



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ İLE ITIR (*PELARGONIUM
GRAVEOLENS*) UÇUCU YAĞINDAN GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERVE DUMAN

Tez Danışmanı

DR. ÖĞR. ÜYESİ NESLİHAN DEMİR

ÇANAKKALE – 2022



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ İLE ITIR (*PELARGONIUM GRAVEOLENS*)
UÇUCU YAĞINDAN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERVE DUMAN

Tez Danışmanı

DR. ÖĞR. ÜYESİ NESLİHAN DEMİR

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)
kurumu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FYL-2021- 3825

ÇANAKKALE – 2022

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; 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 çalışmada 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.

Merve DUMAN

08/08/2022

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda yardımcı olan değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Pelargonium graveolens bitkisinin toplanması aşamasında yardımcı olan Prof. Dr. Mevlüt AKÇURA'ya ve bitkinin tanımlamasını yapan Prof. Dr. Ersin KARABACAK'a, ders ve tez aşamalarımda bilgi birikimleri ile yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU başta olmak üzere biyoloji anabilimdalındaki tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Tez savunma sınavı jüri üyeleri Sayın Prof. Dr. Mustafa YILDIZ ve Prof. Dr. Seyhun YURDUGÜL'e teşekkür ederim.

Aynı laboratuvarında birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum arkadaşlarım Büşra DALGIÇ, Aida VISHA ve Sultan SÜCÜ'ye teşekkür ederim.

Beni yetiştiren, yol gösteren, bugünlere gelmemi sağlayan, hayatım boyunca destek, sevgi ve saygılarını her zaman hissettiren değerli annem Elif DUMAN, babam Hasan DUMAN ve kardeşim İrem DUMAN'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Merve DUMAN
Çanakkale, Ağustos 2022

ÖZET

YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ İLE ITIR (*PELARGONIUM GRAVEOLENS*) UÇUCU YAĞINDAN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Merve DUMAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR

08/08/2022, 84

Bu çalışmada, *Pelargonium graveolens*'ten elde edilen uçucu yağ kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle gümüş nanopartiküller (AgNP) sentezlendi. Sentezlenen gümüş nanopartiküller Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS), Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM), Zeta potansiyeli, UV-Görünür Alan Spektroskopisi (UV-Vis) ve Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektroskopisi (FT-IR) ile karakterize edildi. Gümüş nanopartiküllerinin ortalama 72 nm boyutta ve küresel forma sahip olduğu bulundu. Karakterize edilen gümüş nanopartiküllerin antioksidan, mutajenik, DNA kesme, antibakteriyel ve antibiyofilm aktiviteleri incelendi. Antibakteriyel aktivite, Gram negatif ve Gram pozitif bakteri suşları kullanılarak disk difüzyon ve Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) yöntemleri kullanılarak analiz edildi. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla DPPH• (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikal giderme aktivitesi, ABTS•⁺ (2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) radikal katyon giderme aktivitesi, Hidrojen Peroksit (H₂O₂) radikal giderme aktivitesi, Kuprik İyon Giderme Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC) ve Nitrik Oksit (NO) radikal giderme antioksidan analizleri yapıldı. Nanopartiküllerin mutajenik ve antimutajenik aktivitesi AMES/*Salmonella* testi, DNA ile etkileşimi ise jel elektroforez metodu ile incelendi. Mikrobiyolojik analizler sonucunda AgNP'lerin antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bulundu. Antioksidan analizler, nanopartikülün kullanılan yönteme göre farklı antioksidan aktivitelere sahip olduğunu gösterdi. AMES/*Salmonella* testi ile esansiyel yağ ve AgNP'lerin mutajenik olmadığı tespit edildi. Antimutajenik aktivite sonuçları hem Ag

nanopartiküllerinin hem de esansiyel yağın yüksek oranda antimutajenik olduğunu gösterdi. Ayrıca AgNP'lerin DNA'yı hidrolitik olarak kesmediği görüldü.

Anahtar Kelimeler: *Pelargonium graveolens*, Esansiyel yağ, Yeşil sentez, Gümüş nanopartikül, Biyolojik aktivite



ABSTRACT

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES OF SILVER NANOPARTICLES FROM ROSE SCENTED GERANIUM (*PELARGONIUM GRAVEOLENS*) ESSENTIAL OIL BY GREEN SYNTHESIS METHOD

Merve DUMAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Biology

Advisor: Assist. Prof. Dr. Neslihan DEMİR

08/08/2022, 84

In this study, silver nanoparticles (AgNP) were synthesized by the green synthesis method using essential oil obtained from *Pelargonium graveolens*. Synthesized silver nanoparticles were characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM), Energy Dispersive Spectroscopy (EDS), Transmission Electron Microscopy (TEM), Zeta Potential, UV-Visible Spectroscopy (UV-Vis) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR). It was found that silver nanoparticles have an average size of 72 nm and a spherical form. The antioxidant, mutagenic, DNA cleavage, antibacterial and antibiofilm activities of the characterized silver nanoparticles were examined. Antibacterial activity was analyzed using disc diffusion and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) methods using Gram-negative and Gram-positive bacterial strains. The antioxidant activity of silver nanoparticles was determined by DPPH• (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity, ABTS•⁺ (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) radical cation scavenging activity, Hydrogen Peroxide (H₂O₂) radical scavenging activity, Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC) and Nitric Oxide (NO) radical scavenging activity methods. The mutagenic and antimutagenic activity of nanoparticles was studied by AMES/*Salmonella* test and their interaction with DNA was studied by the gel electrophoresis method. As a result of microbiological analyzes, it was found that AgNPs have antibacterial activity. Antioxidant assays have shown that the nanoparticle has different antioxidant activities according to the method used. It has been determined that essential oil and AgNPs were not

mutagenic by the AMES/*Salmonella* test. The results of antimutagenic activity showed that both Ag nanoparticles and essential oil were highly antimutagenic. In addition, it was found that AgNPs did not hydrolytically cleaved DNA.

Keywords: *Pelargonium graveolens*, Essential oil, Green synthesis, Silver nanoparticles, Biological activity



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ETİK BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

3

2.1.	Nanoteknoloji	3
2.2.	Nanopartikül	4
2.2.1.	Nanopartikül Sentez Yöntemleri	4
2.2.2.	Nanopartikül Sentez Mekanizması	5
2.2.3.	Nanopartiküllerin Sınıflandırılması	5
2.3.	Yeşil Sentez	6
2.4.	Esansiyel Yağlar	7
2.5.	Nanopartiküllerin Biyolojik Aktiviteleri	7
2.6.	Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	8
2.7.	Gümüş Nanopartikül	9
2.7.1.	Gümüş Nanopartiküllerin Biyolojik Aktiviteleri	10
2.8.	Antimikrobiyal Analizler	11
2.8.1.	Disk Difüzyon Yöntemi	11
2.8.2.	Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Yöntemi	11
2.9.	Antibiyofilm Aktivite	12

2.10.	Serbest Radikaller ve Antioksidan Aktivite	12
2.10.1.	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) Radikal Giderme Aktivitesi	14
2.10.2.	2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS•+) Radikal Katyon Giderme Aktivitesi	14
2.10.3.	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Radikal Giderme Aktivitesi	15
2.10.4.	Kuprik İyon Giderme Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC)	15
2.10.5.	Nitrik Oksit (NO) Radikal Giderme Aktivitesi	15
2.11.	Mutajenite ve Antimutajenite Analizi	16
2.12.	DNA ile Etkileşim	17
2.12.1.	DNA Kesme Aktivitesi	17
2.13.	<i>Pelargonium graveolens</i> (İtır)	18
2.13.1.	<i>P. graveolens</i> Esansiyel Yağı	19
2.13.2.	<i>P. graveolens</i> Esansiyel Yağının Kullanım Alanları	20
2.14	Yeşil Sentez Yöntemiyle Sentezlenen Metal Bazlı Nanopartiküllerin Biyolojik Aktiviteleri Üzerine Yapılan Çalışmalar	21
2.15	Yeşil Sentez Yöntemiyle Sentezlenen AgNP'lerle Yapılan Biyolojik Çalışmalar	23
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM		26
MATERYAL VE YÖNTEM		
3.1.	Materyal	26
3.1.1.	<i>P. graveolens</i> Bitkisinin Toplanması	26
3.2.	Yöntem	26
3.2.1.	<i>P. graveolens</i> 'ten Yağ Eldesi	26
3.2.2.	<i>P. graveolens</i> Esansiyel Yağının GC-MS Analizi	26
3.2.3.	<i>P. graveolens</i> Esansiyel Yağından Gümüş Nanopartikül Sentezi	26
3.3.	Karakterizasyon Çalışmaları	27
3.3.1.	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi	27
3.3.2.	Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS) Analizi	27
3.3.3.	Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi	27
3.3.4.	Zeta Potansiyeli Analizi	28
3.3.5.	UV Görünür Alan Spektroskopisi (UV-Vis) Analizi	28
3.3.6.	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi	28
3.4.	Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları	28
3.4.1.	Disk Difüzyon Metodu	28

3.4.2.	Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Belirlenmesi	29
3.5.	Antibiyofilm Analizi	29
3.6.	Antioksidan Çalışmalar	29
3.6.1.	DPPH• Radikal Giderme Aktivitesi Metodu	29
3.6.2.	ABTS•+ Radikal Katyon Giderme Aktivitesi Metodu	30
3.6.3.	H ₂ O ₂ Radikal Giderme Aktivitesi Metodu	30
3.6.4.	CUPRAC Metodu	31
3.6.5.	NO Radikal Giderme Aktivitesi Metodu	31
3.7.	AMES/ <i>Salmonella</i> Testi	31
3.8.	DNA Kesme Aktivitesinin İncelenmesi	32

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1.	Esansiyel Yağın GC-MS ile Karakterizasyonu	34
4.2.	Karakterizasyon Analizleri	37
4.2.1.	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	37
4.2.2.	Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS)	38
4.2.3.	Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)	39
4.2.4.	Zeta Potansiyeli	40
4.2.5.	UV Görünür Alan Spektroskopisi (UV-Vis)	41
4.2.6.	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)	42
4.3.	Antibakteriyel Aktivite Sonuçları	44
4.3.1.	Disk Difüzyon Analizi Bulguları	44
4.3.2.	Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Bulguları	46
4.4.	Antibiyofilm Aktivite Tayini	48
4.5.	Antioksidan Analizler	49
4.5.1.	DPPH• Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları	49
4.5.2.	ABTS•+ Radikal Katyon Giderme Aktivitesi Bulguları	51
4.5.3.	H ₂ O ₂ Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları	53
4.5.4.	CUPRAC Bulguları	54
4.5.5.	NO Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları	55
4.6.	Mutajenite ve Antimutajenite Analizi	56

4.6.1.	AMES/ <i>Salmonella</i> Bulguları	56
4.7.	DNA Kesme Aktivitesi Bulguları	59
	BEŞİNCİ BÖLÜM	61
	SONUÇ ve ÖNERİLER	
	KAYNAKÇA	63
	ÖZGEÇMİŞ	I



SİMGELER VE KISALTMALAR

Abs	Absorbans
AA	Askorbik Asit
ABTS ^{•+}	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiozolin-6-sülfonik asit)
Ag	Gümüş
AgNP	Gümüş Nanopartikül
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
BHT	Bütil Hidroksi Toluen
CO ₂	Karbondioksit
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH [•]	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EDS	Enerji Dağılım Spektroskopisi
EDTA	Etilendiamintetra Asetikasit
EtBr	Etidyum Bromür
EY	Esansiyel Yağ
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
Fe	Demir
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
g	Gram
GRAS	Güvenli Olarak Kabul Edilen
HB	Histidin Biyotin Agar
HBA	Histidin Biyotin Ampisilin Agar
HCl	Hidroklorik Asit
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
keV	Kiloelektron Volt
L	Litre
M	Molar
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyon

mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
mg	Miligram
MGA	Minimal Glukoz Agar
NA	Nutrien Agar
NaCl	Sodyum Klorür
NB	Nutrient Broth
nm	Nanometre
NP	Nanopartikül
NPD	4-nitro- <i>o</i> -fenilendiamin
NRRL	Kuzey Bölge Araştırma Laboratuvarı
OH	Hidroksil
PBS	Fosfat Tuz Tamponu
pH	Hidrojen Gücü
rpm	Dakikada Devir Sayısı
RPMI	Roswell Park Memorial Institute Medyum
SA	Sodyum Azid
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
Tris-HCl	(Tris-Hidroksimetil)-Aminometan Hidroklorik Asit
UV-Vis	UV Görünür Alan
ZnO	Çinko Oksit
ZnO-Ag	Çinko Oksit-Gümüş
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
°C	Santigrat Derece
%	Yüzde
α	Alfa
β	Beta
γ	Gamma
δ	Delta

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	Radikal ve radikal olmayan reaktif oksijen türleri	13
Tablo 2	<i>Pelargonium graveolens</i> 'in sistematikteki yeri	19
Tablo 3	<i>P. graveolens</i> esansiyel yağının bileşenleri	33
Tablo 4	Disk difüzyon analizi zon çapları	45
Tablo 5	Minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri	47
Tablo 6	Örneklerin antibiyofilm aktivitesi	49
Tablo 7	DPPH• analizi sonucu hesaplanan IC ₅₀ değerleri	50
Tablo 8	ABTS•+ analizi sonucu hesaplanan IC ₅₀ değerleri	52
Tablo 9	<i>P. graveolens</i> esansiyel yağı ve gümüş nanopartiküllerin mutajenik etkileri	57
Tablo 10	<i>P. graveolens</i> esansiyel yağı ve gümüş nanopartiküllerin antimutajenik etkileri	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Nanoboyutlu materyallerin karşılaştırılması	3
Şekil 2	DPPH• radikalinin indirgenmesi	14
Şekil 3	CUPRAC reaksiyonu	15
Şekil 4	<i>Pelargonium graveolens</i>	18
Şekil 5	<i>Pelargonium graveolens</i> 'in dünyadaki dağılımı	20
Şekil 6	Yağda bulunan fonksiyonel grupların kimyasal yapıları	36
Şekil 7	AgNP'lerin SEM görüntüsü	38
Şekil 8	AgNP'lerin EDS spektrumu	39
Şekil 9	AgNP'lerin TEM görüntüsü	40
Şekil 10	AgNP'lerin Zeta potansiyeli	41
Şekil 11	AgNP ve esansiyel yağın UV-Vis spektrumu	42
Şekil 12	<i>P. graveolens</i> esansiyel yağı ve AgNP'nin FT-IR spektrumu	43
Şekil 13	DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi	50
Şekil 14	ABTS•+ radikal katyon giderme aktivitesi	52
Şekil 15	H ₂ O ₂ serbest radikal giderme aktivitesi	53
Şekil 16	Kuprik iyon giderme antioksidan kapasitesi	55
Şekil 17	Nitrik oksit radikal giderme aktivitesi	56
Şekil 18	Esansiyel yağ ve AgNP'nin hidrolitik kesme aktivitesi	60
Şekil 19	Esansiyel yağ ve AgNP'nin oksidatif kesme aktivitesi	60

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

Nanoteknoloji, metrenin milyarda birine karşılık gelen boyuttaki malzemelerin üretim öncesi ve sonrası aşamalarını inceleyen bilim dalıdır. Nanoteknoloji yöntemleri ile üretilen yapılar ‘nanomalzeme’ olarak adlandırılmaktadır (Khan vd., 2017). Bu nanomalzemeler de kendi içlerinde boyut ve malzeme yapısı olmak üzere çeşitli sınıflara ayrılırlar. Bu sınıflardan biri olan nanopartiküller, 10^{-9} ila 10^{-7} m boyut aralığında, çeşitli malzemeler kullanılarak, amaca göre istenen şekillerde sentezlenebilirler (Esmeray ve Özata, 2019). Kullanılan sentez maddesine, boyutuna ve şekline bağlı olarak nanopartiküller birçok alanda kullanılabilir. Nanopartiküller kullanılacakları alana göre farklı metal çözeltileri kullanılarak sentezlenebilirler. Bu metallerin başında ise gümüş (Ag), bakır (Cu), altın (Au), demir (Fe), nikel (Ni) gelmektedir (Şimşek, 2021). Gümüş, nanopartikül sentezinde en sık kullanılan metaldir. Bunun yanı sıra gümüş, çok eski çağlardan beri geleneksel tıpta hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Klasen, 2000). Yapısından kaynaklı olarak antiinflamatuar olan gümüş aynı zamanda birçok mikroorganizma üzerinde inhibitör etki göstermektedir (Jiang vd., 2012). Nanopartiküller genellikle fiziksel ve kimyasal yöntemler ile sentezlenmektedir. Fakat bu yöntemler ile üretilen nanopartiküller, toksik olmalarının yanı sıra üretim sırasında oluşan çıktılarının çevreye zarar verdiği görülmüştür. Bu sebeple daha az toksik olan yeşil sentez yöntemi geliştirilmiştir (Mazraedoost ve Behbudi, 2021).

Yeşil sentez, bitki, bakteri, maya ve alglerin yanı sıra biyomoleküller kullanılarak nanopartiküllerin sentezlenmesini içermektedir (Öztürk ve Öztürk, 2020). Bu yöntemde biyolojik yapılar kullanıldığından dolayı sentezlenen nanopartiküller ve sentez sonrası oluşan atıklar, çevre ve insan sağlığına zarar vermemektedir (Mihai vd., 2020). Yeşil sentezde bitkilerin yanı sıra bitkilerin farklı kısımlarından elde edilen esansiyel yağlar da sentezde kullanılmaktadır. Esansiyel yağlar ile verimli, yüksek stabilite ve kararlılığa sahip, uzun ömürlü, insan ve çevre sağlığına dost, birçok alanda uygulanabilen nanopartiküller sentezlenebilmektedir (Vilas vd., 2014; Ijaz vd., 2020).

Pelargonium graveolens, Geraniaceae familyasına ait, pembe çiçekli, kadife yapraklı, kendine has kokusu olan çalı bitkisidir (Şeker Karatoprak ve Koşar, 2015). Bitki

geleneksel tıpta ateş, enfeksiyon gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (Saraswathi vd., 2011). Geraniaceae familyasına ait bitkilerden yalnızca birkaçından uçucu yağ elde edilebilmektedir. *P. graveolens* bu türlerden birisidir. Bitkinin çeşitli kısımlarından elde edilen yağ citronellol ve geraniol bakımından zengindir ve bu bileşenler yağa antioksidan ve antimikrobiyal aktivite kazandırmaktadır. Gül aroması içeren yağ, antiinflamatuvar özellikleri sebebi ile cilt hastalıklarının tedavisinde, kozmetik vb. diğer sektörlerde kullanılmaktadır (Saraswathi vd., 2011).

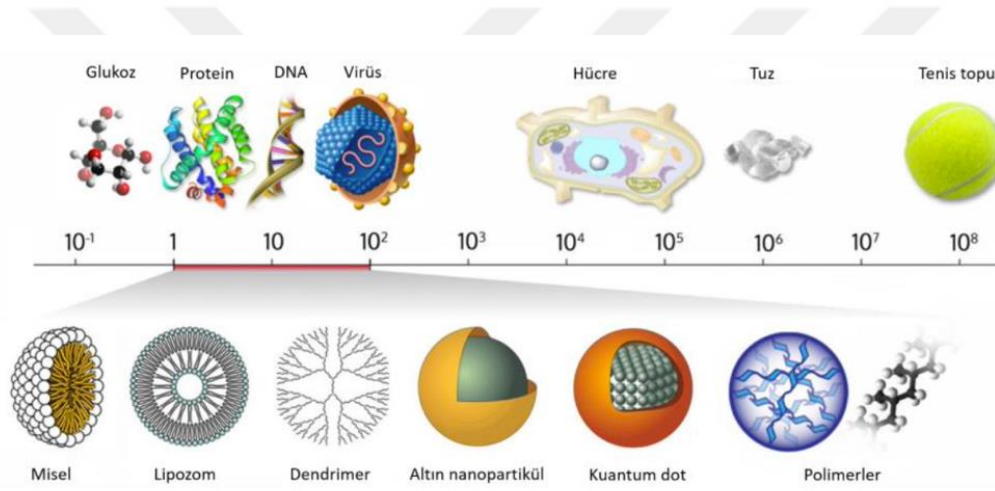
Bu çalışmada, yeşil sentez yöntemiyle *P. graveolens*'ten elde edilen esansiyel yağ kullanılarak gümüş nanopartikül sentezlenmiştir. Esansiyel yağdan sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonlarının, antibakteriyel ve antibiyofilm aktivitelerinin, antioksidan kapasitelerinin, mutajenik potansiyeli ile DNA ile etkileşiminin incelenmesi amaçlanmıştır.

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji; 1-100 nm boyutlarındaki 3 katmanlı maddeleri içeren ve bu nano boyutlardaki malzemelerin, üretim, tasarım ve sistemlerini inceleyen fizik, kimya, biyoloji, tıp ve malzeme bilimi gibi multidisipliner alanları kapsayan çaprazlama moleküler teknolojidir. Bu kapsamda farklı atom ve molekülleri kullanarak nanomalzeme adı verilen yapılar sentezlenmektedir (Khan vd., 2017) (Şekil 1).



Şekil 1. Nanoboyutlu materyallerin karşılaştırılması.

(Hulkoti ve Taranath, 2014)

Nanoteknoloji 1959 yılında Richard Feynman'ın konferansında gündeme getirilmiştir (Freitas Jr, 2000). Feynman konuşmasında nanoteknolojiyi “İnanılmaz küçüklükteki partiküllerin diyarı” şeklinde tanımlamıştır (Bansal vd., 2005). Nanoteknoloji terimi ilk kez Norio Taniguchi tarafından kullanılmıştır. 1980’li yıllara gelindiğinde ise Eric Drexler nanoteknoloji kavramını yaygın olarak kullanmaya başlamıştır. Eric Drexler 1981 yılında ilk nanoteknoloji makalesini, 1986 yılında ‘Yaratma Motorları: Nanoteknoloji Devri’ adlı nanoteknoloji kitabını, 1989 yılında ise ‘Nanotechnology’ dergisini yayımlamıştır (Chandra vd., 2020). Ardından 1981 yılında Taramalı Tüneli Mikroskop, 1985 yılında Atomik Kuvvet Mikroskobu keşfedilmiştir (Perker, 2010). 1991 yılında Sumio Iijima karbon nanotüpü keşfetmiş, 2005 yılında Amerikan Kimya Konseyi tarafından ilk kez

Nanoteknoloji Paneli düzenlenmiştir. 2006 yılına gelindiğinde ise kanser ilacı dağıtımı için nanoteknolojiden yararlanılmıştır (Ediz, 2018).

Nanoteknoloji, zamandan ve enerjiden tasarruf ile ürünlerin üretim ve kalitelerinin artırılmasına yardımcı olmaktadır. Elde edilen ürünlerin günlük hayatta kullanılması ile hem yaşam kalitesi hem de ulusal gelir düzeyi yükselmektedir (Usta, 2012). Ayrıca ülkemizde 8 temel teknolojiye biri kabul edilen nanoteknoloji alanında tekstilden cam endüstrisine, beyaz eşyadan otomobil sanayisine kadar her alanda yararlanılmaktadır (Kargozar ve Mozafari, 2018).

Nanoteknoloji ile sentezlenen materyaller nanomalzeme olarak adlandırılmaktadır. Bu nanomalzemeler de kendi içlerinde büyüklük, malzeme yapısı ve boyut olarak 3 sınıfa ayrılırlar. Nanomalzemenin üç boyutu da birkaç yüz nanometreden daha küçük ise ‘nanoparçacık’, iki boyutu birkaç yüz nanometreden daha küçük ise ‘nanotüp/nanotel’, yalnızca bir boyutu birkaç yüz nanometreden daha küçük ise ‘nanofilm’ olarak adlandırılmaktadır (Schaming ve Remita, 2015).

2.2. Nanopartikül

Antik Yunan dilinde “vavoç”, latince ‘nanos’ olarak bilinen kelime dilimize ‘cüce, çok küçük, minnacık’ şeklinde geçmiştir. Metrik sistemde metrenin milyarda birine (10^{-9}) karşılık gelen birim, niceliği ifade etmektedir (Ediz, 2018). Nanopartiküller, boyutları 1-100 nm arasında, 2 ya da 3 boyutlu, küresel, çubuk vb. şekillerde, kimyasal olarak aktif malzemelerdir (Esmeray ve Özata, 2019). Literatürde ultra ince parçacık anlamına gelen ‘ultrafine particles’ ya da ‘fine-sized’ olarak adlandırılırlar (Donaldson vd., 2001).

2.2.1. Nanopartikül Sentez Yöntemleri

Nanopartiküller sentezlendikleri ana maddenin boyutuna göre 2’ye ayrılmaktadırlar. **Top-Down:** Yıkıcı yöntem olarak adlandırılır. Büyük moleküller, fiziksel veya kimyasal yöntemler ile daha küçük moleküllere, ardından nanopartiküllere dönüştürülür. Bu şekilde sentezlenen nanopartiküllerin parçacık dağılımları homojen değildir ve yüzeyleri kusurludur (Khan vd., 2017).

Bottom-Up: Bina yaklaşımı ya da yapıcı yöntem de denir. Nanopartiküller daha küçük maddelerden kümeler halinde üretilir. Bu yöntem ile pürüzsüz yüzeye ve homojen parçacık dağılımına sahip nanopartiküller elde edilir (Ijaz vd., 2020).

Nanopartiküller sentezlendikleri yöntemlere göre fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak 3 sınıfa ayrılmaktadır.

Fiziksel Yöntemler: Top-down yaklaşımıdır. Mekanik enerji kullanılarak büyük miktarda nanopartikül sentezi yapılır. Boyutun kontrol edilememesi, uzun zaman gereksinimi ve yüksek maliyet gibi dezavantajlara sahiptir (Mazraedoost ve Behbudi, 2021).

Kimyasal Yöntemler: Bottom-up yaklaşımıdır. Kimyasal reaksiyonlar ile nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilir. Yöntem uygun maliyet, zamandan tasarruf, kolaylık, yüksek verim ve hassaslık gibi avantajlara sahiptir (Mihai vd., 2020).

Biyolojik Yöntemler: Yeşil sentez olarak da adlandırılır. Bottom-up yaklaşımını içerir. Yöntemde biyomateryaller kullanıldığından dolayı sentez sonrası oluşan atıklar insan ve çevre sağlığına zarar vermemektedir (Sivaraj vd., 2014).

2.2.2. Nanopartikül Sentez Mekanizması

Sentezde maddesinde bulunan negatif yüklü fonksiyonel gruplar, nanopartikül çözültüsü ile birleştirildiğinde pozitif değerlikli metal iyonları indirgenmektedir. Daha sonra aglomerasyon gerçekleşir ve istenirse nanopartikülün yüzeyi doğal veya sentetik polimer, organik veya inorganik maddeler gibi çeşitli malzemeler ile kaplanabilir (Mihai vd., 2020).

2.2.3. Nanopartiküllerin Sınıflandırılması

Nanopartiküller doğada kendiliğinden bulunabilecekleri gibi doğrudan veya dolaylı olarak da çeşitli amaçlara göre sentezlenebilirler. Amaca göre metal, metal alaşımı, seramik veya polimerden, çeşitli şekil ve boyutlara sahip farklı özelliklerde nanopartiküller sentezlenmektedir (Schaming ve Remita, 2015).

Nanopartiküller malzeme yapısına göre; metal, metal oksit ve yarı iletken olarak çeşitli sınıflara ayrılırlar (Schaming ve Remita, 2015). Boyutlarına göre de; yalnızca x

ekseninde hareket ediyor ise 1D, x ve y ekseninde hareket ediyor ise 2D, x, y ve z ekseninde hareket ediyor ise 3D olarak sınıflandırılırlar (Pokropivny ve Skorokhod, 2007).

2.3. Yeşil Sentez

Nanoteknoloji hayatımızın her aşamasında yer alırken, temelini oluşturan nanopartiküller gösterdikleri üstün özellikler ile farklı kullanım alanlarında karşımıza çıkmaktadır. Sağladıkları avantajlarla birlikte dezavantajları da olan nanopartiküllerin özellikle insan sağlığını tehlikeye düşürecek özelliklerini sınırlamak amacı ile bitki ekstraktları ile sentezleme yoluna gidilmiştir. Yeşil kimya ya da yeşil sentez olarak adlandırılan biyolojik sentez yönteminde virüs, bakteri, alg, maya ve bitki gibi organizmalar kullanılarak nanopartiküllerin çevre dostu sentezi gerçekleştirilmektedir (Öztürk ve Öztürk, 2020).

Yeşil sentezde bitkiler, mayalar, mikroorganizmalar ve biyolojik yapılar indirgeyici, kapatıcı ve stabilize edici olarak kullanılmaktadır (Kharissova vd., 2013). Sentezde bitkilerin, kök, gövde, yaprak, tohum, meyve, çiçek, lateks, kabuk, biyokütle ve esansiyel yağ gibi çok çeşitli kısımları kullanılmaktadır (Ijaz vd., 2020). Yapılan çalışmalarda bitkilerin farklı bölümlerinde metalleri nanopartikül şeklinde depoladıkları görülmüştür. Bitkilerin içeriğinde bulunan protein, vitamin, flavonoid, polifenol, alkaloid, saponin, terpenoid, fenol, poliol gibi indirgeyici ajanların ve yapılarında bulunan şekerlerin metal tuzları ile reaksiyona girerek sentezi gerçekleştirdiği bilinmektedir (Sharma vd., 2009). Fakat nanopartiküllerin sentezinde bitkilerin kullanılması son yıllarda artış göstermiştir. Nanopartikül sentezinde bitki kullanmak sentezin düşük maliyet ile hızlı bir şekilde gerçekleşmesini sağlarken, düşük maliyetle elde edilen, toksik olmayan, yüksek aktivite ve stabiliteye sahip çevre dostu nanopartiküllerin üretilmesine olanak sağlamaktadır (Logeswari vd., 2013).

Yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen nanopartiküller tarım, kozmetik, havacılık, otomotiv ve sağlık sektöründe kullanılmaktadır. Tekstil sektöründe nanopartiküllerin uzun ömürlü, dayanıklı ve dirençli olmalarından, sağlık sektöründe antimikrobiyal özelliklerinden, tarım sektöründe bitki hastalıklarına karşı antifungal kapasitelerinden,

elektrik sektöründe ise optik özelliklerinden faydalanılarak daha kaliteli görüntü sağlayan ekranlar üretilmektedir (Khan vd., 2017; Ijaz vd., 2020).

2.4. Esansiyel Yağlar

Uçucu, eterik, aromatik veya esans yağı gibi adlandırmalara sahip olan esansiyel yağlar, çeşitli ekstraksiyon teknikleri ile aromatik bitkilerden elde edilirler (Berger, 2007; Bayaz, 2014). Aromatik bitkilerin çiçek, meyve, tohum, yaprak, gövde, kök gibi çok farklı kısımlarından elde edilen yağların her birinin kendine has keskin kokusu bulunmaktadır. Esansiyel yağların yapısında bulunan terpenoidler, fenilpropanoidler, fenolik bileşikler, aldehitler, organik asitler, alkoller, ketonlar, esterler, laktonlar, azotlu ve kükürtlü bileşikler bulunduğu yağa antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antiviral vb. özellikler kazandırmaktadır (Bayaz, 2014). Günümüzde 3000 esansiyel yağ çeşidinden yaklaşık 300 tanesinin dünya çapında ticareti yapılmaktadır. Bu yağlar içeriğine bağlı olarak gıda sektöründe, geleneksel tıpta, kozmetik ve parfümeri endüstrisi başta olmak üzere birçok sektörde kullanılmaktadır.

Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi (GC-MS), esansiyel yağın içerisinde bulunan bileşenleri kütle/yük oranlarına göre ayıran ve iki farklı tekniği içeren analitik yöntemdir. Çalışma prensibi, GC kolonunda ayrılan maddenin MS cihazı ile kütesinin ölçülmesine dayanmaktadır. Yöntem, kompleks maddeleri kısa sürede ve yüksek doğruluk oranı ile analiz etmektedir (Ercioğlu, 2017). Metod, gıda ve kozmetik endüstrisi vb. alanlarda sıklıkla kullanılmaktadır (Karasek ve Clement, 2012).

2.5. Nanopartiküllerin Biyolojik Aktiviteleri

Nanopartiküller, sentezlendikleri metal çözeltisine bağlı olarak farklı biyolojik aktivitelere sahiptir. Bu aktivitelere antiinflamatuvar, antikanser, antidiyabetik, antibiyofilm gibi çeşitli terapötik etkiler örnek olarak verilebilmektedir.

Antifungal Etki: Nanopartiküller boyutuna, konsantrasyonuna ve patojenin türüne bağlı olmak üzere mayalar üzerinde inhibitör etki gösterirler. Nanopartiküller, mayaların

hücre duvar ve zarına hasar vererek tomurcuklanmayı inhibe ederler. Ayrıca organellerde de dejenerasyona sebep olmaktadır (Burduniuc vd., 2021).

Antibakteriyel Etki: Nanopartiküller hücre membranını bozarak zarın geçirgenliğini arttırmaktadır. Hücre içerisine giren nanopartiküller, DNA ve enzimlerin yapısında bulunan fosfor ve sülfür grupları ile reaksiyona girerek hücreye zarar verirler. Bu etkileşimin sonucunda enzimlerin inhibisyonu, DNA replikasyonunun bozunması, ATP sentezinin durması ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu gibi birçok hasar meydana gelmektedir (Davis vd., 2008).

Antikanser Etki: Nanometre boyutundaki nanopartiküller, dolaşım sisteminde hareket edebilirler. Negatif yüke sahip olan kan damarları, negatif yüklü nanopartikülü iter (Hu-Lieskovan vd., 2005). Yüzeyine ligand eklenen nanopartiküller direkt olarak kanser hücrelerinin yüzey reseptör proteinlerine bağlanarak endositoz ile hücre içerisine girebilmektedir. Böylece tümör hücreleri kolayca inhibe edilebilmektedir (Gatter vd., 1983).

Günümüzde nanopartiküllerin kullanım alanları oldukça geniştir ve farklı endüstri alanlarında kullanılmaktadır. Nanopartiküllerin elektriksel ve optik özelliklerinden faydalanılarak elektronik sektöründe, enerji dönüşüm ve depolama kabiliyetlerinden dolayı enerji sektöründe, antimikrobiyal/antifungal özellikleri ile tarım sektöründe, insan hücrelerinden daha küçük boyutlara sahip olmalarından dolayı ise kanser tedavileri, tıbbi görüntüleme, biyosensör yapımı ve akıllı ilaç taşıma sistemlerinde kullanılmaktadırlar (Khan vd., 2017; Ijaz vd., 2020). Nanopartiküller gümüş, altın, paladyum, demir, bakır, çinko başta olmak üzere birçok metal çözeltisi kullanılarak sentezlenebilmektedir (Şimşek, 2021).

2.6. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Nanopartiküllerin her birinin kendine has fizikokimyasal özelliği vardır. Bu özelliklerin analizi için ise farklı teknikler kullanılmaktadır. Bu tekniklerden en sık kullanılanları Enerji Dağıtıcı X-Işını (EDX), X-Işını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS), X-Işını Kırınımı (XRD), Raman Spektroskopisi, Zeta Boyut Analizi, Polarize Optik Mikroskopi (POM), Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM), Dinamik Işık Saçılması (DLS),

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM), UV Görünür Alan Spektroskopisi (UV-Vis), fotoluminesans (PL) ve Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI)'dir (Khan vd., 2017).

Sentezlenen nanopartiküllerin şekil, boyut ve morfolojileri SEM ile görüntülenmektedir (Ijaz vd., 2020). Nanopartiküllerin elementel bileşimini tanımlamak için kalitatif ve yarı kantitatif sonuçlar veren EDS kullanılmaktadır. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ile örneğe gönderilen elektronlar, atomlar ile etkileşerek çeşitli dalga boylarında ışın yapmaktadır (Kaya, 2009). Bu sinyallerin yüksek çözünürlüklü görüntüleme dönüştürülmesi ile örneğin boyut, morfoloji ve dağılımları hakkında bilgi sahibi olunmaktadır (Dudkiewicz vd., 2011). Zeta potansiyeli ile nanopartikülün zıt yüklü iyonlar ile etkileşime girdiğinde etrafında oluşan elektriksel yüzeyin yükü ölçülmektedir (Ateş, 2018). FT-IR, belirli bir infrared değeri aralığında madde içerisindeki fonksiyonel grupların varlığının belirlenmesini sağlamaktadır (Silverstein ve Bassler, 1962). Metod, yayılan ve daha sonra fonksiyonel gruplar tarafından absorbe edilen infrared ışınlarının titreşim analizine dayanmaktadır (Vagenas vd., 2003). Spektrumda görülen her bir titreşim belirli bir gruba ait olduğundan dolayı analiz kısa sürede sonuç vermektedir (Ordonez ve Ruperez, 2011). UV-Vis yöntemi ile sentezlenen nanopartiküllerin boyut ve şekil gibi optik özellikleri çeşitli dalga boylarında incelenmektedir. Yöntem kolay, hızlı ve yüksek doğruluk oranına sahiptir (Ateş, 2018). UV-Vis spektroskopi cihazları 200-900 nm arasında çalışırken, metalik nanopartiküller 300-800 nm arasındaki dalga boyları arasında gözlenmektedir (Shah vd., 2016).

2.7. Gümüş Nanopartikül

Latincesi 'argentum' olan, periyodik tabloda 1B grubunda Ag ile simgelenen elementtir. Fiziksel olarak beyaz renkte, yumuşak ve metalik parlaklığa sahip olan geçiş elementidir. Ag_{107} ve Ag_{109} olmak üzere iki kararlı izotopu vardır. Bu izotoplar doğada sırası ile %51,84 ve %48,61 oranları ile bulunmaktadır (Ramya ve Subapriya, 2012). Gümüş doğada hem serbest hemde bileşik halinde bulunabilir ve bileşiklerinde +1 değerliğe sahiptir. Serbest halde altın veya diğer metaller ile alaşım halinde bulunmaktadır (Demir, 2015).

Gümüş, eski çağlardan beri tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır. Antik Yunan'da, Mısır İmparatorluğu'nda ve 1. Dünya Savaşı sırasında ortaya çıkan enfeksiyonların tedavisinde gümüş kullanılmıştır. 1700'lü yıllarda cinsel yolla bulaşan hastalıkların ve vücudun çeşitli yerlerinde çıkan apselerin tedavisinde gümüş nitrattan (AgNO_3) faydalanılmıştır. 1881 yılında Carl S.F. Crede gözde oluşan iltihaplanmayı yine AgNO_3 çözeltisi ile tedavi etmiştir (Klasen, 2000).

Gümüş nanopartiküller, 20-15000 gümüş atomu içeren yapılardır. Bu nanopartiküller elips, küresel, prizma, çubuk vb. şekillerde olabilirler (Anjum vd., 2013). Gümüş nanopartiküller diğer metallerden sentezlenen nanopartiküllere göre daha iyi iletkenliğe, daha fazla katalitik aktiviteye ve yüksek kararlılık gibi özelliklere sahiptir (Ren vd., 2005). Ayrıca gümüş nanopartiküller, en fazla sentezlenen nanopartikül çeşididir (Abeşka, 2019). Gümüş nanopartiküller boyut ve şekillerine göre farklı renkte gözlenmektedir. Örneğin 40 nm boyutta küresel gümüş nanopartikülün rengi mavi, 100 nm boyutta ve küresel şekilde sarı iken 100 nm boyutta prizma şeklinde kırmızı renkte olmaktadır (Allhoff vd., 2010).

2.7.1. Gümüş Nanopartiküllerin Biyolojik Aktiviteleri

Gümüş nanopartiküller, yapılarındaki gümüş metalinden kaynaklı olarak antikanser, antiviral, antibakteriyel ve antifungal özelliklere sahiptir. Gümüşün antimikrobiyal etkisi 19. yy'da keşfedilmiş olup 1920 yılında gümüş partikülünün yaraların tedavisinde etkili olduğu kabul edilmiştir (Chopra, 2007). Ayrıca gümüş nanopartiküllerinin 650'den fazla mikroorganizmanın büyüme ve gelişimini inhibe ettiği görülmüştür (Jiang vd., 2012). Gümüş nanopartiküller % 0.0003 ila % 0.0005 gibi düşük konsantrasyonlarda dahi yüksek bakterisidal/fungisidal aktivite göstermektedir. Gümüş nanopartiküller patojen mikroorganizma ile temas ettiği anda hücre zarına bağlanır, hücre içine nüfuz eder. Daha sonra nanopartiküller solunum zincirine ve hücrenin bölünmesi sırasında hücre dokusuna saldırarak etki ederler (Patra ve Gouda, 2013).

Gümüş nanopartiküllerin şekillerinin canlı organizmalardaki hareket kabiliyetlerini etkilediği bilinmektedir. Hekzagonal şekle sahip olanlar sitoplazma içinde kalırken, çubuk şeklinde olanlar çekirdeğe doğru hareket etmektedir. Küresel şekilde olanlar ise çubuk ve disk şeklinde olanlar ile kıyaslandığında daha hızlı hareket etmekte ve daha fazla hücre

içerisine girmektedir. Ayrıca hücreye alınırken de çubuk ve silindir olanların daha yüksek oranda giriş yaptığı bilinmektedir (Panariti vd., 2012).

Nanopartiküller arasındaki en yüksek antimikrobiyal etkinin gümüş nanopartiküllerde gözlendiği bildirilmiştir (Demir, 2015). Bu sebeple gümüş nanopartiküllerin sağlık sektöründe, yara örtüsü, kateter, cerrahi alet, protez gibi ürünlerin yanısıra diğer sektörlerde, emzik, krem, tıbbi maske, deterjan vb. ürünlerin yapısında yer aldığı bilinmektedir (Ahmed vd., 2016). Gümüş nanopartiküller son derece yüksek elektriksel ve termal iletkenliğe, iyi optik özelliklere sahip olmalarından dolayı biyosensör yapımında da kullanılmaktadır (Ren vd., 2005).

2.8. Antimikrobiyal Analizler

Antimikrobiyal maddeler, hastalık yapıcı mikroorganizmaların üremesini durdurucu olarak görev yapmaktadır. Bu maddeler mikroorganizmalar üzerinde farklı etkiler göstererek inhibe ederler. Örneğin bazıları hücre duvarı veya protein sentezini inhibe ederken bazıları membran stabilitesini bozarak etki etmektedir (Hacıoğlu, 2010).

2.8.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon yöntemi, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından belirlenip standardize edilmiş, niteliksel analiz sağlayan mikrobiyolojik test yöntemidir. Yöntem basit, pratik ve uygun maliyetli olmasının yanı sıra mekanizasyon ve otomasyonunun olmaması gibi dezavantajlara sahiptir (Reller vd., 2009).

2.8.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Yöntemi

Broth mikrodilüsyon metodu olarak da bilinen yöntem, en eski antimikrobiyal testlerden biridir. Metodun avantajı sonuçların nicel olması iken dezavantajları ise inokulum ve malzeme ihtiyacıdır (Reller vd., 2009). Minimum İnhibisyon Konsantrasyon değeri (MİK), bakteri büyümesinin inhibe edildiği minimum konsantrasyon; Minimum Bakterisidal Konsantrasyon değeri (MBK) ise bakterileri öldüren minimum konsantrasyon olarak adlandırılmaktadır (Sümerkan ve Gökahmetoğlu, 1998).

Molleman ve Hiemstra (2017), nanopartiküllerin pH, boyut ve antimikrobiyal aktiviteleri arasında ilişki bulmuşlardır. Verilere göre pH değerleri 7-14 aralığında olan nanopartiküllerin daha fazla gümüş atomu saldıgını gözlemlemişlerdir. Gümüş atomlarının yüksek miktarda salınımı ise patojenler üzerinde olumsuz etki oluşturmaktadır. Ayrıca üçgen şekle sahip nanopartiküllerin küresel şekilli nanopartiküllere oranla bakteri üremesinin inhibisyonunda daha fazla etkili olduğu aktarılmıştır (Pal vd., 2007).

2.9. Antibiyofilm Aktivite

Biyofilm, mikroorganizmaların kendi ürettikleri polisakkarit tabaka içerisinde kümelenerek ve yüzeye yapışarak oluşturdukları topluluktur (Leone vd., 2006). Bu tabaka mikroorganizmaları ısı, pH ve zararlı ışınlar gibi dış etmenlerden korumaktadır (Savage vd., 2013). Yapılan araştırmalarda biyofilm içerisinde bulunan bakterilerin planktonik haline göre antibiyotiklere karşı 1000 kata kadar daha fazla direnç gösterdiği bulunmuştur (Lewis, 2001). Ayrıca biyofilm enfeksiyon ve kistik fibroz başta olmak üzere çeşitli hastalıklar ile de ilişkilendirilmiştir (Donlan ve Costerton, 2002). Antibiyofilm metodu, farklı biyofilm kapasitelerine sahip bakterilerin hangi maddeler tarafından inhibe edildiğinin belirlenmesi için kullanılan antimikrobiyal analiz yöntemidir.

2.10. Serbest Radikaller ve Antioksidan Aktivite

Normal metabolizma sırasında elzem olan oksijen, hayati fonksiyonunun yanı sıra bazı reaktif oksijen türleri (ROT) üretmektedir. Oluşan ROT'lar oksidatif stres oluşturarak DNA, protein ve lipidlerde hasara sebep olmaktadır. Bu hasarların ise kalp hastalıkları, diyabet ve kanser türleri gibi birçok hastalığa yol açtığı bilinmektedir (Koca ve Karadeniz, 2003). Reaktif oksijen türleri, radikaller ve radikal olmayanlar olarak 2'ye ayrılmaktadır (Tablo 1).

Hidrojen peroksit, süperoksit radikalının dismutasyonu sonucu oluşur ve reaktif olmamasına karşın oksitleyici bir maddedir. Hidrojen peroksitin süperoksit ve demir ile reaksiyonu sonucu hidroksil radikali oluşmaktadır. Asidik pH aralığında (0-6) hidrojen peroksitin tepkimeleri hızlanmaktadır. Hidrojen peroksit, biyolojik sistemlerde DNA'da hasar ve çapraz bağlar oluşturarak zarar vermektedir (Halliwell, 1984).

Tablo 1

Radikal ve radikal olmayan reaktif oksijen türleri

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Alkoksil (RO)	Oksijen (O ₂)
Hidroksil (OH)	Ozon (O ₃)
Peroksil (ROO)	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)
Süperoksit (O ₂ ⁻)	Hipokloröz asit (HOCl)
Semikinon (HQ)	Peroksinitrit (ONOO ⁻)
Nitrik oksit (NO)	Lipit peroksit (LOOH)

Günlük hayatta kullanılan malzemelerde bulunan H₂O₂, insan vücuduna solunum yolu ve temas ile girmektedir. Vücuda giren H₂O₂, kolayca su ve oksijene parçalanarak hidroksil radikali başta olmak üzere reaktif oksijen türlerinin oluşmasını indüklemektedir (Muniyappan ve Nagarajan, 2014). Toksik H₂O₂, protein, lipit ve DNA'da hasara yol açmasının yanı sıra *in-vitro* hücre ölümüne de sebep olmaktadır. Membranlardan geçip bileşikler oksitleyen H₂O₂, lipid peroksidasyonu ile lipidlerin birikmesine neden olurken enerji üreten mekanizmalara da zarar vermektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

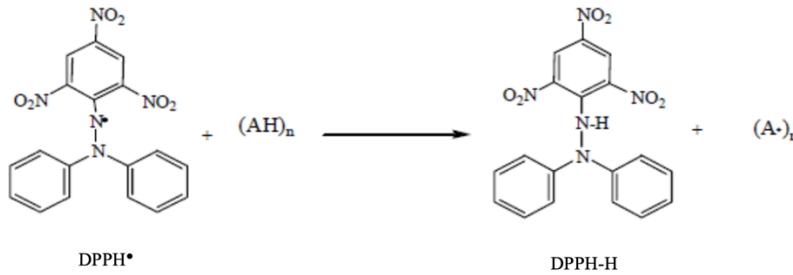
Nitrik oksit, azot ve oksijenin reaksiyona girmesi ile oluşan reaktif oksijen türüdür (Halliwell, 1984). Sulu ortamda birkaç saniye içerisinde yarılanma ömrüne sahip olan molekül, stabil olmasının yanı sıra diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksisite göstermemektedir (Lancaster ve Hibbs, 1990). Nitrik oksit, hem sulu hem de lipit ortamlarda çözünebildiğinden dolayı sitoplazma ve plazma zarında dağılım göstermektedir (Saran vd., 1990). Hücre içi kalsiyum (Ca) konsantrasyonunun artması ile nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aktif hale geçerek NO üretimi başlar (Grozdanovic vd., 1994). Nitrik oksitin fazla üretilmesi, hücre ve doku harabiyetlerinin yanı sıra ateroskleroz ve hipertansiyon gibi hastalıklara sebep olabilmektedir (Frombaum vd., 2012).

Antioksidanlar, fizyolojik şartlarda oluşan, DNA ile hücrelere zarar veren çeşitli reaktif oksijen türlerinin oluşmasını engelleyen maddelerdir (Katiyar ve Mukhtar, 1997). Antioksidanların her biri yapılarında yer alan fenolik ve hidroksil gruplarından dolayı farklı aktiviteye sahiptir (Cuvelier vd., 1996). Bitki ve besinlerde yer alan doğal antioksidanların yanı sıra sentetik antioksidanlar da bulunmaktadır. Fakat yapılan araştırmalar, sentetik

antioksidanların karsinojenik olabileceğini göstermiştir (Ames, 1983). Bu yüzden son yıllarda doğal antioksidanlara olan ilgi artmıştır. Doğal antioksidanların kapasitesini incelemek için ise çeşitli metodlar kullanılmaktadır. Bu metodlardan bazıları DPPH•, ABTS•+, FRAP, CUPRAC olarak sıralanmaktadır.

2.10.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) Radikal Giderme Aktivitesi

DPPH• radikali giderme aktivitesi, örneklerin *in-vitro* antioksidan potansiyelini belirlemek için sıklıkla kullanılan spektrofotometrik yöntemlerden biridir. Işık ve oksijen hassasiyeti bulunan DPPH yöntemi basit, hızlı ve aynı anda birçok örneğin test edilmesine imkan sağlamaktadır (Ak ve Gülçin, 2008). Yöntemde kararlı bir radikal olan mor renkli DPPH•, antioksidan madde ile reaksiyona girdiğinde sarı renkli hidrazine indirgenmektedir (Şekil 2). Bu dönüşüm 517 nm dalga boyunda gözlenmektedir (Köksal vd., 2009). Azalan absorpsiyon değeri, antioksidan aktivitenin arttığını göstermektedir (Vilas vd., 2016).



Şekil 2. DPPH• radikalinin indirgenmesi.

(Köksal, 2007)

2.10.2. 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS•+) Radikal Katyon Giderme Aktivitesi

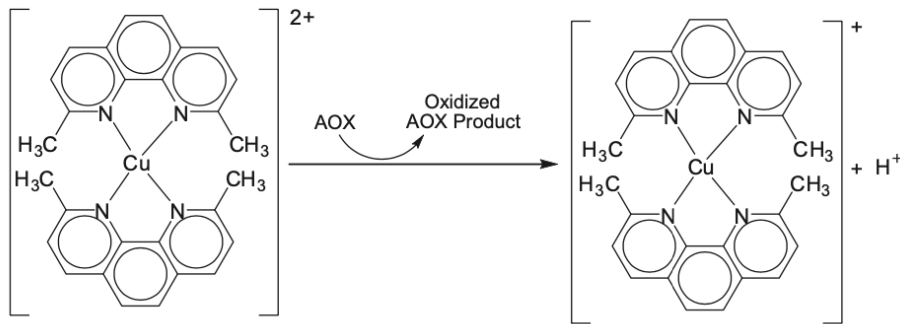
ABTS•+ radikal katyon giderme aktivitesi, antioksidan kapasitesini belirlemek için yaygın olarak kullanılan metoddur. Mavi renge sahip ABTS•+ radikali, antioksidan örnek ile reaksiyona girdiğinde rengi hızlıca kaybolmaktadır. Bu değişim ise 734 nm'de gözlenmektedir (Zengin vd., 2014). ABTS•+ radikalinin kullanımı kolaydır ve yüksek hassasiyete sahiptir. Bunun yanı sıra hem geniş pH aralığında kullanılabilir hem de basit ve hızlı olacak şekilde birçok örneğin aynı anda analizini sağlamaktadır (Thaipong vd., 2006).

2.10.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Radikal Giderme Aktivitesi

Normal metabolizma sırasında üretilen oksijen, bazı reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretilmesine neden olmaktadır (Ak ve Gülçin, 2008). ROT'lar serbest ve serbest olmayan radikalleri içerirler. Hidrojen peroksit de serbest olmayan radikallerden biridir (Pietta, 2000). Hidrojen peroksit, DNA ve diğer hücre elamanlarında hasara neden olabilmektedir (Köksal vd., 2009). Hidrojen peroksit ayrıca süperoksit anyonu ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturabilmektedir (Akkuş, 1995). H₂O₂ radikali örnek ile reaksiyona girdiğinde, su ve oksijene indirgenmektedir (Güler, 2013).

2.10.4. Kuprik İyon Giderme Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC)

Apak vd. (2004) tarafından geliştirilen CUPRAC analizi, hızlı ve tekrarlanabilir olmasından dolayı antioksidan kapasitenin belirlenmesi için sıklıkla kullanılmaktadır. CUPRAC metodu, neokuprin varlığında Cu (II) iyonlarının Cu (I)'e indirgenmesiyle oluşan kompleksin absorpsiyonunun 450 nm'de incelenmesine dayanmaktadır (Şekil 3) (Selamoğlu vd., 2017). Yöntem fizyolojik pH (7,0) koşullarında az sayıda kimyasal ve düşük maliyet ile hızlı ve kolayca uygulanabilmektedir.



Şekil 3. CUPRAC reaksiyonu.

(Özyürek vd., 2011)

2.10.5. Nitrik Oksit (NO) Radikal Giderme Aktivitesi

Normal metabolizma sırasında sinir, bağışıklık ve kardiyovasküler sistemler için biyoregülatör olan nitrik oksit, sinapsların şekillenmesinde, nörotransmitterlerin salınımında ve gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Pick, 2012). Fakat eşleşmemiş

elektron içeren nitrik oksit, oksijen ile kolayca reaksiyona girerek reaktif hale dönüşmektedir (Nussler ve Billiar, 1993). Dönüşükten sonra dokularda birikmeye başlayan nitrik oksit, doku ve hücrel hasara yol açmaktadır (Burney vd., 1999). Radikal hücrelerde fonksiyonları değiştirerek metabolik süreçleri bozar ve diyabet, multipl skleroz, kanser, enflamasyon, sepsis, böbrek hastalıkları gibi birçok patolojik durumun gelişiminde rol oynamaktadır (Reddy vd., 2014).

Dokulardaki nitrik oksit miktarını ölçmek için Griess reaktifi kullanılmaktadır. Sodyum nitroprussid çözeltisinin içerisindeki nitrit iyonları oksijen ile reaksiyona girerek diazonyum tuzunu oluşturur (Jain ve Agrawal, 2008). Daha sonra iyonlar Griess reaktifi ile reaksiyona girerek naftiletildiamine bağlanır ve kromoforik pembe renkli formazan oluştururlar (Dowding vd., 2012). Oluşan kromoforun aborbansısı spektrofotometrik olarak 540-550 nm dalga boyu aralığında ölçülmektedir (Jain ve Agrawal, 2008).

2.11. Mutajenite ve Antimutajenite Analizi

Hücreler, iç ve dış etkenlere bağlı olarak hasar görmektedir. Bu hasarlar zararlı ışınlar ve kimyasal maddeler tarafından oluşturulabileceği gibi hücrel metabolizma sırasında üretilen reaktif oksijen türleri (ROT) ve radikaller tarafından da oluşturulabilmektedir (Collins vd., 1996). Bu olay mutasyon olarak adlandırılmaktadır. Mutasyonlar, kromozom veya gen düzeyinde meydana gelirler (Natarajan ve Obe, 1986). Mutasyonlar tek bir nükleotidi etkilemesinin yanı sıra mutajenin yapısına ve maruz kalma süresine bağlı olarak kromozomun delesyonu dahil olmak üzere vücuda çok çeşitli zararlar verirler (Beksaç, 1996). Mutasyonlara örnek olarak baz çifti değişimi, çerçeve kayması, inversiyon, delesyon, duplikasyon verilebilir. Baz çifti değişimi, nokta mutasyonu olarak da bilinir ve bu mutasyon, kodonda bulunan eşleşmiş bir baz çiftinin diğer baz çiftine dönüşmesi ile oluşmaktadır (Smith ve Wood, 1991). Çerçeve kayması mutasyonu ise kodlama bölgesinde bulunan nükleotitlerin eklenmesi veya silinmesi ile meydana gelecek aminoasitin değişmesidir (Klug vd., 2002).

Meydana gelen mutasyonların belirlenmesinde çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu testler hızlı olmalarının yanı sıra karsinojenlerin mutajenitesini göstermede yeterli olmamıştır. Ames vd. tarafından 1973 yılında, *Salmonella typhimurium*

bakterisini kullanarak geliştirilen AMES/*Salmonella* metodu, örneklerin mutajenitesini belirlemede sıklıkla kullanılmaktadır. Yöntem, genetik hasara ve mutasyonlara sebep olabilecek maddelerin hızlı ve hassas şekilde tespit edilmesini sağlayarak kantitatif veriler sağlamaktadır (Mortelmans ve Zeiger, 2000). Testte *S. typhimurium* bakterisinin TA97, TA98, TA100, TA102, TA1535 ve TA1537 suşları kullanılmaktadır. Çeşitli mutasyonlara sahip olan bu suşlar histidin sentezleme yeteklerini kaybetmiştir (his-). Suşlara tekrar mutajen uygulandığında ise histidin sentezleme yeteneklerini (his+) tekrar kazanmaktadırlar (Mortelmans ve Zeiger, 2000). *S. typhimurium*'un TA98 suşu çerçeve kayması, TA100 suşu ise baz çifti mutasyonunun belirlenmesini sağlamaktadır (Maron ve Ames, 1983).

2.12. DNA ile Etkileşim

2.12.1. DNA Kesme Aktivitesi

Elektroforez, elektriksel alanda çözülmüş DNA molekülünün elektrik yüküne göre farklı kutuplara hareket ederken birbirlerinden ayrılmaları temeline dayanan moleküler inceleme yöntemidir. Yöntem ile molekülün ağırlığı, miktarı ve formu belirlenmektedir.

Negatif yüklü DNA, jelde katoddan anoda doğru hareket etmektedir. Göç hızı molekülün yapısına, büyüklüğüne, ortamdaki yoğunluğa, akıma ve iyonik kuvvete bağlı olarak değişmektedir. Büyük moleküller jel üzerinde yavaş ilerlerken, küçük moleküller daha hızlı hareket ederler. Molekülün jel üzerindeki konumu UV ışınları ile floresan yansıma yapan etidyum bromür (EtBr) kullanılarak belirlenmektedir (Dikilitaş ve Koçyiğit, 2010).

Rekombinant DNA teknolojisi, DNA molekülünün yabancı bir organizmaya aktarılmasını içermektedir (Smith, 1985). Bu yöntemde kullanılan plazmidler vektör olarak adlandırılmaktadır. Gen klonlamada en sık kullanılan vektör pBR322'dir (Bolivar vd., 1977). Plazmid DNA, genomdan bağımsız replikasyon yapabilen, çift zincirli ekstra kromozomal halkasal DNA'dır. Tüm bakteri hücrelerinde bulunmayan plazmid DNA, genomik DNA'ya oranla daha az baz sayısına sahip olduğundan dolayı daha küçük moleküler ağırlık ve boyuta sahiptir. Ayrıca plazmid DNA'lar çeşitli işlevlere sahiptir ve bazı genleri kodlayabilirler (Balbás vd., 1986).

pBR322, *Escherichia coli* bakterisinden izole edilmiş, 4361 baz çiftine sahip DNA molekülüdür. pBR322 vektörü, replikasyon orjinine, ampisilin ve tetrasiklin direnç genleri ile EcoRI, HindIII, EcoRV, BamHI ve Sall gibi enzimleri içeren çoklu klonlama bölgesine sahiptir (Watson, 1988). pBR322, dizilenen ilk plazmid olmasının yanı sıra düşük moleküler ağırlık ve dizisinin basit olması sebebi ile genetik mühendisliği alanında yapılan çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Sutcliffe, 1979; Watson, 1988).

2.13. *Pelargonium graveolens* (Itır)

Halk arasında ıtır veya irdişah olarak bilinen *Pelargonium graveolens*, Geraniaceae (Turnagagasıgiller) familyasına aittir (Tablo 2). 1,3 m yüksekliğe, 1 m yayılıma kadar büyüeyebilen kadife yapraklı, çok yıllık çalı bitkisi Güney Afrika, Madagasakar, Mısır, Fas ve Cezayir gibi ülkelerin yanı sıra Türkiye’de de Ege ve Akdeniz bölgelerinde yetiştirilmektedir (Şekil 4). Nemli ve yarı gölge alanlarda gelişim gösteren bitki, pembe-beyaz çiçeklere ve aromatik gül kokusuna sahiptir (Şeker Karatoprak ve Koşar, 2015).



Şekil 4. *Pelargonium graveolens* (orjinal).

Tablo 2

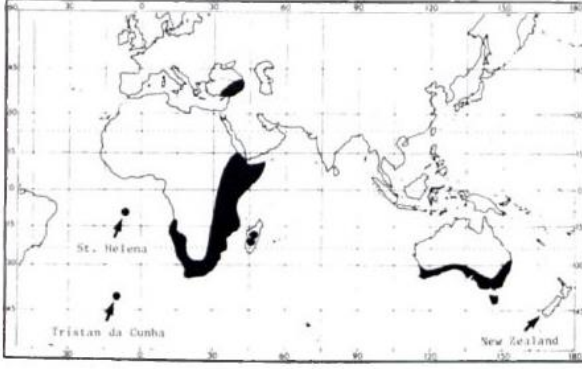
Pelargonium graveolens'in sistematikteki yeri

Alem	Plantae (Bitki)
Şube	Angiosperms (Kapalı Tohumlular)
Sınıf	Dicots (Çift Çenekliler)
Takım	Rosids (Güller)
Familya	Geraniaceae (Turnagagasıgiller)
Cins	<i>Pelargonium</i>
Tür	<i>Pelargonium graveolens</i> L.

Pelargonium türlerinin geleneksel tıpta kullanımı Afrika Zulu Kabilesi şifacılarına dayanmaktadır. Bitki Afrika geleneksel tıbbında solunum yolu enfeksiyonları, yüksek ateş, sıtma, dizanteri, tüberküloz, suçiçeği, kızamık ve kabakulak tedavisinde kullanılmıştır. Bitki Fransa'da ülser, diyabet, böbrek taşı ve safra kesesi hastalıklarının tedavisinde; İran'da ağrı ve yüksek tansiyon tedavisinde; Venezuela'da şifa banyosu olarak; Amerika'da ise kulak ve baş ağrısının tedavisinde kullanılmıştır (Şeker Karatoprak ve Koşar, 2015; Saraswathi vd., 2011).

2.13.1. *P. graveolens* Esansiyel Yağı

Pelargonium familyasından yalnızca *P. graveolens*, *P. capitatum*, *P. odoratissimum* ve *P. radens* türlerinden esansiyel yağı üretilmektedir. Dünya çapında üretim miktarı 750 ton/yıl'dır. Ana üretici Çin'i, Mısır, Fas ve Hindistan takip etmektedir (Şekil 5). *P. graveolens* (çiçek, yaprak ve gövde) kullanılarak elde edilen yağ sarı-yeşil renkte olup, citronellol ve geraniol bileşenleri bakımından zengindir. Bu bileşenlerin bulunması, bitkinin antimikrobiyal ve antioksidan kapasitesini arttırmaktadır (Saraswathi vd., 2011).



Şekil 5. *P. graveolens*'in dünyadaki dağılımı.

(van der Walt ve Worster, 1983)

2.13.2. *P. graveolens* Esansiyel Yağının Kullanım Alanları

Elde edilen uçucu yağ, sabun, parfüm, kozmetik endüstrisinde ve aromaterapide kullanılmaktadır. Yağ aynı zamanda antiseptik ve antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğundan dolayı akne ve egzama gibi cilt rahatsızlıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır (Saraswathi vd., 2011). Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) ve FEMA (Tatlandırıcılar ve Ekstrakt Üreticileri Birliği) tarafından GRAS (Genel olarak güvenilir-zararsız) olarak sınıflandırılmıştır (Boukhatem, 2013). *P. graveolens* yağının güvenli kabul edilmesi ve gül aroması içermesinden dolayı gıda sektöründe reçel, şurup, jöle, sirke, çay vb. yapımında sıklıkla kullanılmaktadır (Lalli vd., 2008).

2.14. Yeşil Sentez Yöntemiyle Sentezlenen Metal Bazlı Nanopartiküllerin Biyolojik Aktiviteleri Üzerine Yapılan Çalışmalar

İpek vd. (2005), *Origanum onites* (İzmir kekiği) kullanarak elde ettikleri esansiyel yağı ve carvacrol maddesinin mutajenitesini AMES/*Salmonella* testi ile incelemişlerdir. Çalışmada TA98 ve TA100 suşlarına karşı mutajenik etki gözlenmemiştir.

Douissa vd. (2005), *Pistacia lentiscus* (sakız ağacı)'dan hidrodistilasyon yöntemi ile elde ettikleri yağın mutajenik aktivitesine AMES/*Salmonella* yöntemi ile bakmışlardır. *Salmonella typhimurium* bakterisinin TA97, TA98, TA100, TA1535 ve TA1538 suşları ile yapılan çalışmada esansiyel yağın suşların hiçbirinde mutajeniteye sebep olmadığı belirlenmiştir.

Kilani vd. (2005), *Cyperus rotundus* (topalak)'tan hidrodistilasyon yöntemi ile elde ettikleri esansiyel yağın antimutajenik aktivitesini *Salmonella typhimurium* bakterisinin TA98 ve TA100 suşlarına karşı test etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre esansiyel yağın mutajen olmadığı belirlenmiştir.

Kilani vd. (2007), *Cyperus rotundus* (topalak)'ın çeşitli ekstrakt (etil asetat, metanol, su) ve esansiyel yağının mutajenik aktivitesinde metanol ekstraktının 500 µg konsantrasyonunun TA98 suşuna karşı mutajenik etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Özkan vd. (2014), *Ferula orientalis*'in yaprak ve çiçeklerinden clevenger cihazı ile elde ettikleri esansiyel yağın mutajenik ve antimutajenik aktivitesini *Salmonella typhimurium* bakterisinin TA1535 ve TA1537 suşlarını kullanarak AMES/*Salmonella* testi ile değerlendirmişlerdir. Analiz sonucunda konsantrasyonların hiçbirinde mutajenik etki gözlenmemiştir.

Dzimitrowicz vd. (2016), *Eucalyptus globulus* (mavi okaliptus) ve *Rosmarinus officinalis* (biberiye) yapraklarından elde ettikleri su:etanol ekstraktını kullanarak yeşil sentez yöntemi ile altın (Au) nanopartikül sentezlemişlerdir. Sentezledikleri altın nanopartiküllerin karakterizasyonunu TEM ile yapmışlardır. Analiz sonucunda altın nanopartiküllerin küresel, üçgen, altıgen ve çubuk gibi birden farklı formda olduğunu belirlemişlerdir.

Azizi vd. (2016), *Zingiber zerumbet* esansiyel yağı ile sentezledikleri çinko oksit (ZnO) nanopartikülünün antimikrobiyal kapasitesini incelemek için disk difüzyon metodunu kullanmışlardır. ZnO nanopartikülü *Staphylococcus aureus* (S276)'a karşı 8,2 mm inhibisyon sergilerken ZnO-Ag nanopartikülü 9,5 mm inhibisyon sergilemiştir. *Bacillus subtilis* (B29) bakterisine karşı ZnO nanopartikülü 11,75 mm inhibisyona sahipken, ZnO-Ag nanopartikülü 14,8 mm inhibisyon göstermiştir. *Escherichia coli* (E266) bakterisine karşı ise ZnO nanopartikülünde 10,35 mm inhibisyon gözlemlenirken ZnO-Ag nanopartikülünde bu değer 14,26'ya yükselmiştir. ZnO-Ag nanopartikülünün ZnO nanopartikülünden daha yüksek antimikrobiyal etki göstermesinin sebebi, ZnO-Ag nanopartikülünün sahip olduğu gümüş atomlarından kaynaklandığı bildirilmiştir.

Mousavi vd. (2019), *Myristica fragrans* (hint cevizi) esansiyel yağı ile sentezledikleri Fe₃O₄-MgO nanopartikülünün antimikrobiyal potansiyelini gram pozitif bakteriler (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*), gram negatif bakteriler (*Arizona*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Morganella*, *Enterobacter* ve *Pseudomonas aeruginosa*) ve maya (*Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Terichophyton verrucosum* ve *Epidermophyton floccodum*) suşlarını kullanarak minimum inhibisyon konsantrasyon yöntemi ile analiz etmişlerdir. Analiz sonucu nanopartiküllerin en yüksek inhibitör etkisi *E.coli* bakterisinde gözlenmiştir. Ayrıca nanopartiküllerin antimikrobiyal etkisinin gram negatif bakterilerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Maciel vd. (2019), *Syzygium aromaticum* (karanfil) esansiyel yağı ve esansiyel yağın ana maddesi olan öjenolün antioksidan kapasitesini belirlemek amacı ile ABTS^{•+} metodunu kullanmışlardır. Deney sonucunda karanfil esansiyel yağı ve öjenolün IC₅₀ değerleri sırası ile 32,7±1,5 µg/mL ve 29,8±0,2 µg/mL olarak bulunmuştur. Sonuçlar öjenolün ABTS^{•+} radikalini giderme kapasitesinin karanfil esansiyel yağından daha fazla olduğunu göstermiştir.

Obeizi vd. (2020), *Eucalyptus globulus* (mavi okaliptus) esansiyel yağı ile sentezledikleri çinko oksit (ZnO) nanopartikülünün antimikrobiyal aktivitesi gram pozitif bakteri (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300)), gram negatif bakteri (*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076), *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Salmonella typhimurium*) ve maya (*Candida albicans*) suşları ile test edilmiş olup ZnO nanopartikülünün gram negatif bakterilere karşı daha fazla inhibitör etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca nanopartikül konsantrasyonu ile antimikrobiyal aktivitenin doğru orantılı olarak arttığını gözlemlemişlerdir.

Ahmadi vd. (2021), *Satureja hortensis* (baklakekik) esansiyel yağı ile sentezledikleri demir (Fe) nanopartikülünün antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi için disk difüzyon yöntemi ile maya (*Candida albicans* (ATCC 10231)), 2 gram pozitif bakteri (*Corynebacterium glutamicum* (ATCC 21799) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)), 2 gram negatif bakteri (*Escherichia coli* (ATCC 33876) ve *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC

10662)) suşları kullanarak analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda demir nanopartiküllerin tüm suşlara karşı hem standart antibiyotik neomisin hem de esansiyel yağa oranla daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

2.15. Yeşil Sentez Yöntemiyle Sentezlenen AgNP'lerle Yapılan Biyolojik Çalışmalar

Dauthal ve Mukhopadhyay (2013), *Prunus armeniaca* (kayısı) kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartikülleri DPPH• yöntemi ile analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinin konsantrasyon ile orantılı şekilde arttığı gözlenmiştir. Gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesi en düşük %10,29, en yüksek ise %62,45 olarak belirlenmiştir.

Lalitha vd. (2013), *Azadirachta indica* kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesini hidrojen peroksit (H₂O₂) metodu ile incelemişlerdir. Yapılan analizde nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinin konsantrasyon ile arttığı gözlenmiştir. Nanopartiküller 20 µg/mL konsantrasyonda %2,5 inhibisyon sergilerken 40 µg/mL konsantrasyonda %12, 60 µg/mL konsantrasyonda %23, 80 µg/mL konsantrasyonda %27 ve 100 µg/mL konsantrasyonda ise %33 inhibisyon gözlenmiştir.

Muniyappan ve Nagarajan (2014), *Dalbergia spinosa* kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartikülü hidrojen peroksit (H₂O₂) metodu ile analiz etmişlerdir. Sentezlenen nanopartikülün antioksidan aktivitesi %90,5 ila %96,2 arasında değişmiş olup, giderme aktivitesinin konsantrasyon ile arttığı gözlenmiştir.

Vilas vd. (2014), *Myristica fragrans* (hint cevizi) esansiyel yağını kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesini DPPH• yöntemi ile incelemişlerdir. 1,25 µL konsantrasyonda 2 mL yağ kullanarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesi %34 iken 5 mL yağ kullanarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinin %40 olduğu görülmüştür. 20 µL konsantrasyonda ise 2 mL yağ ile sentezlenen nanopartiküllerin antioksidan aktivitesi %53,5, 5 mL yağ kullanarak sentezlenen nanopartiküllerin antioksidan aktivitesi ise %54 olarak

belirlenmiştir. Bu verilere göre gümüş nanopartiküllerin DPPH• giderme aktivitesinin konsantrasyona bağlı olarak arttığı gözlenmiştir.

Kumar vd. (2016), *Polyalthia longifolia* ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin hidrojen peroksit (H₂O₂) analizinde nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinin konsantrasyon ile arttığını göstermişlerdir. Nanopartiküllerin H₂O₂ radikalini giderme aktivitesi %17 ila %75 arasında değişmiş olup en yüksek inhibisyon 100 µg/mL konsantrasyonda gözlenmiştir.

Baharara vd. (2017), yeşil sentez yöntemi ile *Salvia officinalis* (adaçayı) kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartikülleri ABTS•⁺ metodu ile analiz etmişlerdir. Analizde nanopartiküllerin konsantrasyon ile orantılı olarak artan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Nanopartiküllerin en düşük %9 ve en yüksek %65 olacak şekilde inhibisyon sergilediği gözlenmiştir. Ayrıca gümüş nanopartiküllerin IC₅₀ değeri 780 µg/mL olarak bulunmuştur.

Shah vd. (2018), *Daphne mucronata* kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartikülün antioksidan aktivitesini DPPH• yöntemi ile incelemişlerdir. Gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinin konsantrasyon ile arttığı gözlenmiştir. Gümüş nanopartiküllerin IC₅₀ değeri 322,83 µg/mL olarak bulunurken, standart askorbik asitin IC₅₀ değeri 342,50 µg/mL olarak bulunmuştur.

Savaranakumar vd. (2018), yeşil sentez yöntemi ile sentezledikleri gümüş nanopartikülün antioksidan aktivitesini hidrojen peroksit (H₂O₂) metodu ile analiz etmişlerdir. Çalışmada nanopartikülün en yüksek giderme aktivitesi 500 µg/mL konsantrasyonda %85,25±1,45 olarak belirlenirken en düşük antioksidan aktivite %47 ile 25 µg/mL konsantrasyonda hesaplanmıştır. Nanopartikülün tüm konsantrasyonlarda ekstraktan daha yüksek aktivite sergilediği görülmüştür.

Adebayo-Tayo vd. (2019), yeşil sentez yöntemi ile *Oscillatoria* ekstraktı kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartikülün antimikrobiyal aktivitesini antibiyofilm metodu ile incelemişlerdir. Çalışmada gram pozitif ve gram negatif bakteriler kullanılmıştır. Gümüş nanopartikülün antibiyofilm aktivitesi düşükten yüksek aktiviteye olacak şekilde sırası ile

Pseudomonas aeruginosa, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus* olacak şekilde belirlenmiştir.

Maciel vd. (2019), *Syzygium aromaticum* (karanfil) uçucu yağı ile sentezlediği farklı pH değerlerine sahip gümüş nanopartikülün antimikrobiyal aktivitesini 2 gram pozitif (*Bacillus cereus* (ATCC 10987), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)) ve 1 gram negatif (*Escherichia coli* (ATCC 8739)) bakteri kullanarak test etmişlerdir. Analiz sonucunda pH'ı 7 ve 8 olan gümüş nanopartiküller *E. coli*'ye karşı 60 µL/mL konsantrasyonda inhibitör etki sergilemiştir. pH'ı 8 olan gümüş nanopartiküller *S. aureus* bakterisine karşı 80 µL/mL konsantrasyonda inhibitör etki sergilemiştir. pH'ı 9 olan nanopartiküller ise her iki bakteriye karşı 100 µL/mL konsantrasyonda inhibitör etki sergilemiştir. *B. cereus*'a karşı ise test edilen örneklerin hiçbirinde inhibisyon gözlenmemiştir.

Genç (2021), *Origanum onites* (izmir kekiği) kullanarak sentezlediği gümüş nanopartikülün radikal katyon giderme aktivitesini ABTS^{•+} yöntemi ile analiz etmiştir. Analizde gümüş nanopartiküller 5,16±0,07 µg/mL, standart BHT ise 7,03±0,19 µg/mL IC₅₀ değeri sergilemiştir.

Geçer vd. (2022), *Echinacea purpurea* (ekinezya) ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin antioksidan kapasitesini ABTS^{•+} metodu ile incelemişlerdir. Gümüş nanopartiküllerin IC₅₀ değeri 8 µg/mL olarak bulunurken, BHT'nin IC₅₀ değeri 8,5 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *Pelargonium graveolens* Bitkisinin Toplanması

Çalışmada kullanılan *P. graveolens* L. (İtır), Balıkesir Büyükşehir Belediyesi Çiftçi Eğitim Merkezi (BAÇEM)'den toplandı. Bitki örneği analiz edilene kadar oda sıcaklığında, gölgede kurumaya bırakıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. *P. graveolens*'ten Yağ Eldesi

Bitki yapraklarından esansiyel yağ üretimi clevenger cihazı (Labware, ABD) ile gerçekleştirildi. 100 g bitki yaprağı öğütülerek 1 L hacimli balona alındı, üzerine 600 mL saf su eklenerek cihaza yerleştirildi. Ekstraksiyon 350 °C sıcaklıkta, 3 saat sürede tamamlandı. İşlem sonunda elde edilen esansiyel yağ, viallere alınarak analizleri ve çalışmaları yapılana kadar +4 °C'de saklandı.

3.2.2. *P. graveolens* Esansiyel Yağının GC-MS Analizi

P. graveolens esansiyel yağının bileşenlerinin kalitatif analizi GC-MS (7890A-5975C, Agilent Technologies, ABD) cihazı ile yapıldı. GC-MS kolonuna 1 µL esansiyel yağ örneği yüklenerek, kolon sıcaklığı 50 °C'den başlatılıp, başlangıçta 25 °C/dk'ya ayarlanıp 200 °C'ye, ardından ise 3 °C/dk olacak şekilde 230 °C'ye ısıtıldı. Taşıyıcı gaz olarak (1 mL/dk) helyum kullanıldı. Analiz sonrası bileşenlerin tespit edilmesinde Wiley ve NIST kütüphane verilerinden yararlanıldı.

3.2.3. *P. graveolens* Esansiyel Yağından Gümüş Nanopartikül Sentezi

P. graveolens esansiyel yağı (0,1 µL), 1:170 oranında aseton ile seyreltildi. Hazırlanan 2 mM gümüş nitrat çözeltisi, manyetik karıştırıcıda 60 °C'ye ısıtıldı. Gümüş nitrat çözeltisinin her 30 mL'sine 1 mL olacak şekilde seyreltilmiş yağ eklendi. Çözelti,

manyetik karıştırıcıda (RH Basic, IKA, Türkiye) 1 saat karıştırıldı. Daha sonra çözelti 7,500 rpm'de 1 saat santrifüjlendi (Hettich, Almanya). Santrifüj sonrası süpernatant uzaklaştırıldı. Ayrılan pellet, mikrosantrifüj cihazında (Thermo Scientific, ABD) 14,000 rpm'de 15 dakika daha santrifüjlendi. Ardından süpernatant uzaklaştırılarak pellet saf su ile yıkandı. Yıkama işlemi 3 kez tekrar edildi. Yıkanan pellet etüvde 60 °C'de 48 saat kurutuldu.

3.3. Karakterizasyon Çalışmaları

3.3.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

P. graveolens esansiyel yağından sentezlenen AgNP'lerin morfoloji, boyut ve dağılımları Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (Quanta FEG 250, FEI, ABD) kullanılarak analiz edildi. SEM analizi, Kastamonu Üniversitesi Merkez Laboratuvarı (MERLAB)'da hizmet alımı olarak gerçekleştirildi. Nanopartikül, karbon bant üzerine yerleştirildi, yüzeyi kaplama cihazında (Sputter Coater 108 Auto, Cressington, İngiltere) 40 mV 60 sn sürede altın ve paladyum ile kaplandı, 5 kV voltaj altında incelendi.

3.3.2 Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS) Analizi

Sentezlenen AgNP'lerin element kompozisyonunu belirlemek EDS dedektörü (EDAX, ABD) kullanıldı. EDS analizi, Kastamonu Üniversitesi Merkez Laboratuvarı (MERLAB)'da hizmet alımı olarak gerçekleştirildi.

3.3.3. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi

Nanopartikülün agregasyon ve dağılımı TEM ile incelendi. Analiz, Erzurum Atatürk Üni. Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM)'da hizmet alımı olarak gerçekleştirildi. Sentezlenen nanopartiküller etanol içerisinde çözdürüldükten sonra çözelti karbon kaplı bakır ızgaraya yerleştirilerek havada kuruması sağlandı. Örnekler, Transmisyon Elektron Mikroskobu (HT-7700, Hitachi, Japonya)'nda, 40-120 kV enerji altında görüntülendi. Elde edilen görüntüler Quantikov Image Analyzer programı yardımıyla analiz edildi.

3.3.4. Zeta Potansiyeli Analizi

Zeta analizi, DAYTAM’da hizmet alımı olarak gerçekleştirildi. Nanopartiküller Zeta potansiyeli ölçüm cihazı (Malvern Panalytical, İngiltere) ile analiz edildi.

3.3.5. UV Görünür Alan Spektroskopisi (UV-Vis) Analizi

Gümüş nanopartikül, kuvars küvet içerisinde T80+UV/VIS Spektrometre (PG Instruments, İngiltere) cihazında 230-450 nm dalga boyu aralığında incelendi.

3.3.6. Fourier Dönüümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

P. graveolens esansiyel yağı ve sentezlenen gümüş nanopartiküllerin FT-IR analizleri, Perkin Elmer BX II FT, ABD cihazında gerçekleştirildi. Örnekler KBr ile pellet haline getirilerek 4000-400 cm^{-1} aralıkta, 16 tarama sayısı ve 1 cm^{-1} tarama çözünürlüğünde analiz edildi.

3.4. Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları

3.4.1. Disk Difüzyon Metodu

Sentezlenen nanopartikül ve esansiyel yağın disk difüzyon analizi CLSI (2006) tarafından belirtilen şekilde gerçekleştirildi. Antibakteriyel aktivite analizinde örnekler, *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (NRRL B-3704), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Proteus vulgaris* (ATCC 13315) ve *Staphylococcus haemolyticus* (ATCC 43252) bakterilerine karşı test edildi. Sentezlenen nanopartikül ve esansiyel yağ farklı konsantrasyonlarda hazırlanarak disklere emdirildi. Ardından petriyeler 35-37 °C’de 24 saat inkübe edildi. Pozitif kontrol olarak penisilin kullanıldı. İnkübasyon sonucunda zon çapları ölçülerek antibakteriyel aktivite belirlendi.

3.4.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Belirlenmesi

Sentezlenen nanopartikül ve esansiyel yağın MİK değerleri CLSI (2006) tarafından belirtilen yöntem ile belirlendi. Analiz, 96 kuyulu mikropalakada seri dilüsyon ile yapıldı. Bakterilerin inokulumu Mueller Hinton Broth (MHB) besiyeri kültüründen hazırlandı. Mikroorganizmaların yoğunlukları 0,5 McFarland olarak ayarlandı. İnkübasyon sonunda üreme gözlenmeyen konsantrasyon MİK değeri olarak belirlendi.

3.5. Antibiyofilm Analizi

Örneklerin antibiyofilm aktiviteleri, mikropalaka metodu ile incelendi (Merritt vd., 2006). Bakteriler, Tryptic Soy Broth (TSB) besiyeri içerisinde 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Bakterilerin yoğunlukları 0,5 McFarland olarak ayarlandı. Örnekler 96 kuyucuklu plakaya eklendi. Ardından her kuyuya 100 µL TSB ve mikroorganizma kültürü ilave edilip plaka 48 saat 37 °C'de inkübe edildi. Süre sonunda plaka steril saf su ile yıkandı, oda sıcaklığında kurutuldu. Plakada her kuyuya 200 µL kristal viyole eklendi, 15 dakika inkübe edildi. Plaka yıkanıp tekrar kurumaya bırakıldı. Gram negatif bakteri bulunan kuyulara %95'lik etil alkolden, gram pozitif bakteri bulunan kuyulara ise %33'lük glasiyel asetik asitten 200 µL eklendi. Kuyuların absorbans değerleri 620 nm'de ölçüldü. Antibiyofilm aktivitesi için pozitif kontrol kullanılarak Denklem 3.1'deki formül ile inhibisyon değeri hesaplandı.

$$(\%) \text{ İnhibisyon} = [(Abs_{\text{kontrol}} - Abs_{\text{örnek}}) / Abs_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (3.1)$$

Abs: Absorbans

3.6. Antioksidan Çalışmalar

3.6.1. DPPH• Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Metodu

Analiz Blois (1958) tarafından belirtilen metoda göre yapıldı. Sentezlenen gümüş nanopartikül ve esansiyel yağ 10-20-40-80-160 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlandı. Karanlık ortamda 96 kuyucuklu plakaya 50 µL örnek ve 150 µL 1 M DPPH• çözeltisi eklendi. Plaka, 30 dakika inkübe edildi. Absorbans değerleri mikropalaka okuyucuda (Epoch Microplate Spectrophotometer, Agilent Technologies, ABD) 517 nm'de ölçüldü. Deneyde

pozitif kontrol olarak bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) kullanıldı. Elde edilen veriler Denklem 3.2’de yerine yazılarak inhibisyon değerleri belirlendi.

$$\text{DPPH}^\bullet \text{ Giderme Aktivitesi (\%)} = [(\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{örnek}}) / \text{Abs}_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (3.2)$$

Abs: Absorbans

3.6.2. ABTS^{•+} Radikal Katyon Giderme Aktivitesi Metodu

Analizde Re vd. (1999) tarafından belirtilen yöntem kullanıldı. Gümüş nanopartiküller ve esansiyel yağ 10-20-40-80-160 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlandı. Potasyum persülfat (K₂S₂O₈) [2, 45 mM] ve ABTS^{•+} [7 mM] çözeltileri eşit hacimde karıştırılarak 16 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 1 mL ABTS^{•+} çözeltisi, 734 nm dalga boyunda 0,7’lik bir absorbans elde etmek için 39 mL etanol (60:40, etanol:su) ile seyreltildi. 96 kuyucuklu plakada her kuyuya 210 µL ABTS^{•+} çözeltisi ve 15 µL örnek eklendi. Plaka 1 saat inkübe edildi. Absorbans mikropłaka okuyucuda 734 nm’de ölçüldü. Negatif kontrol olarak 225 µL ABTS^{•+} kullanıldı. Denklem 3.3 ile inhibisyon değerleri belirlendi.

$$\text{ABTS}^{\bullet+} \text{ Giderme Aktivitesi (\%)} = [(\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{örnek}}) / \text{Abs}_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (3.3)$$

Abs: Absorbans

3.6.3. H₂O₂ Radikal Giderme Aktivitesi Metodu

H₂O₂ Radikal giderme aktivitesi Zhao vd. (2006)’nin metoduna göre yapıldı. Örnekler 1,25-2,5-5-10-20-40 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlandı. Örnekler her spektrofotometre küvetine 1000 µL olacak şekilde eklendi. Örneklerin üzerine 1 mL 0,01 M hidrojen peroksit (H₂O₂), 100 µl %3’lük amonyum molibdat ((NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O), 10 mL 2 M sülfirik asit (H₂SO₄) ve 1,8 M 7 mL potasyum iyodür (KI) ilave edildi. Küvetlerdeki yeşil renk kaybolana kadar 5,09 M sodyum tiyosülfat (Na₂S₂O₃·5H₂O) eklendi. Örneklerin absorbansı UV-Vis spektrofotometre cihazı (Double Beam 8 Auto Cell, Labomed, ABD) ile 230 nm’de ölçüldü. Giderme aktivitesi Denklem 3.4 kullanılarak hesaplandı.

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ Giderme Aktivitesi (\%)} = [(\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{örnek}}) / \text{Abs}_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (3.4)$$

Abs: Absorbans

3.6.4. CUPRAC Metodu

Kuprik iyon giderme kapasitesi Ribeiro vd. (2011) tarafından belirtilen metoda göre yapıldı. Sentezlenen gümüş nanopartikül ve esansiyel yağ 10-20-40-80 ve 160 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlandı. 96 kuyucuklu F tabanlı plakada her kuyuya 50 µL olacak şekilde sırası ile 1 M amonyum asetat (C₂H₇NO₂), 7,5 mM neokuprin (C₁₄H₁₂N₂) ve 10 mM bakır klorür (CuCl₂) eklendi. Plaka 37 °C’de 15 dakika inkübe edildi, ardından kuyulara 100 µL örnek eklendi. Absorbans mikropilaka okuyucu ile 450 nm’de ölçüldü. Standart olarak BHT kullanıldı.

3.6.5. NO Radikal Giderme Aktivitesi Metodu

Nitrik oksit radikal giderme aktivitesi Nayak vd. (2016) tarafından belirtilen metoda göre yapıldı. Örnekler 10-20-40-80 ve 160 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlandı. 1 mL sodyumnitroprussid, 1 mL örnek ile karıştırılıp oda sıcaklığında 150 dakika inkübe edildi. Süre sonunda 1 mL çözelti, 1 mL Griess reaktifi (%2 orto-fosforik asit [H₃PO₄], %0,1 naftilenetilediamin [C₁₀H₇NHCH₂CH₂NH₂·2HCl] ve %1 sülfanilamid [C₆H₈N₂O₂S]) ile karıştırılıp 10 dakika inkübe edildi. Çözeltinin absorbansı 546 nm’de mikropilaka okuyucu ile ölçüldü. Standart olarak askorbik asit (AA) kullanıldı. İnhibisyon değerleri Denklem 3.5 ile hesaplandı.

$$\text{NO Giderme Aktivitesi (\%)} = [(Ab_{\text{kontrol}} - Ab_{\text{örnek}}) / Ab_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (3.5)$$

Abs: Absorbans

3.7. AMES/Salmonella Testi

P. graveolens esansiyel yağı ve gümüş nanopartiküllerin mutajenik ve antimutajenik aktivitesi, Maron ve Ames (1983) tarafından geliştirilen AMES/*Salmonella* testi ile *in-vitro* olarak belirlendi. Deneyde esansiyel yağ ve gümüş nanopartiküllerin 0,25-2 µg/mL konsantrasyonları test edildi. Test için *S. typhimurium* bakterisinin TA98 ve TA100 suşları kullanıldı. Testler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

Mutajenite çalışması için içerisinde 6 g agar ve 5 g NaCl bulunan 2 mL top agar'a 500 µL sodyum fosfat tamponu (pH 7,4) [0,2 M], 100 µL örnek ve 100 µL bakteri kültürü eklendi. Minimal Glukoz Agar (MGA) petripleri, 15 g agar, 20 mL VB tuz çözeltisi (50X) ve 100 mL glukoz çözeltisi (%20) kullanılarak hazırlandı. Örnekler MGA petriplerine ekildi, 48 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda geri dönen koloniler sayıldı. Test edilen örneklerin mutajenik aktivitesini belirlemek için koloni sayıları negatif kontrolle kıyaslandı. Mutajenik etkiden söz edebilmek için, test edilen örneklerin uygulanması sonucu sayımı yapılan koloni sayısının, negatif kontrolde bulunan koloni sayısının iki katı olması gerekmektedir.

Antimutajenite çalışması için 6 g agar ve 5 g NaCl bulunan 2 mL top agar'a 500 µL sodyum fosfat tamponu (pH 7,4) [0,2 M], 100 µL SA veya NPD mutajeni, 100 µL örnek ve 100 µL bakteri kültürü eklendi. Minimal Glukoz Agar (MGA) petripleri, 15 g agar, 20 mL VB tuz çözeltisi (50X) ve 100 mL glukoz çözeltisi (%20) kullanılarak hazırlandı. Örnekler MGA petriplerine ekildi, 48 saat 37°C'de inkübe edildi. Antimutajenik aktivite Hong ve Lyu (2011) tarafından belirlenen denklem ile hesaplandı. Hesaplanan inhibisyon oranı <%25 olduğunda etkisiz, %25-40 aralığında orta dereceli, >%40 ise güçlü antimutajenik olarak tanımlanır.

$$\text{İnhibisyon Oranı (\%)} = (A-B) / (A-C) \times 100 \quad (3.6)$$

A: Pozitif kontrol koloni sayısı, B: Örnek ve mutajen koloni sayısı, C: Spontan koloni sayısı

3.8. DNA Kesme Aktivitesinin İncelenmesi

P. graveolens esansiyel yağı ve AgNP'nin DNA kesme aktivitesi Qiao vd. (2011)'nin önerdiği şekilde agaroz jel elektroforezi yöntemi ile hidrolitik ve oksidatif olarak incelendi. Nanopartikül ve esansiyel yağ 50-100-200-400-800 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlandı. Örnekler hidrolitik çalışma için pBR322 DNA (0,1 µg/µL), Tris-HCl (pH 7,4) [10 mM] ve saf su (14 µL) ile karıştırıldı. Oksidatif çalışma için örnekler, pBR322 DNA (0,1 µg/µL), Tris-HCl (pH 7,4) [10 mM], saf su (12 µL) ve H₂O₂ (2 µL) ile karıştırıldı. Daha sonra 3 saat 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra örnekler 2 µL DNA Ladder ve 2 µL yükleme boyası ile karıştırılarak %0,8'lik agaroz jele yüklendi. Jel tankına 1X TAE tamponu (0,5 M

EDTA ve 10 mM Tris-HCl) eklendi ve örnekler 60 V'da 1 saat süreyle yürütüldü. Daha sonra bantlar UV ışığı (DNR Bio-Imaging System, İsrail) ile görüntülendi.



DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Esansiyel Yağın GC-MS ile Karakterizasyonu

P. graveolens esansiyel yağının %93,63'ünü oluşturan 48 adet bileşen tanımlandı. Bu bileşenlerin pik numaraları, RT (Retention Time, alıkonma süresi) değerleri ve % oranları Tablo 3'te verildi.

Esansiyel yağın majör bileşeni citronellol (%33,76) olarak belirlenmiş olup diğer ana bileşenler geraniol (%16,6), linalool (%6,4), 2-ethyl-1-hexanol (%5,51), β -caryophyllene (%4,41), menthone (%3,84), viridiflorene (%3,16), 1,4-benzenedicarboxylic acid, dimethyl ester (%1,38), nerol (%1,34), β -bourbonene (%1,22), cis-muurola-3,5-diene (%1,2), δ -cadinene (%1,2), geranyl tiglata (%1,17) ve α -humulene (%1,15) olarak sıralanmaktadır. Majör ve diğer ana bileşenlerin yağın %82,34'ünü oluşturduğu görüldü. Bu bileşenlerin kimyasal yapıları Şekil 6'da gösterildi.

Tablo 3

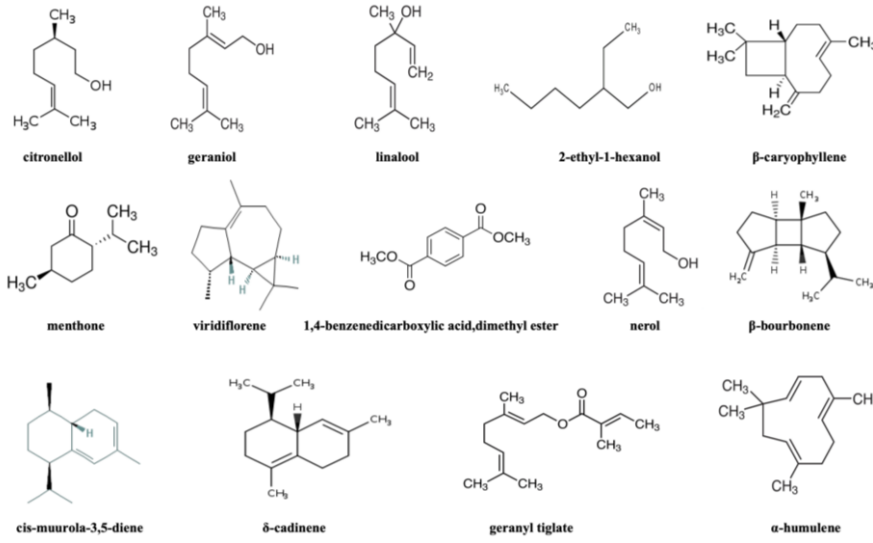
P. graveolens esansiyel yağının bileşenleri

Pik No	RT	Bileşen	%
1	6,35	α -Pinene	0,48
1	6,35	Sabinene	0,48
4	6,96	Pentanoic acid, 4-methyl, methyl ester	0,09
6	7,07	Myrcene	0,15
6	7,07	β -Pinene	0,15
7	7,15	α -phellandrene	0,08
10	7,35	Limonene	0,14
14	7,77	p-Cymene	0,22
15	7,85	Terpinolene	0,05
19	8,25	cis-Rose oxide	0,5
24	8,90	2-Ethyl-1-hexanol	5,51
25	8,99	Menthone	3,84
28	9,21	Linalol	6,4
29	9,32	β -Bourbonene	1,22
31	9,55	Isopulegol	0,09
32	9,59	α -Guaiene	0,12
32	9,59	α -Gurjunene	0,12
33	9,66	β -Elemene	0,97

Tablo 3'ün devamı

33	9,66	Aromadendrene	0,97
34	9,82	β -Caryophyllene	4,41
36	10	trans-Muuro-la-3,5-diene	0,23
37	10,05	Germacrene D	0,19
39	10,16	Neral	0,45
40	10,21	α -Terpineol	0,61
41	10,26	α -Humulene	1,15
43	10,38	Viridiflorene	3,16
44	10,52	Citronellol	33,76
45	10,65	Bicyclogermacrene	0,53
46	10,71	δ -Cadinene	1,2
46	10,71	cis-Muuro-la-3,5-diene	1,2
47	10,78	Nerol	1,34
49	11,07	Geraniol	16,6
51	11,28	trans-Calamenene	0,35
52	11,47	Geranyl Isovalerate	0,25
53	11,73	Phenethyl alcohol	0,8
55	11,96	α -Calacorene	0,06
56	12,01	10-epi-cubebol	0,06
57	12,96	5,11-Epoxycadin-1(10)-ene	0,27
60	12,71	Caryophyllene oxide	0,39
60	12,71	(E,Z) α -Farnesol	0,39
62	12,99	Ledol	0,23
63	13,16	1,10-di-epi-cubenol	0,75
64	13,26	1-epi-cubenol	0,35
65	13,38	Geranyl Tiglate	1,17
70	14,41	α -cadinol	0,2
71	14,48	2-Phenyl ethyl tiglate	0,5
72	14,84	Isospathulenol	0,07
74	15,29	1,4-Benzenedicarboxylicaciddimethylester	1,38

RT: Retention Time (Alikonma süresi)



Şekil 6. Yağda bulunan fonksiyonel grupların kimyasal yapıları.

Peterson vd. (2006), 3 farklı bölgeden topladıkları *P. graveolens* köklerinden elde ettikleri esansiyel yağın GC-MS analizi sonucu ana bileşen olan citronellol'un Mısır'dan toplanan örnekte %23,42, Fransa'dan toplanan örnekte %24,54 ve Çin'den toplanan örnekte %34 oranında bulunduğunu belirlemişlerdir.

Bigos vd. (2012), *P. graveolens* esansiyel yağının bileşenlerini GC-MS ile incelemiş ve uçucu yağda bulunan bileşenlerin başlıcalarının 10-epi-γ-eudesmol (% 4,4), linalool (%5,2), isomenthone (%6,3), citronellyl formate (%7,1), nerol (%8,7), geraniol (%13,4) ve citronellol (%26,7) olduğunu tespit etmişlerdir.

Boukhatem vd. (2013), Cezayir'den topladıkları *P. graveolens* bitkisinden clevenger cihazı ile uçucu yağ elde etmiş ve elde ettikleri yağın içeriğini GC-MS ile incelemişlerdir. Analiz sonucunda yağın 45 bileşen içerdiğini ve bu bileşenlerin yağın %94,3'ünü oluşturduğunu bulmuşlardır. Yağın majör bileşeni olan citronellol'un ise yağın %30,2'sini oluşturduğunu belirlemişlerdir.

Singh vd. (2013), Hindistan'ın 2 farklı bölgesinden topladıkları *P. graveolens*'ten elde ettikleri esansiyel yağın GC-MS analizi sonucunda, citronellol (%36,8-%23,9), geraniol (%20-%25,5), 10-epi-γ-eudesmol (%7,5-%5,8), citronellyl formate (%5,5-%6,2), geranyl formate (%2,4-%3,9) ve linalool (%2,8-%3)'ün iki bitkide farklı oranlarda bulunduğunu gözlemlemişlerdir.

Ali vd. (2013), 5 farklı bölgeden toplanan *P. graveolens* örneklerinden elde ettikleri esansiyel yağı GC-MS yöntemiyle analiz etmiş ve majör bileşenleri citronellol (%31,1-29,7-30,1-50,9-8,5), geraniol (%16,0-14,7-15,2-0,1-1,6), bunları takiben citronellyl formate (%10,5-10,5-7,0-13,3-1,0), isomenthone (%7,7-7,9-7,3-5,5-0), linalool (%10,4-10,9-7,5-0,1-1,1) olarak sıralamışlardır.

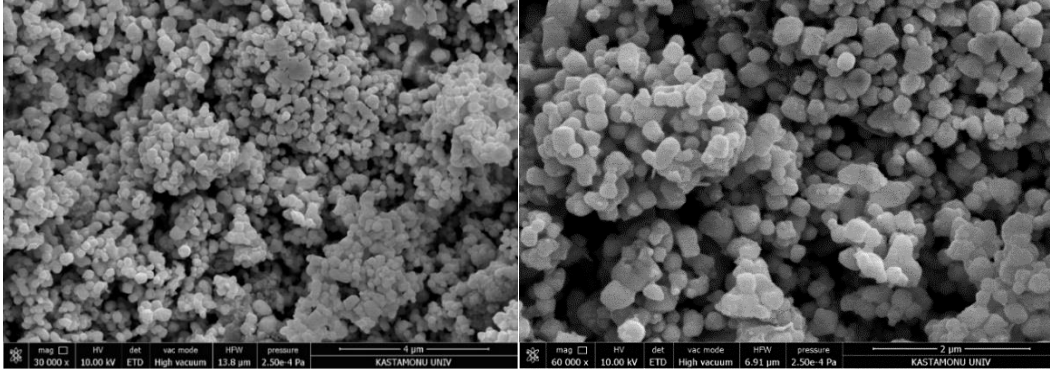
Türer (2019), *P. graveolens* yapraklarından hidrodistilasyon yöntemiyle elde ettiği yağın bileşenlerini GC-MS analizi ile belirlemiştir. Analiz sonucunda yağın 84 bileşen içerdiği ve ana bileşenin citronellol (%38,74) olduğu görülmüştür. Bu çalışmada da *P. graveolens* esansiyel yağının ana bileşeni citronellol olarak saptanmış olup yağın %33,76'sını oluşturduğu belirlendi.

Yağın içeriğindeki bileşenlerin ayrılması, polarite ve uçuculuklarına bağlıdır (Ercioğlu, 2017). *P. graveolens* esansiyel yağının tatlı ve gül benzeri aromatik kokusu, yağın majör bileşiği citronellol ve ana bileşenlerden olan geraniol'den kaynaklandığı bildirilmiştir (Aydınlık, 2021). Yapılan çalışmalarda yağın bileşenleri yüksek oranda benzerlik göstermesine rağmen bileşenlerin bulunma oranları arasındaki farkın bitkinin yetiştiği coğrafyanın özelliklerinden, hasat türünden ve yağın elde edilme yönteminden kaynaklandığı bildirilmiştir.

4.2. Karakterizasyon Analizleri

4.2.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Analiz sonucunda *Pelargonium graveolens* esansiyel yağından sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ortalama 72 nm boyuta ve küresel morfolojiye sahip oldukları görüldü (Şekil 7). Gümüş nanopartiküllerin sentezinde kullanılan *P. graveolens* esansiyel yağı aseton ile seyreltildi. Yağın aseton ile seyreltilmesi gümüş nitrat çözeltisinin indirgenmesini kolaylaştırarak gümüş nanopartiküllerin stabilizasyonunu artırmaktadır. Bu da nanopartiküllerin aglomerasyonunu önlemektedir (Sheny vd., 2012).



Şekil 7. AgNP'lerin SEM görüntüsü.

Al-Shnani vd. (2017), *Thymus syriacus*, *Mentha aquatica* (su nanesi) ve *Rosmarinus officinalis* (biberiye) uçucu yağlarını kullanarak kitosan kaplı gümüş nanopartikül sentezlemişlerdir. Sentezlenen nanopartiküller, FT-IR, SEM ve UV-Vis yöntemleri ile karakterize edilmiştir. Analiz sonucunda sentezledikleri nanopartiküllerin 62 nm boyuta sahip olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada da bu sonuca benzer olarak gümüş nanopartiküllerin ortalama 72 nm boyutta sentezlendiği bulundu.

Veisi vd. (2019), esansiyel yağ kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin SEM analizi sonucunda küresel formda olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada da *P. graveolens* esansiyel yağı ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin küresel formda oldukları görüldü.

4.2.2. Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS)

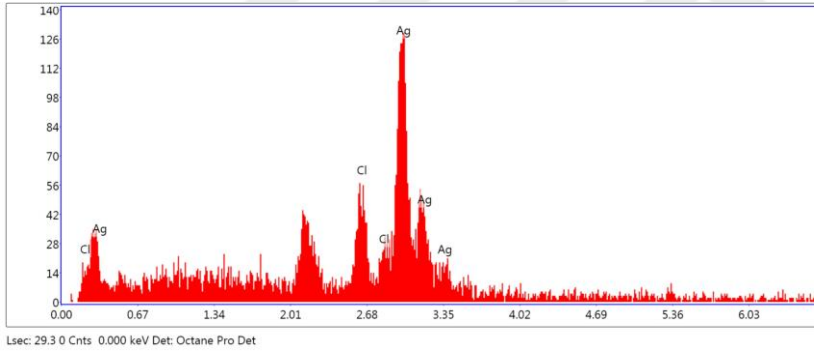
Nanopartikülde bulunan elementlerin varlığı EDS analizi ile doğrulandı. EDS spektrumunda 3 keV'teki zirvenin gümüş atomlarına ait olduğu belirlendi. EDS spektrumunda gözlenen diğer piklerin klor (Cl)'a ait olduğu görüldü (Şekil 8). Bu piklerin yağda bulunan fenolik ve flavonoid bileşenlerden kaynaklandığı bildirilmektedir (Veisi vd., 2019).

Arassu vd. (2018), *P. graveolens* esansiyel yağı kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin EDS analizinde 3 keV'ta gümüş atomlarının varlığını doğrulayan piki görüntülemişlerdir. Bu çalışmada da 3 keV noktasının etrafında gümüş atomlarına ait olduğu

bilinen pik belirlendi. Elde ettiğimiz sonucun daha önce raporlanan EDS spektrumları ile uyumlu olduğu görüldü (Al-Shnani vd., 2017; Arassu vd., 2018; Veisi vd., 2019).

Veisi vd. (2019), portakal kabuğundan elde ettikleri esansiyel yağ ile gümüş nanopartiküller sentezlemişlerdir. Sentezledikleri nanopartiküllerin element analizini EDS yöntemi ile belirlemişlerdir. Analiz sonucunda sentezledikleri nanopartiküllerin karbon (C), azot (N), oksijen (O) ve yüksek oranda Ag iyonlarını içerdiğini saptamışlardır. Spektrumda görülen C ve N iyonlarının esansiyel yağ kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada da benzer şekilde EDS spektrumunda yüksek miktarda Ag iyonlarının yanı sıra Cl iyonları da saptandı.

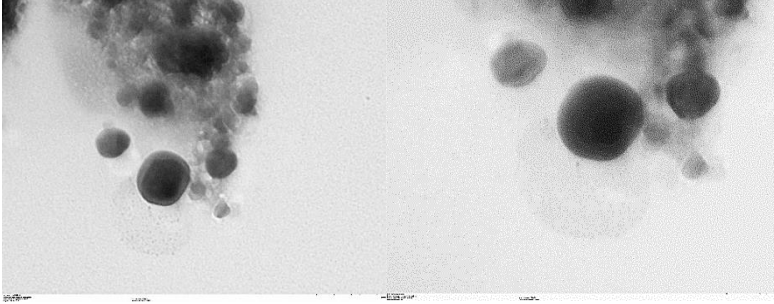
SEM ve EDS analizi ile küresel forma ve hücre içerisine girebilecek boyutlara sahip olduğu belirlenen nanopartiküllerin biyomedikal uygulamalar için potansiyel aday olabileceği bildirilmiştir (Erdoğan vd., 2019).



Şekil 8. AgNP'lerin EDS spektrumu.

4.2.3. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)

P. graveolens esansiyel yağından sentezlenen gümüş nanopartiküllerin TEM görüntüleri incelendiğinde sentezlenen gümüş nanopartiküllerin küresel formda oldukları belirlendi (Şekil 9). Nanopartiküllerin boyut ve şekilleri birlikte ele alındığında homojen olarak sentezlendiği görüldü.



Şekil 9. AgNP'lerin TEM görüntüsü.

Vilas vd. (2014), *Myristica fragrans* esansiyel yağı aracılığıyla gümüş nanopartikül sentezlemişlerdir. Nanopartiküllerin TEM analizi sonucunda partiküllerin küresel formda olduğunu ve etrafında bulunan tabakayı gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada yeşil sentez ile sentezlediğimiz gümüş nanopartiküllerin TEM görüntülerinde nanopartiküllerin etrafında esansiyel yağdan kaynaklanan tabaka gözlemlendi.

de Melo vd. (2020), *Thymus vulgaris* esansiyel yağı ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin şekillerini TEM ile analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda gümüş nanopartiküllerin küresel formda olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada esansiyel yağ kullanarak sentezlediğimiz gümüş nanopartiküllerin küresel formda oldukları görüntülendi.

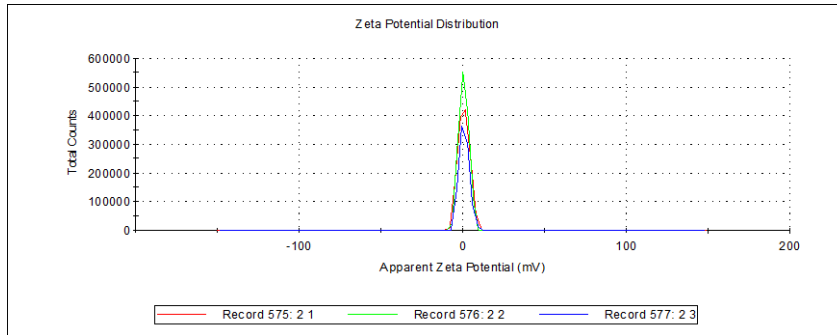
TEM görüntülerinde nanopartiküllerin etrafında organik bir tabaka gözlemlendi. Biyolojik organizmadan sentezlenen nanopartikülün etrafında gözlenen tabaka, bitkininin içeriğinde bulunan bileşenlere atfedilmektedir. Tabaka nanopartikülün stabilizasyonunu sağlarken onları daha kararlı hale getirmektedir. Ayrıca tabaka nanopartiküllerin çökmesini ve aglomerasyonunu önlemektedir (Jadhav vd., 2016).

4.2.4. Zeta Potansiyeli

P. graveolens esansiyel yağı kullanılarak sentezlenen AgNP'ye ait zeta potansiyel grafiği Şekil 10'da verildi. Analiz sonuçları incelendiğinde zeta potansiyel değerinin ortalaması $0,685 \pm 0,05$ mV olarak bulundu. AgNP'nin TEM ve zeta potansiyel analizi, parçacıkların küresel bir şekle sahip olduğunu göstererek, parçacıkların boyut ve şekilleri bakımından homojen olarak sentezlendiğini doğruladı.

Maciel vd. (2019), *Syzygium aromaticum* (karanfil) esansiyel yağı ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin zeta potansiyel analizi sonucu nanopartiküllerin stabilite aralığında sentezlendiğini ve aglomerasyona karşı stabil olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada da gümüş nanopartiküllerin homojen olarak sentezlendiği ve stabil oldukları görüldü.

Zeta potansiyel değeri 0'a yaklaştıkça partiküller arasındaki mesafe artar ve bu durum partiküllerin kararlılığını arttırmaktadır (Yardily vd., 2019; Mukherjee vd., 2014). Elde edilen zeta potansiyel değerleri *P. graveolens* esansiyel yağından sentezlenen gümüş nanopartiküllerin kararlı olduğunu göstermektedir.



Şekil 10. AgNP'lerin Zeta potansiyeli.

4.2.5. UV-Görünür Alan Spektroskopisi (UV-Vis)

Gümüş nitratın *P. graveolens* esansiyel yağı ile indirgenmesiyle elde edilen gümüş nanopartiküller 230-450 dalga boyu aralığında incelendi. Spektrumda 365 nm'de pik gözlemlendi (Şekil 11).

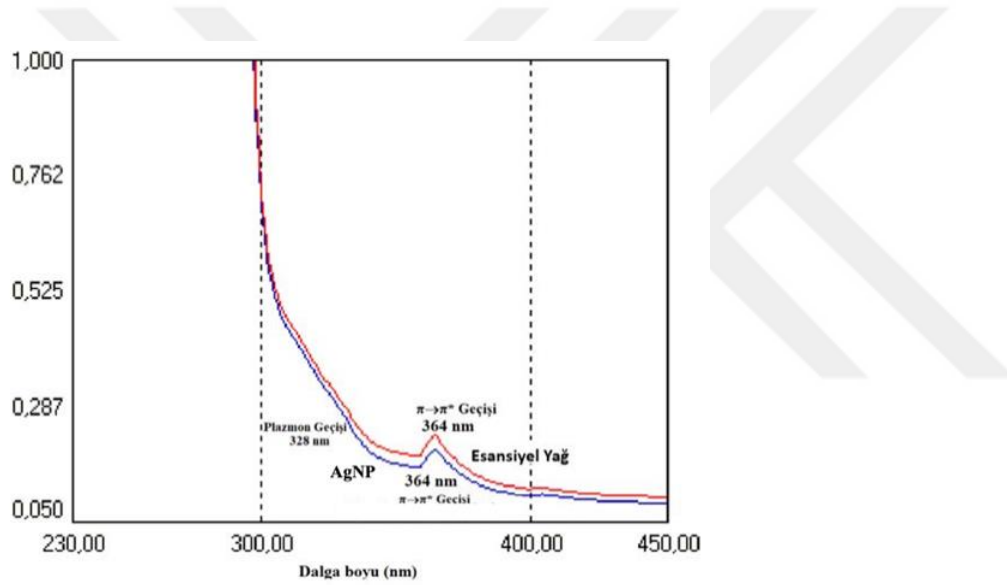
Uçucu yağda bulunan bileşenler, metal iyonlarının azaltılmasında ve nanopartiküllerin stabilizasyonunda rol oynamaktadır (Shankar vd., 2004). Daha önceki çalışmalara baktığımızda gümüş nanopartiküllerin 300-700 nm dalga boyunda gözlemlendiği bildirilmiştir (Ahmad vd., 2016). Spektrumda görülen pik, literatür ile uyumlu olup AgNP'nin sentezlendiğini göstermektedir (Kumar-Krishnan vd., 2015).

Vilas vd. (2016), yeşil sentez yöntemi ile *Coleus aromaticus* (küba kekiği) esansiyel yağı kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin oluşumunu UV-Vis yöntemi ile

analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda gümüş nanopartikülün 396 nm’de absorbansa sahip olduğu belirlenmiştir.

Arassu vd. (2018), *P. graveolens* (Itır) esansiyel yağı ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin UV-Vis analizinde 420 nm’de pik görüntülemişlerdir. Bu pik nanopartikül oluşumunu göstermektedir.

Veisi vd. (2019), *Citrus sinensis* (portakal) kabuğundan elde ettikleri yağ ile küresel formda gümüş nanopartikül sentezlemişlerdir. Gümüş nanopartiküllerin UV-Vis analizi sonucunda 412 nm’de görülen zirve ile nanopartikül sentezi doğrulanmıştır.

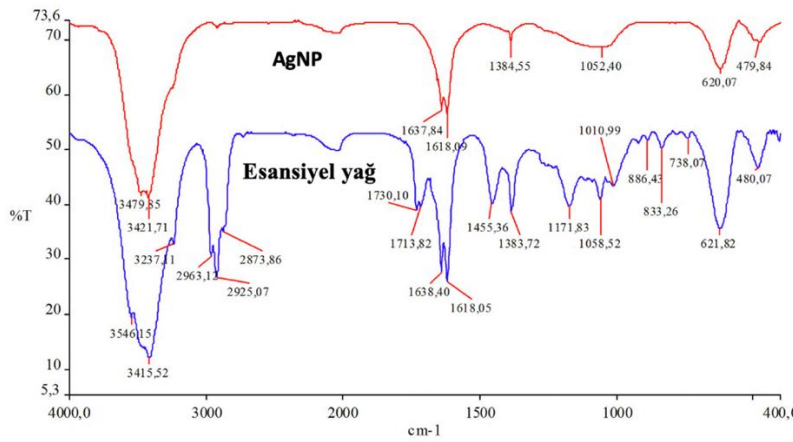


Şekil 11. AgNP ve esansiyel yağın UV-Vis spektrumu.

4.2.6. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)

P. graveolens esansiyel yağının FT-IR spektrumunda 3546, 3415 ve 3237 cm^{-1} ’de gözlenen pikler yağda bulunan OH, COH, C=C ve aromatik-H gruplarına ait titreşimlerdir. Yağda bulunan fenolik ve flavonoid bileşiklerin alkan gruplarına ait alifatik-H titreşimleri 2963, 2925 ve 2873 cm^{-1} ’de gözlemlendi. 1730, 1713 ve 1638 cm^{-1} ’de gözlenen titreşimler C=O titreşimlerine aittir. 1618 cm^{-1} ’deki pik ise C=C titreşimlerine aittir. Yağda bulunan C-O grubuna ait titreşim 1383 cm^{-1} ’de, C-O-C grubuna ait titreşimler ise 1171 ve 1058 cm^{-1} ’de gözlemlendi (Şekil 12).

Sentezlenen gümüş nanopartikülün FT-IR spektrumunda *P. graveolens* esansiyel yağında olduğu gibi 3546, 3415 ve 3237 cm^{-1} 'de pikler saptandı. Yağda gözlenen 1730 ve 1713 cm^{-1} noktalarındaki pikler, gümüş nanopartikül spektrumunda gözlenmedi. Bu da COH gruplarının gümüş iyonlarını gümüş nanopartiküllere dönüştürdüğünü, COH gruplarının da COOH'a dönüştüğünü göstermektedir (Şekil 12). 3546 cm^{-1} 'de gözlenen pikin OH grubuna ait olduğu ve OH grubunun AgNO_3 'ü indirgediği bilinmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar literatürdeki veriler ile karşılaştırıldığında önceki çalışmalar ile uyumlu oldukları görüldü (Al-Shnani vd., 2017; Arassu vd., 2018; Veisi vd., 2019).



Şekil 12. *P. graveolens* esansiyel yağı ve AgNP'lerin FT-IR spektrumu.

Al-Shnani vd. (2017), yeşil sentez yöntemi ile sentezledikleri gümüş nanopartikülleri karakterize etmek için FT-IR yöntemini kullanmışlardır. Analiz sonucu spektrumda 1633 cm^{-1} 'de C=O grubuna ait germe gözlemlenmiştir. Bu çalışmada ise C=O grubuna karşılık gelen pik 1638 cm^{-1} 'de görüntülendi.

Arassu vd. (2018), *P. graveolens* esansiyel yağı kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin FT-IR spektrumunda 3434,3 ve 1726,2 cm^{-1} 'de N-H ve 1,056,5 cm^{-1} 'de C-O bandı saptamışlardır. 836,3, 742,1, 534,2 ve 436,9 cm^{-1} 'de gözlenen gerilmelerin ise C-Cl, C-Br ve C-I gruplarına ait olduğunu belirlemişlerdir.

Veisi vd. (2019), esansiyel yağ kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin FT-IR spektrumunda 966, 1116 ve 1151 cm^{-1} 'de C-O, 2850-3080 cm^{-1} 'de C-H ve 3420 cm^{-1} 'de O-H piki gözlenmiştir. AgNP'nin FT-IR spektrumunda gözlenen 3400 cm^{-1} 'deki

yoğunluğun ise nanopartiküllerin sentezlenmesiyle oluşan hidroksil gruplarından kaynaklandığı bildirilmiştir.

4.3. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

4.3.1. Disk Difüzyon Analizi Bulguları

Sentezlenen AgNP, *A. baumannii* (ATCC 19606) bakterisinde 13 mm inhibisyon çapı gösterirken standart antibiyotik penisilin 8 mm inhibisyon çapı gösterdi. *P. aeruginosa* (ATCC 27853) bakteri suşuna karşı penisilinde 14 mm inhibisyon gözlenirken, AgNP’de 16 mm inhibisyon çapı gözlemlendi. *S. aureus* (ATCC 6538P) bakteri kültürüne karşı penisilin 13 mm inhibisyon gösterirken, AgNP 16 mm inhibisyon sergiledi. Bu sonuçlardan yola çıkarak AgNP’nin gram negatif bakterilerden *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* ile gram pozitif *S. aureus* üzerinde daha etkili olduğu görüldü (Tablo 4).

Gümüş nanopartiküllerin en düşük antibakteriyel etkisi 9 mm ile *E. coli* (NRRL B-3704) bakteri kültüründe gözlemlendi. AgNP’de, *S. haemolyticus* (ATCC 43252), *P. vulgaris* (ATCC 13315) ve *B. subtilis* (ATCC 6633) bakterilerine karşı sırası ile 13, 14 ve 12 mm zon çapları gözlenmesine rağmen standart antibiyotik olan penisilin bu suşlar üzerinde sırası ile 16, 15 ve 16 mm zon çapı oluşturdu (Tablo 4). Nanopartikülün oluşturduğu zon çapı standarttan daha düşük olduğundan dolayı bu bakterilere karşı antibakteriyel etkisinin düşük olduğu belirlendi.

Gümüş nitrat (AgNO_3), *P. vulgaris* (ATCC 13315)’e karşı 14 mm inhibisyon çapı oluştururken, penisilin 16 mm zon çapı oluşturdu. AgNO_3 , *P. aeruginosa* (ATCC 27853) ve *S. haemolyticus* (ATCC 43252) bakterilerinde 9 mm inhibisyon sergilerken penisilin sırası ile 14 ve 16 mm zon çapı oluşturdu. *P. graveolens* esansiyel yağı tüm suşlara karşı standartlardan daha düşük inhibisyon çapı sergiledi. Esansiyel yağ, *A. baumannii* (ATCC 19606) bakterisinde 7 mm, *S. haemolyticus* (ATCC 43252) ve *P. aeruginosa* (ATCC 27853) bakterilerine karşı 8 mm ve *P. vulgaris* (ATCC 13315)’e karşı 12 mm zon çapı oluşturmasına rağmen bu değerlerin AgNO_3 ve gümüş nanopartiküllerin oluşturduğu zon çaplarından daha düşük olduğu gözlemlendi (Tablo 4).

Gümüş nanopartiküller bakteri yüzeyine yapışarak hücre zarının geçirgenliğini arttırmaktadır. Nanopartiküllerin indüklemesiyle oluşan ROT’lar solunum sistemine zarar

vermektedir. Nanopartiküller böylece hücrel sistemleri zarar gören veya üremeleri inhibe olan mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterirler (Danilczuk vd., 2006).

Tablo 4

Disk Difüzyon analizi zon çapları (mm)

	Mikroorganizma	İnhibisyon zon çapı (mm)			
		AgNO ₃	EY*	AgNP	Penisilin
Gram Negatif Bakteri	<i>E. coli</i> (NRRL B-3704)	12	12	9	12
	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	9	13	16	14
	<i>P. vulgaris</i> (ATCC 13315)	14	9	14	16
	<i>A. baumannii</i> (ATCC 19606)	12	11	13	8
Gram Pozitif Bakteri	<i>B. subtilis</i> (ATCC 6633)	10	10	12	15
	<i>S. aureus</i> (ATCC 6538P)	10	11	16	13
	<i>S. haemolyticus</i> (ATCC 43252)	9	12	13	16

*EY: Esansiyel yağ, Penisilin: 10 µg/disk

Lis-Balchin vd. (1998), *P. graveolens* esansiyel yağının antibakteriyel aktivitesini gram pozitif ve gram negatif bakteriler kullanılarak değerlendirilmiştir. Esansiyel yağ, *S. aureus* bakterisine karşı 10 mm, *P. vulgaris* bakterisine karşı 11 mm, *B. cereus* ve *S. epidermidis* bakterilerine karşı ise 10 mm inhibisyon sergilemiştir. Analiz sonucunda yağın antibakteriyel kapasitesinin içerdiği citronellool, citral, citronellic acid, geraniol, linalool ve α -pinene'den kaynaklandığı bildirilmiştir. Bu çalışmada ise clevenger cihazı ile elde ettiğimiz *P. graveolens* esansiyel yağı *S. aureus* bakterisine karşı 11 mm, *P. vulgaris* bakterisinde ise 12 mm zon çapı oluşturdu.

Zakeri vd. (2021), AgNO₃ çözeltisinin antimikrobiyal aktivitesini disk difüzyon yöntemi ile analiz etmişlerdir. Analizde *S. aureus* bakterisinde 8,7 mm ve *E. coli* bakterisine karşı ise 8,9 mm inhibisyon çapı ölçülmüştür. Bu çalışmada ise 2 mM'lık AgNO₃ çözeltisi *E. coli* bakterisinde 12 mm, *S. aureus* bakterisinde ise 10 mm zon çapı oluşturdu. Ayrıca çözelti *E. coli* bakterisinde standart antibiyotik ile aynı inhibisyon değeri sergilemişken, *S. aureus* bakterisine karşı standarttan daha düşük aktivite sergilediği gözlemlendi.

4.3.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Bulguları

Gümüş nanopartikül, gram pozitif ve gram negatif bakteri kültürlerinin tümüne karşı standarttan daha yüksek MİK değeri sergiledi. Nanopartikülün, *E. coli* (NRRL B-3704) bakteri kültüründe 15,63 µg/mL MİK değerine sahip olduğu belirlendi. Nanopartikül *B. subtilis* (ATCC 6633) bakterisinin üremesini 31,25 µg/mL konsantrasyonda inhibe ederken, *S. aureus* (ATCC 6538P), *A. baumannii* (ATCC 19606), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *P. vulgaris* (ATCC 13315) ve *S. haemolyticus* (ATCC 43252) bakteri kültürlerinin üremesini 62,5 µg/mL konsantrasyonda inhibe ettiği görüldü. Gümüş nanopartikülün en düşük MBK değeri *E. coli* (NRRL B-3704) suşuna karşı 62,5 µg/mL olarak gözlemlendi. *S. haemolyticus* (ATCC 43252) bakterisine karşı 125 µg/mL’de MBK değeri saptanırken *P. vulgaris* (ATCC 13315), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *B. subtilis* (ATCC 6633) ve *S. aureus* (ATCC 6538P) bakterilerinde 250 µg/mL’de MBK değeri belirlendi. AgNP’ler yalnızca *A. baumannii* (ATCC 19606) bakterisine karşı 500 µg/mL’de MBK değeri sergiledi (Tablo 5).

AgNO₃, test edilen kültürlerde yalnızca *B. subtilis* (ATCC 6633) bakteri kültürüne karşı 0,16 µg/mL inhibisyon sergilerken, diğer tüm bakterilere karşı 0,08 µg/mL MİK değeri gösterdi. AgNO₃’ün, standart antibiyotik ile kıyaslandığında tüm kültürlerle karşı standarttan daha düşük MİK değerine sahip olduğu görüldü. AgNO₃, gram pozitif *B. subtilis* (ATCC 6633) ve gram negatif *P. aeruginosa* (ATCC 27853) bakterilerine karşı 0,31 µg/mL ile en düşük MBK değerine sahiptir. AgNO₃, *A. baumannii* (ATCC 19606), *P. vulgaris* (ATCC 13315), *S. aureus* (ATCC 6538P) ve *S. haemolyticus* (ATCC 43252) bakterilerine karşı 0,63 µg/mL MBK değeri sergiledi (Tablo 5).

P. graveolens esansiyel yağı, *E. coli* (NRRL B-3704), *P. aeruginosa* (ATCC 27853) ve *B. subtilis* (ATCC 6633) bakterilerine karşı 62,50 µg/mL MİK değeri sergilerken, diğer kültürlerin tümüne karşı 250 µg/mL MİK değeri sergiledi. Esansiyel yağ, *P. aeruginosa* (ATCC 27853)’ya karşı 125 µg/mL ve *B. subtilis* (ATCC 6633)’e karşı 250 µg/mL MBK değeri sergilerken diğer tüm suşlarda 500 µg/mL MBK değerine sahip olduğu görüldü (Tablo 5).

Tablo 5

Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değerleri ($\mu\text{g/mL}$)

	Mikroorganizma	AgNO ₃		EY*		AgNP		Streptomisin
		MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK
	<i>E. coli</i> (NRRL B-3704)	0,08	1,25	0,63	1,25	15,63	62,5	4
Gram Negatif	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	0,08	0,31	0,63	1,25	62,50	250	1
Bakteri	<i>P. vulgaris</i> (ATCC 13315)	0,08	0,63	0,63	2,50	62,50	250	4
	<i>A. baumannii</i> (ATCC 19606)	0,08	0,63	0,63	2,50	62,50	500	2
Gram Pozitif	<i>B. subtilis</i> (ATCC 6633)	0,08	0,31	0,31	1,25	31,25	250	4
Bakteri	<i>S. aureus</i> (ATCC 6538P)	0,16	0,63	0,63	1,25	62,50	250	4
	<i>S. haemolyticus</i> (ATCC 43252)	0,08	0,63	0,63	2,50	62,50	125	5

*EY: Esansiyel yağ, Streptomisin: 10 $\mu\text{g/disk}$

Sheikholeslami vd. (2016), gümüş nanopartikülün minimum inhibisyon konsantrasyonunu belirlemek amacı ile *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *P. aeruginosa* bakterilerini kullanmışlardır. Analiz sonucunda nanopartikül *S. aureus* bakterisine karşı 62,5 $\mu\text{g/mL}$ MİK, 125 $\mu\text{g/mL}$ MBK değeri, *P. aeruginosa* bakterisine karşı ise 15,625 $\mu\text{g/mL}$ MİK ve 31,25 $\mu\text{g/mL}$ MBK değeri sergilemiştir. Bu çalışmada ise gümüş nanopartikül, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı 62,5 $\mu\text{g/mL}$ MİK değerini sergilerken, MBK değeri 250 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlendi.

Zakeri vd. (2021), *Ricinus communis* (hint yağı) bitkisinin yaprak, soğan ve petal kısımlarından elde ettikleri esansiyel yağ ile gümüş nanopartikül sentezlemişlerdir. Sentezledikleri nanopartikülün antimikrobiyal aktivitesini ise gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı MİK yöntemi ile araştırmışlardır. Çalışmada *S. aureus* bakterisine karşı yaprak esansiyel yağı ile sentezlenen AgNP 3,12 $\mu\text{g/mL}$, petal ve soğan esansiyel yağı ile sentezlenen AgNP'ler ise 6,25 $\mu\text{g/mL}$ MİK değeri sergilemiştir. *E. coli* bakterisine karşı ise yaprak esansiyel yağı ile sentezlenen AgNP 0,8 $\mu\text{g/mL}$, petal ve soğan esansiyel yağı ile sentezlenen AgNP'ler ise 1,16 $\mu\text{g/mL}$ MİK değeri sergilemiştir. Gümüş nanopartiküllerin *S. aureus* bakterisine karşı sergiledikleri MBK değeri ise yaprak esansiyel yağı ile sentezlenen AgNP'de 6,25 $\mu\text{g/mL}$, petal ve soğan esansiyel yağı ile sentezlenen AgNP'ler ise 12,5 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur. *E. coli*'ye karşı hesaplanan MBK değeri ise yaprak esansiyel yağı ile sentezlenen AgNP'de 1,6 $\mu\text{g/mL}$, petal ve soğan esansiyel yağı ile sentezlenen AgNP'de ise 3,12 $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada *P. graveolens* esansiyel yağı

ile sentezlenen gümüş nanopartikül *E. coli*'ye karşı 62,50 µg/mL MİK, 500 µg/mL MBK değeri sergilerken, *S. aureus*'a karşı ise 250 µg/mL MİK değeri, 500 µg/mL MBK değeri sergilediği bulundu.

4.4. Antibiyofilm Aktivite Tayini

Nanopartiküllerin biyofilm aktivitesi incelendiğinde gram pozitif bakterilere karşı daha yüksek inhibisyon sergiledikleri görüldü. Gümüş nanopartiküller en düşük antibiyofilm aktivitesini gram negatif bakteri *A. baumannii* (ATCC 19606)'ye karşı %16,02±0,10 ile sergilerken en yüksek aktiviteyi gram pozitif bakteri olan *S. haemolyticus* (ATCC 43252)'a karşı %78,55±1,20 ile gösterdi (Tablo 6).

Gümüş nitrat (AgNO₃), en yüksek biyofilm aktivitesini *A. baumannii* (ATCC 19606) bakterisine karşı %57,12±0,12 ile sergilerken, en düşük aktivite %34,23±0,58 ile *S. aureus* (ATCC 6538P) bakterisine karşı saptandı. Nanopartikülün aksine AgNO₃ gram negatif bakterilere karşı daha yüksek antibiyofilm aktivite gösterdi (Tablo 6).

Esansiyel yağ, *E. coli* (NRRL B-3704)'ye karşı %5,02±0,10 inhibisyon gösterirken, en yüksek inhibisyonu %70,2±0,10 ile *P. aeruginosa* (ATCC 27853)'a karşı sergiledi. Analiz sonucunda esansiyel yağın gram Negatif bakterilere karşı daha yüksek inhibisyona sahip olduğu belirlendi (Tablo 6).

Analiz sonucunda gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı antibiyofilm aktivitesi kıyaslandığında gümüş nanopartikülün gram pozitif bakterilere karşı daha etkiliyken, esansiyel yağ ve AgNO₃'ün gram negatif bakterilere karşı daha etkili olduğu belirlendi. Gram negatif bakteri olan *P. aeruginosa* biyofilm oluşturma kapasitesi en yüksek bakterilerden biridir (Ramalingam vd., 2014). Zaman içerisinde antibiyotiklere karşı direnç geliştiren biyofilm üreten bakteriler ile mücadele için yeni antibiyofilm ajanlar gereklidir. Bu çalışmada ise gümüş nanopartikülün gram negatif bakteriler arasında en yüksek antibiyofilm aktiviteyi *P. aeruginosa*'ya karşı gösterdiği belirlendi.

Hamed vd. (2020), yeşil sentez yöntemi ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin antibiyofilm aktivitesini çeşitli suşlar kullanarak incelemiştir. Antibiyofilm analizi

sonucunda *P. aeruginosa*'ya karşı %65, *S. aureus*'a karşı %50, *E. coli*'ye karşı %68 ve *B. subtilis*'e karşı ise %60 aktivite gözlenmiştir. Bu çalışmada ise gümüş nanopartiküller *P. aeruginosa* bakterisinde %76,25±0,18, *S. aureus* bakterisine karşı %64,23±0,18 ve *E. coli* bakterisine karşı ise %51,64±0,61 inhibisyon sergiledi.

Tablo 6

Örneklerin antibiyofilm aktivitesi (% inhibisyon)

	Mikroorganizma	% İnhibisyon		
		AgNO ₃	EY*	AgNP
Gram Negatif Bakteri	<i>E. coli</i> (NRRL B-3704)	56,12±0,55	5,02±0,10	51,64±0,61
	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	47,32±0,82	70,2±0,10	76,25±0,18
	<i>P. vulgaris</i> (ATCC 13315)	45,01±0,02	53,22±0,48	25,03±0,20
	<i>A. baumannii</i> (ATCC 19606)	57,12±0,12	6,12±0,11	16,02±0,10
Gram Pozitif Bakteri	<i>B. subtilis</i> (ATCC 6633)	53,3±0,41	64,13±0,28	54,23±0,18
	<i>S. aureus</i> (ATCC 6538P)	34,23±0,58	5,03±0,20	64,23±0,18
	<i>S. haemolyticus</i> (ATCC 43252)	50,64±0,60	60,28±12,60	78,55±1,20

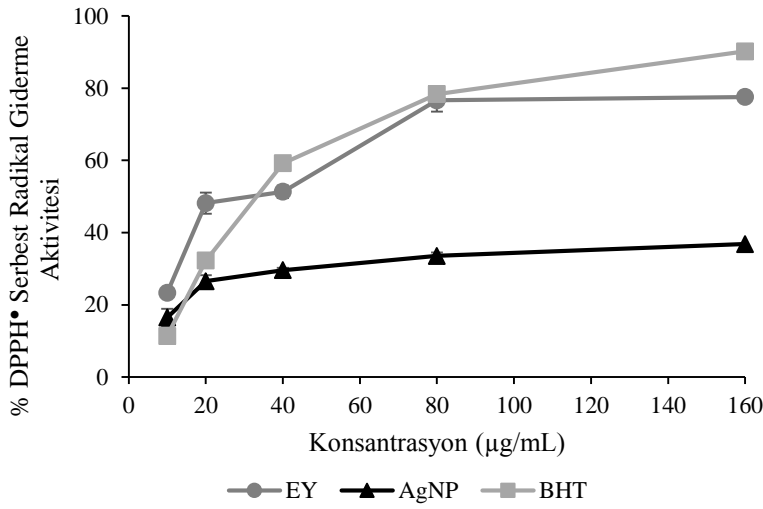
*EY: Esansiyel yağ

4.5. Antioksidan Analizler

4.5.1. DPPH• Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları

Sentezlenen gümüş nanopartikül, 10 µg/mL konsantrasyonda %16,49 inhibisyona sahipken, standart BHT aynı konsantrasyonda %11,39 inhibisyon gösterdi. Nanopartikül 20-40-80-160 µg/mL konsantrasyonlarda sırası ile %26,52-29,61-33,35-36,85 inhibisyon sergiledi. Gümüş nanopartikülün DPPH• serbest radikalini giderme aktivitesi esansiyel yağ ile karşılaştırıldığında, nanopartikül test edilen tüm konsantrasyonlarında esansiyel yağdan daha düşük inhibisyon değerleri gösterdi (Şekil 13).

P. graveolens esansiyel yağı, 10 µg/mL konsantrasyonda %23,30, 20 µg/mL konsantrasyonda %48,17 inhibisyona sahipken, BHT 10 µg/mL'de %11,39, 20 µg/mL'de ise %32,25 inhibisyon sergiledi. Esansiyel yağın 40, 80 ve 160 µg/mL konsantrasyonlarda standart BHT'den daha düşük inhibisyona sahip olduğu belirlendi.



Şekil 13. DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi.

IC₅₀ değeri, ortamda bulunan DPPH• radikalinin %50'sinin giderilmesi için gerekli antioksidan konsantrasyonunu ifade etmektedir. Bu değer radikal giderme aktivitesi ile ters orantılıdır (İşbilir, 2008). Gümüş nanopartikül, esansiyel yağ ve BHT'nin IC₅₀ değerleri sırası ile 261,98 µg/mL, 59,28 µg/mL ve 44,6 µg/mL olarak bulundu (Tablo 7).

Tablo 7

DPPH• analizi sonucu hesaplanan IC₅₀ değerleri

IC ₅₀ (µg/mL)		
AgNP	EY	BHT
261,98	59,28	44,6

Gümüş nanopartiküllerin, DPPH• radikali ile reaksiyonu sonucu hidrojen kaybedip radikali kararlı hale dönüştürdükleri bilinmektedir (Biswal ve Misra, 2020). Bu yüzden nanopartiküllerin antioksidan aktivitesi esansiyel yağ ile kıyaslandığında daha düşük olmaktadır. *P. graveolens* esansiyel yağının antioksidan kapasitesinin yüksek olması, ana bileşeni olan citronellol ve içeriğinde bulunan timol, öjenol, kavrakrole atfedilmektedir (Veiga, vd., 2019).

Vilas vd. (2016), *Coleus aromaticus* (küba kekiği) bitkisinin yapraklarından elde ettikleri esansiyel yağ ile iki farklı konsantrasyonda (10 ve 20 mL) yağ içeren gümüş nanopartiküllü sentezlemiştir. Nanopartiküllerin antioksidan aktivitesi farklı yöntemler ile

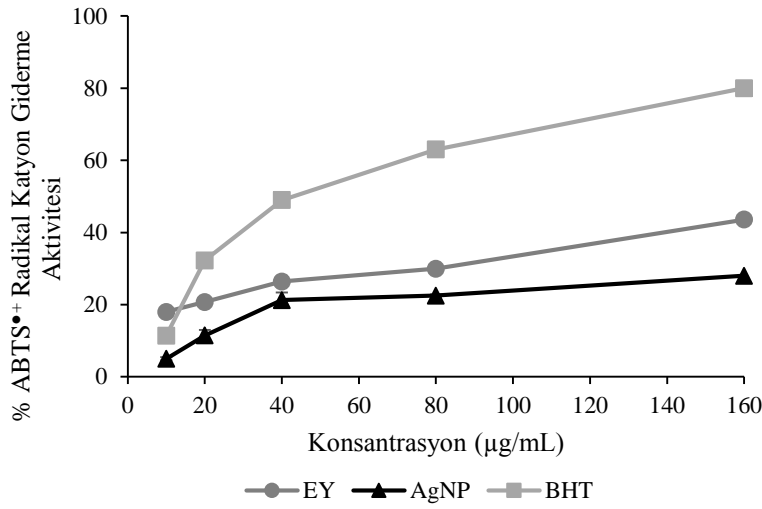
incelenmiş olup DPPH• sonuçları standart askorbik asit ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda 10 mL yağ kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküller 7,61 IC₅₀ değerine sahipken 20 mL yağ kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin 9,28 µL IC₅₀ değerine sahip olduğu görülmüştür. Standart askorbik asitin IC₅₀ değeri ise 5,98 µL olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre düşük yağ konsantrasyonuna sahip nanopartiküllerin standarttan daha iyi antioksidan aktivitesi gösterdiği bulunmuştur.

Keerthiga vd. (2019), *Cuminum cyminum* (kimyon) esansiyel yağı ile sentezledikleri gümüş nanopartikülün DPPH• giderme aktivitesini değerlendirmişlerdir. Çalışmada nanopartikülün giderme aktivitesinin standarttan daha düşük olduğu fakat konsantrasyona bağlı olarak arttığı ve en yüksek giderme aktivitesinin en yüksek konsantrasyon olan 100 µL'de görüldüğü belirlenmiştir. Bu çalışmada ise *P. graveolens* esansiyel yağı kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküller standart BHT'den düşük giderme aktivite göstermesine rağmen DPPH• radikalini giderme aktivitesinin konsantrasyona bağlı olarak arttığı gözlemlendi.

4.5.2. ABTS•⁺ Radikal Katyon Giderme Aktivitesi Bulguları

Örneklerin ABTS•⁺ radikalini giderme kapasiteleri yüksekten düşük aktiviteye olacak şekilde sırası ile BHT, esansiyel yağ ve AgNP şeklindedir (Şekil 14). Gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesi esansiyel yağ ve BHT'yle kıyaslandığında test edilen tüm konsantrasyonlarında en düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Gümüş nanopartikül 10 µg/mL konsantrasyonda %5 inhibisyon sergilerken, aynı konsantrasyonda esansiyel yağ %18, BHT ise %11,39 değer sergiledi. Nanopartikül 160 µg/mL konsantrasyonda en yüksek inhibisyona sahipken, aynı konsantrasyonda BHT %80, esansiyel yağ ise %43,58 inhibisyon sergiledi.

P. graveolens esansiyel yağı, gümüş nanopartikülden yüksek, BHT'den ise düşük inhibisyon sergiledi. Esansiyel yağ 10 µg/mL konsantrasyonda %18 inhibisyona sahipken BHT aynı konsantrasyonda %11,39 inhibisyon sergiledi. Esansiyel yağın, 40, 80, 160 µg/mL konsantrasyonlarda sırası ile %20,73-26,43-29,95 ve 43,58 inhibisyon değerlerine sahip olduğu belirlendi.



Şekil 14. ABTS•⁺ radikal kasyon giderme aktivitesi.

ABTS•⁺ radikalinin %50'sinin giderilmesini ifade eden IC₅₀ değeri AgNP için 385,27 µg/mL, *P. graveolens* esansiyel yağı için 203,49 µg/mL, BHT için ise 72,8 µg/mL olarak hesaplandı (Tablo 8).

Tablo 8

ABTS•⁺ analizi sonucu hesaplanan IC₅₀ değerleri

IC ₅₀ (µg/mL)		
AgNP	EY	BHT
385,27	203,49	72,8

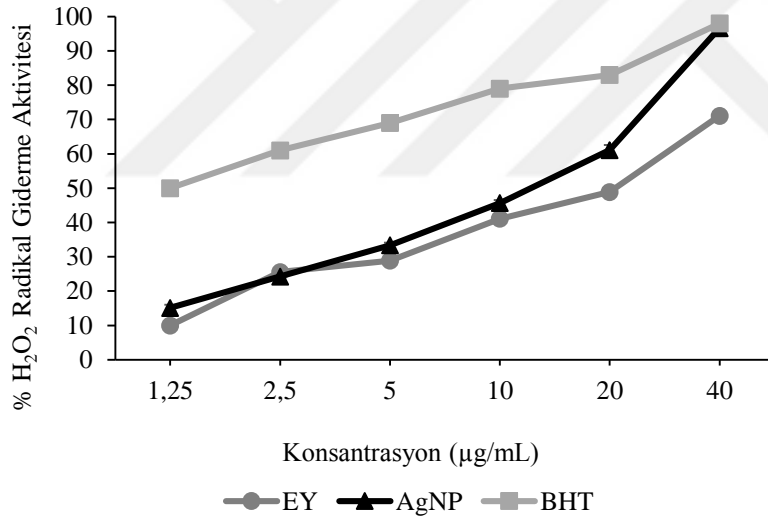
Maciel vd. (2020), *Syzygium aromaticum* (karanfil) esansiyel yağı ve bu esansiyel yağın ana maddesi olan öjenolü kullanarak yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartikül sentezlemişlerdir. Esansiyel yağ ve öjenolün antioksidan kapasitesini ise ABTS•⁺ metodu ile incelemişlerdir. Analiz sonucunda karanfil esansiyel yağının IC₅₀ değeri 2,7±1,5 µg/mL, öjenolün IC₅₀ değeri ise 29,8±0,2 µg/mL olarak belirlenmiştir.

Gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinin, yapısında bulunan gümüş atomlarından ve sentezlendiği maddenin içerisinde bulunan fonksiyonel gruplardan kaynaklandığı bildirilmiştir (Zengin vd., 2014).

4.5.3. H₂O₂ Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları

AgNP, esansiyel yağ ve BHT'nin inhibisyon aktivitelerinin konsantrasyon ile doğru orantılı olacak şekilde arttığı gözlemlendi. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin 1,25 µg/mL konsantrasyonda %15,11, 2,5 µg/mL konsantrasyonda %24,24, 5 µg/mL konsantrasyonda %33,33, 10 µg/mL konsantrasyonda %45,67, 20 µg/mL konsantrasyonda %61,11 µg/mL, 40 µg/mL konsantrasyonda ise %96,66 inhibisyon değerine sahip olduğu gözlemlendi.

P. graveolens esansiyel yağının inhibisyonu 1,25 µg/mL konsantrasyonda %10, 2,5 µg/mL konsantrasyonda %25,55, 5 µg/mL konsantrasyonda %28,88, 10 µg/mL konsantrasyonda %41,11, 20 µg/mL konsantrasyonda %48,88, 40 µg/mL konsantrasyonda ise %71,11 olarak belirlendi. H₂O₂ radikali karşı gümüş nanopartiküllerin esansiyel yağla kıyasla daha iyi aktiviteye sahip olduğu belirlendi (Şekil 15).



Şekil 15. H₂O₂ serbest radikal giderme aktivitesi.

Gümüş nanopartiküller H₂O₂ radikali ile reaksiyona girdiğinde hidrojen iyonlarını radikale vererek antioksidan aktivite göstermektedir (Xiao vd., 2017). Esansiyel yağ kullanılarak sentezlenen nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinin yüksek olmasının sebebinin yağın içeriğinde bulunan bileşiklerden ve bu bileşiklerin sahip olduğu hidrojen atomlarından kaynaklandığı bildirilmiştir (Mittal vd., 2014).

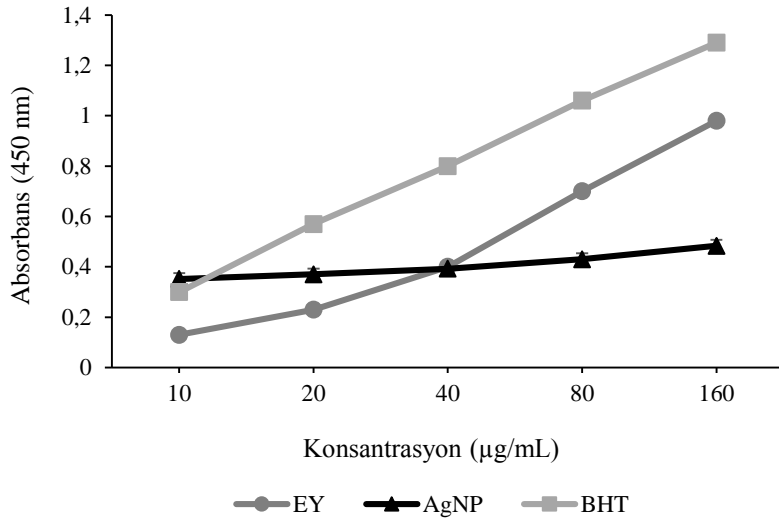
Vilas vd. (2014), *Myristica fragrans* (hint cevizi) bitkisinin yapraklarından elde ettikleri esansiyel yağdan sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesini hidrojen peroksit (H₂O₂) giderme metodu ile incelemiştir. Analiz sonucunda 2 mL yağ kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartikülün antioksidan aktivitesinin konsantrasyon ile doğru orantılı olarak arttığı gözlenmiştir. 5 mL yağ kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküller ise 12,5-50 µL arasında artan antioksidan aktivite sergilerken 100 µL konsantrasyonda aktivite azalmış, ardından 200 µL’de tekrar arttığı gözlenmiştir.

Vilas vd. (2016), *Coleus aromaticus* (küba kekiği) bitkisinin hem esansiyel yağını hem de bu yağ ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin antioksidan kapasitesini hidrojen peroksit (H₂O₂) metodu ile incelemiştir. Analiz sonucunda gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinin konsantrasyon ile doğru orantılı olarak arttığı gözlenmiştir.

4.5.4. Kuprik İyon Giderme Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC) Bulguları

Gümüş nanopartikül, esansiyel yağ ve BHT ile kıyaslandığında en düşük antioksidan aktiviteyi gösterdi. AgNP, 10 µg/mL konsantrasyonda 0,35 absorbans değerine sahipken BHT 0,30, esansiyel yağ ise 0,13 absorbans değeri sergiledi. Nanopartikülün 20, 40, 80 ve 160 µg/mL konsantrasyonlarda sırasıyla 0,37, 0,39, 0,43 ve 0,48 absorbans değerlerine sahip olduğu görüldü (Şekil 16).

P. graveolens esansiyel yağının kuprik iyonlarını giderme antioksidan kapasitesi konsantrasyon ile birlikte artış gösterdi. Esansiyel yağın absorbans değerleri sırası ile 0,13, 0,23, 0,40, 0,70 ve 0,98 olarak belirlendi.

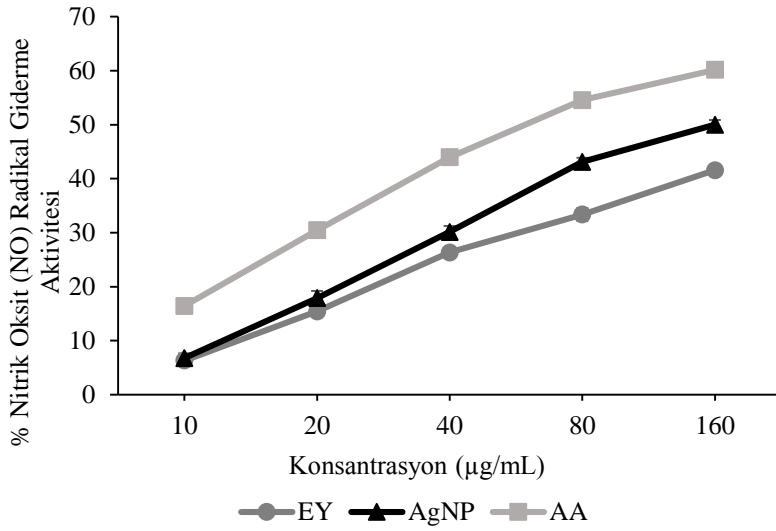


Şekil 16. Kuprik iyon giderme antioksidan kapasitesi.

Esansiyel yağın kuprik iyonlarını giderme antioksidan kapasitesinin konsantrasyon ile orantılı olarak artıp, gümüş nanopartiküllerin absorbans değerinden yüksek olmasının nedeninin yağın konsantrasyonu arttıkça içerisinde bulunan bileşenlerin miktarının da aynı oranda artması olduğu bildirilmiştir (Dzul-Erosa vd., 2018).

4.5.5. Nitrik Oksit (NO) Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları

Test edilen tüm örneklerin antioksidan aktivitesinin konsantrasyon ile doğru orantılı olarak arttığı gözlemlendi. Gümüş nanopartikül standarttan düşük, esansiyel yağdan yüksek antioksidan aktivite sergiledi. Gümüş nanopartikül en düşük konsantrasyonda %6,78 inhibisyona sahipken, en yüksek konsantrasyonda %50,01 inhibisyon sergiledi. *P. graveolens* esansiyel yağının test edilen örnekler arasında en düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğu görüldü. Yağ en düşük %6,34, en yüksek ise %41,59 inhibisyon sergiledi (Şekil 17).



Şekil 17. Nitrik oksit radikal giderme aktivitesi.

Nanopartikül ve esansiyel yağın antioksidan aktivitesinin sentezde kullanılan *P. graveolens* esansiyel yağının içerisinde bulunan fitokimyasal bileşenlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (da Silva vd., 2013). Bunun yanı sıra gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinin esansiyel yağdan daha yüksek olmasının sebebi nanopartikülün boyutuna ve içerdiği gümüş konsantrasyonuna bağlı olmakla birlikte sentez maddesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Seralathan vd., 2014).

4.6. Mutajenite ve Antimutajenite Analizi

4.6.1. AMES/*Salmonella* Bulguları

Çalışmada test edilen örneklerin mutajenik aktivitesini belirleyebilmek için deney grupları negatif kontrolle karşılaştırıldı. Mutajenik etkiden bahsedebilmek için uygulanan konsantrasyonlar sonucu geri dönen bakteri kolonilerinin (his+ revertant), negatif kontrolde elde edilen koloni sayısının iki katı olması gerekmektedir.

Gümüş nanopartikül ve *P. graveolens* esansiyel yağı ile *S. typhimurium* bakterisinin TA98 ve TA100 suşları kullanılarak yapılan çalışmalarda, test edilen herhangi bir dozunun mutajenik aktivite göstermediği belirlendi. Gümüş nanopartikül TA98 suşuna karşı 0,25 ve 0,50 µg/mL konsantrasyonlarda sırası ile 12,67±3,06 ve 5,33±0,58 aktivite sergilerken diğer konsantrasyonlarda etki gözlenmedi. Nanopartikül TA100 suşuna karşı 0,25-1 µg/mL konsantrasyonlarda 5,67±0,58 ile 32,00±3,61 aralığında değer sergilerken 2 µg/mL

konsantrasyonda etki gözlenmedi. Esansiyel yağ, TA98 suşunda $37,00 \pm 4,00$ ile $46,00 \pm 2,05$ aralığında mutajenik aktivite sergiledi. Esansiyel yağ, TA100 suşuna karşı $10,00 \pm 2,00$ ile $46,67 \pm 4,04$ değer aralığında aktivite gösterirken $2 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda etki gözlenmedi (Tablo 9).

Tablo 9

P. graveolens esansiyel yağı ve gümüş nanopartiküllerin mutajenik etkileri

Uygulama	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Koloni Sayısı/Plak	
		TA98 Ort \pm SS**	TA100 Ort \pm SS
EY	0,25	$37,00 \pm 4,00$	$46,67 \pm 4,04$
	0,50	$40,00 \pm 2,00$	$11,33 \pm 2,08$
	1	$39,67 \pm 1,51$	$10,00 \pm 2,00$
	2	$46,00 \pm 2,05$	—***
AgNP	0,25	$12,67 \pm 3,06$	$32,00 \pm 3,61$
	0,50	$5,33 \pm 0,58$	$12,33 \pm 3,51$
	1	—	$5,67 \pm 0,58$
	2	—	—
Spontan Kontrol		$28,33 \pm 2,31$	$85,33 \pm 11,37$
Negatif Kontrol		$44,00 \pm 6,24$	$109,33 \pm 13,32$
Pozitif Kontrol*		$800,00 \pm 17,35$	$1232,67 \pm 62,07$

* TA98 suşu için NPD [$10 \mu\text{g/plak}$], TA100 suşu için SA [$1 \mu\text{g/plak}$]

** Ortalama \pm Standart Sapma

*** -: Üreme gözlenmemiştir

Mumtaz vd. (2019), *Mimosa pudic* (küstüm otu) ile sentezledikleri gümüş nanopartikülün mutajenik aktivitesini AMES/*Salmonella* metodu ile TA98 ve TA100 suşlarını kullanarak incelemişlerdir. Analiz sonucunda gümüş nanopartikülün her iki suşa karşı da mutajenik etkiye sahip olmadığı gözlenmiştir.

Antimutajenite çalışmaları sonucunda *P. graveolens* esansiyel yağı ve gümüş nanopartiküllerin test edilen tüm konsantrasyonlarının güçlü antimutajenik etkiye sahip olduğu belirlendi. *P. graveolens* esansiyel yağı ve gümüş nanopartikül TA98 ve TA100 suşlarına karşı farklı inhibisyon değerleri sergiledi. *P. graveolens* esansiyel yağının en

yüksek antimutajenik etkisi TA98 suşunda 0,50 µg/mL konsantrasyonda %87,26±1,76, TA100 suşunda ise 0,25 µg/mL konsantrasyonda %78,27±0,66 olarak belirlendi. Gümüş nanopartiküllerin TA98 suşu ile yapılan antimutajenite çalışmasında %61,17±1,74 ile 98,08±1,11 aralığında aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Gümüş nanopartiküller TA98 suşuna karşı en yüksek antimutajenik etkiyi 2 µg/mL konsantrasyonda sergiledi. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin TA100 suşuna karşı %47,33±1,73 ile 84,78±1,09 oranları arasında aktivite sergilediği ve antimutajenik etkisinin en fazla 2 µg/mL konsantrasyonunda olduğu belirlendi (Tablo 10).

Tablo 10

P. graveolens esansiyel yağı ve gümüş nanopartiküllerin antimutajenik etkileri

Uygulama	Konsantrasyon (µg/mL)	Koloni Sayısı/Plak			
		TA98	%	TA100	%
		Ort±SS**	İnhibisyon	Ort±SS	İnhibisyon
EY	0,25	167,33±23,59	81,99±3,06	327,33±7,64	78,27±0,66
	0,50	126,67±13,58	87,26±1,76	467,33±22,37	69,34±1,93
	1	155,67±21,20	83,50±2,75	422,67±23,63	69,45±2,04
	2	133,33±10,79	86,39±1,40	460,00±18,52	66,80±1,60
AgNP	0,25	234,67±1,74	61,17±1,74	589,67±1,30	47,33±1,73
	0,50	281,00±2,05	62,94±2,05	574,00±3,44	51,60±3,04
	1	194,33±3,50	76,16±3,33	464,00±6,24	67,00±0,54
	2	120,33±1,16	98,08±1,11	260,00±12,53	84,78±1,09
Spontan Kontrol		28,33±2,31		85,33±11,37	
Negatif Kontrol		44,00±6,24		109,33±13,32	
Pozitif Kontrol*		800,00±17,35		1232,67±62,07	

* TA98 suşu için NPD [10 µg/plak], TA100 suşu için SA [1 µg/plak]

** Ortalama±Standart Sapma

Shah vd. (2016), *Daphne mucronata* (yabani defne) aracılığı ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin mutajenite analizini AMES/*Salmonella* testi ile *Salmonella*

typhimurium bakterisinin TA98 ve TA100 suşlarını kullanarak incelemiştir. Çalışmada nanopartikülün suşlara karşı mutajenik etki göstermediği belirlenmiştir.

Guerrini vd. (2011), *Pelargonium capitatum* esansiyel yağının mutajenik aktivitesini *S. typhimurium* bakterisinin TA98 ve TA100 suşlarını kullanarak AMES/*Salmonella* testi ile hem S9 enzimi varlığında hem de yokluğunda incelemiştir. Analiz sonucunda esansiyel yağın mutajenik olmadığı belirlenmiştir. Bu çalışmada da aynı cinse ait *P. graveolens* esansiyel yağı ve bu esansiyel yağdan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin mutajenik kapasitesi *S. typhimurium* bakterisinin TA98 ve TA100 suşları kullanılarak incelendi. Çalışma sonucunda esansiyel yağ ve gümüş nanopartikülün mutajenik olmadığı bunun yanı sıra yüksek oranda her iki örneğin de antimutajenik kapasiteye sahip olduğu belirlendi. Abaor (2014), aktivitenin yağın içeriğinde bulunan bileşenlerin mutajenler ile etkileşime girmesinden ve gümüş metalinden kaynaklandığını bildirmiştir.

4.7. DNA Kesme Aktivitesi Bulguları

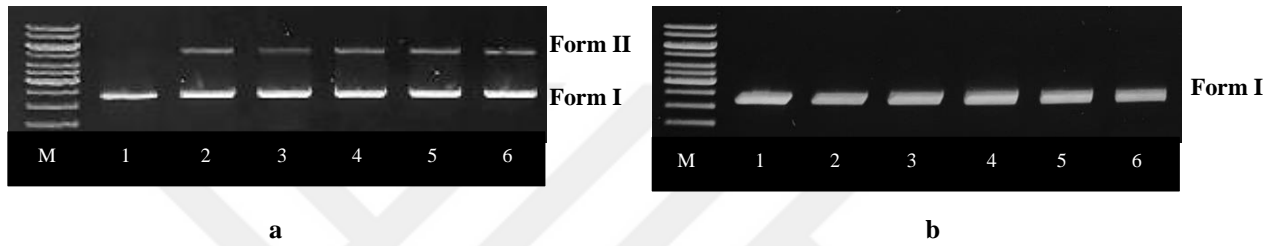
Sentezlenen gümüş nanopartiküller ve esansiyel yağ 50-800 µg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda hidrolitik ve oksidatif kesme özellikleri için pBR322 DNA kullanılarak agaroz jel elektroforez ile analiz edildi. Plazmid DNA'nın süper sarmal formu (Form I) hasar aldığıda açılır ve açık dairesel form (Form II)'a dönüşür. DNA'daki hasar miktarı arttığında ise doğrusal form (Form III)'a dönüşmektedir.

Gümüş nanopartiküllerin test edilen tüm konsantrasyonlarının DNA'yı hidrolitik olarak kesmediği belirlendi (Şekil 18). Gümüş nanopartiküller, negatif yüklü DNA ile etkileşime girerek bağlanmaktadır. Bu etkileşimin sonucu DNA jelde ilerlemeden Form I halde süpersarmal olarak kalmaktadır (Kim vd., 2009; Raju vd., 2014). Bu sebeple nanopartikülün hidrolitik olarak kesilmediği görüldü.

H₂O₂ varlığında ise nanopartiküllerin DNA'yı kestiği, Form II DNA'nın oluştuğu görüldü (Şekil 19). Esansiyel yağın DNA'yı yalnızca 50 µg/mL konsantrasyonda hidrolitik olarak kesmediği görüldü (Şekil 18). Esansiyel yağın oksidatif kesme aktivitesi incelendiğinde, tüm konsantrasyonlarda DNA'yı kestiği ve Form II DNA oluştuğu gözlemlendi (Şekil 19).

Coşkunçay vd. (2017), *Aesculus hippocastanum* (beyaz çiçekli at kestanesi) ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin DNA ile etkileşimini agaroz jel elektroforezi yöntemi ile incelemişlerdir. Çalışmada, nanopartiküllerin 6,25-100 µg/mL konsantrasyonları pBR322 plazmid DNA'sı kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda gümüş nanopartiküllerin DNA'yı kesmediği görülmüştür. Bu çalışmada *P. graveolens* esansiyel yağı kullanarak sentezlediğimiz gümüş nanopartiküllerin plazmid DNA'yı hidrolitik olarak kesmediği görüldü.

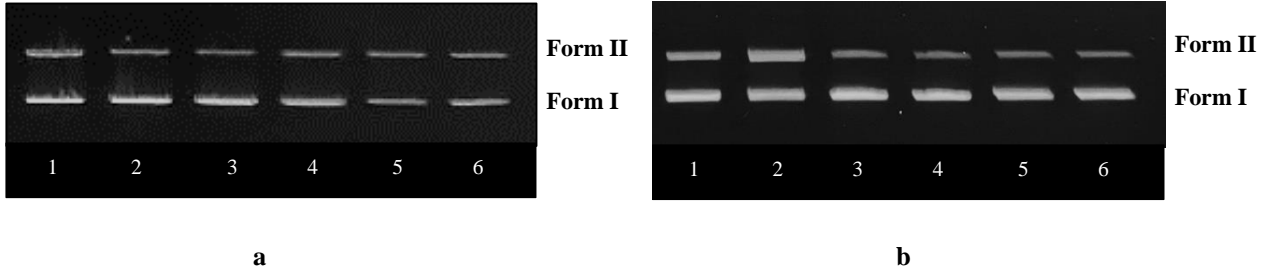
A



Şekil 18. Esansiyel yağ (a) ve AgNP (b)'nin hidrolitik kesme aktivitesi.

M: Marker, 1.DNA, 2.DNA+50 µg/mL, 3.DNA+100 µg/mL, 4.DNA+200 µg/mL, 5.DNA+400 µg/mL, 6.DNA+800 µg/mL.

B



Şekil 19. Esansiyel yağ (a) ve AgNP (b)'nin oksidatif kesme aktivitesi.

1.DNA, 2.DNA+50 µg/mL+ H₂O₂, 3.DNA+100 µg/mL+ H₂O₂, 4.DNA+200 µg/mL+ H₂O₂, 5.DNA+400 µg/mL+ H₂O₂, 6.DNA+800 µg/mL+ H₂O₂.

BEŞİNCİ BÖLÜM BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada *P. graveolens* bitkisinden clevenger cihazı ile elde edilen esansiyel yağ kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle gümüş nanopartikülleri sentezlendi. Sentezlenen nanopartiküller çeşitli yöntemler ile karakterize edildikten sonra antibakteriyel, antibiyofilm, antioksidan, mutajenik-antimutajenik aktivitesi ve DNA ile etkileşimi incelendi. GC-MS analiz sonuçlarında yağın %93,63'ünü oluşturan 48 bileşen tanımlandı. *P. graveolens* esansiyel yağının aroma ve koku kaynağı olan citronellol majör bileşen (%33,76) olarak belirlenmiş olup, diğer ana bileşenler geraniol (%16,6), linalool (%6,4), 2-ethyl-1-hexanol (%5,51), β -caryophyllene (%4,41), menthone (%3,84), viridiflorene (%3,16), 1,4-benzenedicarboxylic acid, dimethyl ester (%1,38), nerol (%1,34), β -bourbonene (%1,22), cis-muurola-3,5-diene (%1,2), δ -cadinene (%1,2), geranyl tiglate (%1,17) ve α -humulene (%1,15) olarak saptandı. Sentezlenen gümüş nanopartiküller, UV-Vis, FT-IR, SEM, EDS, TEM ve Zeta Potansiyeli metodları ile karakterize edildi. UV-Vis ve FT-IR spektrumları literatürdeki veriler ile karşılaştırıldığında gümüş nanopartiküllerin başarı ile sentezlendiği belirlendi. SEM, EDS, TEM ve zeta potansiyel analizleri ile gümüş nanopartiküllerin ortalama 72 nm boyutlarda, küresel şekilde ve homojen olarak oluştukları görüldü. Çalışmada örneklerin antibakteriyel kapasitesi disk difüzyon ve Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) analizleri ile belirlendi. Disk difüzyon analizinde gümüş nanopartikül, enfeksiyon ve virülans kapasitesi yüksek olan gram negatif *P. aeruginosa* (ATCC 27853) ve gram pozitif *S. aureus* (ATCC 6538P) bakterilerine karşı standarttan daha iyi zon çapı sergiledi. Gümüş nanopartikül, bu bakterilere karşı 16 mm zon çapı oluştururken standart penisilin *P. aeruginosa* (ATCC 27853)'ya karşı 14 mm, *S. aureus* (ATCC 6538P)'a karşı ise 13 mm zon çapı oluşturdu. Antibiyofilm analizi sonucunda nanopartiküllerin en yüksek inhibisyonu gram pozitif *S. haemolyticus* (ATCC 43252) bakterisine karşı sergilediği görüldü. Bu sonuçlar gümüş nanopartiküllerin hastalıklara karşı potansiyel bir antibakteriyel kapasiteye sahip olduğunu gösterdi. Gümüş nanopartikülün antioksidan aktivitesi DPPH[•], ABTS^{•+}, H₂O₂, NO ve CUPRAC yöntemleri ile analiz edildi. Antioksidan analizler sonucu nanopartikülün çalışmada kullanılan reaktife bağlı olarak farklı oranlarda antioksidan aktiviteye sahip olduğu görüldü. Nanopartiküllerde konsantrasyona bağlı olarak antioksidan aktivitesinde artış gözlenirken en yüksek antioksidan aktivite H₂O₂ radikal giderme metodunda gözlemlendi. Gümüş nanopartikül ve esansiyel yağın mutajenik aktivitesi

incelendiğinde *S. typhimurium* bakterisinin TA98 ve TA100 suşlarına karşı mutajenik olmadığı görüldü. Antimutajenik aktivite incelendiğinde ise hem esansiyel yağın hem de gümüş nanopartiküllerin güçlü antimutajenik kapasiteye sahip olduğu görüldü. Esansiyel yağın antimutajenik aktivitesi konsantrasyona bağlı değilken, gümüş nanopartiküller hem TA98 hem de TA100 suşuna karşı konsantrasyon ile artan antimutajenik aktivite sergiledi. DNA kesme analizi sonucunda *P. graveolens* esansiyel yağı ve gümüş nanopartikülün test edilen tüm konsantrasyonlarda (50, 100, 200, 400 ve 800 µg/mL) DNA'yı hidrolitik olarak kestiği belirlendi. Oksidatif kesme aktivitesinde ise hem nanopartikül hem de esansiyel yağın DNA'yı kestiği görüldü.

Çalışmamız, *P. graveolens* esansiyel yağından sentezlenen nanopartiküller ve bu nanopartiküllerin antibakteriyel, antibiyofilm, antioksidan, mutajenik aktivitesi ve DNA ile etkileşiminin incelendiği ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Sonuçlarımız gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel, antioksidan ve antimutajenik aktiviteye sahip olduğunu gösterdi. Bu verilerden yola çıkarak yeşil sentez ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin diğer biyolojik aktiviteleri *in-vivo* çalışmalarla aydınlatılarak ileride yapılacak çalışmalarda temel oluşturması planlanmaktadır.

KAYNAKÇA

- Abamor, E. Ş. (2014). Nanopartikül-Glukantim ve Nanopartikül-Nigella sativa Yağ Kombinasyonlarının Leishmania tropica'ya karşı Antileishmanial Etkilerinin İn Vitro ve İn Vivo İncelenmesi ve Kütanöz Leishmaniasis'in Tedavisinde Yeni Yaklaşımların Geliştirilmesi. Yayınlanmış Doktora Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Abeşka, Y.Y. (2019). Green Synthesis of Silver Nanoparticles by *Caulerpa* spp. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Adebayo-Tayo, B., Salaam, A. and Ajibade, A. (2019). "Green synthesis of silver nanoparticle using *Oscillatoria* sp. extract, its antibacterial, antibiofilm potential and cytotoxicity activity". *Heliyon*, 5 (10), e02502.
- Ahmad, R., Parrey, S. H. and Faisal, Q. (2016). "Role of Cetyltrimethylammonium Bromide in the Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Mimusops elengi*, Linn. (Maulsari) Leaf Extract". *Advances in Nanoparticles*, 5 (1), 44.
- Ahmadi, S., Fazilati, M., Nazem, H. and Mousavi, S. M. (2021). "Green synthesis of magnetic nanoparticles using *Satureja hortensis* essential oil toward superior antibacterial/fungal and anticancer performance". *BioMed Research International*, (2021), 1-14.
- Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L. and Ikram, S. (2016). "A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise". *Journal of Advanced Research*, 7 (1), 17-28.
- Ak, T. and Gülçin, İ. (2008). "Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin". *Chemico-biological Interactions*, 174 (1), 27-37.
- Akkuş, İ. (1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Mimoza Yayınları: Konya.

- Alhoff, F., Lin, P. and Moore, D. (2010). “What Is Nanotechnology and Why Does It Matter? From Science to Ethics”. Wiley-Blackwell Publication: İngiltere.
- Ali, A., Murphy, C. C., Demirci, B., Wedge, D. E., Sampson, B. J., Khan, I. A., Baser, K. H. C. and Tabanca, N. (2013). “Insecticidal and biting deterrent activity of rose-scented geranium (*Pelargonium* spp.) essential oils and individual compounds against *Stephanitis pyrioides* and *Aedes aegypti*”. *Pest Management Science*, 69, 1385–1392.
- Al-Shnani, F., Al-Haddad, T., Karabet, F. and Allaf, A. W. (2017). “Chitosan loaded with silver nanoparticles, CS-AgNPs, using *Thymus syriacus*, wild mint, and rosemary essential oil extracts as reducing and capping agents”. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 30 (11), e3680.
- Ames, B. N. (1983). “Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative diseases”. *Science*, 221 (4617), 1256-1264.
- Anjum, N. A., Gill, S. S., Duarte, A. C., Pereira, E. and Ahmad, I. (2013). “Silver nanoparticles in soil–plant systems”. *Journal of Nanoparticle Research*, 15 (9), 1-26.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Karademir, S. E. (2004). “Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (26), 7970-7981.
- Arassu, T. Nambikkairaj, B. and Ramya, D.R. (2018). “*Pelargonium graveolens* Plant Leaf Essential Oil Mediated Green Synthesis of Silver Nano Particles and Its Antifungal Activity Against Human Pathogenic Fungi”. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7 (6): 1778-1784.
- Ateş, M. (2018). “Nanoparçacıkların ölçme ve inceleme teknikleri”. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 11 (1), 63-6.

- Aydınlık, P. (2021). Bazı Aromatik Bitkilerden Mikrodalga Destekli Hidrodistilasyon Yöntemiyle Elde Edilen Esansiyel Yağların Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Gıda Uygulamaları. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Çanakkale.
- Azizi, S., Mohamad, R., Rahim, R.A., Moghaddam, B.A., Moniri, M., Namvar, F., Ariff, A. and Saad, W.Z. (2016). “ZnO-Ag Core Shell Nanocomposite Formed by Green Method using Essential Oil of Wild Ginger and Their Bactericidal and Cytotoxic Effects”. *Applied Surface Science*, 384, 517-524.
- Baharara, J., Ramezani, T., Mousavi, M. and Asadi-Samani, M. (2017). “Antioxidant and anti-inflammatory activity of green synthesized silver nanoparticles using *Salvia officinalis* extract”. *Annals of Tropical Medicine and Public Health*, 10 (5), 1265-1270.
- Balbás, P., Soberón, X., Merino, E., Zurita, M., Lomeli, H., Valle, F., Flores, N. and Bolivar, F. (1986). “Plasmid vector pBR322 and its special-purpose derivatives—a review”. *Gene*, 50 (1-3), 3-40.
- Bansal, V., Rautaray, D., Bharde, A., Ahire, K., Sanyal, A., Ahmad, A. and Sastry, M. (2005). “Fungus-mediated biosynthesis of silica and titania particles”. *Journal of Materials Chemistry*, 15 (26), 2583-2589.
- Bayaz, M. (2014). “Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri”. *Akademik Gıda*, 12 (3), 45-53.
- Beksaç, M.S. (1996). *Fetal tıp: prenatal tanı*. Medical Network & Nobel: Adana.
- Berger, R. G. (2007). *Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability*. Springer Science & Business Media: ABD.

- Bigos, M., Wasiela, M., Kalembe, D. and Sienkiewicz, M. (2012). "Antimicrobial Activity of Geranium Oil against Clinical Strains of *Staphylococcus aureus*". *Molecules*, 17 (9), 10276-10291.
- Biswal, A. K. and Misra, P. K. (2020). "Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles for prospective application in food packaging and biomedical applications". *Materials Chemistry and Physics*, 123014.
- Blois, M. S. (1958). "Antioxidant determinations by the use of a free free radical". *Nature*, (181), 1199- 1200.
- Bolivar, F., Rodriguez, R.L., Greene, P.J., Betlach, MC., Heyneker, H.L., Boyer, H.W., Crosa, J.H. and Falkow, S. (1977). "Construction and chacterization of new cloning vehicles, II. A multipurpose cloning system". *Gene*, (2), 95-113.
- Boukhatem, M. N., Kameli, A. and Saidi, F. (2013). "Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens". *Food Control*, 34 (1), 208-213.
- Burduniuc, O., Bostanaru, A. C., Mares, M., Biliuta, G. and Coseri, S. (2021). "Synthesis, Characterization, and Antifungal Activity of Silver Nanoparticles Embedded in Pullulan Matrices". *Materials*, 14 (22), 7041.
- Burney, S., Caulfield, J. L., Niles, J. C., Wishnok, J. S. and Tannenbaum, S. R. (1999). "The chemistry of DNA damage from nitric oxide and peroxynitrite". *Mutation Research*, 424, 37-49.
- Chandra, H., Kumari, P., Bontempi, E. and Yadav, S. (2020). "Medicinal plants: Treasure trove for green synthesis of metallic nanoparticles and their biomedical applications". *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 101518.

- Chopra, I. (2007). "The Increasing Use Of Silver-based Products as Antimicrobial Agents: A Useful Development or a Cause For Concern?". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59 (4), 587-590.
- CLSI, (2006). *M07 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. Approved Standard-Seven Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute: ABD.
- Collins, A. R., Dusinska, M., Gedik, C. M. and Stetina, R. (1996). "Oxydative damage to DNA, Do we have a reliable biomarker?". *Environmental Health Perspectives*, 104 (3), 465-469.
- Coşkunçay, S. (2017). Gümüş nanopartiküllerin atkestanesi (*Aesculus hippocastanum*) yaprak özütü ile biyosentezi, biyolojik aktivite ve ilaç salınım özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Cuvelier, M. E., Richard, H. and Berset, C. (1996). "Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary". *Journal of The American Oil Chemists' Society*, 73 (5), 645-652.
- Danilczuk, M., Lund, A., Saldo, J., Yamada, H. and Michalik, J. (2006). "Conduction electron spin resonance of small silver particles". *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 63, 189-191.
- da Silva, J. A. T., Rana, T. S., Narzary, D., Verma, N., Meshram, D. T. and Ranade, S. A. (2013). "Pomegranate biology and biotechnology: A review". *Scientia Horticulturae*, 160, 85-107.
- Dauthal, P. and Mukhopadhyay, M. (2013). "In-vitro free radical scavenging activity of biosynthesized gold and silver nanoparticles using *Prunus armeniaca* (apricot) fruit extract". *Journal of Nanoparticle Research*, 15 (1), 1-11.

- Davis, M. E., Chen, Z. and Shin, D. M. (2008). "Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer". *Nanoscience and Technology*, 7: 239-250.
- de Melo, A. P. Z., Maciel, M. V. D. O. B., Sganzerla, W. G., da Rosa Almeida, A., de Armas, R. D., Machado, M. H., da Rosca C. G., Nunes, M.R., Bertoldi, F.C. and Barreto, P. L. M. (2020). "Antibacterial activity, morphology, and physicochemical stability of biosynthesized silver nanoparticles using thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil". *Materials Research Express*, 7 (1), 015087.
- Demir, A.T. (2015). *Origanum syriacum* Uçucu Yağı-Gümüş Nanopartikül Kompleksinin Antikanser Etkisinin Değerlendirilmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
- Dikilitaş, M. ve Koçyiğit, A. (2010). "Canlılarda "tek hücre jel elektroforez" yöntemi ile DNA hasar analizi: comet analiz yöntemi". *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 14 (2), 77-89.
- Donaldson, K., Stone, V., Clouter, A., Renwick, L. and MacNee, W. (2001). "Ultrafine particles". *Occupational and Environmental Medicine*, 58 (3), 211-216.
- Donlan, R. M. and Costerton, J. W. (2002). "Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms". *Clinical Microbiology Reviews*, 15 (2), 167-193.
- Douissa, F. B., Hayder, N., Chekir-Ghedira, L., Hammami, M., Ghedira, K., Mariotte, A. M. and Dijoux-Franca, M. G. (2005). "New study of the essential oil from leaves of *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) from Tunisia". *Flavour and Fragrance Journal*, 20 (4), 410-414.
- Dowding, J.M., Dosani, T., Kumar, A., Seal, S. and Self, W. T. (2012). "Cerium oxide nanoparticles scavenge nitric oxide radical (NO)". *Chemical Communications*, 48, 4896-4898.

- Dudkiewicz, A., Tiede, K., Loeschner, K., Jensen, L.H.S., Jensen, E., Wierzbicki, R., Boxall, A.B.A. and Molhave, K. (2011). "Characterization of nanomaterials in food by electron microscopy". *Trends in Analytical Chemistry*, 30, 28-43.
- Dzimitrowicz, A., Berent, S., Motyka, A., Jamroz, P., Kurcbach, K., Sledz, W. and Pohl, P. (2016). "Comparison of the characteristics of gold nanoparticles synthesized using aqueous plant extracts and natural plant essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis*". *Arabian Journal of Chemistry*, 12 (8), 4795-4805.
- Dzul-Erosa, M. S., Cauich-Díaz, M. M., Razo-Lazcano, T. A., Avila-Rodriguez, M., Reyes-Aguilera, J. A. and González-Muñoz, M. P. (2018). "Aqueous leaf extracts of *Cnidioscolus chayamansa* (Mayan chaya) cultivated in Yucatan Mexico. Part II: Uses for the phytomediated synthesis of silver nanoparticles". *Materials Science and Engineering: C*, 91, 838-852.
- Ediz, E. (2018). *Phaseolus vulgaris* L.'den Gümüş Nanopartiküllerin Biyosentezi ve Antifungal Etkinliklerinin İncelenmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ercioğlu, E. (2017). Farklı Kaynaklardan Elde Edilen Esansiyel Yağlar Ve Baharatlarda Bazı Kalite Özelliklerinin Spektrometrik Yöntemlerle Tespiti. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Erdoğan, O., Abbak, M., Demirbolat, G. M., Birtekoçak, F., Aksel, M., Paşa, S. and 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.
- Esmeray, E. ve Özata, O. (2019). "Nanopartiküllerin Çevre Mühendisliği Alanında Kullanımı ve Temel Laboratuvar Malzemeleri ile Gümüş Nanopartikül (AgNPs) Sentezi". *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 16, 521-527.

- Freitas Jr, R. A. (2000). "Nanodentistry". *The Journal of the American Dental Association*, 131 (11), 1559-1565.
- Frombaum, M., Le Clanche, S., Bonnefont-Rousselot, D. and Borderie, D. (2012). "Antioxidant effects of resveratrol and other stilbene derivatives on oxidative stress and NO bioavailability: Potential benefits to cardiovascular diseases". *Biochimie*, 94 (2), 269-276.
- Gatter, K. C., Brown, G., Trowbridge, I. S., Woolston, R. E. and Mason, D. Y. (1983). "Transferrin receptors in human tissues: their distribution and possible clinical relevance". *Journal of Clinical Pathology*, 36 (5), 539-545.
- Geçer, E. N., Erenler, R., Temiz, C., Genç, N. and Yıldız, I. (2022). "Green synthesis of silver nanoparticles from *Echinacea purpurea* (L.) Moench with antioxidant profile". *Particulate Science and Technology*, 40 (1), 50-57.
- Genç, N. (2021). "Biosynthesis of silver nanoparticles using *Origanum onites* extract and investigation of their antioxidant activity". *Particulate Science and Technology*, 39 (5), 562-568.
- Grozdanovic, Z., Brüning, G. and Baumgarten, H. G. (1994). "Nitric oxide—a novel autonomic neurotransmitter". *Cells Tissues Organs*, 150 (1), 16-24.
- Guerrini, A., Rossi, D., Paganetto, G., Tognolini, M., Muzzoli, M., Romagnoli, C., Antognoni, F., Vertuani, S., Medici, A., Bruni, A., Useli C., Tamburini, E., Bruni, R. and Sacchetti, G. (2011). "Chemical characterization (GC/MS and NMR fingerprinting) and bioactivities of south-African *Pelargonium capitatum* (L.) L'her.(Geraniaceae) essential oil". *Chemistry & Biodiversity*, 8 (4), 624-642.
- Güler, D. (2013). Bazı Yeni Sentezlenen Kaliks[4]aren ve Türevlerinin Antioksidan, Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. Yayınlanmış Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

- Hacıoğlu, N. (2010). Bazı Makrofungusların Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Araştırmalar. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. C. (1984). "Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy". *Lancet*, 8391: 1396-1397.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. (1990). "Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview". *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.
- Hamed, A. A., Kabary, H., Khedr, M. and Emam, A. N. (2020). "Antibiofilm, antimicrobial and cytotoxic activity of extracellular green-synthesized silver nanoparticles by two marine-derived actinomycete". *RSC advances*, 10 (17), 10361-10367.
- Hong C. E. and Lyu S.Y. (2011). "Genotoxicity Detection of Five Medicinal Plants in Nigeria". *The Journal of Toxicological Sciences*, 36 (1): 87-93.
- Hu-Lieskovan, S., Heidel, J. D., Bartlett, D. W., Davis, M. E. and Triche, T. J. (2005). "Sequence-specific knockdown of EWS-FLI1 by targeted, nonviral delivery of small interfering RNA inhibits tumor growth in a murine model of metastatic Ewing's sarcoma". *Cancer Research*, 65 (19), 8984-8992.
- Hulkoti, I. N. and Taranath, T. C. (2014). "Biosynthesis of nanoparticles using microbes-A review". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474-483.
- Ijaz, I., Gilani E., Nazir, A. and Bukhari A. (2020). "Detail Review on Chemical, Physical and Green Synthesis, Classification, Characterizations and Applications of Nanoparticles". *Green Chemistry Letters and Reviews*, 13 (3), 59-81.
- İpek, E., Zeytinođlu, H., Okay, S., Tüylü, B. A., Kürkçüođlu, M. and Baser, K. H. C. (2005). "Genotoxicity and antigenotoxicity of *Origanum* oil and carvacrol evaluated by Ames *Salmonella*/microsomal test". *Food Chemistry*, 93 (3), 551-556.

- İşbilir, Ş. S. (2008). Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Yayınlanmış Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Jadhav, K., Dhamecha, D., Bhattacharya, D. and Patil, M. (2016). “Green and ecofriendly synthesis of silver nanoparticles: characterization, biocompatibility studies and gel formulation for treatment of infections in burns”. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 155, 109-115.
- Jain, P. K. and Agrawal, R. K. (2008). “Antioxidant and Free Radical Scavenging Properties of Developed Mono and Polyherbal Formulations”. *Asian Journal of Experimental Biological Science*, 22 (3), 213-220.
- Jiang, H. S., Li, M., Chang, F. Y., Li, W. and Yin, L. Y. (2012). “Physiological Analysis of Silver Nanoparticles and AgNO₃ Toxicity to *Spirodela polyrhiza*”. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31 (8), 1880-1886.
- Karasek, F. W. and Clement, R. E. (2012). *Basic gas chromatography-mass spectrometry: principles and techniques*. Elsevier: Amsterdam.
- Kargozar, S. and Mozafari, M. (2018). “Nanotechnology and Nanomedicine: Start small, think big”. *Materials Today: Proceedings*, 5 (7), 15492-15500.
- Katiyar, S. K. and Mukhtar, H. (1997). “Tea antioxidants in cancer chemoprevention”. *Journal of Cellular Biochemistry*, 67 (27), 59-67.
- Kaya, A.A. (2009). *Elektron Mikroskobu ile Analiz Yöntemleri Ders Notları*. Yıldız Teknik Üniversitesi: İstanbul.
- Keerthiga, N., Anitha, R., Rajeshkumar, S. and Lakshmi, T. (2019). “Antioxidant activity of cumin oil mediated silver nanoparticles”. *Pharmacognosy Journal*, 11 (4), 787-789.

- Khan, I., Saeed, K. and Khan, I. (2017). "Nanoparticles: Properties, Applications and Toxicities". *Arabian Journal of Chemistry*, 12 (7), 1-69.
- Kharissova, O. V., Dias, H. R., Kharisov, B. I., Pérez, B. O. and Pérez, V. M. J. (2013). "The greener synthesis of nanoparticles". *Trends in Biotechnology*, 31 (4), 240-248.
- Kilani, S., Abdelwahed, A., Ammar, R. B., Hayder, N., Ghedira, K., Chraief, I., Hammami, M. and Chekir-Ghedira, L. (2005). "Chemical composition, antibacterial and antimutagenic activities of essential oil from (Tunisian) *Cyperus rotundus*". *Journal of Essential Oil Research*, 17 (6), 695-700.
- Kilani, S., Bouhlel, I., Ben Ammar, R., Ben Shair, M., Skandrani, I., Boubaker, J., Mahmoud, A., Dijoux-Franca, M. G., Ghedira, K. and Chekir-Ghedira, L. (2007). "Chemical investigation of different extracts and essential oil from the tubers of (Tunisian) *Cyperus rotundus*. Correlation with their antiradical and antimutagenic properties". *Annals of Microbiology*, 57 (4), 657-664.
- Kim, J. W., Kim, J. H., Chung, S. J. and Chung, B. H. (2009). "An operationally simple colorimetric assay of hyaluronidase activity using cationic gold nanoparticles". *Analyst*, 134 (7), 1291-1293.
- Klasen, H. J. (2000). "A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver". *Burns*, 26 (2), 131-138.
- Klug, W. S., Cummings, M. R., Sümer, S., Açık, L. ve Tuncer M. (Ed.) (2002). *Genetik Kavramlar*. Palme Yayıncılık: Ankara.
- Koca, N. ve Karadeniz, F. (2003). "Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Antioksidan Savunma Sistemleri". *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 16, 32-37.
- Köksal, E. (2007). Karnabahar (*Brassica oleracea* L.) peroksidaz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu, antioksidan ve antiradikal aktivitesinin belirlenmesi. Yayınlanmış Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

- Köksal, E., Gülçin, İ., Beyza, S., Sarıkaya, Ö. and Bursal, E. (2009). “*In vitro* antioxidant activity of silymarin”. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24 (2), 395-405.
- Kumar, V., Bano, D., Mohan, S., Singh, D. K. and Hasan, S. H. (2016). “Sunlight-induced green synthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Polyalthia longifolia* and its antioxidant activity”. *Materials Letters*, 181, 371-377.
- Kumar-Krishnan, S., Prokhorov, E., Hernández-Iturriaga, M., Mota-Morales, J. D., Vázquez-Lepe, M., Kovalenko, Y., Sanchez, I. C. and Luna-Bárceñas, G. (2015). “Chitosan/silver nanocomposites: Synergistic antibacterial action of silver nanoparticles and silver ions”. *European Polymer Journal*, 67, 242-251.
- Lalitha, A., Subbaiya, R. and Ponmurugan, P. (2013). “Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extract *Azadirachta indica* and to study its anti-bacterial and antioxidant property”. *International Journal of Current Microbiology Applied Science*, 2 (6), 228-235.
- Lalli, J. Y. Y., Van Zyl, R. L., Van Vuuren, S. F. and Viljoen, A. M. (2008). “*In vitro* biological activities of South African *Pelargonium* (Geraniaceae) species”. *South African Journal of Botany*, 74 (1), 153-157.
- Lancaster Jr, J. R. and Hibbs Jr, J. B. (1990). “EPR demonstration of iron-nitrosyl complex formation by cytotoxic activated macrophages”. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87 (3), 1223-1227.
- Leone, S., Molinaro, A., Alfieri, F., Cafaro, V., Lanzetta, R., Donato, A. and Parilli, M. (2006). “The Biofilm Matrix of *Pseudomonas* sp. OX1 Grown on Phenol is Mainly Constituted by Alginate Oligosaccharides”. *Carbohydrate Research*, 341: 2456–2461.
- Lewis K. I. M. (2001). “Riddle of biofilm resistance”. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45, 999-1007.

- Lis-Balchin, M., Buchbauer, G., Ribisch, K. and Wenger, M. T. (1998). "Comparative antibacterial effects of novel *Pelargonium* essential oils and solvent extracts". *Letters in Applied Microbiology*, 27 (3), 135-141.
- Logeswari, P., Silambarasan, S. and Abraham, J. (2013). "Ecofriendly synthesis of silver nanoparticles from commercially available plant powders and their antibacterial properties". *Scientia Iranica*, 20 (3), 1049-1054.
- Maciel, M. V. D. O. B., da Rosa Almeida, A., Machado, M. H., de Melo, A. P. Z., da Rosa, C. G., de Freitas, D. Z., Noronha, C. M., Teixeira, G. L., de Armas, R. D. and Barreto, P. L. M. (2019). "*Syzygium aromaticum* L.(clove) essential oil as a reducing agent for the green synthesis of silver nanoparticles". *Open Journal of Applied Sciences*, 9 (2), 45-54.
- Maciel, M. V. D. O. B., da Rosa Almeida, A., Machado, M. H., Elias, W. C., da Rosa, C. G., Teixeira, G. L., Noronha, C. M., Bertoldi, F. C., Nunes, M. R., de Armas, R. D. and Barreto, P. L. M. (2020). "Green synthesis, characteristics and antimicrobial activity of silver nanoparticles mediated by essential oils as reducing agents". *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 28, 101746.
- Maron, D.M. and Ames, B.N. (1983). "Revised Methods for The *Salmonella* Mutagenicity Test". *Mutation Research*, 113: 173-215.
- Mazraedoost, S. and Behbudi, G. (2021). "Basic Nano Magnetic Particles and Essential Oils: Biological Applications". *Journal of Environmental Treatment Techniques*, 9 (3), 609-620.
- Merritt, J. H., Kadouri, D. E. and O'Toole, G. A. (2006). "Growing and analyzing static biofilms". *Current Protocols in Microbiology*, (1), 1B-1.
- Mihai, A. D., Chircov, C., Grumezescu, A. M. and Holban, A. M. (2020). "Magnetite Nanoparticles and Essential Oils Systems for Advanced Antibacterial Therapies". *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (19), 7355.

- Mittal, A. K., Bhaumik, J., Kumar, S. and Banerjee, U. C. (2014). "Biosynthesis of silver nanoparticles: elucidation of prospective mechanism and therapeutic potential". *Journal of Colloid and Interface Science*, 415, 39-47.
- Molleman, B. and Hiemstra, T. (2017). "Time, pH, and size dependency of silver nanoparticle dissolution: the road to equilibrium". *Environmental Science: Nano*, 4 (6), 1314-1327.
- Mortelmans K. and Zeiger E. (2000). "The Ames *Salmonella*/Microsome Mutagenicity Test". *Mutation Research*, 455: 29-60.
- Mousavi, S., Hashemi, S., Ramakrishna, S., Esmaili, H., Bahrani, S., Koosha, M. and Babapoor, A. (2019). "Green Synthesis of Supermagnetic Fe₃O₄-MgO Nanoparticles via Nutmeg Essential Oil Toward Superior Anti-bacterial and Anti-fungal Performance". *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 54, 1-10.
- Mukherjee, S., Chowdhury, D. and Kotcherlakota, R. (2014). "Potential theranostics application of biosynthesized silver nanoparticles (4-in-1 system)". *Theranostics*, 4 (3), 316-335.
- Mumtaz, A., Munir, H., Zubair, M. T. and Arif, M. H. (2019). "Mimosa pudica gum based nanoparticles development, characterization, and evaluation for their mutagenicity, cytotoxicity and antimicrobial activity". *Materials Research Express*, 6 (10), 105308.
- Muniyappan, N. and Nagarajan, N. S. (2014). "Green synthesis of silver nanoparticles with *Dalbergia spinosa* leaves and their applications in biological and catalytic activities". *Process Biochemistry*, 49 (6), 1054-1061.
- Natarajan, A. T. and Obe, G. (1986). "How do *in vivo* mammalian assays compare to *in vitro* assays in their ability to detect mutagens". *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 167 (3), 189-201.

- Nayak, D., Minz, A. P., Ashe, S., Rauta, P. R., Kumari, M., Chopra, P. and Nayak, B. (2016). “Synergistic combination of antioxidants, silver nanoparticles and chitosan in a nanoparticle based formulation: Characterization and cytotoxic effect on MCF-7 breast cancer cell lines”. *Journal of Colloid and Interface Science*, 470, 142-152.
- Nussler, A. K. and Billiar, T.R. (1993). “Inflammation, immunregulation and inducible nitric oxide synthase”. *Journal of Leukocyte Biology*, 52 (2), 171-178.
- Obeizi, Z., Benbouzid, H., Ouchenane, S., Yılmaz, D., Culha, M. and Bououdina, M. (2020). “Biosynthesis of Zinc oxide nanoparticles from essential oil of *Eucalyptus globulus* with antimicrobial and anti-biofilm activities”. *Materials Today Communications*, 25, 101553.
- Ordonez, E. G. and Ruperez, P. (2011). “FTIR-ATR Spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds”. *Food Hydrocolloids*, 25 (6), 1514–20.
- Özdemir, O., Çinkü, K., Uslu, T., Kılıç, E. ve Çelik, S.M. (2013). “Taşkömürü ve Linyit Kömürlerinin Tuzlu Su İçerisinde Flotasyon Davranışları”. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 13, 1-14.
- Özkan, H., Yanmış, D., Karadayı, M., Bal, T., Barış, O. and Güllüce, M. (2014). “Determination of genotoxic and antigenotoxic properties of essential oil from *Ferula orientalis* L. using Ames/*Salmonella* and *E. coli* WP2 bacterial test systems”. *Toxicology and Industrial Health*, 30 (8), 714-723.
- Öztürk, B. Y. and Öztürk, D. (2020). “Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticle Using *Tilia rubra* DC. Extract and Antifungal Activity”. *Biological Diversity and Conservation*, 13 (3), 244-251.
- Özyürek, M., Güçlü, K. and Apak, R. (2011). “The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement”. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30 (4), 652-664.

- Pal, S., Tak, Y. K. and Song, J. M. (2007). “Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*”. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (6), 1712–1720.
- Panariti, A., Misericchi, G. and Rivolta, I. (2012). “The effect of nanoparticle uptake on cellular behavior: disrupting or enabling functions?”. *Nanotechnology, Science and Applications*, 5, 87.
- Patra, J. K. and Gouda, S. (2013). “Application of nanotechnology in textile engineering: An overview”. *Journal of Engineering and Technology Research*, 5 (5), 104-111.
- Perker, Z. S. (2010). “Nanoteknoloji ve Yapı Malzemesi Alanına Etkileri”. *Engineering Sciences*, 5 (4), 639-648.
- Peterson, A., Machmudah, S., Roy, B. C., Goto, M., Sasaki, M. and Hirose, T. (2006). “Extraction of essential oil from geranium (*Pelargonium graveolens*) with supercritical carbon dioxide”. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81 (2), 167-172.
- Pick, E. A. (2012). “dithiol/disulfide redox switch in the dehydrogenase region on Nox2 regulates the assembly of the superoxide-generating NADPH oxidase of phagocytes”. *Free Radical Biology and Medicine*, 53, 57-58.
- Pietta, P. G. (2000). “Flavonoids as antioxidants”. *Journal of Natural Products*, 63 (7), 1035-1042.
- Pokropivny, V. V. and Skorokhod, V. V. (2007). “Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science”. *Materials Science and Engineering: C*, 27 (5-8), 990-993.
- Qiao X., Ma Z. Y., Xie C. Z., Xue F., Zhang Y. W., Xu J. Y., Qiang Z. Y., Lou J. S., Chen G. J. and Yang S. P. (2011). “Study on Potential Antitumor Mechanism of a Novel

- Schiff Base Copper (II) Complex: Synthesis, Crystal Structure, DNA Binding, Cytotoxicity and Apoptosis Induction Activity". *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105, 728-737.
- Raju, D., Vishwakarma, R. K., Khan, B. M., Mehta, U. J. and Ahmad, A. (2014). "Biological synthesis of cationic gold nanoparticles and binding of plasmid DNA". *Materials Letters*, 129, 159-161.
- 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". *Journal of basic microbiology*, 54 (9), 928-936.
- Ramya, M. and Subapriya, M. S. (2012). "Green synthesis of silver nanoparticles". *International Journal of Pharma Medicine and Biological Science*, 1 (1), 54-61.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999). "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay". *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (9-10), 1231-1237.
- Reddy, N. J., Vali, D.N., Rani, M. and Rani, S.S. (2014). "Evaluation of antioxidant, antibacterial and cytotoxic effects of green synthesized silver nanoparticles by *Piper longum* fruit". *Material Science and Engineering: C*, 34, 115-122.
- Reller, L. B., Weinstein, M., Jorgensen, J. H. and Ferraro, M. J. (2009). "Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices". *Clinical Infectious Diseases*, 49 (11), 1749-1755.
- Ren, X., Meng, X., Chen, D., Tang, F. and Jiao, J. (2005). "Using silver nanoparticle to enhance current response of biosensor". *Biosensors and Bioelectronics*, 21 (3), 433-437.

- Ribeiro, J. P., Magalhaes, L. M., Reis, S., Lima, J. L. and Segundo, M. A. (2011). "High-throughout Total Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity of Biological Samples Determined Using Flow Injection Analysis and Microplate-based Methods". *Analytical Sciences*, 27 (5), 483-483.
- Saran, M., Michel, C., Bors, W. and Czapski, G. (1990). "Reaction of NO with O₂· Implications for the action of endothelium-derived relaxing factor (EDRF)". *Free Radical Research Communications*, 10 (4-5), 221-226.
- Saraswathi, J., Venkatesh, K., Baburao, N., Hilal, M. H. and Rani, A. R. (2011). "Phytopharmacological importance of *Pelargonium* species". *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (13), 2587-2598.
- Savaranakumar, K., Chelliah, R., Shanmugam, S., Varukattu, N. B., Oh, D. H., Kathiresan, K. and Wang, M. H. (2018). "Green synthesis and characterization of biologically active nanosilver from seed extract of *Gardenia jasminoides* Ellis". *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 185, 126-135.
- Savage, V. J., Chopra, I. and O'Neill, A. J. (2013). "*Staphylococcus aureus* biofilms promote horizontal transfer of antibiotic resistance". *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 57: 1968-1970.
- Schaming, D. and Remita, H. (2015). "Nanotechnology: from the ancient time to nowadays". *Foundations of Chemistry*, 17 (3), 187-205.
- Selamoğlu, Z. , Düşgün, C, Akgül, H. and Gülhan, M.F. (2017). "In-vitro antioxidant activities of the ethanolic extracts of some contained-allantoin plants". *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 16, 92-98.
- Seralathan, J., Stevenson, P., Subramaniam, S., Raghavan, R., Pemaiah, B., Sivasubramanian, A. and Veerappan, A. (2014). "Spectroscopy investigation on chemo-catalytic, free radical scavenging and bactericidal properties of biogenic silver nanoparticles synthesized using *Salicornia brachiata* aqueous extract".

Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 118, 349-355.

Shah, A., Lutfullah, G., Ahmad, K., Khalil, A. T. and Maaza, M. (2018). “*Daphne mucronata*-mediated phytosynthesis of silver nanoparticles and their novel biological applications, compatibility and toxicity studies”. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 11 (3), 318-333.

Shankar, S. S., Rai, A., Ahmad, A. and Sastry, M. (2004). “Rapid Synthesis of Au, Ag, ve Bimetallic Au Core–Ag Shell Nanoparticles Using Neem (*Azadirachta indica*) Leaf Broth”. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275 (2), 496-502.

Sharma, V. K., Yngard, R. A. and Lin, Y. (2009). “Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities”. *Advances in Colloid and Interface Science*, 145 (1-2), 83-96.

Sheikholeslami, S., Mousavi, S. E., Ashtiani, H. R. A., Doust, S. R. H. and Rezayat, S. M. (2016). “Antibacterial activity of silver nanoparticles and their combination with *Zataria multiflora* essential oil and methanol extract”. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 9 (10), e36070.

Sheny, D. S., Mathew, J. and Philip, D. (2012). “Synthesis characterization and catalytic action of hexagonal gold nanoparticles using essential oils extracted from *Anacardium occidentale*”. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 97, 306-310.

Silverstein, R.W. and Bassler, G.C. (1962). “Spectrometric Identification of Organic Compounds.” *Journal of Chemical Education*, 39, 11.

Singh, M., Singh, U. B., Ram, M. Yadav, A. and Chanotiya, C. S. (2013). “Biomass yield, essential oil yield and quality of geranium (*Pelargonium graveolens* L. Her.) as influenced by intercropping with garlic (*Allium sativum* L.) under subtropical and temperate climate of India”. *Industrial Crops and Products*, 46, 234-237.

- Sivaraj, R., Rahman, P. K., Rajiv, P., Narendhran, S. and Venckatesh, R. (2014). "Biosynthesis and characterization of *Acalypha indica* mediated copper oxide nanoparticles and evaluation of its antimicrobial and anticancer activity". *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 129, 255-258.
- Smith, J. E. (1985). Aspects of Microbiology 11, Biotechnology Principles. 24-38, American Society for Microbiology: Washington.
- Smith, C. A. and Wood, E. J. (1991). *Molecular Biology and Biotechnology*. Chapman and Hall Limited: Londra.
- Sutcliffe, J.G. (1979). "Complete nucleotide sequence of the *Escherichia coli* plasmid pBR322". *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 43, 77-90.
- Sümerkan, B. ve Gökahmetoğlu, S. (1998). "MIC, MBC Testleri, Rutindeki Önemi ve Uygulamaları". *Flora*, 3 (2): 91-95.
- Şeker Karatoprak, G. ve Koşar, M. (2015). "*Pelargonium* Türlerinin Geleneksel Kullanımı". *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 24 (2), 100-103.
- Şimşek, A. (2021). Lavanta (*Lavandula angustifolia*) Ekstraktı ile Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi, Karakterizasyonu ve İnsan Glioblastoma U87MG Hücreleri Üzerinde Anti Kanser Özelliklerinin Değerlendirilmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Burdur.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. and Byrne, D. H. (2006). "Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts". *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 (6-7), 669-675.

- Türer, G. (2019). *Pelargonium graveolens* L'Her. Bitkisi Yapraklarından Uçucu Yağların İzolasyonu, Analizi ve Antimikrobiyal Aktivitesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Usta, M. (2012). Biokütle Destekli Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Vagenas, N. V., Gatsouli, A. and Kontoyannis, C.G. (2003). "Quantitative analysis of synthetic calcium carbonate polymorphs using FT-IR spectroscopy". *Talanta*, 59 (4), 831-36.
- van der Walt, J. J. and Vorster, P. J. (1983). "Phytogeography of *Pelargonium*". *Bothalia*, 14 (3-4), 517-523.
- Veiga, R. D. S. D., Aparecida Da Silva-Buzanello, R., Corso, M. P. and Canan, C. (2019). "Essential oils microencapsulated obtained by spray drying: a review". *Journal of Essential Oil Research*, 31 (6), 457-473.
- 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 coupling". *Materials Science and Engineering: C*, 105, 110031.
- Vilas, V., Philip, D. and Mathew, J. (2014). "Catalytically and biologically active silver nanoparticles synthesized using essential oil". *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 132, 743-750.
- Vilas, V., Philip, D. and Mathew, J. (2016). "Essential oil mediated synthesis of silver nanocrystals for environmental, anti-microbial and antioxidant applications". *Materials Science and Engineering: C*, 61, 429-436.

- Watson, N. (1988). "A new revision of the sequence of plasmid pBR322". *Gene*, 70 (2), 399-403.
- Xiao, W., Li, S., Wang, S. and Ho, C. T. (2017). "Chemistry and bioactivity of *Gardenia jasminoides*". *Journal of Food and Drug Analysis*, 25 (1), 43-61.
- Yardily, A. and Sunitha, N. (2019). "Green synthesis of iron nanoparticles using hibiscus leaf extract, characterization, antimicrobial activity". *International Journal of Scientific Research and Review*, 8 (7).
- Zakeri, Z., Allafchian, A., Vahabi, M. R. and Jalali, S. A. H. (2021). "Synthesis and characterization of antibacterial silver nanoparticles using essential oils of crown imperial leaves, bulbs and petals". *Micro & Nano Letters*, 16 (11), 533-539.
- Zengin, G., Sarıkürkçü, C., Aktümsek, A., Ceylan, R. and Ceylan, O. (2014). "A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes". *Industrial Crops and Products*, 53, 244-251.
- Zhao, G. R., Xiang, Z. J., Ye, T. X., Yuan, Y. J. and Guo, Z. X. (2006). "Antioxidant activities of *Salvia miltiorrhiza* and *Panax notoginseng*". *Food Chemistry*, 99 (4), 767-774.