



**T.C.**

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YEŞİL SENTEZ METODUYLA ZEYTİN (*Olea europaea* L.)  
YAPRAKLARINDAN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL SENTEZİ,  
KARAKTERİZASYONU VE BAZI BİYOLOJİK  
AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ÖZGE CEYLAN**

**Tez Danışmanı**

**PROF. DR. NURCİHAN HACIOĞLU DOĞRU**

**ÇANAKKALE – 2023**





T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YEŞİL SENTEZ METODUYLA ZEYTİN (*Olea europaea* L.)  
YAPRAKLARINDAN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL SENTEZİ,  
KARAKTERİZASYONU VE BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖZGE CEYLAN

Tez Danışmanı

PROF. DR. NURCİHAN HACIOĞLU DOĞRU

ÇANAKKALE – 2023



T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART  
ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM  
ENSTİTÜSÜ



Özge CEYLAN tarafından Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU yönetiminde hazırlanan ve **23/01/2023** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Yeşil Sentez Metoduyla Zeytin (*Olae europaea L.*) Yapraklarından Gümüş Nanopartikül Sentezi, Karakterizasyonu ve Bazı Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

**Jüri Üyeleri**

**İmza**

Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU  
(Danışman)

.....

Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR

.....

Dr. Öğr. Üyesi Derya DOĞANAY

.....

Tez No : .....

Tez Savunma Tarihi : 23/01/2023

Doç. Dr. YENER PAZARCIK  
Enstitü Müdürü

...../...../2023

## ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Özge CEYLAN

23/01/2023

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi birikimleri ile her konuda yardımcı olan çok kıymetli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU'ya, tez savunma sınavı jüri üyeleri Sayın Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR'e ve Dr. Öğr. Üyesi Derya DOĞANAY'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezin gerçekleştirilmesinde çalışmam boyunca bitki örneğinin biyolojik aktivite tayin basamaklarındaki desteğı için Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR'e, laboratuvar çalışmalarındaki her türlü yardımına koşan arkadaşım Bahri Emirhan ÖZDEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Beni yetiştiren, yol gösteren, bugünlere gelmemi sağlayan, hayatım boyunca destek, sevgi ve saygılarını her zaman hissettiren değerli annem Handan SEZGİNLER, babam Şafak SEZGİNLER ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen eşim Cihan CEYLAN'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Özge CEYLAN

Çanakkale, Ocak 2023

## ÖZET

# YEŞİL SENTEZ METODUYLA ZEYTİN (*Olae europaea* L.) YAPRAKLARINDAN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Özge CEYLAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU

23/01/2023, 53

Son yıllarda nanoteknolojideki gelişmeler gümüş nanoparçacıkların sağlık, tıp, çevre kimyası, nanobiyoteknoloji ve biyosensörler gibi alanlarda kullanımını arttırmıştır. Bu çalışmanın ana konusu, *Olae europaea* L. yaprakları kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartiküller (AgNP) sentezlenmesidir. Elde edilen AgNP, UV-Görünür Alan Spektroskopisi (UV-Vis), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS) ve Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ile karakterize edilmiştir. Bununla birlikte elde edilen AgNP'lerin antimikrobiyal, antibiyofilm, antioksidan aktiviteleri ile hücre bileşenlerinin salınımı testi ve *Staphylococcus aureus* bakterisinin büyüme kinetiğine etkisi incelenmiştir. 50-90 nm boyutta küresel formda NP sentezlendiği karakterizasyon testleriyle kanıtlanmıştır. Antimikrobiyal, antibiyofilm aktivite ve hücre bileşenlerine etki bakımından özellikle *Acinetobacter baumannii* ve *Proteus vulgaris* bakterilerine karşı etkili bir partikül sentezlendiği belirlenmiştir. NP aynı zamanda kayda değer bir antioksidan aktivite göstermiştir. Bu çalışma, çevre dostu ve ekonomik olan bu yöntemin yüksek ölçekte AgNP sentezinde kullanılabilceğini kanıtlamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Olae europaea*, Gümüş nanopartikül, Antimikrobiyal, Antibiyofilm, Antioksidan, Hücre bileşenlerinin salınımı

## ABSTRACT

### SILVER NANOPARTICLE SYNTHESIS, CHARACTERIZATION FROM OLIVE (*Olae europaea* L.) LEAVES BY THE GREEN SYNTHESIS METHOD, AND EVALUATION SOME BIOLOGICAL ACTIVITIES

Özge CEYLAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Biology

Advisor: Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU

23/01/2023, 53

The developments in nanotechnology in recent years have increased the use of silver nanoparticles in fields such as health, medicine, environmental chemistry, nanobiotechnology and biosensors. The main subject of this study is the synthesis of silver nanoparticles (AgNP) by green synthesis method using *Olae europaea* L. leaves. The resulting AgNP was characterized by UV-Visible Field Spectroscopy (UV-Vis), Scanning Electron Microscope (SEM), Energy Dispersion Spectroscopy (EDS) and Transmission Electron Microscopy (TEM). In addition, the antimicrobial, antibiofilm, antioxidant activities and release test of cell components of the obtained AgNPs and their effects on the growth kinetics of *Staphylococcus aureus* bacteria were investigated. It has been proven by characterization tests that NP is synthesized in spherical form with a size of 50-90 nm. It was determined that an effective particle was synthesized especially against *Acinetobacter baumannii* and *Proteus vulgaris* bacteria in terms of antimicrobial, antibiofilm activity and effect on cell components. NP also showed remarkable antioxidant activity. This study has proven that this environmentally friendly and economical method can be used for high-scale AgNP synthesis.

**Keywords:** *Olae europaea*, Silver nanoparticle, Antimicrobial, Antibiofilm, Antioxidant, Release of cell component



# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x

## BİRİNCİ BÖLÜM

### GİRİŞ

1

## İKİNCİ BÖLÜM

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

3

2.1. <i>Olea europaea</i> L. (Zeytin) Genel Özellikleri ve Biyolojik Aktiviteleri.....	3
2.2. Nanoteknoloji ve Uygulama Alanları.....	6
2.2.1. Üretim Yaklaşımları.....	8
2.3. Nanopartiküller ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	15

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

### MATERYAL YÖNTEM

20

3.1. Materyal .....	20
3.1.1. Zeytin Yapraklarının Temini ve Ekstraksiyonu.....	20
3.2. Yöntem.....	21
3.2.1. Yeşil Sentez Yöntemi ile Gümüş Nanopartikül (AgNP) Eldesi.....	21
3.2.2. AgNP'nin Morfolojik Karakterizasyonu.....	22
3.2.2 AgNP'nin Biyofarmakolojik Aktivite Yöntemleri.....	23

<b>DÖRDÜNCÜ BÖLÜM</b>		26
<b>ARAŞTIRMA BULGULARI</b>		
4.1.	Sentezlenen AgNP'nin Karakterizasyon Analizi Bulguları .....	26
4.1.1.	Zeytin Yapraklarından AgNP Sentezi.....	26
4.1.2.	SEM ve EDS Bulguları.....	26
4.1.3.	TEM Analizi Bulguları.....	29
4.1.4.	UV-Vis Analizi Bulguları.....	30
4.2.	AgNP'nin Biyofarmakolojik Aktivite Bulguları.....	31
4.2.1.	Antimikrobiyal Aktivite Bulguları.....	31
4.2.2.	Hücre Bileşenlerinin Salınımı Bulguları.....	35
4.2.3.	Antibiyofilm Aktivite Bulguları.....	37
4.2.4.	Antioksidan Aktivite Bulguları.....	39
<b>BEŞİNCİ BÖLÜM</b>		41
<b>SONUÇ ve ÖNERİLER</b>		
KAYNAKÇA .....		43

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>µg</b>	Mikrogram
<b>µl</b>	Mikrolitre
<b>G</b>	Gram
<b>Mg</b>	Miligram
<b>ml</b>	Mililitre
<b>mM</b>	Milimolar
<b>Mm</b>	Milimetre
<b>Nm</b>	Nanometre
<b>°C</b>	Santigrat derece
<b>Rpm</b>	Dakikadaki devir sayısı
<b>%</b>	Yüzde
<b>Ag</b>	Gümüş
<b>Ag<sup>+</sup></b>	Gümüş katyonu
<b>AgNO<sub>3</sub></b>	Gümüş nitrat
<b>AgNP</b>	Gümüş nanopartikül
<b>EDS</b>	X Işını spektroskopisi
<b>EDX</b>	Enerji yayımlı X-ışınımı
<b>MIK</b>	Minimum İnhibisyon Konsantrasyon
<b>PPM</b>	Milyonda bir birim
<b>SEM</b>	Transmisyon Elektron Mikroskopi
<b>TEM</b>	Geçirimli Elektron Mikroskobu
<b>UV-VİS</b>	Ultra Viyole ve Görünür Bölge
<b>CUPRAC</b>	Bakır (I <sub>1</sub> ) indirgeme/Antioksidan kapasite
<b>DPPH</b>	2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection, Rockville, Maryland, USA
<b>NY100</b>	Nistatin
<b>S10</b>	Streptomisin
<b>P10</b>	Penisilin
<b>ZY</b>	Zeytin Yaprakları

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Tablo Adı</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b>	Çalışmamızda kullanılan mikrobiyal kültürler	24
<b>Tablo 2</b>	AgNP'nin EDS analizine göre içerdiği elementlerin ağırlıkça yüzdeleri	28
<b>Tablo 3</b>	Zeytin yaprak ekstraktı ve AgNP'lerin antimikrobiyal aktivite bulguları	32
<b>Tablo 4</b>	AgNP uygulaması ile test kültürlerinin hücre bileşenlerinin salınım bulguları	36
<b>Tablo 5</b>	Zeytin yaprak ekstraktı ve AgNP'lerin antibiyofilm aktivite (% inhibisyon) bulguları	38

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Zeytin ağacı genel görünümü	3
Şekil 2	Nanoölçek ve nanoyapılar	7
Şekil 3	Çeşitli farmasötik nano sistemlerin şematik diyagramı	7
Şekil 4	Zeytin yaprağı bitkisinin toplandığı bölge Çanakkale'nin klimatolojik verileri	20
Şekil 5	Zeytin yaprak ekstraksiyonu	21
Şekil 6	Etüvde kurutma sonucu	22
Şekil 7	AgNP sentez renk değişimi görünümü	26
Şekil 8	AgNP'lerin SEM görüntüsü	27
Şekil 9	AgNP'lerin EDS spektrumu	28
Şekil 10	AgNP'lerin TEM görüntüsü	30
Şekil 11	AgNP ve esansiyel yağın UV-Vis spektrumu	31
Şekil 12	Zeytin yaprak ekstraktının <i>E. coli</i> NRRLB 3704 test bakterisine karşı disk difüzyon bulguları	32
Şekil 13	AgNP ekstraktının <i>A. baumannii</i> ATCC 19606 test bakterisine karşı disk difüzyon bulguları	33
Şekil 14	AgNP'nin MİK görüntüsü	33
Şekil 15	AgNP'nin iki farklı konsantrasyonlarında <i>S. aureus</i> 'a karşı kinetiğinin zamana bağlı değişimi	37
Şekil 16	ZE ve AgNP karşılaştırmalı DPPH bulguları	39
Şekil 17	ZE ve AgNP karşılaştırmalı CUPRAC bulguları	39

## BİRİNCİ BÖLÜM

### GİRİŞ

Yaşadığımız endüstri 4.0 çağı sağlık, tıp, biyoloji, kimya ve endüstriyel tüm alanlarda nanoteknolojinin kullanıldığı bir dönem haline gelmiştir. Nanoteknoloji, <100 nm boyut aralığındaki parçacıklarla ve nanopartiküller kullanılarak nanomalzeme üretilen bir alandır. Nanoteknoloji araştırmaları küresel ölçekte çok yaygınlaşmakta ve güneş kremleri, kozmetikler, tekstiller ve spor ekipmanları da dahil olmak üzere yüzlerce üründe kullanılmaktadır. Nanoteknoloji ayrıca ilaç dağıtımında, bitki hastalıklarının önlenmesinde, çevresel kirleticilerin temizlenmesinde, biyosensörlerde ve diğer biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere geliştirilmektedir. Ayrıca, nanoteknolojiler çevresel uygulamalarda kullanılmak üzere de geliştirilmektedir.

Yaşanan tüm bu nanoteknolojik gelişim süreçleri beraberinde kullanım amacı bakımından doğru nanopartikülün seçimi ve üretiminde çevre dostu teknolojilerden nasıl faydalanılacağı sorusunda beraberinde getirmektedir. Metal sentez partiküller ilaç aktarım malzemesi, berraklaştırıcı ajan olma, antagonistik aktivite sterilizatör ve antiseptik olabilme, gibi özellikleri sebebiyle özellikle tıbbi alanlarda büyük ilgi görmektedir. Özellikle bitkisel kaynaklar metal partikül sentezinde iyi bir indirgeyici ajan olarak kullanılabilir. Bunlar arasında önemli bir yere sahip olan gümüş nanopartikülleri (AgNP) ise iyi bir antagonistik ajan olup sterilant özelliği taşımasının yanısıra biyofilm giderme, antioksidan, hücre düzeyde bozunma, antikanser etki gibi pekçok farmakolojik özellikte göstermektedir. Yeşil sentez basamaklarında bitkisel kökenli kaynakların indirgeyici ajan olarak kullanımında yaşanan artış beraberinde bitkisel atıklarında değerlendirilebilmesine sebep olmuştur. Bu durum zeytin yaprağı (ZY) gibi yüksek fenolik bileşen içeriğine sahip bir atığın da bu süreçlerde kullanımını gerekli kılmıştır.

29 cins ve yaklaşık 600 türden oluşan zengin Oleaceae familyasının en önemli üyelerinden biri de zeytindir (*Olea europaea*). Eski çağlardan bu yana beslenme ve tarımsal faaliyetler için yoğun şekilde kullanılan zeytin tropik ve ılıman iklim bitkisidir (Özcan ve Matthäus, 2017).

Yapılan bu tez çalışmasında hem zeytin ağacının önemli bir atığının katma değeri olan bir ürüne dönüştürülmesi hem de elde edilecek nanoteknolojik ürünün biyolojik aktivitelerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bu maksatla, zeytin yaprağı ekstraktı (ZYE) kullanılarak basit, ekonomik ve çevre dostu yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartikül sentezlenmiş ve nanopartikülün karakterizasyonunun yanısıra antimikrobiyal, antibiyofilm ve antioksidan aktiviteleri ortaya konmuştur.



## İKİNCİ BÖLÜM

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

#### 2.1. *Olea europaea* L. (Zeytin) Genel Özellikleri ve Biyolojik Aktiviteleri

İnsanın var olduğu ilk çağlardan bugüne varlığını sürdüren zeytin, “barışın ve sağlıklı yaşam ritüellerinin” en önemli simgesi konumundadır. Meyvesi ve yağı önemli bir besin kaynağı olan zeytinin atık maddesi zeytin yaprağı da tıbbi amaçlara eski çağlardan beri hizmet etmektedir. Zeytin yaprağı etnofarmakolojik olarak, antihipertansif, şeker düşürücü, diüretik, ateş düşürücü, iştah açıcı ve kabızlığa karşı kullanılmakla beraber aynı zamanda soğuk algınlığında da kullanılmıştır. Zeytin anavatanı Akdeniz bölgesi olan ve ülkemizde de doğal olarak yetiştiği gibi binlerce yıldır kültürü yapılan bir ağaçtır. Doğal olarak yetişenleri delice olarak adlandırılır. Meyvelerinden elde edilen yağı ise aynı zamanda tıbbi olarak kullanılan en önemli üründür (Basmacıoğlu-Malayoğlu ve Aktaş, 2011).



Şekil 1. Zeytin ağacı genel görünümü (<https://www.dogadergisi.com/zeytin-agaci-ozellikleri-ve-yetistigi-yerler/08.11.2022>)



Herdem yeşil özellikte olan zeytin ağacı yaprakları yeşil renkte olup alt kısımları gümüşe çalan renktedir. Zengin fenolik bileşen içeriğine sahip olan zeytin yapraklarında sekoiridoitler (oleuropein, dimetiloleuropein), fenolik asit ve çeşitleri, fenolik alkoller ve flavonlar ve flavonları içeren flavonoidler bulunmaktadır. Bununla birlikte en önemli ve en baskın bileşen ise oleuropeindir (Bayram, vd., 2020).

Zeytin yaprak ekstraktının ana bileşeni oleuropein ve diğer fenolik bileşenler yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Bu maddeler özellikle gıda işleme basamaklarında kullanılabilir (Bayram, vd., 2020).

Tarım ve endüstriyel uygulamaların en önemli sorunlarından birisi de ortaya çıkan yan ürünlerin saklanması veya yok edilmesidir. Benzer sorun zeytin yapraklarının da bertarafında yaşanmakta olup; bu yapraklar yağ ekstraksiyonu için toplanan zeytinin %10'ununa tekabül etmektedir benzer sorunlara sahiptir (Basmacıoğlu-Malayoğlu ve Aktaş, 2011). Çiftlik hayvanlarının beslenmesi ya da yakacak madde olarak kullanılan yapraklar, etnofarmakolojik olarak ağız hijyeninde, sindirim sistemi rahatsızlıklarında, idrar yolu ve akciğer enfeksiyonlarında da kullanılabilir (Sabry, 2014). Bununla birlikte yapılan tıbbi çalışmalarda zeytin yapraklarının hipoglisemik (Wainstein, vd., 2012), antihipertansif (Romero, vd., 2016), antikarsinogenik, antioksidan (Difonzo, vd., 2017), antimikrobiyal (Liu, vd., 2017), antiinflamatuvar (Qabaha, vd., 2018) amaçlarla kullanımını mümkün kılmıştır. Elde edilen bu yüksek tıbbi kullanımının en önemli sebebinin etken fenolik bileşiklerden özellikle oleuropein olduğu saptanmıştır (Wainstein, vd., 2012).

Farklı ekstraksiyon teknikleriyle yapraklardan oleuropein bileşikler elde edilebilmektedir. Benavente-Garcia, vd. (2000), bu şekilde elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteye sahip olduklarını bildirmiştir.

Markin, vd. (2003), su ekstraksiyonu ile elde edilen fenolik ekstraktın dermatofit ve maya kültürlerine karşı antimikrobiyal etkisini incelemişler ve *B. subtilis* dışında tüm test kültürlerinin inhibe olduğunu bildirmişlerdir. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) değerleri ise *P. aeruginosa* için %0.13, *K. pneumoniae* ve *E. coli* için %0.3 iken *S. aureus* için % 0.6 olarak saptanmıştır.

Farklı maya kültürlerine karşı zeytin yapraklarının su, etanol, aseton, etil asetat ekstraktlarının antifungal aktivitesi araştırılmış ve su ekstraktından antagonistik etki tespit edilememiştir. Diğer ekstraktlarda ise farklı oranlarda Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değerleri elde edilmiştir (Korukluoğlu, vd., 2006).

Oleuropeinin meme kanseri hücre hatlarında reaktif oksijen oluşumunu inhibe ettiği, şeker hastalığı taşıyan tavşanlarda, kolesterolü yüksek sıçanlarda ve akut arseniğe maruz kalan sıçanlarda enzimatik antioksidanların seviyesini arttırdığını bildirmişlerdir (Kotyzová, vd., 2011).

Pereira, vd. (2007), yaptıkları çalışmada zeytin ekstraktının (ZE) fenolik madde içeriklerini ve bazı mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal kapasitesini belirlemişlerdir. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) analizine göre 7 farklı fenolik içerik tespit edilirken, antagonistik aktivitenin en yüksek *B. cereus* bakterisine karşı elde edildiği belirlenmiştir.

Sudjana, vd. (2009), zeytin yaprağı ekstraktının *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori* ve *Campylobacter jejuni* üzerinde önemli antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bu durum ekstraktın mide ve bağırsakta doğal mikrobiyal flora düzenlemede kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

ZY'lerin aseton, dietileter, etil alkol ve su ekstraktlarının bazı test kültürlerine karşı antagonistik etkisi araştırılmış olup su hariç tüm ekstraktların yüksek antibakteriyal özellikleri saptanmıştır. Su hariç üç ekstraktın MİK değerlerinin 25-185 µg/mL aralığında olduğu da bildirilmiştir (Korukluoğlu, vd., 2010).

Czerwińska, vd. (2012), oleuropein ve oleasinin reaktif oksijen türlerine karşı yüksek aktivitesini bildirmişlerdir.

Salah, vd. (2012), ZY'lerin Butillenmiş Hidroksi Toluen'e (BHT) kıyasla 2,2-Difenil-1 Pikrilhidrazil (DPPH) yöntemiyle daha yüksek antioksidan aktivitesi olduğunu bildirmişlerdir.

ZY'lerden elde edilen ekstraktlar 5'er adet gram pozitif ve negatif bakteriye karşı antagonistik olarak incelenmiş ve en yüksek inhibisyon zonu  $13.33 \pm 2.08$  mm ile *S. typhimurium*;  $21.67 \pm 1.53$  mm ile *B. cereus* bakterilerine karşı elde edilmiştir. MİK değeri ise *L. monocytogenes*, *E. coli* O157, *E. sakazakii* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı  $\geq 32$  mg mL<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir (Gökmen, vd., 2014).

Üç farklı lokaliteden (Edincik, Gömeç ve İzmir) alınan zeytin yağının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesiyle fenolik bileşenleri belirlenmiştir. Edincik'ten alınan örneğin DPPH inhibisyon oranının %21.76-31.7 aralığında değiştiği, hidroksitirosol ve tirozol maddelerinin ana fenolik maddeler olduğu bildirilmiştir. Tüm numunelerin en yüksek antimikrobiyal aktivitesi ise *Clostridium perfringens* ATCC 13124 ve *C. jejuni* ATCC 33291 bakterilerine karşı elde edilmiştir (Dağdelen, 2016).

Zorić, vd. (2016), ZYE iki farklı *Candida* türüne karşı MİK değerini sırasıyla 46,875 mg/mL ve 62,5 mg/mL olarak bildirmişlerdir.

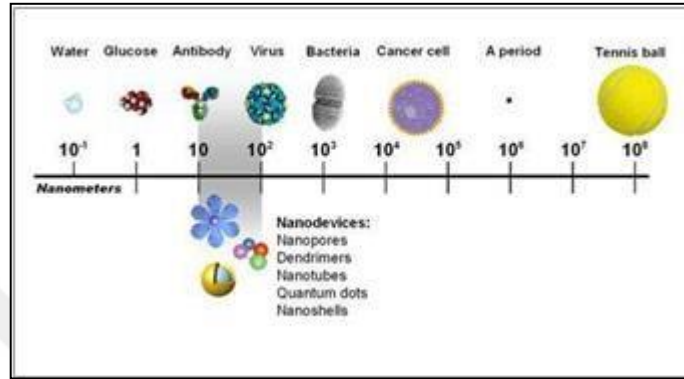
Liu, vd. (2017), 62.5 mg/mL'lik konsantrasyonda olan zeytin yaprağı ekstraktının *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 ve *S. enteritidis* bakterilerine yüksek antagonistik etki ve *L. monocytogenes* ve *S. enteritidis* bakterilerinin biyofilm yapma özelliğini giderici olduğunu bildirmişlerdir.

Zeytinyağı polifenollerinin *L. monocytogenes* bakterisine karşı antimikrobiyal etkisi, ATP, hücre membran potansiyeli, bakteriyal protein, DNA ve hücre morfolojisi değişimleri incelenmiş ve 1.25 mg/mL MİK değeri ile birlikte, hücre içi ATP konsantrasyonunun, bakteriyal protein veya DNA azaltımının kayda değer olduğu bildirilmiştir (Guo, vd., 2019).

## 2.2. Nanoteknoloji ve Uygulama Alanları

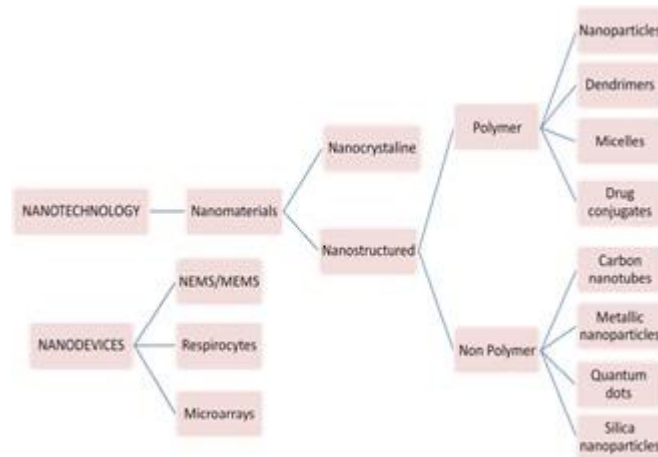
Nanoteknoloji, tek tek atomları ve molekülleri nano yapılara dönüştürmeyi içeren ve 'yukarıdan aşağıya' yani büyük yapıların boyutunu en küçük yapıya kadar küçültme işlemlerini inceleyen bir teknolojidir. Nanoteknoloji, çeşitli nano malzeme ve nano cihazların oluşturulması için kullanılabilir. Aynı zamanda nanoteknoloji alanındaki

gelişmelerle birlikte ilaç ve eczacılık alanındaki uygulamalarda yirminci yüzyılda devrim yaratmıştır. Nano ölçek, en yaygın özelliklerin bir atom ölçeğinin hemen üzerinde belirlendiği yerdir. Nano ölçekli nesnelerin 1 ile 999 nanometre (1-999 nm) arasında değişen en az bir boyutu (yükseklik, uzunluk ve derinlik) vardır (Şekil 2).



Şekil 2. Nanoölçek ve nanoyapılar (Nikalje, 2015)

Farmasötik nano sistem Şekil 3'te gösterildiği gibi Nano malzemeler ve nano cihazlar olarak iki temel nano araç tipine ayrılmaktadır. Bu malzemeler nano kristal ve nano yapı malzemeler olarak alt sınıflara ayrılabilir. Nano yapı, nano partiküller, dendrimerler, miseller, ilaç konjugatları, metalik nano partiküller vb. şeklinde dallanmalar gösterir.



Şekil 3. Çeşitli farmasötik nano sistemlerin şematik diyagramı (Nikalje, 2015)

**Karbon nano tüpler:** Boyutları, şekilleri ve fiziksel özellikleri bakımından

benzersiz olan küçük makromoleküllerdir. Nano tüpler, fiziksel özelliklerinden dolayı diğer ilaç dağıtım ve teşhis sistemlerine göre bazı özel avantajlara sahiptir.

**Metalik nano partiküller:** Metalik nano partiküller ilaç dağıtımında, özellikle kanser tedavisinde ve ayrıca biyosensörlerde kullanılmaktadır. Çeşitli metaller arasında gümüş ve altın nano partiküller biyomedikal kullanım için birincil öneme sahiptir.

**Lipozomlar:** 50-200 nm boyutlarındaki küçük boyutları nedeniyle yeni ve hedeflenen ilaç dağıtımını için kapsamlı bir şekilde araştırılmış en gelişmiş nano taşıyıcılarıdır. Kuru fosfolipidler hidratlandığında kapalı veziküller oluşur. Lipozomlar biyoyumludur, çok yönlüdür ve iyi bir yakalama verimliliğine sahiptir.

**Dendrimerler:** Hiper dallı ve ağaç benzeri yapılardır. Üç farklı bölge içerir; çekirdek kısmı, dallanma birimleri ve sıkı bir şekilde paketlenmiş yüzey. Küresel bir yapıya sahiptir ve iç boşlukları çevreler. Boyutu 10 nm' den küçüktür. Bunlar biyoaktif materyalin uzun dolaşımı, kontrollü iletimi, biyoaktif partiküllerin makrofajlara hedefli iletimi ve karaciğer hedefli iletim için kullanılır.

Nano malzemeler boyut açısından aşağıdaki kategorilere ayrılabilir: Nano çubuklar, (nano teller 100 nm' den daha küçük boyuta sahiptir), tüpler, lifler, trombositler (100 nm' den daha küçük boyutlara sahiptir), parçacıklar, kuantum noktaları ve içi boş kürelerdir (0 veya 3 boyuta sahiptir < 100 nm) (Nikalje, 2015).

### 2.2.1. Üretim Yaklaşımları

Nano malzemeleri üretiminde “aşağıdan yukarıya” ve “yukarıdan aşağıya” prensiplerinden faydalanılır. Birincil yaklaşımda tek moleküllerden oluşan bileşenler üretilir ve kovalent kuvvetler onları bir arada tutan, makro ölçekli bileşenleri bir arada tutan kuvvetlerden çok daha güçlüdür. Aşağıdan yukarıya inşa edilen cihazlarda muazzam miktarda bilgi saklanabilir. Örneğin AFM kullanımı, ters misellere dayalı sıvı faz teknikleri, sol-jel işleme, kimyasal buhar biriktirme (CVD), lazer piroliz, moleküler kendi kendine montaj ve nano ölçekli malzeme üretimi için aşağıdan yukarıya yaklaşımı kullanır. Yukarıdan aşağıya yaklaşımı ise parçaların kesme, oyma ve kalıplama gibi yöntemlerle

inşa edilmesini içerir. Bu süreçlerdeki sınırlamalarımız nedeniyle son derece gelişmiş nano cihazlar henüz üretilmemiştir. Lazer ablasyon, öğütme, nano-litografi, hidrotermal teknik, fiziksel buhar biriktirme, elektrokimyasal yöntem ve nano ölçekli malzeme üretimi için yukarıdan aşağıya yaklaşımı kullanır.

Periyodik tablonun her elemanı, nano tıptan nano elektronik yoluyla nano betona kadar bir dizi üretilecek hedef malzemeye bağlı olarak nanoteknolojide kullanılabilir. Nanoteknoloji bize nano ölçekli yapı taşlarını sentezleme şansı veriyor. Tasarlanmış özelliklere sahip daha büyük yapılara daha fazla monte edilerek malzeme imalatı devrim yaratacak. Talaşlı imalat olmadan metaller, polimerler, seramikler vb. tam olarak üretilir. Nanoteknoloji, son derece büyük yüzey/hacim oranı nedeniyle kimyasal katalize fayda sağlayabilir. Nanopartiküllerin katalizdeki çeşitli uygulamaları, yakıt hücresinden katalitik konvertörlere ve fotokatalitik cihazlara kadar uzanır. Kimyasalların üretimi için de önemlidir (Khan, 2007).

**Sağlık ve tıpta nanoteknoloji:** Bugün diyabet, kanser, Parkinson, Alzheimer, kardiyovasküler ve multipl skleroz gibi çeşitli hastalıklar ile farklı türlerde ciddi inflamatuvar veya bulaşıcı hastalıklar (örneğin HIV) insanlar için ciddi sorunlar teşkil eden önemli hastalık tipleridir. Nano-tıp, sağlık ve tıp alanında çalışan bir nanoteknoloji uygulaması olup nano malzemeleri ve nano elektronik biyosensörleri kullanır. Nano bilim uygulamasının tıbbi alanı, öngörülen birçok faydaya sahiptir ve potansiyel olarak tüm insan ırkları için değerlidir. Nano tıbbın yardımıyla erken teşhis, hastalığı önleme, uygun tedavi ve hastalıkların takibi mümkündür. Nano ölçekli parçacıklar kullanılarak biyolojik olarak hızlı bir şekilde gerçekleştirilen testler daha hassas ve daha esnek hale gelmiştir. Altın nano parçacıklar gibi nano cihazların icadıyla gen dizilimi daha verimli hale gelmiştir (Wang, vd., 2009). Nanoteknoloji yardımıyla hasarlı doku yeniden üretilir veya onarılabilir. Yapay olarak uyarılmış hücreler olarak adlandırılan bu hücreler, organların veya yapay implantların transplantasyonunda devrim yaratabilecek doku mühendisliğinde kullanılır. Karbon nano tüplerin yardımıyla yeni özelliklere sahip gelişmiş biyosensörler geliştirilebilir. Bu biyosensörler astrobiyoloji için kullanılabilir ve yaşamın kökenlerine ışık tutabilir. Bu teknoloji aynı zamanda kanser teşhisi için sensörler geliştirmek için de kullanılmaktadır.

Nanoteknoloji, kök hücre araştırmaları alanında mükemmel katkılar sağlamıştır. Örneğin, manyetik nanopartiküller, kök hücreleri izole etmek ve gruplandırmak için başarıyla kullanılmıştır. Karbon nano tüpler, floresan CNT'ler ve floresan MNP'ler gibi nano malzemeler, kök hücre teknolojilerinde yoğun kullanıma sahiptir. Kök hücrelerin proliferasyonunun ve farklılaşmasının kontrol edilebilir regölasyonu için benzersiz nanoyapılar tasarlanmıştır. Bu ilerlemeler, rejeneratif tıpta uygulamaya yönelik kök hücrelerin gelişimini hızlandırmaktadır (Ricardo ve Lino, 2010). Nanoteknolojinin kök hücre araştırmalarındaki son uygulamaları, rejeneratif tıpta yeni yollar açmayı vaat etmektedir. Nanoteknoloji, kök hücrelerin izlenmesi, görüntülenmesi, farklılaşmalarını belirli hücre soyuna yönlendirmek ve nihayetinde biyolojilerini anlamak için değerli bir araç olabilir. Bu umutla insan hastalıklarının önlenmesi, teşhisi ve tedavisi için kök hücre temelli terapötiklere yol açacaktır. Nano cihazlar, kök hücre araştırmalarında onları izleme ve görüntüleme için kullanılabilir.

Kök hücreler, nano taşıyıcıların biyolojik moleküllerle karıştırılmasıyla modüle edilebilir. Nano cihazlar, hücre içi erişimi, biyomoleküllerin akıllı iletimi ve algılanması için kullanılabilir. Bu teknolojilerin kök hücre mikroçevresi ve doku mühendisliği çalışmalarında büyük etkisi vardır aynı zamanda biyomedikal uygulamalar için büyük bir potansiyele sahiptir (Deb, vd., 2012).

**Nanoteknoloji, enerji ve çevre:** Nanoteknoloji, çevreyi koruyarak ve hızla gelişen gezegenimiz için yeterli enerjiyi sağlayarak önümüzdeki 50 yılda kritik bir rol oynayacaktır. Nanoteknolojinin kullandığı metodoloji, enerjinin depolanması, dönüşümü, çevre dostu üretim ve daha modern yenilenebilir enerji kaynakları eldesinde kullanılabilir. Nanoteknoloji, daha ucuz enerji üretimi, yenileme enerjileri, güneş teknolojisi, nano-kataliz, yakıt hücreleri ve hidrojen teknolojisinde kullanılabilir. Karbon nano tüp yakıt hücreleri hidrojenin depolanması için kullanılır, bu nedenle elektrikli otomobillerde uygulama bulur (Boisseau ve Loubaton, 2011).

Fotovoltaikte nanoteknoloji, fotovoltaikleri ucuz, hafif ve daha verimli hale getirmek için kullanılır, bu da motor kirliticilerinin nano gözenekli filtrelerle yanmasını azaltabilir ve nano ölçekli asil metalden yapılmış katalitik konvertörler yardımıyla egzozu mekanik olarak temizleyebilir. Katı hal aydınlatması toplam elektrik tüketimini azaltabilir.

Nano teknolojik yaklaşımlar, aydınlatma için enerji tüketiminde güçlü bir azalmaya yol açabilir (LaVan, vd., 2003).

**Nano Malzemelerin Tıbbi Kullanımı:** Nano tıp nispeten yeni bir bilim ve teknoloji alanıdır. Nanoteknoloji, biyolojik moleküllerle nano ölçekte etkileşime girerek araştırma ve uygulama alanını genişletir. Nano cihazların biyo moleküllerle etkileşimleri hem hücre dışı ortamda hem de insan hücrelerinin içinde anlaşılabilir. Nano ölçekte çalışma, hacim/yüzey oranı gibi mikro ölçekte gözlemlenenlerden farklı fiziksel özelliklerin kullanılmasına izin verir (Boisseau ve Loubaton, 2011).

Hâlihazırda farelerde test edilmiş ve insanlar üzerinde denenmeyi bekleyen iki nano ilaç türü; kanser teşhisine ve tedavisine yardımcı olmak için altın nano kabukların kullanımı, lipozomun aşı adjuvanları ve ilaç taşıma araçları olarak kullanımı çalışılmıştır. Benzer şekilde, ilaç detoksifikasyonu da sıçanlarda başarıyla kullanılan nano tıbbın bir başka uygulamasıdır. Tıbbi teknolojiler daha küçük cihazlardan faydalanabilirken muhtemelen vücudun içine implante edilebilir ve biyokimyasal reaksiyon süreleri çok daha kısadır. Tipik ilaç dağıtım nano cihazları ile karşılaştırıldığında, daha hızlı ve hassastır (LaVan Da vd., 2003).

**İlaç Salınımı:** Nanoteknolojide nanopartiküller, bölgeye özel ilaç dağıtım için kullanılır. Bu teknikte gerekli ilaç dozu kullanılır ve etken madde sadece hastalıklı bölgede biriktiğinden yan etkiler önemli ölçüde azaltılır. Bu son derece seçici yaklaşım, hastaların maliyetlerini ve ağrılarını azaltabilir. Böylece dendrimerler ve nano gözenekli malzemeler gibi çeşitli nano parçacıklar için uygulama alanı bulmaktadır. Blok kopolimerlerden elde edilen miseller ilaç kapsülleme için kullanılır. Küçük ilaç moleküllerini istenilen yere taşırlar. Benzer şekilde, ilaçların aktif salınımı için nano elektromekanik sistemler kullanılmaktadır. Demir nanopartiküller veya altın kabuklar kanser tedavisinde önemli bir uygulama bulmaktadır. Hedefe yönelik bir ilaç, ilaç tüketimini ve tedavi masraflarını azaltarak hastaların tedavisini etkin hale getirir.

**Kanser ve Nanopartiküller:** Nano parçacıkların küçük boyutu nedeniyle onkolojide, özellikle görüntülemelerde kullanım olabilir. Boyut ayarlanabilir ve ışık emisyonu gibi kuantum hapsedme özelliklerine sahip kuantum noktaları gibi nano



parçacıklar, tümör bölgelerinin olağanüstü görüntülerini üretmek için manyetik rezonans görüntüleme kullanılabılır. Organik boyalarla karşılaştırıldığında, nano parçacıklar çok daha parlaktır ve uyarmak için bir ışık kaynağına ihtiyaç duyar. Bu nedenle, floresan kuantum noktalarının kullanımı, kontrast ortamı olarak kullanılan organik boyalardan daha yüksek kontrastlı bir görüntü ve daha düşük maliyetle üretebilir. Ancak kuantum noktaları genellikle toksik elementlerden oluşur. Nano partiküller, çeşitli fonksiyonel grupların bir nano partiküle bağlanmasına ve böylece belirli tümör hücrelerine bağlanmasına izin veren yüksek yüzey alanı / hacim oranı gibi özel bir özelliğe sahiptir. Ayrıca, 10 ile 100 nm'lik küçük boyutlu nanopartiküller, tümörlerin etkili bir lenfatik drenaj sisteminden yoksun olması nedeniyle tercihen tümör bölgelerinde birikmelerine izin verir. Gelecekteki kanser tedavisinde bir tümörü tespit edecek, görüntüleyecek ve daha sonra tedavi edecek çok işlevli nano parçacıklar üretilir. Kanzius RF tedavisi, mikroskobik nano parçacıkları kanser hücrelerine bağlar ve daha sonra vücudun içindeki tümörleri, yalnızca nanoparçacıkları ve bitişik (kanseri) hücreleri ısıtan radyo dalgalarıyla "pişirir". Nano teller, kanser hücrelerinin geride bıraktığı proteinleri ve diğer biyobelirteçleri tespit edebilen ve bir hastanın kanının tek bir damlasından kanseri erken evrelerde tespit edip teşhis edebilen sensör test çiplerini hazırlamak için kullanılır. Nano teknolojiye dayalı ilaç dağıtımını üç gerçeğe dayanmaktadır: ilaçların etkin kapsüllemesi, adı geçen ilaçların vücudun hedeflenen bölgesine başarılı bir şekilde verilmesi ve bu ilacın orada başarılı bir şekilde salınmasıdır.

**Nörodejeneratif bozuklukların tedavisinde nanoteknoloji:** CNS terapötiklerinin verilmesi için dendrimerler, nano jeller, nano emülsiyonlar, lipozomlar, polimerik nano parçacıklar, katı lipid nano parçacıkları ve nano süspansiyonlar gibi çeşitli nano taşıyıcılar üzerinde çalışılmıştır. Alzheimer hastalığı, beyin tümörleri, HIV ensefalopatisi ve akut iskemik inme gibi CNS koşullarının yönetimi için erken klinik öncesi başarı elde edilmesi mümkün hale getirilmiştir. Nanotıp, BBB geçirgenliklerini geliştirerek ve nörotoksitelerini azaltarak daha da geliştirilebilir (Wong, vd., 2012).

**Cerrahi diş hekimliğinde nanoteknolojinin klinik uygulaması:** Nano dolgu kompozit reçine malzemelerinin, olağanüstü parlatılabilirlikleri ve parlaklık korumaları nedeniyle mükemmel aşınma direnci, mukavemet ve nihai estetik sunduğuna inanılmaktadır. Operatif diş hekimliğinde nano dolgu maddeleri ortalama 5-40 nm

büyükliğünde küresel silikon dioksit ( $\text{SiO}_2$ ) partikülleri oluşturur. Nano dolgularla ilgili gerçek yenilik, inorganik faz yükünü iyileştirme olasılığıdır. Bu yüksek dolgu yükünün etkisi, mekanik özellikler açısından yaygın olarak kaydedilmektedir.

Yakın gelecekte, şekli ve bileşimi doğal sert dokuların (mine ve dentin) optik ve mekanik özelliklerini yakından taklit edecek bir dolgu materyalinin operatif diş hekimliğinde kullanılmasının mümkün olması beklenmektedir. Bu nano kompozitler üstün sertliğe, eğilme mukavemetine, elastisite modülüne, azaltılmış polimerizasyon büzülmesine sahiptir ve ayrıca 80'lik partikül boyutunda 1:4 M alümina silika oranı ve 1.508'lik bir kırılma indisi gibi mükemmel işleme özelliklerine sahiptir (Sivaramakrishnan ve Neelakantan, 2014).

**Oftalmoloji (göz bilimi) Uygulamaları:** Nano tıbbın en önemli uygulamaları, insanı moleküler düzeyde takip etmek, onarmak ve iyileştirmek için birim hücre düzeyinde kitlesel olarak paralel çalışan nano cihazlar ve nanoyapılar yardımıyla tıbbi fayda elde ederek geliştirmektir. Nanoteknolojinin oftalmolojideki bazı uygulamaları arasında; oksidatif stresin tedavisi, göz içi basıncının ölçülmesi, teragnostik, koroidal yeni damarların tedavisi, glokom cerrahisi sonrası yara izlerinin önlenmesi ve retina dejeneratif hastalığının görme ve düzeltme gen tedavisi için devrim yaratacak nano partiküller kullanılarak protezler ve rejeneratif nano tıp devreye girmektedir (Wong, vd., 2012).

**Doku mühendisliği:** Doku mühendisliğinde, hasarlı dokuları yeniden üretmek veya onarmak için nanoteknoloji uygulanabilir. Uygun nanomalzeme tabanlı yapı iskeleleri ve büyüme faktörleri kullanılarak, yapay olarak uyarılmış hücre çoğalması, organ nakillerinde veya yapay implant tedavilerinde faydalı olabilir ve bu da ömrün uzamasına neden olabilir.

**Antibiyotik direnci:** Nano partiküllerin kombinasyon tedavisinde kullanılması ile antibiyotik direnci azaltılabilir. Çinko oksit nano partikülleri, antibiyotik direncinde veya ilaçların farmakolojik mekanizmalarında etkileşime giren çeşitli proteinlere müdahale ederek, Siprofloksasinin antibiyotik direncini azaltabilir ve mikroorganizmaya karşı antibakteriyel aktivitesini artırabilir.

**Bağışıklık yanıtı:** Nano cihaz bucky topları, bağışıklık tepkisini değiştirmek için kullanılmıştır. Mast hücrelerinin kana ve dokulara histamin salmasını engellerler çünkü

bunlar serbest radikallere E vitamini gibi herhangi bir antioksidandan daha iyi bağlanır.

**Nano farmasötikler:** Nano farmasötikler, hastalıkları çok daha erken aşamalarda tespit etmek için kullanılabilir ve tanı uygulamaları, nanopartiküller kullanılarak geleneksel prosedürler üzerine inşa edilebilir. Nano farmasötikler, ilaç partikülünün boyutlarının veya terapötik bir dağıtım sisteminin nano ölçekte çalışmalar yaparak yeni ortaya çıkan bir alandır. Nano farmasötikler, aktif ajanların bölgeye özgü hedeflemesini sunan geleneksel terapötiklerin bu başarısızlığını ele alma konusunda muazzam bir potansiyele sahiptir. Nano farmasötikler toksik sistemik yan etkileri azaltabilir ve böylece daha iyi hasta uyumu sağlar. İlaç endüstrisi, kârlılığı korurken hastalara yüksek kaliteli ürünler sunmak için büyük bir baskıyla karşı karşıyadır. Bu nedenle ilaç şirketleri, ilaç formülasyonunu ve ilaç hedefi keşfini geliştirmek için nanoteknolojiyi kullanır. Nano farmasötik, ilaç keşif sürecini uygun maliyetli hale getirerek araştırma ve geliştirme başarı oranının artmasını sağlar, böylece hem ilaç keşfi hem de teşhis için geçen süreyi azaltır.

**Nanoteknolojinin Modifiye İlaçlı Tekstillerde Uygulanması:** Nanoteknoloji kullanılarak yapılan geliştirme çalışmaları sayesinde yeni modifiye edilmiş antibakteriyel tekstiller ve antibakteriyel pamuk geliştirilmiştir. Konvansiyonel antimikrobiyal ajanların tekstillere uygulanması hali hazırda rapor edilmiştir. Bu teknik, iyi antibakteriyel aktivite elde eden inorganik nano yapıları malzemelere ve bu malzemelerin tekstillere uygulanmasına odaklanılarak geliştirilmiştir (Fouda, vd., 2013).

Nano malzemeler artan yüzey alanına ve nano ölçekli etkilere sahiptir, bu nedenle biyomedikal görüntüleme, tanı biyosensörlerinin ilerlemesi, ilaç ve gen dağıtımı için umut verici bir araç olarak kullanılmaktadır. Nano malzemeler, daha büyük muadillerine kıyasla benzersiz fizikokimyasal ve biyolojik özelliklere sahiptir. Nano malzemelerin özellikleri, kendilerine özgü boyutları, şekilleri, kimyasal bileşimleri, yüzey yapıları, yükleri ve çözünürlükleri nedeniyle biyo moleküller ve hücreler ile etkileşimlerini büyük ölçüde etkileyebilir. Örneğin, nano parçacıklar, tümör bölgelerinin olağanüstü görüntülerini üretmek için kullanılabilir; tek duvarlı karbon nanotüpler, biyomoleküllerin hücrelere taşınması için yüksek verimli taşıyıcılar olarak kullanılmıştır. Nano teknolojinin diğer teknolojilerle birleşmesi ardından karmaşık ve yenilikçi hibrit teknolojilerin ortaya çıkmasıyla çok parlak bir geleceği vardır. Biyoloji temelli teknolojiler, nanoteknoloji ile iç

içe geçmiş durumdadır. Nanoteknolojinin maddeyi en küçük ölçekte tasarlama yeteneği, bilgi teknolojisi, bilişsel bilim ve biyoteknoloji gibi alanlarda devrim yaratıyor. Nanoteknolojide daha fazla araştırma yaparak, insan yaşamının her yönü için faydalı olabilir. Tıp, rejeneratif tıp, kök hücre araştırmaları ve nutrasötikler nanoteknoloji yenilikleri ile değiştirilecek sektörlerin başında gelmektedir (Nikalje, 2015).

### 2.3. Nanopartiküller ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Nanopartiküllerin oluşumu çeşitli kimyasal, fiziksel ve biyolojik metodlar kullanılarak sağlanabilmektedir. Ancak kimyasal yollar ile sentezlenen partiküller, çevre dostu olmayıp doğaya zarar verdikleri için günümüzde artık çok tercih edilmeyip biyolojik yollar tercih edilmektedir. Bu alandaki araştırmalar ‘yeşil sentez’ olarak isimlendirilmektedir. Çevre dostu olması yönüyle tercih edilen yeşil sentez yöntemi ile üretilen nanopartiküller günümüzde birçok özelliğiyle farklı alanlarda kullanılmaktadırlar. Örneğin, antiviral, antimikrobiyal, antioksidan, sitotoksik, antitümör, antienflamatuar ve biyoremediasyon ajan olarak gıda, tekstil endüstrisinde, akıllı tarımda ve atık su arıtımında kullanılmaktadır (Salem, vd., 2021).

Nanopartiküllerin sentezlenmesinde bitki özlerinin tercih edilme nedenleri yöntem olarak kolay uygulanabilirliği, toksik etkisi olmaması, ekonomik ve farklı alanlarda kullanılabilirliği nedeniyle oldukça artmıştır. Bitki özleri nanopartiküllerin sentezinde sabitleyici madde ve indirgeyici ajanlar olarak etki gösterebilirler. Ayrıca, bitki ekstraktının kullanılması nanopartiküllerin boyut ve morfolojik özelliklerini etkilediği de bilinmektedir (Kumar ve Yadav, 2009). Yeşil sentez işlemlerinde metal nanopartiküllerden en çok gümüş, altın, demir, titanyum ve talyum gibi metaller tercih edilmektedir.

AgNP’lerin kimyasal indirgenmesi basit, düşük maliyet ve yüksek verimden dolayı avantajlı yöntemlerdir. Kimyasal indirgenmede; etilen glikol, glikoz, NaBH<sub>4</sub> gibi indirgeyici ajanlar, sodyum oleat, polivinilpirolidon (PVP) ve polivinil asetat gibi hem stabilize edici hem de kaplayıcı ajanlar kullanılır. Fiziksel sentezi için yoğunlaşma, buharlaşma ve termal bozunma gibi yöntemler kullanılabilir. Yeşil sentez yöntemlerinde ise AgNP’lerin stabilize edici ve indirgeyici ajanları olarak çeşitli

biyomoleküller (bakteri, maya, mantarlar, algler ve bitkiler) kullanılmaktadır (Suresh, vd., 2010).

AgNP'ler, antibakteriyal, antiinflamatuvar, lokal yüzey plazmon rezonansı, mikroorganizma DNA'sını denatüre etme gibi özellikleriyle yara ve yanık tedavisinde kullanılabilme potansiyeli yüksek nanopartiküllerdir. Bu sebeple yeni ilaç ve malzeme eldesi için kullanılabilirliği olan malzemelerdir (Dizaji, 2012). Bunun yanında ev ve kumaş temizleme kimyasalı olmaları, yansıma önleyici kaplamalarda kullanılabilmeleri ve elektronik malzemelerde kullanılabilmeleri için günlük hayatta da sıkça karşımıza çıkmaktadırlar.

Morones, vd. (2005) AgNP farmakolojik etkilerinin partikül boyut, morfoloji ve konfigürasyonuna bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

*S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı yüksek antibakteriyal kapasiteye sahip AgNP'ler aynı zamanda ticari mevcut bazı antibiyotiklerle beraber kullanımlarında bu antibiyotiklerin etkilerini arttırdıkları tespit edilmiştir (Shahverdi, vd., 2007).

AgNP'ler ile kaplı kumaşların yüklendikleri antibakteriyal özellikle mikrobiyal kontaminasyonu önlediği bildirilmiştir (Freeman, vd., 2012).

AgNP'lerin insan kanında çözünme ve böylelikle pıhtılaşmayı engelleyebilmeleri sebebiyle kan pıhtılaşma ile ilgili hastalıklarda kullanılabilme potansiyelini ortaya koymuştur (Lateef, vd., 2016).

Kanser tedavisinde tümör hedefli malzeme üretiminde peptidyle kaplı AgNP'ler kullanılmıştır (Braun, vd., 2014).

NP'lerin üretimi için kullanılan mevcut fiziksel ve kimyasal metotlar istenilen boyutta, zaman tasarrufu sağlayan, yüksek çözünürlüklü maddelerin üretimini sağlasada toksik içeriklerinin olması, partikül kararlılığındaki sorunlar ve kullanılan teknolojinin ekonomik olmaması (Narayanan ve Sakthivel, 2010) gibi sebeplerle yeşil nanoteknoloji denilen yeni bir metot ortaya çıkmış ve doğada var olan canlıların çevre dostu bu

teknolojide kullanımının önü açılmıştır (Duncan, 2011). Bu teknoloji özellikle birbirinden farklı pek çok bitki türünün bu maksatla kullanımına sebep olmuştur.

Choi, vd. (2008), mikrobiyal yolla sentezlenen AgNP'lerin antimikrobiyal etkilerinin partikül boyutu ile ilişkili olduğunu, çap ne kadar büyükse, etkisinin o denli zayıfladığını bildirmişlerdir. Bu durumun 20 nm'den büyük AgNP'lerin bakterilerce taşınmasının zor; 1-15 nm arasındaki AgNP'ler mikroorganizmaların yüzeyine yapışarak, hücre içine giriş yapabilmesiyle ilintili olduğunu saptamışlardır.

Fayaz, vd. (2009), TEM ile sentezlenen nanopartiküllerin morfolojisi ve boyutlarını karşılaştırmışlar ve 40°C'de nanopartiküllerin monodisperse (eş dağılımlı); farklı sıcaklıklar değerlerinde ise yüksek sıcaklık ile boyutta küçülme olduğunu ve ölçeğin ise 10-100 nm aralığında değiştiğini bildirmişlerdir.

Girilal, vd. (2013), TEM analizinde monodisperse gümüş nanopartiküllerin küre biçiminde ve boyutlarını 2-4 nm olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca 27 °C'de 10-40 nm, 10 °C'de ise 80-100 nm boyutlu partiküller elde etmişlerdir.

Ponarulselvam, vd. (2012), *Catharanthus roseus* indirgeyici ajanıyla sentezlenen AgNP'lerin SEM analizi ile küresel ve 35-55 nm boyutlu, Sathishkumar, vd. (2012), *Morinda citrifolia* L. AgNP'lerinin ise küresel ve 10-60 nm olarak bildirmişlerdir.

*Ficus benghalensis* kullanılarak sentezlenen AgNP'nin yaprak özütünden ekonomik bir ürün olduğunu ve amino grubuna sahip proteinlerin AgNP'lerin çözeltideki stabilizasyonuna sebep olduklarını ortaya koymuşlardır (Saware, vd., 2014).

AgNP ürünlerinin morfolojik olarak boyut azalmasının mikrobiyal patojenlerle etkileşim yüzeyinin artmasına ve dolayısıyla antagonistik – mikrobisidal etkinin artışına neden olduğu bildirilmiştir (Khurana, vd., 2014).

Nematollahi (2015), NP sentezinde bitkisel materyallerin ucuz, çevre dostu ve ekonomik kaynaklar olmalarıyla özellikle sağlık alanındaki farmasötik ürünlerin eldesi için önemlerinin son yıllarda arttığını bildirmiştir.

Yeşil sentez için kullanılan bitkisel ajanlar gümüş nanopartikülün hem oluşumu hemde stabilizasyonu bakımından önemlidir. Özellikle fenolik bileşenler olarak bitkisel materyal bünyesinde bulunan terponoidler, flavonoidler, polifenoller, alkaloidler, proteinler ve karbonhidratlar bu amaca hizmet etmektedir (Rajan, vd., 2015).

Raja, vd. (2017), ve Singh, vd. (2018) zeta potansiyeli bakımından sırasıyla *Calliandra haematocephala* ve *Cannabis sativa* aracılığıyla elde edilen AgNP'lerin değerini  $-17.2$  mV,  $-29.2$  mV olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca elde edilen değerlerdeki farklılığın bitkisel kaynağın türü, kullanılan bitki kısımları ve içerdiği bileşen çeşitliliğinden kaynaklandığını da bildirmişlerdir.

Üç farklı *Sideritis* türü Au, Ag ve Fe NP'lerinin yeşil sentezi için kullanılmış ve karakterizasyonlarının yanı sıra sentezlenen NP'ler Alzheimer, diabet ve deri hastalıklarıyla ilgili bazı enzimlerin inhibisyonunda test edilmişlerdir. Elde edilen tüm NP'lerin farmasötik yeni ilaç kaynakları olabilecekleri saptanmıştır (Ceylan, 2020).

Mısır'da sentezlenen AgNP'lerin buğday tohumlarının kök, gövde uzunluğu ve çimlenmede azalmaya neden olduğu bununla birlikte kök sayısında artış görüldüğü bildirilmiştir (Eren, 2020).

Rasheed, vd. (2017), yeşil sentez NP'lerin yuvarlak ve 25 nm boyutta ve partiküllerde düzensizlik olduğunu bildirmişlerdir.

Nartop (2017), hava civa otu kullanılarak sentezlediği AgNP'lerin yüzey sterilantı olarak kullanılma potansiyelini ortaya koymuştur.

Paosen, vd. (2017), farklı bitkileri kullanarak sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonları sonucunda boyutlarının 5-55 nm arasında değiştiğini belirlemişler ve bazı bakterilere karşı antibakteriyal etkilerini ortaya koymuşlardır.

Sana ve Dogiparthi (2018), AgNP sentezinde *Givotia moluccana* bitkisinin kullanmışlar ve hücre duvar yapısı bakımından pozitif ve negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite sergilediğini bulmuşlardır.

Kiraz sapı özütü kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonu yapılmış ve *E. coli* 0157:H7, *S. enterocolitica*, *L. monocytogenes* ASKK472 ve *S. typhimurium* ATTC 14028 bakterilerine karşı yüksek antibakteriyal aktivitesi bildirilmiştir (Karagöz, 2020).



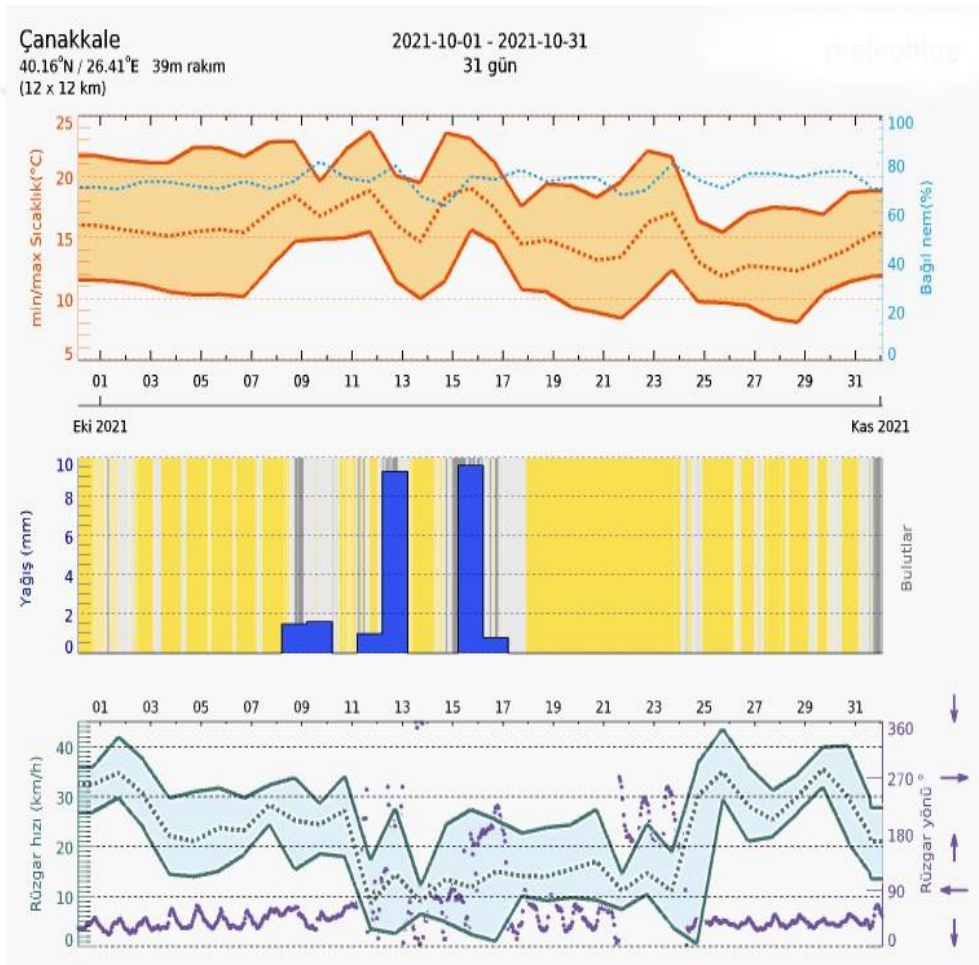


## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM MATERYAL VE YÖNTEM

### 3.1. Materyal

#### 3.1.1. Zeytin Yapraklarının Temini ve Ekstraksiyonu

Çalışmada kullanılan zeytin yaprakları (ZY) Çanakkale il merkezinde özellikle ÇOMÜ Terzioğlu kampüsünde bulunan zeytin ağaçlarından toplanmıştır. ZY'lerin toplandığı ay ve yıla ait bölgenin klimatolojik verileri Şekil 4' de gösterilmiştir.



Şekil 4. Zeytin yaprağı bitkisinin toplandığı bölge Çanakkale'nin klimatolojik verileri

([https://www.meteoblue.com/tr/hava/historyclimate/weatherarchive/Canakkale,01-31 Ekim 2021](https://www.meteoblue.com/tr/hava/historyclimate/weatherarchive/Canakkale,01-31%20Ekim%202021))

ZY'ler, oda sıcaklığında kurutmanın ardından toz partiküllerinden arındırmak için saf su ile yıkanmıştır. Parçalanmış kuru ZY'ler 7 dk boyunca 100 mL steril distile su içinde kaynatma işlemiyle ekstrakte edilmiştir (Şekil 5). Hazırlanan ekstrakt nanopartikül sentezi yapılana kadar buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmiştir (Bayğu, 2020).

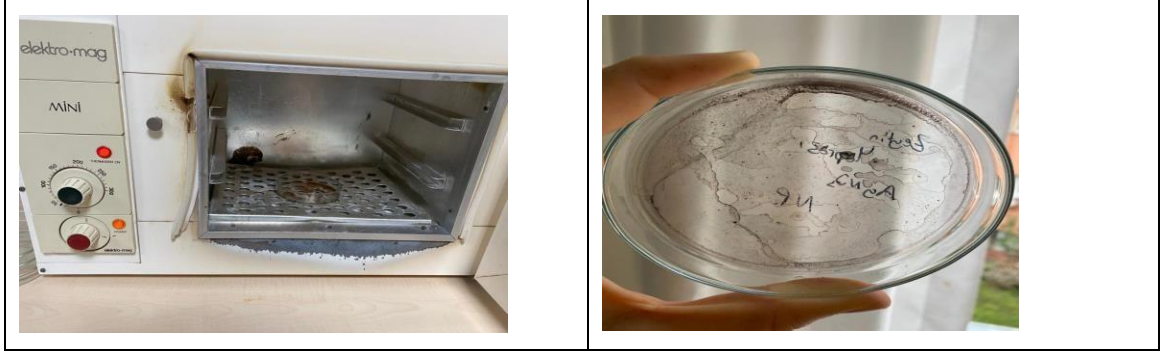


Şekil 5. Zeytin yaprak ekstraksiyonu

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Yeşil Sentez Yöntemi ile Gümüş Nanopartikül (AgNP) Eldesi

Hazırlanan zeytin yaprak ekstraktı (ZE) ile  $\text{AgNO}_3$  çözeltisi (1 mM 500 mL) 25 °C'de erlen içinde gümüş iyonlarının indirgenmesi sonucu kahverengi olmasını beklediğimiz koyu renk oluşumu meydana gelene kadar reaksiyona tabi tutulmuştur. Santrifüj (10.000 rpm'de 5dk) işleminin ardından sıvı faz uzaklaştırılıp kalan katı faz saf su ile birkaç yıkama yapılmıştır. Oluşan AgNP etüvde (65°C'de 48 saat) kurutulmuştur (Bayğu, 2020), (Şekil 6).



Şekil 6. Etüvde kurutma sonucu

### 3.2.2. AgNP'nin Morfolojik Karakterizasyonu

Sentezlenen nanopartiküllerin gösterdikleri kimyasal ve toksik özellikleri ile biyolojik aktiviteleri partikülün şekli, boyutu, yükü vb. pek çok özellik tarafından belirlenmektedir. Bu nedenle, nanopartikül karakterizasyonun yapılması ve bu amaçla doğru tekniklerin kullanılması oldukça önemlidir (Bayğu, 2020).

Bu tez çalışmasında da sentezlenen AgNP'nin karakterizasyonu için literatürde de kullanıldığı saptanmış aşağıdaki metodlar uygulanmış ve bu teknikler için hizmet alımı yapılmıştır. Hizmet alım işlemlerinin bir kısmı Kastamonu Üniversitesi Merkez Laboratuvarı (MERLAB) bir bölümü ise Erzurum Atatürk Üniv. Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (DAYTAM) gerçekleştirilmiştir.

**Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) analizi;** TEM, nanopartiküllerin morfoloji ve kimyasal içeriği hakkında bilgi veren bununla birlikte NP'lerin yığın oluşturması, büyüklüğü, yapısal ve şekilsel düzlemini açıklayan önemli tekniklerden biridir (Farré, vd., 2009; Ren, vd., 2009). Boyut ve karakterizasyon için sentezlenen AgNP farklı açılardan görüntülenmiştir. DAYTAM'da hizmet alımı şeklinde analiz yapılmıştır.

**Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) analizi;** SEM analizi, NP'lerin doğrudan iletken malzeme ( $3 \text{ \AA}$ /saniye ince bir tabaka Au) ile kaplanarak moleküler düzeyde net görüntü elde edilmesini sağlayan bir diğer boyut, şekil ve yüzey morfolojisini açıklayan yöntemdir (Ali, vd., 2016). SEM analizi, Kastamonu Üniversitesi Merkez Laboratuvarı (MERLAB)'da hizmet alımı olarak gerçekleştirilmiştir.

**Enerji Dağılım X-RAY Spektroskopisi (EDS) analizi:** Sentezlenen NP'lerin yüzeysel element kompozisyonunun belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir. Böylece elementlerin genel bir haritalaması yapılmış olur. EDS analizi hizmet alımı olarak SEM analizyle beraber MERLAB'dan alınmıştır.

**UV Görünür Alan (UV-Vis) spektroskopi analizi;** NP'lerin yapı, boyut büyüklüğü, stabilite ve yoğunluğu hakkında fikir veren bir diğer teknik olup (Sapsford, vd., 2011); sentezlenen AgNP'ler 200-875 nm arasındaki dalga boylarında ölçümleri Biyoloji Bölümü Moleküler Toksikoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.3. AgNP'nin Biyofarmakolojik Aktivite Yöntemleri**

#### **Antimikrobiyal Aktivite Yöntemleri**

##### **Disk Difüzyon Yöntemi**

Sentezlenen AgNP'nin antimikrobiyal bakteriyel aktivitesi, Kirby-Bauer disk difüzyon deneyi ile değerlendirilmiştir (Erci, 2018). Antimikrobiyal, antibiyofilm ve hücre bileşenlerinin salınımı çalışmalarında Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU'nun kişisel kültür koleksiyonunda yer alan toplam 8 adet mikroorganizma kullanılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1

Çalışmamızda kullanılan mikrobiyal kültürler

No	Mikroorganizmalar	Kültür koleksiyon numarası
1	<i>Acinetobacter baumannii</i> (Gram -)	ATCC 19606
2	<i>Escherichia coli</i> (Gram -)	NRRL B 3704
3	<i>Proteus vulgaris</i> (Gram -)	ATCC 13315
4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram -)	ATCC 27853
5	<i>Bacillus subtilis</i> (Gram +)	ATCC 6633
6	<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram +)	ATCC 6538P
7	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (Gram +)	ATCC 43252
8	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231

### Mikrodilüsyon Yöntemi

AgNP'nin mikrobiyostatik [minimum inhibitör konsantrasyonun (MİK)] aktivitesi tüp dilüsyon yöntemi kullanılarak ortaya konmuştur. Elde edilen MİK değerlerinden yola çıkılarak Mueller Hinton Agar (MHA) içeren petrielerde bakterisidal aktivite [Minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK)] çalışılmıştır (Hammond ve Lambert, 1978; CLSI, 2006).

### Hücre Bileşenlerinin Sahnımı Tayini

AgNP'lerin mikrobiyal hücrelerde sebep olduğu zar hasarı tayini besi ortamına salınan hücre bileşenlerinin ölçümü ile belirlenmektedir (Mittal, vd., 2013). MİK ve 2xMİK konsantrasyonda hazırlanan AgNP'ler, test kültürleriyle birleşmesinin ardından 37°C'de 4 saat santrifüj edilmiş (8000 rpm, 10 dakika) ve elde edilen süpernatantın absorbansı (260 nm ve 280 nm) ölçülmüştür (Erci, 2018).

## **AgNP'lerin *S. aureus* Büyüme Kinetiği Üzerindeki Etkisinin Belirlenmesi**

AgNP'lerin bakteriyal büyüme kinetiğine etkisi *S. aureus* bakterisi (0.1 absorbans değerinde 37 °C'de 14 saat inkübe edilmiş) kullanılarak 6.25 ve 3.13 µg/mL konsantrasyonda AgNP ile inkübe edilip; 2, 6, 10 ve 14. saatlerde absorbanslarının (540 nm'de) ölçümü ile belirlenmiştir (Erci, 2018). Pozitif kontrol ve negatif kontrollere de testte yer verilmiştir.

## **AgNP'nin Antibiyofilm Aktivite Tayini**

Tüm test kültürlerine AgNP'nin etkisi 180 µL Mueller Hinton Broth besiyerinde (MHB), mikrobiyal inokulant (10 µL) ve NP çözeltisi (10 µL) karışımının inkübasyon süresi sonunda 620 nm de çoklu plaka okuyucuda ölçülmesiyle yapılmıştır (Merritt, vd., 2005). AgNP'ler MİK ve MİK/2 konsantrasyonlarında kullanılmıştır.

% biyofilm inhibisyonu =  $[1 - (\text{OD}_{620} \text{ AgNP'lerle işlem görmüş hücreler} / \text{OD}_{620} \text{ negatif kontrol}) \times 100]$

## **Antioksidan Aktivite Testleri**

### **Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH)**

DPPH tayini Blois, (1958) methoduna göre yapılmıştır. 2,2-difenil- 1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılarak yapılmış olup absorbans değeri 517 nm'de alınmıştır. Çalışma standartı BHT'dir. Absorbans değerleri (A) kontrole göre değerlendirilmiştir.

% inhibisyon =  $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$

### **Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan (CUPRAC) Kapasite Belirleme Tayini**

CUPRAC çalışması Apak vd, (2005) yöntemine göre yapılmıştır.

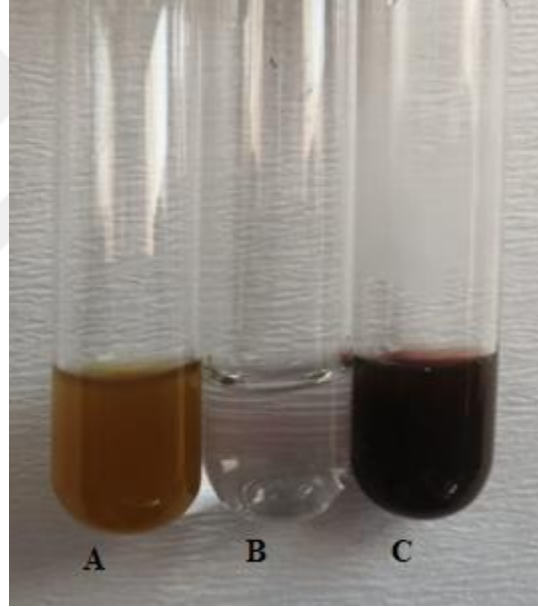
## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

### ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 4.1. Sentezlenen AgNP'nin Karakterizasyon Analizi Bulguları

##### 4.1.1. Zeytin Yapraklarından AgNP Sentezi

Zeytin yapraklarının aracılık ettiği AgNP sentezinin oda sıcaklığında 2 saatte gerçekleştiği renk değişimi gözlemiyle tespit edilmiştir (Şekil 7). Buna göre yapılan gözlemlerde 2 saat sonunda sarı renkten kahverengiye geçiş olduğu ve bu durumun herhangi bir toksik kimyasal veya enerji girdisi gerektirmeden gerçekleştiği de belirlenmiştir.

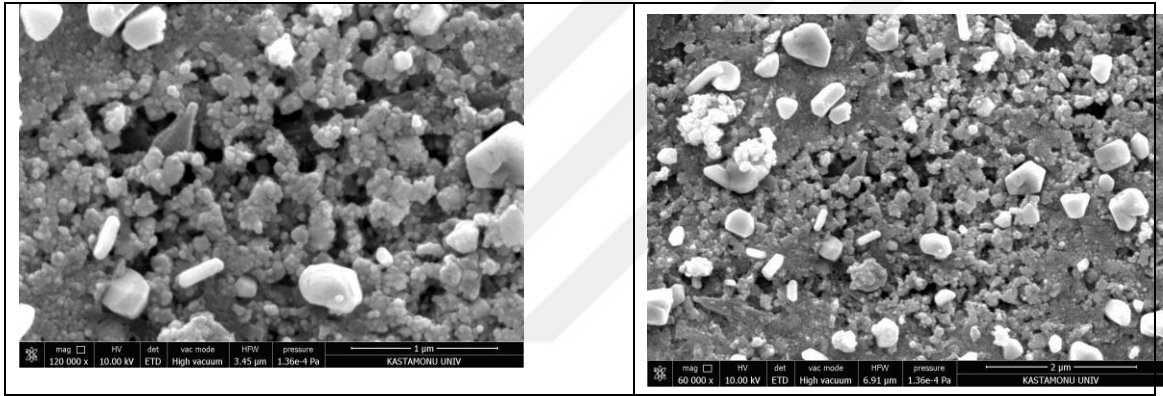


Şekil 7. AgNP sentez renk değişimi görünümü (A: ZE; B: AgNO<sub>3</sub> Çözeltisi; C: ZEAgNP)

##### 4.1.2. SEM ve EDS Bulguları

SEM ve EDS analizi, AgNP'lerin küresel yapısını kanıtlamak için SEM ve EDS yöntemleri kullanılmıştır. EDS, partikülü meydana getiren elementlerin kalitatif ve kantitatif özelliklerini belirlemektedir (Erci, 2018). EDS spektrumu 3 keV lik sinyalle AgNP'lerin oluşumunu kanıtlamaktadır (Albright, 2008).

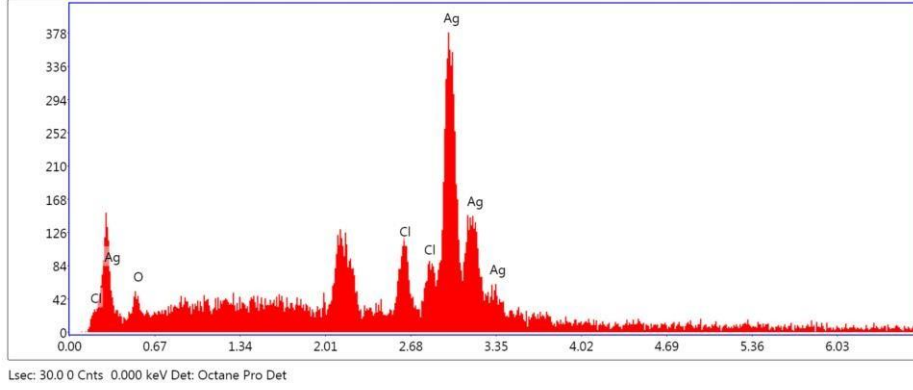
AgNP'lerin morfolojisi SEM karakterizasyon analizleri ile belirlenmiştir. SEM nano yapıların yüzey morfolojilerini ortaya koymada kullanılan en önemli tekniklerdendir. AgNP numunesinin SEM görüntüleri Şekil 8'de verilmiştir. Gümüş nanoparçacıkların bitki üzerinde ve 49-89 nm aralığında değişen boyutlarda olduğu ve gelişigüzel dağıldığı tespit edilmiştir. Normal yapısı küresel olan AgNP'lerin, görüntülemeye tam bir küresel yapıya sahip olmayan uzantılanmış bir yapıda olması sentez esnasında iki veya daha fazla sayıda AgNP'lerin agregasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu durum literatürdeki diğer çalışmalarla uyum içerisindedir (Tamuly, vd., 2013).



Şekil 8. AgNP'lerin SEM görüntüsü

Elde edilen nanopartiküldeki elementlerin varlığı EDS analizi ile doğrulanmıştır. Buna göre EDS spektrumunda 3 keV'taki zirve gümüş atomlarına ait iken diğer piklerin klor (Cl) ve oksijene'e ait olduğu saptanmıştır (Şekil 9). Bu piklerin yağda bulunan fenolik ve flavonoid bileşenlerden kaynaklandığı bildirilmektedir (Veisi, vd., 2019).





Şekil 9. AgNP'lerin EDS spektrumu

AgNP'lerin EDS analizine göre, içerdiği her elementin ağırlıkça yüzdesi Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2

AgNP'nin EDS analizine göre içerdiği elementlerin ağırlıkça yüzdeleri

Element	Ağırlık yüzdesi
O	4.86
Cl	7.29
Ag	87.85

Rashidipour ve Heydari (2014), zeytin yapraklarından AgNP sentezinde optimizasyon koşullarını belirledikleri çalışmalarında sıcaklık, ekstraksiyon süresi, pH, gümüş nitrat konsantrasyonu ve bitki miktarını karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. Bununla birlikte MCF-7 hücreleri üzerine sitotoksik etkilerini de irdelemişlerdir. Optimum AgNP sentezinde Ag konsantrasyonunu 1 mM, ekstrakt konsantrasyonunu %8 w/v; pH = 7, 4 saat inkübasyon ve 45 °C sıcaklık olarak bildirmişlerdir. Sentezlenen AgNP'lerin SEM analizine göre sferik şekilli ve ortalama 90 nm boyuta sahip olduğunu da tespit etmişlerdir.

Khalil, vd., (2014) ve Nasir, vd., (2016), sentezledikleri AgNP'lerin SEM analizinde sırasıyla ortalama 20–25 nm ve 50 nm boyutta, sferikal morfolojide ve homojen dağılımda olduğunu tespit etmişlerdir.

Alhajri, vd. (2019), zeytin- AgNP sentezi ile elde ettikleri ürünün SEM analizinde sferik şekilli ve ortalama 20-40 nm boyutta olduğunu bildirmişlerdir.

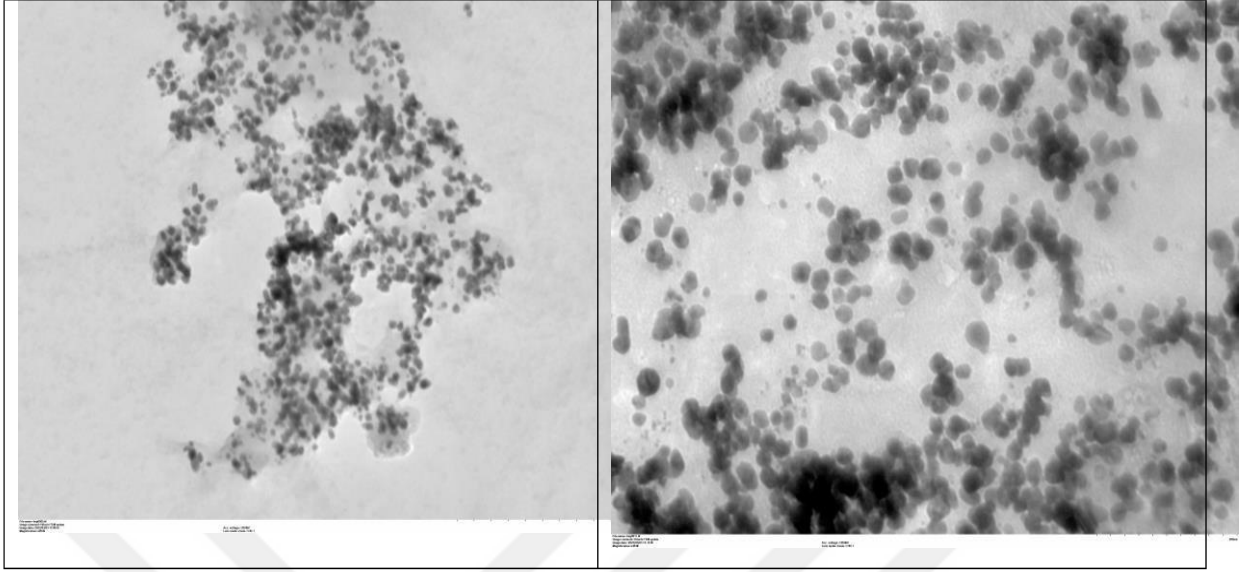
Matteis, vd., (2019) farklı zeytin türlerinde elde ettiği AgNP'lerin ortalama  $35 \pm 8$  nm boyutta, triangular ve hegzagonal şekilli olduğunu belirlemişlerdir.

Sellami, vd. (2021), zeytin yapraklarından sentezlediği AgNP'nin TEM analizine göre sferikal morfolojide ve uniform dağılım gösterdiğini, NP boyutlarının ise ortalama 8 nm (5-14 nm arasında değişen) olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte EDS analizi ile ana bileşenin Ag olduğunu doğrulamışlar ve Ag ile oksijen, nitrojen ve karbon pikleri saptamışlardır. Ayrıca piklere sebep olan bileşenlerin bitki yüzeyinden absorbe edilen fitokimyasallar (alkaloidler, polifenoller, flavonoidler vb.) olabileceği de bildirilmiştir.

Çalışmamızda SEM ve EDS analiz bulguları yukarıda verilen literatür bilgileriyle örtüşmektedir. AgNP boyutlarındaki farklılıkların sentez basamaklarındaki süre, ekstrakt konsantrasyonu ve toplanan zeytin yapraklarının fitokimyasal bileşen kompozisyonuna bağlı olarak değiştiği düşünülmektedir. SEM ve EDS analizleri sonucunda hem küresel formda hemde hücre içine girebilecek boyuta sahip olan nanopartiküllerin biyolojik ve tıbbi çalışmalarda kullanılabilme potansiyeli olduğu bilinmektedir (Erdoğan, vd., 2019). Elde ettiğimiz AgNP'lerde bu amaçla kullanılabilir morfolojidedir.

#### **4.1.3. TEM Analizi Bulguları**

Partikül boyutu ile şekil olarak neredeyse küresel olan AgNP'lerin TEM görüntüsü 51-56 nm arasında değişmektedir (Şekil 10). TEM görüntüleri, küçük partikül agregatlarının, kapatıcı bir organik ajan görevi gören ince bir organik tabaka ile kaplandığını ortaya çıkarmıştır. Bu aynı zamanda nanopartiküllerin biyo-indirgenmiş sulu çözelti içinde, makroskopik ölçekte bile çok iyi bir dağılım gösterdiği gerçeğini açıklayabilmektedir (Kouvaris, vd., 2012).



Şekil 10. AgNP'lerin TEM görüntüsü

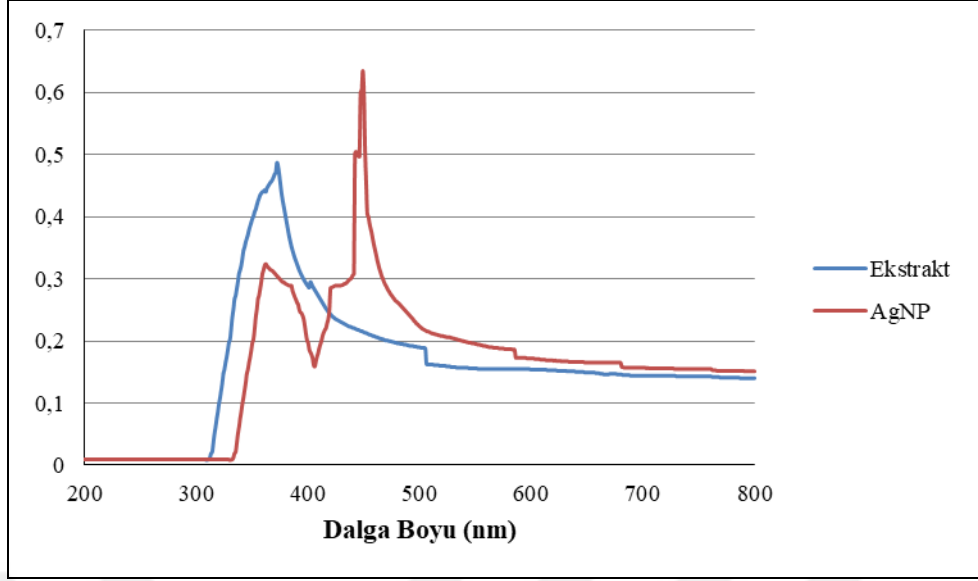
Sellami, vd., (2021) tarafından elde edilen TEM analizlerine göre çalışmamızda elde edilen NP boyutları çok daha büyüktür. Bu durumun partikül sentez sürecindeki tüm bileşenlerdeki farklılıklara dayandığı düşünülmektedir.

#### 4.1.4. UV-Vis Analizi Bulguları

ZE ve sentezlenen AgNP'nin UV-Vis spektrumu sırasıyla 372 ve 449 nm'de net pikleri tespit edilmiştir (Şekil 11).

Atalar, vd. (2022), tarım atığı olan zeytin yapraklarından sentezlediği AgNP'nin UV-Vis analizinde maksimum absorptans değerini 433.5 nm olarak saptamışlardır.

Elde edilen yüzey plasmon rezonans (SPR) bantları, AgNP'ler için literatürdeki verilerle benzerlik göstermekte olup AgNP sentezlendiğini kanıtlamaktadır (Khalil, vd., 2014; Rashidipour ve Heydari, 2014; Alhajri, vd., 2019; Sellami, vd., 2021; Atalar, vd., 2022).



Şekil 11. ZE ve AgNP UV-Vis spektrumu

## 4.2. AgNP'nün Biyofarmakolojik Aktivite Bulguları

### 4.2.1. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları

Zeytin yaprak ekstraktı (ZE) ve AgNP'lerin disk difüzyon metoduna göre zon çapları (Şekil 13-14), MİK (Şekil 15) ve MBK bulguları Tablo 3'de verilmiştir. Disk difüzyon metodu ile yapılan taramada ZE'nin *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. haemolyticus* ATCC 43252 bakterilerine karşı mukayese antibiyotiğinden yüksek; *C. albicans* ATCC 10231'e karşı ise mukayese antibiyotiğine eşit oranda antagonistik etkisi saptanmıştır. AgNP'ün ise *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. vulgaris* ATCC 13315 ve *A. baumannii* ATCC 19606'ya karşı mukayese antibiyotiğinden yüksek antibakteriyal etkisi gözlenmiştir.

AgNP MİK bulgularında da disk difüzyon sonuçlarına benzer şekilde *P. vulgaris* ATCC 13315 (0.625 µg/mL) ve *A. baumannii* ATCC 19606 (2.5 µg/mL) bakterilerine karşı S10 mukayese antibiyotiğinden daha yüksek bakteriyostatik etki saptanmıştır. Bu durum MBK bulgularıyla da desteklenmiştir.

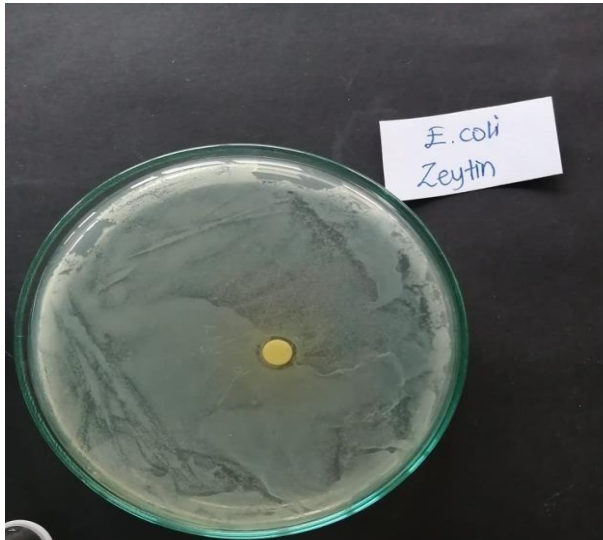
Tablo 3

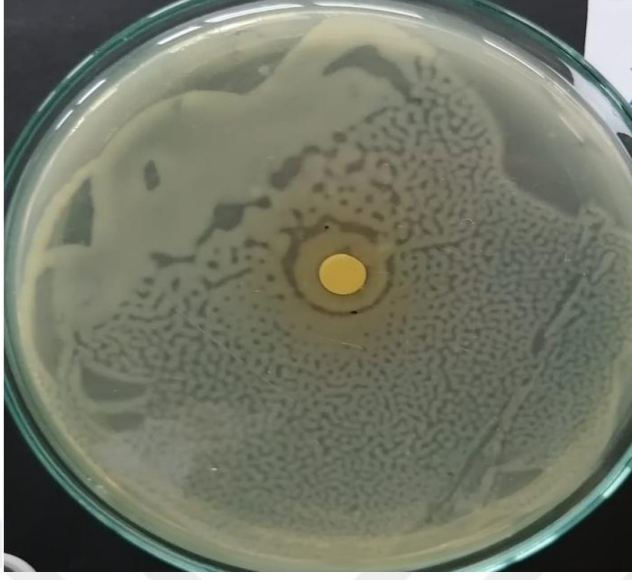
Zeytin yaprak ekstraktı ve AgNP'lerin antimikrobiyal aktivite bulguları

Test Kültürleri	Antimikrobiyal Test Yöntemleri									
	*Disk Difüzyon <sup>a</sup>		Kontrol (mm)		MİK (µg/mL)				MBK	
	ZE	AgNP	P10	NY100	ZE	AgNP	S10	NY100	ZE	AgNP
<i>E. coli</i>	9.0	8,0	16.0	D	10.0	10.0	4.0	D	10.0	10.0
<i>P. aeruginosa</i>	<b>14.0</b>	<b>12.0</b>	8.0	D	5.0	5.0	1.0	D	5.0	5.0
<i>P. vulgaris</i>	8.0	<b>14.0</b>	13.0	D	1.25	<b>0.625</b>	4.0	D	1.25	0.625
<i>B. subtilis</i>	8.0	9.0	14.0	D	20.0	20.0	2.0	D	20.0	20.0
<i>S. haemolyticus</i>	<b>17.0</b>	10.0	14.0	D	1.25	10.0	4.0	D	1.25	10.0
<i>A. baumannii</i>	11.0	<b>17.0</b>	12.0	D	10.0	<b>2.5</b>	4.0	D	10.0	<b>2.5</b>
<i>S. aureus</i>	12.0	12.0	15.0	D	10.0	10.0	5.0	D	10.0	10.0
<i>C. albicans</i>	<b>16.0</b>	8.0	D	16.0	0.625	10.0	D	2.5	1.25	10.0

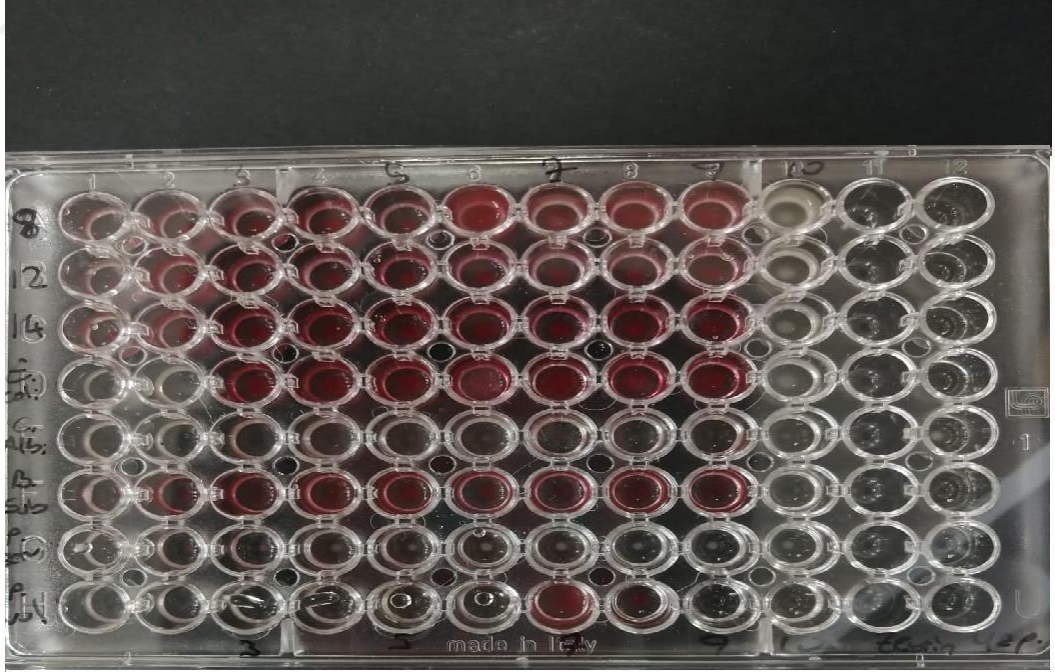
ZE: Zeytin yaprak ekstraktı (\*): Rakamlar İnhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir.

P10 = Penisilin (10ug/disc); NY100: Nistatin (100 ug/disc); S10: Streptomisin (10 ug/disc); D: Denenmedi

Şekil 12. Zeytin yaprak ekstraktının *E. coli* NRRLB 3704 test bakterisine karşı disk difüzyon bulguları



Şekil 13. AgNP ekstraktının *A. baumannii* ATCC 19606 test bakterisine karşı disk difüzyon bulguları



Şekil 14. AgNP'nin MİK görüntüsü

Literatür taramalarında zeytin yapraklarıyla yapılan AgNP sentez çalışmalarında farklı antimikrobiyal aktivite bulguları saptanmıştır.

Khalil, vd., (2014) zeytin yapraklarının su ekstraktından elde edilen AgNP'lerin 0.03–0.07 mg/mL konsantrasyonlarında *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *E. coli* bakterilerine karşı yüksek antibakteriyal aktivitelerini tespit etmişlerdir.

Sellami, vd., (2021) zeytin AgNP'lerinin ticari antibiyotiklere eşit düzeyde *B. subtilis*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* test bakterilerine karşı logaritmik azalmaya sebep olduğunu ve buna benzer yüksek antibakteriyal etkinin sadece zeytin yapraklarından elde edilen ekstraktta olduğunu bildirmişlerdir. Bu durumun ise zeytin AgNP'lerin EDX analiziyle de kanıtlanan fiziksel özellikleri ve bitki ekstraktından sekonder metabolit absorpsiyonu yapmalarına bağlı olacağını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada iki bakteri grubundan Gram negatiflere karşı daha yüksek MİK bulgularının ise Gram negatif bakterilerin hücre duvar kompozisyonundan dolayı partikülün kolay penetrasyonuna bağlı olabileceği belirtilmiştir.

Atalar, vd. (2022), zeytin yaprak atıklarının sentez ürünü AgNP'nin, *B. subtilis*, *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *E. coli* test kültürlerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlar ve tüm patojenlere karşı 0.03–1.0 mg/mL arasında değişen oranlarda üreme baskılayıcı bir aktivite tespit etmişlerdir. En düşük MİK değeri 0.06 mg/mL ile *S. aureus* bakterisine karşı, en yüksek MİK değeri ise 1.00 mg/mL ile *C. albicans* maya kültürüne karşı elde edilmiştir.

Çalışmamızda elde edilen bulgular yukarıdaki literatür bilgileriyle örtüşmekte olup; özellikle *P. vulgaris* ve *A. baumannii* bakterilerine karşı elde edilen yüksek antagonistik etki Sellami, vd., (2021) tarafından belirtilen AgNP'lerin Gram negatif bakteriler üzerine yüksek etki mekanizmasını bir kez daha kanıtlar niteliktedir.

AgNP'lerin sahip olduğu yüksek antimikrobiyal etkinin sebebi tam olarak bilinmemekle beraber, bu mekanizmanın aydınlatılması için pek çok çalışma yapılmaktadır. Ag iyonlarının taşıdığı pozitif yükün mikroorganizmalarla etkileşimde meydana gelen antagonistik etkinin en önemli sebebi olduğu düşünülmektedir (Klueh, vd.,

2000). Sahip olunan pozitif yükün özellikle negatif yüklü bakterilerle elektrostatik çekime neden olduğuna dair çalışmalar Ag partikülün önemli bir bakterisidal ajan olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca nanometre ölçeğinde olan AgNP'lerin mikroorganizmaya penetrasyon için geniş yüzeye sahip olması (Feng, vd., 2000), AgNP'lerin bakteriyal membranlardaki sülfür grupları içeren proteinleri ve fosfor içeren DNA gibi bileşiklerle etkileşime girip fonksiyonlarını inhibe edebilmeleri bakteriyal mitokondride solunum zincirine bağlanarak mikroorganizmayı öldürme kapasitesinin bulunduğunu ortaya koyan çalışmalar mikroorganizmalara karşı AgNP'lerin antagonistik etkisinin diğer önemli kanıtlarıdır (Sondi ve Salopek-Sondi, 2004). Bu nedenle yüksek antimikrobiyal etkiye sahip zeytin yaprakları gibi bitkisel ajanlarla bir araya getirilip sentezlenmesi sağlanan AgNP'lerin oluşacak yüksek sinerjistik etki sebebiyle, mevcut antibiyotiklere karşı mikrobiyal dirence karşı yeni bir strateji olabileceği yapılan bu çalışmayla bir kez daha kanıtlanmıştır.

#### **4.2.2. Hücre Bileşenlerinin Salınımı Bulguları**

Biyosentezle elde edilen AgNP ürününün test kültürlerinde sebep olduğu membran hasar Tablo 4'te verilmiştir. Buna göre antimikrobiyal aktivite bulgularıyla korelasyon gösterecek şekilde en yüksek değer *A. baumannii* ve *P. vulgaris* (OD<sub>260</sub> ve OD<sub>280</sub>'de sırasıyla 0.41 ve 0.42; 0.36 ve 0.41) bakterilerine karşı elde edilmiştir.

Zar sistemlerindeki hasar hücre bileşenlerinden özellikle protein ve nükleik asitlerin parçalanması ve bu değerlerin 260-280 nm'deki absorbanları ölçülmektedir (Mittal, vd., 2013). Çalışmamızda elde edilen bulgular tüm test kültürlerinde mikrobiyal membranların doza bağlı olarak artan oranlarda parçalandığını ve bunun devamında periplazmik protein ve nükleik asitlerin ortama salındığını kanıtlamaktadır. Bulgularımız literatürdeki verilerle örtüşmektedir (Mittal, vd., 2013; Erci, 2018).

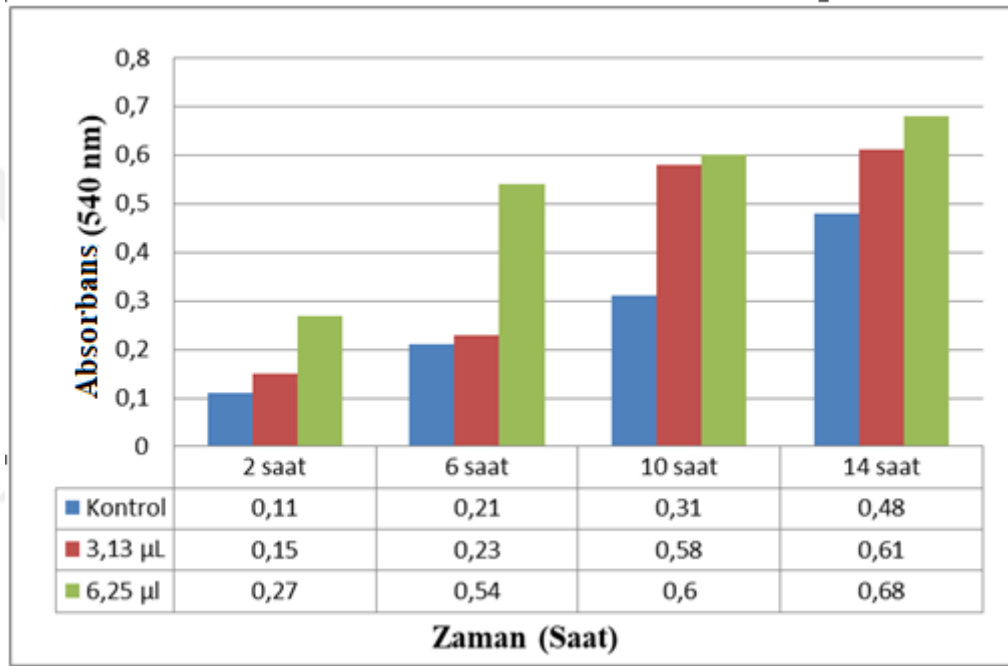


Tablo 4

AgNP uygulaması ile test kültürlerinin hücre bileşenlerinin salınım bulguları

Test Kültürü	AgNP konsantrasyonu	OD <sub>260</sub>	OD <sub>280</sub>
<i>A. baumannii</i>	0	0.003	0.009
	MİK	<b>0.36</b>	<b>0.39</b>
	2xMİK	<b>0.41</b>	<b>0.42</b>
<i>E. coli</i>	0	0.007	0.008
	MİK	0.15	0.22
	2xMİK	0.23	0.29
<i>P. vulgaris</i>	0	0.06	0.006
	MİK	<b>0.31</b>	<b>0.35</b>
	2xMİK	<b>0.36</b>	<b>0.41</b>
<i>P. aeruginosa</i>	0	0.005	0.004
	MİK	0.20	0.28
	2xMİK	0.31	0.32
<i>B. subtilis</i>	0	0.004	0.003
	MİK	0.21	0.27
	2xMİK	0.33	0.35
<i>S. aureus</i>	0	0.007	0.007
	MİK	0.20	0.28
	2xMİK	0.31	0.32
<i>S. haemolyticus</i>	0	0.009	0.008
	MİK	0.16	0.26
	2xMİK	0.23	0.29
<i>C. albicans</i>	0	0.007	0.006
	MİK	0.14	0.21
	2xMİK	0.22	0.28

Biyosentez ürünü AgNP'nin *S. aureus* test kültürünün büyüme kinetiği üzerindeki etkisi spektroskopik olarak ölçülmüş ve Şekil 16'da verilmiştir. Buna göre konsantrasyona ve zamana bağlı olarak özellikle 6.25 µg/mL konsantrasyonda AgNP'nin *S. aureus*'un büyümesini yavaşlattığı görülmektedir. AgNP'lerin bakteri büyüme kinetiği üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalar oldukça sınırlı olup elde edilen değerler Erci (2018) tarafından zahter, enginar ve nane bitkilerinden sentezlenen AgNP'lerin *S. aureus* büyüme kinetiği bulgularına benzerdir.



Şekil 15. AgNP'nin iki farklı konsantrasyonlarında *S. aureus*'a karşı kinetiğinin zamana bağlı değişimi

#### 4.2.3. Antibiyofilm Aktivite Bulguları

ZE ile AgNP'lerin MİK ve MİK/2 değerlerde biyofilm giderim yüzdesi bulguları Tablo 5'te verilmiştir. En yüksek biyofilm yüzdesi AgNP ve ZE'de sırasıyla %92.04±0.01 ve 81.04±0.01 oranla *A. baumannii* ATCC 19606 bakterisine karşı, en düşük giderim yüzdesi ise %22.75 ±0.22 oranla *E. coli* NRRLB 3704 bakterisine karşı ZE'den elde edilmiştir. Bununla birlikte değişen oranlarda da olsa tüm test kültürlerine karşı hem ZE hem de AgNP'lerin antibiyofilm aktivitesi saptanmıştır.

Planktonik yaşayan mikroorganizmalara nazaran içinde yaşayan canlılara dış faktörlere karşı önemli bir korunma şansı tanıyan biyofilm, özellikle patojenleri çevresel değişimlere karşı daha dirençli hale getirmektedir. Bu durum biyofilm oluşturabilen mikroorganizmalara karşı yeni ilaç üretme stratejilerini gerekli kılmaktadır. Son yıllarda yeni antibiyofilm stratejileri geliştirmek için bitkilerden nanopartikül sentezi ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır (Klueh, vd., 2000; Ramalingam, vd., 2014; Erci, 2018). Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar fitosentezle elde edilen nanopartiküllerin bitkilerin kompozisyonunda yer alan fitokimyasallarla sinerjik bir etkileşime girerek yüksek antibiyofilm etki gösterdiklerini ortaya koymuştur. Literatür bilgileri, zeytin yapraklarından sentezlenen AgNP'lerin antibiyofilm aktivitelerinin ilk kez çalışmamızda tespit edildiğini ortaya koymaktadır. Bulgularımız, fitosentez ürünü AgNP'lerin özellikle *A. baumannii* bakterisine karşı geliştirilecek yeni antibiyofilm ilaç kaynağı olabileceğini kanıtlar niteliktedir.

Tablo 5

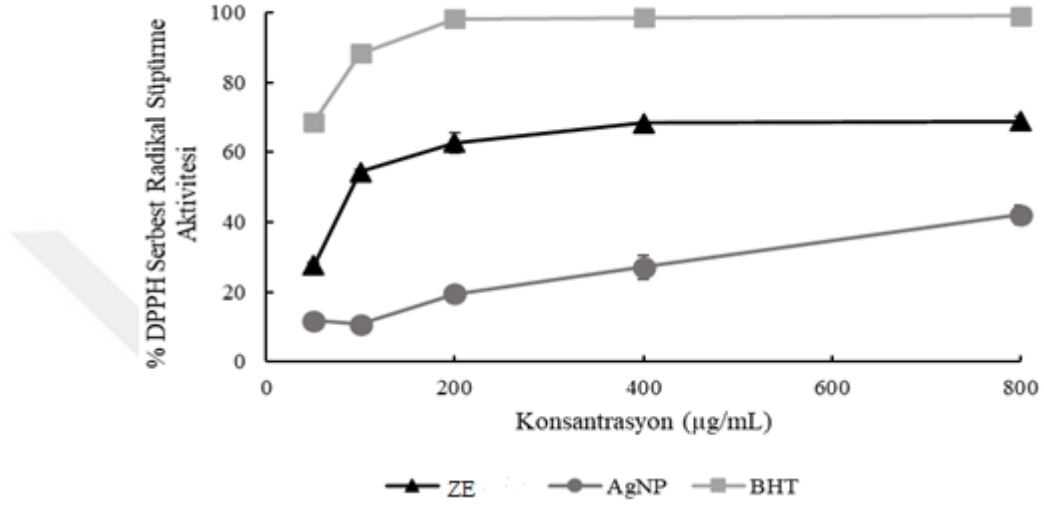
Zeytin yaprak ekstraktı ve AgNP'lerin antibiyofilm aktivite (% inhibisyon) bulguları

Test Kültürü	ZE		AgNP	
	MİK	MİK/2	MİK	MİK/2
<i>E. coli</i>	22.75 ±0.22	28.45±0.2	32.75 ±0.22	28.45±0.20
<i>P. aeruginosa</i>	47.51±2.10	27.51±2.10	<b>55.72± 0.12</b>	-
<i>P. vulgaris</i>	<b>50.40±1.60</b>	-	<b>57.12±0.25</b>	-
<i>B. subtilis</i>	30.78±1.20	-	35.12± 0.10	-
<i>S. haemolyticus</i>	46.12±0.11	-	<b>60.19±0.06</b>	-
<i>A. baumannii</i>	<b>81.04±0.01</b>	<b>54.12±0.12</b>	<b>92.04±0.01</b>	<b>54.12±0.12</b>
<i>S. aureus</i>	32.57±1.10	-	<b>58.41±1.12</b>	-
<i>C. albicans</i>	30.78±1.20	-	35.67±0.56	-

ZE: Zeytin yaprak ekstraktı

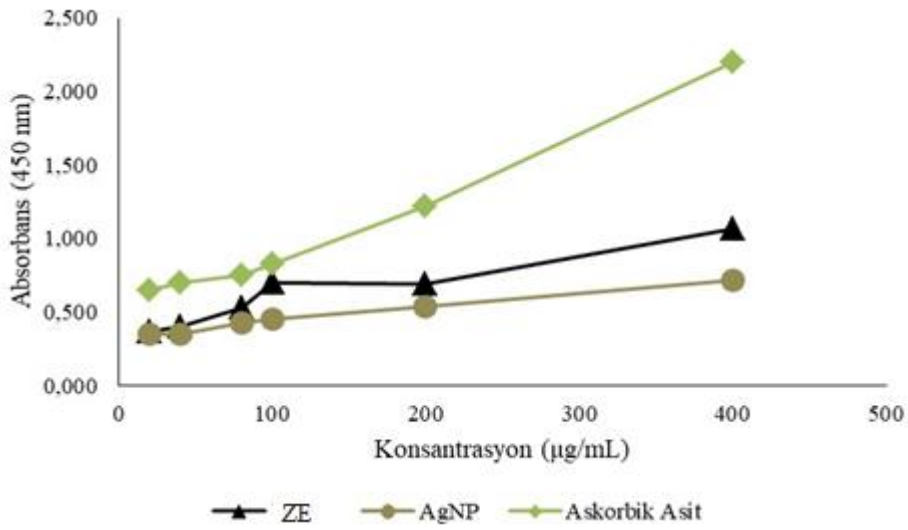
#### 4.2.4. Antioksidan Aktivite Bulguları

DPPH yöntemine göre zeytin ve sentez ürünü AgNP'nin antioksidan aktiviteleri Şekil 17'de verilmiştir. Zeytin bulgularına nazaran düşük olmakla birlikte AgNP ürününde konsantrasyona bağlı olarak artış gösteren antioksidan aktiviteye ulaşılmıştır.



Şekil 16. ZE ve AgNP karşılaştırmalı DPPH bulguları

CUPRAC yöntemine göre kontrol grubu askorbik aside göre düşük olmakla birlikte hem zeytin ekstraktında hem de AgNP ürününde önemli bir antioksidan aktivite belirlenmiştir (Şekil 18).



Şekil 17. ZE ve AgNP karşılaştırmalı CUPRAC bulguları

Literatürde ZE-AgNP bileşenlerine ait farklı biyolojik aktivite çalışmaları saptanırken antioksidan bulgularının oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Sellami, vd. (2021), ZE-AgNP'nin askorbik asit standardına ve ZE'ye göre yüksek antioksidan aktivitesini tespit etmişlerdir. Bu durumun bitkiden gelen elektron-zengin sekonder metabolitlerden (fenolik ve flavanoidler) kaynaklanan metal şelatlamaya bağlı olabileceğini bildirmişlerdir (Khan, vd., 2021; Sellami, vd., 2021).



## BEŞİNCİ BÖLÜM

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada ekonomik önemi yüksek zeytin ağacının önemli bir bileşeni olan zeytin yaprakları toplanarak AgNP sentezinde yeşil sentez materyali olarak kullanılabilirliği ortaya konmaya çalışılmıştır. Bu amaçla elde edilen AgNP'ün karakterizasyonu yapılmış; ürünün antimikrobiyal, antibiyofilm, antioksidan aktivitelerinin yanı sıra ilaç hammaddesi olabilme potansiyelini ortaya koymak amaçlı hücre bileşenlerinin salınımı testi ile *S. aureus* gibi önemli bir patojenin büyüme kinetiğine etkisi araştırılmıştır.

Elde edilen AgNP karakterizasyonu için kullanılan UV-Vis, SEM, EDS ve TEM analizleri sonucunda elde edilen veriler AgNP'nin başarılı bir şekilde sentezlendiğini ortaya koymaktadır. Tüm bu karakterizasyon çalışmaları sonucunda 50-90 nm büyüklüğünde küresel şekilli partiküller elde edilmiştir.

Bu tez çalışmasında sentezlenen AgNP'ün morfolojik özelliklerinin yanısıra antimikrobiyal aktivitesi de incelenmiş ve özellikle Gram negatif bakterilere karşı (*P. vulgaris* ve *A. baumannii*) yüksek aktivite belirlenmiştir. Benzer şekilde özellikle *A. baumannii* bakterisinin biyofilm oluşturma kapasitenin yüksek oranda giderildiği yapılan testlerle kanıtlanmıştır. Bu durum özellikle zeytin yapraklarıyla yapılan fitosentez çalışmalarında ilk kez elde edilen antibiyofilm bulguları olması bakımından da önemlidir. Antimikrobiyal aktiviteye benzer bir durum olarak en yüksek hücre membran hasarı *P. vulgaris* ve *A. baumannii* bakterilerine karşı elde edilmiştir. 6.25 µg/mL'lik konsantrasyonda AgNP'nin *S. aureus*'un büyümesini yavaşlattığı da ortaya konmuştur. Ayrıca AgNP'nin elde edilen antioksidan aktivite bulguları da kayda değer veriler olarak tespit edilmiştir. Bu durum sentezlenen AgNP'nin özellikle farklı medikal amaçlarla kullanılabilir bir ajan olduğunu ortaya koymaktadır.

Elde edilen veriler ışığında aşağıdaki maddeler halinde özetlendiği şekilde kapsamlı çalışmaların yapılması önerilmektedir.

- 1- AgNP'nin üretim koşullarında modifikasyonlar yapılarak çalışmamızda elde

ettiğimiz biyolojik aktivitelerin optimize edilebildiği üretim süreçleri belirlenmelidir.

2- Zeytin yapraklarının, kullanılacak farklı çözenler ve farklı optimizasyon koşulları ile Ag ve diğer biyolojik-ekonomik önemi olan nanopartiküllerin üretimi ve karakterizasyonunun yapılacağı yeni araştırmalar tasarlanmalıdır.

3- Çalışmamızda kullanılan metotlar dışında kıyaslamalı biyolojik aktivite (sitotoksikite, antiviral, antikanserojen aktivite vb.) denemeleri yapılmalıdır.

4- Kapsamlı çalışmalarla AgNP eldesinde gerçekleşen biyosentez yönteminin detaylı araştırılıp yeni biyosentetik NP formlarının oluşturulması süreçleri tespit edilmelidir.

5- Bitki sekonder metabolitleriyle AgNP etkileşimlerinin detaylı olarak mekanizmasının ortaya konabileceği fitokimyasal madde analizleri yapılmalıdır.

## KAYNAKÇA

- Albright, L., (2008). Albright's chemical engineering handbook: CRC Press.
- Alhajri, H. M., Al-Qahtani, W. S., Al Terary, S. S., Alrfaei, B. M. (2019). Synthesis of olive leaf extract silver nanoparticles Patent No.: US 10,702,550 B1.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. and Altun, M. (2005). Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)- neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. *Free Radical Research*, 39, 949–996.
- Atalar, M. N., Baran, A., Baran, M.F., Keskin, C., Aktepe, N., Yavuz, Ö., Kandemir, S.İ. (2022). “Economic fast synthesis of olive leaf extract and silver nanoparticles and biomedical applications”. *Particulate Science and Technology, An International Journal*, 40 (5), 589-597.
- Basmacıoğlu-Malayoğlu, H. B. ve Aktaş, B. (2011). “Zeytinyağı işleme yan ürünlerinden zeytin yaprağı ile zeytin karasuyunun antimikrobiyal ve antioksidan etkileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü. *Hayvansal Üretim*, 52 (1), 49-58.
- Bayğu, G. (2020). *Cimin üzümü yaprağı kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle elde edilen gümüş nanopartikülünün genotoksik etkisinin kanat benek testi ile belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi.
- Bayram, M., Topuz, S. ve Kaya, C. (2020). “Antioxidant, antimicrobial activity of olive leaf extract and *oleuropein*, their possibilities usage in foods”. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8 (2), 337-347.
- Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuno, A. and Del Rio, J. A. (2000). “Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves”. *Food Chemistry*, 68 (4), 457-462.
- Blois, M. S. (1958). “Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*,



26, 1199–1200.

Boisseau, P. and Loubaton, B. (2011). “Nanomedicine, nanotechnology in medicine. *Comptes Rendus Physique*, 12, 620-636.

Braun, G. B., Friman, T., Pang, H. B., Pallaoro, A., Mendoza, T. H., Willmore, A. M. A., Kotamraju, V. R., Mann, A. P., She, Z. G., Sugahara, K. N., Reich, N. O., Teesalu, T. and Ruoslahti, E. (2014). “Etchable plasmonic nanoparticle probes to image and quantify cellular internalization. *Nature Materials*, 13, 904–911.

Ceylan, R. (2020). “*Bazı sideritis ekstreleri kullanılarak yeşil sentez ile tekli ve hibrid nanomateryallerin sentezi ve bunların biyolojik aktiviteleri*”. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, (Doktora Tezi).

Choi, O., Deng, K.K., Kim, N.J., Ross, L., Surampalli, R.Y. ve Hu, Z. (2008). “The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth”. *Water Research*, 42 (12), 3066-3074.

Czerwińska, M., Kiss, A. K. and Naruszewicz, M. (2012). “A comparison of antioxidant activities of oleuropein and its dialdehydic derivative from olive oil, oleacein”. *Food Chemistry*, 131 (3), 940-947.

Çanakkale Ekim ayı meteorolojik verileri, (01-31.10.2021).  
<https://www.meteoblue.com/tr/hava/historyclimate/weatherarchive/Canakkale>.

da Rosa, C. G., de Melo, A. P. Z., Sganzerla, W. G., Machado, M. H., Nunes, M. R., Maciel, M. V. D. O. B., Bertoldi, F. C. and Barreto, P. L. M. (2020). “Application in situ of zein nanocapsules loaded with *Origanum vulgare* Linneus and *Thymus vulgaris* as a preservative in bread”. *Food Hydrocoll*, 99, 105339.

Dağdelen, A. (2016). “Identifying antioxidant and antimicrobial activities of the phenolic extracts and mineral contents of virgin olive oils (*olea europaea* L. cv. Edincik su) from different regions in Turkey”. *Journal of Chemistry*, Article ID 9589763, 1- 11.

- Deb, K. D., Griffith, M., Muinck, E. D. and Rafat, M. (2012). "Nanotechnology in stem cells research: advances and applications". *Front Biosci-Landmarked*, 17, 1747-1760.
- De Matteis, V., Rizzello, L., Ingrosso, C., Liatsi-Douvitsa, E., De Giorgi, M. L., De Matteis, G. and Rinaldi, R. (2019). "Cultivar-Dependent anticancer and antibacterial properties of silver nanoparticles synthesized using leaves of Different *Olea Europaea* Trees". *Nanomaterials*, 9 (11), 1544;
- Difonzo, G., Russo, A., Trani, A., Paradiso, VM., Ranieri, M., Pasqualone, A., Summo, C., Tamma, G., Silletti, R. and Caponio, F. (2017). "Green extracts from Coratina olive cultivar leaves: Antioxidant characterization and biological activity". *Journal of Functional Foods*, 31, 63-70.
- Dizaji, A. N. (2012). "*Rhodopseudomonas palustris* Kullanılarak Gümüş Nanopartiküllerin Üretimi". Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Duncan, T.V. (2011). "Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors". *Journal of Colloid and Interface Science*, 363 (1), 1-24.
- Erci, F. (2018). *Yeşil sentez ile elde edilen metal nanopartiküllerin antimikrobiyal ve antibiyofilm etkinliklerinin değerlendirilmesi*. Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, İstanbul. 12 s.
- Erdoğan, O., Abbak, M., Demirbolat, G. M., Birtekoçak, F., Aksel, M., Paşa, S. ve Çevik, O. (2019). "Green synthesis of silver nanoparticles via *Cynara scolymus* leaf extracts: The characterization, anticancer potential with photodynamic therapy in MCF7 cells". *PLoS One*, 14 (6), e0216496.

- Eren, A. (2020). “Biyolojik olarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin buğday (*Triticum aestivum* L.) tohumlarının çimlenmesine etkisi”. *ISPEC Tarım Bilimleri Dergisi*, 4 (2), 358-365.
- Farré, M., Gajda-Schrantz, K., Kantiani, L. and Barceló, D. (2009). “Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment”. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393, 81–95.
- Fayaz, A.M., Balaji, K., Kalaichelvan, P.T. ve Venkatesan, R. (2009). “Fungal Based Sentences of Silver Nanoparticles- An Effect of Temperature on the Size of Particles”. *Colloids Surf B Biointerfaces*: Bio 74, 123-126.
- Feng, Q. L., Wu, J., Chen, G., Cui, F., Kim, T. and Kim, J. (2000). “A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*”. *Journal of Biomedical Materials Research*, 52, 662-668.
- Fouda, M. M., Abdel-Halim, E. S. and Al-Deyab, S. S. (2013). “Antibacterial modification of cotton using nanotechnology”. *Carbohydrate Polymers*, 92, 943-954.
- Freeman, A. I., Halladay, L. J. and Cripps, P. (2012). “The effect of silver impregnation of surgical scrub suits on surface bacterial contamination”. *The Veterinary Journal*, 92 (3), 489-93.
- Gökmen, M., Kara, R., Akkaya, L., Torlak, E. and Önen, A. (2014). “Evaluation of antimicrobial activity in olive (*Olea europaea*) leaf extract”. *American Journal of Microbiology*, 5 (2), 37-40.
- Girilal, M., Fayaz A.M., Balaji P.M. and Kalaichelvan, P.T. (2013). Augmentation of PCR efficiency using highly thermostable gold nanoparticles synthesized from a thermophilic bacterium, *Geobacillus stearothermophilus*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 106, 165-169.
- Guo, L., Sun, Q., Gong, S., Bi, X., Jiang, W., Xue, W. and Fei, P. (2019). “Antimicrobial

activity and action approach of the olive oil polyphenol extract against *Listeria monocytogenes*. *Frontiers Microbiology*, 10, 1586.

Hammond, S. M, Lambert P.A. (1978): “*Antimicrobial Actions*”. Edward Arnold Ltd, London, 8–9.

Karagöz, M. (2020). “*Kiraz sapı özütü kullanarak yeşil sentez yöntemiyle elde edilen gümüş (ag) nanopartiküllerinin antibakteriyel özelliklerinin araştırılması*”. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanobilim ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı, (Yüksek Lisans Tezi), Burdur.

Khan, Y. (2007). *The great partition: The making of India and Pakistan*. Yale university press, London.

Khan, A.U., Khan, A. U., Li, B., Mahnashi, M. H., Alyami, B. A., Alqahtani, Y. S., Alqarni, A. O., Khan, Z. U. H., Ullah, S. and Wasim, M. (2021). “Biosynthesis of silver capped magnesium oxide nanocomposite using *Olea cuspidata* leaf extract and their photocatalytic, antioxidant and antibacterial activity”. *Photodiagnosis Photodyn.* 33, 102153.

Khalil, M. M. H., Ismail, E. H., El- Baghdady, K. Z., Mohamed, D. (2014). “Green synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and its antibacterial activity”. *Arabian Journal of Chemistry* 7, 1131-1139.

Khurana, C., Vala, A.K., Andhariya, N., Pandey, O.P. and Chudasama, B. (2014). “Antibacterial activity of silver: The role of hydrodynamic particle size at nanoscale”. *Journal of Biomedical Materials Research*, 102 (10), 3361-3368.

Klueh, U., Wagner, V., Kelly, S., Johnson, A. and Bryers, J. (2000). "Efficacy of silver-coated fabric to prevent bacterial colonization and subsequent device-based biofilm formation". *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 53, 621-631.

Korukluoglu, M., Sahan, Y., Yigit, A. ve Karakas, R. (2006). “Antifungal activity of olive

leaf (*Olea Europaea L.*) extracts from the Trilye region of Turkey”. *Annals of Microbiology*, 56 (4), 359.

Korukluoğlu, M., Şahan, Y., Yiğit, A., Tümay-Özer, E. ve Gücer, Ş. (2010). “Antibacterial activity and chemical constitutions of *Olea europaea L.* leaf extracts”. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34: 383-396.

Kotyzová, D., Hodková, A. and Eybl, V. (2011). “The effect of olive oil phenolics-Hydroxytyrosol and oleuropein on antioxidant defence status in acute arsenic exposed rats”. *Toxicology Letters*, 205, S222.

Kouvaris, P., Delimitis, A., Zaspalis, V., Tsiapas, S.A., Michailidis, N. and Papadopoulos, D. (2012). “Green synthesis and characterization of silver nanoparticles produced using *Arbutus Unedo* leaf extract”. *Materials Letters*, 76, 18-20.

Kreth, J., Merritt, J., Shi W. and Fengxia, Qi. (2005). “Competition and Coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the Dental Biofilm”. *ASM Journals Journal of Bacteriology*, 187, 21.

Kumar, V., Yadav, S. K. (2009). “Plant mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications”. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84 (2), 151-7.

Lateef, A., Ojo, S. A. and Oladejo, S. M. (2016). “Anti-Candida, Anti-Coagulant and thrombolytic activities of biosynthesized silver nanoparticles using cell-free extract of *Bacillus safensis* LAU 13”. *Process Biochemistry*, 51 (10), 1406-1412.

LaVan, D. A., McGuire, T. And Langer, R. (2003). “Small-scale systems for in vivo drug delivery”. *Nature Biotechnology*, 21, 1184-1191.

Liu, Y., McKeever, LC., Malik, NS. (2017). “Assessment of the antimicrobial activity of olive leaf extract against foodborne bacterial pathogens”. *Frontiers in Microbiology*, 8, 113.

- Mittal, A.K. Chisti, Y. and Banerjee, U.C., (2013). “Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts”. *Biotechnology advances*, 31, 346-356.
- Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramírez, J.T., and Yacaman, M.J. (2005). “The bactericidal effect of silver nanoparticles”. *Nanotechnology*, 16, 2346–2353.
- Narayanan, K. B. ve Sakthivel, N. (2010).” Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes”. *Adu, Colloid Interface, Sciences*, 156, 1-13.
- Nartop, P. (2017). “Use of biosynthetic silver nanoparticles in the surface sterilization of *Pyracantha Coccinea* stem explants”. *Pamukkale University, Journal of Engineering Sciences*, 23 (6), 759–61.
- Nasir, G. A., Mohammed, A. K. and Samir, H. F. (2016). “Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using Olive leaves Extract and Sorbitol. *Iraqi Journal of Biotechnology*, 15 (1), 22-32.
- Nematollahi, F. (2015). “Silver nanoparticles green synthesis using aqueous extract of *Salvia limbata* C. A. Mey. Research Paper. *International Journal of Biosciences*, 6 (2), 30-35.
- Nikalje, A.P. (2015). “Nanotechnology and its applications in medicine”. *Medicinal Chemistry*; 5 (2), 81-89.
- Paosen, S., Saising, J., Septama, A. W., and Voravuthikunchai, S. P. (2017). “Green synthesis of silver nanoparticles using plants from myrtaceae family and characterization of their antibacterial activity”. *Materials Letters*, 209, 201–206.
- Pereira, A. P., Ferreira, I. C., Marcelino, F., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., Estevinho, L., Bento, A. and Pereira, JA. (2007). “Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves”. *Molecules*, 12 (5), 1153- 1162.

- Ponarulselvam, S., Panneerselvam, C., Murugan, K., Aarthi, N., Kalimuthu, K. and Thangamani, S. (2012). "Synthesis of silver nanoparticles using leaves of *Catharanthus roseus* Linn. G. Don and their antiplasmodial activities". *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2 (7), 574-580.
- Qabaha, K., AL-Rimawi, F., Qasem, A., Naser, S. A. (2018). "Oleuropein is responsible for the major anti-inflammatory effects of olive leaf extract". *Journal of Medicinal Food*, 21 (3), 302-305.
- Raja, S., Ramesh, V. and Thivaharan, V. (2017). "Green biosynthesis of silver nanoparticles using *Calliandra haematocephala* leaf extract, their antibacterial activity and hydrogen peroxide sensing capability". *Arabian Journal of Chemistry*, 10 (2), 253- 261.
- Rajan, R., Chandran, K., Harper, S.L., Yun, S. and Kalaichelvan P.T. (2015). "Plant extract synthesized silver nanoparticles: An ongoing source of novel biocompatible materials". *Industrial Crops and Products*, 70, 356-373.
- Ramalingam, V., Rajaram, R., PremKumar, C., Santhanam, P., Dhinesh, P., Vinothkumar, S. and Kaleshkumar, K. (2014). "Biosynthesis of silver nanoparticles from deep sea bacterium *Pseudomonas aeruginosa* JQ989348 for antimicrobial, antibiofilm, and cytotoxic activity". *Basic Microbiology*, 54 (9), 928-936. Epub 2013 Oct 18.
- Rashidipour, M. and Heydari, R. (2014). "Biosynthesis of silver nanoparticles using extract of olive leaf: synthesis and in vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells". *Journal of Nanostructural Chemistry*, 4:112.
- Ren, G, Hu D., Cheng, EWC., Vargas-Reus, MA., Reip, P. ve Allaker, RP. (2009). "Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications". *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33, 587–90.
- Ricardo, P.N. and Lino F. (2010). "Stem cell research meets nanotechnology. *Revista Da Sociedade Portuguesa D Bioquimica*, CanalBQ 7, 38-46.

- Romero, M., Toral, M., Gómez-Guzmán, M., Jiménez, R., Galindo, P., Sánchez, M., Olivares, M., Galvez, J. and Duarte, J. (2016). "Antihypertensive effects of oleuropein-enriched olive leaf extract in spontaneously hypertensive rats". *Food & Function*, 7 (1), 584-593.
- Sabry, O. M. (2014). "Beneficial health effects of olive leaves extracts". *Journal of Natural Sciences Research*, 4 (19), 1-9.
- Salah, MB., Abdelmelek, H. and Abderraba, M. (2012). "Study of phenolic composition and biological activities assessment of *olive leaves* from different varieties grown in Tunisia". *Medicinal Chemistry*, 2 (5), 107-111.
- Salem, S. S. and Fouda, A. (2021). "Green synthesis of metallic nanoparticles and their prospective biotechnological applications: an overview". *Biological Trace Element Research*, 199 (1), 344-370.
- Sana, S. S. and Dogiparthi, L. K. (2018). "Green synthesis of silver nanoparticles using *Givotia Moluccana* Leaf Extract and evaluation of their antimicrobial activity". *Materials Letters*, 226, 47-51.
- Sapsford K., Tyner K., Dair B., Deschamps J., Medintz I. (2011). "Analyzing nanomaterial bioconjugates: a review of current and emerging purification and characterization techniques". *Analytical Chemistry*, 15 (12), 4453-88.
- Sathishkumar, G., Gobinath, C., Karpagam, K., Hemamalini, V., Premkumar, K. and Sivaramakrishnan, S. (2012). "Phyto-synthesis of silver nanoscale particles using *Morinda citrifolia* L. and its inhibitory activity against human pathogens". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 95, 235-240.
- Saware, K., Sawle, B., Salimath, B., Jayanthi, K. and Abbaraju, V. (2014). "Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using ficus benghalensis leaf extract. *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 3 (5).



- Sellami, H., Khan, S. A., Ahmad, I., Alarfaj, A. A., Hirad, A. H. and Al-Sabri, A.E. (2021). "Green synthesis of silver nanoparticles using *Olea europaea* leaf extract for their enhanced antibacterial, antioxidant, cytotoxic and biocompatibility applications". *International Journal of Molecule Sciences*, 22 (22), 1-16.
- Shahverdi, A. R., Pharm, A.F., Shahverdi H. R.,ve Minaian S. (2007). Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3, 168–171.
- Singh, P., Pandit, S., Garnæs, J., Tunjic, S., Mokkapat, V. R., Sultan, A. and Baun, A. (2018). "Green synthesis of gold and silver nanoparticles from *Cannabis sativa* (industrial hemp) and their capacity for biofilm inhibition". *International Journal of Nanomedicine*, 13, 3571.
- Sivaramakrishnan, S. M. and Neelakantan, P. (2014). "Nanotechnology in dentistry - What does the future hold in store?" *Dentistry*, 4, 2.
- Sondi, I. and Salopek-Sondi, B. (2004). "Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria", *Journal of Colloid and Interface Science*, 275, 177-182.
- Sudjana, A. N., D'Orazio, C., Ryan, V., Rasool, N., Ng, J., Islam, N., Riley, T. V. and Hammer, K. A. (2009). "Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract". *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33 (5), 461-463.
- Suresh, A. K., Pelletier, D. A., Wang, W., Moon, J-W., Gu, B., Mortensen, N. P., Allison, D. P., Joy, D. C., Phelps, T. J. and Doktycz, M. J. (2010). "Silver nanocrystallites: biofabrication using *Shewanella oneidensis*, and an evaluation of their comparative toxicity on gram-negative and gram-positive bacteria". *Environmental Science Technology*, 44 (13), 5210–5215.

- Tamuly, C., Hazarika, M., Borah, S.C., Das, M.R. Boruah, M.P. (2013). "In situ biosynthesis of Ag, Au and bimetallic nanoparticles using *Piper pedicellatum* C.DC: Green chemistry approach". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102 (1), 627-634.
- Veisi, H., Dadres, N., Mohammadi, P. and Hemmati, S. (2019). "Green synthesis of silver nanoparticles based on oil-water interface method with essential oil of orange peel and its application as nanocatalyst for A3 couplin". *Materials Science and Engineering: C*, 105, 110031.
- Wainstein, J., Ganz, T., Boaz, M., Bar Dayan, Y., Dolev, E., Kerem, Z. and Madar, Z. (2012). "Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *Journal of Medicinal Food*, 15 (7), 605-610.
- Wong, H. L., Wu, X. Y. and Bendayan, R. (2012). "Nanotechnological advances for the delivery of CNS therapeutics". *Advance Drug Delivery Reviews.*, 64, 686-700.
- Zeytin ağacı özellikleri ve yetiştirildiği yerler, (10.04.2020). <https://www.dogadergisi.com/zeytin-agaci-ozellikleri-ve-yetistigi-yerler/>
- Zorić, N., Kopjar, N., Kraljić, K., Oršolić, N., Tomić, S. and Kosalec, I. (2016). "Olive leaf extract activity against *Candida albicans* and *C. dubliniensis*—the in vitro viability study. *Acta Pharmaceutica*, 66 (3), 411-421.