

T.C.
KİLİS 7 ARALIK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAKTERİYEL QUORUM SENSİNG İNHİBİTÖRÜ
NANOMATERYAL ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

TAHSİN HÜNER

DANIŞMAN: Prof. Dr. H. Aysun MERCİMEK TAKCI

KİLİS
2024

ÖZET

BAKTERİYEL QUORUM SENSING INHİBİTÖRÜ NANOMATERYAL ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

TAHSİN HÜNER

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Danışman: Prof. Dr. H.Aysun MERCİMEK TAKCI

Sayfa: 74

Yıl: 2024

Styrax officinalis meyve perikarp sulu özütü, anti virülans özelliklerini değerlendirmek için çinko oksit nanopartiküllerinin (ZnO-NP'lerin) yeşil üretiminde indirgeyici ve kaplayıcı madde olarak kullanılmıştır. Optik ve yapısal özellikler, ultraviyole-görünür (UV-Vis) spektrumları, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve X-ışını kırınımı (XRD) ile belirlenmiştir. FT-IR spektrumu, ZnO-NP'lerin titreşimine atfedilen ve sentezi doğrulayan 476.36 cm^{-1} 'de bir pik ortaya koymuştur. ZnO-NP'lerin optik bant aralığı, Kubelka-Munk denklemi ile 3.25 eV olarak tahmin edilmiştir. XRD analizi, (002), (100) ve (101) düzlemlerinde iyi tanımlanmış pikler ile ZnO-NP'lerin iyi kristal doğasını göstermiş ve hekzagonal bir yapıyı doğrulamıştır (JCPDS kart: 98-002-9272). ZnO-NP'lerin kristal boyutu yaklaşık 21.4 nm olarak belirlenmiştir. Enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) ile birleştirilmiş taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) kullanılarak, NP'lerin morfolojisi küresel olarak gösterilmiş, EDX ile çinko (Zn) ve oksijenin (O) varlığı teyit edilmiştir. ZnO-NP'lerin *Chromobacter violaceum* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın quorum sensing (QS) tarafından regüle edilen viyolasin ve piyosiyenin pigment üretimini doza bağımlı inhibe ettiği açıkça ifade edilmiştir. En yüksek inhibisyon 0.5 mg/mL ZnO-NP varlığında viyolasin üretiminde 99.82 ± 0.004 olarak hesaplanmıştır. ZnO-NP'ler *E. coli*'ye karşı mükemmel bakterisidal etki göstermiştir (%99.99). Bulgularımız, ZnO-NP'lerin ilaç direnciyle mücadelede etkili bir çözüm olabileceğini ve geleneksel antibiyotiklere uygulanabilir bir alternatif olabileceğini ve QS kontrollü enfeksiyonların tedavi edilmesi için terapötik ajan geliştirmede yardımcı olabileceğini güçlü bir şekilde savunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Anti-virülans, *Styrax officinalis*, quorum sensing, yeşil sentez, ZnO-NP

ABSTRACT

FABRICATION AND CHARACTERIZATION OF NANOMATERIAL AS BACTERIAL QUORUM SENSİNG INHIBITOR

TAHSİN HÜNER

Department of Molecular Biology and Genetics

Kilis 7 Aralik University, Graduate Education Institute

Supervisor: Prof. Dr. H. Aysun MERCİMEK TAKCI

Page: 74 Year: 2024

The aqueous extract of *Styrax officinalis* pericarp was used as reducing and coating agent in the green synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) to evaluate their anti-virulence properties. The optical and structural properties of ZnO-NPs were determined by ultraviolet-visible (UV-Vis) spectra, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray diffraction (XRD). The FT-IR spectrum revealed a peak at 476.36 cm^{-1} , which was attributed to the vibration of ZnO-NPs and confirmed the biological synthesis. The optical band gap of ZnO-NPs was estimated as 3.25 eV by the Kubelka-Munk equation. XRD analysis showed the good crystalline nature of ZnO-NPs with well-defined peaks in the (002), (100) and (101) planes, confirming a hexagonal structure (JCPDS card: 98-002-9272). The crystalline size of ZnO-NPs was detected to be approximately 21.4 nm. Using scanning electron microscopy (FE-SEM) coupled with energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX), the morphology of the NPs was shown as spherical shape, and the presence of zinc (Zn) and oxygen (O) was confirmed by EDX. It was clearly stated that ZnO-NPs inhibited the quorum sensing (QS) regulated violacein and pyocyanin pigments production of *C. violaceum* and *P. aeruginosa* in a dose-dependent manner. The highest inhibition was calculated as $99.82\pm0.004\%$ in the presence of 0.5 mg/mL ZnO-NPs in violacein production. ZnONPs exhibited excellent bactericidal effect ($\%99.99$) against *E. coli*. Our findings strongly suggest that ZnO-NPs may be an effective solution to struggle with drug resistance and a viable alternative to conventional antibiotics and may help in developing therapeutic agents to treat QS controlled infections.

Keywords: Anti-virulence, *Styrax officinalis*, quorum sensing, green synthesis, ZnO-NP

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda planlanmasında, araştırılmasında ve yürütülmesinde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Prof. Dr. H. Aysun MERCİMEK TAKCI'ya,

Destegini esirgemeyen ikinci danışmanım sayın hocam Doç. Dr. Bekir Bülent ARPACI'ya

Karakterizasyon çalışmalarında bilgilerini paylaşan sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Deniz Kadir TAKCI'ya, çalışmaların yürütüldüğü ÇÜMERLAB ve DAYTAM merkezi araştırma laboratuvarlarına,

Beni hiç yalnız bırakmayan sevgili arkadaşım Cevher KARACA'ya,

23AG027 kodlu TÜBİTAK-1004 Türkiye Tarımsal Üretiminde Küresel İklim Değişikliğine Uyumlu Sürdürülebilir Tarım Teknolojileri Platformu (S-Atp) başlıklı projede Yüksek Lisans bursiyeri olarak yer aldım. Proje ekibine ve TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Son olarak da eğitim hayatım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme sonsuz teşekkürler ederim.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, kullanmış olduğum tüm bilgiler ve yorumlar için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi, hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili bu beyanıma aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İmza

TAHSİN HÜNER

İÇİNDEKİLER

sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1.GİRİŞ	1
1.1. Amaç	2
2.KAYNAK ÖZETLERİ /GENEL BİLGİLER	3
2.1. Nanoteknolojinin Tarihçesi	5
2.2 Biyo-Nanoteknoloji	7
2.3 Metal Oksit Nanopartiküller (MNP'ler)	9
2.3.1 MNP'lerin Karakteristik Özellikleri	9
2.3.2 MNP'lerin Sentez Yaklaşımları	10
2.3.3 MNP'lerin Sentezinde Yeşil Yaklaşım	11
2.3.4 MNP'lerin Bitki Aracılı Yeşil Yaklaşım Sentezi	13
2.3.5 Yeşil Yaklaşım Üretilen MNP'lerin Toksisitesi	15
2.4 Çinko Oksit Nanopartiküller (ZnO-NP'ler)	15
2.5 ZnO-NP'lerin Karakteristik Özellikleri ve Endüstriyel Kullanım Alanları	16
2.5.1 ZnO-NP'lerin Biyolojik Özellikleri ve Tıbbi Kullanım Alanları	17
2.6 ZnO-NP'lerin Yeşil Yaklaşım Biyosentezi	20
2.7 Bakteriyel Çoğunluk Algılama (Quorum sensing)	22
3.MATERYAL VE METOT	24
3.1. Materyal	24
3.1.1 <i>Styrax officinalis</i> L	24
3.1.2 <i>S. Officinalis</i> L Bitkisinin Temini	25
3.1.3 <i>S. Officinalis</i> L Meyve Perikarp Ve Tohum Kısımlarının Biyoaktif Bileşenleri	26
4 YÖNTEM	27
4.2.1 Biyojenik Zno-NP'lerin Üretim Prosesi	27

4.2.1.1 <i>S. officinalis</i> L. Meyve Perikarp Özütünün Hazırlanması.....	27
4.2.1.2 Perikarp Özütünden ZnO-NP'lerin Biyosentezi.....	27
4.2.3 ZnO-NP'lerin Karakterizasyonu	28
4.2.4 ZnO-NP'lerin Antibakteriyel Aktivitesi	29
4.2.5 Biyojenik ZnO-NP'lerin Anti-Quorum Sensing Aktivite Analizleri	29
5.BULGULAR VE TARTIŞMA	31
5.1 Sentez Sürecini Etkileyen Deneysel Detaylar	31
5.2 Biyojenik ZnO-NP'lerin Fizikokimyasal Karakterizasyonu	32
5.2.1 ZnO-NP'lerin Optik Özelliklerinin İncelenmesi	32
5.2.2 ZnO-NP'lerin Morfolojik Karakterlerinin Belirlenmesi.....	33
5.2.3 ZnO-NP'lerin Kristalografik Yapılarının İncelenmesi.....	35
5.2.4 ZnO-NP'lerin Yapısındaki Fitobileşenlerin FT-IR Analizi	36
5.3 Yeşil sentezlenmiş ZnO-NP'lerin Antibakteriyel Aktiviteleri.....	38
5.4 Biyojenik ZnO-NP'lerin Antivirölans Aktiviteleri	41
6.SONUÇ VE ÖNERİ.....	48
7.KAYNAKLAR.....	49
8.ÖZGEÇMİŞ.....	61

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1 ZnO'nun bazı fizikokimyasal özellikleri (Mutukwa ve ark., 2024).	17
Tablo 5 .1 PCA petri plaklarındaki canlı koloni sayısı (KOB/mL)	38
Tablo 5 .2 Absorbans değerlerine karşılık gelen % viyolasin inhibisyonu	42
Tablo 5 .3 Absorbans değerlerine karşılık gelen % piyosiyenin inhibisyonu	43



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1 Nanoteknolojinin tarihsel gelişimi (Bayda ve ark., 2019)	6
Şekil 2. 2 Biyo-nanoteknoloji sürdürülebilir, biyouyumlu ve rejeneratif nitelikteki ortaya çıkan sosyal, çevresel ve tıbbi sorunları çözmeyi amaçlayan disiplinler arası bir bilimdir (Santos ve ark., 2024).....	8
Şekil 2. 3 MNP'lerin sentez yaklaşımları (Nadhini ve ark., 2024)	11
Şekil 2. 4 MNP'lerinin yeşil sentez süreci (Al-derwesh ve ark., 2024).....	12
Şekil 2.5 Bitki aracılı biyojenik ZnO-NP oluşum için öngörülen mekanizma (Mohammadi ve ark., 2017)	21
Şekil 2. 6 Kuersetin aracılı biyojenik ZnO-NP oluşum mekanizması.....	21
Şekil 2. 7 Karbonil gruplar aracılığıyla biyojenik ZnO-NP üretimi.....	22
Şekil 3. 1 <i>Styrax officinalis</i> L. bitkisinin meyve (a), meyve perikarp (b) ve tohum kısmı (c) (Sak ve ark., 2024)	25
Şekil 3. 2 Ayıfındığı bitkisinin ülkemizdeki TÜBİTES verilerine dayanan coğrafik dağılımı.....	25
Şekil 5. 1 ZnO-NP'lerin foton enerjisi spektrumu.....	33
Şekil 5. 2 Farklı büyütme ölçeklerinde ZnO-NP'lerin SEM mikroskobu.....	34
Şekil 5. 3 ZnO-NP'lerin EDX ile belirlenen element kompozisyonu	35
Şekil 5. 4 ZnO-NP'lerin XRD deseni.....	35
Şekil 5. 5 <i>S. officinalis</i> ve ZnO-NP yapısındaki fonksiyonel grupların FT-IR spektrumu	37
Şekil 5. 6 <i>E. coli</i> suşunun canlı hücrelerinin petri plaklarında oluşturduğu koloniler	41
Şekil 5. 7 <i>Chromobacter</i> sp. 12472 suşu üzerinde virülans faktör inhibisyonunun kalitatif değerlendirilmesi (a) pigment üretim inhibisyonunun kültür ortamlarında izlenmesi (b) ..	44
Şekil 5. 8 <i>Pseudomonas</i> sp. PA01 suşu üzerinde virülans faktör inhibisyonunun kalitatif değerlendirilmesi (a) pigment üretim inhibisyonunun kültür ortamlarında izlenmesi (b) ..	45

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Å:	Ångström
λ :	Dalga Boyu
Θ :	Teta
%:	Yüzde
°C:	Santigrat Derece
nm:	Nanometre
mm:	Milimetre
ml:	Mililitre
mM:	Milimolar
μ L:	Mikrolitre
gr:	Gram
kV:	Kilovolt
fcc:	Yüz Merkezli Kübik
Eg:	Optik Enerji Bant Aralığı
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
MDR:	Çoklu İlaç Direnci
MNP:	Metal Nanopartikül
CEA:	Kontrollü Çevre Tarım
LPS:	Lipopolisakkarit
TiO ₂ :	Titanyum oksit
AuO:	Altın oksit
CuO:	Bakır oksit
ZnO:	Çinko oksit
SEM:	Taramalı Elektron Mikroskobu
FE-SEM:	Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu
XRD:	X-ışını Kırınım
EDX:	Enerji Dağıtıcı X-ışını
FTIR:	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
AFM:	Atomik Kuvvet Mikroskobu
ROS:	Reaktif Oksijen Türü
SPR:	Yüzey Plazmon Rezonansı

1.GİRİŞ

‘Küçük bilim’olarak ifade edilen nanoteknoloji ve nanobilim araştırma konuları son yıllarda hız kazanmıştır. Nanoteknoloji, teknolojik gelişmelerin ele alındığı sahnenin merkezinde yer almış ve zamanla büyük ilgi görmüştür (Khan ve ark., 2022).

Nanoteknoloji dünya çapında farklı endüstrileri yavaş ama derinden ele geçirmiş olup, teknolojik devrimin bu hızlı temposu özellikle nano ölçekli pazarların son on yılda giderek arttığı gözlenmektedir. Nanoteknoloji günümüzde yeni bir kavram olmayıp, artık genel amaçlı bir teknoloji haline gelmiştir (Malik ve ark., 2010). Nanobilimin bu hızlı gelişimi, yakında nano ölçekli üretimin bilim ve teknolojinin hemen hemen her alanına dahil edileceğinin kanıtıdır. Tarım, gıda, kozmetik, ilaç, sağlık, otomotiv, petrol ve gaz endüstrileri, kimya ve mekanik endüstrilerindeki küçük ölçekli üretim ve işleme birimlerinden otomotiv, inşaat mühendisliği ve çevre yönetimi endüstrilerinde faaliyet gösterenler gibi daha büyük ölçekli üretim birimlerine kadar nanoteknoloji, küresel ölçekte hemen hemen her endüstriyel alanın modernizasyonunu ortaya koymuştur (Anselmo ve ark., 2018).

Nanopartiküller (NP’ler), nanoteknolojinin temel yapı bileşenleridir. NP’ler, karbon, metal, metal oksitler veya organik maddelerden yapılmış 1 ila 100 nm büyüklüğündeki parçacıklardır (Takcı ve ark., 2024). Nanoölçekli malzemelerin, özellikle metalik NP’lerin üretimi, benzersiz özellikleri nedeniyle son on yılda muazzam ilgi görmektedir. Biyo-nanoteknoloji, fito veya fiko nanoteknoloji ile birlikte, nanobilim alanında kusursuz bir değişiklik olarak kabul edilir ve sentetik alana 'daha yeşil' bir görünüm kazandırır. Belirli biyojenik fabrikaların kullanımı, atıklardan değerli malzemeler, kirleticilerin etkili bir şekilde uzaklaştırılması biyoremediasyonun bir parçası olarak kullanılmaktadır. NP’ler popülerliklerini ve önemlerini boyuta bağlı özelliklerine ve uygulama kapsamlarını hem doğal hem de insanla ilgili faaliyetlerde geniş bir uygulama yelpazesine borçludur (Khan ve ark., 2022). Parçacık boyutunun azalması nedeniyle artan yüzey alanından kaynaklanan mükemmel kimyasal, optik, mekanik ve manyetik özellikleri sebebiyle geniş hacimli malzeme, nano-partiküllerin yaygın uygulamalarının gerisinde kalmaktadır (Ealia ve ark., 2017).

1.1. Amaç

Nano ölçekli metaller çevre, tıp ve mühendislik gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sebeple metalik NP'lerin sentezi ile ilgili güncel yaklaşımlar bilim dünyasının ilgi odağı haline gelmiştir. Günümüzde nano ölçekli metaller çoğunlukla çevre kirliliği, büyük enerji tüketimi ve potansiyel sağlık sorunları gibi istenmeyen etkilere sahip kimyasal yöntemlerle sentezlenmektedir. Bu zorlukların üstesinden gelebilmek için metal iyonların indirgenmesinde kimyasal maddeler yerine bitki özlerini kullanan yeşil sentez yaklaşımı önem kazanmıştır.

Çalışmamızda çinko oksit (ZnO) nanopartiküllerin *Styrax officinalis*'in meyve perikarp sulu özütü kullanılarak çevre dostu yeşil sentez yöntemi ile hızlı ve basit üretimi amaçlanmıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin UV-visible spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX), X-ışını kırınımı (XRD) ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) analizleri ile karakterizasyon çalışmaları sürdürülecektir. ZnO-NP'lerin *Escherichia coli* ATTC 25922 suşuna karşı antibakteriyel; *Pseudomonas* sp. ve *Chromobacter* sp. sensör suşları üzerinde ise anti-quorum sensing aktiviteleri incelenecektir.

2.KAYNAK ÖZETLERİ /GENEL BİLGİLER

Tehlikeli maddelerin kullanımı, uzun işleme süreleri, yüksek maliyetler ve zahmetli süreçler, NP'lerin oluşturulması için mevcut yöntemlerin dezavantajlarından sadece birkaçıdır. Bu kısıtlamalar nedeniyle ilgili araştırmaların çoğu, nanomalzemelerin sentezi için uyumlu ve hızlı sentez tekniklerine odaklanmıştır. Nano boyutlu malzemelerin üretilmesi için çevre dostu süreçlerin oluşturulması, son zamanlarda malzeme bilimcilerin büyük ilgisini çekmektedir. Bu bağlamda, nanopartikül sentezi için yeşil sentez, özellikle bitkiler kullanıldığında, yeşil kimyasal alanda basit, ekonomik ve daha az toksik olarak kabul edilen gelişen bir eğilimdir (Sutharappa Kaliyamoorthy ve ark., 2022). Bu yeşil yaklaşımlar, bitki özlerinin (kökler, yapraklar, gövdeler, çiçekler ve meyveler), biyolojik atık maddelerin (sebze ve meyve kabuğu veya kabuğu), mikrop aracılı (bakteri, mantar, maya ve alg), ve enzimsel sentetik metotların kullanımını içerir (Jiménez-Rosado ve ark., 2022).

Nanoölçekli malzemelerin, özellikle metalik NP'lerin üretimi, benzersiz özellikleri nedeniyle son on yılda muazzam bir ilgi görmektedir. Çinko oksit nanopartikülleri (ZnO-NP'ler), metal oksit nanomalzemelerinden biridir. Benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle değerli ve çok yönlü bir inorganik bileşiktir. Yüksek kimyasal kararlılığa, genişletilmiş radyasyon emilim spektrumuna, yüksek elektrokimyasal kabiliyeti ve yüksek fotostabiliteye sahiptir (Zhou ve rak., 2023). Bu özelliklerinden dolayı son yıllarda dikkatleri üzerine çekmiştir. ZnO-NP'lerin, üretim yaklaşımları manipüle edilerek birçok sentez prosesi (kimyasal, fiziksel ve biyolojik) kullanılarak üretilebilirse de, yeşil yaklaşımla ZnO-NP'lerin üretimi kapsamlı araştırma konularından biridir.

Naiel ve ark. (2022) *Limonium pruinosum* (L.) Chaz., deniz lavantasının sulu özütünü kullanarak ortalama 41 nm büyüklükte ZnO-NP'ler üretmişlerdir. Gram negatif *Escherichia coli* ve patojenik fungus *Candida albicans* üzerinde antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir.

Dönmez (2021) *Rhododendron ponticum* L. yaprak özütlerindeki fenolik içeriği indirgeyici ajan olarak kullanmış ve ortalama 35-60 nm boyutta ZnO-NP'leri yeşil yaklaşımla sentezlemiştir.

Faisal ve ark. (2021) *Myristica fragrans* meyve sulu özütünden ürettikleri 66 nm boyutundaki ZnO-NP'lerin *Klebsiella pneumoniae*' ya karşı antibakteriyel aktivitesini gözlemlemişlerdir.

Rajeshkumar ve ark. (2018) *Mangifera indica* tohum özütlerinden silindir morfoloji gösteren 40-70 nm büyüklükteki ZnO-NP'lerin antibakteriyel ve antioksidan aktivitesini test etmişlerdir.

Jan ve ark. (2021) *Albizia lebbeck* kök özütlerinden 66.25 nm boyutta ve hekzagonal şekilde ürettikleri ZnO-NP'lerin MCF-7 göğüs kanser hücrelerine karşı inhibisyonunu araştırmışlardır.

Murali ve ark. (2017) *Ceropegia candelabrum* yaprak özütünden üretilen ortalama 12-35 nm boyutta hekzagonal wurtiz şekilli ZnO-NP'lerin antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerini bildirmişlerdir.

Spirogyra hyalina alg özütündeki biyoaktif moleküllerin indirgeyici ajan olarak kullanılarak üretilen ZnO-NP'lerin Gr (+) ve Gr (-) bakteriler üzerinde kaydedeğer inhibitör etkisi rapor edilmiştir (Hameed ve ark., 2023).

Manojkumar ve ark. (2023) *Brassica oleracea* yaprak özütünden sentezlenen çiçek benzeri şekile sahip 52 nm boyutta ZnO-NP'lerin boyar madde giderimini, antimikrobiyal ve larvasidal etkisini değerlendirilmiştir.

Lactobacillus plantarum TA4 Gram pozitif bakteri kültürü kullanarak 291.1 nm büyüklükte çiçek benzeri desenli ZnO-NP'lerin antimikrobiyal aktivitesi belirtilmiştir (Mohd Yusof ve ark., 2020).

Pseudomonas putida (MCC 2989) bakteri suşundan üretilen 44.5 nm boyutta ve küresel şekilli ZnO-NP'lerin antibakteriyel ve anti-biyofilm etkisi test edilmiştir (Jayabalan ve ark., 2019).

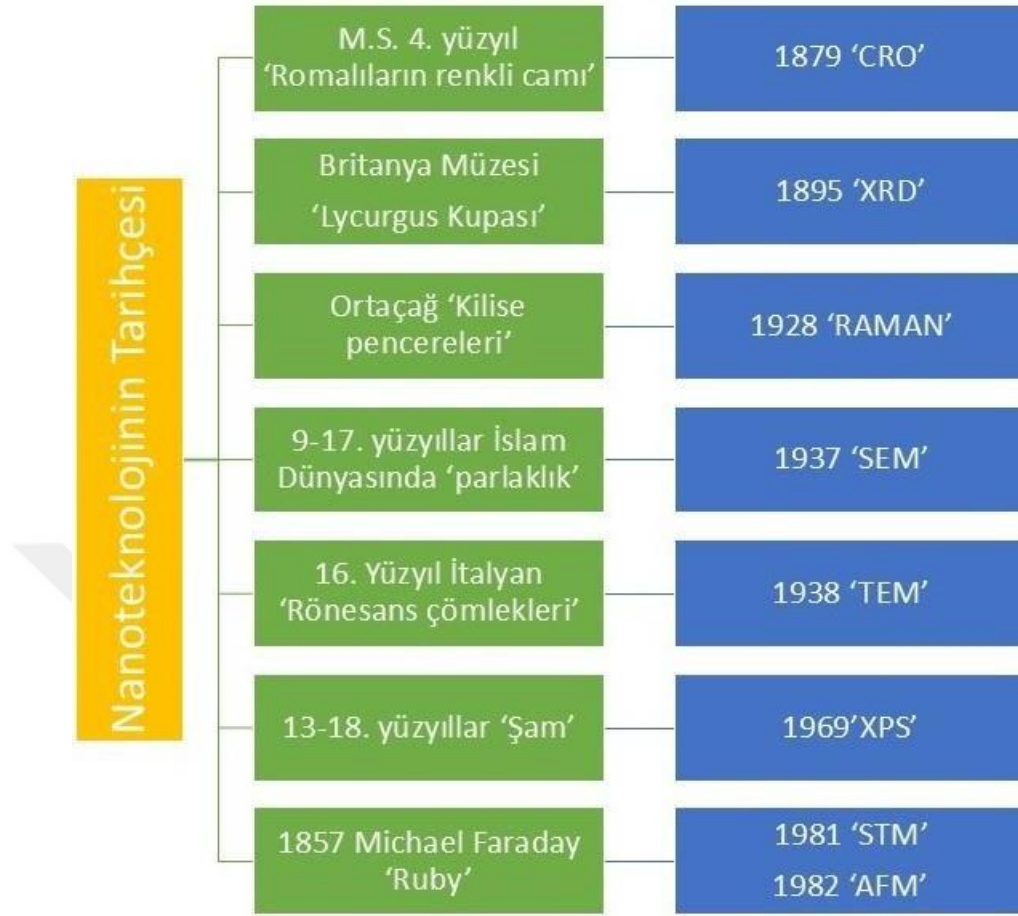
Bacillus cereus MN181367 bakteri suşundan biyosentezlenen düzensiz şekilli 58.77-63.3 nm büyüklükteki ZnO-NP'lerin *Escherichia coli* BTCB201, *Staphylococcus aureus* BTCB203 ve *Salmonella typhi* BTCB202 standart suşlarına karşı antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir (Iqtidar ve ark., 2020).

2.1. Nanoteknolojinin Tarihçesi

Nanoteknoloji bilimin yeni gelişen bir alanı gibi görünse de, insanlık tarihinde kullanımı çok eski dayanmaktadır. Antik dünyada nanoteknolojinin en ilginç örneklerinden birini gösteren Romalılar tarafından MS 4. yüzyılda kullanılmıştır. British Museum koleksiyonundan Lycurgus kupası, antik cam endüstrisindeki en olağanüstü başarılarından birini temsil eder. Dikroik camın en eski örneğidir. Dikroik cam, belirli ışık koşullarında renk değiştiren iki farklı cam türünü tanımlar. Bu, kupanın iki farklı renge sahip olduğu anlamına gelir: cam doğrudan ışıktaki yeşil, ışık camdan geçtiğinde ise kırmızı-mor görünmektedir (Bayda ve ark., 2019). 1990 yılında bilim insanları dikroizm olgusunu açıklamak için bir transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanarak kupayı analiz ettiklerinde çapı 50-100 nm olan nanopartiküllerin varlığından göstermişlerdir. X-ışını analizi, bu nanopartiküllerin yaklaşık 7:3 Ag: Au oranına sahip gümüş-altın (Ag-Au) alaşımı olduğunu ortaya koymuştur (Wagner ve ark., 2010).

9.-17. yüzyıllarda İslam dünyasında ve daha sonra Avrupa'da kullanılan ışıldayan "parıltılı" seramik sırları Ag veya bakır (Cu) veya diğer nanopartiküller içeriyordu (Pradell ve ark., 2007). İtalyanlar da 16. yüzyılda Rönesans çanak çömleği üretirken nanopartiküller kullandılar (Poole, 2003). Osmanlı 13.-18. yüzyıllarda "Şam" kılıç bıçakları üretmek için, mukavemet, esneklik ve keskin bir kenar tutma yeteneği sağlamak için sementit nanotelleri ve karbon nanotüpleri kullanıldı (Reibold ve ark., 2006).

1857'de Michael Faraday, "Ruby" altının kolloidal süspansiyonlarının hazırlanmasını ve özelliklerini inceledi. Benzersiz optik ve elektronik özellikleri onu en ilginç nanopartiküllerden biri haline getirdi. Faraday, altın nanopartiküllerinin belirli ışıklandırma koşulları altında farklı renkli çözeltiler ürettiğini gösterdi (Farady, 1857). Nanoteknolojideki ilerleme şu şekilde özetlenmiştir: (Şekil 2.1)



Şekil 2. 1 Nanoteknolojinin tarihsel gelişimi (Bayda ve ark., 2019)

1981'de fizikçiler Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer'in IBM Zürih Araştırma Laboratuvarı'nda yeni bir mikroskop türü olan Taramalı Tünelleme Mikroskobu'nu (STM) icat etmesine kadar ilerlemeler devam etmiştir (Binning ve ark, 1982). 1986'da Binnig ve Rohrer, "STM tasarımları için" Nobel Fizik Ödülü'nü aldılar. Bu buluş, günümüzde nanoteknoloji araştırmacılarının tercih ettiği cihazlar olan atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ve taramalı prob mikroskoplarının (SPM) geliştirilmesine yol açmıştır (Binning ve ark, 1982).

1991 yılında, Iijima fulleren ailesinin başka bir üyesini oluşturan içi boş grafit tüpleri veya karbon nanotüplerini Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile gözlemledi. Xu ve ark. (2004) tarafından karbon nanotüplerin saflaştırılması sırasında, 10 nm'nin altında boyuta sahip karbon dotlar adı verilen yeni bir karbon nanomalzeme sınıfı tesadüfen keşfedildi. 21. yüzyılın başında nanobilim ve nanoteknoloji alanlarına olan

ilgi artmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde, Feynman'ın maddenin atom düzeyinde manipülasyonu kavramı ulusal bilim önceliklerini şekillendirmede önemli bir rol oynamıştır (Bayda ve ark., 2019).

Son zamanlarda, bir dizi çalışma nanoteknolojilerin birçok insan hastalığının teşhisi ve tedavisi için biyomedikal alanda oynadığı muazzam potansiyeli vurguladı (Kinnear ve ark., 2017). Bu bağlamda, biyo-nanoteknoloji birçok uzman tarafından nanobilimin en ilgi çekici uygulama alanlarından biri olarak kabul edilmektedir. Son yıllarda, nanoteknolojinin teşhis, ilaç dağıtımı ve moleküler görüntüleme gibi birçok biyolojiyle ilgili alanda uygulamaları yoğun bir şekilde araştırılmakta ve mükemmel sonuçlar sunmaktadır. Şaşırtıcı bir şekilde, nanomalzemeler içeren çok sayıda tıbbi ürün şu anda piyasada yerini almaktadır. "Nanofarmasötikler" örnekleri arasında ilaç dağıtımı ve rejeneratif tıp için nanomalzemeler ve ayrıca antibakteriyel aktivitelere sahip nanopartiküller veya nanobiyoçipler, nanoelektrotlar veya nanobiyosensörler gibi biyobelirteç tespiti için kullanılan işlevsel nanoyapılar yer almaktadır (Bayda ve ark., 2019).

2.2 Biyo-Nanoteknoloji

Biyoteknoloji, yeni teknolojiler geliştirmek için biyolojik sistemleri kullanır ve farklı bilgi alanlarını ilişkilendiren çok disiplinli bir bilimdir (Aileni, 2022) (Şekil 2.2). Bu teknoloji, çevresel, klinik ve sosyal sorunları çözmek için bilimsel teknikler ve yöntemler sunabilir (Contera ve ark., 2020). Biyonanoteknoloji, özel ve kesin çözümler oluşturmak için disiplinler arası bilgiyi kullanarak ekosistem yenilenmesi ve sürdürülebilir kalkınma konusunda yeni bir bakış açısı sunar. Bu disiplinler arası yaklaşım, bilimi ilerletmek ve kaynak verimliliğini en üst düzeye çıkarmak için çok önemlidir (Gabal ve ark., 2020, Saleem ve ark., 2022). Böylelikle Biyo-nanoteknoloji, ekosistemleri restore etmede ve halk sağlığı sorunlarıyla yüzleşmede umut vadeden bir müttefik olarak ortaya çıkmaktadır. Çoğulcu bilimle kesişimi sayesinde, teknolojik yeniliğin doğanın korunması ve toplumun refahı ile uyumlu olduğu sürdürülebilir bir geleceğe doğru ilerleyebiliriz (Santos ve ark., 2024).



Şekil 2. 2 Biyo-nanoteknoloji sürdürülebilir, biyouyumlu ve rejeneratif nitelikteki ortaya çıkan sosyal, çevresel ve tıbbi sorunları çözmeyi amaçlayan disiplinler arası bir bilimdir (Santos ve ark., 2024).

100 nm'den küçük boyuttaki malzemelerin sentezi, yönetimi ve uygulaması bu alanın disiplinlerarası şemsiyesi altına girmektedir. Nanobiyoteknoloji alanı, metal oksit nanopartiküllerinin üretiminde dönüştürücü bir etki yaratmış olup, geleneksel fiziksel ve kimyasal metodolojilere kıyasla dikkate değer faydalar sunmaktadır (Al-darwesh ve ark., 2024). Yeşil kimyanın ilkelerine dayanan biyonanoteknoloji, çevre ve canlıların sağlığı üzerindeki etkileri azaltmayı hedeflemektedir (Rohela ve ark., 2019). Bu bilim dalı, hammadde, enerji, üretim süresi ve her şeyden önce toksik çözücülerin ortadan kaldırılması gibi sürdürülebilir alternatifler arayarak engelleri aşmaktadır. Bu anlamda, yeşil kimya canlıların yaşam kalitesini iyileştirebilecek temeller, süreçler, ürünler ve sürdürülebilir hizmetler sağlamaktadır (Kumari ve ark., 2023).

Yeşil kimya teriminin geliştirilmesiyle ilgili hareket, 1990'ların başında, esas olarak Amerika Birleşik Devletleri, İngiltere ve İtalya'da (Sousa-Aguiar ve ark., 2014) başlamıştır. Bu yasa, maruziyeti en aza indirerek riskleri azaltmak yerine tehlikeli maddeleri ortadan kaldırmayı hedeflemektedir (Warner ve ark., 2004). "Yeşil kimya"yı kullanan ilk makale 1990'da yayınlanmıştır. Terimin oluşturulması, kimyasal senteze daha sürdürülebilir ve daha güvenli bir yaklaşımı teşvik etmeyi amaçlayan 12 ilke ile oluşturulmuştur. Bu ilkeler arasında atık önleme, yenilenebilir ham maddelerin kullanımı, tehlikeli maddelerin en aza indirilmesi ve kimyasal süreçlerin gerçek zamanlı izlenmesi yer almaktadır (Al-darwesh ve ark., 2024). Amaç, çevreye ve insan sağlığına

daha az zararlı kimyasal ürünler ve süreçler tasarlamaktır. Bu nedenle, nanomalzemelerin yeşil sentezi ve daha spesifik olarak metalik, bimetalik ve metal oksit nanopartikül sentezlemenin yeşil yolları gibi sürdürülebilir alt alanların araştırmaları güngeçtikçe artmaktadır (Ying ve ark., 2022).

2.3 Metal Oksit Nanopartiküller (MNP'ler)

Görüntüleme ve ilaç dağıtımı öncelikli olmak üzere sağlık sektöründe geniş kullanım alanı bulan MNP'lerin sentezi nanobiyoteknoloji alanında, dikkatleri üzerine çekmektedir (Qadri ve ark., 2019). MNP'ler, optik alanı kontrol etme yeteneği olan yüzey plazmon rezonansı (SPR) gibi optik özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir ve bu da onları biyomedikal uygulamalar için potansiyel adaylar haline getirmiştir. MNP'lerin küçük boyutu, genellikle diğer makromoleküllere geçirgen olmayan biyolojik veya fizyolojik zardan geçmelerini kolaylaştırmaktadır (Parveen ve ark., 2012). Farmakokinetik özellikleri değiştirmek için, MNP'lerin yüzeyi buna göre ayarlanabilmektedir. Örneğin, MNP'lerin vücut içindeki dolaşım süresi, MNP'lerin yüzeyini polietilen glikol (PEG) ile kaplayarak mononükleer fagosit sistemi tarafından spesifik olmayan alımın azaltılmasıyla artırılabilir. Son yıllarda, tümör hücrelerinin tedavisi için ilaç taşıyıcıları olarak MNP'lerin kullanımında hızlı bir iyileşme olmuştur (Al Tamimi ve ark., 2020). Radyasyon uygulanması veya tümörün cerrahi olarak çıkarılması kanser için en yaygın tedavidir. Terapötik ajanların kullanılması invaziv olmayan bir işlemdir ve diğer tedavilerle karşılaştırıldığında umut verici sonuçlar üretmektedir.

2.3.1 MNP'lerin Karakteristik Özellikleri

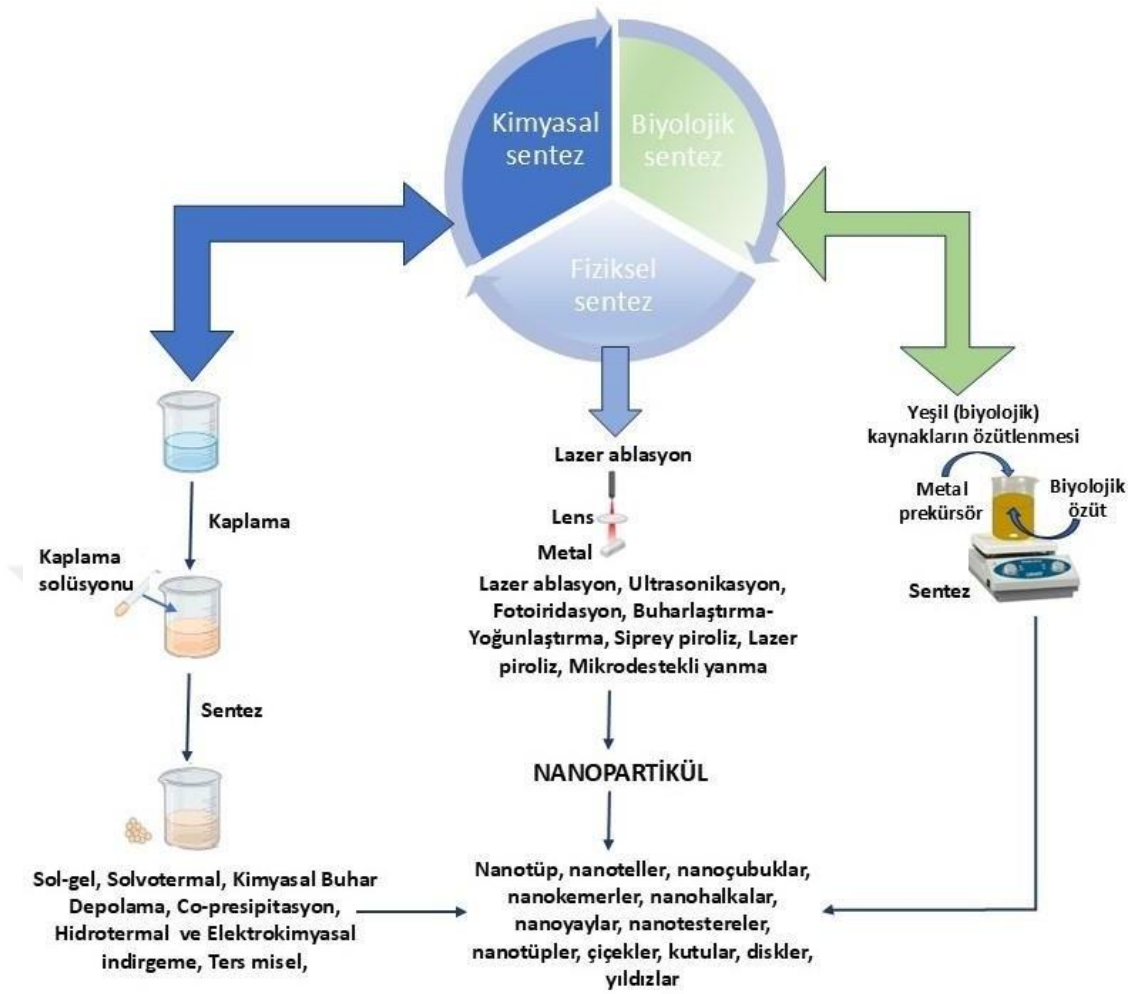
Metalik nanopartiküller genellikle parçacıkların termodinamiğini anlamada en önemli niceliklerden biri olan büyük yüzey enerjilerine sahiptir. Yüzey alanı/hacim oranındaki artış, parçacığın iç kısmından ziyade yüzeydeki atomların baskınlık davranışında bir artışa yol açar ve bu da daha sonra genel yüzey enerjisinde bir artışa neden olur. Moleküler dinamik simülasyonları ve klasik termodinamik hesaplamaları gibi çeşitli yaklaşımlar kullanılarak metalik nanopartikülün yüzey enerjisi belirlenebilir. MNP'lerin yüksek yüzey alanı, yüksek yüzey enerjisine sahip daha fazla olası reaktif bölge sağlar ve bu da onları ilaç taşıma sistemleri, tarım, ilaç, tıp, tekstil, elektronik, optik lifler,

sensörler, biyo-etiketleme, ağır endüstride üretilen tüketici ürünleri ve antimikrobiyal araştırma gibi çeşitli alanlarda ideal adaylar haline getirmektedir (Jeevanandam ve ark., 2018; Chandrakala ve ark., 2022).

2.3.2 MNP'lerin Sentez Yaklaşımları

MNP'lerin sentezi için kimyasal, fiziksel ve biyolojik yöntemler dahil olmak üzere çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Kimyasal yöntemler arasında çökeltme, birlikte çökeltme, koloidal, sol-jel işleme, su-yağ mikroemülsiyonu, hidrotermal sentez, selülotermal ve sonokimyasal ve poliol yöntemleri bulunmaktadır (Ahmadi ve ark., 2020). Fiziksel yöntemler arasında ark plazması, termal buharlaştırma, fiziksel buhar biriktirme, ultrasonik ışınlama ve lazer ablasyonu gibi bir dizi teknik içermektedir (Harish ve ark., 2023).

Bu prosedürler, yüksek maliyetleri, kirleticilerin varlığı, stabilite eksikliği, tekrarlanabilirlik ve güvenilirlik açısından sınırlamalar dahil ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere birçok dezavantaj sergilemektedir (Fouda ve ark., 2022). Dahası, bu prosesler, çevresel ve tıbbi uygulamalar için önemli bir risk oluşturan tehlikeli bileşiklere ihtiyaç duymaktadır [44]. Bu dezavantajları azaltmak için, araştırmacılar giderek daha fazla MNP'leri sentezlemek için alternatif çevresel olarak sürdürülebilir ve ekonomik olarak uygulanabilir yaklaşımlar kullanmaya çalışmaktadır (Taccı ve ark., 2023) (Şekil 2.3). Fiziksel ve kimyasal yöntemler, büyük miktarda enerji tüketimi, toksik ve zararlı kimyasalların salınımı, ve karmaşık ekipman ve sentez koşullarının kullanımı ile ilgili sorunlar nedeniyle giderek yeşil sentez yöntemleriyle değiştirilmektedir (Ying ve ark., 2022).



Şekil 2. 3 MNP'lerin sentez yaklaşımları (Nadhini ve ark., 2024)

2.3.3 MNP'lerin Sentezinde Yeşil Yaklaşım

"Yeşil sentez" ve "biyolojik sentez" terimlerini birbirinin yerine kullanmak yaygındır. Ancak, "yeşil" olarak nitelendirilebilmesi için, biyolojik bir sentezin toksik olmamak ve atığı, türevlendirmeyi ve enerji kullanımını en aza indirmek gibi yeşil kimyanın ilkelerini izlemesi gerekir. "Yeşil sentez"den bahsettiğimizde, herhangi bir potansiyel olarak zararlı kimyasal kullanmadan nanopartikülleri sentezleme sürecinden bahsediyoruz, esas olarak hücre özlerinin (bitkilerden, bakterilerden, mantarlardan, alglerden vb.) temel malzemeye dahil edilmesidir (ayrıca "biyo üretim" veya bitkilerden fitokimyasallar adı verilen kimyasallar ve mantarlar gibi mikroplardan türetilen proteinli özler gibi doğal kaynaklardan gelen nanopartiküllerin kapsüllenmesi olarak da bilinir) Al-derwesh ve ark., 2024 (Şekil 2.4).



Şekil 2. 4 MNP'lerinin yeşil sentez süreci (Al-derwesh ve ark., 2024)

Yeşil kimya, Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından "kimyasal/ürün ve/veya süreçlerin tasarımına odaklanan, tehlikeli/toksik maddelerin kullanımını ve/veya oluşumunu azaltan/azaltan veya ortadan kaldıran bir kimya, kimya mühendisliği ve/veya ilgili alanlar alanı" olarak tanımlanmıştır (Nasrollahzadeh ve ark., 2021).

Yeşil sentez, yeşil kimya ile aynı güvenlik standartlarına uymalıdır. Bu prosedürler geleneksel fiziksel ve kimyasal prosedürlere göre avantajlıdır çünkü biyouyumludurlar, ekonomiktirler, yüksek üretkenliğe sahiptirler, çevre dostudurlar ve tehlikeli maddelerden ve olumsuz reaksiyon koşullarından arındırılmışlardır (Zhang ve ark., 2020; Nadhini ve ark., 2024).

Mikrobiyal ve bitki özlerinden salınan fitokimyasallar, üretim, indirgeme veya stabilize edici ajanlar olarak değerlendirildiğinden kullanımları endüstriyel kimyasallara olan ihtiyacı azaltmaktadır. Yeşil sentez, pH'ı korumak için sentetik maddeler veya çözücüler kullanıldığında daha doğru bir şekilde "biyokimyasal sentez" olarak adlandırılır. Nanopartiküllere ek olarak, yeşil sentez yöntemleri, karbon noktaları ve nanohibritler dahil olmak üzere çeşitli nanomalzemeleri hazırlamak için çok yönlü bir yaklaşım sunmaktadır (Watcharamongkol ve ark. 2024). Hidrotermal bir işlem kullanarak

manyok hamurundan karbon noktaları (CD'ler) ve azot katkılı CD'ler (NCD'ler) geliştirdiler. CD'ler ve NCD'ler floresan emisyonu, güçlü kuantum verimi, yüksek fotostabilite ve fotoağartma toleransı gösterdi. Bu çevre dostu teknikler, benzersiz özelliklere sahip nanomalzemeleri sentezlemek için bitki özlerini, mikropları veya diğer doğal kaynakları kullanır.

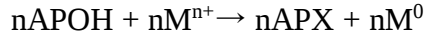
Bu yaklaşım, bitki özlerinin (kökler, yapraklar, gövdeler, çiçekler ve meyveler), biyolojik atık maddelerin (sebze ve meyve kabuğu veya kabuğu), mikrop aracılı (bakteri, mantar, maya ve alg), ve enzimsel sentetik metotların kullanımını içerir (Jiménez-Rosado ve ark., 2022). Ayrıca bitki özütleri, mikroorganizmaların izolasyonuna göre daha az toksik, ucuz, kolayca geliştirilebilir ve son olarak muhafaza edilmesi kolay ve kültür ortamını ihtiyaç duyulmaması nedeniyle mikroorganizmalara tercih edilirler. MNP'lerin mantar bazlı sentezi, çeşitli disiplinlerde yaygın kullanımı nedeniyle önemli ilgi kazanmıştır. Mantarlar, doğrudan NP üretiminin artmasına neden olan daha büyük miktarlarda protein salgılayabilmeleri nedeniyle, bakterilere kıyasla daha fazla miktarda MNP üretebilirler. Mantarların bazı avantajları olmasına rağmen, zengin genetik çeşitliliğe ve bu çeşitliliğin bir ürünü olan farklı miktarlarda ve farklı türlerde sekonder metabolitlere sahip olmaları nedeniyle bitkiler hala MNP sentezinde tercih edilen adaylardır (Mahlaule-Glory ve Hintsho-Mbita, 2022).

2.3.4 MNP'lerin Bitki Aracılı Yeşil Yaklaşımla Sentezi

Bitki özleri, lupeol, ursolik asit, oleanolik asit, sitosterol, rutin, lökosiyanidin, antosiyaninler, proantosiyandinler ve kaempferol ve kuersetin glikozitleri gibi çeşitli fitokimyasallardan (alkaloidler, flavonoidler ve fenolik asitler) oluşmaktadır. Bazı çalışmalar, metabolitlerin indirgeyici, kaplayıcı ve stabilize edici ajanlar olarak hareket ettiğini ve MNP'lerin agregasyonunu ve kümelenmesini engellediğini göstermiştir. (Takcı ve ark., 2023)

Bitki kaynakları kullanılarak metal NP'lerin biyo-indirgenmesi üç ana faza ayrılır. Birincisi aktivasyon adımı, diğeri termodinamik stabilite ve sonuncusu sonlandırma fazıdır. Bitki özütlerinin konsantrasyonu, oluşan nanopartiküllerin düzenlenmesini etkiler ve bitki özütünün sıcaklığı ve pH'ı nanopartiküllerin boyutunu ve büyümesini kontrol eder. Metalik nanopartiküllerin üretimi için bitkilerin kullanımı, biyolojik işlem için tek adımlı bir mekanizma sağlayan hızlı, çevre dostu, patojenik ve ekonomik

protokolü nedeniyle son yıllarda daha fazla odaklanmıştır. Nispeten yüksek seviyelerdeki steroidler, saponinler, karbonhidratlar ve flavonoidler, nanopartiküllere stabilite sağlayan indirgeyici ve kaplayıcı maddeler ve fito-bileşenler olarak işlev görür. nO^0 'ın bitki bazlı biyosentezi için mekanizma, bir metal halojen öncüsüyle reaksiyona girdiğinde polifenoller APOH'yi çıkararak sıfır değerlikli metal atomları olarak aşağıdaki gibidir: (Chandrakala ve ark., 2024).



Bitki özütünün koşullarını belirleyen parametrelerin (fitokimyasal türleri, fitokimyasal konsantrasyonu, metal tuzu konsantrasyonu, pH ve sıcaklık gibi) nanopartikül oluşum hızını ve bunların verimini ve stabilitesini kontrol ettiği kabul edilir. Bitki özütlerinde bulunan fitokimyasallar, daha uzun inkübasyon süresi gerektiren mantar ve bakterilere kıyasla çok daha kısa sürede metal iyonlarını azaltma konusunda olağanüstü bir potansiyele sahiptir. Bu nedenle, bitki yaprak özütlerinin metal ve metal oksit nanopartikül sentezi için mükemmel ve zararsız bir kaynak olduğu düşünülmektedir. Bitki yaprak özütünün bileşimi de nanopartikül sentezinde önemli bir faktördür, örneğin farklı bitkiler farklı konsantrasyon seviyelerinde fitokimyasallar içerir. Bitkilerde bulunan başlıca fitokimyasallar, nanopartiküllerin biyolojik olarak indirgenmesinden sorumlu olan flavonlar, terpenoidler, şekerler, ketonlar, aldehytler, karboksilik asitler ve amitlerdir (Singh ve ark., 2018).

Flavonoidler, metal iyonlarını indirgeme konusunda gelişmiş bir yeteneğe sahip çeşitli fonksiyonel gruplar içerir. Reaktif hidrojen atomu, enol-formun keto-forma dönüştürüldüğü flavonoidlerdeki tautomerik dönüşümler nedeniyle serbest bırakılır. Bu süreç, metal iyonlarının metal nanopartiküllere indirgenmesiyle gerçekleştirilir (Ahmad ve ark., 2010). Bitki özlerinde bulunan glikoz ve fruktoz gibi şekerler de metalik nanopartiküllerin oluşumundan sorumlu olabilir. Glikozun farklı boyut ve şekillerde metalik nanopartiküllerin oluşumuna katılabildiğini, fruktoz aracılı altın ve gümüş nanopartiküllerinin ise doğada monodispers olduğunu unutmamak gerekir (Panigrahi ve ark., 2004). Bitki özlerinde bulunan fonksiyonelleştirilmiş amino gruplarına ($-NH_2$) sahip proteinler, metal iyonlarının indirgenmesinde aktif olarak yer alabilir. Flavonlar, alkaloidler, fenoller ve antrasenler gibi fitokimyasallarda bulunan fonksiyonel gruplar

(örneğin $-C-O-C-$, $-C-O-$, $-C=C-$ ve $-C=O$) metalik nanopartiküllerin üretilmesine yardımcı olabilir (Singh ve ark., 2018).

NP'ler, yığın metale kıyasla azalan erime noktaları, artan yüzey alanı/hacim oranı, spesifik optik özellikler ve gelişmiş termal ve elektriksel iletkenlikler gibi farklı fiziksel ve kimyasal özellikler sergiler. Bu avantajlarının/özelliklerinin yanı sıra, elektronik, optik, katalitik ve manyetik özellikleri ayarlanabilir olması nedeniyle de yoğun ilgi görmektedir (Bharat ve ark., 2019). Çeşitli yarı iletken MNP'ler arasında, ZnO, çevre dostu yapısı nedeniyle çoklu uygulamalarla çok yönlü roller sergiler (Raghavendra ve ark., 2022). ZnO-NP'ler, fotokatalitik su iyileştirme ve çeşitli biyolojik uygulamalardaki potansiyelleri nedeniyle geniş kullanım alanı bulmuştur.

2.3.5 Yeşil Yaklaşımla Üretilen MNP'lerin Toksisitesi

Yeşil nanopartiküller hücre zarına zarar verebilir, oksidatif DNA hasarına neden olabilir ve elektron taşıma zincirini engelleyebilir çünkü bunlar hücrelere girme yeteneğine sahiptir ve bir eşik sınırının üzerinde mevcut olduğunda ancak bahsi geçen yıkıma neden olabilmektedirler. Yeşil nanopartiküllerin biyolojik aktivitesi hakkında sınırlı veri mevcudiyeti kesin inhibisyon mekanizması gösterilmemesine sebep olmaktadır (Gopinath ve ark., 2017).

2.4 Çinko Oksit Nanopartiküller (ZnO-NP'ler)

ZnO-NP'ler boyutu değiştirilerek, ek bileşiklerle katkılayarak veya sentez koşullarını manipüle ederek kolayca değiştirilebilen benzersiz optik, manyetik, morfolojik, elektriksel, katalitik, mekanik ve fotokimyasal özelliklere sahiptir. Parçacıkların boyutu azaldıkça, istenen özellikleri iyileştirilebilir (Pushpalatha ve ark., 2023). ZnO-NP'ler çeşitli endüstrilerde uygulamalarına olanak tanıyan çok sayıda özellikleri nedeniyle önemli araştırma ve endüstriyel ilgi uyandırmıştır. Proteinlerin, nükleik asitlerin ve nöroenezin sentezi için gerekli olan ve bu nedenle vücudun tüm dokularında bulunan temel bir mikro besin Zn'dir. Zn, Food and Drug Administration FDA tarafından onaylanmış güvenli bir metal olarak sınıflandırılmaktadır (Jiang ve ark., 2018).

2.5 ZnO-NP'lerin Karakteristik Özellikleri ve Endüstriyel Kullanım Alanları

ZnO-NP'lerin yüksek kimyasal hassasiyetleri, $200 \text{ cm}^2/\text{V.s'lik}$ yüksek elektron hareketliliği ve yüksek termal kararlılıkları nedeniyle gaz algılama için araştırılmıştır. 60 meV'lik yüksek ekziton bağlama enerjileri, ışık yayan cihazlar (LED'ler), fotodiyotlar ve fototransistörler gibi fotonik cihazlarda kullanılmalarına yol açmıştır. ZnO-NP'lerin şeffaflık, düşük yapışkanlık ve ultraviyole (UV) ışığı emme yeteneği gibi özellikleri, kozmetiklerde kullanılmalarına olanak sağlamıştır. ZnO-NP'ler elektromanyetik radyasyonu emer ve fotolüminesans sergiler, bu da alan emisyonlu görüntüleme cihazlarında uygulanmalarına neden olmaktadır. Kauçuk endüstrisinde, ZnO-NP'ler kauçuğun mukavemet, yaşlanmaya karşı dayanıklılık ve tokluk gibi özelliklerini geliştirmek için katkı maddesi olarak kullanılırken, oda sıcaklığında 3,37 eV'lik geniş bant aralıkları, süper kapasitörler gibi optoelektronik cihazlarda uygulamalarına fırsat sunmaktadır. Ayrıca, UV ışığını emme ve elektron-delik çiftleri oluşturma yetenekleri, organik boyaların fotodegradasyonu ve su parçalanması yoluyla hidrojen gazı üretimi için fotokatalizör olarak uygulamalarına yol açmıştır (Mutukwa ve ark., 2024). Tablo 2.1'de malzemenin bazı fizikokimyasal özellikleri verilmiştir.

Tablo 2.1 ZnO'nun bazı fizikokimyasal özellikleri (Mutukwa ve ark., 2024).

Özellikler	Değer
Görünüm	Beyaz katı
Koku	Kokusuz
Moleküler ağırlık	81,38 g/mol
Yoğunluk	5,6 g/cm ³
Koordinasyon geometrisi	Dört yüzlü
Kristal yapı	Altıgen wurtzite
Erime noktası	1975°C (ayrışır)
Parlama noktası	1436°C
Toksisite tehlikeleri	Hiçbiri
Kırılma indisi	2.0041
Bant aralığı	3.37 eV
Elektriksel iletkenlik	Yarı İletken
Delik etkin kütlesi	0.59
Elektron etkin kütlesi	0.24
Eksiton bağlanma enerjisi	60 meV
Bohr yarıçapı	2,34 nm
Lüminesans	UV ve görünür ışıktaki ışıldayan

2.5.1 ZnO-NP'lerin Biyolojik Özellikleri ve Tıbbi Kullanım Alanları

ZnO-NP'ler önemli biyolojik özelliklere sahiptir ve bu da onları çeşitli sektörlerde çok çeşitli biyomedikal uygulamalar için uygun hale getirir. Örneğin, bitki özleri kullanılarak üretilen ZnO-NP'ler antibakteriyel aktivitelerinin enfeksiyonlarla mücadelede geleneksel ilaçlardan daha üstün olduğunu gösterilmiştir (Hern'andez-Díaz ve ark., 2021; Heidari ve ark., 2022). Ayrıca, bu nanopartiküllerin antikanser özelliklere sahip olduğu ve antioksidan aktivite gösterirken serbest radikalleri temizleyen ajanlar olarak umut vadettiği belirtilmiştir (Kiani ve ark., 2023). Bitki aracılı ZnO-NP, sıtma ve idrar yolu enfeksiyonları dahil olmak üzere hastalıklar için yenilikçi tedaviler geliştirmede potansiyel göstermiştir (Aboyewa ve ark., 2021; Barathikannan ve ark., 2023).

Bakteriyel enfeksiyonlara bağlı çok çeşitli hastalıklar ve çoklu ilaç direncinin ortaya çıkması, etkili ilaç iletimi için yeni taşıyıcıların geliştirilmesini gerekli kılmıştır. Üstün biyoyumluluğu, düşük toksisitesi ve düşük maliyetli üretimi nedeniyle ZnO NP'ler biyolojik uygulamalarda en önemli metal oksit NP'lerden biri haline getirmiştir.

ZnO NP'lerinin beş antibakteriyel mekanizması önerilmiştir, (1) fotokatalitik aktivite yoluyla ROS üretimi; (2) oksidatif stresin indüklenmesi; (3) ZnO NP'lerinin bakteri hücre duvarlarına bağlanması; (4); Zn (II) iyonlarının salınımı; ve (5) genotoksitedir. En çok kabul gören antibakteriyel mekanizmalar, ışık varlığında ROS üretimini içerir. Hidroksil ve süperoksit radikallerinin hücre zarının yüzeyiyle etkileşime girerek hücre zarını tahrip ederken, hidrojen peroksit hücrelere girerek DNA ve proteinlerin hasar görmesine ve tahrip olmasına neden olur ve bu da bakterilerin ölümüne yol açmaktadır (Gudkov ve ark., 2024).

Hem bakteri hücre duvarında hem de hidroksil radikalleri ve süper oksitler gibi iki tür radikalde bulunan benzer yükler, bu iki türün bakteri hücre duvarına girmesini zorlaştırır, ancak ROS yine de yakın mesafede zarar verebilir. H₂O₂'ye daha duyarlı bakteriler, ZnO-NP'lere de daha duyarlı görünmekte bu nedenle hidrojen peroksitin ZnO-NP'leri antibakteriyel etkisinin arkasındaki mekanizma olduğu öne sürölmüştür (Jha ve ark., 2023). Bakteriyel hücreyi Zn⁺² iyonlarını serbest bırakarak yok edebilen farklı mekanizmalar da mevcuttur. ZnO-NP'lerin iyonlar halinde çözeltide dağılması, enzimatik sistemi bozarak ve amino asit metabolizmasını düşürerek antibakteriyel aktivitelerine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Sirelkhatim ve ark., 2015).

Ek olarak, çeşitli klinik durumlarla ilişkili biyobelirteçlerin tespiti ve karakterizasyonu için biyosensör olarak işlev görme potansiyeline sahiptir. Geleneksel olarak üretilen ZnO-NP'lerin aksine, yeşil yöntemler kullanılarak üretilen ZnO-NP'leri üstün biyoyumluluk ve artan biyomedikal özellikler sergiler ve bunları kanserle mücadele için antibakteriyel ajanlar ve ilaçlar olarak oldukça uygun hale getirir. Dahası, bu nanopartiköllerin ilaç salınımı ve algılama uygulamalarında kullanımı gösterilmiştir (Al-darwesh ve ark., 2024).

ZnO-NP'lerin biyomedikal mühendisliğindeki güncel kullanımı, biyo-görüntöleme, yara iyileştirme, implant kaplama, doku mühendisliği ve kanser karşıtı ilaçların oluşturulmasını içermektedir. ZnO NP'ler, insan hücreleriyle yüksek biyoyumluluğa sahip olma avantajı nedeniyle tüm NP'ler arasında en fazla ilgiyi görmektedir. ZnO-

NP'leri, viral girişi, replikasyonu ve organ boyunca yayılmayı engelleme kapasiteleri nedeniyle birçok virüse karşı doğrudan antiviral etkinlik gösterir ve nihayetinde oksidatif strese neden olan reaktif oksijen türlerinin aktivasyonu nedeniyle viral ölüme neden olmaktadır (Jha ve ark., 2023).

Çinko, antioksidan koruma, büyüme ve bağışıklık sistemi işlevine yardımcı olan temel bir mineraldir. ZnO NP'lerin, hücrelerin içinde ve hücre dışı ortamlarda güçlü antioksidan etkiler gösterdiği gösterilmiştir (Skrajnowska ve ark., 2019)

Çinko, vücudu homeostaz durumunda tutmak için enzim aktivitesini düzenleyen gerekli bir mineraldir; eksikliği ise kötü huylu hücrelerin büyümesini tetikleyebilir ve teşvik edebilir. Kaspaz-6 enzimini aktive ederek apoptozu kontrol eden tümör baskılayıcı gen p53, aktif olmak için çinkoya oldukça bağımlıdır. Ek olarak, ZnO NP'ler, kanser hücrelerini özel olarak hedeflemeyi kolaylaştıran özel bir elektrostatik özelliğe sahiptir. Kanser hücrelerinin yüzeyinde görülen yüksek miktarda anyonik fosfolipit sonucunda, ZnO-NP'ler elektrostatik olarak onlara çekilir. ZnO-NP'lerin küçük boyutu, NP'lerin daha fazla etki için tümör hücrelerinin içine nüfuz etmesini ve tutulmasını kolaylaştırır. Bu, ZnO-NP'lerin kanser hücreleri tarafından hücre içi olarak alınmasını artırır ve sonuçta sitotoksiteye neden olur. ZnO-NP'ler, normal hücrelere kıyasla kanser hücrelerinde çok miktarda ROS oluşturur ve bu da bu hücrelerin ölümüne yol açan önemli derecede oksidatif strese neden olur ve bu kanser karşıtı etki olarak tanımlanmıştır. ZnO-NP'lerin ayrıca tümör T hücrelerine karşı önemli seçici toksiteyi indüklediği ve normal vücut hücrelerine minimum hasar verdiği de gösterilmiştir (Jha ve ark., 2023).

Çinko, glikoz metabolizması ve homeostaz için gereklidir ve çinko eksikliği diyabetle ilişkilendirilmiştir. Çinkonun insülin üretimi, depolanması ve salgılanması için önemli olduğu bilinmektedir. Diyabetik sıçanlarda, ZnO-NP'ler insülin konsantrasyonunda artışla kan glikozunda önemli bir azalmaya neden olmuştur. Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) seviyesini artırarak insülin direncinde azalma ve SOD (Süper oksit dismutaz) ve plazma paraoksonaz aktivitesini artırarak antioksidan koruma sağlamaktadır. Ek olarak, ZnO-NP'ler pankreas antioksidan savunma sistemini ve genel antioksidan kapasitesini yenileyerek oksidatif stresin neden olduğu pankreas hasarını azaltmıştır (Matter ve ark., 2020).

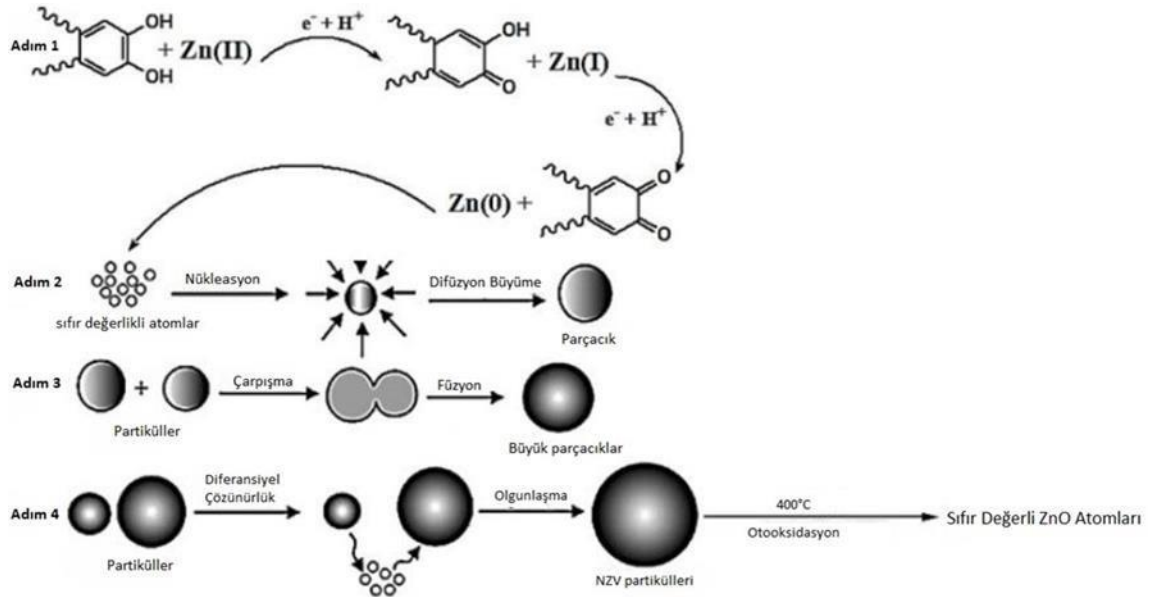
ZnO-NP'lerin antidiyabetik mekanizmalarının temeli şu şekilde sıralanmaktadır; (a) Pankreas beta hücrelerinde, ZnO-NP'ler insülin salınımını artırır ve antioksidan savunma sistemini iyileştirir; (b) ZnO NP'ler glikoz toleransını artırmaya ve kan glikoz seviyelerini düşürmeye yardımcı olur; (c) ZnO NP'ler insülin duyarlılığını ve karaciğer, yağ dokusu ve iskelet kası tarafından emilimini artırır; (d) ZnO NP'ler hepatositlerde glukoneogenezi ve yağ hücrelerinde lipolizi baskılar (Singh ve ark., 2021).

ZnO-NP'ler, düşük maliyetli öncüllerden kolay sentezlenmesi, biyouyumlu yapısı ve endositoz yoluyla etkili hücresel içselleştirmesi nedeniyle hedefli ilaç dağıtımı için potansiyel bir aday olarak kabul edilmiştir. ZnO-NP'lerin bir diğer benzersiz avantajı, nanosfer, nanotabaka, nanorod, nanokemer ve kuantum noktası gibi farklı nanoyapı formlarında bulunmasıdır. ZnO-NP'ler aracılığıyla hedefli ilaç dağıtımında yer alan çeşitli etkileşim türleri ligand-reseptör tanıma, hidrofobik ve coulomb etkileşimleri vb.'dir (Singh ve ark., 2020).

2.6 ZnO-NP'lerin Yeşil Yaklaşımla Biyosentezi

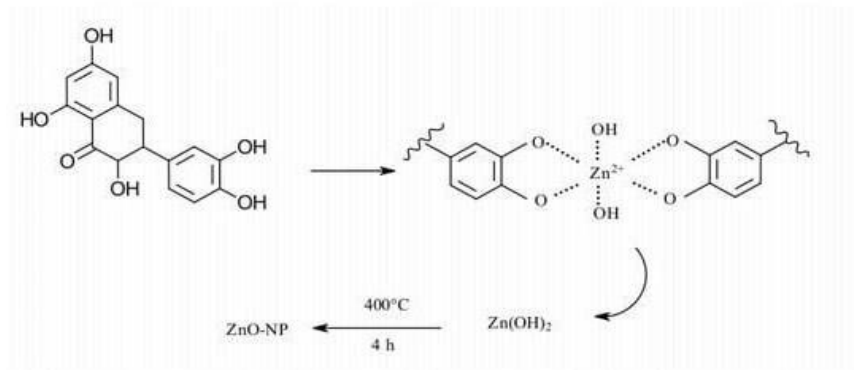
Bitki özlerinin alkaloidler, flavonoidler, saponinler, fenoller, terpenoidler, tanenler vb. gibi biyomoleküller içeriği ZnO-NP'lerin indirgenmesinde ve stabilizasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Bu biyomoleküller ayrıca antioksidan özellikleriyle de bilinirler, bu da onları ZnO-NP'lerin Zn tuzu öncüsünün indirgenmesi ve ZnO NP'lerinin stabilizasyonu için ideal hale getirmektedir (Ahmed ve ark., 2017).

Bitkisel özütlerin ZnO-NP'nin yeşil sentezi için öngörülen prosesi Şekil 2.5'te özetlenmiştir: Çinko (II) iyonları, bitki aktif bileşikler tarafından koordineli kompleks oluşturmak yerine metalik çinkoya indirgenir. Çinkonun biyolojik olarak indirgenmesinden sonra, metalik çinko, çözeltide bulunan çözünmüş oksijenle reaksiyona girerek ZnO çekirdeklerini oluşturur. Ayrıca, bitki bileşiklerinin parçacıkların kümelenmesini ve kristal büyümesini önleyen stabilizatör olarak hareket etmektedir (Singh ve ark., 2018).



Şekil 2.5 Bitki aracılı biyogenik ZnO-NP oluşum için öngörülen mekanizma (Mohammadi ve ark., 2017)

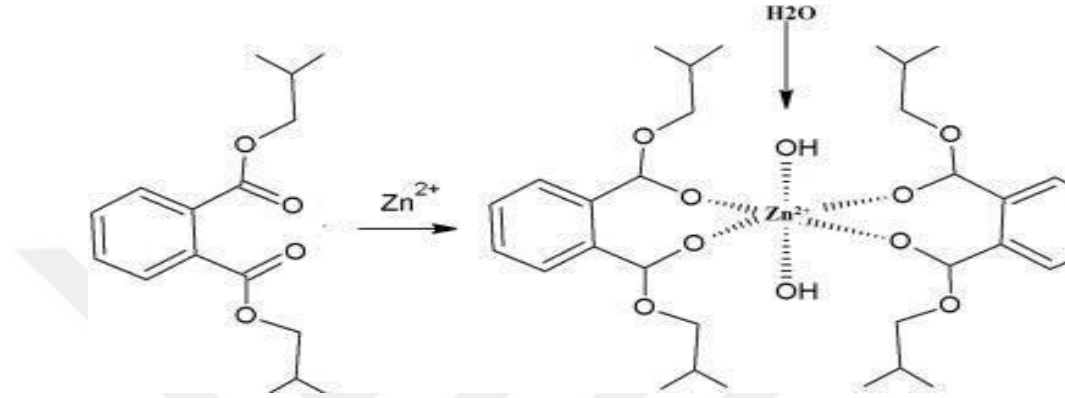
Bitki özütlerindeki flavanoid ve kuersetin biyokatif bileşiklerin ZnO-NP üretim şeması Şekil 2.6'da verilmiştir. Önerilen bu mekanizma, Zn tuzu öncüsünden gelen Zn (II) iyonları ile kuersetin'den gelen hidroksil grupları arasında bir kompleks oluşumunu içermektedir. Bunu, biyomolekülün OH grubu arasında $Zn(OH)_2$ oluşturmak için bağlanma ve $Zn(OH)_2$ 'nin kalsinasyon yoluyla ZnO-NP'lerine ayrışması izlemektedir (Chemingui ve ark., 2019).



Şekil 2.6 Kuersetin aracılı biyogenik ZnO-NP oluşum mekanizması (Del Buono ve ark., 2021).

Yeşil sentez süreci temel olarak üç adıma ayrılmaktadır: hidroliz, kompleksleşme ve ayrışma. Şekil 2.7'de karbonyl grupların yeşil sentez sürecinin olası mekanizmasını

göstermektedir. Polifenolik bileşikler ve amino asit gibi biyoaktif moleküller, karbonil gruplarından π elektronları bağışlayarak ZnO-NP'lerin sentezinde indirgeyici ajan görevi görür. Bu, Zn kompleksinin oluşumu ve Zn^{2+} iyonlarının sıfır değerlikli Zn'ye indirgenmesiyle sonuçlanır. Daha sonra, tavlama işlemi yoluyla Zn kompleksinin ZnO nanopartiküllerine ayrışması takip eder (Chan ve ark., 2021).



Şekil 2. 7 Karbonil gruplar aracılığıyla biyogenik ZnO-NP üretimi (Azizi ve ark., 2016).

2.7 Bakteriyel Çoğunluk Algılama (Quorum sensing)

Bakteriyel QS, QS sinyal molekülleri tarafından aracılık edilen hücre yoğunluğuna bağlı ve dinamik çok adımlı bir işlemdir. Bu moleküllerin sentezini, salgılanmasını, birikmesini, algılanmasını ve tepkisini içerir. Her bakteri hücresi, QS sinyal moleküllerini çevreye sentezleyebilir ve salgılayabilir ve ayrıca ortamda QS sinyal molekülü konsantrasyonuna bağlı olarak popülasyondaki bakteri sayısındaki değişiklikleri izleyebilir. Yeterli bakteri bolluğu, bakteriler tarafından salgılanan QS sinyal moleküllerinin konsantrasyon eşiğine ulaşmasını tetikler. QS tarafından koordineli olarak düzenlenen bakterilerdeki virülans faktörlerin sağlık açısından oluşturdıkları riskler oldukça önemlidir (Hu ve ark.,2024).

Bakteriyel çoğunluk algılama (QS) düzenlemesi önemli bir anti-virülans stratejidir. Bakteriyel iletişimin önemli bir yolu olan QS, yüzlerce bakteri geninin ifadesini düzenlemek için kullanılabilir ve böylece biyofilm oluşumu, virülans faktörü üretimi, plazmit konjugasyon transferi ve bakteri hareketliliği gibi bakteri virülansı ile yakından ilişkili davranışları etkileyebilir. QS'ye müdahale etmek veya onu engellemek bakteriyi

sağır-dilsiz ve düşük virülansa dönüştürebilir ve bir "takım savaşı" tarzında konak bağışıklık sisteminin "yok edilmesine" karşı koyamaz (Hu ve ark., 2024).

Geleneksel antimikrobiyal tedaviye alternatif olarak, QS'nin hedeflenmesi, bakteriyel virülans faktörlerinin üretimi ve patogenezinin düzenlenmesindeki rolü nedeniyle çekici bir seçenek haline gelmiştir. Anti-virülans tedavisi (QS inhibitörleri gibi) anti-virülans ajanların kullanımı sırasında bakteriyel büyümeyi etkileyen baskıların olmaması ve bu nedenle bunlara karşı mikrobiyal direnç beklenmemesi nedeniyle mikrobiyal hastalıkların yönetiminde değerli olacaktır. Bakteriyel biyofilm oluşumuyla mücadele olanakları arasında gümüş, titanyum, altın, bakır, demir ve çinko (Zn) gibi inorganik metal bazlı nanopartiküller (NP'ler) araştırılmıştır. ZnO-NP'lerin biyomedikal uygulamalar için potansiyele sahip antiseptik ve antimikrobiyal özellikler sergilemelerinden dolayı QS inhibitörleri olarak değerlendirilmektedir (Fulindi ve ark., 2023).

ZnO-NP'lerin *P. aeruginosa* patogenezi üzerindeki etkisi in vivo olarak çalışıldığı raporlarda, ilginç bir şekilde, ZnO ile tedavi edilen izolatlarla enjekte edilen farelerin hayatta kalma oranında, tedavi edilmeyen izolatlarla enjekte edilenlere kıyasla önemli bir artış olduğunda ifade edilmiştir (Saleh ve ark., 2019). Khan ve ark. (2020) ZnO-NP'ler ile yapılan tedavide, bakteriyel (*Chromobacter* sp.) büyümeyi etkilemeden patojendeki viyolasin üretimini azalttığı ve bunun ZnO-NP'lerin N-asil homoserin lakton tarafından düzenlenen QS sinyalini inhibe ettiğini göstermiştir. NP'lerin quorum algılama inhibitörü olarak etkisinin moleküler temeli ve tam mekanizması gelecekte daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

3.MATERYAL VE METOT

3.1.Materyal

Dimetil sülfoksit ((CH₃)₂SO)) (Cas No: 67-68-5), Çinko asetat dihidrat (Zn(CH₃COO)₂2H₂O) (Cas No: 5970-45-6), Plate Count Agar (M091A), Sodyum klorür (NaCl) (Cas No: 7647-14-5), Sodyum hidroksit (NaOH) (Cas No: 1310-73-2), Kloroform (CHCl₃) (Cas No: 67-66-3), Hidroklorik asit (HCl) (Cas No: 7647-01-0), Lauria Bertani Broth (M1245), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Choromobacter violaceum* CV 12472 ve *Pseudomonas aeruginosa* PA01.

3.1.1 *Styrax officinalis* L.

En eski ve en ünlü geleneksel tıbbi bitkilerden biri, yaygın olarak Storax olarak bilinen bitkisel ilacın resmi kaynağı olarak kabul edilen *Styrax officinalis* L.'dir. Storax, Eski Ahit'te Tabernacle tütsüsü yapmak için kullanılan bir oleo-reçinedir. Antik Fenike, Mısır, İyon ve Roma medeniyetlerinde Storax, birçok hastalık için terapötik bir madde olarak kullanılmıştır. *S. officinalis*, çoğunlukla subtropikal ve tropikal alanlarda yaşayan çalılar ve küçük ağaçlardan oluşan Styracaceae ailesine aittir. Styracaceae bitki ailesi, 130 türden oluşan ve ilk olarak 1753'te Linnaeus tarafından belgelenen *Styrax* cinsi de dahil olmak üzere 11 cinsten oluşmaktadır. *Styrax* türleri dünya çapında dağılmış durumdadır ve çoğunlukla Akdeniz havzası bölgelerinde, Asya'nın doğu bölgelerinde, Amerika'nın kuzey bölgelerinde ve türlerin çoğu Güney Amerika'da dağılmıştır (Jaradat, 2020). Türkiye'de ayıfındığı ve yalancı tesbih ağacı gibi isimleri ile de bilinmektedir.

S. officinalis, yaklaşık 6 m yüksekliğe ulaşan çok yıllık, yaprak döken küçük bir ağaçtır. Yaprakları yumuşak, basit alternatif, yuvarlak veya oval şekillidir ve tüylü alt yüzeyleri olan yeşilimsi beyaz bir renge sahiptir. Çiçek beyaz renktedir ve çan şeklindedir. Meyvelerin bir tane parlak, kahverengi ve taşsı tohumu vardır (Venditti et al., 2018) (Şekil 3.1)

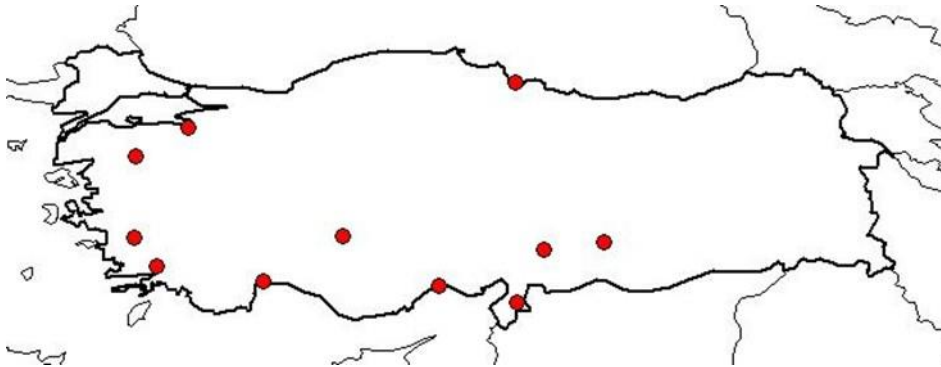


Şekil 3. 1 *Styrax officinalis* L. bitkisinin meyve (a), meyve perikarp (b) ve tohum kısmı (c) (Sak ve ark., 2024)

Bitkinin meyve, meyve perikarp ve tohum kısımları antitümör, hemolitik, anti-lösemik, antifungal, antibakteriyel, antioksidan ve tirozinaz inhibitör aktiviteleri dahil olmak üzere değerli biyolojik aktivitelere sahip pekçok farklı fitokimyasal (benzoin, benzofurans, esansiyel yağlar ve saponin) içeriğe sahiptir (Cesur ve ark., 2019; Jaradat, 2020).

3.1.2 *S. Officinalis* L Bitkisinin Temini

Türkiye’de endemik olarak yetişmeyen bitkinin TÜBİVES (2024) verilerine göre, Adıyaman, Antalya, Aydın, Balıkesir, Bursa, Hatay, İçel, Konya, Kahramanmaraş, Muğla ve Samsun illerimizde yayılım gösterdiği bilinmektedir (Şekil 3. 2).



Şekil 3. 2 Ayıfındığı bitkisinin ülkemizdeki TÜBİVES verilerine dayanan coğrafik dağılımı

Yerel halk tarafından meyve perikarp ve tohumları fitoterapik ajan olarak kullanılmakta olup, kurutulmuş olarak aktarlardan temin edilmektedir. Bitkinin meyveleri Gaziantep bölgesindeki yöresel ürünlerin ticaretini yapan yerel marketlerden satın alınmıştır.

3.1.3 *S. Officinalis* L Meyve Perikarp Ve Tohum Kısımlarının Biyoaktif Bileşenleri

S. officinalis L bitkisinin farklı kısımları ile yaptığımız önceki çalışmalarımızda elde ettiğimiz fitokimyasal içerik analiz sonuçlarımıza göre total fenolik ve total flavanoid madde miktarı meyve perikarpında (45.4 ± 0.005 ve 19.7 ± 0.006 mg GAE/ g) tohuma (0.046 ± 0.010 ve 0.033 ± 0.023 mg RE/ g) kıyasla daha yüksek bulunmuştur. (Sak ve ark., 2024). Fenolik asitlerin HPLC-DAD analizleri sonucunda meyve perikarpının toplamda 26 adet fenolik asiti tanımlanmıştır: Fenolik asitler hesperidin (238.28 mg/kg kuru numune), kateşin ve kateşin hidrat (280.72-345.42 mg/kg kuru numune), kuersetin (299.37 mg/kg kuru numune), naringenin (466.45 mg/kg kuru numune), t-sinamik asit (1497.16 mg/kg kuru numune) ve kirizindir (2737.43 mg/kg kuru numune) (Sak ve ark., 2024). Önceki çalışmamızın verilerine dayanarak *S. officinalis* L. bitkisinin meyve perikarp kısmı ile ZnO-NP'lerin yeşil yaklaşımla üretim prosesimize devam edilmiştir.

4 YÖNTEM

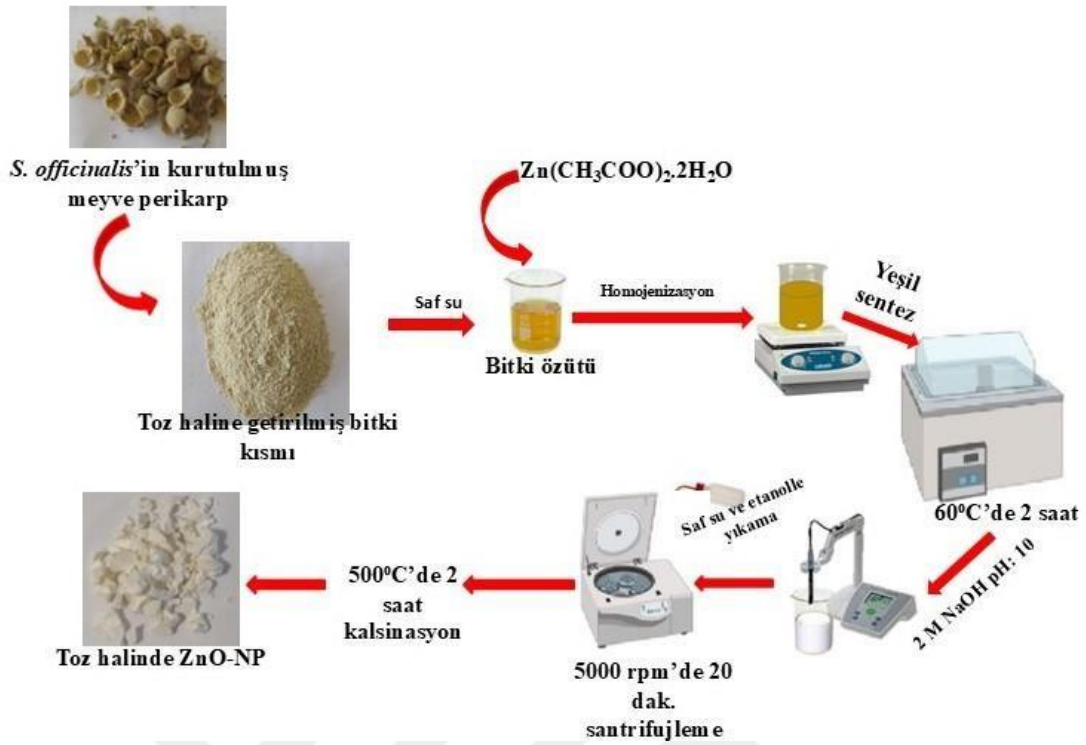
4.2.1 Biyojenik ZnO-NP'lerin Üretim Prosesi

4.2.1.1 *S. officinalis* L. Meyve Perikarp Özütünün Hazırlanması

Bitkinin tohumlarını saran meyve perikarp kısmı soyularak, güneş ışığında kurutulmuş ve ardından elektrikli karıştırıcıda ezilerek toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen perikarpların 2 g'ı 100 mL saf su içerisine eklenerek manyetik karıştırıcıda 60°C sıcaklıkta 15 inkübe edilmiştir. Soğutulduktan sonra elde edilen süspansiyon Whatman No.1 filtre kağıdından süzölmüştür. Elde edilen bitkisel özüt ZnO-NP'lerin sentezi için indirgeyici kaplayıcı ve stabilize edici ajanaolarak kullanılaümak üzere +4°C'de saklanmıştır (Takcı ve ark., 2024).

4.2.1.2 Perikarp Özütünden ZnO-NP'lerin Biyosentezi

Prekürsör olarak çinko asetatın ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) kullanıldığı yöntemde, 25 mL perikarp özütüne 0.25 g $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ eklenmiştir. Daha sonra, bu karışım 60°C'de 2 saat boyunca manyetik karıştırıcıda ısıtılmıştır. 25°C'de soğumaya bırakıldıktan sonra, çözeltinin pH'sı 2 M NaOH kullanılarak 10'a ayarlanmıştır. Başlangıçta şeffaf olan çözelti rengi hafif sarıya ve son olarak ZnO-NP'lerin oluşumunu gösteren süt beyazına dönmüştür. Elde edilen reaksiyon karışımı 5.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiş ve üstteki sıvı uzaklaştırılmıştır. Kalan pelet üç kez saf su ve etanol ile yıkanmış ve oda sıcaklığında 3 saat boyunca havada kurutulmuştur. Herhangi bir safsızlığı gidermek için ZnO-NP'ler kül fırınında 500°C'de 2 saat boyunca kalsine edilmiştir. Elde edilen biyojenik ZnO-NP'ler daha ileri fiziksel karakterizasyonlar ve anti-quorum sensing analizleri için nemsiz ve karanlık ortamda muhafaz edilmiştir (Takcı ve ark., 2024). Bitki tabanlı ZnO-NP'lerin yeşil sentezi Şekil 3.3'te şematize edilmiştir.



Şekil 4. 1 *S. officinalis* meyve perikarpı kullanılarak biyogenik ZnO-NP sentezi

4.2.3 ZnO-NP'lerin Karakterizasyonu

ZnO-NP'lerin fizikokimyasal özellikleri farklı karakterizasyon teknikleri kullanılarak araştırılmıştır. ZnO-NP'lerin element bileşimi ve yüzey morfolojisi, 20 kV voltajda enerji dağılımlı X-ışını analizi (EDX) ile bir alan emisyon taramalı elektron mikroskobu (FESEM, FEI Quanta-FEG-6250) kullanılarak incelenmiştir. ZnO-NP'lerin fienolik bileşiklerinin fonksiyonel grupları ile ilgili titreşim bantları, 4000-400 cm^{-1} aralığında bir Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektrometresi (Bruker VERTEX 70v) ile analiz edilmiştir. ZnO-NP'lerin kristalin doğası ve saflığı, 45 kV ve 40 mA'da, 10° ile 90° arasında 0,01° adım boyutuyla elde edilen bir Panalytical Empyrean XRD difraktometresi Cu K α radyasyonu ($\lambda = 1,54059 \text{ \AA}$) radyasyonu ile desenlenmiştir. ZnO-NP'lerin dağınık yansıma spektrumları bir Ultraviyole-görünür spektrofotometre (SHIMADZU UV-3600 PLUS) kullanılarak diffuse reflectance ölçümleri ile belirlenmiştir. Karakterizasyon çalışmaları ÇÜMERLAB ve DAYTAM merkezi araştırma laboratuvarlarında yürütülmüştür.

4.2.4 ZnO-NP'lerin Antibakteriyel Aktivitesi

Biyojenik ZnO-NP'lerin antibakteriyel aktivitesi *Escherichia coli* ATCC 25922 suşuna karşı test edilmiştir. Optik yoğunluğu 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlanan gecelik kültürün 100 µL'si 0.1-5 mg/mL ZnO-NP içeren LB ortamına aktarılmıştır. 37°C'de 12-24 saat 180 rpm'de çalkalamalı koşullarda geliştirilmiştir. İnkübasyonu takiben, kültür ortamlarının 100 µL'si plate count agar (PCA) drigalski özesi ile yayılmıştır. 37°C'de 12-24 saat inkübe edilerek canlı koloni sayımı (Kob/mL) yapılmıştır. ZnO-NP'siz ve yalnızca bitki özütü içeren kültürler kontrol olarak kullanılmıştır. Koloni sayılarına göre aşağıdaki formüle göre % antibakteriyel aktivite hesaplanmıştır.

$$\text{Antibakteriyel aktivite (\%)} = [(KOB_{(KONTROL)} - KOB_{(ÖRNEK)}) / KOB_{(KONTROL)}] \times 100$$

4.2.5 Biyojenik ZnO-NP'lerin Anti-Quorum Sensing Aktivite Analizleri

ZnO-NP'lerin *Chromobacter violaceum* CV 12472 QS kontrollü viyolasin üretimi üzerindeki inhibisyon potansiyeli sırasıyla kantitatif olarak analiz edilmiştir. Luria-Bertani (LB) besiyerinde geliştirilen bir gecelik *C. violaceum* CV12472 kültürünün yoğunluğu, tuzlu su (%0.9 NaCl) ile McFarland ölçeğinde 0.5'e ayarlanmıştır. Bakteri süspansiyonunun 100 µL'si 0.1, 0.3 ve 0.5 mg/mL ZnO-NP içeren Luria-Bertani (LB) kültürlerine aktarılmış ve 180 rpm'de 30°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bakteriyel kültürler inkübasyondan sonra 10 dakika boyunca 14.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Bakteriyel hücre pelletleri 5 mL DMSO'da çözülmüş ve 30 sn boyunca kuvvetlice vortekslenmiştir. Hücresel artıklar, aynı koşullar altında santrifüjleme yoluyla çıkarılan viyolasin pigmentinden uzaklaştırılmıştır. Çözünebilir mor renkli viyolasin pigmentinin absorbansı OD 585 nm'de okunmuştur. ZnO-NP'ler eklenmemiş bakteri kültürü pozitif kontrol ve bitki özütü eklenen kültür ise negatif kontrol olarak değerlendirilmiştir. Viyolasin üretiminin inhibisyon yüzdesi aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır (Ganesh ve Rai, 2016).

$$\text{İnhibisyon(\%)} = [(OD585nm_{(KONTROL)} - OD585nm_{(ÖRNEK)}) / OD585nm_{(KONTROL)}] \times 100$$

ZnO-NP'lerin *Pseudomonas* suşlarının virülans faktörleri üzerindeki etkisi piyosiyanın pigment üretiminin inhibisyonu ile araştırılmıştır. İçerisinde 0.5, 1, 3, 5 ve 10 mg/mL

ZnO-NP'ler bulundurun her bir LB broth'a 0.5 McFarland'a ayarlanmış *P. aeruginosa*'nın gecelik kültüründen 100 µL'e aktarılmıştır. 35-37°C'de 24 saat inkübasyon sonrası kültürlerle eşit hacimde kloroform eklenmiştir. Ve 5.500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Kloroform tabakasının ayrılmasıyla elde edilen mavi renkli 2 mL organik faza 0.2 N HCl çözeltisinden 1 mL eklenmiştir. Pembe HCl tabakasının absorbansı OD 520 nm'de ölçülmüştür (Eltayb ve ark., 2020). Piyosiyanin üretim inhibisyonu aşağıdaki formüle göre % olarak hesaplanmıştır ZnO-NP'ler eklenmemiş bakteri kültürü pozitif kontrol ve bitki özütü eklenen kültür ise negatif kontrol olarak değerlendirilmiştir.

$$\text{İnhibisyon(\%)} = \left[\frac{(\text{OD}_{520\text{nm}}(\text{KONTROL}) - \text{OD}_{520\text{nm}}(\text{ÖRNEK}))}{\text{OD}_{520\text{nm}}(\text{KONTROL})} \right] \times 100$$

5.BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1 Sentez Sürecini Etkileyen Deneysel Detaylar

Yeşil sentez yaklaşımı kullanılarak, çeşitli morfolojiler, boyutlar ve uygulamalara sahip ZnO-NP'lerin üretilmesi mümkündür. pH değeri, bitki özütünün konsantrasyonu, prekürsör konsantrasyonu, metal katkılama (dopant), reaksiyon süresi, reaksiyon sıcaklığı, ve kalsinasyon (tavlama) sıcaklığı gibi farklı parametreler, bu morfolojik özellikleri düzenlemek ve iyileştirmek için optimize edilebilmektedir (Karam ve Abdulrahman, 2022). ZnO-NP'ler ince filmler, nanoçubuklar, nanokemerler, nanohalkalar, nanoyaylar, nanotestereler, nanotüpler, çiçekler, kutular, diskler, yıldızlar gibi çeşitli morfolojilerde sentezlenebilmektedir. Bu çeşitli morfolojik tipler ZnO-NP'leri hemen her alanda mükemmel bir malzeme haline getirmiştir (Bharat ve ark, 2019). ZnO yarı iletkenlerindeki doğal kusurlar, çinko ve oksijen boşluklarından oluşmaktadır. Kalsinasyon (tavlama) sıcaklıklarının, bu hataları veya safsızlıkları ortadan kaldırma ve düzeltme, dopant atomunu aktive etme ve uygulamalara bağlı olarak değişebilen ZnO-NP'lerin elektriksel ve optik özelliklerini geliştirme yeteneğine sahip olduğu düşünülmektedir (Karam ve Abdulrahman, 2022).

Alkali pH değerleri yüksek verimlilikte ve daha düşük boyut dağılımına sahip ZnO-NP'lerin üretimini desteklemektedir. Bu nedenle, alkali pH'nın herhangi bir bitki özütü ile ZnO-NP'lerin yeşil sentezi için en uygun değer olduğu ve pH'nın ZnO-NP'lerin sentezi üzerindeki etkisinin uygulanan bitki türleriyle yüksek oranda ilişkili olmadığı varsayılmaktadır. Alkali pH'da hidroksil radikallerinin hidrojen iyonlarına oranının optimum olması muhtemeldir. Pozitif yüklü Zn^{+2} iyonları bu koşullarda negatif yüklü OH üzerinde güçlü bir çekim uygulayarak yapı içinde ZnO bağlarının oluşmasını teşvik etmektedir. Bu nedenle, bu işlem için uygun olmayan koşullar hem düşük pH değerlerini (daha az miktarda OH iyonları) hem de yüksek pH değerlerini (aşırı yüksek sayıda OH iyonları) içermektedir. Farklı bitki türleri farklı miktarlarda aktif, indirgeyici biyoaktif bileşikler içerdiğinden indirgeyici yetenekleri de benzer şekilde değiştirilebilir ve bu da ZnO-NP'lerin sentezini temelden etkiler (Zeghoud ve ark., 2022).

Bununla birlikte, ZnO-NP'lerin boyutu, bitki özütü ve prekürsör konsantrasyonları arttığında azalma eğilimindedir. Öte yandan, reaksiyon süresi ve kalsinasyon sıcaklığı arttıkça da büyüme eğilimindedir (Zeghoud ve ark., 2022). Biyomedikal özellikler,

partikül boyutundan, özellikle daha geniş yüzey alanına ve moleküllerin daha iyi dağılımına sahip olduğu gösterilen daha küçük partikül boyutlarından kaynaklanmaktadır (Mahlaule-Glory ve Hintsho-Mbita, 2022).

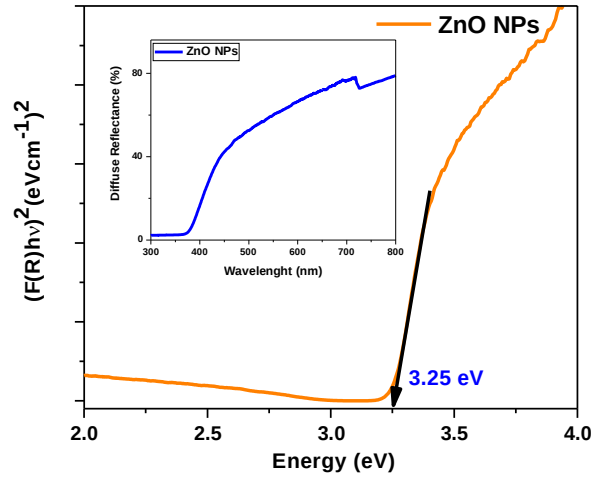
5.2 Biyogenik ZnO-NP'lerin Fizikokimyasal Karakterizasyonu

5.2.1 ZnO-NP'lerin Optik Özelliklerinin İncelenmesi

ZnO-NP'lerin optik bant aralığı, Şekil 4.1'de gösterilen $(F(R)hv)^2$ 'ye karşı foton enerjisi (hv) grafiği çizilerek tahmin edilmiştir. Belirli bir dalga boyu için Kubelka-Munk formülü, dağılık yansıma verilerini $F(R)$ fonksiyonuna uyarlar ve

$$F(R) = \frac{K}{S} = \frac{(1-R)^2}{2R} \quad (1)$$

burada k emilim katsayısı, R_∞ dağılık yansıma ve s saçılma katsayısıdır. ZnO-NP'lerin dolaylı bant aralığı, $(F(R)= 0)$ eğrisinin doğrusal kısmının, ZnO-NP'lerin boyutlarına bağlı olarak 3.25 eV olarak elde edilen x eksenine ekstrapolasyonu ile tahmin edilmiştir (Takcı ve ark., 2024). Bu bant aralığı yığın halindeki ZnO değeri 3.37 eV oldukça yakındır. ZnO-NP'lerin katalitik potansiyeli ile boyut arasındaki korelasyonu belirleyen enerji bant aralığı (E_g), piller, optoelektronik cihazlar ve sensörlerin geliştirilmesi için önemli bir parametredir. Valans ve iletim bantları arasındaki E_g , NP'lerin parçacık boyutundaki artışlara veya azalışlara bağlı olarak değişmektedir. NP'lerin E_g değerindeki artış, küçük boyutlu NP'lerde daha az sayıda atomun toplanmasıyla açıklanabilir ve bu, valans ve iletim bandı arasındaki daha yüksek enerji farkına neden olur. Daha yüksek bir bant aralığı, üretilen nanopartikülde hapsedme etkilerinin varlığını ifade edebilir. Bu sayede elektro-optik cihazlar için uygun hale gelirler (Zaman ve ark., 2023). ZnO-NP'lerin bant aralığı, oksijen eksikliği, tane boyutu, kafes gerginliği ve yüzey pürüzlülüğü gibi çeşitli yapısal faktörlere bağlı olarak da değişkenlik göstermektedir (Takcı ve ark., 2024)

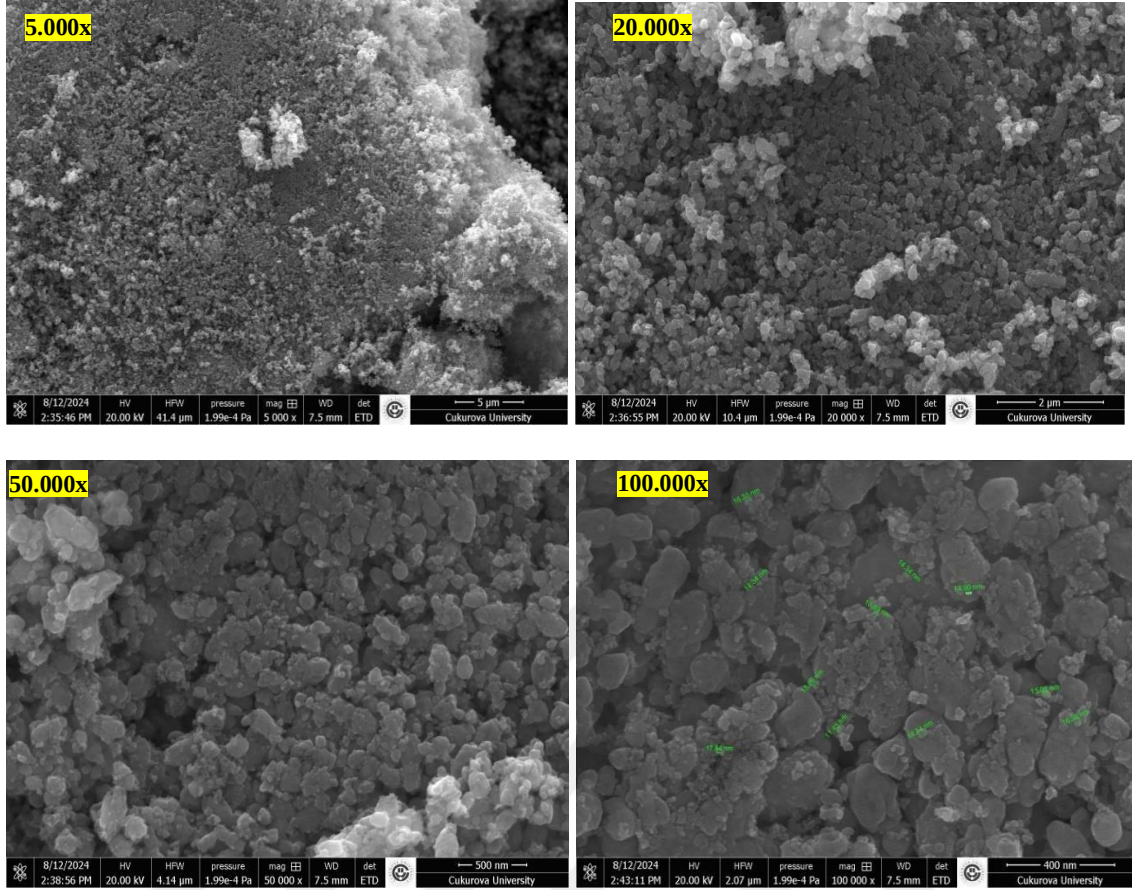


Şekil 5. 1 ZnO-NP'lerin foton enerjisi spektrumu

Soares ve ark. (2020) sitrik asit kullanarak yeşil yaklaşımla sentezledikleri 18.3- 88.6 nm boyuttaki ZnO-NP'ler optik bant aralığını ~3,25 eV olarak hesaplamışlardır. Azizi ve ark. (2017) *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad özütü ile ürettikleri 27-85 nm boyuta sahip biyojenik ZnO-NP'lerin enerji bant aralığı 3.25-3.40 eV olarak not etmişlerdir. Literatür çalışmalarında sonuçlarımızı destekler nitelikte nanopartikülün boyutu arttıkça bant aralığının yığın ZnO-NP'nin referans optik bant aralığı 3.37 eV'den daha az olması öngörülmüştür. Düşük bant gap enerjisine sahip ZnO-NP'ler daha iyi katalitik stabilite gösterebilmektedir. Bu daha yüksek antibakteriyel aktivite ve mükemmel fotokatalitik etkinliğe neden olabilmektedir (Khalid ve ark., 2023).

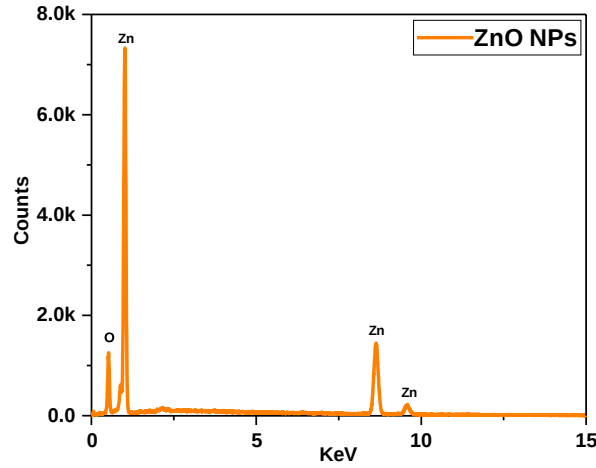
5.2.2 ZnO-NP'lerin Morfolojik Karakterlerinin Belirlenmesi

Ayıfındığı temelli yeşil sentezlenmiş ZnO-NP'lerin FESEM analizi görüntülenen ZnO-NP'lerin boyutu, boyut dağılımı ve şekli Şekil 4.2'de gösterilmiştir. 5.000x, 20.000x, 50.000x ve 100.000x büyütmede kaydedilen SEM görüntüleri, biyosentezlenen ZnO-NP'lerin hafif bir aglomerasyonla birlikte iyi dağılmış küresel morfolojiye sahip olduğu olduğu gözlenmiştir. Nanoyapıların ortalama partikül boyutu 11.45-18.74 nm arasında belirlenmiştir. NP'lerin şekli ve boyutunun işlevi olarak antibakteriyel aktivitedeki rolleri daha önce belirtilmiştir (Takcı ve ark., 2023).



Şekil 5. 2 Farklı büyütmelerde ZnO-NP'lerin SEM mikrofrafı

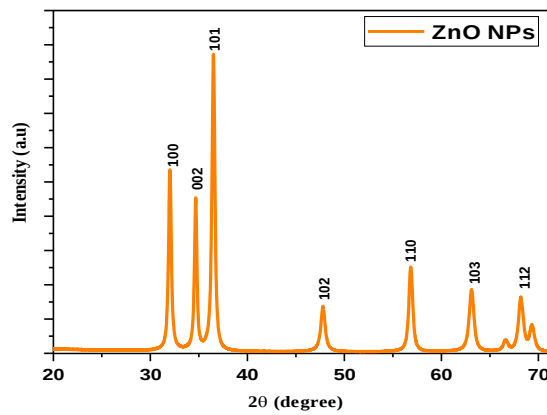
Seçili alan EDX deseni, Şekil 4.3'te ZnO-NP'lerin element kompozisyonlarını göstermektedir. EDX deseninde Zn'ye ait keskin pikler çinko asetat ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) prekürsörünün ZnO-NP'lere biyolojik dönüşümü için güçlü bir fiziksel kanıttır. 1.01 keV, 8.64 keV ve 9.56 keV'deki Zn'nin güçlü emisyon pikleri ve ~0.52 keV'deki oksijene ait pik, ZnO-NP'lerin başarılı biyosentezini göstermektedir. ZnO-NP'lerin %atomik olarak %57.31 çinko ve %42.69 oksijen içeren element bileşimine sahip olduğu EDX analizi ile ortaya konmuştur.



Şekil 5. 3 ZnO-NP'lerin EDX ile belirlenen element kompozisyonu

5.2.3 ZnO-NP'lerin Kristalografik Yapılarının İncelenmesi

Biyojenik ZnO-NP'lerin XRD deseni, Şekil 4.4'te gösterilmiştir. 2θ değerlerine sahip ZnO-NP'lerle ilişkilendirilen Bragg kırınımı pikleri $31,99^\circ$, $34,64^\circ$, $36,47^\circ$, $47,74^\circ$, $56,78^\circ$, $63,03^\circ$ ve $68,11^\circ$ sırasıyla (100), (002), (101), (102), (110), (103), ve (112) kafes düzlemlerine atfedilmiştir. Standart kartla (JCPDS Kart No. 98-002-9272) iyi eşleşen bu pikler, P63 mc uzay grubunda ZnO-NP'lerin hekzagonal fazını doğrulamaktadır. Keskin ZnO pikleri dışında herhangi bir belirgin XRD pikinin olmaması, ZnO-NP'lerin saflığını ve yüksek kristallik yapısını göstermektedir.



Şekil 5. 4 ZnO-NP'lerin XRD deseni

Üretilen ZnO-NP'lerin ortalama kristal boyutu (D), Debye-Scherrer denklemi kullanılarak en şiddetli piklerden hesaplanmıştır: (Takcı ve ark., 2024).

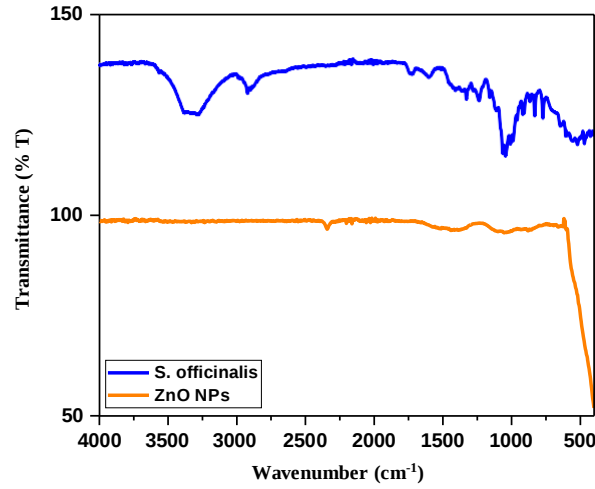
$$D = \frac{k\lambda}{\beta_{hkl} \cos \theta} \quad (2)$$

λ X-ışını dalga boyu (1.5406), k 0.94 Scherrer sabiti, θ tepe noktasının radyan cinsinden FWHM'si ve β Bragg kırınım açısıdır. (101) düzlemine denk gelen en şiddetli pikten Debye-Scherrer denklemi ile hesaplanan kristal boyutu 21.4 nm'dir. XRD deseni ile belirlenen ortalama boyut SEM mikrografından elde edilen sonuçlarımızı desteklemektedir.

Şekil 4.4'da gösterilen biyojenik ZnO-NP'lerin XRD kırınım pikleri Tran ve ark. (2024) *E. prostrata* and *P. longum* sulu özütleri ile sentezledikleri 17-30 nm boyuttaki hekzagonal kristalin yapıdaki ZnO-NP'lerin XRD deseni ile uyumludur. Ansari ve ark. (2020) *Cinnamomum verum* bitki özütü ile ürettikleri 30-42 nm kristal boyutundaki ZnO-NP'lerin XRD desenindeki kırılım pikleri ve kafes düzelmeleri sonuçlarımızla benzerdir. Debye-Scherrer eşitliğinden ortalama kristal boyutunun 21.4 nm olarak hesaplanan ZnO-NP'lerin boyut ve morfolojisi *Athrixia phylicoides* DC çay özütü ile yeşil sentezlenen 24.53 nm boyutlu küresel ZnO-NP'ler ile benzerdir (Kaningini ve ark., 2022).

5.2.4 ZnO-NP'lerin Yapısındaki Fitobileşenlerin FT-IR Analizi

Yüksek sıcaklıkta kalsinasyon basamağından sonra ZnO-NP'lerin yapısında kalan fitobileşenler ait pikler ile meyve perikarpındaki biyoaktif moleküller Şekil 4.5'te karşılaştırılmıştır.



Şekil 5. 5 *S. officinalis* ve ZnO-NP yapısındaki fonksiyonel grupların FT-IR spektrumu

S. officinalis meyve perikarp FT-IR spektrumundaki pikler: 3354.18 ve 3292.18 cm^{-1} 'deki geniş absorpsiyon pikleri fenolik ve flavonoid bileşenlerin -OH gerilme frekansı ile ilişkilidir. 2904 cm^{-1} 'deki bant alkanlar N-H'deki -C-H gerilme titreşiminin karakteristiğidir. Yaklaşık 1602.98 cm^{-1} 'deki pikler C=O gerilme karboksilik titreşimine karşılık gelir. Aromatik halkanın C-H gerilme titreşimleri 1425.25 cm^{-1} pikine atfedilir. 1044.32 cm^{-1} 'deki keskin pik alifatik aminlerin -C-N gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. 843.89 cm^{-1} 'deki diğer pik ise karboksilik asitlerin ve aromatiklerin C-H bükülmesine karşılık gelir. Şekil 4.5'teki FT-IR spektrumları karşılaştırıldığında *S. officinalis*'de gözlenen piklerin Zn'nun yapıya girmesi ile pik şiddetlerinde azalmalar ve piklerin kaybolması gözlenmiştir. 476.36 cm^{-1} dalga boyundaki Zn-O' nun karakteristik gerilme titreşim bandı ile ilgili piktir. Ansari ve ark. (2020) fitosentezlenen ZnO-NP'lerin FT-IR spektrumunda yaklaşık 496 cm^{-1} dalga boyunda Zn-O bağının varlığını göstermiştir. Diğer bir literatür çalışmasında ZnO-NP'lerin FT-IR spektrumunda yaklaşık 480 cm^{-1} dalga boyunda Zn-O gerilme titreşimleri belirlenmiştir (Ebrahimi Naghani ve ark., 2023). Takcı ve ark. (2024) *Piper guineense* (Uziza) tohumlarından biyosentezlenmiş ZnO-NP'lere ait FT-IR absorpsiyon piki 482.34 cm^{-1} olarak tespit edilmiştir.

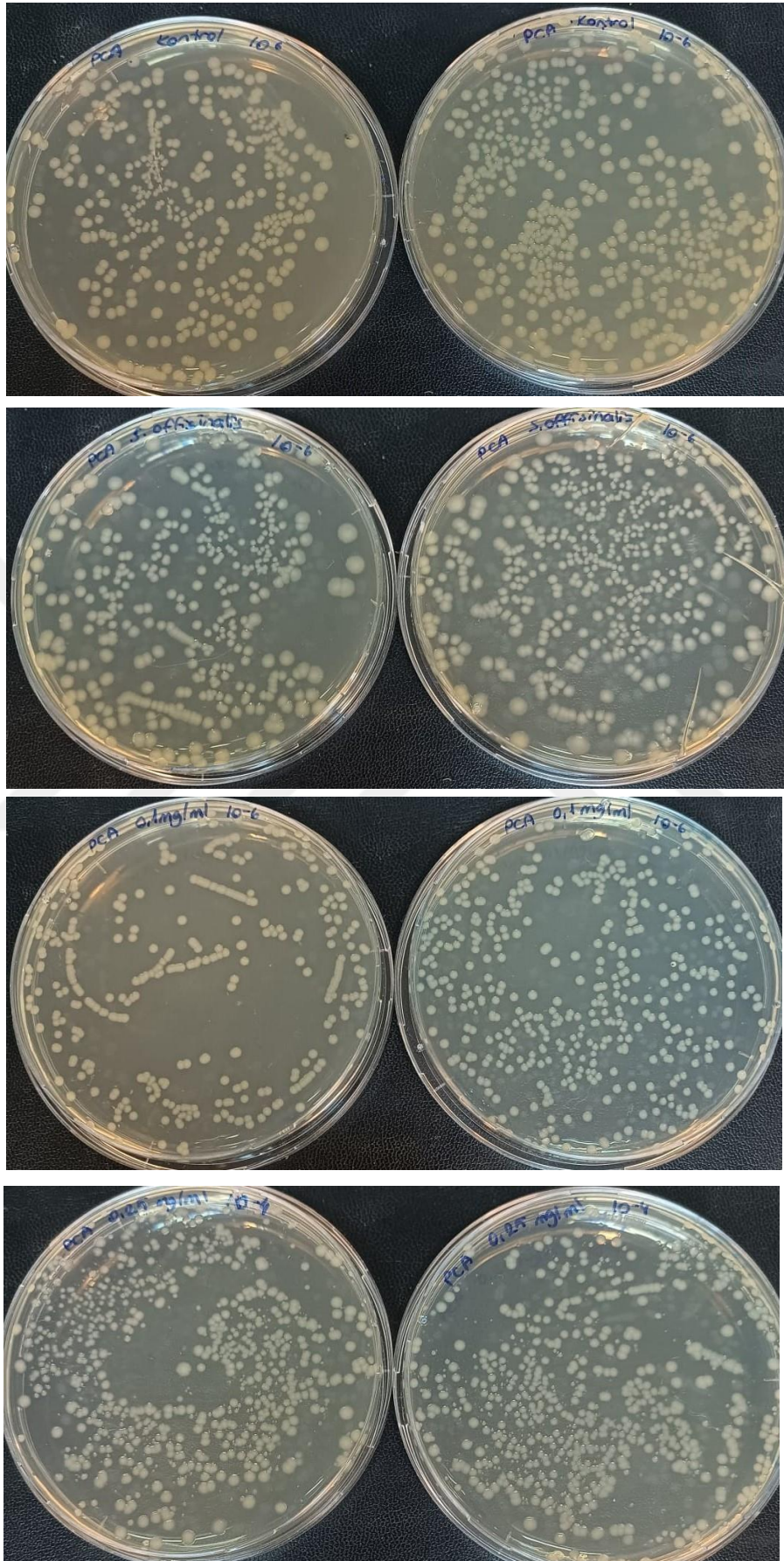
5.3 Yeşil sentezlenmiş ZnO-NP'lerin Antibakteriyel Aktiviteleri

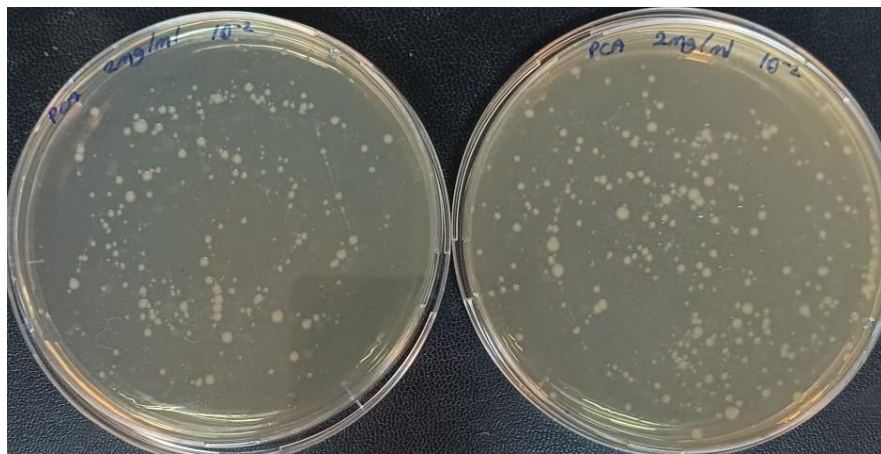
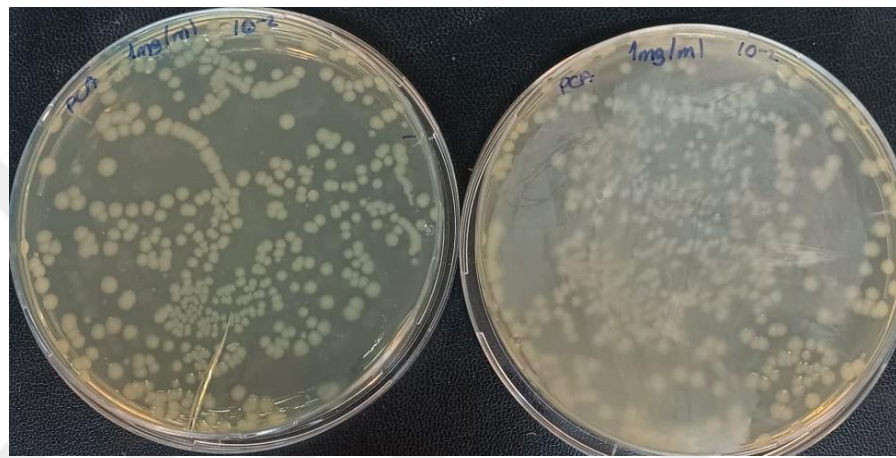
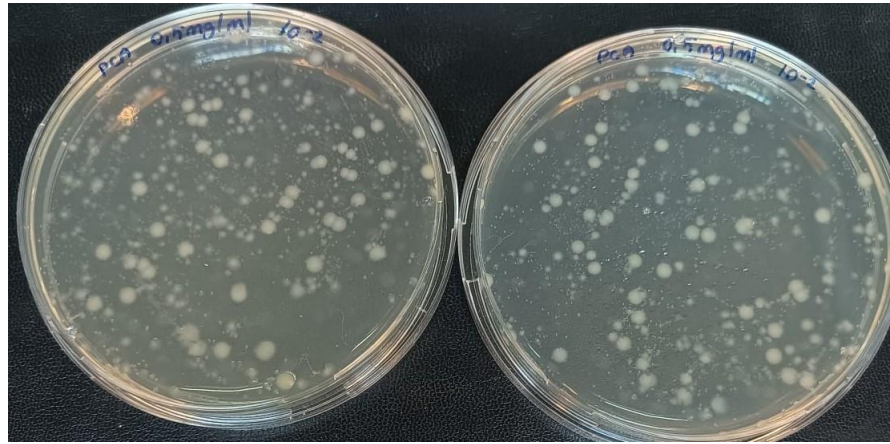
E. coli suşuna karşı ZnO-NP'lerin antibakteriyel etkisinin araştırıldığı PCA besi ortamlarında sayılan canlı koloni sayısı KOB/mL cinsinden hesaplanmış, Tablo 4.1 ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir. % aktivite kültürlerin PCA'da üreme görülen en yüksek sulandırma katsayısına göre belirlenmiştir.

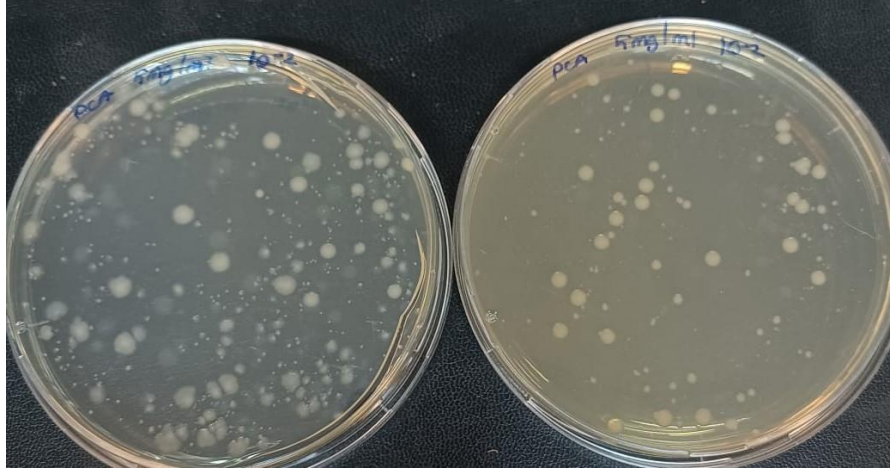
Tablo 5 .1 PCA petri plaklarındaki canlı koloni sayısı (KOB/mL)

<i>E. coli</i> gelişim koşulları	Koloni sayısı	% aktivite
ZnO-NP'siz	370x10 ⁷	-
Bitki özütü	370x10 ⁷	-
0.1 mg/mL ZnO-NP	360x10 ⁷	2.70
0.25 mg/mL ZnO-NP	500x10 ⁵	98.65
0.5 mg/mL ZnO-NP	725x10 ³	99.98
1 mg/mL ZnO-NP	400x10 ³	99.99
2 mg/mL ZnO-NP	295x10 ³	99.99
5 mg/mL ZnO-NP	255x10 ³	99.99

NP'siz ve yalnızca bitki özütü içeren kontrol plakları ile karşılaştırıldığında, ZnO-NP'lerin *E. coli* suşu üzerinde güçlü inhibitör etkileri gözlenmektedir. Bitki özütünün bakteriyel gelişime etki etmediği gözlenirken, en düşük etki 0.1 mg/mL ZnO-NP içeren kültürde %2.70 olarak kaydedilmiştir. 1, 2 ve 5 mg/mL ZnO-NP içeren kültürlerde %99.99 oranında bakteriyel üremenin durdurulduğu belirlenmiştir. Test edilen ZnO-NP konsantrasyonlarında 0.1 mg/mL ZnO-NP ile geliştirilen kültürlerden sonraki yüksek nanomateriyal içeriğinin bakteri üzerindeki etkisinin doz bağımsız olduğu belirlenmiştir. Bakteriyel gelişimin inhibe edildiği minimal bakterisidal konsantrasyon (MBC) 250 µg/mL ZnO-NP'dir.







Şekil 5. 6 *E. coli* suşunun canlı hücrelerinin petri plaklarında oluşturduğu koloniler

37.5-1200 µg/ mL konsantrasyonlarda *E. coli* ATCC 15224 suşu üzerinde Iqbal ve ark. (2021) çalışmamıza benzer şekilde en düşük konsantrasyonda yüksek bakterisidal etki belirtmişlerdir. Diğer bir benzer çalışmada ise, Ahmad ve ark. (2022) test suşlarına göre değişmekle birlikte ZnO-NP'lerin minimal bakterisidal konsantrasyonunu 62.5-250 µg/ml aralığında belirlemişlerdir. Takcı ve ark. (2024) *P. guineense* özütünden biyosentezledikleri ZnO-NP'lerin *E. coli* gelişimi üzerindeki MBC değerini doz bağımsız olarak 25 µg/mL olarak rapor etmişlerdir. Bu değer çalışmamıza kıyasla oldukça düşüktür. Sentez yöntemi sırasında kullanılan bitki ve bitki kısımlarındaki farklı fenolik içerik, ZnO-NP'lerin farklı MBC değerleri göstermesine neden olmaktadır.

5.4 Biyojenik ZnO-NP'lerin Antivirölans Aktiviteleri

ZnO-NP'lerin anti-QS aktivitesi, *C. violaceum* 12472 bakteri suşunun viyolasin; *P. aeruginosa* PA01 suşunun piyosianin pigment üretimi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesiyle belirlenmiştir. Bu bakteriler pigmentlerin üretiminin QS tarafından kontrol edildiği referans test suşlarıdır. Pigment üretimindeki herhangi bir azalma, anti-quorum algılama (anti-QS) aktivitesinin bir yansıması olarak kabul edilmektedir.

Viyolasin pigment üretimi için nanopartikül içermeyen bakteri kültüründen saflaştırılan pigmentin absorbansı 3.49 ± 0.022 'dir. *S. officinalis* bitkisinin meyve perikarplarından hazırlanan sulu özütü kullanılarak test edilen anti-QS analizinde pigment üretiminin $\%58.18 \pm 0.042$ oranında azaldığı belirlenmiştir. 0.1, 0.3 ve 0.5 mg/mL konsantrasyonda

biyosentezlenmiş ZnO-NP içeren bakteri kültürlerinde ise QS-kontrollü sırasıyla viyolasin pigment üretim inhibisyonu $\%81.79 \pm 0.018$, 95.48 ± 0.025 ve 99.82 ± 0.004 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.2).

Tablo 5 .2 Absorbans değerlerine karşılık gelen % viyolasin inhibisyonu

	Absorbans değerleri	% pigment inhibisyonu
Kontrol	3.493	-----
Bitki özütü	1.461	58.18
0.1 mg/mL ZnO-NP	0.636	81.79
0.3 mg/mL ZnO-NP	0.158	95.48
0.5 mg/mL ZnO-NP	0.006	99.82

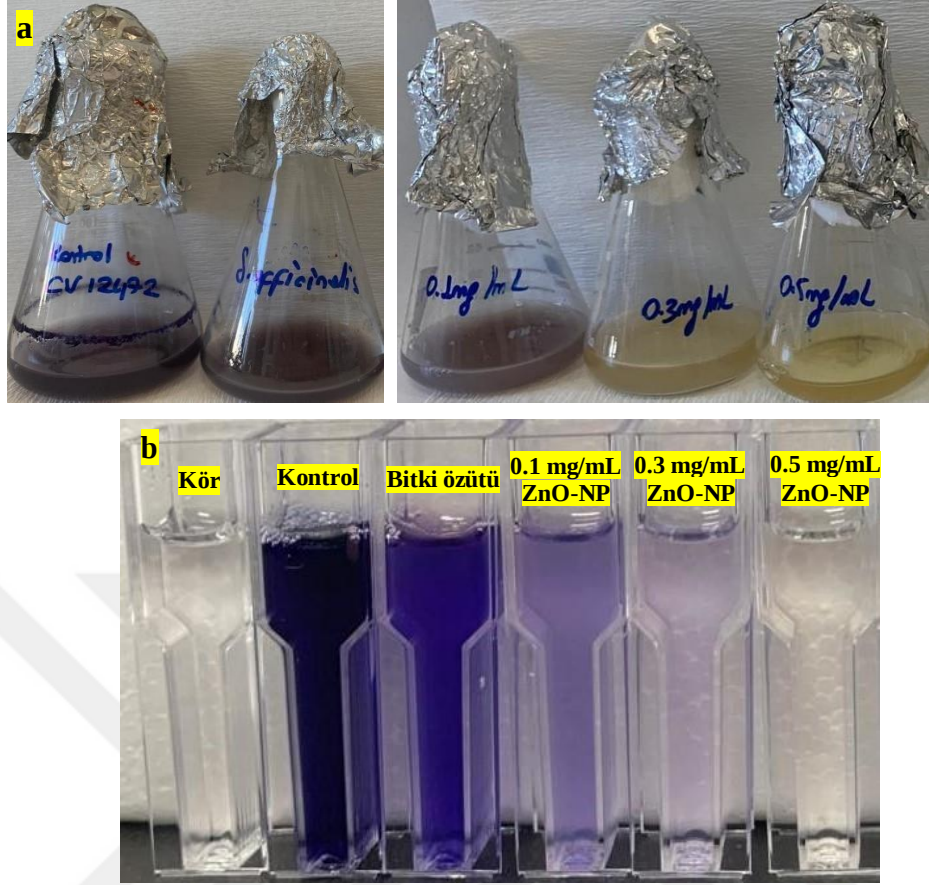
ZnO-NP'lerin eklendiği kültürlerde doza bağımlı olarak pigment sentezinden sorumlu gen setlerinin ekspresyonunun azaldığı Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Sonuçlarımız, sulu bitki özütünün ve yeşil sentezlenmiş ZnO-NP'lerin *Chromobacter* sp. suşu üzerinde anti-QS aktivitesi sergilediğini açıkça göstermektedir.

Piyosiyanin pigment inhibisyonu için pozitif (0.37 ± 0.01) ve negatif (0.33 ± 0.05) kontrollerden elde edilen absorbans değerlerinin birbirlerine oldukça yakın olduğu gözlenmektedir. *S. officinalis* meyve perikarp sulu özütünün piyosiyanin pigment üretimi üzerindeki inhibitör etkisi $\%8.9 \pm 0.032$ olarak belirlenmiştir. 0.5, 1.0, 3.0, 5.0 ve 10 mg/mL konsantrasyonda biyojenik ZnO-NP içeren *Pseudomonas* sp. kültürlerinde ise QS-kontrollü piyosiyanin pigment üretim inhibisyonu sırasıyla $\%76.45 \pm 0.06$, 76.50 ± 0.052 , 77.57 ± 0.003 , 81.90 ± 0.013 ve 82.36 ± 0.017 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.3).

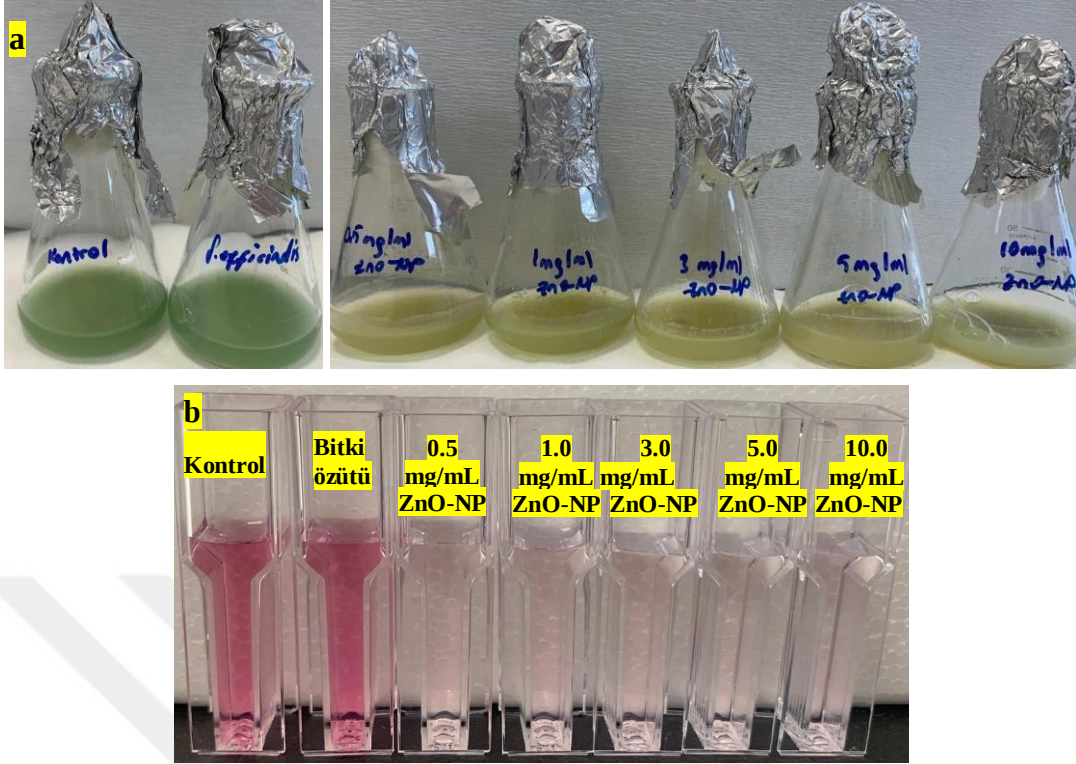
Tablo 5 .3 Absorbans değerlerine karşılık gelen % piyosiyanin inhibisyonu

	Absorbans değerleri	% pigment inhibisyonu
Kontrol	0.369	-----
Bitki özütü	0.336	8.9
0.5 mg/mL ZnO-NP	0.087	76.45
1.0 mg/mL ZnO-NP	0.086	76.50
3.0 mg/mL ZnO-NP	0.083	77.57
5.0 mg/mL ZnO-NP	0.067	81.90
10.0 mg/mL ZnO-NP	0.065	82.36

Test edilen ZnO-NP konsantrasyonlarında doza bağımlı olarak piyosiyanin pigment üretiminin inhibisyonu gözlenmektedir (Şekil 4.8). Her iki bakteri suşu üzerindeki antivirölans aktivite karşılaştırıldığında, ZnO-NP'lerin mg düzeyinde etkili olduğu viyolasin pigment üretimindeki % inhibisyonun daha yüksek olduğu gözlenmektedir.



Şekil 5. 7 *Chromobacter* sp. 12472 suşu üzerinde virülans faktör inhibisyonun kalitatif değerlendirilmesi (a) pigment üretim inhibisyonun kültür ortamlarında izlenmesi (b) DMSO ile pigment ekstraksiyonu sonrası inhibisyon görünümü



Şekil 5. 8 *Pseudomonas* sp. PA01 suşu üzerinde virülans faktör inhibisyonun kalitatif değerlendirilmesi (a) pigment üretim inhibisyonun kültür ortamlarında izlenmesi (b) kloroform ile pigment ekstraksiyonu sonrası inhibisyon görünümü

ZnO-NP'lerin QS kontrollü virülans faktörleri üretimi üzerindeki fenotipik etkisini Saleh ve ark. (2019) *P. aeruginosa* suşlarının piyosiyanın pigment üretiminin inhibisyonu ile incelemişlerdir. 2 mg/mL ZnO-NP ile muamele edilmiş kültürlerde %26-47 arasında piyosiyanın üretiminin azaldığı ortaya konmuştur. Çalışmamızda kullanılan ZnO-NP konsantrasyonuna kıyasla aynı ZnO-NP düzeyinde daha düşük pigment inhibisyon belirlenmiştir. Jablonska ve ark. (2022) test ettikleri en yüksek ZnO-NP konsantrasyonun (500 µg/mL) da çalışmamıza benzer şekilde piyosiyanın pigmentinin üretiminde azalma gözlemlemişlerdir. Khan ve ark. (2023) *Cassia siamea* (L.) yaprak özütünden ürettikleri ZnO-NP'lerin 20 µg/mL konsantrasyonunda %58.0 olarak belirlemişlerdir. Bu değer, çalışmamızda en düşük test edilen ZnO-NP konsantrasyonunda (0.5 mg/mL) elde edilen inhibisyon seviyesinden (%76.45) oldukça düşüktür.

Al-Shabib ve ark. (2016) *Nigella sativa* tohum özütünden biyolojik olarak sentezlenen ZnO-NP'lerin QS inhibitör aktivitesinin bildirmişlerdir. *C. violaceum*'da viyolasin üretimi ve *P. aeruginosa*'da proteaz, elastaz ve piyosiyanın üretimi gibi QS tarafından

düzenlenen virölans faktörlerinin inhibisyonunu üzerinde test edilmiştir. *C. violaceum* viyolasin üretimi üzerinde en yüksek inhibisyon çalışmamıza benzer şekilde 400 µg/mL ZnO-NP'ler ile muamale edilen kültürlerde %91 olarak rapor edilmiştir. Sonuçlarımızı destekler nitelikte ZnO-NP'lerin viyolasin üretimini doza bağlı bir şekilde düzenlediği de belirtilmiştir.

Sol-gel kimyasal metotla üretilen ZnO-NP'lerin 25, 50, 100, ve 200 µg/mL konsantrasyonlarının *C. violaceum*'un viyolasin üretimini sırasıyla %28, 40, 52, ve 65 oranında azalttığı rapor edilmiştir. Kimyasal sentez yöntemi ile üretilen ZnO-NP'lerin çalışmamızda bitki temelli yeşil sentezle üretilen nanopartiküllere kıyasla anti-QS aktivitenin düşük kaldığı söylenebilmektedir (Khan ve ark., 2020). *Ochradenus baccatus* yaprak özütünün indirgeyici ajan olarak kullanıldığı diğer bir çalışmada, yeşil sentezlenen ZnO-NP'lerin 12, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda *C. violaceum* 12472 suşunun viyolasin pigment üretimini doza bağımlı olarak inhibe ettiği, ve sonuçlarımıza benzer şekilde en yüksek inhibisyon oranının %90'nın üzerinde olduğu belirtilmiştir (Al-Shabib ve ark, 2018).

Bakteriyel patojenler arasında antimikrobiyal direncin (AMR) ortaya çıkması ve yayılması, insan sağlığı ve çevre için küresel bir tehdit oluşturmıştır. Bakterilerin quorum sensing (QS) ile bağlantılı virölans özelliklerini hedeflemek, AMR sorununu ele almak için yeni bir yaklaşım olarak kabul edilir. QS, mikropların belirli genlerini yalnızca popülasyonları belirli bir eşik sınırına ulaştığında ifade ettiği bir mikrobiyal hücreden hücreye iletişim sistemidir. Bakteriler, otoindüktörler (AI'ler) adı verilen belirli sinyal moleküllerini sentezler ve salgılar. AI'lerin konsantrasyonu, bakteri popülasyonundaki artışla birlikte artar. Bakteri popülasyon yoğunluğu belirli bir sınıra ulaştığında, belirli bir gen seti transkripsiyonel düzenleme ile ifade edilir (Qais ve ark., 2021). QS tarafından kontrol edilen fizyolojik davranış biçimleri arasında: antibiyotik biyosentezi, plazmid konjugasyonu, çeşitli virölans etmenlerinin üretimi ve sekresyonu, biyofilm oluşumu, sporülasyon, ve pigment üretimi gösterilmektedir. Özellikle son yıllarda yabancı cisime bağlı (santral venöz katater, ortopedik protez, kontakt lens, üriner katater, rahim içi araç cihazları), doğal seyirli (kistik fibrozis, periodontit, kronik bakteriyel prostatit, doğal kapak endokarditi, ve otitis media) ve hastanede kazanılmış enfeksiyonlar bakterilerin QS sistemleri ile ilişkilendirilmektedir.

Antimikrobiyallerin keşfinde yeni bir yaklaşım, yeşil sentezlenmiş nanopartiküller kullanarak bakteriyel QS'yi hedeflemektir. Geleneksel antibiyotiklerin aksine, QS inhibitörleri gibi anti-virülans ajanlar bakteriyel büyümeye stres yüklemeyi, böylece mikrobiyal direnç olasılığını azaltır. Ancak, bileşiklerin çoğu, muhtemelen zayıf biyoyararlanımları ve penetrasyonları nedeniyle, gerekli *in vivo* etkileri üretmede başarısız olmuştur. Bu sebeple, nano-metal oksitlerin, özellikle ZnO-NP'lerin küçük boyutları ve yüksek yüzey-hacim oranlarının bakterilerle daha fazla etkileşime izin vermesi sebebiyle hastane enfeksiyonları için dezenfektan ve antimikrobiyal ajan olarak kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır (Al-Momani ve ark., 2023).

Öte yandan, ZnO-NP'ler ve bakteriler arasındaki quorum sensing inhibisyonuna yönelik etkileşimleri yeterince anlaşılamamıştır ve daha da önemlisi, ZnO-NP'lerin anti-QS etkilerinin altında yatan moleküler mekanizmalara ilişkin literatür azdır. NP'lerin QS inhibisyonuna doğrudan katılımını veya quorum inhibitörlerinin taşıyıcıları olarak rollerini belirten bazı çalışmalar vardır. QS'yi kesintiye uğratmak için ZnO-NP'lerin yer aldığı çeşitli stratejiler önerilmiştir: örneğin sinyal molekülünün çıkarılması/bozunması, sinyal molekülünün sentezinin engellenmesi, sinyal molekülü-reseptör kompleksi oluşumunun engellenmesi ve sinyal iletim kaskadının bağlanması engellenmesi. ZnO-NP'ler, ilaca dirençli patojenlerle mücadele etmek için bu stratejilerden bir veya daha fazlasını kullanarak anti-QS potansiyeli sergileyebilir (Hayat ve ark., 2019).

Çalışmamızda ortalama 21.4 nm kristal boyutta yeşil sentezlenen biyojenik ZnO-NP'lerin *Choromobacter* sp. ve *Pseudomonas* sp. suşları üzerinde gösterdikleri güçlü anti-QS aktivite antibiyotiklere dirençli diğer bakterilerin tedavisinde bakteriyel virülans faktörlerin kontrol edilmesi için ilişkili genlerin düzenlemesindeki aktif rolünü ortaya koymaktadır. ZnONP'lerin birden fazla bakteriye karşı biyolojik aktivitesinin vurgulandığı bu çalışmada, antibiyotik dirençliliği oldukça yüksek *E. coli* ATCC 25922 suşuna karşı kaydedeğer antibakteriyel aktivite kaydedilmiştir. Bu sonuçlara göre, farklı antibakteriyel uygulamalarda potansiyel biyogüvenli adaylar olmalarına karşın, ZnO-NP'lerin nanofarmakolojik açıdan farklı hayvan modellerinde daha fazla *in vitro*, *in vivo* ve mekanistik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6.SONUÇ VE ÖNERİ

Son birkaç on yılda, etkili ve çevre dostu bir yaklaşım haline gelen ‘yeşil sentez’ düşük maliyetli, yüksek verimlilikte ve kısa sürede nanopartiküller geliştiren bir üretim prosesidir. Hem kaplayıcı hem de indirgeyici ajanlar olarak NP’lerin sentezine yardımcı olmak için çeşitli amaçlarla kullanılabilen yeşil kaynakların çok işlevli yapısı nedeniyle, kontrollü şekil ve boyuta sahip NP’ler çeşitli endüstriyel uygulamalar için kullanılabilmektedir. ZnO-NP’lerinin yeşil sentezi, farklı nanopartiküller arasında geniş yüzey alanı, yüksek katalitik aktivite, düşük toksisite ve yüksek stabilite gibi daha fazla avantajlara sahiptir. Bu çalışma, enfeksiyon etkeni bakterilerin pekçok virülans faktörlerini kontrol eden QS aktivitesini inhibe edebilecek özellikte daha az toksik ZnO NP’lerin *S. officinalis* meyve perikarp özütü ile yeşil sentezlenmesini gösteren sınırlı sayıdaki araştırmalardan biridir.

3.25 eV’luk bant aralığına sahip küresel kristal şekilli ZnO’NP’lerin FE-SEM, EDX, XRD ve FT-IR analizi ile karakterize edilmiştir. Yeşil sentezlenmiş ZnO-NP’lerin 0.1-0.3 ve 0.5 mg/mL gibi düşük dozlarda *C. violaceum* 12472 suşunun QS tarafından regüle edilen viyolasin pigment sentez inhibisyonunu hücre çoğalmasını baskılamadan indüklediği gösterilmiştir. Benzer şekilde *P. aeruginosa* PA01 suşuna karşı 0.5-10 mg/mL aralığında test edilen ZnO-NP’lerin QS kontrollü piyosyanin pigment üretimini inhibe ettiği de belirtilmiştir. 0.25 mg/mL konsantrasyonda ZnO-NP’lerin *E. coli* gelişimi üzerindeki bakterisidal etkisi %90’nın üzerinde kaydedilmiştir. Bu bulgular, *S. officinalis* meyve perikarp özütü ile yeşil sentezlenmiş ZnO-NP’lerin bakterilerin virülans faktörleri ile mücadelede geleneksel yöntemlere alternatif bir kaynak olabileceğini göstermektedir.

Araştırmacılar, sanayiciler, bilim insanları, teknoloji uzmanları, çevreciler ve eğitimciler arasında güçlü bir iş birliği ile gelecekte nano-tabanlı sağlık endüstrisinin daha sürdürülebilir bir şekilde gelişeceği öngörülebilir. Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan dünyanın bilimsel topluluklarının nanoteknolojinin teknolojik nesildeki bir sonraki adım olacağı konusunda hemfikir olduğunu söylemek yerinde olacaktır. Bu, önümüzdeki yıllarda nanoteknoloji alanında daha fazla endüstriyel yükseltme ve yatırımı vazgeçilmez hale getirecektir.

7.KAYNAKLAR

Abdelbaky, A. S., Mohamed, A. M., Sharaky, M., Mohamed, N. A., & Diab, Y. M. (2023). Green approach for the synthesis of ZnO nanoparticles using *Cymbopogon citratus* aqueous leaf extract: characterization and evaluation of their biological activities. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 10(1), 63. <https://doi.org/10.1186/s40538-023-00432-5>.

Aboyewa, J. A., Sibuyi, N. R., Meyer, M., & Oguntibeju, O. O. (2021). Green synthesis of metallic nanoparticles using some selected medicinal plants from southern africa and their biological applications. *Plants*, 10(9), 1929.

Ahmad, I., Alshahrani, M. Y., Wahab, S., Al-Harbi, A. I., Nisar, N., Alraey, Y., ... & Saeed, M. (2022). Zinc oxide nanoparticle: An effective antibacterial agent against pathogenic bacterial isolates. *Journal of King Saud University-Science*, 34(5), 102110. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102110>.

Ahamad Khan, M., Lone, S. A., Shahid, M., Zeyad, M. T., Syed, A., Ehtram, A., ... & Danish, M. (2023). Phylogenically synthesized zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) potentially inhibit the bacterial pathogens: in vitro studies. *Toxics*, 11(5), 452.

Ahmad, N., Sharma, S., Alam, M. K., Singh, V. N., Shamsi, S. F., Mehta, B. R., & Fatma, A. (2010). Rapid synthesis of silver nanoparticles using dried medicinal plant of basil. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81(1), 81-86. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.06.029>.

Ahmadi Shadmehri, A., & Namvar, F. (2020). A review on green synthesis, cytotoxicity mechanism and antibacterial activity of ZnO-NPs. *Journal of Research in Applied and Basic Medical Sciences*, 6(1), 23-31.

Ahmed, S., Chaudhry, S. A., & Ikram, S. (2017). A review on biogenic synthesis of ZnO nanoparticles using plant extracts and microbes: a prospect towards green chemistry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 166, 272-284.

Al Tamimi, S., Ashraf, S., Abdulrehman, T., Parray, A., Mansour, S. A., Haik, Y., & Qadri, S. (2020). Synthesis and analysis of silver–copper alloy nanoparticles of different ratios manifest anticancer activity in breast cancer cells. *Cancer Nanotechnology*, 11, 1-16.

Al-Momani, H., Al Balawi, D. A., Hamed, S., Albiss, B. A., Almasri, M., AlGhawrie, H., & Ward, C. (2023). The impact of biosynthesized ZnO nanoparticles

from *Olea europaea* (Common Olive) on *Pseudomonas aeruginosa* growth and biofilm formation. *Scientific Reports*, 13(1), 5096.

Al-Shabib, N. A., Husain, F. M., Ahmed, F., Khan, R. A., Ahmad, I., Alsharaeh, E., ... & Aliev, G. (2017). Erratum: Biogenic synthesis of Zinc oxide nanostructures from *Nigella sativa* seed: Prospective role as food packaging material inhibiting broad-spectrum quorum sensing and biofilm. *Scientific reports*, 7. doi: 10.1038/srep42266.

Al-Shabib, N. A., Husain, F. M., Hassan, I., Khan, M. S., Ahmed, F., Qais, F. A., ... & Ahmad, I. (2018). Biofabrication of zinc oxide nanoparticle from *Ochradenus baccatus* leaves: broad-spectrum antibiofilm activity, protein binding studies, and in vivo toxicity and stress studies. *Journal of Nanomaterials*, 2018(1), 8612158.

Ansari, M. A., Murali, M., Prasad, D., Alzohairy, M. A., Almatroudi, A., Alomary, M. N., ... & Niranjana, S. R. (2020). Cinnamomum verum bark extract mediated green synthesis of ZnO nanoparticles and their antibacterial potentiality. *Biomolecules*, 10(2), 336.

Ansari, M. A., Murali, M., Prasad, D., Alzohairy, M. A., Almatroudi, A., Alomary, M. N., ... & Niranjana, S. R. (2020). Cinnamomum verum bark extract mediated green synthesis of ZnO nanoparticles and their antibacterial potentiality. *Biomolecules*, 10(2), 336.

Azizi, S., Mohamad, R., & Mahdavi Shahri, M. (2017). Green microwave-assisted combustion synthesis of zinc oxide nanoparticles with *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad: characterization and biomedical applications. *Molecules*, 22(2), 301.

Azizi, S., Mohamad, R., & Mahdavi Shahri, M. (2017). Green microwave-assisted combustion synthesis of zinc oxide nanoparticles with *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad: characterization and biomedical applications. *Molecules*, 22(2), 301.

Azizi, S., Mohamad, R., Bahadoran, A., Bayat, S., Rahim, R. A., Ariff, A., & Saad, W. Z. (2016). Effect of annealing temperature on antimicrobial and structural properties of bio-synthesized zinc oxide nanoparticles using flower extract of *Anchusa italica*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 161, 441-449.

Barathikannan, K., Chelliah, R., Selvakumar, V., Elahi, F., Rubab, M., Sanyal, S., ... & Oh, D. H. (2023). Plant-based metabolites and their uses in nanomaterials

synthesis: an overview. Secondary metabolites based green synthesis of nanomaterials and their applications, 1-22.

Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2019). The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112. doi: 10.3390/molecules25010112.

Bharat, T. C., Mondal, S., Gupta, H. S., Singh, P. K., & Das, A. K. (2019). Synthesis of doped zinc oxide nanoparticles: a review. *Materials Today: Proceedings*, 11, 767-775.

Binnig, G., Quate, C. F., & Gerber, C. (1986). Atomic force microscope. *Physical review letters*, 56(9), 930. doi: 10.1103/PhysRevLett.56.93

Binnig, G., Rohrer, H., Gerber, C., & Weibel, E. (1982). Tunneling through a controllable vacuum gap. *Applied Physics Letters*, 40(2), 178-180. doi: 10.1063/1.92999.

Cesur, C., Uskutoglu, T., Çoşge Şenkal, B., Kiralan, S. S., Kiralan, M., & Ramadan, M. F. (2019). Influence of harvest time on protein content and lipids profile of wild *Styrax officinalis* seeds from different locations in Turkey. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 30(4), 689-698.

Chan, Y. Y., Pang, Y. L., Lim, S., & Chong, W. C. (2021). Facile green synthesis of ZnO nanoparticles using natural-based materials: Properties, mechanism, surface modification and application. *Journal of environmental chemical engineering*, 9(4), 105417.

Chemingui, H., Missaoui, T., Mzali, J. C., Yildiz, T., Konyar, M., Smiri, M., ... & Yatmaz, H. C. (2019). Facile green synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs): Antibacterial and photocatalytic activities. *Materials Research Express*, 6(10), 1050b4.

Contera, S., Bernardino de la Serna, J., & Tetley, T. D. (2020). Biotechnology, nanotechnology and medicine. *Emerging Topics in Life Sciences*, 4(6), 551-554. [10.1042/ETLS20200350](https://doi.org/10.1042/ETLS20200350)

D. Zhang, X.L. Ma, Y. Gu, H. Huang, G.W. Zhang, Green synthesis of metallic nanoparticles and their potential applications to treat cancer, *Front. Chem.* 8, 799 (2020), <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00799>.

Del Buono, D., Di Michele, A., Costantino, F., Trevisan, M., & Lucini, L. (2021). Biogenic ZnO nanoparticles synthesized using a novel plant extract: Application to enhance physiological and biochemical traits in maize. *Nanomaterials*, 11(5), 1270.

Ebrahimi Naghani, M., Neghabi, M., Zadsar, M., & Abbastabar Ahangar, H. (2023). Synthesis and characterization of linear/nonlinear optical properties of graphene oxide and reduced graphene oxide-based zinc oxide nanocomposite. *Scientific Reports*, 13(1), 1496.

Ebrahimi Naghani, M., Neghabi, M., Zadsar, M., & Abbastabar Ahangar, H. (2023). Synthesis and characterization of linear/nonlinear optical properties of graphene oxide and reduced graphene oxide-based zinc oxide nanocomposite. *Scientific Reports*, 13(1), 1496. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-28307-7>.

Eltayb, E. K., Alqahtani, F. Y., Alkahtani, H. M., Alsarra, I. A., Alfaraj, R., & Aleanizy, F. S. (2022). Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing virulence of biofilm and pyocyanin by mBTL-loaded calcium alginate nanoparticles. *Polymers*, 14(17), 3655.

Faraday M. The Bakerian Lecture: Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light. *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* 1857;147:145–181.

Fouda, A., Eid, A. M., Abdelkareem, A., Said, H. A., El-Belely, E. F., Alkhalifah, D. H. M., ... & Hassan, S. E. D. (2022). Phyco-synthesized zinc oxide nanoparticles using marine macroalgae, *Ulva fasciata* Delile, characterization, antibacterial activity, photocatalysis, and tanning wastewater treatment. *Catalysts*, 12(7), 756.

Gabal, E., Chatterjee, S., Ahmed, F. K., & Abd-Elsalam, K. A. (2020). Carbon nanomaterial applications in air pollution remediation. In *Carbon nanomaterials for agri-food and environmental applications* (pp. 133-153). Elsevier. [10.1016/B978-0-12-819786-8.00007-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819786-8.00007-4)

Ganesh, P. S., & Rai, R. V. (2016). Inhibition of quorum-sensing-controlled virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* by *Murraya koenigii* essential oil: a study in a *Caenorhabditis elegans* infectious model. *Journal of Medical Microbiology*, 65(12), 1528-1535. doi: [10.1099/jmm.0.000385](https://doi.org/10.1099/jmm.0.000385).

Gopinath, V., Priyadarshini, S., Loke, M. F., Arunkumar, J., Marsili, E., MubarakAli, D., ... & Vadivelu, J. (2017). Biogenic synthesis, characterization of

antibacterial silver nanoparticles and its cell cytotoxicity. *Arabian journal of chemistry*, 10(8), 1107-1117.

Gudkov, S. V., Sarimov, R. M., Astashev, M. E. E., Pishchalnikov, R. Y., Yanykin, D. V., Simakin, A. V., ... & Ogly, G. N. G. (2024). Modern physical methods and technologies in agriculture. *Phys. Uspekhi*, 67, 194-210.

Harish, V., Ansari, M. M., Tewari, D., Yadav, A. B., Sharma, N., Bawarig, S., ... & Barhoum, A. (2023). Cutting-edge advances in tailoring size, shape, and functionality of nanoparticles and nanostructures: A review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 149, 105010.

Heidari, G., Hassanpour, M., Nejaddehbashi, F., Sarfjoo, M. R., Yousefiasl, S., Sharifi, E., ... & Vasseghian, Y. (2022). Biosynthesized nanomaterials with antioxidant and antimicrobial properties. *Materials Chemistry Horizons*, 1(1), 35-48.

Hernández-Díaz, J. A., Garza-García, J. J., Zamudio-Ojeda, A., León-Morales, J. M., López-Velázquez, J. C., & García-Morales, S. (2021). Plant-mediated synthesis of nanoparticles and their antimicrobial activity against phytopathogens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(4), 1270-1287.

Hu, C., He, G., Yang, Y., Wang, N., Zhang, Y., Su, Y., ... & Shao, L. (2024). Nanomaterials Regulate Bacterial Quorum Sensing: Applications, Mechanisms, and Optimization Strategies. *Advanced Science*, 11(15), 2306070. <https://doi.org/10.1002/adv.202306070>

Iijima, S. (1991). Helical microtubules of graphitic carbon. *nature*, 354(6348), 56-58. doi: 10.1038/354056a0.

Iqbal, J., Abbasi, B. A., Yaseen, T., Zahra, S. A., Shahbaz, A., Shah, S. A., ... & Ahmad, P. (2021). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Elaeagnus angustifolia* L. leaf extracts and their multiple in vitro biological applications. *Scientific Reports*, 11(1), 20988. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99839-z>.

Iqtedar, M., Riaz, H., Kaleem, A., Abdullah, R., Aihetasham, A., Naz, S., & Sharif, S. (2020). Biosynthesis, optimization and characterization of ZnO nanoparticles using *Bacillus cereus* MN181367 and their antimicrobial activity against multidrug resistant bacteria. *Revista Mexicana de ingeniería química*, 19(Sup. 1), 253-266. [10.24275/RMIQ/BIO1605](https://doi.org/10.24275/RMIQ/BIO1605)

Islam, F., Shohag, S., Uddin, M. J., Islam, M. R., Nafady, M. H., Akter, A., ... & Cavalu, S. (2022). Exploring the journey of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) toward biomedical applications. *Materials*, 15(6), 2160.

Jabłońska, J., Dubrowska, K., Augustyniak, A., Wróbel, R. J., Piz, M., Cendrowski, K., & Rakoczy, R. (2022). The influence of nanomaterials on pyocyanin production by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Nanoscience*, 12(6), 1929-1940.

Jan, H., Shah, M., Andleeb, A., Faisal, S., Khattak, A., Rizwan, M., ... & Abbasi, B. H. (2021). Plant-Based Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO-NPs) Using Aqueous Leaf Extract of *Aquilegia pubiflora*: Their Antiproliferative Activity against HepG2 Cells Inducing Reactive Oxygen Species and Other In Vitro Properties. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021(1), 4786227.

Jayabalan, J., Mani, G., Krishnan, N., Pernabas, J., Devadoss, J. M., & Jang, H. T. (2019). Green biogenic synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Pseudomonas putida* culture and its In vitro antibacterial and anti-biofilm activity. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 101327. [10.1016/j.bcab.2019.101327](https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101327)

Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein journal of nanotechnology*, 9(1), 1050-1074. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>.

Jha, S., Rani, R., & Singh, S. (2023). Biogenic zinc oxide nanoparticles and their biomedical applications: a review. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 33(6), 1437-1452. <https://doi.org/10.1007/s10904-023-02550-x>.

Jiang, J., Pi, J., & Cai, J. (2018). The advancing of zinc oxide nanoparticles for biomedical applications. *Bioinorganic chemistry and applications*, 2018(1), 1062562.

Jiménez-Rosado, M., Gomez-Zavaglia, A., Guerrero, A., & Romero, A. (2022). Green synthesis of ZnO nanoparticles using polyphenol extracts from pepper waste (*Capsicum annum*). *Journal of Cleaner Production*, 350, 131541.

Kaningini, G. A., Azizi, S., Nyoni, H., Mudau, F. N., Mohale, K. C., & Maaza, M. (2021). Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using bush tea (*Athrixia phylicoides* DC) natural extract: assessment of the synthesis process. *F1000Research*, 10.

Kaningini, G. A., Azizi, S., Nyoni, H., Mudau, F. N., Mohale, K. C., & Maaza, M. (2021). Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using bush tea (*Athrixia phylicoides* DC) natural extract: assessment of the synthesis process. *F1000Research*, 10. doi: 10.12688/f1000research.73272.4.

Karam, S. T., & Abdulrahman, A. F. (2022, August). Green synthesis and characterization of ZnO nanoparticles by using thyme plant leaf extract. In *Photonics* (Vol. 9, No. 8, p. 594). MDPI.

Khalid, N. R., Sabir, M., Ali, F., Tahir, M. B., Javid, M. A., Niaz, N. A., ... & Assiri, M. A. (2023). Green synthesis and characterizations of bi-functional Mo-doped ZnO nanostructures for antimicrobial and photocatalytic applications. *Materials Chemistry and Physics*, 296, 127306.

Khalid, N. R., Sabir, M., Ali, F., Tahir, M. B., Javid, M. A., Niaz, N. A., ... & Assiri, M. A. (2023). Green synthesis and characterizations of bi-functional Mo-doped ZnO nanostructures for antimicrobial and photocatalytic applications. *Materials Chemistry and Physics*, 296, 127306.

Khan, M. F., Husain, F. M., Zia, Q., Ahmad, E., Jamal, A., Alaidarous, M., ... & Ahmad, I. (2020). Anti-quorum sensing and anti-biofilm activity of zinc oxide nanopikes. *ACS omega*, 5(50), 32203-32215. doi: 10.1021/acsomega.0c03634.

Khan, M. F., Husain, F. M., Zia, Q., Ahmad, E., Jamal, A., Alaidarous, M., ... & Ahmad, I. (2020). Anti-quorum sensing and anti-biofilm activity of zinc oxide nanopikes. *ACS omega*, 5(50), 32203-32215.

Kiani, Z., Aramjoo, H., Mohammadparast, P., Bahraini, F., Yousefinia, A., Nguyen, P. U., ... & Mortazavi-Derazkola, S. (2023). Green synthesis of LAE@ ZnO/Ag nanoparticles: Unlocking the multifaceted potential for biomedical and environmental applications. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11(5), 111045.

Kinnear, C., Moore, T. L., Rodriguez-Lorenzo, L., Rothen-Rutishauser, B., & Petri-Fink, A. (2017). Form follows function: nanoparticle shape and its implications for nanomedicine. *Chemical reviews*, 117(17), 11476-11521.

Kumari, A., Rana, V., Yadav, S. K., & Kumar, V. (2023). Nanotechnology as a powerful tool in plant sciences: Recent developments, challenges and perspectives. *Plant Nano Biology*, 100046. <https://doi.org/10.1016/j.plana.2023.100046>.

Mahlaule-Glory, L. M., & Hintsho-Mbita, N. C. (2022). Green derived zinc oxide (ZnO) for the degradation of dyes from wastewater and their antimicrobial activity: a review. *Catalysts*, 12(8), 833.

Manojkumar, U., Kaliannan, D., Srinivasan, V., Balasubramanian, B., Kamyab, H., Mussa, Z. H., ... & Palaninaicker, S. (2023). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Brassica oleracea* var. botrytis leaf extract: Photocatalytic, antimicrobial and larvicidal activity. *Chemosphere*, 323, 138263. [10.1016/j.chemosphere.2023.138263](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138263)

Matter, R. M., Elbarbary, N. S., Ismail, E. A. R., Darwish, Y. W., Nada, A. S., & Banoub, V. P. (2020). Zinc supplementation improves glucose homeostasis in patients with β -thalassemia major complicated with diabetes mellitus: A randomized controlled trial. *Nutrition*, 73, 110702. A. Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., ... & Mohamad, D. (2015). Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-micro letters*, 7, 219-242.

Mohammadi, C., Mahmud, S., Abdullah, S. M., & Mirzaei, Y. (2017). Green synthesis of ZnO nanoparticles using the aqueous extract of *Euphorbia petiolata* and study of its stability and antibacterial properties. *Moroccan Journal of Chemistry*, 5(3), 5-3.

Mohd Yusof, H., Abdul Rahman, N. A., Mohamad, R., Zaidan, U. H., & Samsudin, A. A. (2020). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by cell-biomass and supernatant of *Lactobacillus plantarum* TA4 and its antibacterial and biocompatibility properties. *Scientific reports*, 10(1), 19996. [10.1038/s41598-020-76402-w](https://doi.org/10.1038/s41598-020-76402-w)

Murali, M., Mahendra, C., Rajashekar, N., Sudarshana, M. S., Raveesha, K. A., & Amruthesh, K. N. (2017). Antibacterial and antioxidant properties of biosynthesized zinc oxide nanoparticles from *Ceropegia candelabrum* L.—an endemic species. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 179, 104-109.

Mutukwa, D., Taziwa, R. T., & Khotseng, L. (2024). A Review of Plant-Mediated ZnO Nanoparticles for Photodegradation and Antibacterial Applications. *Nanomaterials*, 14(14). <https://doi.org/10.3390/nano14141182>

Nasrollahzadeh, M.; Nasrollahzadeh, M., & Sajjadi, M. (2021). An introduction to green chemistry. *Biopolymer-Based Metal Nanoparticle Chemistry for Sustainable Applications: Volume 1: Classification, Properties and Synthesis*, 1, 1.

Panigrahi, S., Kundu, S., Ghosh, S., Nath, S., & Pal, T. (2004). General method of synthesis for metal nanoparticles. *Journal of nanoparticle Research*, 6(4), 411-414. <https://doi.org/10.1007/s11051-004-6575-2>.

Parveen, S., Misra, R., & Sahoo, S. K. (2012). Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomed Nanotechnol Biol Med* 8 (2): 147–166.

POOLE, C. (2003). P.. Jr., OWENS, FJ, "Introduction to Nano Technology", A John Wiley & Sons. INC, New Jersey, 72.

Pradell, T., Climent-Font, A., Molera, J., Zucchiatti, A., Ynsa, M. D., Roura, P., & Crespo, D. (2007). Metallic and nonmetallic shine in luster: An elastic ion backscattering study. *Journal of Applied Physics*, 101(10). doi: 10.1063/1.2734944.

Qadri, S., Abdulrehman, T., Azzi, J., Mansour, S., & Haik, Y. (2019). AgCuB nanoparticle eradicates intracellular *S. aureus* infection in bone cells: in vitro. *Emergent Materials*, 2, 219-231.

Raghavendra, V. B., Shankar, S., Govindappa, M., Pugazhendhi, A., Sharma, M., & Nayaka, S. C. (2022). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) for effective degradation of dye, polyethylene and antibacterial performance in waste water treatment. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 1-17.

Rajeshkumar, S., Parameswari, R. P., Sandhiya, D., Al-Ghanim, K. A., Nicoletti, M., & Govindarajan, M. (2023). Green synthesis, characterization and bioactivity of *Mangifera indica* seed-wrapped zinc oxide nanoparticles. *Molecules*, 28(6), 2818.

Reibold, M., Paufler, P., Levin, A. A., Kochmann, W., Pätzke, N., & Meyer, D. C. (2006). Carbon nanotubes in an ancient Damascus sabre. *Nature*, 444(7117), 286-286. doi: 10.1038/444286

Rohela, G. K., Srinivasulu, Y., & Rathore, M. S. (2019). A review paper on recent trends in bio-nanotechnology: implications and potentials. *Nanoscience &*

Nanotechnology-Asia, 9(1),12-20.

<https://doi.org/10.2174/2210681208666171204163015>.

Sak, S., Özdenefe, M. S., Erol, Ü. H., & Takcı, A. M. (2024). Total Chemical Components, Biological Activity and Chromatographic Analyzes of *Styrax officinalis* Fruit Extract. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 9(3), 457-463.

Saleem, H., Zaidi, S. J., Ismail, A. F., & Goh, P. S. (2022). Advances of nanomaterials for air pollution remediation and their impacts on the environment. *Chemosphere*, 287, 132083. [10.1016/j.chemosphere.2021.132083](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132083)

Saleh, M. M., Refa't A, S., Latif, H. K. A., Abbas, H. A., & Askoura, M. (2019). Zinc oxide nanoparticles inhibits quorum sensing and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *African health sciences*, 19(2), 2043-2055.

Singh, A. K., Pal, P., Gupta, V., Yadav, T. P., Gupta, V., & Singh, S. P. (2018). Green synthesis, characterization and antimicrobial activity of zinc oxide quantum dots using *Eclipta alba*. *Materials Chemistry and Physics*, 203, 40-48. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.09.049>.

Singh, J., Dutta, T., Kim, K. H., Rawat, M., Samddar, P., & Kumar, P. (2018). 'Green' synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *Journal of nanobiotechnology*, 16, 1-24. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0408-4>

Singh, T. A., Das, J., & Sil, P. C. (2020). Zinc oxide nanoparticles: A comprehensive review on its synthesis, anticancer and drug delivery applications as well as health risks. *Advances in colloid and interface science*, 286, 102317.

Singh, T. A., Sharma, A., Tejwan, N., Ghosh, N., Das, J., & Sil, P. C. (2021). A state of the art review on the synthesis, antibacterial, antioxidant, antidiabetic and tissue regeneration activities of zinc oxide nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 295, 102495.

Skrajnowska, D., & Bobrowska-Korczak, B. (2019). Role of zinc in immune system and anti-cancer defense mechanisms. *Nutrients*, 11(10), 2273.

Soares, V. A., Xavier, M. J. S., Rodrigues, E. S., de Oliveira, C. A., Farias, P. M. A., Stingl, A., ... & Silva, M. S. (2020). Green synthesis of ZnO nanoparticles using whey as an effective chelating agent. *Materials Letters*, 259, 126853.

Soares, V. A., Xavier, M. J. S., Rodrigues, E. S., de Oliveira, C. A., Farias, P. M. A., Stingl, A., ... & Silva, M. S. (2020). Green synthesis of ZnO nanoparticles using whey as an effective chelating agent. *Materials Letters*, 259, 126853.

Sousa-Aguiar, E. F., de Almeida, J. M., Romano, P. N., Fernandes, R. P., & Carvalho, Y. (2014). Química verde: a evolução de um conceito. *Química Nova*, 37, 1257-1261. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140212>.

Takci, D. K., Ozdenefe, M. S., & Genc, S. (2023). Green synthesis of silver nanoparticles with an antibacterial activity using *Salvia officinalis* aqueous extract. *Journal of Crystal Growth*, 614, 127239. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2023.127239>.

Takci, D. K., Ozdenefe, M. S., Huner, T., & Takci, H. A. M. (2024). Plant-mediated green route to the synthesis of zinc oxide nanoparticles: In vitro antibacterial potential. *Journal of the Australian Ceramic Society*, 1-9. Karam ST, Abdulrahman AF. Green Synthesis and Characterization of ZnO Nanoparticles by Using Thyme Plant Leaf Extract. *Photonics*. 2022; 9(8):594. <https://doi.org/10.3390/photonics9080594>

Takci, D. K., Genc, S., & Takci, H. A. M. (2023). Cinnamon-based rapid biosynthesis of silver nanoparticles; its characterization and antibacterial properties. *Journal of Crystal Growth*, 623, 127416. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2023.127416>.

Tran, X. T., Bien, T. T. L., Van Tran, T., & Nguyen, T. T. T. (2024). Biosynthesis of ZnO nanoparticles using aqueous extracts of *Eclipta prostrata* and *Piper longum*: characterization and assessment of their antioxidant, antibacterial, and photocatalytic properties. *Nanoscale Advances*, 6(19), 4885-4899.

Tran, X. T., Bien, T. T. L., Van Tran, T., & Nguyen, T. T. T. (2024). Biosynthesis of ZnO nanoparticles using aqueous extracts of *Eclipta prostrata* and *Piper longum*: characterization and assessment of their antioxidant, antibacterial, and photocatalytic properties. *Nanoscale Advances*, 6(19), 4885-4899.

Venditti, A., Frezza, C., Serafini, I., Pulone, S., Scardelletti, G., Sciubba, F., ... & Serafini, M. (2018). Chemical profiling of the fruits of *Styrax officinalis* L. from Monti Lucretili (Latium region, Central Italy): Chemotaxonomy and nutraceutical potential. *Trends in phytochemical research*, 2(1), 1-12.

Wagner, F. E., Haslbeck, S., Stievano, L., Calogero, S., Pankhurst, Q. A., & Martinek, K. P. (2000). Before striking gold in gold-ruby glass. *Nature*, 407(6805), 691-692. doi: 10.1038/35037661

Warner, J. C., Cannon, A. S., & Dye, K. M. (2004). Environmental impact assessment review. *Green Chem*, 24, 775-799. <https://doi.org/10.1016/j.eiar.2004.06.006>

Watcharamongkol, T., Khaopueak, P., Seesuea, C., & Wechakorn, K. (2024). Green hydrothermal synthesis of multifunctional carbon dots from cassava pulps for metal sensing, antioxidant, and mercury detoxification in plants. *Carbon Resources Conversion*, 7(2), 100206. <https://doi.org/10.1016/j.crcon.2023.100206>.

Xu, X., Ray, R., Gu, Y., Ploehn, H. J., Gearheart, L., Raker, K., & Scrivens, W. A. (2004). Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. *Journal of the American Chemical Society*, 126(40), 12736-12737. doi: 10.1021/ja040082h.

Ying, S., Guan, Z., Ofoegbu, P. C., Clubb, P., Rico, C., He, F., & Hong, J. (2022). Green synthesis of nanoparticles: Current developments and limitations. *Environmental Technology & Innovation*, 26, 102336. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102336>.

Zaman, Y., Ishaque, M. Z., Ajmal, S., Shahzad, M., Siddique, A. B., Hameed, M. U., ... & Yasin, G. (2023). Tamed synthesis of AgNPs for photodegradation and anti-bacterial activity: effect of size and morphology. *Inorganic Chemistry Communications*, 150, 110523. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.110523>.

8.ÖZGEÇMİŞ

1.KİŞİSEL BİLGİLER			
Adı Soyadı	:TAHSİN HÜNER		
Unvanı	:		
ORCID	:0009-0009-9649-7712		
Doğum tarihi	:		
Doğum yeri	:		
E mail	:		
2.ÖĞRENİM BİLGİLERİ			
Derece	Alan	Üniversite	Yıl
3.YABANCI DİL BİLGİSİ			
1-)			
4.MESLEKİ DENEYİM VE ÜYELİKLER			
5.YAYINLAR VE ÖDÜLLER			