

**T.C.  
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAKIR (Cu) NANOÇİÇEKLERİNİN YEŞİL SENTEZ  
YÖNTEMİ KULLANILARAK SENTEZLENMESİ,  
KARAKTERİZASYONU, FOTOKATALİTİK,  
ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN  
BELİRLENMESİ**

**Tezi Hazırlayan  
Onur Can GÜVEN**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Musa KAR**

**Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Ocak 2022  
NEVŞEHİR**



**T.C.  
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAKIR (Cu) NANOÇİÇEKLERİNİN YEŞİL SENTEZ  
YÖNTEMİ KULLANILARAK SENTEZLENMESİ,  
KARAKTERİZASYONU, FOTOKATALİTİK,  
ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN  
BELİRLENMESİ**

**Tezi Hazırlayan  
Onur Can GÜVEN**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Musa KAR**

**Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Ocak 2022  
NEVŞEHİR**

## TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimimde derslerini büyük ilgiyle takip ettiğim, kişiliğı ve vizyonuyla örnek aldığım yüksek lisans eğitimim süresince tez danışmanlığımı yürüten çok değerli hocam Doç. Dr. Musa Kar'a araştırma süreci boyunca bilgisini, desteğini ve zamanını benden esirgemediğı için sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Araştırmamın deneyler ve analizler aşamasında büyük destek sağlayan kıymetli hocam Dr.Öğr. Üyesi Fatih Doğan Koca'ya yardımlarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Okul hayatımın ilk yıllarından bu yana eğitim hayatıma ve kişisel gelişimime göstermiş oldukları her türlü desteklerden dolayı kıymetli öğretmenim Nihat Avcı ve kıymetli eşi Belgin Avcı'ya sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Yaptığım her işte, çıktığım her yolda bana güvenen ve bu günlere gelmemde her türlü desteğı ve fedakârlığı gösteren çok değerli annem Gülten Güven ve çok değerli babam Faysal Güven'e ve bu süreçte desteğini esirgemeyen canım kardeşim Ayşe Güven'e yanımda oldukları için sonsuz teşekkür ediyorum.

**BAKIR (Cu) NANOÇİÇEKLERİNİN YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ  
KULLANILARAK SENTEZLENMESİ, KARAKTERİZASYONU,  
FOTOKATALİTİK, ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN  
AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Onur Can GÜVEN**

**Ocak 2022**

**ÖZET**

Nanoteknoloji ürünlerinin hayatımızın her alanına entegre olmasıyla birlikte birçok nanopartikül çeşitleri aktif olarak kullanılmaktadır. Çiçek şekilli nanoparçacıkların yüksek hacim/ yüzey alanına sahip olması yüksek stabilite ve verimlilik göstermesi bu yapıları başta sağlık olmak üzere birçok alanda kullanımına olan ilgiyi arttırmıştır. Bu sebeple farklı organik ve inorganik yapılar bir araya getirilerek değişik hibrit nanoçiçek (HNÇ) yapılar sentezlenmektedir. Yapılan bu çalışma ile ilk kez kiraz sapı özütleri ve  $Cu^{2+}$  iyonları kullanılarak Cu-HNÇ yapıları sentezlenmiştir. Yapılmış olan bu çalışmada kiraz sapı özütleri su ve alkol (etanol) çözücüleri kullanılarak elde edilmiştir. Elde edilen bu özütler, farklı pH ortamlarında  $Cu^{+2}$  metali kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile Cu-HNÇ yapıları sentezlenmiştir. Farklı çözücüler kullanılarak elde edilen oldukça benzer HNÇ morfolojileri elde edilirken, farklı pH aralıklarında Cu-HNÇ morfolojilerinde değişikliklerle beraber geniş pH aralığında sentezin gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Elde edilen HNÇ'lerin karakterizasyonu için, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometri (FT-IR) ve X Işını Kristalografisi (XRD) analizleri kullanılmıştır. Cu-HNÇ'lerin katalitik aktivitesi, Gayakol'a (Guaiacol) karşı fenton benzeri reaksiyon mekanizması kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca Cu-HNÇ yapılarının antimikrobiyal aktivesi *Pseudomonas auroginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 11229), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) ve *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)'e karşı değerlendirilmiştir. Cu-HNÇ yapılarının antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir.

Cu-HNÇ'lerinin DPPH analizine antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve bu aktivitenin artan HNÇ konsantrasyonuna bağlı olarak artış gösterdiği bulunmuştur. Cu-HNÇ'lerinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bulunan ortamda Gayakol'e karđı Fenton benzeri mekanizma yolu ile katalitik aktivite sergilediği gözlenmiştir. Cu-HNÇ'lerin *Pseudomonas auroginosa*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*' a karđı antimikrobiyal etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Fakat sentezlenen HNÇ yapılarının *Enterococcus faecalis* suşuna karđı çalışılan diğer suşlara göre daha az etkili olduğu belirlenmiştir.

Yapılan bu calısma ile organik atık olarak değerlendirilen kiraz sapı kullanarak biyolojik olarak aktif özelliklere sahip Cu-HNÇ yapıları elde edilebileceği literatürde ilk kez ortaya koyulmuştur.

***Anahtar kelimeler: Nanoçiçek, Nanopartikül, Bakır, Kiraz sapı, Antimikrobiyal aktivite***

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Musa KAR**

**Sayfa Adeti: 74**

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF COPPER (Cu)  
NANOFLOWERS USING GREEN SYNTHESIS METHOD, DETERMINATION  
OF PHOTOCATALYTIC, ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY**

**(M. Sc. Thesis)**

**Onur Can GUVEN**

**NEVSEHIR HACI BEKTAS VELI UNIVERSITY**

**GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE**

**January 2022**

**ABSTRACT**

With the integration of nanotechnology products into all areas of our lives, many forms of nanoparticles are actively used. Flower-shaped nanoparticles, called as nanoflowers (NFs) have high volume/ surface area, high stability and efficiency, which has increased the interest in using these structures in many areas, especially in health. For this reason, different NF structures are synthesized by combining different organic and inorganic molecules. In this study, Cu-NFs structures were synthesized for the first time by using cherry stem extracts and Cu<sup>2+</sup> ions. In this study, cherry stem extracts were obtained by using water and alcohol (ethanol) solvents. These extracts were synthesized by using Cu<sup>+2</sup> metal in different pH medium by green synthesis method and Cu-NFs structures were synthesized. While very similar NFs morphologies obtained using different solvents were obtained, it was determined that synthesis took place in a wide pH range with changes in Cu-NFs morphologies at different pH ranges. Scanning Electron Microscopy (SEM), Fourier Transform Infrared Spectrometry (FT-IR) and X-Ray Crystallography (XRD) analyzes were used for the characterization of the obtained NFs. The catalytic activity of Cu-NFs was evaluated using the Fenton-like reaction mechanism against Guaiacol. In addition, the antimicrobial activity of Cu-NFs structures was evaluated against *Pseudomonas auroginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 11229), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) and *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). The antioxidant activity of Cu-NFs structures was determined using the DPPH method.

Cu-NFs were found to have antioxidant activity in DPPH analysis and this activity increased depending on the increasing concentration of NFs. It has been observed that Cu-NFs exhibit catalytic activity against Guaiacol through a Fenton-like mechanism in the presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. It has been determined that Cu-NFs have antimicrobial effects against *Pseudomonas auroginosa*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*. However, it was determined that the synthesized NFs structures were less effective against *Enterococcus faecalis*' strain compared to other strains studied.

With this study, it has been demonstrated for the first time in the literature that Cu-NFs structures with biologically active properties can be obtained by using cherry stem, which is considered as organic waste.

***Keywords: Nanoflower, Nanoparticle, Copper, Cherry stem, Antimicrobial activity***

**Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Musa KAR**

**Page Number: 74**



# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
TABLOLAR LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xii
RESİMLER LİSTESİ .....	xiii
SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiv
1. BÖLÜM	
GİRİŞ .....	1
2. BÖLÜM	
GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Nanoteknoloji.....	4
2.2. Nanoteknolojinin Uygulama Alanları .....	6
2.2.1. Nanoteknolojinin Sağlık Alanında Kullanımı.....	6
2.2.2. Nanoteknolojinin Elektrik/ Elektronik Alanında Kullanımı .....	6
2.2.3. Nanoteknolojinin Gıda Alanında Kullanımı .....	7
2.2.4. Nanoteknolojinin Tekstil Alanında Kullanımı.....	7
2.2.5. Nanoteknolojinin Çevre ve Enerji Alanında Kullanımı.....	7
2.2.6. Malzeme ve İmalat Sektöründe Kullanımı .....	8
2.3 Nanopartiküller .....	8
2.4. Nanopartiküllerin Boyutsal Sınıflandırılması .....	10
2.4.1. Sıfır boyutlu (0D) nanoyapılar .....	10
2.4.2. Bir boyutlu (1D) nanoyapılar .....	10

2.4.3. İki boyutlu (2D) nanoyapılar.....	10
2.4.4. Üç boyutlu (3D) nanoyapılar .....	10
2.5. Nanopartikül Sentez Yaklaşımları .....	10
2.5.1. Yukarıdan aşağıya yaklaşım (Top- Down Approach) .....	11
2.5.2. Aşağıdan yukarıya yaklaşım (Bottom-Up Approach).....	11
2.5.3. Nanopartiküllerin biyolojik yöntemlerle (Green synthesis) sentezlenmesi ..	12
2.6. Nanoçiçekler .....	14
2.7. Kiraz.....	17
2.9. Literatür Araştırması .....	19
<b>3.BÖLÜM</b>	
<b>MATERYAL VE YÖNTEMLER .....</b>	<b>27</b>
3.1. Kiraz Meyve Saplarının Temin Edilmesi.....	27
3.2. Kiraz Sapı Özütünün Elde Edilmesi .....	27
3.3. PBS (Phosphate Buffered Saline-Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi) Hazırlama .....	27
3.4. Cu-HNÇ Yapılarının Sentezi ve Karakterizasyonu .....	28
3.5. Cu-HNÇ Yapılarının Katalitik Aktivitelerinin Tespiti .....	28
3.6. Cu-HNÇ Yapılarının Antioksidan Aktivitelerinin Tespiti.....	28
3.7. Cu Hibrit Nanoçiçeklerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Tespiti .....	29
<b>4. BÖLÜM</b>	
<b>BULGULAR.....</b>	<b>30</b>
4.1. Cu-HNÇ Yapılarının Karakterizasyonu .....	30
4.2. Cu-HNÇ Yapılarının Katalitik Aktivite Sonuçları.....	36
4.3. Cu-HNÇ Yapılarının Antioksidan Aktivite Sonuçları .....	36
4.4. Cu-HNÇ Yapılarının Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	37

## 5. BÖLÜM

TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER.....	40
KAYNAKLAR .....	45
ÖZGEÇMİŞ .....	56



## TABLULAR LİSTESİ

<b>Tablo 2.1.</b> Nanoteknolojinin kısa tarihi.....	5
<b>Tablo 2.2.</b> Bazı yaygın nanoyapılar ve özellikleri.....	9
<b>Tablo 2.3.</b> Kirazın sınıflandırılması .....	17
<b>Tablo 2.4.</b> Optimum koşullar altında elde edilen konsantre kiraz sapı ekstraktının fenolik ve flavonoid içeriği.....	18
<b>Tablo 3.1.</b> 1 litre 1X PBS çözelti içeriği .....	28
<b>Tablo 4.1.</b> Çözücü olarak su kullanılan özütten ve pH 7.4 ortamında sentezlenen Cu-HNÇ yapıları .....	31
<b>Tablo 4. 2.</b> Çözücü olarak su kullanılan özütten ve pH 9 ortamında sentezlenen Cu-HNÇ yapıları.....	32
<b>Tablo 4. 3.</b> Çözücü olarak alkol (etanol) kullanılan özütten pH 7.4 ortamında sentezlenen Cu-HNÇ yapıları .....	33
<b>Tablo 4. 4.</b> Çözücü olarak alkol (Etanol) kullanılan özütten pH 9 ortamında sentezlenen Cu-HNÇ yapıları .....	34
<b>Tablo 4.5.</b> Cu-HNÇ'lerinin minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC).....	37

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Nanopartikül sentezi için farklı yaklaşımlar ve yöntemler .....	12
Şekil 2.2. Yeşil sentezin avantajları .....	14
Şekil 2.3. Organik-inorganik hibrit nanoçiçek sentezi .....	16
Şekil 4. 1. Cu-HNÇ'lerin FT-IR spektrumları.....	35
Şekil 4. 2. Cu-HNÇ'lerinin XRD modeli .....	35
Şekil 4. 3. $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (JPSCD 00-022-0548)'nun XRD modeli.....	36
Şekil 4. 4. Cu-HNÇ'leri katalitik aktivitesi .....	36
Şekil 4. 5. Farklı konsantrasyonlarda (0,15625, 0,3125, 0,625, 1,25, 2,5, 5, 10 mg/ml) Cu-HNÇ yüzdelik DPPH süpürme aktivitesi .....	37

## RESİMLER LİSTESİ

- Resim 4.4.1.** *Listeria monocytogenes* bakteri suşuna karşı antibakteriyel aktivite .....38
- Resim 4.4.2.** *Escherichia coli* bakteri suşuna karşı antibakteriyel aktivite .....38
- Resim 4.4.3.** *Pseudomonas auroginosa* bakteri suşuna karşı antibakteriyel aktivite.....39
- Resim 4.4.4.** *Enterococcus faecalis* bakteri suşuna karşı antibakteriyel aktivite .....39



## SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

nm: Nanometre

HNÇ: Hibrit nanoçiçek

MRI: Manyetik Rezonans Görüntüme

QD: Kuantum nokta

PBS: Fosfat Tamponlu Salin

$\mu\text{m}$ : Mikrometre

CuO: Bakır oksit

MO: Metilen turuncusu

ZnO: Çinko oksit

Dk: Dakika

CV: Kristal viole

NP: Nanopartikül

MB: Metilen mavisi

Ag: Gümüş

Mm: Milimetre

MIC: Minimum inhibisyon konstantrasyonu

Gr: Gram

Ml: Mililitre

CTAB: Cetyldimethylethyl ammonium bromide

$\mu\text{g}$ : Mikrogram

IC50: %50 inhibitör konsantrasyonu

DPPH: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikali

ABTS: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sülfonik asit) radikali

Au: Altın

$\mu\text{M}$ : Mikromolar

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

FT-IR: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

EDX: Enerji Dağılımlı X-Işını

XRD: X Işını Kristalografisi

Cm: Santimetre

Ni: Nikel

TEM: Geçirimli Elektron Mikroskobisi

UV-Vis: Ultraviyole-Görünür Spektroskopi

keV: Kilo elektron volt

eV: Elektron volt

mV: Milivolt

DRS: dağınık yansıma spektrofotometrisi

$^{\circ}\text{C}$ : Derece Celsius

CFU: Koloni oluşturan ünite

$\text{H}_2\text{O}_2$ : Hidrojen peroksit



# 1. BÖLÜM

## GİRİŞ

Günümüzde gelişen teknolojinin de etkisiyle eşsiz özellikte yeni malzemelerin arayışı hızlanmıştır. Nanoteknoloji birçok tanıma sahip olmasına rağmen genel olarak atomları ve molekülleri manipüle ederek 1- 100 nanometre arasında değişen boyutlarda ve farklı özelliklere sahip yapıların üretilmesini ve üretilen bu yapıların farklı alanlarda kullanılmasını sağlayan bilim dalıdır [1]. Nano kelimesi Yunan dilindeki ‘Nanos’ kelimesinden köken almakta olup ‘cüce’ anlamına gelmektedir. Nano, ölçü sisteminde milyarda bir birim ( $1 \text{ nm} = 10^{-9}$ ) nanometre ile ifade edilir. İlk kez 1959 yılında American Physical Society'nin (APS) yıllık toplantısında Richard Feynman tarafından “‘There is Plenty of Room at the Bottom (Aşağıda daha fazla yer var)’” konuşmasıyla nanoteknoloji konusuna değinilmiş ve bu konuşma nanoteknolojinin ilham kaynağı olmuştur [2]. 1974 yılında ise “‘Nanoteknoloji’” terimi, Tokyo Bilim Üniversitesi'nden Norio Taniguchi tarafından nanometre boyutunda ki malzemelerin üretilmesini tanımlamak için oluşturulmuştur. [3]

Nanoteknoloji, nanoboyutta ki atom ve moleküllerin eşsiz optik, elektrik ve mekanik gibi özelliklere sahip olduğunu ortaya koymuş ve bu eşsiz özelliklerden faydalanılarak malzemelerin temel fiziksel ve kimyasal özelliklerinin değiştirilmesini sağlamıştır [4]. Oluşturulan farklı özellikteki bu yapılar; nanopartiküller, nanokristaller, nanotüpler, nanoteller gibi sınıflara ayrılmaktadır. Nanoteknoloji fizik, kimya, biyoloji, elektronik ve bilgisayar, çevre, havacılık ve uzay, tıp, eczacılık, malzeme gibi bilim dallarında sıklıkla kullanılmaktadır.

Nanopartiküllerin tanımı kullanıldıkları alanlara, çalışmalara ve ilgili malzemelerin özelliklerine göre değişebilmektedir. Genel olarak 1 -100 nm arasında boyuta sahip parçacıklara nanopartikül denilmektedir [5].

Nanopartiküller benzer kimyasal yapılara göre oldukça küçük boyutlara sahip olmaları ve büyük yüzey/hacim oranına sahip olmalarından dolayı, mekanik özellikler, elektrik, optik, termal iletkenlik ve erime sıcaklığı gibi çeşitli biyolojik, fiziksel ve kimyasal özellikleri açısından daha avantajlı oldukları için günümüzde oldukça popülerdirler [6]. Nanopartiküller biyomedikal uygulamalar, biyosensörler, tıp, ev aletleri gibi daha birçok alanda kullanılmaktadır [7].

Nanoteknoloji ürünlerinin benzer malzemelerden daha iyi özelliklere sahip olması bu alanı ilgi çekici hale getirmiş ve bu alandaki araştırmalar hız kazanmıştır. Bu araştırmalar yuvarlanmış tabakalardan oluşan silindirik nanoyapılar (nanotüpler), nanoboyutlu teller (nanoteller), nanoboyutlu ince plakalar (nanofilmler), çubuk şeklindeki nanoyapılar (nanorodlar), nanonoktaların ve çiçek şekilli görünüme sahip olan nanoyapılar (nanoçiçekler) gibi çeşitli nanoboyutlu parçacık formlarının keşfedilmesine neden olmuştur.

Nanopartiküllerin sentezi için çeşitli yöntemler uygulanabilir. Bunlar yöntemler genel olarak, küçük atomik boyutlu yapılardan daha büyük yapılar inşa edilmesi yaklaşımı olan ‘Aşağıdan Yukarıya Yaklaşım (Bottom-Up)’ ve büyük yapılı moleküllerden daha küçük moleküllere ayrıştırılarak bu şekilde nanopartikül sentezleme yaklaşımı olan ‘Yukarıdan Aşağıya Yaklaşım (Top-Down)’ olmak üzere teknik olarak iki şekilde sınıflandırılabilir [8]. Bu yaklaşımlar reaksiyonun şartlarına ve uygulanacak işlemlere göre fiziksel, kimyasal ve biyolojik sentez gibi alt sınıflara ayrılmaktadır.

Yukarıdan aşağı sentez yöntemi, fiziksel ve kimyasal sentez yöntemleri farklı toksik kimyasallar, yüksek sıcaklık ve basınç gibi etmenleri içerdiklerinden dolayı çevreye zararlı etkileri vardır [9]. Aşağıdan yukarı sentez yönteminde kullanılan biyolojik tekniklerde çeşitli bitki özleri, algler ve enzimler gibi biyolojik materyallerin kullanması, toksik kimyasal ve katalizör malzemelerin kullanılmaması, daha uygun fiziksel ortam şartları ve sentezinin daha kolay olması gibi birçok avantaja sahiptir [10].

Nanoçiçekler bitki çiçeklerine benzer yapı gösteren gelişmiş nanopartikül sınıflarıdır. Nanoçiçekler sentezlenirken organik kısım olarak protein veya biyomolekül kullanımı, inorganik kısım olarak ise metal iyonları kullanımı ile ‘hibrit nanoçiçekler’ oluşturulmaktadır. Hibrit nanoçiçekler (HNÇ) serbest enzimlere kıyasla daha yüksek aktivite ve kararlılık göstermiştir[11].

Nanoçiçekler, organik ve inorganik maddelerin farklı kombinasyonlarının kullanılarak hem sentezin basit bir şekilde olması hem de yüzey reaksiyonlarının kararlılığının ve veriminin artmasından dolayı oldukça ilgi görmektedir. Nanoçiçekler küçük bir yapıya sahip olmasına rağmen bu yapıyı çevreleyen geniş yüzey alanına sahip birkaç yaprağa sahiptir ve bu sebepten dolayı biyosensör, kataliz ve ilaç dağıtımı gibi uygulamalarda kullanılabilirler [12].

Hibrit nanoçiçeklerin sentezinde iki değerlikli bakır ( $\text{Cu}^{2+}$ ), kalsiyum ( $\text{Ca}^{2+}$ ), çinko ( $\text{Zn}^{2+}$ ), demir ( $\text{Fe}^{2+}$ ), gümüş ( $\text{Ag}^{2+}$ ), magnezyum ( $\text{Mg}^{2+}$ ), mangan ( $\text{Mn}^{2+}$ ), kobalt ( $\text{Co}^{2+}$ ) gibi inorganik elementler sıklıkla kullanılmaktadır [13].

Bakır (Cu) birçok endüstri alanında kullanılan önemli metal elementlerinden birisidir. Altın ve gümüş gibi değerli metallerin iyi elektrik iletkenliğinin olduğu bilinmektedir fakat bu metallerin pahalı olmasından dolayı bakır elektrik iletkenliği gibi konularda ucuz bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır. Bakır oksit (CuO) nanoparçacıkları ise 1.2 eV enerji aralığında -p tipi yarı iletken özellik göstermektedir. CuO nanoparçacıkları gaz sensörleri, güneş pilleri, elektronik ve optoelektronik cihazlar gibi daha birçok alanda kullanılmaktadır [14]. CuO nanoparçacıkları biyolojik aktiviteleri de oldukça geniş bir kapsamda çalışılmıştır. Bu yapıların antioksidan, antimikrobiyal ve antifungal özelliklere ve özellikle peroksidaz enzim benzeri fonksiyonlara da sahiptir [15].

Kiraz (*Prunus avium L.*) dünyanın birçok bölgesinde üretilmektedir. Ülkemiz kiraz üretimi açısından dünya sıralamasında ön sıralarda yer almaktadır. Kiraz sapsarı fenolik asit, flavonoid, tanen, antosiyan, karotenoid, yağ asitleri ve C vitamini içermektedir. Kiraz sapsarı dünyanın birçok yerinde ve ülkemizde geleneksel tıp altında birçok kullanıma sahiptir. Kiraz sapsarı geleneksel tıpta idrar söktürücü, idrar yolu enfeksiyonu tedavisi, kardiyovasküler hastalıklara karşı koruma, kolesterolü ve kan basıncını düşürme gibi geniş bir kullanım alanına sahiptir [16].

Bu çalışmanın amacı, kiraz sapı özütü kullanılarak bakır nanoçiçek yapılarının sentezlenme potansiyelini tespit etmek ve ayrıca sentezlenen nanoçiçek yapılarının karakterizasyonu, fotokatalitik, antioksidan ve antibakteriyel özelliklerini tespit etmektir.

## 2. BÖLÜM

### GENEL BİLGİLER

#### 2.1. Nanoteknoloji

Nanometre (nm), metrenin milyarda biri ( $10^{-9}$ ) anlamına gelmekte ve nanoteknolojinin birimi olarak kullanılmaktadır. Nanoteknoloji ve nanobilim, maddelerin atomik, moleküler ve makro moleküler boyutlarda anlaşılması ve işlenmesidir[17].

Nanoteknoloji genel olarak; nanometre boyutunda maddeyi gözlemleyerek, ölçerek, işleyerek, kontrol ederek ve ortaya yeni bir ürün koyarak oluşan bu yapıyı uygulamalara dönüştürme yeteneğidir [18].

Amerikan Ulusal Nanoteknoloji Girişimi (NNI) ise nanoteknolojiyi, yaklaşık 1-100 nm arasında boyuta sahip maddelerin anlaşılması ve kontrol edilmesini ve bu benzersiz özellikteki yapıların yeni uygulamaları gerçekleştirebilir kıldığı bir bilim olarak tanımlamıştır [19]. Nanoteknolojiyi diğer teknolojilerden ayıran en önemli unsurlardan birisi nanoboyutta ki maddelerin yüzey/ hacim oranının artmasıdır. Bu oranın artması nanoboyutta ki malzemenin özelliklerinde değişiklikler sağlayabilmekte ve makro dünyadaki özelliklerinden farklı özellikler gösterebilmektedir [20].

Nanoteknoloji, bilim dünyasındaki farklı çalışma alanlarında kullanılan ve oldukça yüksek potansiyeli olan teknolojilerden biridir. Nanoteknolojinin disiplinler arası çalışmaları fizik, kimya, biyoloji, tıbbi bilimler, çevre ve mühendislik gibi geniş uygulama alanlarına sahip olması nedeniyle oldukça ilgi çekicidir.

Nanoteknolojinin amaçları aşağıda sıralandığı gibidir [21] .

- Nanometre boyutundaki yapıların analizi,
- Nano boyutlu cihazların üretilmesi
- Nano boyut hassasiyetine sahip cihazların geliştirilmesi
- Nanometre ölçüsünde oluşan yapıların fiziksel özelliklerinin anlamlandırılması,
- Klasik malzemelerin ve üretim yöntemlerinin haricinde daha gelişmiş malzemeler ve farklı üretim yöntemlerinin oluşturulması,

- Kullanım amacına göre benzer kimyasal yapıdaki malzemelere kıyasla daha güçlü daha dayanıklı ve daha hızlı yapıların üretimi,
- Daha düşük kaynak, malzeme ve enerji kullanımı sağlamaktır.

Nanoteknolojinin tarihsel gelişimi çağlar öncesinde doğal olarak oluşan nano boyutlu elementlerin kullandığı zamanlara kadar dayanmaktadır. Örneğin, nano boyutlu karbon moleküllerini içeren çizimler, gözenekli mağara duvarları ile bütünleşerek günümüze kadar ulaşabilmiştir [22]. Nanoteknoloji bilimi yeni kabul edilsede nano ölçekli malzemeler yüzyıllardır kullanılmaktadır.

Modern nanoteknolojinin gelişmesinde rol oynayan bazı önemli gelişmelerin kronolojik sıralaması aşağıdaki tablodaki gibidir:

**Tablo 2.1.** Nanoteknolojinin kısa tarihi

1905	Einstein'ın şeker bileşiğinin boyutunu 1 nm olarak tahmin etmesi
1935	Ernest Ruska ve Max Knoll tarafından ilk elektron mikroskobunun yapılması
1959	Richard Feynman'ın "There is Plenty of Room at the Bottom" adlı konuşması
1974	Nanoteknoloji teriminin ilk kez Norio Taniguchi tarafından kullanılması
1981	Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer tarafından taramalı tünelleme mikroskobu (STM) geliştirilmesi
1985	Fullerene'nin (C60) keşfi
1989	Tek tek atomların yeri değiştirilerek yazılmış IBM logosu
1991	Sumio Iijima karbon nanotüplerini icat etmesi
1997	İlk nanorobotik sisteminin tasarlanması
1998	İlk DNA tabanlı nanomekanik cihaz
2000	Ulusal Nanoteknoloji Girişimi (NNI) ABD'de kurulması
2004	Nanoteknolojinin etkilerine ilişkin Kraliyet Topluluğu (Royal Society) raporu
2009	Nanopartiküllerin, in vivo olarak kanser dokusuna ilaç taşınımını hedeflemek için kullanılması
2016	Nanopartiküllerin çevre ve organizmalar üzerindeki etkilerinin incelenmesi

## **2.2. Nanoteknolojinin Uygulama Alanları**

Günümüzde nanoteknoloji insanın olduğu her alanda kullanılabilmektedir. Öyle ki nanoteknoloji bir malzemenin nano boyuttaki farklı özellikleri kullanılarak canlıların yaşam kalitesini yükseltecek ürünler veya uygulamalar ortaya koyması, iş kolaylığı sağlaması ve ekonomik olarak avantajlar sağlaması açısından birçok alanda kullanılabilmektedir.

### **2.2.1. Nanoteknolojinin Sağlık Alanında Kullanımı**

Nanoteknoloji sağlık alanında çeşitli uygulamalarla kullanılmaktadır. Örneğin hastalıklı doku ve organlara ilaçların iletilmesinde rol oynayan ilaç taşınımı ve aktif hedefleme gibi uygulamalar için nanoparçacıkların kullanılmasına dayanmaktadır. Nanoparçacıklar, nano boyutlarından dolayı hastalıklı doku ve organlara giren kan kılcal damarlarının içerisinde yol almasına olanak sağlamaktadır [23].

Manyetik rezonans (MRI) ve farklı amaçlı tıbbi ve biyolojik görüntüleme için kontrast güçlendirme, doku onarımı ve immünolojik testler gibi birçok uygulamada kullanılabilmektedir. Bu uygulamalarının yanı sıra foto termal terapötik uygulamalar için verimli kontrast elde etme uygulamaları içinde yine nanoboyutun benzersiz özelliklerinde faydalanılmaktadır [24].

### **2.2.2. Nanoteknolojinin Elektrik/ Elektronik Alanında Kullanımı**

Nanoelektronikğin gelişmiş depolama ve ara bağlantı teknolojileriyle optimize edilmesi elektronik performansın artırılmasına katkı sağlamaktadır. Grafen, topolojik yalıtkanlar ve süper iletkenler gibi düşük enerji tüketen malzemelerin kullanılması ile enerji tüketim açısından verimli nano elektroniklerden söz edilebilir. Nano malzemelerin ve nano elektroniklerin farklı birleşimleri enerji, biyoteknoloji ve tıp gibi birçok uygulamada ilerlemeler sağlamıştır [25].

Moleküler ve yarı iletken elektronikler, nanotüpler ve nanoteller nano elektronikğin bileşenleri olarak kabul görmektedirler. Elektroniklerin nano boyutlarda işlem görmesine bağlı olarak minyatürleştirilmesi performansın ve bilgi alış verişi hızının artmasında önemli rol oynamaktadır. Daha gelişmiş bilgisayar işlemcilerinin yapılması da nano elektroniklerin bir diğer faydasıdır [26].

### **2.2.3. Nanoteknolojinin Gıda Alanında Kullanımı**

Nano gıda, gıda maddelerinin üretilmesinde, işlenmesinde, ambalajlanması ve paketlenmesi sırasında nanoteknolojinin kullanılmasıdır. Ayrıca nano gıda, nanoteknoloji teknikleri kullanılarak gıdaların yapısında, dokusunda ve kalitesinde olumlu etkilere sahip yeni uygulamalar ve yöntemler geliştirilmesi olarak sağlanmaktadır [27].

Nanoteknoloji, gıdalar üzerinde birçok yönden kullanılmaktadır. Nanoteknoloji, moleküler düzeyde gıdaların istenilen özellikte tasarlanmasını ve kontrol edilmesini sağlamaktadır. Ayrıca farklı renk, aroma ve besin içeriği taşıyan nano yapıların ilave edilmesiyle yeni fonksiyonel ürünlerin oluşturulmasının sağlanması uygulamaları da mevcuttur. Gıda ürünlerinin güvenli bir şekilde muhafaza edilmesi ve raf ömrünün uzatılması için kullanılan nano yapılarla ambalajlanmasını ve gıda üzerindeki çeşitli patojenlerin tespitinde kullanılması için geliştirilen nano sensörler aracılığıyla gıdanın sağlıklı bir şekilde tüketiciyle buluşmasının sağlanması gibi konularda da nanoteknolojiden yararlanılmaktadır [28].

### **2.2.4. Nanoteknolojinin Tekstil Alanında Kullanımı**

Tekstil malzemelerinde nanoteknoloji uygulamaları nano tekstil olarak adlandırılabilir. Nanoteknoloji tekstil ürünlerinde kullanılan lif, iplik veya kumaşların mevcut özelliklerine ek olarak nano yapılar (nanopartiküller, nanokompozitler vb.) ekleyerek kumaş yüzeyinin özelliklerinin değiştirilmesine olanak sağlamaktadır. Nano tekstil uygulamaları sayesinde su geçirmeme, kir tutmama, kumaşın kırışmaması, antimikrobiyal etki gösterme, tutuşma güçlüğü veya yanmazlık, hava geçirgenliği ve uygulanan boyayı tutma gibi özelliklere sahip tekstil ürünleri üretilmektedir [29].

### **2.2.5. Nanoteknolojinin Çevre ve Enerji Alanında Kullanımı**

Nano malzemelerde enerjinin dönüşümü ve taşınması elektronlar, fononlar ve fotonlar gibi çeşitli enerji taşıyıcıları üzerindeki klasik boyut ve kuantum boyut etkileri nedeniyle yığın malzemelerden oldukça farklıdır. Nanoteknoloji enerji uygulamaları için, fotovoltaiik, fotokimyasal güneş hücreleri, termoelektrik, yakıt hücreleri ve güneş pilleri gibi temiz ve verimli enerji teknolojileri için nano ölçekli etkileri uyarlamaya odaklanmıştır [30]. Antropojenik faaliyetlerden kaynaklanan çevre kirliliği günümüzde ciddi bir sorun haline gelmektedir. Çevre kirliliğinin giderilmesi adına suları temizleme,

hava temizleme ve toprakların iyileştirilmesi gibi çevresel uygulamalar için katalizör olarak yarı iletkenleri kullanan fotokatalitik oksidasyon yöntemi çevreci bir aday olarak ortaya çıkmıştır. Fotokataliz toksik olan organik bileşikleri, boyaları, pestisitleri, zararlı gazları ve bakterileri farklı ortamlarda parçalamak için kullanılmıştır [31].

### **2.2.6. Malzeme ve İmalat Sektöründe Kullanımı**

Nanoteknoloji inşaat ve yapı malzemelerinin geliştirilmesi yönünden birçok avantaj sağlamaktadır. Bu avantajlardan bazıları aşağıdaki gibidir [32].

- Nanopartiküllerin, karbon nanotüplerin ve karbon nanofiberlerin yapıların aşınma ve dayanıklılığına katkı sağlaması,
- Oksitlenme veya diğer kimyasal etkilerle aşınmayan çeliğin ucuz yöntemlerle üretilmesi,
- Verim açısından daha performanslı ısı yalıtım malzemelerin üretilmesi,
- Nano sensörler ve diğer malzemeler kullanılarak algılama ve kendi kendini onarma yeteneği olan malzemelerin üretilmesi gibi uygulamalarda nanoteknolojiden faydalanılmaktadır.

### **2.3 Nanopartiküller**

Nanoteknolojiye ilgi her geçen gün artmaktadır. Nanopartiküller, nanoteknolojinin temel yapı taşlarıdır. Üçgen, dairesel, çubuk, küresel ve yıldız gibi farklı şekillere sahip 1-100 nanometre arasında boyutları olan partiküllere nanopartiküller denilmektedir [33]. Nanopartiküller, nano boyutlarından dolayı kendisinden daha büyük ölçeklerdeki benzer partiküllere göre eşsiz fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler gösterirler. Bu özellikler, renk değişimi, termal davranış, iletkenlik, malzeme dayanıklılığı, çözünürlük ve optik özelliklerindeki farklılıkları içermektedirler. Bu eşsiz özellikler nanopartiküllerin hacime göre daha fazla yüzey alanına, kimyasal tepkimelerde gösterdiği yüksek reaktivite ve stabilitesine bağlıdır [34].

Nanopartiküller karbon, metal, metal oksitler veya organik maddelerden oluşan parçacıklardır [35].



**Tablo 2.2.** Bazı yaygın nanoyapılar ve özellikleri [36]

<b>Nanopartiküller</b>	<b>Özellikleri</b>
<b>Karbon Bazlı Nanopartiküller</b>	
Fullerene	Yarı iletken, iletken ve süper iletken
Grafen	Aşırı mukavemetli, termal ve elektriksel iletkenlik, ışık Emilimi
Karbon Nanotüp	Yüksek elektriksel ve termal iletkenlik, esnek ve elastik
Karbon Nanofiberler	Yüksek termal, elektriksel, frekans koruyucu ve mekanik özellikler
Karbon Karası	Yüksek mukavemet ve elektriksel iletkenlik, yüzey alanı; UV bozulmasına karşı dayanıklı
<b>Metal Bazlı Nanopartiküller</b>	
Alüminyum	Yüksek reaktivite, nem, ısı ve güneş ışığına duyarlı, geniş yüzey alanı
Demir	Reaktif ve kararsız, havaya (oksijen) ve suya duyarlı
Gümüş	Işığı emer ve dağıtır, kararlı, antibakteriyel
Altın	Görünür ışıkla etkileşimli, reaktif
Kurşun	Yüksek toksisite, reaktif, yüksek kararlılık
Bakır	Şekillendirilebilir, çok yüksek termal ve elektrik iletkenlik
Çinko	Antibakteriyel, korozyon önleyici, mantar önleyici, UV filtreleme
<b>Metal Oksit Bazlı Nanopartiküller</b>	
Titanyum oksit	Yüksek yüzey alanı, manyetik, bakteri üremesini engelleyici
Demir oksit	Reaktif ve kararsız
Manyetit	Manyetik, son derece reaktif
Alüminyum oksit	Nem, ısı ve güneş ışığına duyarlı, büyük yüzey alanı
Bakır oksit	Antibakteriyel, çok yüksek termal ve elektrik iletkenlik

## **2.4. Nanopartiküllerin Boyutsal Sınıflandırılması**

Pokropivny ve Skorokhod tarafından 2007 yılında, yakın zamanda geliştirilen kompozit 0D, 1D, 2D ve 3D nanoyapılı malzemelerin dâhil edildiği nanomateriyaller için yeni bir sınıflandırma şeması oluşturulmuştur. Bu şemada nanoyapının kendisinin ve bileşenlerinin boyutlarını kullanarak çeşitli nanoyapılar analiz edilip sınıflandırılması yapılmıştır [37].

### **2.4.1. Sıfır boyutlu (0D) nanoyapılar**

Sıfır boyutlu nanoyapılar (0D) atomik kümeleri, filamentleri ve küme düzeneklerini ve parçacıkları içerir. Bu malzemelerin tüm özellikleri veya boyutları 100 nm'den küçüktür, uzunlukları genişliğe eşittir [38]. 0D küresel nanoyapılar küp, nanoçubuk, çokgen, içi boş küre ve kuantum noktalarını da (QD'ler) içermektedirler. [39].

### **2.4.2. Bir boyutlu (1D) nanoyapılar**

Tek boyutlu nanoyapıların (1D) iki boyutu nanometre ölçeğinde ve uzunlukları genişliklerinden daha büyüktür. Bir boyutlu nanoyapılar nanotüpler, nanoteller, nanoçubuklar ve nanoliflerden oluşmaktadırlar [38].

### **2.4.3. İki boyutlu (2D) nanoyapılar**

İki boyutlu (2D) nanoyapılar nano ölçekte yalnızca bir boyut içerirler. Bu yapılar tek katmanlı ve çok katmanlı, kristal veya amorf, ince filmler, nano plakalar ve nano kaplamayı içerirler [39]. 2D nanoyapılar, sensörler, elektronik/ optoelektronik ve biyotıp dâhil olmak üzere yeni uygulamalar için potansiyele sahiptir [38].

### **2.4.4. Üç boyutlu (3D) nanoyapılar**

Üç boyutlu (3D) nanoyapılar 100 nm'nin ötesinde çeşitli boyutlara sahiptir. 3D nanoyapılar, çoklu nanokristalleri farklı yönlerde birleştirir. Lifler, karbon nanobudlar, nanotüpler, fullerenler, sütunlar, polikristaller, petekler ve katman iskeletleri bunların örneklerinden bazılarıdır [39].

## **2.5. Nanopartikül Sentez Yaklaşımları**

Nanoyapılı malzemelerin yeni fiziksel özelliklerini ve günlük hayattaki uygulamalarını keşfetmek için, bu malzemelerin istenilen boyut, morfoloji, kristal yapı ve kimyasal

bileşim ile kullanıma sunulması gerekmektedir [22]. Nanopartikül üretimine yönelik iki temel yaklaşım mevcuttur ve bunlar şu şekildedir [40]:

- Yukarıdan Aşağıya Yaklaşım (Top- Down)
- Aşağıdan Yukarıya Yaklaşım (Bottom-Up)

### **2.5.1. Yukarıdan aşağıya yaklaşım (Top- Down Approach)**

Yukarıdan aşağıya sentez yönteminde, büyük malzeme küçük nano boyutlu parçacıklara dönüştürülmektedir. Nanopartiküllerin oluşması, farklı fiziksel ve kimyasal işlemler kullanılarak başlangıç materyalinin boyutunun küçültülmesine dayanır [41]. Yukarıdan aşağıya yöntemleri, çok küçük boyutlu parçacıkların hazırlanması için uygun bir yöntem değildir. Mekanik öğütme, termal ve lazer ablasyon gibi yöntemleri içermektedir[42] .

Bu yöntemlerin dezavantajı ise, oluşan parçacığın yüzey yapısında kusurlara neden olmasıdır. Nanoparçacıkların yüzey kimyası ve diğer fiziksel özellikleri, yüzey yapısına bağlı olduğu için yüzey yapısındaki kusur malzemeye önemli bir dezavantaj sağlamaktadır [43]. Genel olarak nanoparçacıklar fiziksel, kimyasal ve biyolojik olmak üzere üç farklı yöntemle sentezlenir.

Fiziksel yöntemler genellikle yoğun enerjiye dayalı ve nanoparçacıkları hazırlamak için maliyetli sistemleri veya cihazları gerektirirler. Nanopartiküllerin kimyasal sentezi için en sık kullanılan yöntem, çeşitli kimyasalların kullanıldığı kimyasal indirgeme yöntemidir [44].

Kimyasal sentezlerin bazı avantajları olmasına rağmen, sentez aşamalarında nanoparçacıkların yüzeyinde toksik kimyasalların ve polar olmayan çözücülerin kullanılması, klinik ve biyomedikal alanlardaki uygulamalarını sınırlandıran bir dezavantajdır [45].

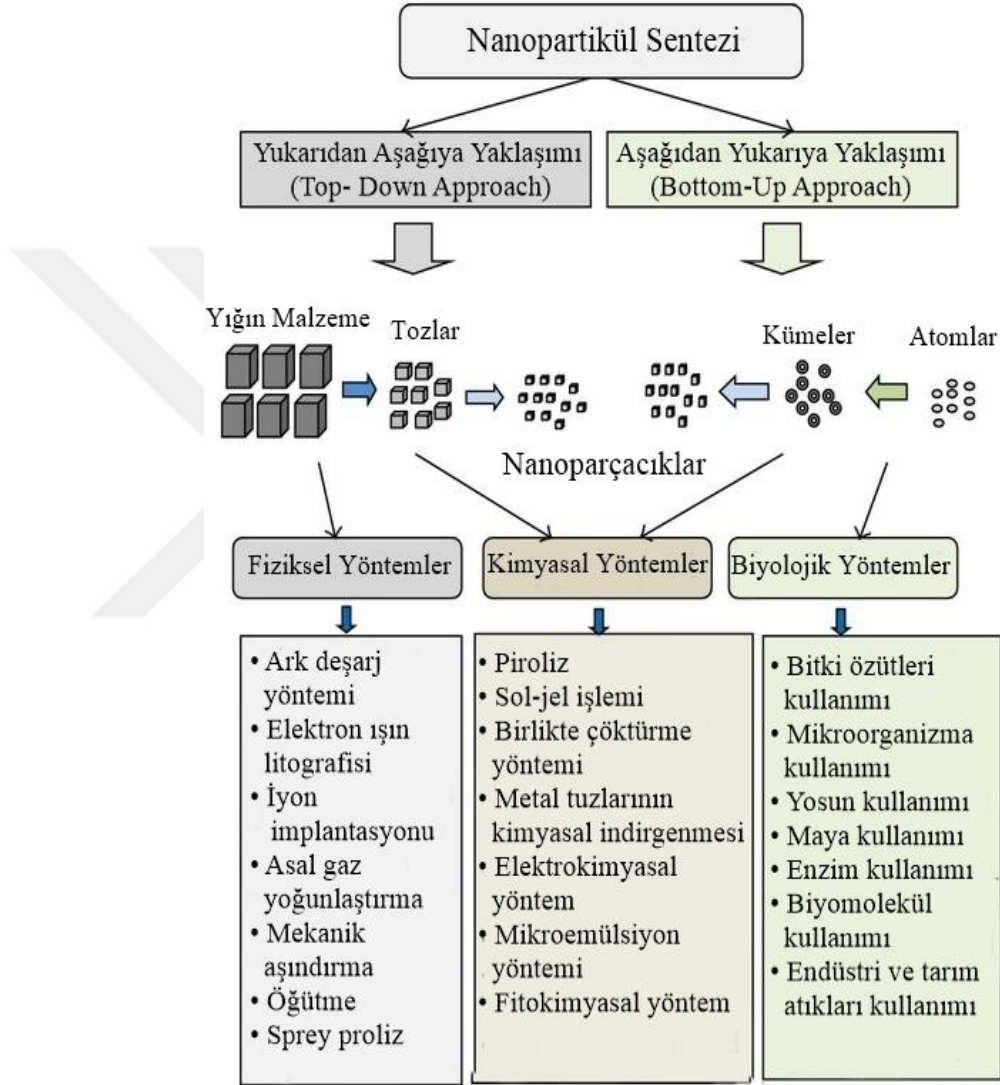
### **2.5.2. Aşağıdan yukarıya yaklaşım (Bottom-Up Approach)**

Aşağıdan yukarıya veya kendi kendine birleşme, atom atom, molekül molekül veya küme küme bir yapının oluşturulması anlamına gelmektedir.

Bu yaklaşımda, başlangıçta nanoboyutlu yapı taşları (yani nanoparçacıklar) oluşturulur ve ardından sentez için kimyasal veya biyolojik prosedürler kullanılarak son malzemeye

birleştirilir. Bu yaklaşım kısmen daha basit malzemeler kullanılarak nanopartiküller oluşturulduğu için inşa yaklaşımı olarak da bilinmektedir. [43].

Aşağıdan yukarıya yaklaşımı, daha az kusuru olan ve daha homojen kimyasal bileşimlere sahip nanoparçacıklar elde etme olasılığının yüksek olması gibi avantaja sahiptir [46].



**Şekil 2.1.** Nanopartikül sentezi için farklı yaklaşımlar ve yöntemler [47].

### 2.5.3. Nanopartiküllerin biyolojik yöntemlerle (Green synthesis) sentezlenmesi

Biyolojik sentez veya yeşil sentez, çeşitli biyoteknolojik araçların yardımıyla mikroorganizmalar, bitkiler, virüsler veya bunların proteinler ve lipitler gibi yan ürünlerini içeren biyolojik materyaller kullanılarak nanopartiküllerin veya

nanomalzemelerin üretilmesini ifade etmektedir. Bu ürünler topluca biyojenik nanopartiküller olarak bilinmektedir [47].

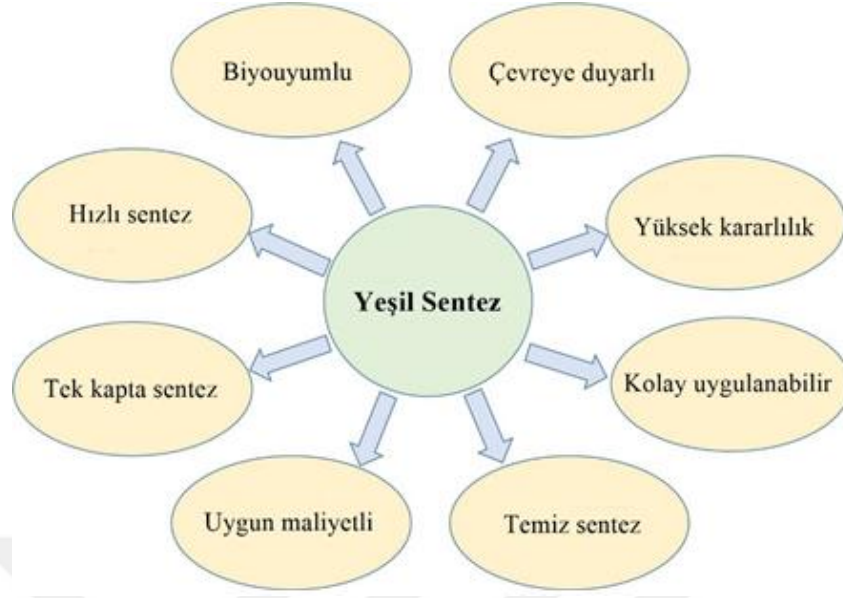
Nanopartiküllerin yeşil sentezi çevre dostu, toksik olmayan ve güvenli reaktiflerden yararlanmaktadır. Biyolojik teknikler kullanılarak sentezlenen nanopartiküller, tek adımlı bir yöntem kullanılarak sentezlendiklerinden dolayı daha fazla stabilite ve uygun boyutlara sahip olma özellikleri vardır [48].

Son yıllarda biyojenik nanopartiküllerin sentezinde bitki özlerine karşı araştırmacıların yoğun bir ilgisi olmuştur. Bunun sebebi ise bitki özütlerinin; çok ucuz olması ve fazla miktarda üretim yapılmasına olanak sağlaması, özel muhafaza koşulları gerektirmemesi, kontaminasyon riskinin olmaması ve bitki özütlerinin zorlu koşullara (yüksek sıcaklık, geniş pH aralığı ve tuz konsantrasyonları gibi) karşı oldukça kararlı olmasıdır [49].

Biyolojik öncülere dayalı yeşil sentez yöntemleri, çözücü, sıcaklık, basınç ve pH koşulları gibi çeşitli reaksiyon şartlarına bağlıdır. Metal/metal oksit nanopartiküllerin sentezi için, bitki özütlerinde bulunan, ketonlar, aldehytler, flavonlar, amidler, terpenoidler, karboksilik asitler, fenoller ve askorbik asitler gibi metabolitler kullanılmaktadır. Bu bileşenler metal tuzlarını metal nanoparçacıklara indirgeme yeteneğine sahiptir [50].

Biyolojik sentez yöntemleri ile üretilen nanopartiküller, birçok yönden fiziksel ve kimyasal yöntemlerle üretilenlerden çok daha üstündür. Çünkü biyolojik yöntemler pahalı kimyasalların kullanımını ortadan kaldırır, daha az enerji tüketir ve çevreye zararsız ürünler ve yan ürünler üretir [47].

Yeşil sentez; atıkların önlenmesini veya en aza indirilmesi, kirliliğin azaltılması ve daha güvenli (veya toksik olmayan) çözücü ve yardımcı maddelerin yanı sıra yenilenebilir hammadde kullanımı gibi çeşitli ilkelere sahiptir [50].



Şekil 2.2. Yeşil sentezin avantajları [51].

## 2.6. Nanoçiçekler

Çiçek şeklinde olan nanokristal yapılara ‘nanoçiçek’ denilmektedir [11]. Nanoçiçekler, bitki çiçeklerine yapısal olarak benzerlik gösterir ve 100-500 nm arasında boyutlara sahiptirler [12]. Nanoçiçekler, morfolojik olarak üç boyutlu yaprak benzeri yapılarından dolayı üç boyutlu küresel nanoparçacıklara göre daha yüksek yüzey-hacim oranına sahiptirler. Bu özelliklerinden dolayı küresel nanoparçacıklara kıyasla yüzey reaksiyonlarının verimliliğini artırmada daha faydalıdır[52].

Nanoçiçeklerin optoelektronik cihazlar veya sensörler, kataliz ve güneş pillerinde mevcut ve olası uygulamaları bu nano yapılar karşı olan ilgiyi artırmaktadır[53].

Nanoçiçeklerin bazı avantaj ve dezavantajları aşağıdaki gibidir [12]:

### Nanoçiçeklerin Avantajları:

- Nanoçiçekler yüksek yüzey/hacim oranları sayesinde yüzey adsorbsiyonunu artırarak reaksiyonların kinetiğini hızlandırır.
- Nanoçiçekler geniş yüzey alanlarına sahip oldukları için daha verimli yük aktarımı ve taşıyıcı hareketsizliği gösterirler.

- Nanoçiçeklerin 3D yapısından dolayı yüzey reaksiyonlarının etkinliği artmaktadır.
- Nanoçiçekler daha çevreci ve basit yöntemlerle (yeşil sentez, çöktürme, jelleştirme gibi ) ve daha düşük maliyetlerle üretilebilirler.

#### **Nanoçiçeklerin Dezavantajları:**

- Nanoçiçeklerin yapraklı yapısından dolayı yaprak ve boyutları gibi özelliklerin reaksiyon sırasında ve tamamlanması sırasında kontrolü oldukça zordur.
- Nanoçiçekler sentetik reaksiyonlarda, zorlu şartlarda ( yüksek sıcaklık gibi) ve zararlı yan ürünlerin oluşabileceği tepkimelerle hazırlanır.

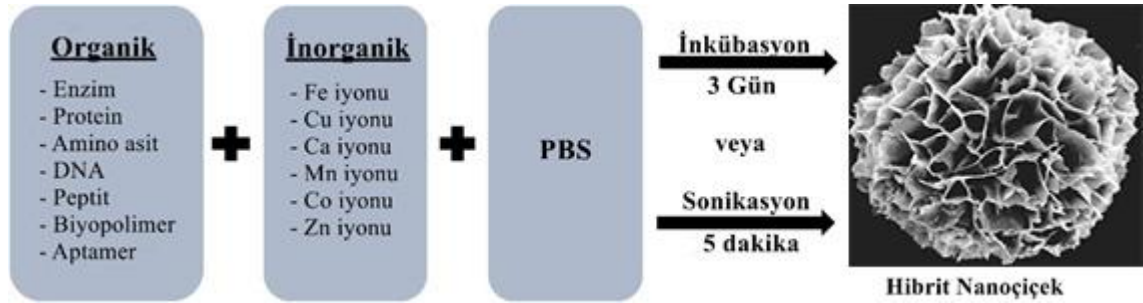
Nanoçiçekler, sulardaki ağır metallerin uzaklaştırılması, biyosensör olarak gıdalardaki patojenlerin tespiti, glikoz tespiti, enzimlerin saflaştırılması, kontrollü ve hedefli ilaç salınımı, boya giderimi gibi çeşitli uygulama alanlarına sahiptir[12].

Çeşitli uygulamalarda kullanılmak üzere (ilaç dağıtım sistemleri ve biyosensörler gibi) ‘nanobiyomateryaller’ adı verilen ve inorganik-organik hibrit nanomalzemeler olarak da bilinen nanomalzemeler geliştirilmiştir. İnorganik-organik hibrit nanomalzemeler inorganik nanoparçacık bileşenlerinin organik bileşenlerine bağlı olduğunu ifade etmektedir. Metal iyon çözeltisine protein katılmasıyla bir nanomalzeme oluşturulabilir. Bu yöntem zararlı kimyasallar ve zor reaksiyon koşulları gerektirmemektedir. Bu yöntemle üretilen ve çiçeklere benzeyen şekillere sahip yapılara ‘Hibrit nanoçiçekler’ denilmektedir [52].

HNC sentezinde, organik bileşen kısmını genellikle enzimler, protein, amino asitler, DNA, peptid, biyopolimer ve aptamer gibi amid veya amin fonksiyonel grupları içeren yapılar oluşturur. Buna karşılık inorganik bileşen kısmını ise, bakır, çinko, kalsiyum, manganez, kobalt, demir gibi iki değerlikli metaller oluşturmaktadır. Organik bileşenlerle metal iyonları fosfat iyonlarının varlığında [Fosfat Tamponlu Salin (PBS) çözeltisinden] karıştırılır. Daha sonra bu karışım, çiçek benzeri nanomalzemelerin oluşması için oda şartlarında üç gün boyunca inkübe edilir. Ayrıca, sonikasyon yöntemini kullanarak da HNC’leri 5 dakika içinde de elde etmek mümkündür. İyi bir stabiliteye sahip kusursuz

şekilli nanoçiçeklerin oluşumu inkübasyon süresine, sıcaklığa, pH'a, organik ve inorganik bileşenlerin konsantrasyonuna ve PBS konsantrasyonuna bağlıdır. [13]

Organik-inorganik hibrit nanoçiçeklerin oluşum mekanizması çekirdeklenme, büyüme ve tamamlanma olmak üzere üç aşamalıdır. İlk aşamada yani çekirdeklenme aşamasında, metal fosfatın  $[M_3(PO_4)_2]$ , (M: Cu, Ca) birincil kristalleri oluşur. Bu aşamada, organik moleküller (protein, DNA), esas olarak protein omurgasındaki amid grupları aracılığıyla metal iyonları ( $Cu^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ) ile kompleksler oluşturur. Bu kompleksler, birincil kristallerin çekirdeklenmesi için bir konum sağlar. İkinci aşama yani büyüme aşamasında, metal-protein kristalleri, büyük protein molekülleri aglomeraları halinde toplanır ve birincil petaller oluşur. Metal fosfat kristallerinin kinetik olarak kontrol edilen büyümesi, bu aglomeraların  $Cu^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  bağlama bölgelerine sahip yüzeylerden kaynaklanır ve sentez esnasında çiçek benzeri taç yaprakların görünmesine neden olur. Son adımda yani sentezin tamamlanması aşamasında ise anizotropik büyüme, dallı çiçek benzeri bir yapının tam oluşumuna yol açar. Proteinler büyüme sürecinde, yapraklar için yapı iskeleti oluşturmak üzere metal fosfat kristallerinin çekirdeklenmesini indükler. Proteinler ayrıca yaprakların birbirine bağlanmasında “yapıştırıcı” görevi görerek nanoçiçek yapılarının yapısal olarak son halini almasını sağlarlar. Protein yapıların olmadığı durumda, büyük kristaller oluşabilirken nanoçiçek yapıları oluşmamaktadır [52].



Şekil 2.3. Organik-inorganik hibrit nanoçiçek sentezi [13].

HNC'lerin boyut olarak gelişimi ortamdaki protein miktarına bağımlı olarak değişmekle birlikte yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre genellikle 2-30  $\mu m$  arasında boyutlara ve 0.1  $\mu m$  gözenek boyutuna sahiptirler. Bu yapılar mikro ölçekte olmasına rağmen nanoboyutlu yapraklara sahip olmalarından dolayı nanoçiçek olarak adlandırılmaktadır [52].



Enzim-inorganik yapılı HNC'ler yüksek yüzey/hacim oranına sahiptir bu nedenle enzim, substrat ve ürün arasındaki kütle transfer direncini azaltırlar. Ayrıca serbest enzimlerle karşılaştırıldığında, enzim-inorganik HNC'ler çeşitli uygulamalarda daha yüksek aktivite, daha iyi stabilite ve tekrar kullanılabilirlik göstermiştir [54].

## 2.7. Kiraz

Kiraz, Rosaceae familyasının, Prunoideae alt familyasının ve *Prunus* cinsinin kökeni Asya kıtasında bulunan ve meyve üreten birçok türün ortak adıdır. *Prunus avinium* L. yani tatlı kiraz dünya çapında coğrafik olarak dağılış gösterse de ılıman iklime sahip bölgelerde daha yaygın olarak bulunmaktadır[55]. Türkiye, dünya kiraz üretim miktarlarında en ön sırada gelen ülkedir. 2020 yılı verilerine göre ülkemizde 724.944 ton kiraz üretimi gerçekleştirilmiştir[56].

**Tablo 2.3.** Kirazın sınıflandırılması

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: Tracheophytes
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Order	: <i>Rosales</i>
Family	: <i>Rosaceae</i>
Subfamily	: <i>Prunoideae</i>
Genus	: <i>Prunus</i>
Species	: <i>Prunus avium</i> L.

Kiraz meyveleri taze tüketilmenin yanında meşrubat, reçel, komposto, marmelat gibi çeşitli uygulamalar için de kullanılmaktadır. Kiraz sapsarı, kirazların hasadı ve işlenmesinden sonra elde edilen ana yan ürünlerden biridir.

Bunlar genellikle gıda endüstrisi için bir atık olarak kabul edilse de, kiraz saplarının özellikle diüretik etkileri ve yatıştırıcı özelliklere sahip olmasının yanı sıra kan basıncını ve kolesterolü düşürmek ve diyetle zayıflatıcı etkileri nedeniyle de halk arasında tedavi amaçlı kullanımı mevcuttur [57].

Kiraz meyveleri orta düzeyde karbonhidrat, özellikle basit şekerler (glikoz, fruktoz, sakaroz gibi.) ve organik asitler (malik, sitrik, süksinik, laktik asit gibi.) içerirler. Yine kiraz meyveleri C vitamini ve fenolik asitler (hidroksisinnamik türevler) ve flavonoidler (antosiyeninler, flavan-3-oller ve flavonoller) dâhil olmak üzere farklı fenolik bileşikler de (Tablo 2.4) içermektedirler [57].

**Tablo 2. 4.** Optimum koşullar altında elde edilen konsantre kiraz sapı ekstraktının fenolik ve flavonoid içeriği [58]

<b>İçerik</b>	<b>Miktar (mg/g ekstrakt)</b>
Galic acid	2.37 ± 0.03
Pyrogallol	4.01 ± 0.16
Caffeic acid	5.69 ± 0.09
Syringic acid	3.24 ± 0.04
Coumaric acid	2.27 ± 0.05
Ferulic acid	4.82 ± 0.07
Sinapic acid	17.62 ± 0.20
Catechin	2.88 ± 0.05
2,4 Hydroxybenzoic acid	2.99 ± 0.05
Ellagic acid	2.64 ± 0.04
Quercetin	10.12 ± 0.06
Epicatechin	2.19 ± 0.04
Kaempferol	1.69 ± 0.04
Rosmarinic acid	1.17 ± 0.04
<b>Toplam fenolik (mg)</b>	<b>87.62 ± 0.01</b>
<b>Toplam flavonoid (mg)</b>	<b>15.76 ± 0.01</b>

Bu bağlamda yapılan çalışmalarda, kiraz saplarının hem sulu hem etanol ekstraktlarının fenolik ve flavonoid içerikleri arasında bir korelasyona sahip olduğu ve antioksidan, antitümör, antidiyabetik ve antibakteriyel etkilerini içeren in vitro biyoaktiviteleri olduğu kanıtlanmıştır [57].

## 2.9. Literatür Araştırması

Umadevi ve diğerleri, yapmış oldukları çalışmada kimyasal yöntemler kullanılarak CuO nanoçiçek yapıları sentezlemişlerdir. Sentezlenen bu CuO nanoçiçeklerin fotokatalitik aktivitesini UV ışınması altında metilen turuncusunun (MO) foto degradasyonu ile değerlendirmişlerdir. Fotokatalitik aktivite tayini, farklı ışınlama süreleri boyunca MO'nun degradasyonu spektrofotometre kullanılarak 464 nm de absorbans değerlerinin okuması ile gerçekleşmiştir. Kimyasal yollarla sentezlenen CuO nanoçiçek yapılarının fotokatalitik aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Buna göre ışınlama süresinin artmasıyla MO'nun absorbans değerinin azaldığı görülmüştür CuO nanoçiçek yapıları için katalitik reaksiyonun görünür hız sabiti 0.016 / dakika olduğunu tespit etmişlerdir [59].

Koca, yapmış olduğu çalışmada Timol ve  $Cu^{2+}$  iyonları kullanarak Cu-HNÇ yapıları sentezlemiştir. Sentezlemiş olduğu bu HNÇ yapılarının katalitik aktivitesini model substrat olarak seçilen Gayakol'ün oksidasyonunu spektrofotometrede 470 nm dalga boyunda analiz ederek belirlemiştir. Buna göre Timol bazlı Cu-HNÇ yapılarının Fenton benzeri bir mekanizma ile katalitik aktivite gösterdiğini açıklamıştır [60].

Vineyagam ve diğerleri, *Calliandra haematocephala* yapraklarının suda ortamında elde ettiği özütü sentezlemiş olduğu ZnO nanoçiçeklerinin (CH-ZnO nanoçiçekleri) güneş ışığı varlığında metilen mavisi boyasının fotokatalitik degradasyonuna yönelik etkinliğini araştırmışlardır. Karanlık ortamda boyanın konsantrasyonunda düşüş gözlemlenmemiştir. Ek olarak, CH-ZnO nanoçiçeklerinin dâhil edilmediği bir kontrol çalışmasında, tüm süre boyunca boya konsantrasyonunda önemli bir azalma sağlamamıştır. CH- ZnO nanoçiçekleri ise metilen mavisi boyasının 270 dakikada %88 oranında bozunmasını sağladığını ortaya çıkarmışlardır. Çalışmalardan elde edilen kinetik veriler, reaksiyonun, hız sabitinin ise  $0.01 \text{ dk}^{-1}$  olan birinci derece modelle uyumlu olduğunu kanıtlamışlardır [61].

Vaidehi ve arkadaşları, *Solanum lycopersicum* yapraklarından elde edilen özütle CuO nanopartikülleri sentezlemişlerdir. CuO-NP'lerin fotokatalitik aktivitesini, görünür ışık altında Kristal Viyole (CV) boyasına karşı gerçekleştirmişlerdir. Sentezlenen CuO-NP'lerin, zamana bağlı olarak, kristal viyole boyasına karşı yaklaşık olarak %97 oranında boyanın degradasyonunu sağladığını tespit etmişlerdir [62].

Shahid ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada Ag kaplı ZnO nanoçiçeklerin ve ZnO nanoçubuklarının güneş ışığı kaynaklı fotokatalitik aktivitelerini araştırıp birbirleri ile karşılaştırmışlardır. Model kirletici olarak metilen mavisi (MB) kullanılan bu çalışmada en yüksek katalitik aktiviteyi Ag kaplı ZnO nanoçiçeklerinin gösterdiğini ve Ag kaplı ZnO nanoçiçeklerin verimli fotokatalitik aktivitesi, nanoçiçeklerin yüzeyinde elektron çukuru gibi davranan Ag nanopartiküllerinin varlığından kaynaklandığını ortaya koymuşlardır [63].

Demirbaş yapmış olduğu bu çalışmada kan portakalı kabuğu özütü (BOPE) ve Cu<sup>2+</sup> iyonları ile sentezlenen BOPE-Cu<sup>2+</sup> nanoçiçekleri ve kan portakalı suyu özütü (BOJE)-Cu<sup>2+</sup> iyonları kullanılarak BOJE-Cu<sup>2+</sup> nanoçiçeklerini sentezlemiş ve bu yapıların balık patojeni olan *Yersinia ruckeri* (NCTC 12,268) üzerindeki antimikrobiyal özelliklerini incelemiştir. Nanoçiçeklerin DISC içeriği, ölçülen tüm mikroorganizmalar için 10 µg/ml'lik bir konsantrasyonda değerlendirilmiştir. Serbest BOPE ve BOJE özlerinin inhibisyon bölgeleri sırasıyla 8.33 mm ve 9.00 mm olarak belirlenmiştir. BOPE ve BOJE bazlı nanoçiçekler, *Y. Ruckeri*'yi sırasıyla 33.66 mm ve 30.66 mm olarak inhibe ettiğini belirlemiştir. Nanoçiçeklerin serbest BOPE ve BOJE özünden *Yersinia ruckeri*'ye karşı daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur [64].

Koca ve diğerleri, Allisin (*Allium sativum*'un aktif bileşeni) ve Cu<sup>2+</sup> iyonlarını kullanarak yeşil sentez yöntemi Cu nanoçiçek yapılarını oluşturmuş ve antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Oluşturulan bu Cu nanoçiçeklerinin antimikrobiyal etkilerini araştırmak için, *Aeromonas hydrophila* (Gram-pozitif), *Vibrio parahaemolyticus* ve *Lactococcus garvieae* (Gram-negatif) içeren üç balık patojen bakterisine karşı test etmişlerdir. Test edilen tüm mikroorganizmalar için Cu-nanoçiçeklerin MIC değerini, 151 g/ml konsantrasyonda belirlenmiştir. Sonuç olarak Allisin bazlı Cu nanoçiçek yapılarının balık

patojen bakterilerine (*Aeromonas hydrophila*, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Lactococcus garvieae*) karşı etkili antibakteriyel özellikleri olduğunu belirlemişlerdir [65].

Ingle ve diğerleri, bakır sülfat ve CTAB (cytyltrimetal ammonium bromide) kullanarak Cu nanoçiçek yapılarını kimyasal yollarla sentezlemişlerdir. Sentezlemiş oldukları Cu nanoçiçek yapılarının antifungal aktivitesini bitki mantar patojenleri olan; *A. niger* (MTCC-478), *F. moniliforme* (MTCC-2088), *F. culmorum* (MTCC 349), *F. oxysporum* (MTCC 1755) ve *F. tricinctum* (MTCC-2080)'a karşı değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda maksimum antifungal aktivitenin *A. niger*'e karşı, ardından *F. moniliforme*, *F. oxysporum* ve *F. tricinctum*'a karşı gösterilirken, minimum aktivitenin ise *F. culmorum*'a karşı olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, bu bakır nanoçiçeklerin etkisi de ticari mantar önleyici madde (ketokonazol) ile kombinasyon halinde de test etmişlerdir. Sonuç olarak, kullanılan mantar önleyici maddenin (Ketokonazol) etkinliğinin, bakır nanoçiçeklerle birlikte kullanıldığında arttığını bulmuşlardır [66].

Gu ve diğerleri, *Cystoseira trinodis* ekstraktları kullanarak CuO nanopartikülleri sentezlemiştir. Sentezlemiş oldukları bu CuO nanopartiküllerinin antibakteriyel aktivitelerini araştırmak için gram negatif bakteri olarak, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium* ve gram pozitif bakteri olarak; *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve *Streptococcus faecalis* bakteri suşlarını kullanmışlardır. Çalışma sonucunda inhibisyon bölgesine göre, *E. coli* ve *S. aureus*, CuO NP'lerine karşı en yüksek hassasiyeti sergilerken, *S. typhimurium*, test edilen bakteriler arasında en düşük hassasiyeti gösterdiğini bulmuşlardır. İnhibisyon bölgesi sonuçlarına paralel şekilde, *E. coli* ve *S. aureus* inhibisyonu için en düşük MİC 2.5 µg/mL olarak bulunurken en yüksek *S. typhimurium* inhibisyonu için MIC 10.0 µg/mL olarak tespit etmişlerdir [67].

Al-Sharie ve diğerleri tarafından yapılan çalışma ile ilk kez *Hypericum triquetrifolium*'un (HT) metanolik özütünün kullanılmasıyla çinko oksit (ZnO) nanoçiçek yapılarını elde edilmiştir. HT-ZnO nanoçikelerinin antimikrobiyal aktivitesi, Gram negatif bakteri suşlarına (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Acinetobacter baumannii*) ve Gram pozitif bakteri suşlarına (*Staphylococcus aureus*, *Listeria ivanovii* ve *Enterococcus faecalis*) karşı 96 kuyucuklu plakalarda mikrobrot h seyreltme formatı kullanılarak belirlendi. Sonuç olarak HT-ZnO nanoçiçekleri, Gram

pozitif *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı bakterisidal bir etki gösterdiğini ama Gram-negatif bakteri suşlarına karşı ve *L. ivanovii*'ye karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite sergilemediğini bulmuşlardır [68].

Hasan ve diğerleri, *Withania coagulans* özütleri kullanılarak ZnO nanoçiçekleri sentezlemişlerdir. Sentezlenen ZnO nanoçiçeklerinin antibakteriyel aktivitesini araştırılmışlardır. Siprofloksasin, patojenik olan tüm bakteri suşları için standart olarak kabul edilmiştir. Çeşitli konsantrasyonlarda 5, 10 ve 20 µg/mL ZnO nanoçiçeklere sahip ZnO nanoçiçeklerin antibakteriyel aktivitesinin, Gram pozitif *S. aureus*'a karşı Gram negatif *P. aeruginosa*'dan daha fazla olduğunu ortaya bulmuşlardır. Sonuç olarak *Staphylococcus aureus* gibi Gram pozitif bakterilerin ZnO nanoçiçeklerin toksisitesine karşı *Pseudomonas aeruginosa* gibi Gram negatif bakterilere göre daha fazla duyarlılığa sahip olduğunu bildirmişlerdir [69].

Muthuvel ve diğerleri, antioksidan etkisini incelemek için iki farklı yöntem (kimyasal ve biyosentez) kullanarak CuO NP'leri sentezlemişlerdir. Biyosentez yönteminde *Solanum nigrum* yaprak özütleri kullanılırken kimyasal sentez için sol-jel yöntemini kullanmışlardır. *Solanum nigrum* yaprak özütünü, kimyasal ve biyosentez yöntemiyle sentezlenmiş CuO NP'lerinin antioksidan aktivitelerini DPPH yöntemini kullanılarak karşılaştırmalı olarak tespit etmişlerdir. Sonuç olarak 15–500 µg/ml konsantrasyonda, *Solanum nigrum* yaprak özütü %3 ila %51 arasında değişen temizleme oranı gösterirken, kimyasal CuO-NP'ler %9 ila %62, biyosentezlenmiş CuO-NP'ler %19–90 ve standart askorbik asit 28 -%95 arasında aktivite göstermiştir. *Solanum nigrum* yaprağı ekstresi, IC50 µg/ml (189.12) ile en düşük radikal temizleme aktivitesine sahip olduğunu, kimyasal CuO-NP'lerin IC50 µg/ml (163.97) ve biyosentezlenmiş CuO-NP'ler IC50 µg/ml (131.54) ile orta düzeyde temizleme aktivitesi gösterdiğini bulmuşlardır [70].

Velsankar ve diğerleri, *Allium sativum* özütleri kullanarak CuO nanopartikülleri sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bu CuO NP'lerinin antioksidan aktivitesini DPPH yöntemini kullanarak tespit etmişlerdir. Sonuçlara göre *Allium sativum* özütleri kullanılarak sentezlenen CuO NP'lerinin yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Buna göre sentezlenen CuO nanopartikülleri için 20, 40, 60 ve 80 µg/mL

artan konsantrasyonlarda serbest radikal süpürme aktivitesinin sonuçlarını sırasıyla %29, %48, %74 ve %96 olarak tespit etmişlerdir [71]

İjaz ve arkadaşları, *Abutilon indicum* yaprak özütlerini kullanarak CuO nanopartikülleri sentezlemiştir. Sentezlenen bu CuO NP'lerinin antioksidan aktivitesini DPPH yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Sonuç olarak, sentezlenen CuO NP'lerin en yüksek IC50 değerini ( $84 \pm 0.32 \mu\text{g/ml}$ ) 1000  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda görülürken, en düşük IC50 değerini ( $40 \pm 0.23 \mu\text{g/ml}$ ) 60  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda elde etmişlerdir. Bu nedenle, CuO NP'lerinin artan konsantrasyonu ile DPPH serbest radikal süpürme işleminin arttığını ve yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir [72].

Dobrucka, yapmış olduğu çalışmada *Galeopsis herba* özütleri kullanrak CuO nanopartikülleri sentezlemiş ve bu yapıların antioksidan aktivitesini araştırmıştır. Antioksidan aktivite tespiti için DPPH yöntemini kullanmıştır. Sonuç olarak, biyosentezlenmiş CuO NP'leri için IC<sub>50</sub> değerini 4,12  $\mu\text{g/ml}$  olarak tespit etmişlerdir. Bu sonuç ile elde edilen CuO NP'lerinin yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymuşlardır [73].

Shabestarian ve arkadaşları, *Sumak (Rhus coriaria L.)* sulu özütü kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle altın nanopartikülleri (Au Np) sentezlemiştirler. Au Np'lerinin antioksidan aktivitesi DPPH ve ABTS (2,2'-azino-bis 3-etilbenziazolin-6-sülfonik asit) kullanılarak araştırmışlardır. DPPH yöntemiyle, Au Np'lerinin konsantrasyona bağımlı olarak değişen aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. DPPH temizleme etkisi 25  $\mu\text{M}$ 'lik bir konsantrasyonda %13.43 ve daha sonra 800  $\mu\text{M}$  Au-NP'lerde %85.73'e çıktığını tespit etmişlerdir. ABTS yöntemiyle ise Au Np'lerin yaklaşık 100  $\mu\text{M}$  IC50 değeri ile ABTS radikalini inhibe ederek antiradikal aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir. ABTS temizleme etkisi 800  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda %96.83 olduğunu ortaya koymuşlardır [74].

Baldemir ve arkadaşları, yeşil çay (*Camellia sinensis L.*) sulu özütü, etanol özütü, kateşin özütü ve kafein özütü kullanılarak CuO nanoçiçekleri sentezlemiş ve bu nanoçiçek yapılarının SEM, FT-IR ve EDX analizleri ile karakterizasyonunu yapmışlardır. SEM incelemelerine göre sentezlenen tüm nanoçiçek yapılarının dar boyut dağılımına sahip küresel morfolojilere sahip olduğunu ve nanoçiçeklerin çaplarının yaklaşık 5.5  $\mu\text{m}$  olduğunu tespit etmişlerdir. FT-IR sonuçlarına göre bütün nanoçiçek yapılarının birbirlerine benzer şekilde spektral profiller sergilediğini ortaya koymuştur. FT-IR ile

3241  $\text{cm}^{-1}$  (–OH germe), 2902  $\text{cm}^{-1}$  ve 2988  $\text{cm}^{-1}$  (C–H alifatik), 1702  $\text{cm}^{-1}$  (karbonil), 1615  $\text{cm}^{-1}$  (–NH bükme) karakteristik bantları ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca 557  $\text{cm}^{-1}$ , 611  $\text{cm}^{-1}$ , 985  $\text{cm}^{-1}$  ve 1044  $\text{cm}^{-1}$ 'deki yeni absorpsiyon bantları, P–O ve P=O titreşimlerine atfedilen, fosfat gruplarının ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) varlığını gösteren nanoçiçek ekstraktlarında ortaya çıktığını bulmuşlardır. Bu ayrıca, bakır(II) sülfat ve PBS tamponu varlığında yeşil çay özleri kullanılarak özüt- $\text{Cu}^{2+}$  hibrit nanoçiçeklerin başarılı bir şekilde hazırlandığını doğrulamıştır. EDX testi ile nanoçiçeklerin iskeletinde Cu bulunduğunu doğrulamışlardır [75].

Hao ve diğerleri, Brevibacterium kolesterol oksidaz (COD)-Cu hibrit nanoçiçekleri hazırlamış ve bu HNC'leri FT-IR, FE-SEM ve XRD analizlerini kullanarak optimize etmiş ve yapısal ve katalitik özellikler için karakterize etmişlerdir.  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  kristalizasyonu, enzim tozları ve Cu-COD hibrit nanoçiçeklerini FE-SEM ile taramışlardır.  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  kristalizasyonu ve COD tozlarının nanoçiçek yapıları oluşturmadığını fakat 1,6 mM bakır ile reaksiyona sokulduğunda, çapı 5  $\mu\text{m}$  civarında olan nanoçiçekler oluştuğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca farklı sıcaklık, pH, ve inkübasyon süreleri içerisinde 4°C sıcaklıkta, ortam pH'ı 7 olduğunda ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonucunda en iyi formda nanoçiçek yapılarının oluştuğunu tespit etmişlerdir. Yine FT-IR ile yapılan testler ile Cu-COD kompleksi, hem serbest COD hem de  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 'nun önemli zirvelerini ortaya çıkarmıştır; bu sonuç Cu-COD hibrit nanoçiçeklerin oluştuğunu göstermiştir. Cu-COD hibrit nanoçiçeklerinin kristal oluşumunu doğrulamak için yapılan XRD testleri sonucunda Cu-COD hibrit nanoçiçeklerinin tüm kırınım zirvelerinin,  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (JCPDS, kart 00-022-0548) için bildirilenlerle aynı olduğunu tespit etmişlerdir. Kırınım zirvelerinin keskinliği ve yoğunluğu, ürünlerin iyi kristal yapıda olduğunu doğrulamış ve Cu-COD hibrit nanoçiçeklerin inorganik bileşiminin  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  olduğunu tespit etmişlerdir [76].

Hassanpour ve diğerleri, çözücü ve spesifik öncü olarak etilen glikol kullanılarak basit bir solvotermal yaklaşımla Ni/ZnO nanokompozitleri sentezlemişlerdir. Sentezledikleri Ni/ZnO nanokompozitlerini XRD, TEM, FT-IR ve SEM ile karakterize etmişlerdir. Ni/ZnO nanokompozitlerinin XRD analizi ile Ni'nin kübik fazını ve ZnO'nun altıgen fazını içerdiğini herhangi bir yabancı madde içermediğini ve kristalit boyutunun 21 nm civarında olduğunu tespit etmişlerdir.



FT-IR analizi ile  $2931\text{ cm}^{-1}$ ,  $1598\text{ cm}^{-1}$  ve  $1044\text{-}1247\text{ cm}^{-1}$ 'deki bir dizi absorpsiyon frekansının sırasıyla C-H, C-C, C-O germe modlarıyla ilgili olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, O-H bükme moduna  $1410\text{ cm}^{-1}$  ve  $1480\text{ cm}^{-1}$ 'de iki absorpsiyona atfedilmiştir.  $430\text{ cm}^{-1}$ 'deki absorpsiyon bandının Zn-O germe modu ile ilgili olduğunu bulmuşlardır. EDX analizi ile herhangi bir safsızlık olmaksızın Ni/ZnO nanokompozitlerinin oluşumunu kesin olarak doğrulamışlardır.  $200^{\circ}\text{C}$ 'de sentezlenen numunenin üç farklı zamanda (8-10-12 saat) elde edilen SEM görüntüleri incelenmiştir. 8 saatlik annealing süresinin ardından partikül çapları yaklaşık 10 nm olarak elde edilirken, annealing süresinin 10 saate çıkarılmasıyla arttırılmış yüzey gözenekliliğine sahip daha büyük partikül boyutları oluştuğunu tespit etmişlerdir. TEM görüntülemesi ile hazırlanan Ni/ZnO nanokompozitlerinin ortalama parçacık çaplarının 25 nm civarında olduğunu belirlemişlerdir [77].

Sreedharan ve diğerleri, *Bacillus subtilis* RSB64 ile çiçek şeklindeki altın nanoparçacıkların biyosentezini gerçekleştirmiş ve karakterizasyonunu yapmışlardır. UV-Vis absorpsiyon spektrumu, iki iyi ayrılmış absorpsiyon bandı göstermiştir.  $540\text{ nm}$ 'deki bant, yüzey plazmon absorpsiyonunun enine bileşenine atfedilirken,  $750\text{ nm}$ 'de gözlemlenen omuz bandı, yüzey plazmon absorpsiyonunun uzunlamasına bileşenine atfedilmiştir. Bu sonuçlar, özel bir şekle sahip altın nanokristallerin varlığını göstermiştir. EDX analizi ile altın nanoparçacıkların  $2.3\text{ keV}$  civarında güçlü pikin varlığı nedeniyle altın nanoparçacıklarla ilişkilendirilmiştir. Zeta potansiyeli analizleri, yüzey yük değerinin  $-39 \pm 0.1\text{ mV}$  olduğunu ortaya çıkarmış bu da sentezlenen altın nanoparçacıklarının iyi stabilizeye sahip olduğunu ortaya koymuştur. TEM görüntüleri ile parçacık boyutu dağılımının esas olarak  $50\text{ nm}$  aralığında iyi dağılmış çiçek şekilli altın nanoparçacıkları olduğunu ortaya çıkarmıştır. FT-IR analizi  $3840$ ,  $3353$ ,  $2785$ ,  $1996$  ve  $1645\text{ cm}^{-1}$ 'de bantlar göstermiştir. Spektral verilerde fonksiyonel grupların varlığı, stabil altın nanopartiküllerin oluşumunda proteinlerin rolünü doğrulamıştır [78].

Apriandanu ve diğerleri, *Tinospora crispa* yaprak özütleri (TLE) kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle CuO NP'leri sentezlemişler ve karakterizasyon çalışmalarını yapmışlardır. UV-Vis spektrofotometresi ile CuO NP'lerinin  $383\text{ nm}$ 'de güçlü bir absorpsiyona sahip olduğunu tespit etmişlerdir. CuO NP'leri, UV-Vis dağılık yansıma spektrofotometrisi (DRS) analizi ile bant aralığı enerjisinin  $1.32\text{ eV}$  olduğunu anlamışlardır.

Bu sonuç ile oluşan CuO NP'lerinin görünür bölgede potansiyel olarak bir fotokatalizör olarak çalıştığını tespit etmişlerdir. FT-IR analizi ile TLE'nin sırasıyla -OH, C=O, C-C ve -CN titreşim modlarına karşılık gelen 3319, 1602, 1416 ve 1108  $\text{cm}^{-1}$ 'de dört ana absorpsiyon bandına sahip olduğu tespit etmişlerdir. -OH, C=O, C-C fonksiyonel grupları, TLE'nin flavonoidlerin ve fenoliklerin ikincil metabolitlerini içerdiğini ve -CN grubunun varlığı alkaloid bileşiğinden olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar, TLE'nin nanoparçacık hazırlamada gerektiği gibi flavonoidlerin, fenoliklerin ve alkaloidlerin ikincil metabolitlerini içerdiğini kanıtlamışlardır. XRD analizi ile 20 ila 75 derece aralığındaki kırınım açılarında sergilenmiştir. XRD modeli, monoklinik bir yapıya sahip CuO ile teorik olarak iyi bir şekilde eşleştirmişlerdir ve ayrıca CuO'nun kristalit boyutu ortalamasının 11.45 nm olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca SEM-EDX analizleri ile CuO'nun hafif aglomerasyonla pirinç tanesini oluşturduğu görmüşlerdir. EDX analizi ile CuO yüzeyinde mevcut olan herhangi bir safsızlık veya diğer elementlerin olmadığını yani saf CuO'nun oluştuğunu tespit etmişlerdir. TEM analizi ile CuO NP'lerinin, 10-40 nm partikül boyutu aralığında küresel bir şekle sahip olduğunu tespit etmişlerdir [79].

## **3.BÖLÜM**

### **MATERYAL VE YÖNTEMLER**

#### **3.1. Kiraz Meyve Saplarının Temin Edilmesi**

Kiraz meyve sapsarı, Nevşehir bölgesinde yer alan yerel satıcılardan temin edilmiştir.

#### **3.2. Kiraz Sapı Özütünün Elde Edilmesi**

Satın alınan kiraz sapsarı laboratuvarında yıkandıktan sonra etüvde (70°C' de) kurutulmuştur. Kurutulmuş kiraz sapsarı blender yardımıyla toz haline getirilmiştir. Toz haline gelen kiraz sapsarından 10'ar gram tartılarak ayrı ayrı 100 ml su ve 100 ml %96'lık etanol içerisine eklenmiştir. Kiraz sapsarı, sıcaklığı 85°C olan su ve sıcaklığı 65°C olan etanolün içerisinde 2 saat boyunca demlendirilmiştir. Elde edilen ekstraksiyon çözeltisi sonra Whatman No: 1 filtre kâğıdından geçirilerek süzölmüştür. Elde edilen süzöntü nanoçiçek sentezinde kullanılmak üzere +4°C de saklanmıştır.

#### **3.3. PBS (Phosphate Buffered Saline-Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi) Hazırlama**

PBS çözeltisi, biyolojik araştırmalarda yaygın olarak kullanılan bir tampon çözeltidir. Genellikle sodyum klorür, sodyum fosfat, potasyum klorür ve potasyum fosfat içeren tuzlu bir çözelti olarak hazırlanmaktadır. PBS nanoçiçek yapılarının oluşmasını için gerekli olan kimyasal maddeleri barındırdığı için nanoçiçek sentezinde oldukça kritik öneme sahiptir. PBS çözeltisi, metal iyonları ile birlikte amin gruplarının bağlanmasını sağlayarak nanoçiçek sentezinin ilk basamağını (çekirdeklenme fazı) oluştururlar [75].

1 Litre 1X PBS çözeltisi aşağıdaki malzemeler kullanılarak çalışmada kullanılmak üzere çözeltinin pH'ı 6, 7.4 ve 9 olacak şekilde farklı pH'larda hazırlanmış ve son hacim 1 litreye tamamlanmıştır.

**Tablo 3. 1.** 1litre 1X PBS çözelti içeriği

Malzemeler	1Litre 1X PBS için gerekli miktar
NaCl (Sodyum klorür)	0.8 gr
KCl (Potasyum klorür)	0.2 gr
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Disodyum fosfat)	1.44 gr
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (Mono potasyum fosfat)	0.24 gr

### 3.4. Cu-HNÇ Yapılarının Sentezi ve Karakterizasyonu

Nanoçiçek sentezlemek için 10 mM PBS tamponu pH'ı 6, 7.4 ve 9 olacak şekilde ayarlanmıştır. Hazırlanan tamponların içerisine 100, 500, 700 ve 1000 µL alkol ve su çözücülerini ile elde edilen kiraz sapı özütleri eklenmiştir. Son olarak bütün tüplere 10<sup>-4</sup> M 350 µL Cu eklenmiştir. Daha sonra karanlık ortamda 72 saat bekletildikten sonra 2000 RPM'de 5 dk santrifüj edilmiş ve dipte kalan çökelti etüvde (70 °C) kurutulmuştur [80]. HNÇ'lerin morfolojik yapısı SEM (ZEISS EVO LS10), kristal yapısı XRD (BRUKER AXS D8) ve fonksiyonel grupların varlığı FT-IR (Perkin Elmer Spectrum 400) analizi ile gerçekleştirilmiştir.

### 3.5. Cu-HNÇ Yapılarının Katalitik Aktivitelerinin Tespiti

Cu-HNÇ'lerinin katalitik aktivitesinin tespiti için substrat olarak Gayakol'un kullanıldığı bir prosedür uygulanmıştır. Reaksiyon için (aynı hacimde, 1 ml), 10 mM, pH 6.8, 25°C PBS, 22.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve 45 mM Gayakol ile 3 mg Cu-HNÇ karıştırılmıştır. Ortamda Cu-HNÇ varlığında Gayakol oksidasyonu ile meydana gelen absorbans değişimini tespit etmek için Uv-Vis spektrofotometre kullanılarak 470 nm dalga boyunda ölçüm gerçekleştirilmiştir [81]. Spektrofotometrik ölçümlerde 1 ml PBS, 22.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve 1 ml, 45 mM Gayakol içeren karışım kontrol olarak kullanılmıştır.

### 3.6. Cu-HNÇ Yapılarının Antioksidan Aktivitelerinin Tespiti

Cu-HNÇ'lerin antioksidan aktivitesi, DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) oksidasyonu yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir [82]. 7 farklı Cu-HNÇ konsantrasyonu (0.15625, 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5 ve 10 mg/ml) ile 0.1 mM DPPH karıştırılmış ve 30

dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. Mordan turuncuya doğru renk değişim gözlenen örnekler 517 nm dalga boyunda okunmuştur.

Yüzdellik DPPH süpürme aktivitesi:

$$\% \text{ Süpürme aktivitesi} = \{ [A - (B - C) / A] * 100 \}$$

A= Negatif kontrolden okunan absorbens değeri

B= Örnekten okunan absorbens değeri

C= Pozitif kontrolden okunan absorbens değeri

Burada negatif kontrol olarak distile su kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak ise DPPH çözeltilisinin yerini alan aynı hacimde %99,5 etanol kullanılmıştır.

### **3.7. Cu Hibrit Nanoçiçeklerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Tespiti**

Cu-HNÇ'lerinin antimikrobiyal aktivitesi standart makro seyreltme yöntemi kullanılarak yapılmıştır [83]. Cu-HNÇ'lerinin antimikrobiyal aktivitesinin tespiti için *Pseudomonas auroginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 11229), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) suşları kullanılmıştır. Daha sonra steril besi yeri bulunduran tüplere son konsantrasyonları 0,156-10 mg/ml aralığında (0,156- 0,312- 0,625- 1,25- 2,5- 5- 10) olacak şekilde Cu-HNÇ eklenmiştir. Bu tüplere bakteri konsantrasyonu  $10^8$  CFU/ml olarak ayarlanmış olan stok bakteri besiyerinden son konsantrasyonları  $5 \cdot 10^5$  CFU/ml olacak test edilecek bakteriler eklenmiştir. Ayrıca besiyeri sterilliğinin kontrol etmek için bakteri ekilmemiş besiyeri negatif kontrol olarak ayarlanmış ve bakteri üremesini gözlemlemek için de sadece bakterinin bulunduğu pozitif kontrol tüpler ayarlanmıştır. Ekimi yapılan bakteriler 24 saat boyunca 37°C inkübe edilmiştir. Minimum inhibisyon konsantrasyonu tüplerde inkübasyondan önce ve sonraki görsel bulanıklıklık arasındaki farka göre tespit edilmiştir. [84]. Tespit edilen MIC değerlerini doğrulamak için 3 tekrarlı olarak çalışılmıştır.

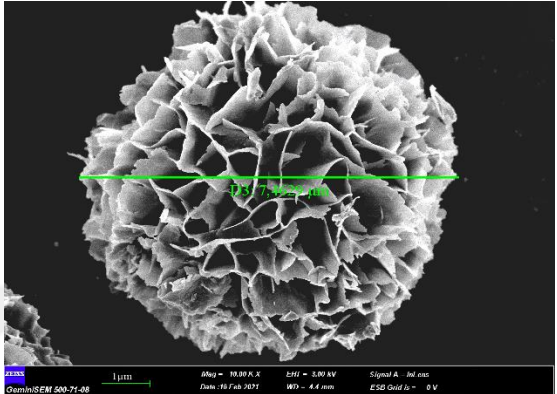
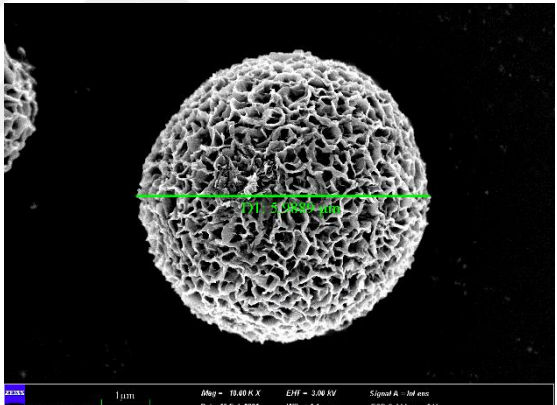
## 4. BÖLÜM BULGULAR

### 4.1. Cu-HNÇ Yapılarının Karakterizasyonu

Bu çalışmada, etanol ve su çözücüleri kullanılarak kiraz sapı özütleri elde edilmiştir. Elde edilen özütler, farklı miktarda (100-500-700-1000 µl) ve değişen ortam pH'ı (6-7.4-9) koşullarında Cu-HNÇ sentezlenmesi için kullanılmıştır. Hem su ile elde edilen özütlerde hem de etanol kullanılarak elde edilen özütlerle çalışılan pH değerlerinden pH'ı 7.4 ve 9 olan özütlerin Cu-HNÇ'lerin sentezlerinin gerçekleştiği belirlenirken pH 6' değerine sahip özütlerin HNÇ yapılarını oluşturmadığı belirlenmiştir. Aynı pH değerine sahip olmasına rağmen farklı konsantrasyonlarda özüt kullanılmasıyla bazı konsantrasyonların HNÇ yapılarını oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Morfolojik çalışmalar için sentezlenen HNÇ'lerin SEM görüntülemesi yapılmıştır. Cu-HNÇ'lerin SEM ile görüntülenmesi sonucunda ortam pH'ı ve kullanılan özüt miktarının, nanoçiçeklerin oluşmasında ve morfolojilerini etkileyen önemli parametreler olduğu anlaşılmıştır. Bu çalışmada sentezlenen tüm HNÇ'lerin morfolojileri arasında farklılıklar tespit edilmiştir.

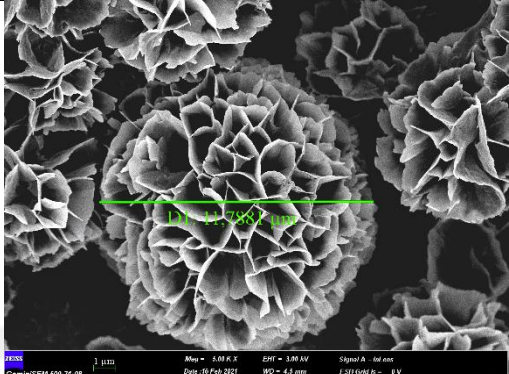
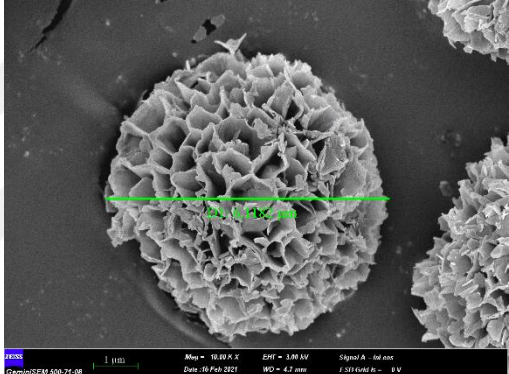
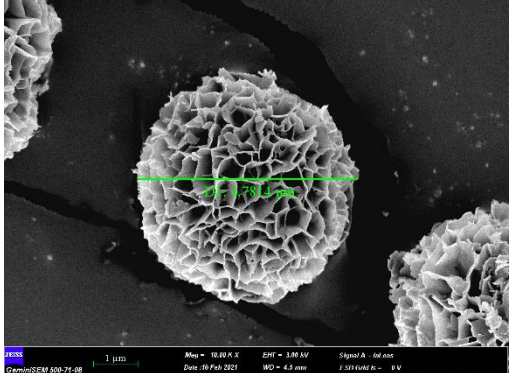
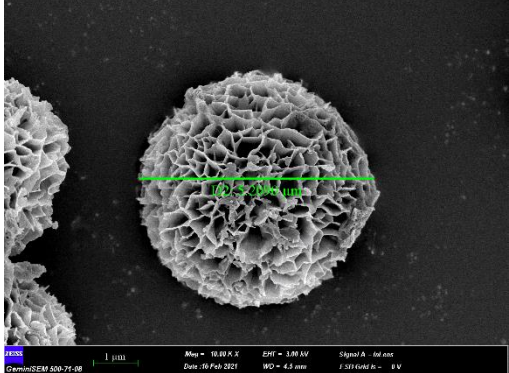
**Tablo 4. 1.** Çözücü olarak su kullanılan özütten ve pH 7.4 ortamında sentezlenen Cu-HNÇ yapıları

Çözücü Türü	pH	Konsantrasyon (µl)	HNÇ Yapısı
Su	7.4	100	
Su	7.4	500	
		700	Nanoçiçek yapısı oluşmamıştır.
		1000	Nanoçiçek yapısı oluşmamıştır.

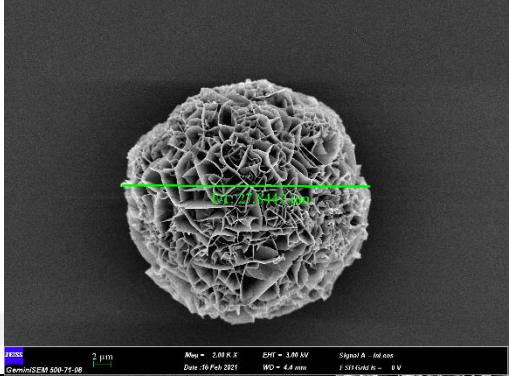
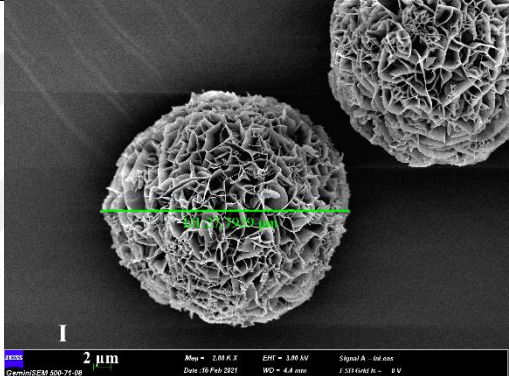
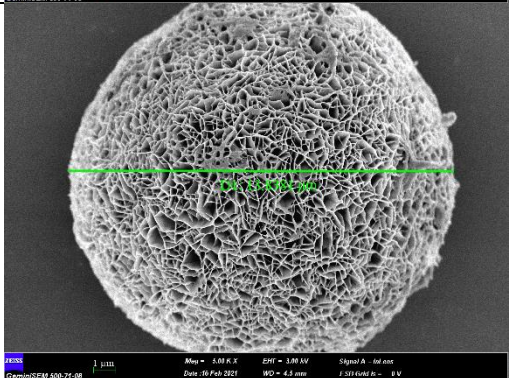




**Tablo 4. 3.** Çözücü olarak alkol (etanol) kullanılan özütten pH 7.4 ortamında sentezlenen Cu-HNÇ yapıları

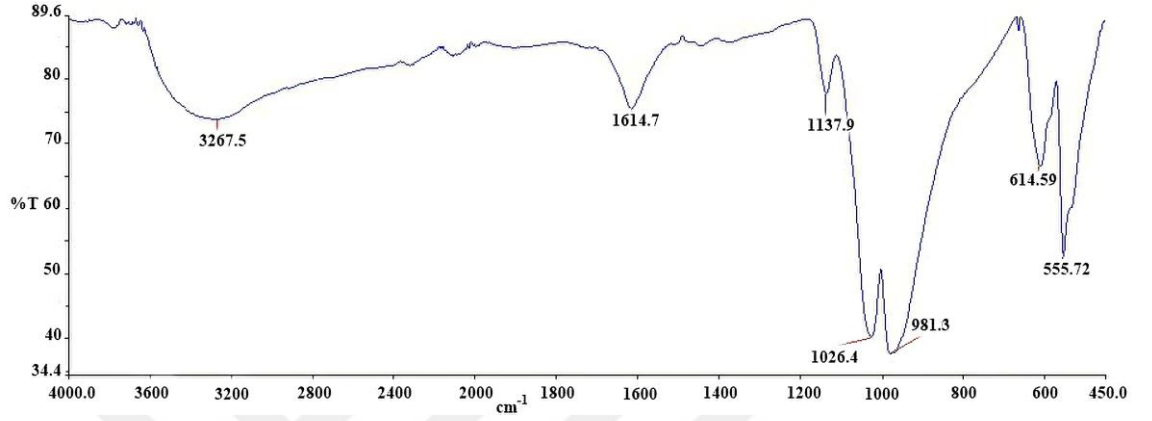
Çözücü Türü	pH	Konsantrasyon (µl)	HNÇ Yapısı
Alkol (Etanol)	7.4	100	
		500	
Alkol (Etanol)	7.4	700	
		1000	

**Tablo 4. 4.** Çözücü olarak alkol (Etanol) kullanılan özütten pH 9 ortamında sentezlenen Cu-HNÇ yapıları

Çözücü Türü	pH	Konsantrasyon (µl)	HNÇ Yapısı
Alkol (Etanol)	9	100	
		500	
Alkol (Etanol)	9	700	
		1000	Nanoçiçek yapısı oluşmamıştır.

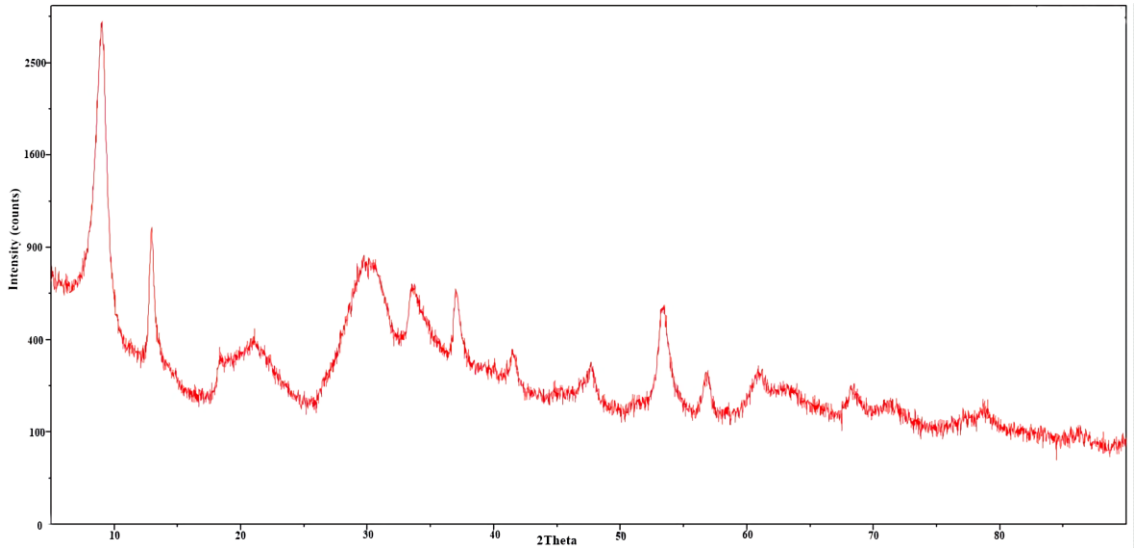
Kiraz sapı özütlü Cu-HNÇ yapılarının sentez sürecinde aktif role sahip olan fonksiyonel gruplara ait band titreşimleri FT-IR diyagramı ile tespit edilmiştir (Şekil 4.1).

FT-IR diyagramı aracılığı ile  $3267\text{ cm}^{-1}$ ,  $1614\text{ cm}^{-1}$  ve  $1137\text{ cm}^{-1}$  dalga uzunluğunda gözlenen spektrumlar sırası ile O-H, -NH ve aromatik halkaları işaret etmektedir. Ayrıca  $1026\text{ cm}^{-1}$ ,  $981\text{ cm}^{-1}$ ,  $614\text{ cm}^{-1}$  ve  $555\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen band titreşimleri primer fosfat kristalleri ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) ile ilişkilidir.

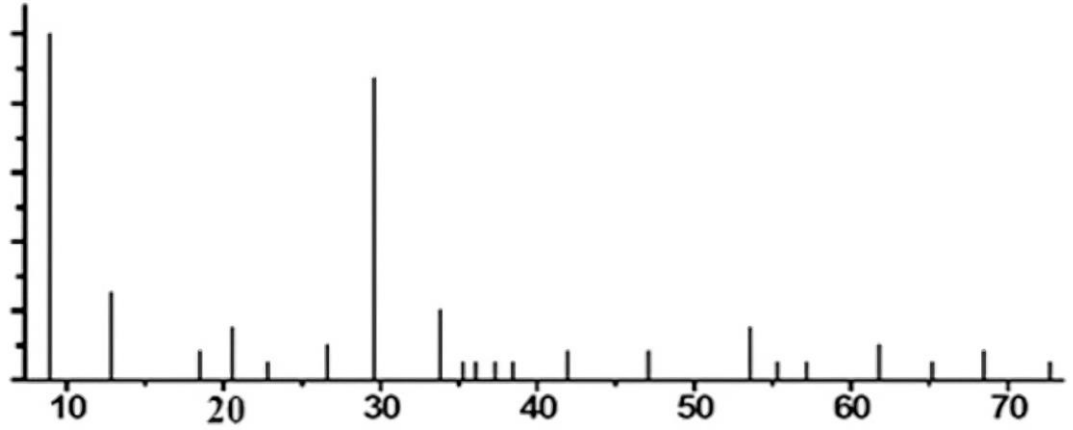


**Şekil 4. 1.** Cu-HNÇ'lerin FT-IR spektrumları

Cu-HNÇ'lerinin XRD diyagramı ile  $2\theta$  düzleminde izlenen pik pozisyonlarının  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (JPCSD 00-022-0548) kristal düzlem ile örtüştüğü tespit edilmiştir. (Şekil 4.2 ve 4.3). Bu sonuçlardan yola çıkarak kiraz sapı özütleri ile Cu iyonlarının PBS tamponu varlığında girdikleri reaksiyon sonucunda Cu-HNÇ'lerinin başarılı bir şekilde sentezlendiği ispatlanmıştır.



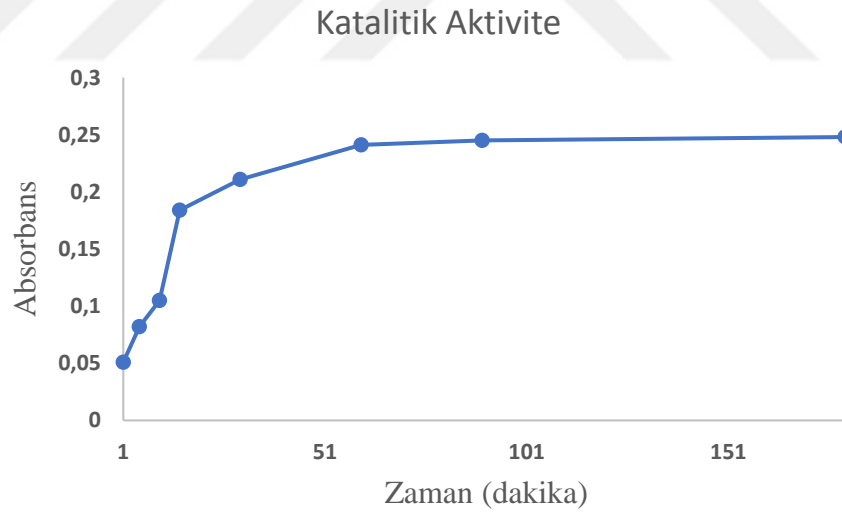
**Şekil 4. 2.** Cu-HNÇ'lerinin XRD modeli



Şekil 4. 3.  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (JPSCD 00-022-0548)'nun XRD modeli

#### 4.2. Cu-HNÇ Yapılarının Katalitik Aktivite Sonuçları

Bu çalışmada substrat olarak seçilen Gayakol'ün oksidasyonu ile spektrofotometrede 470 nm dalga boyunda ki absorbans değişimleri değerlendirilmiştir. Cu-HNÇ'lerinin katalitik aktivite sonuçları şekil 4.4 de gösterilmiştir.

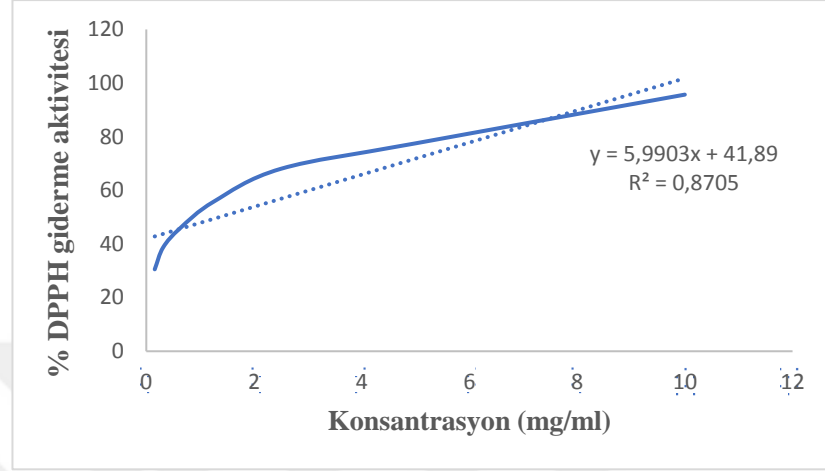


Şekil 4. 4. Cu-HNÇ'lerinin katalitik aktivitesi

#### 4.3. Cu-HNÇ Yapılarının Antioksidan Aktivite Sonuçları

Cu-HNÇ'lerin antioksidan aktivitesi, DPPH çözeltisinde mor dan turuncuya doğru olan renk değişiminin spektrofotometre ile 517 nm dalga boyunda ölçülerek hesaplanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.5'de gösterilmiştir.

Kiraz sapı özütü kullanılarak sentezlenen Cu-HNÇ'lerinin serbest radikalleri temizleme yeteneğini gösteren IC50 parametresi hesaplanarak belirlenmiştir. IC50 değeri 1,35 mg/ml olarak bulunmuştur.



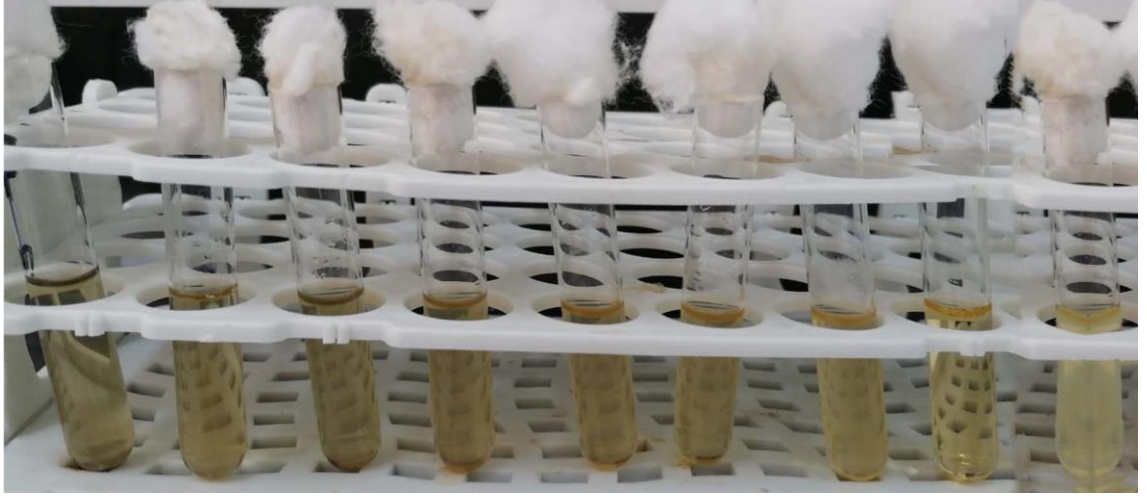
**Şekil 4. 5.** Farklı konsantrasyonlarda (0,15625, 0,3125, 0,625, 1,25, 2,5, 5, 10 mg/ml) Cu-HNÇ yüzdelerik DPPH süpürme aktivitesi

#### 4.4. Cu-HNÇ Yapılarının Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

24 saatlik inkübasyon sonrasında 0,078- 1,25 mg/ml aralığında Cu-HNÇ bulunduran bütün test tüplerinde bulanıklık tespit edilmiştir. Ancak *Listeria monocytogenes*, *Eshericia coli*, *Pseudomonas auroginosa* bulunduran tüplerde 2,5 mg/ml de bir bulanıklık tespit edilemezken *Enterococcus faecalis* 10 mg/ml de bulanıklık tespit edilememiştir (Tablo 4.1).

**Tablo 4.5.** Cu-HNÇ'lerinin minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC)

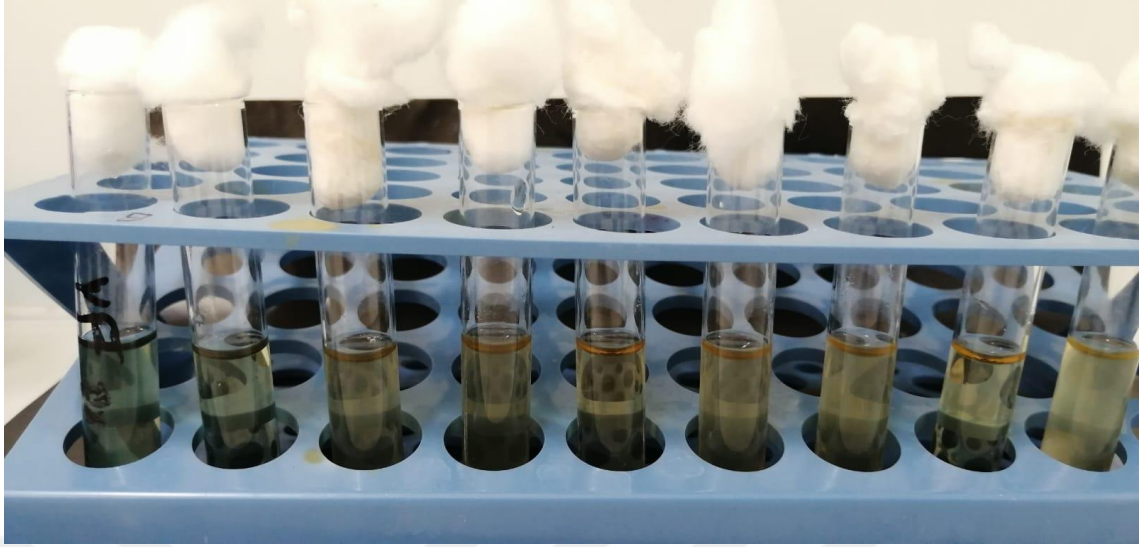
Bakteri Suşları	MIC (mg/ml)
<i>Pseudomonas auroginosa</i>	2,5
<i>Listeria monocytogenes</i>	2,5
<i>Escherichia coli</i>	2,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	10



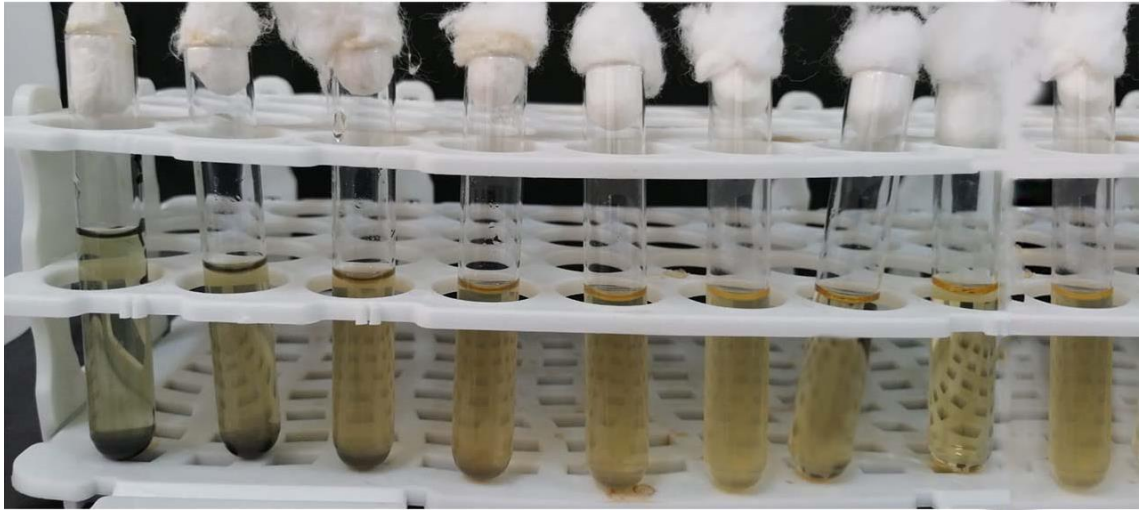
**Resim 4.4.1.** *Listeria monocytogenes* bakteri suşuna karşı antibakteriyel aktivite



**Resim 4.4.2.** *Escherichia coli* bakteri suşuna karşı antibakteriyel aktivite



**Resim 4.4.3.** *Pseudomonas auroginosa* bakteri suşuna karşı antibakteriyel aktivite



**Resim 4.4.4.** *Enterococcus faecalis* bakteri suşuna karşı antibakteriyel aktivite

## 5. BÖLÜM

### TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Nanoçiçek yapılarının oluşmasında sentez ortamı (pH, inkübasyon süresi, ortam sıcaklığı vb.) aktif rol oynamaktadır. Altınkaynak ve diğerleri, pH'ın karaturp peroksidaz-Cu<sup>2+</sup> hibrit nanoçiçek morfolojisi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır [85]. Sonuçlar, hibrit nanoçiçeklerin pH 6, 7.4 ve 8'de küresel ve kompakt bir yapı sergilediğini ortaya çıkarmıştır. Ayrıca pH 7.4'te oluşturdukları hibrit nanoçiçeklerin, diğer pH'larda oluşturulan nanoçiçeklere göre daha düzgün ve kompakt görüldüğünü tespit etmişlerdir. Benzer şekilde yapmış olduğumuz çalışmada, pH 7.4'de sentezlenen nanoçiçeklerin pH 9'da sentezlenen nanoçiçek yapılarına göre morfolojik olarak çiçeğe daha benzer ve daha kompakt yapılar olduğu tespit edilmiştir. pH 9' da daha küresel şekilli nanoçiçek yapılarının oluştuğu belirlenmiştir. Ayrıca hem su hem alkol ile elde edilen özütlerle sentezlenen nanoçiçeklerin, morfolojik olarak en düzenli ve kompakt yapısının pH 7.4'te oluştuğu tespit edilmiştir.

Benzer bir çalışmada, farklı PBS pH değerinde (pH 4, 5, 6, 8, 9 ve 10) laktoperoksidaz-bakır fosfat hibrit nanoçiçekleri sentezlenmiştir [86]. Asidik pH'larda (pH 4 ve 5) bakır fosfat kristallerinin ve hibrit nanoçiçeklerin oluşmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, laktoperoksidaz-bakır fosfat hibrit nanoçiçekleri, pH 9 ve 10'da sentezlemiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada ise, her iki çözücü ile elde edilen özütler kullanılarak elde edilen Cu- HNC yapılarının benzer şekilde asidik ortam olan pH 6'da oluşmadığını fakat pH 7.4 ve pH 9'da başarılı bir şekilde oluştuğu bulunmuştur.

Hao ve diğerlerinin yapmış olduğu çalışmada düşük pH'ın (3 ve 5) önemli ölçüde daha küçük nanoçiçek yapısının oluşmasına neden olduğunu ve pH 9'da hiçbir nanoçiçek yapısının oluşmadığını bildirmiştir [76]. Mevcut çalışmamızda ise pH 6 ortamında her iki çözücü ile elde edilen özütlerle yapılan çalışmada da nanoçiçek yapılarının oluşmadığı tespit edilmiştir.

Li ve arkadaşları PBS'nin pH değerini pH 6.0, 7.4, 8.0 ve 9.0 olacak şekilde hazırlamış ve lipaz-bakır fosfat hibrit nanoçiçeklerini bu farklı pH'larda sentezlemiştir [87]. Yaptıkları çalışmada nanoçiçeklerin taç yaprağı yoğunluğunun artan pH değeri ile azaldığını bulmuşlardır.

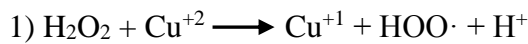


Yapmış olduğumuz bu çalışmada, Li ve arkadaşlarının aksine elde edilen SEM görüntülerinden yola çıkarak pH ve özüt miktarı arttıkça taç yaprakların yoğunluğunun arttığı tespit edilmiştir.

Baldemir ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada etanol ve su çözücülerini ile elde edilen özütler kullanılarak sentezlenen HNC'lerin morfolojileri arasında keskin bir şekilde farklılık gözlemlendiğini kaydetmişlerdir [75]. Yapmış olduğumuz bu çalışmada da Baldemir ve arkadaşlarının sonuçlarına benzer şekilde farklı pH ve konsantrasyonlarda sentezlenen Cu-HNC yapılarının morfolojilerinde farklılıklar tespit edilmiştir.

Yapılan iki farklı çalışmada sentezlenen nanoçiçek yapılarının karakterizasyonunda FT-IR ve XRD analizlerini kullanmışlardır [81], [88]. Yapmış oldukları çalışmalarda ki FT-IR diyagramları ve bizim mevcut çalışmamızdaki FT-IR diyagramımız genel olarak benzerlik göstermiştir. Bunun en temel sebebi yapılan bu çalışmalarda ve bizim çalışmamızda nanoçiçek sentezi için inorganik kısım olarak  $Cu^{+2}$  iyonlarının kullanılmasıdır. Ayrıca mevcut çalışmamızda XRD spektrumu ile nanokristallerin zirve noktaları tespit edilmiştir. HNC'lerdeki  $Cu_3(PO_4)_2 \cdot 3H_2O$  nanokristallerinin kırınım zirvelerinin, 00-022-0548 numaralı JCPDS kartı ile tutarlı olduğu tespit edilmiştir. Bu zirveler, kiraz sapı özütü Cu-HNC'lerin iyi kristalize olduğunu doğrulamıştır. FT-IR ve XRD sonuçlarımız önceki çalışmaları doğrular şekilde benzer çıkmış ve Cu-HNC yapılarının başarıyla sentezlendiği kanıtlanmıştır.

Yapmış olduğumuz bu çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda, ortamda  $H_2O_2$  varlığında Cu-HNC'lerin Gayakol'e karşı Fenton benzeri mekanizma yolu ile yüksek katalitik aktivite sergilediği gözlenmiştir. Koca'nın ve Ildız'ın daha önce yapmış oldukları çalışmalarda Cu bileşiklerinin hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) varlığında peroksidaz benzeri aktivite gösterdiklerini belirtmişlerdir [80], [89]. Bu mekanizmada birinci basamakta Cu-HNC'lerinin yapısında bulunan  $Cu^{+2}$  'nin  $H_2O_2$  ile reaksiyonunu sonucu ürün olarak  $Cu^{+1}$  oluşmaktadır.



İkinci basamakta ise  $\text{Cu}^{+1}$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  reaksiyonu ile birlikte oluşan hidroksil radikallerinin gerçekleştirdiği substratın oksidasyonu ile Gayakol 3,3'-dimetoksi-4,4'-bifenokinon yapısına dönüşmektedir. Mevcut çalışmamızda Cu-HNÇ'lerinin antioksidan aktiviteleri bu şekilde açıklanabilir.

Velsankar ve diğerleri, *Allium sativum* özütleri kullanarak CuO nanopartikülleri sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bu CuO NP'lerinin antioksidan aktivitesini DPPH yöntemini kullanarak tespit etmişlerdir. Sonuçlara göre *Allium sativum* özütleri kullanılarak sentezlenen CuO-NP'lerinin yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Buna göre sentezlenen CuO nanopartikülleri için 20, 40, 60 ve 80  $\mu\text{g}/\text{mL}$  artan konsantrasyonlarda serbest radikal süpürme aktivitesinin sonuçlarını sırasıyla %29, %48, %74 ve %96 olarak tespit etmişlerdir [71]. Bu çalışmayla paralel olarak mevcut çalışmamızda, kiraz sapı özütleriyle sentezlediğimiz Cu-HNÇ yapılarının da antioksidan aktiviteye sahip olduklarını tespit edilmiştir. Velsenkar ve diğerlerinin yapmış olduğu çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde bu çalışmada da antioksidan aktivitenin konsantrasyona bağlı olarak değişiklik gösterdiğini tespit ettik. Buna göre Cu-HNÇ konsantrasyonunu artırdığımızda ortamda bulunan DPPH radikal miktarında daha fazla azalma olduğu sonucunu ortaya koyduk.

CuO nanoparçacıkları oksidasyon / indirgeme reaksiyonlarındaki yüksek aktivitesi ve seçiciliği nedeniyle yaygın olarak güçlü heterojen katalizörler olarak kullanılmaktadır. Nanopartikül katalizinin temel amacı, bulk malzemelere göre aktivitenin geliştirilmesi ve seçicilik artışıdır. Umadevi ve diğerlerinin çalışmasına göre kimyasal yollarla sentezlenen CuO nanoçiçek yapılarının UV ışınması altında metil turuncunun (MO) foto degradasyonu ile değerlendirmiş ve ışınlama süresinin artmasıyla MO'nun absorbans değerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca zamana karşı iyi bir doğrusal korelasyon gösterdiğini ve kimyasal yollarla sentezlenen CuO nanoçiçek yapılarının iyi derecede fotokatalitik aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir [59]. Benzer şekilde biz de çalışmamızda yeşil sentez yöntemi ile sentezlemiş olduğumuz Cu-HNÇ yapılarının iyi derecede katalitik aktivite gösterdiğini ve bu nedenle zamana bağlı olarak ortamdaki model kirleticinin konsantrasyonunda azalış olduğunu tespit ettik. Ayrıca Umadevi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada CuO nanoçiçeklerinin sentezlemiş oldukları diğer nanoyapılara kıyasla daha iyi fotokatalitik aktivite göstermesinin sebebi olarak CuO nanoçiçeklerinin

kristal yapısı ve şekillerinin ana faktör olduğu görüşünü ortaya koymuşlardır. Benzer şekilde yapmış olduğumuz çalışmada da Cu-HNÇ yapılarının iyi katalitik aktivite göstermesinde Cu-HNÇ yapılarının kristal yapılarının ve şekillerinin etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Cu nanoyapılarının antimikrobiyal aktivitesinin genel mekanizması, (i) reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesini ve (ii) Cu<sup>2+</sup> iyonlarının salınmasını içerir; bunlar hücre duvarını doğrudan yıkabilir veya dolaylı olarak enzim aktivitesinin bozulmasına sebep olarak hücre duvarının yıkılmasına sebep olabilirler ve sonuç olarak mikroorganizmaların ölümüne yol açarlar [90]. Nanopartiküllerin genel olarak antibakteriyel aktiveleri, reaktif oksijen türlerinin oluşumuna, membran geçirgenliğinde artışa, hücre sinyal iletimleri, hücre metabolizma, DNA / RNA onarımı gibi hücresel aktivitelerle etkileşime atfedilir [91].

Cu-HNÇ'lerinin daha önce yapılan çalışmalarda çeşitli bakteri ve patojenlere karşı antibakteriyel aktivite gösterdikleri bilinmektedir [64], [65]. Mevcut çalışmamızda kiraz sapı özütü Cu-HNÇ'lerinin antimikrobiyal etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada Cu-HNÇ konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel etkininde arttığı tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda *E.faecalis* türünün, kiraz sapı özütü Cu-HNÇ'lerine karşı çalışılan diğer bakteri suşlarından daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Altın kaynak ve arkadaşları *Trigonella foenum-graecum* tohum özütleri kullanarak Cu nanoçiçekleri sentezlemişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada bizim sonuçlarımızın aksine *Escherichia coli* ve *Enterococcus faecalis*'in aynı düzeyde duyarlılık gösterdiğini ve ayrıca *Pseudomonas aeruginosa* suşuna karşı antibakteriyel etki gözlemlemediklerini bildirmişlerdir[81]. Mevcut çalışmamızda ise kiraz sapı özütü Cu-HNÇ'lerinin *Pseudomonas aeruginosa* 'a karşı antibakteriyel etki gösterdiklerini ve ayrıca çalıştığımız suşlara göre *Enterococcus faecalis* 'in daha az duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan çalışma sonucundan bitkisel atık olarak sınıflandırılan ve geleneksel olarak çok sınırlı kullanıma sahip olan kiraz saplarının değerlendirilerek su ve etanol gibi farklı çözücüler içerisinde elde edilen özütleri ile farklı pH ortamlarında yeşil sentez yöntemiyle oldukça düzgün morfolojiye sahip hibrit nanoçiçek yapılarının sentezlenebileceği bulunmuştur. Ayrıca bu HNÇ'lerin katalitik, antioksidan ve antimikrobiyal etkilere sahip

olduğu tespit edilmiştir. Cu-HNÇ'lerin sentezlenmesi ve biyomedikal uygulamaları için DNA ve RNA ve gibi pahalı biyomoleküller yerine kiraz sapı gibi hem ucuz hem de eldesi kolay organik malzemelerin kullanılabilceği ortaya koyulmuştur. Bu sayede hem çevreci yeşil yöntemler kullanılarak hem de daha düşük maliyetlere sahip nanoçiçek yapılarının sentezlenmesinin sağlayacağı avantaj ile çevresel uygulamalar ve biyomedikal uygulamalar başta olmak üzere birçok alanda kullanılması için katkı sağlayacaktır. Son olarak, mevcut çalışmada elde edilen veriler daha sonra yapılacak olan organik atık temelli HNÇ sentezlenmesinin amaçlandığı çalışmalara ışık tutacak nitelikte olduğunu düşünmekteyiz.



## KAYNAKLAR

- [1] B. Bhushan, "Introduction of Nanotechnology," in *Springer Handbook of Nanotechnology*, Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2004, pp. 1–5.
- [2] R. P. Feynman, "There ' s Plenty of Room at the Bottom The Nanometer Scalescale," *Caltech's Eng. Sci.*, pp. 1–11, 1959, [Online]. Available: <http://www.zyvex.com/nanotech/feynman.html>.
- [3] N. Taniguchi, "On the Basic Concept of Nanotechnology," in *Proceedings of International Conference on Production Engineering Tokyo*, 1974, vol. 2, no. II, pp. 18–23.
- [4] M. Farré, K. Gajda-Schranz, L. Kantiani, and D. Barceló, "Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 393, no. 1, pp. 81–95, 2009, doi: 10.1007/s00216-008-2458-1.
- [5] T. Yokoyama *et al.*, "Basic Properties and Measuring Methods of Nanoparticles," in *Nanoparticle Technology Handbook*, Elsevier, 2018, pp. 3–47.
- [6] S. Iravani, "Green synthesis of metal nanoparticles using plants," *Green Chem.*, vol. 13, no. 10, p. 2638, 2011, doi: 10.1039/c1gc15386b.
- [7] E. Ü. Tunca, "Nanoteknolojinin Temeli Nanopartiküller ve Nanopartiküllerin Fitoremediasyonu," *Ordu Üniv. Bil. Tek. Derg.*, vol. 5, no. 2, pp. 23–34, 2015.
- [8] Y. Wang and Y. Xia, "Bottom-Up and Top-Down Approaches to the Synthesis of Monodispersed Spherical Colloids of Low Melting-Point Metals," pp. 1–4, 2004.
- [9] S. Iravani, H. Korbekandi, S. V Mirmohammadi, and B. Zolfaghari, "Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods," *Res. Pharm. Sci.*, vol. 9, no. 6, pp. 385–406, 2014.
- [10] G. Sharma, N. D. Jasuja, M. Kumar, and M. I. Ali, "Biological synthesis of silver nanoparticles by cell-free extract of spirulina platensis," *J. Nanotechnol.*, vol. 2015, 2015, doi: 10.1155/2015/132675.

- [11] J. Ge, J. Lei, and R. N. Zare, “Protein – inorganic hybrid nanoflowers,” vol. 7, no. June, 2012, doi: 10.1038/nnano.2012.80.
- [12] P. Shende, P. Kasture, and R. S. Gaud, “Nanoflowers : the future trend of nanotechnology for multi-applications,” *Artif. Cells, Nanomedicine, Biotechnol.*, vol. 46, no. S1, pp. S413–S422, 2018, doi: 10.1080/21691401.2018.1428812.
- [13] I. G. Subramani, V. Perumal, S. C. B. Gopinath, K. S. Fhan, and N. M. Mohamed, “Organic-Inorganic Hybrid Nanoflower Production and Analytical Utilization: Fundamental to Cutting-Edge Technologies,” *Crit. Rev. Anal. Chem.*, pp. 1–23, Mar. 2021, doi: 10.1080/10408347.2021.1889962.
- [14] S. A. Tiyagi, S. Ajaz, and M. F. Azam, “Effect of some pesticides on plant growth, root nodulation and chlorophyll content of chickpea,” *Arch. Agron. Soil Sci.*, vol. 50, no. 6, pp. 529–533, 2004, doi: 10.1080/03650340410001729735.
- [15] A. El-Trass, H. Elshamy, I. El-Mehasseb, and M. El-Kemary, “CuO nanoparticles: Synthesis, characterization, optical properties and interaction with amino acids,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 258, no. 7, pp. 2997–3001, Jan. 2012, doi: 10.1016/J.APSUSC.2011.11.025.
- [16] J. Švarc-Gajić *et al.*, “Bioactive compounds of sweet and sour cherry stems obtained by subcritical water extraction,” *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 93, no. 6, pp. 1627–1635, 2018, doi: 10.1002/jctb.5532.
- [17] C. F. Chau, S. H. Wu, and G. C. Yen, “The development of regulations for food nanotechnology,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 18, no. 5, pp. 269–280, 2007, doi: 10.1016/j.tifs.2007.01.007.
- [18] S. Bayda, M. Adeel, T. Tuccinardi, M. Cordani, and F. Rizzolio, “The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine,” *Molecules*, vol. 25, no. 1, 2020, doi: 10.3390/MOLECULES25010112.
- [19] Internet: National Nanotechnology Initiative, “What It Is and How It Works.” <https://www.nano.gov/nanotech-101/what> (accessed Jul. 09, 2021).

- [20] M. Beykaya and A. Çağlar, “An Investigation on Synthesis of Silver-Nanoparticles (AgNP) and their Antimicrobial effectiveness by using Herbal Extracts,” *Afyon Kocatepe Univ. J. Sci. Eng.*, vol. 16, no. 3, pp. 631–641, 2016, doi: 10.5578/fmbd.34220.
- [21] Y. Türkan, “Nanoteknoloji Yatırımları ve Yatırım Modelleri,” *Bingöl Üniversitesi Sos. Bilim. Enstitüsü Derg.*, vol. 5, no. 10, pp. 79–116, 2015.
- [22] S. Mohan Bhagyaraj and O. S. Oluwafemi, “Nanotechnology: The Science of the Invisible,” in *Synthesis of Inorganic Nanomaterials: Advances and Key Technologies*, S. M. Bhagyaraj, O. S. Oluwafemi, N. Kalarikkal, and S. Thomas, Eds. Elsevier, 2018, pp. 1–18.
- [23] A. Saharan, P. Mittal, K. Wilson, and I. Verma, “Introduction and Basics of Nanotechnology,” in *Nanotechnology*, 1, Ed. Jenny Stanford Publishing, 2021, pp. 1–40.
- [24] I. Khan, K. Saeed, and I. Khan, “Nanoparticles: Properties, applications and toxicities,” *Arab. J. Chem.*, vol. 12, no. 7, pp. 908–931, 2019, doi: 10.1016/j.arabjc.2017.05.011.
- [25] N. C. Yeh, “Nanotechnology for electronics & photonics,” *Technovation*, vol. 33, no. 4–5, p. 108, 2013, doi: 10.1016/j.technovation.2013.03.008.
- [26] S. Kargozar and M. Mozafari, “Nanotechnology and Nanomedicine: Start small, think big,” *Mater. Today Proc.*, vol. 5, no. 7, pp. 15492–15500, 2018, doi: 10.1016/j.matpr.2018.04.155.
- [27] E. Saka and G. T. Gülel, “Gıda Endüstrisinde Nanoteknoloji Uygulamaları,” *Etlik Vet. Mikrobiyoloji Derg.*, vol. 26, no. 2, pp. 52–57, 2015, doi: 10.35864/evmd.513387.
- [28] Ö. Tarhan *et al.*, “Nanoteknolojinin Gıda Bilim ve Teknolojisi Alanındaki Uygulamaları,” *GIDA*, vol. 35, no. 3, pp. 219–225, 2010.

- [29] Ş. Celep and E. Koç, “Nanoteknoloji ve Tekstilde Uygulama Alanları,” *Ç.Ü. Fen Bilim. Enstitüsü*, vol. 17, no. 7, pp. 43–52, 2008.
- [30] Y. Li and G. A. Somorjai, “Nanoscale advances in catalysis and energy applications,” *Nano Lett.*, vol. 10, no. 7, pp. 2289–2295, Jul. 2010, doi: 10.1021/nl101807g.
- [31] C. Han *et al.*, “Chapter green nanotechnology: Development of nanomaterials for environmental and energy applications,” *ACS Symp. Ser.*, vol. 1124, pp. 201–229, 2013, doi: 10.1021/bk-2013-1124.ch012.
- [32] F. Pacheco-Torgal and S. Jalali, “Nanotechnology: Advantages and drawbacks in the field of construction and building materials,” *Construction and Building Materials*, vol. 25, no. 2. Elsevier, pp. 582–590, Feb. 01, 2011, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2010.07.009.
- [33] S. Menon, R. S., and V. K. S., “A review on biogenic synthesis of gold nanoparticles, characterization, and its applications,” *Resour. Technol.*, vol. 3, no. 4, pp. 516–527, 2017, doi: 10.1016/j.refit.2017.08.002.
- [34] K. Tiede, A. B. A. Boxall, S. P. Tear, J. Lewis, H. David, and M. Hassellöv, “Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment,” *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.*, vol. 25, no. 7, pp. 795–821, 2008, doi: 10.1080/02652030802007553.
- [35] S. Hasan, “A Review on Nanoparticles : Their Synthesis and Types,” *Res. J. Recent Sci.*, vol. 4 (ISC-201, no. February, pp. 1–3, 2015.
- [36] A. M. Ealias and M. P. Saravanakumar, “A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application,” *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 263, no. 3, 2017, doi: 10.1088/1757-899X/263/3/032019.
- [37] V. V. Pokropivny and V. V. Skorokhod, “Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 27, no. 5-8 SPEC. ISS., pp. 990–993, 2007, doi: 10.1016/j.msec.2006.09.023.



- [38] P. N. Sudha, K. Sangeetha, K. Vijayalakshmi, and A. Barhoum, "Nanomaterials history, classification, unique properties, production and market," in *Emerging Applications of Nanoparticles and Architecture Nanostructures*, Elsevier, 2018, pp. 341–384.
- [39] T. A. Saleh, "Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities," *Environ. Technol. Innov.*, vol. 20, no. 101067, p. 16, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.eti.2020.101067.
- [40] S. Goedicke, N. Laryea, and S. Sepeur, *Nanotechnology: Technical Basics and Applications*. Hannover Germany: Vincentz Network, 2008.
- [41] M. A. Meyers, A. Mishra, and D. J. Benson, "Mechanical properties of nanocrystalline materials," *Prog. Mater. Sci.*, vol. 51, no. 4, pp. 427–556, May 2006, doi: 10.1016/j.pmatsci.2005.08.003.
- [42] P. G. Jamkhande, N. W. Ghule, A. H. Bamer, and M. G. Kalaskar, "Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications," *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 53, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.jddst.2019.101174.
- [43] K. N. Thakkar, S. S. Mhatre, and R. Y. Parikh, "Biological synthesis of metallic nanoparticles," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 6, no. 2, pp. 257–262, Apr. 2010, doi: 10.1016/j.nano.2009.07.002.
- [44] S. Iravani, H. Korbekandi, S. V. Mirmohammadi, and B. Zolfaghari, "Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods.," *Res. Pharm. Sci.*, vol. 9, no. 6, pp. 385–406, Dec. 2014, Accessed: Aug. 07, 2021. [Online]. Available: /pmc/articles/PMC4326978/.
- [45] K. B. Narayanan and N. Sakthivel, "Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes," 2010, doi: 10.1016/j.cis.2010.02.001.
- [46] K. Vijayaraghavan and T. Ashokkumar, "Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications," *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 5, no. 5, pp. 4866–4883,

Oct. 2017, doi: 10.1016/j.jece.2017.09.026.

- [47] J. K. Patra and K.-H. Baek, “Green Nanobiotechnology: Factors Affecting Synthesis and Characterization Techniques,” *J. Nanomater.*, vol. 2014, pp. 1–12, 2014, doi: 10.1155/2014/417305.
- [48] K. Parveen, V. Banse, and L. Ledwani, “Green synthesis of nanoparticles: Their advantages and disadvantages,” in *AIP Conference Proceedings*, 2016, vol. 1724, doi: 10.1063/1.4945168.
- [49] F. Duman, I. Ocsoy, and F. O. Kup, “Chamomile flower extract-directed CuO nanoparticle formation for its antioxidant and DNA cleavage properties,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 60, pp. 333–338, 2016, doi: 10.1016/j.msec.2015.11.052.
- [50] J. Singh, T. Dutta, K. H. Kim, M. Rawat, P. Samddar, and P. Kumar, “‘Green’ synthesis of metals and their oxide nanoparticles: Applications for environmental remediation,” *J. Nanobiotechnology*, vol. 16, no. 1, pp. 1–24, 2018, doi: 10.1186/s12951-018-0408-4.
- [51] A. Nikam, T. Paga, S. Ghotekar, K. Pagar, and S. Pansambal, “A Review on Plant Extract Mediated Green Synthesis of Zirconia Nanoparticles and Their Miscellaneous Applications,” *J. Chem. Rev.*, vol. 1, no. 3, pp. 154–163, Jul. 2019, doi: 10.33945/SAMI/JCR.2019.3.1.
- [52] S. W. Lee, S. A. Cheon, M. Il Kim, and T. J. Park, “Organic–inorganic hybrid nanoflowers: types, characteristics, and future prospects,” *J. Nanobiotechnology*, vol. 13, no. 1, p. 54, Dec. 2015, doi: 10.1186/s12951-015-0118-0.
- [53] B. Kharisov, “A Review for Synthesis of Nanoflowers,” *Recent Pat. Nanotechnol.*, vol. 2, no. 3, pp. 190–200, 2008, doi: 10.2174/187221008786369651.
- [54] M. Zhang, Y. Zhang, C. Yang, C. Ma, and J. Tang, “Enzyme-inorganic hybrid nanoflowers: Classification, synthesis, functionalization and potential applications,” *Chem. Eng. J.*, vol. 415, no. December 2020, p. 129075, 2021, doi: 10.1016/j.cej.2021.129075.

- [55] C. Bastos *et al.*, “Chemical characterisation and bioactive properties of *Prunus avium* L.: The widely studied fruits and the unexplored stems,” *Food Chem.*, vol. 173, pp. 1045–1053, 2015, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.10.145.
- [56] İnternet: Türkiye İstatistik Kurumu, “2020 Bitkisel Üretim İstatistikleri.” <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2020-33737> (accessed Aug. 17, 2021).
- [57] M. Babotă *et al.*, “Chemical Composition, Diuretic, and Antityrosinase Activity of Traditionally Used Romanian *Cerasorum stipites*,” *Front. Pharmacol.*, vol. 12, no. May, pp. 1–11, 2021, doi: 10.3389/fphar.2021.647947.
- [58] T. Demir, Ö. Akpınar, H. Kara, and H. Güngör, “Cherry stem phenolic compounds: Optimization of extraction conditions and in vitro evaluations of antioxidant, antimicrobial, antidiabetic, anti-inflammatory, and cytotoxic activities,” *J. Food Process. Preserv.*, vol. 44, no. 10, pp. 1–14, 2020, doi: 10.1111/jfpp.14804.
- [59] M. Umadevi and A. Jegatha Christy, “Synthesis, characterization and photocatalytic activity of CuO nanoflowers,” *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 109, pp. 133–137, May 2013, doi: 10.1016/j.saa.2013.02.028.
- [60] F. D. Koca, “Preparation of thymol incorporated organic-inorganic hybrid nanoflowers as a novel fenton agent with intrinsic catalytic and antimicrobial activities,” *Inorg. Nano-Metal Chem.*, vol. 0, no. 0, pp. 1–6, 2021, doi: 10.1080/24701556.2021.1980024.
- [61] R. Vinayagam, R. Selvaraj, P. Arivalagan, and T. Varadavenkatesan, “Synthesis, characterization and photocatalytic dye degradation capability of *Calliandra haematocephala*-mediated zinc oxide nanoflowers,” *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 203, p. 111760, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111760.
- [62] D. Vaidehi, V. Bhuvaneshwari, D. Bharathi, and B. P. Sheetal, “Antibacterial and photocatalytic activity of copper oxide nanoparticles synthesized using *Solanum lycopersicum* leaf extract,” *Mater. Res. Express*, vol. 5, no. 8, Jul. 2018, doi:

10.1088/2053-1591/AAD426.

- [63] S. Shahid, U. Fatima, M. Z. Rasheed, M. N. Asghar, S. Zaman, and M. N. Sarwar, “Enhanced sunlight-driven photocatalytic performance of Ag–ZnO hybrid nanoflowers,” *Appl. Nanosci.*, vol. 10, no. 1, pp. 187–197, Jan. 2020, doi: 10.1007/s13204-019-01076-4.
- [64] A. Demirbas, “Comparison Study of Synthesized Red (or Blood) Orange Peels and Juice Extract-Nanoflowers and Their Antimicrobial Properties on Fish Pathogen (*Yersinia ruckeri*),” *Indian J. Microbiol.*, vol. 61, no. 3, pp. 324–330, 2021, doi: 10.1007/s12088-021-00945-3.
- [65] F. D. Koca, D. Demirezen Yilmaz, N. Ertas Onmaz, E. Yilmaz, and I. Ocsoy, “Green synthesis of allicin based hybrid nanoflowers with evaluation of their catalytic and antimicrobial activities,” *Biotechnol. Lett.*, vol. 42, no. 9, pp. 1683–1690, 2020, doi: 10.1007/s10529-020-02877-2.
- [66] A. P. Ingle and M. Rai, “Copper nanoflowers as effective antifungal agents for plant pathogenic fungi,” *IET Nanobiotechnology*, vol. 11, no. 5, pp. 546–551, 2017, doi: 10.1049/iet-nbt.2016.0170.
- [67] H. Gu, X. Chen, F. Chen, X. Zhou, and Z. Parsaee, “Ultrasound-assisted biosynthesis of CuO-NPs using brown alga *Cystoseira trinodis*: Characterization, photocatalytic AOP, DPPH scavenging and antibacterial investigations,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 41, no. September 2017, pp. 109–119, 2018, doi: 10.1016/j.ultsonch.2017.09.006.
- [68] A. H. Al Sharie *et al.*, “Green synthesis of zinc oxide nanoflowers using *Hypericum triquetrifolium* extract: characterization, antibacterial activity and cytotoxicity against lung cancer A549 cells,” *Appl. Organomet. Chem.*, vol. 34, no. 8, pp. 1–13, 2020, doi: 10.1002/aoc.5667.
- [69] M. Hasan *et al.*, “Bioinspired synthesis of zinc oxide nano-flowers: A surface enhanced antibacterial and harvesting efficiency,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 119, no. June 2020, p. 111280, 2021, doi: 10.1016/j.msec.2020.111280.

- [70] A. Muthuvel, M. Jothibas, and C. Manoharan, "Synthesis of copper oxide nanoparticles by chemical and biogenic methods: photocatalytic degradation and in vitro antioxidant activity," *Nanotechnol. Environ. Eng.*, vol. 5, no. 2, pp. 1–19, 2020, doi: 10.1007/s41204-020-00078-w.
- [71] K. Velsankar, R. M. A. Kumar, R. Preethi, V. Muthulakshmi, and S. Sudhahar, "Journal of Environmental Chemical Engineering Green synthesis of CuO nanoparticles via *Allium sativum* extract and its characterizations on antimicrobial , antioxidant , antilarvicidal activities," *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 8, no. 5, p. 104123, 2020, doi: 10.1016/j.jece.2020.104123.
- [72] F. Ijaz, S. Shahid, S. A. Khan, and W. Ahmad, "Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Abutilon indicum* leaf extract : Antimicrobial , antioxidant and photocatalytic dye degradation activities," vol. 16, no. April, pp. 743–753, 2017.
- [73] R. Dobrucka, "Antioxidant and Catalytic Activity of Biosynthesized CuO Nanoparticles Using Extract of *Galeopsis herba*," *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, vol. 28, no. 3, pp. 812–819, 2018, doi: 10.1007/s10904-017-0750-2.
- [74] H. Shabestarian *et al.*, "Green synthesis of gold nanoparticles using sumac aqueous extract and their antioxidant activity," *Mater. Res.*, vol. 20, no. 1, pp. 264–270, 2017, doi: 10.1590/1980-5373-MR-2015-0694.
- [75] A. Baldemir *et al.*, "Synthesis and characterization of green tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) extract and its major components-based nanoflowers: A new strategy to enhance antimicrobial activity," *RSC Adv.*, vol. 7, no. 70, pp. 44303–44308, 2017, doi: 10.1039/c7ra07618e.
- [76] M. Hao, G. Fan, Y. Zhang, Y. Xin, and L. Zhang, "International Journal of Biological Macromolecules Preparation and characterization of copper-Brevibacterium cholesterol oxidase hybrid nano fl owers," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 126, pp. 539–548, 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.237.
- [77] A. T. Jameel and A. Z. Yaser, *Advances in Nanotechnology and Its Applications*. 2020.

- [78] S. M. Sreedharan, S. P. Singh, and R. Singh, “Flower Shaped Gold Nanoparticles: Biogenic Synthesis Strategies and Characterization,” *Indian J. Microbiol.*, vol. 59, no. 3, pp. 321–327, 2019, doi: 10.1007/s12088-019-00804-2.
- [79] D. O. B. Apriandanu and Y. Yulizar, “Tinospora crispa leaves extract for the simple preparation method of CuO nanoparticles and its characterization,” *Nano-Structures and Nano-Objects*, vol. 20, p. 100401, 2019, doi: 10.1016/j.nanoso.2019.100401.
- [80] F. D. Koca, D. Demirezen Yilmaz, N. Ertas Onmaz, and I. Ocsoy, “Peroxidase-like activity and antimicrobial properties of curcumin-inorganic hybrid nanostructure,” *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 27, no. 10, pp. 2574–2579, 2020, doi: 10.1016/j.sjbs.2020.05.025.
- [81] C. Altinkaynak, N. Ildız, A. Baldemir, N. Özdemir, V. Yılmaz, and İ. Öçsoy, “Organik-inorganik hibrit nano çiçeklerin çemen (*Trigonella foenum-graecum* L.) tohum ekstresi kullanılarak sentezi ve anti-mikrobiyal özelliklerinin araştırılması,” *Derim*, vol. 36, no. 2, pp. 156–167, Dec. 2019, doi: 10.16882/derim.2019.549151.
- [82] D. Wang *et al.*, “Green synthesis of gold and silver nanoparticles using aqueous extract of *Cibotium barometz* root,” *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.*, vol. 45, no. 8, pp. 1548–1555, 2017, doi: 10.1080/21691401.2016.1260580.
- [83] C. and L. S. Institute., *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; CLSI document M100-S23.*, no. January. 2013.
- [84] R. Krishnan, V. Arumugam, and S. K. Vasaviah, “The MIC and MBC of Silver Nanoparticles against *Enterococcus faecalis* - A Facultative Anaerobe,” *J. Nanomed. Nanotechnol.*, vol. 06, no. 03, 2015, doi: 10.4172/2157-7439.1000285.
- [85] C. Altinkaynak *et al.*, “A hierarchical assembly of flower-like hybrid Turkish black radish peroxidase-Cu<sup>2+</sup> nanobiocatalyst and its effective use in dye decolorization,” *Chemosphere*, vol. 182, pp. 122–128, 2017, doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.05.012.

- [86] C. Altinkaynak, I. Yilmaz, Z. Koksall, H. Özdemir, I. Ocsoy, and N. Özdemir, "Preparation of lactoperoxidase incorporated hybrid nanoflower and its excellent activity and stability," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 84, pp. 402–409, 2016, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.12.018.
- [87] Y. Li *et al.*, "The influence of synthesis conditions on enzymatic activity of enzyme-inorganic hybrid nanoflowers," *J. Mol. Catal. B Enzym.*, vol. 133, pp. 92–97, 2016, doi: 10.1016/j.molcatb.2016.08.001.
- [88] B. S. Yılmaz, S. Dayan, C. Altinkaynak, N. K. Özpozan, and N. Özdemir, "Thermal Behaviours of Flower Shape BSA @ Cu ( II ) Hybrid Nanostructures," *Celal Bayar Univ. J. Sci.*, vol. 17, no. 1, pp. 1–9, 2021, doi: 10.18466/cbayarfbe.811643.
- [89] N. Ildiz, A. Baldemir, C. Altinkaynak, N. Özdemir, V. Yilmaz, and I. Ocsoy, "Self assembled snowball-like hybrid nanostructures comprising Viburnum opulus L. extract and metal ions for antimicrobial and catalytic applications," *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 102, no. November 2016, pp. 60–66, 2017, doi: 10.1016/j.enzmictec.2017.04.003.
- [90] M. Wegener, M. J. Hansen, A. J. M. Driessen, W. Szymanski, and B. L. Feringa, "Photocontrol of Antibacterial Activity: Shifting from UV to Red Light Activation," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 139, no. 49, pp. 17979–17986, 2017, doi: 10.1021/jacs.7b09281.
- [91] A. Rana, K. Yadav, and S. Jagadevan, "A comprehensive review on green synthesis of nature-inspired metal nanoparticles: Mechanism, application and toxicity," *J. Clean. Prod.*, vol. 272, p. 122880, 2020, doi: 10.1016/j.jclepro.2020.122880.