuvarlak	[75]
<i>Escherichia coli</i>	CdS dot	2-5 nm	Yuvarlak	[76]
<i>Rhodococcus sp.</i>	Au	5–15 nm	Yuvarlak	[77]
<i>Pseudomonas denitrificans</i>	Au	25-30 nm	Kübik ve yuvarlak	[78]
<i>Bacillus sp.</i>	Ag	65-70 nm	Yuvarlak	[79]
<i>Bacillus CS 11 suş</i>	Ag	42-94 nm	Yuvarlak	[80]
<i>Aeromonas hydrophila</i>	ZnO	57.72 nm	Yuvarlak	[81]
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cu	20-90 nm	Yuvarlak	[82]
<i>Bacillus subtilis</i>	TiO ₂	66-67 nm	Yuvarlak	[83]
Algler				
<i>Colpomenia sinusa</i>	Ag	15-35 nm	Yuvarlak	[8]
<i>Ulva fasciata</i>	Ag	7-24 nm	Yuvarlak	[8]
<i>Sargassum myriocystum</i>	ZnO	36 nm	Altıgen, üçgen, çubuk, radyal, yuvarlak.	[53]
<i>Sargassum wightii</i>	Au	8–12 nm	İnce düzlemsel yapılar	[84]
<i>Sargassum muticum</i>	Ag	5-15 nm	Yuvarlak	[85]

Biyolojik İndirgeyici ve Kaplayıcı Ajan	Nanopartikül	Boyut	Morfoloji	Referans
<i>Sargassum muticum</i>	Fe ₃ O ₄	18±4 nm	Kübik	[63]
<i>Sargassum muticum</i>	ZnO	30-57 nm	Altıgen	[86]
<i>Caulerpa racemosa</i>	Ag	5–25 nm	Kübik	[87]
<i>Turbinaria conoides</i>	Au	6-10 nm	Yuvarlak, üçgen	[88]
Mantarlar				
<i>Aspergillus versicolor</i>	CdS	3.0±0.2 nm	Yuvarlak	[9]
<i>Colletotrichum sp.</i>	Au	8–40 nm	Yuvarlak	[10]
<i>Candida albicans</i>	ZnO	20 nm	Yarı yuvarlak	[25]
<i>Verticillium</i>	Ag	25 ± 12 nm	Yuvarlak	[89]
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Ag	5–25 nm	Yuvarlak, üçgen	[90]
<i>Fusarium oxysporum</i>	Au	20-40 nm	Yuvarlak, üçgen	[91]
<i>Fusarium oxysporum</i>	Ag	5-15 nm	Yuvarlak, üçgen	[92]
<i>A. fumigatus</i>	ZnO	1.2–6.8 nm	Yassı küre, kafesli	[93]
<i>Aspergillus flavus</i>	TiO ₂	62–74 nm	Yuvarlak	[94]
Likenler (Fungi)				
<i>Parmotrema praesorediosum</i>	Ag	19 nm	Kübik	[95]
<i>Ramalina dumeticola</i>	Ag	13 nm	Kübik	[96]
<i>Cetraria islandica</i>	Ag	5-29 nm	Yuvarlak	[97]
Bitkiler				
<i>Desmodium gangeticum</i> kök	TiO ₂	31 nm	Yuvarlak	[4]
<i>Gloriosa superba</i> yaprak	CuO	5-10 nm	Yuvarlak	[5]
<i>Nyctanthes arbor-tristis</i> yaprak	TiO ₂	100-150 nm	Yuvarlak	[6]
<i>Salvia officinalis</i>	Au	4-72±16 nm	Çeşitli şekiller	[11]

Biyolojik İndirgeyici ve Kaplayıcı Ajan	Nanopartikül	Boyut	Morfoloji	Referans
<i>Lippia citriodora</i>	Au	2.6±0.8 50±8 nm	Çeşitli geometrik şekiller	[11]
<i>Pelargonium graveolens</i>	Au	6±3 78±30 nm	Çeşitli geometrik şekiller	[11]
<i>Rosmarinus officinalis</i> yaprak	Ag	29 nm	Yuvarlak	[20]
<i>Carica papaya</i> yaprak	CuO	140 nm	Çubuk	[22]
<i>Parthenium hysterophorus</i> yaprak	ZnO	27/84 nm	Yuvarlak ve altıgen	[27]
<i>Plectranthus amboinicus</i> yaprak	ZnO	88 nm	Çubuk	[28]
<i>Agathosma betulina</i> yaprak	ZnO	15.8 nm	Yarı yuvarlak	[29]
<i>Ficus religiosa</i> yaprak	CuO	-----	Yuvarlak	[30]
<i>Acalypha indica</i> yaprak	CuO	26-30 nm	Yuvarlak	[32]
<i>Ocimum basilicum</i> yaprak	TiO ₂	50 nm	Altıgen	[34]
<i>Azadirachta indica</i> yaprak	TiO ₂	124 nm	Yuvarlak	[42]
<i>Psidium guajava</i> yaprak	TiO ₂	32.58 nm	Yuvarlak	[43]
<i>Delonix elata</i> yaprak	Ag	35–45 nm	Yuvarlak	[45]
<i>Citrus medica</i> meyve	CuO	20 nm	-----	[46]
<i>Matricaria chamomilla</i> çiçek	CuO	20-140 nm	Yuvarlak	[98]
<i>Poncirus trifoliata</i> meyve	ZnO	21.12 nm	Yuvarlak	[99]
<i>Ocimum basilicum</i> yaprak	ZnO	50 nm	Altıgen	[100]
<i>Ficus bengalensis</i> yaprak	Ag	16 nm	Yuvarlak	[101]
<i>Coptis chinensis</i> rizom	ZnO	8.5 nm	Yuvarlak ve çubuk	[102]
<i>Eclipta prostrata</i> yaprak	TiO ₂	49.5 nm	Yuvarlak	[103]
<i>Azadirachta indica</i> yaprak	Ti	15-42 nm	Yuvarlak	[104]
<i>Eucalyptus oleosa</i> yaprak	Ag	21 nm	Yuvarlak	[54]

Biyolojik İndirgeyici ve Kaplayıcı Ajan	Nanopartikül	Boyut	Morfoloji	Referans
<i>Protorhus longifolia</i> tohum	Au	10-20 nm	Yuvarlak	[72]
<i>Ananas comosus</i> yaprak	AgNPs	12.4 nm	Yuvarlak	[105]
<i>Artocarpus gomezianus</i> meyve	ZnO	4-20 nm	Yuvarlak	[106]
<i>Tamarindus indica</i> (L.) yaprak	ZnO	21 nm	Altıgen, Yuvarlak	[107]
<i>Camellia sinensis</i> yaprak	ZnO	16 nm	Altıgen	[108]
<i>Solanum nigrum</i> yaprak	ZnO	20-30 nm	Yarı yuvarlak	[109]
<i>Tridax procumbens</i> yaprak	Fe ₃ O ₄	80-100 nm	Düzensiz küre	[110]
<i>Dodonaea viscosa</i> yaprak	Cu	29 nm	Yuvarlak	[111]
<i>Dodonaea viscosa</i> yaprak	Fe	27 nm	Yuvarlak	[111]
<i>Jatropha curcas</i> L. lateks	TiO ₂	25-50 nm	Yuvarlak	[112]
<i>Tabernaemontana divericate</i> yaprak	CuO	48±4 nm	Yuvarlak	[113]
<i>Ficus religiosa</i> yaprak	Ag	5-50 nm	Yuvarlak	[114]
<i>Mimosa pudica</i> yaprak	Ag	10-60	Yuvarlak	[115]
<i>Azadirachta indica</i> yaprak	Pt	5-50	Yuvarlak	[116]
<i>Tinospora cordifolia</i> yaprak	CuO	6–8 nm	Yuvarlak	[117]
<i>Prosopis farcta</i> yaprak	Ag	10.8 nm	Yuvarlak	[118]
<i>Aerva lanata</i> yaprak	Au	17.97 nm	Küre, altıgen, üçgen	[119]
<i>Aerva lanata</i> yaprak	Ag	18.62 nm	Yuvarlak	[119]
<i>Suaeda monoica</i> yaprak	Au	12.96 nm	Yuvarlak	[120]
<i>Ziziphora tenuior</i> yaprak	Ag	38 nm	Kübik	[121]
<i>Achillea biebersteinii</i> çiçek	Ag	10-40 nm	Beşgen ve yuvarlak	[122]
<i>Curcuma longa</i> tuber	Zr (zirkon)	41–45 nm	Az çok yuvarlak	[123]
<i>Terminalia catappa</i> yaprak	Au	21.9 nm	Yuvarlak	[124]

Biyolojik İndirgeyici ve Kaplayıcı Ajan	Nanopartikül	Boyut	Morfoloji	Referans
<i>Aloe vera</i> yaprak	In ₂ O ₃	5-50 nm	Kübik	[125]
<i>Terminalia arjuna</i> yaprak	Au	20-50 nm	Yuvarlak	[126]
<i>Hibiscus subdariffa</i> yaprak	ZnO	16-60 nm	Yuvarlak	[127]
<i>Jatropha curcas</i> L. latex	Pb	10–12.5 nm	Yuvarlak	[128]
<i>Diopyros kaki</i> yaprak	Pt	2–12 nm	Yuvarlak-plaka	[129]
<i>Verbesina encelioides</i> gövde	Ag	37.8 nm	-----	[130]
<i>Verbesina encelioides</i> yaprak	Ag	54.6 nm	-----	[130]
<i>Illicium verum</i> tohum	Au	20-50 nm	Üçgen-Altıgen	[131]
<i>Crossandra infundibuliformis</i> yaprak	Ag	38 nm	Pul benzeri	[132]
<i>Catharanthus roseus</i> yaprak	TiO ₂	65 nm	Düzensiz	[133]
<i>Salix alba</i> yaprak	Au	63 nm	-----	[134]
<i>Morinda citrifolia</i> kök	Au	15 nm	Yuvarlak ve üçgen	[135]
<i>Capparis Zeylanica</i> yaprak	Cu	50-100 nm	Küp	[136]
<i>Rubia cordifolia</i> kök	CuQD	22-23 nm	Yuvarlak	[137]
Bitkisel Atıklar				
<i>Annona squamosa</i> kabuk	TiO ₂	23±2 nm	Yuvarlak	[41]
Muz kabuğu	Ag	23.7 nm	Yuvarlak	[55]
<i>Ficus benghalensis</i> kabuk	Ag	60 nm	Yuvarlak	[138]
<i>Azadirachta indica</i> kabuk	Ag	60 nm	Yuvarlak	[138]
<i>Zizyphus xylopyrus</i> kabuk	Ag	60-70 nm	Yuvarlak	[139]
<i>Terminalia tomentosa</i> kabuk	Ag	5-50 nm	Altıgen, Beşgen, Yuvarlak	[140]
<i>Eucalyptus globulus</i> kabuk	Ag	30.5 ± 2.5nm	Altıgen kübik	[141]

Biyolojik İndirgeyici ve Kaplayıcı Ajan	Nanopartikül	Boyut	Morfoloji	Referans
<i>Cinnamon zeylanicum</i> kabuk	Ag	31-40 nm	Yuvarlak, çubuk	[142]
Portakal meyve kabuğu	TiO ₂	24 nm	-----	[143]
<i>Artocarpus elasticus</i> kabuk	Ag	5.81 -19.74 nm	Yuvarlak	[144]
Nar kabuğu	Ag	5-50 nm	-----	[145]
<i>Butea monosperma</i>	Ag	35 nm	Yuvarlak	[146]
<i>Punica granatum</i> kabuk	Ag	5±1.5 nm	Yuvarlak	[147]
<i>Punica granatum</i> kabuk	ZnO	50-100 nm	Yuvarlak ve kare	[148]
<i>Punica granatum</i> kabuk	Au	10±1.5 nm	Yuvarlak	[147]
<i>Pinus eldarica</i> kabuk	Ag	10-40 nm	Yuvarlak	[149]

1.3. Bitki Özütleri Kullanılarak Sentezlenen Nanopartikülün Yapısına Etki Eden Faktörler

1.3.1. Bitki Türü ve Kısımları

Bitkilerin organik madde içeriği, bitkinin türüne hatta aynı bitkinin farklı dokularına göre değişiklik göster. Bu nedenle bitki özütü ile sentezlenen nanomalzemelerin boyut, şekil ve diğer fiziksel özelliklerinin, kullanılan bitkinin türüne göre değişiklik gösterdiği önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Tablo 1.3). Song ve Kim (2009), tarafından yapılan çalışmada (*Pinus desiflora*, *Diopyros kaki*, *Ginko biloba*, *Magnolia kobus* ve *Platanus orientalis* bitkilerinin yaprak özütleri ile Ag NP sentezlenmiştir [150]. En kısa süreli Ag NP oluşumunun *Magnolia kobus* (95 °C, 11 dakikada %90) bitki özütü ile sentezlendiği belirlenmiştir. *Pinus desiflora* yaprak özütü ile nanopartikül sentezinde ise incelenen bitkiler arasında dönüşümü en uzun süren biyolojik ajan olduğu (5 saat) gözlenmiştir.

Sahni ve ark (2015), pH 12 ve 40 °C sıcaklık koşullarında *Allium cepa* ve *Musa acuminata* bitki özütleri ile Ag NP sentezlemişler, *A. cepa* özütü ile sentezlenen Ag NP

boyutlarının 1-10 nm aralığında, *M. acuminata* özütü ile sentezlenen Ag NP boyutlarının ise 15-25 nm arasında olduğunu ölçmüşlerdir [151].

Aynı bitkinin farklı kısımlarının kullanılması ile elde edilen nanopartiküllerin boyutları farklılık göstermektedir. Farklı bitkilerin gövde özütleri ile aynı şartlarda sentezlenen demir nanopartiküllerinin boyutları 13-21 nm (*Euphorbia milii*), 15-32 nm (*Tridax procumbens*), 58-106 nm (*Datura innoxia*), 43-95 nm (*Tinospora cordifolia*), 122-190 nm (*Calotropis procera*) olarak belirlenmiştir [152]. Aynı çalışmada bütün koşullar sabit kalmak kaydıyla *Tridax procumbens* yaprak özütü ile 50-155 nm, *Calotropis procera* yaprak özütü ile 190-342 nm, *Lemon grass* yaprak özütü ile 43-342 nm boyutlarında nanopartiküllerin sentezlendiği gözlenmiştir. *Euphorbia milii*, *Tinospora cordifolia* ve *Calotropis procera* bitkilerinin çiçek özütleri ile sentezlenen demir nanopartiküllerinin boyutları sırayla 37-51 nm, 13-59 nm ve 58-91 nm olarak belirlenmiştir. Kushwaha ve ark (2012), *Verbesina encelioides* bitkisinin gövde özütü ile elde edilen Ag NP'nin 37.8 nm, yaprak özütü ile elde edilen nanopartiküllerinin ise 54.6 nm boyutlarında olduğu bildirmişlerdir [130].

Bitki türlerinin içeriği ve bileşen oranlarının farklı olması nedeni ile sentezlenen nanopartiküllerin morfolojik özelliklerinin yanında oluşum hızını da etkilediği görülmektedir. Pattanayak ve ark (2013) tarafından aynı koşullarda farklı bitkilerle Fe NP'nin sentez sonunda ise *Mangifera indica* özütünün kullanılması ile solüsyonun açık sarı renkten siyaha, *Syzygium aromaticum* özütü ile sarı renkten siyaha, *Rosa indica* özütü ile bulanık yeşilden siyaha dönüşümünün hemen gerçekleştiği bildirilmiştir [153]. Yine aynı çalışmada *Camellia sinensis* (siyah çay) özütünün kullanımı ile 24 saatte, *Camellia sinensis* (yeşil çay) özütünün kullanımı ile 24-48 saat reaksiyon sonunda solüsyonda renk değişiminin olduğu gözlenmiştir.

1.3.2 Bitki Özütü Konsantrasyonu

Nanopartiküllerin sentezinde kullanılan bitki özütündeki artış veya azalma, doğrudan indirgeyici ajanın miktarını etkilemekte ve böylece sentezlenen ürünün boyutu ve oluşum süresi kontrol edilebilmektedir. Bitki özütü konsantrasyonunun nanopartikül boyutuna, solüsyon rengi ve renk değişim süresine, karakterizasyon band genişliği gibi morfolojik ve karakteristik özelliklerine önemli etkisinin olduğu önceki çalışmalarda gözlenmiştir.

Rajiv ve ark (2013), *Parthenium hysterophorus* bitkisinin yaprak özütünün %50 oranda kullanılmasıyla 27 ± 5 , %25 oranında kullanılmasıyla 84 ± 2 nm boyutlarında ZnO NP'nin sentezlendiğini ve küçük boyuta sahip nanopartikülün *A. flavus* ve *A. nigar* türlerine karşı daha yüksek antifungal etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir [27]. Gunalan ve ark (2012), %10, %25 ve %50 oranında *Aloe barbadensis* yaprak özütü ile hazırlanan CuO NP'nin ise bitki konsantrasyon artışına bağlı olarak boyutlarında artış kaydetmişlerdir [154]. Gunalan ve ark (2012), *Aloe barbadensis* bitkisinin yaprak özütü ile %5, %10, %15, %25 ve %50 konsantrasyonlarında hazırlanan ZnO NP'nin belirlenen absorbans değerlerinin konsantrasyon artışına bağlı olarak arttığını belirlemişlerdir [2]. Araştırmacılar, %25 oranında yaprak özütünün kullanımına kadar mavi kayma (blue shift), %50 oranında yaprak özütünün kullanımında ise kırmızı kayma (red shift) gözlemiş ve kırmızı kaymayı konsantrasyon artışı ile birlikte partikül boyutunda artışın bir göstergesi olarak yorumlamışlardır. %5 yaprak özütü kullanımı ile 7 saat sonunda nanopartiküle dönüşüm oranının %35 olduğu, %25 ten yüksek oranda yaprak özütünün kullanımı ile %100 e yakın bir dönüşüm olduğu bildirilmiştir. Ashokkumar ve ark (2013), 2 ml *Gloriosa superba* özütünün kullanımı ile 25 nm, 2.5 ml kullanımı ile 23 nm, 3 ml kullanımı ile 15.2 nm ve 3.5 ml kullanımı ile 11.3 nm boyutlarında Ag NP elde etmişlerdir [155]. Ashokkumar ve ark (2014) tarafından yapılan çalışmada *Tribulus terrestris* özütü ile sentezlenen Ag NP'nin boyutlarında bitki özütünün konsantrasyon artışına bağlı olarak azalma meydana geldiği bildirilmiştir [156]. Bala ve ark (2015), *Hibiscus sabdariffa* bitkisinin yaprak özütü ile ZnO NP'nin sentezi için özüt ve çinko asetat oranının 20-25 ml/g koşullarının optimal olduğunu bildirmişlerdir (20 ml bitki özütü:1g çinko asetat) [127]. Aynı çalışmada 5-15 ml/g oranlarında karışımın ise nanopartikül sentezi için yetersiz olduğu kaydedilmiştir. Song ve Kim (2009), tarafından yapılan çalışmada *Magnolia kobus* yaprak özütünün konsantrasyonu arttıkça sentezlenen Ag NP'nin ortalama boyutunun da arttığı bildirilmiştir [150]. Araştırmacılar bu sonucu indirgeyici ajanların yüksek miktarda bulunmasının Ag NP'nin kümelenmesine neden olmasına bağlamışlardır. İbrahim (2015), 0.25, 0.5 ve 0.75 ml muz kabuğu özütü ile sentez sürecinde karışım solüsyonununun açık kırmızımsı kahverenginde olduğu, 1 ml den 3 ml ye kadar bitki özütünün kullanıldığı karışımda ise koyu kırmızımsı kahverenginde olduğunu bildirmiştir [55]. Bu durum araştırmacı tarafından özüt konsantrasyonu arttıkça, metalleri indirgeyen biyolojik moleküllerin içeriğinin artışı ile daha koyu renk ortaya çıkması şeklinde yorumlanmıştır. Dwivedi ve

Gopal (2010), artan konsantrasyonlarda *Chenopodium album* yaprak özütünün kullanılması ile sentezlenen Ag NP'nin kırmızımsı sarıdan koyu kırmızıya, Au NP'nin de pembe renkten kırmızımsı pembe renge dönüştüğü gözlemiştir [157]. Ayrıca artan yaprak özütü konsantrasyonu ile birlikte Ag ve Au NP'lerin boyutlarında azalma belirlemiştir. Chandran ve ark (2006) yaptıkları çalışmada 0.5 ml *Aloe vera* yaprak özütü ile büyük kenarlara sahip üçgen yapıda Au NP'nin oluştuğu, artan miktarda özüt kullanımı ile üçgen nanopartiküllerinin kenar uzunluklarında kısalma olduğu bildirilmiştir [158].

1.3.3 Metal Konsantrasyonu

Nanopartikül sentezi için metal konsantrasyonu ayarlanarak, sentezlenen partikülün yapısal ve morfolojik özelliklerine müdahale edilebilmektedir.

Dubey ve ark (2010), artan Au ve Ag iyon konsantrasyonu ile *Rosa rugosa* bitkisinin yaprak özütü kullanılarak hazırlanan partiküllerin boyutunda artış meydana geldiğini bildirmişlerdir [159]. Bar ve ark (2009), *Jatropha curcas* tohum özütü ile 10^{-3} M AgNO_3 ile sentezlenen partikülün yuvarlak şekilli ve 15-25 nm boyutlarında olduğunu, 10^{-2} M AgNO_3 ile sentezlenen Ag NP'nin ise düzensiz şekillerde ve 30-50 nm boyutlarında olduğunu bildirilmişlerdir [74]. Song ve Kim (2009) tarafından yapılan çalışmada *Magnolia kobus* bitkisinin yaprak özütü ile Ag NP'nin sentezi için 0.1 ve 1 mM konsantrasyonunda AgNO_3 kullanılması ile %90 oranında nanopartiküle dönüşüm için en az 11 dakika, 2 mM konsantrasyonda ise yaklaşık 90 dakika gerektiği belirlenmiştir [150]. Ayrıca artan AgNO_3 konsantrasyonu ile sentezlenen Ag NP'nin boyutlarının azaldığı tespit edilmiştir. İbrahim (2015) muz kabuk özütü ile Ag NP sentezinde 0.25 mM ile 1.75 mM aralığında AgNO_3 konsantrasyonunun artışı ile birlikte Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi'nde (UV-Vis.) gözlenen SPR (Yüzey Plazmon Rezonans) bant yoğunluğunun arttığını gözlemiştir [55]. Vanaja ve ark (2013), *Coleus aromaticus* bitkisinin yaprak özütü ile sentezlenen Ag NP'nin 1 mM AgNO_3 varlığında 460 nm'de dar SPR bantları oluşturduğunu, 5 mM AgNO_3 konsantrasyonunda ise 460 nm'de absorpsiyon piklerinin daha geniş olduğunu kaydetmişlerdir [160]. Dwivedi ve Gopal (2010), *Chenopodium album* bitkisinin yaprak özütü ile sentezlenen nanopartiküllerin artan Ag ve Au iyonlarının konsantrasyonuna bağlı olarak boyutlarında artış gözlemiştir [157].

1.3.4 Reaksiyon Süresi

Metal iyon ve bitki özütü karışımının reaksiyon süresi, nanopartikül oluşumunu, nanopartiküle dönüşüm oranını, boyutunu ve karakteristik özelliğini etkileyen faktörlerden biridir. Günelan ve ark (2012), *Aloe barbadensis* bitkisi kullanılarak 3 saat süre ile sentez sonunda Zn iyonlarının % 35'inin, 6 saat süre sonunda ise %95'inin ZnO NP'ye dönüştüğünü kaydetmişlerdir [2]. Sahni ve arkadaşları (2015), *A. cepa* bitki özütü ile 3, 6, 24, 48 ve 72 saat süreyle Ag NP sentezlemiş ve Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi'nde SPR bantlarının 6 saat süreden sonra görüldüğünü, band yoğunluğunun artan süre ile birlikte arttığını, keskin bantların ise 48 saat süre sonunda görüldüğünü bildirmişlerdir [151]. Prathna ve ark (2011) tarafından yapılan çalışmada *Azadirachta indica* özütü ile sentezlenen Ag NP'nin analizinde Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi ile pik noktalarının 2 saat karışım süresinin sonrasında gözlenmeye başlandığı, 4 saate kadar artan süreyle birlikte absorpsiyon değerinde kırmızı kayma gözlemlendiği ve bu artışın nanopartikül boyutunda artışa işaret ettiği bildirilmiştir [161]. XRD (X Işınları Toz Difraksiyonu) verileri ile nanopartikül kristal boyutunun 30 dakikadan 4 saate kadar artan süre ile birlikte 10 nm'den 35 nm'ye kadar arttığı bildirilmiştir. 30 dakikada yüzey yükünün (zeta potansiyeli) -28.1 mV, 3.5 saat sonunda artan süreyle birlikte -47.83 mV'ye kadar düştüğü, 4 saat süre sonunda ise artış gözlemlendiği ve bu artışın nanopartikülün kümelenerek stabilleşmesinin azaldığı şeklinde yorumlanmıştır. Song ve ark (2009), yaptıkları çalışmada *Diopyros kaki* yaprak özütü ile 95 °C'de 1 dakika sonunda Au iyonlarının nano formlara dönüşüm oranı %79 iken, 5 dakika sonunda %100'e ulaştığını bildirmişlerdir [162].

1.3.5 Asitlik-Bazlık

Bitki özütlerinde doğal olarak bulunan biyomoleküllerin indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak aktif halde işlev görebilmeleri için belirli pH koşullarına ihtiyaç duyulmaktadır. Nanopartiküllerin oluşumu, boyutu, kümelenme durumu, absorbans yoğunluğu ve yüzey yükleri gibi morfolojik ve karakteristik özellikleri, ortamın asitlik veya alkalinite koşullarına bağlı olarak değişmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarla ortam pH'ın sentezlenen nanopartikülün boyut ve şekil gibi morfolojik yapılarına etki eden önemli bir faktör olduğu ortaya konmuştur. Asidik ortam şartlarında sentezlenen nanopartikül boyutlarının bazik ortam koşullarına kıyasla daha büyük olduğu bildirilmiştir [163].

Sathishkumar ve ark (2010), *Curcuma longa* bitkisinin tuber özütü ile sentezlenen Ag NP'nin düşük pH koşullarında (asidik ortam) büyük boyutlu, yüksek pH'ta (alkali ortam) ise küçük boyutlu oluştuğunu gözlemlemişlerdir [164]. Bu durumu, asidik ortamda küçük nanopartiküllerin kümelenerek büyük formda bulunma eğiliminde olması şeklinde yorumlamışlardır. Armendariz ve ark (2004), *Avena sativa* özütü ile pH 3 ve 4 koşullarında sentezlenen Au NP'nin boyutlarının 5-20 nm arasında olduğunu, pH 2 koşullarında ise 25-85 nm arasında olduğunu bildirmişlerdir [165]. Sathishkumar ve ark (2009), *Cinnamon zeylanicum* kabuk özütü ile pH 1-11 aralığında elde edilen Ag NP'nin sentezinde düşük pH koşullarında nanopartikülün ortalama boyutunun arttığı, yüksek pH koşullarında ise daha yuvarlak yapıda olduğu bildirilmiştir [142]. Ibrahim (2015), muz kabuğu özütü ile Ag NP sentezinde pH 2, 3, 3.5 ve 4 ortam koşullarında solüsyonda renk değişimi gözlenmezken, 4, 5 ve 6' pH değerlerinde kırmızımsı kahvereginin tonları gözlenmiştir [55]. Araştırmacı, yaptığı çalışmada aşırı asidik koşullarda bitki biyomoleküllerinin inaktif olduğunu bildirmiştir. Pandey ve ark (2012), *Momordica charantia* özütü ile Au NP sentezi sürecinde 30 °C, pH 4, 6, 8 ve 10 ortamında renk değişim süresinin sabit kaldığını (24 saat) bildirmişlerdir. Ancak Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi ile pH 6'da 536 nm'de, pH 8'de ise 541 nm'de orta şiddette keskin bir pik gözlemlemişlerdir [166]. pH 10 koşullarında sentezlenen Au NP'nin maksimum stabil olduğu ve bu durumun enzim ve kaplayıcı ajanların optimum pH 10 koşullarında aktif olduğuna bağlamışlardır. Dubey ve ark (2010) tarafından yapılan çalışmada, *Rosa rugosa* özütü ile sentezlenen Au NP'nin pH 2 koşullarında yüzey yükünün -18.8 mV iken, artan pH ile birlikte pH 10'da -33.9'a düştüğü, Ag NP'nin de benzer şekilde -12.3 mV'ten -30.0 mV değerine düştüğü bildirilmiştir [159]. Yüzey yükü partikülün yüzey yükü ve kararlılığı hakkında bilgi vermektedir. Ag NP'nin pH 5 ile 10 (Yüzey yükü -25, -30 mV) arasında, Au NP'nin ise pH 3 ile pH 10 arasında (Yüzey yükü -25, -33.9 mV) daha kararlı olduğu bildirilmiştir.

1.3.6 Sıcaklık

Nanopartiküllerin sentezinde etkin rol oynayan bitkisel bileşikler, indirgenme ve kaplama reaksiyonları için optimum sıcaklık koşullarına gereksinim duymaktadır. Bala ve ark (2015), *Hibiscus subdariffa* yaprak özütü ile 60 ve 100 °C'de hazırladıkları ZnO NP'nin Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi ile 370 nm'de keskin bir SPR bandı gözlerken, 30 °C koşullarında elde edilen üründe karakteristik bir band gözlememiş ve

ZnO NP'nin oluşmadığını bildirilmişlerdir [127]. Araştırmacılar, 60 °C de elde edilen ZnO n NP'nin yuvarlak şekilli ve 16-60 nm boyutlarında, 100 °C'de ise dambıl şekilli 200-300 nm uzunluğunda, 30-50 nm çapa (baş kısmı) ve 70-80 nm taban kısım genişliğine sahip olduğunu bildirilmişlerdir. Nayak ve ark (2016), *Ficus benghalensis* ve *Azadirachta indica* kabuk özütü ile sentezledikleri Ag NP'nin 20 °C'den 80 °C'ye kadar artan sıcaklıkla birlikte ortalama partikül boyutunun azaldığını, yüzey zeta potansiyelinin negatif yönde arttığını belirlemişlerdir [138]. Song ve Kim (2009) *Diopyros kaki* özütü ile sentezledikleri Ag NP'nin 25 °C'de 50 nm, 95 °C de ise 16 nm boyutlarında olduğu bildirilmişlerdir [150]. Aynı çalışmada bitki özütü ile 25 °C'de sentezde, Ag NP'nin %60 oranında, 55 °C'de ise %100 e yakın bir dönüşüm olduğunu gözlemişlerdir. İbrahim (2015), muz kabuğu özütü ile sentezlenen Ag NP'nin 30, 40 ve 50 °C'de karışımı ile açık kırmızımsı kahverengine, 60, 80 ve 100 °C'de ise koyu kırmızımsı kahverengine dönüştüğü gözlemiştir [55]. Aynı çalışmada 30 °C'de renk değişiminin 10 dakikada, 40-100 °C sıcaklıkta ise 5 dakika sürede renk değişiminin olduğu bildirmiştir. Pandey ve ark (2012), *Momordica charantia* bitki özütü ile Au NP'nin 30 °C'de sentezinde renk değişiminin 24 saat sürede gözlemlendiğini, 100 °C'de ise 5 saniyeden daha kısa sürede gözlemlendiğini kaydetmişlerdir [166]. Sahni ve ark (2015), *Allium cepa* özütü ile 5-50 °C sıcaklık aralığında Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi gözlenen plazmon bant yoğunluğunun 40 °C'ye kadar arttığını, 50 °C' de ise ani bir düşüş gözlemlendiğini kaydetmişlerdir [151]. Aynı çalışmada, sentez sırasında da karışımın 40 °C'de koyu kahverenginde olduğu, diğer sıcaklık koşullarında ise sarı renkte olduğu bildirilmiştir. Bu durum test edilen sıcaklık koşulunda bitki özütü içinde bulunan flavanoid ve terpenoidlerin indirgenme reaksiyonları için uygun olduğuna dayandırılmıştır.

Kaviya ve ark (2011), *Citrus sinensis* bitkisinin kabuk özütü ile 25 °C sentezlenen Ag NP'nin boyutlarının 35 ± 2 , 60 °C'de ise 10 nm boyutlarında olduğunu bildirmişlerdir [167]. Sathishkumar ve ark (2010), *Curcuma longa* tuber özütü ile 20 °C'den 60 °C'ye sıcaklık artışı ile birlikte sentezlenen Ag NP'nin boyutlarında artış meydana geldiğini gözlemişlerdir [164]. Song ve Kim (2009), *Magnolia kobus* özütü ile 25 °C'den 95 °C'ye kadar değişen sıcaklıkta Au NP'nin sentezi ile elde edilen ürünün boyutları 110 nm'den 40 nm'ye kadar azaldığını kaydetmişlerdir [162]. Ayrıca 25 ve 60 °C'de elde edilen Au NP'nin üçgen, beşgen, altıgen ve yuvarlak şekilli olduklarını; 95 °C'de ise

ağırlıklı olarak yuvarlak şekilli olduklarını bildirmişlerdir. Lee ve ark (2012), *Magnolia kobus* bitkisinin yaprak özütü ile 25 °C’de sentezlenen Cu NP’nin 110 nm boyutlarında olduğunu, 60 °C de ise 90 nm boyutlarında olduğunu kaydetmişlerdir [168].

1.4. Bazı Nanopartikül Grupları

Metal ve metal oksit nanopartiküllerinin dışında kendine özgü fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olan nano boyutlarda partikül grupları bulunmaktadır.

1.4.1. Karbon Nanotüpleri

Karbon nanotüpleri, altıgen şekilli karbon kafeslerini içeren silindir şeklinde bir yapıya sahiptir [169, 170]. Tek duvarlı karbon nanotüpleri 0.5-1.5 nm çapa sahipken, çok duvarlı karbon nanotüplerinin çapları 100 nm’den daha büyük olabilmekte, uzunlukları ise mikrometre seviyelerine ulaşabilmektedir [171]. Karbon nanotüpleri elmas gibi sert bir yapıya sahip olup paslanmaz çelikten 100 kat daha güçlü bir yapıdadır[169]. Yüksek stabilite ve yüzey alanına sahip olup, benzersiz bir elektriksel özelliğe ve yüksek termal iletkenliğe sahiptir [172, 173]. Elektriksel, mekanik ve optik özellikleri nedeni ile iletken film, güneş pilleri, biyosensör, arıtma sistemleri ve tekstil sanayi olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır [174, 175]. Karbon nanotüpleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle sentezlenmektedir. Laser ablasyon ve kimyasal buhar çöktürme gibi geleneksel yöntemler uzun süredir kullanılmaktadır [175]. Son yıllarda ise bitkisel yöntemle sentezlenebildiği kaydedilmiştir. Qu ve ark (2014), metal hiperakümülatörü bitki olan *Brassica juncea* özütü ile 80 nm dış çapa sahip karbon nanotüplerini biyolojik yöntemle sentezlemişlerdir [172]. Zhu ve ark (2012), *Bambusa textillis* kömürü ile sentezledikleri karbon nanotüplerin çaplarının 20 nm’den daha düşük olduğunu bildirmişlerdir [176].

1.4.2. Karbon Fiber ve Karbon Nanofiberler

Karbon fiberler birkaç mikrometre çapa sahipken, karbon nanofiberler ise 50-200 nm bir çapa ve mikrometre seviyesinde uzunluklara sahip olup, yapısal özellikleri ile karbon fiberlerden farklılık göstermektedir [171, 177]. Karbon nanofiberlerin maliyeti tek duvarlı karbon nanotüplerin maliyetine kıyasla 100 kat daha düşüktür [173]. Karbon nanofiberler hidrojen depolama aygıtları, sensor, yarı iletken cihazların yapımında ve

biyoaktif moleküllerle modifiye edilerek birçok biyomedikal alanda kullanılabilmektedir [171].

1.4.3. Quantum Dot

Yapay atom olarak tanımlanan quantum dotlar (QDs) 2-10 nm boyutlara sahip olup, yarı iletkenlerin çok özel bir grubunu oluşturmaktadır [178]. Ancak bazı kaynaklarda boyutları 2-20 nm olarak belirtilmektedir [179, 180, 181]. Beyaz ışığı absorblayarak spesifik renkleri tekrardan yansıtma gibi mükemmel lüminesans özelliklere sahiptir [178]. Quantum dotlar görüntülemeye kullanılan floresan boyalara alternatif olmakla birlikte, hücre, doku ve organel görüntüleme sistemlerinde, kanser hücrelerinin, bulaşıcı hastalıkların tespitinde, [137, 178] ve birçok biyosensör uygulamalarında kullanılmaktadır [182]. Yaygın kullanım alanına sahip olan quantum dotlar biyolojik yöntemlerle de sentezlenebilmektedir. Borovaya ve ark (2014) *Linaria maroccana* bitkisinin saçak kök özütü ile 1.5-8 nm boyutlarında yuvarlak şekilli kadmiyum sülfid quantum dotlarını [183], Mariselvam ve ark (2014), *Rubia cordifolia* kök özütü ile 22-23 nm boyutlarında bakır quantum dotlarını sentezlemişlerdir [137].

1.5 İndirgeyici ajan *Mentha aquatica*

Mentha aquatica (Lamiaceae) ıslak alanlarda ve su kenarlarında yayılış göstermektedir. Bitkinin kökleri su dışında bulunabildiği gibi su içinde de bulunmaktadır [184]. Bitki uçucu yağlar, fenol ve flavonoidlerce zengin çok yıllık sucul bir bitkidir. Ayrıca bu bitkinin içerdiği etken maddeler nedeniyle halk arasında tıbbi amaçla (antibakteriyal, antioksidan olarak) kullanılmaktadır [185, 186]. Bitkinin Kuzey Afrika'da terleme ve soğuk algınlığına karşı kullanıldığı bildirilmiştir [187]. *M. aquatica* bitkisinin ağır metalleri bünyelerinde biriktirme yeteneğine sahip olduğu daha önceki çalışmalarla ortaya konmuştur. Saygıdeğer ve Doğan (2005), bitkinin pH koşullarına bağlı olarak Pb^{+2} iyonunu kök, gövde ve yapraklarında biriktirdiğini bildirmişlerdir [188]. Aslan ve ark (2003), artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak bitkinin akümüle edebildiği Cd miktarının arttığını gözlemlemişlerdir [189]. Ayrıca bitkide Cd stresinin bitkinin protein ve klorofil içeriğinde azalmaya eden olduğunu kaydetmişlerdir. Zurayk ve ark (2002) *M. aquatica* ve *M. sylvestris* bitkilerinin Ni elementini akümüle edebilme yeteneklerini incelemişlerdir [190]. Yaptıkları çalışmada 8 günlük süre ile 8 mg/L Ni maruziyetinde her iki bitkinin yapraklarında klorozis gözlemişlerdir. Artan Ni konsantrasyonlarıyla

birlikte her iki bitkinin köklerinde Ni akümülyasyonunun arttığını, bitkilerin köklerinde sürgünlerine kıyasla 10-20 kat daha fazla Ni elementini biriktirdiklerini tespit etmişlerdir. Ayrıca yüksek konsantrasyon maruziyetinde *M. aquatica*'nın *M. slyvestris*'ten daha fazla Ni akümüle ettiği bildirilmiştir. Brankoviç ve ark (2012), *Mentha aquatica*, *Myriophyllum spicatum*, *Bidens tripartitus*, *Polygonum amphibium*, *Alisma plantago-aquatica*, *Lycopus europaeus*, *Typha angustifolia* ve *Rorippa amphibia* bitkilerinin Fe, Mn, Cu ve Pb metallerini akümüle edebilme yeteneklerini karşılaştırmışlardır [191]. Çalışmada kullanılan bitkiler içerisinde belirtilen metalleri en yüksek akümüle edebilme yeteneğini *M. aquatica* bitkisinde gözlemlemişlerdir. Zurayk ve ark (2001), 12 farklı bitki türünün (*M. aquatica*, *Nasturtium officinale*, *Apium nodiflorum*, *Veronica beccabunga*, *V. anagallis-aquatica*, *V. lysimachioides*, *V. anagallis*, *Mentha longifolia*, *M. pulegium*, *Potentilla reptans*, *M. slyvestris* ve *Cardamine uliginosa*) Ni, Cr ve Cd'u bünyelerinde biriktirebilme yeteneklerini kıyaslamışlardır. Sonuç olarak *M. aquatica*'nın çalışılan üç metal için biyoindikatör olarak kullanılabileceğini önermişlerdir [192]. Avelar ve ark (2014) tarafından yapılan çalışmada, *M. aquatica*'nın atık sulardan koliform bakterileri uzaklaştırabildiği kaydedilmiştir [193].

1.6 Bitki Özütleri İle Sentezlenen Nanopartiküllerin Kullanılabilirlik Değerlendirilmeleri

Daha önce yapılan çalışmalarla biyolojik ajanlarla sentezlenen metal nanopartiküllerin antimikrobiyal, antifungal, antikanserojen olarak uygulamalar başta olmak üzere endüstride birçok alanda kullanılabileceği bildirilmiştir (Tablo 1.3).

Tablo 1.3. Bitki özütleri ile sentezlenen nanoaprtiküllerin endüstride kullanılabilirliği

Nanopartikül	Biyolojik Ajan	Kullanım Amacı	Referans
ZnO	<i>Aloe sp.</i> yaprak özütü	Kimyasal yöntemle sentezlenen ZnO NP'den ve yaygın olarak kullanılan antimikrobiyallerden daha etkili antimikrobiyal ve antifungal aktiviteye sahiptir.	[2]
Ag	<i>Momordica charantia</i>	Metilen mavisinr karşı etkili bir katalitik aktiviteye sahiptir.	[14]

Nanopartikül	Biyolojik Ajan	Kullanım Amacı	Referans
Ag	<i>Rosmarinus officinalis</i> yaprak özütü	Antimikrobiyal aktivite ve meme kanserine karşı antikanserojen	[20]
CuO	<i>Ficus religiosa</i>	İnsan akciğer kanser A549 hücrelerine karşı antikanser aktiviteye sahip	[30]
CuO	<i>Acalypha indica</i>	Antimikrobiyal	[32]
ZnO	<i>Plectranthus amboinicus</i>	Kimyasal yolla sentezlenen ZnO NP'ye göre metil kırmızı boyasına karşı yüksek fotokatalitik aktiviteye sahip	[28]
Cu	<i>Citrus medica</i>	Antimikrobiyal ve antifungal	[46]
Fe	<i>Amaranthus dubius</i>	Antioksidan aktivitesinin NaBH ₄ ile sentezlenen Fe nanopartikülüne göre yüksek olduğu kaydedilmiştir	[51]
Ag	<i>Melia dubia</i> yaprak özütü	İnsan göğüs kanserine karşı antikanserojen	[73]
CuO	<i>Matricaria chamomilla</i>	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)'a karşı antioksidan aktiviteye sahiptir.	[98]
ZnO	<i>Artocarpus gomezianus</i> meyve	Metilen mavisine karşı fotokatalitik aktivite	[106]
ZnO	<i>Artocarpus gomezianus</i> meyve	DPPH serbest radikale karşı önemli bir antioksidan etkiye sahiptir.	[106]
ZnO	<i>Camellia sinensis</i>	Antimikrobiyal ve antifungal	[108]
ZnO	<i>Solanum nigrum</i> yaprak özütü	Antimikrobiyal aktivite	[109]

Nanopartikül	Biyolojik Ajan	Kullanım Amacı	Referans
Ag	<i>Achillea biebersteinii</i> çiçek özütü	Meme kanser hücrelerine karşı antikanserojen	[122]
Au	<i>Terminalia arjuna</i> yaprak özütü	<i>Gloriosa superba</i> bitkisine uygulanması ile bitkinin çimlenmesini artırdığı bildirilmiştir	[126]
TiO ₂	<i>Catharanthus roseus</i> yaprak özütü	Sinek ve koyun biti parazitlerine karşı alternatif	[133]
Ag	<i>Ficus benghalensis</i> ve <i>Azadirachta indica</i> kabuk özütleri	MG-63 osteosarkoma hücrelerine proliferatif etkiye sahiptir.	[138]
Ag	<i>Butea monosperma</i> kabuk özütü	Miyeloid lösemi hücre dizisine karşı etkili bir sitotoksik aktiviteye sahip	[146]
Cu	<i>Magnolia kobus</i>	Kimyasal yöntemle sentezlenen Cu NP'den daha etkili antimikrobiyal aktiviteye sahiptir.	[168]
CuO	<i>Aloe vera</i>	Balık patojen bakterilerine karşı etkili	[194].
Ag	<i>Melia azedarach</i>	İnsan epitel kanser hücre dizilerine karşı antikanser aktivitesye sahip	[195]
Ag	<i>Piper longum</i> yaprak özütü	Hep-2 kanser hücre dizilerine sitotoksik etki	[196]
Au	<i>Couroupita guianensis</i> çiçek özütü	Antilösemik aktivite	[197]
Au	<i>Carica papaya</i> ve <i>Catharanthus roseus</i>	HepG2 ve MCF7 hücre dizilerinde antikanser aktivite	[198]
Au	<i>Diospyros ferrea</i>	İnsan hücre dizilerinde (HeLa) antikanserojen etkiye sahip.	[199]

Nanopartikül	Biyolojik Ajan	Kullanım Amacı	Referans
CuO	<i>Musa balbisiana</i> kabuk özütü	Ortamda Ag NP'nin bulunması ile metilen kırmızı boyasına karşı fotokatalitik aktivitesinin önemli derecede artmıştır.	[200]
Ag	<i>Piper pedicellatum</i>	Metilen mavisi boyasına karşı katalitik aktivitesi belirlenmiştir.	[201]
CuO	<i>Citrus limon</i> meyvesinin suyu	Su ortamından Cr(VI) yı adsorblayarak uzaklaştırmıştır.	[202]
CuO	<i>Pyrus pyrifolia</i> yaprak özütü	Güneş ışığı altında metilen mavisine karşı fotokatalitik aktiviteye sahiptir.	[203]
ZnO	<i>Pyrus pyrifolia</i> yaprak özütü	Metilen mavisine karşı fotokatalitik aktiviteye sahiptir.	[204]
Pb	<i>Cocos nucifera</i>	Malakit yeşili boyasına karşı fotokatalitik	[205]
Fe	Yeşilçay ve okaliptüs	Ortamdan Nitratın uzaklaştırılması	[206]
CuO	<i>Calotropis gigantea</i> yaprak özütü	Güneş pili yapımında	[207]
Ag	<i>Eclipta prostrata</i> yaprak özütü	Filariasis (<i>Culex quinquefasciatus</i>) ve malaria (<i>Anopheles subpictus</i>) vektörlerine karşı önemli larvasit aktiviteye sahiptir.	[208]

1.8. Literatür Özeti

Gunalan ve arkadaşları (2012), biyolojik ve kimyasal yöntemle ZnO NP sentezlemişler, farklı yöntemlerle elde ettikleri ürünlerin bakteriyal ve fungal aktivitelerini karşılaştırmışlardır. Bu amaçla *S. aureus*, *Serratia marcescens*, *P. mirabilis*, *Citrobacter freundii*, bakteri suşlarını ve *A. flavus*, *A. nidulans*, *Trichoderma harzianum* ve *R. stolonifer* mantar suşlarını kullanmışlardır. Patojenlere karşı *A. vera* yaprak özütü ile

biyolojik yöntemle elde ettikleri ZnO NP'nin, kimyasal yöntemle sentezlenen nanopartiküle göre daha etkili antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir [2].

Jamuna ve arkadaşları (2014), *Desmodium gangeticum* bitkisinin kök özütü ile TiO₂ NP sentezleyerek elde ettikleri ürünün karakterizasyonunu, antibakteriyal aktivitesini ve toksisitesini incelemişlerdir. UV-görünür bölge analizinde elde edilen keskin bantlarla ürünün küresel yapıda olduğunu belirlemişlerdir. FT-IR (Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi) analizinde elde ettikleri absorpsiyon bantları ile nanopartikül yapısında fenolik bileşik, polimerik O-H, C=C ve C=H gibi fonksiyonel grupların varlığını gözlemlemişlerdir. Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) analizi ile nanopartikülün 28.2-36.5 nm (ortalama 31 nm) boyutlarında yuvarlak yapıda olduğunu tespit etmişlerdir. Gram pozitif [*B. subtilis* (2413), *S. aureus* MTCC (3160), *S. aureus* E1 (9886)] ve Gram negatif [*E. coli* MTCC (574)] bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada Gram pozitif bakterilerine karşı mükemmel bir antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Domuzdan elde edilen LLC-PK1 epitel hücrelerine karşı önemli bir sitotoksositeye neden olmadığını bildirmişlerdir [4].

Naika ve arkadaşları (2015), *Gloriosa superba* yaprak özütünü kullanarak CuO NP sentezlemişler ve sentezledikleri ürünün antibakteriyal aktivitesini incelemişlerdir. UV-Görünür bölge spektroskopisinde 380 nm'de yüzey plazmon absorpsiyon bant oluşumunu gözlemlemişler ve CuO NP'nin oluştuğunu bildirmişlerdir. SEM analizi ile nanopartikülün küresel yapıda, TEM analizi ile de 5-10 nm boylarında olduğunu tespit etmişlerdir. Biyolojik yöntemle sentezlenen ürünün Gram+ (*S. aureus*) ve Gram- (*Klebsiella aerogenes*, *Pseudomonas desmolyticum*, ve *E. coli*) bakterilerine karşı önemli bir antibakteriyal etkisinin olduğunu kaydetmişlerdir [5].

Sundrarajan ve Gowri (2011), *Nyctanthes arbor-tristis* bitkisinin yaprak özütü ile TiO₂ NP sentezleyerek karakterizasyonunu incelemişlerdir. XRD analiz verileri ile TiO₂ NP'nin yüksek saflıkta ve kristal yapıda, SEM analizi verileri ile de yuvarlak yapıda ve 100-150 nm boyutlarında olduğunu belirlemişlerdir [6].

Sankar ve arkadaşları (2014), *Carica papaya* yaprak özütü ile CuO NP'nin sentezini ve karakterizasyonunu değerlendirmişlerdir. FT-IR sonuçlarına ile partikülün yapısına amid N-H, alken C-H, anhidrit C=O, C-O, 473 cm⁻¹ bantlarında Cu-O bağlandığını

belirlemişlerdir. XRD analizi ile sentezlenen nanopartikülün kristal yapısını belirlemişlerdir. Biyolojik yöntemle elde ettikleri CuO NP'nin Coomassie parlak mavisi organik boyasına karşı etkili bir fotokatalitik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir [22].

Rajiv ve arkadaşları (2013), *Parthenium hysterophorus* bitkisinin yaprak özütünden sentezledikleri ZnO NP'nin boyutlarına bağlı olarak antifungal aktivitesini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada UV-Görünür bölge spektroskopisi analizinde %50 bitki özütü ile elde edilen nanopartikülün 374 nm'de, %25 bitki özütü ile elde edilen nanopartikülün 370.5 nm'de absorpsiyonlarını gözlemlemişlerdir. Nanoyapıya, metal-oksijen, N-H, fosfor bileşikleri, alkiner, amin tuzları, enol 1,3 diketon ve vinil bağlandığını tespit etmişlerdir. TEM bulgularına göre nanopartikülün dairemsi ve altıgen şekilli olduklarını, bitki özütünün konsantrasyonlarına bağlı olarak ortalama boyutlarının 27 ± 5 nm ve 84 ± 2 nm olduğunu bildirilmişlerdir [27].

Fu ve Fu (2015), *Plectranthus amboinicus* yapraklarının özütü ile ZnO NP'nin biyosentezini gerçekleştirmişlerdir. SEM analizi nanopartikülün çubuk şeklinde ve ortalama 88 nm boyutunda olduğunu belirlemişlerdir. FT-IR analizi ile 502 cm^{-1} de Zn ve O bant gerilimini gözlemlemişlerdir. XRD analizi ile ürünün saf ve kristal yapıda olduğunu tespit etmişlerdir. Ürünün metilen kırmızı boyasına karşı fotokatalitik aktivitesini araştırmışlar ve boyanın 3 saat sonra %92.45'inin indirgendiğini gözlemişlerdir. Biyolojik yöntemle sentezlenen nanopartikülün, hidrotermal yöntemle sentezlenen ZnO NP'ye göre daha etkili fotokatalitik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir [28].

Sankar ve arkadaşları (2014), *Ficus religiosa* yaprak özütü kullanarak elde ettikleri CuO NP'nin karakterizasyonunu yapmış ve antikanser aktivitesini incelemişlerdir. UV-Görünür Bölge Spektroskopisinde 285 nm'de gözlemledikleri pik ile CuO NP'nin oluştuğunu doğrulamışlardır. Alan emisyon elektron mikroskobu (FESEM) ve Dinamik Işık Dağılım (DLS) analizi ile sentezlenen ürünün 577 nm boylarında ve küresel şekilli olduğunu belirlemişlerdir. Zeta potansiyeli ile nanopartikülün yüzey yüklerinin son derece negatif yüklü olduğunu (-25.4 mV) kaydetmişlerdir. FT-IR analizi ile 3402 cm^{-1} amide N-H, 1578 cm^{-1} de amide CO, 1399 cm^{-1} de N-O, 618 cm^{-1} de Cu-O varlığını doğrulamışlardır. Sentezledikleri nanopartikülün insan akciğer A549 kanser hücrelerine karşı antikanser aktivitesini incelemişler, konsantrasyon artışına bağlı olarak antikanser özellik gösterdiğini tespit etmişlerdir [30].

Sivaraj ve arkadaşları (2014), *Acalypha indica* yaprak özütü ile CuO NP'nin biyosentezini, karakterizasyonunu, antimikrobiyal ve antikanserojen aktivitesini araştırmışlardır. FT-IR sonuçları ile partiküle bağlı yapıları (metal oksijen (M-O), N-H, alkinler, fosfor grupları) tespit etmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada TEM ve SEM bulgularına göre 26-30 nm boyutlarında kararlı, küresel yapılı CuO NP sentezlendiğini bildirmişlerdir. Sentezlenen CuO NP *E. coli*, *P. fluorescens* ve *C. albicans* türlerine karşı önemli derecede antifungal ve antibakteriyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada sentezlenen nanopartikülün MCF-7 göğüs kanseri hücre dizisine karşı sitotoksik aktivite gösterdiği kaydedilmiştir [32].

Jha ve ark (2009), *Lactobacillus sp.* kültürü ile sentezledikleri TiO₂ NP'nin 8-35 nm boyutlarında dağılım gösterdiğini ve yuvarlağa yakın bir morfolojiye sahip olduklarını belirlemişlerdir [36].

Valli ve Geetha (2015), *Cassia auriculata* yaprak özütü ile TiO₂ NP sentezlemişlerdir. UV-Görünür Bölge Spektroskopi analizi ile 447.3 nm de absorbans pikleri ile nanopartikül oluşumunu doğrulamışlar, FT-IR analizi ile nanopartikülde bulunan fonksiyonel grupları belirlemişler, FESEM analizi ile nanopartikülün ortalama çapını 38 nm olarak tespit etmişlerdir [40].

Sankar ve arkadaşları (2015), *Azadirachta indica* yaprakları ile sentezledikleri TiO₂ NP'nin metil kırmızısı boyasına karşı güneş ışığı altında fotokatalitik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir [42].

Santhoshkumar ve arkadaşları (2014), *Psidium guajava* bitkisinin yaprak özütü ile ortalama 32.58 nm boyutunda TiO₂ NP sentezlemişlerdir. Biyolojik olarak sentezlenen TiO₂ NP'nin standart antibiyotiklere kıyasla daha fazla antibakteriyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir [43].

Sathiya ve Akilandeswari (2014), *Delonix elata* bitkisinin yaprak özütü ile Ag NP sentezleyerek karakterizasyonunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar nanopartikül sentezi için farklı konsantrasyonlarda (0.5, 1, 2, 5 ve 7 ml) bitki özütü kullanmışlardır. Reaksiyon sonunda karışımın sarımsı renkten kahverengine dönüşümü ile nanopartikül oluşumuna görsel olarak karar vermişlerdir. Artan özüt konsantrasyonu ile birlikte UV-Görünür Bölge Spektroskopi analizi ile 432 nm'de SPR bantlarının keskinleştiğini ve

mavi kayma gözlemlendiğini bildirmişlerdir. SEM analizi ile yuvarlak şekilli Ag NP'nin çaplarının 35-40 nm olduğunu gözlemlemişlerdir [45].

Yuvakkumar ve arkadaşları (2014), *Nephelium lappaceum* bitkisinin kabuk özütü ile ZnO NP sentezlemişlerdir. Sentezledikleri ZnO NP'yi pamuklu kumaş üzerine kaplayarak antibakteriyal aktivitesini tespit etmişlerdir. XRD analizi ile sentezlenen nanopartikülün kristal yapıda olduğunu, Scherrer denklemi ile ürünün ortalama 50.95 nm boyutuna sahip olduğunu belirlemişlerdir. ZnO NP ile kaplanmış pamuklu kumaşın *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı önemli derecede antibakteriyal aktivite gösterdiğini ve biyomedikal alanda kullanılabileceğini önermişlerdir [47].

Harshiny ve ark (2015), *Amaranthus dubius* yaprak özütü ve sodyum borohidrat (NaBH_4) ile demir nanopartikülünün sentezini ve senteze etki eden sıcaklık, pH, bitki özütünün konsantrasyonu ve reaksiyon süresinin etkisini incelemişlerdir. Reaksiyon koşullarını pH 4-9 aralığında, bitki: metal konsantrasyonunu 1:5-5:5 oranlarında, sıcaklığı 25-60 °C ve süreyi 15-120 dakika aralığında belirlemişlerdir. *A. dubius* yaprak özütü ile demir nanopartikülünün optimum sentezinin pH 6 ortamına 37 °C sıcaklık, 90 dakika süre ve 4:5 oranında bitki metal konsantrasyonu ile gerçekleştiğini tespit etmişlerdir [51].

Nagarajan ve Kuppusamy (2013), *Sargassum myriocystum* özütü ile ZnO NP'nin oluşumuna bitki özüt miktarı, metal konsantrasyonu, sıcaklık ve pH'ın etkisini incelemişlerdir. Deney koşullarını $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 0.25-2 mM, *S. myriocystum* özütü için 5-25 ml, sıcaklık için 50-100 °C, pH 5-10 aralıklarında kurmuşlardır. Çalışmadan elde ettikleri veriler ile *S. myriocystum* özütü ile ZnO NP'nin sentezi için optimum koşulları 1 mM ZnNO_3 , 5 ml *S. myriocystum* özütü, 80 °C sıcaklık ve pH 8 ortamı olarak belirlemişlerdir. Sentezlenen 36 nm boyutunda ZnO NP'nin antimikrobiyal ve antifungal aktivitesini değerlendirmişlerdir. *Streptococcus mutans* ve *V. cholerae* bakterilerine karşı orta derecede, *Neisseria gonorrhoea*'ya karşı güçlü bir şekilde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini kaydetmişlerdir. Ayrıca ZnO NP'nin *C. albicans*'a güçlü ve *Aspergillus niger*'e karşı orta derecede antifungal aktivitesinin olduğu bildirilmiştir [53].

Pourmortazavi ve ark (2015), *Eucalyptus oleosa* yaprak özütü ile Ag NP'nin optimum sentez koşullarını belirlemişlerdir. Değişen konsantrasyonlarda bitki yaş ağırlığı (1, 3 ve

5 %w/w) ve gümüş iyonu (1, 5 ve 10 mmol/L), farklı reaksiyon süre (8, 16 ve 24 saat) ve sıcaklıkta (25, 50 ve 100 °C) Ag NP'nin sentezini gerçekleştirmişlerdir. %1 oranında bitki özütü ve 1 mmol/L gümüş iyonu ile 25 °C' de 8 saat reaksiyonu ile elde edilen ürünün ortalama 55 nm ve 5 mmol/L gümüş iyonu ile 50 °C' de 16 saat reaksiyonu ile elde edilen ürünün ortalama 165 nm boyutlarına sahip olduklarını kaydetmişlerdir. Araştırmacılar *E. oleosa* yaprak özütü ile Ag NP'nin sentezi için optimum koşulları %1 oranında bitki özütü ve 10 mmol/L gümüş iyonu ile 100 °C' de 24 saat reaksiyon süresi olarak belirlemişlerdir. Bu yöntemle elde edilen gümüş nanopartikülünün ortalama 21 nm boyutunda olduğunu gözlemlemişlerdir [54].

Baskar ve ark (2013), *Aspergillus terreus* mantar özütü ile sentezledikleri ZnO NP'nin antifungal aktivitesini incelemişlerdir. Araştırmacılar partikülün yuvarlak şekle sahip olduğunu ve boyutlarının 54.8-82.6 nm arasında dağılış gösterdiğini bildirmişlerdir. Sentezlenen ürünün *Aspergillus niger*, *A. fumigatus* ve *Aspergillus aculeatus* türlerine karşı etkili bir şekilde antifungal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir [67].

Rajaram ve ark (2015), *Tephrosia tinctoria* bitki özütü ile sentezledikleri Ag NP'nin 100 nm'den küçük boyutta ve yuvarlak şekilli olduğunu gözlemlemişlerdir. Partikülün serbest radikal temizleme, karbonhidrat sindirim enzimlerini inhibe etme yeteneğine sahip olduğunu, glikoz alınımlar oranını artırdığını ve bu özellikleri ile ürünün antidiyabetik aktivite gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır [71].

Jayaseelan ve ark (2012), *Aeromonas hydrophila* kültür özütü ile sentezledikleri ZnO NP'nin karakterizasyonunu, antimikrobiyal ve antibakteriyal aktivitelerini incelemişlerdir. Partikülün altıgen şeklinde morfolojiye ve ortalama 57.72 nm boyuta sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. 25 µg/ml ZnO NP maruziyeti ile en yüksek büyüme inhibisyonu etkisini *P. aeruginosa* ve *A. flavus* türlerine karşı gösterdiğini bildirmişlerdir [81].

Ashajyothi ve ark (2014) *Enterococcus faecalis* bakterileri ile sentezlediği Cu NP'nin 20-90 nanometre boyutlarında ve yuvarlak yapıda olduğunu belirlemişlerdir. Sentezlenen Cu NP'nin *E. coli*, *K.pneumoniae*, ve *S. aureus* patojen türlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini kaydetmişlerdir [82].

Singaravelu ve ark (2007), *Sargassum wightii* özütü ile Au NP sentezleyerek karakterizasyonunu incelemişlerdir. Araştırmacılar reaksiyon sürelerini 1, 3, 5, 7, 9, 12

ve 15 saat olarak belirlemişlerdir. Görünür Bölge Spektroskopi analizi ile test edilen tüm reaksiyon sürelerinde 527 nm de absorbsiyon piklerini gözlemlendiğini, bu durumu nanopartiküllerin solüsyon içerisinde iyi bir şekilde dağılması ve kümelenmesine bağlamışlardır. Sentezlenen partikülün 8-12 nm boyutlarında dağılım gösterdiğini belirlemişlerdir [84].

Azizi ve arkadaşları (2014), *Sargassum muticum* makroalglerini kullanarak sentezledikleri ZnO NP'nin FT-IR analizi ile 441 cm^{-1} de Zn ve O₂'nin varlığına karşılık gelen ve yapısında bulunan foksiyonel grupları gösteren diğer bantları belirlemişlerdir. XRD analizi ile nanopartikülün kristal yapılarını gözlemlemişlerdir. FE-SEM bulguları ile ürünün altıgen yapıda olduğunu ve boyutlarının 30-57 nm arasında değiştiğini tespit etmişlerdir [86].

Kathiraven ve ark (2015), *Caulerpa racemosa* alg özütü ile sentezledikleri Ag NP'nin karakterizasyonunu ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. 3 saatlik reaksiyon süresinde UV vis.'de SPR bandının 440 nm'de gözlemlendiğini, ancak 24 saate kadar artan reaksiyon süresi ile birlikte 413 nm'de odaklandığını kaydetmişlerdir. 413 nm'de gözlenen bantların dar, düzgün ve karakteristik olduğunu gözlemlemişlerdir. Sentezledikleri partikülün 5-25 nm boyutlarına sahip, yuvarlak ve üçgen yapıları olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada gümüş nanopartikülünün *S. aureus* ve *P. mirabilis* türlerine karşı antibakteriyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir [87].

Rajeshkumar ve ark (2013), *Turbinaria conoides* alg özütü ile sentezledikleri Au NP'nin karakterizasyonunu incelemişlerdir. 1 saatlik reaksiyon sonunda karışımın sarı renkten koyu pembe renge dönüştüğünü gözlemlemişler reaksiyon sürecini 24 saatte tamamlamışlardır. 1 saatlik reaksiyonda UV vis.'de 520 nm'de geniş piklerin gözlemlendiğini ve bu piklerin büyük boyutta nanopartiküllerin varlığını işaret ettiğini bildirmişlerdir. Ancak 24 saatten sonra artan reaksiyon süresi ile birlikte bant şiddetinin arttığını ve 525 nm de SPR bantlarının gözlemlendiğini kaydetmişlerdir. TEM görüntüleri ile 6-18 saat süreyle sentezlenen partikülün bir kısmının yuvarlak yapıda, bir kısmının da tanımsız şekilde olduklarını belirlemişlerdir. 24 saat reaksiyon sonunda ise 6-10 nm boyutlarında yuvarlak yapıda nanopartikülleri gözlemlemişlerdir [88].

Raliya ve Tarafdar (2013), *A. fumigatus* mantar özütü ile 1.2-6.8 nm boyutlarındna altıgen ve yuvarlak yapıda ZnO NP'nin sentezlemişlerdir. Sentezledikleri partikülü

püskürtme yolu ile *Cyamopsis tetragonoloba* bitkisinin yapraklarına uygulamışlardır. Çalışma sonunda bitki biyokütlesinde %27.1, kök uzunluğunda %31.5, kök alanında %73.5, klorofil içeriğinde %276.2, toplam çözünür yaprak protein içeriğinde %27.1, rizosferde mikrobiyal popülasyonunda %11-14 oranında artış meydana geldiğini kaydetmişlerdir. Çalışmalarında sentezlenen ürünün bitki besleme amacıyla biyonanogübre olarak kullanılabileceğini önermişlerdir [93].

Rajakumar ve arkadaşları (2012), *A. flavus* mantar özütünden elde ettikleri TiO_2 NP'nin karakterizasyonunu ve patojen bakterilere karşı aktivitesini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *B. subtilis* suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. FT-IR analizi ile 590 cm^{-1} de gözlenen pikte Ti-O-O bantlarının varlığını belirlemişlerdir. Elde ettiği diğer bantlarla nanopartikülün yapısında bulunan fonksiyonel grupları belirlemişlerdir. XRD analizi ile de TiO_2 NP'nin saf anataz fazını ve kristal yapılarını kaydetmişlerdir. SEM ve TEM analizleri ile sentezlenen ürünün 62-74 nm boylarında küresel ve altıgen yapıda olduğunu gözlemlemişlerdir [94].

Nagajyothi ve arkadaşları (2013), *Poncirus trifoliata* bitkisinin meyva özütünden ZnO NP'nin sentezini, karakterizasyonunu ve katalitik aktivitesini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada, UV-Görünür Bölge Spektroskopisinde 327 nm 'de absorpsiyon gözlemlemiştir. FT-IR testi ile 3400 ve 1614 cm^{-1} 'de pik gözlemlemişler, bu test ile nanopartikül yapısına O-H, N-H, alkan, aromatikler, alkin, C=C, C-C, C-N bağlandığını tespit etmişlerdir. TGA (Termogravimetrik ve Diferansiyel Termal Analiz) testi ile ZnO NP'nin $221\text{ }^\circ\text{C}$ 'de önemli derecede kütle kaybına uğradığı, $352\text{-}594\text{ }^\circ\text{C}$ 'leri arasında kütle kaybı gözlemlendiği, $598\text{ }^\circ\text{C}$ ve üzerinde kütle kaybının olmadığı belirlenmiştir. *P. trifoliata* bitkisinin meyva özütünden elde edilen nanopartikülün karakteristik pik noktaları XRD ile tespit edilmiş ve altıgen şekilli olduğu bildirilmiştir. SEM gözlemlerine göre ZnO NP'nin küresel şekle yakın olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar TEM sonuçlarına göre ise ZnO NP'nin morfolojik olarak küresel şekilde, boyutlarının 8.48 ve 36.2 nm aralığında ve ortalama boyutlarının 21.12 nm olduğunu belirlemişlerdir [99].

Nagajyothi ve arkadaşları (2014), *Coptis chinensis* kök özütü ile elde ettikleri ZnO NP'nin karakterizasyonunu, antibakteriyal, antifungal, antioksidant ve sitotoksik etkilerini araştırmışlardır. UV-Görünür Bölge Spektroskopisinde analizi ile 344 nm de

maksimum adsorpsiyon gözlemlendiğini belirlemişlerdir. FT-IR analizi ile sentezlenen ürünlerde aminler, aromatikler ve alkinler gibi organik bileşikler gözlemlenmiştir. SEM analizi ile sentezlenen ürünün küresel şekilli, TEM analizi ile küresel veya çubuk şekilli, ortalama boyutlarının 8.502 nm olduğunu belirlemişlerdir. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerine karşı antibakteriyal aktivitesini çalışmışlar ve sentezlenen ürünün Gram negatif (*E. coli*) bakterilerine maksimum antibakteriyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Hücre canlılığını değerlendirmek için RAW 264.7 hücrelerini sentezlenen nanopartiküle maruz bırakmışlar ve hücre canlılığında azalma olmadığını, sitotoksik etkinin gözlenmediğini (1 mg/ml) kaydetmişlerdir. Sonuç olarak sentezlenen ZnO NP'nin orta derecede antibakteriyal etkiye, önemli derecede antioksidant aktiviteye, sahip olduğunu sitotoksik etkisinin gözlenmediğini bildirmişlerdir [102].

Emeka ve arkadaşları (2014), *Ananas comosus* yaprak özütü ile sentezledikleri 12.4 nm boyutundaki Ag NP'nin *S. aureus*, *E. coli*, *Streptococcus pneumoniae* ve *P. mirabilis* türlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir [105].

Elumalai ve arkadaşları (2015), *Tamarindus indica* (L.) bitkisinin yaprak özütü ile ZnO NP'nin karakterizasyonunu, antibakteriyal ve antifungal aktivitelerini incelemişlerdir. UV-Görünür Bölge Spektroskopisinde, 369.5 nm dalga boylarında aldığı pikler ile bitkiden ZnO NP'nin sentezlediğini doğrulamışlardır. XRD analizi ile ürünün doğada kristal yapıda, boyutlarının 16-37 nm olduğunu belirlemişlerdir. FT-IR analizi ile ürünün yapısında bulunan fonksiyonel grupları belirleyerek ZnO NP'nin biyolojik sentezinde alifatik amin, aromatik bileşikler, alkol ve fenollerin rol oynadığını bildirmişlerdir. 518 ve 478 cm^{-1} de gözlenen pikler ile metal-oksijen varlığını gözlemlenmiştir. FE-SEM analizi ile sentezlenen ürünün altıgen ve küresel yapıda olduğunu, ortalama 21 nm (16-31 nm) boyutlarına sahip olduğunu ve FE-SEM analizi ile XRD sonuçlarının örtüştüğünü bildirmişlerdir. *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *P. mirabilis*, *C. albicans* ve *C. tropicalis* patojenlerine karşı sentezlenen ürünün antibakteriyal etkisini araştırmışlardır. ZnO NP'nin *S. aureus*'a karşı diğer organizmalardan daha etkili antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir [107].

Daniel ve ark (2013), *Dodonaea viscosa* özütü ile Cu, sıfır değerlikli demir (ZVI) ve Ag NP'leri sentezleyerek karakterizasyonlarını belirlemişlerdir. Sentezlenen Cu NP'nin 29 nm, ZVI NP'nin 27 nm, Ag NP'nin 16 nm boyutunda ve yuvarlak yapıda olduklarını tespit etmişlerdir. Sentezlenen partiküllerin *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P.*

fluorescens, *S. aureus* ve *B. subtilis* türlerine karşı önemli ölçüde antimikrobiyal aktivitesini kaydetmişlerdir [111].

Hudlikar ve arkadaşları (2012), *Jatropha curcas* L. bitkisinin lateks özütü ile sentezledikleri TiO_2 NP'nin, XRD analizi ile göre oldukça küçük kristalize boyutlarında olduğunu ve doğada yarı kristal olduğunu belirlemişlerdir. TEM analizine göre nanopartiküllerin 25-50 nm çapında küresel yapıya sahip olduklarını tespit etmişlerdir. FT-IR analizi ile 1610 cm^{-1} de gözlenen absorpsiyon batları ile (NH)-C=O varlığını ve burada titanyuma yüksek bağlanma eğiliminin olduğunu belirlemişlerdir. 2916 cm^{-1} de sekonder amin, 1510 cm^{-1} ve 1230 cm^{-1} de amit 2 ve 3, 1321 cm^{-1} de karboksilik asit, 1027 cm^{-1} de C-N bağlı amin, 3426 cm^{-1} de alkol gruplarının varlığını gözlemlemişlerdir [112].

Sivaraj ve arkadaşları (2014), *Tabernaemontana divericate* bitkisinin yaprak özütünden elde ettikleri CuO NP'nin idrar yolu patojenlerine karşı antibakteriyal aktivitesini incelemişlerdir. UV-Görünür Bölge analizi ile 220-225 nm de pik yoğunluğu, XRD analizi ile nanopartikülün kristal yapısını gözlemlemişlerdir. FT-IR analizi 471 cm^{-1} bantlarında metal-oksijen varlığını doğrulamışlardır. 736 , 825 , 1202 , 1488 cm^{-1} de ise alkol ve fenol gruplarının varlığını belirlemişlerdir. SEM ve TEM analizleri doğada kristal yapıda, ortalama 48 ± 4 nm boyutlarında ve yuvarlak yapıda olduğunu tespit etmişlerdir. Sentezlenen ürünün idrar yolu patojeni (*E. coli*) ye karşı antibakteriyal olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir [113].

Thirumurugan ve ark (2016), *Azadirachta indica* yaprakları ile Pt NP (platinyum) sentezlemişlerdir. Reaksiyon sonunda solüsyonun açık sarı renkten kahverengine dönüştüğünü ve sentezlenen Pt NP'nin 5-50 nm boyutlarında dağılım gösterdiğini kaydetmişlerdir [116].

Udayabhanu ve ark (2015), *Tinospora cordifolia* yaprak özütü ile sentezledikleri CuO NP'nin fotokatalitik, antioksidan ve antibakteriyal özelliklerini değerlendirmişlerdir. Partikülün metilen mavisi boyasına karşı pH'a bağımlı olarak etkili bir fotokatalitik aktivite gösterdiğini, DPPH serbest radikallerini inhibe ettiğini ve *Klebsiella aerogenes*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *S. aureus* türlerine karşı önemli derecede antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir [117].

Baharara ve ark (2015), *Achillea biebersteinii* çiçekleri ile sentezledikleri ortalama 13.64 nm boyutundaki Ag NP'nin insan meme kanser hücre dizisinde (MCF-7) apoptozisi uyardığını bildirmişlerdir [122].

Gopinath ve ark (2013), *Terminalia arjuna* yaprak özütü ile yuvarlak yapıda ve 20-50 nm boyutlarında sentezledikleri Au NP'nin, *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik bölünme ve *Gloriosa superba* bitkisinde polen çimlenmesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Elde edilen biyomateriyalin *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde artan dozla birlikte kromozomal bozulma olmadan mitotik aktiviteyi artırdığını belirlemişlerdir. Benzer şekilde, Au NP'nin *Gloriosa superba* bitkisine 10 μM 'dan 1000 μM 'a artan konsantrasyonda maruziyeti ile polen çimlenme uyarılmasının %38'den %80'e arttığını bildirmişlerdir. Au NP maruziyeti ile bitki hücre ve polenlerinde herhangi bir sitotoksik etkinin gözlenmediği kaydedilmiştir [126].

Song ve ark (2010) *Diopyros kaki* yaprak özütü ile sentezlenen Pt NP'nin yapısına sıcaklık (25, 60 ve 95 $^{\circ}\text{C}$), metal konsantrasyonu (50, 100, 150 ve 200 mg/L), yaprak özütü (%5, %10, %20 ve %50) ve reaksiyon süresinin (1, 2, 3, 4 ve 5 saat) etkisini incelemişlerdir. %20 bitki özütü ve 1 mM PtCl_6^{2-} varlığında 95 $^{\circ}\text{C}$ 150 dakika reaksiyon süresi koşullarında Pt iyonunun nanopartiküle dönüşüm oranının %90'dan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. 95 $^{\circ}\text{C}$ 'de 1 Mm PtCl_6^{2-} iyonu varlığında %5 oranında bitki özütü kullanılması ile nanopartiküle dönüşüm oranının 5 saat süre sonunda %10 olduğu, artan özüt konsantrasyonu ile birlikte %100'e dönüşümün 2-3 saat içerisinde gerçekleştiği kaydedilmiştir. Ayrıca yaprak özütünün konsantrasyonu ve reaksiyon sıcaklığın artışına bağlı olarak elde edilen nanopartikülün boyutlarında azalma, iyon konsantrasyonunun artışı ile ise artış gözlemlendiği kaydedilmiştir [129].

Sathishkumar ve ark (2015), *Illicium verum* özütü, sodyum borohidrat ve sodyum sitrat ile sentezledikleri Au NP'lerin sitotoksitesini değerlendirmişlerdir. Biyolojik yöntemle sentezledikleri nanopartiküllerin üçgen ve altıgen yapıda, 20-50 nm boyutlarında dağılım gösterdiğini belirlemişlerdir. 3 farklı yöntemle sentezlenen Au NP'lerin artan konsantrasyonu ile birlikte (10 nM-200 nM) insan akciğer epitel hücrelerinin canlılığında azalmaya neden olduğu kaydedilmiştir. Bitki özütü, sodyum borohidrat ve sodyum sitrat ile hazırlanan Au NP'nin epitel hücrelerine 200 nM uygulanması ile hücre canlılıkları sırayla %80.2, %65.7 ve %72.3 olarak belirlenmiştir. Bitkisel yöntemle sentezlenen Au NP'nin insan akciğer epitel hücrelerine sodyum borohidratla ve sodyum

sitrat ile sentezlenen Au NP'ye göre sırayla 20 ve 5 kat daha düşük toksik olduğunu gözlemlemişlerdir [131].

Velayutham ve ark (2012), *Catharanthus roseus* yaprak özütü ortalama 65 nm boyutunda TiO₂ NP sentezlemiş ve ürünün *Hippobosca maculata* ve *Bovicola ovis*'e karşı antiparazitik aktivitesini değerlendirmişlerdir. TiO₂ NP'nin *Hippobosca maculata* için LD₅₀ değeri 7.09 mg/L, *Bovicola ovis* için 6.56 mg/L; 5 mM TiO₂ solüsyonunun *Hippobosca maculata* için LD₅₀ değeri 33.4 mg/L, *Bovicola ovis* için 34.74 mg/L; sadece bitki özütünün *Hippobosca maculata* için LD₅₀ değeri 36 mg/L, *Bovicola ovis* için 30 mg/L şeklinde tespit edilmiştir [133].

Mariselvam ve ark (2014) *Rubia cordifolia* kök özütü ile sentezledikleri CuQD'nin (bakır quantum dot) antibakteriyal özelliklerini değerlendirmişlerdir. Biyomateryalin TEM görüntüsü ile 22-23 nm boyutlarında yuvarlak yapıya sahip olduğunu ve floresan mikroskobu ile bakır oksitin CuQD'e dönüştüğünü doğrulamışlardır. Bitkisel sentezlenen CuQDs'nin *K. pneumoniae*, *Plesiomonas shigelloides*, *E. coli*, *S. aureus*, *P.aeruginosa* ve *V. alginolyticus*'a karşı konsantrasyon bağımlı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu kaydetmişlerdir [137].

Shanmugavadivu ve ark (2014), nar kabuk özütü ile 5-50 nm boyutlarında Ag NP sentezlemişlerdir. Oluşan partikülün, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *E. coli* türlerine karşı antibakteriyal aktiviteye sahip olduğu, en yüksek aktivitenin *S. aureus*'a karşı gözlemlemişlerdir [145].

Mishra ve Sharma (2015), *Punica granatum* kabuklarının özütü ile 50-100 nm boyutlarında, yuvarlak ve kare şeklinde sentezledikleri ZnO NP'nin *Proteus vulgaris* ve *Aspergillus niger*'e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir [148].

Günalan ve arkadaşları (2012), CuO NP'nin biyolojik ve kimyasal yöntemlerle sentezini yapmışlardır. Biyolojik sentez için reaktif olarak *Aloe vera* bitkisinin yaprak özütünü farklı konsantrasyonlarda (%10, %25 ve %50) kullanmışlardır. *A. vera* özütü ile CuO NP'nin sentezi sırasında solüsyon renginin yeşilden grimsi siyaha dönüştüğünü not etmişlerdir. UV-Görünür Bölge analizi ile SPR bantlarının 265 ve 285 nm arasında odaklandığını belirlemişlerdir. FT-IR analizi ile her iki sentezde de 1110 cm⁻¹ de güçlü bant gözlemlemişlerdir. Biyolojik yöntemle sentezlenen nanopartikülün 3495, 3154 ve 2910 cm⁻¹ de gözlenen bantlarda primer amin, alkol ve alkenlerin gerilme titreşimlerini

tain etmişlerdir. 710, 1053, 1125 ve 1399 cm^{-1} ' de gözlenen bantlarla alkol ve fenolik grupları, alifatik ve aromatik aminlerin C-N gerilme titreşimlerini gözlemlemişlerdir. XRD analizinden elde ettikleri piklerle CuO NP'nin kristal yapıda olduğunu tespit etmişlerdir. TEM ve SEM analizleri ile sentezlenen nanopartikülün boyutlarının 15-30 nm boyutlarında ve küresel olduğunu belirlemişlerdir [154].

Geetha ve ark (2013), *Couroupita guianensis* çiçek özütü ile elde ettikleri Au NP'nin antikanserojen aktivitesini değerlendirmişlerdir. UV-Görünür Bölge analizi ile 543 nm boyutlarında karakteristik SPR bandını, FT-IR analizi ile nanopartikülde bağlı bulunan fonksiyonel grupları belirlemişlerdir. TEM görüntüleri üçgen, dörtgen, beşgen, yuvarlak şekillere sahip olan nanopartikülün 7-48 nm boyutlarında olduğunu tespit etmişlerdir. Sentezlenen Au NP'nin HL-60 cells hücrelerinde apoptozis ve sitotoksositeye neden olduğu ve bu verilere göre antikanser çalışmalarında kullanılabileceğini bildirmişlerdir [197].

Tamuly ve arkadaşları (2014), *Musa balbisiana* bitkisinin kabuk özütünden elde ettikleri CuO NP'nin metil red boyasının degradasyonunda fotokatalitik olarak kullanılabilişliğini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında XRD analizi ile sentezledikleri nanopartikülün kristal yapısını, TEM ve SEM analizleri ile küresel ve oval şeklinde, boyutlarının ortalama 23.5 ± 0.8 nm (10 ± 0.2 - 40 ± 1.3 nm) olduğunu belirlemişlerdir. FT-IR analizinde 984 - 430 cm^{-1} titreşimlerinde CuO NP'nin oluşumunu doğrulamışlardır. Ag NP'nin varlığında CuO NP'nin metilen kırmızı boyasına fotokatalitik aktivite gösterdiğini, CuO NP'nin konsantrasyon artışına bağlı olarak aktivitenin arttığını bildirmişlerdir [200].

Mohan ve ark (2015), *Citrus limon* meyvesinin suyu ile sentezlenen 5-20 nm boyutlarında yuvarlak CuO NP'nin su ortamından Cr(VI)' yı adsorblayarak uzaklaştırdığını bildirilmişlerdir. Yüzey Cevap Yöntemi (RSM) ve genetik algoritma ile hibridize yapay sinir ağları (ANN-GA) modellemesi ile maksimum Cr(VI) absorpsiyonu için optimum koşulları (başlangıç metal konsantrasyonu: 22.5 mg/L, pH 3.81, CuO NP konsantrasyonu 1.28 g/L, sıcaklık 37.1 °C) %98.9 olarak tespit etmişlerdir [202].

Wang ve ark (2014), yeşilçay, okaliptus özütü ile sentezledikleri Fe NP ile kimyasal yöntemle sentezledikleri Fe NP'nin su ortamından nitrata arıtabilme kapasitesini

değerlendirmişlerdir. En yüksek arıtım aktivitelerini sırayla kimyasal yöntemle sentezlenen Fe NP (%87.6)>yeşilçay ile sentezlenen Fe NP (%59.7)>okaliptus ile sentezlenen Fe NP olarak belirlemişlerdir. Ancak, biyolojik yöntemle sentezlenen nanomalzemenin daha kararlı olduğunu gözlemlemişlerdir. 2 ay sonra kimyasal yöntemle sentezlenen Fe NP'nin arıtım kapasitesinin 2.1 kat oranda düştüğünü (%45.4), yeşilçay ile sentezlenen Fe NP'nin (%51.7), okaliptus ile sentezlenen Fe NP'nin (%41.4) arıtım kapasitelerinde önemli bir değişim gözlenmediğini kaydetmişlerdir [206].

Raliya ve arkadaşları (2015), *A. flavus* mantarı ile sentezledikleri TiO₂ NP'nin *Vigna radiata* L. bitkisine karşı fizyolojik etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar TEM ve bulgularına göre TiO₂ NP'nin 12-15 nm boyutlarına sahip olduğunu, HR- TEM analizinde ise kristal ve kafes yapılarını gözlemlemişlerdir. TiO₂ NP'ye maruz bırakılan *V. radiata* bitkisinin, kontrole göre sürgün uzunluğunun %17, kök uzunluğunun %49.6, kök alanının %43, kök nodülünün %67.5 daha gelişmiş olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca bitkide toplam çözüner protein ve klorofil içeriğinin arttığını, TiO₂ NP'nin bitkisel besin olarak kullanılabileceğini önermişlerdir [209].

Sarkar ve ark (2014), *Alternaria alternata* (Fr.) özütü ile biyolojik olarak sentezledikleri ZnO NP'nin ortalama 75 nm boyutunda olduğunu belirlemişlerdir. Elde edilen ürünün yüksek konsantrasyonlarda (1000 µg/ml) genotoksik etkiye sahip olduklarını belirlemişlerdir [210].

Borovaya ve ark (2015), *Pleurotus ostreatus* özütü ile CdS QDS sentezlemişlerdir. Elde ettikleri biyomateryalin 4-7 nm boyutlarında ve yuvarlak şekilli olduğunu gözlemlemişlerdir [211].

Yapılan literatür taramalarında CuO, ZnO ve TiO₂ nanopartiküllerinin *Mentha aquatica* yaprak özütü ile biyolojik sentezi ve toksisiteleri ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada *M. aquatica* bitkisinin yaprak özütü ile CuO, ZnO ve TiO₂ nanopartiküllerinin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca sentezlenen partiküllerin genotoksik ve sitotoksik etkileri konsantrasyona bağımlı olarak incelenmiştir.

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOD

2.1 *Mentha aquatica* L.



Şekil 2.1: *Mentha aquatica*'nın genel görünüşü

90 cm boyutlarına ulaşabilen *M. aquatica* L. bitkisinin yaprakları 2-6 cm uzunluğunda ve 1-4 cm genişliğindedir. Çok yıllık bitkinin yaprakları ovat veya ovat-lanseolat şeklindedir (Şekil 2.1). Küçük ve yoğun bulunan çiçekleri tubular yapıdadır. *M. aquatica* bitkisinin sistematik sınıflandırılması Tablo 2.1'de verilmiştir. Bitkinin içeriğinde bulunan Naringenin (flavanoid) sakinleştirici etkiye sahip olup, bitkide bulunan fenolik bileşikler antimikrobiyal aktiviteye sahiptir [212]. Bitkide bulunan uçucu yağ (1,8-cineole) özellikle Gram pozitif bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir [213].

Tablo 2.1. *M. aquatica* sistematigi

Alem	Plantae
Alt alem	Tracheobionta
Şube	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Alt sınıf	Asteridae
Takım	Lamiales
Familya	Lamiaceae
Cins	<i>Mentha</i>
Tür	<i>Mentha aquatica</i> L.

Türkiye’de yetişen *M. aquatica* bitkisinin uçucu yağ içeriği % değerleri Tablo 2.2’te verilmiştir.

Tablo 2.2. Türkiye’de yetişen *Mentha aquatica*’nın uçucu yağ içerikleri

İçerik	%	İçerik	%	Referans
Caryophyllene oxide	0.3	Linalyl acetate	0.1	[213]
Spathulenol	0.1	Citronellol	0.1	
Germacrene	0.05’ten az	α -Terpineol	4.7	
Piperitone	2.4	Terpineol-4	0.9	
Bornyl acetate	0.2	cis-Menthone	0.1	
Thymol Ri	0.5	trans-p-Menth-2-en-1-ol	5.5	
Carvacrol	9.3	trans-Menthone	0.2	
Caryophyllene	3.2	Linalool	0.5	

İçerik	%	İçerik	%	Referans
γ -Elemene	0.05'ten az	(E)- β -Ocimene	0.1	214
α -Humulene	0.05'ten az	(Z)- β -Ocimene	0.2	
γ -Muuroolene	0.2	1,8-Cineole	55.3	
(E)- β -Farnesene	0.05'ten az	Myrcene	1.1	
Germacrene D	0.4	β -Pinene	0.6	
γ -Cadinene	0.05'ten az	Sabinene	6.7	
δ -Cadinene	0.1	α -Pinene	0.2	
Tricyclene	0.2			

Tablo 2.3 ve 2.4'te bitkinin içerdği toplam fenol ve flavanoid içeriği diğer bitkilerle kıyaslanmıştır.

Tablo 2.3. *M. aquatica*'nın toplam fenolik içeriğinin bazı bitkilerle karşılaştırılması

Bitki	Toplam Fenolik (Gallik asit mg/yaşagırlık g)	Referans
<i>Mentha aquatica</i>	2.26 $\pm$ 0.10	[214]
<i>Momordica charantia</i>	0.43 $\pm$ 0.08	
<i>Thymus praecox ssp. arcticus</i>	1.81 $\pm$ 0.04	
<i>Tanacetum parthenium</i>	0.87 $\pm$ 0.06	
<i>Salvia officinalis</i>	1.34 $\pm$ 0.09	
<i>Thymus vulgaris</i>	2.13 $\pm$ 0.11	
<i>Catharanthus roseus</i>	2.85 $\pm$ 0.11	
<i>Ginkgo biloba</i>	1.57 $\pm$ 0.05	

Bitki	Toplam Fenolik (Gallik asit mg/yaşagırlık g)	Referans
<i>Mentha × piperita</i>	2.26 ± 0.16	[214]
<i>Hypericum perforatum</i>	2.78 ± 0.12	
<i>Artemisia annua</i>	1.54 ± 0.06	
<i>Aloe vera</i>	0.23 ± 0.00	
<i>Valerian officinalis</i>	1.78 ± 0.12	
<i>Carum carvi</i>	1.05 ± 0.00	
<i>Allium schoenoprasum</i>	1.05 ± 0.05	
<i>Plectranthus amboinicus</i> <i>culinary</i>	0.34 ± 0.00	
<i>Taraxacum officinale</i>	0.26 ± 0.02	
<i>Anethum graveolens</i>	3.12 ± 0.06	
<i>Lavandula angustifolia</i>	1.50 ± 0.13	
<i>Foeniculum vulgare</i>	0.68 ± 0.00	
<i>Origanum vulgare ssp. hirtum</i>	11.80 ± 0.60	
<i>Origanum × majoricum</i>	11.65 ± 0.29	
<i>Melissa officinalis</i>	1.26 ± 0.04	
<i>Thymus × citriodorus</i>	1.78 ± 0.03	
<i>Aloysia triphylla</i>	1.55 ± 0.10	
<i>Levisticum officinale</i>	2.63 ± 0.05	
<i>Poliomintha longiflora</i>	17.51 ± 0.22	
<i>Petroselinum crispum</i>	1.12 ± 0.01	

Bitki	Toplam Fenolik (Gallik asit mg/yaşagırlık g)	Referans
<i>Salvia elegans</i>	1.31 ± 0.08	[214]
<i>Amaranthus cruentus</i>	3.41 ± 0.11	
<i>Pelargonium graveolens</i>	7.34 ± 0.36	
<i>Rosmarinus officinalis</i>	2.19 ± 0.15	
<i>Sanguisorba minor</i>	0.99 ± 0.07	
<i>Tulbaghia violacea</i>	1.03 ± 0.10	
<i>Mentha spicata</i>	0.94 ± 0.15	
<i>Ocimum basilicum</i>	2.23 ± 0.15	
<i>Laurus nobilis</i>	4.02 ± 0.90	
<i>Polygonum odoratum</i>	3.09 ± 0.12	
<i>Satureja montana</i>	3.16 ± 0.02	

Tablo 2.4. *M. aquatica*'nın toplam flavanoid içeriğinin bazı bitkilerle karşılaştırılması

Bitki	Toplam flavonoid içeriği (mg/g)	Referans
<i>M. aquatica</i>	15.75 ± 0.25	[215]
<i>Borago officinalis</i>	8.53 ± 0.02	
<i>Capparis sicula</i>	2.52 ± 0.06	
<i>Carduus pycnocephalus</i>	7.49 ± 0.08	
<i>Clematis vitalba</i>	7.56 ± 0.07	
<i>Cynara cardunculus ssp. cardunculus</i>	9.01 ± 0.09	
<i>Echium vulgare</i>	10.48 ± 0.13	

Bitki	Toplam flavonoid içeriği (mg/g)	Referans
<i>Foeniculum vulgare ssp. piperitum</i>	12.26 ± 0.18	[215]
<i>Lepidium sativum</i>	5.88 ± 0.09	
<i>Malva sylvestris</i>	4.77 ± 0.07	
<i>Papaver rhoeas ssp. rhoeas</i>	4.68 ± 0.08	
<i>Picris hieracioides</i>	15.75 ± 0.27	
<i>Raphanus raphanistrum ssp. raphanistrum</i>	7.95 ± 0.11	
<i>Sonchus oleraceus</i>	32.93±0.36	

Bunlara ek olarak Conforti ve ark (2008), *Borago officinalis*, *Capparis sicula* subsp. *sicula*, *Malva sylvestris*, *Raphanus raphanistrum* subsp. *raphanistrum* bitkileri içerisinde en yüksek toplam fenol ve flavanoid içeriği *M. aquatica*'da (toplam fenolik içeriği 337± 2.15, flavanoid içeriği 15.75 ± 0.25 mg/g) gözlenmiştir. [216].

2.2 Bitki Örneklerinin Toplanması

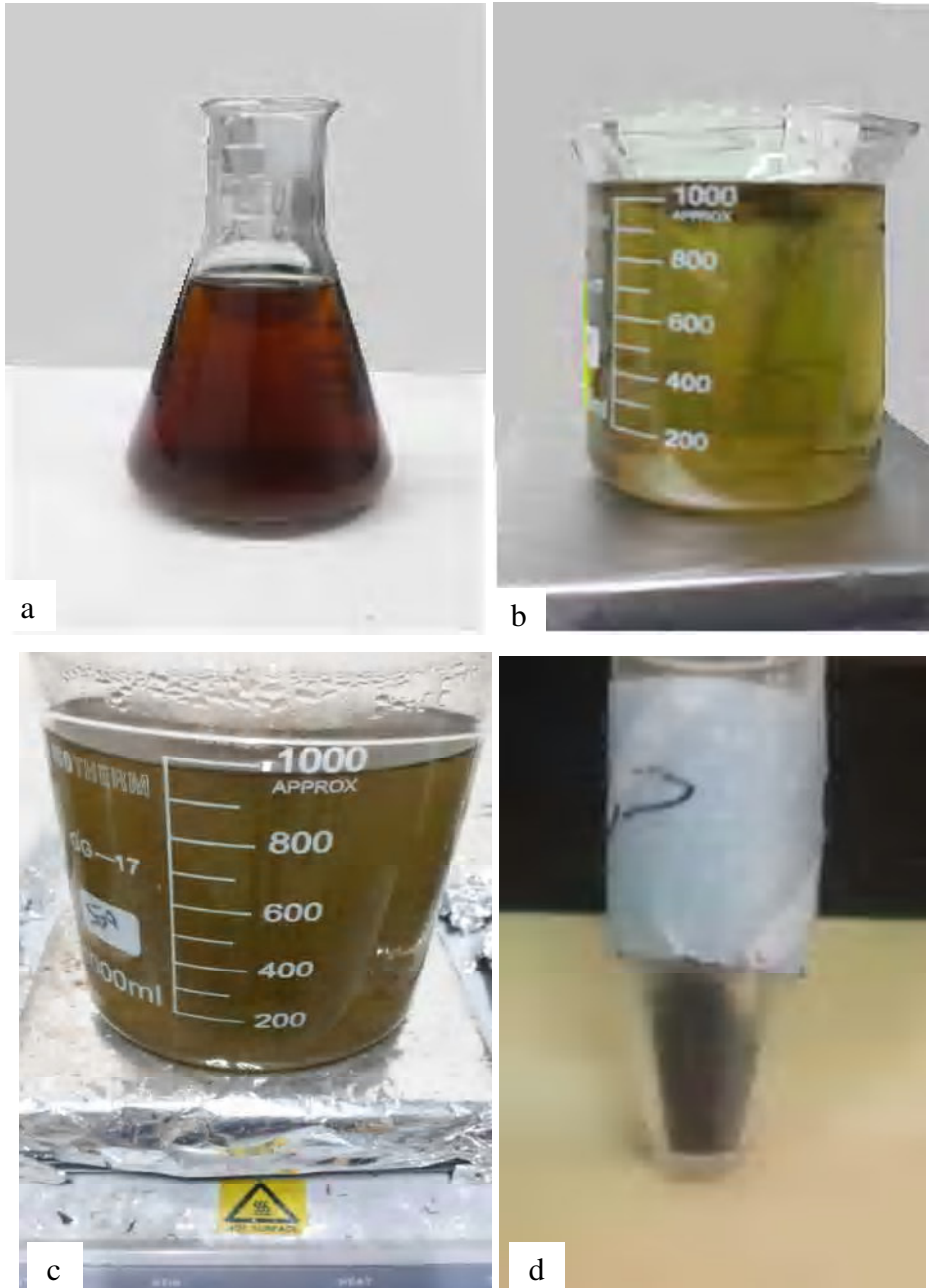
Kayseri İli Tomarza İlçesi sınırlarından geçen Zamantı Irmağı'ndan *Mentha aquatica* bitkileri 2014 yılında toplanmıştır. Toplanan örnekler Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji Laboratuvarı'na getirilmiş ve 10 gün süreyle kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan *M. aquatica* yaprak örnekleri öğütüldükten sonra çalışmalarda kullanılmak üzere saklanmıştır.

2.3 *Mentha aquatica* Yaprak Özütü ile ZnO, CuO ve TiO₂ Nanopartiküllerinin Sentezi

2.3.1 CuO NP Biyosentezi

Toz haline getirilen bitki yapraklarından 10 gr tartılarak erlenmayer içerisine konulmuş ve üzerine 100 ml distile su eklenerek 60 °C'de 10 dakika boyunca kaynatılmıştır. Kaynama işlemi bittikten sonra karışım tekrardan oda sıcaklığına gelinceye kadar

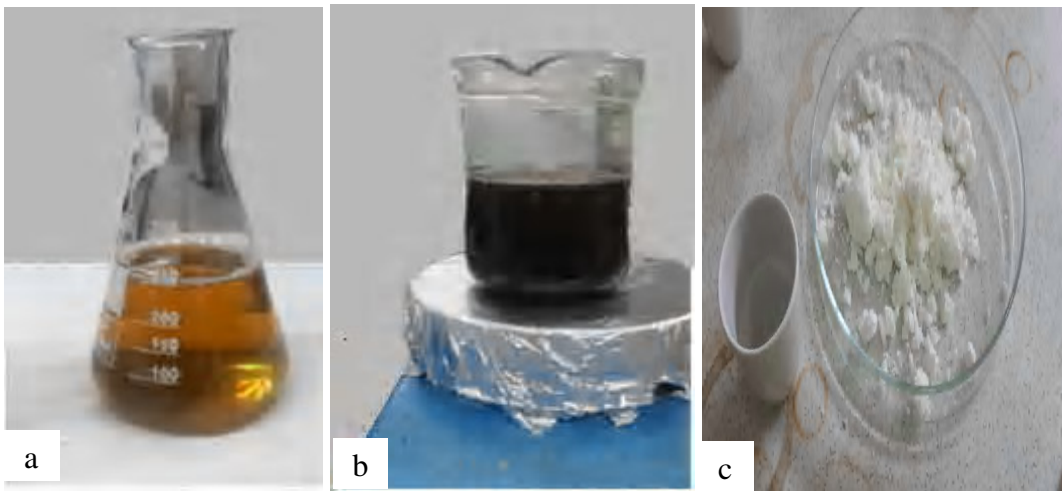
soğumaya bırakılmıştır. Oda sıcaklığına getirilen özüt Whatman No 1 filtre kağıdı ile süzölmüş ve elde edilen süzöntü sentezde kullanılmak üzere +4 °C’de saklanmıştır. CuO NP’nin sentezi için daha önce hazırlanan özüte 5 mM bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi (özüt:1 CuSO_4 :9) eklenmiştir ve oda sıcaklığında rengi değışinceye kadar karıştırılmıştır (Şekil 2.2). Karışım daha sonra 4500 rpm’de 15 dakika boyunca iki defa santrifüjlenmiş ve süpernatant etüvde 80 °C’de bir gece boyunca kurutulmuştur [22].



Şekil 2.2. CuO sentez süreci a) *M. aquatica* özütü b) Bitki özütü ve CuSO_4 karışım solüsyonu (başlangıç) c) CuO NP solüsyonu (24 saat sonra) d) Toz halinde CuO NP

2.3.2 ZnO NP Biyosentezi

ZnO NP sentezi için *M. aquatica* bitki özütü ile çinko nitrat ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$) kullanılmıştır. 10 gr kurutulmuş bitki yaprağı 100 ml distile su içerisine atılıp 60 °C’de 1 saat süre ile ısıtılmış ve ardından oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Soğutulan solüsyon Whatman No 1 filtre kağıdı ile süzülmüş ve elde edilen süzüntü deneylerde kullanılmak üzere buzdolabında (+4 °C) saklanmıştır. Çalışmada kullanılmak üzere buzdolabından alınan bitki özütü, distile su ile 1:1 oranında seyreltilerek 250 ml’ye tamamlanmıştır. Daha sonra çözeltiye $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ eklenerek 150 °C’ de 5-6 saat süre ile karıştırılmıştır (Şekil 2.3). Reaksiyon sonunda solüsyon renginin koyulaştığı gözlenmiştir. Oda sıcaklığına getirilen solüsyon daha sonra 4500 rpm’de 15 dakika süre ile 2 defa santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra elde edilen çökelti 400 °C’de 2 saat boyunca yakılmıştır [2]. Yakma işleminin ardından elde edilen toz halindeki beyaz partiküller karakterizasyon çalışmaları için kullanılmıştır.

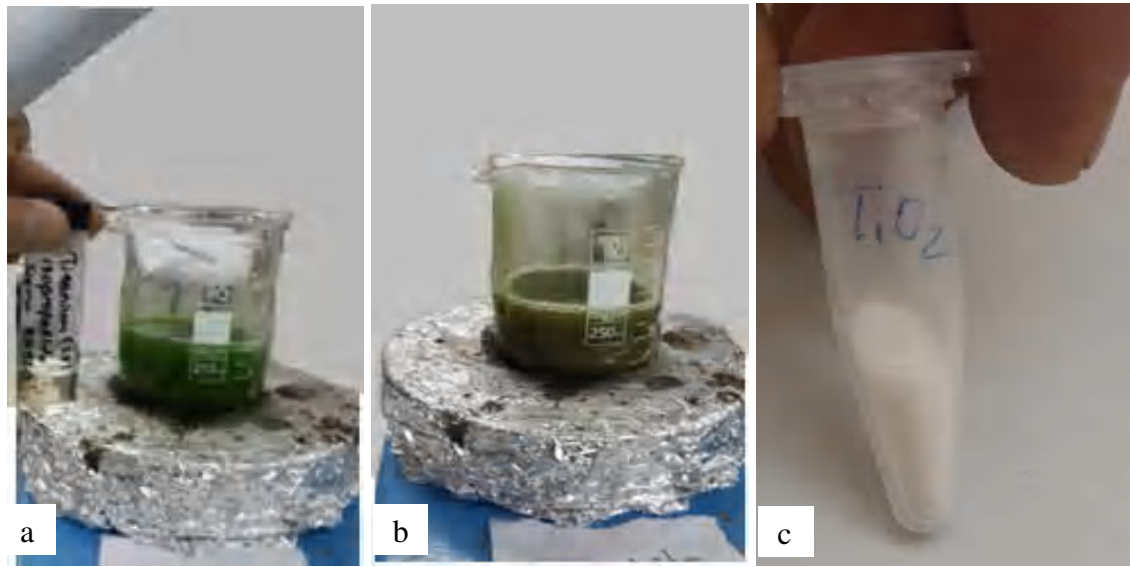


Şekil 2.3. ZnO sentez süreci a) %50 *M. aquatica* özütü b) ZnO NP solüsyonu (6 saat sonra)
c) Toz halinde ZnO NP

2.3.3 TiO₂ NP Biyosentezi

15 gram kurutulmuş bitki yaprağı toz haline getirilmiş ve ardından 150 ml etanol içerisinde 3 saat boyunca 50 °C’de manyetik karıştırıcı yardımı ile karıştırılmıştır. Daha sonra Whatman No 1 filtre kağıdı ile süzülümüştür. Süzülen bitki özütünden 50 ml alınarak üzerine 50 ml çift distile su eklenerek seyreltilmiş ve 0.4 ml Ti(IV)

izopropoksit eklenerek 4 saat boyunca 60 °C’de karıştırılmıştır (Şekil 2.4). Daha sonra karışım oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutulmuştur. Soğuyan karışım 10000 rpm de 15 dakika santrifüj edilmiş, elde edilen çökelti 5000 rpm de etanol ile 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Son olarak çöküntü kül fırınında 500 °C’de 2 saat yakılmıştır [40]. Elde edilen beyaz renkli toz halindeki partiküller, karakterizasyon çalışmalarında kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.4. TiO₂ NP sentezi. a) *M. aquatica* özütü b) TiO₂ NP solüsyonu c) Toz TiO₂ NP

2.4 Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

M.aquatica yaprak özütü ile sentezlenen CuO, ZnO ve TiO₂ nanopartiküllerinin karakterizasyonu Erciyes Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma Merkezi (ERNAM), Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (TAUM) ve Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’nde yapılmıştır (Tablo 2.5).

Tablo 2.5. Nanopartiküllerin karakterizasyonlarının belirlenmesi

Analiz	Amaç	Cihaz Modeli	Laboratuar
Ultraviyole-görünür spektrofotometre	Nanopartiküllerin ışık emme noktalarını tespit etmek	Perkin Elmer Lambda 25 UV-VIS Spectrometer	ERNAM ve ERU Eczacılık Fakültesi

Analiz	Amaç	Cihaz Modeli	Laboratuar
Zeta Potansiyeli	Yüzey yükünü belirlemek	Zetasizer Nano ZS90	ERNAM
Dinamik Işık Saçılımı	Etkin boyutunu ölçmek	Zetasizer Nano ZS90	ERNAM
X - Işınları Toz Difraksiyon Cihazı	Yapısal özelliklerini değerlendirmek	Bruker AXS D8 advance model	TAUM
Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi	Nanopartiküllerin yapısına katılan fonksiyonel grupları belirlemek	Perkin Elmer 400 FT-IR Spectrometer Spotlight 400 Imaging System	TAUM
Taramalı Elektron Mikroskobu	Nanopartiküllerin morfolojik özelliklerini tespit etmek	Leo 440 computer controlled digital	TAUM
Termogravimetrik Termal Analizi	Sıcaklık artışına ile mazlemenin kütle kaybını değerlendirmek.	Perkin Elmer Diamond	TAUM

2.5 Sentezlenen Nanopartiküllerin Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi

Biyolojik sentezi gerçekleştirilen nanopartiküllerin sitotoksik etkileri fare kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler (rKİ-MKH) kullanılarak değerlendirilmiştir. Hücreler Erciyes Üniversitesi, Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezinden satın alınmış ve deneyler bu merkezde gerçekleştirilmiştir. Kök hücreler %10 FBS (Fetal Bovine Serum), %1 Penisilin-Streptomisin ve %1 L-glutamin içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) besiyerinde kültüre edilmiştir. Çalışma için yeterli sayıya ulaşan 3. pasajdaki hücreler thoma lamı ile sayılarak her bir kuyucukta 5×10^5 /ml olacak şekilde 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş, daha sonra %5'lik CO₂ ortamında 37 °C'de bir gece inkube edilmiştir. İnkübasyon ardından hücre besiyeri, 1, 5,

10, 20, 50 ve 100 µg/ml ZnO, CuO ve TiO₂ NP solüsyonu içeren besiyeri ile yer değiştirilmiştir. Daha sonra 24 ve 48 saat olmak üzere iki farklı zaman süresince inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra nanopartikül taşıyan besiyerine son konsantrasyonu 0.5 mg/ml olacak şekilde hazırlanan MTT solüsyonu eklenerek formazan kristali oluşumu için 37°C’de 3 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon ardından besiyeri ve MTT solüsyonu dikkatli bir şekilde tamamen uzaklaştırılmış ve her bir kuyucuğa 150 µl DMSO eklenmiştir. Deneyde kullanılan kimyasal malzemeler tablo 2.6’da verilmiştir. DMSO ile 15 dakikalık bir inkübasyonun ardından formazan çözülmesiyle oluşan oluşan mor renkli çözelti Promega Glomax ELISA okuyucuda 560 nm dalga boyunda okunmuştur [217].

Tablo 2.6. Sentezlenen nanopartiküllerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal malzemeler

Kullanılan Kimyasal Malzemeler	Katalog Numarası
DMEM	Sigma D6046
L-glutamin	Gibco 25030-024
Penisilin-Streptomisin	PAA P11-010
FBS	Gibco 10500056
MTT	Biomatik A33338-1

2.6 Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi

Sentezlenen nanopartiküllerin DNA üzerine genotoksik etkisi, agaroz jel elektroforez yöntemi ile belirlenmiştir. pBR322 plazmid DNA’sı kullanılarak etkileşim incelenmiştir [98]. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan CuO (10.93, 21.875, 43.75, 87.5, 175 ve 350 µg/ml), ZnO (46.875, 93.75, 187.5, 375, 750 ve 1500 µg/ml) ve TiO₂ (3500, 1750, 875, 437.5, 218 ve 109 µg/ml) nanopartikül çözeltilerinden 30 µl alınarak üzerine 3 µl pBR322 DNA (0.5 µg/ml) eklenmiş ve 37 °C’ de 24 saat boyunca karanlık ortamda inkübe edilmiştir. Daha sonra nanopartikül-DNA karışımından 10 µl’ si yükleme tamponu (%0.1 bromfenol mavisi, %0.1 ksilen siyanol) ile karıştırılıp %1’ lik agaroz

jelle yüklenerek Tris-Asetik Asit-EDTA (TAE) tamponu içerisinde elektroforez yapılmıştır (60 V, serbest akım, 3 saat). Elektroforezden sonra jeller etidyum bromid (0.5 µg/ml) ile boyanarak görüntüleme sisteminde fotoğrafları alınmıştır.

2.7 İstatistiksel Analiz

Biyolojik olarak sentez edilen nanomalzemelerin konsantrasyona bağlı sitotoksik etkilerini karşılaştırmak için One-way ANOVA testi yapılmıştır. Öncelikle elde edilen datanın normal dağılıp dağılmadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlenmiştir. Normal dağılımın gözlenmediği durumlarda logaritmik dönüşüm ile data normalleştirilmesi yapılmıştır. Hata değeri olarak $p < 0.05$ değeri kabul edilmiştir. Veriler her üç ölçümün ortalaması şeklindedir. Post-Hoc testi olarak Tukey testi seçilmiştir. Tüm istatistiksel analizler SPSS 15.0 paket programı ile yapılmıştır.

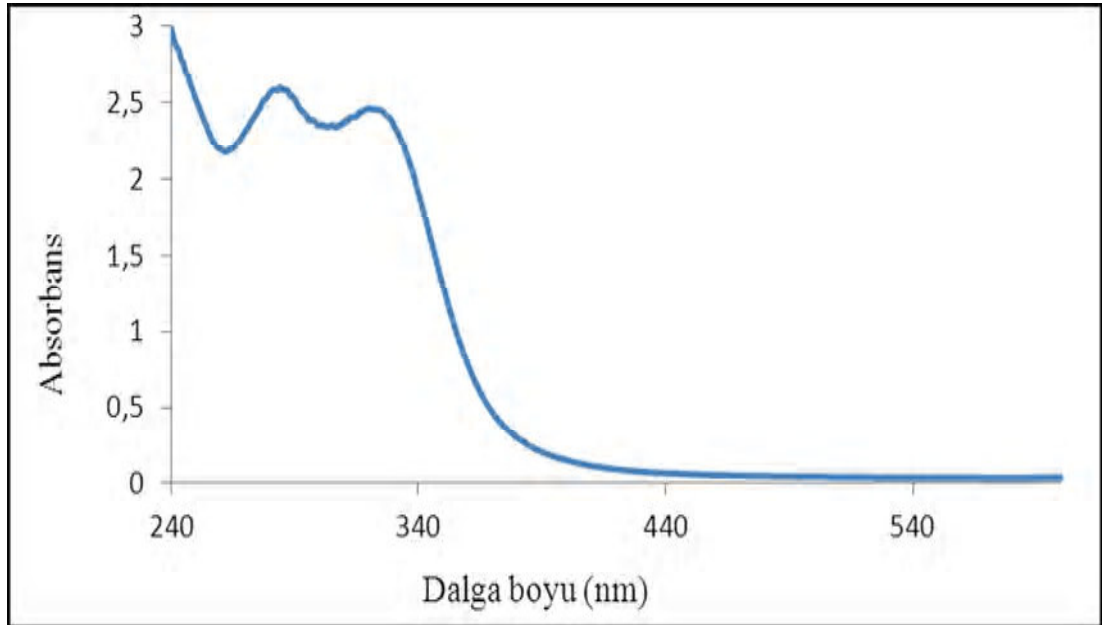
3.BÖLÜM

BULGULAR

3.1 CuO NP'nin Karakterizasyonu

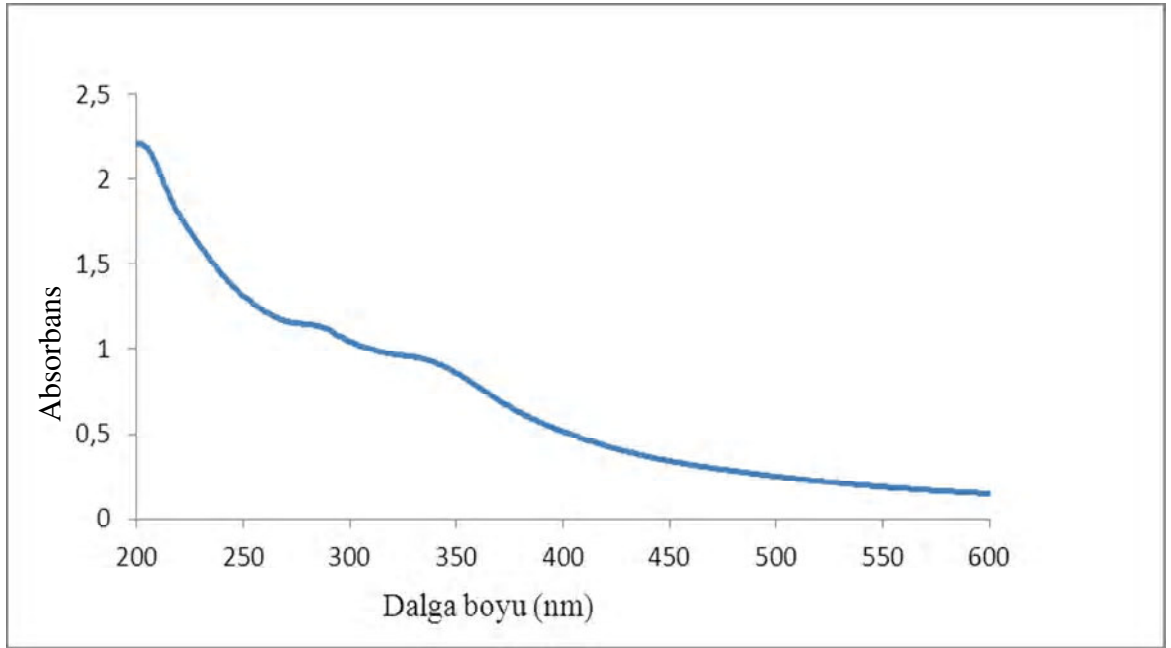
3.1.1 Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopi Analizi

Şekil 3.1'de görüldüğü gibi *M. aquatica* yaprak özütünün dalga boyları ultraviyole-görünür spektrofotometre belirlenmiştir. Yaprak özütünün ışık emme noktaları 285 ve 324 nm dalga boylarında belirlenmiştir.



Şekil 3.1. Bitki özütünün ultraviyole görünür bölge absorpsiyon grafiği

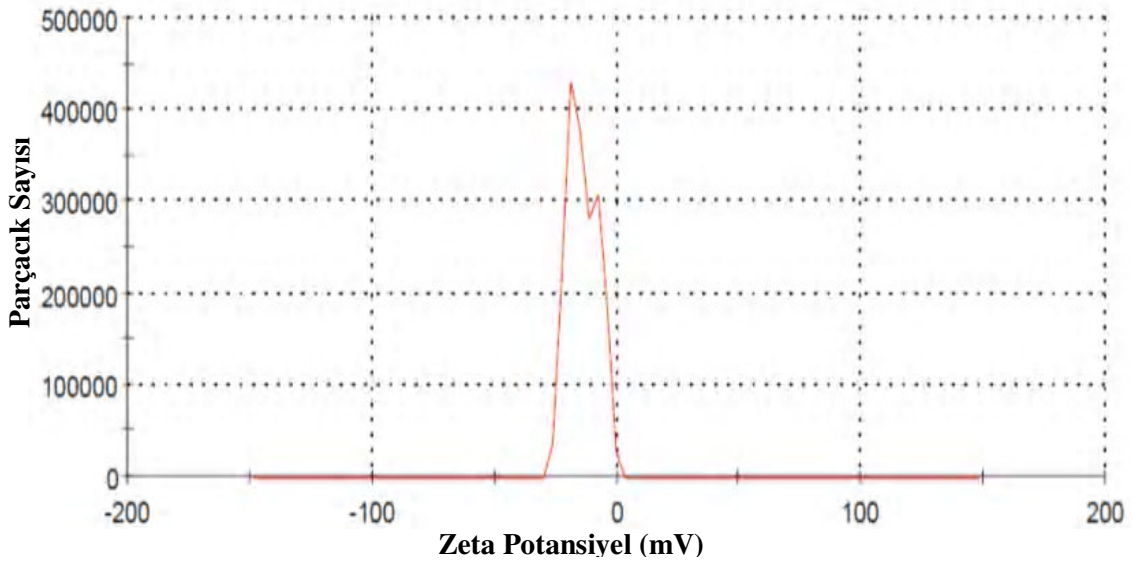
Bitkinin yaprak özütü ile hazırlanan CuO NP'nin ultraviyole spektrofotometre ile karakteristik ışık emme noktaları 285 ve 343 nm olarak kaydedilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. CuO NP solüsyonunun ultraviyole görünür bölge absorpsiyon grafiği

3.1.2 Yüzey Yükü Ölçümü

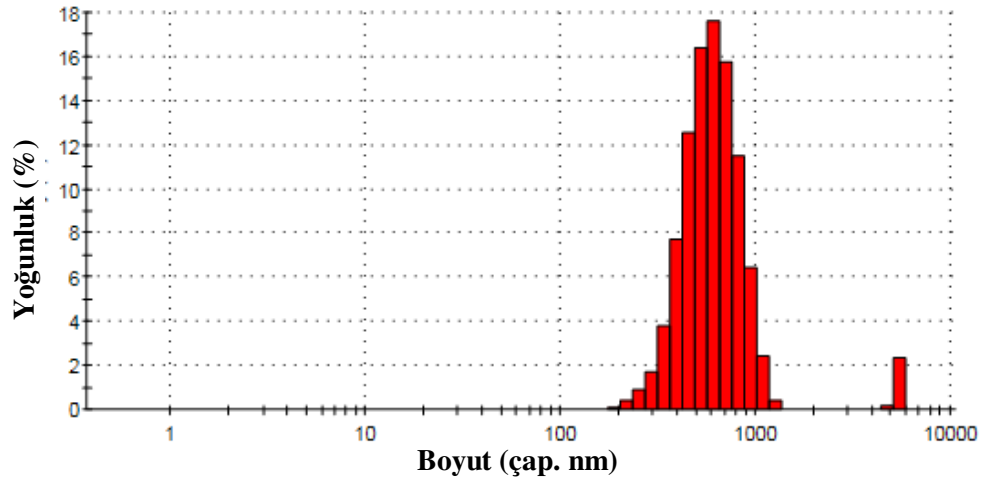
Zeta potansiyel analizi ile CuO NP'nin üzerindeki yükün türü ve şiddeti ölçülmüştür. Şekil 3.3'te görüldüğü üzere NP'nin zeta potansiyeli -13.9 mV olarak bulunmuştur.



Şekil 3.3: CuO NP'nin yüzey yükü

3.1.3 Dinamik Işık Saçılım Analizi

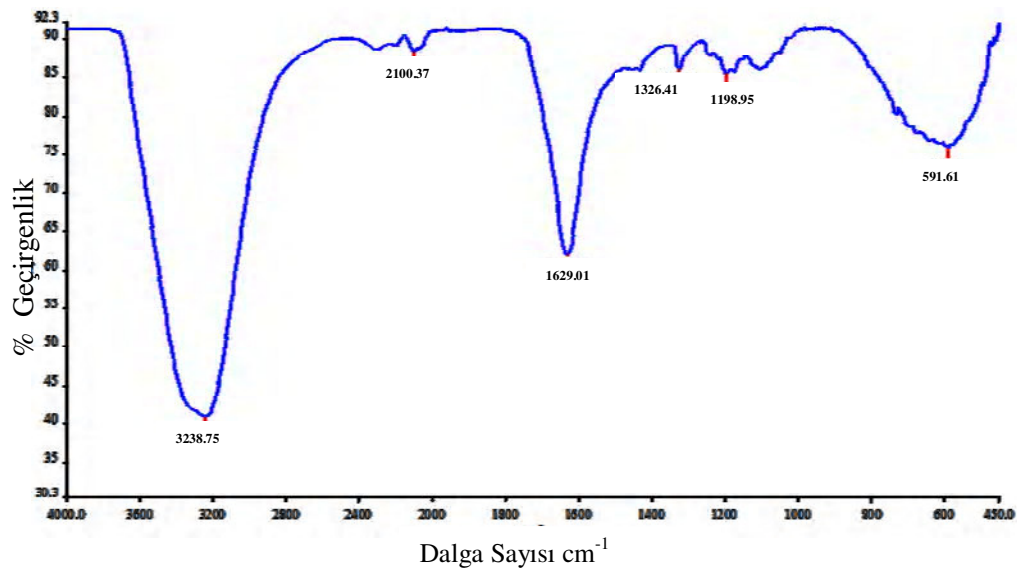
Dinamik ışık saçılımı ile CuO NP'nin etkin çapı yaklaşık 450 nm olarak belirlenmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. CuO NP'nin etkin çapı

3.1.4 Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopi Analizi

Sentezlenen CuO NP'nin FT-IR analizi ile 3238.75 cm^{-1} , 2100.37 cm^{-1} , 1629 cm^{-1} , 1326.41 cm^{-1} , 1198.95 cm^{-1} spektrumlarında emme bandları kaydedilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. CuO NP solüsyonunun FT-IR analizi

Elde edilen veriler Tablo 3.1’de verilen referans değerler ile karşılaştırılarak partikül yapısında bağlı bulunan fonksiyonel gruplar belirlenmiştir. 591 cm^{-1} ’de Metal-Oksijen (Cu-O) band titreşimleri belirlenmiştir.

Tablo 3.1 Organik fonksiyonel grupların karakteristik IR emme frekansı

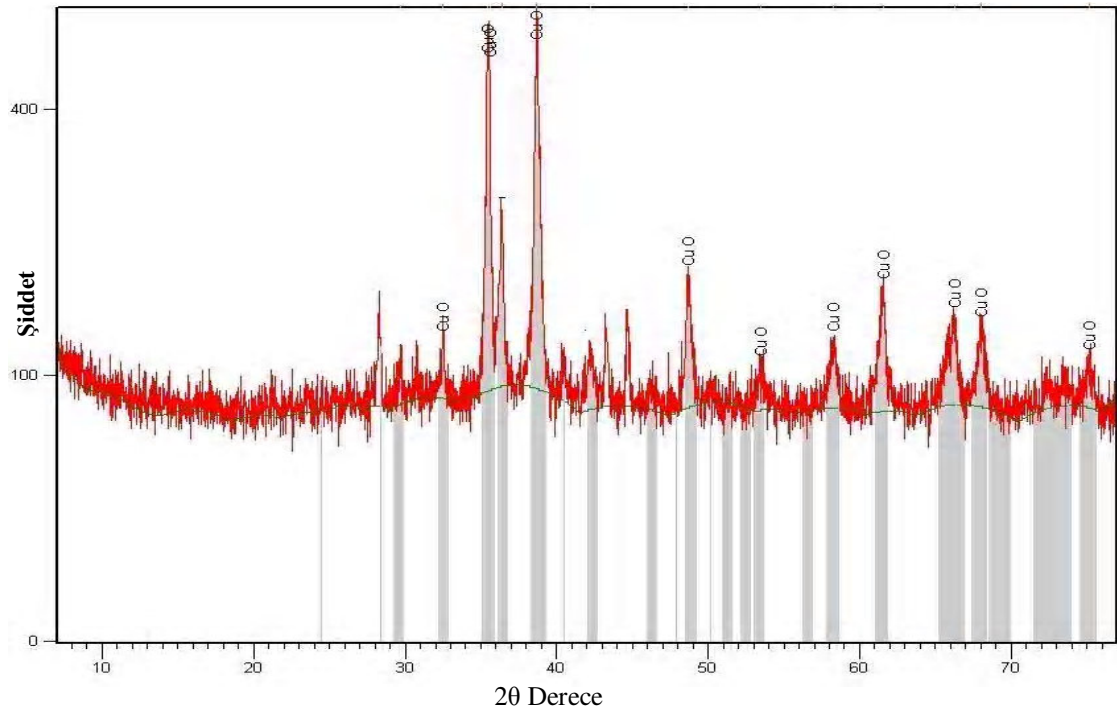
Fonksiyonel Gruplar	Karakteristik Absorbsiyon (cm^{-1})	Yoğunluk
Alkol		
O-H	3200-3600	Güçlü, geniş
O-H	3500-3700	Güçlü, keskin
C-O	1050-1150	Güçlü
Alkan		
C-H	2850-3000	Güçlü
-C-H	1350-1480	Değişken
Alken		
=C-H	3010-3100	Orta
=C-H	675-1000	Güçlü
C=C	1620-1680	Değişken
Alkil Halojenür		
C-F	1000-1400	Güçlü
C-Cl	600-800	Güçlü
C-Br	500-600	Güçlü
C-I	500	Güçlü
Alkin		
C-H	3300	Güçlü, keskin
-C≡C-	2100-2260	Değişken
Amin		
N-H	3300-3500	Orta
C-N	1080-1360	Orta-zayıf
N-H	1600	Orta

Aromatik		
C-H	3000-3100	Orta
C=C	1400-1600	Orta-zayıf
Karbonil		
C=O	1670-1820	Güçlü
Eter		
C-O	1000-1300	Güçlü
Nitril		
CN	2210-2260	Orta
Nitro		
N-O	1515-1560 ve 1345-1385	Güçlü
Bir Karbonil (C=O) İçeren Fonksiyonel Gruplar		
Karbonil		
C=O	1670-1820	Güçlü
Asit		
C=O	1700-1725	Güçlü
O-H	2500-3300	Güçlü-geniş
C-O	1210-1320	Güçlü
Aldehit		
C=O	1740-1720	Güçlü
=C-H	2820-2850 & 2720-2750	Orta
Amit		
C=O	1640-1690	Güçlü
N-H	3100-3500	-
N-H	1550-1640	-
Anhidrit		
C=O	1800-1830 & 1740-1775	-
Ester		
C=O	1735-1750	Güçlü
C-O	1000-1300	-

Keton		
acyclic	1705-1725	Güçlü
cyclic	1705-1850	
a,b-unsaturated	1665-1685	Güçlü
aryl ketone	1680-1700	Güçlü

3.1.5 X-Işınlari Toz Difraksiyon Analizi

Şekil 3.6'da *M. aquatica* yaprak özütü ile sentezlenen CuO NP'nin XRD deseni gösterilmiştir. X-Işınlari toz difraksiyon analizi ile 32.4° , 35.56° , 38.7° , 48.75° , 53.7° , 58.23° , 61.57° , 67° , 68.1° ve 75° 'de CuO yansımasına karşılık gelen CuO kırınım pikleri gözlenmiştir.

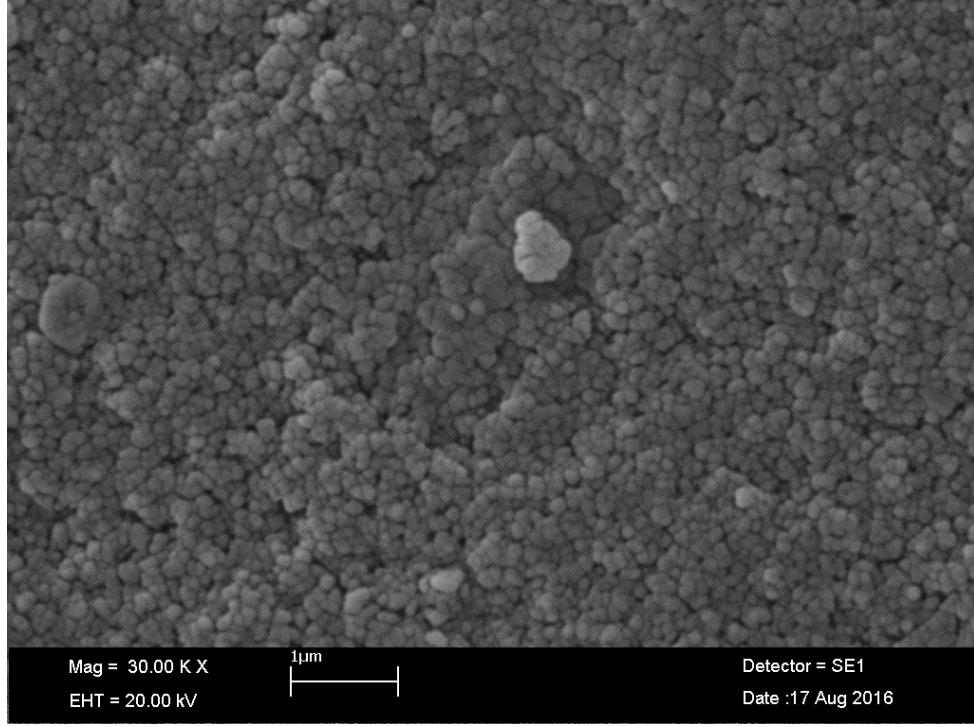


Şekil 3.6. CuO NP'nin XRD analizi

2θ konumunda elde edilen kırınım piklerin karşılık geldiği düzlemleri tespit edilerek biyolojik yöntemle sentezlenen CuO NP'nin kristal yapıda olduğu belirlenmiştir.

3.1.6 Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüsü

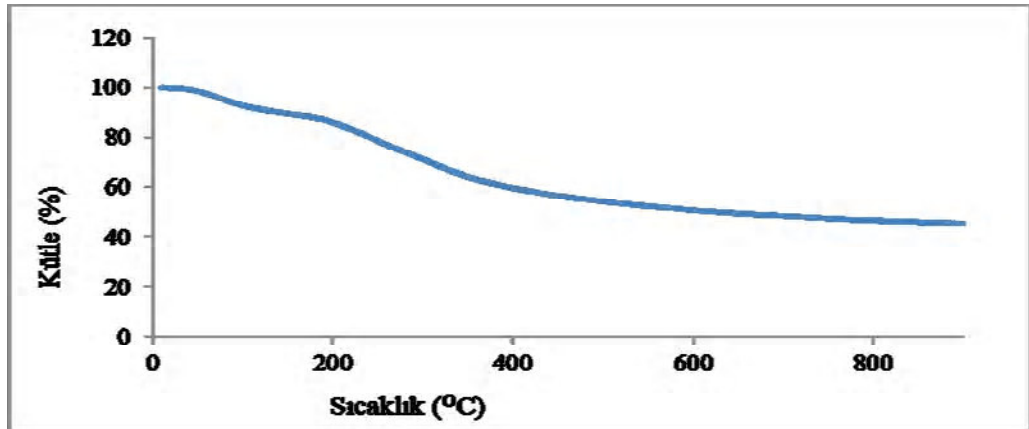
SEM analizi sonucunda CuO NP'nin ortalama boyutu 57 nm olarak belirlenmiştir (Şekil 3.7). Ayrıca yuvarlak yapıdaki partiküllerin kümelenme eğiliminde olduğu gözlenmiştir.



Şekil 3.7. CuO NP'nin SEM görüntüsü

3.1.7 Termogravimetrik ve Diferansiyel Termal Analizi

Bitki özütü ile elde edilen CuO NP'nin yaklaşık 400 °C'ye kadar kütle kaybının %40, 550 °C'den 900 °C'ye kadar %6 oranında kaybına uğradığı gözlenmiştir (Şekil 3.8).

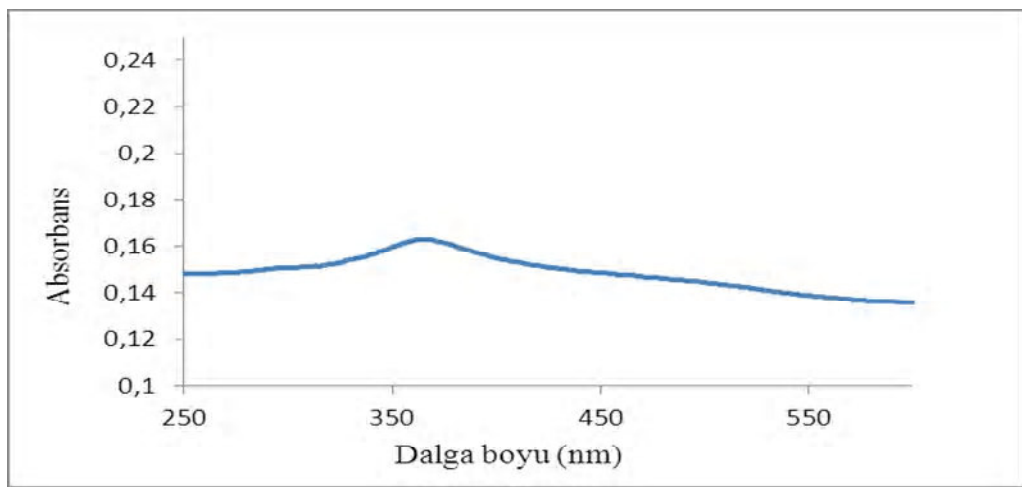


Şekil 3.8. CuO NP'nin TGA analizi

3.2. ZnO NP'nin Karakterizasyonu

3.2.1 Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi Analizi

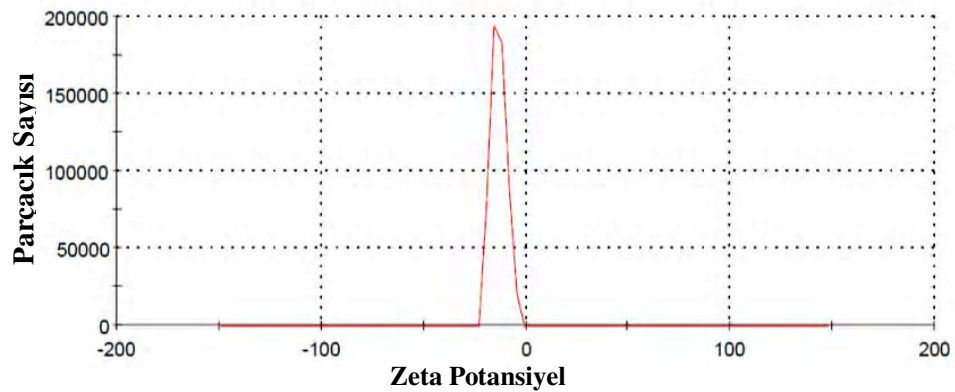
M. aquatica yaprak özütü ile sentezlenen ZnO NP'nin çekirdek elektronlarının bantlar arası geçişi nedeni ile Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi ile 366 nm dalga boyunda ışık emme noktası gözlenmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. ZnO NP Solüsyonunun ultraviyole görünür bölge absorpsiyon grafiği

3.2.2 Yüzey Yükü Ölçümü

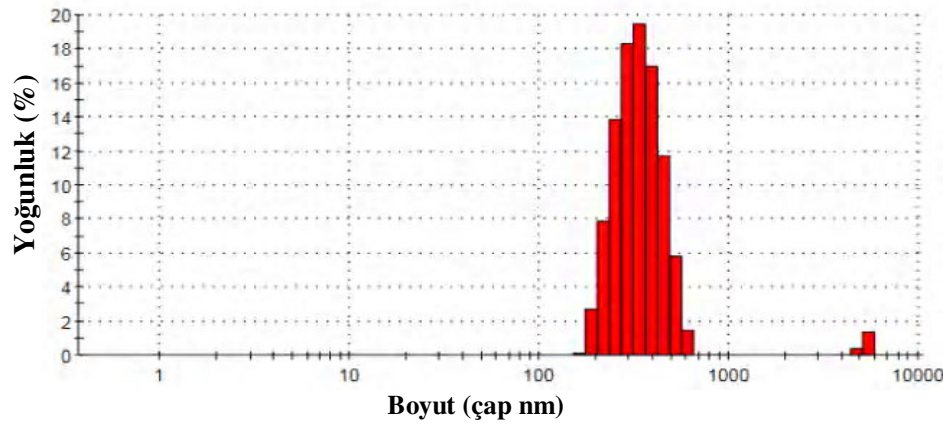
Şekil 3.10'da görüldüğü üzere zeta potansiyeli ile ZnO NP'nin yüzey yükünün türü ve şiddeti -13.3 mV olarak ölçülmüştür.



Şekil 3.10. ZnO NP'nin yüzey yükü

3.2.3 Dinamik Işık Saçılım Analizi

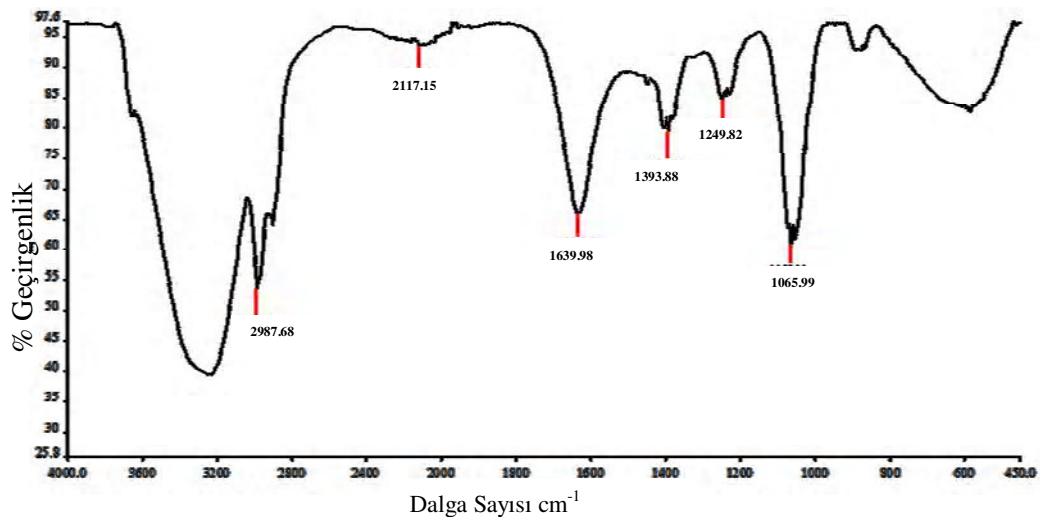
Dinamik ışık saçılımı ile ZnO NP'nin etkin boyutunun yaklaşık 397 nm civarında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. ZnO NP'nin etkin çapı

3.2.4 Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopi Analizi

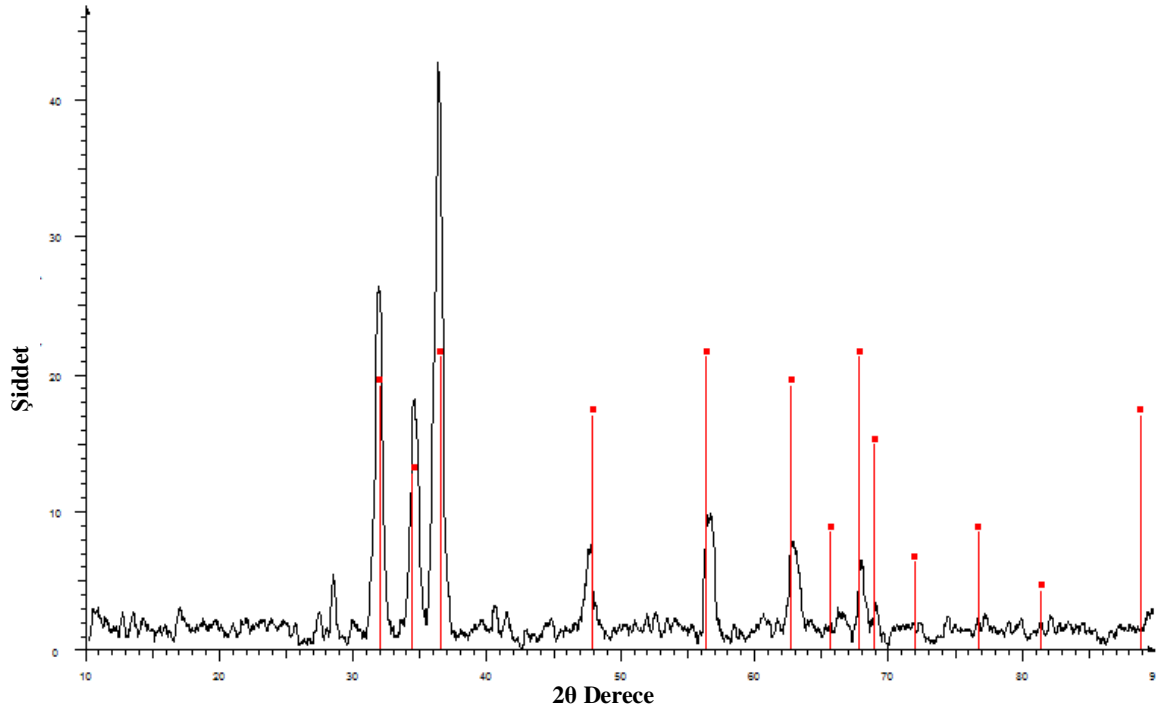
ZnO NP'nin yapısal analizi FT-IR ile yapılmıştır. Şekil 3.12'de görüldüğü gibi, 2987.68 cm^{-1} , 2117.15 cm^{-1} , 1636.98 cm^{-1} , 1393.88 cm^{-1} , 1249.82 cm^{-1} ve 1065 cm^{-1} spektrumlarında gözlenen band titreşimleri Tablo 3.1'de verilen referanslarla değerlendirilerek partikülün yapısında bulunan fonksiyonel gruplar belirlenmiştir.



Şekil 3.12. ZnO solüsyonunun FT-IR analizi

3.2.5 X-Işınları Toz Difraksiyon Analizi

Şekil 3.13'te *M. aquatica* yaprak özütü ile sentezlenen ZnO NP'nin XRD deseni gösterilmiştir.

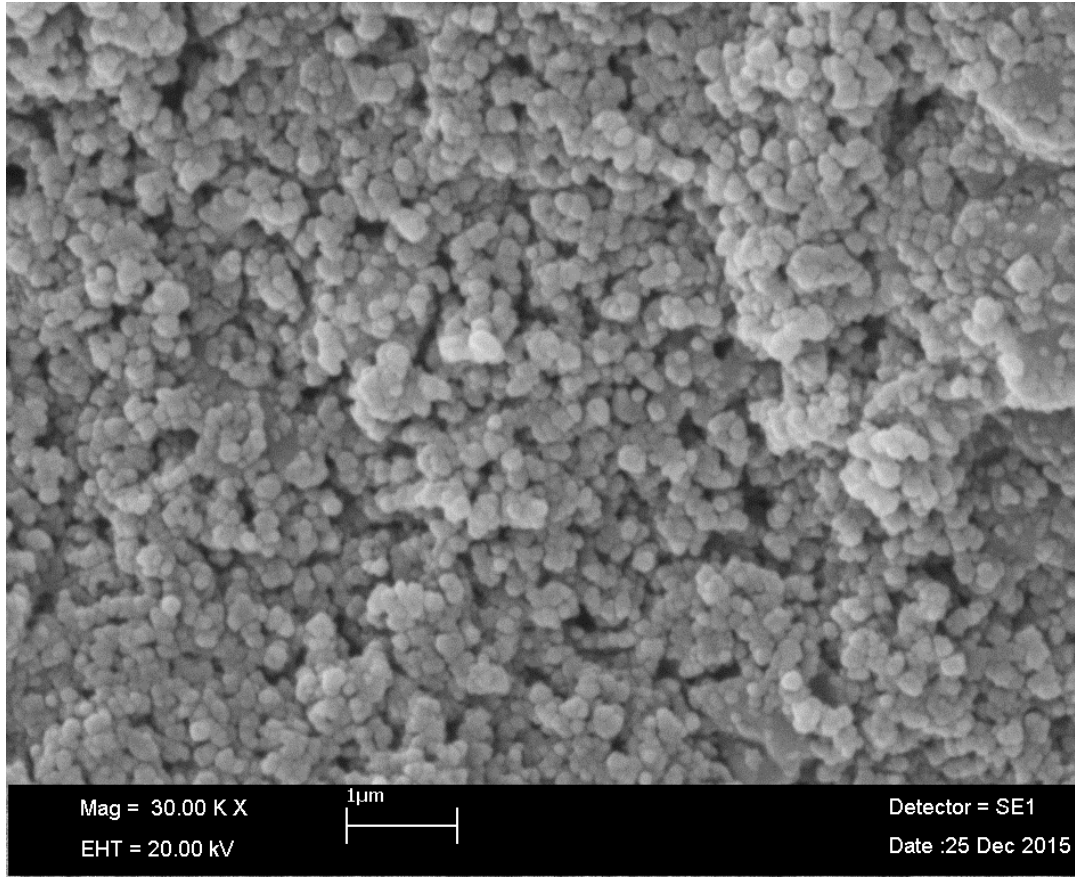


Şekil 3.13. ZnO NP'nin XRD analizi

X-Işınları toz difraksiyon analizi ile 32.05, 34.40°, 36.35°, 47.90°, 56.3°, 62.85°, 67.9° ve 69°'de ZnO yansımasına karşılık gelen kırınım pikleri gözlenmiştir. 2θ konumunda elde edilen kırınım pikleri ile ZnO NP'nin kristal yapıda olduğu belirlenmiştir.

3.2.6 Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüsü

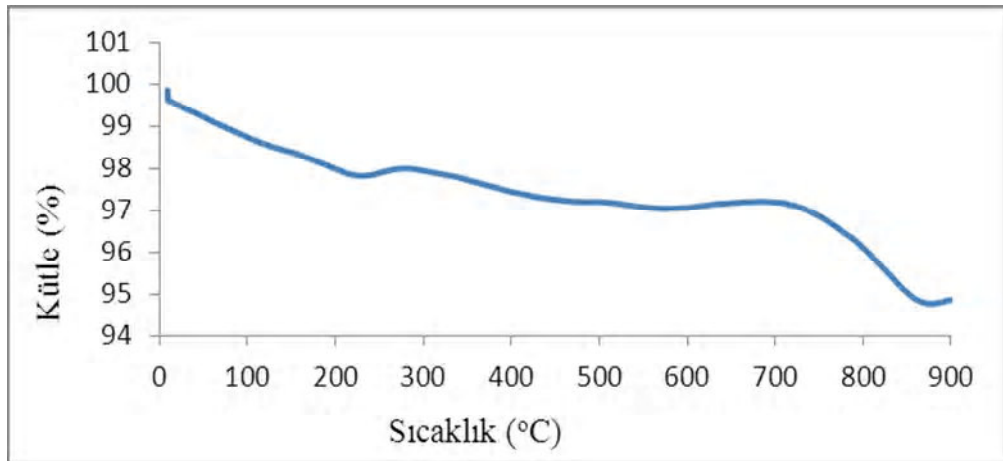
M. aquatica yaprak özütü ile sentezlenen ZnO NP'nin morfolojik özellikleri (şekil ve boyut) Taramalı Mikroskop Analizi ile belirlenmiştir. (Şekil 3.14). Analiz sonucunda nanopartiküllerin ortalama boyutu 74 nm olarak ölçülmüştür. SEM analizi ile yuvarlak yapıya sahip olan partiküllerin bir araya gelerek küçük kümeler oluşturma eğiliminde olduğu gözlenmiştir.



Şekil 3.14. ZnO NP'nin SEM görüntüsü

3.2.7 Termogravimetrik ve Diferansiyel Termal Analizi

Kül fırınında 400 °C'de yakılarak elde edilen ZnO NP'nin 900 °C sıcaklığına kadar kütle kaybının yaklaşık %5 olduğu gözlenmiştir (şekil 3.15).

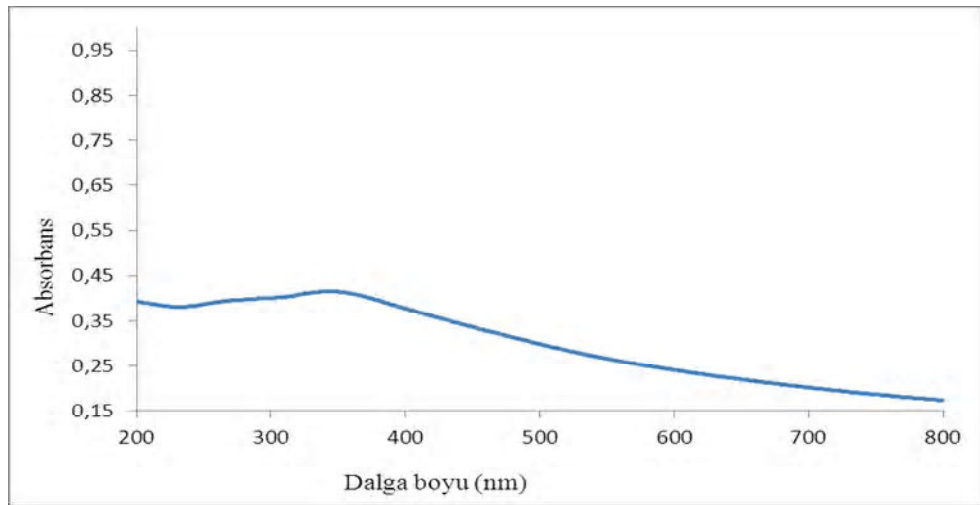


Şekil 3.15. ZnO NP'nin TGA analizi

3.3 TiO₂ NP'nin Karakterizasyonu

3.3.1 Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopi Analizi

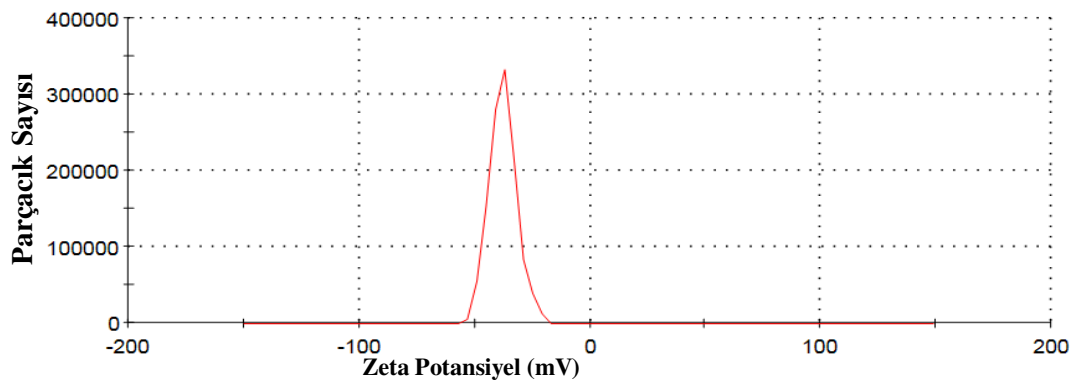
Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi ile TiO₂ NP'nin karakteristik ışık emme noktası 354 nm dalga boyunda olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.16).



Şekil 3.16. TiO₂ NP solüsyonunun ultraviyole görünür bölge absorpsiyon grafiği

3.3.2 Yüzey Yükü Ölçümü

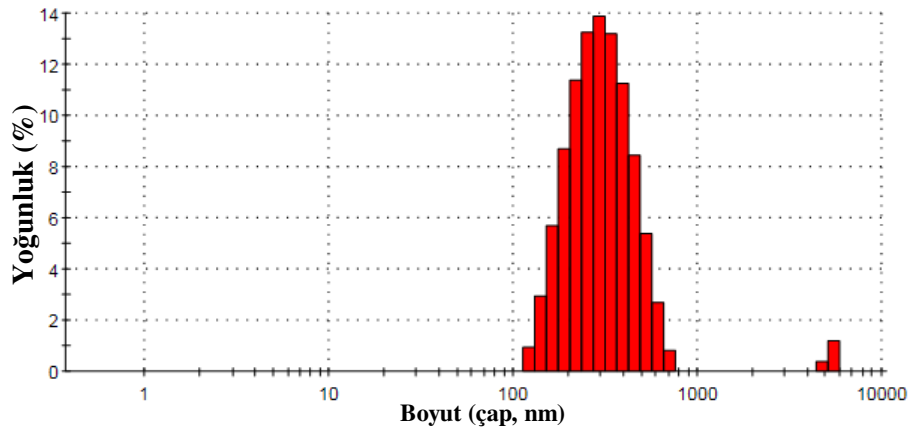
Şekil 3.17'de görüldüğü gibi Zeta potansiyeli ile TiO₂ NP'nin üzerindeki yükün türü ve şiddeti -37.6 mV olarak ölçülmüştür.



Şekil 3.17. TiO₂ NP'nin yüzey yükü

3.3.3 Dinamik Işık Saçılım Analizi

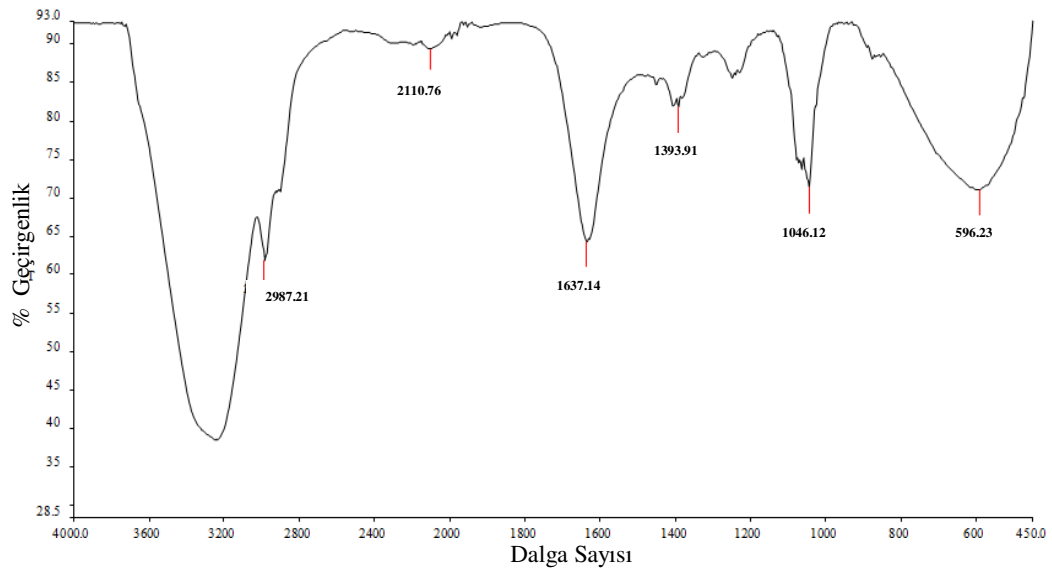
Dinamik ışık saçılımı ile TiO_2 NP'lerin etkin çapı ölçülmüştür. Biyosentezi gerçekleştirilen TiO_2 NP'lerin boyutu yaklaşık 304 nm civarında belirlenmiştir (Şekil 3.18).



Şekil 3.18 TiO_2 NP'nin etkin çapı

3.3.4 Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopi Analizi

TiO_2 NP'nin yapısal analizi FT-IR ile belirlenmiştir (Şekil 3.19).

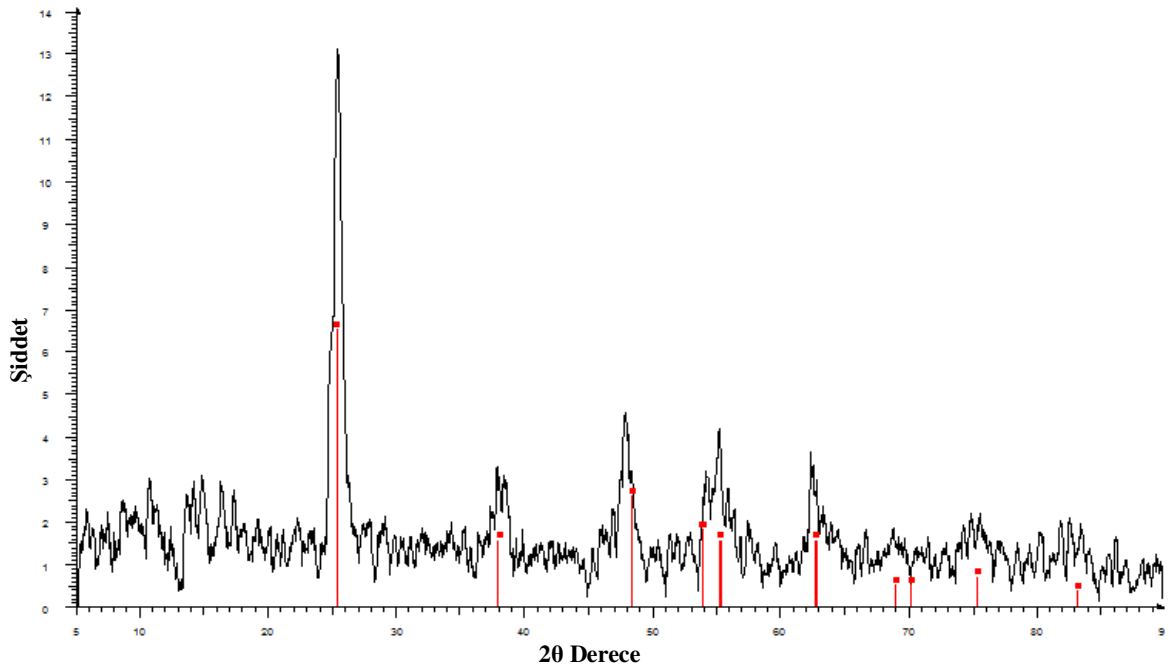


Şekil 3.19 TiO_2 solüsyonunun FT-IR analizi

Analiz sonunda 2987.21 cm^{-1} , 2110.76 cm^{-1} , 1637.14 cm^{-1} , 1393.91 cm^{-1} ve 1046.12 cm^{-1} spektrumlarında belirlenen emme bandları Tablo 3.1’de verilen referans değerlerle karşılaştırılarak partikülün yapısında bulunan fonksiyonel gruplar belirlenmiştir.

3.3.5 X-Işınları Toz Difraksiyon Analizi

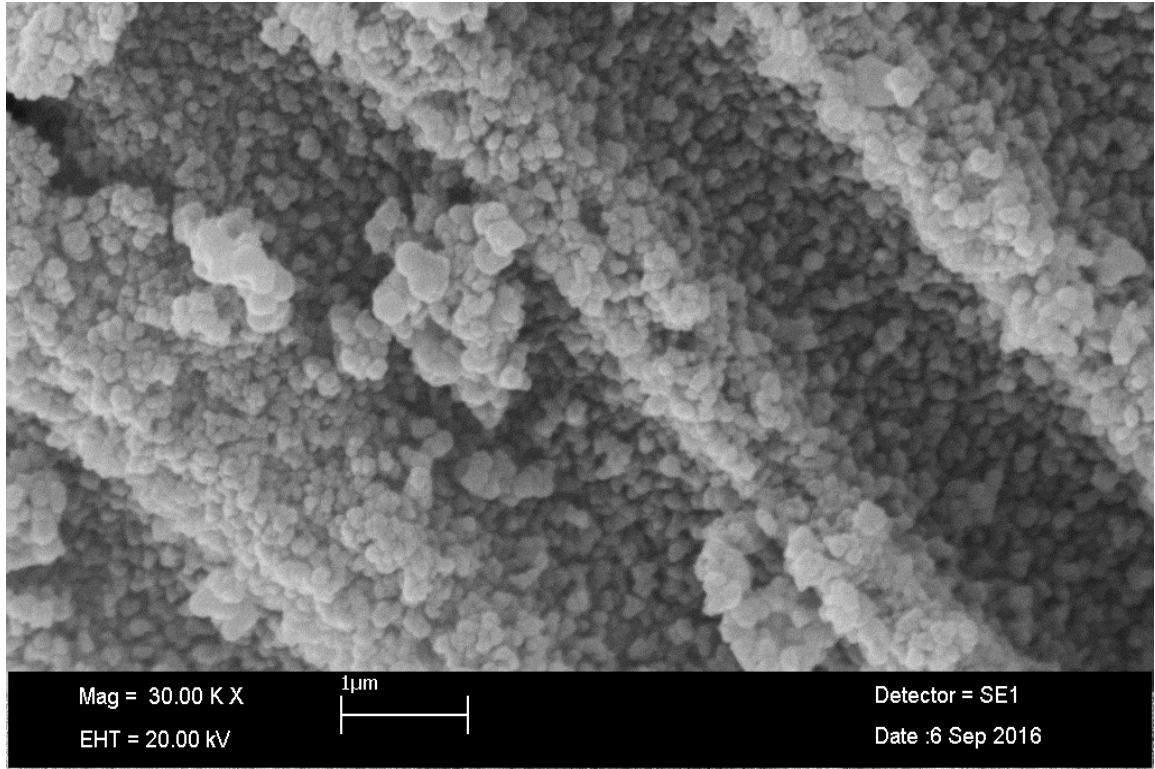
M. aquatica yaprak özütü ile sentezlenen TiO_2 NP’nin XRD deseni elde edilmiştir (Şekil 3.20). X-Işınları toz difraksiyon analizi ile 2θ konumunda 25.3° , 37.85° , 48.2° , 53.9° , 55.35° , 62.8° ve 68.1° ’de TiO_2 yansımasına karşılık gelen kırınım pikleri ile belirlenmiştir. Biyosentezi gerçekleştirilen partikülün analiz sonucunda kristal yapısı doğrulanmıştır. Ayrıca TiO_2 NP’nin anataz formunda ve tetragonal yapıya sahip olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 3.20 TiO_2 NP’nin XRD analizi

3.3.6 Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüsü

Biyosentezi gerçekleştirilen TiO_2 NP’nin şekil ve boyut gibi morfolojik özellikleri Taramalı Mikroskop Analizi ile belirlenmiştir (Şekil 3.21).

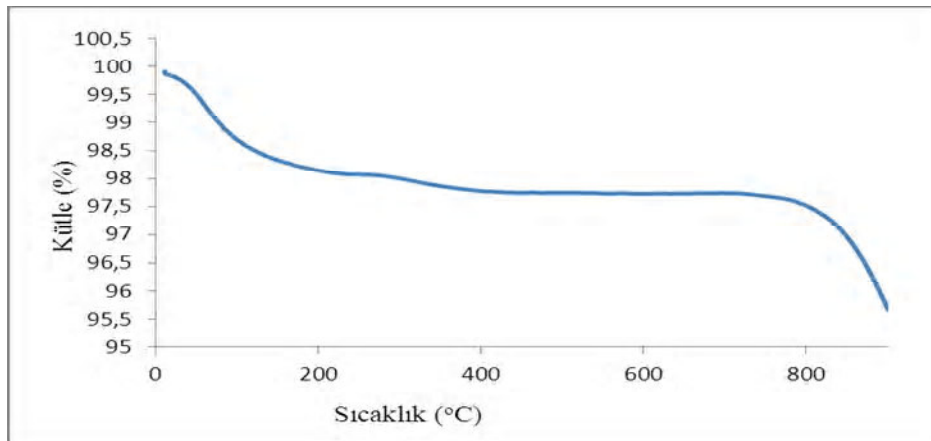


Şekil 3.21. TiO_2 NP'nin SEM görüntüsü

SEM analizi ile nanopartiküllerin yuvarlak yapısı gözlenmiş ve ortalama boyutu 69 nm olarak ölçülmüştür.

3.3.7 Termogravimetrik ve Diferansiyel Termal Analizi

Bitki özütü ile hazırlanan TiO_2 NP kül fırınında $400\text{ }^\circ\text{C}$ 'de yakıldıktan sonra elde edilen partikülün TGA analizi ile kütle kaybının %4 olduğu belirlenmiştir. (Şekil 3.22).



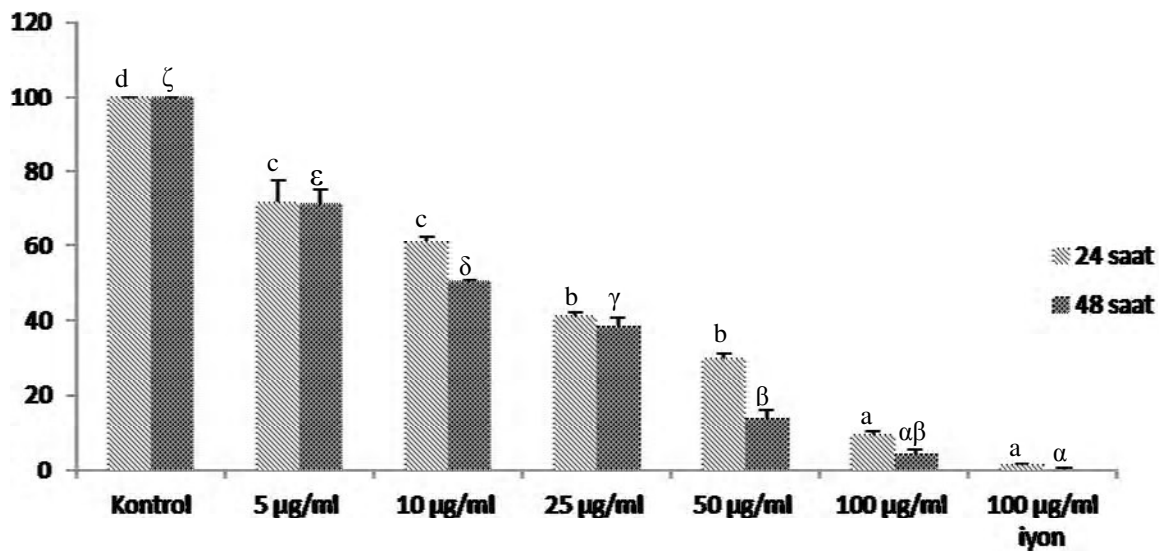
Şekil 3.22. TiO_2 NP'nin TGA analizi

3.4 Sentezlenen Nanopartiküllerin Sitotoksik Etkileri

M. aquatica bitkisinin yaprak özütü ile sentezlenen CuO, ZnO ve TiO₂ NP'nin ve iyon formlarının, fare kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücresi üzerine konsantrasyon ve zamana bağlı sitotoksik etkisi incelenmiş, her bir nanomalzeme ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

3.4.1 CuO NP'nin Sitotoksik Etkisi

Sentezlenen CuO NP'nin fare kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücresi üzerine sitotoksik etkisi değerlendirilmiştir (Şekil 3.23).



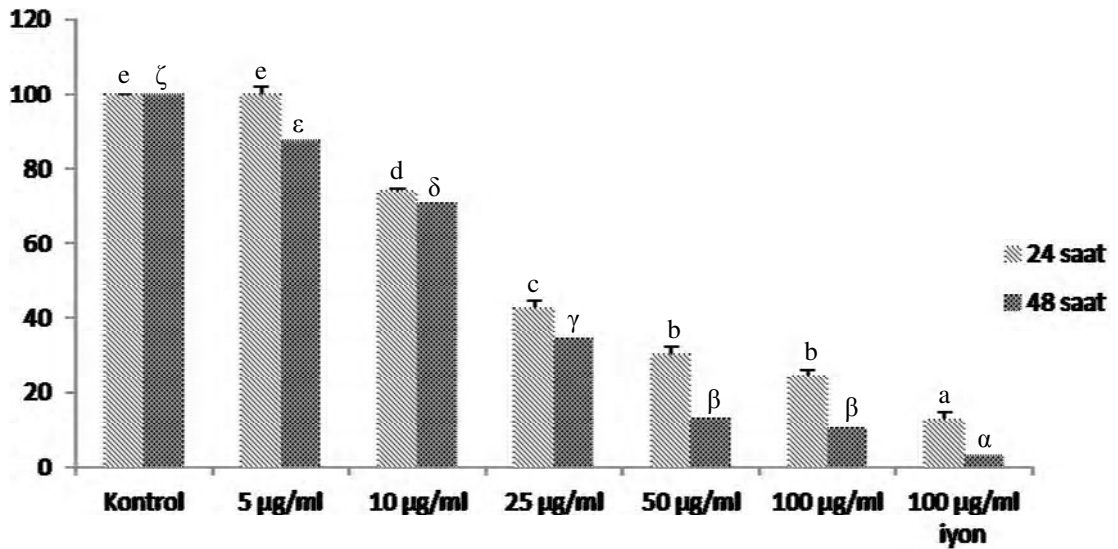
Şekil 3.23. CuO NP'nin uygulama konsantrasyonuna bağlı olarak hücre canlılığındaki değişimler. (Değerler üç ayrı deneyin ortalamasını göstermektedir. Hata çubukları standart hata değerini işaret etmektedir. Latin harfleri (a, b, c ve d) 24 saat uygulaması için farklılık olup olmadığını göstermektedir. ($p \leq 0.05$). Greek harfleri (α , β , γ , δ , ϵ ve ζ) 48 saat uygulaması için farklılık olup olmadığını göstermektedir. ($p \leq 0.05$))

24 ve 48 saat maruziyet sonunda konsantrasyon artışına bağlı olarak hücre canlılığında istatistiksel olarak önemli derecede azalma gözlenmiştir. 24 saat süreyle 5 µg/ml konsantrasyonunda CuO NP maruziyeti ile hücre canlılığı %100'den %71.71'e; 100

$\mu\text{g/ml}$ maruziyetinde ise %9.28'e düşmüştür. $100 \mu\text{g/ml}$ CuSO_4 maruziyetinde ise hücre canlılığı %1.54 olarak belirlenmiştir. $100 \mu\text{g/ml}$ maruziyetinde CuSO_4 iyonunun, CuO NP'ye göre yaklaşık 6 kat daha hücre canlılığında azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. 48 saat sonunda $100 \mu\text{g/ml}$ CuO NP maruziyetinde hücre canlılığının %4.35'e, CuSO_4 maruziyetinde ise %0.46'ya düştüğü tespit edilmiştir. Artan süreyle birlikte hücre canlılığında azalma meydana gelmiştir. Her iki uygulama süresi için $100 \mu\text{g/ml}$ CuO NP ve CuSO_4 maruziyetinde hücre canlılığında gözlenen azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.005$).

3.4.1 ZnO NP'nin Sitotoksik Etkisi

24 ve 48 saat süreyle ZnO NP maruziyetinde artan süre ile birlikte fare kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre canlılığında kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede azalma meydana gelmiştir (Şekil 3.24).

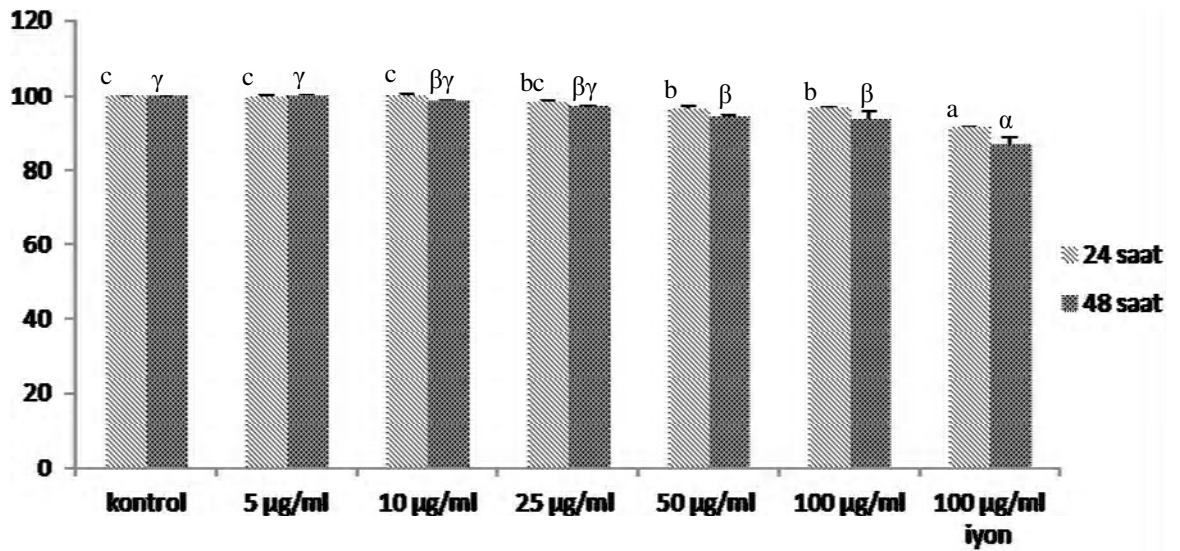


Şekil 3.24. ZnO NP'nin uygulama konsantrasyonuna bağlı olarak hücre canlılığındaki değişimler. (Değerler üç ayrı deneyin ortalamasını göstermektedir. Hata çubukları standart hata değerini işaret etmektedir. Latin harfleri (a, b, c, d ve e) 24 saat uygulaması için farklılık olup olmadığını göstermektedir. ($p \leq 0.05$). Greek harfleri (α , β , γ , δ , ϵ ve ζ) 48 saat uygulaması için farklılık olup olmadığını göstermektedir. ($p \leq 0.05$))

24 saat süreyle 5 $\mu\text{g/ml}$ nanopartikül maruziyetinde hücre canlılığında kontrol grubuna göre önemli bir değişim meydana gelmezken, konsantrasyon artışı ile birlikte hücre canlılığının yaklaşık %75 oranında düştüğü belirlenmiştir. 48 saat süreli ZnO NP maruziyetinde ise 50 ve 100 $\mu\text{g/ml}$ uygulamaları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlenmemiş olup, kontrol grubuna göre hücre canlılığında azalma meydana gelmiştir. 24 ve 48 saat süreyle 100 $\mu\text{g/ml}$ maruziyette ise, Zn iyonlarının ZnO NP'ye göre hücre canlılığında istatistiksel olarak önemli derecede azalmaya neden olduğu belirlenmiştir ($p < 0.005$).

3.4.1 TiO₂ NP'nin Sitotoksik Etkisi

Fare kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücresinin 24 saat süreyle 100 $\mu\text{g/ml}$ TiO₂ NP maruziyeti ile hücre canlılığının %96.6'ya, 48 saat maruziyetinde ise %93.6'ya düştüğü gözlenmiştir (Şekil 3.25).

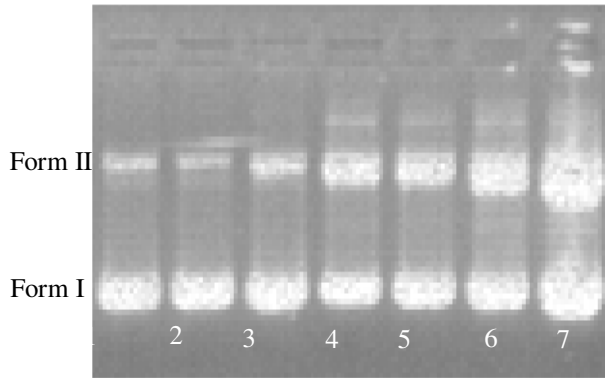


Şekil 3.25. TiO₂ NP'nin uygulama konsantrasyonuna bağlı olarak hücre canlılığındaki değişimler. (Değerler üç ayrı deneyin ortalamasını göstermektedir. Hata çubukları standart hata değerini işaret etmektedir. Latin harfleri (a, b ve c) 24 saat uygulaması için farklılık olup olmadığını göstermektedir. ($p \leq 0.05$). Greek harfleri (α , β ve γ) 48 saat uygulaması için farklılık olup olmadığını göstermektedir. ($p \leq 0.05$))

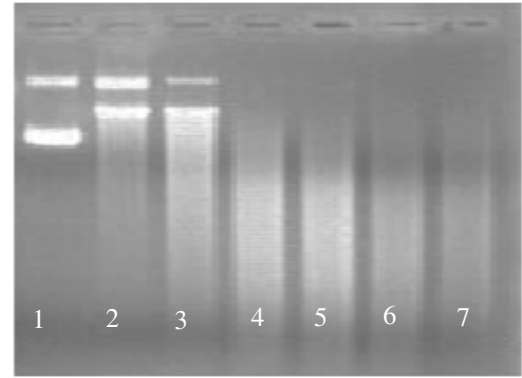
100 µg/ml TiO₂ iyonuna 24 saat süreyle maruziyetinde hücre canlılığı yaklaşık %9.48 süreyle maruziyetinde maruziyetinde ise %14 oranında azalmıştır. Her iki uygulama süresi için 5, 10 ve 25 µg/ml TiO₂ NP maruziyetinin hücre canlılığını önemli derecede inhibe etmediği kaydedilmiştir. 50 ve 100 µg/ml maruziyetinde ise hücre canlılığında istatistiksel olarak önemli azalma gözlenmiştir. 24 ve 48 saat sonunda 100 µg/ml iyon maruziyeti ile hücre canlılığı aynı konsantrasyonda TiO₂ NP maruziyetine göre istatistiksel olarak azalmıştır (p<0.005).

3.4 Sentezlenen NP'lerin Genotoksik Etkisi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Cu iyonlarının plazmit DNA ile inkübasyonu sonucunda elde edilen agaroz jel görüntüleri Şekil 3.26.a'da gösterilmektedir. Cu iyonlarının 350, 175, 87.5 ve 43.75 µg/ml maruziyetinde plazmit DNA'nın Form II yapısının kontrole göre yoğunluğunun arttığı kaydedilmiştir. 21.875 ve 10.93 µg/ml maruziyetinde ise herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Form I yapısı ise Cu iyonlarının uygulanan tüm konsantrasyonlarında kontrole göre farklılık göstermemiştir.



Şekil 3.26.a



Şekil 3.26.b

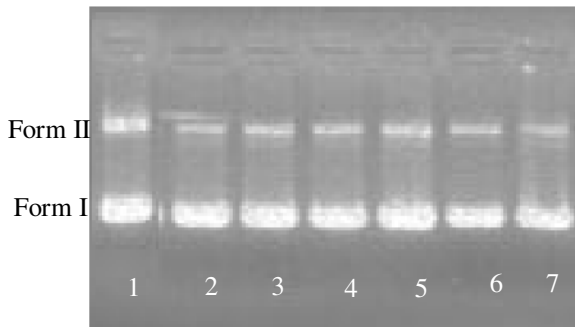
Şekil 3.26.a. Cu iyonlarının pBR322 plazmid DNA etkileşimi. (1: pBR322; 2: 10.93 µg/ml Cu+pBR322; 3: 21.875 µg/ml Cu+pBR322; 4: 43.75 µg/ml Cu+pBR322; 5: 87.5 µg/ml Cu+pBR322; 6: 175 µg/ml Cu+pBR322; 7: 350 µg/ml Cu+pBR322).

Şekil 3.26.b CuO NP'nin pBR322 plazmid DNA etkileşimi. (1: pBR322; 2: 10.93 µg/ml CuONP+pBR322; 3: 21.875 µg/ml CuONP+pBR322; 4: 43.75 µg/ml CuONP+pBR322; 5: 87.5 µg/ml CuONP+pBR322; 6: 175 µg/ml CuONP+pBR322; 7: 350 µg/ml CuONP+pBR322)

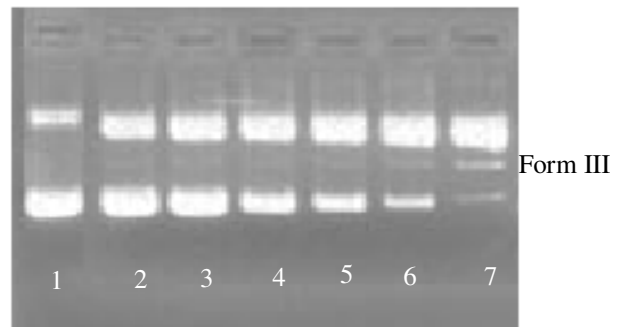
CuO NP'nin test edilen yüksek konsantrasyonlarında DNA yapısının tamamen parçalandığı görülmüştür (Şekil 3.26.b). 10.9 ve 21 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarda CuO NP'nin ise Form I DNA hareketini yavaşlattığı belirlenmiştir.

Zn iyonlarının plazmit DNA ile farklı konsantrasyonlarda inkübasyonu sonucunda elde edilen agaroz jel görüntüleri Şekil 3.27.a'da gösterilmektedir. Zn iyonlarının tüm konsantrasyonlarında (46-1500 $\mu\text{g/ml}$) plazmit DNA'nın süper sarmal Form II yapısının yoğunluğu kontrole göre azalmıştır.

ZnO NP'nin konsantrasyon artışına bağlı olarak Form I yapısının yoğunluğunda azalma meydana geldiği, Form II yapısının ise yoğunluğunda artış meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 3.27.b). Form I yapısının konsantrasyon artışına bağlı olarak Form II yapısına dönüştüğü anlaşılmaktadır. Ayrıca, 1500, 750 ve 375 $\mu\text{g/ml}$ maruziyetinde ise Form III yapısının oluştuğu gözlenmiştir.



Şekil 3.27.a



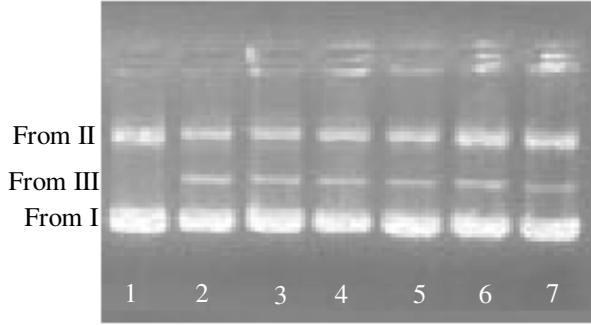
Şekil 3.27.b

Şekil 3.27.a. Zn iyonlarının pBR322 plazmit DNA etkileşimi. (1: pBR322; 2: 46.875 $\mu\text{g/ml}$ Zn +pBR322; 3: 93.75 $\mu\text{g/ml}$ Zn +pBR322; 4: 187.5 $\mu\text{g/ml}$ Zn +pBR322; 5: 375 $\mu\text{g/ml}$ Zn +pBR322; 6: 750 $\mu\text{g/ml}$ Zn +pBR322; 7: 1500 $\mu\text{g/ml}$ Zn+pBR322)

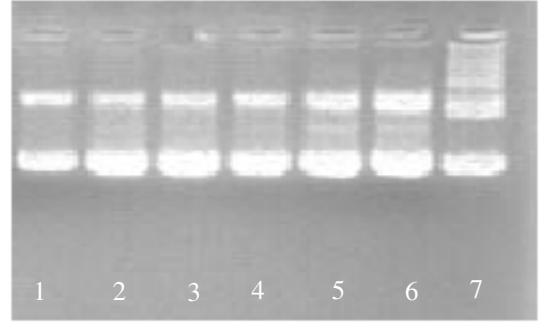
Şekil 3.27.b. ZnO NP'nin pBR322 plazmit DNA etkileşimi. (1: pBR322; 2: 46.875 $\mu\text{g/ml}$ ZnO NP +pBR322; 3: 93.75 $\mu\text{g/ml}$ ZnO NP +pBR322; 4: 187.5 $\mu\text{g/ml}$ ZnO NP +pBR322; 5: 375 $\mu\text{g/ml}$ ZnO NP +pBR322; 6: 750 $\mu\text{g/ml}$ ZnO NP +pBR322; 7: 1500 $\mu\text{g/ml}$ ZnO NP +pBR322)

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Ti iyonlarının plazmit DNA ile inkübasyonu sonucunda elde edilen agaroz jel görüntüleri Şekil 3.28.a'da gösterilmektedir. Ti iyonlarının tüm konsantrasyonlarında (3500, 1750, 875, 437.5, 218 ve 109 $\mu\text{g/ml}$) plazmit DNA'nın lineer yapıda olan Form III yapısı oluşmuştur.

3500 $\mu\text{g/ml}$ TiO_2 NP maruziyetinde Form II yapısının tamamen bozulduğu gözlenmiştir (Şekil 3.28.b). 1750, 875 $\mu\text{g/ml}$ TiO_2 NP maruziyetinde Form II yapısının yoğunluğunda artış gözlenmiştir. Diğer konsantrasyon maruziyetlerinde ise Form II yapısında kontrole göre herhangi bir fark gözlenmemiştir.



Şekil 3.28.a



Şekil 3.28.b

Şekil 3.28.a. Ti iyonlarının pBR322 plazmid DNA etkileşimi. (1: pBR322, 2: 109.375 $\mu\text{g/ml}$ Ti+pBR322, 3: 218.75 $\mu\text{g/ml}$ Ti+pBR322, 4: 437.5 $\mu\text{g/ml}$ Ti+pBR322, 5: 875 $\mu\text{g/ml}$ Ti+pBR322, 6: 1750 $\mu\text{g/ml}$ Ti+pBR322, 7: 3500 $\mu\text{g/ml}$ Ti+pBR322)

Şekil 3.28.b. TiO_2 NP'nin pBR322 plazmid DNA etkileşimi. (1: pBR322, 2: 109.375 $\mu\text{g/ml}$ TiO_2NP +pBR322, 3: 218.75 $\mu\text{g/ml}$ TiO_2NP +pBR322, 4: 437.5 $\mu\text{g/ml}$ TiO_2NP +pBR322, 5: 875 $\mu\text{g/ml}$ TiO_2NP +pBR322, 6: 1750 $\mu\text{g/ml}$ TiO_2NP +pBR322, 7: 3500 $\mu\text{g/ml}$ TiO_2NP +pBR322)

4. BÖLÜM

SONUÇ, TARTIŞMA ve ÖNERİLER

4.1 CuO NP'nin Karakterizasyonu

Nanopartiküllerin, şekil, boyut, yüzey alanı, dağılımı ve elektriksel yükü gibi özelliklerini belirlemek için UV-görünür spektroskopi, dinamik ışık saçılımı, X ışını difraksiyonu, enerji dağılımlı spektroskopi, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi gibi metotlarla sentezlenen nanopartiküllerin bileşimi, yapısı, kristal fazı ve diğer karakteristik özellikleri belirlenmektedir [15]. Karışımdaki renk değişimi CuO nanopartikülün oluşumunun görsel bir işaretidir [22]. Bizim çalışmamızda Cu^{+2} iyonları bitki özütündeki biyokimyasal ajanlar tarafından indirgenmiş ve solüsyon rengi açık sarıdan kahverengiye dönüştüğü gözlenmiştir. Duman ve ark (2016), chamomile çiçek özütü, Shi ve ark [2017], *Cassia auriculata* yaprak özütü ile CuO NP'nin sentez sürecinde solüsyonda gözledikleri renk değişimi ile NP oluşumunu doğrulamışlardır [98, 218]. UV-Görünür Spektrofotometresi, nanopartiküllerin yüzey plasmon rezonans özelliklerini belirlemektedir [20]. Işık spektrumunda UV ışınlar 190-380 nm, görünür ışıklar ise 380-800 nm aralığında dedekte edilmektedir [15]. Bu çalışmada *M. aquatica* yaprak özütünün UV ışık emme noktalarının 285 ve 324 nm olduğu gözlenirken, bitkinin özütü ile hazırlanan CuO NP ışık emme noktalarının 285 ve 343 nm olduğu kaydedilmiştir. Honary ve ark (2012), 265 nm civarında gözlemledikleri absorbsiyon değerinin aromatik amino asitlere karşılık geldiğini bildirmişlerdir [33]. Ashajyothi ve ark (2014), biyolojik yöntemle sentezledikleri Cu NP'nin 300-310 nm arasında [82], Duman ve ark (2016), CuO NP'nin 320 nm'de pik verdiğini gözlemlemişlerdir [98]. Sharma ve ark (2015), 291 ve 355 nm'de gözlemledikleri absorbsiyon değerlerini Cu metal ve CuO nanopartiküllerinin çekirdek elektronlar arası bant geçişine dayandırmışlardır [207]. Udayabhanu ve ark (2015), 275 ve 372 nm dalga boyunda gözlemledikleri absorbsiyon piklerinin CuO için karakteristik pik değerlerini işaret

ettiğini bildirmişlerdir [117]. Bizim verilerimize göre CuO NP'nin karakteristik ışık emme noktası 343 nm olarak belirlenmiştir.

Negatif yönde düşük zeta potansiyeli, partiküller arasında bir itme kuvveti oluşturmakta ve bu kuvvet nanopartiküllerin kümelenmesini önleyerek daha stabil halde kalmasını sağlamaktadır [22, 51]. CuO NP'lerin zeta potansiyeli -13.9 mV olarak ölçülmüştür. -5 ve +5 mV aralığında yüzey yüküne sahip olan nanopartiküller hızlı bir şekilde kümelenirken, -5 ile -25 ve +5 ile +25 mV aralığında yüzey yüküne sahip olan nanopartiküller kısa süreli stabiliteye sahiptir [219]. Bu bilgilere göre *M. aquatica* yaprak özütü ile sentezlenen CuO nanopartikülünün kısa süreli stabiliteye sahip olduğu sonucuna varılabilir.

Sıvı içerisinde süspanse halde olan nanopartiküllerin etkin çapının belirlenmesi amacıyla DLS kullanılmaktadır [6, 15]. CuO NP'lerin etkin çapının yaklaşık 450 nm civarında olduğu gözlenmiştir. Armendariz ve arkadaşları (2004), küçük boyuta sahip nanopartiküllerin düşük pH koşullarında kümelenme eğiliminde olduğunu bildirmiştir [165]. Bu veri, nanopartikülün üzerindeki bitki özütündeki fonksiyonel grupların varlığına işaret etmektedir. Buna ek olarak, CuO NP çözeltisinin pH değerinin 5 civarında olması nedeniyle küçük agregasyonlar meydana gelmiş olabilir. FT-IR ile sentezlenen nanopartiküllerin yüzey bileşenleri (organik bileşikler, vs) ve yüzeyinde bağlı olan fonksiyonel gruplar (karbonil ve hidroksil gibi) tespit edilebilmektedir [6, 15]. FT-IR sonucunda, 3238.75 cm^{-1} 'de O-H (alkol), ve N-H (amid), 2100.37 cm^{-1} 'de $\text{C}\equiv\text{C}$ - (alkin), 1629 cm^{-1} 'de $\text{C}=\text{C}$ (alken), 1326.41 cm^{-1} 'de C-F (alkil halojenür), C-N (amin), 1198.95 cm^{-1} 'de C-F (alkil halojenür), C-N (amin), C-O (eter), 591 cm^{-1} 'de C-Br (alkil halojenür) band titreşimleri görülmüştür. Karthik ve Geetha (2013), 619 cm^{-1} 'de [44], Duman ve ark (2016), 520 ve 618 cm^{-1} gözlenen bandların Cu-O titreşimine karşılık geldiğini [98], Sivaraj ve ark (2014), 558 cm^{-1} 'de gözledikleri bandın metal-oksijen bandı olduğunu bildirmişlerdir [32]. Bu çalışmada 591 cm^{-1} 'de gözlenen band, Cu-O oluşumuna işaret etmektedir.

X-Işınları Toz Difraksiyon analizi, nanopartiküllerin kristal yapısını belirlemek amacıyla kullanılmaktadır [6, 15]. Biyosentezi gerçekleştirilen CuO NP'nin $2\theta = 32.4^\circ$, 35.56° , 38.7° , 48.75° , 53.7° , 58.23° , 61.57° , 68.1° ve 75° 'de belirlenen kırınım pikleri sırayla, (1 1 0), (0 0 2), (1 1 1), (2 0 2), (0 2 0), (2 0 2), (1 1 3), (1 1 3) ve (2 2 2) düzlemlerine karşılık gelmektedir. XRD analizi ile gözlenen keskin CuO yansımaları ile

partikülün yüksek kristal yapıya sahip olduğu doğrulanmıştır. Sharma ve ark (2015), *Calotropis gigantea* yaprak özütü ile sentezledikleri CuO NP'nin (1 1 0), (0 0 2), (1 1 1), (2 0 2), (0 2 0), (2 0 2), (1 1 3), (3 1 1), (1 1 3), (3 1 1) ve (2 2 2) düzlemler ve karşılık gelen kırınım pikleri ile monoklinik yapıda olduğunu tespit etmişlerdir [207]. Shi ve ark (2017), *Cassia auriculata* yaprak özütü ile sentezledikleri CuO NP'de 32.54°, 35.56°, 38.77°, 48.74°, 53.53°, 58.37°, 61.56°, 66.29° ve 68.17° gözlemledikleri kırınım piklerinin sırayla (110), (002), (111), (202), (020), (202), (113), (311) ve (113) düzlemlerine karşılık geldiğini bildirmişlerdir [218]. Elde ettikleri veriler ile sentezledikleri partikülün monoklinik ve yüksek kristal yapıda olduğunu doğrulamışlardır.

SEM analizleri sonuçlarına göre *M. aquatica* bitkisinin yaprak özütü ile sentezlenen CuO nanopartiküllerinin yuvarlak yapıda ve ortalama 57 nm boyutlarında olduğu belirlenmiştir. Ayrıca partiküllerin küçük kümeler oluşturma eğiliminde olduğu görülmektedir. Gunalan ve ark (2012), *Aloe barbadensis* yaprak özütü ile sentezledikleri CuO NP'nin 15-30 nm boyutlarında olduğunu bildirmiştir [154]. Kumar ve ark (2015), *Aloe vera* yaprak ekstraktı ile sentezledikleri CuO NP'nin küçük kümeler oluşturduğunu SEM analizi ile gözlemlemişlerdir [194].

M. aquatica yaprak özütü ile sentezlenen CuO NP'nin TGA analizi ile 400 °C'ye kadar %40 kütle kaybına uğradığı belirlenmiştir. 550 °C ile 900 °C arasında önemli bir kütle kaybı gözlenmemiştir. Nasrollahzadeh ve ark (2016), *Thymus vulgaris* yaprak özütü ile sentezlediği CuO NP'nin 300 °C'ye kadar sıcaklık artışı ile partikülün yaklaşık %15 oranında kütle kaybına uğradığını bildirmişlerdir. [220]. Nagajyothi ve ark (2013), *P. trifoliata* meyve özütü ile sentezledikleri ZnO NP'de 594 °C'ye kadar kütle kaybı gözlemlendiği, 598 °C ve üzerinde kütle kaybının olmadığını belirlemişlerdir [99]. Araştırmacılar NP'nin kütlelerinde sıcaklığa bağlı meydana gelen bu kaybın yapısında bulunan organik maddenin yanarak kaybolmasına bağlamışlardır. CuO NP'de sıcaklığa bağlı olarak meydana gelen kütle kaybının, partikülün etrafını kaplayan fonksiyonel grubun yanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2 ZnO NP'nin Karakterizasyonu

Bitki özütü ve Zn (NO₃)₂ solüsyonun açık sarıdan siyah renge dönüşümü ile ZnO NP oluşumunu göstermiştir. Baskar ve ark (2013), *Aspergillus terreus* özütü [67], Azizi ve

ark (2014), *Sargassum muticum* özütü ile ZnO NP'lerin sentezi sürecinde gözlemledikleri renk değişimi ile nanopartikül oluşumunu doğrulamışlardır [86]. Metal nanopartikülleri görünür UV bölgede yüzey plazmon resonans absorpsiyonuna sahiptir. Yüzey plazmon bantları nanopartiküllerin boyutlarının küçüklüğü nedeni ile iletim bandında bulunan serbest elektronların varlığından kaynaklanmaktadır. ZnO NP'nin 300-500 nm aralığında ışık emme absorpsiyonuna sahip olduğu bilinmektedir [53]. UV-Görünür Bölge absorpsiyon spektroskopisinde *M. aquatica* yaprak özütü ile sentezlenen ZnO NP için 366 nm'de absorpsiyon gözlenmiş ve nanopartikülün karakteristik ışık emme noktası 366 nm olarak belirlenmiştir. Rajiv ve ark (2013), *Parthenium hysterophorus* yaprak özütü, Nagajyothi ve ark (2014), *Coptis chinensis* özütü ile sentezledikleri ZnO NP'nin ışık emme noktalarını sırayla 370 ve 344 nm dalga boyunda belirlemiştir [27, 102].

Zeta potansiyeli ile ZnO NP üzerindeki yükün türü ve şiddeti ölçülmüştür. ZnO NP'nin zeta potansiyeli üzerindeki bitki özütünden dolayı -13.3 mV olarak ölçülmüş ve sentezlenen partikülün kısa süreli stabilite özelliğine sahip olduğu belirlenmiştir. Dinamik ışık saçılımı ile ZnO NP'nin etkin çapı yaklaşık 397 nm civarında ölçülmüştür. Etkin çapın büyük olması ZnO NP çözeltisinin pH 4.5 civarında olmasından dolayı meydana gelen agregasyonlardan dolayıdır. Bizim bulgularımıza benzer olarak Yuvakkumar ve ark (2014), *Nephelium lappaceum* kabuk özütü ile sentezledikleri ZnO NP'nin 450 nm etkin çapa sahip olduğunu ve bu durumun kümelenmeden kaynaklandığını bildirmiştir [47].

ZnO NP'nin yapısal analizi FT-IR ile yapılmış ve elde edilen veriler Tablo 3.1 ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, 2987.68 cm^{-1} 'de C-H (alkan), O-H (asit), 2117.15 cm^{-1} 'de $\text{-C}\equiv\text{C-}$ (alkin), 1636.98 cm^{-1} 'de C=C (alken), 1393.88 cm^{-1} 'de -C-H (alkan), C-F (alkil halojenür), 1249.82 cm^{-1} 'de C-F (alkil halojenür), C-N (amin), C-O (eter), 1065 cm^{-1} 'de C-O (alkol) band titreşimleri ile partikülün yapısına bağlı bulunan fonksiyonel grupların varlığı belirlenmiştir. Rajiv ve ark (2013), ZnO NP'nin FT-IR analizi ile 433, 457 ve 470 cm^{-1} dalga boylarında metal oksijen (M-O) [27], Fu ve Fu (2015), 502 cm^{-1} 'de Zn-O band titreşimlerini belirlemişlerdir [28]. Baskar ve ark (2013), 1052 cm^{-1} 'de C-N, 1538 ve 1675 cm^{-1} 'de alkil ve aromatik nitro bileşiklerin varlığını belirlemişlerdir [67].

ZnO NP'nin $2\theta = 32.05^\circ, 34.40^\circ, 36.35^\circ, 47.90^\circ, 56.3^\circ, 62.85^\circ, 67.9^\circ$ ve 69° 'de kırınım pikleri gözlenmiştir. Bu pikler sırayla (1 1 0), (0 0 2), (1 0 1), (1 0 2), (1 1 0), (1 0 3), (1 1 2) ve (2 0 1) düzlemlerini ifade etmektedir. Fu ve Fu (2015), $34.420^\circ, 36.145^\circ, 47.987^\circ, 56.502^\circ, 63.101^\circ, 67.958^\circ$ ve 69.014° kırınım piklerine denk gelen (1 0 0), (0 0 2), (1 0 1), (1 0 2), (1 1 0), (1 0 3), (1 1 2) ve (2 0 1) düzleminin altıgen yansıma çizgilerine denk geldiğini bildirmişlerdir [28]. Nagajyothi ve ark (2013), $31^\circ, 34^\circ, 36^\circ, 47^\circ, 56^\circ, 63^\circ, 66^\circ, 68^\circ, 69^\circ, 72^\circ$ ve 76° derecelerine karşılık gelen (1 0 0), (0 0 2), (1 0 1), (1 0 2), (1 1 0), (1 0 3), (1 1 2), (2 0 0), (2 0 1), (0 0 4) ve (2 0 2) düzlemleri ile ZnO NP'nin kristal yapının altıgen şekilli olduğunu bildirmiştir [99]. Bulgularımıza benzer olarak Tamuly ve ark (2014), sentezledikleri ZnO NP'nin kristal yapısının altıgen olduğunu bildirmiştir [201].

SEM görüntüleri ile ZnO NP'nin yuvarlak yapıda ve ortalama 74 nm boyuta sahip olduğu tespit edilmiştir. Shamsuzzaman ve ark (2017), sentezledikleri ZnO NP'nin 12-25 nm boyutlarında olduğunu bildirmiştir [25]. Rajiv ve ark (2013), *Parthenium hysterophorus* yaprak özütü ile sentezledikleri ZnO NP'nin yuvarlak ve altıgen yapıda olduğunu gözlemlemişlerdir [27]. Yuvakkumar ve ark (2014), *Nephelium lappaceum* kabuk özütü ile sentezledikleri ZnO NP'nin küçük kümeler oluşturduğunu belirlemişlerdir [47].

400°C 'de kül fırınında yakılarak toz halinde elde edilen ZnO NP'nin 900°C 'ye kadar %5 oranında kütle kaybına uğradığı TGA analizi ile belirlenmiştir. 400°C 'ye kadar NP'nin etrafında bulunan organik maddelerin uzaklaştığı CuO NP'nin TGA analizi ile belirlenmiştir. Shamsuzzaman ve ark (2017), biyosentezini gerçekleştirdiği ZnO NP'nin TGA analizi ile $340\text{-}550^\circ\text{C}$ 'de nanopartikülün yüzeyinde bulunan organik bileşiklerin kaybolması nedeni %40 oranında kütle kaybına uğradığını, 700°C 'ye kadar ise önemli bir kütle kaybının olmadığını belirlemişlerdir [25]. Nagajyothi ve ark (2014), 871°C 'de ZnO NP'nin Zn ve O bileşenlerine ayrıştığını belirlemiştir [102].

4.3 TiO₂ NP'nin Karakterizasyonu

CuO ve ZnO NP'nin sentezinde olduğu gibi solüsyonda gözlenen renk değişimi TiO₂ NP'nin oluşumunun ilk göstergesidir. Daha önce yapılan çalışmalarda TiO₂ NP'nin biyosentez sürecinde renk değişiminin gözlemlendiği bildirilmiştir [38, 40].

Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi ile 300-800 nm dalga boylarında spektrofotometrik absorpsiyon ölçümleri ile metal nanopartikülleri karakterize edilmektedir [6, 15]. UV- absorpsiyon spektroskopisinde TiO_2 NP'nin ışık emme bandı 354 nm'de gözlenmiştir. Bu duruma göre *M. aquatica* özütü ile sentezlenen TiO_2 NP'nin karakteristik ışık emme noktası 354 nm civarındadır. Jamuna ve ark (2014), *Desmodium gangeticum* kök özütü ile sentezledikleri TiO_2 NP'nin ışık emme noktasını 320 nm olarak belirlemişlerdir [4]. Valli ve ark (2015), *Cassia auriculata* yaprak özütü ile sentezledikleri TiO_2 NP'nin ışık emme noktasını 447 nm olarak belirlemişlerdir [40].

TiO_2 NP'nin etrafını kaplayan organik bileşiklerin yük şiddeti zeta potansiyeli ile ölçülmüştür. TiO_2 NP'nin zeta potansiyeli -37.6 mV olarak ölçülmüştür. Yüzey yükü +25 mV değerinden yüksek veya -25 mV' den düşük olan partiküllerin stabilizitesi yüksek olarak değerlendirilmektedir [219]. Elde edilen bulgulara göre *M. aquatica* yaprak özütü sentezlenen TiO_2 NP iyi bir stabiliziteye sahiptir. Sankar ve ark (2015), *Azadirachta indica* yaprak özütü ile sentezledikleri TiO_2 NP'nin yüzey yükünü -24 mV'de belirleyerek sentezledikleri partikül yüzeyinin elektrik yükünün yüksek olduğunu bildirmişlerdir [42]. Dinamik ışık saçılımı ile TiO_2 NP'nin, etrafını kaplayan bitki özütü ve ortam pH'ı gibi nedenlerle (pH 4.5) 304 nm civarında etkin çapa sahip olduğu belirlenmiştir.

TiO_2 NP'nin yapısal özelliği FT-IR ile analiz edilmiştir. Sentezlenen partikülde bağlı bulunan bitkisel gruplar elde edilen band titreşimleri ile tespit edilmiştir. 2987.21 cm^{-1} 'de C-H (alkan), O-H (asit), 2110.76 cm^{-1} 'de $-\text{C}\equiv\text{C}-$ (alkin), 1637.14 cm^{-1} 'de C=C (alken), 1393.91 cm^{-1} 'de -C-H (alkan), C-F (alkil halojenür), 1046.12 cm^{-1} 'de C-F (alkil halojenür), C-N (amin), C-O (eter) band titreşimleri belirlenmiştir. Jamuna ve arkadaşları (2014), *Desmodium gangeticum* bitkisinin kök özütü ile sentezlediği TiO_2 'nin yapısında fenolik bileşik, polimerik O-H, C=C ve C=H gibi fonksiyonel grupların varlığını gözlemlemişlerdir [4]. Velayutham ve ark (2012), biyosentezini gerçekleştirdiği partikülde 714 cm^{-1} 'de Ti-O-O [133], Jamuna ve arkadaşları (2014), 639 cm^{-1} 'de Ti-O bandını belirlemişlerdir [4]. Malarkodi ve ark (2013), *Planomicrobium* sp. ile sentezlediği TiO_2 NP'nin FT-IR analizi ile 518 cm^{-1} 'de Ti-O, 679 cm^{-1} 'de O-H, 1064 cm^{-1} 'de C-N ve alifatik aminlerin varlığını tespit etmişlerdir [38].

M. aquatica yaprak özütü ile sentezlenen TiO_2 NP'nin $2\theta = 25.3^\circ, 37.85^\circ, 48.2^\circ, 53.9^\circ, 55.35^\circ, 62.8^\circ$ ve 68.1° de belirlenen kırınım pikleri sırayla, (1 0 1), (0 0 4), (2 0 0), (1 0 5), (2 1 1), (2 0 4) ve (1 1 2) düzlemlerine karşılık gelmektedir. Biyosentezi gerçekleştirilen TiO_2 NP'nin kristal yapısının anataz formda ve tetragonal yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. Bulgularımıza benzer olarak Malarkodi ve ark (2013), biyolojik yöntemle sentezlediği TiO_2 NP'nin kristal yapıda olduğunu doğrulamışlardır [38]. Kirthi ve ark (2011), 39.187° ve 54.323° de [83] ve Krishnasamy ve ark (2015), $25.5^\circ, 38.5^\circ, 48.2^\circ$ ve 55.4° de [104] gözlemledikleri kırınım pikleri ile TiO_2 NP'nin anataz yapıda olduğunu bildirmişlerdir.

SEM görüntüleri ile TiO_2 NP'nin ortalama 69 boyutunda ve yuvarlak yapıda olduğu gözlenmiştir. Jamuna ve arkadaşları (2034), *Desmodium gangeticum* bitkisinin kök özütü ile sentezlediği TiO_2 NP'nin ortalama boyutunu 31 nm civarında tespit etmişlerdir [4]. Salam ve ark (2014), *Ocimum basilicum* L. var. *purpurascens* yaprak özütü ile sentezledikleri TiO_2 NP'nin SEM analizi ile 50 nm boyutunda ve altıgen yapıya sahip olduğunu tespit etmişlerdir [34].

Toz halinde TiO_2 NP eldesi için 400°C 'de kadar kül fırınında yakılan partikülden organik maddeler uzaklaşmıştır. TGA analiz verileri ile 900°C 'ye kadar TiO_2 NP'nin %4 oranında kütle kaybına uğradığı tespit edilmiştir. Daha önce belirttiğimiz gibi partiküle bağlı fonksiyonel gruplar 550°C 'de kaybolmuştur. Jamuna ve ark (2014) tarafından yapılan çalışmada *Desmodium gangeticum* kök özütü ile sentezlenen TiO_2 NP'nin 380°C 'ye partikülde bulunan organik maddenin uzaklaşması ile kütle kaybına uğradıktan sonra 1000°C 'ye kadar kütle kaybına uğramadığı bildirilmiştir [4].

4.4 Nanopartiküllerin Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi

4.4.1 CuO NP'nin Sitotoksik Etkisi

Cu karbonhidrat metabolizması, hemoglobin oluşumu ve antioksidan savunma sistemi gibi metabolik faaliyetlerde önemli rol oynayan önemli iz elementlerdendir [221]. Ancak, Cu iyonunun yüksek konsantrasyonlarda toksik olduğu daha önce yapılmış birçok çalışmada gösterilmiştir [222, 223]. Cu iyonunun toksisitesine nazaran Cu nanopartiküllerinin toksisitesine yönelik çalışmaların sayısı oldukça sınırlıdır. Di Bucchianico ve ark (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, artan konsantrasyonlarda

(0.01, 0.1, 1, 10 and 100 µg/ml) CuO NP (yuvarlak, çubuk ve iğ şekilli) maruziyetinin fare solunum yolu makrofajlarında sitotoksositeye neden olduğunu bildirmişlerdir [18]. Yuvarlak yapıdaki CuO NP'lerin 2 ve 24 saat CuO NP maruziyetinde hücre canlılığında en fazla azalmaya yuvarlak yapıdaki CuO NP'lerin neden olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada sentezlenen CuO NP'lerin yuvarlak yapıya sahip olmasının, hücrede toksisiteyi artırdığı düşünülmektedir. Nanopartiküllerin toksisitesi partiküllerin boyutu, şekli ve porlu yapısına bağlıdır [18]. Abudayyak ve ark (2016) tarafından yapılan çalışmada, CuO NP'lerin konsantrasyon artışı ile birlikte fare böbreği epitel hücrelerinin metabolik aktivitesinin azaldığı ve bu duruma bağlı olarak hücrede ölüm meydana geldiği gözlenmiştir [224]. Araştırmacılar, CuO NP'lerin neden olduğu toksisiteyi, hücre içine alındıktan sonra Cu iyonlarının serbest kalmasından kaynaklanmasına bağlamışlardır. Noreen ve Jabeen (2015), reaktif oksijen artışı ile (ROS) meydana gelen oksidatif stres ve mitokondriyal bozulma nedeniyle toksisitenin meydana geldiğini belirlemişlerdir. [221]. Sun ve ark (2011), insan damar endotel hücrelerinin CuO NP ile 12 saat maruziyetinde 10 µg/ml, 24 saat maruziyetinde ise 5 µg/ml'lik konsantrasyonun önemli derecede sitotoksositeye sebep olduğunu bildirmişlerdir [225]. Bizim bulgularımıza göre de fare kemiği kök hücrelerinin CuO nanopartikülleri ile 24 saat boyunca 5 µg/ml maruziyetinde istatistiksel olarak önemli oranda sitotoksositeye sebep olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç önceki çalışmalarla uyum içerisindedir. Sun ve ark (2011), aynı çalışmada ZnO, CuO, demir (III) oksit (Fe₂O₃), magnezyum oksit (MgO) alüminyum oksit (Al₂O₃) NP'leri arasında ZnO ve CuO nanopartiküllerinin yüksek derecede toksik etkiye sahip olduğunu kaydetmişlerdir. Yine bizim bulgularımıza benzer olarak Siddiqui ve ark (2013), insan hepatosellüler karsinoması hücre dizisinde 24 saatlik maruziyette artan CuO NP konsantrasyonu ile (2, 5, 10, 20 ve 50 µg/ml) hücre canlılığındaki azalmayı apoptozise dayandırmışlardır [226]. Daha önceki çalışmalarla nanopartiküllerin iyon formlarına göre daha az toksik etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur. Katsumiti ve ark (2015), Ag iyonlarının midye hemosit ve solungaç hücreleri üzerine Ag NP maruziyetine göre önemli derecede toksisiteye neden olduğunu belirlemiş olup bizim verimizle uyum içerisindedir [227]. Wang ve ark. (2012), insan akciğer hücreleri üzerine CuO NP'lerin toksisitesini değerlendirmişlerdir [228]. CuO nanopartiküllerinin mitokondri ve çekirdek içerisine fagositoz yoluyla alınarak toksisiteye neden olduğunu kaydetmişlerdir. CuO nanopartikülleri katyon kanalları ve hücre zarı aracılığı ile hücre içine girerek mitokondriyal hasara neden

olmaktadır. Bununla birlikte oluşan reaktif oksijen türleri çekirdekte oksidatif hasar meydana getirebilmekte ve bu durum DNA hasarına yol açabilmektedir. Ayrıca hücre içerisine giren CuO NP'ler çekirdek zarına zarar vererek yine genotoksik hasara neden olabilmektedir [228]. Yukarıdaki verilere göre CuO nanopartiküllerin 100 nm'den küçük olmaları nedeni ile hücre içerisine girerek konsantrasyon artışına neden olmuş ve oksidatif stres kaynaklı toksisite meydana getirmiş olduğu düşünülmektedir.

4.4.2 ZnO NP'nin Sitotoksik Etkisi

Zn, enzimler için kofaktör olarak rol oynaması ve nükleik asitlerin yapısına katılması gibi özellikleri ile önemli iz elementlerden olup, yüksek konsantrasyonlarda canlılarda toksisiteye neden olabilmektedir [229]. Ji ve ark (2017), *Argemone maxicana* yaprak özütü ile sentezlediği ZnO nanopartiküllerinin *Catla catla* balığı kardiyak hücre dizileri üzerine toksik etkisini değerlendirmiştir [230]. 24 saat süre sonunda konsantrasyon artışına bağlı olarak (0, 3, 6, 9, 18 ve 36 µg/ml) hücre canlılığında azalma gözlemlenmiş olup bizim bulgularımızla uyum içerisindedir. Yine bizim verilerimize benzer olarak biyolojik yöntemle sentezlenen ZnO nanopartiküllerinin Zn iyonuna göre daha düşük toksisiteye neden olduğunu kaydetmişlerdir. Ji ve ark, bu durumu nanopartikül sentezinde kullanmış olduğu bitki özütünde bulunan fonksiyonel grupların, hücre canlılığını artırmasından kaynaklandığını bildirmiştir. Yang ve ark (2008), kimyasal yöntemle sentezlenen ZnO nanopartiküllerinin fare embriyo fibroblastına karşı toksisitesini değerlendirmişler ve 24 saatlik maruziyette konsantrasyon artışına bağlı olarak hücre aktivitesinin azaldığını gözlemlenmişlerdir [231]. 20 µg/ml ZnO NP konsantrasyon uygulamasında hücre canlılığını %73.5 oranında durduğunu da belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda *M. aquatica* yaprak özütü ile sentezlenen ZnO NP'lerin fare kemiği kök hücre canlılığını 100 µg/ml konsantrasyonda 24 saat maruziyet sonunda %74.5 inhibe ettiği belirlenmiştir. Azizi ve ark (2017), *Citrullus colocynthis* bitkisinin tohum ve meyve özütü ile sentezledikleri ZnO nanopartiküllerinin fare embriyo fibroblastına karşı sitotoksik etkisini değerlendirmişlerdir [232]. 72 saatlik maruziyet sonunda ZnO partiküllerinin konsantrasyon artışına bağlı olarak hücre canlılığında azalma tespit etmişlerdir. Ancak bitkinin tohum özütünden sentezledikleri ZnO NP'lerin, meyve özütü ile sentezledikleri ZnO NP'lere kıyasla toksisitesinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Biyolojik sentezde kullanılan bitki türü ve kısımlarının, elde edilen partikülün toksik özelliğine etki ettiğine dair literatürde çalışmalara rastlanmıştır. Örneğin, Prashanth ve ark. (2015), *Punica granatum* ve *Tamarindus indica* meyve özütleri ile sentezledikleri ZnO nanopartiküllerinin kanserli göğüs hücre dizisine karşı sitotoksitesini incelemişler [233], sonuç olarak kanserli göğüs hücresinde *P. granatum* özütü ile sentezlenen ZnO NP'lerin *T. indica* özütü ile sentezlenen ZnO NP'ye göre daha toksik olduğu gözlenmiştir. Daha önceki çalışmalarda *Nyctanthes arbortristis* bitki özütü ile sentezlenen Ag NP'lerin fare fibroblast hücre dizilerine karşı 250 µg/ml'ye kadar artan konsantrasyonlarda önemli bir sitotoksik etkisinin olmadığı [234], pamuk tohumunun özütü ile sentezlenen Ag NP'lerin fare splenosit hücrelerine karşı konsantrasyon bağımlı (0-100 µg/ml) toksik etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur [235]. İnsan servikal kanser (HeLa) hücre dizisine karşı *Solanum muricatum* yaprak özütü ile sentezlenen Ag nanopartiküllerinin inhibe edici konsantrasyon değeri (IC₅₀) 37.5 µg/ml olarak belirlenirken [219], *Iresine herbstii* yaprak özütü ile sentezlenen Ag NP'nin inhibitör konsantrasyon değeri 51 µg/ml olarak belirlenmiştir [236].

ZnO nanopartiküllerinin radikal ve serbest oksijen gibi reaktif oksijen türlerini oluşturarak hücre ölümüne neden olduğu bildirilmiştir [237]. Meyer ve ark. (2011), ZnO nanopartiküllerinin insan dermal hücrelerinde apoptozise neden olduğunu bildirmişlerdir [238]. Sonuç olarak, nanopartiküllerin toksisitesi uygulandığı hücreye, sentez yöntemine, morfolojisine, konsantrasyonu ve maruziyet süresine bağlı olduğu söylenebilir. Ayrıca, biyolojik yöntemle sentezlenen partiküllerin toksik etkisi, sentezde kullanılan bitkinin türüne, maruziyet süresi ve konsantrasyonuna da bağlıdır.

4.4.3 TiO₂ NP'nin Sitotoksik Etkisi

TiO₂ kemik doku mühendisliği uygulamalarında ve kozmetik ürünlerde yaygın olarak kullanılmaktadır [4, 38]. Murugan ve ark (2016), sentezledikleri TiO₂ NP'nin insan göğüs kanseri ve normal insan göğüs epitel hücrelerine karşı toksik etkisini değerlendirmişler ve 24 saat süre sonunda artan TiO₂ NP konsantrasyonlarına bağlı olarak her iki hücre canlılığında azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir [239]. İnhibisyon konsantrasyon değerlerini kanserli hücre hattı için 60 µg/ml, normal hücre hattı için ise 80 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Chatterjee ve ark (2017), *Vigna unguiculata* tohumunun özütü ile sentezledikleri TiO₂ NP'nin 200 µg/ml konsantrasyon

uygulamasında osteosarkoma hücre dizilerinin proliferasyonunu önemli derecede inhibe ettiğini kaydetmişlerdir [240]. Araştırmacılar bitki özütü ile sentezledikleri partiküllerin antikanser amaçla kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Chellappa ve ark. (2015), kimyasal yöntemle sentezledikleri TiO₂ NP'lerin insan osteoblast hücre dizileri üzerine sitotoksitesini değerlendirerek, artan süre (24 ve 48 saat) ve konsantrasyonlarda (1, 10, 25, 50 ve 100 µg/ml) TiO₂ NP maruziyeti ile birlikte hücre canlılığında artış meydana geldiğini gözlemlemişlerdir [241]. Jin ve ark (2008), TiO₂ NP'lerin fare fibroblast hücresi üzerine toksisitesinin zaman (24 ve 48 saat) ve konsantrasyon (3, 6, 30 ve 600 µg/ml) değişimini incelemişlerdir [242]. Hücre dizisinin 600 µg/ml TiO₂ NP'ye 24 saat maruziyeti ile hücrenin canlılığında %21, 48 saat maruziyetinde ise %37 oranında azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir. Sha ve ark (2011), TiO₂ NP maruziyetinde 4 farklı hücrede canlılık aktivitesinin (insan hepatokarsinoma, normal karaciğer, fare hepatokarsinoma ve fare karaciğer) konsantrasyon ve zamana bağlı değişimini incelemişlerdir [243]. Tüm hücrelerde konsantrasyon (0.1-100 µg/ml) ve zamana (12-48 saat) bağlı olarak hücre canlılığında azalma meydana geldiğini bildirmiş olup bizim verilerimizle uyushmaktadır. Ayrıca yaptıkları çalışmada aynı konsantrasyon ve sürede TiO₂ NP maruziyetinde insan karaciğer hücre dizilerinde gözlenen canlılığının, fare karaciğer hücre canlılığından daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Sohaebuddin ve ark (2010) ise nanomateryal toksisitesine karşı fare fibroblast hücrelerinin makrofaj ve insan bronş epitel hücrelerine kıyasla daha etkili direnç gösterdiğini gözlemlemişlerdir [244]. Wang ve ark (2015), insan akciğer hücre hattının 50 µg/ml TiO₂ NP maruziyeti ile hücre canlılığının önemli derecede inhibe edildiğini kaydetmişlerdir [245]. TiO₂ NP'lerinin kristal formu da toksik özelliğine etki etmektedir. Anataz yapıda bulunan TiO₂ NP'lerin rutile yapılarına göre daha toksik özellikte olduğu bildirilmiştir [245-247]. Bu çalışmada hücrede belirlenen toksisitenin, hücrenin maruz kaldığı TiO₂ NP'lerin anataz yapıda olması ile de açıklanabilir.

4.5 CuO, ZnO ve TiO₂ NP'lerin Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi

Doğal olarak kapalı dairesel formda (Form I, süper sarmal) bulunan plazmit DNA, bir iplik üzerinde parçalanarak daha yavaş hareket eden bir yapı (Form II, gevşek) oluşturabilir. Her iki bandın kırılması ile iki form arasında hareket eden linear bir Form III yapısı oluşabilmektedir [248]. DNA ve NP birbirlerine kovalent bağla veya adsorbsiyon ile tutunabildiği bilinmektedir [249]. Duman ve ark (2016), *M. chamomilla*

çiçek özütü ile sentezledikleri CuO NP'nin 60 µg/ml'ye kadar maruziyetinde konsantrasyon artışına bağlı olarak plazmid DNA'nın (pBR322) Form I yapısında kırılmalara neden olduğunu bildirmişlerdir [98]. Bizim bulgularımıza göre de CuO NP'nin yaklaşık 22 µg/ml maruziyetine kadar Form I yapısında kırılmalara neden olduğu, ancak yüksek konsantrasyonlarda ise (43.75-350 µg/ml) DNA'nın her iki yapısının parçalandığı gözlenmiştir. Angele-Martinez ve ark (2017), CuO NP'nin plazmid DNA'sında (pBSSK) meydana getirdiği hasarın apoptosiz yoluyla sitotoksositeye neden olduğunu ve bu nedenle antimikrobiyal özelliklerinin artırılarak endüstride kullanılabileceğini önermişlerdir [250]. Jose ve ark (2011), Cu NP ve CuSO₄ iyonunun *E. coli*'den izole ettikleri DNA yapısına etkisini incelemişlerdir [251]. Yaptıkları çalışmada CuSO₄ iyonunun DNA üzerinde hasara neden olmadığını, ancak Cu NP maruziyetinin DNA yapısında hasara yol açtığını belirlemişlerdir. Cu NP'nin meydana gelen ROS ile DNA zararına yol açtığını, bu durumun sitotoksositeye neden olduğunu bildirmişlerdir. Ancak bizim bulgularımıza göre pBR322 plazmid DNA'sının yüksek konsantrasyonda CuSO₄ maruziyeti, Form II yapısının yoğunluğunun azalmasına neden olmuştur. CuO NP'nin iyon formuna göre DNA yapısına şiddetli ölçüde hasar vermesi verilerimizle uyum içersindedir.

Bulgularımıza benzer olarak Makumirea ve ark (2014), plazmid DNA'sında (pBB46) ZnO NP'nin konsantrasyon artışına bağlı olarak Form III yapısının meydana geldiğini ve DNA yapısının büyük ölçüde hasar gördüğünü bildirmişlerdir [252]. ZnO NP'ye maruz kalan hücrelerde meydana gelen DNA hasarı ROS ile ilişkilendirilmektedir [253-254]. Chowdhury ve ark (2014), *Macrophomina phaseolina* özütü ile sentezledikleri Ag NP'nin artan konsantrasyonlarda plazmid DNA (pZPY112) yapısını bozduğunu kaydetmişlerdir [255].

Elde ettiğimiz sonuçlara göre 437.5 µg/ml TiO₂ NP maruziyetine kadar plazmid DNA'sının yapısında herhangi bir değişiklik gözlenmemiş, ancak yüksek konsantrasyonlarda bozukluklara neden olduğu belirlenmiştir. Makumirea ve ark (2014), ise 125-150 µg/ml TiO₂ maruziyetinde plazmid DNA'sının (pBB46) büyük ölçüde zarar gördüğünü kaydetmişlerdir [252]. Bizim bulgularımızdan farklı olarak 125-150 µg/ml TiO₂ maruziyetinde toksisite gözlenmesinin nedeni, bitki ekstraktı ile sentezlediğimiz TiO₂ NP'in biyopolimerlerle kaplı olmasında bağlanabilir. Bizim çalışmamızda ancak 875 µg/ml maruziyetde hafif toksisite gözlenmiştir.

Yukarıdaki bilgilere göre, *M. aquatica* yaprak özütü ile sentezlediğimiz CuO ve ZnO NP konsantrasyon artışına bağlı olarak, TiO₂ NP ise yüksek konsantrasyonda plazmid DNA iplikçiğinde kırılmaya yol açmaktadır. Bu durum, artan konsantrasyonda NP maruziyetinin DNA'nın Form I yapısının bozularak Form II ve Form III yapısına dönüşmesiyle belirlenmiştir. Partiküllerin doğrudan DNA ile etkileşimiyle ve ROS üretimi ile dolaylı olarak iki yolla genetik hasara neden olabilmektedir [256]. Bazı araştırmacılar, ZnO ve CuO NP'lerinin neden olduğu toksisitenin partikülden serbest kalan Zn ve Cu iyonlarından, diğer bazı araştırmacılar ise NP'lerin doğal yapısının ROS üretiminden kaynaklandığını belirlemişlerdir [257-259]. Bizim verilerimize göre sentezlenen NP'ler pBR322 DNA'sında iyon formlarına göre daha etkili hasara neden olmuştur. Bu durum dikkate alındığında toksisitenin partiküllerin kendi yapısından kaynaklandığı sonucuna varılabilir. Nanopartiküller bulk formlarına göre boyutunun küçük ve yüzey reaktivitesinin yüksek olması nedeni ile genotoksik etki gösterdiği bilinmektedir [260]. Bu bilgi bizim öngörümüzü destekler niteliktedir.

4.6. SONUÇ ve ÖNERİLER

4.6.1 Sonuç

- CuO, ZnO ve TiO₂ NP'lerin biyolojik sentezi *M. aquatica* bitkisinin yaprak özütü ile diğer sentez yöntemlerine göre kolay, ucuz, kısa zamanda ve kimyasal ajan kullanılmadan gerçekleştirilmiştir. *M. aquatica*'nın yaprak özütünde bulunan fonksiyonel gruplar, sentez sürecinde indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak NP'lerin yapısına katılmıştır. Bitkinin yaprak özütü CuO, ZnO ve TiO₂ NP'lerin sentezi için uygun bulunmuştur.
- Nanopartiküller 100 nm'den düşük boyuta sahiptir. Sentezlenen CuO, ZnO ve TiO₂ NP'lerin ortalama boyutları sırayla 57, 74 ve 69 nm yuvarlak yapıda oldukları belirlenmiştir.
- NP'lerin yüzey yükü kararlılıkları hakkında bilgi vermektedir. CuO, ZnO ve TiO₂ NP'lerin sırayla -13.9, -13.3 ve -37.6 mV yüzey yüküne sahip oldukları tespit edilmiştir. Elde edilen verilerle CuO ve ZnO NP'nin orta, TiO₂ NP'nin iyi derecede kararlı yapıda olduğu sonucuna ulaşılmıştır.
- 500 °C'de CuO NP'nin yapısında bulunan organik madde (fonksiyonel gruplar) kaybolmaktadır. 900 °C sıcaklığa kadar CuO NP önemli derecede kütle kaybına

uğramamıştır. Kül fırınında 400 °C’de yakılarak elde edilen ZnO NP ve TiO₂ NP, 900 °C sıcaklığa kadar önemli derecede kütle kaybına uğramamıştır.

- *M. aquatica* yaprak özütü ile sentezlenen CuO, ZnO ve TiO₂ NP solüsyonu konsantrasyon artışına bağlı olarak fare kemik iliği kaynaklı mezankimal kök hücrede sitotoksositeye neden olmaktadır. 100 µg/ml Cu iyon ve CuO NP maruziyetinde ise istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır. ZnO ve TiO₂ NP’ler, fare kemiği kök hücrelerinde iyon maruziyetine göre daha hafif sitotoksik etkiye sahiptir.
- Biyolojik yöntemle sentezlenen CuO NP plazmid DNA’sını tamamen parçalamış ve iyon formundan daha etkili genotoksik hasara neden olmuştur. ZnO NP, konsantrasyon artışı ile plazmid DNA’sında kırılmalara neden olarak genotoksik hasara yol açmıştır. TiO₂ NP’nin yüksek konsantrasyonlarında plazmid DNA’sında kırılmalar meydana gelmiştir.
- Sentezlenen partiküller arasında en etkili DNA hasarına CuO NP sebep olmuştur.
- NP’lerin sitotoksik etkileri CuO NP>ZnO NP> TiO₂ NP şeklinde sıralanmıştır.
- Elde edilen her 3 nanopartikülün toksisitesi birlikte değerlendirildiğinde fare kemiği kök hücrelerine karşı toksik etkilerin farklı seviyelerde olduğu görülmektedir. Bu durum partiküllerin türü, yüzey yükü ve boyutu gibi karakteristik farklılıklarından kaynaklandığı ve sitotoksitenin oksidatif hasar kaynaklı olduğu düşünülmektedir.
- Bitki özütü ile sentezlenen nanopartiküllerin, fenolik bileşiklerle kaplı olması nedeni ile iyon formlarına göre daha düşük düzeyde hücresel toksisiteye neden olduğu anlaşılmaktadır.

4.6.2 Öneriler

- Biyolojik yöntemle sentezlediğimiz CuO, ZnO ve TiO₂ NP’lerin antimikrobiyal, antikanser, antifungal ve fotokatalitik özellikleri incelenmelidir. Bu özelliklerin yanında kozmetik, gübre, sensör ve diş macunu gibi malzemelerin yapımı için uygunluğu araştırılarak endüstride kullanılabilirliği test edilmelidir.
- Yapılan literatür çalışmasında biyolojik yöntemle sentezlenen NP’lerin toksisite deneylerinin oldukça sınırlı olduğu görülmüştür. Çevre ve insan sağlığı için

önemli olan bu konu üzerinde gereken hassasiyet gösterilerek, NP'lerin toksisiteleri farklı dokular, hücre dizileri ve genetik materyaller için değerlendirilmelidir.

- Metal NP'lerin fiziksel özellikleri; metal tuzu, bitki özütü, konsantrasyonu ve reaksiyon süresi gibi faktörlerle kontrol edilebilmektedir. Bu faktörler test edilerek sentezlenen NP'lerin özelliklerindeki değişimler incelenmelidir.
- *M. aquatica* yaprak özütünün indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak kullanılabileceği, bu çalışmada gösterilmiştir. *M. aquatica* özütü diğer nanomalzeme ve alaşım üretimlerinde değerlendirilebilir.
- Aynı bitkinin kısımları farklı konsantrasyon ve çeşitte fonksiyonel gruplara sahiptir. Bu fonksiyonel grupların NP sentezinde önemli rol oynaması nedeni ile *M. aquatica* bitkisinin gövde ve çiçek kısımlarının metal NP sentezi için uygunluğu araştırılmalıdır.
- Metal NP'lerin bitki özütleri ile sentezi kolay, ucuz ve güvenilir olması gibi avantajlara sahiptir. Dolayısıyla sentez sürecinde bitkisel atıkların (meyve ve bitki kabuğu gibi) kullanılması, atık değerlendirilmesi bakımından üzerinde durulması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Mittal, A.K., Chisti, Y., Banerjee, U.C., 2013. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. **Biotechnology Advances**, **31** (2): 346–356.
- 2- Gunalan, S., Sivaraj, R., Rajendran, V., 2012. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. **Progress in Natural Science: Materials International**, **22** (6): 693-700.
- 3- Gunalan, S., Sivaraj, R., Rajendran, V., 2011. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *Aloe barbadensis miller* leaf extract: Structure and optical properties. **Materials Research Bulletin**, **46** (12): 2560-2566.
- 4- Jamuna, K.S., Banu, S., Brindha, P., Kurian, G.A., 2014. Nano-scale preparation of Titanium dioxide by *Desmodium gangeticum* root aqueous extract. **Ceramics International**, **40** (8): 11933-11940.
- 5- Naika, H.R., Lingaraju, K., Manjunath, K., Kumar, D., Nagaraju, G., Suresh, D., Nagabhushana, H., 2015. Green synthesis of CuO nanoparticles using *Gloriosa superba* L. extract and their antibacterial activity. **Journal of Taibah University for Science**, **9** (1): 7-12.
- 6- Sundrarajan, M., Gowri, S., 2011. Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles by *Nyctanthes arbor-tristis* leaves extract. **Chalcogenide Letters**, **8** (8): 447-451.
- 7- Shivaji, S., Madhu, S., Singh, S., 2011. Extracellular synthesis of antibacterial silver nanoparticles using psychrophilic bacteria. **Process Biochemistry**, **46** (9): 1800–1807.
- 8- El-Rafie, H.M., El-Rafie, M.H., Zahran, M.K., 2013. Green synthesis of silver nanoparticles using polysaccharides extracted from marine macro algae. **Carbohydrate Polymers**, **96** (2): 403– 410.
- 9- Das, S.K., Shome, I., Guha, A.K., 2012. Surface functionalization of *Aspergillus versicolor* mycelia: in situ fabrication of cadmium sulphide nanoparticles and removal of cadmium ions from aqueous solution. **Royal Society of Chemistry Advances**, **2**: 3000–3007.
- 10- Shankar, S.S., Ahmad, A., Pasricha, R., Sastry, M., 2003. Bioreduction of chloroaurate ions by geranium leaves and its endophytic fungus yields gold

- nanoparticles of different shapes. **Journal of Materials Chemistry**, **13**: 1822–1826.
- 11- Elia, P., Zach, R., Hazan, S., Kolusheva, S., Porat, Z., Zeiri, Y., 2014. Green synthesis of gold nanoparticles using plant extracts as reducing agents. **International Journal of Nanomedicine**, **9**: 4007–4021.
 - 12- Raut, R.W., Mendhulkar, V.D., Kashid, S.B., 2014. Photosensitized synthesis of silver nanoparticles using *Withania somnifera* leaf powder and silver nitrate. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, **132** (5): 45–55.
 - 13- Makarov, V.V., Love, A.J., Sinitsyna, O.V., Makarova, A.S., Yaminsky, I.V., Taliansky, M.E., Kalinina, N.O., 2014. “Green” nanotechnologies: Synthesis of metal nanoparticles using plants. **Acta Nature**, **6** (1): 34–44.
 - 14- Ajitha, B., Reddy, Y.A.K., Reddy, P.S., 2015. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Momordica charantia* leaf broth: Evaluation of their innate antimicrobial and catalytic activities. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, **146**:1–9.
 - 15- Shah, M., Fawcett, D., Sharma S., Tripathy, S.K., Poinern, G.E.J., 2015. Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. **Materials**, **8** (11): 7278–7308.
 - 16- Singh, N., Manshian, B., Jenkins, G.J.S., Griffiths, S.M., Williams, P.M., Maffeis, T.G., Wright, C.J., Doak, S.H., 2009. NanoGenotoxicology: The DNA damaging potential of engineered nanomaterials. **Biomaterials**, **30**: 3891–3914.
 - 17- Magdolenova, Z., Collins, A., Kumar, A., Dhawan, A., Stone, V., Dusinska, M., 2014. Mechanisms of genotoxicity. A review of in vitro and in vivo studies with engineered nanoparticles. **Nanotoxicology**, **8** (3): 233–278.
 - 18- Di Bucchianico, S., Fabbri, M.R., Misra, S.K., Valsami-Jones, E., Berhanu, D., Reip, P., Bergamaschi, E., Migliore, L., 2013. Multiple cytotoxic and genotoxic effects induced in vitro by differently shaped copper oxide nanomaterials. **Mutagenesis**, **28** (3): 287–299.
 - 19- Fard, J.K., Jafari, S., Eghbal, M.A., 2015. A Review of molecular mechanisms involved in toxicity of nanoparticles. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, **5** (4): 447–454.

- 20- Ghaedi, M., Yousefinejad, M., Safarpour M., Zare Khafri, H., Purkait M.K., 2015. *Rosmarinus officinalis* leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles and investigation of its antimicrobial properties. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, **31**: 167-172.
- 21- Sharma, V.K., Yngard, R.A., Lin, Y., 2009. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. **Advances in Colloid and Interface Science**, **145**: 83-96.
- 22- Sankar, R., Manikandan, P., Malarvizhi, V., Fathima, T., Shivashangari, K.S., Ravikumar, V., 2014. Green synthesis of colloidal copper oxide nanoparticles using *Carica papaya* and its application in photocatalytic dye degradation. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **121**: 746-750.
- 23- Mottaghitlab, F., Farokhi, M., Shokrgozar, M.A., Atyabi, F., Hosseinkhani, H., 2015. Silk fibroin nanoparticle as a novel drug delivery system. **Journal of Controlled Release**, **206**: 161-176.
- 24- Sabir, S., Arshad, M., Chaudhari, S.K., 2014. Zinc oxide nanoparticles for revolutionizing agriculture: Synthesis and applications. **The Scientific World Journal**, 2014:1-8.
- 25- Shamsuzzaman, Mashrai, A., Khanam, H., Aljawfi, R.N., 2017. Biological synthesis of ZnO nanoparticles using *C. albicans* and studying their catalytic performance in the synthesis of steroidal pyrazolines. **Arabian Journal of Chemistry**, 10 (2): 1530-1536.
- 26- Bhatte, K.D., Sawant, D.N., Pinjari, D.V., Pandit, A.B., Bhanage, B.M., 2012. One pot green synthesis of nano sized zinc oxide by sonochemical method. **Materials Letters**, 77: 93-95
- 27- Rajiv, P., Rajeshwari, S., Vencatesh, R., 2013. Bio-Fabrication of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *Parthenium hysterophorus* L. and its size-dependent antifungal activity against plant fungal pathogens. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 112: 384-387.
- 28- Fu, L., Fu, Z., 2015. *Plectranthus amboinicus* leaf extract-assisted biosynthesis of ZnO nanoparticles and their photocatalytic activity. **Ceramics International**, 41 (2): 2492-2496.

- 29- Thema, F.T., Manikandan, E., Dhlamini, M.S., Maaza, M., 2015. Green synthesis of ZnO nanoparticles via *Agathosma betulina* natural extract. **Materials Letters**, 161: 124-127.
- 30- Sankar, R., Maheswari, R., Karthik, S., Shivashangari, K.S., Ravikumar, V., 2014. Anticancer activity of *Ficus religiosa* engineered copper oxide nanoparticles. **Materials Science and Engineering C**, 44: 234-239.
- 31- Zhang, Q., Zhang, K., Xu, D., Yang, G., Huang, H., Nie, F., Liu, C., Yang, S., 2014. CuO nanostructures: Synthesis, characterization, growth mechanisms, fundamental properties, and applications. **Progress in Materials Science**, 60: 208-337.
- 32- Sivaraj, R., Rahman, P.K.S.M, Rajiv, P., Narendhran, S., Venckatesh, R., 2014. Biosynthesis and characterization of *Acalypha indica* mediated copper oxide nanoparticles and evaluation of its antimicrobial and anticancer activity. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 129: 255-258.
- 33- Honary, S., Barabadi, H., Fathabad, E.G., Naghibi, F., 2012. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium citrinum* and *Penicillium waksmanii*. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, 7 (3) : 999 – 1005.
- 34- Salam, H.A., Sivaraj, R., 2014. *Ocimum basilicum* L. var. *purpurascens* Benth.-Lamiaceae mediated green synthesis and characterization of titanium dioxide nanoparticles. **Advances in Bioresearch**, 5 (3) :10-16.
- 35- Acosta-Torres, L.S., Nuñez-Anita, R.E., Vanegas-Lancón, R.D., de la Fuente, J., López-Marín, L.M., Castaño, V.M., 2013. Nanoengineering of dental materials: Applications to prosthetics. **Recent Patents on Nanomedicine**, 3 (1): 2-8.
- 36- Jha, A.K., Prasad, K., Kulkarni, A.R., 2009. Synthesis of TiO₂ nanoparticles using microorganisms. **Colloids and Surface B: Biointerfaces**, 71 (2): 226-229.
- 37- Bagheri, S., Ramimoghadam, D., Yousefii, A.T., Hamid, S.B.E., 2015. Synthesis, characterization and electrocatalytic activity of silver doped-titanium dioxide nanoparticles. **International Journal of Electrochemical Science**, 10: 3088-3097.

- 38- Malarkodi, C., Chitra, K., Rajeshkumar, S., Gnanajobitha, G., Paulkumar, K., Vanaja, M., Annadurai, G., 2013. Novel eco-friendly synthesis of titanium oxide nanoparticles by using *Planomicrobium* sp. and its antimicrobial evaluation. **Pelagia Researc Library**, **4** (3): 59-66.
- 39- Mbonyiryivuze, A., Zongo, S., Diallo, A., Bertrand, S., Minani, E., Yadav, L.L., Mwakikunga, B., Dhlamini, S.M., Maaza, M., 2015. Titanium dioxide nanoparticles biosynthesis for dye sensitized solar cells application: Review. **Physics and Materials Chemistry**, **3** (1): 12-17.
- 40- Valli, Dr.G., Geetha, S., 2015. A green method for the synthesis of titanium dioxide using *Cassia auriculata* leaves extract. **European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**. **2** (3): 490-497.
- 41- Roopan, S.M., Bharathi, A., Prabhakarn, A., Rahuman, A. A., Velayutham, K., Rajakumar, G., Padmaja, R.D., Lekshmi, M., Madhumitha, G., 2012. Efficient phyto-synthesis and structural characterization of rutile TiO₂ nanoparticles using *Annona squamosa* peel extract. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **98**: 86-90.
- 42- Sankar, R., Rizwana, K., Shivashangari, K.S., Ravikumar, V., 2015. Ultra-rapid photocatalytic activity of *Azadirachta indica* engineered colloidal titanium dioxide nanoparticles. **Applied Nanoscience**, **5** (6): 731–736.
- 43- Santhoshkumar, S., Rahuman, A.A., Jayaseelan, C., Rajakumar, G., Marimuthu, S., Kirthi, A.V., Velayutham, K., Thomas, J., Venkatesan, J., Kim, S.K., 2014. Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles using *Psidium guajava* extract and its antibacterial and antioxidant properties. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, **7** (12): 968-976.
- 44- Karthik, A.D., Geetha, K., 2013. Synthesis of copper precursor, copper and its oxide nanoparticles by green chemical reduction method and its antimicrobial activity. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, **3** (5): 16-21.
- 45- Sathiya, C.K., Akilandeswari, S., 2014. Fabrication and characterization of silver nanoparticles using *Delonix elata* leaf broth. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **128**: 337–341.
- 46- Shende, S., Ingle, A.P., Gade, A., Rai, M., 2015. Green synthesis of copper nanoparticles by *Citrus medica* Linn. (Idilimbu) juice and its antimicrobial

- activity. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, **31** (6): 865–873.
- 47- Yuvakkumar, R., Suresh, J., Nathanael, A.J., Sundrarajan, M., Hong, S.I., 2014. Novel green synthetic strategy to prepare ZnO nanocrystals using rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract and its antibacterial applications. **Materials Science and Engineering C** **41**: 17–27.
- 48- Khan, M.N., Khan, T.A., Khan, Z., Al-Thabaiti, S.A., 2015. Green synthesis of biogenic silver nanomaterials using *Raphanus sativus* extract, effects of stabilizers on the morphology, and their antimicrobial activities. **Bioprocess Biosys Eng.** **38** (12): 2397-2416.
- 49- Kharissova, O.V., Dias, H.V.R., Kharisov, B.I., Perez, B.O., Perez, V.M.J., 2013. The greener synthesis of nanoparticles. **Trends in Biotechnology**, **31** (4): 240-248.
- 50- Quester, K., Avalos-Borja, M., Castro-Longoria, E., 2013. Biosynthesis and microscopic study of metallic nanoparticles. **Micron**, **54-55**: 1-27.
- 51- Harshiny, M., Iswarya, C.N., Matheswaran, M., 2015. Biogenic synthesis of iron nanoparticles using *Amaranthus dubius* leaf extract as a reducing agent. **Powder Technology**. **286**:744-749.
- 52- Fenfen, L., Yixian, G., Jiale, H., Daohua, S., Qingbiao, L., 2014. Roles of biomolecules in the biosynthesis of silver nanoparticles: case of *Gardenia jasminoides* Extract. **Biotechnology and Bioengineering**, **22** (6): 706-712.
- 53- Nagarajan, S., Kuppusamy, K.A., 2013. Extracellular synthesis of zinc oxide nanoparticle using seaweeds of gulf of Mannar, India. **Journal of Nanobiotechnology**, **11**: 39-49.
- 54- Pourmortazavi, S.M., Taghdiri, M., Makari, V., Rahimi-Nasrabadi, M., 2015. Procedure optimization for green synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Eucalyptus oleosa*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **136**: 1249–1254.
- 55- Ibrahim, H.M.M., 2015. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, **8** (3): 265-275.

- 56- Babitha, S., Korrapati, P.S., 2013. Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles using a probiotic from coal fly ash effluent. **Materials Research Bulletin** **48** (11): 4738–4742.
- 57- Sinha, A., Khare, S.K., 2011. Mercury bioaccumulation and simultaneous nanoparticle synthesis by *Enterobacter sp.* cells. **Bioresource Technology** **102** (5): 4281–4284.
- 58- Jha, A.K., Prasad, K., 2010. Biosynthesis of metal and oxide nanoparticles using *Lactobacilli* from yoghurt and probiotic spore tablets. **Biotechnology Journal**, **5**: 285–291.
- 59- Juibari, M.M., Abbasalizadeh, S., Jouzani, G.S., Noruzi, M., 2011. Intensified biosynthesis of silver nanoparticles using a native extremophilic *Ureibacillus thermosphaericus* strain. **Materials Letters**, **65** (6): 1014–1017.
- 60- Rajasree, S.R.R., Suman, T.Y., 2012. Extracellular biosynthesis of gold nanoparticles using a gram negative bacterium *Pseudomonas fluorescens*. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, **2**: 796-799.
- 61- Padman, A.J., Henderson, J., Hodgson, S., Rahman, P.K.S.M., 2014. Biomediated synthesis of silver nanoparticles using *Exiguobacterium mexicanum*. **Biotechnology Letters**, **36** (10): 2079–2084.
- 62- Hulkoti, N.I., Taranath, T.C., 2014. Biosynthesis of nanoparticles using microbes- A review. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, **121** (1): 474–483
- 63- Mahdavi, M., Namvar, F., Ahmad, M.B., Mohamad, R., 2013. Green biosynthesis and characterization of magnetic iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles using seaweed (*Sargassum muticum*) aqueous extract. **Molecules**, **18** (5): 5954-5964.
- 64- Jena, J., Pradhan, N., Nayak, R.R., Dash, B.P., Sukla, L.B., Panda, P.K., Mishra, B.K., 2014. Microalga *Scenedesmus sp.*: A Potential low-cost green machine for silver nanoparticle synthesis. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, **24** (4): 522–533
- 65- Castro, L., Blázquez, M.L., Muñoz, J.A., González, F., Ballester, A., 2013. Biological synthesis of metallic nanoparticles using algae. **IET Nanobiotechnology**, **7**: 109–116.
- 66- Prasad, T.N.V.K.V., Kambala, V.S.R., Naidu, R., 2013. Phyconanotechnology: synthesis of silver nanoparticles using brown marine algae *Cystophora*

- moniliformis* and their characterisation. **Journal of Applied Phycology**, **25** (1): 177–182.
- 67- Baskar, G., Chandhuru, J., Fahad, K.S., Praveen, A.S., 2013. Mycological synthesis, characterization and antifungal activity of zinc oxide nanoparticles. **Asian Journal of Pharmacy and Technology**, **3** (4): 142-146.
- 68- Arun, G., Eyini, M., Gunasekaran, P., 2014. Green Synthesis of silver nanoparticles using the mushroom fungus *Schizophyllum commune* and its biomedical applications. **Biotechnology and Bioprocess Engineering** **19** (6): 1083-1090.
- 69- Schaffie, M., Hosseini, M.R., 2014. Biological process for synthesis of semiconductor copper sulfide nanoparticle from mine wastewaters. **Journal of Environmental Chemical Engineering** **2** (1): 386–391.
- 70- Mittal, A.K., Bhaumik, J., Kumar, S., Banerjee, U.C., 2014. Biosynthesis of silver nanoparticles: Elucidation of prospective mechanism and therapeutic potential. **Journal of Colloid and Interface Science**, **415**: 39–47.
- 71- Rajaram, K., Aiswarya, D.C., Sureshkumar, P., 2015. Green synthesis of silver nanoparticle using *Tephrosia tinctoria* and its antidiabetic activity. **Materials Letters**, **138** (1): 251–254.
- 72- Gannamani, R., Perumal, A., Krishna, S.B., vd. 2014. Synthesis and antibacterial activity of silver and gold nanoparticles produced using aqueous seed extract of *Protorhus longifolia* as a reducing agent. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, **9**: 1669-1679.
- 73- Kathiravan, V., Ravi, S., Ashokkumar, S., 2014. Synthesis of silver nanoparticles from *Melia dubia* leaf extract and their in vitro anticancer activity. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **130** (15): 116–121.
- 74- Bar, H., Bhui, D.K., Sahoo, G.P., Sarkar, P., Pyne, S., Misra, A., 2009. Green synthesis of silver nanoparticles using seed extract of *Jatropha curcas*. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, **348** (1-3): 212–216.
- 75- Parikh, R.Y., Singh, S., Prasad, B.L.V., Patole, M.S., Sastry, M., Shouche, Y.S., 2008. Extracellular synthesis of crystalline silver nanoparticles and molecular evidence of silver resistance from *Morganella sp.*: Towards understanding biochemical synthesis mechanism. **ChemBioChem**, **9**: (9) 1415-1422.

- 76- Sweeney, R.Y., Mao, C., Gao, .X, Burt, J.L., Belcher. A.M., Georgiou, G., . Iverson, B., 2004. Bacterial biosynthesis of cadmium sulfide nanocrystals. **Chemistry Biology**, **11** (11):1553-9.
- 77- Ahmad, A., Senapati, S., Khan, M.I., Ramani, R., Srinivas, V., Sastry, M., 2003. Intracellular synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant actinomycete, *Rhodococcus species*. **Nanotechnology**, **14** (7): 824-8.
- 78- Mewada, A., Oza, G., Pandey, S., Sharon, M., 2012. Extracellular synthesis of gold nanoparticles using *Pseudomonas denitrificans* and comprehending its stability. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, **2** (4): 493-499.
- 79- Malarkodi, C., Rajeshkumar, S., Paulkumar, K., Gnanajobitha, G., Vanaja, M., Annadurai, G., 2013. Bacterial synthesis of silver nanoparticles by using optimized biomass growth of *Bacillus* sp. **Nanoscience and Nanotechnology: An International Journal**, **3** (2): 26-32.
- 80- Das, V.L., Thomas, R., Varghese, R.T., Soniya, E.V., Mathew, J., Radhakrishnan, E.K., 2014. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by the *Bacillus strain* CS 11 isolated from industrialized area. **3. Biotech**, **4** (2): 121–126.
- 81- Jayaseelan, C., Rahuman, A.A., Kirthi, A.V., Marimuthu, S., Santhoshkumar, T., Bagavan, A., Gaurav, K., Karthik, L., Bhaskara Raob, K.V., 2012. Novel microbial route to synthesize ZnO nanoparticles using *Aeromonas hydrophila* and their activity against pathogenic bacteria and fungi. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **90**: 78–84.
- 82- Ashajyothi, C., Jahanara, K., Chandrakanth, R.K., 2014. Biosynthesis and characterization of copper nanoparticles from *Enterococcus faecalis*. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, **5** (4): 204 – 211.
- 83- Kirthi, A.V., Rahuman, A.A., Rajakumar, G., Marimuthu, S., Santhoshkumar, T., Jayaseelan, T., Elango, G., Zahir, A.A., Kamaraj, C., Bagavan, A., 2011. Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles using bacterium *Bacillus subtilis*. **Materials Letters**, **65** (17-18): 2745–2747.
- 84- Singaravelu, G., Arockiamary, J., Ganesh, K., Govindaraju, K., 2007. A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. **Colloids Surf B Biointerfaces**, **57**: 97-101.

- 85- Azizi, S., Namvar, F., Mahdavi, M., Ahmad, M.B., Mohamad, R., 2013. Biosynthesis of silver nanoparticles using brown marine macroalga, *Sargassum muticum* aqueous extract. **Materials**, **6** (12): 5942-5950.
- 86- Azizi, S., Ahmad, M.B., Namvar, F., Mohamad, R., 2014. Green biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using brown marine macroalga *Sargassum muticum* aqueous extract. **Materials Letters**: **116**: 275-277.
- 87- Kathiraven, T., Sundaramanickam, A., Shanmugam, N., Balasubramanian, T., 2015. Green synthesis of silver nanoparticles using marine algae *Caulerpa racemosa* and their antibacterial activity against some human pathogens. **Applied Nanoscience**, **5** (4): 499–504.
- 88- Rajeshkumar, S., Malarkodi, C., Gnanajobitha, G., Paulkumar, G., Vanaja, M., Kannan, C., Annadurai, G., 2013. Seaweed-mediated synthesis of gold nanoparticles using *Turbinaria conoides* and its characterization. **Journal Of Nanostructure in Chemistry**, **3**: 1-7.
- 89- Mukherjee, P., Ahmad, A., Mandal, D., Senapati, S., Sainkar, S.R., Khan, M.I., Parishcha, R., Ajaykumar, P.V., Alam, M., Kumar, R., 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.
- 90- Bhainsa, K.C., D'Souza S.F., 2006. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticle using the fungus *Aspergillus fumigatus*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, **47** (2):160-164.
- 91- Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Ahmad, A., Khan, M.I., Kumar, R., Sastry, M., 2002. Extracellular synthesis of gold nanoparticles by the fungus *Fusarium oxysporum*. **ChemBioChem**, **3** (5): 461-463.
- 92- Ahmad, A., Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Khan, M.I., Kumar, R., Sastry, M., 2003. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, **28** (4): 313-318.
- 93- Raliya, R., Tarafdar, J.C., 2013. ZnO nanoparticle biosynthesis and its effect on phosphorous-mobilizing enzyme secretion and gum contents in clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). **Agricultural Research**, **2** (1): 48–57.

- 94- Rajakumar, G., Rahuman, A.A., Roopan, S.M., Khanna, V.G., Elango, G., Kamaraj, C., Zahir, A.A., Velaytuman, K., 2012. Fungus-mediated biosynthesis and characterization of TiO₂ nanoparticles and their activity against pathogenic bacteria. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **91**: 23-29.
- 95- Mie, R., Samsudin, M.W., Din, L.B., Ahmad, A., Ibrahim, N., Adnan, S.N.A., 2013. Synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activity using the lichen *Parmotrema praesorediosum*. **International Journal of Nanomedicine** **9**: 121-127.
- 96- Din, L.B., Samsudin, M.W., Ahmad, A., Ibrahim, N., 2015. Biomimetic synthesis of silver nanoparticles using the lichen *Ramalina dumeticola* and the antibacterial activity. **Malaysian Journal of Analytical Sciences** **19** (2): 369 – 376.
- 97- Yıldız, N., Ateş, C., Yılmaz, M., Demir, D., Yıldız, A., Çalımlı, A., 2014. Investigation of lichen based green synthesis of silver nanoparticles with response surface methodology. **Green Processing and Synthesis**, **3**: 259–270.
- 98- Duman, F., Ocsoy, I., Ozturk, F., 2016. Chamomile flower extract-directed CuO nanoparticle formation for its antioxidant and DNA cleavage properties. **Materials Science and Engineering C** **60**: 333–338.
- 99- Nagajyothi, P.C., Minh An, T.N., Sreekanth, T.V.M., Lee, J., Lee, D.J., Lee, K.D., 2013. Green route biosynthesis: Characterization and catalytic activity of ZnO nanoparticles. **Material Letters**, **108**: 160-163.
- 100- Salam, H.A., Sivaraj, R., Venckatesh, R., 2014. Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles from *Ocimum basilicum* L. var. *purpurascens* Benth. Lamiaceae leaf extract. **Materials Letters**, **131**: 16-18.
- 101- Saxena, A., Tripathi, R.M., Zafar, F., 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.
- 102- Nagajyothi, P.C., Sreekanth, T.V.M., Tettey, C.O., Jun, Y.I., Mook, S.H., 2014. Characterization, antibacterial, antioxidant, and cytotoxic activities of ZnO nanoparticles using *Coptidis rhizoma*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters** **24** (17): 4298–4303.

- 103- Rajakumar, G., Rahuman, A.A., Priyamvada, B., Khanna, V.G., Kumar, D.K., Sujin, P.J., 2012. *Eclipta prostrata* leaf aqueous extract mediated synthesis of titanium dioxide nanoparticles. **Material Letters**, **68**: 115-117.
- 104- Krishnasamy, A., Sundaresan, M., Velan, P., 2015. Rapid phytosynthesis of nano-sized titanium using leaf extract of *Azadirachta indica*. **International Journal of ChemTech Research**, **8** (4): 2047-2052.
- 105- Emeka, E.E., Ojiefoh, O.C., Aleruchi, C., Hassan, L.A., Christiana, O.M., Rebecca, M., Dare, E.O., Temitope, A.E., 2014. Evaluation of antibacterial activities of silver nanoparticles green-synthesized using pineapple leaf (*Ananas comosus*). **Micron**, **57**: 1–5.
- 106- Suresh, D., Shobharania, RM., Nethravathi, PC., Pavan Kumar, MA., Nagabhushana, H., Sharma, S.C., 2015. *Artocarpus gomezianus* aided green synthesis of ZnO nanoparticles: Luminescence, photocatalytic and antioxidant properties. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. **141**: 128-134.
- 107- Elumalai, K., Velmurugan, S., Ravi, S., Kathiravan, V., Ashokkumar, S., 2015. Facile, eco-friendly and template free photosynthesis of cauliflower like ZnO nanoparticles using leaf extract of *Tamarindus indica* (L.) and its biological evolution of antibacterial and antifungal activities. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **136**: 1052–1057.
- 108- Senthilkumar, A.R., Sivakumar, T., 2014. Green tea (*Camellia sinensis*) mediated synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles and studies on their antimicrobial activities. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, **6** (6):461-465.
- 109- Ramesh, M., Anbuvarnan, M., Viruthagiri, G., 2015. Green synthesis of ZnO nanoparticles using *Solanum nigrum* leaf extract and their antibacterial activity. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **136**: 864-870.
- 110- Senthil, M., Ramesh, C., 2012. Biogenic synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles using *Tridax procumbens* leaf extract and its antibacterial activity on *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Nanomaterials and Biostructures**, **7** (3): 1655-1660.
- 111- Daniel, S.C.G.K., Vinothini, G., Subramanian, N., Nehru, K., Sivakumar, M., 2013. Biosynthesis of Cu, ZVI, and Ag nanoparticles using *Dodonaea viscosa*

- extract for antibacterial activity against human pathogens. **Journal of Nanoparticles Research**, **15**: 1–10.
- 112- Hudlikar, M., Joglekar, S., Dhaygude, M., Kodam, K., 2012. Green synthesis of TiO₂ nanoparticles by using aqueous extract of *Jatropha curcas* L. latex. **Materials Letters**, **75**: 196-199.
- 113- Sivaraj, R., Rahman, P.K.S.M., Rajiv, P., Salam. H.A., Venckatesh, R., 2014. Biogenic copper oxide nanoparticles synthesis using *Tabernaemontana divaricate* leaf extract and its antibacterial activity against urinary tract pathogen. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **133** (10): 178-181.
- 114- Saware, K., Venkataraman, A., 2014. Biosynthesis and characterization of stable silver nanoparticles using *Ficus religiosa* leaf extract: A mechanism perspective. **Journal of Cluster Science**, **25** (4): 1157–1171.
- 115- Ganaie, S.U., Abbasi, T., Abbasi, S.A., 2015. Green synthesis of silver nanoparticles using an otherwise worthless weed mimosa (*Mimosa pudica*): feasibility and process development toward shape/size control. **Particulate Science and Technology**, **33**: 638-644.
- 116- Thirumurugan, A., Aswitha, P., Kiruthika, C., Nagarajan, S., Christy, A.N., 2016. Green synthesis of platinum nanoparticles using *Azadirachta indica* - An eco-friendly approach. **Materials Letters**, **170**: 175–178.
- 117- Udayabhanu, Nethravathi, P.C., Kumar, M.A.P., Suresh, D., Lingaraju, K., Rajanaika, H., Nagabhushana, H., Sharma, S.C., 2015. *Tinospora cordifolia* mediated facile green synthesis of cupricoxide nanoparticles and their photocatalytic, antioxidant and antibacterial properties. **Materials Science in Semiconductor Processing**, **33**: 81-88.
- 118- Miri, A., Sarani, M., Bazaz, M.R., Darroudi, M., 2015. Plant-mediated biosynthesis of silver nanoparticles using *Prosopis farcta* extract and its antibacterial properties. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **141**: 287-291.
- 119- Joseph, S., Mathew, B., 2015. Microwave assisted facile green synthesis of silver and gold nanocatalysts using the leaf extract of *Aerva lanata*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **136**: 1371-1379.

- 120- Rajathi, F.A.A., Arumugam, R., Saravanan, S., Anantharaman, P., 2014. Phytofabrication of gold nanoparticles assisted by leaves of *Suaeda monoica* and its free radical scavenging property. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology** **135**: 75-80.
- 121- Sadeghi, B., Gholamhoseinpoor, F., 2015. A study on the stability and green synthesis of silver nanoparticles using *Ziziphora tenuior* (Zt) extract at room temperature. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **134**: 310-315.
- 122- Baharara, J., Namvar, F., Ramezani, T., Mousavi, M., Mohamad, R., 2015. Silver nanoparticles biosynthesized using *Achillea biebersteinii* flower extract: apoptosis induction in MCF-7 cells via caspase activation and regulation of bax and Bcl-2 gene expression. **Molecules**, **20** (2): 2693-2706.
- 123- Sathishkumar, M., Sneha, K., Yun, Y.S., 2013. Green fabrication of zirconia nano-chains using novel *Curcuma longa* tuber extract. **Materials Letters**, **98**: 242–245.
- 124- Adkamwar, B., 2010. Biosynthesis of gold nanoparticles (Green-Gold) using leaf extract of *Terminalia catappa*. **E-Journal of Chemistry**, **7** (4): 1334-1339.
- 125- Maensiri, S., Laokul, P., Klinawong, J., Phokha, S., Promarak, V., Seraphin, S., 2008. Indium oxide (In₂O₃) nanoparticles using *Aloe vera* plant extract: Synthesis and optical properties. **Optoelectronics and Advanced Materials-Rapid Communications**, **10** (3): 161-165.
- 126- Gopinath, K., Venkatesh, K.S., Ilango, R., Sankaranarayanan, K., Arumugam, A., 2013. Green synthesis of gold nanoparticles from leaf extract of *Terminalia arjuna*, for the enhanced mitotic cell division and pollen germination activity. **Industrial Crops and Products**, **50**: 737-742.
- 127- Bala, N., Saha, S., Chakraborty, M., Maiti, M., Das, S., Basu, R., Nandy, P., 2015. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Hibiscus subdariffa* leaf extract: effect of temperature on synthesis, anti-bacterial activity and anti-diabetic activity. **RSC Advances** **5**: 4993–5003.
- 128- Joglekar, S., Kodam, K., Dhaygude, M., Hudlikar, M., 2011. Novel route for rapid biosynthesis of lead nanoparticles using aqueous extract of *Jatropha curcas* L. latex. **Materials Letters**, **65** (19-20): 3170–3172.

- 129- Song, J.Y., Kwon, E.Y., Kim, B.S., 2010. Biological synthesis of platinum nanoparticles using *Diopyros kaki* leaf extract. **Bioprocess Biosyst Eng** **33**: 159–164.
- 130- Kushwaha, H.B., Malik, C.P., 2012. Nanofabrication of silver nanoparticles from the stem and leaf extract of *Verbesina encelioides*. **National Academy Science Letters**, **35** (6): 555–563.
- 131- Sathishkumar, M., Pavagadhi, S., Mahadevan, A., Balasubramanian, R., 2015. Biosynthesis of gold nanoparticles and related cytotoxicity evaluation using A549 cells. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, **114**: 232–240.
- 132- Kaviya, S., Santhanalakshmi, J., Viswanathan, B., 2012. Biosynthesis of silver nano-flakes by *Crossandra infundibuliformis* leaf extract. **Materials Letters**, **67** (1): 64–66.
- 133- Velayutham, K., Rahuman, A.A., Rajakumar, G., Santhoshkumar, T., Marimuthu, S., Jayaseelan, C., Bagavan, A., Kirthi, A.V., Kamaraj, C., Zahir, A.A., Elango, G., 2012. Evaluation of *Catharanthus roseus* leaf extract-mediated biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles against *Hippobosca maculata* and *Bovicola ovis*. **Parasitology Research**, **111** (6): 2329-2337.
- 134- Islam, N.U., Jalil, K., Shahid, M., Rauf, A., Muhammad, N., Khan, A., Shah, M.R., Khan, M.A., 2015. Green synthesis and biological activities of gold nanoparticles functionalized with *Salix alba*. **Arabian Journal of Chemistry**, Baskıda.
- 135- Suman, T.Y., Rajasree, S.R.R., Ramkumar, R., Rajthilak, C., Perumal, P., 2014. The green synthesis of gold nanoparticles using an aqueous root extract of *Morinda citrifolia* L. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy** **118**: 11–16.
- 136- Saranyaadevi, K., Subha, V., Ravindran, R.S.E., Renganathan, S., 2014. Synthesis and characterization of copper nanoparticle using *Capparis zeylanica* leaf extract. **International Journal of ChemTech Research**, **6** (10): 4533-4541.
- 137- Mariselvam, R., Ranjitsingh, A.J.A., Padmalatha, C., Selvakumar, P.M., 2014. Green synthesis of copper quantum dots using *Rubia cordifolia* plant root extracts and its antibacterial properties. **Journal of Academia and Industrial Research**, **3**: 191-194.

- 138- Nayak, D., Ashe, S., Rauta, P.R., Kumari, M., Nayak, B., 2016. Bark extract mediated green synthesis of silver nanoparticles: Evaluation of antimicrobial activity and antiproliferative response against osteosarcoma. **Materials Science and Engineering C**, **58**: 44–52.
- 139- Maria, B.S., Devadiga, A., Kodialbail, V.S., Saidutta, M.B., 2015. Synthesis of silver nanoparticles using medicinal *Zizyphus xylopyrus* bark extract. **Applied Nanoscience** **5** (6): 755–762.
- 140- Shah, W., Patil, U., Sharma, A., 2014. Green synthesis of silver nanoparticles from stem bark extract of *Terminalia tomentosa* Roxb. (Wight & Arn.). **Der Pharma Chemica**, **6** (5): 197-202.
- 141- Astalakshmi, A., Nima, P., Ganesan, V., 2013. A green approach in the synthesis of silver nanoparticles using bark of *Eucalyptus globulus*, Labill. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, **23** (1): 47-52.
- 142- Sathishkumar, M., Sneha, K., Won, S.W., Cho, C.V., Kim, S., Yun, Y.S., 2009. *Cinnamon zeylanicum* bark extract and powder mediated green synthesis of nano-crystalline silver particles and its bactericidal activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, **73**: 332–338.
- 143- Ganapathi Rao, K., Ashok, C.H., Venkateswara Rao, K., Shilpa Chakra, C.H., Rajendar, V., 2015. Synthesis of TiO₂ nanoparticles from orange fruit waste. **International Journal of Multidisciplinary Advanced Research Trends**, **2**: 82-90.
- 144- Abdullah, N.I.S.B., Ahmad, M.B., Shameli, K., 2015. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Artocarpus elasticus* stem bark extract. **Chemistry Central Journal**, **9**: 1-7.
- 145- Shanmugavadivu, M., Kuppusamy, S., Ranjithkumar, R., 2014. Synthesis of *Pomegranate* peel extract mediated silver nanoparticles and its antibacterial activity. **American Journal of Advanced Drug Delivery**, **2**: 174-182.
- 146- Pattanayak, S., Mollick, M.M.R., Maity, D., Chakraborty, S., Dash, S.K., Chattopadhyay, S., Roy, S., Chattopadhyay, D., Chakraborty, M., 2015. *Butea monosperma* bark extract mediated green synthesis of silver nanoparticles: Characterization and biomedical applications. **Journal of Saudi Chemical Society. Baskida**.

- 147- Ahmad, N., Sharma, S., Rai, R., 2012. Rapid green synthesis of silver and gold nanoparticles using peels of *Punica granatum*. **Advanced Materials Letters**, **3** (5): 376-380.
- 148- Mishra, V., Sharma, R., 2015. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using fresh peels extract of *Punica granatum* and its antimicrobial activities. **International Journal of Pharma Research and Health Sciences**, **3**: 694-699.
- 149- Iravani, S., Zolfaghari, B., 2013. Green synthesis of silver nanoparticles using *Pinus eldarica* bark extract. **BioMed Research International**, **2013**: 1-5.
- 150- Song, J.Y., Kim, B.S., 2009. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, **32**: 79–84.
- 151- Sahni, C., Panwar, A., Kaur, B., 2015. Controlled green synthesis of silver nanoparticles by *Allium cepa* and *Musa acuminata* with strong antimicrobial activity. **International Nano Letters**, **5**: 93–100.
- 152- Shah, S., Dasgupta, S., Chakraborty, M., Vadakkekara, R., Hajoori, M., 2014. Green synthesis of iron nanoparticles using plant extracts. **International Journal of Biological & Pharmaceutical Research**, **5**: 549-552.
- 153- Pattanayak, M., Nayak, P.L., 2013. Ecofriendly green synthesis of iron nanoparticles from various plants and spices extract. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, **3** (1): 68-78.
- 154- Gunalan, S., Sivaraj, R., Venckatesh, R., 2012. *Aloe barbadensis* Miller mediated green synthesis of mono-disperse copper oxide nanoparticles: Optical properties. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **97**: 1140-1144.
- 155- Ashokkumar, S., Ravi, S., Velmurugan, S., 2013. Green synthesis of silver nanoparticles from *Gloriosa superba* L. leaf extract and their catalytic activity. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy** **115**: 388-392.
- 156- Ashokkumar, S., Ravi, S., Kathiravan, V., Velmurugan, S., 2014. Synthesis, characterization and catalytic activity of silver nanoparticles using *Tribulus terrestris* leaf extract. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **121**: 88-93.

- 157- Dwivedi, A.D., Gopal, K., 2010. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, **369**: 27–33
- 158- Chandran, S.P., Chaudhary, M., Pasricha, R., Ahmad, A., Sastry, M., 2006. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloe vera* plant extract. **Biotechnology Progress**, **22**: 577–583.
- 159- Dubey, S.P., Lahtinen, M., Sillanpää, M., 2010. Green synthesis and characterizations of silver and gold nanoparticles using leaf extract of *Rosa rugosa*. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, **364**: 34–41.
- 160- Vanaja, M., Rajeshkumar, S., Gnanajobitha, G., Malarkodi, C., Annadurai, G., 2013. Kinetic study on green synthesis of silver nanoparticles using *Coleus aromaticus* leaf extract. **Pelagia Research Library**, **4** (3): 50-55.
- 161- Prathna, T.C., Chandrasekaran, N., Raichur, A.M., Mukherjee, A., 2011. Kinetic evolution studies of silver nanoparticles in a bio-based green synthesis process. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, **377**: 212–216.
- 162- Song, J.Y., Jang, H.K., Kim, B.S., 2009. Biological synthesis of gold nanoparticles using *Magnolia kobus* and *Diopyros kaki* leaf extracts. **Process Biochemistry**, **44**: 1133–1138.
- 163- Dubey, S.P., Lahtinen, M., Sillanpää, M., 2010. Tansy fruit mediated greener synthesis of silver and gold nanoparticles. **Process Biochemistry**, **45** (7): 1065–1071.
- 164- Sathishkumar, M., Sneha, K., Yun, Y.S., 2010. Immobilization of silver nanoparticles synthesized using *Curcuma longa* tuber powder and extract on cotton cloth for bactericidal activity. **Bioresource Technology** **101**: 7958–7965.
- 165- Armendariz, V., Herrera, I., Peralta-Videa, J.R., Jose-Yacaman, M., Troiani, H., Santiago, P., Gardea-Torresdey, L.L., 2004. Size controlled gold nanoparticle formation by *Avena sativa* biomass: use of plants in nanobiotechnology. **Journal of Nanoparticle Research** **6**: 377–382.

- 166- Pandey, S., Oza, G., Mewada, A., Sharon, M., 2012. Green synthesis of Highly Stable Gold Nanoparticles using *Momordica charantia* as nano fabricator. **Archives of Applied Science Research** **4**: 1135-1141.
- 167- Kaviya, S., Santhanalakshmi, J., Viswanathan, B., Muthumary, J., Srinivasan, K., 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Citrus sinensis* peel extract and its antibacterial activity. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **79**: 594-598.
- 168- Lee, H.J., Song, J.Y., Kim, B.S., 2012. Biological synthesis of copper nanoparticles using *Magnolia kobus* leaf extract and their antibacterial activity. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, **88**: 1971-1977.
- 169- Kumar, M., 2011. Carbon nanotube synthesis and growth mechanism, carbon nanotubes - synthesis, characterization, applications, Dr. Siva Yellampalli (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/19331.
- 170- Daniel, S., Rao, T.P., Rao, K.S., Rani, S.U., Naidu, G.R.K., Lee, H.Y., Kawai, T., 2007. A review of DNA functionalized/grafted carbon nanotubes and their characterization. **Sensors and Actuators B**, **122**: 672-682.
- 171- Tran, P.A., Zhang, K., Webster, T.J., 2009. Carbon nanofibers and carbon nanotubes in regenerative medicine. **Advanced Drug Delivery Reviews**, **61**: 1097-1114.
- 172- Qu, L., Luo, C., Cong, Q., Yuan, X., 2014. Recycling of the hyperaccumulator *Brassica juncea* L.: synthesis of carbon nanotube-Cu/ZnO nanocomposites. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, **16** (1): 162-166.
- 173- Kang, I., Heung, Y.Y., Kim, J.H., Lee, J.W., Gollapudi, R., Subramaniam, S., Narasimhadevara, S., Hurd, D., Kirikera, G.R., Shanov, V., Schulz, M.J., Shi, D., Boerio, J., Mall, S., Ruggles-Wren, M., 2006. Introduction to carbon nanotube and nanofiber smart materials. **Composites: Part B: Engineering**, **37**: 382-394.
- 174- Prasek, J., Drbohlavova, J., Chomoucka, J., Hubalek, J., Jasek, O., Adam, V., Kizek, R., 2011. Methods for carbon nanotubes synthesis-review. **Journal of Materials Chemistry**, **21**: 15872- 15884.
- 175- Trojanowicz, M., 2006. Analytical applications of carbon nanotubes: a review. **Trends in Analytical Chemistry**, **25** (5): 480-489.

- 176- Zhu, J., Jia, J., Kwong, F.L., Ng, D.H.L., Tjong, S.C., 2012. Synthesis of multiwalled carbon nanotubes from bamboo charcoal and the roles of minerals on their growth. **Biomass and Bioenergy** **36**: 12-19.
- 177- Feng, L., Xie, N., Zhong, J., 2014. Carbon nanofibers and their composites: A review of synthesizing. **Properties and Applications. Materials** **7** (5): 3919-3945.
- 178- Valizadeh, A., Mikaeili, H., Samiei, M., Farkhani, S.M., Zarghami, N., Kouhi, M., Akbarzadeh, A., Davaran, S., 2012. Quantum dots: synthesis, bioapplications, and toxicity. **Nanoscale Research Letters**, **7**: 1-14.
- 179- Drbohlavova, J., Adam, V., Kizek, R., Hubalek, J., 2009. Quantum Dots-characterization, preparation and usage in biological systems. **International Journal of Molecular Sciences**, **10** (2): 656-673.
- 180- Cheki, M., Moslehi, M., Assadi, M., 2013. Marvelous applications of quantum dots. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences** **17** (9): 1141-1148.
- 181- Karim, M.R., Ibnaouf, K.H., Zaman, M.B., 2013. Excimer like Photoluminescence Spectra of CdSe/ZnS Quantum Dots. **Lecture Notes on Photonics and Optoelectronics** **1**: 18-22.
- 182- Sapsford, K.E., Pons, T., Medintz, I.L., Mattoussi, H., 2006. Biosensing with luminescent semiconductor quantum dots. **Sensors**, **6** (8): 925-953.
- 183- Borovaya, M.N., Naumenko, A.P., Matvieieva, N.A., Blume, Y.B., Yemets, A.I., 2014. Biosynthesis of luminescent CdS quantum dots using plant hairy root culture. **Nanoscale Research Letters**, **9**: 1-7.
- 184- Pedersen, O., Sand-Jensen, K., 1997. Transpiration does not control growth and nutrient supply in the amphibious plant *Mentha aquatica*. **Plant, Cell and Environment**, **20**: 117-123.
- 185- Dhifi, W., Litaïem, M., Jelali, N., Hamdi, N., Mnif, W., 2011. Identification of a new chemotype of the plant *Mentha aquatica* grown in Tunisia: Chemical composition, antioxidant and biological activities of its essential oil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, **14** (3): 320-328.
- 186- Szakova, J., Tlustos, P., Goessler, W., Pokorný, T., Findenig, S., Balík, J., 2011. The effect of soil contamination level and plant origin on contents of arsenic,

- cadmium, zinc and arsenic compounds in *Mentha aquatica* L. **Archives of Environmental Protection**, **37** (2): 109-121.
- 187- Jager, A.K., Almqvist, J.P., Vangsoe, S.A.K., Stafford, G.I., Adersen, A., Staden, J.V., 2007. Compounds from *Mentha aquatica* with affinity to the GABA-benzodiazepine receptor. **South African Journal of Botany**, **73** (4): 518-521.
- 188- Saygıdeğer, S., Dogan, M., 2005. Influence of pH on lead uptake, chlorophyll and nitrogen content of *Nasturtium officinale* R. Br. and *Mentha aquatica* L. **Journal of Environmental Biology**, **26** (4): 753-759.
- 189- Aslan, M., Ünlü, M.Y., Türkmen, N., Yılmaz, Y.Z., 2003. Sorption of cadmium and effects on growth, protein content, and photosynthetic pigment composition of *Nasturtium officinale* R. Br. and *Mentha aquatica* L. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, **71** (2): 323–329.
- 190- Zurayk, R., Sukkariyah, B., Baalbaki, R., Ghanem, D.A., 2002. Ni phytoaccumulation in *Mentha aquatica* L. and *Mentha sylvestris* L. **Water Air and Soil Pollution**, **139** (1-4): 355-364
- 191- Brankovic, S., Pavlovic-Muratspahic, D., Topuzovic, M., Glisic, R., Milivojevic, J., Dekic, V., 2012. Metals concentration and accumulation in several aquatic macrophytes. **Biotechnology & Biotechnological Equipment** **26** (1): 2731-2736.
- 192- Zurayk, R., Sukkariyah, B., Baalbaki, R., 2001. Common hydrophytes as bioindicators of nickel, chromium and cadmium pollution. **Water Air and Soil Pollution**, **127** (1-4): 373–388.
- 193- Avelar, F.F., de Matos, A.T., de Matos, M.P., Borges, A.C., 2014. Coliform bacteria removal from sewage in constructed wetlands planted with *Mentha aquatica*. **Environmental Technology**, **35** (16): 2095–2103.
- 194- Kumar, P.P.N.V., Shameem, U., Kollu, P., Kalyani, R.L., Pammi, S.V.N., 2015. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Aloe vera* leaf extract and its antibacterial activity against fish bacterial pathogens. **BioNanoScience**, **5** (3): 135-139.
- 195- Sukirtha, R., Priyanka, K.M., Antony, J.J., Kamalakkannan, S., Thangam, R., Gunasekaran, P., Krishnan, M., 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**: 273–279.
- 196- Jacob, S.J.P., Finub, J.S., 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.
- 197- Geetha, R., Ashokkumar, T., Tamilselvan, S., Govindaraju, K., Sadiq, M., Singaravelu, G., 2013. Green synthesis of gold nanoparticles and their anticancer activity. **Cancer Nano**, **4** (4-5): 91-98.
- 198- Muthukumar, T., Sudhakumari, Sambandam, B., Aravinthan, A., Sastry, T.P., Kim, J.H., 2016. Green synthesis of gold nanoparticles and their enhanced synergistic antitumor activity using HepG2 and MCF7 cells and its antibacterial effects. **Process Biochemistry**, **51** (3): 384–391.
- 199- Ramesh, V., Armash, A., 2015. Green synthesis of gold nanoparticles against pathogens and cancer. **International Journal of Pharmacological Research**, **5** (10): 250-256.
- 200- Tamuly, C., Hazarika, M., Das, J., Bordoloi, M., Borah, D.J., Das, M.R., 2014. Bio-derived CuO nanoparticles for the photocatalytic treatment of dyes. **Materials Letters**, **123**: 202-205.
- 201- Tamuly, C., Hazarika, M., Bordoloi, M., Bhattacharyya, P.K., Kar, R., 2014. Biosynthesis of Ag nanoparticles using pedicellamide and its photocatalytic activity: An eco-friendly approach. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **132**: 687–691.
- 202- Mohan, S., Singh, Y., Verma, D.K., Hasan, S.H., 2015. Synthesis of CuO nanoparticles through green route using *Citrus limon* juice and its application as nanosorbent for Cr(VI) remediation: Process optimization with RSM and ANN-GA based model. **Process Safety and Environmental Protection**, **96**: 156-166.
- 203- Sundaramurthy, N., Parthiban, C., 2015. Biosynthesis of copper oxide nanoparticles using *Pyrus pyrifolia* leaf extract and evolve the catalytic activity. **International Research Journal of Engineering and Technology**, **2** (06): 332-338.
- 204- Parthiban, C., Sundaramurthy, N., 2015. Biosynthesis, characterization of ZnO nanoparticles by Using *Pyrus Pyrifolia* leaf extract and their photocatalytic

- activity. **International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology**, **4** (10): 9710-9718.
- 205- Elango, G., Roopan, S.M., 2015. Green synthesis, spectroscopic investigation and photocatalytic activity of lead nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, **139**: 367–373.
- 206- Wang, T., Lin, J., Chen, Z., Megharaj, M., Naidu, R., 2014. Green synthesized iron nanoparticles by green tea and eucalyptus leaves extracts used for removal of nitrate in aqueous solution. **Journal of Cleaner Production**, **83**: 413-419.
- 207- Sharma, J.K., Akhtar, M.S., Ameen, S., Srivastava, P., Singh, G., 2015. Green synthesis of CuO nanoparticles with leaf extract of *Calotropis gigantea* and its dye-sensitized solar cells applications. **Journal of Alloys and Compounds**, **632**: 321-325.
- 208- Rajakumar, G., Rahuman, A.A., 2011. Larvicidal activity of synthesized silver nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaf extract against filariasis and malaria vectors. **Acta Tropica** **118** (3): 196-203.
- 209- Raliya, R., Biswas, P., Tarafdar, J.C., 2015. TiO₂ nanoparticle biosynthesis and its physiological effect on mung bean (*Vigna radiata* L.). **Biotechnology Reports**, **5**: 22-26.
- 210- Sarkar, J., Ghosh, M., Mukherjee, A., Chattopadhyay, D., Acharya, K., 2014. Biosynthesis and safety evaluation of ZnO nanoparticles. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, **37** (2): 165–171.
- 211- Borovaya, C., Pirko, Y., Krupodorova, T., Naumenko, A., Blume, Y., Yemets, A., 2015. Biosynthesis of cadmium sulphide quantum dots by using *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, **29**(6): 1156-1163.
- 212- Dai, D.N., Thang, T.D., Emmanuel, E.E., Abdulkabir, O.O., Ogunwande, I.A., 2015. Study on essential oil of *Mentha aquatica* L. from Vietnam. **American Journal of Essential Oils and Natural Products**, **2**(4): 12-16.
- 213- Senatore, F., D'Alessio, A., Formisano, C., Özcan, M., 2005. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of a 1,8-cineole chemotype of *Mentha aquatica* L. Growing Wild in Turkey. **Journal of Essential Oil Bearing Plants** **8** (2): 148-153.

- 214- Zheng, W., Wang, S.Y., 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **49** (11): 5165–5170.
- 215- Conforti, F., Ioele, G., Statti, G.A., Marrelli, M., Ragno, G., Menichini, F., 2008. Antiproliferative activity against human tumor cell lines and toxicity test on Mediterranean dietary plants. **Food and Chemical Toxicology**, **46** (10): 3325–3332.
- 216- Conforti, F., Sosa, S., Marrelli, M., Menichini, M., Statti, G.A., Uzunov, D., Tubaro, A., Menichini, F., Loggia, R.D., 2008. In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. **Journal of Ethnopharmacology**, **116** (1): 144–151.
- 217- Awasthi, K.A., Awasthi, A., Kumar, N., Roy, P., Awasthi, K., John, P.J., Silver nanoparticle induced cytotoxicity, oxidative stress, and DNA damage in CHO cells. **Journal of Nanoparticle Research**, **15**: 1898-1909, 2013.
- 218- Shi, L.B., Tang, P.F., Zhang, V., Zhao, Y.P., Zhang, L.C., Zhang, H., 2017. Green synthesis of CuO nanoparticles using *Cassia auriculata* leaf extract and in vitro evaluation of their biocompatibility with rheumatoid arthritis macrophages (RAW 264.7). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research January**, **16** (1): 185-192.
- 219- Gorbe, M., Bhat, R., Aznar, E., Sancenon, F., Marcos, M.D., Herraiz, F.J., Prohens, J., Venkataraman, A., Martínez-Máñez, R., 2016. Rapid biosynthesis of silver nanoparticles using pepino (*Solanum muricatum*) leaf extract and their cytotoxicity on HeLa cells. **Materials**, **9** (5): 1-15.
- 220- Nasrollahzadeh, M., Sajadi, S.M., Rostami-Vartooni, A., Hussin, S.M., 2016. Green synthesis of CuO nanoparticles using aqueous extract of *Thymus vulgaris* L. leaves and their catalytic performance for N-arylation of indoles and amines. **Journal of Colloid and Interface Science**, **466**: 113-119.
- 221- Noureen, A., Jabeen, F., 2015. The toxicity, ways of exposure and effects of Cu nanoparticles and Cu bulk salts on different organisms. **International Journal of Biosciences**, **6**(2): 147-156.
- 222- Monferran M.V., Agudo, J.A.S., Pignata, M.L., Wunderlin, D.A., 2009. Copper-induced response of physiological parameters and antioxidant enzymes

- in the aquatic macrophyte *Potamogeton pusillus*. **Environmental Pollution**, **157**: 2570–2576.
- 223- Cao, B., Zheng, Y., Xi, T., Zhang, C., Song, W., Burugapalli, K., Yang, H., Ma, Y., 2012. Concentration-dependent cytotoxicity of copper ions on mouse fibroblasts in vitro: effects of copper ion release from TCu380A vs TCu220C intra-uterine devices. **Biomedical Microdevices**, **14** (4):709-20.
- 224- Abudayyak, M., Güzel, E.E., Özhan, G., 2016. Copper (II) oxide nanoparticles induced nephrotoxicity in vitro conditions. **Applied In Vitro Toxicology**, **2** (3): 157-164.
- 225- Sun, J., Wang, S., Zhao, D., Hun, F.H., Weng, L., Liu, H., 2011. Cytotoxicity, permeability, and inflammation of metal oxide nanoparticles in human cardiac microvascular endothelial cells. **Cell Biology and Toxicology**, **27**(5): 333–342.
- 226- Siddiqui, M.A., Alhadlaq, H.A., Ahmad, J., Al-Khedhairi, A.A., Musarrat, J., Ahamed, M., 2013. Copper oxide nanoparticles induced mitochondria mediated apoptosis in human hepatocarcinoma cells. **Plos One**, **8** (8): 1-9.
- 227- Katsumiti, A., Gilliland, D., Arostegui, I., Cajaraville, M.P., 2015. Mechanisms of toxicity of ag nanoparticles in comparison to bulk and ionic ag on mussel hemocytes and gill cells. **Plos one**, **10**(6): 1-30.
- 228- Wang, Z., Li, N., Zhao, J., White, J.C., Qu, P., Xing, B., 2012. CuO nanoparticle interaction with human epithelial cells: Cellular uptake, location, export, and genotoxicity. **Chemical Research in Toxicology**, **25** (7): 1512–1521.
- 229- Broadley, M.R., White, P.J., Hammond, J.P., Zelko, I., Lux, A., 2007. Zinc in plants. **New Phytologist**, **173** (4): 677-702.
- 230- Ji, W., Chen, Y., Hu, J., Li, F., 2017. In-vitro cytotoxicity of biosynthesized zinc oxide nanoparticles towards cardiac cell lines of *Catla catla*. **Biomedical Research**, **28** (5): 2262-2266.
- 231- Yang, H., Liu, C., Yang, D., Zhang, D., Xi, Z., 2008. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. **Journal of Applied Toxicology**, **29** (1): 69-78.
- 232- Azizi, S., Mohamad, R., Shahri, M.M., 2017. Green microwave-assisted combustion synthesis of zinc oxide nanoparticles with *Citrullus colocynthis* (L.) schrad: characterization and biomedical applications. **Molecules**, **22**: 1-13.

- 233- Prashanth, G.K., Prashanth, P.A., Utpal, B., Manoj, G., Nagabhushana, B.M., Ananda, S., Krishnaiah, G.M., Sathyananda H.M., 2015. In vitro antibacterial and cytotoxicity studies of ZnO nanopowders prepared by combustion assisted facile green synthesis. **Karbala International Journal of Modern Science**, **1** (2): 67-77.
- 234- Gogoi, N., Babu, P.J., Mahanta, C., Bora, U., (2015). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using alcoholic flower extract of *Nyctanthes arbortristis* and in vitro investigation of their antibacterial and cytotoxic activities. **Materials Science and Engineering C**, **46**: 463-469.
- 235- Govarthanan, M., Cho, M., Park, J.H., Jang, J.S., Yi, Y.J., Kamala-Kannan, S., Oh, B.T., 2016. Cottonseed oilcake extract mediated green synthesis of silver nanoparticles and its antibacterial and cytotoxic activity. **Hindawi Publishing Corporation Journal of Nanomaterials**, **2016**, 1-6.
- 236- Dipankar, C., Murugan S., 2012. The green synthesis, characterization and evaluation of the biological activities of silver nanoparticles synthesized from *Iresine herbstii* leaf aqueous extracts. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, **98**: 112–119.
- 237- Jamdagni, P., Khatri, P., Rana, J.S., (baskida). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using flower extract of *Nyctanthes arbor-tristis* and their antifungal activity. **Journal of King Saud University – Science**.
- 238- Meyer, K., Rajanahalli, P., Ahamed, M., Rowe, J.J., Hong, Y., 2011. ZnO nanoparticles induce apoptosis in human dermal fibroblasts via p53 and p38 pathways, **Toxicology in Vitro**, **25** (8), 1721–1726.
- 239- Murugan, K., Dinesh, D., Kavithaa, K., Paulpandi, M., Ponraj, T., Alsalhi, M.S., Devanesan, S., Subramaniam, J., Rajaganesh, R., Wei, H., Kumar, S., Nicoletti, M., Benelli, G., 2016. Hydrothermal synthesis of titanium dioxide nanoparticles: mosquitocidal potential and anticancer activity on human breast cancer cells (MCF-7). **Parasitology Research**, **115** (3):1085-96.
- 240- Chatterjee, A., Ajantha, M., Talekar, A., Revathy, N., Abraham, J., 2017. Biosynthesis, antimicrobial and cytotoxic effects of titanium dioxide nanoparticles using *Vigna unguiculata* seeds. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, **9** (1): 95-99.

- 241- Chellappa, M., Anjaneyulu, U., Manivasagam, G., Vijayalakshmi, U., 2015. Preparation and evaluation of the cytotoxic nature of TiO₂ nanoparticles by direct contact method. **International Journal of Nanomedicine**, **10**: 31-41.
- 242- Jin, C., Zhu, B.S., Wang, X., Lu, Q., 2008. Cytotoxicity of titanium dioxide nanoparticles in mouse fibroblast cells. **Chemical Research in Toxicology**, **21** (9): 1871–1877.
- 243- Sha, B., Gao, W., Wang, S., Xu, F., Lu, T., 2011. Cytotoxicity of titanium dioxide nanoparticles differs in four liver cells from human and rat. **Composites: Part B** **42** (8): 2136–2144.
- 244- Sohaebuddin, S.K., Thevenot, P.T., Baker, D., Eaton, J.W., Tang, L., 2010. Nanomaterial cytotoxicity is composition, size, and cell type dependent. . **Particle and Fibre Toxicology**, **7** (22): 1-17.
- 245- Wang, Y., Cui, H., Zhou, J., Li, F., Wang, J., Chen, M., Liu, Q., 2015. Cytotoxicity, DNA damage, and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in human non-small cell lung cancer A549 cells. **Environmental Science and Pollution Research**, **22** (7): 5519–5530.
- 246- Wu, J., Sun, J., Xue, Y., 2010. Involvement of JNK and P53 activation in G2/M cell cycle arrest and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in neuron cells. **Toxicology Letters**, **199** (3): 269–276.
- 247- Iswarya, V., Bhuvaneshwari, M., Alex, S.A., Iyer, S., Chaudhuri, G., Chandrasekaran, P.T., Bhalerao, G.M., Chakravarty, S., Raichur, A.M., Chandrasekaran, N., Mukherjee, A., 2015. Combined toxicity of two crystalline phases (anatase and rutile) of titania nanoparticles towards freshwater microalgae: *Chlorella* sp. **Aquatic Toxicology** **161**: 154–169.
- 248- Kucková, L., Jomová, K., Švorcová, A., Valko, M., Segl'a, P., Monco, J., Kožíšek, J., 2015. Synthesis, crystal structure, spectroscopic properties and potential biological activities of salicylate–neocuproine ternary copper(II) complexes. **Molecules**, **20**: 2115-2137.
- 249- An, H., Jin, B., 2012. Prospects of nanoparticle–DNA binding and its implications in medical biotechnology. **Biotechnology Advances**. **30** (6): 1721–1732.
- 250- Angele-Martinez, C., Nguyen, K.V.T., Ameer, F.S., Anker, J.N., Brumaghim, J.L., 2017. Reactive oxygen species generation by copper(II) oxide

- nanoparticles determined by DNA damage assays and EPR spectroscopy. **Nanotoxicology**, **11** (2): 278-288.
- 251- Jose, G.P., Santra, S., Mandal, S.K., Sengupta, T.K., 2011. Singlet oxygen mediated DNA degradation by copper nanoparticles: potential towards cytotoxic effect on cancer cells. **Journal of Nanobiotechnology**, **9** (9): 1-8.
- 252- Makumire, S., Chakravadhanula, V.S., Köllisch, G., Redel, E., Shonhai, A., 2014. Immunomodulatory activity of zinc peroxide (ZnO₂) and titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles and their effects on DNA and protein integrity. **Toxicology Letters**, **227** (1): 56–64.
- 253- Ng, C.T., Yong, L.Q., Hande, M.P., Ong, C.N., Yu, L.E., Bay, B.H., Baeg, G.H., 2017. Zinc oxide nanoparticles exhibit cytotoxicity and genotoxicity through oxidative stress responses in human lung fibroblasts and *Drosophila melanogaster*. **International Journal of Nanomedicine**, **12**: 1621–1637.
- 254- Han, Z., Yan, Q., Ge, W., Liu, Z.G., Gurunathan, S., De Felici, M., Shen, W., Zhang, X.F., 2016. Cytotoxic effects of ZnO nanoparticles on mouse testicular cells. **International Journal of Nanomedicine**, **11**: 5187–5203.
- 255- Chowdhury, S., Basu, A., Kundu, S., 2014. Green synthesis of protein capped silver nanoparticles from phytopathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with antimicrobial properties against multidrug-resistant bacteria. **Nanoscale Research Letters**, **9** (365): 1-11.
- 256- Manke, A., Wang, L., Rojanasakul, Y., 2013. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. **BioMed Research International**, **2013**: 1-15.
- 257- Franklin, N.M., Rogers, N.J., Apte, S.C., Batley, G.E., Gadd, G.E., Casey, P.S., 2007. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility. **Environmental Science and Technology**, **41** (24):8484–8490
- 258- Yang, H., Liu, C., Yang, D., Zhang, H., Xi, Z., 2009. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. **Journal of Applied Toxicology**, **29** (1): 69–78.

- 259- Studer, A.M., Limbach, L.K., Van D.L, Krumeich, F., Athanassiou, E.K., Gerber, L.C., Moch, H., Stark, W.J., 2010. Nanoparticle cytotoxicity depends on intracellular solubility: Comparison of stabilized copper metal and degradable copper oxide nanoparticles. **Toxicology Letters**, **197**: 169–174.
- 260- Fu, P.P., Xia, Q., Hwang, H., Ray, P.C., Yu, H., 2014. Mechanisms of nanotoxicity: Generation of reactive oxygen species. **Journal of Food and Drug Analysis**, **22** (1): 64-75.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Fatih Doğan KOCA
 Uyuğu: Türkiye (TC)
 Doğum Tarihi ve Yeri: 4 Haziran 1986, Kayseri
 Medeni Durumu: Bekâr
 Tel: +90 532 374 59 09
 email: fatihdkoca@erciyes.edu.tr / fatihdkoca@gmail.com
 Yazışma Adresi: NanoBiotech Erciyes Teknopark Tekno-2 Binası 1.Kat No:5
 Melikgazi/Kayseri

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Doktora	EÜ Fen Bilimler Enstitüsü	2017
Yüksek Lisans	EÜ Fen Bilimler Enstitüsü	2012
Lisans	EÜ Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2009
Lise	Talas Lisesi	2003

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2011- Halen	Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü	Araştırma Görevlisi

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

SCI, SSCI, AHCI İndekslerine Giren Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. **Koca F.D.**, Kizildag N., Darici C., Duman F., " Determination of Heavy Metal Accumulation in Water, Sediment and Smartweed (*Polygonum amphibium*) from Sarimsakli Dam Lake (Kayseri-Turkey)", FRESSENIUS ENVIRONMENTAL BULLETIN, no.1, pp.1-11, 2016

2. Duman F., Urey E., **Koca F.D.**, "Temporal variation of heavy metal accumulation and translocation characteristics of narrow-leaved cattail (*Typha angustifolia* L.)", ENVIRONMENTAL SCIENCE AND POLLUTION RESEARCH, vol.22, pp.17886-17896, 2015
3. Duman F., **Koca F.D.**, Şahan S., "Antagonist Effects Of Sodium Chloride On The Biological Responses Of An Aquatic Plant (*Ceratophyllum demersum* L.) Exposed To Hexavalent Chromium", WATER AIR AND SOIL POLLUTION, vol.225, pp.0-0, 2014
4. Duman F., **Koca F.D.**, "Single And Combined Effects Of Exposure Concentration And Duration On Biological Responses Of *Ceratophyllum demersum* L. Exposed To Cr Species", INTERNATIONAL JOURNAL OF PHYTOREMEDIATION, vol.16, pp.1192-1208, 2014

Hakemli Diğer Dergilerde Yayımlanan Tam Makaleler

1. Duman F., Şahan S., Ceylan A., **Koca F.D.**, "Krom (Cr+6)'A Maruz Bırakılmış *Ceratophyllum demersum* L.'Un Biyolojik Cevabı", SDU Journal of Science, cilt.5, ss.163-171, 2010

Uluslararası Hakemli Kongre / Sempozyumların Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar

1. **Koca F.D.**, Duman, F., "Genotoxic and cytotoxic activity of green synthesized TiO₂ Nanoparticles", V International Research and Practice Conference "Nanotechnology and Nanomaterials" NANO-2017, Chernivtsi, UKRAYNA, 23-26 Ağustos 2017, pp.819
2. **Koca F.D.**, Demirezen Yılmaz D., Duman F., Öçsoy I., "Investigation of Phytotoxic Effects of Bio-Synthesized Copper Nanoparticles in *Elodea canadensis*", International Congress on Applied Biological Sciences, Saray Bosna, BOSNA HERSEK, 27-31 Mayıs 2016, pp.14-14
3. **Koca F.D.**, Kizildag N., Darici C., Duman F., "Determination of Heavy Metal Concentrations in Sediments of Sarımsaklı Dam Lake (Kayseri)", Uluslararası Ekoloji 2016 Sempozyumu, KARS, TÜRKİYE, 16-19 Mayıs 2016, pp.1-1

4. **Koca F.D.**, Demirezen Yilmaz D., Yılmaz Ş., Demirezen K., "Biyo-synthesis of Silver and Zinc Nanoparticles by *Persea americana* (Avacado) and its Antimicrobial Activity Against Multi Drug Resistant *Staphylococcus aureus*", International Congress on Applied Biological Sciences, Saray Bosna, BOSNA HERSEK, 27-31 Mayıs 2016, pp.147-147
5. **Koca F.D.**, Demirezen Yilmaz D., Oğuzperdahçı T., Duman F., "Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Leaf Extracts of *Lavandula stoechas* and Their Antimicrobial Activities.", International Congress on Applied Biological Sciences, Saray Bosna, BOSNA HERSEK, 27-31 Mayıs 2016, pp.19-19
6. **Koca F.D.**, Demirezen Yilmaz D., Duman F., "Green Synthesis of Zinc Nanoparticles Using Extracts of *Hibiscus sabdariffa* and Their Antimicrobial Activities", International Congress on Applied Biological Sciences, Saray Bosna, BOSNA HERSEK, 27-31 Mayıs 2016, pp.96-96
7. Duman F., Demirezen Yilmaz D., **Koca F.D.**, "*Centaurea cyanus* Çiçek Ekstraktları Kullanılarak Gümüş Nanopartiküllerinin Biyolojik Sentezi ve Antimikrobiyal Aktivitesi", Uluslararası Ekoloji 2016 Sempozyumu, KARS, TÜRKİYE, 16-19 Mayıs 2016, pp.1-1
8. Demirezen Yilmaz D., **Koca F.D.**, Yılmaz Ş., "Bio- synthesis of silver nanoparticles using extracts of *Lavandula officinalis* and their antimicrobial activities", International Congress on Applied Biological Sciences, Saray Bosna, BOSNA HERSEK, 27-31 Mayıs 2016, pp.64-64
9. Demirezen Yilmaz D., Tañç S., **Koca F.D.**, "Plant Based Study on Removal of Some Polluter Parameters in the Leakage Waters", International Congress on Applied Biological Sciences, Saray Bosna, BOSNA HERSEK, 27-31 Mayıs 2016, pp.88-88
10. Duman F., Çolak H., **Koca F.D.**, Sezen G., "Biosynthesis of CdS Quantum Dots by Leaf Extract of Water Minth (*Mentha aquatica* L.)", 27th European Conference on Biomaterials, Krakow, POLONYA, 30 Ağustos - 3 Eylül 2015, pp.523-523

11. Duman F., Kaya M., Öçsoy I., Öztürk Küp F., **Koca F.D.**, "Facile Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Tilia tomentosa* Leaf Extract: its Characterization and Antimicrobial Activity", 27th European Conference on Biomaterials, Krakow, POLONYA, 30 Ağustos - 3 Eylül 2015, pp.354-354
12. Duman F., **Koca F.D.**, Şahan S., "Can Freshwater Plants be Used for Seawater Metal Remediation?: Cr Example", Marine Biotechnology Symposium, Maskat, UMMAN, 12-13 Kasım 2013, pp.68-69
13. Duman F., **Koca F.D.**, Aksoy A., "Single And Combined Effects of Exposure Concentration And Duration on Chromium Phytoaccumulation", Avrupa Biyoteknoloji 2011 Kongresi , TÜRKİYE, 28 Eylül-1 Ekim 2011
14. Demirezen Yılmaz, D., **Koca, F.D.**, Aksu Demirezen, D., "Bio-Synthesis of Magnetic Iron Nanoparticles Using Different Plant Extracts for Nickel Removal in Contaminated Waste Water", Ecology 2017, Kayseri TÜRKİYE, 11-13 Mayıs 2017.
15. Demirezen Yılmaz, D., **Koca, F.D.**, Aksu Demirezen, D, Yılmaz, S., "Effects of the Water Level Changing on Heavy Metal Removal by *Lemna gibba* and *Lemna minor* in Aquatic Micro", Ecology 2017, Kayseri TÜRKİYE, 11-13 Mayıs 2017.

Ulusal Hakemli Kongre / Sempozyumların Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar

1. Duman F., Urey E., **Koca F.D.**, "Kırşehir Kılıçözü Deresi (Kırşehir)'nde Yetişen *Typha angustifolia* L. Bitkisinde Ağır Metal Düzeylerinin Mevsimsel Değişimi", EKOLOJİ 2015, SİNOP, TÜRKİYE, 6-9 Mayıs 2015, ss.255-255.

PROJELER

Başvurulan ve Desteklenen Projeler

CuO, ZnO ve TiO₂ Nanopartiküllerinin *Mentha aquatica* L. Bitkisinin Yaprak Ekstraktı Kullanılarak Biyosentezi Karakterizasyonu ve Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (Tez Projesi). Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Fatih DUMAN. Araştırmacı: Fatih Doğan KOCA. 2015-2017.

Bitkisel Yolla Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerinden Antimikrobiyal ve Antikanser Madde Üretimi. **KOSGEB AR-GE İnovasyon Projesi. Yürütücü: Fatih Doğan KOCA.** Proje Bütçesi: 450.000.000 (Dört yüzellibin) TL. 2 yıl süre ile desteklendi.

Katıldığı Bilimsel Etkinlikler:

Trace Elements in Environment: Contamination Cleanup to Phytoproducts (TEE 2010) Refresher course. Katılımcı, 11-17 June 2010, Istanbul.

Ekoloji 2016 Uluslararası Adnan Aldemir Sempozyumu, Katılımcı, Kars, Mayıs 2016

Doğa ve Mühendislik Bilimlerinde Terimleme Çalışmaları Eğitimi, Katılımcı, Antalya, Nisan 2016

International Congress on Applied Biological Sciences, Katılımcı, Sarajevo, Mayıs 2016

27th European Conference on Biomaterials, Katılımcı, Krakow, Ağustos 2015

Ekoloji 2015, Katılımcı, SİNOP, Mayıs 2015

Eppendorf New Brunswick Semineri, Katılımcı, Kayseri, Nisan 2014

Olympus Mikroskopi Semineri, Katılımcı, Kayseri, Kasım 2014

Doğa Bilimleri Alanı Proje Yönetimi Eğitimi, Katılımcı, Antalya, Subat 2014

Marine Biotechnology Symposium, Katılımcı, Umman/Muscat, Kasım 2013

Erciyes Dağı ve Çevresinde Bilim ve Doğa Okulu 2013, Rehber, Kayseri, Haziran 2013.

Doğal Ekosistemler için CBS ve Uydu Görüntüleri Kullanılarak Çevresel Altlıkların Hazırlanması, Katılımcı, Antalya, 31 Ekim-6 Kasım 2016.

Yürütülen Diğer Akademik Faaliyet

International Ecology 2017 Sempozyumu Düzenleme Kurulu ve Sekreteryası (11-13 Mayıs 2017 Kayseri)