

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

**MISIR PÜSKÜLÜ ÖZÜTÜ İLE ÇİÇEK ŞEKİLLİ HİBRİT
BAKIR (CU) NANOYAPILARIN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE BİYOUYGULAMALARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Tezi Hazırlayan
Ramazan BAKAR

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Musa KAR

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

2023
NEVŞEHİR



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

**MISIR PÜSKÜLÜ ÖZÜTÜ İLE ÇİÇEK ŞEKİLLİ HİBRİT
BAKIR (CU) NANOYAPILARIN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE BİYOUYGULAMALARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Tezi Hazırlayan
Ramazan BAKAR

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Musa KAR

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

2023
NEVŞEHİR

Doç. Dr. Musa KAR danışmanlığında Ramazan BAKAR tarafından hazırlanan ‘‘**Mısır Püskülü Özütü İle Çiçek Şekli Hibrit Bakır (Cu) Nanoyapıların Sentezi, Karakterizasyonu Ve Biyoygulamalarının Değerlendirilmesi**’’ başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Metalurji-Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

15/08/2023

JÜRİ

Başkan : Doç.Dr. Fatih Doğan KOCA

Üye : Dr.Öğrt.Üye Enver Ersoy ANDEDEN

Üye :Doç.Dr. Musa KAR

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun.....tarih ve..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.../.../20..

Doç.Dr. Cemal ÇARBOĞA

Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİM SAYFASI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada yer alan bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu ve bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ramazan BAKAR



TEŐEKKÜR

Yüksek öğretim hayatım boyunca desteğini abiliğini sürekli hissettiren, çalışma ahlakıyla bize örnek olan çok değerli hocam Doç. Dr. Musa Kar'a araştırma süreci boyunca bilgisini, desteğini ve zamanını benden esirgemediği için sonsuz teőekkürlerimi sunuyorum.

Yaptığım her iőte, çıktığım her yolda bana güvenen ve bu günlere gelmemde her türlü desteği ve fedakârlığı gösteren hayattaki en kıymetli varlığım aileme yanımda oldukları için sonsuz teőekkür ediyorum.

Tüm çalıőmalarımda desteklerini esirgemeyen bana güvenen iő tecrübemi kazanmam ve ilerletmem konusunda sürekli destek aldığım değerli hocalarıma ve Özkaya Sağlık Grubu'na teőekkürü bir borç bilirim.

Tüm eğitim hayatım boyunca bana kattıkları ve desteklerini esirgemedikleri için tüm öğretmenlerime teőekkür ederim.

MISIR PÜSKÜLÜ ÖZÜTÜ İLE ÇİÇEK ŞEKİLLİ HİBRİT BAKIR (CU) NANOYAPILARIN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYUYGULAMALARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Ramazan BAKAR

Ağustos 2023

ÖZET

Bu çalışmada etanol (CS_{Eth}) ve su (CS_{su}) kullanılarak elde edilen mısır püskülü ekstraktları hibrit bakır nano çiçek (Cu-hNÇ) yapılarının yeşil sentezinde ilk kez kullanılmıştır. Ayrıca Cu-hNÇ sentez başarısı ve morfolojisi üzerine ekstraksiyon miktarının ve ortam pH'sının etkisi de araştırılmıştır. Elde edilen Cu-hNÇ'lerin morfolojileri Field Emission Taramalı Elektron Mikroskobu (FE-SEM) görüntüleri ile değerlendirilmiştir. Cu-hNÇ sentezinde aktif rol oynayan mısır püskülü özütlerinde bulunan fonksiyonel gruplar ve Cu-hNÇ'lerin elemental iskeleti sırası ile Fourier Transform INfrared Spectroscopy (FT-IR) ve energy dispersive x-ray spectroscopy (EDX) teknikleri ile incelenmiştir. Aynı zamanda farklı morfolojilerde elde edilen Cu-hNÇ yapılarının peroksidaz benzer aktivitesi, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi de araştırılmıştır. Sonuç olarak, CS_{su} özütü ile pH 5 ortamında Cu-hNÇ yapısı elde edilemezken, CS_{Eth} özütü ile çalışılan bütün pH'larda Cu-hNÇ yapıları elde edilmiştir. Öte yandan, CS_{su} kullanılarak elde edilen Cu-hNÇ yapıları petalleri çalışılan bütün pH ve ekstraksiyon miktarlarında oldukça sıkı bir şekilde bir araya gelmiş, daha çok nanokartopu benzeri adı verilen şekli oluşturmuştur. CS_{Eth} özütü ile sentezlenen Cu-hNÇ yapılarında ise, düşük pH sentezi koşullarında petallerin daha seyrek ve gevşek dizilimi ile çiçek yapısına daha çok benzediği, artan pH ve özüt miktarlarına bağlı olarak petallerin daha sıkışık bir dizilim gösterdiği görülmüştür. Bunun yanında CS_{su} ve CS_{Eth} özütleri ile sentezlenen farklı morfolojilere sahip Cu-hNÇ'lerin antioksidan, peroksidaz, antimikrobiyal aktivitelerine etkileri incelenmiş morfoloji ve aktivite arasında ilişki değerlendirilmiştir. CS_{su} özütü kullanılarak sentezlenen Cu-hNÇ yapılarının antioksidan ve peroksidaz benzeri aktivitesinin, CS_{Eth} özütü kullanılarak sentezlenen Cu-hNÇ ye kıyasla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Antimikrobiyal aktiviteleri incelendiğinde gram pozitif ve gram negatif bakteri üzerindeki MIC konsantrasyonlarının sentez sırasında kullanılan özüt çeşidine bağlı olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışma ile Cu-hNÇ sentezi ve morfolojiler üzerinde ekstraktın elde edildiği çözücü tipi, reaksiyon için

kullanılan ekstraksiyon miktarı ve pH koşullarının doğrudan etkili olduğu gözlemlenmiştir. Buna bağlı olarak elde edilen farklı morfolojik yapıdaki Cu-hNÇ biyolojik aktivitelerinin farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışma ile NÇ'lerin kullanım amacına uygun olarak çalışılan parametreler (çözücü tipi, ekstraksiyon miktarı, pH) ile kontrollü sentezlenebileceği kanaatine varılmıştır.

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

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Musa KAR

Sayfa Adeti: 51



**EVALUATION OF THE SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND
BIOAPPLICATIONS OF FLORAL SHAPED HYBRID COPPER (CU)
NANOSTRUCTURES WITH CORN FRINGE EXTRACT**

(M. Sc. Thesis)

Ramazan BAKAR

NEVSEHIR HACI BEKTAS VELI UNIVERSITY

APPLIED NANOSCIENCE

August 2023

ABSTRACT

Corn silk extracts synthesized with ethanol (CS_{eth}) and water (CS_{WTR}) media were used for the first time in the green synthesis of hybrid copper nanoflower (Cu-hNÇ) structures. Moreover, the effects of extraction volume as an organic compound and different pH values on Cu-hNÇ synthesis performance and morphology were investigated. The morphologies of Cu-hNÇs were evaluated using field emission scanning electron microscopy images (FE-SEM). Functional groups in corn silk extracts that play active role in Cu-hNÇ synthesis, as well as the elemental skeleton and crystallinity of Cu-hNÇs, were investigated by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and energy dispersion X-ray spectroscopy (EDX) and X-ray diffraction (XRD) analyses respectively. As a result, it was found that corn silk extracts are suitable organic compound for the synthesis of Cu-hNÇ structures and that the pH and the amount of extract are crucial for the success of Cu-hNÇ synthesis. In addition, different volumes of extract and different pH values resulted in a different arrangement of petals in the nanoflower structure and thus a change in the overall morphological structure of Cu-hNÇ. The effects of Cu-hNÇs with different morphologies on antioxidant, peroxidase, and antimicrobial activities were investigated and the relationship between morphology and activity was evaluated. The antioxidant and peroxidase-like activities of Cu-hNÇ structures synthesized with CS_{WTR} extract

were higher than Cu-hNÇ synthesized using CSeth extract. In terms of antimicrobial activity, it was found that MIC concentrations for Gram-positive and Gram-negative bacteria were different depending on the type of extract for the synthesis. Accordingly, it has been determined that the biological activities of the synthesized Cu-hNÇ structures may vary depending on the differences in morphology. It has been concluded that; Cu-hNÇ can be synthesized in a controlled manner with the parameters studied (type of solvent, volume of extract, pH) for the intended use.

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

Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Musa KAR

Page Number: 74

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	xi
1.BÖLÜM	1
GİRİŞ	1
2. BÖLÜM	4
GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Nanoteknoloji	4
2.2 Nanoteknoloji Uygulama Alanları	5
2.3 Nanopartikül.....	6
2.3.1 NP'lerin Sınıflandırılması	7
2.4 NP Sentez Yöntemleri.....	7
2.4.1 Kimyasal Sentez	9
2.4.2 NP Biyosentezi (Green synthesis).....	9
2.4.3 NP'lerin Bitkiler Kullanılarak Yeşil Sentezlenmesi	11
2.5 Bitki Ekstraktları ile NP Sentezini Etkileyen Faktörler	13
2.6 Nano Çiçek(NÇ).....	14
2.6.1 NÇ'lerin Avantajları.....	14
2.6.2 NÇ'lerin Dezavantajları	14
2.7 Biyolojik Sentez Sonrası Np'lerin Karakterizasyonu	15
2.7.1 Sentezlenmiş NP'lerin X-ışını Kırınımı (XRD)	15

2.7.2 Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM)	15
2.7.3 Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)	15
2.7.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR).....	16
2.7.5 Dinamik Işık Saçılması (DLS) ve Zeta Potansiyeli	16
2.8 <i>Zea Mays</i> (Mısır) Bitkisi	16
2.9 Literatür Araştırması.....	17
3.BÖLÜM	21
MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	21
3.1. Mısır Püskülünün Temin Edilmesi.....	21
3.2. Mısır Püskülü Özütünün Elde Edilmesi	21
3.3. PBS (Phosphate Buffered Saline-Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi) Hazırlama.....	21
3.4. Cu-HNÇ Yapılarının Sentezi ve Karakterizasyonu	22
3.5. Cu-HNÇ Yapılarının Katalitik Aktivitelerinin Tespiti.....	22
3.6. Cu-HNÇ Yapılarının Antioksidan Aktivitelerinin Tespiti	23
3.7. Cu Hibrit Nanoçiçeklerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Tespiti	23
4. BÖLÜM	24
BULGULAR Ve TARTIŞMA	24
4.1. Cu-hNÇ Sem Morfolojileri Ve Karakterizasyonları	24
4.2. FTIR	26
4.3. EDX and XRD	28
4.4. Cu-HNÇ Yapılarının Katalitik Aktiviteleri.....	30

4.5. Antioksidan Aktivite	31
4.6. Antimikrobiyal Aktivite	32
5. Bölüm	34
Sonuç Ve Öneriler	34
KAYNAKÇA	35



TABLULAR LİSTESİ

Tablo 3.1. 1 litre 1X PBS çözelti içeriği	22
Tablo 4.1. Seçilen 3 Cu-hNÇ'nin Antioksidan aktivitesi	32

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Nanoboyutun Karşılaştırılması	4
Şekil 2.2. NP'lerin Sınıflandırılması	6
Şekil 2.3. Np Sentez Yöntemleri	8
Şekil 2.4. Biyolojik Yöntemler ile NP Sentez Mekanizması	10
Şekil 2.5. Biyolojik Örnekler ile Np Sentez Deney Prosedürü	12
Şekil 2.6. Yeşil Sentez Yöntemi ile Np Sentez ve Karakterizasyonunun Aşamaları	12
Şekil 2.7. Np Sentezini Etkileyen Faktörler	13
Şekil 4. 1. Su Ekstraksiyonunda Farklı PH'lar ile Elde Edilen Nanoçiçek Yapıları.....	25
Şekil 4. 2. Su Ortamında Cu-HNÇ'lerinin FTIR Analizi (PH:7.4)	27
Şekil 4. 3. Su Ortamında Cu-HNÇ'lerinin FTIR Analizi (PH:9).....	27
Şekil 4. 4. Alkol Ortamında Cu-HNÇ'lerinin FTIR Analizi (PH:7.4).....	28
Şekil 4. 5. Seçilen Cu-HNÇ'lerinin EDX Analizi	29
Şekil 4.6. Seçilen Cu-HNÇ'lerinin XRD Analizi	29
Şekil 4. 7. Seçilen Cu-HNÇ'lerinin Katalitik Analizi.....	30
Şekil 4. 8. Seçilen Cu-HNÇ'lerinin Antioksidan Analizi.....	30

SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

nm: Nanometre

HNÇ: Hibrit nanoçiçek

MRI: Manyetik Rezonans Görüntüme

QD: Kuantum nokta

PBS: Fosfat Tamponlu Salin

μm : 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

μg : Mikrogram

xv IC50: %50 inhibitör konstantrasyonu

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

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

Au: Altın

μM : 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

H_2O_2 : Hidrojen peroksit

1.BÖLÜM

GİRİŞ

Hızla gelişmekte olan teknoloji ile beraber malzemelerinde günümüz şartlarına uyum sağlaması gerekmektedir. Bu doğrultuda yüksek verimli, daha küçük boyuttaki malzemelerin geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu yüksek verimli ve küçük boyuttaki malzemelerin geliştirilmesi ve daha üstün özellikler kazanmasıyla ilgilenen bilim dalı Nanoteknoloji olarak adlandırılır. Nanoteknoloji genel anlamda 1-100 nm arasında ki büyüklüğe sahip Nanoboyuttaki yapılar ile ilgilenmektedir.[1] ‘‘Nano’’ sözcüğü anlamı olarak Yunancada bulunan ‘‘nanos’’ sözcüğünden türetilmiştir.. Nanoteknoloji, nano malzemelerin eşsiz özelliklerini ortaya çıkararak bu özellikler ışığında malzemelerin temel bazı özelliklerinin değiştirilmesini sağlamıştır.[2] Nanoboyuttaki malzemelerin tıp, biyoloji, kimya, eczacılık, çevre bilimi, malzeme bilimi ve birçok disiplinde giderek yaygınlaşan kullanımı tüm teknolojik alanlarda gelişim-değişim ikilisine bağlı olarak, nanoboyutlu malzemeler de gelişmeye ve değişmeye devam etmektedir. Genellikle kullanılan nano malzemeler içerisinde Nanopartiküller, karbon nanotüpler, lipid nanotüpler, nanokompozitler ve nanokristaller sayılabilmektedir.

Np farklı kuruluşlar tarafından (ISO-ASTM-BSI vb.) farklı tanımlar yapılsa da genel olarak en az 1 tarafı 1-100 nm boyutundaki malzemelere nanopartikül ismi verilmektedir. Nanopartiküller günümüz teknolojisinin gelişmesiyle hızla bu gelişime katkı sağlayarak farklı şekiller ve daha yüksek yüzey alanı/hacim oranları ile düşük hacimde yüksek verim sağlamaktadır. Nanoyapılı maddelerin fiziksel özelliklerini ve en elverişli uygulamalarını keşfetmek için, bu malzemelerin istenilen boyut, morfoloji, kristal yapı ve kimyasal bileşim ile kullanıma en uygun formun kazandırılması gerekmektedir. Nanopartiküller farklı sentez metotları ile oluşturulabilirken, sentez yollarının bazıları yüksek toksik etkiye sebebiyet verebilmektedir. Genel olarak 2 farklı sentez yolunu göz önünde bulundurursak NP’lerin sentezi için:

1. Top Down (boyut küçültme) yöntemleri ve
2. Bottom Up (küçük yapılardan oluşturma) yöntemleri olarak iki gruba ayrılır.

Top down yönteminde genellikle fiziksel olarak boyut küçültme işlemi sağlanırken, bottom up yöntemlerinde kimyasallar kullanılarak atomların bir araya getirilmesi metoduna dayanan bir sentez söz konusudur.[3] Yani fiziksel ve kimyasal olarak sentez yöntemleri ikiye ayrılır.

Bu yöntemlerin meydana getirebileceği yüksek toksik etki ve maliyet göz önünde bulundurulduğunda fizikokimyasal yöntemlerden, daha az toksik ve daha az maliyetli yeni bir yöntem olan ve biyoteknoloji ile nanoteknolojiyi birleştiren biyolojik tabanlı sentezlerin popülaritesi giderek artmaktadır. Yeşil sentez olarak da bilinen ve bitki özütleri ile iyon haldeki metalleri birleştiren yöntemle hibrit nano çiçekler sentezlenir.

Yeşil Sentez yöntemi ile çevresel etkiyi azaltmasının yanın sıra kontaminasyonlardan bağımsız, büyüklük ve morfoloji olarak iyi tanımlanmış miktar olarak da yüksek NP üretimini de mümkün kılmaktadır.[3] Son yıllar da yeşil sentezin öneminin artmasının en başında toksik olmayışı, tek seferde yüksek miktarda ürün çıkarabilmesi ve çevre dostu özelliklerinin yanı sıra daha kaliteli ve yüksek stabilite de nihai ürüne ulaşmamızı sağlar. Tüm bu nedenlerin yanında sürekli gelişmeye açık olmasından dolayı da yeni bir yöntem olmasına karşılık azımsanmayacak çalışmalar yapılmıştır.

Nanoçiçek kavramı sentez sonucunda oluşan yapıların bitki çiçeklerine benzeyen gelişmiş nanopartikül türleridir. Nanoçiçek yapılarının sentezinde başlıca iki kısım varlığından bahsedilebilir;

1. Organik kısım ve
2. İnorganik kısım

Organik kısım olarak biyomoleküller, protein, bitki ekstraktları vb. sentetik olmayan ürünler kullanılırken inorganik kısım olarak ise metal iyonlarının kullanımıyla meydana getirilen nanoyapılar ‘‘Hibrit Nano Çiçek’’(HNÇ) olarak adlandırılır. Hibrit nanoçiçeklerin sentezinde iki değerlikli metal elementler sıklıkla kullanılır. [4]

Bakır, doğada doğrudan kullanılabilir metalik formda -doğal metal- bulunabilen birkaç metalden biridir. M.Ö. 8000'lere dayanan kullanımıyla M.Ö. 3500 yılında bronz yapmak için başka bir metal ile (kalay) birleştirilen ilk metaldir.[5] Aynı zamanda bakır, uygun özellikleri nedeni ile bu alandaki ana iletken malzemesi olmuştur. Bakır, iletkenlik katsayısı, işlenebilme ve mekanik özellikleri değerlendirildiğinde kullanımın uygun olan bir metaldir. Gümüşten sonra en iyi iletken metal bakırdır. Cu nanoparçacıkları son derece kararlıdır.[6] Güncel

çalışmalar ile beraber CuNp'ler, diğer soy metaller ile karşılaştırıldığında yüksek yüzey/hacim oranı ve düşük deney hazırlık maliyetinden kaynaklanan harika bir katalitik verime ve antimikrobiyal aktiviteleri sebebiyle bilim dünyasının dikkatini çekmiştir.[7] CuNp'lerin antimikrobiyal aktivitesinin, nanopartiküllerden salınan iyonlarla bağlantılı olduğu bilinmektedir. Bu antimikrobiyal aktivite, küçük boyutlu olması ve yüksek yüzey hacim alanına sahip olmasından dolayı, mikrobiyal membranlarla yakın etkileşime girmesiyle daha da artmaktadır.[8] Bakır element olarak nanopartikül sentezinde bir çok çalışmada kullanılmaktadır.

Mısır(*Zea mays*) genellikle ılıman nemli iklimlerde yetişen bir tahıl türüdür. Tanesindeki ham yağ oranı ile yulaftan sonra en yüksek değere sahip besin maddesidir. 17 yy. Suriye üzerinden Mısır'dan İstanbul'a "Mısır buğdayı" ya da "Mısır darısı" olarak gönderilmiştir. Zaman içinde de mısır olarak isimlendirilmeye başlanmıştır.[9] Mısırın halk arasında farklı tedavi ve iyileştirici amaçlarla kullanıldığı durumlar oldukça fazladır. Özellikle mısırın püskül kısmından sindirim sistemine ait organlarda meydana gelen iltihaplanmalara karşı mısır püskülü çayı oldukça revaçtadır. Yine mısırın püskül kısmının saç besleyip saç parlaklık kazandırdığı savunulmaktadır.

Mısır püskülü; protein, vitaminler, karbonhidratlar, Ca^{2+} , K^{+} , Mg^{2+} ve Na^{+} tuzları, sabit ve uçucu yağlar, steroidler (sitosterol ve stigmasterol), alkaloidler, saponinler, tanen ve flavonoidleri içermektedir.[10]

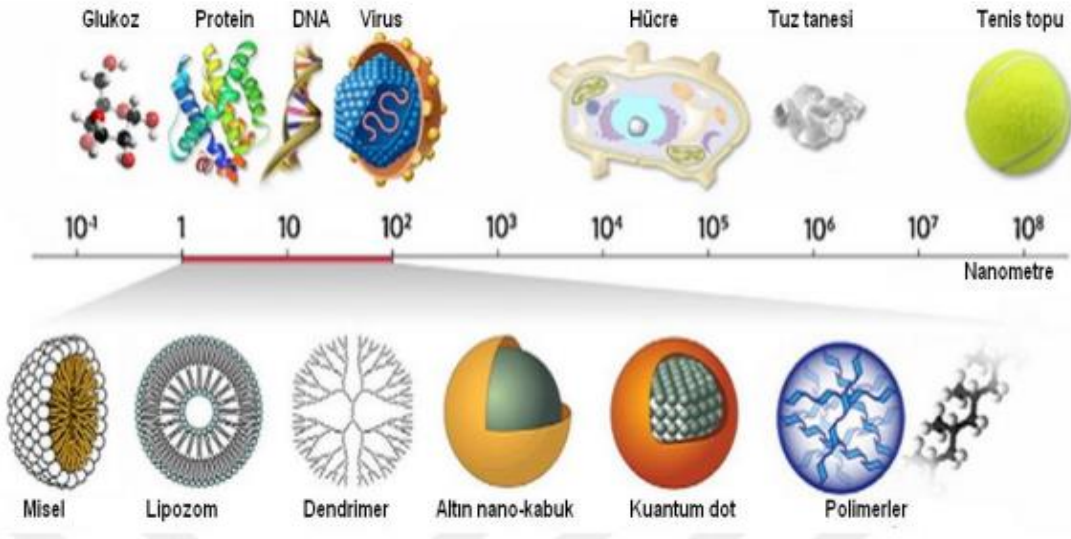
Bu çalışmada, Bakır (Cu) ve mısır püskülü özütü kullanılarak yeşilsentez yöntemi ile nanoçiçek yapılarının oluşma potansiyelini ve bu oluşan HNÇ yapılarının karakterizasyonu ve biyo uygulamaları açısından değerlendirilmesini yapılacaktır. Çalışma ile beraber hem yeşil sentez yönteminin hem Bakır HNÇ yapılarının verimi gözlemlenerek bitki özütleri ile NP sentez yönteminin önemini vurgulamayı amaçlanmaktadır.

2. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

2.1 Nanoteknoloji

Nanoölçekli materyaller varoluştan günümüze kadar olan sürede yerküre de doğal olarak bulunmaktadır. Nanoteknoloji, nanoboyuttaki materyallerin yüksek yüzey alanı, reaktivitesi, değiştirilebilir por boyutu gibi eşsiz fizikokimyasal özellikleri ile başta biyoteknoloji olmak üzere bir çok endüstriye yeni uygulama alanları fırsat vermektedir. Nanoteknoloji, büyük olarak 10^{-9} metre ye karşılık gelir ve nanometre büyüklük birimi ile ölçülür. 1 ve 100 nanometre arasındaki herhangi bir malzeme ile ilgilenen bir multidisipliner bilim dalıdır. Genel olarak nanoteknoloji maddenin atomik, moleküler ve makromoleküler boyutlarında maddeyi kavrayıp işlenmesine olanak sağlar.[11]



Şekil 2.1 Bazı moleküllerin ve nano boyuttaki yapıların boyut olarak karşılaştırılması [12]

Şekil 2.1 de görüldüğü gibi nano boyuttaki yapıların bazı moleküller ile kıyaslanmasında boyut olarak ne kadar küçük olduğu gösterilmiştir. DNA yapı olarak yaklaşık 2.5 nanometre boyuttadır. Nanoteknoloji, nanoboyuttaki yapıların onlara bağlanan elementlere bağlı olarak farklı özellikler sergilemesinden dolayı uygulama alanları oldukça çeşitlidir. Bilim dünyası tarafından da oldukça gözde bir çalışma alanı olan nanoteknoloji farklı endüstri sektörlerinde

de kullanılmaktadır. Bu yüksek potansiyele ve uygulama alanına sahip dalın amaçları da aşağıdaki gibi sıralanabilir;[13]

- Hem hammadde olarak hem de kullandığı enerji olarak daha düşük maliyet,
- Benzer kullanım amacına sahip kimyasal ürünlere göre daha dayanıklı ve daha hızlı ürünlerin oluşturulması,
- Nanoboyutlu cihazların üretimi ve nanoboyut hassasiyeti kazandırılması,
- Nanoteknoloji ürünlerinin karakterizasyonunun yapılması,
- Benzer amaçlı kimyasal tabanlı ürünlere göre daha düşük toksik etki,
- Yeni nesil üretim yöntemlerinin oluşturulması,
- Daha kompleks ve gelişmiş ürünlerin meydana getirilmesi.

2.2 Nanoteknoloji Uygulama Alanları

Nanoteknolojinin yükselen potansiyeli göz önünde bulundurulduğunda gelecek yıllar içinde hayatımızın her alanında olmazsa olmaz teknolojiler arasına katılması muhtemeldir. Nanoteknoloji günümüzde de yaşam standartlarının yükseltilmesi oldukça önemli katkılar sağlamakta olup farklı uygulama alanlarında sıkça karşımıza çıkmaktadır.

Sağlıktan savunmaya kadar farklı alanlarda kullanıma sahiptir. Öyle ki sağlık alanında artan kullanım sıklığından dolayı nanotıp adında bir tıp uzmanlığına bile sahiptir.

Nanoboyut hayatımızın her alanına girmeye devam ederken gıda alanında gıda ürünlerinde verim ve kaliteyi artırmada, kullanılabilmesi gibi patojen tespiti gibi son kullanıcının yararına olacak biyosensörler ile de gıda alanına fayda sağlamaktadır. [14]

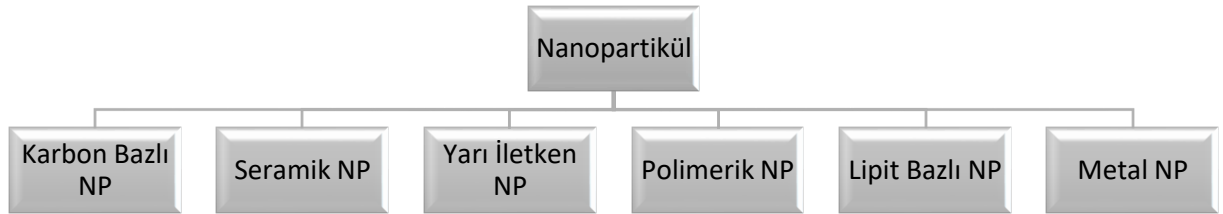
Savunma sanayinde daha dayanıklı ve daha hafif zırh kullanılabilirlik açısından güzel ürünlerin üretimi tekstil alanında yanmaz su geçirmez kumaşlar, kir tutmama antibakteriyel kumaşlar gibi yeni ürünlerin geliştirilmesi ile de nanoboyut ile günlük yaşam arasındaki ilişki sürekli gelişmektedir.[15]

Nanoboyutlu yapılar elektrik-elektronik alanında da süper iletkenler ve grafenler gibi düşük enerji tüketen malzemelerin geliştirilmesi nano elektrik malzemelerin farklı kombinasyonlarla bir araya gelmesi ile biyoteknoloji, tıp vb alanların gelişmesinde önem sağlamaktadır.[16]

Nanoboyutlu yapılar gün geçtikçe günlük yaşantımızda daha da önemli hale gelmekte ve kullanım alanları giderek artmaktadır. Bu yaygınlaşmaya bağlı olarak günümüzde nano adı bölümler kurulmaktadır. Bunlardan bir tanesi nanotıp. Nanoboyuttaki cihazlar ile insan vücudunu izleme ve tedavi etme olarak açıklanmaktadır. Naorobotlar, Nanoilaçlar, Respirositler ve Nanopankreas örnek olarak verilebilir. Hücre içinde nano boyuttaki protein yapıları da nanorobotlar gibi çalışmaktadır. DNA'dan aldığı görevi yerine getirerek üstüne düşen görevi tamamlar.[17]

2.3 Nanopartikül

Nanopartiküller karbon, metal, metal oksitler veya organik maddelerden oluşan parçacıklardır. Nanoteknoloji popülaritesi günden güne artan bir alandır. Nanopartiküllerde bu popülariteye sebep olan yapı taşlarıdır. Farklı formlara sahip (üçgen, dairesel, çubuk, küresel ve yıldız) 1-100 nanometre boyutlarındaki yapılara nanopartiküller denilmektedir. Nano, boyutlarının onlara sağladığı eşsiz morfolojik özellikleri ile aynı özelliklere sahip daha büyük ölçeklerdeki benzer partiküllere göre daha işlevsel özelliktedirler. Renk değişimi, iletkenlik, dayanıklılık, çözünürlük, termal ve optik gibi özelliklerde daha avantajlı konuma taşımaktadır. Nanopartiküllerin bu eşsiz özellikleri küçük hacme rağmen daha geniş bir yüzey alanına, kimyasal tepkimelerde meydana gelen yüksek reaktivite ve stabilitesine bağlıdır [18].



Şekil 2.2 NP'lerin yapısal sınıflandırılması

2.3.1 NP'lerin Sınıflandırılması

Biyoteknoloji alanında kullanılan genel ve çok amaçlı NP'lerden aşağıdaki gibi bahsedilebilir.

2.3.1.1 Lipozomlar

Lipozomlar yeni polimer nano-malzemelerin anlaşılmasına ihtiyaç duyulduğu 1960'lı yıllarda ortaya çıkmıştır. İlk olarak lipozomlar, biyolojik zarları inceleme amaçlı numune olarak kullanılıyordu fakat 1970'li yıllarda ilaç taşınımı için geliştirildiler [19]. Lipozomlar, farmasötik endüstrisinde antifungal, antikanser ajanlar ve aşılarda olmak üzere birbirinde çeşitli ve geniş alanlara sahiptir. İlaç taşınımından sonra hücrelerde bozunabildikleri için tanıda çok önemli araçlar olarak yer almaktadırlar [20]. Lipozomlar, ilaç taşınması alanında görev alan ilk sentetik nanoparçacıklardır. Ancak çok önemli bir handikap olarak, sulu ortamlarda odak bölgesine varmadan taşıdıkları ürünleri serbest bırakmak için yönelim gösterirler.

2.3.1.2 Fullerenler: Buckyballar ve Karbon Nanotüpler

Fullerenler, yalnızca karbon kullanılarak yapılmış moleküllerdir, boş küreler, veya tüpler gibi değişik formlarda bulunurlar. Fullerenlerin küresel şekilleri buckyballar ve karbon nanotüpleri olarak boru biçimindedir. Çok hafif olması, yüksek elastiklik modülüne sahip olması ve bilinen en dayanıklı fiber olması ihtimalleri, Karbon Nano Tüplerin (KNT) en önemli özelliklerindedir. [21].

2.3.1.3 Süper Manyetik NP'ler

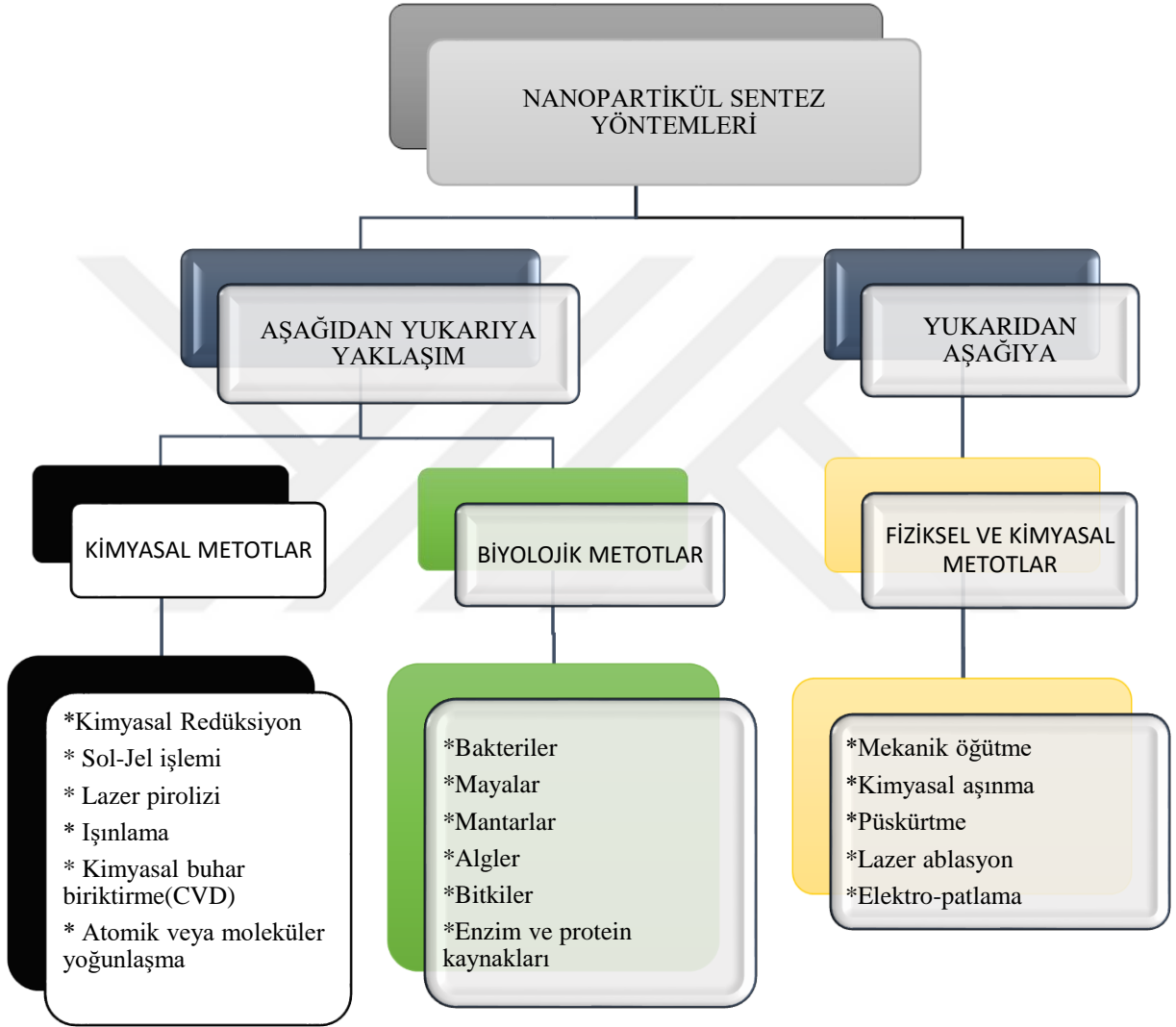
Süperparamanyetik NP'ler, organik olmayan maddeler (silika, altın) veya organik maddeler (fosfolipidler, yağ asitleri, peptidler, vb.) ile kaplanmış bir demir oksit çekirdeğine sahip (SPION) bir inorganik NP'lerdir. [22]

2.3.1.4 Kuantum Dotlar

Kuantum Dotların (QD) boyutu, spektrumun mavi tarafına yaklaştıkça azalır ve kırmızı tarafına yaklaştıkça artar. Bunlar, görünür ışığın altında, kızılötesi veya ultraviyole spektrumda ayarlanabilen ve birçok eşsiz özelliklere sahiptirler [23]. Hücresel görüntüleme için oldukça iyi bir boyar maddedir.

2.4 NP Sentez Yöntemleri

Biyoteknoloji alanında ki güncel gelişmelerle beraber nanoteknoloji de yeniliklerden etkilenecek yeni yöntemler ve karakterizasyon teknikleri hızla gelişmekte kalmıştır. Temel anlamında NP sentezi fiziksel, kimyasal ve biyolojik sentez olmak üzere 3 farklı teknik ile sentezlenmektedir. Genel olarak NP sentezi için aşağıdan yukarıya (Bottom Up) ve yukarıdan aşağıya (Top Down) olarak 2 farklı teknik kullanılır.[24]



Şekil 2.3 Nanopatikül sentez yöntemleri [25]

Top Down (Yukarıdan aşağıya) olarak bilinen Np sentez yönteminde yığın haldeki madde fiziksel ve/veya kimyasal yöntemlerle enerji verilmesi sonucunda maddenin küçük parçalara ve nano boyutlara kadar ayrılması kapsamaktadır. Bottom up (Aşağıdan yukarı) yaklaşımında ise

atom yada moleküler boyuttaki yapının kimyasal reaksiyonlar sonucunda nano boyuta ulaşmasını kapsamaktadır.

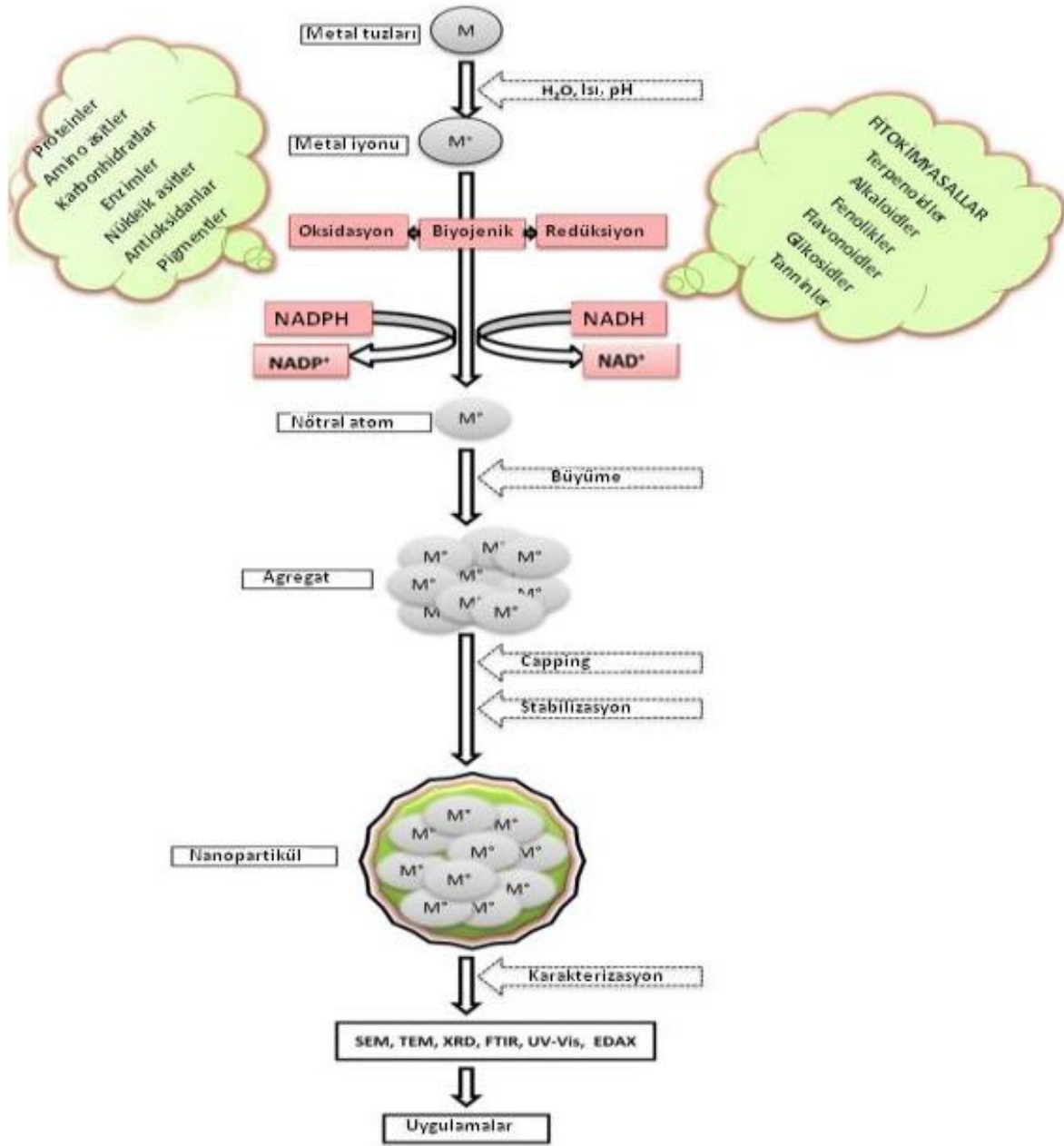
2.4.1 Kimyasal Sentez

Daha önce bahsettiğimiz gibi kimyasal yöntemler Bottom up ve Top down olarak 2 ye ayrılır. Bottom up yaklaşımına dahil yöntemlerde atomik veya moleküler boyuttaki malzemelerin kimyasal reaksiyonlar eşliğinde büyütülerek nanopartikül oluşumunun gerçekleştirilmesi olarak tanımlanmaktadır [3]. Gaz yoğunlaştırma tekniği nanokristalin metal ve alaşımlarının üretiminde kullanılan ilk yöntemdir ve küçük yapılardan büyük yapı oluşturmayı hedefler. Top down yaklaşımına dâhil olan yöntemlerde ise var olan malzemeye mekanik ve/veya kimyasal işlemler uygulanarak enerji aktarılmasıyla malzemenin parçalanarak nano boyutlara kadar inebilmesi amaçlanmaktadır [26].

2.4.2 NP Biyosentezi (Green synthesis)

Biyosentez kavramı nanoteknoloji ve biyoteknoloji çalışmalarından oluşan ve 21.yy'a umut olabilecek çalışma alanlarıdır. Son yıllarda artan nanosentez yöntemlerinde ki toksisiteye bağlı olarak düşük toksisite de daha az maliyetli ve çevre dostu olmaları nedeniyle yeşil sentez yöntemleri ilgi odağı olmuştur.[27,28]

Yeşil Sentez yöntemleri mikroorganizmaları, bitkileri, bitki dokularını ve meyvelerini, bitki özütlerini ve algleri NP'leri sentezlemek için ile kullanılmaktadır. NP'lerin biyosentezinde amaç, organizmalarda bulunan çeşitli biyomoleküllerin metal iyonlarının indirgenmesidir. Yeşil sentezin çevresel toksisiteyi düşürmesi yanında kontaminasyondan uzak, büyüklük ve morfolojik olarak karakterizasyonu kolay yapılabilen büyük miktarlarda NP sentezine olanak sağlamaktadır. [29],



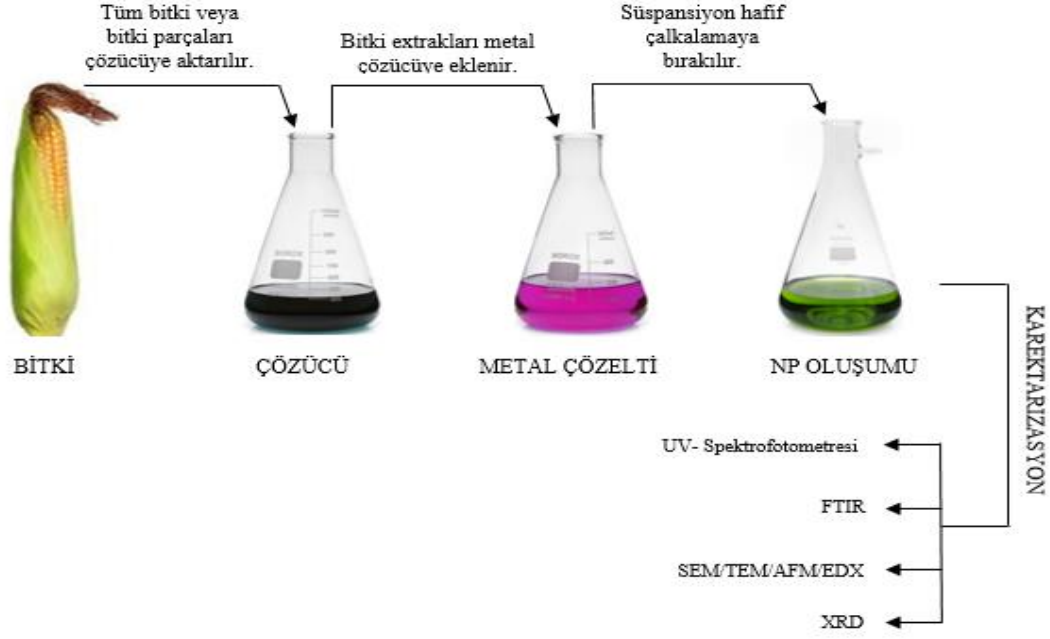
Şekil 2.4 Biyolojik Yöntemler ile NP sentez mekanizması[30]

Şekil 2.4 de biyolojik yöntemler ile NP sentezinin mekanizması görülmektedir. Burada ki M=Metal tuzu, M^+ =Metal iyonu M^0 =Nötr atomdur.[30]

2.4.3 NP'lerin Bitki Ekstraktaları İle Yeşil Sentezi

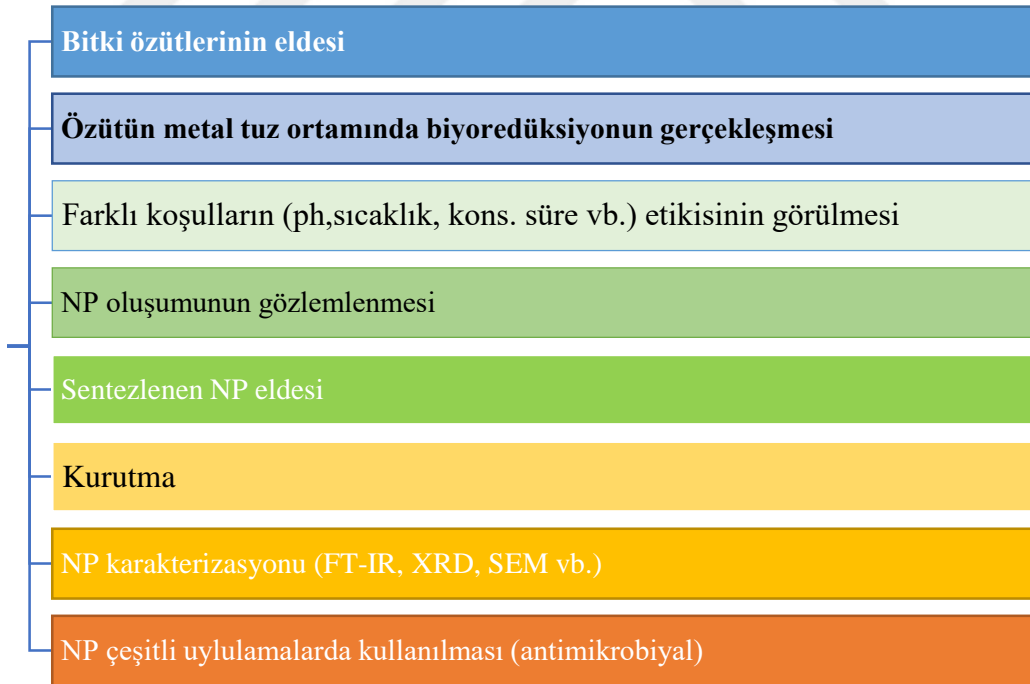
Bitki genel olarak sabit bir konum sahip olan kök, gövde ve yaprak kısımlarından meydana gelen fotosentez aracılığı ile kendi besinini, kendileri üreten canlıların ortak adıdır. Bitki özütleri (ekstrakt), damıtma ve bir çözücünün etkisi veya mekanik ayrılma gibi kimyasal yada fiziksel işlemlerden biriyle ayrıştırılan bir maddeyi ifade eder. [31] NP sentezi sırasından metal indirgeyici olarak bitki ekstraktlarının kullanımı tam anlamıyla yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bitkiler ile yeşil sentezlenen NP'ler farklı kompozisyonlara sahipken bunun yanı sıra toksik olan kimyasal ve fiziksel ön hazırlık yöntemlerine çevre dostu bir alternatif olarak kullanılabilir. [32] Yeşil Sentez yöntemi ile diğer yöntemler arasında ön plana çıkartan avantajları aşağıdaki gibidir;[33]

- Tek adımda basit işlemler ile elde edilmesi
- Kolay elde edilebilir olması ve düşük maliyeti
- Kültür ortamında bakım için daha az mesai harcanması
- Güvenli kullanımı, daha az kontaminasyon riski
- İndirgeyici metabolitler içermesi (sekonder metabolitler)
- Çevre dostu ve düşük toksisite
- Hızlı ve daha kararlı NP sentezi
- NP morfolojisi üzerinde daha hassas kontrol sağlaması gibi.
- Miktar yönünden yüksek seviyelere uygun olması



Şekil 2.5 Bitkiler ile NP sentezinde ki Deney Prosedürü [34]

Şekilde 2.6’da bitki ekstraktları ile NP sentezi aşamaları belirtilmiştir.

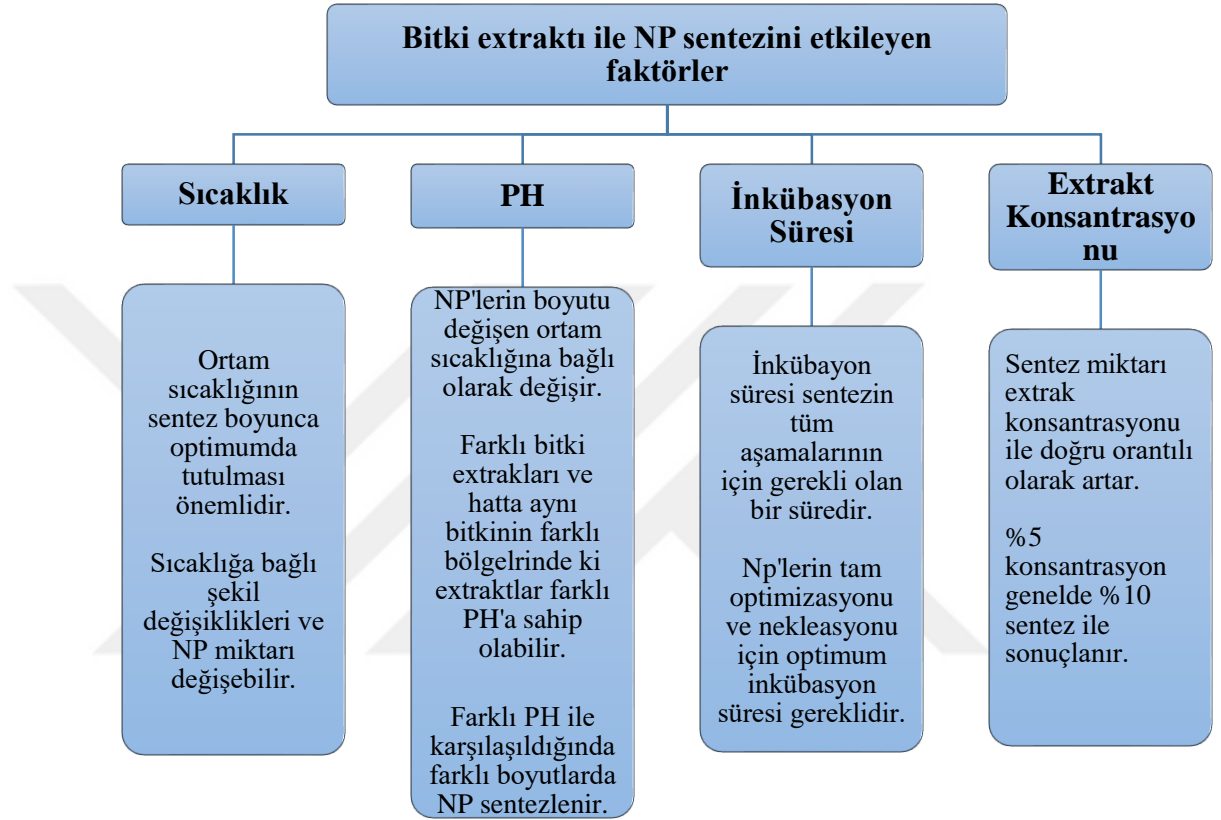


Şekil 2.6 Yeşil sentez ile nanopartikül üretim, karakterizasyon ve uygulama aşamaları [35]

Şekil 2.6’da da açıklandığı gibi bir bitkinin topraktan elde edildikten sonra ekstrak elde edilmesi ve bir inorganik kısımla farklı ortam koşullarında tepkimeye sokulmasını ve elde edilen

HNÇ'lerin eldesi kurutulması ve karakterizasyon aşaması kadar olan tüm aşamalar adım olarak en basit şekilde özetlenmiştir.

2.5 Bitki Ekstraktarı ile NP Sentezini Etkileyen Faktörler



Şekil 2.7 Bitki Ekstaktı ile NP sentezini etkileyen faktörler [36]

Bitki ekstraktı kullanılarak yeşil sentezlenirken HNP'lerin sentezine etki edebilecek faktörler şekil 2.7'deki gibidir. Bu etkenlerin literatür özetinde de bahsedileceği gibi bir çok farklı çalışmada farklı özelliklerdeki bitki ekstraktları için inkübasyon süresi, ph, sıcaklık gibi etkenlerin HNP'lerin yapısında belirgin değişiklikler meydana getirdiği incelenmiştir. Bu etki faktörleri HNP' yüzey hacim oranını doğrudan etkilemesi, poor genişliğindeki meydana getirdiği değişiklikler ortamın PH durumuna, sıcaklığına ve diğer etki faktörlerine doğrudan bağlıdır. Optimum bir sentez için kullanılan hammadde ye göre optimum şartlar belirlenmelidir.

2.6 Nano Çiçek(NÇ)

NP sentezi sonrasında oluşan nano yapıların morfolojik yapı olarak bitki çiçeklerine benzerliklerinden dolayı NÇ denmektedir.[37] Bu yapılar 100-500 nm arasında ki boyutlara sahip olabilirler.[38] Nanoçiçeklerin morfolojik olarak mükemmelliyetini sağlayan boşluklu çiçeksi 3D yapısı, küresel NP'lere göre (düz yüzey) yüzey alanı-hacim oranında çok büyük üstünlük sağlamaktadır. NÇ yapılarının biyolojik materyaller ile sentezlendiği göz önünde bulundurulduğunda en büyük avantajlarının başında çevre dostu olması gelmektedir.

2.6.1 NÇ'lerin Avantajları

- Sentez yöntemlerinden dolayı daha çevreci ve daha düşük maliyetlidir.
- Yüksek yüzey alanı/hacim oranı, yüzey emilimini artırarak reaksiyonu katalizler.
- 3D yapısının sağladığı farklı kazanımlardan biri olarak yüzey reaksiyon etkinliğini artırır.[39]
- Enzim, protein gibi organik bileşenlerin kararsızlığında stabilitelerinin yükselmesini sağlar.[40]

2.6.2 NÇ'lerin Dezavantajları

- Karakterizasyonunu sentez aşamasında kontrol etmek çok zor olduğundan hassas çalışma ve yüksek yetkinlik gerektirir.
- Yapılan çalışmalar ekstrem sıcaklıklar gerektirebileceği için sıcaklığa bağlı yan ürünler oluşabilir.

Nano Çiçekler, sulardaki ağır metallerin uzaklaştırılması, gıdalarda bulunan patojenlerin tespiti, glikoz belirteci, enzim saflaştırılma, kontrollü ve hedefli ilaç salınımı, gibi çeşitli uygulama alanlarına sahiptir.[38]

Bu belirtilen alanların birçoğunda kullanılmak üzere organik ve inorganik olarak iki kısımdan oluşan hibrit biyomalzemeler oluşturulmuştur. Bu hibrit biyomalzemelerin sınıfında inorganik kısım olarak +2 değerlikli metal iyonları (Cu-Fe vb.) ve organik kısım olarak da DNA, peptid, enzim, protein, bitki ekstraktları kullanılabilir. Sentez yoluyla elde edilen hibrit yapıların çiçek benzeri form oluşturmasından dolayı Hibrit Nanoçiçek olarak adlandırılırlar.

Organik-inorganik hibrit nanoçiçeklerin sentez sürecinde takip edilen basamaklar çekirdeklenme, büyüme ve tamamlanma olmak üzere üç aşamalıdır. Çekirdeklenme

aşamasında, metal fosfat $M_3(PO_4)_2$, birincil kristalleri oluşur. Bu aşamada, organik moleküller metal iyonları (Cu^{2+} , Ca^{2+}) ile kompleksler oluşturur. Bu kompleksler, birincil kristallerin çekirdeklenmesi için bir konum sağlar. İkinci aşama yani büyüme aşamasında, metal-organik bileşik kristalleri, büyük organik moleküllerin toplanmasıyla petaller yapıları oluşturur. Metal fosfat kristallerinin kinetik olarak kontrol edilen büyümesi, bu toplanan organik yapıların (aglomera) Cu^{2+} , Ca^{2+} bağlama bölgelerine sahip yüzeylerinden kaynaklanır ve sentez esnasında çiçek benzeri taç yaprakların görünmesine neden olur. Son adımda ise düzensiz formda büyüme, dallı çiçek benzeri bir yapının oluşmasına sebep olur.[4]

2.7 Biyolojik Sentez Sonrası NP'lerin Karakterizasyonu

Sentez sonrasında elde edilen nanoboyutlu yapıların özgül morfolojik özelliklerinin belirlenmesi için yapılan analiz çalışmalarından en yaygın kullanılan yöntemler aşağıdadır. Bu yöntemler genellikle ışık saçılımı ve saçılan ışığın ölçümüne dayanmaktadır.

2.7.1 Sentezlenmiş NP'lerin X-ışını Kırınımı (XRD)

X-ışını difraksiyonu (XRD) madde fazı ve kristal yapısının analizi için gereklidir. XRD, bir kristalin atomları tarafından X-ışınlarının saçılımını gözlemler; böylece desenin kırınımı, kristalin yapısı ya da kristal bir maddenin kimliği hakkında bilgi verir [41]. Vakum atmosferi altında kapalı bir tüp içinde üretilen X ışınlarının toz XRD analizi ve tüp içinde 15-60 kV akım uygulaması, bir Cr, Fe, Co, Cu, Mo veya Ag anoduna çarpan elektronları verir.[42]

2.7.2 Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM)

Aydınlatma sistemi elektron tabancasından ve bir kondenser lens sistemi içerir. Kondenser lens, elektron tabancasından çıkan elektron demetini numuneye odaklar. Bu lens aynı zamanda elektromanyetik özelliktedir ve önemli bir değer aralığında ayarlanabilen birkaç santimetre odak uzaklığına sahiptir [43]

2.7.3 Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)

Sentezlenmiş NP'lerin morfolojik özellikleri SEM ile analiz edilebilmektedir. SEM, yüksek enerjili bir elektron demeti aracılığı ile tarama yaparak numune yüzeyini görüntülemeyi sağlar

[44]. Genel olarak, SEM, polimer nanokompozitlerin, NP'lerin ve nanofiberlerin yüzey yapısının yüksek çözünürlüklü görüntülerini üretmek için kullanılır [45]

2.7.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), kızılötesi yoğunluğa karşı dalga boyunu veya ışığın dalga sayısını ölçen kimyasal bir analitik yöntemdir. Spektrumdaki tepe noktalarından farklı fonksiyonel gruplar hakkında bilgi edinmek için FTIR spektroskopisi uygulanır.[46] FTIR, bitkilerin veya onların ekstraktlarının NP ile ilişkili moleküllerinin yapısını belirlemek için kullanılmaktadır.[10]

2.7.5 Dinamik Işık Saçılması (DLS) ve Zeta Potansiyeli

DLS, aynı zamanda foton korelasyon spektroskopisi (PCS) olarak da bilinen, lazer difraksiyon metoduna dayanan NP'lerin ortalama parçacık boyutunu incelemek amacıyla kullanılan bir ışık saçılım tekniğidir [47]. Zeta potansiyeli, NP yüzeyinin durumunun anlaşılmasına ve NP'ler arasındaki elektrostatik itme kuvvetlerine bağlı olan uzun vadeli stabilitenin öngörülmesine yardımcı olan yararlı bir ölçümdür [58]. Bu potansiyel yüzey yükünün dolaylı bir ölçümüdür. NP'lerin yüzey yükünün yoğunluğu ve doğası, biyomoleküllerle olan elektrostatik etkileşiminin yanı sıra biyolojik çevre ile olan etkileşimlerini belirlediğinden çok önemlidir.[49]

2.8 Zea Mays (Mısır) Bitkisi

Mısır (*Zea mays*), genellikle çok nemli iklim bölgelerinde yetiştirilebilen tek yıllık odunsu bir tahıldır. Yüksek yağ oranına sahip bir tahıldır. Dünya üzerinde geniş üretim alanı ve kolay üretilbilir olmasından dolayı yaygın olarak ekimi yapılmaktadır. Ana ürün olarak yetiştirilmesinin yanı sıra yan ürün olarak da yetiştirilmektedir. Endüstriyel kullanımı, hayvan yemi, biyoyakıt, yemeklik yağ, ve çerezlik kullanımları mevcuttur. Mısır da gıda kaynaklarında bulunması zor olan selenyum ve canlı vücudunun ihtiyacı olan tüm mineralleri barındırır. Mısır, başta E vitamini olmak üzere barındırdığı antioksidanlarca kanseri önlemeye yardımcı olma yeteneğine sahip olduğu bilinir. Mısır vücudunuzda azımsanmayacak miktarda A vitamini sentezleyen bir beta-karoten deposudur.[50] Mısır birçok besin kaynağınca zengindir. Taneleri işlenen mısır koçanı ve mısır püskülü halk arasında tedavi amaçlı kullanılmakla beraber genellikle atıktır.

Mısır püskülü, mısır koçanının uç tarafından dışarı çıkan yaklaşık 20 cm uzunluğunda mısırın türüne göre farklı renkte ipeksi yapıdaki stigma hücreleridir. Mısır püskülü eski çağlardan günümüze kadar geleneksel olarak tedavi amaçlı kullanılmıştır. Mısır püskülünde bolca C ve K vitamini bulunur. Bunun yanında potasyum yönünden de oldukça zengindir. Bu sebeple de güçlü bir antioksidan özelliği vardır. Diyabete de iyi geldiği düşünüldüğü için şeker hastaları da mısır püskülü çayını gönül rahatlığı ile tercih etmektedir. Çeşitli bölgelerde ürolojik bozuklukların tedavi edilmesi ve hafif bir diüretik (idrar söktürücü) olarak kullanılmıştır. [50]. Böbrek sıkıntıları dışında, mısır püskülüne prostat s, ödem ve gut tedavisinde de başvurulduğu bildirilmiştir[51]. Halk arasında da çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde mısır püskülüne başvurulmaktadır. Örneğin deri hastalıkları ke ardiyolojik rahatsızlıklar gibi pek çok hastalığın tedavisinde önerilmektedir. Mısır püskülü; protein, vitaminler, karbonhidratlar, Ca²⁺ , K⁺ , Mg²⁺ ve Na⁺ tuzları, sabit ve uçucu yağlar, steroidler, alkaloidler, saponinler, tanen ve flavonoidleri içermektedir [52-53].

2.9 Literatür Araştırması

2021 yılında Güven ve arkadaşları tarafında yapılan bir çalışmada kiraz sapı ekstraktı kullanılarak Cu NÇ ler sentezlenmiş olup DNA ve Amino Asitler gibi pahalı biyomoleküller yerine bitki ekstraktı kullanılarak hem daha uygun maliyetli hem de daha geniş ph aralığına sahip nanoçiçekler sentezlenmiştir. Bu çalışmada Cu NÇ lerin katalitik antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin olduğu tespit edilmiştir.[54] Fakat etki faktörlerinde ph 7.4 hem sulu ortamda hem de alkol ortamında en düzgün morfolojik yapıda olduğu gözlemlenmiştir. [54]

2016 yılında Zulkadir ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmasında mısır püsküllerinin antioksidan aktivitesini ve fenolik bileşik miktarı araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre bütün mısır örneklerinde antioksidan ve fenolik bileşik miktarı tespit edilmiş fakat türler arasında en yüksek antioksidan miktarı at dişi mısırına ait örnekte fenolik madde miktarı ise yine at dişi mısır püskülünde tespit edilmiştir.[55]

Altınkaynak ve arkadaşları 2016 yılında yürüttüğü bir çalışmada, yeşil sentezle Laktoperoksidaz enzimini ve metal iyonları hibrit nano-çiçekleri sentezlemişlerdir. Sentez sonucu oluşan hibrit nano çiçeklerin katalitik aktivitesini ve stabilitesini artıran faktörü tespit etmeye hedeflemişlerdir. Laktoperoksidaz ve Laktoperoksidaz-bakır fosfat hibrit nano çiçekleri için ideal ph değeri 8 ve 6 olarak kaydedilmiştir. Sentezlenen hibrit nanoçiçek yapılarının her

ph seviyesinde serbest haldeki enzimden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Hibrit nano çiçek yapıları her ph değerinde serbest haldeki enzim biyomolekülünden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır, serbest haldeki Laktoperoksidaz enzimi ile Laktoperoksidaz-bakır fosfat nano çiçek yapısı karşılaştırıldığında ph 6 da yaklaşık 1.5 kat ph 8 de ise yaklaşık 3.5 kat artış ortaya koyduğu gözlemlenmiştir[56].

2020 yılında Öçsoy ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada Kudret Narı bitkisinden saflaştırılmış peroksidaz enzimleri kullanılarak hibrit nano çiçek yapıları sentezlenmiş ve yapının yapısal, morfolojik özellikleri gözlenmiştir. Bu çalışmada serbest haldeki peroksidaz enzim aktivitesi RPNÇs'den (olgun meyveden elde edilen peroksidaz NÇ) daha düşük bir enzim aktivitesi göstermiştir. Ayrıca bu çalışmada yapılan boya giderim çalışmalarında HNÇs (olgunlaşmamış meyveden elde edilen peroksidaz NÇ) yapılarının boya giderimin de etkin şekilde kullanılabildiğini göstermiştir[57].

2013 yılında Cernik ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada biyomolekül olarak Karaya Sakızı kullanılarak CuO nanopartikülün yeşil sentezi ile hibrit nanopartikülün antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Oluşan CuO hnp'ler oldukça kararlı ve her iki gram bakteri sınıfı üzerinde önemli antibakteriyel etkiye sahiptir. E. coli ve S. aureus üzerinde gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite deneyinde, sentezlenen CuO hibrit nanopartiküllerinin daha küçük partikül boyutlarının daha yüksek antibakteriyel etkilere sahip olduğunu bulgusuna ulaşılmıştır[58].

2019 yılında Çimen ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada CuO NP'leri, *A. cyanophylla* yapraklarının sulu ekstresi kullanılarak biyosentez yoluyla sentezi yapılmış olup hibrit nplerin karakterizasyonu için FT-IR, SEM, EDX, XRD ve DLS analiz teknikleri kullanılmışlardır. CuO NP'lerin küresel ve gözenekli olmasının yanı sıra nano boyutlu çapta FT IR ve XRD sonuçları da desteklenen CuO NP'leri başarılı bir şekilde sentezlendiğini dile getirmişlerdir. Daha sonra, sentezlenen nplere kesikli modda TB AGLF ve MB'nin maruz bırakılıp absorpsiyonlarını gözlemlenmişlerdir. CuO NP'lerin her iki boyanın da adsorpsiyon üzerindeki etkileri hem yeşil sentezlenmiş hemde kimyasal olarak sentezlenmiş CuO NP'ler ile karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak, yeşil sentezlenen CuO HNP'leri kimyasal olarak sentezlenene göre daha yüksek adsorpsiyon kapasiteleri bulgusuna ulaşıldığını paylaşmışlardır[59].

Eren ve arkadaşı tarafından 2018 yılında yapılan bir çalışmada, fıstık (*Pistacia vera* L.) bitkisi yaprakları özütü ile gümüş nanopartikülleri sentezlenmiştir. Karakterizasyon çalışmalarından sonra 460.67 nm maksimum absorbanza sahip ve küresel görünümde ve 16.7 nm kristal boyuta sahip oldukları belirlendi. Bu nanoparçacıkların kullanımında olan ticari antibiyotikler ile karşılaştırıldığında daha düşük konsantrasyonlarda aynı etkiye ulaştığını tespit etmişlerdir. Yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen AgNP'lerin yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir[60].

Ijaz ve arkadaşları, *Abutilon indicum* bitkisini kullanarak CuO nanopartikülleri yeşil sentez yöntemi ile sentezlemiştir. Oluşan sentez ürününün CuO NP'lerinin antioksidan aktivitesini DPPH yöntemi ile araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, sentez ürünü CuO NP'lerin en yüksek IC50 değerini ($84 \pm 0.32 \mu\text{g/ml}$) 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon da elde ederken, en düşük IC50 değerini ($40 \pm 0.23 \mu\text{g/ml}$) 60 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda tespit etmişlerdir. Bu çalışma göz önünde bulundurulduğunda, CuO NP'lerinin yüksek konsantrasyonlara çıkıldıkça ile DPPH serbest radikal süpürme oranının arttığını ve yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.[61]

Beykaya ve arkadaşları bitki özütleri kullanarak Gümüş Nanopartiküller (AgNp) sentez çalışmalarını içeren derleme makalesinde yeşil sentezin Gıda işleme ve fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesi, Patojenlerin tespiti ve gıda güvenliğinin artırılması, Biyoaktif maddeler ve nutrasötiklerin taşınması ve kontrollü salınımı, Ürün kalitesi ve raf ömrünü olumlu yönde etkileyecek ambalajlama sistemlerinin geliştirilmesinin üzerinde durarak yeşil sentezle yapılacak olan çalışmaların gelecekteki öneminden bahsetmişlerdir.[62]

Güven ve arkadaşları tarafından 2022 yılında yayınlanan çalışmada Cu HNC'lerinin yeşil sentezlenmesi ve karakterizasyonunu içeren çalışma alanında öncü çalışmalardan biri gibi görülmektedir. Bu çalışmada farklı organik kısım olarak kiraz meyve suları kullanılmıştır. Çalışmada farklı pH değerleri ve farklı ortam şartlarında (su ve alkol) ortamında yapılmıştır. pH:7.4 demorfolojik olarak en çok çiçeğe benzeyen ürün elde edilmiştir. Ayrıca yine aynı çalışmada Cu-HNC'lerin Gayakol'e karşı ile yüksek katalitik aktivite sergilediği gözlenmiştir. [63]

Shahid ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Ag kaplı ZnO nanoçiçeklerin ve ZnO nanoçubuklarının güneş ışınları ile arasındaki fotokatalitik aktivitelerini araştırıp birbirleri ile kıyaslamışlardır. Örnek 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 yer edinen ve elektron çukuru gibi hareket eden Ag nanopartiküllerinin sayesinde meydana geldiğini ortaya koymuşlardır [64]

Somtürk ve arkadaşları (2016), horseradish (yabancurpu) peroksidaz kullanarak sentezlediği HRP-Cu⁺² hibrit nanoçiçeklerde en iyi nanoçiçekleri pH 7,4'de elde etmiş, ve bu nanoçiçeklerin 5,5 µm çapta olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada da pH 7,4'de en iyi nanoçiçek oluşumu gözlenmiş ancak nano çiçek yapıları beklenenden çok daha büyük saptanmıştır.. Bu durumun farklı bitkisel ekstraktların kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir [65]

A.Demirbaş tarafından yapılan çalışmada, altın çilek meyve ekstresi-bakır (II) nanoçiçekleri ve altın çilek kabuk ekstresi-bakır (II) nanoçiçekleri sentezlemiştir. Bu sentezlerin gıda kaynaklı bakteri patojenler (Escherichia coli, Aeromonas spp. ve Basillus cereus) üzerine sentezlenen çiçek nanoyapılarının morfolojileri incelemiştir. Altın çilek kabuğu ekstresinin ve altın çilek meyve ekstraktlarının inorganik kısım ve Cu⁺² iyonları inorganik kısım olarak sentezlendi. Altın çilek meyve ekstraktları ile sentezlenen nanoçiçekler, Altın çilek kabuğu ekstresi ile sentezlenen nanoflower'lara kıyasla daha sıkı, gözenekli ve düzgün şekillere sahiptir. Altın çilek meyve ekstraktları ile sentezlenen nanoçiçeklerin ve Altın çilek kabuğu ekstresi ile sentezlenen nanoçiçeklerin gıda patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivitesini de ortaya koymuştur.[66]

Jun G. Ve arkadaşları 2012 yılında organik kısım için seçtikleri protein ile yaptıkları hibrit nanoçiçek çalışmasında farklı proteinlerin bulunduğu ortamlar ve farklı protein konsantrasyonları ile bir sentez prosesi oluşturmuşlar kullanılan proteinler sırasıyla; laktalbumin, lakkaz, karbonik anhidraz, lipaz biyomoleküller kullanılmıştır. Konsantrasyonlar ise sırasıyla; 0,5 mg ml⁻¹ - 0,1 mg ml⁻¹ - 0,02 mg ml⁻¹ olarak çalışılmıştır. Morfolojik olarak en başarılı protein lakkaz olmuştur. 25°C'de PBS'de (pH 7.4) lakkaz nanoçiçeklerin serbest lakkazdan çok daha yavaş bozunduğunu görülmüştür.[67]

3.BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Mısır Püskülünün Temin Edilmesi

Mısır püskülü, Nevşehir bölgesinde faaliyet gösteren yerel satıcılardan temin edilmiştir.

3.2. Mısır Püskülü Özütünün Elde Edilmesi

Toz haline getirilen mısır püskülü 10'ar gr tartılarak ayrı ayrı 100 ml su ve 100 ml ethanol içerisine eklenmiştir. Suyun sıcaklığı 85°C, alkolün sıcaklığı 65°C olacak şekilde sabitlendikten sonra 2 saat boyunca mısır püskülü karıştırılarak demlenmiştir. Daha sonra Whatman No 1 filtre kâğıdında geçirilerek ekstraksiyon elde edilmiştir.

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 [68]. 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 1 litre 1X PBS çözelti hazırlamak için:

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

3.4. Cu-HNÇ Yapılarının Sentezi ve Karakterizasyonu

Nanoçiçek sentezlemek için 10 mM PBS tamponu pH'ı 5, 7.4 ve 9 olacak şekilde ayarlanmıştır. Hazırlanan tamponların içerisine 250, 500, ve 1000 µL alkol ve su çözücülerini ile elde edilen mısır puskülü özütleri eklenmiştir. Son olarak bütün tüplere 10⁻⁴ 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 [69]. 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

Farklı morfolojilere sahip (pH 7,4 500 µL CS_{SU}, pH 9, 500 µL CSEth ve pH 7,4 500 ml CSEth koşullarında sentezlenen) nanoflowerların katalitik aktivitelerinin değerlendirilmesi amacı ile substrat olarak gualicolun yaygın kullanıldığı bir prosedür uygulanmıştır.

Reaksiyon için (aynı hacimde, 1 ml), 10 mM, pH 6.8, 25°C PBS, 22.5 mM H₂O₂ ve 45 mM Gayakol ile 3 mg Cu-HNÇ karıştırılmıştır. Ortamda CuHNÇ varlığında Gayakol oksidasyonu ile meydana gelen absorpsiyon değişimini tespit etmek için Uv-Vis spektrofotometre kullanılarak 470 nm dalga boyunda ölçüm gerçekleştirilmiştir [70]. Spektrofotometrik ölçümlerde 1 ml PBS, 22.5 mM H₂O₂ 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 [71]. 7 farklı Cu-HNÇ konsantrasyonu (0.004, 0.009, 0.019, 0.040, 0.78, 0.156, 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. Yüzdeler DPPH süpürme aktivitesi: % Süpürme aktivitesi= $\{[A - (B - C) / A] * 100\}$ A= Negatif kontrolden okunan absorbans değeri B= Örnekten okunan absorbans değeri C= Pozitif kontrolden okunan absorbans değeri Burada negatif kontrol olarak distile su kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak ise DPPH çözeltisinin yerini alan aynı hacimde %99,5 etanol kullanılmıştır.

3.7. Cu Hibrit Nanoçiçeklerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Tespiti

Cu-hNÇ yapılarının Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) değerleri standart broth dilution method kullanılarak yapılmıştır [72]. Çalışmada kullanılan bakteri türleri *Staphylococcus aureus* (ATCC 23235), *Escherichia coli* (ATCC 11229) ve *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) dir. Test tüplerinde bakteri son konsantrasyonu 5.10^5 CFU/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra tüplere son Cu-hNÇ konsantrasyonu 0,156-10 mg/ml olacak şekilde Cu-hNÇ yapıları eklenmiştir. Ayrıca içerisinde bakteri bulunmayan besi yeri sterilliğini tespit etmek için negatif kontrol ve üremeyi kontrol etmek için sadece bakterinin bulunduğu pozitif kontrol tüpleri de ayarlandı. Daha sonra 24 saat 37 °C inkübe edildi. tüplerde inkübasyondan önce ve sonraki görsel bulanıklıklar karşılaştırılarak MIC konsantrasyonları tespit edildi. Tespit edilen MIC değerlerini doğrulamak için 3 tekrarlı olarak çalışılmıştır [73].

4. BÖLÜM

BULGULAR Ve TARTIŞMA

4.1. Cu-hNÇ Sem Morfolojileri ve Karakterizasyonları

Bu çalışmada, su ve ethanol kullanılarak mısır püskülü ekstraktı elde edilmiştir. Farklı ekstrakt miktarlarının ve pH koşullarının Cu-hNÇ sentezi üzerindeki etkisini belirlemek için 18 tüpten oluşan bir deney düzeneği hazırlanmıştır. Sentezlenen Cu-hNÇ'nin FE-SEM görüntüleri alınmış ve elemental iskelet yapısı için EDX yöntemi kullanılmıştır. Cu-hNÇ'lerin kristalinitesinin belirlenmesi için XRD analizleri kullanılmıştır. Tüm hacimlerde pH 5 ortamında CS_{SU} özütü ve pH 5 ortamlı 1000 µL CS_{eth} özütünde herhangi bir Cu-hNÇ yapısı tespit edilememişken, diğer diğer 14 tüpte tüm koşullar altında başarıyla sentezlenmiştir.

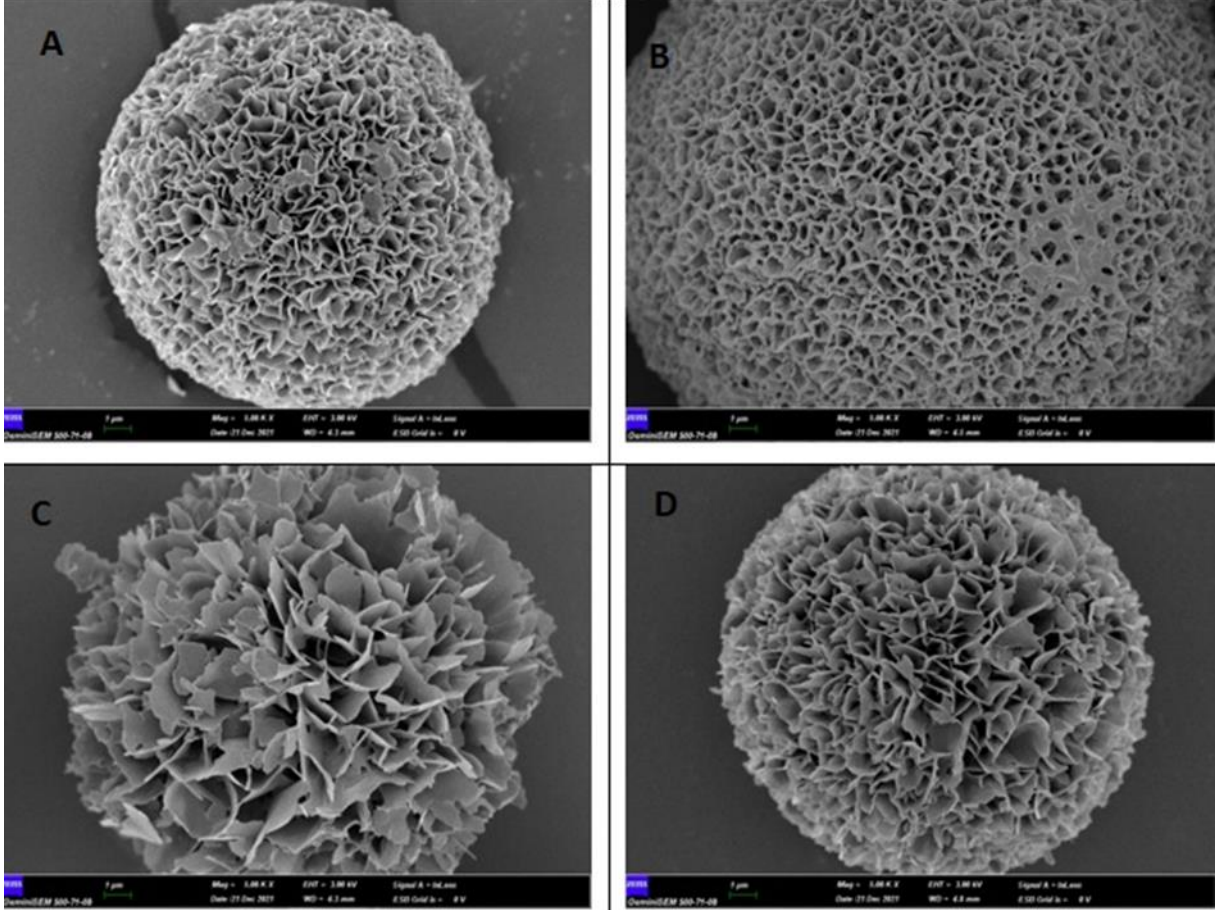
CS_{SU} ve CS_{eth} ile sentezlenen Cu-hNÇ yapılarının morfolojik olarak farklı olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlarımıza benzer şekilde, etanol ve su bazlı ekstraktlarla elde edilen hNÇ morfolojileri arasında önemli bir fark gözlemlendiğini bildirmiştir[74].

Sulu bir çözelti kullanarak ve PBS tamponunun pH değerlerini 5, 7.4 ve 9'a ayarlayarak allisin bazlı Cu-hNÇ sentezlemeye çalışmışlardır. Sonuç olarak, pH 9'daki ortamda NÇ sentezinin gerçekleşmediğini bulmuşlardır. Buna karşılık, bizim çalışmamızda, CS_{SU} ekstresi ile Cu-hNÇ oluşumu pH 5'te gerçekleşmezken, diğer tüm pH değerlerinde Cu-hNÇ elde edilmiştir. Bu durum, farklı çözücülerle elde edilen farklı bitki özütlerindeki fonksiyonel grupların bileşiminden kaynaklanıyor olabilir[74].

Önceki çalışmalarda, kitosan Au NÇ'lerin asidik pH'da sentezlenmemesi, organik ve inorganik bileşenlerin afinitesinin kitosan içeriğindeki amin gruplarının yükünün bozulmasıyla etkilendiği şeklinde yorumlanmıştır. TaurinCu NÇ sentezi üzerine yapılan bir çalışmada, düşük pH'da NÇ sentezinin başarısız olması, amid gruplarının protonlanmasına ve yaprakların birleşmesine bağlanmıştır [75].

Bu çalışmada, Cu-hNÇ'ler farklı hacimlerde CS_{SU} ekstraktlarında sentezlenmiş ve taç yaprak yapılarının pH 7,4-9'da oldukça kompakt olduğu görülmüştür. pH 5 ve 250 µL CS_{eth} içeren bir ortamda sentezlenen Cu-hNÇ taç yapraklarının yapıları ideal bir çiçek şekline benziyordu ve taç yapraklarının artan ekstrakt hacmi ve pH ile daha yoğun hale geldiği gözlemlendi (Şekil 1, Ekler). *Viburnum opulus* özütü ile elde edilen hibrit nanoyapıları, taç yaprakların yoğun dizilimi nedeniyle hibrit kartopu olarak adlandırmıştır. Çalışmamızda da buna benzer şekilde CS_{SU}

ekstraktı kullanılarak elde edilen tüm Cu-hNÇ yapıları ve CSeth kullanılarak yüksek pH değerlerinde elde edilen Cu-hNÇ yapıları nanosnowball olarak adlandırılabilir. Ayrıca, CSeth nano çiçek sentezi için kullanıldığında, artan ekstrakt miktarlarıyla daha düzgün bir çiçek yapısının geliştiği, çok kompakt bir taç yaprak yapısı ve CSSU ekstraktına benzer bir nano kartopu yapısı oluşturduğu bulunmuştur.[76]



Şekil 4.1. Su ekstraksiyonunda elde edilen nanoçiçek yapıları çok sıkı bir şekilde bir araya gelmiş iken ekstraksiyonunda düşük pH da yüksek pH değerlerine doğru petaller sıklaşmaktadır(A: pH 7,4 500 ml su ekstresi, B pH 9, 500 ml Su ekstresi, C: pH 5 250 ml, D: pH 7,4 500 ml)

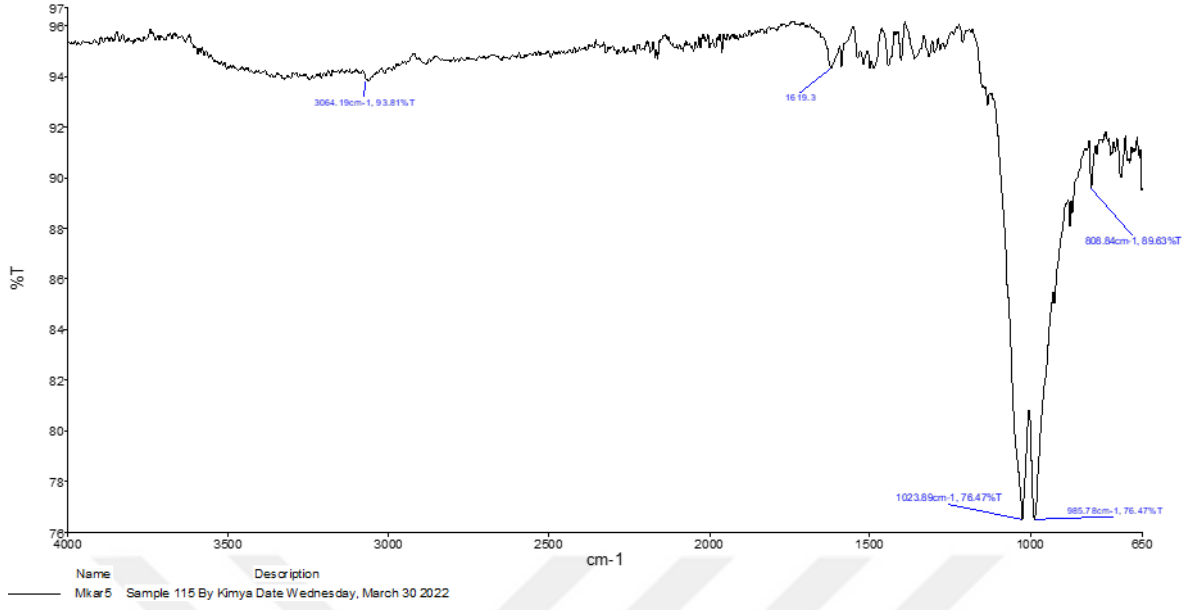
Dayan ve ark. artan veya azalan organik madde miktarlarının düzgün çiçek şekilli ve tek düze Cu-hNÇ yapıları elde etmek için önemli olduğunu tespit etmişlerdir[77]. Bu çalışmada ise CSSU özütü kullanıldığında özüt konsantrasyonunun Cu-hNÇ eldesine belirgin bir etkisinin olduğu söylenemez. Ancak CSeth özütü miktarları artan konsantrasyonlarına bağlı olarak daha düzgün çiçek yapısına evrildiğini en yüksek konsantrasyonda çok sıkı petal yapısı oluşturularak alkol özütü CSSU özütüne benzer şekilde nanosnowball yapısı meydana getirdiğini söylenebilir (suplement).

Thimol özütü ile pH 9 ortamında petallerin oluştuğunu ancak tam bir cicek yapısının meydana gelmediğini bulmuştur[74]. Benzer bir çalışmada NÇ sentezine organik bileşenin miktarını ve değişen pH koşullarının etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda morfolojik olarak çiçek yapısına en yakın NÇ oluşumuna pH 5.5 sentez koşullarında tespit ederken pH 9 ortamında petal yapıların oluştuğunu ama bir araya gelerek NÇ oluşturmadığını tespit etmiştir[77]. Bizim çalışmamızda ise bu iki çalışmanın aksine her iki özütün kullanıldığı pH 9 ortamında petallerin bir araya gelerek NÇ sentezlediği görülmüştür.

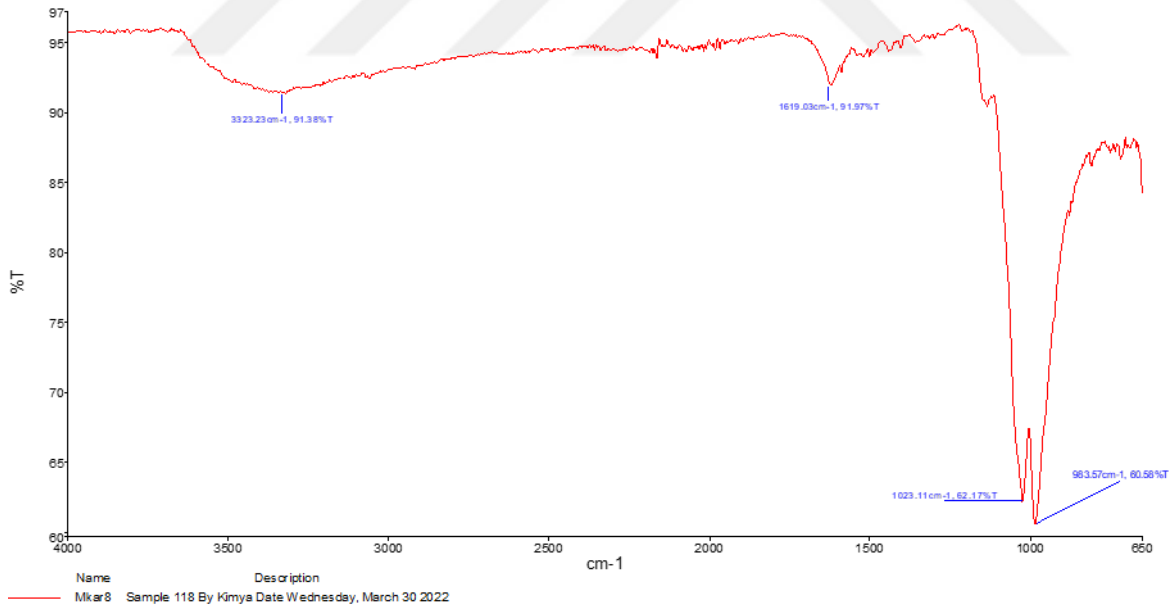
Virk, yapmış olduğu çalışmasında NÇ oluşumunun ortam koşullarının yanı sıra şans faktörünün de oldukça baskın olduğunu vurgulamıştır[78]. Bu çalışmada, Virk bulgularının aksine, nanoflower sentez ve morfolojisinin pH, organik bileşenin türü, ekstraksiyon koşulları, özüt miktarları ve bakır konsantrasyonları gibi faktörlerin baskın olduğu düşünülmektedir.

4.2. FTIR

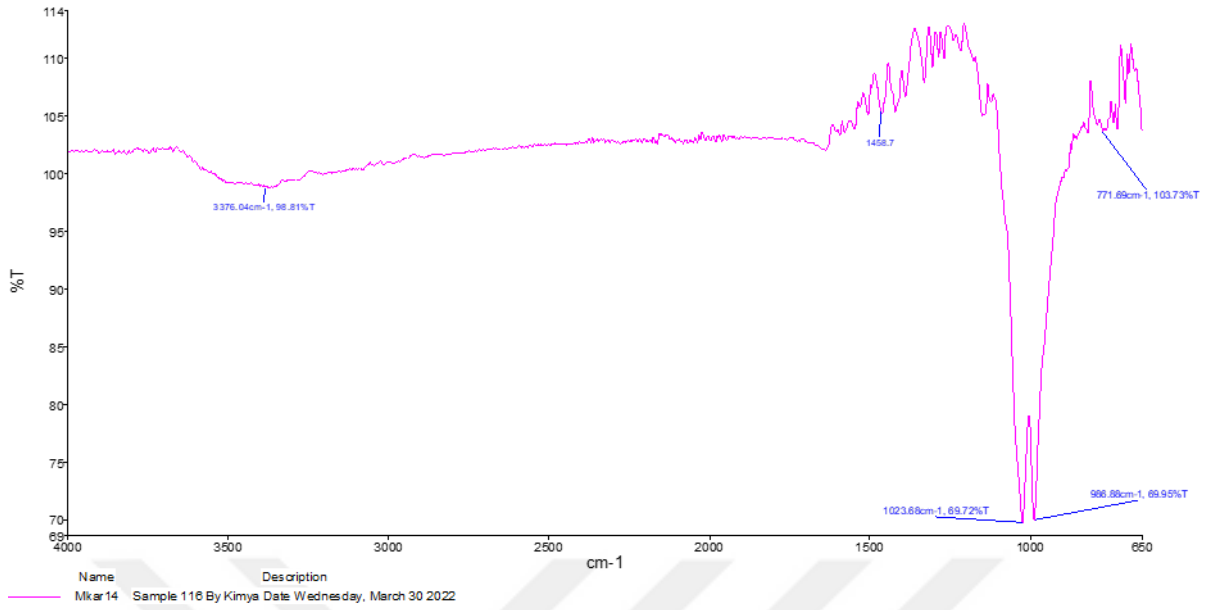
NÇ'nin sentezinde rol oynayan biyomolekülleri tespit etmek için FT-IR analizi ile elde edilen pikler kullanılmıştır. 500 µL CS_{SU} özütü ile pH 7.4 koşullarında sentezlenen NÇ'lerin 3064.1 cm⁻¹ ve 1619.3 cm⁻¹'de gözlenen pikler sırasıyla O-H (alkol) ve N-H (amin) grupları, 1023.8 cm⁻¹, 985.7 cm⁻¹, 808.8 cm⁻¹'de gözlenen pikler de NÇ sentezinin birinci basamğı olan çekirdeklenme safhasında oluşan primer fosfat kristalleri ile ilişkilidir (Figür 4.1) [79]. 500 µL CS_{SU} özütü ile pH 9 koşullarında sentezlenen NÇ'lerin yapısında alkol (3323.2 cm⁻¹), amin (1619 cm⁻¹), ve primer fosfat kristalleri (1023.1 cm⁻¹ ve 983.5 cm⁻¹) tespit edilmiştir (Figür 4.2). 500 µL CS_{eth} özütü ile pH 7.4 koşullarında sentezlenen NÇ'lerin yapısında bulunan alkol ve metilen varlıkları 3376 cm⁻¹, 1458.7 cm⁻¹'de tespit edilmiş, primer fosfat kristalleri de 1023.68 cm⁻¹, 986.8 cm⁻¹ ve 771.6 cm⁻¹'de gözlenen piklerle açığa çıkarılmıştır (Figür 4.3).



Şekil 4.2 FT-IR analizi-Cu hNÇ (mısır püskülünün su ile özütüyle pH 7.4 ortamında sentezlenen)



Şekil 4.3 FT-IR analizi-Cu hNÇ (mısır püskülünün su ile özütüyle pH 9 ortamında sentezlenen)

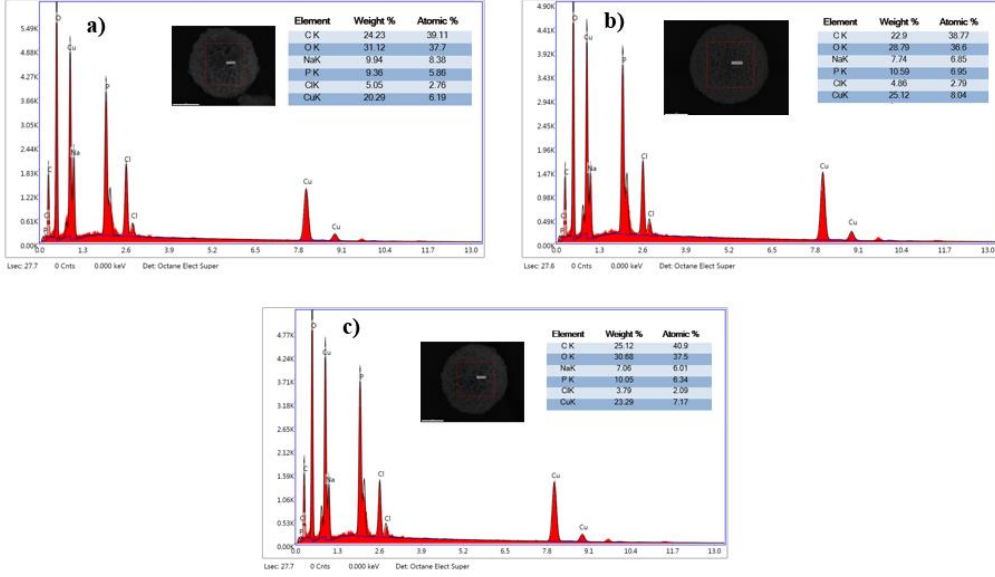


Şekil 4.4 FT-IR analizi-Cu hNÇ (mısır püskülünün alkol ile özütüyle pH 7.4 ortamında sentezlenen)

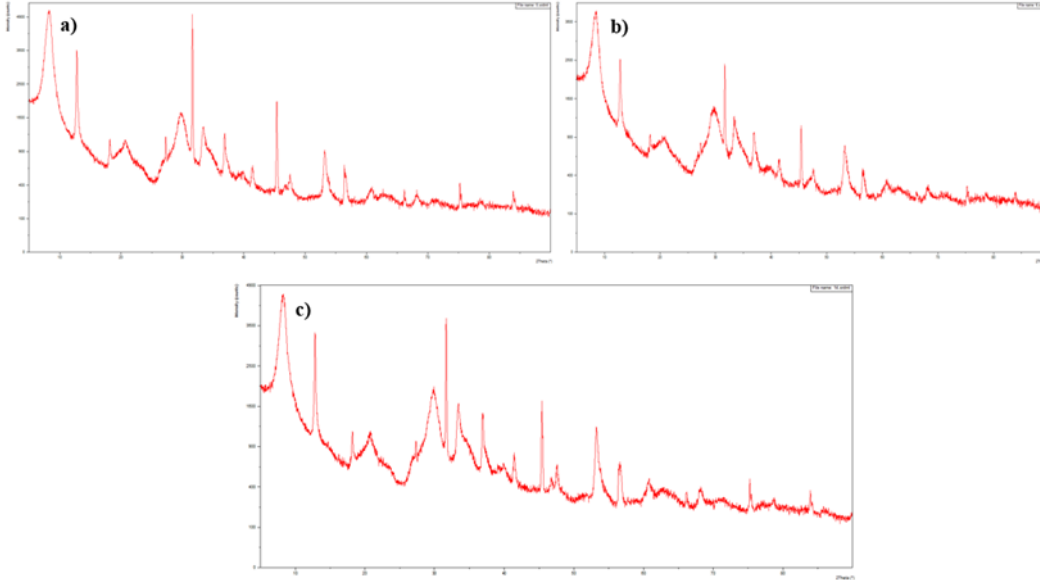
4.3. EDX and XRD

Farklı çözücülerle elde edilen mısır püskülü ekstraktlarıyla sentezlenen Cu-hNÇ'lerin EDX analizleri, Cu-hNÇ yapılarında temel iskelet elementleri olan C, O, P ve Cu'nun varlığını ortaya koymuştur (Şekil 1). *Ascoseira mirabilis* ekstraktı ile sentezlenen Cu-hNÇ'lerin temel iskelet elementlerini (C, O, P ve Cu) belirlemiş ve Cu ağırlık yüzdesini yaklaşık %15 olarak tespit etmiştir. 500 µl CS_{SU} ile pH 7.4 ortamında sentezlenen Cu-hNÇ'nin EDX analizi ile Cu-hNÇ'nin ağırlıkça %20.15 ve atomik %6.19 Cu varlığı tespit edilmiştir (Şekil 1a). 500 µl CS_{SU} ile pH 9 ortamında sentezlenen Cu-hNÇ'nin EDX analizine göre, Cu-hNÇ'nin ağırlık %25,12 'si ve atomik %8,04 Cu olarak tespit edilmiştir (Şekil 1b). 500 µl CS_{eth} ile pH 7.4, ortamında sentezlenen Cu-hNÇ'nin EDX analizi ile Cu-hNÇ'nin ağırlıkça %23.29 'si ve atomik %7.17'si Cu olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1c). Analizde gözlenen Na ve Cl elementlerinin PBS tamponunun pH'ını ayarlamak için kullanılan HCl ve NaOH bileşiklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Cu-hNÇ'lerin kristalinitesinin belirlenmesi için XRD analizi kullanılmıştır (Şekil 2). XRD analizinde 2θ = 9°, 13°, 18°, 20°, 24°, 30°, 34°, 37°, 41°, 46°, 53° ve 57°'deki pikler Cu₃(PO₄)₂ (bakır fosfat) kristalleri (JCPDS Card 00-022 -0548) ile eşleşmektedir. Bu veriler EDX sonuçlarımızla uyumlu olmakla birlikte, literatürde bahsedilen hNÇ'lerin sentezinin ilk adımında fosfat kristallerinin oluşumunun, Cu'nun birincil fosfat kristallerinin

çekirdek fazını ve ekstraktın amid, hidroksil ve/veya diol gruplarını doğruladığını da doğrulamaktadır.[79]



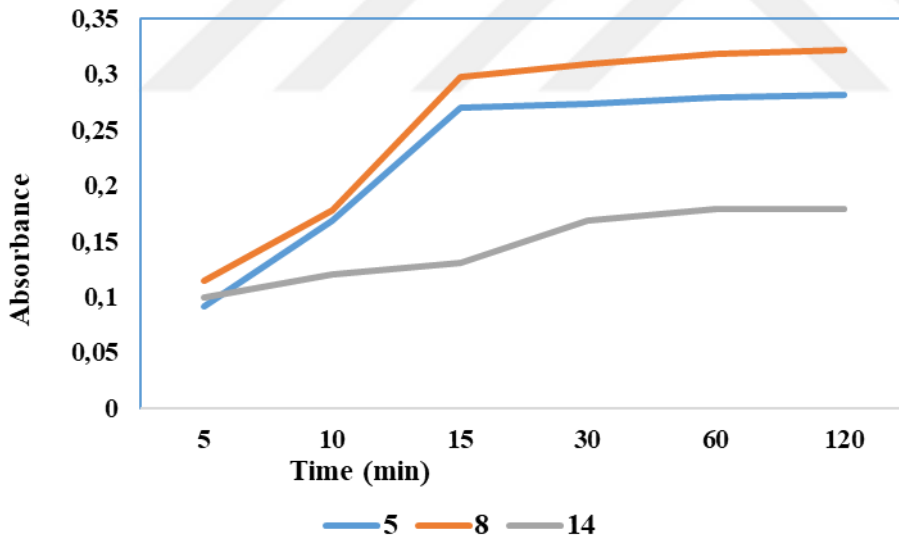
Şekil 4.5 Seçilen nanoçipek'lerin EDX analizi (A: 500 µl CS_{SU} pH 7.4, B: 500 µl CS_{SU} pH 9, C: 500 µl CS_{eth} pH 7.4)



Şekil 4.6 Seçilen nano çipeklerin XRD analizi (A: 500 µl CS_{SU} pH 7.4, B: 500 µl CS_{SU} pH 9, C: 500 µl CS_{eth} pH 7.4)

4.4. Cu-hNÇ Yapılarının Katalitik Aktiviteleri

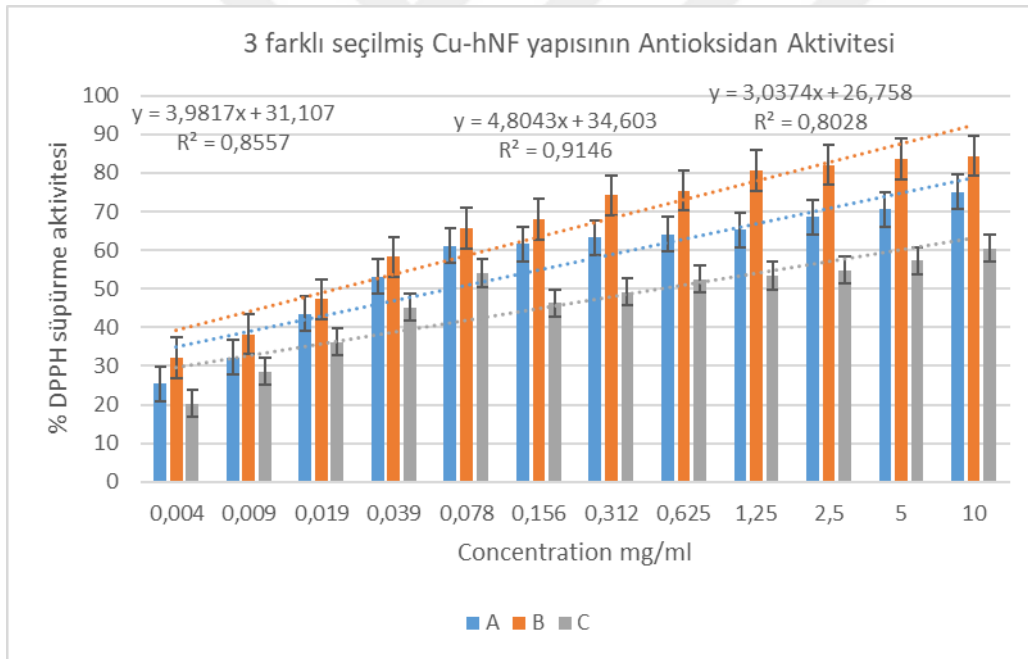
Cu-hNÇ'nin guaiacol'e karşı katalitik aktivitesi Şekil 3'te gösterilmiştir. Önceki çalışmalarda Cu-hNÇ'lerin oksidasyon kabiliyeti Fenton mekanizması ile peroksidaz benzeri aktivite ile açıklanmıştır [79]. Fenton mekanizması, ortamda bulunan H₂O₂ ve Cu elementlerinin reaksiyonu sonucu oluşan reaktifler tarafından substratın oksidasyonuna dayanmaktadır. Elde edilen verilere göre 500µl CS_{SU} kullanılarak pH 9 ortamında sentezlenen Cu-hNÇ'lerin guaiacol'e karşı en yüksek, 500 µl CS_{eth} kullanılarak pH 9 ortamında sentezlenen Cu-hNÇ'lerin ise en düşük katalitik aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. FE-SEM analizinde gösterildiği gibi, 500µl CS_{eth} kullanılarak pH 9 ortamında sentezlenen Cu-hNÇ, 3 farklı morfolojiye sahip Cu hNÇ'ler arasında en gevşek taç yaprağı düzenlemesine sahiptir. Önceki çalışmalar, yüksek gözenekli ve kompakt Cu-hNÇ'lerin yüksek peroksidaz benzeri aktivitelere sahip olduğunu bildirmiştir [80-81]. Benzer şekilde, hNÇ'lerin morfolojisi ideal çiçek yapısından uzaklaştıkça peroksidaz taklit etme aktivitesinin azaldığını bulmuşlardır. Sonuçlarımız, yüksek gözenekliliğe ve kompakt yapıya sahip Cu hNÇ'lerin daha etkili peroksidaz benzeri aktivite sergileyerek guaiacolu bozduğunu gösteren çalışmalarla da tutarlıdır.[81]



Şekil 4.7 Seçilen 3 Cu-hNÇ'nin katalitik aktivitesi ((5: 500 µl CS_{SU} pH 7.4, 8: 500 µl CS_{SU} pH 9, 14: 500 µl CS_{eth} pH 7.4)

4.5. Antioksidan Aktivite

Morfolojik şekillerine göre seçilen 3 farklı nanoflower yapısının antioksidan aktiviteleri DPPH süpürme aktivitesine göre hesaplanmıştır. Oksidanlar cesitli biyolojik sistemlerde üretilen ve organizmaya zarar veren oldukça reaktif moleküllerdir. Antioksidanlarda bu zararın nötralize edilmesinde oldukça önemli bir göreve sahiptir. Nano malzemelerin antioksidan aktivite göstermesi özellikle eczacılık ve sağlık alanlarında kullanılabilirliği açısından oldukça önemlidir [79]. Mevcut çalışmamızda pH 7.4 500 ml su ektresinde elde edilen NÇ yapısının diğer yapılardan daha etkili antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Fig 1). Özellikle CS_{SU} özütü ile elde edilen NÇ yapılarının artan konsantrasyonlarına bağlı olarak antioksidan aktivitesinde önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir. Bulgularımız literatür ile paralellik göstermektedir [82-83] .



Şekil 4.8 Cu-hNÇ'nin Antioksidan aktivitesi (A: 500 µl CS_{SU} pH 7.4, B: 500 µl CS_{SU} pH 9, C: 500 µl CS_{eth} pH 7.4)

4.6. Antimikrobiyal Aktivite

Cu-hNÇ'lerin (500 µl CS_{SU} pH 9 ve 500 µl CS_{eth} pH 7.4) Gram-negatif *Escherichia coli* suşlarına karşı MİK değerlerinin aynı olduğu, ancak 500 µl CS_{SU} bazlı Cu-hNÇ'den (sentezlenen pH 7.4) daha yüksek aktivite gösterdiği bulunmuştur. Öte yandan, Cu-hNÇ'nin (500 µl CS_{SU} pH 9 ve 500 µl CS_{eth} pH 7.4) MİK değerleri Gram-pozitif *Enterococcus faecalis* suşlarına karşı aynı bulunmuş ancak 500 µl CS_{SU} bazlı Cu-hNÇ'den (sentezlenen pH 7.4) daha düşük aktivite göstermiştir. *Staphylococcus aureus*'a karşı 500 µl CS_{SU} pH 9 ve 500 µl CS_{eth} pH 7.4 ile sentezlenen Cu-hNÇ'ler aynı değerlere sahipken, 500 µl CS_{SU} pH 7.4 ile sentezlenen Cu-hNÇ'nin MİK değeri diğerine göre 2 kat daha yüksekti. (Tablo 1.).

Tablo 4.1. Seçilen 3 Cu-hNÇ'nin Antioksidan aktivitesi

	500 mL CS _{SU} ph 7.4	500 mL CS _{SU} ph 9	500 mL CS _{eth} ph 7.4
<i>Escherichia coli</i>	0,31	0,15	0,15
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,31	0,62	0,62
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,25	1,25	1,25

Nano yapıların antimikrobiyal aktivitesi hakkındaki en yaygın görüş NP yapılarının morfolojisi, boyutu sıvı ortamdaki dağılımına bağlı olarak mikroorganizmalarla olan etkileşimidir[84]. Altın nanopartikülleri sentezlemiş ve küçük boyutları nedeniyle nanopartiküllerin bakteri hücrelerine nüfuz ettiğini ve ardından DNA'yı konsantre bir forma dönüştürdüğünü iddia etmiştir[53]. Bu süreç sonunda hücre ölümüne yol açar demişlerdir. Ayrıca Nanoyapılar çok küçük boyutta oldukları için hücre içine kolaylıkla girer hücre reaktif oksijen üretimine neden olarak hücreye zarar vermektedir. Ek olarak metallerin pozitif yüklü olması negatif yüklü bakteri zarı ile etkileşime girerek hücrede öldürücü etki meydana getirebilir[85].

Bu çalışmada gram negatif bakteri E.coli hücresinin Gram pozitif E.faecalis'den daha düşük MIC göstermesi yukardaki bulguları destekler niteliktedir. Baldemir ve ark. Sentezlemiş oldukları Cu-hNÇ yapılarının Gram pozitif bakterilere gram negatiflerden daha etkili olduğunu bulmuşlardır [86]. Bizim çalışmamızda bunun tersine bir sonuç elde edilmiştir. Bu durumun sebebi olarak farklı çözücülerde elde edilen ekstrak içeriğinin farklı olacağı buna bağlı olarak da farklı morfolojilere ve aktivitelere sahip NÇ yapıları elde edilebileceği söylenebilir[74].

Yeşil sentez gümüş nanopartiküllerin çeşitli bakteri türlerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır. Nanopartiküllerin kimyasal yüzeyinin antibakteriyel aktivitenin ana nedenlerinden biri olduğunu vurgulamışlardır. Bu bulgulara paralel olarak, çalışmamızda sentezlenen nanoflower yapılarının antimikrobiyal aktivitesindeki farklılıklar, farklı yüzey şekillerine bağlanabilir.

Bu çalışmada gram negatif bakteri E.coli hücresinin Gram pozitif E.faecalis'den daha düşük MIC göstermesi yukardaki bulguları destekler niteliktedir. Sentezlemiş oldukları Cu-hNÇ yapılarının Gram pozitif bakterilere gram negatiflerden daha etkili olduğunu bulmuşlardır [86]. Bizim çalışmamızda bunun tersine bir sonuç elde edilmiştir. Bu durumun sebebi olarak farklı çözücülerde elde edilen ekstrak içeriğinin farklı olacağı buna bağlı olarak da farklı morfolojilere ve aktivitelere sahip NÇ yapıları elde edilebileceği söylenebilir [74].

5. Bölüm

SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, hem alkol tabanlı hem de su tabanlı mısır püskülü özütü kullanarak Cu-hNÇ sentezi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Mısır püskülü organik bileşik olarak su özütünün ph 5 koşulu haricinde çalışılan diğer bütün koşullarda Nanoflower sentezi için oldukça uygun bir komponent olarak kullanılabilceği tespit edilmiştir. Nanoflower sentezi için CS_{SU} özütü kullanıldığına Nanosnowball yapılarının elde edildiği Alkol ortamında ise artan pH ve CS eth konsantrasyonlarına bağlı olarak petal yapılarının düzenlenmesinde değişiklik olabileceği tespit edilmiştir. Ayrıca biyolojik aktivite çalışmalarında gualicol ve antoksidan CS_{SU} özütü ile sentezlenen NÇ yapılarının aktivitesinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. CS_{SU} ve CSeth özütü kullanılarak elde Cu-NÇ yapılarında bakteri türü ve yapısal morfolojiye bağlı olarak Antimikrobiyal aktivitede değişiklik göstermiştir. Yapılan bu çalışma ile sentezlenecek Cu-hNÇ nin kullanım amacına göre ekstraksiyon çözeltisinin seçilmesinin arzu edilen aktiviteyi elde etmede önemli bir basamak olduğu söylenebilir.

KAYNAKÇA

- [1] Pande, M. ve Bhaskarwar, A.N., (2016). Nanoparticles: Preparation and Characterization: Momentum Press.
- [2] 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.
- [3] Mukherjee, P. Ahmad, A. Mandal, D. Senapati, S. Sainkar, S.R. Khan, M.I. Parishcha, R. Ajaykumar, P. Alam, M. ve Kumar, R., (2001). "Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: a novel biological approach to nanoparticle synthesis", *Nano Letters*, 1: 515-519.
- [4] 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
- [5] McHenry, Charles, (Ed.) (1992). *The New Encyclopedia Britannica*. 3 (15 bas.). Chicago: Encyclopedia Britannica, Inc. s. 612. ISBN 978-0-85229-553-3.
- [6] Devaraj Manoj a,c R. Saravananb, Jayadevan Santhanalakshmi c, Shilpi Agarwal d, Vinod Kumar Gupta d,e, Rabah Boukherroubf Towards green synthesis of monodisperse Cu nanoparticles: An efficient and high sensitive electrochemical nitrite sensor
- [7] (Olajire, A. A., Ifediora, N. F., Bello, M. D., & Benson, N. U. (2018). Green Synthesis of Copper Nanoparticles Using Alchornea laxiflora Leaf Extract and Their Catalytic Application for Oxidative Desulphurization of Model Oil. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 42(4), 1935-1946.).
- [8](Mott, D., Galkowski, J., Wang, L., Luo, J., & Zhong, C. J. (2007). Synthesis of sizecontrolled and shaped copper nanoparticles. *Langmuir*, 23(10), 5740-5745.)
- [9] Prof. Dr. Hasan Eren, *Türk Dilinin Etimolojik Sözlüğü*, Ankara, 1999, sayfa: 295

- [10] Velazquez DVO., Xavier HS., Batista JEM and de Castro Chaves C., 2005. Zea mays L. Extracts modify glomerular function and potassium urinary excretion in conscious rats. *Journal of Phytomedicine*, 12: 363-369.
- [11] 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.
- [12] Hulkoti, N.I. ve Taranath, T., (2014). "Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review", *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 121: 474-483. Hulkoti, N.I. ve Taranath, T., (2014). "Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review", *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 121: 474-483.
- [13] Y. Türkan, "Nanoteknoloji Yatırımları ve Yatırım Modelleri," *Bingöl Üniversitesi Sos. Bilim. Enstitüsü Derg.*, vol. 5, no. 10, pp. 79–116, 2015.
- [14] E. Saka and G. T. Gülel, "Gıda Endüstrisinde Nanoteknoloji Uygulamaları," *Etlük Vet. Mikrobiyoloji Derg.*, vol. 26, no. 2, pp. 52–57, 2015, doi: 10.35864/evmd.513387.
- [15] Ş. Celep and E. Koç, "Nanoteknoloji ve Tekstilde Uygulama Alanları," *Ç.Ü. Fen Bilim. Enstitüsü*, vol. 17, no. 7, pp. 43–52, 2008.
- [16] N. C. Yeh, "Nanotechnology for electronics & photonics," *Technovation*, vol. 33, no. 4–5, p. 108, 2013, doi: 10.1016/j.technovation.2013.03.008.
- [17] Şenel, Ferda. "Nanotıp." *Bilim ve Teknik* 497.1 (2009): 79-83.
- [18] 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.
- [19] Graff, A. Benito, S.M. Verbert, C. ve Meier, W., (2004). "Polymer nanocontainers", *Nanobiotechnology: concepts, applications and perspectives*: 168-184.
- [20] Salata, O.V., (2004). "Applications of nanoparticles in biology and medicine", *Journal of nanobiotechnology*, 2: 3.

- [21] Gogotsi, Y. 2006. Nanotubes and Nanofibers, ISBN 0849393876, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- [22] Lu, A.H. Salabas, E.e.L. ve Schüth, F., (2007). "Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application", *Angewandte Chemie International Edition*, 46: 1222-1244.
- [23] Wang, X. Li, Q. Xie, J. Jin, Z. Wang, J. Li, Y. Jiang, K. ve Fan, S., (2009). "Fabrication of ultralong and electrically uniform single-walled carbon nanotubes on clean substrates", *Nano Letters*, 9: 3137-3141.
- [24] Sepeur, S., (2008). *Nanotechnology: technical basics and applications*: Vincentz Network GmbH & Co KG.
- [25] Mittal, A.K. Chisti, Y. ve Banerjee, U.C., (2013). "Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts", *Biotechnology advances*, 31: 346-356
- [26] Hernández-Pinero, J.L. Terrón-Rebolledo, M. Foroughbakhch, R. MorenoLimón, S. Melendrez, M. Solís-Pomar, F. ve Pérez-Tijerina, E., (2016). "Effect of heating rate and plant species on the size and uniformity of silver
- [27] Sepeur, S., (2008). *Nanotechnology: technical basics and applications*: Vincentz Network GmbH & Co KG
- [28] Mittal, A.K. Chisti, Y. ve Banerjee, U.C., (2013). "Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts", *Biotechnology advances*, 31: 346-356.
- [29] Hussain, I. Singh, N. Singh, A. Singh, H. ve Singh, S., (2016). "Green synthesis of nanoparticles and its potential application", *Biotechnology letters*, 38: 545- 560
- [30] Collins English Dictionary Online, Definition of Extract, <https://www.collinsdictionary.com/dictionary/english/extract>, 12.12.2017.
- [31] Mittal, A.K. Chisti, Y. ve Banerjee, U.C., (2013). "Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts", *Biotechnology advances*, 31: 346-356.
- [32] Iravani, S., (2011). "Green synthesis of metal nanoparticles using plants", *Green Chemistry*, 13: 2638-2650.

- [33] Shankar, S.S. Rai, A. Ahmad, A. ve Sastry, M., (2004). "Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth", *Journal of colloid and interface science*, 275: 496-502.
- [34] Vijayaraghavan, K. ve Ashokkumar, T., (2017). "Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications", *Journal of environmental chemical engineering*.
- [35] Bhati-Kushwaha H., Malik, C. P., 2013, Biopotential of *Verbesina encelioides* (stem and leaf powders) in silver nanoparticle fabrication, *Turk. J. Biol.*, 37, pp. 645- 654.
- [36] Song, J.Y. Kwon, E.-Y. ve Kim, B.S., (2010). "Biological synthesis of platinum nanoparticles using *Diopyros kaki* leaf extract", *Bioprocess and biosystems engineering*, 33: 159
- [37] J. Ge, J. Lei, and R. N. Zare, "Protein – inorganic hybrid nanoflowers," vol. 7, no. June, 2012, doi: 10.1038/nano.2012.80.
- [38] 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
- [39] Wang X, Shi J, Li Z, et al. Facile one-pot preparation of chitosan/ calcium pyrophosphate hybrid microflowers. *Acs Appl Mater Interfaces*. 2014;6:14522–14532.
- [40] Ye R, Zhu C, Song Y, et al. Bioinspired synthesis of all-in-one organic-inorganic hybrid nanoflowers combined with a handheld pH meter for on-site detection of food pathogen. *Small*. 2016;12:3094–3100
- [41] Abdullaeva, Z., (2017). *Synthesis of Nanoparticles and Nanomaterials: Biological Approaches*: Springer.
- [42] Das, R. Ali, E. ve Abd Hamid, S.B., (2014). "CURRENT APPLICATIONS OF X-RAY POWDER DIFFRACTION-A REVIEW", *Reviews on Advanced Materials Science*, 38.

- [42] Humphreys, J. Beanland, R. ve Goodhew, P.J., (2014). *Electron microscopy and analysis*: CRC Press.
- [44] McMullan, D., (1995). "Scanning electron microscopy 1928–1965", *Scanning*, 17: 175-185.
- [45] Joshi, M. ve Viswanathan, V., (2006). "High-performance filaments from compatibilized polypropylene/clay nanocomposites", *Journal of Applied Polymer Science*, 102: 2164-2174.
- [46] Berne, B.J. ve Pecora, R., (2000). *Dynamic light scattering: with applications to chemistry, biology, and physics*: Courier Corporation.
- [47] Chandran, S.P. Chaudhary, M. Pasricha, R. Ahmad, A. ve Sastry, M., (2006). "Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using Aloe vera plant extract", *Biotechnology progress*, 22: 577-583.
- [48] Pockrand, I. Swalen, J. Gordon Li, J. ve Philpott, M., (1978). "Surface plasmon spectroscopy of organic monolayer assemblies", *Surface Science*, 74: 237-244.
- [49] Grumezescu, A., (2016). *Nanobiomaterials in antimicrobial therapy: Applications of nanobiomaterials*: William Andrew."
- [50] Cáceres A., Girón LM and Martínez AM., 1987. Diuretic activity of plants used for treatment of urinary ailments in Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, 19: 233- 243.
- [51] Maksimović Z., Malenčić D and Kovačević N., 2005. Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresource Technology*, 96: 873-877.
- [52] Velazquez DVO., Xavier HS., Batista JEM and de CastroChaves C., 2005. *Zea mays* L. Extracts modify glomerular function and potassium urinary excretion in conscious rats. *Journal of Phytomedicine*, 12: 363-369.
- [53] Ebrahimzadeh MA., Pourmorad F and Hafe S., 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of Biology*, 32(1): 43-49.

[54] Synthesis of Cherry Stalk Extract Based Organic@Inorganic Hybrid Nanoflowers as a Novel Fenton Reagent: Evaluation of Their Antioxidant, Catalytic, and Antimicrobial Activities Onur Can Güven Musa Kar Fatih Doğan Koca

[55] Olgunlaşmış ve Olgunlaşmamış Mısır Püsküllerinde Toplam Antioksidan ve Fenolik Madde Miktarlarının Belirlenmesi Gülay Zulkadir Leyla İdikut Mustafa Çölkesen 2016

[56] C. Altinkaynak, I. Yılmaz, 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.

[57] C.Altinkaynak, A.Baldemir, N.Özdemir , V.Yılmaz, İ.Öçsoy, Kudret Narı (Momordica charantia Descourt.) Meyvesinden Saflaştırılan Peroksidaz Enzimi Kullanılarak Hibrit Nano Çiçekler Sentezlenmesi ve Direct blue 1 Gideriminde Kullanılabilirlikleri 2, 573 - 583, 15.06.2020

[58] Vinod Vellora Thekkae Padil Miroslav Černík "Green synthesis of copper oxide nanoparticles using gum karaya as a biotemplate and their antibacterial application"2013

[59] "Green Synthesis and Characterization of CuO Nanoparticles: Telon Blue AGLF and Methylene Blue Adsorption"1-20(2019)

[60] A.EREN M.F.BARAN "Fıstık (Pistacia vera L.) Yaprağından Gümüş Nanopartikül (AgNP)'lerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Aktivitesinin İncelenmesi"0001-8133-6670 2018

[61] 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.,

[62] BEYKAYA, Mehmet, and Abdullah ÇAĞLAR. "Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma." *Afyon Kocatepe üniversitesi fen ve mühendislik bilimleri dergisi* 16.3 (2016): 631-641.

[63] Güven, O. C., & Kar, M. (2022). *Bakır (Cu) nanoçiçeklerinin yeşil sentez yöntemi kullanılarak sentezlenmesi, karakterizasyonu, fotokatalitik, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi* (Master's thesis, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi).

- [64] 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.
- [65] Somturk, B., Yilmaz, I., Altinkaynak, C., Karatepe, A., Özdemir, N., Ocoy, I, 2016. Synthesis of urease hybrid nanoflowers and their enhanced catalytic properties. *Enzyme and Microbial Technology*, 86: 134-142.
- [66] Demirbaş, A. "Organik bileşik olarak Altın çiçek (*Physalis peruviana*) kabuk ve meyve özütü ile çiçek şekilli hibrit nanoyapıların gıda patojenleri üzerine antibakteriyel etkisinin incelenmesi ve bu nanoyapıların morfolojik karşılaştırılması" . *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences* 6 (2021): 157-161
- [67] Ge J., Lei J., Zare R.N. 2012. Protein-inorganic hybrid nanoflowers. *Nature Nanotechnology*, 428-432.
- [68] 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.
- [69] F. D. Koca, D. Demirezen Yilmaz, N. Ertas Onmaz, and I. Ocoy, "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.
- [70] 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.
- [71] 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.
- [72] C. and L. S. Institute., Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; CLSI document M100-S23., no. January. 2013.

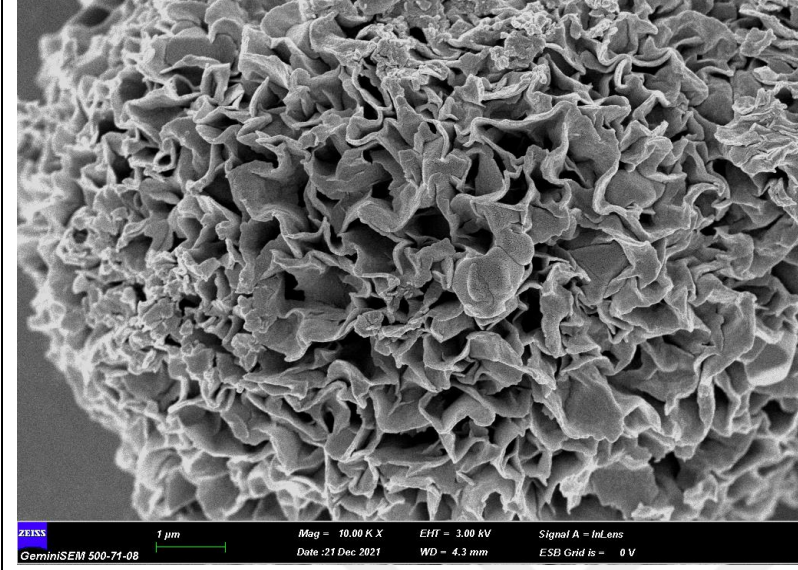
- [73] R. Krishnan, V. Arumugam, and S. K. Vasaviah, "The MIC and MBC of Silver Nanoparticles against *Enterococcus faecalis* - A Facultative Anaerobe," *J. Nanomed. Nanotechnol.*, vol. 06, no. 03, 2015, doi: 10.4172/2157-7439.1000285.
- [74] Baldemir A, Köse NB, Ildiz N, et al (2017) Synthesis and characterization of green tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) extract and its major components-based nanoflowers: A new strategy to enhance antimicrobial activity. *RSC Adv* 7:44303–44308. <https://doi.org/10.1039/c7ra07618e>
- [75] Koca FD, Demirezen Yilmaz D, Ertas Onmaz N, et al (2020a) Green synthesis of allicin based hybrid nanoflowers with evaluation of their catalytic and antimicrobial activities. *Biotechnol Lett* 42:1683–1690. <https://doi.org/10.1007/s10529-020-02877-2>
- [76] Baldemir A, Köse NB, Ildiz N, et al (2017) 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* 7:44303–44308. <https://doi.org/10.1039/c7ra07618e>
- [77] Dayan S, Altinkaynak C, Kayaci N, et al (2020) Hybrid nanoflowers bearing tetraphenylporphyrin assembled on copper(II) or cobalt(II) inorganic material: A green efficient catalyst for hydrogenation of nitrobenzenes in water. *Appl Organomet Chem* 34:e5381. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/aoc.5381>
- [78] Virk HS (2011) Fabrication and Characterization of Metallic Copper and Copper Oxide Nanoflowers. *Pakistan J Chem* 1:148–154. <https://doi.org/10.15228/2011.v01.i04.p0>
- [79] Güven OC, Kar M, Koca FD (2022) Synthesis of Cherry Stalk Extract Based Organic@Inorganic Hybrid Nanoflowers as a Novel Fenton Reagent: Evaluation of Their Antioxidant, Catalytic, and Antimicrobial Activities. *J Inorg Organomet Polym Mater* 32:1026–1032. <https://doi.org/10.1007/s10904-021-02160-5>
- [80] Dadi S, Celik C, Mandal AK, Ocsoy I (2021) Dopamine and norepinephrine assistant-synthesized nanoflowers immobilized membrane with peroxidase mimic activity for efficient detection of model substrates. *Appl Nanosci* 11:117–125. <https://doi.org/10.1007/s13204-020-01577-7>

[81] Dadi S, Celik C, Ocsoy I (2020) Gallic acid nanoflower immobilized membrane with peroxidase-like activity for m-cresol detection. *Sci Rep* 10:16765. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73778-7>

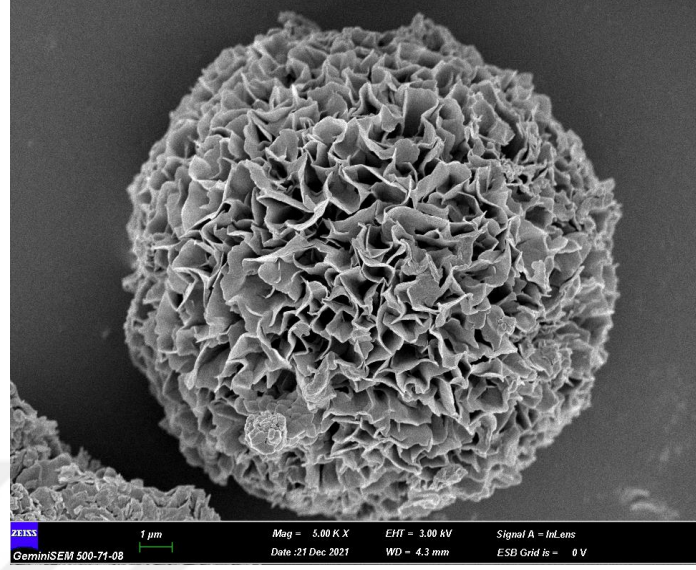
[82] Durbilmez GD, Bor E, Dönmez C, et al (2019) Synthesis of Hybrid Nanoflowers with Plant Extracts Traditionally Utilized In Skin Problems and Their Activity Profile. In: I. International Aromatic Plants and Cosmetic Symposium Proceeding Book. pp 45–54



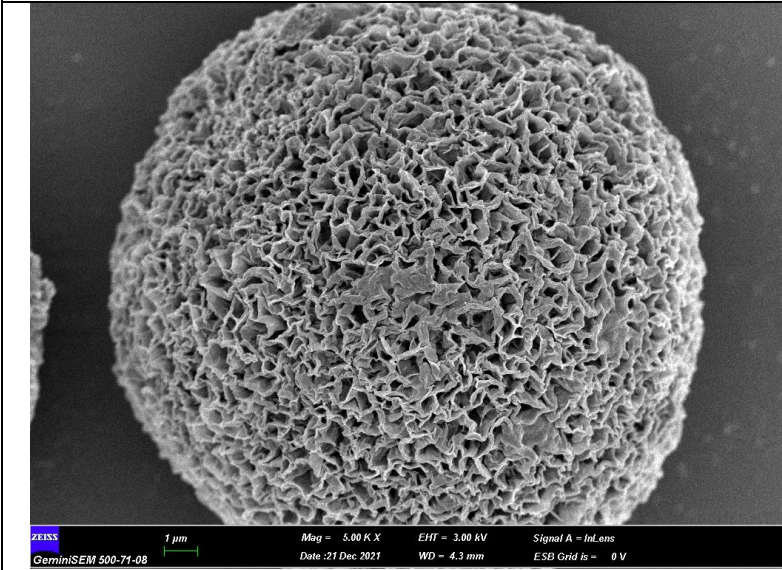
EKLER



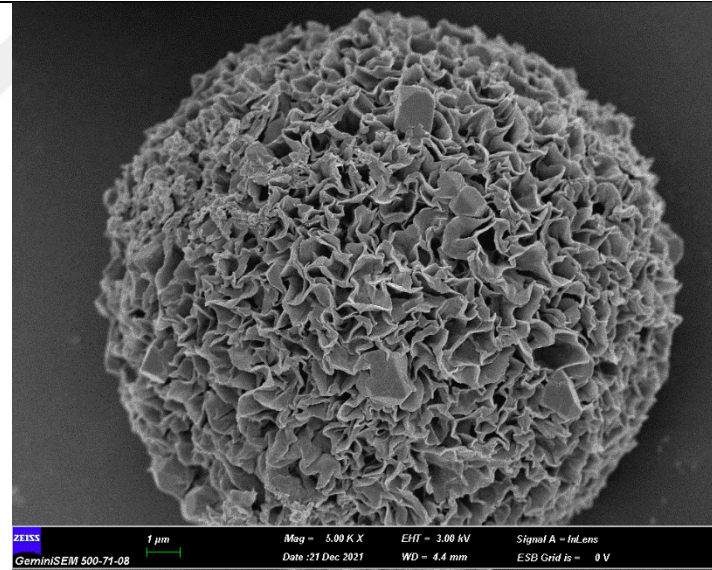
Ph 7,4 su özütü 250 μ l



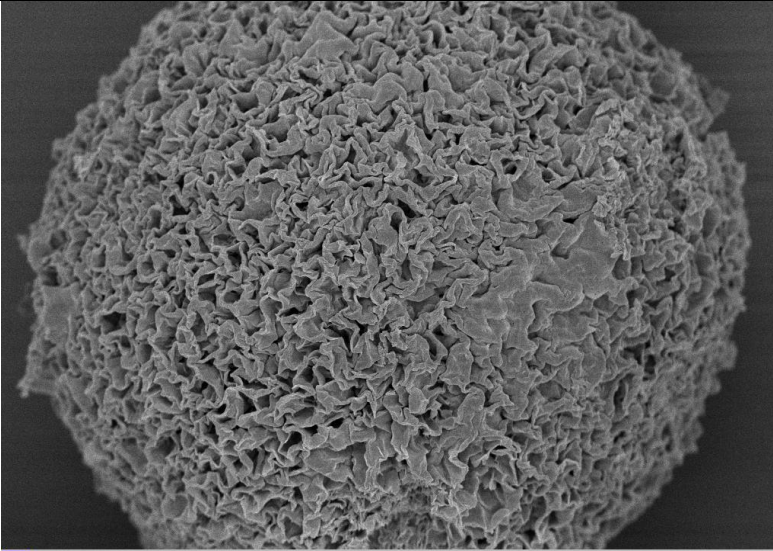
Ph 7,4 su özütü 500 μ l



Ph 7,4 su özütü 1000 μ l

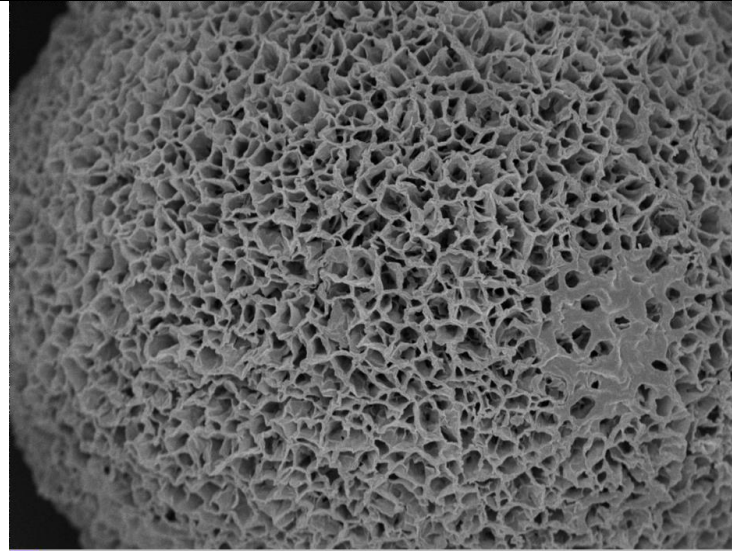


Ph 9 su özütü 250 μ l



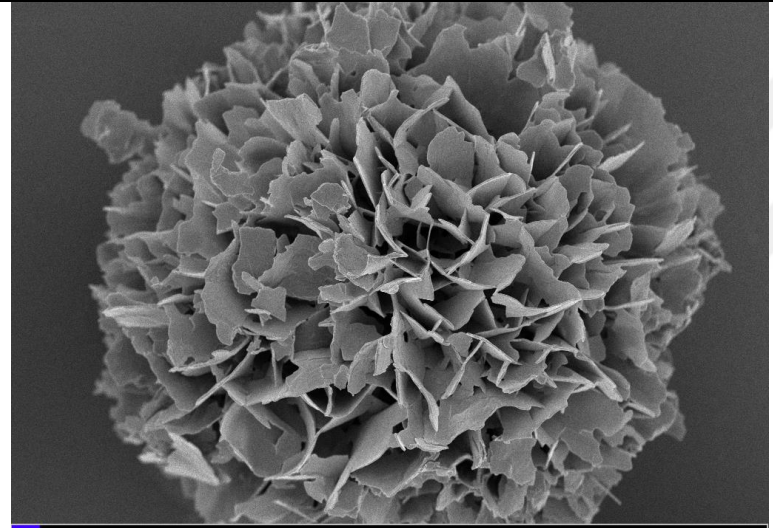
ZEISS 1 µm Mag = 5.00 K X EHT = 3.00 kV Signal A = InLens
GeminiSEM 500-71-08 Date :21 Dec 2021 WD = 4.4 mm ESB Grid Is = 0 V

Ph 9 su özütü 500 µl



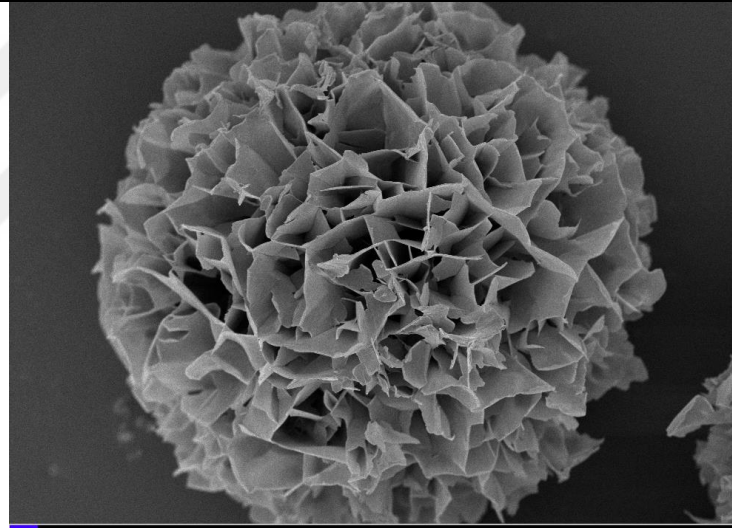
ZEISS 1 µm Mag = 5.00 K X EHT = 3.00 kV Signal A = InLens
GeminiSEM 500-71-08 Date :21 Dec 2021 WD = 4.5 mm ESB Grid Is = 0 V

Ph 9 su özütü 1000µl



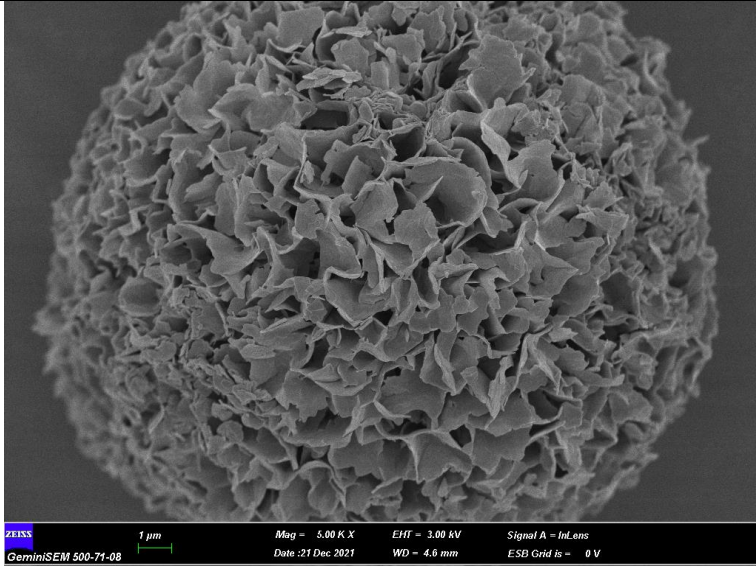
ZEISS 1 µm Mag = 5.00 K X EHT = 3.00 kV Signal A = InLens
GeminiSEM 500-71-08 Date :21 Dec 2021 WD = 4.3 mm ESB Grid Is = 0 V

Ph 5 Ethanol özütü 250 µl

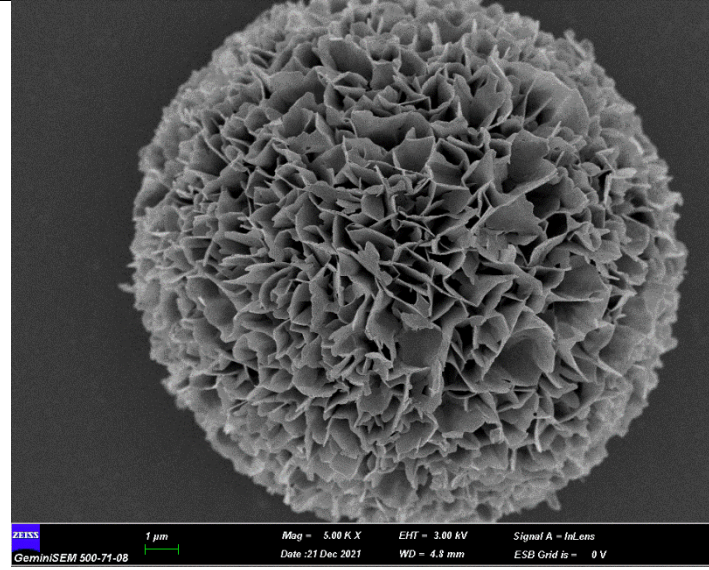


ZEISS 1 µm Mag = 5.00 K X EHT = 3.00 kV Signal A = InLens
GeminiSEM 500-71-08 Date :21 Dec 2021 WD = 4.4 mm ESB Grid Is = 0 V

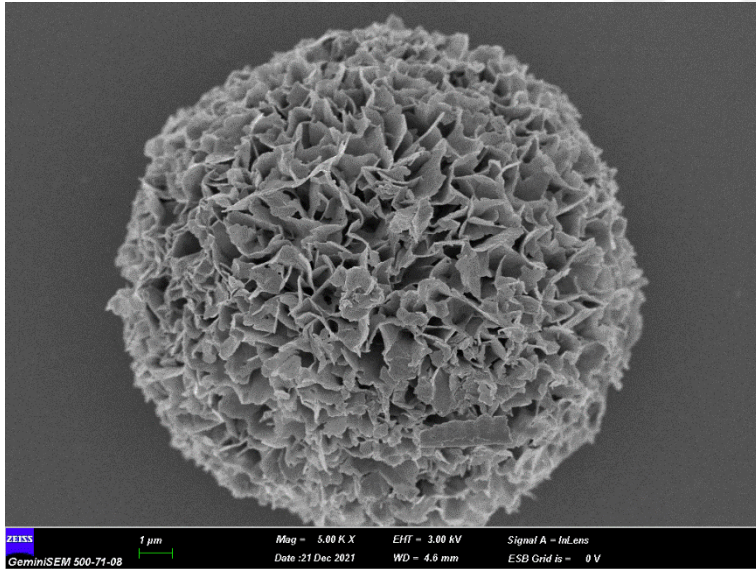
Ph 5 Ethanol özütü 500 µl



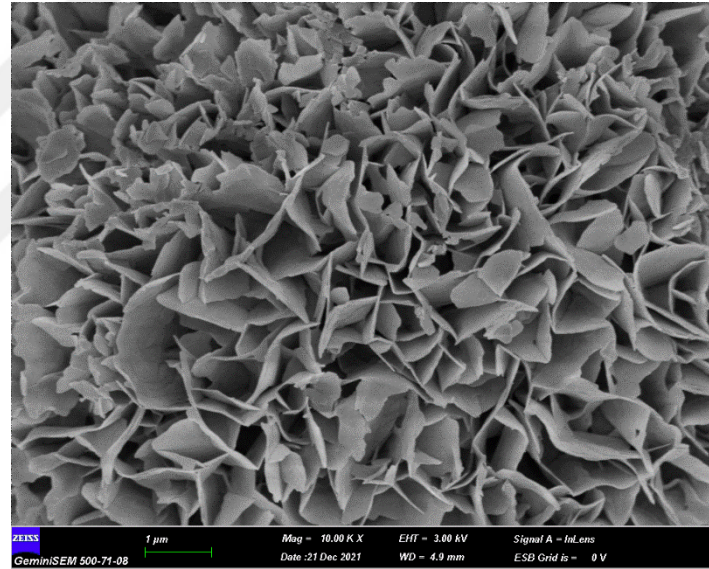
Ph 7,4 Ethanol özütü 250 µl



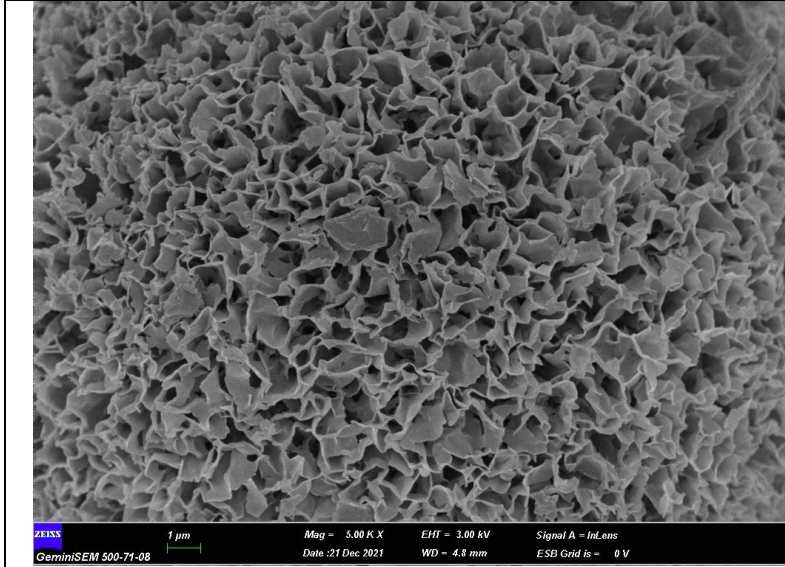
Ph 7,4 Ethanol özütü 500 µl



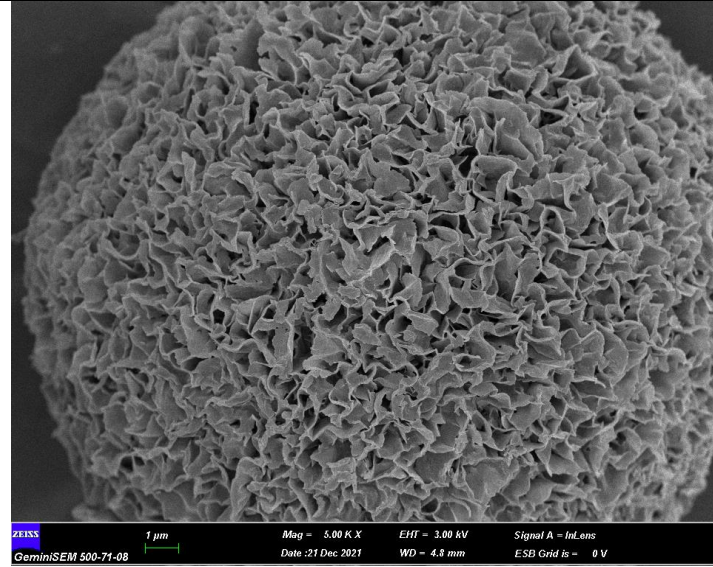
. Ph 7,4 Ethanol özütü 1000 µl



Ph 9 Ethanol özütü 250 µl



Ph 9 Ethanol özütü 500 μ l



Ph 9 Ethanol özütü 1000 μ l