

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

***Lotus corniculatus* ÇİÇEK EKSTRAKTINDAN GÜMÜŞ**
NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS

Nuriye Nursel ÖZTÜRK

OCAK-2025
GÜMÜŞHANE



T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

Lotus corniculatus ÇİÇEK EKSTRAKTINDAN GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES FROM *Lotus corniculatus*
FLOWER EXTRACT AND ASSESSMENT OF THEIR BIOLOGICAL
ACTIVITY

YÜKSEK LİSANS

Nuriye Nursel ÖZTÜRK

OCAK-2025
GÜMÜŞHANE



T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

Lotus corniculatus ÇİÇEK EKSTRAKTINDAN GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES FROM *Lotus corniculatus*
FLOWER EXTRACT AND ASSESSMENT OF THEIR BIOLOGICAL
ACTIVITY

YÜKSEK LİSANS

Nuriye Nursel ÖZTÜRK

Danışman: Doç. Dr. Zeynep AKAR

OCAK-2025
GÜMÜŞHANE

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlamış olduğum “*Lotus corniculatus* Çiçek Ekstraktından Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi” isimli bu tezimin, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, alıntı yaptığım tüm çalışmaları kaynakçada belirttiğimi ve Gümüşhane Üniversitesi’nin lisanslı kullanıcısı olduğu intihal yazılım programı ile Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlediği kıstaslara uygun olarak raporladığımı taahhüt ederim. Tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivinde saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

28/01/2025

.....
Nuriye Nursel ÖZTÜRK

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, farklı bakış açıları ve bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan, deneysel çalışmalarım sırasında karşılaştığım zorlukları aşmamda yardımlarını esirgemeyen Sayın hocam Doç. Dr. Zeynep AKAR'a teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmamda antimikrobiyal ve antibiyofilm çalışmalarında yardımcı olan Doç. Dr. Azer Özad DÜZGÜN'e ve bitkinin teşhisinde ve AgNPs karakterizasyonunda ki katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Bülent AKAR'a teşekkürü bir borç bilirim.

.....
Nuriye Nursel ÖZTÜRK
GÜMÜŞHANE – 2025

ÖZET

Bitkilerden yeşil sentez yoluyla üretilen nanopartiküller oldukça yüksek biyolojik aktiviteye sahiptir. Mevcut çalışmada *Lotus corniculatus* bitkisinin çiçek kısımlarından elde edilen ekstraktların ve bu ekstraktlardan üretilen ve karakterize edilen gümüş nanopartiküllerin biyolojik aktiviteleri belirlenmiştir. Yeşil sentez yoluyla üretilen gümüş nanopartiküllerinin karakterizasyon çalışmalarında UV-VIS, FT-IR spektroskopisi, geçirimli elektron mikroskobu (TEM), X ışının enerji dağılımı (EDX) ve X-Işını Kırınımı (XRD) analizleri yapıldı. Çiçek ekstraktlarının ve bu ekstraktlardan elde edilen gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivite değerleri DPPH radikal temizleme aktivitesi, ferrik indirgeyici antioksidan gücü (FRAP), toplam fenolik içerik (TPC), toplam flavonoid içeriği (TFC) antioksidan aktivite testleri kullanılarak belirlendi. Antioksidan aktivite testlerinin her birinde gümüş nanopartikülleri çiçek ekstraktlarından daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bununla birlikte çiçek ekstraktının ve gümüş nanopartiküllerin yüksek düzeyde α -glukozidaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği ve bu aktivite değerinin gümüş nanopartiküllerde daha yüksek olduğu görülmüştür. *Lotus corniculatus* çiçek ekstraktı ve gümüş nanopartiküllerin minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve antibiyofil aktivitesi değerlendirilmiş burada da gümüş nanopartiküllerin daha yüksek aktivite gösterdiği kaydedilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Alfa glukozidaz, Antioksidan, Antibiofilm, Gümüş nanopartikül, *Lotus corniculatus*,

SUMMARY

Nanoparticles produced from plants via the process of green synthesis exhibit a high degree of biological activity. In the present study, the biological activities of extracts obtained from the flower parts of the *Lotus corniculatus* plant and silver nanoparticles produced and characterised from these extracts were determined. In the characterisation studies of silver nanoparticles produced via green synthesis, a range of analytical techniques were employed, including UV-VIS, FT-IR spectroscopy, transmission electron microscopy (TEM), X-ray energy dispersive (EDX) and X-Ray Diffraction (XRD) analyses. The antioxidant activity values of flower extracts and silver nanoparticles obtained from these extracts were determined using DPPH radical scavenging activity, ferric reducing antioxidant power (FRAP), total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) antioxidant activity tests. In each of the antioxidant activity tests conducted, silver nanoparticles exhibited higher levels of antioxidant activity in comparison to flower extracts. Furthermore, it was observed that both flower extract and silver nanoparticles exhibited significant α -glucosidase enzyme inhibition activity, with the activity level exhibited by silver nanoparticles being notably higher. An evaluation was carried out in which the antibiofilm activity and minimum inhibitory concentration (MIC) of *Lotus corniculatus* flower extract and silver nanoparticles were analysed. It was determined that silver nanoparticles exhibited higher activity.

Keywords: Alpha glucosidase, Antioxidant, Antibiofilm, Silver nanoparticle, *Lotus corniculatus*,

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	IV
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
SUMMARY	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLOLAR DİZİNİ	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIV
1. GİRİŞ	1
1.1. Nanoteknoloji	2
1.1.1. Nanoteknolojinin Tarihsel Gelişimi	3
1.1.2. Metal Nanopartiküller	3
1.1.3. Gümüş Nanopartiküller	3
1.2. Serbest Radikaller	4
1.3. Antioksidanlar	5
1.3.1. Superoksit Dismutaz	5
1.3.2. Katalaz	6
1.3.3. Glutatyon peroksidaz	6
1.4. Sekonder Metabolitler	8
1.4.1. Terpenler	8
1.4.2. Alkaloidler	9
1.4.3. Fenolik Bileşikler	10
1.4.4. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması	11
1.4.4.1. Fenolik Asitler	11
1.4.4.2. Flavonlar ve Flavonoller	12
1.4.4.3. Kumarinler	13
1.4.4.4. İzoflavonoidler	13
1.4.4.5. Antosiyaninler ve Antosiyanidinler	14
1.4.4.6. Lignin ve Lignanlar	14
1.4.4.7. Tanenler	15

1.5. Enzimler	15
1.5.1. Enzimlerin Sınıflandırılması	15
1.5.2. Enzimlerin Fonksiyonları	16
1.5.3. Enzimlerin Kullanım Alanları	16
1.5.4. Gümüş Nanopartiküller ve Enzimler	16
1.5.5. α -Glukozidaz Enzimi	16
1.6. Biyofilm	18
1.6.1. Biyofilmlerin oluşumu	19
1.6.2. Biyofilmlere Atfedilen Enfeksiyonlar	20
1.6.3. Biyofilmler ve İlaç Direnci	21
1.6.4. Biyofilmleri Kontrol Etme Yöntemleri	22
1.7. Antimikrobiyal Aktivite	22
1.7.1. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesi	23
1.8. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	26
1.8.1. UV-Vis Spektrofotometrisi	27
1.8.2. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)	27
1.8.3. X-ışını Kırınımı (XRD)	28
1.8.4. Enerji dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX)	28
1.8.5. Transmisyon Elektron Mikroskopu (TEM)	28
1.9. <i>Lotus corniculatus</i> L. (Gazelboynuzu)	29
2. MATERYAL VE METOT	32
2.1. Kullanılan Cihazlar	32
2.2. Kullanılan Kimyasallar	32
2.3. Kullanılan Reaktifler ve Hazırlanışları	33
2.4. <i>Lotus corniculatus</i> Ekstraktının Hazırlanışı	33
2.5. Gümüş nanopartikülün (AgNPs) Sentezi	34
2.6. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	35
2.6.1. DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini	35
2.6.2. Demir (III) İndirgeme/ Antioksidan Güç (FRAP) Tayini	37
2.6.3. Toplam Fenolik İçerik (TPC)	38
2.6.4. Toplam Flavonoid İçerik (TFC)	39
2.7. α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu	41
2.8. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Minimum İnhibitör Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	41
2.9. Ekstrakt ve Ag Nanopartikülün Biyofilm Oluşumuna Etkisinin Araştırılması	42

2.10. Gümüş Nanopartiküllerin (AgNPs) Karakterizasyonu	43
2.11. Nanopartiküllerin UV-Spektrum Analizi	43
2.11.1. Nanopartiküllerin FTIR Analizi	43
2.11.2. Nanopartiküllerin XRD Analizi	44
2.11.3. Nanopartiküllerin TEM ve EDX Analizi	44
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	45
3.1. Gümüş Nanopartikül Karakterizasyonu	45
3.1.1. UV-Vis Spektrofotometrisi Analizi	45
3.1.2. FTIR Analizi	45
3.1.3. XRD Analizi	47
3.1.4. Taramalı elektron mikroskobu (TEM) ve Enerji Dağılım X-Işını Spektrometresi (EDX) Değerlendirilmeleri	48
3.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları	51
3.2.1. DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi	52
3.2.2. Demir (III) İndirgeme/ Antioksidan Güç (FRAP) Tayini Analizi	53
3.2.3. Toplam Fenolik Madde İçeriği Analizi	54
3.2.4. Toplam Flavonoid Madde İçeriği Analizi	55
3.3. α -Glukozidaz İnhibisyon Etkisi	56
3.4. Antimikrobiyal ve Antibiyofilm Etkisi	58
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	64
KAYNAKÇA	66
ÖZGEÇMİŞ	89

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Endojen ve Eksojen antioksidanların sınıflandırılması	5
Tablo 2. Terpenlerin sınıflandırılması	9
Tablo 3. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması	11
Tablo 4. Çalışmada kullanılan cihazlar ve markaları	32
Tablo 5. Kimyasallar ve markaları	32
Tablo 6. Kullanılan bazı reaktifler ve hazırlanışları	33
Tablo 7. EDX analizinin kantitatif değerleri	51
Tablo 8. <i>Lotus corniculatus</i> çiçek ekstraktının ve AgNP'nin MİK değerleri	59
Tablo 9. <i>Lotus corniculatus</i> ekstrakt ve AgNP'nin antibiyofilm aktivitesi	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Makro ölçekli parçacıklar ile nanopartiküllerin karşılaştırılması	2
Şekil 2.	Fenolik asitlerden a) Benzoik asit türevleri b) Sinnamik asit türevlerinin kimyasal yapıları	12
Şekil 3.	Flavon ve flavonollerin kimyasal yapıları (X=H → Flavon, X=OH→Flavonol)	13
Şekil 4.	Kumarinlerin kimyasal yapısı	13
Şekil 5.	İzoflavonoitlerin kimyasal yapısı	13
Şekil 6.	a) Antosiyaninin ve b) Antosiyanidinlerin kimyasal yapıları	14
Şekil 7.	Lignin kimyasal yapısı	14
Şekil 8.	Tanenin kimyasal yapısı	15
Şekil 9.	<i>Lotus corniculatus</i> (Gazelboynuzu) bitkisinin görüntüleri	30
Şekil 10.	<i>Lotus corniculatus</i> 'un Türkiye'deki genel dağılımı	30
Şekil 11.	Bitki ekstraksiyon aşamaları	34
Şekil 12.	Bitkiden gümüş nanopartikül sentez aşamaları	35
Şekil 13.	DPPH radikal temizleme aktivitesi numune ve standartların pipetleme görüntüsü	36
Şekil 14.	Troloks standart kalibrasyon grafiği	36
Şekil 15.	FRAP antioksidan aktivite testi için farklı konsantrasyonlarda çalışılan troloks antioksidan standardının kalibrasyon grafiği	37
Şekil 16.	Demir (III) İndirgeme/ Antioksidan Güç numune ve standart pipetleme görüntüsü	38
Şekil 17.	Toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesinde farklı konsantrasyonlarda çalışılan gallik asit standart kalibrasyon grafiği	39
Şekil 18.	Toplam fenolik içerik numune ve standart pipetleme görüntüsü	39
Şekil 19.	Toplam flavonoid madde içeriğinin belirlenmesinde farklı konsantrasyonlarda çalışılan kuarsetin standart kalibrasyon grafiği	40
Şekil 20.	Toplam flavonoid içerik testinde numune ve standardın pipetleme görüntüsü	40
Şekil 21.	α -Glukozidaz inhibisyonunun belirlenmesinde farklı konsantrasyonlarda çalışılan akarboz standart kalibrasyon grafiği	41
Şekil 22.	Ekstrakt ve Ag Nanopartikülün Biyofilm Oluşumunun görüntüsü	43
Şekil 23.	Bitki çiçek ekstraktı ve AgNPs çözeltisinin UV-vis spektrumu	45

Şekil 24. Bitki ekstraktının (a) ve AgNP'lerin (b) FT-IR spektrumları	47
Şekil 25. Gümüş nanopartiküllerin XRD analizi	48
Şekil 26. <i>Lotus corniculatus</i> ekstraktı kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin TEM görüntüleri	49
Şekil 27. Ekstraktan sentezlenen Ag-NP'in EDX spektrumu	50
Şekil 28. DPPH radikal temizleme aktivitesinde ekstrakt ve nanopartikülün SC ₅₀ değerleri	53
Şekil 29. FRAP antioksidan aktivite testinde ekstrakt ve nanopartikülün µM TEAC değerleri	54
Şekil 30. Bitki ekstrakt ve nanopartikülün toplam fenolik madde içeriklerinin GAE (µg/ml) cinsinden değerleri	55
Şekil 31. Bitki ekstraktının ve nanopartikülün toplam flavonoid madde içeriklerinin KAE (mg/ml) cinsinden değerleri	56
Şekil 32. Ekstrakt ve nanopartikülün α-Glukozidaz inhibisyonunun standart ile karşılaştırılması	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
μ	: Mikro
μ l	: Mikrolitre
μ M	: Mikromolar
dk	: Dakika
DPPH•	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikali
FeCl ₃	: Demir (III) Klorür
FRAP	: Demir (III) İndirgeme/Antioksidan Güç
GAE	: Gallik asit antioksidan eşdeğeri
gr	: Gram
HCl	: Hidroklorik asit
IC ₅₀	: Enzim aktivitesini yarıya düşüren numune konsantrasyonu
KAE	: Kuersetin antioksidan eşdeğeri
L	: Litre
M	: Molar
mg	: Miligram
MİK	: Minimum inhibisyon konsantrasyonu
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
°C	: Santigrat derece
pH	: Hidrojen iyonu H ⁺ ile hidroksit iyonu OH ⁻ derişimlerinin oranı
ppm	: Milyonda bir (Parts per million)
R ²	: Korelasyon katsayısı
SC ₅₀	: Radikali %50 temizleyen numune konsantrasyonu
TEAC	: Troloks Antioksidan Kapasite (Eşdeğeri)
TFC	: Toplam Flavonid Madde İçeriği
TPC	: Toplam Fenolik Madde İçeriği
TPTZ	: 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine
UV	: Ultraviyole
UV-Vis	: Ultraviyole- görünür bölge spektroskopisi

1. GİRİŞ

Nanoteknoloji, materyallerin atomik ve moleküler düzeyde manipüle edilmesi ile yeni özellikler kazandırılan bir bilim dalı olarak son yıllarda büyük bir ivme kazanmıştır. Bu teknolojinin, özellikle tıp, biyoloji, kimya ve malzeme bilimi gibi birçok alanda çığır açıcı uygulamaları bulunmaktadır (Feynman, 1960). Gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), nanoteknolojinin önemli bir parçasını oluşturarak antimikrobiyal, antioksidan ve antikanser gibi çeşitli biyolojik aktiviteler nedeniyle dikkat çekmektedir (Rai vd., 2009). Nanoyapılı malzemeler (NMs), yenilikçi ve özgün fizikokimyasal ve biyolojik özellikler sergileyerek farmakoloji ve tıpta çeşitli uygulamalara yönelik etkili ve yeni biyomedikal yöntemlerin geliştirilmesine olanak tanıyan nanotıp alanında umut verici malzemeler olarak kullanılmaktadır (Sirelkhatim vd., 2015). Yüksek yüzey alanı, küçük boyut ve kimyasal reaktivite gibi benzersiz fizikokimyasal özellikleri sayesinde nanoyapılı malzemeler biyolojik moleküllere kolayca nüfuz edebilir ve bu sistemlerle entegre olabilir.

Genel olarak, bakterileri yerel olarak öldürmek veya büyümelerini yavaşlatmak için çevre dokulara en az toksik etkiyle tasarlanan tüm malzemeler veya kimyasal bileşikler, antimikrobiyal aktiviteye sahip olarak tanımlanır. Bu bağlamda, NMs, ilaç taşıma, antimikrobiyal ajanlar, aşı taşıma ve immünomodülasyon gibi çeşitli biyomedikal uygulamalarda etkili ve verimli taşıyıcılar olarak işlev görebilir (Salata, 2004).

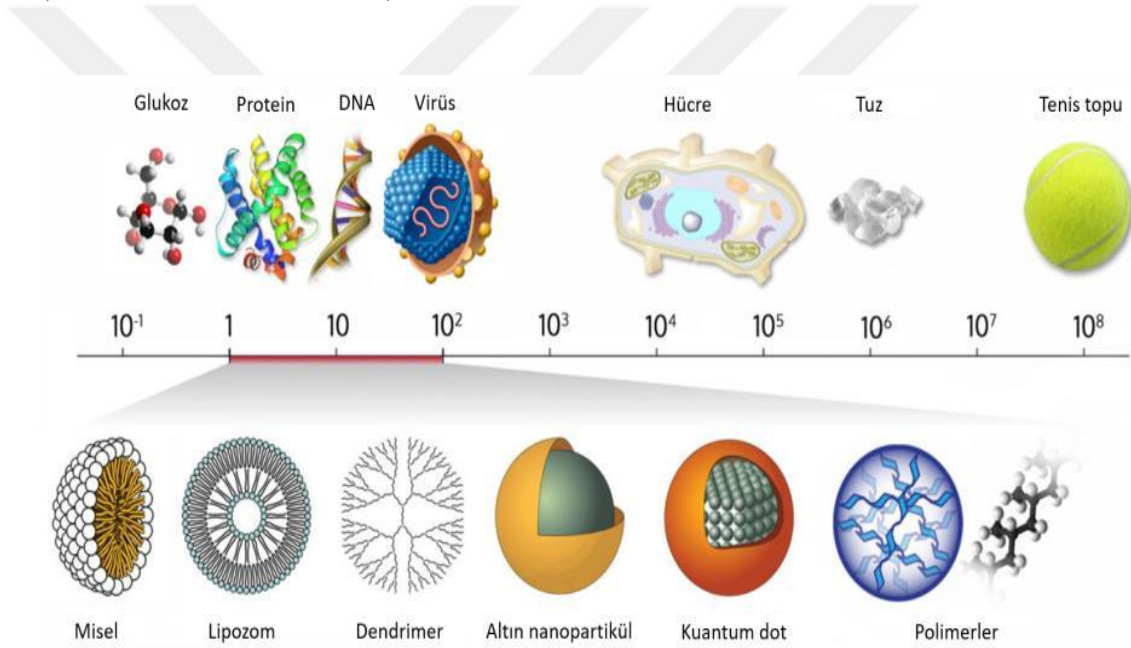
Nanoteknolojinin ilaç endüstrisine başarılı bir şekilde entegre edilebilmesi için, çeşitli inorganik nanopartiküllerin (metaller—Cu, Au, Ag ve Pt; ve metal oksitler—Ag₂O, SiO₂, TiO₂, CuO, CaO, ZnO, Fe₂O₃ ve MgO) farklı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir (Rai ve Bai, 2011; Dizaj vd., 2014). Bu çalışmalar, nanopartiküllerin potansiyel mikrobiyal ajanlar olarak işlev gördüğünü ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi, elektron taşıma zincirinin inhibisyonu ve antioksidan moleküllerin tükenmesi (ROS üretiminin enzimatik mekanizmalarını değiştirerek) gibi çeşitli biyolojik yollarla mikrobiyal türlerin büyümesini yoğun bir şekilde engellediğini ortaya koymuştur (Ahn vd., 2014; Maurer ve Meyer, 2016).

Lotus corniculatus, kuş ayağı yoncası olarak bilinir ve Leguminosae familyasına aittir. Kök nodüllerini tamamen azotla sabitleyebilir ve bu da onu örtü bitkisi olarak faydalı hale getirir. Etnobotanik kullanımları bildirilmiştir ve kök karminatif ve ateş düşürücü etki göstermiştir, çiçekler antispazmodik ve yatıştırıcıdır.

Bu çalışmada, *Lotus corniculatus* çiçek ekstraktı kullanılarak gümüş nanopartikül (AgNP) üreterek, nanopartikülün ve çiçek ekstraktının biyolojik aktiviteleri karşılaştırılacaktır. Ayrıca sentezlenen gümüş nanopartikülün fizikokimyasal özellikleri incelenecektir.

1.1. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, 1-100 nm arasındaki büyüklükteki maddelerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik yapılarını inceleyen bir bilim dalıdır. 1-100nm arasındaki moleküller nanopartikül olarak tanımlanır. Nanoteknoloji, maddenin atomik yapısında değişiklikler yapılarak yeni maddeler oluşturulması olarak tanımlanmaktadır (Kut ve Güneşoğlu, 2005). Şekil 1’de makro ölçekli parçacıklar ile nanopartiküller kıyaslanmaktadır (Hulkoti ve Taranath, 2014).



Şekil 1. Makro ölçekli parçacıklar ile nanopartiküllerin karşılaştırılması

Nanoteknoloji fizik, kimya, biyoloji gibi alanları da kapsayan geniş bir bilim dalıdır (Perez ve Sandgren, 2008). Son yıllarda, nanoteknoloji alanında optik, manyetik, katalitik ve elektriksel özelliklere sahip çok sayıda nanopartikül (NP) üretilmiştir. Çeşitli kimyasal ve fiziksel yöntemler kullanılarak nanoparçacıklar üretilebilse de, bu nanoparçacıkların üretimi oldukça pahalı ve çevre kirleticidir. Dolayısıyla mikroorganizma veya bitkisel kaynaklar kullanılarak nanopartikül sentezi ekonomik açıdan ve çevre kirliliğinin önlenmesi yönünden önemli bir alternatif oluşturmaktadır (Gottimukkala vd., 2017; Başoğlu ve Akar, 2023).

1.1.1. Nanoteknolojinin Tarihsel Gelişimi

Richard Feynman, 1959 yılında yaptığı "There's Plenty of Room at the Bottom" başlıklı konuşmasında, atom ölçeğindeki malzemelerin kontrol edilebileceği fikrini ortaya koymuştur. Bu fikir, nanoteknolojinin temellerinin atılmasında dönüm noktası olarak kabul edilmektedir (Feynman, 1960). 1982 yılında Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer, IBM Zürih Araştırma Laboratuvarı'nda taramalı tünelleme mikroskopunu (STM) icat etmiş ve bu gelişme nanoteknoloji alanında çığır açan bir adım olmuştur (Binnig vd., 1982). Taramalı tünelleme mikroskopunun geliştirilmesi, nanoteknolojinin ilerlemesinde en büyük katkılardan biri olarak değerlendirilmektedir.

Nanoteknolojik malzemelerden ince filmler ve karbon nanotüpler; atomik kuvvet mikroskobu ve taramalı tünelleme mikroskopisi gibi nanoteknolojik araçlar, nanoteknolojinin disiplinler arası bir alan olarak literatürde yer edinmesinde etkili olmuştur. Nanoteknoloji biliminin gelişimiyle birlikte literatürde yeni terimler ortaya çıkmıştır. Nano ölçek; 1-100 nm aralığını ifade eder. Nanobilim; Malzemelerin boyut ve yapılarına dayalı özelliklerini inceleyen ve atomların, moleküllerin veya yığın malzemelerin karşılaştırmasını yapan bir bilim dalıdır. Nanoteknoloji; Malzemelerin nano ölçek aralığında manipüle edilmesi, bu malzemelerin kontrollü boyutlarda üretilmesi ve uygulama alanlarında kullanımıyla ilgilenir. Nanomateriyal; Nano ölçek sınırlarında içsel veya dışsal özelliklere sahip yapıları ifade eder. Nanonesne; Bir veya birden fazla boyutta nano ölçek aralığında bulunan malzemelerdir (Jeevanandam vd., 2018). Nanoteknolojinin tarihsel ve bilimsel gelişimi, disiplinler arası bir alan olarak literatürde önemli bir yer edinmesini sağlamıştır.

1.1.2. Metal Nanopartiküller

Metal nanopartikül üretiminde altın, gümüş, demir, kobalt, alüminyum, bakır gibi elementler kullanılır. Yüksek miktarda yüzey alanı /hacim oranına ve yüzeylerindeki iyonlardan ötürü metal nanopartiküller elektriksel yüklere sahiptirler. Aynı zamanda farklı nanopartiküller farklı özelliklere sahiptirler. Metal nanopartiküller sıcaklık, nem gibi çevresel faktörlerden etkilendiği için her metal nanopartikülün kendine özgü özellikleri vardır (Ijaz vd., 2020).

1.1.3. Gümüş Nanopartiküller

Gümüş elementi beyaz renkli doğada doğal veya bileşik halinde bulunan bir maddedir (Demir, 2000). Bilimsel araştırmalarda nanopartiküller arasında, özellikle biyolojik yapılarla etkileşiminden dolayı gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) yaygın

olarak kullanılmaktadır. Kullanılan gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), iyi elektriksel iletkenlik, fotoelektrokimyasal, antioksidan, antifungal, antimikrobiyal, antiviral, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antikanser, antibiyofilm ve enzim aktivitesi gibi özelliklerinden dolayı birçok endüstriyel alanlar da kullanılmaktadır (Stevens vd.,2009; Zhang vd., 2009; Austin vd., 2014; Arroyo vd., 2020; Akar vd., 2024). Gümüş nanopartikülleri, genellikle gümüş nitrat (AgNO_3) tuz çözeltisinin varlığında oluşmaktadır. AgNO_3 tuzundaki Ag^+ iyonları, indirgeyici maddeler tarafından Ag atomlarına indirgenir. Sonra indirgenmiş Ag atomları birkaç tane çekirdek oluşturur ve küçük kümeler halinde taşınan çekirdekler parçacıkları büyütür. Bazı ışık dalga boylarında gümüşnanopartiküller farklı renktedirler (Noguez,2007). Nanopartiküllerin boyutu ve şekli, gümüş tuzunun indirgeyici madde ile konsantrasyon oranına bağlı atomların varlığıyla kontrol edilebilir. Nanoteknoloji de kaynak olarak bitkisel özler kullanılarak yapılan nanopartikül sentezi yeşil sentez olarak adlandırılmaktadır. Tüm bu belirtilen özelliklere bağlı olarak nanopartikül sentezi ile mikroorganizma ve bitkileri içeren ekonomik, temiz, toksik olmayan ve çevre dostu “yeşil sentez” prosedürlerinin geliştirilmesine fayda sağlayacaktır (Mohanpuria vd., 2008).

1.2. Serbest Radikaller

İnsan vücudunda birçok kimyasal reaksiyonlar gerçekleşir. Bu reaksiyonlar sonucu vücut için zararlı maddeler oluşur. Bu zararlı maddelere serbest radikaller denir. Serbest radikaller son yörüngelerinde eşlenmemiş elektrona sahiptir (Bast vd., 1991). Eşlenmemiş elektron serbest radikallerin maddelerle daha kolay reaksiyona girmesini sağlar. Serbest radikaller ikiye ayrılır. Oksijen kaynaklı olanlara (ROS) reaktif oksijen türleri ve nitrojen kaynaklı olanlara (RNS)reaktif nitrojen türleri denir (Halliwell, 1999; Valko vd., 2007).

Reaktif oksijen türleri arasında süperoksit, hidroksil, peroksil, lipid peroksil ve alkoksil radikalleri bulunur. Reaktif nitrojen türlerini ise nitrik oksit ve nitrojen dioksit oluşturur. Serbest radikaller endojen ve eksojen kaynaklı olabilirler. Endojen kaynakların en önemli üretim yeri mitokondridir. Eksojen kaynaklar ise UV ışınlar, X-rays, gama ışınları, mikrodalga ışınları, temizlik ürünleri gibi çeşitli kimyasal maddelerdir. Organizmada serbest radikallerin yoğunlukları arttığı zaman lipidler, proteinler ve nükleik asitler üzerinde yapısal bozukluklara neden olarak zararlı etkilere yol açabilirken düşük yoğunlukta bulunmaları halinde yararlı etkileri bulunmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016). Serbest radikaller mitokondride oksijen kullanımıyla

birlikte devamlı üretilmektedir ve yağların, proteinlerin ve nükleik asitlerin yapısında değişiklik meydana getirebilirler (Shinde ve ark., 2012).

1.3. Antioksidanlar

Antioksidanlar organizmada oluşan serbest radikalleri yok eden ve onların etkilerini azaltan maddelerdir. Antioksidanlar ya vücutta üretilir ya da dışarıdan hazır olarak alınır. Hem endojen hem de eksojen antioksidanlar serbest radikalleri yok ederek hastalık riskini azaltırlar (Shinde ve ark.,2012).

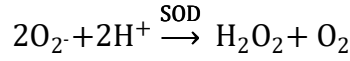
Tablo 1. Endojen ve Eksojen antioksidanların sınıflandırılması

Endojen Antioksidanlar	
Enzimatik Antioksidanlar	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar
Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve α - Glutasyon redüktaz (GR)	Glutasyon, Koenzim Q 10, Melatonin, Selenyum, Ürik asit, Lipoik asit, Bilirubin, Transferrin, Albümin ve Seruloplazmin
Eksojen Antioksidanlar	
Vitamin Olan Antioksidanlar	İlaç Olarak Kullanılan Antioksidanlar
α -Tokoferol (Vitamin E), β -karoten (Vitamin A), Askorbik asit (Vitamin C) ve Folik asit (Vitamin B9)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar), Rekombinant süperoksit dismutaz, Trolox-C (vitamin E analogu), Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein), Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), Nötrofil adezyon inhibitörleri, Sitokinler (TNF ve IL-1), Barbitüratlar ve Demir şelatörleri

1.3.1. Superoksit Dismutaz

Süperoksit Dismutaz serbest radikallere karşı ilk savunmayı oluşturan antioksidanlardandır (Sen vd., 2010; Sen ve Chakraborty, 2011). Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2)

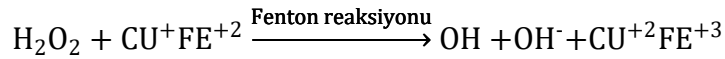
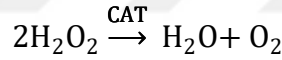
parçalayan enzimatik antioksidandır. Hidrojen peroksit daha sonra, CAT ya da GPx ile hücrelerden uzaklaştırılır (Young ve Woodside, 2001).



Diğer enzimlerin hiçbiri bu reaksiyon aktivitesine sahip değildir ve SOD'un bilinen tek aktiviteside superoksit radikalinden hidrojen peroksit oluşturmaktır (Karihtala ve Soin, 2007).

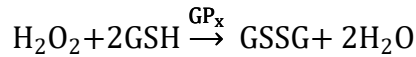
1.3.2. Katalaz

Katalaz (CAT), yüksek miktardaki hidrojen peroksitin parçalanmasını sağlar (Buettner, 2011). Katalaz, en çok peroksizomlar gibi hücre içi organellerde ve daha az olarak mitokondri ve endoplazmik retikulumda yer alır. Hidrojen peroksitin, su ve oksijene parçalanmasını sağlar (Limon-Pacheco vd., 2009). Süperoksit radikali, SOD aracılığıyla hidrojen peroksite parçalanır. Hidrojen peroksit bir radikal olmamasına rağmen, Cu ve Fe iyonlarının katalizörlüğünde Fenton reaksiyonu ile en reaktif oksijen türü olan hidroksil radikali (OH) oluşumunu sağlar (Cheung vd, 2001; Larson, 1988).



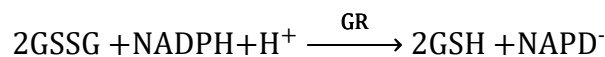
1.3.3. Glutasyon peroksidaz

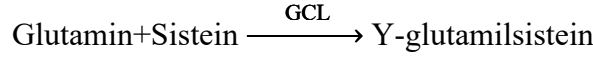
Glutasyon peroksidaz hücrenin stoplazmasında bulunur ve hidrojen peroksitten hidroksil oluşmasını engelleyerek hücreleri serbest radikallerin hasarlarına karşı korur.



Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), düşük konsantrasyonda oluşan hidrojen peroksitin yıkımını sağlar.

Sitokrom oksidaz, oksijenin suya dönüşümü sırasında radikal oluşumunu önler. Glutasyon ise en önemli hücre içi antioksidan olup proteinlerin aktif kalmasına yardımcı olur (Lubos vd., 2011).





Eksojen antioksidanlar, vücut tarafından doğal olarak üretilemeyen ve dışarıdan besinler ya da takviyeler yoluyla alınan bileşiklerdir. Bu antioksidanlar, hücreleri oksidatif stresin zararlı etkilerinden koruyarak serbest radikallerin neden olduğu hasarı azaltır ve kronik hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynar (Halliwell ve Gutteridge, 2015). Eksojen antioksidanlar doğal ve sentetik kaynaklardan elde edilir.

Doğal kaynaklar arasında vitaminler, polifenoller, flavonoidler ve karotenoidler yer alır. Vitamin C (askorbik asit), güçlü bir serbest radikal temizleyici olup, özellikle suda çözünen oksidatif hasarı önler. Vitamin E (tokoferoller ve tokotrienoller) ise yağda çözünen bir antioksidan olarak lipid peroksidasyonunu engeller (Lobo vd., 2010). Polifenoller ve flavonoidler bitkilerde doğal olarak bulunur ve kuersetin, kateşin, resveratrol gibi bileşiklerle serbest radikal temizleme kapasiteleriyle bilinirler. Karotenoidler arasında beta-karoten, likopen ve lutein gibi bileşikler UV radyasyonu ve serbest radikallerin neden olduğu hasarı önlemede etkilidir. Ayrıca, selenyum ve çinko gibi mineraller, glutasyon peroksidaz gibi enzimatik antioksidanların aktivitesini destekler.

Sentetik kaynaklar arasında gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan butil hidroksitoluen (BHT) ve butil hidroksianisol (BHA) gibi bileşikler bulunur. Bunun yanı sıra, vitamin C, vitamin E ve koenzim Q10 gibi sentetik antioksidanlar, besin takviyelerinde kullanılmaktadır (Niki, 2010).

Eksojen antioksidanlar, serbest radikalleri temizleyerek, metal iyonlarının katalitik etkilerini azaltarak ve antioksidan enzimleri destekleyerek oksidatif stresle mücadele eder. Bu mekanizmalar, hücre hasarını önlemede kritik rol oynar (Halliwell ve Gutteridge, 2015). Sağlık üzerindeki etkileri arasında kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve kanser gibi kronik hastalıkların önlenmesi, yaşlanma sürecinin yavaşlatılması ve bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi yer alır. Özellikle lutein ve zeaksantin gibi karotenoidler, makula dejenerasyonu gibi göz hastalıklarını önlemede faydalıdır (Dai ve Mumper, 2010).

Ancak, aşırı miktarda eksojen antioksidan tüketimi toksik etkilere yol açabilir. Örneğin, vitamin E'nin fazla alınması kanama riskini artırabilirken, beta-karoten

fazlalığı sigara içen bireylerde akciğer kanseri riskini yükseltebilir. Bu nedenle, eksojen antioksidanların uygun dozlarda alınması büyük önem taşır (Niki, 2010).

Endojen nonenzimatik antioksidanlardan transferrin, metal katalizli lipit peroksidasyonuna neden olan demir iyonlarını bağlayarak serbest demir oluşumunu engeller. Ürik asit, radikal tutucu özelliği vardır. Askorbik asit ise suda eriyen ve glutatyonla beraber E vitaminin antioksidan etkisinde rol oynayan antioksidan vitaminlerdendir.

1.4. Sekonder Metabolitler

Bitkiler, protein, karbonhidrat ve lipit gibi primer bileşiklerin yanı sıra, büyüme ve gelişim süreçlerinde önemli rol oynayan çok sayıda organik bileşik de üretirler. Bu bileşikler, "sekonder metabolitler" olarak adlandırılır (Yang vd., 2018).

Sekonder metabolitler genellikle belirli bir bitki türünde veya birbirleriyle akraba olan taksonomik gruplarda bulunur. Buna karşın primer metabolitler, bitkiler alemindeki tüm türlerde ortaktır. Geçmişte sekonder metabolitler, bitkiler tarafından oluşturulan işlevsiz bileşikler olarak düşünülse de, daha sonra bu maddelerin bitkilerin savunma mekanizmaları, çevreye uyum sağlamaları ve nesillerini sürdürebilmeleri için geliştirilmiş özellikler olduğu anlaşılmıştır. Sekonder metabolitlerin antibakteriyel ve antifungal ajanlar olarak önemli bir role sahip olduğu kanıtlanmıştır.

Sekonder metabolitlerin kullanım alanları oldukça çeşitlidir. Endüstriyel alanda antikanser ilaçlarından kolesterol düşürücülere, antibiyotiklerden birçok biyolojik hastalığın tedavi ve önlenmesine kadar tıp alanında geniş bir uygulama yelpazesi bulunmaktadır. Ayrıca, bu bileşikler insektisit ve herbisit olarak da kullanılmaktadır (Erb ve Kliebenstein, 2020).

Sekonder metabolitler, biyosentez süreçlerine göre üç ana gruba ayrılmaktadır: terpenler, alkaloidler (azotlu bileşikler) ve fenolik bileşikler.

1.4.1. Terpenler

Terpenler, sekonder metabolitlerin en büyük sınıfını oluşturur. Uçucu yağların temel bileşenleri olan terpenler, genellikle güçlü kokuya sahip hidrokarbonlardır. Terpen adı, ilk keşfedilen üyelerden biri olan terebentin ile ilişkilidir. Terpenler, oksijen içeren bileşiklere sahip olabildikleri gibi saf hidrokarbon formunda da bulunabilirler. Kimyasal modifikasyona uğramış terpen bileşiklerine ise "terpenoid" adı verilir (Tiring vd., 2021).

Terpenler, biyosentetik olarak izopren birimlerinden türetilir ve C_5H_8 moleküler formülüne sahiptir. Bu temel yapı, terpenlerin tüm formlarında " C_5H_8 " şeklinde kendini gösterir (Paduch vd., 2007). Terpenler, içerdiği izopren birimi sayısına göre sınıflandırılır ve her sınıfın kendine özgü özellikleri vardır.

Tablo 2. Terpenlerin sınıflandırılması

Terpen Sınıfı	Özellikleri
Hemiterpenler (C_5)	Tek izopren birimi içerir, C_3 bitkilerinin yaprak plastitlerinde bulunur.
Monoterpenler (C_{10})	İki izopren biriminden oluşur. Bazı türlerde uçucu yağ, bazı türlerde reçine olarak izole edilmiştir.
Seskiterpenler (C_{15})	Üç izopren biriminden oluşur. Monoterpenler gibi uçucu yağlarda bulunur.
Diterpenler (C_{20})	Dört izopren biriminden oluşur. Örneğin steviol ve giberellin bu gruba dahildir.
Triterpenler (C_{30})	İki C_{15} zincirinin baş-baş bağlanmasıyla oluşur. Saponinler, steroller ve steroid hormonlar bu gruptandır.
Tetraterpenler (C_{40})	Karotenoid pigmentleri içerir. Çiçek ve meyvelere renk verir, fotosenteze katkı sağlar.
Politerpenler ($C_{>40}$)	Yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir. En iyi bilinen örneği kauçuktur.

Bu sınıflandırma, terpenlerin biyolojik çeşitliliğini ve işlevlerini anlamada önemli bir çerçeve sunar. Özellikle uçucu yağların ana bileşenleri olarak terpenler, bitkisel kaynaklı ilaçlar ve biyolojik pestisitler geliştirmede önemli bir potansiyele sahiptir.

1.4.2. Alkaloidler

Alkaloidler, insan sağlığı üzerindeki toksik etkileri ve tıbbi özellikleri nedeniyle dikkat çeken organik azot bileşikleridir. Bu bileşikler, damarlı bitkilerin yaklaşık %20-30'unda bulunur. Tarih boyunca hastalıkların tedavisinde kullanılan alkaloidler, günümüzde de oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir. Antiinflamatuvar, antispazmodik, antibakteriyel, analjezik etkileriyle bilinen alkaloidler, aynı zamanda kanser tedavisinde de önemli bir yer tutmaktadır. Tıbbi kullanımlarının yanı sıra, tarımda insektisit olarak da kullanılabilir (Souto vd., 2011).

Alkaloitler, azot içeren ve genellikle bazik özellik taşıyan bileşikler olarak tanımlanır. Çoğunlukla pozitif yüklü yapıya sahiptirler ve suda çözünürler. Hücre içindeki vakuollerde depolanırlar; ancak genç hücrelerde vakuol bulunmadığından alkaloitlere rastlanmaz. Bitkilerde kök, yaprak, kabuk ve meyve gibi çeşitli organlarda bulunurlar ve genellikle sitrik, malik, asetik ve tartarik asit gibi bitki asitlerinin tuzları şeklinde bulunurlar. Zehirli yapıları ve acı tatlarıyla bitkileri, otçul hayvanlara ve zararlılara karşı koruma işlevi görürler (Halfon, 2005).

Alkaloitler, kimyasal yapıları ve kökenlerine göre üç ana gruba ayrılır: gerçek alkaloitler, protoalkaloitler ve yalancı alkaloitler (Aniszewski, 2007).

Gerçek Alkaloitler: Amino asitlerden türeyen, heterosiklik azot içeren ve yüksek biyolojik aktiviteye sahip moleküllerdir. Katı, beyaz renkli ve acı tada sahiptirler. Örnek olarak dopamin, kokain ve morfin gösterilebilir.

Protoalkaloitler: Amino asitlerden türeyen ancak heterosiklik halka yapısına sahip olmayan moleküllerdir. Öncül aminoasitleri L-Tirozin ve L-Triptofan'dır. Örnek olarak adrenalin ve meskalin verilebilir.

Alkaloitlerin kimyasal çeşitliliği ve biyolojik aktiviteleri hem tıbbi hem de tarımsal alanlarda geniş bir kullanım potansiyeline sahiptir.

1.4.3. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, aromatik bir halkada bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren fenol yapısına sahip organik bileşiklerdir (Shahidi ve Yeo, 2016). Bu bileşikler, güçlü antioksidan özelliklere sahiptir ve bitkilerde yaygın olarak bulunur. Fenolik bileşikler, organik çözücülerde veya suda çözünme özelliklerine bağlı olarak heterojen bir gruptur. İnsan sağlığı açısından hayati öneme sahip esansiyel bileşiklerdir.

Bitkisel polifenoller, oksidatif stres kaynaklı hücresel hasarı önlemeye yardımcı oldukları için insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Noreen vd., 2017). Bitkiler, çevresel stres faktörlerine karşı korunma amacıyla fenolik bileşikler üretirler. Bu bileşikler, patojenlere karşı savunma sağlamanın yanı sıra sebze ve meyvelerin dokularına tat ve renk kazandırarak komşu bitkiler arasındaki etkileşimleri destekler (Atak vd., 2017).

İnsan sağlığı üzerindeki etkileri arasında antidiyabetik, antienflamatuar, antialerjik, antimikrobiyal, antiviral ve antipatojenik özellikler bulunur (Manach vd., 2004).

Bitki fenollerinin biyosentezi iki temel yolla gerçekleşir: şikimik asit ve malonik asit yolları. Şikimik asit yolu, genellikle bitkilerde fenolik bileşiklerin üretimi için

kullanılırken, malonik asit yolu daha çok bakteri ve mantarlarda fenolik üretiminin temel kaynağıdır (Taiz ve Zeiger, 2008).

Fenolik bileşiklerin kimyasal çeşitliliği, onların bitkilerde savunma, stres yönetimi ve estetik özellikleri (renk ve tat) sağlama gibi çok yönlü roller üstlenmelerine olanak tanır. Aynı zamanda, bu bileşikler insan sağlığına olan katkılarıyla da önemini korumaktadır.

1.4.4. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması

Fenolik bileşikler temel olarak basit fenoller ve polifenoller olmak üzere iki grupta incelenirler. Karbon sayılarına göre fenolik bileşiklerin sınıflandırılması Tablo 3’de verilmiştir (Harborne ve Simmonds, 1964).

Tablo 3. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

Yapı	Sınıf
C ₆	Basit fenolikler
C ₆ -C ₁	Fenolik asitler
C ₆ -C ₂	Asetofenonlar ve fenilasetik asit
C ₆ -C ₃	Sinamik asitler, sinamil aldehytler, sinamil alkoller Kumarinler, izokumarinler
C ₁₅	Kalkonlar, auronlar, dihidrokolonlar, Flavanlar, Flovonlar, Flavanonlar, Antosiyanidin, Antosiyanin
C ₃₀	Biflavonil
C ₆ -C ₁ -C ₆ , C ₆ -C ₁ -C ₆	Benzofenonlar, ksanton, stilbenler
C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄	Kinon
C ₁₈	Betasiyanin
Lignanlar ve neolignanlar	Dimer veya oligomerler
Lignin	Polimerler
Tanenler	Oligomer veya Polimerler
Filobafenler	Polimerler

1.4.4.1. Fenolik Asitler

Fenolik asitler, kimyasal yapılarında iki ana karbon iskeleti bulundurur: hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinamik asitler. Bu bileşikler, gıdalarda yaygın olarak bulunur ve temel iskelet yapısı sabit kalmakla birlikte, aromatik zincirdeki hidroksil grubunun sayı ve konumundaki değişiklikler, farklı özelliklere yol açar (Robbins, 2003).

Hidroksisinnamik asitler, hidroksibenzoik asitlere kıyasla daha yaygın olup p-kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asit gibi türevlerini içerir. Hidroksibenzoik asit örnekleri arasında vanilik asit ve gallik asit bulunmaktadır (Pandey ve Rizvi, 2009).

Bitkiler, çürüyen kısımlarından, köklerinden veya yapraklarından çevreye hem primer (birincil) hem de sekonder (ikincil) ürünler yayabilir. Bu kimyasal bileşiklerin çevredeki diğer bitkiler ve canlılar üzerindeki etkilerine "allelopati" adı verilir. Allelopatik etkiler genelde zararlı olarak değerlendirilse de, bazı durumlarda yararlı etkiler de gözlemlenmiştir. Örneğin, ferulik asit ve kafeik asit gibi bileşiklerin belirli konsantrasyonlarda toprakta bulunmasının, bitkilerin çimlenmesini ve büyümesini engellediği deneylerle kanıtlanmıştır (Tiring, 2021).

Fenolik asitler, kimyasal çeşitlilikleri ve bitkiler arası etkileşimlerdeki rolleri nedeniyle hem ekolojik hem de biyolojik açıdan önemli bileşiklerdir. Şekil 2’de fenolik asitlerden a) Benzoik asit türevleri b) Sinnamik asit türevlerinin kimyasal yapıları verilmiştir (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010).

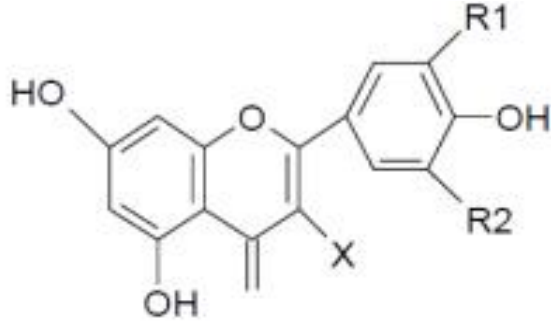


Hidroksibenzoik	R1	R2	R3	Hidroksisinnamik	R1	R2	R3
p-hidroksibenzoik	H	OH	H	Sinapik asit	CH ₃ O	OH	CH ₃ O
Siringik asit	CH ₃ O	OH	CH ₃ O	p-kumarik asit	H	OH	H
Vanilik asit	CH ₃ O	OH	H	Ferulik asit	CH ₃	OH	H
Gallik asit	OH	OH	OH	Kafeik asit	H	OH	OH

Şekil 2. Fenolik asitlerden a) Benzoik asit türevleri b) Sinnamik asit türevlerinin kimyasal yapıları

1.4.4.2. Flavonlar ve Flavonoller

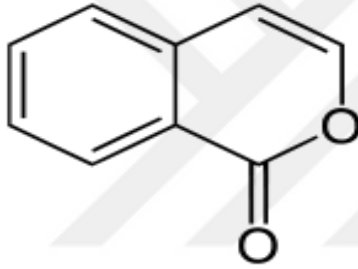
Çiçeklerde bulunan bu iki flavonoid grubu, yeşil bitkilerin yapraklarında da bulunur. Bu flavonoidler, özellikle hücreleri UV radyasyonundan korumaktadırlar (Tiring, 2021).



Şekil 3. Flavon ve flavonollerin kimyasal yapıları (X=H → Flavon, X=OH→Flavonol)

1.4.4.3. Kumarinler

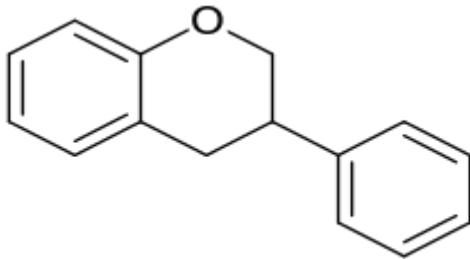
Kumarinler bazı uçucu yağlarda yüksek bulunurlar. Bitkinin tüm kısımlarına dağılmış olmakla birlikte en yüksek oranda meyvelerde bulunup bunu kök, gövde ve yapraklar izler. Bu bileşikler özellikle fizyolojik ve antitümör aktivitesine etkilidir (Jain ve Joshi, 2012).



Şekil 4. Kumarinlerin kimyasal yapısı

1.4.4.4. İzoflavonoitler

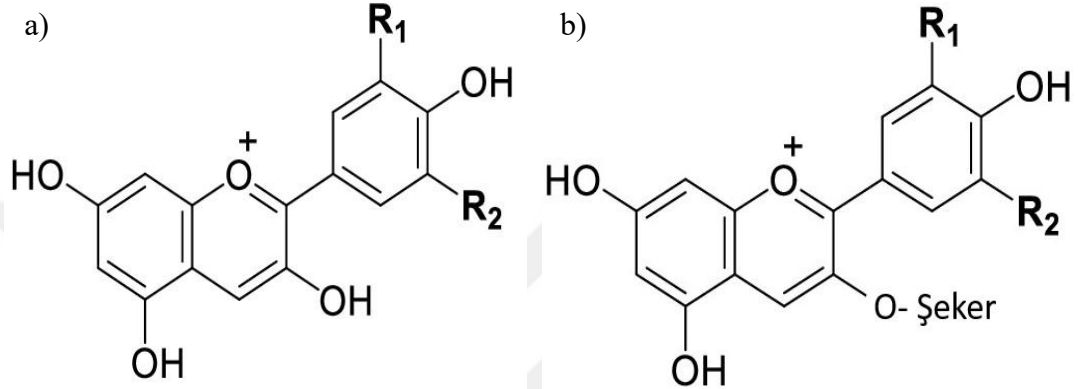
Bir flavonoid grubu olarak antifungal ve antibakteriyal özellikte olup bitki gelişiminde ve savunmasında yer alır. Bu maddeler "fitoaleksinler" olarak da bilinirler. Fitoaleksinler fonksiyon olarak hayvanlardaki antikorlarla eşdeğerdir (Boue vd., 2009).



Şekil 5. İzoflavonoitlerin kimyasal yapısı

1.4.4.5. Antosiyaninler ve Antosiyanidinler

Antosiyaninler, çiçekler ve meyvelerde bulunan en geniş flavonoid grubu olup, bu bitkilere renklerini veren pigmentlerdir. Tozlaşmayı sağlamak ve tohumların yayılmasına katkıda bulunmak için böcekleri cezbetmede kritik bir rol oynar. Yapılarında şeker içeren glikozitler olarak bilinirler, ancak şeker molekülü içermeyen antosiyaninlere "antosiyanidin" adı verilir. Cyanidin, en yaygın bulunan antosiyanidin türüdür (Mattioli vd., 2020).

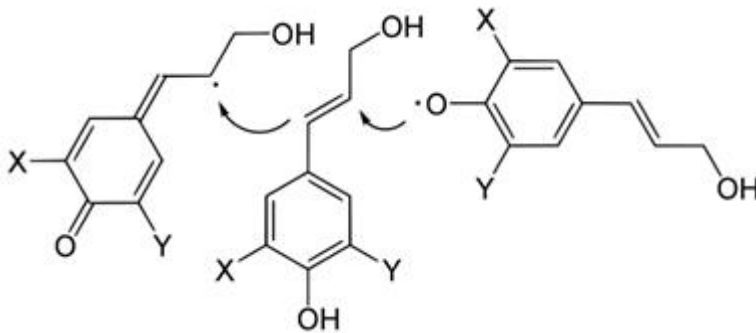


Şekil 6. a) Antosiyaninin ve b) Antosiyanidinlerin kimyasal yapıları

Antosiyanidinlerde renk oluşumu R_1 ve R_2 gruplarına bağlıdır. ($R_1 \rightarrow OH$, $R_2 \rightarrow H$, Antosiyanin: Cyanidin $\rightarrow$ Renk: Portakal-kırmızı)

1.4.4.6. Lignin ve Lignanlar

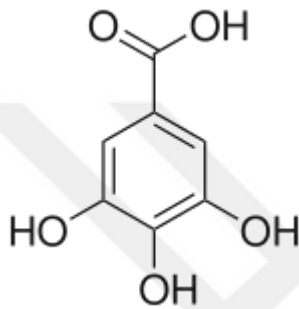
Lignin, selülozdan sonra bitkilerde en bol bulunan karmaşık bir fenolik makromoleküldür. Mekanik dayanıklılığı sayesinde bitkilerde önemli bir koruyucu işlev üstlenir. Genellikle odunsu gövdelerde ve tohumlarda bulunur ve haşerelere karşı caydırıcı bir rol oynar. Ayrıca, bu bileşiklerin bazıları tıbbi etkileriyle dikkat çekmektedir (Breitmaier, 2006).



Şekil 7. Lignin kimyasal yapısı

1.4.4.7. Tanenler

Ligninlerin ardından savunma özellikleriyle bilinen bir diğer bitki fenolik polimeri tanenlerdir. Bu bileşikler, bitkileri otçul hayvanlara karşı koruyarak savunma mekanizmasında önemli bir rol oynar. Protein bağlama ve parçalama yeteneklerine sahiptirler. Tanenler, kondense tanenler (proantosiyanidinler) ve hidrolize edilebilir tanenler olmak üzere iki gruba ayrılır. Hidrolize edilebilir tanenler, kondense tanenlere kıyasla bitkilerde daha az miktarda bulunur. Kondense tanenlere örnek olarak kateşin ve epikateşin; hidrolize edilebilir tanenlere ise gallik asit ve elajik asit gösterilebilir (Hassanpour vd., 2011).



Şekil 8. Tanenlerin kimyasal yapısı

1.5. Enzimler

Enzimler, kimyasal reaksiyonları büyük bir özgüllükle ve yüksek hız artışlarıyla katalize eder. Bu reaksiyonlar, tüm canlı organizmaların metabolizmasının temelini oluşturur ve endüstri için etkili, verimli ve ekonomik biyokatalitik dönüşümler gerçekleştirme konusunda büyük fırsatlar sunar (Godfrey ve West ,1996).

Enzimler, biyokimyasal reaksiyonları hızlandıran biyolojik katalizörlerdir. Protein yapısında olan bu moleküller, yüksek özgüllük ve etkinlikle kimyasal dönüşümleri gerçekleştirir. Enzimler, reaksiyon sırasında kendileri tükenmeden reaksiyonu hızlandırır ve bu özellikleriyle hücrel metabolizmanın temel taşıdır (Nelson ve Cox, 2021). Enzimler, sıcaklık, pH ve substrat konsantrasyonu gibi faktörlere duyarlıdır ve optimal koşullarda maksimum verimlilikle çalışır.

1.5.1. Enzimlerin Sınıflandırılması

Enzimler, katalizledikleri reaksiyon türüne göre altı ana sınıfa ayrılır. Oksidoredüktazlar; Elektron transferi reaksiyonlarını katalize eder. Transferazlar; Fonksiyonel grupların bir molekülden diğerine aktarımını sağlar. Hidrolazlar; Su molekülü kullanarak bağları kırar. Liyazlar; Moleküller arasındaki bağları hidroliz

olmaksızın koparır. İzomerazlar; Moleküller arasındaki izomer dönüşümlerini katalize eder. Ligazlar; ATP tüketimi ile iki molekülü birleştirir (Berg vd., 2019).

1.5.2. Enzimlerin Fonksiyonları

Enzimler, yaşamın devamı için gerekli olan metabolik reaksiyonların düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. Temel fonksiyonları arasında şunlar bulunur. Metabolik Hızlandırıcılar; Hücre içindeki enerji üretimi, sentez ve parçalanma reaksiyonlarını hızlandırır. Biyolojik Düzenleyiciler; Hücrel homeostazı korur. Savunma Mekanizmaları; Serbest radikalleri ve toksik molekülleri detoksifiye eder.

1.5.3. Enzimlerin Kullanım Alanları

Enzimler, yalnızca biyolojik süreçlerde değil, endüstriyel ve biyoteknolojik uygulamalarda da geniş bir kullanım alanına sahiptir. Gıda Endüstrisi; Peynir yapımı için rennet enzimi, meyve suyu berraklaştırıcılar. Tıp; Enzim bazlı teşhis kitleri ve tedavi yöntemleri. Biyoteknoloji; Atık yönetimi ve biyoyakıt üretimi. Nanoteknoloji; Gümüş nanopartiküllerin sentezinde biyokatalizör olarak enzimler kullanılmaktadır (Seil ve Webster, 2012).

1.5.4. Gümüş Nanopartiküller ve Enzimler

Lotus corniculatus çiçek ekstraktı gibi doğal kaynaklar, nanopartiküllerin yeşil sentezi için biyokatalitik özelliklere sahip olabilir. Bu süreçte, bitki enzimleri indirgeme ve stabilizasyon ajanı olarak görev yapar. Özellikle gümüş nanopartiküller, biyomedikal alanda antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleriyle dikkat çeker. Enzimlerin bu süreçte kullanımı, çevre dostu ve ekonomik üretim yöntemlerini destekler (Rai vd., 2009).

1.5.5. α -Glukozidaz Enzimi

α -Glukozidaz, kompleks karbonhidratların sindirimi sırasında glikozil kalıntılarının serbest bırakılmasını katalize eden bir enzimdir. Bu enzim, disakkaritler ve oligosakkaritlerde bulunan α -1,4-glikozidik bağları hidrolize ederek serbest glikoz molekülleri oluşturur. İnce bağırsak mukozasında bolca bulunur ve sindirim sırasında karbonhidratların glikoza dönüştürülerek enerji üretimine katkı sağlar (Berg vd., 2019).

α -Glukozidaz, ince bağırsakta karbonhidratların monosakkaritlere parçalanmasını katalize eden bir enzimdir. Bu enzim, yemek sonrası kan şekeri seviyelerinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. Ancak, bu enzimin aşırı aktivitesi, diyabet gibi metabolik bozukluklara yol açabilir (Yu vd., 2012).

Glikozidazlar, oligosakkaritlerde veya glikokonjugatlarda bulunan glikozidik bağların kırılmasını katalize eden enzimlerdir. Çeşitli glikozidazlar, şeker molekülündeki hidroksil gruplarının sayısına, konumuna veya konfigürasyonuna bağlı olarak glikozidik bağların kırılmasında spesifik bir işlev gösterir. Örneğin, α - ve β -glikozidazlar, terminal glikozun anomerik merkezde sırasıyla α - veya β -bağlantılar yoluyla bağlandığı glikozidik bağların kırılmasını katalize edebilir (Heightman vd., 1999).

Bu enzimlerin substratları için geçiş durumu yapısı, C–O bağının pseudoaksiyal bir yönelimine ve eğik bir konformasyona sahiptir. Bu durum, α - ve β -glikozidazlar arasındaki temel farkların, katalitik nükleofil ve iki karboksilik asit birimiyle temsil edilen katalitik proton vericisinin pozisyonlandırılmasıyla ilgili olduğunu göstermektedir.

Glikozidazların aktivitesi, çeşitli biyokimyasal süreçler için temel öneme sahiptir. Bu süreçler şunlardır:

- (i) Diyetle alınan polisakkaritlerin parçalanarak monosakkarit birimlerine dönüştürülmesi. Bu monosakkaritler, organizma tarafından metabolik olarak emilip kullanılabilir.
- (ii) Lizozomal glikokonjugat katabolizması ve glikoproteinlerin işlenmesi.
- (iii) Glikoproteinler veya glikolipidler içinde oligosakkarit birimlerinin biyosentezi.

EGlikoproteinlerin oluşumu, tetradeka-oligosakkarit $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ 'nin dolikil difosfattan (DolPP) yeni sentezlenen proteinin N-asparajinine aktarılmasını içerir. Bu işlem, oligosakkaril transferaz (OT) enziminin, endoplazmik retikulum membranının lümeninde gerçekleştirdiği bir süreçtir. Glikozidaz I ve II enzimleri, bu N-bağlı oligosakkaritin temel düzenleme adımlarına katılır ve sırasıyla Glc (1-2) Glc ve Glc (1-3) Glc bağlarını keserek $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ glikoproteininin üç glikoz terminal kalıntısını serbest bırakır.

Daha sonra, bu olgunlaşmamış glikoprotein, glikozidazlar ve transferazların eşzamanlı etkisiyle işlenir ve özgül glikokonjugatlar oluşur. Bu glikokonjugatlar, bağışıklık tepkisi, hücreler arası tanıma (örneğin, dölleme), hücrel farklılaşma, proteinlerin stabilitesi ve çözünürlüğü gibi biyolojik süreçlerde temel roller oynar. Ayrıca, iltihaplanma ve kanser gibi patolojik süreçlerde de önemlidir. Özellikle, alfa-glikozidaz, metastaz sürecinde tümör hücrelerinde bir rol oynayabilir.

1.6. Biyofilm

Biyofilm koloni olarak yaşayabilen ve çoğalabilen bakteriler gibi mikroorganizmalardan oluşan bir topluluktur. Başka bir deyişle biyofilmler canlı biyokütlelerdir. Biyofilmin yapısı koloninin hem korunmasına hem de genişlemesine olanak sağlar. Prokaryotlar ile ökaryotlar veya tek hücreli ile çok hücreli organizmalar arasında simbiyotik bir ilişkinin var olduğu yaygın bir bilgidir. Bu simbiyotik ilişkiler karşılıklı olarak faydalıdır. İnsan vücudu, bakteri, mantar ve virüslerden oluşan geniş ve karmaşık bir mikrobiyomdan oluşur. İnsan vücudundaki mikrobiyotanın çoğu gastrointestinal sistem, tükürük mukozası ve deride bulunur. Bu mikrobiyota doğuştan gelen bağışıklığa kadar çeşitli fizyolojik fonksiyonları kolaylaştırır. Bununla birlikte, belirli koşullar altında bu simbiyotik mikroorganizmaların büyümesi, kontrol edilemez ve biyofilm oluşumunu başlatan enfeksiyonlara yol açabilir.

Bakterilerin evriminden beri, bakteriler iki ayrı durumda var olmuştur: planktonik durum (serbest yüzen) ve sabit durum (bir yüzeye yapışmış) (Bjarnsholt vd., 2013). Bakteriler bu iki durum arasında farklı özellikler sergiler çünkü bir yüzeye bakteriyel tutunma birkaç gende hızlı değişikliğe sebep olur. Bu genler olgunlaşma ve ekzopolisakkarit (EPS) üretimiyle ilgilidir. Ekzopolisakkaritlere slime veya bakteriyel EPS de denir. Bakteriler bu değişimden dolayı koruyucu bir bariyer üretir. Bu bariyer bakterilerin canlı ve cansız yüzeylerde koloni oluşturduktan hemen sonra başlar (Bjarnsholt vd., 2013; Irie vd., 2012; Gupta vd., 2016). Bu bariyer, bakterileri konağın doğal savunma mekanizmalarından ve antibiyotikler gibi dış tehditlerden korur. Biyofilmler insan yaşamının bütün yönlerini etkiler, endüstriyel toplum sağlığından ekonomik etkiye enerji kullanımından ekipman bozulmasına, kontamine ürünlerden ve enfeksiyonlara kadar etkiler.

İleri teknolojilerin kullanımı, biyofilmlerin geçirgen su kanallarıyla hücre birikimleri ve toplanan slime birikimleri ile ekzopolisakkarit matriks içinde sarılmış karmaşık hücre popülasyonları olduğunu keşfetmiştir. Birçok insan hastalığı ve tıbbi cihazların kolonizasyonu, biyofilmlerde büyüyen mikroorganizmalarla bağlantılıdır ve bu mikroorganizmalar antimikrobiyal tedavilere karşı oldukça dirençlidir. Biyofilm oluşumu, tek tek bakteri hücrelerinin veya hücre kümelerinin ayrılması, endotoksin üretimi, konak bağışıklık sistemi gözetiminden artan kaçınma ve bağışıklık dirençli organizmaların ortaya çıkmasına elverişli koruyucu bir bariyerin kurulması gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla hastalık sürecini başlatır.

Bu konuya ilişkin modern anlayış, biyofilmleri, tek veya birden fazla bakteri türü, konak hücre ve hücresel yan ürünlerden oluşan, hücrelerin geri dönüşümsüz bir şekilde

alt tabakaya bağlı olduğu ve bakteriler tarafında üretilen hücre dışı polimerik bir maddeyle çevrili hareketsiz, karmaşık bir yapı olarak tanımlar. Nem ve besin sağlayan bir yüzey, biyofilm gelişimi için ideal bir ortamdır. Biyofilmler iyi, kötü veya nötr olabilir (Rose, 2023). Doğal ortamın parçası olan biyofilmler nötrdür, oysa enfeksiyondan sonra açık yaralarda büyüyen biyofilmler zararlıdır.

Biyofilmler, tüm mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların %70'inden sorumludur ve insanlarda sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyonlara önemli bir katkıda bulunur. Biyofilmin bir parçası olarak yaşayan mikroorganizma, kolektif iç birliği, kaynak yakalama ve antimikrobiyal tedaviye karşı hayatta kalma oranının artması gibi karakteristik özellikler gösterir. Artan hayatta kalma ve konak bağışıklık sisteminin kaçması, biyofilmleri kalıcı kronik enfeksiyonlardan sorumlu hale getirir (Cochrane vd., 1988). Biyofilm aktivitesi ve davranışının karmaşıklığı, bu yapının yol açabileceği tahribatlara karşı etkili bir çözüm geliştirmek için multidisipliner araştırmaları gerektirmektedir.

1.6.1. Biyofilmlerin oluşumu

Biyofilmin üç boyutlu mimarisinin oluşumu birkaç aşamalı bir süreçtir ve adsorpsiyon, yapışma, mikrokoloni oluşumu, olgunlaşma ve dispersiyonu içerir. Biyofilm yüzeyinin sulu bir ortamla (kan veya su gibi) katı-sıvı keşişimi, mikropların tutunması ve büyümesi için mükemmel koşulu sunar. Biyofilm kolonisindeki hücrelerin yakın ilişkisi, besin bulunabilirliğinde, gen alışverişinde ve çoğunluk algılamasında (QS) bir gradyanın gelişmesini teşvik eden koşulları yaratır.

1970'li yıllarda biyofilm oluşumunun mekanizmasını anlamak için yapılan çalışmalar mevcut araştırma araçlarıyla sınırlıydı. Gelişmiş enstrümantasyon ve teknolojilerin ortaya çıkışı, biyofilmlerin, mikroorganizmaların besinleri tutmalarına ve elverişsiz bir ortamda hayatta kalmayı garanti etmelerine yardımcı olan avantajlı bir ortam yaratmak için savunma kalkanı olarak kullanılan uyarlanabilir yapılar olduğunu ortaya çıkarmıştır (Sonderholm vd.,2017). Ayrıca, farklı mikroorganizmalar tarafından üretilen biyofilmler büyük oranda benzerliğe sahiptir, ancak aynı zamanda belirli bir türe özgü küçük özelliklere de sahip olabilirler (Gupta vd.,2016; Paharik ve Horswill, 2016; Veerachamy vd., 2014; Lebeaux vd., 2013). 21. yüzyılın başlarında yapılan çalışmalar, biyofilm oluşumunun doğal gler ve fizyolojik olaylar tarafından nasıl yönetildiğini açıklamaktadır (Gupta vd.,2016). Biyofilmin oluşumu ve gelişimi beş aşama ile karakterize edilir: (i) tek bakterilerin ilk tutunması (geri dönüşümlü ve geri döndürülemez), (ii) bakteriyel kümelenme, (iii) mikrokoloni oluşumu, (iv) olgunlaşma

ve (v) dağılma/ayırılma(Speziale ve Geoghegan, 2015; Gu vd., 2013; Juhlin vd., 2017; Klausen vd., 2003; Sauer vd., 2002).Yüzeyle yapışmaya yardımcı olan bakteriyel yapışkanların üretimi, ilk aşamanın ayırt edici özelliğidir.Herhangi bir yüzeyin ilk kolonizasyonu, serbest yüzen planktonik bakteriler tarafından gerçekleştirilir.Bu serbest yüzen canlılar yüzeye tutunur, çoğalır, hareketsiz hale gelir, ortama bağlı olarak çeşitli ek özellikler kazanır ve yüzeye kovalent olarak bağlanır.

1.6.2. Biyofilmlere Atfedilen Enfeksiyonlar

Bulaşıcı hastalıklar üzerine yapılan çeşitli çalışmalar biyofilmlerle bir ilişkiye işaret etmiştir (Costerton vd., 1999; Auinger vd., 2003; Hoiby vd., 2010; Yoon vd., 2013; Olson ve Hunstad, 2016; Diaz vd., 2011).Destekleyici tahminler, tüm bakteriyel enfeksiyonların yaklaşık %70'inin biyofilmle bağlantılı olduğunu ve hem araçlı hem de araçlı olmayan enfeksiyonlar olduğunu öne sürmektedir(Jamal vd., 2018).Araçlı olmayan enfeksiyonlar, kişinin kendi vücudunun bakterilerin tutunup EPS üretmesi için ideal nem ve diğer destek sistemlerine sahip uygun bir biyotik yüzey sağlaması nedeniyle meydana gelir. Örneğin, *P. aerobius* ve *Fusobacterium nucleatum*, ağız temizliği yetersiz olduğunda diş etini enfekte ederek periodontite neden olur (Lamont ve Jenkinson,1998). Dişin yüzeyinde gelişen biyofilmler, epitel hücrelerdeki kalsiyum geçişine müdahale ederek, ağırlıklı olarak kalsiyum ve fosfat iyonlarından oluşan mineralize bir biyofilm (plak veya tartar) oluşumuna neden olur (Overman, 2000). Kan dolaşımı yoluyla kemik metafizine aktarılan, biyofilmle ilişkili, araçlı olmayan bir diğer hastalık osteomyelittir (Yang vd.,2021). Bağışıklık sisteminin mikrop üzerindeki etkileri kemik dokusunun daha da dejenerasyonuna ve parçalanmasına neden olur (Yang vd., 2021). Ayrıca, diyabetli hastaların açık yaralarında büyüyen biyofilmlerin kronik hastalığa neden olduğuna inanılmaktadır (Watters vd., 2013). Aerobik bakteriler derin yaraların dış kısmında biyofilmler oluştururken, anaerobik bakteriler iç kısımları istila eder (Dowd vd., 2008; Bowler vd., 2001). Çok sayıda biyofilmle ilişkili mikroorganizma, orta kulak iltihabı, kronik prostatit, doğal kapak endokarditi, kistik fibroz ve periodontitis gibi rahatsızlıklardan sorumludur (Donlan ve Costerton, 2002). Biyofilmler: (a) biyofilm hücrelerinin veya hücre kitlelerinin ayrılması, kan ve idrar enfeksiyonlarına veya emboli oluşumuna yol açması, (b) hücrelerin biyofilm içindeki direnç plazmitlerini değiştirmesi, (c) hücrelerin antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılığının azalması, (d) bakteriler tarafından biyofilmle ilişkili endotoksin üretimi ve (e) dirençli konak bağışıklık sistemi gibi yollarla bulaşıcı hastalıklara yol açabilirler.

1.6.3. Biyofilmler ve İlaç Direnci

Biyofilmin yapısal özellikleri ve içerdği bakteriler antibiyotik direncinin gelişmesinden sorumludur. Biyofilmlerle ilişkili ilaç direnci, büyük ölçüde biyofilmler tarafından yönlendirilebilen oldukça ayrıntılı bir olgudur. Antibiyotikler, dezenfektanlar ve mikrop öldürücü maddeler biyofilmleri ve ilişkili enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılabilir. Biyofilmlerde yaşayan bakteriler, özellikle planktonik durumlarıyla karşılaştırıldığında ilaç direncinde, özellikle antibiyotik direncinde 10 ila 1000 kat artış gösterir (Mah, 2012).

Antimikrobiyal ajanların biyofilmler boyunca gecikmiş veya yetersiz difüzyonu, biyofilm mikrobiyal organizmalarının değişken büyüme hızı ve diğer işlevsel değişiklikler antimikrobiyal direncin gelişmesinden sorumludur. Planktonik durumdaki bakterilerin ilaçlardan kaçınmak ve direnç geliştirmek için bir araç olarak enzimler, dışarı akış pompaları veya mutasyonlar kullandığı bilinmektedir (Welch vd., 2005; Walsh, 2000; Beauclerk ve Cundliffe, 1987; Kumar vd., 2013; Lata vd., 2015; Magnet vd., 2001; Nikaido, 2003; Sharma vd., 2015; Sharma vd., 2019). Ancak, bu çalışmalar aynı zamanda biyofilmlerdeki geleneksel direnç mekanizmalarının antibiyotik direncinde bir rol oynama olasılığını da dışlamaz. Daha önce, seftazidime tekrar tekrar maruz bırakılan bir biyofilmden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa*'nın antibiyotiklere karşı geleneksel direnç formunu sergilediği gözlemlenmiştir (Liu vd., 2022). Bir biyofilm içinde, bir dizi farklı bileşen ilaçların etkinliğini azaltmak veya tamamen önlemek için birlikte çalışır ve bu da direnci daha da artırır. İlacın azaltılmış penetrasyonu (Gordon vd., 1988; Kumon vd., 1994; Mah ve O'Toole, 2001; Nichols vd., 1988; Shigeta vd., 1997; Stewart, 1998; Stewart, 1996), biyofilmin değiştirilmiş kimyasal mikro ortamı (de Beer vd., 1994; Prigent-Combaret vd., 1999; Tack ve Sabath, 1985; Tuomanen vd., 1986 ; Xu vd., 2000) ve spor oluşumuna benzer bir farklılaşma biçimi gösteren bir biyofilmdeki mikroorganizma alt grubu (Cochran vd., 2000; Das vd., 1998) gibi stratejiler, (Goto vd., 1999) hepsi bakteri biyofilm kolonilerindeki ilaç direnciyle bağlantılıdır (Davies, 2003).

Yavaş büyüyen popülasyonun toleransı ve kalıcıların varlığı nedeniyle antibiyotik tedavisine dayanabilen yüksek sayıda bakteri hücresinin korunması (Brown vd., 1988; Li vd., 2014), yüksek mutasyon oranı ve antimikrobiyal seçici baskının varlığı ve mutantlar arasında biyofilmlerin bölmeli yapısındaki yerel rekabet de biyofilmlerde antibiyotik direncinin gelişmesinin kolaylaşmasına katkıda bulunur.

İlaç direnci için bir diğer olası açıklama, biyofilm ilişkili bakterilerin daha yavaş büyüme hızıdır. Daha yavaş büyüme, antimikrobiyal ajanların daha yavaş alımına neden

olur ve bu da bakteri öldürme için suboptimal hücre içi ilaç konsantrasyonlarına yol açar.

Biyofilm mikroorganizmalarının antibiyotik direncine yönelik bir diğer yöntem ise, bakterinin direnç genleri edindiği bir süreç olan yatay gen transferidir (Mah, 2012).

1.6.4. Biyofilmleri Kontrol Etme Yöntemleri

Biyofilmle ilişkili enfeksiyonları tedavi etmek için antibiyotiklerin sık kullanılması sonucunda daha virülen, antibiyotiklere dirençli bakteriler ortaya çıkmaya başlamış ve bunları ortadan kaldırmak için son teknoloji tekniklerin yaratılmasını gerektirmiştir (Fleming ve Rumbaugh, 2017). Biyofilmleri etkili bir şekilde düzenlemek için bunların nasıl ortaya çıktığına dair eksiksiz bir anlayışa sahip olmak, etkili iletişim taktikleri benimsemek ve bu stratejileri uygulamaya koymak önemlidir (Hobley vd., 2015). Bakteriyel yapışmayı sınırlayacak yüzey tasarımı, ameliyat öncesi ve sonrası önlemler ve implantları antimikrobiyal ilaçlarla kaplamak, bakteriyel yapışmayı önlemek için sadece birkaç stratejidir (Veerachamy vd., 2014; Klemm vd., 2010).

Çeşitli antibakteriyel ajanların, diyet takviyelerinin, yüzey yapışmasını önleyici tedavilerin ve ortam koşullarındaki değişikliklerin kullanımı, bakteri büyümesini önleyebilir. Olgunlaşmamış bir biyofilmle karşılaştırıldığında, gelişmiş bir biyofilmi bozmak daha zordur. Gelişmiş biyofilmler için, biyofilm ayrışma promotörlerinin aktivasyonu, monoklonal antikor tedavisi, peptit bazlı aşılarda uygulanması ve standart temizleme süreçleriyle biyofilm mikroorganizmalarının ortadan kaldırılması dahil olmak üzere çeşitli yaklaşımlar kullanılmıştır. Olgunlaşmış biyofilmi parçalamak için fiziksel yaklaşımlar (ultrason, kayma gerilimi ve termal şok tedavisi dahil), biyolojik yaklaşımlar (anti-patojenik biyofilm ve fajlar gibi), kimyasal yaklaşımlar (nükleazlar, proteazlar ve galaktazlar gibi enzimlerin kullanımı dahil), tamamlayıcı stratejiler (enzimler ve faj kombinasyonları, dezenfektanlar ve aşındırıcılar kombinasyonları gibi) ve ayrılmaya karşı koruma yöntemleri kullanılır (örneğin, besin maddelerini ve QS sistemini düzensizleştirmek için çevresel faktörlerin kullanımı).

1.7. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivite, mikroorganizmaların büyümesini engelleyen veya onları öldüren kimyasal veya biyolojik maddelerin etkinliğini ifade eder. Bu maddeler, bakteriler, mantarlar, virüsler ve parazitler gibi patojen mikroorganizmalara karşı etkili olabilir. Antimikrobiyal ajanlar, enfeksiyonların tedavisi ve önlenmesinde önemli bir rol

oyunar ve bu nedenle tıp, tarım ve gıda endüstrisinde geniş bir kullanım alanına sahiptir (Hawkey, 2008).

Son birkaç yılda, nanoyapılı malzemeler (NMs), çeşitli bilim ve teknoloji alanlarında yapılan araştırma faaliyetlerinin artmasıyla birlikte önemli ölçüde geliştirilmiştir (Seil ve Webster, 2012). Boyuta bağlı özellikleri (10^{-9} ila 10^{-29} metre) nedeniyle nanoyapılı malzemeler, çeşitli rahatsızlıkların kontrolü veya tedavisi için nanomalzeme tabanlı biyomedikal teknolojilerin geliştirilmesinde umut verici malzemeler olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, bakterilerin boyutları (10^{-6} metre) ile nanopartiküllerin boyutları (10^{-3} metre) arasındaki küçük fark, nanopartiküllerin geniş bir mikroorganizma yelpazesine karşı potansiyel antimikrobiyal ajanlar olarak işlev görmelerine olanak tanımaktadır.

1.7.1. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesi

Gümüş nanopartiküller, çeşitli bakteri türlerine karşı olağanüstü güçlü antibakteriyel özellikler sergilemiştir (Rai vd., 2009).

Gümüşün, enzim aktivitesini ve membran işlevini bozarak çeşitli mikrobiyal türlere karşı geniş bir biyosit etkisi gösteren antiseptik bir ajan olarak işlev gördüğü gözlemlenmiştir. Gümüş iyonlarının bakteriyel membranları destabilize ederek geçirgenliği artırdığı ve bu durumun, bakterilerin hayati protein ve solunum enzimlerinin işlevlerinin engellenmesiyle sonuçlandığı belirtilmiştir. Bu süreç, bakterilerin nükleik asitlerinin (RNA ve DNA) replikasyonunun durmasına ve iyon taşıma işleminin engellenmesine neden olmaktadır.

Araştırmacılar, *E. coli* inhibisyon oranının AgNP konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğunu ve AgNP konsantrasyonunun bakterilerin büyümesini durdurmada temel bir rol oynadığını doğrulamıştır. *Coli* hücrelerinin, AgNP birikimi nedeniyle protein fonksiyonlarının ciddi şekilde zarar gördüğü ve tahrip olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesinin boyuta bağlı olduğu doğrulanmıştır; çünkü küçük boyutlu AgNP'ler (1-10 nm), bakterilerin hücre duvarlarıyla yüksek düzeyde etkileşim göstermiştir (Morones vd., 2005). Pal ve çalışma arkadaşları (2007), farklı morfolojilere (şekillere) sahip AgNP'lerin *E. coli* üzerindeki antibakteriyel aktivitesini incelemiştir. Araştırmacılar, kesik üçgen şeklindeki AgNP'lerin, küresel ve çubuk şeklindeki AgNP'lere kıyasla daha yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduğunu bildirmiştir.

İlginç bir şekilde, gümüş nanopartiküllerin (AgNP'ler) yüzey kimyası, AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesinde önemli bir rol oynamaktadır (Kvitek vd., 2008). Yüzeyin

rolünü tahmin etmek için Gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) üzerindeki yüzey kimyasını değerlendirmek amacıyla, sodyum dodesil sülfat (SDS), polivinilpirolidon (PVP 360) ve polioksietilen sorbitan monooleat (Tween 80) gibi çeşitli organik moleküller AgNP yüzeylerine fonksiyonlandırılmış ve bu nanopartiküllerin çeşitli bakteriler üzerindeki antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. 1.69–13.5 µg/mL konsantrasyonundaki AgNP'lerin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerini sergilediği ve AgNP'lerin antibakteriyel özelliklerinin hem bakteriyel türe hem de yüzey kimyasına bağlı olduğu gözlemlenmiştir.

Benzer şekilde, *Trianthema decandra* bitkisinden izole edilen doğal bir yüzey aktif madde kullanılarak, Au (altın) ve Ag (gümüş) nanopartiküllerin üretimi için tek potalı yeşil bir sentez yöntemi geliştirilmiştir (Geethalakshmi ve Sarada, 2013). Her iki nanopartikülün antibakteriyel davranışları, Kirby-Bauer yöntemi ile değerlendirilmiştir.

Ayrıca, Ahmad ve arkadaşları (2013), *Candida albicans* mantar hücre özütlerini kullanarak oldukça monodispers kristalin Au ve Ag nanopartiküllerin ekolojik dostu bir biyosentetik yöntemi geliştirmiştir. Üretilen Ag ve Au nanopartiküller sırasıyla 450 nm ve 540 nm'de maksimum emilim göstermiş ve özgül yüzey alanları 184.4 m²/g ve 18.9 m²/g olarak hesaplanmıştır. Araştırmacılar, bu nanopartiküllerin antibakteriyel davranışlarını *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde değerlendirmiştir. Bindhu ve Umadevi (2013), *Hibiscus cannabinus* yaprak özütü kullanarak AgNP'ler sentezlemiştir. Bu nanopartiküllerin antimikrobiyal özellikleri *Proteus mirabilis*, *E. coli* ve *Shigella flexneri* gibi çeşitli mikrobiyal türler üzerinde incelenmiştir. Bu çalışmada, 5 mM, 8 mM gibi farklı Ag⁺ iyon konsantrasyonları kullanılarak AgNP üretimi gerçekleştirilmiştir. 5.0 mM gibi düşük bir Ag⁺ iyon konsantrasyonu ile sentezlenen AgNP'lerin, diğer konsantrasyonlara göre daha yüksek düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterdiği ortaya konulmuştur. Bu durum, düşük Ag⁺ iyon konsantrasyonu kullanılarak daha küçük boyutlu AgNP'lerin oluşumunu sağladığını ve bu küçük boyutlu AgNP'lerin bakterilerin hücre duvarları ile daha etkili bir şekilde etkileşime girmesine olanak tanıdığını göstermektedir.

Bunların yanı sıra, AgNP'ler (gümüş nanopartiküller) pahalı ve toksik kimyasallar içermeyen çevre dostu yaklaşımlarla sentezlenmiştir (Ravindran vd., 2013). Bu yöntemlerde, AgNP'ler mikrobiyal türlerden elde edilen hücre özütleri veya bitki özütleri kullanılarak şablon olarak üretilmiştir. Bu yeşil sentez yaklaşımları, pahalı ve toksik kimyasalların kullanımını etkili bir şekilde değiştirmektedir. Genel olarak, çevre dostu AgNP sentez protokolleri şunları içerir: (1) doğal kaynakların şablon olarak kullanımı, (2) çözücü ortam ve (3) AgNP'lerin toksik olmayan kimyasallarla stabilize

edilmesi (Kim vd., 2009). Örneğin, AgNP'ler deniz makroalglerinden (*Jania rubens* (Jr), *Pterocladia capillacea* (Pc), *Colpomenia sinuata* (Cs), ve *Ulva fasciata* (Uf)) elde edilen polisakkaritler kullanılarak şablon olarak sentezlenmiştir (El-Rafie vd., 2013). Üretilen AgNP'ler Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. AgNP'ler, hücresel protein işlevlerini inhibe ederek bakterilerin hücre duvarlarına önemli ölçüde zarar vermiştir. Araştırmacılar, Gram-pozitif bakterilerin daha az miktarda Ag⁺ iyonu aldığını, Gram-negatif bakterilerin ise daha fazla AgNP aldığını ve bu durumun AgNP'ler ile Gram-negatif bakteriler arasındaki güçlü etkileşimleri gösterdiğini belirtmiştir.

Aktif çamur içindeki bakteriyel topluluklar üzerinde 1 mg/L AgNP kullanılarak yapılan antibakteriyel deneyler, AgNP'lerin antibakteriyel özelliklerini değerlendirmiştir. Bu değerlendirme, 16S rRNA genine dayalı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve denatüre gradyan jel elektroforezi (DGGE) yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar, aktif çamur içeren mikroorganizmaların AgNP'lere karşı yüksek hassasiyet gösterdiğini ve bakteriyel hücre sayısının heterotrofik plaka sayımı (HPC) yöntemi ile tahmin edildiğini ortaya koymuştur.

Fonksiyonel AgNP'ler, spektroskopik (UV-görünür, floresans, nükleer manyetik rezonans ve Fourier dönüşümü kızılötesi) ve elektron mikroskopi (taramalı elektron mikroskobu ve geçirgen elektron mikroskobu) teknikleri ile karakterize edilmiştir.

Kitosan türevi ile kapsüllenmiş AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesi, bakteriyel (*E. coli* ve *S. aureus*) ve fungal (*Aspergillus terreus* ve *Aspergillus flavus*) türler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, *S. aureus* ve *E. coli* bakteriyel türleri dökme plak yöntemiyle agar plaklarında büyütülmüştür. Diskler etrafında oluşan berrak zonlar, fonksiyonel kitosan kapsüllü AgNP'lerin antibakteriyel özelliklerini açıkça göstermiştir. İnhibisyon zonlarının çapları *S. aureus* için 206 ± 0.53 nm, *E. coli* için ise 206 ± 0.45 nm olarak bulunmuştur.

Aynı grup, AgNP'leri sığır serum albümini (BSA) ile kapsüllemiş ve bunların farklı bakteriyel türler (*S. aureus*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) üzerindeki antibakteriyel özelliklerini incelemiştir (Mathew ve Kuriakose, 2013 a, b). Bu yöntemde, AgNP'ler, dodesilamin indirgeme ajanı kullanılarak AgOAc'nin indirgenmesi ile üretilmiştir. Daha sonra üretilen AgNP'ler BSA ile kapsüllenmiş ve agar difüzyon yöntemiyle antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. Diskler etrafında oluşan berrak zonlar gözlemlenmiş ve inhibisyon zonlarının çaplarının çeşitli bakteriyel türler için 24-25 mm aralığında olduğu belirlenmiştir. Bu durum, BSA-AgNP'lerin antibakteriyel özelliklerini göstermektedir.

Suman ve arkadaşları (2013), *Morinda citrifolia* kök özütünü şablon olarak kullanarak AgNP'lerin (gümüş nanopartiküller) üretimi için çevre dostu bir yöntem geliştirmiştir. Elde edilen AgNP'ler, 413 nm'de bir emilim zirvesi göstermiş, küresel şekle sahip olmuş ve ortalama çapları 30–55 nm arasında değişmiştir. Bu nanopartiküller, HeLa hücreleri üzerinde mükemmel sitotoksikite sergilemiştir.

Gupta ve çalışma arkadaşları, *Psidium guajava* L. bitkisini şablon olarak kullanarak AgNP'lerin tek adımlı yeşil sentezi üzerine bir yöntem tanımlamıştır (Gupta vd., 2014). Hazırlanan AgNP'ler, 487 nm'de bir yüzey plazmon rezonans (SPR) bandı göstermiş ve ortalama çapları yaklaşık 60 nm olarak belirlenmiştir. Fitokimyasallar tarafından korunan AgNP'ler, *Pseudomonas diminuta*, *E. coli*, *Mycobacterium smegmatis*, *S. aureus* ve *C. albicans* gibi çeşitli bakteriyel türler üzerinde mükemmel antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Bioaktif organik moleküllerin (flavonoidler, karbonhidratlar, terpenoidler ve polifenoller) AgNP yüzeylerini koruyucu ligandlar olarak işlev gördüğü ve bu sayede antimikrobiyal aktivitelerini yüksek düzeyde artırdığı gözlemlenmiştir (Burkowska-But vd., 2014; Perni vd., 2014; Shankar vd., 2014).

Kumar ve ekibi, *Alternanthera dentata* sulu özütü kullanarak AgNP üretimi için bir yeşil sentez yöntemi geliştirmiştir (Kumar vd., 2014). Elde edilen AgNP'ler, 430 nm'de bir SPR bandı göstermiş ve *K. pneumonia*, *E. coli* ve *Enterococcus faecalis* gibi çeşitli bakteriyel türler üzerinde antibakteriyel aktivite çalışmaları yapılmıştır.

Başka bir çalışma, AgNP üretimi için *P. guajava* yaprak özütünün umut verici bir şablon olarak kullanılmasını incelemiştir (Parashar vd., 2011). Hazırlanan AgNP'ler, spektroskopik ve elektron mikroskopi teknikleri ile karakterize edilmiştir. Elde edilen AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesi *E. coli* üzerinde test edilmiştir. Ayrıca, AgNP'lerin sinerjik antibakteriyel özellikleri *E. coli*, *S. aureus*, *P. diminuta*, *C. albicans*, *M. smegmatis*, *K. pneumonia*, *B. subtilis* ve *F. oxysporum* gibi çeşitli mikrobiyal türler üzerinde değerlendirilmiştir.

Bu çalışmalar, çeşitli bitki özütlerinden üretilen AgNP'lerin, geniş bir mikrobiyal tür yelpazesine karşı antimikrobiyal aktiviteler sergilediğini ortaya koymuştur.

1.8. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Nanopartiküllerin (NP'ler) morfolojik ve topografik özellikleri, biyoaktif özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğundan, bu özelliklerin araştırılması ve değerlendirilmesi büyük bir önem taşımaktadır ve bilim dünyasında geniş bir ilgi uyandırmaktadır. Bu özellikler arasında NP'lerin boyutları, şekilleri, dağılımları,

lokalizasyonları, topaklanma eğilimleri, yüzey morfolojileri, yüzey alanları ve gözeneklilikleri bulunmaktadır. NP'lerin bu özelliklerini karakterize etmek için kullanılan başlıca teknikler listelenmiştir.

1.8.1. UV-Vis Spektrofotometrisi

UV-Vis spektroskopisi, nanopartiküllerin (NP'ler) optik özelliklerini karakterize etmek için kullanılan basit ve yaygın bir yöntemdir ve bu yöntem, elektronların temel enerji seviyesinden uyarılmış enerji seviyesine geçişlerini ölçerek çalışır (Skoog vd., 2019).

Nanopartiküller, genellikle UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi ile doğrulanır ve 300-800 nm aralığındaki dalga boylarında analiz edilir. Belirli koşullarda sentezlenen metalik nanopartiküller, bu spektrum aralığında güçlü bir absorpsiyon göstererek kolayca tespit edilebilir (Khan vd., 2022). Çalışmalar, 200-800 nm arasındaki dalga boylarında yapılan emilim ölçümlerinin, 2-100 nm boyutlarındaki nanopartiküllerin sınıflandırılmasında etkili olduğunu göstermektedir (Begum vd., 2022).

Örneğin, *Trichoderma viride* Pers. tarafından üretilen gümüş nanopartiküllerin optik özelliklerini karakterize etmek için UV-Vis spektrumu kullanılmıştır. Bu analiz, gümüş nanopartiküller için karakteristik bir bant olan 405 nm dalga boyunda bir yüzey plazmon rezonans bandı tespit etmiştir. Çözeltideki gümüş nanopartikül konsantrasyonunun artmasıyla birlikte bu bandın yoğunluğu da reaksiyon süresi boyunca artmıştır (Fayaz vd., 2010).

1.8.2. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Bu yöntem, bir malzemenin kızılötesi ışıqla ısınlaması ve bu ışığın malzeme tarafından emilen ya da iletilen kısmının kaydedilmesine dayanır. FTIR analizinde, numuneye kızılötesi (IR) ışınlar gönderilir; ışığın bir kısmı numune tarafından emilirken, geri kalanı içinden geçer. Bu işlem sonucunda elde edilen spektrum, dalga boyunun bir fonksiyonu olarak absorpsiyon veya iletim değerlerini gösterir ve bu veriler, numuneyi karakterize etmek için kullanılır (Rozali vd., 2023).

FTIR, özellikle organik malzemelerin yüzey kimyasal bileşimlerini analiz etmek veya nanopartiküllerin işlevselleştirilmesini incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, saflık gerektiren durumlarda kirleticilerin tespitinde de etkili bir yöntemdir (Chevali ve Kandare, 2016).

1.8.3. X-ışını Kırınımı (XRD)

XRD (X-Işını Kırınımı), bir materyalin X-ışınları ile ışınlanması ve materyalden yayılan X-ışınlarının yoğunluğunun ve saçılma açılarının ölçülmesi prensibine dayanır (Epp, 2016). Bu teknik, malzemelerin atomik yapısını belirlemek için kullanılır ve hem niteliksel hem de niceliksel analizlere olanak tanır. XRD, kristal yapıyı belirlemek, kristal boyutlarını hesaplamak ve nanopartiküllerin doğruluğunu değerlendirmek için etkili bir yöntemdir (Habeb Rahuman vd., 2022).

1.8.4. Enerji dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX)

Bu teknik, bir numunenin elektron ışınıyla ışınlanması prensibine dayanmaktadır. Elektron ışını, numunenin yüzeyine çarptığında, iç kabuk elektronlarını yerinden çıkarır ve bu boşluğu doldurmak için dış kabuk elektronlarının geçişi sırasında X-ışınları üretilir. Her elementin kendine özgü atomik yapısı, karakteristik bir X-ışını emisyon modeli oluşturur. Bu nedenle, EDX (Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi), nanopartikül sentezinin doğrulanması ve elementel içerik analizinin gerçekleştirilmesi için kullanılmaktadır (Groarke vd., 2021).

EDX'in dezavantajı, ortaya çıkan spektrumların yalnızca niteliksel bileşim bilgisi sağlamasıdır. Bununla birlikte, spektrumda oluşan zirve yoğunlukları, bir elementin numunede görece bolluğuna dair bir tahmin sunabilir (Nasrollahzadeh vd., 2019).

1.8.5. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)

TEM (Geçirgen Elektron Mikroskobu), iki boyutlu görüntüler sağlayarak nanopartiküllerin boyut, şekil, yerleşim, dağılım ve aglomerasyon durumları hakkında bilgi sunar (Khan vd., 2019). Bu teknik, çok ince bir elektron ışını kullanarak, numunenin çok ince bir kesitine odaklanır. Elektronlar numuneden geçerken, saçılma veya nüfuz etme durumlarına bağlı olarak mikroskobun altındaki floresan ekranda bir görüntü oluşturur. Elektron yoğunluğundaki farklılıklar kontrast oluşturarak numunenin ayrıntılı bir görüntüsünü ortaya çıkarır. TEM'deki kontrast, elektronların numuneyle olan etkileşimlerinden kaynaklanır ve bu etkileşimler detaylı görüntülemeyi mümkün kılar (Egerton, 2005).

TEM, yüksek çözünürlükte görüntüler sunar ve birçok spektrometrik teknikle birleştirilerek detaylı karakterizasyon yapılmasına olanak tanır. SEM'e (Taramalı Elektron Mikroskobu) kıyasla, nano boyuttaki nesnelerin morfolojisi hakkında daha fazla veri sağlayabilir. Ancak, TEM ile çalışma sırasında kullanılan numunelerin çok ince hazırlanması gerektiğinden, bu süreç önemli bir dezavantaj oluşturur. Ayrıca TEM,

seçilmiş alan elektron kırınımı (SAED) adı verilen bir yöntemle nanopartiküllerin kristal yapısının karakterizasyonu için de kullanılır. Bu yöntemde, elektron ışını belirli bir numune alanına odaklanır ve kırınımına uğrayan elektronlardan elde edilen model kristal yapıyı incelemek için kullanılır.

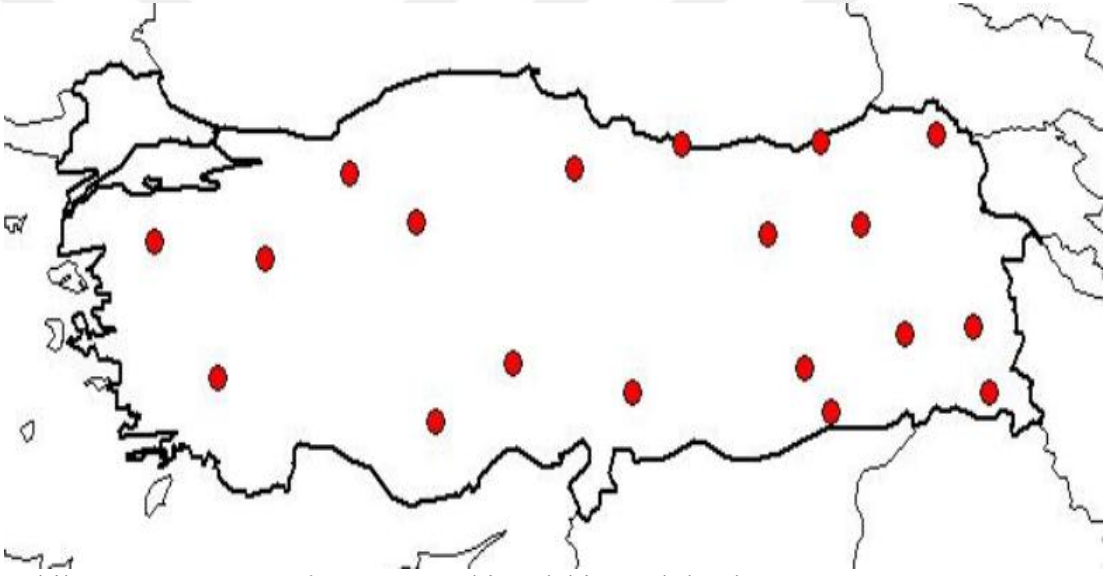
1.9. *Lotus corniculatus* L. (Gazelboynuzu)

Lotus corniculatus (Gazelboynuzu) baklagiller familyasına ait bir bitki türüdür. Dünyanın çeşitli bölgelerinde (Kuzey Amerika, Brezilya, Arjantin, Şili, Uruguay, Hindistan, Avustralya, Yeni Zelanda ve Türkiye gibi) yayılış göstermektedir (Larsen, 1958; Urbanska, 1984). Halk arasında ‘kuş ayağı’ veya “gazelboynuzu” olarak bilinmektedir. Boyu 10- 40 cm arasında değişir ve çiçeklenme zamanı Haziran - Ağustos ayları arasındadır. Yem bitkisi olarak kullanılır. *Lotus Corniculatus*, genellikle yüksek flavonoid içeriğe sahip olduğu bilinir. Bu yüzden tıbbi alanda kullanımı oldukça yaygındır. Astringent (yeşil çayın sıkılaştırıcı etkisi gibi etkiye sahip), idrar söktürücü, antifungal, antipiretik, ve kardiyotonik etkilerinin olduğu bilinmektedir (Sridhar ve Bhat, 2007). Çiçeklerinin antispazmodik ve sakinleştirici etkisi olduğu bildirilmektedir (Chiej, R., 1984). Ayrıca kök parçalarının gaz giderici (karminatif) ve ateş düşürücü etkisinin olduğu rapor edilmiştir (Duke, 1992; Rafiq vd., 2013).





Şekil 9. *Lotus corniculatus* (Gazelboynuzu) bitkisinin görüntüleri



Şekil 10. *Lotus corniculatus* 'un Türkiye'deki genel dağılımı

Bu bitki, ot, silaj ve örtü bitkisi olarak yetiştirilmekte olup, toprak yapısını iyileştirme ve azot fiksasyonu yapma özellikleri nedeniyle tarımsal sürdürülebilirlik açısından da önem taşır. Ayrıca gazal boynuzunun çiçeklerinde bulunan biyoaktif bileşenler, antioksidan, antimikrobiyal ve diğer biyolojik aktiviteler açısından değerlidir (Açıkgöz, 2020).

Lotus corniculatus çiçek ekstraktı, son yıllarda nanopartikül sentezinde çevre dostu bir indirgeme ve stabilizasyon ajanı olarak kullanılmaktadır. Bitkinin çiçeklerinde bulunan polifenoller, flavonoidler ve tanenler gibi doğal bileşikler, nanopartiküllerin biyosentezinde aktif rol oynamakta ve üretilen nanopartiküllerin biyolojik aktivitesini artırmaktadır (Yavuz ve Erdemir, 2020).

Bu çalışmanın amacı, *Lotus corniculatus* çiçek ekstraktı kullanılarak gümüş nanopartiküllerin yeşil sentez yöntemiyle üretimi ve bu nanopartiküllerin biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın hedefleri arasında, nanopartiküllerin antimikrobiyal, antibiyofilm ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi, çevre dostu sentez yöntemlerinin etkinliğinin ortaya konulması ve bu yöntemlerin tıbbi ve endüstriyel alanlardaki potansiyel uygulamalarının değerlendirilmesi yer almaktadır. Bu çalışma, hem sürdürülebilir nanopartikül üretim teknolojilerine hem de bitkisel kaynaklı biyomedikal ürünlerin geliştirilmesine katkı sunmayı hedeflemektedir.



2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kullanılan Cihazlar

Tez çalışmasında, Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Laboratuvarında mevcut malzemeler ve cihazlar kullanılmıştır. Kullanılan cihazlar ve cihazların markaları Tablo 4’ te verilmiştir.

Tablo 4. Çalışmada kullanılan cihazlar ve markaları

CİHAZIN ADI	MARKASI
Mikropipet	Eppendorf (100-1000 µl)/(1000-5000 µl)
Mikropipet	Transferpette (10-100 µl)/(100-1000 µl)
Buzdolabı (+4 °C)	Beko
pH metre	HANNA instruments
Analitik Terazî	KERN ABJ-NM/ABS-N
Vorteks Karıştırıcı	Heidolph
Magnetik Karıştırıcı	IKA® RH Basic 2
UV-Vis Spektrofotometre	SHIMADZU
Öğütücü (Blender)	Waring Commercial
Evaporatör	Heidolph

2.2. Kullanılan Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kimyasallar ve kimyasalların satın alındıkları firmaların ticari isimleri Tablo 5’ te gösterilmiştir.

Tablo 5. Kimyasallar ve markaları

MADDE ADI	MARKASI
Etanol	ISO-Lab
Metanol	ISO-Lab
DPPH	Aldrich
TPTZ	Sigma
FeCl ₃	Merck
Amonyum Asetat	Merck
Alüminyum Nitrat	Sigma Aldrich
Folin-Ciocalteu	Merck
Na ₂ CO ₃	Sigma Aldrich
α-glukozidaz	Sigma Aldrich
4-Nitrophenyl-α-D-glucopyranoside	Biosynth Carbosynth
Troloks	Acros Organics
Gallik Asit	Sigma Aldrich

Kuarsetin	Merck
-----------	-------

2.3. Kullanılan Reaktifler ve Hazırlanışları

Özellikle antioksidan aktivite testlerinde kullanılan reaktif çözeltiler ve bu çözeltilerin hazırlanışları Tablo 6’ da verilmiştir.

Tablo 6. Kullanılan bazı reaktifler ve hazırlanışları

ÇÖZELTİLER	HAZIRLANIŞI
100 µM DPPH reaktifi	1.97 mg DPPH 50 ml metanol’de çözünür.
(A) 300 mM Asetat Tamponu	A çözeltisi için, 2.586 ml der. asetik asite 40 mL saf su ve 90 mL metanol ilave edilir. Hazırlanan 0.5 M NaOH çözeltisi ile pH değeri 3.6’ya ayarlanır. Son hacim saf su ile 150 ml’ye tamamlanır.
(B) 10 mM TPTZ	B çözeltisi için, 0.0468g TPTZ, 100 mM ve 6 mL HCl’de çözünür. Üzerine metanol eklenir.
(C) 20 mM FeCl ₃	C çözeltisi için, 0.0486g FeCl ₃ 6 mL saf suda çözünür. Sonra üzerine metanol ilave edilir.
FRAP Reaktifi	A, B ve C çözeltileri sırasıyla; 10:1:1 oranında karıştırılır. Toplam hacim A+B+C= 180 mL’ye tamamlanmış olur.
0.2 N Folin-Ciocalteu Reaktifi	0.2 N reaktif saf su ile 1:10 oranında seyreltilerek hazırlanır.

2.4. *Lotus corniculatus* Ekstraktının Hazırlanışı

İlk olarak toplanmış ve kurutulmuş olan *Lotus corniculatus* bitkisinin çiçek kısımları blenderdan geçirilerek toz haline getirildi. Öğütülen bitkinin çiçek kısmından hassas tartıda 20 gr tartıldı ve daha sonra üzerine 300mL saf su eklenerek karıştırıcıda 24 saat, 27 °C de karıştırıldı. Karıştırma sonunda ekstrakt süzülerek berrak çözelti elde edildi. Süzme işlemi iki kez yapılmıştır. Ekstrakt daha sonra biyolojik aktivite testlerinde ve nanopartikül üretme işleminde kullanılmak üzere kurutularak muhafaza edilmiştir. Ekstraksiyon sürecine ait görseller şekil 11’de verildi.



Şekil 11. Bitki ekstraksiyon aşamaları

2.5. Gümüş nanopartikülün (AgNPs) Sentezi

İlk olarak gümüş nitrat çözeltisini hazırladık. 10 mM, 90 mL gümüş nitrat çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 10ml bitki ekstraktından yavaş yavaş ekledik. Renk değişimini gözlemledik. Ekstraktın eklenmesi tamamlandıktan sonra 4 saat daha magnetik karıştırıcıda karıştırma işlemine devam edildi. Gümüş nanopartikülün oluşup oluşmadığı spektrofotometrede kontrol edildikten sonra numuneler endorflara konularak 12000 rpm de 10 dk. santrifüj edildi. Elde edilen süprnatan kısmın tamamen arındırılması için 12000 rpm de 10 dk. iki kere saf su ile işlem tekrar edildi. Son olarak elde edilen gümüş nanopartikül tek tüpte toplanarak kurutmaya bırakıldı. Böylece gümüş nanopartikül üretimi yapılmış oldu.



Şekil 12. Bitkiden gümüş nanopartikül sentez aşamaları

2.6. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

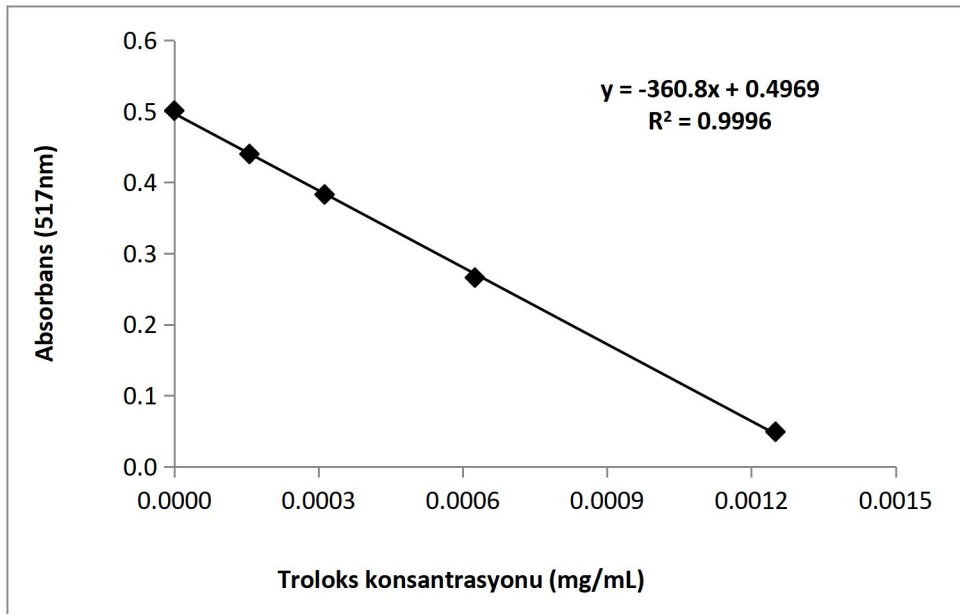
2.6.1. DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini

DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikali ticari olarak satın alınabilen bir serbest radikal olup 517 nm’de maksimum absorbands göstermektedir. Antioksidanlarla muamele, DPPH ’tan kaynaklanan mor rengin şiddetinin azalmasına ve absorbandsın düşmesine neden olmaktadır (Brand-Williams, 1995). Çalışmada DPPH radikalının 100 μM ’lık metanolik çözeltisi kullanılmıştır. Ayrıca çalışma da üç paralel olacak şekilde ve numune-reaktif körü de çalışıldı. İlk olarak, daha önce konsantrasyonu belirlenen bitki ekstraktı ve gümüş nanopartikülle ön deneme yapılarak bu test için numunelerin başlangıç konsantrasyonları belirlendi. 750 μl numune çözeltileri üzerine aynı hacimde 100 μM ’lık DPPH radikal çözeltisi ilave edildi. 50 dk. inkübasyon süresi sonunda çözeltilerin absorbands değerleri 517 nm’de belirlendi.



Şekil 13. DPPH radikal temizleme aktivitesi numune ve standartların pipetleme görüntüsü

Numunelerin DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikal temizleme aktivitesi belirlenirken standart kalibrasyon grafiği için troloks antioksidan standardı 5 farklı konsantrasyonda (0.005 mg/ml'den başlayarak) da çalışıldı. Elde edilen standart kalibrasyon grafiği de Şekil 14'te gösterilmiştir.



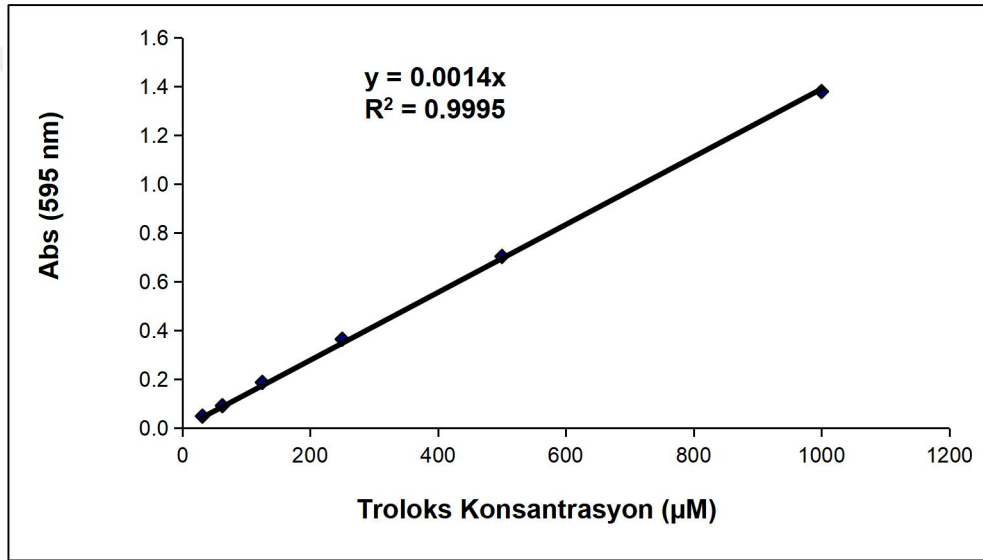
Şekil 14. Troloks standart kalibrasyon grafiği

Farklı konsantrasyondaki numuneler ile reaksiyona giren DPPH radikalinin absorbansındaki değişim ölçülerek, absorbanslara karşılık gelen konsantrasyon

değerleriyle grafik çizildi. Daha sonra $y=ax+b$ denkleminde DPPH konsantrasyonunu yarıya düşüren numune miktarı mg/mL cinsinden belirlendi. Elde edilen sonuçlar SC_{50} değeri olarak ifade edildi (Düşük SC_{50} değerleri daha yüksek radikal temizleme potansiyelini gösterir).

2.6.2. Demir (III) İndirgeme/ Antioksidan Güç (FRAP) Tayini

Benzie ve Strain, tarafından geliştirilen FRAP yönteminde *Lotus corniculatus* çiçek ekstraktı, ekstraktan üretilen gümüş nanopartikül ve karşılaştırma için antioksidan standart olan Troloks® (6 farklı konsantrasyonda seyreltilerek, başlangıç konsantrasyonu 1000 μ M) çalışıldı (Şekil 15) (Benzei ve Strain, 1996).



Şekil 15. FRAP antioksidan aktivite testi için farklı konsantrasyonlarda çalışılan troloks antioksidan standardının kalibrasyon grafiği

Öncelikle çalışmada pipetleme üç paralel olacak şekilde 50'şer μ L numune ve standart çözeltileri tüplere aktarıldı. Reaktif körü tüplerine 50'şer μ L numune çözücülerini ve numune körü tüplerine ise numune çözeltilerinden 50'şer μ L aktarıldıktan sonra FRAP çözücüsünden (%60 metanol-saf su) 1,5 ml eklendi. Daha sonra numune körü tüpleri dışındaki tüplere 1,5 ml taze hazırlanmış FRAP reaktifi eklendi. Tüpler vortekslenerek 20 dakika bekletildi. 20 dakika sonunda absorbans değerleri 595 nm'de belirlendi. Sonuçlar standart antioksidan madde olan Troloks® ile karşılaştırılarak μ M TEAC cinsinden hesaplandı.

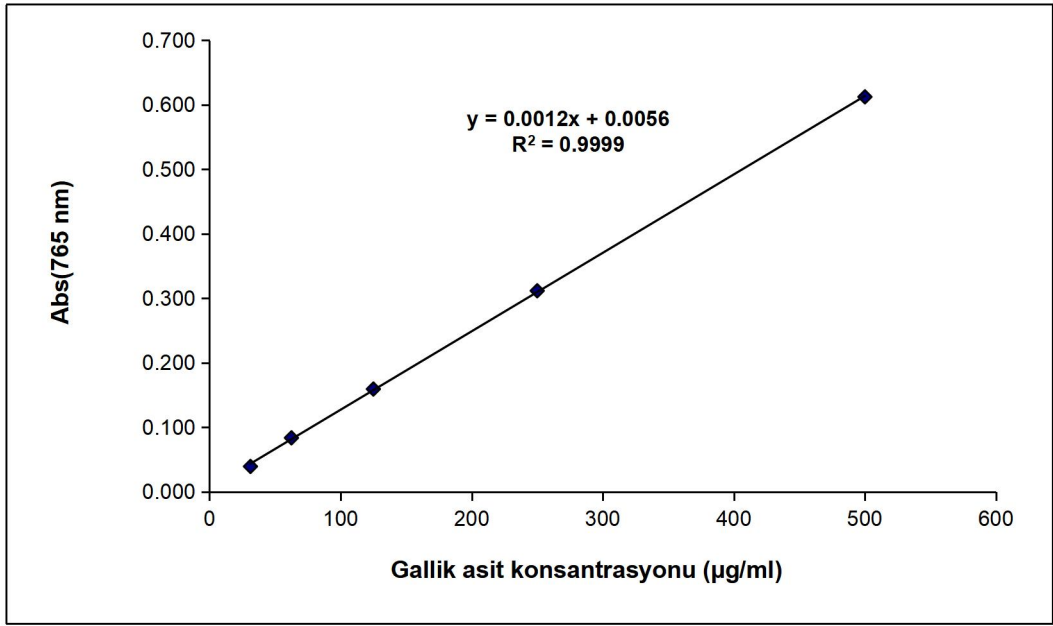


Şekil 16. Demir (III) İndirgeme/ Antioksidan Güç numune ve standart pipetleme görüntüsü

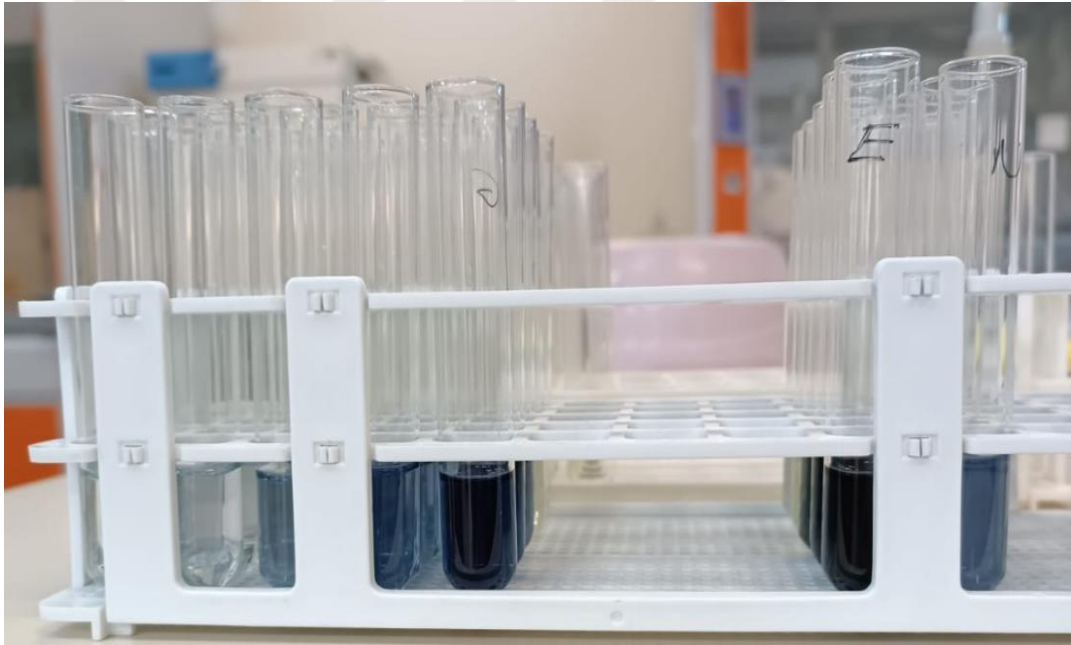
2.6.3. Toplam Fenolik İçerik (TPC)

Toplam fenolik içerik Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak Slinkard ve Singleton yöntemine göre bazı modifikasyonlar yapılarak belirlendi (Slinkard ve Singleton, 1977). Yöntem de öncelikle 50 μL numune çözeltileri, saf su (2.5 mL) ile seyreltildi ve üzerlerine, Folin-Ciocalteu reaktifi (0.2 N ve 250 μL) eklendi. Daha sonra karışıma %7.5'lik ve 750 μL Na_2CO_3 ilave edildi. Son olarakta karışımların hepsi vortekslendi. Hazırlanan tüpler 2 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 765 nm de absorbans değerleri belirlendi.

Karşılaştırma yapmak amacıyla farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit (500-250-125-62.5-31.25 $\mu\text{g/mL}$) antioksidan standardı kullanılarak, standart kalibrasyon grafiği çizildi (şekil 17). Bu grafikten elde edilen doğrunun fonksiyonu kullanılarak numunelerdeki fenolik bileşik miktarları gallik asit eşdeğeri (GAE $\mu\text{g/mL}$) cinsinden hesaplandı.



Şekil 17. Toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesinde farklı konsantrasyonlarda çalışılan gallik asit standart kalibrasyon grafiği



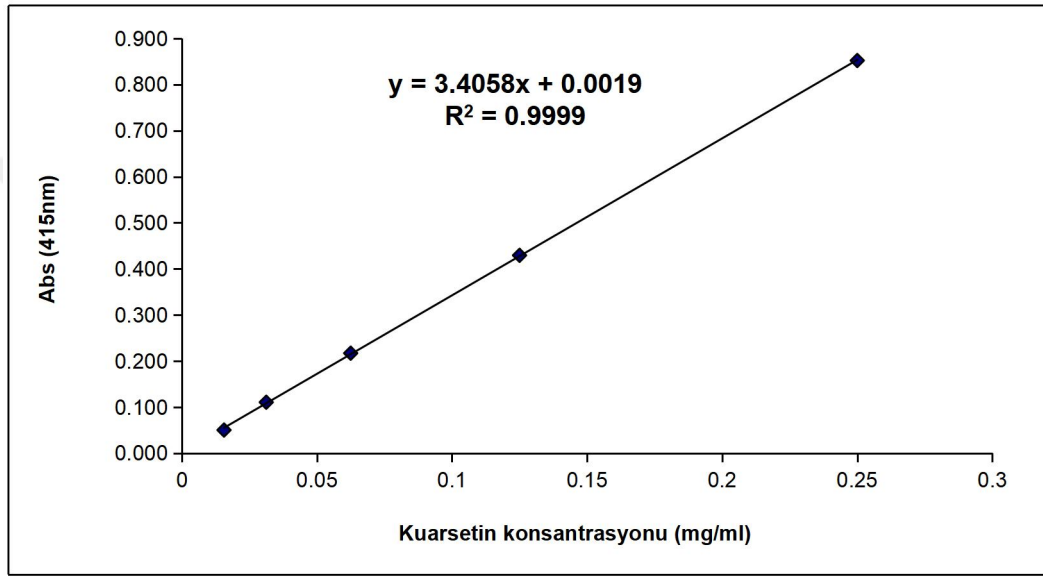
Şekil 18. Toplam fenolik içerik numune ve standart pipetleme görüntüsü

2.6.4. Toplam Flavonoid İçerik (TFC)

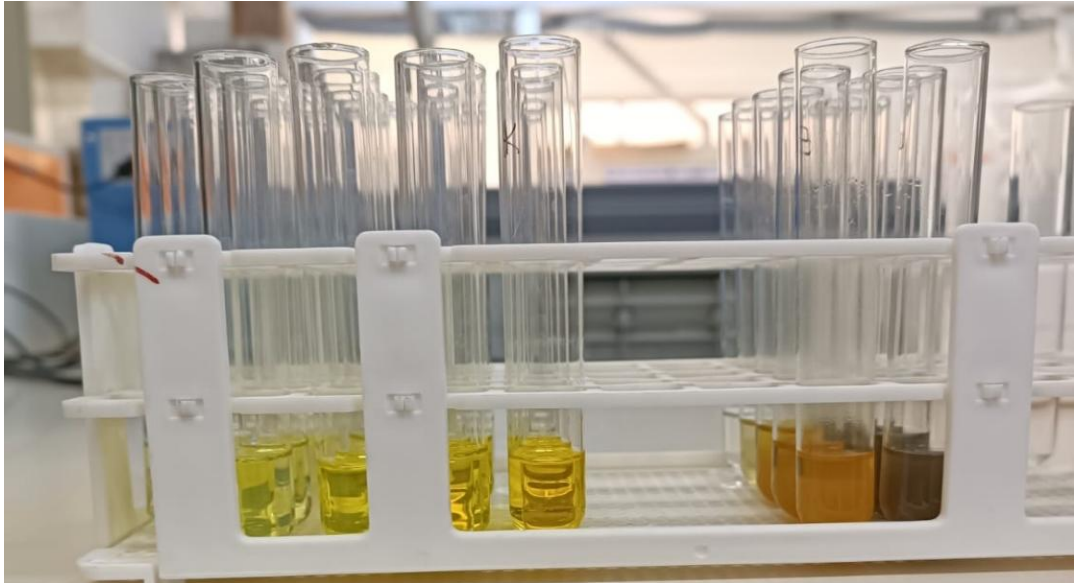
Bitki çiçek ekstraktı ve gümüş nanopartikülün flavonoid tayini 2000 yılında düzenlenen bir yöntemle yapıldı (Fukumoto ve Mazza 2000). Diğer yöntemlerde olduğu gibi pipetleme üç paralel olacak şekilde yapıldı. Aynı zamanda numune ve reaktif körleri de çalışıldı. Çalışmada öncelikle eşit hacimlerde numuneler pipetlendi, daha sonra bütün tüplere eşit hacimde metanol eklendi. Son olarakta numune körü hariç bütün tüplere sırasıyla, 1M $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (amonyum asetat) ve %10'luk

$\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (alüminyum nitrat) ilave edildi. 40 dk. inkübasyon süresi sonunda bütün tüplerin, 415 nm’de absorbans değerleri belirlendi.

Antioksidan standart olarak kuersetin antioksidan standardı (Numunelerle aynı zamanda ve aynı şekilde çalışıldı) kullanıldı. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan kuersetin antioksidan standardının (Başlangıç konsantrasyonu 0.25 mg/mL) absorbans değerleri 415 nm’de okunarak, konsantrasyona karşılık gelen absorbans değerleri ile grafik çizildi (Şekil 19). Çizilen grafiğe göre ekstraktların toplam flavonoid madde miktarı Kuersetin eşdeğeri (KAE $\mu\text{g}/\text{mL}$) olarak belirlendi.



Şekil 19. Toplam flavonoid madde içeriğinin belirlenmesinde farklı konsantrasyonlarda çalışılan kuarsetin standart kalibrasyon grafiği

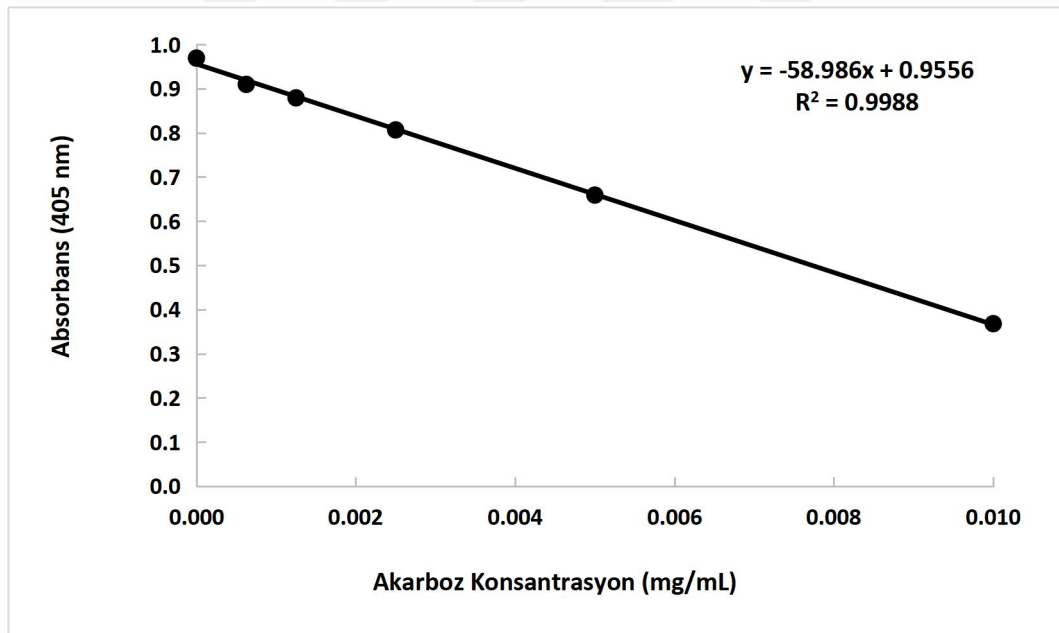


Şekil 20. Toplam flavanoid içerik testinde numune ve standardın pipetleme görüntüsü

2.7. α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu

Lotus corniculatus çiçek ekstraktının ve gümüş nanopartikülün α -glukozidaz enzim aktivitesi, modifiye edilerek (Yu vd., 2012) tarafından geliştirilen metoda göre çalışıldı. Çalışmada öncelikle test tüplerine 650 μ l fosfat tamponu (pH:6.8 ve 0.1 M) eklendi. Daha sonra 20 μ l numune ve 30 μ l α -glukozidaz enzimi (*Saccharomyces cerevisiae*, lyophilized powder, ≥ 10 units/mg protein) eklendi. Karışım 37 °C’de 10 dk bekletildikten sonra 75 μ l substrat (4-Nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) ilave edildi. Karışım tekrar 37 °C’de 15 dk bekletildikten sonra bütün tüplere 650 μ l 1M’lık Na₂CO₃ eklendi ve reaksiyon durduruldu. Absorbans değerleri 405 nm’de UV/VIS spektrofotometrede ölçüldü.

Standart inhibitör olarak farklı konsantrasyonlarda akarboz (pozitif kontrol) çalışıldı (Şekil 21). Çalışma üç paralel olacak şekilde ve reaktif-numune körleri de yapıldı. Akarbozun ve numunelerin IC₅₀ değerleri (ortamda var olan enzim aktivitesini yarıya düşüren numune konsantrasyonu) hesaplandı. Numunenin IC₅₀ değeri ne kadar düşük ise enzim inhibisyonunda daha etkili olduğu anlamına gelmektedir.



Şekil 21. α -Glukozidaz inhibisyonunun belirlenmesinde farklı konsantrasyonlarda çalışılan akarboz standart kalibrasyon grafiği

2.8. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Minimum İnhibitör Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Gram pozitif (*S. aureus* ATCC 25923, *S. pyogenes* ATCC 19615) ve Gram negatif (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC43288, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Y. pseudotuberculosis* ATCC 911) ve klinik antibiyotik dirençli *A. baumannii*

ve E.coli bakterilerine karşı ekstraktın ve Ag nanopartikülün minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK), sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı. Ekstraktın başlangıç konsantrasyonu 40 mg/ml (40-0.078 mg/ml) nanopartikülün başlangıç konsantrasyonu 500 µg/ml (500-0.97 µg/ml) olarak deneylerde kullanıldı. Tüm deneyler 96 kuyucuklu plakalarda üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. 96 kuyucuklu plakanın 1-11. kuyucuklarına 100 µL LB 12. kuyucuğuna ise 200 µL LB eklendi ve bu kuyucuk sterilite kontrolü olarak değerlendirildi. 11. kuyucuk bakteri büyüme (100 µL LB+100 µl bakteri) kontrolü olarak değerlendirildi. İlk kuyucuğa çalışılan ekstrak ve nanopartikülün stok konsantrasyonundan 100 µL alınarak 10. kuyucuğa kadar seri dilüsyon yapıldı. Plakalar 37°C'de 18 saat inkübe edildi. Ekstrakt ve nanopartikülün bakterileri inhibe ettiği ilk konsantrasyon MİK değeri olarak belirlenmiştir (Akar vd.,2024; Çimen ve Düzgün, 2020).

2.9. Ekstrakt ve Ag Nanopartikülün Biyofilm Oluşumuna Etkisinin Araştırılması

Daha önce biyofilm oluşturma kapasitesi olan antibiyotik dirençli klinik A. baumannii ve E.coli izolatları antibiyofilm aktivite araştırma deneyinde kullanıldı. Suşlar üzerinde ilk olarak ekstraktın ve nanopartikülün MİK değeri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendikten sonra, MİK değeri referans alınarak antibiyofilm deneylerinde kullanıldı. Biyofilm kantitatif analizi, yarı kantitatif kristal mor boyama yöntemi kullanılarak yapıldı. A. baumannii ve E.coli suşları 3 ml LB besiyerinde bir gece 37°C inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, 1/100 seyreltilmiş A. baumannii ve E.coli izolatları ekstrak (15 mg/ml) ve Ag nanopartikül (150µg/ml) ile birlikte 96 kuyulu plakalara eklendi ve 37°C de 24 saat inkübe edildi. Daha sonra, plakadaki süspansiyon döküldü ve plaka üç kez damıtılmış suyla yıkandı. Her bir kuyuya 200 µL %1 kristal viyole boyası eklendi ve oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Kristal viyole plakadan çıkarıldı ve yıkama işlemi damıtılmış suyla tekrarlandı. Plaka yıkandıktan sonra, oda sıcaklığında 15 dakika kurumaya bırakıldı. Daha sonra, kuyulara 200 µL %95 etanol eklendi. E. coli Dh5@ negatif kontrol (Ac) olarak kullanıldı. Optik absorbans (A) değeri 620 nm' de spektrometrede okundu. Kontrol olarak E.coli DH5a kullanıldı ve suşların biyofilm oluşumu kontrolün (Ac) OD değerine göre 4 farklı grupta değerlendirildi: 1. $A \leq A_c$ Negatif, 2. $A_c < A \leq 2A_c$ Zayıf pozitif, 3. $2A_c < A \leq 4A_c$ Orta derecede pozitif, 4. $A > 4A_c$ Güçlü pozitif (Çimen ve Düzgün, 2020).



Şekil 22. Ekstrakt ve Ag Nanopartikülün Biyofilm Oluşumunun görüntüsü

2.10. Gümüş Nanopartiküllerin (AgNPs) Karakterizasyonu

Sentezlenen nanopartiküllerin yapısal, fonksiyonel ve optik özellikleri, taramalı elektron mikroskobu (TEM-EDX), Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), ve malzemelerin kristallografik özelliklerinin ve içerdikleri fazların belirlenmesi için XRD kullanılarak karakterize edildi.

Bitki Gümüş Nanopartiküllerin XRD ve TEM-EDX analizleri Bayburt Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uyg. ve Arş. Merkezi'nde (BUMER) yapıldı.

2.11. Nanopartiküllerin UV-Spektrum Analizi

UV-vis analizleri Shimadzu UV-vis spektrofotometresi (UV-1800 UV, Japonya) ile yapıldı. Elde edilen AgNP ve bitki çiçek ekstraktı kuvars küvetlere pipetlendi ve daha sonra oda sıcaklığında 200 ila 800 nm arasında 1,0 nm çözünürlüğe sahip UV-Vis absorpsiyon spektrofotometresi kullanılarak analiz edildi.

2.11.1. Nanopartiküllerin FTIR Analizi

Bitki ekstraktı ve bitkiden sentezlenen Gümüş nanopartiküllerin kimyasal yapılarını ve etkileşimlerini, kapaklama ve indirgeme ajanları olarak görev yapan fonksiyonel grupların tanımlanması için FTIR analizleri yapıldı. FTIR cihazı (Marka: Perkin Elmer, Modeli: UART Two), ile 4000-450 cm^{-1} aralığında tarama yapıldı.

2.11.2. Nanopartiküllerin XRD Analizi

Bitki ekstraktından elde edilen gümüş nanopartiküllerin fizikokimyasal özelliklerin karakterizasyonu için XRD analizleri yapıldı. Spektrumun dışında, NP'lerin bileşimi, kristallik indeksi ve kristal boyutu da tahmin edilmeye çalışıldı.

NP'lerin XRD analizleri Bayburt Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uyg. ve Arş. Merkezi'nde (BUMER) yapıldı.

2.11.3. Nanopartiküllerin TEM ve EDX Analizi

Bitki ekstraktından elde edilen gümüş nanopartiküllerin nanoyapısı ve boyut dağılımı, transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile belirlendi. Ayrıca EDX profilleride belirlendi. Bu analizler de Bayburt Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uyg. ve Arş. Merkezi'nde (BUMER) yapıldı.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

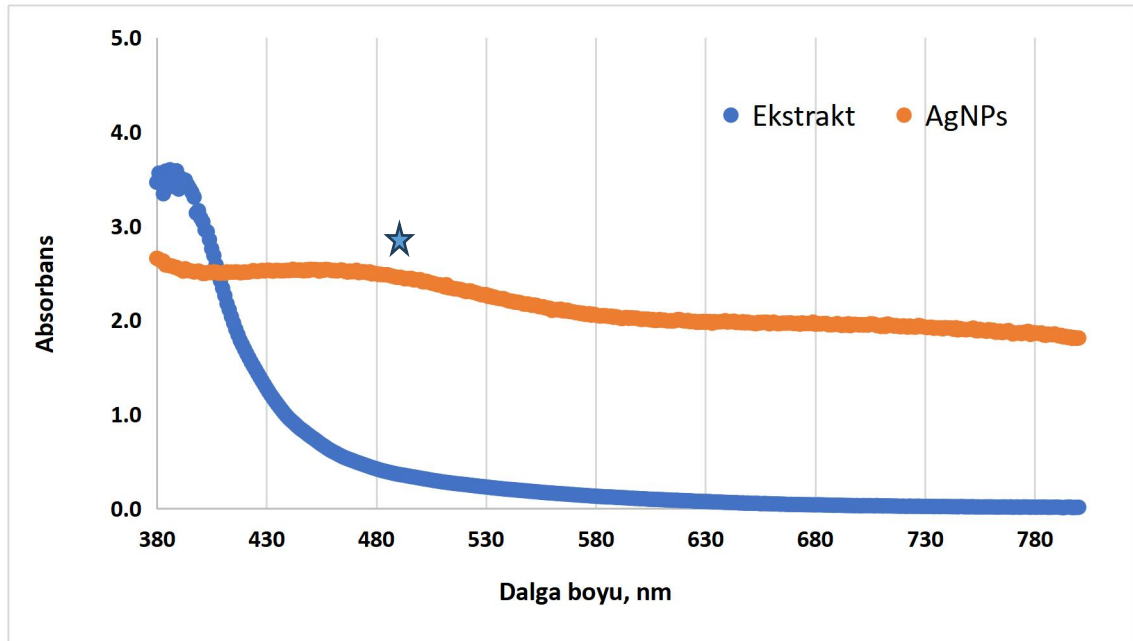
3.1. Gümüş Nanopartikül Karakterizasyonu

Bitki Gümüş Nanopartiküllerin XRD ve TEM-EDX analizleri Bayburt Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uyg. ve Arş. Merkezi'nde (BUMER) yapıldı.

3.1.1. UV-Vis Spektrofotometrisi Analizi

L. corniculatus bitkisinin çiçek ekstraktı hemde ekstraktan üretilen gümüş nanopartikül çözeltileri UV-spektroda çalışılarak Ag nanopartikül oluşup oluşmadığı kontrol edildi. Sonuç olarakta karakterizasyon çalışmaları yapıldı.

Yüzey plazmon rezonansı (SPR), düz polarize ışık bir metal yüzeye çarptığında ve yansıdığında metal yüzeyde oluşan titreşim hareketlerinden dolayı gelişen fiziksel bir olgudur. Şekil 23'te görüldüğü gibi, AgNP'lerin, çeşitli gümüş nanopartiküller için belgelenen yaklaşık 488 nm'de bir SPR emilim zirvesi vardır (Başoğlu ve Akar, 2023). Bu durumda bize gümüş nanopartikül oluştuğunu göstermektedir.



Şekil 23. Bitki çiçek ekstraktı ve AgNPs çözeltisinin UV-vis spektrumu

3.1.2. FTIR Analizi

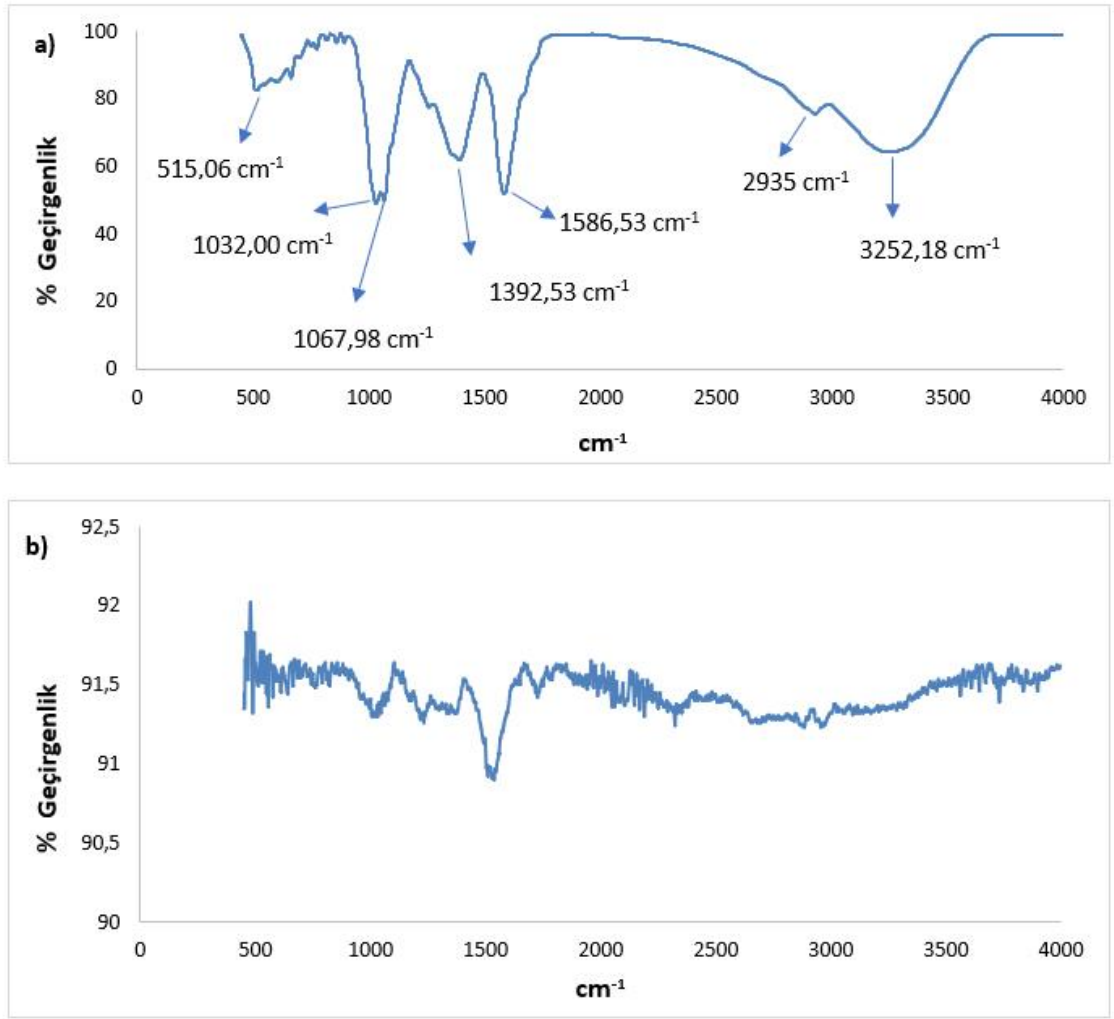
Sentezlenen NP'lerin kimyasal yapılarını ve etkileşimlerini, kapaklama ve NP'lere absorbe olup indirgeme ajanları olarak işlev gören fonksiyonel grupları

tanımlamak için FTIR analizleri yapıldı. Cihaz, 4000-450 cm^{-1} aralığında tarama yapacak şekilde ayarlandı.

Gümüş yüzeyine bağlanan ve gümüş nanopartiküllerin biyosentezinde rol oynayan fonksiyonel grupları belirlemek için FT-IR spektroskopisi ölçümleri yapıldı. *L. corniculatus* bitkisinin çiçek ekstraktı bir dizi pik gösterdi (Şekil 24).

3500 - 3200 cm^{-1} aralığındaki yoğun ve geniş bant, genellikle fenollerde ve hidrojen bağlı alkollerde karakteristik olarak gözlenen O-H gerilmesine aittir. Bu nedenle, 3252.18 cm^{-1} 'lik tepe, -OH'nin gerilme titreşimlerini temsil eder (Ayo, 2009). 2935 cm^{-1} bandı, -CH₃ ve -CH₂ fonksiyonel gruplarından gelen alifatik C-H bağlarının gerilme titreşimini gösterir. 1586 cm^{-1} civarındaki pikler C=O, C=N ve C=C'nin gerilme titreşimini temsil eder. C-N'nin gerilme titreşimi 1392 cm^{-1} 'de görülür. 1000-1200 cm^{-1} bölgesindeki pikler C-O-C grubunun gerilme titreşimini gösterir. Bu nedenle, 1032 cm^{-1} 'lik keskin ve geniş absorban piki, O=C-O, C-O-C ve epoksit gibi simetrik C-O gruplarının gerilme titreşim bantlarına katkıda bulunabilir (Kaswar 2009, Selvi 2009). Bitki ekstraktının FT-IR çalışması, ekstrakta -C=O/-C=C/-C=N, -OH (hidroksil), C-O/C-N ve -N-H (amin) gruplarının varlığını göstermektedir. Bu fonksiyonel grupların, özellikle karboksi, hidroksi ve amid gruplarının Ag⁺ iyonunun metalik gümüş indirgenmesinde rol oynadığı bilinmektedir (Chang Chien 2007). Ek olarak 515,06 cm^{-1} biyomoleküllerde alkin C-H bükülmesini göstermektedir.

Ektrakta olduğu gibi gümüşnanopartikülde de benzer pikler görülmüştür. Buda gümüş nanopartiküller arasındaki etkileşimleri göstermiştir.



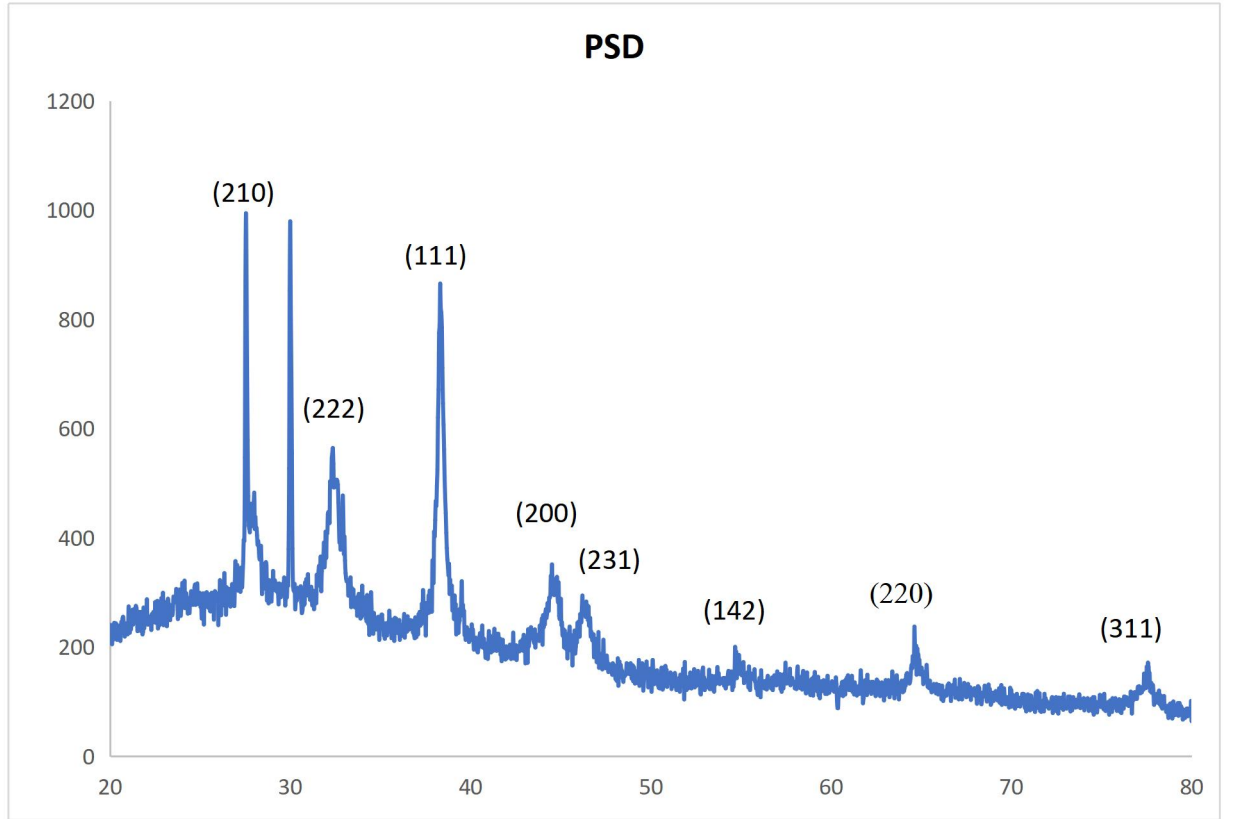
Şekil 24. Bitki ekstraktının (a) ve AgNP'lerin (b) FT-IR spektrumları

3.1.3. XRD Analizi

XRD hem amorf hem de yarı kristal polimerleri incelemek için kullanılan önemli bir araçtır. Özellikle kristal malzemeler için X-ışınlarının madde tarafından kırınımına dayanan analitik bir teknik olarak kullanılmaktadır (El Bourakadi vd., 2021). XRD uygulaması aynı zamanda da biyosentez ile üretilmiş nanopartiküllerin karakterizasyonunda kullanılan tekniklerden birisidir ve onların kristalliliğinin değerlendirilmesinde kullanılır (Majithia ve Barretto, 2023). XRD'de oluşan pikler, sentezlenen nanopartiküllerin doğası gereği kristal mi yoksa amorf mu olduğu yönünde bilgi verir. Daha yüksek pik yüksekliği nesnenin kristal olduğunu ve daha düşük pik yüksekliği ise amorf olduğunu gösterir (Majithia ve Barretto, 2023; Tarani vd., 2023).

Çalışmada sentezlenen nanopartiküllerinin XRD analizlerinde $2\theta = 38.31^\circ, 44.51^\circ, 64.65^\circ$ ve 77.61° deki kristalin 4 farklı kırınım piki metalik Ag'ye karşılık gelen (111), (200), (220) (311) indekslenmiş kırınım larla örtüşmektedir (JCDPS Dosya No. 04-0783) (Şekil 29). Yeşil sentezle üretilen çalışmalarda gümüş nanopartiküllerin XRD

analizlerinde benzer sonuçlar elde edilmiştir (Paulkumar vd., 2014; Hatipoğlu, 2022; Sulistyarti vd., 2023). Ayrıca 27.53° (210), 32.32° (122), 46.20° (231), 54.74° (142)'teki diğer karakteristik piklerde oluşmuştur. Literatürde yeşil sentezle yolu ile üretilen Ag nanopartiküllerinin XRD analizleri ile yapılan çalışmalarının bir kısmında bu pikler Ag NP'lerinin yüzeyindeki kapaklama maddesi olarak bitki ekstraktları kaynaklı organik fazın kristal yapısı ile ilişkilendirilmiştir (Garibo vd., 2020; Parit vd., 2020; Patil ve Chougale, 2021). Meng (2015) *Ficus altissima* Blume yapraklarından üretilen Ag nanopartiküllerinin XRD değerlendirilmesinde mevcut çalışmada tespit edilen pikler ile 27.81 (210), 32.16 (122), 46.21° (231), 54.83° (142) örtüşen pikler tespit edilmiştir. Aynı şekilde, Priyadharshini vd., (2014) tarafından *Gracilaria edulis* (S. G. Gmelin) P. C. Silva makro alginden elde edilen nanopartiküllerin XRD analizlerinde benzer pikler elde edilmiştir.



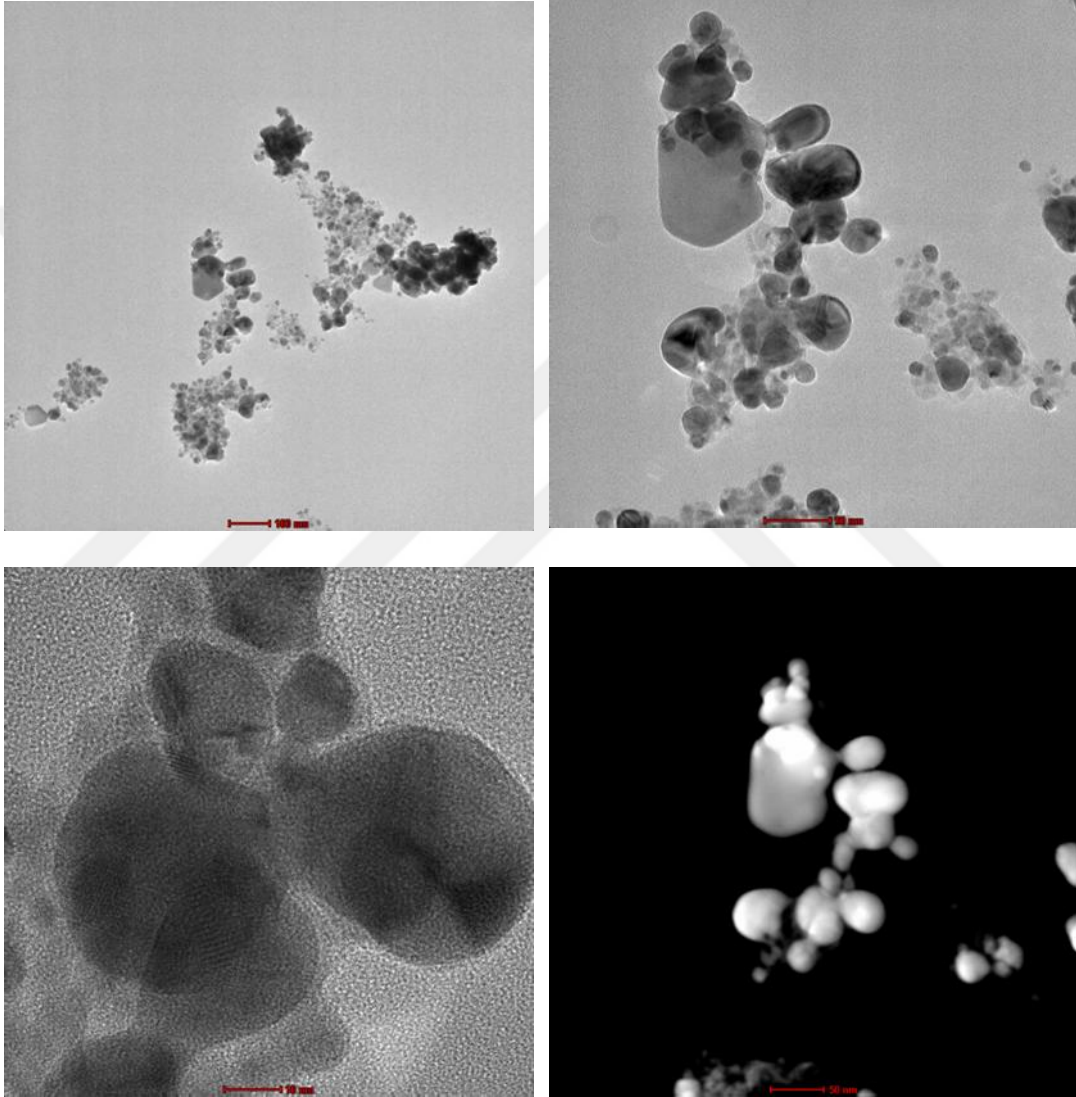
Şekil 25. Gümüş nanopartiküllerin XRD analizi

3.1.4. Taramalı elektron mikroskobu (TEM) ve Enerji Dağılım X-Işını Spektrometresi (EDX) Değerlendirilmeleri

Taramalı elektron mikroskobu (TEM), farklı yöntemlerle sentezlenen nanopartiküllerin boyutlarının, dağılımlarının ve morfolojilerinin nicel ölçümlerini elde etmek ve bu partiküllerin belirtilen özellikleri vasıtasıyla ayırt etmek için kullanılan en

gelişmiş görüntü ölçüm tekniklerinden birisidir (Chand vd., 2020; Patil ve Chougale, 2021).

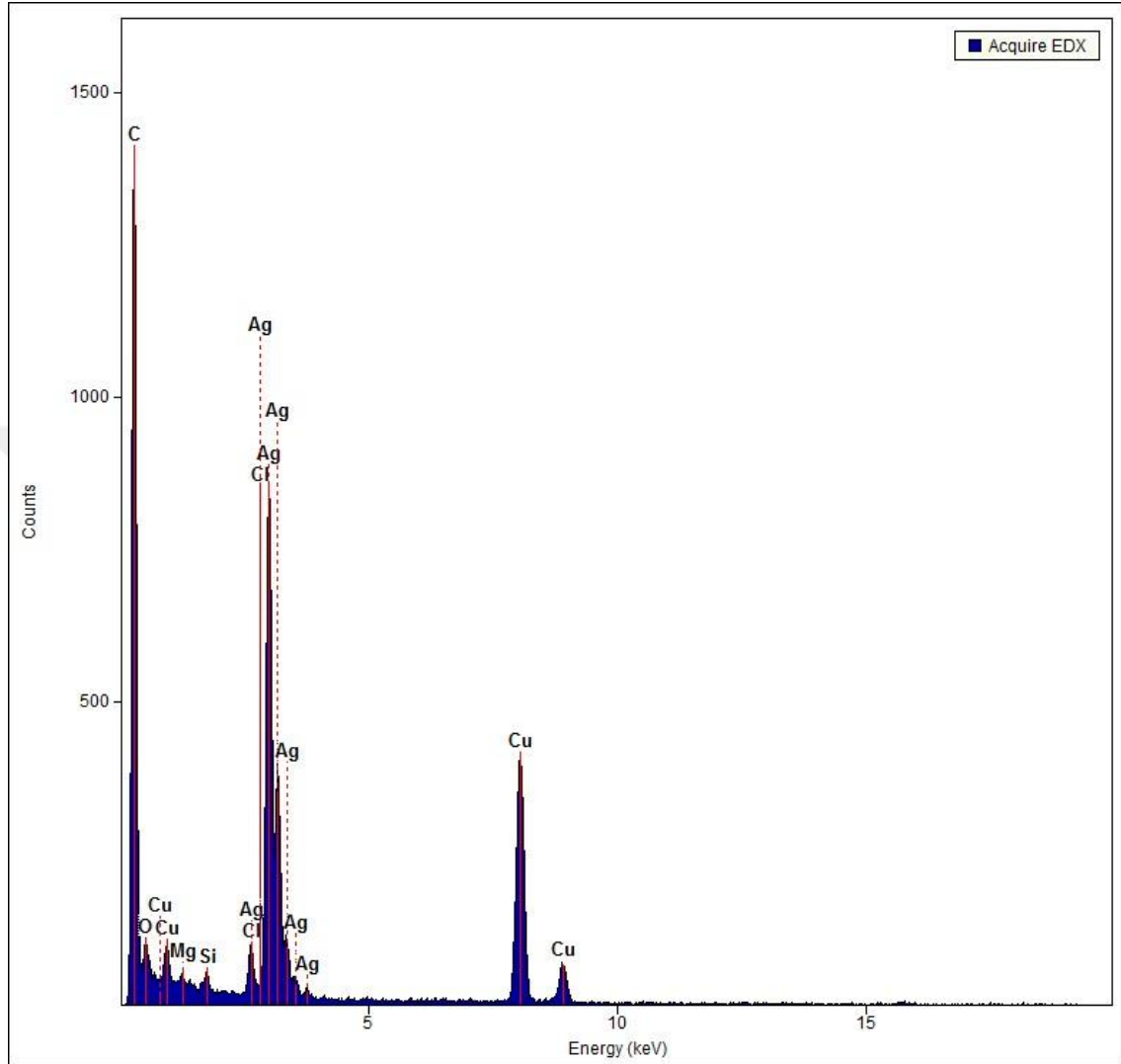
Lotus corniculatus çiçek ekstraktı kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin TEM görüntüleri alınmış ve oluşan gümüş partiküllerin nano tanımına uygun boyutlarda ve farklı büyüklüklerde (14,65 ve 42,46 nm) olduğu tespit edilmiştir. Şekil 26'da gösterildiği gibi morfolojilerinin ağırlıklı olarak küresel olmakla birlikte ve hekzagonal (Şekil 26) olduğu da belirlenmiştir.



Şekil 26. *Lotus corniculatus* ekstraktı kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin TEM görüntüleri

Enerji Dağılım X-Işını Spektrometresi ile belirli nitelikteki numunelerin element kompozisyonları belirlenmektedir. Burada analizin temeli elektron ışınının bir numune ile etkileşimi neticesinde meydana gelen X-ışınları ile ilişkilidir. Buna göre bazı elementlerin X-ışınlarının özellikleri, numunedeki belirli elementlerin bolluğunu analiz eden bir enerji dağılımlı X-ışını dedektörü (EDX veya EDS) tarafından bir enerji

spektrumuna ayrılır (Ellingham vd., 2018). Ag-NP'in EDX analizlerinde karbon (C), oksijen (O), magnezyum (Mg), silisyum (Si), klor (Cl), Bakır (Cu) ve gümüş (Ag) elementlerine ait spektrumlar belirlenmiştir (Şekil 27).



Şekil 27.Ekstraktan sentezlenen Ag-NP'in EDX spektrumu

Bu elementler kantitatif değerleri bakımından değerlendirildiğinde en yüksek % ağırlığa Ag (%96,20) sahip olmuşken, bunu sırasıyla Cl (%2.38), C (%1.17), Si (%0.14), Mg (%0.01) ve O (%0.00) oksijen takip etmiştir (Tablo 7). Atom ağırlıkları bakımından da % olarak benzer şekilde Ag elementler arasında en yüksek atom ağırlığına ulaşmışken, sırasıyla C (%9.23), Cl (%6.31), Si (%0.49), Mg (%0.05) ve O (%0.03) elementleri tarafından takip edilmiştir (Tablo 7). EDX spektrumu AgNP'lerin saflığını ve tam kimyasal bileşimini ortaya koymuştur. Ag elementi yüzde ağırlık olarak kayda değer bulunmuştur. Yeşil sentezle elde edilen gümüş nanopartiküllerin EDX analizlerinde Ag elementinin yüzde ağırlık değerleri açısından yüksek miktarlarda olduğuna dair çalışmalar da literatürde mevcuttur. *Machrara capitata* (L.)

yapraklarından elde edilen gümüş nanopartiküllerde Ag elementinin % ağırlığı 70.36 (Srirangam ve Rao, 2017), *Ficus racemosa* L. bitkisi yapraklarından elde edilenlerde %79.62 (Kumar vd., 2021), *Penicillium italicum* küfünde % 74.14, *Equisetum arvense* L. bitkisinde %71.41 şeklinde en baskın element olarak belirlenmiştir (Taha vd., 2019).

Spektrumda tespit edilen karbon, klor ve oksijen elementlerinin varlığı bitki ekstraktlarından kaynaklanmaktadır (Baran vd., 2023; Bhusal vd., 2024). Özellikle de karbon (C) ve oksijen (O) AgNP'lerin yüzeyine bağlanan ve örtücü ajanlar olarak hareket eden fitokimyasallar nedeniyle gelişebilir (Ansari vd., 2023). EDX analizinde Cu tespit edilmiştir. Bu durum numune hazırlama için kullanılan karbon kaplı bakır ızgara ile ilişkilidir (Phongtongpasuk vd., 2016; Panda vd., 2018). *Lotus corniculatus* ekstraktından elde edilen AgNP'ler Si ve Mg elementleri mevcudiyet göstermiştir. *Rubia cordifolia* L. yaprak ekstraktlarında gümüş partiküllerinde ağırlıklı olarak Ag, S, Cl, K, Ca elementlerinin yanı sıra Mg ve Si elementleri sırası ile %0.39 ve %0.46 ağırlığından kaydedilmiştir. Mg elementi bitkinin içeriğinde yer alması diğer bir ifadeyle klorofil pigmentleriyle ilişkili olması ve fotosentez ve metabolizmada rol alan enzimlerin yapısında bulunan mineral maddedir (Cazzola vd., 2020). Bu durumdan dolayı gümüş nanopartiküllerin EDX analizinde tespit edilmiştir. Si elementinin varlığı ise proses esnasında nanopartiküllerin cam yüzey üzerinde bulunması durumu ile ilişkilendirilebilir (Somda vd., 2024).

Tablo 7. EDX analizinin kantitatif değerleri

Element	% Ağırlık	% Atom
C	1.17	9.23
O	0.00	0.03
Mg	0.01	0.05
Si	0.14	0.49
Cl	2.38	6.31
Ag	96.27	83.87

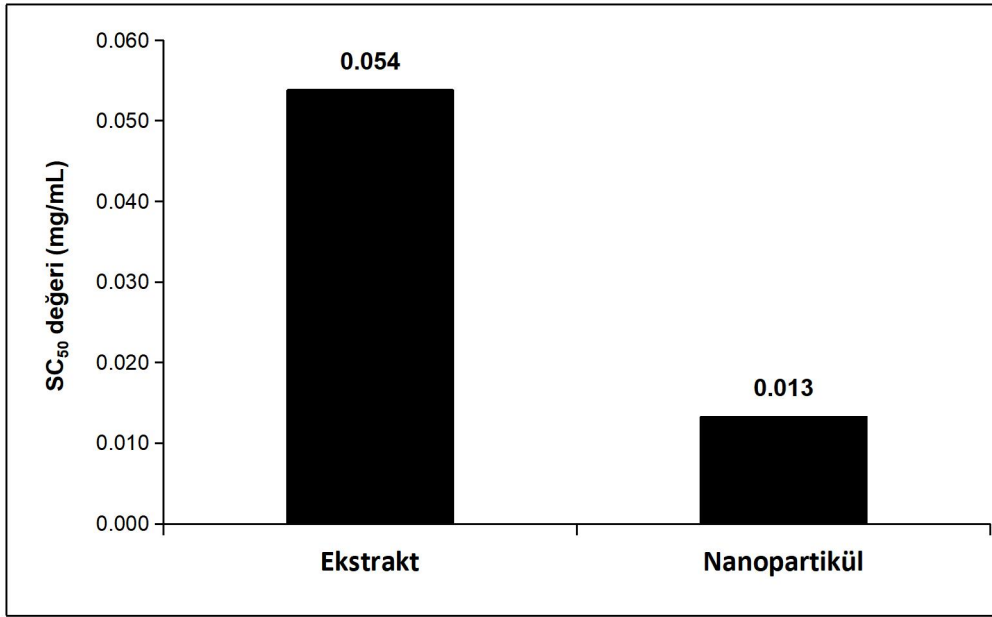
3.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları

L. corniculatus çiçek ekstraktı ve bu ekstraktlardan biyosentez yolu ile üretilen AgNP'lerin antioksidan aktiviteleri DPPH radikal temizleme aktivite, demir (III) indirgeme/ antioksidan güç (FRAP), toplam fenolik madde miktarı (TPC) ve toplam flavonoid madde miktarı testleri (TFC) kullanılarak belirlendi.

3.2.1. DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi

Keşfi 100 yıl öncesine dayanan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali maddelerin hidrojen sağlayıcı veya serbest radikal temizleyici olarak hizmet etme potansiyelini değerlendirmek için kullanılan ve kısaca antioksidanların DPPH radikallerini temizleme kapasitelerinin spektrofotometrik ölçümlerine dayalı belirlenmesine yönelik uygulaması olan düşük maliyetli, yaygın kullanımlı, hızlı ve kolay bir testtir (Foti., 2015; Akar vd., 2017; Baliyan vd., 2022). Bu süreçte Brand-Williams vd., (1995) tarafından çeşitli modifikasyonlarla geliştirilen DPPH radikal temizleme aktivite metodu ve araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. *L. corniculatus* çiçek ekstraktı ve AgNP'lerin DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikal temizleme aktivitesi belirlenirken standart kalibrasyon grafiği için troloks antioksidan standardı 5 farklı konsantrasyonda (başlangıç konsantrasyonu 0.005 mg/ml) çalışıldı. Farklı konsantrasyonlarda çalışılan troloks standart kalibrasyon grafiğinin değerleri kullanılarak, troloks antioksidan standardının SC₅₀ değeri 0.0007 mg/ml olarak tespit edilmiştir. Yapılan analizler neticesinde ekstrakt için SC₅₀ değeri 0.054 olarak belirlenmişken, bu değer AgNP'ler için ise 0.013 olarak belirlenmiştir (Şekil 28). Düşük SC₅₀ değeri, daha yüksek radikal süpürme potansiyelini göstermektedir (Ünver vd., 2016).

Nanopartiküllerin antioksidan aktivite etkinliği ekstrakttakinden oldukça yüksek tespit edilmiştir. Antioksidanların çoğunun düşük geçirgenliğe sahip ve suda zayıf bir şekilde çözünüyor olmaları gibi dezaavantaj oluşturmalarına karşın biyoyumluluk, özellikle de yüksek stabilite gibi özelliklere sahip olmaları ile nanopartiküller yüksek antioksidan aktivite göstermekte ön plana çıkmaktadır (Kumar vd., 2020). Erdem vd. (2022) *Primula vulgaris* Huds bitkisinin çiçek, yaprak ve kök kısımlarından 100 µg/mL konsantrasyondaki ekstraktların ve bu ekstraktlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin %DPPH değerlerini karşılaştırmıştır. Buna göre yaprak, kök, çiçek ekstraktlarının %DPPH değerleri sırası 41.5, 86.3 ve 36.7 olarak belirlenmişken buna karşılık AgNP'lerin değerleri ise aynı sıralama ile %58.4, %90.6 ve %48.4 şeklinde tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada *Allium cepa* L. var. *aggregatum* Don. bitkisinden üretilen AgNP'lerin DPPH değerlerinin test edilen tüm konsantrasyonlar için askorbik asitten daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Shanmugam vd., 2022). Benzer şekilde zeytin yaprağı atıklarının polifenolik ekstraktlarından elde edilen AgNP'lerin yüzeylerindeki biyoaktif moleküller nedeniyle, askorbik aside kıyasla daha üstün bir antioksidan aktivite sergilediği rapor edilmiştir (Alowaiesh vd., 2023).



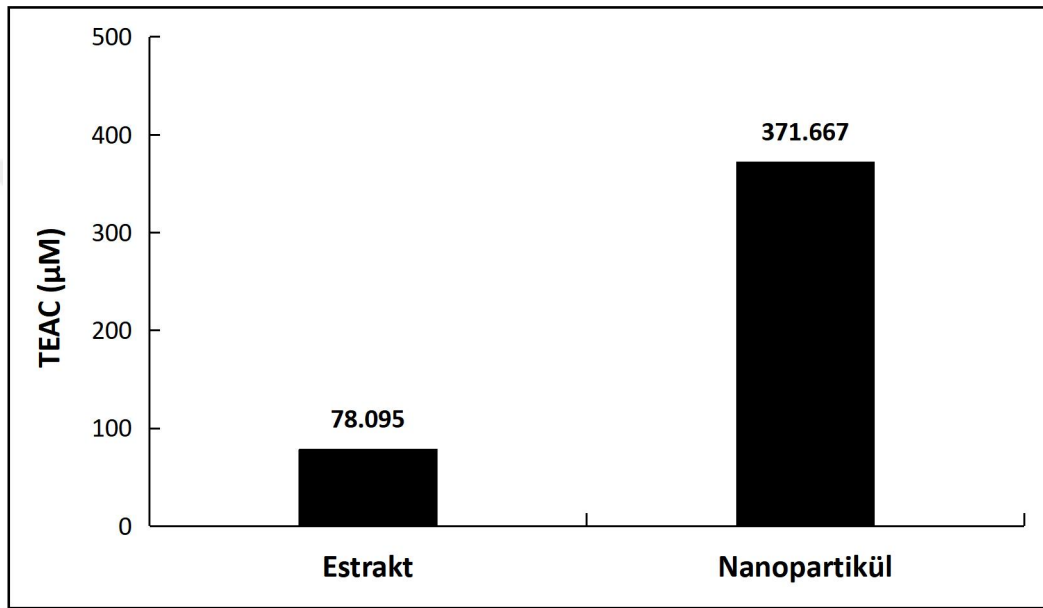
Şekil 28. DPPH radikal temizleme aktivitesinde ekstrakt ve nanopartikülün SC₅₀ değerleri

3.2.2. Demir (III) İndirgeme/ Antioksidan Güç (FRAP) Tayini Analizi

Demir (III) indirgeme/ antioksidan güç (FRAP) Benzie ve Strain (1996) tarafından geliştirilmiş bir antioksidan aktivite belirleme yöntemidir. Bu yöntem asidik bir ortamda antioksidanlar tarafından Fe^{3+} kompleksinin yoğun mavi renkli Fe^{2+} komplekse indirgenmesini ölçen tipik bir elektron transferine dayalıdır (Zhong ve Shahidi, 2015). FRAP antioksidan aktivite testinde standart kalibrasyon grafiği için troloks antioksidan standardı 5 farklı konsantrasyonda (başlangıç konsantrasyonu 1000 μ M) çalışıldı. *Lotus corniculatus* ekstraktlarının FRAP değeri 78.095 TEAC μ M olarak ölçülmüşken bu değer AgNP'ler ise 371.667 TEAC μ M yaklaşık olarak 5 kata kadar daha fazla aktivite göstermiştir (Şekil 29).

DPPH aktivite belirleme testinde olduğu gibi FRAP testinde de gümüş nanopartikül daha yüksek değerde aktivite göstermiştir. Erenler vd. (2021) *Tagetes erecta* L. bitkisi yapraklarından elde edilen ekstraktların ve bu ekstraktlardan üretilen nanopartiküllerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmelerinde DPPH ve FRAP testleri uygulanmış ve her iki test için tespit edilen aktivite değerlerinin nanopartiküllerde daha yüksek düzeyde olduğu rapor edilmiştir. Bahsi geçen çalışmada FRAP testi uygulamasında AgNP'ler için belirlenen değer 2.8 μ mol TE/mg olmuşken, ekstrakt için ise bu değer 0.8 μ mol TE/mg olarak ölçülmüştür. Başka bir çalışmada ise *Reynoutria japonica* (Japon madımağı) bitkisinde de hem ekstraktın hem de bu ekstraktlardan biyosentez yolu ile üretilen gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivite belirleme çalışmalarında DPPH ve FRAP metotları kullanılarak 5 farklı konsantrasyondaki (62.5,

125, 250, 500, 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) aktivite değerlerinin tümünde nanopartiküllerin daha yüksek aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Khuda vd., 2022). *Reynoutria japonica* (Japon madımağı) bitki ekstraktında 62.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonda FRAP aktivite değeri %3.20, nanopartikül için ise bu değer %9.80, 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonda ise ekstrakt için %42.56 olarak, nanopartiklde ise 56.36 olarak hesaplanmıştır (Khuda vd., 2022). Bunların yanı sıra birçok çalışmada bitki ekstraktlarından elde edilen nanopartiküllerin FRAP aktivite değerleri bitki ekstraktlarının FRAP aktivite değerlerinden yüksek ölçülmüştür (Salari vd., 2019; Gecer, 2021; Chiu vd., 2021).



şekil 29. FRAP antioksidan aktivite testinde ekstrakt ve nanopartikülün μM TEAC değerleri

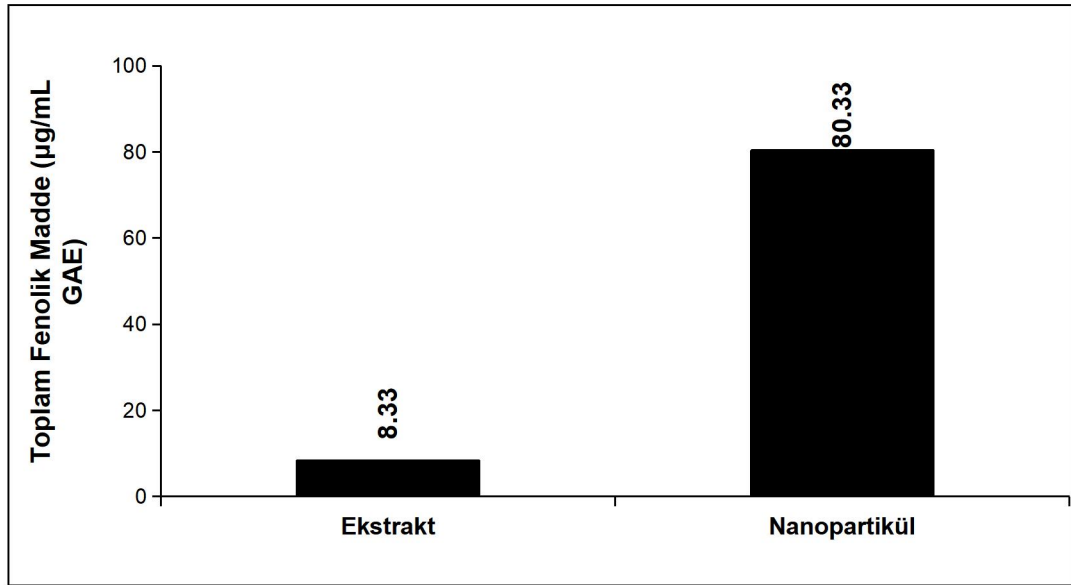
3.2.3. Toplam Fenolik Madde İçeriği Analizi

Mevcut çalışmada toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesinde Slinkard ve Singleton (1977) tarafından geliştirilen folin-ciocalteu yöntemi olarak da bilinen TPC testi kullanılmıştır. Bu yöntemde fenolik bileşikleri oksitlemek için folin-ciocalteu reaktifi kullanır ve reaksiyon, 760 nm'de ölçülen mavi renkli indirgenmiş bir folin-ciocalteu reaktifi ile sonuçlanır. Böylelikle mavi rengin yoğunluğu numunenin fenolik içeriğinin belirlenmesinde kullanılır (Lawag vd., 2023). Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi için gallik asit antioksidan standardı 5 farklı konsantrasyonda (Başlangıç konsantrasyonu 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) alışıldı ve gallik asit standart kalibrasyon grafiği elde edildi.

Lotus corniculatus iek ekstraktı ve ekstraktan üretilen nanopartikülün toplam fenolik madde içerikleri karşılaştırıldığında en yüksek aktiviteye 80.33 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ile gümüş nanopartikül sahip olmuştur Ekstraktın toplam fenolik içerik miktarı ise 8.33 $\mu\text{g}/\text{ml}$

olarak ölçülmüştür. Gümüş nanopartikül çiçek ekstraktından 10 kat daha fazla aktivite göstermiştir.

Mısır'da yetişen *Phlomis aurea* Decne ve *Phlomis floccosa* D. Don bitki ekstraktları ve bu ekstraktlardan elde edilen gümüş nanopartiküllerin toplam fenolik içerik değerlendirilmesinde bitki ekstraktlarında sırasıyla 51.73%, 49.33% olarak ölçülmüşken, gümüş nanopartiküllerde ise bu değerler daha yüksek 64.96% ve 62.40% olarak tespit edilmiştir (Abdelhady ve Badr, 2016). Ancak, *Artemisia absinthium* L., *Humulus lupulus* L. and *Thymus vulgaris* L. bitkileri üzerine yapılan toplam fenolik miktarının belirlenmesi üzerine gerçekleştirilen bir çalışmada ise tersi bir durum tespit edilmiştir. Bitki ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri gümüş nanopartiküllerinde tespit edilen miktarlardan daha yüksek olarak rapor edilmiştir (Balciunaitiene vd., 2021). Bu durum bitki türlerinin farklı olması ve bu farklılıklara dayalı olarak fenolik kompozisyonun çeşitliliği ile ilişkilendirilebilir.



Şekil 30. Bitki ekstrakt ve nanopartikülün toplam fenolik madde içeriklerinin GAE (µg/ml) cinsinden değerleri

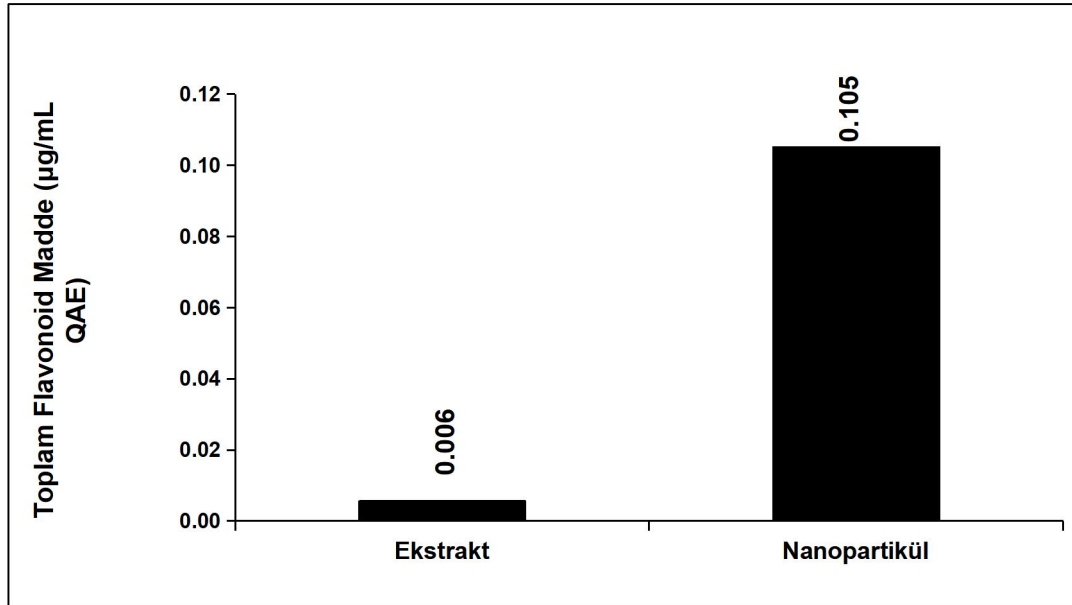
3.2.4. Toplam Flavonoid Madde İçeriği Analizi

Fenollerin bir alt grubu olan flavonoidler önemli doğal biyoaktif bileşiklerdir. Bitkilerdeki toplam flavonoid içeriği genellikle çözücü ekstraksiyonundan sonra kolorimetrik olarak belirlenir. Bitki özütlerinde toplam flavonoid içeriğin belirlenmesi için yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri, Al (III)'ün kompleks oluşturucu madde olarak kullanıldığı alüminyum klorür kolorimetrik deneyidir (Shraim vd., 2021). Fukumoto ve Mazza (2000) yöntemine dayalı olarak toplam flavonoid içerik belirlendi.

Örneklerin toplam flavonoid içeriklerinin belirlenmesinde kuarsetin antioksidan standardı 5 farklı konsantrasyonda (başlangıç konsantrasyonu 0.25 mg/ml) çalışıldı.

Bitki çiçek ekstraktının ve nanopartikülün toplam flavonoid madde içerikleri karşılaştırıldığında DPPH, FRAP ve TPC testlerinde olduğu gibi nanopartikül ekstraktan çok daha fazla flavonoid madde içermektedir. Çiçek ekstraktlarından elde edilen nanopartikül 0.105 mg/ml flavonoid madde içerirken, çiçek ekstraktının flavonoid madde içeriği ise 0.006 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Erdem vd. (2022) *Primula vulgaris* bitkisinin yaprak, çiçek ve kök kısımlarından elde ettikleri sulu ekstraktların ve bu ekstraktlardan yeşil sentezle üretilen gümüş nanopartiküllerin toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriklerini belirlemişlerdir. Her iki test için de tüm kısımlarda gümüş nanopartiküller ekstraktlara göre daha yüksek değerlerde ölçülmüştür.

Farklı bitkiler kullanılarak yapılan yeşil sentezle üretilen gümüş nanopartiküllerin toplam flavonoid içeriklerinin belirlenmesi çalışmalarında gümüş nanopartiküller daha yüksek aktivite göstermiştir (Abdel-Aziz vd., 2014; Fafal vd., 2017; Sivakumar, 2021).



Şekil 31. Bitki ekstraktının ve nanopartikülün toplam flavonoid madde içeriklerinin KAE (mg/ml) cinsinden değerleri

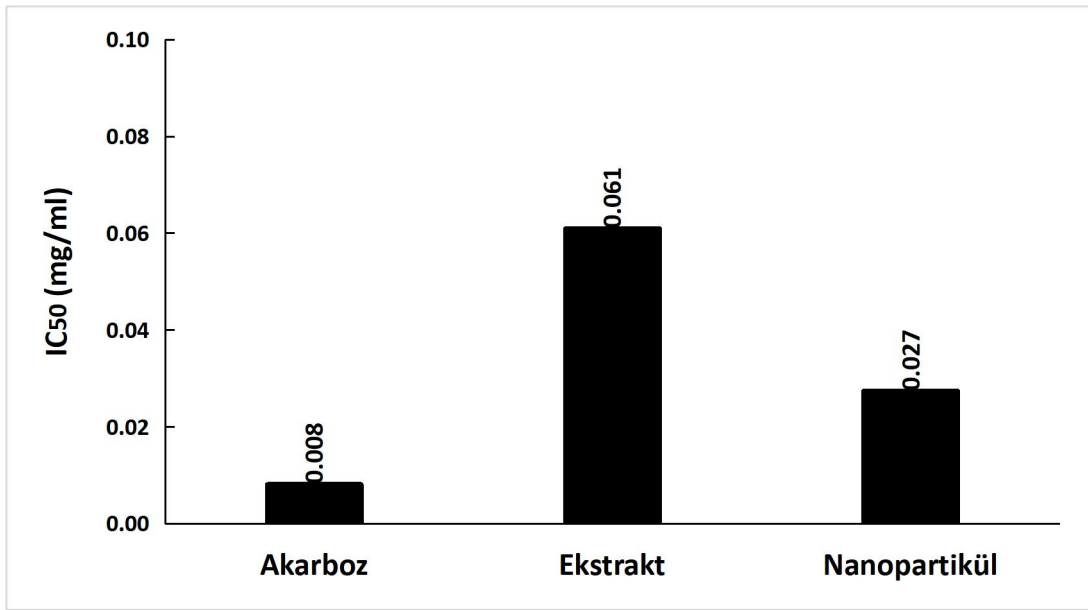
3.3. α -Glukozidaz İnhibisyon Etkisi

Alfa-glukozidaz enzimi insanlarda beslenme sonrası glikoz düzeyini artıran bir karbonhidrat sindirim enzimidir (Adeyemi vd., 2022). Dolayısı ile α -glukozidaz inhibitörleri bağırsaktan karbonhidrat emilimini geciktirmesi ile diyabetli hastalarda karbonhidrattan zengin diyet sonrası görülen kan glikoz seviyesindeki ani artışı yavaşlatarak hastalar için avantajlı bir durumun oluşmasına katkı sağlar (Obboh vd., 2014). Bu nedenle, doğal ürünlerden özellikle de bitkilerden α -glukozidaz inhibitörlerin

geliştirilmesi hipergliseminin kontrolü için iyi bir alternatiftir (Assefa vd., 2019). Mevcut çalışmada *Lotus corniculatus* çiçek ekstraktının, nanopartikülün ve akarbozun α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri hesaplanmış. Akarboz için IC_{50} değeri 0.008 mg/ml, ekstrakt için 0.061 mg/ml ve gümüş nanopartikül için ise 0.027 olarak hesaplanmıştır (Şekil 32). Sonuçların yorumlanmasında IC_{50} değeri ne kadar düşük ise enzim inhibisyonunda daha etkili olduğu anlamına gelmektedir.

Buna göre *L. corniculatus* çiçek ekstraktlarından üretilen gümüş nanopartiküller çiçek ekstraktına göre α -glukozidaz enzim inhibisyonunun daha etkindir. *Tephrosia tinctoria* bitkisini farklı ekstraktlarının ve bu ekstraktlardan üretilen gümüş nanopartiküllerin farklı konsantrasyonlarındaki % α -glukozidaz enzim inhibisyonu araştırılmış ve ekstraktların 25, 50 ve 75 μ g/ml konsantrasyonlarında α -glukozidaz enzim inhibisyonu sırası ile %16.53, 36.3 ve 50.74 olarak ölçülmüşken, gümüş nanopartiküller için bu değerler ise daha yüksek oranlarda %67.81, %74.34 ve % 83.52 olarak belirlenmiştir (Rajaram vd., 2015). Başoğlu ve Akar (2023) *Spirogyra* sp. alg ekstraktları ve algal gümüş nanopartiküllerin % α -glukozidaz enzim inhibisyonu değerlendirilmiş ve ekstraktın % inhibisyonu 44.70 olarak ölçülmüşken, bu değer gümüş nanopartikül için %63.50 olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte mevcut çalışmada gümüş nanopartikülün ekstraktan daha yüksek α -glukozidaz inhibisyon aktivite değeri göstermesinin yanı sıra *Lotus corniculatus* bitkisinin hem ekstraktının hem de gümüş nanopartikülünün aktivitesi akarboz standartı ile karşılaştırıldığında çok yüksek bir α -glukozidaz inhibisyonu gösterdiğini söylemek mümkündür.

Nitekim *Lotus corniculatus* için belirlenen bu değerler Tip-2 diyabet tedavisi için potansiyel olarak değerlendirilen bazı bitkilerde tespit edilen değerlere yakın değerlerdir. Örneğin, *Adenosma bracteosum* Bonati sulu ekstraktlarında IC_{50} değeri 0.043 mg/mL, metanol ekstraktlarında ise 0.027 mg/mL, *Chrysophyllum cainito* L. gövde kabukları için IC_{50} değeri 0.0012 mg/mL, *Annona senegalensis* Pers yapraklarının etanolik ekstraktlarında IC_{50} değeri 0.097 mg/mL, *Homalium zeylanicum* (Gardner) Benth. kabuklarının etanolik ekstraktlarında IC_{50} değeri 0.019 mg/mL ve *Liquidambar formosana* Hance yapraklarının etanolik ekstraktlarında IC_{50} değeri 0.059 mg/mL olarak tespit edilmiştir (Dirir vd., 2022).



Şekil 32. Ekstrakt ve nanopartikülün α -Glukozidaz inhibisyonunun standart ile karşılaştırılması

3.4. Antimikrobiyal ve Antibiyofilm Etkisi

Lotus corniculatus bitkisinin çiçek ekstraktının ve gümüş nanopartikülünün MİK ve Antibiyofilm sonuçları tablo 8 ve tablo 9’ da verilmiştir.

Hem bitki çiçek ekstraktın hem de AgNP’nin antimikrobiyal aktivitesi Gram – ve + bakterilere karşı araştırıldı. Ekstraktın en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC43288 suşlarına karşı 5 mg/ml MİK değeri ile gösterdiği tespit edildi. Ekstraktın MİK değerleri *S. pyogenes* ATCC 19615 ve *Y. pseudotuberculosis* ATCC 911 için 10 mg/ml, *P. vulgaris* ATCC 13315 için 20 mg/ml ve *S. aureus* ATCC 25923 için 40 mg/ml olarak belirlendi (Tablo 8). NP’inde yine en iyi aktivite gösterdiği suşlar *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC43288 (31.25 μ g/ml) olduğu görüldü. NP’nin en yüksek MİK değerini (500 μ g/ml) ise *S. aureus* ATCC 25923 ve *P. vulgaris* ATCC 13315 izolatlarına karşı gösterdiği tespit edildi. NP’nin, *S. pyogenes* ATCC 19615 için 125 ve *Y. pseudotuberculosis* ATCC 911 için ise 250 μ g/ml MİK değerine sahip olduğu belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre NP’nin ekstrakta göre antimikrobiyal aktivitesinin çok daha yüksek olduğu görüldü. AgNP’nin ekstrakta göre *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC43288 karşı 160 kat, *S. pyogenes* ATCC 19615 ve *S. aureus* ATCC 25923 karşı 80 kat, *P. vulgaris* ATCC 13315 ve *Y. pseudotuberculosis* ATCC 911 karşı ise 40 kat daha aktif olduğu belirlendi.

Lotus corniculatus çiçek ekstraktının ve AgNP’nin antimikrobiyal aktivitesi ayrıca klinik antibiyotik dirençli ve biyofilm oluşturma kapasitesine sahip *A. baumannii* ve *E. coli* suşlarına karşıda araştırıldı. Sonuçlara göre Ekstraktın *A. baumannii* ye karşı daha aktif olduğu AgNP’nin ise iki suşa karşı aktivitesinin aynı olduğu belirlendi.

Standart bakteri suşlarında olduğu gibi klinik izolatlarla karşı AgNP'nin yine antimikrobiyal aktivitesinin yüksek olduğu tespit edildi. Ekstrakta göre AgNP'nin *A. baumannii* üzerinde 114, *E. coli* üzerinde ise 228 kat daha fazla aktiviteye sahip olduğu görüldü (Tablo 8).

Tablo 8. *Lotus corniculatus* çiçek ekstraktının ve AgNP'nin MİK değerleri

Bakteri	Ekstrakt MİK değeri (µg/ml)	AgNP MİK değeri (µg/ml)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	5000	31.25
<i>P. aeruginosa</i> ATCC43288	5000	31.25
<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	10000	125
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	40000	500
<i>P. vulgaris</i> ATCC 13315	20000	500
<i>Y. pseudotuberculosis</i> ATCC 911	10000	250
<i>A. baumannii</i>	20000	175
<i>E.coli</i>	40000	175

Lotus corniculatus çiçek ekstraktının ve AgNP'nin antimikrobiyal (MİK) aktivitesi belirlendikten sonra antibiyotik dirençli klinik iki izolata karşı antibiyofilm aktivitesi araştırıldı. Antibiyofilm deneylerinde ekstraktın konsantrasyonu 15mg/ml, AgNP'nin konsantrasyonu ise 150 µg/ml olarak kullanıldı. Kontrol suş olarak *E. coli* Dh5@ izolatu kullanıldı. Tüm değerlendirmeler kontrol izolatının biyofilm oluşturma kapasitesinin OD değeri (Ac: 0.0919) temel alınarak yapıldı. Kontrol suşunun biyofilm oluşturma kapasitesi referans noktası olarak alındı ve *A. baumannii* klinik izolatının biyofilm oluşturma kapasitesinin orta düzeyde olduğu belirlendi.

Ekstrakt ve AgNP'nin antibiyofilm aktivite deney sonucuna göre, AgNP ile muamele edilen *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturma özelliğinin zayıfa düştüğü belirlendi (Tablo 9). Ekstraktın ise *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturma kapasitesi çok az düşürmüş olarak görülse de antibiyofilm aktivitesinin olduğu söylenemez. Bulgular NP'nin antibiyotik dirençli klinik *A. baumannii* izolatına karşı antibiyofilm aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir. *E. coli*'ye karşı ise hem ekstraktın hem de NP'nin antibiyofilm aktivitesi belirlenememiştir.

Tablo 9. *Lotus corniculatus* ekstrakt ve AgNP'nin antibiyofilm aktivitesi

Suşlar	Biyofilm değeri
A. baumannii	0.3095
A. baumannii+NP	0.169
A. baumannii+ Eksrakt	0.2351
E. coli Dh5@ (Kontrol)	0.0919

Antimikrobiyal aktivite herhangi bir toksik etki olmaksızın mikroorganizmaları öldüren veya yavaşlatan bileşiklerle ilgilidir. Bu ajanlar özellikle bulaşıcı hastalıklarla mücadelede hayati öneme sahip olsada, yaygın ve yanlış kullanımları nedeniyle, ilaçlara karşı bakteriyel direnç ortaya çıkmaktadır (Hajipour vd., 2012).

Antibiyotiklere duyulan ihtiyaç zaman içinde sürekli artarken, bilim insanları sürdürülebilir bir çözüm bulmak için dünya çapında çalışmalar yürütmektedir. Patojen mikroorganizmalarla mücadeleyi güçlendirmek için bitkisel ekstraktlar, doğal proteinler, bakteriyofajlar gibi çok sayıda yeni alternatif sunulmuştur. Önerilen alternatifler arasında metalik nanopartiküller, özellikle de gümüş, diğer yöntemlere kıyasla gelişmiş biyoyumluluk, yüksek antimikrobiyal etkinlik, daha az toksisite ve spesifik hedefleme özellikleri nedeniyle öne çıkmıştır (Kontrange vd., 2021; Rodriguez-Leon vd., 2018; Thomas vd., 2020).

Gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezinde, nanokristaller genellikle gümüş nitrat (AgNO_3) gibi tuzlar tarafından sağlanan Ag iyonlarından üretilir. Öte yandan, biyolojik malzemeler, mikroplar veya çeşitli bitkilerin özleri indirgeyici maddeler olarak kullanılabilir. Çözeltideki indirgeyici maddeler iyonların atomlara indirgenmesini sağlar. Daha sonra, atomlar kümeler halinde toplanır ve nanopartiküller oluşturur. Bu nedenle, atomların varlığı, nanopartiküllerin morfolojisini ve boyutunu düzenlemek için optimize edilmesi gereken gümüş tuzu ve indirgeyici maddenin konsantrasyonuna bağlıdır (Rodriguez-Leon vd., 2013).

Biyofilmler, medikal cihazlar ve implantlar gibi konaklarla karmaşık etkileşimler yoluyla oluşan, çok hücreli bakteri topluluklarını çevreleyen, 3D yapıda hidrate edilmiş karmaşık hücre dışı matrislerdir ve çok işlevli ve koruyucu bir iskelet görevi görürler (Shkodenko vd., 2020). Biyofilm davranışının karmaşıklığı ve dinamikleri, geleneksel tedavilerin neden biyofilmler üzerinde yetersiz kaldığını tam olarak anlamayı engellemiştir. Öte yandan, uzun süreli antibiyotik kullanımının çoklu ilaç direncine sahip suşların gelişimine katkıda bulunduğu iyi bilinmektedir. Bu gibi durumlar, antibiyotiklerin farmakokinetik ve biyodağılım sorunlarından kaynaklanmaktadır.

Birçok antibiyotik küçük moleküllerden oluşur ve dezavantajlı farmakokinetikleri nedeniyle çok sık dozlama gerektirir. Buna ek olarak, çoğu antibiyotik, merkezi sinir sistemi gibi bazı enfeksiyonların fizyolojik kaynağına ulaşma kapasitesine sahip değildir (Fulaz vd., 2019; Rubey ve Brenner, 2021).

Gümüş nanopartiküllerin en avantajlı özelliği, çeşitli antimikrobiyal etki mekanizmaları sayesinde, antibiyotiklere karşı dirençle kıyaslandığında direnç gelişiminin nadir ve yavaş olmasıdır (Pelgrift ve Friedman, 2013; Thomas vd., 2020). Nanopartiküller (NP'ler), bakteriyel biyofilmlerin tedavisinde umut verici bir yöntem olarak görülmektedir. NP'lere karşı bakteriyel antibiyotik direnç mekanizmalarının yetersiz olmasının yanı sıra, NP'ler ile biyofilmler arasındaki elektrostatik etkileşim, biyofilm kaynaklı direnç mekanizmalarının üstesinden gelmede etkilidir. Bazı NP'lerin birçok biyofilm oluşturan enfeksiyon etkenine karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Pelgrift ve Friedman, 2013). Çeşitli NP'ler antimikrobiyal ajan olarak kullanılmasına rağmen, şiddetli enfeksiyonların önlenmesinde en güçlü olanlardan biri gümüş nanopartiküllerdir (AgNP'ler).

Gümüş nanopartiküllerinin çeşitli mikroorganizmalara karşı aktif olduğu rapor edilmiş ve bu özellik, çoklu antimikrobiyal aktivite mekanizmalarına atfedilmiştir (Çalışkan vd., 2019; Garibo vd., 2020; Jain ve Mehata, 2017; Pelgrift ve Friedman, 2013). Son zamanlarda, Singh ve arkadaşları (Singh vd.,2021), yeşil sentezle üretilen gümüş nanopartiküllerinin, E. coli ve S. aureus'a karşı inhibisyon gösterdiğini bildirdi. Aynı çalışmada, araştırmacılar ayrıca nanopartiküllerle ampicilin ve siprofloksasin antibiyotiklerinin kombinasyonunu test etmişler ve nanopartikül-antibiyotik formülasyonlarının tek başına antibiyotiklerden daha etkili olduğunu göstermişlerdir (Singh vd.,2021). Başka bir çalışmada, Lara ve arkadaşları, gümüş nanopartiküllerinin bakterisidal aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir (Lara vd.,2010). Gümüş nanopartikül ve antibiyotik konjugatlarının çoklu ilaca dirençli ve biyofilm oluşturan mikroorganizmalara karşı da biyoaktiviteye sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Thomas vd., 2020). Başka bir çalışma nanopartiküller ve antibiyotikler arasında sinerjik bir ilişki olduğunu göstermiş, böylece antibiyotiklerin ve nanopartiküllerin farklı antibakteriyel mekanizmalar kullandığı kanıtlanmıştır (Slavin vd., 2017). Yapılan bu tez çalışmasında da gümüş nanopartikülün hem standart hem de klinik izolatlarla karşı antimikrobiyal etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Biyofilm oluşumu, otitis media, gingivitis ve akciğer enfeksiyonları gibi birçok hastalığın gelişiminde rol oynar ve bakterilerin birden fazla antibiyotiğe direnç göstermesine neden olabilir. NP'lerin üretimi ve kullanımı, biyofilm oluşumu gibi ilaç

direnci mekanizmalarının üstesinden gelmek için umut verici stratejiler arasındadır (Pelgrift ve Friedman, 2013). Türkiye’ de yapılan bir çalışma da, *Rumex* sp. gümüş NP'lerinin orta ve güçlü biyofilm oluşturma yeteneğine sahip farklı antibiyotik dirençli patojenik bakterilere karşı antibiyofilm etkisi araştırılmıştır. *Rumex* sp. gümüş NP'leri *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesini 2,66 kat ve 3,25 kat azaltırken, *E. coli*'ninkini 1,25 kat azalttığı görülmüştür ve bulgular göstermiştir ki araştırılan NP'nin bakteriyel biyofilm oluşumu üzerindeki yüksek antibiyofilm etkisiyle karakterize edilmiştir (Akay, 2024).

Skora ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada, gümüş NP'lerinin antibiyofilm etkisi araştırılmış ve suşların biyofilm oluşturma kapasitelerinde azalma olduğunu göstermişlerdir (Skora vd., 2021). Farklı bir çalışmada, düşük AgNP dozlarında canlı çoklu ilaca dirençli (MDR) *A. baumannii*'nin %90'dan fazla inhibisyonu görülmüş ve bunun *A. baumannii*'nin insan akciğer epitel yüzeyine bağlanmasını ve ardından biyofilm oluşumunu önlediği bildirilmiştir (McNeilly vd.,2021; Wintachai vd., 2019). 2019'da yapılan bir çalışmada, triptofan gümüş NP'lerinin statik koşullar altında *E. coli* ve *K. pneumonia* tarafından oluşturulan biyofilm üzerindeki antibiyofilm aktivitesi araştırılmış ve sonuçlar, NP'lerin *E. coli* ve *K. pneumonia* biyofilmi oluşumunda %50'yi aşan bir antibiyofilm etkisine sahip olduğunu göstermiştir (Courrol vd., 2019).

Yine Türkiye de 2024 yılında yapılan bir araştırmada *E. arvense* AgNP'lerinin biyofilm oluşturma yeteneğine sahip üç izolata karşı antibiyofilm aktivitesi araştırılmıştır. AgNP'lerin klinik izolatlara karşı MİK değeri 125 µg/mL olarak belirlenmiştir. Çalışma da klinik *A. baumannii* izolatının güçlü biyofilm oluşturma kapasitesinin AgNP'ler tarafından yaklaşık iki kat azaltıldığı görüldü. Ayrıca güçlü ve orta biyofilm oluşturma kapasitesine sahip klinik *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarının biyofilm oluşturma kapasitesinin sırasıyla 1,5 ve 1,2 kat azaldığı gözlemlendi. (Akar vd, 2024)

Kore'de yapılan bir çalışmada, Ea-AgNP'lerin altı gıda kaynaklı patojenik bakteriye karşı antibakteriyel etkisi araştırılmış ve inhibisyon bölgelerinin çaplarının 9,68 ile 12,53 mm arasında olduğu bulunmuştur (Das vd.,2020). Başka bir çalışmada, AgNP'lerin bakteri büyümesini azalttığı gözlemlenmiştir (Omidia vd., 2018). 2020'de yapılan bir çalışmada, AgNP'lerin ekolojik olarak kabul edilebilir bir konsantrasyon seviyesinde *E. coli*'ye karşı seçici toksik etkilere sahip olduğu görülmüştür (Miljković vd., 2020). Skora ve ark., 2 mg/mL konsantrasyondaki AgNP'lerin *E.coli*'de biyofilm oluşumunu yaklaşık beş kat önlediğini göstermişlerdir (Skora vd.,2021). *E. coli*

yaprak özütü ile sentezlenen AgNP'lerin MDR *A. baumannii*'ye karşı antibiyofilm aktivitesinin kolistin aktivitesine benzer olduğu bildirilmiştir (Wintachai vd., 2019). MDR *P. aeruginosa* izolatı üzerinde yapılan bir çalışma, 1 ila 600 µg/mL AgNP konsantrasyonlarında biyofilm büyümesini engellediğini göstermiştir (de Lacerda vd., 2021). 2021'de yapılan bir çalışma da AgNP'lerin hücre dışı ve hücre içi *A. baumannii*'ye karşı önemli bir antibakteriyel aktivitesi olduğunu ortaya koymuştur (Hetta vd., 2022).

Bu tez çalışması kapsamında da bitki çiçek ekstrakt ve NP'nin antibiyotik dirençli klinik suşlara karşı antibiyofilm aktivitesi araştırılmıştır. Gümüş NP nin antibiyotik dirençli *A. baumannii*'nin izolatının biyofilm oluşturma kapasitesini zayıflattığı tespit edilmiştir. Ekstraktın ise *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturma kapasitesini etkilemediği görülmüştür. Sonuçlar NP'nin antibiyotik dirençli klinik *A. baumannii* izolatına karşı antibiyofilm aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir. Yeşil sentezlenen AgNP'lerin klinik patojenik bakterilere karşı önemli antibiyofilm aktivitesini gösteren bu çalışmadaki bulgular literatürle tutarlılık göstermektedir. Birçok farklı çalışmada gösterildiği gibi, AgNP'ler MDR izolatlarının önemli halk sağlığı sorununu ele almak için umut vadeden bir antimikrobiyal ajan olarak görülmektedir.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- *Lotus corniculatus* bitkisinden elde edilen ekstraktlardan üretilen gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonun TEM, EDX, XRD ve FT-IR değerlendirilmeleri neticesinde gümüş nanopartiküllerin oluştuğu gözlemlenmiştir.
- Nanopartiküllerin TEM analizlerinde üretilen nanopartiküllerin küre ve altıgen şeklinde ve 100 nm boyutundan küçük olduğu tespit edilmiştir.
- Nanopartiküllerin EDX analizlerinde en yüksek yüzde ağırlığa %96.27 ile gümüş elementi sahip olmuştur. Gümüş elementini sırası ile Cl (%2.38), C (%1.17), Si (0.014), Mg (0.01) ve O elementleri takip etmiştir.
- Çalışmada sentezlenen nanopartiküllerinin XRD analizlerinde $2\theta = 38.31^\circ$, 44.51° , 64.65° ve 77.61° deki kristalin 4 farklı kırınım piki metalik Ag'ye karşılık gelen (111), (200), (220) (311) indekslenmiş kırınımmlarla örtüşmüştür.
- *L. corniculatus* bitkisinin çiçek ekstraktı ve bu ekstraktlardan elde edilen AgNP'ler FT-IR spektroskopisi ölçümlerinde benzer pikler elde edildi.
- DPPH, FRAP, TPC ve TFC antioksidan aktivite testlerinde gümüş nanopartiküller çiçek ekstraktlarına göre daha yüksek aktivite göstermiştir.
- α -glukozidaz enziminin inhibisyonunda çiçek ekstraktından elde edilen gümüş nanopartiküller antioksidan aktivite de olduğu gibi çiçek ekstraktına göre daha yüksek aktivite göstermiştir. Karboz için IC_{50} değeri 0.008 mg/ml, ekstrakt için 0.061 mg/ml ve gümüş nanopartikül için ise 0.027 mg/ml olarak hesaplanmıştır.
- Antimikrobiyal aktivite belirleme çalışmasında çiçek ekstraktlarından elde edilen gümüş nanopartiküller minimum inhibisyon konstrasyon değerleri çiçek ekstraktlarına göre oldukça etkin olmuştur.
- Ekstrakt ve AgNP'nin antibiyofilm aktivite deney sonucuna göre, AgNP ile muamele edilen *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturma özelliğinin zayıfa düştüğü belirlenmiştir.
- Yeşil sentez yolu ile nanopartiküllerin üretimi, karakterizasyonu ve bu nanopartiküllerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar da elde edilen sonuçlar önem düzey açısından kayda değer düzeydedir. Farklı kimyasal kompozisyonu sahip olan bitkiler üzerine bu tür çalışmaların yapılması literatüre katkı sağlayacaktır.

- *L. corniculatus* bitksinden farklı metallere (Demir, Altın vb. gibi) ait nanopartiküllerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesine yönelik çalışmaların yapılması literatüre katkı sağlayacak olmakla birlikte, bunların in vivo uygulamalarına da katkı sağlayacaktır.



KAYNAKÇA

- Abdel-Aziz, M. S., Shaheen, M. S., El-Nekeety, A. A. ve Abdel-Wahhab, M. A. (2014). Antioxidant and antibacterial activity of silver nanoparticles biosynthesized using *Chenopodium murale* leaf extract. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(4), 356-363.
- Abdelhady, N. M. ve Badr, K. A. (2016). Comparative study of phenolic content, antioxidant potentials and cytotoxic activity of the crude and green synthesized silver nanoparticles² extracts of two *Phlomis* species growing in Egypt. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(6), 377-383.
- Açıkgöz, N. (2020). Baklagil yem bitkilerinin önemi: Gazal boynuzu (*Lotus corniculatus*) üzerine bir inceleme. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 6(4), 305-312.
- Adeyemi, J. O., Onwudiwe, D. C. ve Oyedeji, A. O. (2022). In vitro α -glucosidase enzyme inhibition and anti-inflammatory studies of Mn₃O₄ nanoparticles mediated using extract of *Dalbergiella welwitschia*. *Results in Chemistry*, 4, 100497.
- Ahmad, T., Wani, I.A., Manzoor, N., Ahmed, J. ve Asiri, A.M. (2013). Biosynthesis, structural characterization and antimicrobial activity of gold and silver nanoparticles. *Colloids Surf. B* 107, 227234.
- Ahn, J.M., Eom, H.J., Yang, X., Meyer, J.N. ve Choi, J. (2014). Comparative toxicity of silver nanoparticles on oxidative stress and DNA damage in the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere* 108, 343352.
- Akar, Z., Akay, S., Ejder, N. ve Özad Düzgün, A. (2024). Determination of the cytotoxicity and antibiofilm potential effect of *Equisetum arvense* silver nanoparticles. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(2), 909-922.
- Akar, Z., Küçük, M. ve Doğan, H. (2017). A new colorimetric DPPH• scavenging activity method with no need for a spectrophotometer applied on synthetic and natural antioxidants and medicinal herbs. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1), 640-647.
- Akay, S., Yüksel, G. ve Özad Düzgün, A. (2024). Investigation of antibiofilm and antibacterial properties of green synthesized silver nanoparticles from aqueous extract of *Rumex* sp. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(2), 1089-1103.

- Alowaiesh, B. F., Alhaithloul, H. A. S., Saad, A. M. ve Hassanin, A. A. (2023). Green biogenic of silver nanoparticles using polyphenolic extract of olive leaf wastes with focus on their anticancer and antimicrobial activities. *Plants*, 12(6), 1410.
- Aniszewski, T. (2007). Alkaloids-secrets of life alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role. *Elsevier, Amsterdam*, ss 1–316.
- Ansari, M., Ahmed, S., Abbasi, A., Khan, M. T., Subhan, M., Bukhari, N. A. . . . Abdelsalam, N. R. (2023). Plant mediated fabrication of silver nanoparticles, process optimization, and impact on tomato plant. *Scientific Reports*, 13(1), 18048.
- Arroyo, G. V., Madrid, A. T., Gavilanes, A. F., Naranjo, B., Debut, A., Arias, M. T. ve Angulo, Y. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles for application in cosmetics. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 55(11), 1304-1320.
- Austin, L. A., Mackey, M. A., Dreaden, E. C. ve El-Sayed, M. A. (2014). The optical, photothermal, and facile surface chemical properties of gold and silver nanoparticles in biodiagnostics, therapy, and drug delivery. *Archives of Toxicology*, 88, 1391-1417.
- Assefa, S. T., Yang, E. Y., Chae, S. Y., Song, M., Lee, J., Cho, M. C. ve Jang, S. (2019). Alpha glucosidase inhibitory activities of plants with focus on common vegetables. *Plants*, 9(1), 2.
- Atak, E., Yıldız, E. ve Uslu, M. (2017). Fenolik bileşiklerin enkapsülasyonu. *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 2, 82-92.
- Auinger, P., Lanphear, B.P., Kalkwarf, H.J. ve Mansour, M.E. (2003). Trends in otitis media among children in the United States. *Pediatrics*, 112, 514–520.
- Ayo, R. G., Amupitan, J. O., Ndukwe, I. G. ve Audu, O. T. (2009). Some chemical constituents of the leaves of *Cassianigricans*. *Vahl. Afr J PureApplChem*, 3(11): p. 208–11.
- Balciunaitiene, A., Viskelis, P., Viskelis, J., Streimikyte, P., Liaudanskas, M., Bartkiene, E. . . . Lele, V. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using extract of *Artemisia absinthium* L., *Humulus lupulus* L. and *Thymus vulgaris* L., physico-chemical characterization, antimicrobial and antioxidant activity. *Processes*, 9(8), 1304.
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P. ve Chang, C. M. (2022). Determination of antioxidants by DPPH radical

- scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4), 1326.
- Baran, M. F., Keskin, C., Baran, A., Hatipoğlu, A., Yıldıztekin, M., Küçükaydin, S., . . . Eftekhari, A. (2023). Green synthesis of silver nanoparticles from *Allium cepa* L. peel extract, their antioxidant, antipathogenic, and anticholin esterase activity. *Molecules*, 28(5), 2310.
- Bast, A., Haenen, G. ve Goelmen, J. A. (1991). Oxidants and antioxidants: State of the art. *Am.J. Med.*, 91, (3 Suppl 3), 2-13.
- Başoğlu, A. ve Akar, Z. (2023). Green biosynthesis, characterization of silver nanoparticles using a green alga *Spirogyra* sp., and their antioxidant and enzyme activities. *International Advanced Researches and Engineering Journal*, 7(1), 41-5.
- Beauclerk, A.A. ve Cundliffe, E. (1987). Sites of action of two ribosomal RNA methylases responsible for resistance to aminoglycosides. *J. Mol. Biol.*, 193, 661–671.
- Begum, S. J., Pratibha, S., Rawat, J. M., Venugopal, D., Sahu, P., Gowda, A., . . . Jaremko, M. (2022). Recent advances in green synthesis, characterization, and applications of bioactive metallic nanoparticles. *Pharmaceuticals*, 15(4), 455.
- Benzie, IFF. ve Strain, JJ. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal Biochem*, 239, 70–6.
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto, G. J. ve Stryer, L. (2019). Biochemistry. *W.H. Freeman and Company*.
- Bhusal, M., Pathak, I., Bhadel, A., Shrestha, D. K. ve Sharma, K. R. (2024). Synthesis of silver nanoparticles assisted by aqueous root and leaf extracts of *Rhus chinensis* millanditsanti bacterial activity. *Heliyon*, 10(13).
- Bindhu, M.R. ve Umadevi, M. (2013). Synthesis of monodispersed silver nanoparticles using *Hibiscus cannabinus* leaf extract and its antimicrobial activity. *Spectrochim. Acta A*101, 184190.
- Binnig, G., Rohrer, H., Gerber, C. ve Weibel, E. (1982). Tunneling through a controllable vacuum gap, *Applied Physics Letters*, 40, 178–180. <https://doi.org/10.1063/1.92999>.
- Bjarnsholt, T., Ciofu, O., Molin, S., Givskov, M. ve Hoiby, N. (2013). Applying insights from biofilm biology to drug development—Can a new approach be developed? *Nat. Rev. Drug. Discov*, 12, 791–808.

- Boue, S. M., Cleveland, T. E., Carter-Wientjes, C., Shih, B. Y., Bhatnagar, D., McLachlan, J. M. ve Burow, M. E. (2009). Phytoalexin-enriched functional foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(7), 2614–2622. <https://doi.org/10.1021/jf8040403>
- Bowler, P.G., Duerden, B.I. ve Armstrong, D.G. (2001). Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin. Microbiol. Rev*, 14, 244–269.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. ve Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Breitmaier, E. (2006). Terpenes: Importance, general structure, and biosynthesis. *Terpenes: Flavors, fragrances, pharmaca, pheromones*, 1, 1-3.
- Brown, M.R., Allison, D.G. ve Gilbert, P. (1988). Resistance of bacterial biofilms to antibiotics: A growth-rate related effect? *J. Antimicrob. Chemother*, 22, 777–780.
- Buettner, G. R. (2011). Superoxide dismutase in redox biology: the roles of superoxide and hydrogen peroxide. *Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 11(4), 341–346. <https://doi.org/10.2174/187152011795677544>
- Burkowska-But, A., Sionkowski, G. ve Walczak, M. (2014). Influence of stabilizers on the antimicrobial properties of silver nanoparticles introduced into natural water. *J. Environ. Sci.* 26, 542549.
- Cazzola, R., Della Porta, M., Manoni, M., Iotti, S., Pinotti, L. ve Maier, J. A. (2020). Going to the roots of reduced magnesium dietary intake: A trade off between climat echanges and sources. *Heliyon*, 6(11).
- Chand, K., Cao, D., Fouad, D. E., Shah, A. H., Dayo, A. Q., Zhu, K., . . . Dong, S. (2020). Greensynthesis, characterization and photocatalytic application of silver nanoparticles synthesized by various plant extracts. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(11), 8248-8261.
- Chang Chien, S. W., M. C. Wang, C. C. Huang ve K. Sessaiah, (2007). Characterization of humic substances derived from swine manure-based compostand correlation of their characteristics with reactivities with heavy metals. *J AgricFoodChem*, 55: p. 4820–7.
- Cheung, CCC., Zheng, GJ., Li, AMY., Richardson, BJ. ve Lam, PKS. (2001). Relationship between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of Marine mussels, *Perna viridis*. *Aquat Toxicol*, 52(3-4): 189-203.

- Chevali, V. ve Kandare, E. (2016). *Rigid biofoam composites as eco-efficient construction materials*. F. Pacheco-Torgal, V. Ivanov, N. Karak ve H. Jonkers (Der.). Biopolymers and biotech admixtures for eco-efficient construction materials içinde (ss. 275-298). Cambridge, Woodhead Publishing.
- Chiej, R. (1984). *The Macdonald encyclopedia of medicinal plants*: Macdonald and Co (Publishers) Ltd., London
- Chiu, H. I., Che Mood, C. N. A., MohamadZain, N. N., Ramachandran, M. R., Yahaya, N., Nik Mohamed Kamal, N. N. S., . . . Lim, V. (2021). Biogenic silver nanoparticles of *Clinacanthus nutans* as antioxidant with antimicrobial and cytotoxic effects. *Bioinorganic chemistry and applications*, 2021(1), 9920890.
- Cochran, W.L., McFeters, G.A. ve Stewart, P.S. (2000). Reduced susceptibility of thin *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to hydrogen peroxide and monochloramine. *J. Appl. Microbiol*, 88, 22–30.
- Cochrane, D.M., Brown, M.R., Anwar, H., Weller, P.H., Lam, K. ve Costerton, J.W. (1988). Antibody response to *Pseudomonas aeruginosa* surface protein antigens in a rat model of chronic lung infection. *J. Med. Microbiol*, 27, 255–261.
- Costerton, J.W., Stewart, P.S. ve Greenberg, E.P. (1999). Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science*, 284, 1318–1322.
- Courrol, D. dos S., Lopes, C. R. B., Pereira, C. B. P., Franzolin, M. R., Silva, F. R. de O. ve Courrol, L.C. (2019). Tryptophan silver nanoparticles synthesized by photo reduction method: Characterization and determination of bactericidal and anti-biofilm activities on resistant and susceptible bacteria. *International Journal of Tryptophan Research*, 12. <https://doi.org/10.1177/1178646919831677>
- Çalışkan, G., Mutaş, T., Oncel, S. Ş. ve Elibol, M. (2019). Green synthesis of metal nanoparticles using microalga *Galdieria* sp. *IFMBE Proceedings*, 73, 219–224. https://doi.org/10.1007/978-3-030-17971-7_34
- Çimen, M. ve Düzgün, AÖ. (2020). Antibiotic induced biofilm formation of novel multi drug resistant *Acinetobacter baumannii* ST2121 clone. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 11; 68(2): 80-6.
- Dai, J., ve Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- Das, G., Kumar Patra, J. ve Shin, H. S. (2020). Biosynthesis, and potential effect of fern mediated biocompatible silver nanoparticles by cytotoxicity, antidiabetic, antioxidant and antibacterial, studies. *Materials Science and Engineering C*, 114, 111011. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111011>

- Das, J.R., Bhakoo, M., Jones, M.V. ve Gilbert, P. (1998). Changes in the biocide susceptibility of *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli* cells associated with rapid attachment to plastic surfaces. *J. Appl. Microbiol*, 84, 852–858.
- Davies, D. (2003). Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat. Rev. Drug. Discov*, 2, 114–122.
- De Beer, D., Stoodley, P., Roe, F. ve Lewandowski, Z. (1994). Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport. *Biotechnol. Bioeng*, 43, 1131–1138.
- De Lacerda, C. D., de Souza, J. B., Bueno, E. V., Medeiros, S. M. F. R. D. S., Cavalcanti, I. D. L. ve Cavalcanti, I. M. F. (2021). Antibacterial and antibiofilm potential of silver nanoparticles against antibiotic-sensitive and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52, 267–278. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00406-x>
- Demir, M. (2000), *Analitik Kimya Uygulaması Kitabı (Nitel Analiz Laboratuvarı Kitabı)*, Üçüncü Baskı. 35-35.
- Diaz, R.R., Picciafuoco, S., Paraje, M.G., Villegas, N.A., Miranda, J.A., Albesa, I., . . . Paglini-Oliva, P. (2011). Relevance of biofilms in pediatric tonsillar disease. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*, 30, 1503–1509.
- Dirir, A. M., Daou, M., Yousef, A. F. ve Yousef, L. F. (2022). A review of alpha-glucosidase inhibitors from plants as potential candidates for the treatment of type-2 diabetes. *Phytochemistry Reviews*, 21(4), 1049-1079.
- Dizaj, S.M., Lotfipour, F., Barzegar-Jalali, M., Zarrintan ve Khosro Adibkia, M.H. (2014). Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Mater. Sci. Eng. C* 44, 278284.
- Donlan, R.M. ve Costerton, J.W. (2002). Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev*, 15, 167–193.
- Dowd, S.E., Sun, Y., Secor, P.R., Rhoads, D.D., Wolcott, B.M., James, G.A. ve Wolcott, R.D. (2008). Survey of bacterial diversity in chronic wounds using pyrosequencing, DGGE, and full ribosome shotgun sequencing. *BMC Microbiol*, 8, 43.
- Duke, J. (1992). Handbook of legumes of economic importance. *Plenum Press: New York*, 131, 872-877.
- Egerton, R. F. (2005). *Physical principles of electron microscopy* (Vol. 56). New York, The USA : Springer Science

- El Bourakadi, K., Bouhfid, R. ve Qaiss, A.E.K. (2021). *Characterization techniques for hybrid nano composites based on cellulose nano crystals/nano fibrils and nano particles*. Denis Rodrigue, Abou el Kacem Qaiss, Rachid Bouhfid (Der), Cellulose nanocrystal/nanoparticles hybrid nanocomposites içinde(ss.27-64). Woodhead Publishing
- Ellingham, S. T., Thompson, T. J. ve Islam, M. (2018). Scanning electron microscopy–energy-dispersive X-ray (SEM/EDX): a rapid diagnostic tool to aid the identification of burnt bone and contested cremains. *Journal of Forensicsciences*, 63(2), 504-510.
- El-Rafie, H.M., El-Rafie, M.H. ve Zahran, M.K. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using polysaccharides extracted from marine macro algae. *Carbohydr. Polym.* 96,403410.
- Epp, J. (2016). *X-ray diffraction (XRD) techniques for materials characterization*. G. Hübschen, I. Altpeter, R. Tschuncky ve H. G. Herrmann (Der.). Materials characterization using nondestructive evaluation (NDE) methods içinde (ss. 81-124). Woodhead publishing.
- Erb, M. ve Kliebenstein, D. J. (2020). Plant secondary metabolites as defenses, regulators, and primary metabolites: The blurred functional trichotomy. *Plant physiology*, 184(1), 39–52. <https://doi.org/10.1104/pp.20.00433>
- Erdem, B., Çiftçi, H. ve Şahin, Y. (2022). Antimicrobial and antioxidant potential of silver nanoparticles synthesized from *Primula vulgaris*. *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 10(2), 1013-1022.
- Erenler, R., Geçer, E. N., Genç, N. ve Yanar, D. (2021). Antioxidant activity of silver nanoparticles synthesized from *Tagetes erecta* L. leaves. *International Journal of Chemistry and Technology*, 5(2), 141-146.
- Fafal, T., Taştan, P., Tüzün, B. S., Ozyazici, M. ve Kivcak, B. (2017). Synthesis, characterization and studies on antioxidant activity of silver nanoparticles using *Asphodelus aestivus* Brot. Aerial part extract. *South African Journal of Botany*, 112, 346-353.
- Fayaz, M., Tiwary, C. S., Kalaichelvan, P. T. ve Venkatesan, R. (2010). Blue orange light emission from biogenic synthesized silver nanoparticles using *Trichoderma viride*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75(1), 175-178.
- Feynman, R. P. (1960). There's plenty of room at the bottom. *Engineering and Science*, 23(5), 22–36.

- Fleming, D. ve Rumbaugh, K.P. (2017). Approaches to dispersing medical biofilms. *Microorganisms*, 5, 15.
- Foti, M. C. (2015). Use and abuse of the DPPH• Radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(40), 8765-8776.
- Fukumoto, L. R. ve Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3597–3604. <https://doi.org/10.1021/jf000220w>
- Fulaz, S., Vitale, S., Quinn, L. ve Casey, E. (2019). Nanoparticle–biofilm interactions: The role of the EPS matrix. *Trends in Microbiology*, 27, 915–926. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.07.004>
- Garibo, D., Borbon-Nunez, H. A., de Leon, J. N. D., Mendoza, E.G., Estrada, I., Toledano-Magana, Y., . . . Susarrey-Arce, A. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using *Lysiloma acapulcensis* exhibit high-antimicrobial activity. *Science and Reports*, 10, 12805. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69606-7>
- Gecer, E. N. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles from *Salvia aethiopis* L. and their antioxidant activity. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 31(11), 4402-4409.
- Geethalakshmi, R. ve Sarada, D.V.L. (2013). Characterization and antimicrobial activity of gold and silver nanoparticles synthesized using saponin isolated from *Trianthema decandra* L. *Ind. Crop. Prod.* 51, 107115.
- Godfrey, T ve West, S. (1996). *Industrial Enzymology*. London: MacmillanPress Ltd.
- Gordon, C.A., Hodges, N.A. ve Marriott, C. (1988). Antibiotic interaction and diffusion through alginate and exopolysaccharide of cystic fibrosis-derived *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antimicrob. Chemother*, 22, 667–674.
- Goto, T., Nakame, Y., Nishida, M. ve Ohi, Y. (1999). In vitro bactericidal activities of beta-lactamases, amikacin, and fluoroquinolones against *Pseudomonas aeruginosa* biofilm in artificial urine. *Urology*, 53, 1058–1062.
- Gottimukkala, K. S. V., Harika, R. P. ve Zamare, D. (2017). Green synthesis of iron nanoparticles using green tea leaves extract. *J. Nanomed. Biother. Discov*, 7(1), 151.
- Groarke, R., Vijayaraghavan, R. K., Powell, D., Rennie, A. ve Brabazon, D. (2021). Powder characterization—methods, standards, and state of the art. *Fundamentals of Laser Powder Bed Fusion of Metals*, 491-527.

- Gu, H., Hou, S., Yongyat, C., De Tore, S. ve Ren, D. (2013). Patterned biofilm formation reveals a mechanism for structural heterogeneity in bacterial biofilms. *Langmuir*, 29, 11145-11153.
- Gupta, K., Hazarika, S.N., Saikia, D., Namsa, N.D. ve Mandal, M. (2014). One step green synthesis and anti-microbial and anti-biofilm properties of *Psidium guajava* L. leaf extract mediated silver nanoparticles. *Mater. Lett.* 125, 67-70.
- Gupta, P., Sarkar, S., Das, B., Bhattacharjee, S. ve Tribedi, P. (2016). Biofilm, pathogenesis and prevention--a journey to break the wall: A review. *Arch. Microbiol.*, 198, 1-15.
- Habeeb Rahuman, H. B., Dhandapani, R., Narayanan, S., Palanivel, V., Paramasivam, R., Subbarayalu, R., . . . Muthupandian, S. (2022). Medicinal plants mediated the green synthesis of silver nanoparticles and their biomedical applications. *IET nanobiotechnology*, 16(4), 115-144.
- Hajipour, M. J., Fromm, K. M., Akbar Ashkarran, A., Jimenez de Aberasturi, D., Larramendi, I. R. de, Rojo, T. ve Mahmoudi, M. (2012). Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, 30(10), 499-511. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.06.004>
- Halfon, B. (2005). *Natural Products Lecture Notes*. İstanbul: Boğaziçi Basımevi, 975-518251-9.
- Halliwell, B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning), *Free Radic Res.*, 31(4), 261-272
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.
- Harborne, J. B. ve Simmonds, N.W. (1964). In *Biochemistry of Phenolic Compounds*, s.79 [J. B. Harborne, editor]. London: Academic Press.
- Hassanpour, S., Sadaghian, M., MaheriSis, N., Eshratkhah, B. ve ChaichiSemsari, M. (2011). Effect of condensed tannin on controlling faecal protein excretion in nematode-infected sheep: in vivo study. *Journal of American Science*, 7(5): 896-900.
- Hatipoğlu, A. (2022). Gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi ve bazı gıda patojenleri üzerindeki antimikrobiyal etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(1), 106-114.
- Hawkey, P. M. (2008). The growing burden of antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62 (suppl_1), i1-i9.

- Heightman, T. D., ve Vasella, A. T. (1999). Recent insights into inhibition, structure, and mechanism of configuration-retaining glycosidases. *Angewandte Chemie International Edition*, 38(6), 750-770.
- Hetta, H. F., Al-Kadmy, I. M. S., Khazaal, S. S., Abbas, S., Suhail, A., El-Mokhtar, M. A., . . . Algammal, A. M. (2022). Antibiofilm and antivirulence potential of silver nanoparticles against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Science and Reports*, 11, 10751. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90208-4>
- Hobley, L., Harkins, C., MacPhee, C.E. ve Stanley-Wall, N.R. (2015). Giving structure to the biofilm matrix: An overview of individual strategies and emerging common themes. *FEMS Microbiol. Rev*, 39, 649–669.
- Hoiby, N., Ciofu, O. ve Bjarnsholt, T. (2010). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in cystic fibrosis. *Future Microbiol*, 5, 1663–1674.
- Hulkoti, N. I. ve Taranath, T. (2014). "Biosynthesis of nanoparticles using microbes, a review", *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474-483.
- Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A. ve Bukhari, A. (2020). Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles, *Green Chemistry Letters and Reviews*, 13, 59–81. <https://doi.org/10.1080/17518253.2020.1802517>
- Irie, Y., Borlee, B.R., O'Connor, J.R., Hill, P.J., Harwood, C.S., Wozniak, D.J. ve Parsek, M.R. (2012). Self-produced exopolysaccharide is a signal that stimulates biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 20632–20636.
- Jain, P. K. ve Joshi, H. (2012). Coumarin: Chemical and pharmacological profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(6), 236-240.
- Jain, S. ve Mehata, M. S. (2017). Medicinal plant leaf extract and pure flavonoid mediated green synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial property. *Science and Reports*, 7, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15724-8>
- Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M.A., . . . Kamil, M.A. (2018). Bacterial biofilm and associated infections. *J. Chin. Med. Assoc*, 81, 7–11.
- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y.S., Dufresne, A. ve Danquah, M.K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: History, sources, toxicity and regulations, *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 9, 1050–1074. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>.

- Juhlin, A., Svensson, S., Thomsen, P. ve Trobos, M. (2017). Staphylococcal biofilm gene expression on biomaterials- a methodological study. *J. Biomed. Mater. Res. A.*, 105, 3400–3412.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1).
- Karihtala, P. ve Soin, Y. (2007). Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *Journal Compilation*, 115; 81-103.
- Kaswar, S. M. A., Mostafa, G., Huq, E., Nahar, N. ve Ozeki, Y. (2009). Chemical constituents and hemolytic activity of *Macrotyloma uniflorum* L. *Int J BiolChem*, 3(1): p. 42–8.
- Khan, I., Saeed, K. ve Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of Chemistry*, 12(7), 908-931. 106
- Khan, M. Q., Kumar, P., Khan, R. A., Ahmad, K. ve Kim, H. (2022). Fabrication of sulfur doped reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode (S@rGO/GCE) based acetaminophen sensor. *Inorganics*, 10(12), 218.
- Khuda, F., Jamil, M., Khalil, A. A. K., Ullah, R., Ullah, N., Naureen, F., . . . Ahn, M. J. (2022). Assessment of antioxidant and cytotoxic potential of silver nano particles synthesized from root extract of *Reynoutria japonica* Houtt. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(12), 104327.
- Kim, K.J., Sung, W.S., Suh, B.K., Moon, S.K., Choi, J.S., Kim, J.G. ve Lee, D.G. (2009). Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on *Candida albicans*. *Biometals* 22, 235242.
- Klausen, M., Aaes-Jorgensen, A., Molin, S. ve Tolker-Nielsen, T. (2003). Involvement of bacterial migration in the development of complex multicellular structures in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Mol. Microbiol*, 50, 61–68.
- Klemm, P., Vejborg, R.M. ve Hancock, V. (2010). Prevention of bacterial adhesion. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 88, 451–459.
- Kotrange, H., Najda, A., Bains, A., Gruszecki, R., Chawla, P. ve Tosif, M. M. (2021). Metal and metaloxide nanoparticle as a novel antibiotic carrier for the direct delivery of antibiotics. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17). <https://doi.org/10.3390/ijms22179596>
- Kumar, B., Sharma, D., Sharma, P., Katoch, V.M., Venkatesan, K. ve Bisht, D. (2013). Proteomic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolates resistant to kanamycin and amikacin. *J. Proteom*, 94, 68–77.

- Kumar, D.A., Palanichamy, V. ve Roopan, S.M. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using *Alternanthera dentata* leaf extract at room temperature and their antimicrobial activity. *Spectrochim. Acta A* 127, 168171.
- Kumar, H., Bhardwaj, K., Nepovimova, E., Kuča, K., Singh Dhanjal, D., Bhardwaj, S., . . . Kumar, D. (2020). Antioxidant functionalized nanoparticles: A combat against oxidative stress. *Nanomaterials*, 10(7), 1334.
- Kumar, M. A., Sonal, U., Akshi, G., Ebenezer, J. K., Lawrence, R. ve Nidhi, M. (2021). Micro wave assisted green synthesis of silver nano particles with leaf of *Ficus racemosa* and its in vitro antibacterial analysis and dyecatalytic activity. *Res J Chem Environ*, 25, 111-119.
- Kumon, H., Tomochika, K., Matunaga, T., Ogawa, M. ve Ohmori, H. (1994). A sandwich cup method for the penetration assay of antimicrobial agents through *Pseudomonas exopolysaccharides*. *Microbiol. Immunol*, 38, 615–619.
- Kut, D. ve Güneşoğlu, C. (2005). Nanoteknoloji ve tekstil sektöründeki uygulamaları, *Tekstil ve Teknik*, Şubat, 224-230.
- Kvitek, L., Panacek, A., Soukupova, J., Kolar, M., Vecerova, R., Pucek, R., . . . Zboril, R. (2008). Effect of surfactants and polymers on stability and antibacterial activity of silver nanoparticles (NPS). *J. Phys. Chem. C* 112, 58255834.
- Lamont, R.J. ve Jenkinson, H.F. (1998). Life below the gum line: Pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*, 62, 1244–1263.
- Lara, H. H., Ayala-Nunez, N. V., del Turrent, L. C. I. ve Padilla, C. R. (2010). Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 26, 615–621. [https:// doi. org/ 10.1007/s11274- 009- 0211-3](https://doi.org/10.1007/s11274-009-0211-3)
- Larsen, K. (1958). Cytotaxonomical studies in Lotus IV. Some cases of polyploidy. *Bot. Tidsskr.*, 54, 44-56.
- Larson RA. (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27(4): 969-978
- Lata, M., Sharma, D., Deo, N., Tiwari, P.K., Bisht, D. ve Venkatesan, K. (2015). Proteomic analysis of ofloxacin-mono resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J. Proteom*, 127, 114 121.
- Lawag, I. L., Nolden, E. S., Schaper, A. A., Lim, L. Y. ve Locher, C. (2023). A modified folin-ciocalteu assay for the determination of total phenolics content in honey. *Applied Sciences*, 13(4), 2135.

- Lebeaux, D., Chauhan, A., Rendueles, O. ve Beloin, C. (2013). From in vitro to in vivo models of bacterial biofilm-related infections. *Pathogens*, 2, 288–356.
- Li, L., Mendis, N., Trigui, H., Oliver, J.D. ve Faucher, S.P. (2014). The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Front. Microbiol*, 5, 258.
- Limon-Pacheco, J. ve Gonsebatt, ME. (2009). The role of antioxidants and antioxidant related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res*, 674(1-2): 137-147.
- Liu, Q., Yin, L., Zhang, X., Zhu, G., Liu, H., Bai, F., . . . Jin, Y. (2022). Reversion of ceftazidime resistance in *Pseudomonas aeruginosa* under clinical setting. *Microorganisms*, 10, 2395.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., ve Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants, and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118-126.
- Lubos, E., Loscalzo, J. ve Handy, D. E. (2011). Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & redox signaling*, 15(7), 1957–1997. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3586>
- Magnet, S., Courvalin, P. ve Lambert, T. (2001). Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. *Antimicrob. Agents Chemother*, 45, 3375–3380.
- Mah, T.F. (2012). Biofilm-specific antibiotic resistance. *Future Microbiol*, 7, 1061–1072.
- Mah, T.F. ve O'Toole, G.A. (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol*, 9, 34–39.
- Majithia, M. ve Barretto, D.A. (2023). Biocompatible green-synthesized nanomaterials for therapeutic applications, Editor(s): Pranay Morajkar, Milind Naik, In progress in Biochemistry and Biotechnology, *Advances in Nano and Biochemistry*, AcademicPress, 2023, ISBN 9780323952538, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95253-8.00012-7>.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. ve Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>
- Mathew, T.V. ve Kuriakose, S. (2013a). Photochemical and antimicrobial properties of silver nanoparticle-encapsulated chitosan functionalized with photoactive groups. *Mater. Sci.Eng., C* 33, 44094415.

- Mathew, T.V. ve Kuriakose, S. (2013b). Studies on the antimicrobial properties of colloidal silver nanoparticles stabilized by bovine serum albumin. *Colloids Surf. B* 101, 1418.
- Mattioli, R., Francioso, A., Mosca, L. ve Silva, P. (2020). Anthocyanins: A comprehensive review of their chemical properties and health effects on cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(17), 3809. <https://doi.org/10.3390/molecules25173809>
- Maurer, L.L. ve Meyer, J.N. (2016). A systematic review of evidence for silver nanoparticle induced mitochondrial toxicity. *Environ. Sci. Nano* 3, 311322.
- Meng, Y. (2015). A sustainable approach to fabricating Ag nanoparticles/PVA hybrid nanofiber and its catalytic activity. *Nanomaterials*, 5(2), 1124-1135.
- McNeilly, O., Mann, R., Hamidian, M. ve Gunawan, C. (2021). Emerging concern for silver nanoparticle resistance in *Acinetobacter baumannii* and other bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 12,652863. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2021.652863>/ BIBTEX
- Miljković, M., Lazić, V., Davidović, S., Milivojević, A., Papan, J., Fernandes, M. M., ... Nedeljković, J. M. (2020). Selective antimicrobial performance of biosynthesized silver nanoparticles by horsetail extract against *E. coli*. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 30(2598), 2607. <https://doi.org/10.1007/s10904-019-01402-x>
- Mohanpuria, P., Rana, N. K. ve Yadav, S. K. (2008). Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal of Nanoparticle Research*, 10, 507-517.
- Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramí' rez, J.T. ve Yacaman, M.J.(2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanomed. Nano technol.* 3, 95.
- Nasrollahzadeh, M., Atarod, M., Sajjadi, M., Sajadi, S. M. ve Issaabadi, Z. (2019). Plant mediated green synthesis of nanostructures: mechanisms, characterization, and applications. *In Interface science and technology*, 28, 199-322.
- Nelson, D. L. ve Cox, M. M. (2021). Lehninger principles of Biochemistry. *W.H. Freeman and Company*.
- Nichols, W.W., Dorrington, S.M., Slack, M.P. ve Walmsley, H.L. (1988). Inhibition of tobramycin diffusion by binding to alginate. *Antimicrob. Agents Chemother*, 32, 518–523.

- Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*, 67, 593–656.
- Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(4), 503-515.
- Nizamlioğlu, M.N. ve Nas, S. (2010). Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1(5), 20-35.
- Noguez, C. (2007). Surface plasmons on metal nanoparticles: The influence of shape and physical environment. *J. Phys. Chem., C*. 111, 3806–3819
- Noreen, H., Semmar, N., Farman, M. ve McCullagh, J.S.O. (2017). Measurement of total phenolic content and antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant *Coronopus didymus*, *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*, 10(8), 792–801.
- Obboh, G., Isaac, A. T., Akinyemi, A. J. ve Ajani, R. A. (2014). Inhibition of key enzymes linked to type 2 diabetes and sodium nitroprusside induced lipid peroxidation in rats' pancreas by phenolic extracts of avocado pear leaves and fruit. *International Journal of Biomedical Science: IJBS*, 10(3), 208.
- Olson, P.D. ve Hunstad, D.A. (2016). Subversion of host innate immunity by uropathogenic *Escherichia coli*. *Pathogens* 2016, 5, 2.
- Omidia, S., Sedaghatb, S., Tahvildaria, K., Derakhshia, P. ve Motiee, F. (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles with *Adiantum capillus-veneris* L leaf extract in the batch process and assessment of antibacterial activity. *Green Chemistry Letters And Reviews*, 11, 544–551. <https://doi.org/10.1080/17518253.2018.1546410>
- Overman, P.R. (2000). Biofilm: A new view of plaque. *J. Contemp. Dent. Pract*, 1, 18–29.
- Paduch, R., Kandefer-Szerszeń, M., Trytek, M. ve Fiedurek, J. (2007). Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum immunologiae et therapiiae experimentalis*, 55(5), 315–327. <https://doi.org/10.1007/s00005-007-0039-1>
- Paharik, A.E. ve Horswill, A.R. (2016). The staphylococcal biofilm: Adhesins, regulation, and host response. *Microbiol. Spectr*, 4.
- Pal, S., Tak, Y.K. ve Song, J.M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 17121720.
- Panda, S. K., Sen, S., Roy, S. ve Moyez, A. (2018). Synthesis of colloidal silver nanoparticles by reducing aqueous AgNO₃ using green reducing agents. *MaterialsToday: Proceedings*, 5(3), 10054-10061.

- Pandey, K. B. ve Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270-278. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>
- Parashar, U.K., Bera, V.K.T., Saxena, P.S., Nath, G., Srivastava, S.K., Giri, R., . . . Srivastava, A.(2011). Study of mechanism of enhanced antibacterial activity by green synthesis of silver nanoparticles. *Nanotechnology* 22, 415104.
- Parit, S. B., Karade, V. C., Patil, R. B., Pawar, N. V., Dhavale, R. P., Tawre, M., . . . Chougale, A. D. (2020). Bioinspired synthesis of multi functional silver nanoparticles for enhanced antimicrobial and catalytic applications with tailored SPR properties. *Materials Today Chemistry*, 17, 100285.
- Patil, R. B. ve Chougale, A. D. (2021). Analytical methods for the identification and characterization of silver nanoparticles: A brief review. *Materials Today: Proceedings*, 47, 5520-5532.
- Paulkumar, K., Gnanajobitha, G., Vanaja, M., Rajeshkumar, S., Malarkodi, C., Pandian, K. ve Annadurai, G. (2014). Piper nigrum leaf and stem assisted green synthesis of silver nanoparticles and evaluation of its antibacterial activity against agricultural plant pathogens. *The Scientific World Journal*, 2014(1), 829894.
- Pelgrift, R. Y. ve Friedman, A. J. (2013). Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65, 1803–1815. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.07.011>
- Perez, E.ve Sandgren, P. (2008). *Nanotechnology in Sweden: An Innovation System Approach to an Emerging Area*, Stockholm, VINNOVA, s. 11.
- Perni, S., Hakala, V. ve Prokopovich, P. (2014). Biogenic synthesis of antimicrobial silver nanoparticles capped with l-cysteine. *Colloids Surf. A* 460, 219224.
- Phongtongpasuk, S., Poadang, S. ve Yongvanich, N. (2016). Environmental-friendly method for synthesis of silver nanoparticles from dragon fruit peel extract and their antibacterial activities. *EnergyProcedia*, 89, 239-247.
- Prigent-Combaret, C., Vidal, O., Dorel, C. ve Lejeune, P. (1999). Abiotic surface sensing and biofilm dependent regulation of gene expression in Escherichia coli. *J. Bacteriol*, 181, 5993 6002.
- Priyadharshini, R. I., Prasannaraj, G., Geetha, N., ve Venkatachalam, P. (2014). Microwave-mediated extracellular synthesis of metallic silver and zinc oxide nanoparticles using macro-algae (*Gracilaria edulis*) extracts and its anticancer activity against human PC3 cell lines. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 174, 2777-2790.

- Rafiq, S., Majeed, R., Qazi, A. K., Ganai, B. A., Wani, I., Rakhshanda, S., . . . Masood, A. (2013). Isolation and antiproliferative activity of Lotus corniculatus lectin towards human tumour cell lines. *Phytomedicine*, 21(1),30-38.
- Rai, M., Yadav, A. ve Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27(1), 76-83.
- Rai, V.R. ve Bai, A.J. (2011). Nanoparticles and their potential application as antimicrobials. In: Me'ndez-Vilas, A. (Ed.), Science against microbial pathogens: Communicating current research and technological advances. Formatex, Microbiology series no. 3.pp. 197209.
- Rajaram, K., Aiswarya, D. C., ve Sureshkumar, P. (2015). Green synthesis of silver nanoparticle using Tephrosia tinctoria and its antidiabetic activity. *Materials Letters*, 138, 251-254.
- Ravindran, A., Chandran, P. ve Khan, S.S. (2013). Biofunctionalized silver nanoparticles: Advances and prospects. *Colloids Surf. B* 105, 342352.
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2866-2887. <https://doi.org/10.1021/jf026182t>
- Rodriguez-Leon, E., Iniguez-Palomares, R. A., Navarro, R. E., Beas, C. R., Rodriguez, E.L., Cirerol, F.J.A., . . . Soto, J.M.M. (2018). Silver nanoparticles synthesized with Rumex hymenosepalus extracts: Effective broad-spectrum microbicidal agents and cytotoxicity study. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46, 1194–1206. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1366332>
- Rodriguez-Leon, E., Iniguez-Palomares, R., Navarro, R. E., Herrera-Urbina, R., Tanori, J., Iniguez-Palomares, C. ve Maldonado, A. (2013). Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (Rumex hymenosepalus extracts). *Nanoscale Research Letters*, 8(1),318. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-318>
- Rose, J.B. (2023). Biofilms: The good and the bad. Available online: <https://waterandhealth.org/safe-drinking-water/drinking-water/biofilms-good-bad-2/> (accessed on 5 May 2023).
- Rozali, N. L., Azizan, K. A., Singh, R., Jaafar, S. N. S., Othman, A., Weckwerth, W. ve Ramli, U. S. (2023). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy approach combined with discriminant analysis and prediction model for crude palm oil

- authentication of different geographical and temporal origins. *Food Control*, 146, 109509.
- Rubey, K. M. ve Brenner, J. S. (2021). Nanomedicine to fight infectious disease. *Advanced DrugDelivery Reviews*, 179, 113996. [https:// doi. org/ 10. 1016/j. addr. 2021. 113996](https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113996)
- Salari, S., Bahabadi, S. E., Samzadeh-Kermani, A. ve Yosefzaei, F. (2019). In-vitro evaluation of antioxidant and antibacterial potential of green synthesized silver nanoparticles using *Prosopis farcta* fruit extract. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 18(1), 430.
- Salata, O.V. (2004). Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J. Nanobiotechnol.* 2, 38.
- Sauer, K., Camper, A.K., Ehrlich, G.D., Costerton, J.W. ve Davies, D.G. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J. Bacteriol*, 184, 1140–1154.
- Seil, J. T. ve Webster, T. J. (2012). Antimicrobial applications of nanotechnology: Methods and literature. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 2767–2781.
- Selvi, A. J., Rajendran, S., Sri, V.G., Amalraj, A.J., ve Narayanasamy, B.(2009). Corrosion inhibition by beet root extract. *Port Electrochimica Acta*. 27(1): p. 1-11.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, YSR. ve De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(1): 91-100.
- Sen, S. ve Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. American Chemical Society, oxidative stress: Diagnostics, prevention and therapy. *Chapter 1*: 1-37.
- Shahidi, F. ve Yeo, J. (2016). Insoluble-bound phenolics in food. *Molecules*, 21(9), 1216.
- Shankar, S., Jaiswal, L., Aparna, R.S.L. ve Prasad, R.G.S.V. (2014). Synthesis, characterization, in vitro biocompatibility, and antimicrobial activity of gold, silver and gold silver alloy nanoparticles prepared from *Lansium domesticum* fruit peel extract. *Mater. Lett.* 137, 7578.
- Shanmugam, J., Dhayalan, M., Savaas Umar, M. R., Gopal, M., Ali Khan, M., Simal-Gandara, J. ve Cid-Samamed, A. (2022). Greensynthesis of silver nanoparticles using *Allium cepa* var. *aggregatum* natural extract: Antibacterial and cytotoxic properties. *Nanomaterials*, 12(10), 1725.

- Sharma, D., Kumar, B., Lata, M., Joshi, B., Venkatesan, K., Shukla, S. ve Bisht, D. (2015). Comparative proteomic analysis of amino glycosides resistant and susceptible *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates for exploring potential drug targets. *PLoS ONE*, 10, e0139414.
- Sharma, D., Misba, L. ve Khan, A.U. (2019). Antibiotics versus biofilm: An emerging battle ground in microbial communities. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, 8, 76.
- Shigeta, M., Tanaka, G., Komatsuzawa, H., Sugai, M., Suginaka, H. ve Usui, T. (1997). Permeation of antimicrobial agents through *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: A simple method. *Chemotherapy*, 43, 340–345.
- Shinde, A., Ganu, J. ve Naik, P. (2012). Effect of free radicals and antioxidants on oxidative stress: A review. *J Dent Allied Sci*, 1(2): 63- 66.
- Shkodenko, L., Kassirov, I. ve Koshel, E. (2020). Metal oxide nanoparticles against bacterial biofilms: Perspectives and limitations. *Microorganisms.*, 8(10), 1545. [https:// doi. org/ 10.3390/ micro organ isms8101545](https://doi.org/10.3390/microorganisms8101545)
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M. ve Hijji, Y. M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *Lwt*, 150, 111932.
- Singh, M., Renu, Kumar, V., Upadhyay, S.K., Singh, R., Yadav, M., . . . Manikanadan, S. (2021). Biomimetic synthesis of silver nanoparticles from aqueous extract of *Saraca indica* and its profound antibacterial activity. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11, 8110–8120. [https:// doi. org/ 10. 33263/ BRIAC 11. 81108 120](https://doi.org/10.33263/BRIAC.11.81108.120)
- 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 Lett.* 7, 219242.
- Sivakumar, T. (2021). In vitro antioxidant, total phenolic, total flavonoid content and biosynthesis of silver nanoparticles using *Cassia auriculata* leaves extracts. *International Journal of BotanyStudies*, 6(3), 476-480.
- Skoog, D. A., Holler, F. J. ve Crouch, S. R. (2019). Textbook-principles of instrumental analysis. *Cengage learning*.
- Skora, B., Krajewska, U., Nowak, A., Dziedzic, A., Barylyak, A. ve Kus-Liśkiewicz, M. (2021). Noncytotoxic silver nanoparticles as a new antimicrobial strategy. *Scientific Reports*, 11(1), 1–13. [https://doi. org/ 10. 1038/ s41598- 021- 92812-w](https://doi.org/10.1038/s41598-021-92812-w)

- Slavin, Y. N., Asnis, J., Hafeli, U. O. ve Bach, H. (2017). Metal nanoparticles: Understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of Nanobiotechnology*, 15, 1–20. <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0308-z>
- Slinkard, K. ve Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49–55.
- Somda, D., Bargul, J. L., Wesonga, J. M. ve Wachira, S. W. (2024). Green synthesis of *Brassica carinata* microgreen silver nanoparticles, characterization, safety assessment, and antimicrobial activities. *Scientific Reports*, 14(1), 29273.
- Sonderholm, M., Bjarnsholt, T., Alhede, M., Kolpen, M., Jensen, P.O., Kuhl, M. ve Kragh, K.N. (2017). The Consequences of being in an infectious biofilm: Micro environmental conditions governing antibiotic tolerance. *Int. J. Mol. Sci*, 18, 2688.
- Souto, A. L., Tavares, J. F., da Silva, M. S., Diniz, M., de Athayde-Filho, P. F. ve Barbosa Filho, J. M. (2011). Anti-inflammatory activity of alkaloids: an update from 2000 to 2010. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 16(10), 8515–8534. <https://doi.org/10.3390/molecules16108515>
- Speziale, P. ve Geoghegan, J.A. (2015). Biofilm formation by staphylococci and streptococci: Structural, functional, and regulatory aspects and implications for pathogenesis. *Front. Cell. Infect. Microbiol*, 5, 31.
- Sridhar, K. ve Bhat, R. (2007). Lotus-A potential nutraceutical source. *Journal of Agricultural Technology*, 3(1), 143-155.
- Srirangam, G. M. ve Rao, K. P. (2017). Synthesis and characterization of silver nanoparticles from the leaf extract of *Malachra capitata* (L.). *Rasayan J Chem*, 10(1), 46-53.
- Stevens, K. N., Crespo-Biel, O., van den Bosch, E. E., Dias, A. A., Knetsch, M. L., Aldenhoff, Y. B. ve Koole, L. H. (2009). The relationship between the antimicrobial effect of catheter coatings containing silver nanoparticles and the coagulation of contacting blood. *Biomaterials*, 30(22), 3682-3690.
- Stewart, P.S. (1998). A review of experimental measurements of effective diffusive permeabilities and effective diffusion coefficients in biofilms. *Biotechnol. Bioeng*, 59, 261–272.
- Stewart, P.S. (1996). Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother*, 40, 2517–2522.
- Sulistiyarti, H., Utama, M. M., Fadhila, A. M., Cahyaningrum, A., Murti, R. J. ve Febriyanti, A. (2023). Green synthesis of silver nanoparticles using *Coffea*

- canephora fruit skin extract and its application for mercury detection in face cream samples. *Analytical Sciences*, 39(3), 335-346.
- Suman, T.Y., Radhika Rajasree, S.R., Kanchana, A. ve Elizabeth, S.B. (2013). Biosynthesis, characterization and cytotoxic effect of plant mediated silver nanoparticles using *Morinda citrifolia* root extract. *Colloids Surf. B* 106, 7478.
- Tack, K.J. ve Sabath, L.D. (1985). Increased minimum inhibitory concentrations with anaerobiasis for tobramycin, gentamicin, and amikacin, compared to latamoxef, piperacillin, chloramphenicol, and clindamycin. *Chemotherapy*, 31, 204–210.
- Taha, Z. K., Hawar, S. N. ve Sulaiman, G. M. (2019). Extra cellular biosynthesis of silver nanoparticles from *Penicillium italicum* and its antioxidant, antimicrobial and cytotoxicity activities. *Biotechnology letters*, 41, 899-914.
- Taiz, L. ve Zeiger, E. (2008). Bitki Fizyolojisi, Editör: İsmail Türkan. Palme Yayıncılık, Ankara.
- Tarani, E., Arvanitidis, I., Christofilos, D., Bikiaris, D. N., Chrissafis, K. ve Vourlias, G. (2023). Calculation of the degree of crystallinity of HDPE/GNPs nano composites by using various experimental techniques: a comparative study. *Journal of Materials Science*, 58(4), 1621-1639.
- Thomas, R., Jishma, P., Snigdha, S., Soumya, KR, Mathew, J. ve Radhakrishnan, EK (2020). Enhanced antimicrobial efficacy of biosynthesized silver nanoparticle based antibiotic conjugates. *Inorganic Chemistry Communications*, 117, 107978. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.107978>
- Tiring, G., Satar, S. ve Özkaya, O. (2021). Sekonder metabolitler. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35 (1), 203-215.
- Tuomanen, E., Cozens, R., Tosch, W., Zak, O. ve Tomasz, A. (1986). The rate of killing of *Escherichia coli* by beta-lactam antibiotics is strictly proportional to the rate of bacterial growth. *J. Gen. Microbiol*, 132, 1297–1304.
- Urbanska, K. (1984). Polymorphism of cyanogenesis in *Lotus alpinus* from Switzerland. II. Phenotypic and allelic frequencies upon acidic silicate and carbonate. *Ber. Geobot. Inst. Zurich*, 51, 132-163.
- Ünver, Y., Deniz, S., Çelik, F., Akar, Z., Küçük, M. ve Sancak, K. (2016). Synthesis of new 1, 2, 4-triazole compounds containing Schiff and Mannichbases (morpholine) with antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(sup3), 89-95.
- Valko, M., Leibfritz, D. ve Moncola, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *Int. J. Biochem Cell Biol.*, 39, 44-84.

- Veerachamy, S., Yarlagadda, T., Manivasagam, G. ve Yarlagadda, P.K. (2014). Bacterial adherence and biofilm formation on medical implants: A review. *Proc. Inst. Mech. Eng. H*, 228, 1083–1099.
- Walsh, C. (2000). Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature*, 406, 775–781.
- Watters, C., DeLeon, K., Trivedi, U., Griswold, J.A., Lyte, M., Hampel, K.J., . . . Rumbaugh, K.P. (2013). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms perturb wound resolution and antibiotic tolerance in diabetic mice. *Med. Microbiol. Immunol*, 202, 131–141.
- Welch, K.T., Virga, K.G., Whittemore, N.A., Ozen, C., Wright, E., Brown, C.L., . . . Serpersu, E.H. (2005). Discovery of non-carbohydrate inhibitors of aminoglycoside-modifying enzymes. *Bioorg Med. Chem*, 13, 6252–6263.
- Wintachai, P., Paosen, S., Yupanqui, C. T. ve Voravuthikunchai, S. P. (2019). Silver nanoparticles synthesized with *Eucalyptus critriodora* ethanol leaf extract stimulate antibacterial activity against clinically multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from pneumonia patients. *Microbial pathogenesis*, 126, 245–257. <https://doi.org/10.1016/J.MICPA.2018.11.018>
- Xu, K.D., McFeters, G.A. ve Stewart, P.S. (2000). Biofilm resistance to antimicrobial agents. *Microbiology*, 146 Pt 3, 547–549.
- Yang, J., Yao, J.L., Wu, Z.Q., Zeng, D.L., Zheng, L.Y., Chen, D., . . . Peng, L. (2021). Current opinions on the mechanism, classification, imaging diagnosis and treatment of post traumatic osteomyelitis. *Chin. J. Traumatol*, 24, 320–327.
- Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F. ve Wang, Q. (2018). Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(4), 762. <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
- Yavuz, R. ve Erdemir, S. (2020). *Lotus corniculatus* ve *Lotus tenuis* türlerinin ekolojik adaptasyonları. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(2), 180-190.
- Yoon, B.I., Han, D.S., Ha, U.S., Lee, S.J., Sohn, D.W., Kim, H.W., . . . Cho, Y.H. (2013). Clinical courses following acute bacterial prostatitis. *Prostate Int*, 1, 89–93.
- Young, IS. ve Woodside, JV. (2001). Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*, 54(3): 176 186.
- Yu, Z., Yin, Y., Zhao, W., Liu, J. ve Chen, F. (2012). Anti-diabetic activity peptides from albumin against α -glucosidase and α -amylase. *Food chemistry*, 135(3), 2078–2085.

- Zhang, F., Wu, X., Chen, Y., ve Lin, H. (2009). Application of silver nanoparticles to cotton fabric as an antibacterial textile finish. *Fibers and Polymers*, 10, 496-501.
- Zhong, Y. ve Shahidi, F. (2015). Methods for the assessment of antioxidant activity in foods. In hand book of antioxidants for food preservation (pp. 287-333). *Woodhead Publishing*.



ÖZGEÇMİŞ

Orta öğrenimini Torul’da tamamladıktan sonra liseyi Trabzon’ da okudu. 2001 yılında Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi İngilizce Biyoloji Bölümünü kazandı. 2006 yılında üniversiteden mezun oldu. 2006-2010 yılları arasında Milli Eğitim Bakanlığına bağlı kurumlarda ücretli öğretmenlik yaptı. 2023 yılında Gümüşhane Üniversitesi Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine devam ediyor.

